

Moleküler Yönleriyle Karaciğer Gelişimi

Liver Development with Molecular Aspects

 Tuğba ÇELİK SAMANCI^a,
 Alpaslan GÖKÇİMEN^a

^aHistoloji ve Embriyoloji AD,
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Aydın, TÜRKİYE

Received: 04.12.2018
Received in revised form: 01.02.2019
Accepted: 01.02.2019
Available online: 21.02.2019

Correspondence:
Tuğba ÇELİK SAMANCI
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji AD, Aydın,
TÜRKİYE/TURKEY
tugbacelik88@hotmail.com

ÖZET Vücutun en büyük iç organı ve bezi olan karaciğer metabolik, endokrin ve ekzokrin olmak üzere oldukça önemli işlevlere sahiptir. Karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasını düzenlemekte, endokrin olarak albumin, globulinler, lipoproteinler, protrombin ve fibrinojen gibi proteinleri, ekzokrin olarak safra salgılamaktadır. Karaciğerin embriyonik gelişimi trilaminar germ diski oluşumunu takiben üçüncü haftanın ortası ve dördüncü haftanın başında ön bağırsağın kaudal parçasındaki hepatik divertikülden gerçekleşmektedir. Hepatik divertikülden gelişen karaciğer tomurcuğu hepatoblastları içermektedir. Hepatoblastlar hem karaciğerin parankimini oluşturan hepatositlere hem de safra kanallikülünü döşeyen safra epitelyal hücreleri olan kolanjiyositlere farklılaşma özelliğindedirler. Karaciğer parankimini oluşturan hepatositlerin arasında yer alan sinüzoidler anjiyogenez ile oluşmaktadır. Sinüzoid duvarında yer alan karaciğer makrofajları, Kupffer hücreleri mezenşimden köken almaktadır. Tüm bu gelişim aşamalarında çeşitli transkripsiyon faktörleri, proteinler, genler ve sinyal yolları birliktelik göstermektedir. Bu çalışmada, moleküler yönleriyle ilişkili olarak karaciğerin embriyonik gelişimi detaylı olarak sunulmaktadır. Karaciğerin embriyonik gelişim sürecinin moleküler mekanizmasının net bir şekilde anlaşılmasının ve elde edilen veriler doğrultusunda multidisipliner uygulamaların bir arada kullanımının karaciğer hastalıklarının tedavisinde umut verici sonuçlar oluşturabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer; embriyonik gelişim

ABSTRACT The liver is the largest internal organ and gland in the body which has very important functions including metabolic, endocrine and exocrine. It has also function carbohydrate, protein and fat metabolism as metabolically, endocrine albumin synthesis, globulins, lipoproteins prothrombin, proteins such as fibrinogen is given to the blood as well as bile exocrine function. The embryonic development of the liver occurs from the hepatic diverticulum in the caudal part of the foregut at the beginning of the third week and the 4th week following the formation of the trilaminar germ disc. Liver bud which developed from hepatic diverticulum contains hepatoblasts. Hepatoblasts are differentiated both to hepatocytes that form the parenchyma of the liver and to biliary epithelial cells (cholangiocytes) laying the bile canaliculus. Sinusoids, which are located among the hepatocytes that form the liver parenchyma, are also formed by angiogenesis. Kupffer cells, which are liver macrophages located in the perisinusoidal space called the disse range of liver tissue originate from the mesenchyme. Various transcription factors, proteins, genes and signaling pathways are associated in all these stages of development. In this review, liver development with molecular aspects is also presented in detail. It is though that a clear understanding of the molecular mechanisms involved in the embryonic development of the liver and in combination with multidisciplinary applications may provide promising results in the treatment of liver disease.

Keywords: Liver; embryonic development

ENDODERMİN ŞEKİLLENMESİ VE BAĞIRSAK TÜPÜNÜN OLUŞUMU

Embrionik gelişimin ikinci haftasında embriyoblastın epiblast ve hipoblast hücrelerine farklılaşmasıyla bilaminar germ diski oluşur. Embriyonik epiblastta “nodal sinyal aktivasyonu” mezoderm şekillenmesini başlatır. Üçüncü haftada bilaminar germ diskinin trilaminar germ

diskine dönüşümü gerçekleşmektedir. “Gastrulasyon” olarak adlandırılan bu süreçte, tüm organ ve dokuların gelişeceği üç germ yaprağı; endoderm, mezoderm ve ektoderm şekillenir.¹ Karaciğer pankrimi, gastrulasyon aşamasında gelişen trilaminar germ diskinin üç tabakasından biri olan endodermden köken alırken karaciğer stroması mezoderm kaynaklıdır. Endoderm şekillenme süreci insan embriolarında üçüncü hafta sonuna denk gelirken fare embriolarında yapılan çalışmalar bu sürecin e7,5'te gerçekleştiğini göstermektedir.²

Embriyolojik gelişimin temelini oluşturan bu üç tabakanın şekillenmesi çeşitli transkripsiyon faktörleri ve sinyal yolları arasındaki etkileşimle oluşur. Embriyonik gelişim için önemli bir büyüme faktörü olan “**dönüştürücü büyüme faktörü-beta [transforming growth factor-beta (TGFβ)]**”, *nodal* sinyal aracılığıyla endoderm ve mezoderm tabakalarını şekillendirir.^{3,4} TGF-β'yı baskılama özelliğine sahip [ELL-associated factor 2 (Eaf1/2)] transkripsiyon faktörünün bu özelliğinden dolayı endoderm ve mezodermin şekillenmesindeki inhibisyonu da TGF-β'nin endoderm şekillenmesindeki rolünü net olarak göstermektedir.⁵ Tüm vertebralılarda, *nodal* sinyal yolağının aktivasyonu endodermin şekillenmesi sürecinde gereklidir.⁶⁻⁸ Gelişimin üçüncü haftasında TGF-β'nin etkilediği *nodal* sinyalinin, SOX 17 ve forkhead box transcription factor (FOXA) 1-3 (HNF3 alfa/beta/gama) gibi endoderm transkripsiyon faktörlerini uyarmasıyla gelişen endoderm, mezoderm ile çevrelenmiş primitif bağırsak tüpünü meydana getirir.^{3,4}

Bağırsak tüpünün gelişiminin ardından, mezodermden salgılanan çeşitli transkripsiyon faktörleriyle, bağırsak tüpü anterior-posterior olarak uzama gösterir. Primitif bağırsak tüpü, bitişikteki mezodermden çeşitli sinyal faktörlerinin salgılanmasıyla ön bağırsak, orta bağırsak ve arka bağırsak olarak ayrılır. Karaciğer, akciğer ve tiroidin geliştiği ön bağırsakta *Ttfl* (tiroid transkripsiyon faktör 1/TTF1/Nkx-2,1), Hex 1 (hematopoietically expressed homeobox) ve FOXA2 transkripsiyon faktörleri, pankreas ve duodenumun gelişeceği ön bağırsak/orta bağırsak bileşkesinde, PDX1 (pankreatik duodenal homeobox gen 1) transkripsiyon faktörü ve ince ve kalın bağırsağın gelişeceği orta

ve arka bağırsağın arka kısmında Cdx1 ve 4 transkripsiyon faktörleri eksprese edilir.⁹⁻¹⁵

Endodermin bitişğinde yer alan mezodermden salınan fibroblast büyüme faktörü [fibroblast growth factor (FGF)], Wnt, kemik morfogenetik proteinler [bone morphogenetic proteins (BMPs)] ve retinoik asit molekülleri endodermin bölgesel olarak tanımlanmasını sağlamaktadırlar.¹⁶⁻²⁵ Bunlardan FGF4 sinyali Hex1 ve Nkx2,1 anterior endoderm belirteçlerini baskılamayarak anterior endoderm gelişimini baskılamaktadır. Fakat FGF posterior endodermin şekillenmesini uyararak bağırsak gelişiminde kritik role sahiptir.^{22,26} Wnt sinyali de endoderm gelişiminde önemlidir. Mezodermden salınan Wnt sinyali homeodomain baskılayıcısı Vent2'yi aktive ederek ön bağırsak gelişimini baskılamaktadır. Vent2'nin ön bağırsaktaki baskılayıcı etkisini arka endoderimde *Hhex* ve *Foxa2* gibi ön bağırsağın anahtar genlerinin ekspresyonunu baskılayarak gerçekleştirmektedir.²³ Bağırsak tüpü şekillenmesi aşamasında FGF ve Wnt sinyalinin baskılanması gerekirken, gelişimin ilerleyen aşamalarında bu durumun tersi etki gösterecek karaciğer gelişimini uyarmaktadır.

HEPATİK YETERLİLİK

“**Hepatik yeterlilik**”, hepatik indükleyici sinyallere yanıt oluşturabilme yeteneğidir. Sadece hepatik yeterliliğe ulaşmış endodermal hücrelerin hepatoblastlara dönüşebilmesinden dolayı hepatik yeterlilik büyük öneme sahiptir.²⁷

Hepatik yeterlilik, lokal kromatin yapısını düzenleyebilen öncü transkripsiyon faktörleri seviyesi olarak nitelendirilir.²⁷⁻³⁰ Öncü transkripsiyon faktörleri FOXA (HNF3) ve GATA ile gerçekleştirilen hepatik yeterlilik karaciğer özelleşmesini de indüklemektedir.³¹⁻³⁵ Bu özelliklerinden dolayı bu transkripsiyon faktörleri hepatik yeterlilik faktörleri olarak da bilinmektedir. FOXA transkripsiyon faktörleri karaciğer özgün hedef genlerde sıkı kromatin yapısını açarak hepatik yeterliliği sağlamaktadır. FOXA transkripsiyon faktörlerinden özellikle FOXA1 ve FOXA2 (forkhead box proteins A1 ve A2) transkripsiyon faktörlerinin hepatik yeterliliği sağlayarak karaciğer özgünlüğünde de önemli role sahip olduğu gözlenmiştir.³⁵ FOXA transkrip-

siyon faktörlerinin albumin geni “enhancer”ına bağlanması GATA transkripsiyon faktörlerinin daha sonra bağlanmasını sağlayan sıkı kromatin yapısını açar.^{34,36} GATA transkripsiyon faktörlerinden özellikle GATA4 hepatik yeterlilikte büyük öneme sahiptir.^{32,34}

Ancak gelişim sırasında FOXA genleri GATA genlerinden daha erken eksprese edildiğinden GATA4, FOXA1’den daha az etkilidir.^{37,38} Gelişimin erken evresinde FOXA transkripsiyon faktörleri sıkı kromatindeki hedef bölgeye bağlanırlar. Ardından GATA4 transkripsiyon faktörleri de bitişikteki hedef bölgeye bağlanarak sıkı kromatin yapısını açılmasını sağlamaktadır.³⁴ GATA4 transkripsiyon faktörüne ek olarak GATA6 transkripsiyon faktörleri de hepatik yeterlilikte rol oynamaktadır.³⁹⁻⁴¹

Öncü transkripsiyon faktörlerine ek olarak sinyal yolları da hepatik yeterlilikte rol almaktadır. Yapılan bir çalışmada, farelerde GATA4 ekspresyonu BMP inhibitörü Noggin tarafından büyük ölçüde azaltılmış olduğu vurgulanmıştır.⁴² Aynı şekilde yapılan bir başka çalışmada da BMP sinyalinin hepatik yeterliliği düzenlediği gösterilmiştir.⁴³ Bu sebeple hepatik yeterlilikte BMP sinyalinin de önemli rolü olduğu görülmektedir. BMP sinyalinin hepatik yeterliliği FOXA1’in bağlanmasını etkileyebilen histon asetilasyonu ile düzenleyebildiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.⁴³⁻⁴⁵ BMP sinyaline ek olarak FGF sinyalinin de hepatik yeterlilikte rolü olduğu gözlemlenmiştir.⁴⁶

HEPATİK MORFOGENEZ (KARACİĞERE FARKLILAŞMA)

Hepatik yeterliliğe ulaşmış endodermal hücreler artık hepatik indükleyici sinyalleri alarak hepatoblastlara dönüşebilme özelliğine sahiptirler.^{27-29,47-49} Dolayısıyla hepatik yeterliliğin oluşmasıyla birlikte hepatik indüksiyon veya hepatik farklılaşma meydana gelmeye başlar. Gelişen kalpten alınan FGF sinyali ve septum transversum mezenseim (STM) den salınan BMP’ler karaciğerin gelişimini uyarılmaktadır.^{22,23,42,50} Kalpten salınan FGF’ler hepatik gen ekspresyonunun indüklenmesini MAPK yoluyla aktivasyonu yoluyla gerçekleştirmektedir.⁵¹

Yukarıda belirttiğimiz gibi FGF’lerin dışında STM’den salınan BMP’ler karaciğer farklılaşma-

sında önemli rol oynamaktadır. Özellikle BMP4 mutant farelerde yapılan çalışmada, karaciğer tomurcuğunun meydana gelmediği görülmüştür.⁴² Wnt sinyali şaşırtıcı olarak gelişimin farklı evrelerinde karaciğer gelişimi için farklı etkilere sahiptir. Endoderm gelişiminden önce Wnt sinyali posterior endoderm gelişimini baskılar. Geliştikten sonra ise karaciğer farklılaşmasını indükler.²³

HEPATİK DİVERTİKÜL OLUŞUMU VE KARACİĞER TOMURCUĞU

Hepatik farklılaşmanın ardından (e8,5-9) hepatik epitel hücreleri karaciğer genleri olan albumin, Afp ve Hnf- α ’yı eksprese etmeye başlar (e9,0) ve basit kübik epitel kalınlaşarak yalancı çok katlı silindirik epitele dönüşür. Karaciğer divertikülü meydana gelir.⁵² Hepatik endodermi çevreleyen lamininden zengin bazal lamina (e9-9,5) STM’den salınan matriks metalloproteinazlar sayesinde parçalanır ve hepatoblastlar karaciğer tomurcuğunu oluşturmak üzere STM’ye göç etmeye başlar.⁵³ Hepatositlere ek olarak karaciğer tomurcuğu içerisinde hematopoietik elementler, endotelial hücreler ve gelişen stellat hücreler de bulunur.^{52,54} Bu göç sırasında bu bölgede yer alan endotelial hücreler de hepatoblastların göçü için kemotaktik faktörler salgılar.⁵⁵

Hepatosit migrasyonu esnasında matriks metalloproteinazlar (MMP) in aktivasyonu da önemli role sahiptir. Özellikle hepatoblastlarda bulunan MMP-14 ve STM’de eksprese edilen MMP-2 bu aşamada rol oynamaktadır. Yapılan çalışmada, farelerde e9,5 aşamasında MMP aktivitesinin farmakolojik baskılanması hepatoblast göçünü engellemiştir.⁵³

Flk-1 delesyonu da endotelial hücrelerin yokluğuna yol açtığından FLk-1’de hepatoblast migrasyonunda önemli role sahiptir.⁵⁶ “**Hepatocyte Nuclear Factor-6 (HNF-6)/Onecut-1 (OC-1)**” ve **OC-2** transkripsiyon faktörleri de karaciğer tomurcuğu etrafındaki bazal laminayı parçalayarak hepatosit göçüne katkıda bulunurlar.⁴⁹

Hex geni karaciğer gelişiminin farklı aşamalarında rol almaktadır.^{22,23} Hepatik farklılaşmaya ulaşmış epitel hücrelerinin yalancı çok katlı epitele dönüşümünde de Hex homeobox genleri önemli role sahiptir. Bu genin yokluğunda fare embriyola-

rında kübik şekilli endoderm hücreleri yaşamlarını sürdürürken, epitelde dönüşüm gerçekleşmemektedir. Dolayısıyla Hex geni karaciğerin silindirik epitelinin yalancı çok katlı epitele dönüşümü aşamasında gereklidir.^{52,57} Bu, gendeki mutasyon delaminasyonu (bazal laminanın parçalanması) ve hücre göçünü de engeller.

GATA4 ve **GATA6** transkripsiyon faktörlerinin yokluğu karaciğer gelişimini etkiler.⁵⁸ **GATA4**/- embriyolarda endoderm yalancı çok katlı gözlenmesine rağmen küçük kalmakta, bu da karaciğer tomurcuğu gelişimini engellemektedir. Yine; **GATA4** yokluğunda (e9,5), hepatik endodermin yalancı çok katlı epitele dönüşümü gerçekleşirken karaciğer tomurcuğu gelişiminde duraklama meydana geldiği gözlenmiştir.⁴⁰ Ayrıca transkripsiyon faktörü **GATA6** da karaciğer tomurcuğu gelişiminde önemli role sahiptir. **GATA4** hepatik farklılaşma esnasında eksprese edilirken, hepatik primordiumun genişlemesi sırasında yok olmaktadır. Fakat **GATA6**, karaciğer tomurcuğunun gelişiminde mevcuttur.³⁹⁻⁴¹ **GATA4**/-, **GATA6**/- birleşik mutant çalışmasında ön bağırsak gelişiminde defektler gözlenmiştir.⁵⁹

Prox-1 ilk olarak farelerde hepatik endoderimde e8,5'te (7-8 somit) aşamasında saptanmıştır.^{60,61} **Prox-1**'in hepatik farklılaşmasında rolü olmamasına rağmen hepatositlerin septum transversuma göçünde gereklidirler. **Prox**/- embriyolarda hepatoblastlar spesifikasyon geçirmiş ve prolifer olmaya başlamış, fakat degradasyonunda sıkıntı olduğundan hücreler hepatik divertikülümde kalmıştır.⁶⁰

Homeodomain transkripsiyon faktörleri **HNF-6** ve **OC-2** mutant farelerde yapılan çalışmalar, bu faktörlerin de karaciğer tomurcuğunun ilerleyen evrelerinde, hepatositler ve safra hücrelerinin şekillenmesinde rolü olduğunu göstermektedir.⁶²⁻⁶⁶ Hepatik mezenşimden gelen çeşitli parakrin sinyaller ve hepatositlerde çeşitli gen ekspresyonuyla e9,5-15 arasında karaciğer tomurcuğunun gelişmeye başlamasıyla fetal hematopoezin ana üretim yeri ortaya çıkmaktadır. Hepatoblast göçüyle meydana gelen karaciğer tomurcuğunun gelişimi aşamasında hepatoblastların göçü, çoğalması ve hayatta kalmasını sağlayan çeşitli transkripsiyon faktörleri rol almaktadır.⁶⁷⁻⁷²

HEPATOBLASTLARIN ÇOĞALMASI, HAYATTA KALMASI VE FARKLILAŞMASI

Karaciğer gelişimi esnasında hepatoblastlar olarak bilinen multipotent hepatik progenitör hücreler çoğalmakta ve gelişimin ilerleyen evrelerinde hepatositlere ve intrahepatik safra kanallarını oluşturmak üzere kolanjiyositlere farklılaşmaktadır (e13,5).⁷³ Bu süreçte hepatositlerin hem hayatta kalmaya hem de hücre ölümüne karşı koymaya ihtiyaçları vardır. Hepatoblastların çoğalması, hayatta kalması ve hücre ölümüne karşı koyması da yine çeşitli transkripsiyon faktörleri aracılığıyla sağlanmaktadır. **TBx3**'ün hepatoblast çoğalımında ve **p19^{ARF}** ekspresyonunu baskılayarak karaciğer gelişiminde önemli rolü bulunmaktadır.⁷²

Sek1 transkripsiyon faktörünün de hepatoblast gelişimi ve hayatta kalmasında rolü büyüktür. Bunların dışında **Xbp1**, **Foxm1b**, **Nrf1**, **Pi3kr1**, **Raf1** molekülleri de hepatosit çoğalması ve hayatta kalması üzerine etkilidirler.^{67-71,74}

Hepatik morfogenez sürecinde hepatoblastların hayatta kalmasında majör koruyuculuk **nükleer faktör-kappa B** (NF-κB) sinyali aracılığıyla sağlanmaktadır. Bu sinyal yolağında ortaya çıkan genetik hasarlar hücre apoptozunu tetiklemektedir. **P65**, **T2K**, "**glycogen synthase kinase-3β** (GSK3β)" hasarlı farelerde yapılan çalışmalarda NF-KB sinyal yolağı ile olan ilişkilerinden dolayı hücre ölüm-ler gözlenmiştir.⁷⁵⁻⁷⁷

Hepatik morfogenez sırasında bazı genlerin kaybından dolayı apoptotik ölümden farklı olarak oksidatif stres ve diğer mekanizmalara bağlı olarak nekrotik ölümler de gözlenmektedir. Bu süreçle ilişkili olarak **Nrf1**, **MTF1** ve **C-Jun**'da çoğalma olduğu gibi hayatta kalmasında da oldukça etkilidir.^{70,78,79}

Çoğalabilen ve hayatta kalmayı başarabilen hepatoblastlar, çeşitli faktörlerin de etkisiyle hepatositlere ve kolanjiyositlere farklılaşırlar. Hepatosit farklılaşması sürecinde **HNF4α**, **C/EBPα** ve **HNF1α** büyük öneme sahiptir. Yapılan genetik çalışmalarda **Hnf alfa**/- fetal hepatositlerde hepatik enzim ekspresyonunda noksanlık ve anormal hepatosit yapısı gözlenmiştir.⁸⁰⁻⁸²

HNF α 2'nin bu süreçteki rolü, hepatositlerin epitelyal yapısının oluşmasını sağlayan hücre adezyon ve bağlantı proteinlerini kodlayan genlerin ekspresyonunda promotör görevi görmesidir.⁸³⁻⁸⁵ C/EBP- α ve HNF1 α -/- farelerde yapılan çalışmalarda da hepatositlerin farklılaşması gerçekleşmemektedir. Bu da glikojen depolarında hasara sebep olarak farelerin hipoglisemi nedeni ile ölümüne yol açmaktadır.^{86,87}

Hepatoblastların kolanjiyositlere dönüşüm aşamasında periportal mezenşimden salınan TGF- β , Wnt ve Notch sinyalleri rol oynamaktadır.⁸⁸⁻⁹³

Kolanjiyositlerin gelişimi portal venle yakın ilişkide olan hepatoblastlardan gerçekleşmektedir (e13). Hepatoblast farklılaşması ile ilgili yapılan çalışmada, aktivin/TGF- β sinyalinin farklılaşmayı kontrol ettiği gözlemlenmiştir. Yüksek aktivin/TGF- β sinyali, portal ven etrafındaki hepatoblastların safra hücrelerine farklılaşmasını sağlamıştır.⁹¹ Benzer şekilde Jagged 1, Notch 2 ve SOX9 transkripsiyon faktörü de safra epiteline farklılaşmada önemli role sahiptir.^{74,94,95}

HEPATOSİT OLGUNLAŞMASI

Hepatoblastlardan farklılaşan ilk hepatositler, olgunlaşmamış hepatositlerdir. Bu süreçte hepatositlerin morfolojik görünimleri kübik şekilli ve açık sitoplazmalıdır. Sitoplazmalarının açık renkte görünmesinin sebebi de glikojenin sonraki aşamalarda belirginleşmesidir.⁹⁶ Hepatositlerin olgunlaşma sürecinde **onkostatın M (OSM)**, glukokortikoidler, HGF, Wnt, HNF4 α ve C/EBP α transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu büyük öneme sahiptir.^{64,69,97} Olgunlaşan hepatositler perinatal ve postnatal dönemde gelişimlerine ve şekillenmelerine devam ederler. OSM ekspresyonu gebeliğin ortalarında başlamakta ve postnatal aşamada azalmaktadır. HGF ise doğumdan sonraki birkaç günde karaciğerde eksprese edilmektedir. OSM ve HGF'nin olgunlaşma sürecindeki sinyal yolları da birbirinden farklıdır.⁹⁸

SİNÜZOIDLER

Karaciğer sinüzoidleri hepatik sinüzoidal endotelial hücreleri ve stellat hücreleri içerir. Anjiyogenezis oluşmuş karaciğerin ilk kan damarlarıdır.^{99,100} Özelleşmiş epitelyal hücreler olan sinüzoidal en-

dotelyal hücreler VAP1, stabilin 1 ve 2, L- SIGN ve Reelin eksprese eder. Fakat klasik endotelial hücrelerde bulunan Tip 1 transmembran sialomusin (CD34) eksprese etmezler. Bundan farklı şekilde lenfatik endotelial hücrelere benzer olarak lenfatik vasküler endotelial hiyalüronan reseptör 1 (LYVE-1)'i eksprese ederler.^{101,102} Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda, Wnt2'nin hepatik sinüzoidal hücrelerde eksprese edildiği ve onların çoğalmasında etkili olduğu ortaya çıkarılmıştır.¹⁰³ Sinüzoidal farklılaşmalar, gebeliğin beş ve 12. haftalarında meydana gelmektedir. Perisinüzoidal matriks sekiz ve 10. haftalar arasında bazal membran komponentlerini (laminin) kaybetmeye başlamakta ve aynı periyotta endotelial tabakada tipik sitoplazmik fenestrasyon meydana gelmektedir.¹⁰⁴ Sinüzoidal farklılaşmanın ilk aşaması (endotelial fenestrasyon gelişimi, subendotelial bazal membran kaybı ve ekstraselüler matriks kompozisyonundaki değişiklikler), gebeliğin yedinci haftasında karaciğerin hematopoietik işlevlerinin başlamasını sağlamaktadır. Perisinüzoidal mezenşimden kaynaklanan faktörler ve hepatositlerin farklılaşması, sinüzoidal endotelial hücre farklılaşmasının ana sebebidir. Bu farklılaşmada vasküler endotelial büyüme faktörü [vascular endothelial growth factor (VEGF)] ve TGF- β ailelerinin önemli rolü vardır.^{105,106}

HEPATİK STELLAT HÜCRELER VE KUPFFER HÜCRELERİ

Hepatik stellat hücreler (Ito hücreleri) perisinüzoidal aralıkta (Disse aralığında) yer alan hücrelerdir. Özellikle A vitamininin lipid damlacıkları içinde retinil esterler hâlinde depolanmasını sağlarlar. Hepatik stellat hücrelerin kökeniyle ilgili olarak; endodermal, nöral krista veya mezenşim olduklarına dair tartışmalar bulunmaktadır. Bunun sebebi de stellat hücrelerin üç germ tabakasının belirteçlerini eksprese etmeleri olarak gösterilmektedir.¹⁰⁷ Proepikardiyumdan ve STM'den köken alan mezotelial hücreler, sinüzoidlerdeki hem endotelial hem de stellat hücrelere dönüşebilir denilmiştir.^{108,109} İnsan ve farelerde yapılan son çalışmalar da mezotelial orijinli olduklarını desteklemiştir.^{110,111} Mutant fareler üzerinde yapılan çalışmalar, "Wilm tümör baskılayıcı gen 1 (Wt1)" ve LIM

homeobox gene K_{Hx2}'nin hem septum transversumda hem de gelişim sırasında hepatik stellat hücrelerde eksprese edildiğini göstermiştir.^{112,113} Wt1 bulunmayan fetal karaciğerler ve Lhx2 susturulmuş embriyolarda yapılan çalışmalar da bu genlerin hepatik stellat hücre gelişim ve aktivasyonunda rolleri olduğunu göstermiştir.^{114,115}

Kupffer hücreleri, hepatik sinüzoidal endotel yüzeyinde yer alan makrofajlardır. Karaciğer populasyonunun %15'ini, vücuttaki makrofajların ise %50'sini oluştururlar. Karaciğerin organogenezi aşamasında tam olarak rolleri bilinmese de fetal karaciğer hematopoezinde eritrositlerin olgunlaşmasında rol alabilecekleri düşünülmektedir.¹¹⁶ Kupffer hücreleri fetal yolk kesesi öncüllerinden köken alarak granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör ve makrofaj stimüle edici faktöre bağımlı olarak kendilerini yenileyebilirler.^{117,118}

EMBRYONİK GELİŞİM SÜRECİNİN KARACİĞER HASTALIKLARININ TEDAVİSİNE KATKISI

Karaciğer rejeneratif bir organ olmasına rağmen karaciğer transplantasyonu, uzun yıllardır akut ve kronik karaciğer hastalıklarının tedavisinde etkili yöntem olarak kullanılmaktadır. Ancak donör sayısının yetersizliği ve çeşitli komplikasyonlar transplantasyonun başarısını sınırlandırmaktadır. Son zamanlarda insan kaynaklı pluripotent kök hücreler ve rejeneratif tıp için yapay hücre mühendisliği gibi yeni yaklaşımlara karaciğer hasarının üstesinden gelinmesinde hepatosit transplantasyonu karaciğer transplantasyonuna alternatif olarak kullanılmaktadır.¹¹⁹⁻¹²² Hepatositler, in vitro embriyonik kök hücrelerden ya da indüklenmiş pluripotent hücrelerden farklılaştırılabilir ya da direkt olarak erişkin fibroblastlardan gelişimsel süreçte rol alan transkripsiyon faktörleriyle uyarılarak yeniden programlanabilirler.¹²³⁻¹²⁷ Hepatosit transplantasyonunun güvenliği ve kısa süreli etkisi kanıtlanmış olmasına rağmen donör yetersizliği, düşük hücre tutulumu ve uzun süreli etki eksikliği gibi bazı önemli engellerin üstesinden gelinmesi gerekmektedir.¹²⁸⁻¹³¹ Fonksiyonel bir hepatosit oluşturmak için karaciğer gelişiminde rol alan gelişim yollarının ve hücre-hücre etkileşimlerinin sağlandığı gelişimsel mikro ortamın dikkate alınması gerekir.^{132,133} Böylelikle hepatosit transplantasyonunun sınırlayıcı etkilerinden uzaklaşıp hepatosit olgunlaşmasının daha iyi anlaşılması için embriyonik hepatogenez sırasında fonksiyonel olan benzer sinyal yollarından yola çıkılarak bu sürecin etkinleştirilmesine olanak sağlanmaktadır. Ayrıca son zamanlarda doku mühendisliğinin de katılımıyla hücreler için amaca uygun iskelelerin kullanımı ile hücreler için daha uygun ortamlarda oluşturulmaktadır.¹³⁴⁻¹³⁸ Sonuç olarak, gelişimsel faktörlerin katkısıyla ve multidisipliner uygulamaların bir arada kullanımıyla hem in vivo hem in vitro da karaciğer gelişiminin şekillenişinin anlaşılmasında umut verici sonuçlar oluşturulabilir.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Bu çalışma hazırlanırken tüm yazarlar eşit katkı sağlamıştır.

KAYNAKLAR

1. Langman Medikal Embriyoloji. In: Sadler TW, ed. Başaklar AC, çeviri editörü. 11. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2010. p.400.
2. Wells JM, Melton DA. Early mouse endoderm is patterned by soluble factors from adjacent germ layers. *Development*. 2000;127(8):1563-72. [[PubMed](#)]
3. Shen MM. Nodal signaling: developmental roles and regulation. *Development*. 2007;134(6):1023-34. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
4. Zorn AM, Wells JM. Molecular basis of vertebrate endoderm development. *Int Rev Cytol*. 2007;259:49-111. [[Crossref](#)]
5. Liu JX, Xu QH, Li S, Yu X, Liu W, Ouyang G, et al. Transcriptional factors Eaf1/2 inhibit endoderm and mesoderm formation via suppressing TGF- β signaling. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*. 2017;1860(10):1103-16. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
6. Fan X, Hagos EG, Xu B, Sias C, Kawakami K, Burdine RD, et al. Nodal signals mediate interactions between the extra-embryonic and embryonic tissues in zebrafish. *Dev Biol*. 2007;310(2):363-78. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
7. Hyde CE, Old RW. Regulation of the early expression of the *Xenopus* nodal-related 1 gene, *Xnr1*. *Development*. 2000;127:1221-9. [[PubMed](#)]
8. Xanthos JB, Kofron M, Wylie C, Heasman J. Maternal VegT is the initiator of a molecular network specifying endoderm in *Xenopus laevis*. *Development*. 2001;128(2):167-80. [[PubMed](#)]
9. Crompton MR, Bartlett TJ, MacGregor AD, Manfioletti G, Buratti E, Giancotti V, et al. Identification of a novel vertebrate homeobox gene expressed in haematopoietic cells. *Nucleic Acids Res*. 1992;20(21):5661-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
10. Ohlsson H, Karlsson K, Edlund T. IPF1, a homeodomain-containing transactivator of the insulin gene. *EMBO J*. 1993;12(11):4251-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
11. Zeng X, Yutzey KE, Whitsett JA. Thyroid transcription factor-1, hepatocyte nuclear factor-3 beta and surfactant protein A and B in the developing chick lung. *J Anat*. 1998;193(Pt 3):399-408. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
12. Ehrman LA, Yutzey KE. Anterior expression of the caudal homologue cCdx-B activates a posterior genetic program in avian embryos. *Dev Dyn*. 2001;221(4):412-21. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
13. Grapin-Botton A. Antero-posterior patterning of the vertebrate digestive tract: 40 years after Nicole Le Douarin's PhD thesis. *Int J Dev Biol*. 2005;49(2-3):335-47.
14. Tremblay KD, Zaret KS. Distinct populations of endoderm cells converge to generate the embryonic liver bud and ventral foregut tissues. *Dev Biol*. 2005;280(1):87-99. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
15. Moore-Scott BA, Opoka R, Lin SC, Kordich JJ, Wells JM. Identification of molecular markers that are expressed in discrete anterior-posterior domains of the endoderm from the gastrula stage to mid-gestation. *Dev Dyn*. 2007;236(7):1997-2003. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
16. Roberts DJ, Johnson RL, Burke AC, Nelson CE, Morgan BA, Tabin C. Sonic hedgehog is an endodermal signal inducing Bmp-4 and Hox genes during induction and regionalization of the chick hindgut. *Development*. 1995;121(10):3163-74. [[PubMed](#)]
17. Tiso N, Filippi A, Pauls S, Bortolussi M, Argenton F. BMP signalling regulates antero-posterior endoderm patterning in zebrafish. *Mech Dev*. 2002;118(1-2):29-37. [[Crossref](#)]
18. Kumar M, Jordan N, Melton D, Grapin-Botton A. Signals from lateral plate mesoderm instruct endoderm toward a pancreatic fate. *Dev Biol*. 2003;259(1):109-22. [[Crossref](#)]
19. Chen Y, Pan FC, Brandes N, Afelik S, Sölter M, Pieler T. Retinoic acid signaling is essential for pancreas development and promotes endocrine at the expense of exocrine cell differentiation in *Xenopus*. *Dev Biol*. 2004;271(1):144-60. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
20. Stafford D, Hornbruch A, Mueller PR, Prince VE. A conserved role for retinoid signaling in vertebrate pancreas development. *Dev Genes Evol*. 2004;214(9):432-41. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
21. Martin MA, Bhatia M. Analysis of the human fetal liver hematopoietic microenvironment. *Stem Cells Dev*. 2005;14(5):493-504. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
22. Dessimoz J, Opoka R, Kordich JJ, Grapin-Botton A, Wells JM. FGF signaling is necessary for establishing gut tube domains along the anterior-posterior axis in vivo. *Mech Dev*. 2006;123(1):42-55. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
23. McLin VA, Rankin SA, Zorn AM. Repression of Wnt/beta-catenin signaling in the anterior endoderm is essential for liver and pancreas development. *Development*. 2007;134(12):2207-17. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
24. Goessling W, North TE, Lord AM, Ceol C, Lee S, Weidinger G, et al. APC mutant zebrafish uncover a changing temporal requirement for wnt signaling in liver development. *Dev Biol*. 2008;320(1):161-74. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
25. Wills A, Dickinson K, Khokha M, Baker JC. Bmp signaling is necessary and sufficient for ventrolateral endoderm specification in *Xenopus*. *Dev Dyn*. 2008;237(8):2177-86. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
26. Wang J, Rhee S, Palaria A, Tremblay KD. FGF signaling is required for anterior but not posterior specification of the murine liver bud. *Dev Dyn*. 2015;244(3):431-43. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
27. Zaret KS. Liver specification and early morphogenesis. *Mech Dev*. 2000;92(1):83-8. [[Crossref](#)]
28. Zaret KS. Hepatocyte differentiation: from the endoderm and beyond. *Curr Opin Genet Dev*. 2001;11(5):568-74. [[Crossref](#)]
29. Zaret KS, Grompe M. Generation and regeneration of cells of the liver and pancreas. *Science*. 2008;322(5907):1490-4. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
30. Zaret KS, Carroll JS. Pioneer transcription factors: establishing competence for gene expression. *Genes Dev*. 2011;25(21):2227-41. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
31. Gualdi R, Bossard P, Zheng M, Hamada Y, Coleman JR, Zaret KS. Hepatic specification of the gut endoderm in vitro: cell signalling and transcriptional control. *Genes Dev*. 1996;10(13):1670-82. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
32. Bossard P, Zaret KS. GATA transcription factors as potentiators of gut endoderm differentiation. *Development*. 1998;125(24):4909-17. [[PubMed](#)]
33. Bossard P, Zaret KS. Repressive and restrictive mesodermal interactions with gut endoderm: possible relation to Meckel's Diverticulum. *Development*. 2000;127(22):4915-23. [[PubMed](#)]
34. Cirillo LA, Lin FR, Cuesta I, Friedman D, Jarnik M, Zaret KS. Opening of compacted chromatin by early developmental transcription factors HNF3 (FoxA) and GATA-4. *Mol Cell*. 2002;9(2):279-89. [[Crossref](#)]
35. Lee CS, Friedman JR, Fulmer JT, Kaestner KH. The initiation of liver development is dependent on Foxa transcription factors. *Nature*. 2005;435(7044):944-7.
36. Sekiya T, Muthurajan UM, Luger K, Tulin AV, Zaret KS. Nucleosome-binding affinity as a primary determinant of the nuclear mobility of the pioneer transcription factor FoxA. *Genes Dev*. 2009;23(7):804-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]

37. Kuo CT, Morrisey EE, Anandappa R, Sigrist K, Lu MM, Parmacek MS, et al. GATA4 transcription factor is required for ventral morphogenesis and heart tube formation. *Genes Dev.* 1997;11(8):1048-60.
38. Molkenjin JD, Lin Q, Duncan SA, Olson EN. Requirement of the transcription factor GATA4 for heart tube formation and ventral morphogenesis. *Genes Dev.* 1997;11(8):1061-72. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
39. Zhao R, Watt AJ, Li J, Luecke-Wheeler J, Morrisey EE, Duncan SA. GATA6 is essential for embryonic development of the liver but dispensable for early heart formation. *Mol Cell Biol.* 2005;25(7):2622-31. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
40. Watt AJ, Zhao R, Li J, Duncan SA. Development of the mammalian liver and ventral pancreas is dependent on GATA4. *BMC Dev Biol.* 2007;7:37. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
41. Zhang L, He JB. Progress of GATA6 in liver development. *Yi Chuan.* 2018;40(1):22-32. [[PubMed](#)]
42. Rossi JM, Dunn NR, Hogan BL, Zaret KS. Distinct mesodermal signals, including BMPs from the septum transversum mesenchyme, are required in combination for hepatogenesis from the endoderm. *Genes Dev.* 2001;15(15):1998-2009. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
43. Chung WS, Shin CH, Stainier DY. Bmp2 signaling regulates the hepatic versus pancreatic fate. *Dev Cell.* 2008;15(5):738-48. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
44. Lupien M, Eeckhoutte J, Meyer CA, Wang QB, Zhang Y, Li W, et al. FoxA1 translates epigenetic signatures into enhancer-driven lineage-specific transcription. *Cell.* 2008;132:958-70. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
45. Xu CR, Cole PA, Meyers DJ, Kormish J, Dent S, Zaret KS. Chromatin "prepattern" and histone modifiers in a fate choice for liver and pancreas. *Science.* 2011;332(6032):963-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
46. Shin D, Lee Y, Poss KD, Stainier DY. Restriction of hepatic competence by Fgf signaling. *Development.* 2011;138(7):1339-48. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
47. Zaret KS. Regulatory phases of early liver development: paradigms of organogenesis. *Nat Rev Genet.* 2002;3(7):499-512. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
48. Zaret KS, Watts J, Xu E, Wandzioch E, Smale ST, Sekiya T. Pioneer factors, genetic competence, and inductive signaling: programming liver and pancreas progenitors from the endoderm. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2008;73:119-26. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
49. North TE, Goessling W. Endoderm specification, liver development, and regeneration. *Methods Cell Biol.* 2011;101:205-23. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
50. Duncan SA, Watt AJ. BMPs on the road to hepatogenesis. *Genes Dev.* 2001;15(15):1879-84. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
51. Calmont A, Wandzioch E, Tremblay KD, Minowada G, Kaestner KH, Martin GR, et al. An FGF response pathway that mediates hepatic gene induction in embryonic endoderm cells. *Dev Cell.* 2006;11(3):339-48. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
52. Bort R, Signore M, Tremblay K, Martinez Barbera JP, Zaret KS. Hex homeobox gene controls the transition of the endoderm to a pseudostratified, cell emergent epithelium for liver bud development. *Dev Biol.* 2006;290(1):44-56. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
53. Margagliotti S, Clotman F, Pierreux CE, Lemoine P, Rousseau GG, Henriot P, et al. Role of metalloproteinases at the onset of liver development. *Dev Growth Differ.* 2008;50(5):331-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
54. Shiojiri N, Sugiyama Y. Immunolocalization of extracellular matrix components and integrins during mouse liver development. *Hepatology.* 2004;40(2):346-55. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
55. Tatsumi N, Miki R, Katsu K, Yokouchi Y. Neurturin-GFRalpha2 signaling controls liver bud migration along the ductus venosus in the chick embryo. *Dev Biol.* 2007;307(1):14-28. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
56. Matsumoto K, Yoshitomi H, Rossant J, Zaret KS. Liver organogenesis promoted by endothelial cells prior to vascular function. *Science.* 2001;294(5542):559-63. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
57. Keng VW, Yagi H, Ikawa M, Nagano T, Myint Z, Yamada K, et al. Homeobox gene Hex is essential for onset of mouse embryonic liver development and differentiation of the monocyte lineage. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;276(3):1155-61. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
58. Duncan SA. Generation of embryos directly from embryonic stem cells by tetraploid embryo complementation reveals a role for GATA factors in organogenesis. *Biochem Soc Trans.* 2005;33(Pt 6):1534-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
59. Zhao R, Watt AJ, Battle MA, Li J, Bondow BJ, Duncan SA. Loss of both GATA4 and GATA6 blocks cardiac myocyte differentiation and results in acardia in mice. *Dev Biol.* 2008;317(2):614-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
60. Sosa-Pineda B, Wigle JT, Oliver G. Hepatocyte migration during liver development requires Prox1. *Nat Genet.* 2000;25(3):254-5. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
61. Burke Z, Oliver G. Prox1 is an early specific marker for the developing liver and pancreas in the mammalian foregut endoderm. *Mech Dev.* 2002;118(1-2):147-55. [[Crossref](#)]
62. Clotman F, Lannoy VJ, Reber M, Cereghini S, Cassiman D, Jacquemin P, et al. The onecut transcription factor HNF6 is required for normal development of the biliary tract. *Development.* 2002;129(8):1819-28. [[PubMed](#)]
63. Jacquemin P, Lemaigre FP, Rousseau GG. The Onecut transcription factor HNF-6 (OC-1) is required for timely specification of the pancreas and acts upstream of Pdx-1 in the specification cascade. *Dev Biol.* 2003;258(1):105-16. [[Crossref](#)]
64. Jacquemin P, Pierreux CE, Fierens S, van Eyll JM, Lemaigre FP, Rousseau GG. Cloning and embryonic expression pattern of the mouse Onecut transcription factor OC-2. *Gene Expr Patterns.* 2003;3(5):639-44. [[Crossref](#)]
65. Pierreux CE, Vanhorenbeeck V, Jacquemin P, Lemaigre FP, Rousseau GG. The transcription factor hepatocyte nuclear factor-6/Onecut-1 controls the expression of its paralog Onecut-3 in developing mouse endoderm. *J Biol Chem.* 2004;279(49):51298-304. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
66. Margagliotti S, Clotman F, Pierreux CE, Beaudry JB, Jacquemin P, Rousseau GG, et al. The Onecut transcription factors HNF-6/OC-1 and OC-2 regulate early liver expansion by controlling hepatoblast migration. *Dev Biol.* 2007;311(2):579-89. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
67. Fruman DA, Mauvais-Jarvis F, Pollard DA, Yballe CM, Brazil D, Bronson RT, et al. Hypoglycaemia, liver necrosis and perinatal death in mice lacking all isoforms of phosphoinositide 3-kinase p85 alpha. *Nat Genet.* 2000;26(3):379-82. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
68. Reimold AM, Etkin A, Clauss I, Perkins A, Friend DS, Zhang J, et al. An essential role in liver development for transcription factor XBP-1. *Genes Dev.* 2000;14(2):152-7. [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
69. Watanabe T, Nakagawa K, Ohata S, Kitagawa D, Nishitai G, Seo J, et al. SEK1/MKK4-mediated SAPK/JNK signaling participates in embryonic hepatoblast proliferation via a pathway different from NF-kappaB-induced anti-apoptosis. *Dev Biol.* 2002;250(2):332-47. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
70. Chen Y, Jürgens K, Hollemann T, Claussen M, Ramadori G, Pieler T. Cell-autonomous and signal-dependent expression of liver and intestine marker genes in pluripotent precursor cells from *Xenopus* embryos. *Mech Dev.* 2003;120(3):277-88. [[Crossref](#)]

71. Krupczak-Hollis K, Wang X, Kalinichenko VV, Gusarova GA, Wang IC, Dennewitz MB, et al. The mouse Forkhead Box m1 transcription factor is essential for hepatoblast mitosis and development of intrahepatic bile ducts and vessels during liver morphogenesis. *Dev Biol.* 2004;276(1):74-88. [Crossref] [PubMed]
72. Suzuki A, Sekiya S, Büscher D, Izpisua Belmonte JC, Taniguchi H. Tbx3 controls the fate of hepatic progenitor cells in liver development by suppressing p19ARF expression. *Development.* 2008;135(9):1589-95. [Crossref] [PubMed]
73. Lemaigre F, Zaret KS. Liver development update: new embryo models, cell lineage control, and morphogenesis. *Curr Opin Genet Dev.* 2004;14(5):582-90. [Crossref] [PubMed]
74. Mikula M, Schreiber M, Husak Z, Kucerova L, Ruth J, Wieser R, et al. M. Embryonic lethality and fetal liver apoptosis in mice lacking the c-raf-1 gene. *EMBO J.* 2001;20(8):1952-62. [Crossref] [PubMed] [PMC]
75. Beg AA, Sha WC, Bronson RT, Ghosh S, Baltimore D. Embryonic lethality and liver degeneration in mice lacking the RelA component of NF-kappa B. *Nature.* 1995;376(6536):167-70. [Crossref] [PubMed]
76. Hoefflich KP, Luo J, Rubie EA, Tsao MS, Jin O, Woodgett JR. Requirement for glycogen synthase kinase-3beta in cell survival and NF-kappaB activation. *Nature.* 2000;406(6791):86-90. [Crossref] [PubMed]
77. Abshagen K, Eipel C, Kalff JC, Menger MD, Vollmar B. Loss of NF-kappaB activation in Kupffer cell-depleted mice impairs liver regeneration after partial hepatectomy. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2007;292(6):1570-7. [Crossref] [PubMed]
78. Gunes C, Heuchel R, Georgiev O, Muller KH, Lichtlen P, Blüthmann H, et al. Embryonic lethality and liver degeneration in mice lacking the metal-responsive transcriptional activator MTF-1. *EMBO J.* 1998;17(10):284-54. [Crossref] [PubMed] [PMC]
79. Eferl R, Sibilia M, Hilberg F, Fuchs bichler A, Kufferath I, Guertl B, et al. Functions of c-Jun in liver and heart development. *J Cell Biol.* 1999;145(5):1049-61. [Crossref] [PubMed] [PMC]
80. Li J, Ning G, Duncan SA. Mammalian hepatocyte differentiation requires the transcription factor HNF-4alpha. *Genes Dev.* 2000;14(4):464-74. [PubMed] [PMC]
81. Parviz F, Matullo C, Garrison WD, Savatski L, Adamson JW, Ning G, et al. Hepatocyte nuclear factor 4alpha controls the development of a hepatic epithelium and liver morphogenesis. *Nat Genet.* 2003;34(3):292-6. [Crossref] [PubMed]
82. Watt AJ, Garrison WD, Duncan SA. HNF4: a central regulator of hepatocyte differentiation and function. *Hepatology.* 2003;37(6): 1249-53. [Crossref] [PubMed]
83. Satohisa S, Chiba H, Osanai M, Ohno S, Kojima T, Saito T, et al. Behavior of tight-junction, adherens-junction and cell polarity proteins during HNF-4alpha-induced epithelial polarization. *Exp Cell Res.* 2005;310(1):66-78. [Crossref] [PubMed]
84. Battle MA, Konopka G, Parviz F, Gaggi AL, Yang C, Sladek FM, et al. Hepatocyte nuclear factor 4 alpha orchestrates expression of cell adhesion proteins during the epithelial transformation of the developing liver. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(22):8419-24. [Crossref] [PubMed] [PMC]
85. Konopka G, Tekielna J, Iverson M, Wells C, Duncan SA. Junctional adhesion molecule-A is critical for the formation of pseudocanaliculi and modulates E-cadherin expression in hepatic cells. *J Biol Chem.* 2007;282(38):28137-48. [Crossref] [PubMed]
86. Wang ND, Finegold MJ, Bradley A, Ou CN, Abdelsayed SV, Wilde MD, et al. Impaired energy homeostasis in C/EBP alpha knockout mice. *Science.* 1995;269(5227):1108-12. [Crossref] [PubMed]
87. Pontoglio M, Barra J, Hadchouel M, Doyen A, Kress C, Bach JP, et al. Hepatocyte nuclear factor 1 inactivation results in hepatic dysfunction, phenylketonuria, and renal Fanconi syndrome. *Cell.* 1996;84(4):575-85. [Crossref]
88. Weinstein M, Monga SP, Liu Y, Brodie SG, Tang Y, Li C, et al. Smad proteins and hepatocyte growth factor control parallel regulatory pathways that converge on beta1-integrin to promote normal liver development. *Mol Cell Biol.* 2001;21(15):5122-31. [Crossref] [PubMed] [PMC]
89. Monga SP, Monga HK, Tan X, Mulé K, Pedaditakis P, Michalopoulos GK. Beta-catenin antisense studies in embryonic liver cultures: role in proliferation, apoptosis, and lineage specification. *Gastroenterology.* 2003;124(1): 202-16. [Crossref] [PubMed]
90. Hussain SZ, Sneddon T, Tan X, Micsenyi A, Michalopoulos GK, Monga SP. Wnt impacts growth and differentiation in ex vivo liver development. *Exp Cell Res.* 2004;292(1):157-69. [Crossref] [PubMed]
91. Clotman F, Jacquemin P, Plumb-Rudewicz N, Pierreux CE, Van der Smissen P, Dietz HC, et al. Control of liver cell fate decision by a gradient of TGF beta signaling modulated by Onecut transcription factors. *Genes Dev.* 2005;19(16):1849-54. [Crossref] [PubMed] [PMC]
92. Clotman F, Lemaigre FP. Control of hepatic differentiation by activin/TGFbeta signaling. *Cell Cycle.* 2006;5(2):168-71. [Crossref] [PubMed]
93. Decaens T, Godard C, de Reyniès A, Rickman DS, Tronche F, Couty JP, et al. Stabilization of beta-catenin affects mouse embryonic liver growth and hepatoblast fate. *Hepatology.* 2008;47(1):247-58. [Crossref] [PubMed]
94. Geisler F, Nagl F, Mazur PK, Lee M, Zimmer-Strobl U, Strobl LJ, et al. Liver-specific inactivation of Notch2, but not Notch1, compromises intrahepatic bile duct development in mice. *Hepatology.* 2008;48(2):607-16. [Crossref] [PubMed]
95. Zong Y, Panikkar A, Xu J, Antoniou A, Raynaud P, Lemaigre F, et al. Notch signaling controls liver development by regulating biliary differentiation. *Development.* 2009;136(10): 1727-39. [Crossref] [PubMed] [PMC]
96. Monaghan AP, Kaestner KH, Grau E, Schütz G. Postimplantation expression patterns indicate a role for the mouse forkhead/Hnf-3 alpha, beta and gamma genes in determination of the definitive endoderm, chordamesoderm and neuroectoderm. *Development.* 1993;119(3):567-78. [PubMed]
97. Flodby P, Barlow C, Kylefjord H, Ahrlund-Richter L, Xanthopoulos KG. Increased hepatic cell proliferation and lung abnormalities in mice deficient in CCAAT/enhancer binding protein alpha. *Biol Chem.* 1996;271(40): 24753-60. [Crossref]
98. Kamiya A, Kinoshita T, Miyajima A. Oncostatin M and hepatocyte growth factor induce hepatic maturation via distinct signaling pathways. *FEBS Lett.* 2001;492(1-2):90-4. [Crossref]
99. Elvevold K, Smedsrød B, Martinez I. The liver sinusoidal endothelial cell: a cell type of controversial and confusing identity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2008;294(2):G391-400. [Crossref] [PubMed]
100. Collardeau-Frachon S, Scoazec JY. Vascular development and differentiation during human liver organogenesis. *Anat Rec (Hoboken).* 2008;291(6):614-27. [Crossref] [PubMed]
101. Mouta Carreira C, Nasser SM, di Tomaso E, Padera TP, Boucher Y, Tomarev SI, et al. LYVE-1 is not restricted to the lymph vessels: expression in normal liver blood sinusoids and down-regulation in human liver cancer and cirrhosis. *Cancer Res.* 2001;61(22):8079-84. [PubMed]
102. Lalor PF, Lai WK, Curbishley SM, Shetty S, Adams DH. Human hepatic sinusoidal endothelial cells can be distinguished by expression of phenotypic markers related to their specialised functions in vivo. *World J Gastroenterol.* 2006;12(34):5429-39. [Crossref] [PubMed] [PMC]

103. Klein D, Demory A, Peyre F, Kroll J, Augustin HG, Helfrich W, et al. Wnt2 acts as a cell type-specific, autocrine growth factor in rat hepatic sinusoidal endothelial cells cross-stimulating the VEGF pathway. *Hepatology*. 2008;47(3):1018-31. [Crossref] [PubMed]
104. Enzan H, Himeno H, Hiroi M, Kiyoku H, Saibara T, Onishi S. Development of hepatic sinusoidal structure with special reference to the Ito cells. *Microsc Res Tech*. 1997;39(4):336-49. [Crossref]
105. Yamane A, Seetharam L, Yamaguchi S, Gotoh N, Takahashi T, Neufeld G, et al. A new communication system between hepatocytes and sinusoidal endothelial cells in liver through vascular endothelial growth factor and Flt tyrosine kinase receptor family (Flt-1 and KDR/Flk-1). *Oncogene*. 1994;9(9):2683-90. [PubMed]
106. Yoshida M, Nishikawa Y, Omori Y, Yoshioka T, Tokairin T, McCourt P, et al. Involvement of signaling of VEGF and TGF-beta in differentiation of sinusoidal endothelial cells during culture of fetal rat liver cells. *Cell Tissue Res*. 2007;329(2):273-82. [Crossref] [PubMed]
107. Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev*. 2008;88(1):125-72. [Crossref] [PubMed] [PMC]
108. Pérez-Pomares JM, Carmona R, González-Iriarte M, Macías D, Guadix JA, Muñoz-Chápuli R. Contribution of mesothelium-derived cells to liver sinusoids in avian embryos. *Dev Dyn*. 2004;229(3):465-74. [Crossref] [PubMed]
109. Yin C, Evason KJ, Asahina K, Stainer DYR. Hepatic stellate cells in liver development, regeneration, and cancer. *J Clin Invest*. 2013;123(5):1902-10. [Crossref] [PubMed] [PMC]
110. Loo CK, Wu XJ. Origin of stellate cells from submesothelial cells in a developing human liver. *Liver Int*. 2008;28(10):1437-45. [Crossref] [PubMed]
111. Asahina K, Tsai SY, Li P, Ishii M, Maxson RE Jr, Sucov HM, et al. Mesenchymal origin of hepatic stellate cells, submesothelial cells, and perivascular mesenchymal cells during mouse liver development. *Hepatology*. 2009;49(3):998-1011. [Crossref] [PubMed] [PMC]
112. Kolterud A, Wandzioch E, Carlsson L. Lhx2 is expressed in the septum transversum mesenchyme that becomes an integral part of the liver and the formation of these cells is independent of functional Lhx2. *Gene Expr Patterns*. 2004;4(5):521-8. [Crossref] [PubMed]
113. Asahina K, Zhou B, Pu WT, Tsukamoto H. Septum transversum-derived mesothelium gives rise to hepatic stellate cells and perivascular mesenchymal cells in developing mouse liver. *Hepatology*. 2011;53(3):983-95. [Crossref] [PubMed] [PMC]
114. Wandzioch E, Kolterud A, Jacobsson M, Friedman SL, Carlsson L. Lhx2-/- mice develop liver fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(47):16549-54. [Crossref] [PubMed] [PMC]
115. Ijpenberg A, Pérez-Pomares JM, Guadix JA, Carmona R, Portillo-Sánchez V, Macías D, et al. Wt1 and retinoic acid signaling are essential for stellate cell development and liver morphogenesis. *Dev Biol*. 2007;312(1):157-70. [Crossref] [PubMed]
116. Naito M, Hasegawa G, Ebe Y, Yamamoto T. Differentiation and function of Kupffer cells. *Med Electron Microsc*. 2004;37(1):16-28. [Crossref] [PubMed]
117. Schulz C, Gomez Perdiguero E, Chorro L, Szabo-Rogers H, Cagnard N, Kierdorf K, et al. A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells. *Science*. 2012;336(6077):86-90. [Crossref] [PubMed]
118. Yona S, Kim KW, Wolf Y, Mildner A, Varol D, Breker M, et al. Fate mapping reveals origins and dynamics of monocytes and tissue macrophages under homeostasis. *Immunity*. 2013;38(1):79-91. [Crossref] [PubMed] [PMC]
119. Ren X, Hogaboam C, Carpenter A, Colletti L. Stem cell factor restores hepatocyte proliferation in IL-6 knockout mice following 70% hepatectomy. *J Clin Invest*. 2003;112(9):1407-18. [Crossref] [PubMed] [PMC]
120. Khan AA, Parveen N, Mahaboob VS, Rajendraprasad A, Ravindrakrishnan HR, Venkateswarlu J, et al. Safety and efficacy of autologous bone marrow stem cell transplantation through hepatic artery for the treatment of chronic liver failure: a preliminary study. *Transplant Proc*. 2008;40(4):1140-4. [Crossref] [PubMed]
121. Mark AL, Sun Z, Warren DS, Lonze BE, Knabel MK, Melville Williams GM, et al. Stem cell mobilization is life saving in an animal model of acute liver failure. *Ann Surg*. 2010;252(4):591-6. [Crossref]
122. Takami T, Terai S, Sakaida I. Stem cell therapy in chronic liver disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 2012;28(3):203-8. [Crossref] [PubMed]
123. Soto-Gutiérrez A, Navarro-Alvarez N, Zhao D, Rivas-Carrillo JD, Lebkowski J, Tanaka N, et al. Differentiation of mouse embryonic stem cells to hepatocyte-like cells by co-culture with human liver nonparenchymal cell lines. *Nat Protoc*. 2007;2(2):347-56. [Crossref] [PubMed]
124. Si-Tayeb K, Noto FK, Nagaoka M, Li JX, Battle MA, Duris C, et al. Highly efficient generation of human hepatocyte-like cells from induced pluripotent stem cells. *Hepatology*. 2010;51(1):297-305. [Crossref] [PubMed] [PMC]
125. Stock P, Bruckner S, Ebensing S, Hempel M, Dollinger MM, Christ B. The generation of hepatocytes from mesenchymal stem cells and engraftment into murine liver. *Nat Protoc*. 2010;5(4):617-27. [Crossref] [PubMed]
126. Du Y, Wang J, Jia J, Song N, Xiang C, Xu J, et al. Human hepatocytes with drug metabolic function induced from fibroblasts by lineage reprogramming. *Cell Stem Cell*. 2014;14(3):394-403. [Crossref] [PubMed]
127. Huang P, Zhang L, Gao Y, He Z, Yao D, Wu Z, et al. Direct reprogramming of human fibroblasts to functional and expandable hepatocytes. *Cell Stem Cell*. 2014;14(3):370-84. [Crossref] [PubMed]
128. Gerbal-Chaloin S, Funakoshi N, Caillaud A, Gondeau C, Champon B, Si-Tayeb K. Human induced pluripotent stem cells in hepatology: beyond the proof of concept. *Am J Pathol*. 2014;184(2):332-47. [Crossref] [PubMed]
129. Rezvani M, Grimm AA, Willenbring H. Assessing the therapeutic potential of lab-made hepatocytes. *Hepatology*. 2016;64(1):287-94. [Crossref] [PubMed] [PMC]
130. Takebe T, Sekine K, Enomura M, Koike H, Kimura M, Ogaeri T, et al. Vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nature*. 2013;499(7459):481-4. [Crossref] [PubMed]
131. Camp JG, Sekine K, Gerber T, Loeffler-Wirth H, Binder H, Gac M, et al. Multilineage communication regulates human liver bud development from pluripotency. *Nature*. 2017;546(7659):533-38. [Crossref] [PubMed]
132. Soto-Gutiérrez A, Kobayashi N, Rivas-Carrillo JD, Navarro-Alvarez N, Zhao D, Okitsu T, et al. Reversal of mouse hepatic failure using an implanted liver-assist device containing ES cell-derived hepatocytes. *Nat Biotechnol*. 2006;24(11):1412-9. [Crossref] [PubMed]
133. Soto-Gutiérrez A, Navarro-Alvarez N, Zhao D, Rivas-Carrillo JD, Lebkowski J, Tanaka N, et al. Differentiation of mouse embryonic stem cells to hepatocyte-like cells by co-culture with human liver nonparenchymal cell lines. *Nat Protoc*. 2007;2(2):347-56. [Crossref] [PubMed]
134. Dvir-Ginzberg M, Gamlieli-Bonshtein I, Agbaria R, Cohen S. Liver Tissue engineering within alginate scaffolds: effects of cell-seeding density on hepatocyte viability, morphology, and function. *Tissue Eng*. 2003;9(4):757-66. [Crossref] [PubMed]

135. Levenberg S, Huang NF, Lavik E, Rogers AB, Itskovitz-Eldor J, Langer R. Differentiation of human embryonic stem cells on three-dimensional polymer scaffolds. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100:12741-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]

136. Li N, Zhang Q, Gao S, Song Q, Huang R,

Wang L, et al. Three dimensional graphene foam as a biocompatible and conductive scaffold for neural stem cells. *Sci Rep*. 2013;3:1604. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]

137. Qi CX, Yan XJ, Huang CY, Melerzanov A, Du YA. Biomaterials as carrier, barrier and reactor for cell-based regenerative medicine. *Pro-*

tein Cell. 2015;6:638-53. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]

138. Li X, Tzeng SY, Liu X, et al. Nanoparticle mediated transcriptional modification enhances neuronal differentiation of human neural stem cells following transplantation in rat brain. *Biomaterials*. 2016;84:157-66. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]