

间充质干细胞移植不同的途径可影响肝纤维化治疗效果

马刚, 郑小红, 王敬博, 韩英

<https://doi.org/10.12307/2023.345>

投稿日期: 2022-05-17

采用日期: 2022-06-16

修回日期: 2022-06-29

在线日期: 2022-08-01

中图分类号:

R459.9; R363; R364

文章编号:

2095-4344(2023)19-03099-09

文献标识码: A

文章快速阅读: 间充质干细胞治疗肝纤维化的移植途径及效果

间充质干细胞改善肝纤维化作用

- 间充质干细胞具有低免疫原性、多向分化潜能、体内易获取、体外易扩增等特点, 成为多种疾病的理想的治疗方案;
- 间充质干细胞可通过向肝脏归巢、分化为肝细胞样细胞、调节肝脏免疫微环境方式改善肝纤维化。

移植途径影响间充质干细胞分布

- 肝纤维化模型中, 间充质干细胞移植途径主要包括肝动脉、门静脉、外周静脉、肝内、脾内以及腹腔内注射;
- 综述不同移植途径对间充质干细胞体内生物分布的影响。

移植途径影响间充质干细胞效果

- 临床及临床前研究表明, 间充质干细胞移植能一定程度改善肝纤维化;
- 探讨间充质干细胞不同移植途径在改善纤维化程度上的优劣差异。

文题释义:

间充质干细胞: 是多潜能成体祖细胞, 具有向软骨、脂肪、骨髓基质和骨组织分化的能力, 其来源广泛, 可通过自我更新、多向分化及免疫调节等方式发挥疾病治疗作用。

肝纤维化: 是肝细胞长期、反复受致病因素刺激引发的慢性损伤和炎症, 主要表现为细胞外基质过度积累, 是大多数慢性肝病的共同结果。

摘要

背景: 间充质干细胞作为肝纤维化的一种有前景的新疗法, 治疗作用受多种因素影响, 体内移植作为肝纤维化治疗的关键环节, 在最佳移植途径的选择上存在争议, 优化移植途径对提高间充质干细胞治疗效果尤为重要。

目的: 探讨间充质干细胞经不同移植途径治疗肝纤维化的治疗效果。

方法: 检索PubMed、中国知网、万方和维普数据库中2007-2021年的相关文献, 中文检索词为“间充质干细胞、肝纤维化、移植/输注、途径、机制、生物分布”, 英文检索词为“mesenchymal stem cells/stromal cells, liver/hepatic fibrosis/cirrhosis, mechanism, distribution/biodistribution, transplantation route/delivery/engraftment/injection/administration”, 排除重复、陈旧或与文章主题不相关文献, 对纳入的73篇文献进行总结分析。

结果与结论: ①在相同条件下, 不同移植途径的间充质干细胞在体内生物分布有差异, 受微环境影响可能以不同侧重的抗纤维化机制发挥改善肝纤维化的作用, 从而产生不同的治疗纤维化效果。②动物实验研究表明, 间充质干细胞治疗肝纤维化移植途径中, 经门静脉移植抗纤维化效果与肝动脉等效且不劣于外周静脉移植, 脾内移植与外周静脉移植效果相似, 且高于肝内移植和腹腔移植; ③临床研究表明, 肝内移植和脾内移植具有相似的抗纤维化效果, 肝动脉移植和门静脉移植效果相当且优于外周静脉移植。④经肝动脉和门静脉移植可能是肝纤维化治疗的最佳途径, 经肝内和脾内移植可能因“细胞拥挤”和“短暂清除”限制了干细胞的治疗效果。⑤间充质干细胞治疗肝纤维化移植途径安全有效, 选择适合的干细胞移植途径以提高肝组织内干细胞定植量、增强细胞活性、维持干细胞在肝组织内存活时间, 可能有利于提高间充质干细胞抗纤维化效果, 但不同移植途径下的作用机制尚不明确, 临床中不同移植途径的适用指征尚需进一步探讨。

关键词: 间充质干细胞; 肝纤维化; 肝硬化; 移植途径; 生物分布; 机制; 治疗效果; 组织工程

Different transplantation routes of mesenchymal stem cells can affect therapeutic effect on liver fibrosis

Ma Gang, Zheng Xiaohong, Wang Jingbo, Han Ying

Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi'an 710000, Shaanxi Province, China

Ma Gang, Master candidate, Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi'an 710000, Shaanxi Province, China

Corresponding author: Wang Jingbo, MD, Associate chief physician, Master's supervisor, Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi'an 710000, Shaanxi Province, China

Abstract

BACKGROUND: Mesenchymal stem cell transplantation is a promising new therapy for liver fibrosis, and the treatment effects are affected by many factors. The delivery route of mesenchymal stem cells is a key link in the treatment of liver fibrosis. There is controversy in the selection of the best transplantation route. The transplantation routes are particularly important to improve the treatment effects of mesenchymal stem cells.

解放军空军军医大学第一附属医院消化内科, 陕西省西安市 710000

第一作者: 马刚, 男, 1989年生, 安徽省阜阳市人, 汉族, 解放军空军军医大学在读硕士, 主要从事工程化细胞逆转肝纤维化的研究。

通讯作者: 王敬博, 博士, 副主任医师, 硕士生导师, 解放军空军军医大学第一附属医院消化内科, 陕西省西安市 710000

<https://orcid.org/0000-0002-0202-3535>(马刚); <https://orcid.org/0000-0003-4522-2451>(王敬博)

基金资助: 国家重点研发项目(2020YFA0710803), 项目负责人: 王敬博

引用本文: 马刚, 郑小红, 王敬博, 韩英. 间充质干细胞移植不同的途径可影响肝纤维化治疗效果 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(19):3099-3107.



OBJECTIVE: To investigate the treatment effects of mesenchymal stem cells in the treatment of liver fibrosis by different transplantation routes. METHODS: Relevant articles from 2007 to 2021 in PubMed, CNKI, Wanfang and VIP databases were searched. The key words were "mesenchymal stem cells/stromal cells, liver/hepatic fibrosis/ cirrhosis, mechanism, distribution/biodistribution, transplantation route/delivery/engraftment/injection/administration" in Chinese and English, respectively. Repetitive, outdated and irrelevant views were excluded, and the 73 eligible articles were summarized and analyzed. RESULTS AND CONCLUSION: (1) In the same conditions, the biodistributions of liver mesenchymal stem cells in different transplantation routes were different, and different anti-fibrotic mechanisms may play an important role in improving liver fibrosis in different niches, thus, exerting different treatment effects on fibrosis. (2) Animal experiments have shown that the effects of mesenchymal stem cell transplantation for treating liver fibrosis via intraportal vein are equivalent to that of intrahepatic artery and not inferior to that of intravenous vein, which is higher than intrahepatic and intraperitoneal effects. (3) Clinical studies have shown that intrahepatic and intrasplenic routes have similar treatment effects; intrahepatic artery and intraportal vein have the same effects and superior to the intravenous transplantation. (4) The routes via intrahepatic artery and intraportal vein may be the best way to treat liver fibrosis, and intrahepatic and intrasplenic routes may limit the therapeutic effects of stem cells because of "Cell crowding" and "Transient clearance". (5) The transplantation routes of mesenchymal stem cells are safe and effective in the treatment of liver fibrosis. It may be beneficial to improve the treatment effects of mesenchymal stem cells to select appropriate approaches to increase stem cell colonization, enhance cell activity, and maintain the survival time of stem cells in liver tissue. It may be beneficial to improve the anti-fibrotic effect of mesenchymal stem cells, but the mechanisms of different transplantation routes are not so far clear, and the indications of different routes need to be further explored. Key words: mesenchymal stem cell; liver fibrosis; liver cirrhosis; transplantation route; biodistribution; mechanism; treatment effect; tissue engineering

Funding: National Key Research and Development Project, No. 2020YFA0710803 (to WJB)
How to cite this article: MA G, ZHENG XH, WANG JB, HAN Y. Different transplantation routes of mesenchymal stem cells can affect therapeutic effect on liver fibrosis. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2023;27(19):3099-3107.

0 引言 Introduction

肝纤维化是肝细胞长期、反复受致病因素刺激引发的慢性损伤和炎症的结果，主要表现为细胞外基质过度积累。肝星状细胞是肝纤维化的主要参与者，在受损的肝脏中，肝星状细胞转分化为活化的肌成纤维细胞样细胞，产生细胞外基质蛋白，如胶原和纤维连接蛋白 [1]。在肝脏持续损伤过程中，细胞外基质蛋白逐渐取代功能性肝细胞，从而扭曲肝脏的结构和功能，最终导致肝硬化。尽管肝脏移植可有效减轻晚期肝硬化症状，但供体器官短缺、免疫排斥及成本高等问题严重制约了肝移植的广泛应用 [2]。尽管肝细胞移植能够促进肝脏再生、恢复肝脏功能，但其在体外很容易失去活性，因此限制了该治疗方法的应用 [3]。

间充质干细胞作为一种多能干细胞，具有分化成多种组织细胞的能力，加之其来源丰富、体外增殖能力强，在多种难治性疾病中受到广泛的关注 [4]。许多基础和临床研究证明间充质干细胞对肝纤维化有良好的治疗作用 [5]。人经血间充质干细胞通过作用星状细胞改善小鼠肝纤维化 [6]，失代偿肝硬化患者移植脐带间充质干细胞有效改善肝功、延长寿命 [7]。目前在clinicaltrials.gov注册的使用间充质干细胞治疗肝脏疾病的临床试验 73 项，其中 51 项集中于肝硬化或纤维化。干细胞体内移植作为间充质干细胞治疗肝纤维化的关键环节，不同移植途径与间充质干细胞归巢能力、清除速度以及存活时间密切相关，从而影响肝纤维化治疗效果，但间充质干细胞治疗肝纤维化的最佳移植途径尚存在争议 [8]。

该综述通过检索文献，结合间充质干细胞抗纤维化作用机制及移植后组织分布特征，比较了相同条件下间充质干细胞经不同途径移植在肝纤维化中的治疗效果，探讨了最优移植途径及可能影响因素，希望为干细胞治疗肝纤维化的科学研究提供参考依据。虽然随着组织工程支架材料的发展，间充质干细胞作为种子细胞显示出强大的生命力，但基于组织工程支架材料临床尚未广泛应用，该综述仅对传统干细胞移植进行探讨。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 第一和第二作者在 2022 年 4 月进行文献检索。

1.1.2 检索文献时限 检索时限为 2007 年 1 月至 2021 年 12 月。

1.1.3 检索数据库 计算机检索 PubMed、中国知网、万方和维普数据库。

1.1.4 检索词 中文检索词分别为“间充质干细胞、肝纤维化/肝硬化、移植/输注、途径”，英文检索词为“mesenchymal/stem cells/stromal cells, liver/hepatic fibrosis/cirrhosis, transplantation route/delivery/engraftment/injection/administration, mechanism, distribution/biodistribution”，以英文文献为主。

1.1.5 检索文献类型 检索的文献类型包括研究性论著、综述和病例报告。

1.1.6 检索策略 将主题词和自由词结合起来在每个数据库中进行搜索。人工检索以电子检索为补充。以 PubMed 数据库检索为例，文献检索策略见图 1。

```
#1 Mesenchymal Stem Cells [All Fields]
#2 Mesenchymal Stromal Cells [All Fields]
#3 #1 OR #2
#4 liver fibrosis [All Fields]
#5 liver cirrhosis [All Fields]
#6 hepatic fibrosis [All Fields]
#7 hepatic cirrhosis [All Fields]
#8 #4 OR #5 OR #6 OR #7
#9 transplantation route [All Fields]
#10 delivery [All Fields]
#11 engraftment [All Fields]
#12 injection [All Fields]
#13 administration [All Fields]
#14 #9 OR #10 OR #11 OR #12 OR #13
#15 #3 AND #8 AND #14
```

图 1 | PubMed 数据库检索策略图

1.1.7 检索文献量 初步检索到文献 1 040 篇，其中英文文献 1 021 篇，中文文献 19 篇。

1.2 入组标准

1.2.1 纳入标准 ①论点、论据真实可靠的相关研究性论著；②内容与文章主题相关的权威性综述。

1.2.2 排除标准 ①重复、陈旧或与文章主题不相关文献；②与主流观点矛盾的文。

1.3 文献质量评价及数据提取 依检索词初检得到英文文献 1 021 篇，中文文献 19 篇，先仔细阅读文章标题和摘要，排除部分与主题明显不符文章，而后通读全文后，筛选与研究主题内容联系紧密的 73 篇文献分析总结。文献检索流程见图 2。

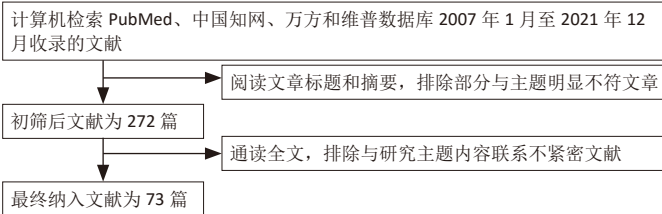


图 2 | 文献检索流程图

2 结果 Results

2.1 间充质干细胞与肝纤维化

2.1.1 间充质干细胞概述 间充质干细胞是一种类似成纤维细胞的多能细胞，具有自我更新能力和分化为中胚层起源细胞类型的的能力。间充质干细胞来源广泛，从骨髓、肝脏、脾脏、骨髓、脂肪组织以及新生儿组织等多器官和结构均可获得间充质干细胞，其中骨髓和脂肪组织来源的间充质干细胞最为常见。间充质干细胞能够自我复制，保持未分化状态，体外快速增殖，低度冻存可保持活力；其具有归巢特性，可穿过血管内皮迁移到组织损伤部位，分化为骨、软骨、脂肪、肌腱、肌肉和骨髓基质等多种间充质组织。目前间充质干细胞的免疫表型尚无特异性的分子来表征，中低水平表达主要组织相容性分子 I (MHC-I)、不表达主要组织相容性分子 II (MHC-II) 和共刺激分子 (如 CD80, CD86, CD40) 使得间充质干细胞具有较低的免疫原性，这构成了间充质干细胞异体应用的基础^[9]。总之，间充质干细胞具有低免疫原性、多向分化潜能、体内易获取、体外易扩增及伦理问题争议少等特点，被视为多种疾病的理想治疗方案，独特的生物学功能，也使其成为继药物治疗和手术治疗之后的又一场医疗革命。

2.1.2 间充质干细胞抗肝纤维化作用 体内外实验表明，间充质干细胞可通过向肝细胞样细胞分化和免疫调节等方式发挥抗纤维化作用，见图 3。肝纤维化时，肝脏高浓度 S1P3 分子招募间充质干细胞迁移到受损肝脏，在生长因子或细胞因子作用下分化为肝细胞样细胞，分化出来的肝细胞样细胞具有肝细胞的功能特征，实现了肝脏修复和再生^[10]。但前期个案报道中显示，从间充质干细胞转分化而来的肝细胞仅占肝脏总体积的较小部分，如何更有效地促进干细胞肝向分化或将成为进一步探索的方向。

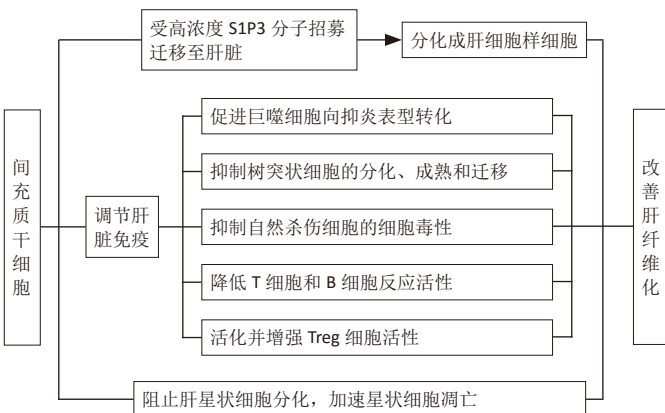


图 3 | 间充质干细胞改善肝纤维化作用机制图

近年来研究认为，肝组织免疫失调是肝纤维化主要原因，间充质干细胞通过细胞间接触或旁分泌调节先天性和适应性免疫反应而发挥免疫调节作用。间充质干细胞能分泌细胞因子、趋化因子、生长因子和蛋白质等多种旁分泌因子。先天性免疫调节中，活化的间充质干细胞可分泌吲哚胺-2, 3-双加氧酶 (indoleamine-2, 3-dioxygenase, IDO)、前列腺素 E2、环氧合酶

2、转化生长因子 $\beta 1$ 及白细胞介素 6，促进巨噬细胞向抑炎表型转化；通过介导 IDO、前列腺素 E2、转化生长因子 $\beta 1$ 、肝细胞生长因子及一氧化氮等可溶性因子，抑制树突状细胞的分化、成熟和迁移，减少向 T 细胞的抗原呈递作用；IDO、前列腺素 E2 及转化生长因子 $\beta 1$ 还可通过抑制自然杀伤细胞的细胞毒性，降低肝内促炎因子的水平，减少炎症细胞在肝脏的浸润^[11]。适应性免疫调节中，间充质干细胞分泌上述可溶性因子可显著抑制活化 T 细胞的增殖，诱导不可逆 T 细胞低反应性，PD-L1 和 PD-L2 还可抑制 CD4⁺ T 细胞活化并诱导不可逆的 T 细胞低反应性^[12-13]；细胞周期阻滞、浆细胞生成受损、免疫球蛋白分泌能力受损以及趋化性降低同时也发生在与间充质干细胞共培养的 B 细胞中^[14]。不同的是，间充质干细胞高表达 TLR-3 或 TLR-4 并通过 Notch 信号诱导 Tregs 细胞分化，并通过分泌白细胞介素 10 增强它的免疫抑制作用^[15-16]。总之，间充质干细胞可通过抑制先天性或适应性免疫细胞的数量和功能降低促炎细胞因子的产生，同时增强免疫抑制性细胞功能调节肝脏免疫微环境以发挥抗纤维化作用。

此外，间充质干细胞分泌细胞因子可直接作用于活化的肝星状细胞，如分泌肿瘤坏死因子 TSG-6 作为间充质干细胞分泌的细胞因子，在改善自身干性的同时，加速了肝星状细胞的凋亡^[17]；分泌单核细胞趋化蛋白 1、肝细胞生长因子、白细胞介素 6、白细胞介素 8、骨保护素等抑制肝星状细胞活化^[6]，从而改善肝纤维化。

间充质干细胞通过多种方式发挥治疗作用，其功能受机体微环境的影响。高浓度的促炎因子可诱导间充质干细胞产生多种免疫抑制分子，如一氧化氮、前列腺素 E2 和转化生长因子 β 等，从而对免疫细胞发挥调节作用，而低炎微环境中干细胞免疫抑制功能受到限制；同时炎性微环境可使间充质干细胞的 MHC II 抗原高表达，加速了免疫细胞对干细胞的识别及清除^[18]。此外，组织微环境中免疫细胞可直接或间接影响间充质干细胞的状态，如肥大细胞可激活间充质干细胞，调节 CD34⁺ 前体细胞谱系的增殖，或通过激活血小板源性生长因子抑制干细胞分化并促进其增殖和迁移^[19]；树突状细胞可促使依赖性间充质干细胞存活并发挥抗纤维化功能^[20]；NK 细胞可刺激间充质干细胞的募集^[21]，或对其产生裂解和吞噬作用^[22]。间充质干细胞的作用发挥与微环境关系密切，经不同移植途径使间充质干细胞暴露于不同的微环境，干细胞命运差异进而影响治疗效果。然而，间充质干细胞治疗纤维化作用机制复杂多样，不同移植途径下干细胞以何种机制为主发挥效用尚不得而知。

2.2 间充质干细胞分布受不同移植途径影响 临床和临床前研究表明，间充质干细胞治疗同一种疾病可有多种移植途径，不同移植途径直接影响间充质干细胞生物分布。不同的组织微环境下，干细胞可能以不同的作用机制发挥效用，那么不同的移植途径是如何影响干细胞分布于不同的组织中呢？在肝纤维化模型中，间充质干细胞移植途径主要包括外周静脉、肝动脉、门静脉、肝内、脾内以及腹腔内注射，其移植后的组织分布有明显差异，见图 4。

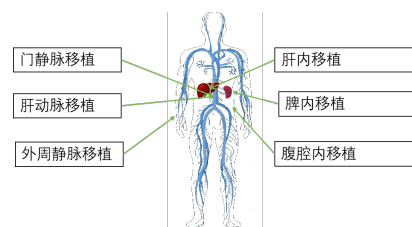


图 4 | 间充质干细胞改善肝纤维化的移植途径

2.2.1 外周静脉移植 外周静脉注射作为传统治疗的形式之一，具有注射点位广泛、操作简单易行、可重复性高、患者易接受

等特点,也是在间充质干细胞移植时被应用最广泛的输注方式。经外周静脉注射后,大多数间充质干细胞被肺毛细血管滤过,首先在肺部形成聚集;而后细胞重新分布,主要是肝脏、脾脏和肾脏;在不同的疾病中,病变部位的趋化作用使间充质干细胞信号在该组织中出现相对较高的聚集。如急性肝损伤模型中,人脐带来源间充质干细胞 24 h 内主要分布于肺部,72 h 内向肝脏分布,随后逐渐减少,心脏、脾脏和肾脏未见明显分布^[23];在体内慢性肝损伤中,经外周静脉注射的间充质干细胞可以很好地向肝实质聚集^[24];肝硬化患者经静脉注射的间充质干细胞信号表现为早期(48 h 内)主要分布在肺部,随后肺部信号降低,肝脏和脾脏中呈高分布^[25]。外周静脉移植时,间充质干细胞不易突破肺的组织机械屏障,对肝脏炎症的趋化归巢作用可能是后期肝脏富集的动力因素,这需要体内持续追踪验证。

2.2.2 肝动脉移植 经导管肝动脉灌注临床上主要用于肝脏肿瘤介入治疗,是放射下将导管经股动脉插管至固有动脉并注入化疗药物的过程,目前也可用于间充质干细胞移植。在小鼠模型中,通常在结扎胃十二指肠动脉远端后,阻断肝总动脉血流,在胃十二指肠结扎近端注射间充质干细胞悬液^[26]。CAI 等^[27]发现使用肝动脉移植途径,间充质干细胞在肝脏内含量较之其它实质器官高,移植 7 d 后肝实质内仍有间充质干细胞信号存在。肝动脉注射的干细胞随血流直接入肝,均匀分布于肝脏毛细血管内,能有效提高间充质干细胞在肝组织的聚集,减低肝外器官移植数量,同时增加了干细胞在肝内存续时间。由于肝动脉内化疗技术在临床使用较为成熟,其将为肝动脉移植间充质干细胞奠定基础。

2.2.3 门静脉移植 门静脉是肝门重要的脉管结构,正常情况下门静脉供应肝脏的 80% 血流量,因此成为肝脏间充质干细胞移植的另一途径。临床上门静脉移植常在超声引导下经皮肝门静脉穿刺;动物模型中腹正中切开,暴露门静脉后行干细胞移植。与肝动脉注射相似,经门静脉输注的干细胞靶向性强,可直达肝脏,有效避免肺部循环。肠系膜上静脉是门静脉的一条合成支,LI 等^[28]研究表明,在急性肝损伤模型中,肠系膜上静脉输注间充质干细胞比外周静脉注射和下腔静脉注射更具有选择性。与肝动脉移植不同,临床上门静脉移植可在超声引导下进行,操作相对简单,但因患者门静脉压力较高,容易造成血管栓塞和穿刺后出血。

2.2.4 肝内或脾内移植 除上述血管内注射外,有学者认为可以在超声引导下直接将间充质干细胞注入到肝纤维化患者肝脏或脾脏内,即肝内或脾内移植。目前已有动物实验表明肝内和脾内移植靶向性较强,可使间充质干细胞在肝内有效富集。XIE 等^[29]研究表明肝内注射间充质干细胞后,间充质干细胞驻留在肝脏中并没有向全身分布,但细胞很快被清除。MIYAZAK 等^[30]将大鼠脾内移植干细胞 7 d 后,在肝脏内发现了标记的细胞,提示移植细胞能有效的进入肝脏。YAOCITE 等^[31]将间充质干细胞注入糖尿病小鼠的胰腺和脾脏,结果表明,脾内的间充质干细胞能够迁移到肝脏,而胰腺内的细胞仍然保留在注射部位。另一项研究发现类似的结果:肝内移植间充质干细胞在注射部位显示局限性生物荧光信号,而脾内移植后在肝脏上腹部区域呈信号较强的弥散分布^[32]。

2.2.5 腹腔内移植 腹腔移植是间充质干细胞动物实验时常用的一种方法,其具有植入大量细胞、容易操作、创伤小、不易造成器官栓塞等特点,但易造成腹腔感染粘连,也有学者认为间充质干细胞腹腔移植后可因缺血大量死亡。有研究表明,间充质干细胞经腹腔移植后主要扩散到腹部器官(肝脏、脾脏和小肠),很少分布到肺、心脏、血液和淋巴结^[33-34]。

依据移植途径自身特点以及移植后间充质干细胞在体内分布,文章将移植方式分为:经血管靶向移植(肝动脉和门静脉移植)、局部靶向移植(肝内和脾内移植)和全身移植(外周静脉和腹腔内移植)。经血管靶向移植是将干细胞输注到组织回流血管中,以人为控制方式使干细胞快速、均匀分布到受损组织内,减少了干细胞的归巢迁移消耗,使干细胞在生命周期内更好地发挥转分化和调节免疫功能,实现组织修复。目前,局部靶向移植主要通过向受损组织、关联组织或局限腔内注射干细胞悬液,使局部注射点周围产生较高数量的干细胞而发挥治疗作用,但这可能导致干细胞在受损组织中分布不均匀。文章分别对小鼠肝脏和脾脏内靶向移植 DIR 标记的小鼠骨髓来源的间充质干细胞,24 h 后动物活体成像显示肝和脾内以针刺部位为中心向周围播散的信号。外周静脉是最常见的全身移植方式,其主要通过血流动力、组织物理屏障以及干细胞的归巢趋化作用影响干细胞的体内分布,干细胞经历的首个组织器官成为细胞的富集区,受损组织的募集常常是干细胞主动迁移的结果。腹腔网膜含有大量的血管网,间充质干细胞可移行至血管后完成归巢定植,其主要分布在腹部器官,但并未直接靶向肝脏,因此文章也将腹腔内移植归为全身移植方式范畴。显而易见,经血管靶向移植和局部靶向移植可明显增加肝脏中间充质干细胞富集量,这可能更有利于干细胞发挥治疗作用;而全身移植可能更适合系统性红斑狼疮等系统性免疫疾病。

2.3 间充质干细胞不同移植途径治疗肝纤维化效果 为了探究相同条件下间充质干细胞治疗肝纤维化途径的优劣,文章通过 PubMed、中国知网、万方和维普数据库检索,共查找到 15 篇关于不同移植途径移植间充质干细胞治疗肝纤维化效果对比的动物实验研究,见表 1。

在间充质干细胞移植方式的研究中,基于 CCl₄ 诱导的肝纤维化模型具有操作简便、经济节约、周期较短、与人类肝纤维化相似以及自愈倾向等特点,研究者多采用 CCl₄ 模型:选取 6-8 周龄鼠,腹腔或皮下注射 20% CCl₄,每周 2 次,8-12 周完成造模。为了减低间充质干细胞体外多次传代后生物学效力和增殖特性逐渐下降的影响^[35],研究者们多选择 4-6 周龄鼠中分离并经体外传 3-5 代的间充质干细胞以保护其移植后的有效性。在不同来源的间充质干细胞中,骨髓来源和脂肪来源的干细胞在体内存在较多且容易获取,实验研究中应用也最为广泛^[36],检索到的论著证明了这一观点。目前研究表明,间充质干细胞可通过外周静脉、腹腔、肝内、脾内或门静脉注射等方式移植改善肝纤维化,外周静脉注射因操作简单、可重复性强,多数移植途径比较的研究是建立在外周静脉途径基础上的^[37-45]。

2.3.1 门静脉移植与外周静脉移植效果比较 TRUONG 等^[46]通过尾静脉和门静脉移植骨髓间充质干细胞,发现两种方式在改善肝纤维化和肝硬化评分具有等效性,但尾静脉移植间充质干细胞 3 周后肝组织炎症反应改善更明显,而门静脉移植后前胶原基因表达低。与 TRUONG 结果一致,王敏等^[47]、熊全等^[37]、SONG 等^[44]和 AITHAL 等^[48]也评估了门静脉和尾静脉的移植效果,发现两种方式分别在间充质干细胞移植后 3 d 及 2, 3, 4 和 6 周对肝纤维化改善程度并无差异,作者认为不同方式移植间充质干细胞都可在肝脏产生定植,分化成肝细胞样细胞,分泌生长因子和细胞因子来抑制炎症活动,减少肝细胞凋亡,同时肝外间充质干细胞也可通过分泌细胞因子经循环发挥抗纤维化作用。不同的是,有些研究发现,间充质干细胞经门静脉移植比尾静脉移植更有利于提高间充质干细胞移植后 4, 6 周时的肝纤维化治疗效果^[26, 38-39, 45],见表 2。

表 1 | 间充质干细胞在改善肝纤维化中不同移植途径的效果比较

研究者	发表年份	实验动物	建模方法	MSCs 来源	移植方式	观察时间	观察指标
熊全等 ^[37]	2011	SD 大鼠	CCl ₄ (s.c.)+ ALC(p.o.)	5 周 SD 大鼠 3 代 BM-MSCs	①②③	4 周	(1)(2)(3)
吴玉卓 ^[38]	2012	SD 大鼠	CCl ₄ (s.c.)+ ALC(p.o.)	6 周 SD 大鼠 3 代 BM-MSCs	①②③	4 周	(1)(2)(3)
WANG 等 ^[39]	2012	SD 大鼠	CCl ₄ (ip.i.)	SD 大鼠 5 代 AD-MSCs	①③	6 周	(1)(2)(5)
ZHAO 等 ^[40]	2012	SD 大鼠	CCl ₄ (s.c.)	6 周 SD 大鼠 5 代 BM-MSCs	①④⑥	4 周	(1)(2)
雷香丽等 ^[41]	2012	SD 大鼠	CCl ₄ (p.o.)+ SP(p.o.)	4 周 SD 大鼠 3 代 BM-MSCs	①②③④	4 周	(1)(2)
张雯等 ^[42]	2013	SD 大鼠	CCl ₄	4 代 BM-MSCs	①④⑥	4 周	(1)(2)
游佳等 ^[43]	2015	SD 大鼠	CCl ₄ (ip.i.)	SD 大鼠 4 代 BM-MSCs	①④⑥	6 周	(3)(4)
SONG 等 ^[44]	2015	SD 大鼠	CCl ₄ (s.c.)	SD 大鼠 3 代 BM-MSCs	①③	2, 6 周	(1)(2)
李蓉等 ^[45]	2016	Wistar 大鼠	CCl ₄ (ip.i.)	Wistar 大鼠 3-5 代 AD-MSCs	①③	6 周	(1)(2)
TRUONG 等 ^[46]	2016	Swiss 小鼠	CCl ₄ (p.o.)	Swiss 小鼠 2-5 代 BM-MSCs	①③	3 周	(1)(2)
IDRISS 等 ^[8]	2018	Wistar 大鼠	CCl ₄ (s.c.)	6 周 Wistar 大鼠 BM-MSCs	①⑤	12 周	(1)(2)(3)
古春等 ^[26]	2018	SD 大鼠	CCl ₄ (s.c.)	4 周 SD 大鼠 3 代 AD-MSCs	①②③	4 周	(1)(2)(3)
王敏等 ^[47]	2018	C57BL/6 小鼠	CCl ₄ (ip.i.)	4 周 C57 小鼠 3 代 BM-MSCs	①③⑥	3 d	(1)(2)
AITHAL 等 ^[48]	2021	Wistar 大鼠	CCl ₄ (ip.i.)	BM-MSCs	①③	3 周	(1)(2)(5)
张丽霞等 ^[49]	2016	BALB/c 小鼠	CCl ₄ (s.c.)+ SP(p.o.)	6 周 BALB/c 小鼠 3 代 BM-MSCs	①⑤	4 周	(1)(2)

表注: BM-MSCs 为骨髓来源间充质干细胞; AD-MSCs 为脂肪来源间充质干细胞; SP 为苯巴比妥钠; ALC 为乙醇; s.c. 为皮下注射; p.o. 为喂食; ip.i. 为腹腔内注射; 观察时间为间充质干细胞移植后时间; ①尾静脉移植; ②肝动脉移植; ③门静脉移植; ④肝内移植; ⑤脾内移植; ⑥腹腔移植; (1) 肝功指标; (2) 肝组织病理; (3) 肝纤维化指标; (4) 炎症指标; (5) 其他指标

表 2 | 门静脉移植和尾静脉移植效果比较

研究者	发表年份	主要结果	主要结论
熊全等 ^[37]	2011	4 周后 2 组大鼠的肝功和肝组织学明显改善, 效果相似	门静脉和尾静脉移植效果相当
吴玉卓 ^[38]	2012	4 周后 2 组大鼠肝功和肝组织学改善明显, 门静脉和肝动脉组之间无差异	门静脉移植效果要优于尾静脉移植
WANG 等 ^[39]	2012	6 周后门静脉移植组大鼠肝功能检查和组织学检查有显著改善; 尾静脉移植组相对对照组无差异	门静脉移植效果要优于尾静脉移植
SONG 等 ^[44]	2015	2 周后 2 组大鼠肝内间充质干细胞定植数量相似, 2 周和 6 周肝功都明显改善, 6 周后 2 组大鼠血清透明质酸、层粘连蛋白和前胶原 III 水平显著降低	门静脉和尾静脉移植效果相当
李蓉等 ^[45]	2016	6 周后门静脉移植组大鼠肝功、肝组织学改善优于尾静脉移植组	门静脉移植效果要优于尾静脉移植
TRUONG 等 ^[46]	2016	3 周后两组小鼠肝功能检查和组织学检查有显著改善, 整合素、转化生长因子和 PC-α1 表达下调	门静脉和尾静脉移植效果相当
王敏等 ^[47]	2018	3 d 后 2 组间充质干细胞在肝脏定植数量无差异, 小鼠肝组织学缓解、肝功改善无差异	门静脉和尾静脉移植效果相当
古春等 ^[26]	2018	4 周后门静脉移植组大鼠肝功能、肝组织透明质酸、层粘连蛋白、前胶原 III 水平和肝组织学变化改善优于尾静脉移植组	门静脉移植效果要优于尾静脉移植
AITHAL 等 ^[48]	2021	3 周后 2 组肝功改善程度相当	门静脉和尾静脉移植效果相当

在相同条件下经门静脉靶向移植有利于间充质干细胞的归巢定植, 肝脏捕获毛细血管中间充质干细胞使其在肝脏均匀分布, 可通过分化成肝细胞替代作用、直接接触或旁分泌作用调节肝内免疫环境修复损伤肝脏作用、诱导肝星状细胞凋亡或抑制其活化, 从而更好地发挥抗纤维化作用。间充质干细胞归巢定植在改善肝纤维化中发挥重要作用, 移植后追踪结果似乎更支持这一观点^[49-50]。

2.3.2 肝动脉移植与外周静脉移植效果比较 与门静脉相似, 肝动脉作为血液流入肝脏管腔, 输注间充质干细胞也具有强烈的靶向性。古春等^[26]和吴玉卓^[38]同时对比了经门静脉、肝动脉和尾静脉 3 种途径移植间充质干细胞 4 周后大鼠肝纤维化改善情况, 发现肝动脉组与门静脉组在改善肝功能、纤维化程度及评分方面无显著差异, 均高于尾静脉输注效果。但熊全等^[37]认为 3 种方式移植间充质干细胞后, 大鼠肝脏形态、肝内间充质干细胞定植数量、肝功能以及肝纤维化程度指标等变化呈现一致性, 并无明显差异, 见表 2, 3。

表 3 | 肝动脉移植、门静脉移植和尾静脉移植效果比较

研究者	发表年份	主要结论
熊全等 ^[37]	2011	肝动脉、门静脉及尾静脉移植途径效果相当
吴玉卓 ^[38]	2012	经肝动脉和门静脉移植效果相当且优于尾静脉移植
古春等 ^[26]	2018	经肝动脉和门静脉移植效果相当且优于尾静脉移植

2.3.3 脾内移植与外周静脉移植效果比较 在经尾静脉和脾内输注途径的研究中, 张丽霞等^[49]和 IDRISS 等^[8]小组分别观察了间充质干细胞经不同方式输注后 4 周和 12 周肝纤维化改善情况, 发现经静脉和脾内间充质干细胞移植均能明显改善肝功能和纤维化, 但经静脉途径移植的肝组织白细胞介素 1β、白细胞介素 6 和干扰素 γ 水平明显低于脾内途径, 见表 2, 4, 这与 ZHAO 等^[40]部分研究结果类似, 可能与静脉注射间充质干细胞能抑制 T 淋巴细胞增殖、B 细胞功能和树突状细胞成熟更好地发挥免疫抑制作用有关。

表 4 | 脾内移植和尾静脉移植效果比较

研究者	发表年份	主要结论
张丽霞等 ^[49]	2016	脾内移植和尾静脉移植效果相当
IDRISS 等 ^[8]	2018	脾内移植和尾静脉移植改善肝纤维化改善相当, 尾静脉移植抗炎效果更好

2.3.4 肝内移植与外周静脉移植效果比较 肝内局部注射作为间充质干细胞靶向性最强的移植方式, 抗纤维化效果并不是最理想^[40-47]。研究发现经肝内和尾静脉移植间充质干细胞可降低肝纤维化标志物 α-平滑肌肌动蛋白, 但两者效果相当或尾静脉移植效果更好^[42-43], 同时肝内组在降低肝脏炎症指标、改善肝脏功能及纤维化症状低于尾静脉治疗组, 见表 5。

表 5 | 肝内移植、腹腔移植和尾静脉移植效果比较

研究者	发表年份	主要结论
ZHAO 等 ^[40]	2012	尾静脉移植效果优于肝内和腹腔移植, 抗炎效果更好
张雯等 ^[42]	2013	尾静脉移植效果优于肝内和腹腔移植
游佳等 ^[43]	2015	尾静脉移植效果优于肝内和腹腔移植
王敏等 ^[47]	2018	门静脉、尾静脉及腹腔移植途径效果相当

正如 ZHAO 等^[40]报道, 尾静脉注射比肝内注射更有利于改善血清白细胞介素 10 水平并降低肝组织中白细胞介素 1β、白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α, 以逆转肝纤维化和恢复肝功能。同样在急性肝衰竭模型中, 与经肝内途径移植的大鼠相比, 经

尾静脉途径移植的大鼠有相似甚至更好的疗效^[51]。这可能与以下原因有关：①肝内注射使肝脏遭受二次损伤；②肝内局部注射后间充质干细胞不易在肝内均匀分布，作用发挥受限；③间充质干细胞被肝内已存在的免疫细胞吞噬清除较快，抗纤维化作用不持久。或许延长移植的间充质干细胞的肝内存活时间有助于更好地发挥抗纤维化作用^[8]。

2.3.5 腹腔移植与外周静脉移植效果比较 在相同条件下，作者发现间充质干细胞经腹腔移植与肝内移植具有相同的抗肝纤维化作用，其效果低于尾静脉注射方式^[40, 42-43]。王敏等^[47]发现经间充质干细胞腹腔移植与尾静脉移植在肝功和纤维化改善方面无明显差异，见表5。这可能由于腹腔注射间充质干细胞位置具有不确定性，大多数移植到腹膜的细胞会迅速消失，只有靠近血管并能吸收足够营养的细胞才能长期存活，网膜等也会影响细胞向肝脏迁移，增大间充质干细胞输注剂量可能改善移植效果，但需要进一步验证。

2.3.6 移植途径影响治疗效果的临床研究 目前，间充质干细胞治疗肝纤维化的临床研究较少，不同移植途径相关研究更鲜有报道。文章检索了目前已发表的间充质干细胞治疗肝纤维化相关的临床研究^[52-67]，见表6。

临床结果发现间充质干细胞在临床上多用于治疗晚期肝硬化、肝硬化失代偿、慢加急肝衰等终末期肝病；间充质干细胞通过外周静脉、肝内、脾内、肝动脉、门静脉等途径移植入患者体内，其中经外周静脉和肝动脉移植最为常见；绝大多数研究表明，原治疗策略上加用干细胞治疗可有效减轻患者临床症状体征和肝功能指标，减少肝组织纤维相关分子表达及血清中相关胶原蛋白水平，改善患者终末期肝癌模型评分或Child评分，血清中肝细胞再生相关因子浓度增加；仅其中一项研究报告，经外周静脉移植间充质干细胞1年后，患者生化指标较对照组没有明显改善^[59]，作者认为这可能是由外周静脉注射的间充质干细胞被困在肺毛细血管后并被网状内皮细胞吞噬造成的。值得肯定的是，通过上述途径移植间充质干细胞治疗肝纤维化，部分患者可能出现发热症状^[7, 61, 63-64, 66]，无其他明显不良反应。间充质干细胞在肝纤维化修复的安全性和有效性方面逐渐得到认可。不同移植途径是否影响肝纤维化的治疗效果在临床研究目前较少。AMER等^[53]在探究间充质干细胞治疗终末期肝衰安全、有效性时，进行了经肝、脾移植途径疗效的亚组分析，发现肝内组和脾内组之间并无差异，而经脾途径在技术上更容易。中国临床工作者王方等^[68]对比了经门静脉和肝动脉移植自体骨髓干细胞治疗肝硬化的效果，发现经8周治疗后，两种移植途径治疗作用相似，但门静脉移植创伤更小，患者易耐受。在一项系统分析中，作者认为经肝动脉和门静脉内移植比外周途径更有效，但门静脉移植后后要预防门脉高压性出血的风险^[24]。此外，YANG等^[69]也认为在治疗肝脏疾病中，干细胞经门静脉移植效果优于脾内或静脉注射，当门静脉移植有困难时可使用后者替代。目前临床上干细胞治疗肝脏慢性疾病以肝动脉和外周静脉移植方式居多，但尚缺乏不同移植途径的疗效对比研究^[70-71]。

基于现有研究，课题组总结了间充质干细胞在改善肝纤维化不同移植途径的特点，见表7。

文章认为不同移植途径影响了间充质干细胞对肝纤维化的治疗效果：肝动脉移植 = 门静脉移植 > 外周静脉移植 = 脾内移植 > 肝内移植、腹腔内移植。首先，血管内直接输注间充质干细胞治疗效果要优于组织器官局部注射（门静脉、肝动脉、外周静脉 vs. 肝内、脾内、腹腔内）。间充质干细胞在受损组织中的存活状态和存活时间是干细胞治疗的基础，存活的间充质干细胞以通过自我复制、转分化或分泌免疫调节因子等方式持续

表6 | 间充质干细胞在改善肝纤维化中的临床研究汇总

研究者	发表年份	疾病	移植途径	改善效果
KHARAZIHA 等 ^[52]	2009	LC	外周静脉 / 门静脉	MELD 评分、肝功能改善，24 周时凝血酶原复合物、血清肌酐和胆红素降低
AMER 等 ^[53]	2011	ELF	脾内 / 肝内	肝功能、MELD 和 Child-Pugh 评分、疲劳影响量表以及体能状态改善
PENG 等 ^[54]	2011	ACLF	肝动脉	移植组患者术后两三周的 ALB、TBIL、PT 和 MELD 评分均有明显改善，肝癌发生率和死亡率没有显著差异
ZHANG 等 ^[55]	2012	DC	外周静脉	降低腹水量和 LN、PC-III、IV 型胶原和 HA 的血清水平
SHI 等 ^[56]	2012	ACLF	外周静脉	ACLF 患者的生存率提高；MELD 评分降低；TBIL 和 ALT 水平显著降低；血清白蛋白，胆碱酯酶和凝血酶原活性、血小板计数增高
EL-ANSARY 等 ^[57]	2012	DC	外周静脉	黄疸、下肢水肿、MELD 评分和血清肌酐水平降低；脑病表现、腹水、TBIL 和 ALB 水平改善
AMIN 等 ^[58]	2013	LC	脾内	TBIL、AST、ALT、PT 和 INR 水平降低，ALB 和 Child-Pugh 水平增加
MOHAMADNEJAD 等 ^[59]	2013	DC	外周静脉	移植后 12 个月患者的生化参数无明显改善。MELD 和 Child-Pugh 评分、ALT、ALB、INR 和肝体积的绝对变化没有显著差异
SALAMA 等 ^[60]	2014	DC	外周静脉	54% 患者肝酶趋近正常；移植组 ALT、ALB、TBIL、INR 和凝血酶原浓度水平明显改善；肝纤维化相关的 PC-III、PC-IIIIN 水平降低
XU 等 ^[61]	2014	LC	肝动脉	移植组 MELD 评分和肝功能明显改善，Treg 细胞显著增加，Th17 细胞显著减少，肿瘤坏死因子 α、IL-17、IL-6 水平显著降低
JANG 等 ^[62]	2014	LC	肝动脉	基于 Laennec 纤维化评分系统的肝活检组织学改善、胶原沉积减少，肝活检中转化生长因子 β1、I 型胶原和 α-SMA 的 mRNA 表达和 MELD 评分、Child-Pugh 评分改善
SUK 等 ^[63]	2016	DC	肝动脉	天狼星红染色的纤维化定量、肝功能检查、Child-Pugh 评分和 MELD 评分有明显改善
LIN 等 ^[64]	2017	ACLF	外周静脉	累计生存率增高，重症感染发生率明显低，TBIL 和 MELD 评分明显改善
SAKAI 等 ^[65]	2017	LC	肝动脉	治疗后 1 d 血清 HGF、IL-6、IL-18、M-CSF 和 MIF 浓度增加
XU 等 ^[66]	2019	ACLF	外周静脉	30、60 和 90 d 的死亡率和不良结局均最低，转氨酶水平和 MELD 评分随着时间的推移显著降低
SHI 等 ^[7]	2021	DC	外周静脉	干细胞治疗显著改善肝功能，在 48 周的随访期间，血清 ALB、凝血酶原活性、胆碱酯酶和总胆红素水平显著改善
SCHACHER 等 ^[67]	2021	ACLF	外周静脉	Child-Pugh (C-14 至 B-9)，MELD (32 至 22) 和 ACLF (3-0 级) 有显著改善

表注：DC 为失代偿肝硬化；LC 为肝硬化；ACLF 为慢加急肝衰；ELF 为终末期肝衰；MELD 为终末期肝病模型；HA 为透明质酸；LN 为层粘连蛋白；IL 为白细胞介素；M-CSF 为巨噬细胞集落刺激因子；MIF 为巨噬细胞迁移抑制因子；PC 为前胶原；PT 为凝血酶原时间；INR 为国际标准化比率；ALT 为谷丙转氨酶；AST 为谷草转氨酶；ALB 为白蛋白

发挥组织修复功能。体内维持干细胞存活需要良好的血供。间充质干细胞进入血管后随血流动力迅速播散，并从血液中获得维持生存的营养和氧气以维持其活性；而局部移植的间充质干细胞相对聚集，不利于获取足够养分而过早凋亡，此外肝脾中先天性免疫细胞丰富，间充质干细胞可能更易被“短暂清除”。虽然曾有文献指出，单核细胞或巨噬细胞在吞噬间充质干细胞后也可以触发免疫调节作用^[72]，但疾病治疗效果上已明显减弱。其次，肝内间充质干细胞定植率高的移植方式似乎效果更佳，如门静脉、肝动脉输注 vs. 外周静脉输注，肝内、脾内注射 vs. 腹腔注射。间充质干细胞在受损组织中定植量可能是干细胞治疗的关键。间充质干细胞作用发挥与微环境密切相关，其功能直接受微环境影响，又通过影响微环境改善肝纤维化。目前干细胞在体内存活时间较短，需要一定数量才能发挥治疗效果。

表 7 | 间充质干细胞在改善肝纤维化不同移植途径总结

移植途径	优点	缺点	效果评价
全身移植	移植简单、经济、可多次操作、患者易接受	间充质干细胞大量被肺毛细血管机械阻碍，到达肝脏定植比例较低，大量移植增加栓塞的风险	效果较明显，在改善炎症水平可能更有优势；适用系统免疫性疾病可能效果更佳
腹腔内移植	间充质干细胞移植量大，容易操作，创伤小，不易造成器官栓塞；可向腹部多器官细胞分布	移植腹腔点位难以确定，间充质干细胞因缺血大量死亡，临床应用尚少见	有一定效果，尚存在争议，增大移植量可能增强治疗效果
经血管靶向移植	间充质干细胞迅速均匀分布肝内，靶向性高；间充质干细胞存活和在肝内发挥作用时间长	操作相对复杂，动物实验损伤相对较大，不适用于多次治疗	两种移植途径效果相当，能有效改善肝纤维化，可能与干细胞在肝内归巢率高、存活时间常有关。基于临床患者多存在门脉高压症状，应结合患者自身状况选择移植途径
门静脉移植	同肝动脉	可能加重门静脉高压，导致出血的危险	
局部靶向移植	间充质干细胞几乎完全聚集肝内，靶向性高	每次注射量有限，容易对肝脏造成二次打击，肝硬化患者有出血和肝破裂的风险。移植后间充质干细胞不易分散。肝先天性免疫细胞丰富，间充质干细胞可能会被“短暂清除”影响效果	间充质干细胞肝内归巢率高，效果却不理想，可能肝脏受二次打击或间充质干细胞过早凋亡有关，且风险较大，临床不建议选择
脾内移植	间充质干细胞通过门脉系统靶向归巢；在风险较高时，脾可替代肝脏实现干细胞移植	每次注射量有限，脾中先天性免疫细胞丰富，间充质干细胞可能会被“短暂清除”影响效果	效果与外周静脉移植相当，与肝脏在组织、结构和功能相似，脾功能促肝纤维化，间充质干细胞脾内移植是否具有双管齐下作用尚不明确

雷香丽等^[41]分别经尾静脉、门静脉、肝动脉以及肝内4种途径向CCI₄肝纤维化SD大鼠移植间充质干细胞，发现4周后间充质干细胞移植没有明显改善肝功能、阻止肝纤维化的发展，原因其可能与间充质干细胞移植剂量少有关。此外，肝内和脾内局部靶向移植实现间充质干细胞的非系统性归巢，但可能注射量有限，且肝内移植容易对肝脏造成二次打击，肝硬化患者有出血和肝破裂的风险，在风险较高时，脾可替代肝脏实现干细胞移植。然而脾内注射效果似乎优于肝内注射，首先可能与脾内注射后间充质干细胞可以弥漫性分布到肝脏有关^[32]，其次脾脏作为门脉循环的重要器官，组织上有类似与肝脏的网状内皮结构，与肝脏共同发挥病原清除和免疫调节作用，已证实与肝纤维化发展密切相关^[73]，因此，脾内移植间充质干细胞似乎能够同时对肝脏和脾脏进行免疫调节，双管齐下达到改善纤维化效果。目前改善肝纤维化效果的最佳移植途径相关研究证据尚不充分，这需要更多的实验来证明。

3 讨论 Discussion

3.1 既往他人该领域研究的贡献和存在的问题 既往临床和临床前研究表明，间充质干细胞在肝纤维化中发挥积极的治疗作用。间充质干细胞不同移植途径不仅在肝脏的定植和安全性方面可能存在差异，而且对肝纤维化治疗效果的影响可能具有重要意义。既往研究表明，间充质干细胞在肝纤维化的治疗时主要通过外周静脉、肝动脉、门静脉、肝内、脾内及腹腔内等方式移植，研究者对不同移植途径的安全性和有效性进行探究，发现不同的移植途径有各自的优点和缺点，但均表现出良好的治疗作用。目前肝纤维化治疗中间充质干细胞移植途径已成为限制其发挥治疗作用因素，在相同条件下间充质干细胞最佳移

植方案缺乏统一认识。因此，优化移植途径以提高间充质干细胞治疗效果尤为重要。

3.2 作者综述区别于他人他篇的特点 文章以间充质干细胞治疗纤维化机制和不同移植途径影响间充质干细胞组织定植为背景，系统比较了在相同实验条件下间充质干细胞经不同移植途径治疗肝纤维化的效果，指出在不同的移植途径时间充质干细胞受微环境的影响抗纤维化疗效侧重机制可能不同，治疗效果存在差异；指出经血管靶向移植（肝动脉及门静脉）可能是肝纤维化治疗的最佳途径，局部靶向移植可能限制了干细胞的治疗效果，全身移植可能在系统免疫性疾病时效果更佳；指出提高肝组织内干细胞定植量、增强干细胞活性、维持肝组织内干细胞存活时间可能是提高间充质干细胞抗纤维化效果的考虑方面。

3.3 综述的局限性 目前间充质干细胞在肝纤维化移植途径效果对比相关研究主要集中在动物实验，临床研究多以安全性有效性评估为主，移植途径研究尚缺乏有力证据。尽管似乎对每种移植途径后间充质干细胞的组织分布有所了解，但在不同微环境下间充质干细胞发挥抗纤维化的具体机制尚不清楚。尽管经血管靶向移植在肝纤维化中疗效较好，晚期门脉高压患者是否适用仍需要探讨。此外，在影响间充质干细胞治疗肝纤维化效果的因素中，除移植途径外，还包括间充质干细胞来源、移植剂量、移植次数和移植后存活期等，因此间充质干细胞移植标准化方案的设计可以减少结果的可变性，使它们更具可比性。

3.4 综述的重要意义 肝纤维化是慢性肝脏损伤愈合过程中形成的“瘢痕”组织，如何改善肝纤维化仍是现代医学面临的难题。间充质干细胞具有多向分化能力和免疫调节作用，可望成为治疗肝纤维化的理想药物。细胞移植途径对间充质干细胞的命运有着至关重要的影响，不同移植途径可能使间充质干细胞侧重作用机制发生改变，进而影响肝纤维化治疗效果。然而，在临床环境中，对于间充质干细胞的最佳移植途径尚未达成普遍一致。因此探究安全高效的移植途径将有利于间充质干细胞靶向输送病变部位发挥治疗纤维化作用。

3.5 课题专家组对未来研究的建议 随着组织工程学和再生医学的发展，越来越多的策略用于改善间充质干细胞抗肝纤维化效果，提高间充质干细胞体内活性和靶向递送能力可能是其治疗效果的关键。间充质干细胞预处理和依托生物支架材料的3D培养可以成功地提高治疗肝脏疾病的疗效，药物活性生物材料结合到间充质干细胞可在体内持续增强干细胞活性和归巢能力，为间充质干细胞在体内递送和疗效发挥提供了新的可能，但生物材料安全性和药物选择仍需要考虑的问题。良好的体内示踪技术是研究间充质干细胞靶向递送的有效手段。此外，不同移植途径使间充质干细胞处于不同微环境，探究体内不同微环境下间充质干细胞的表型和功能将有利于肝纤维化的治疗效果。

致谢：感谢解放军空军军医大学第一附属医院老师们对文章写作提供思路和指导。

作者贡献：文章设计和资料收集者为马刚和郑小红。马刚撰写论文。王敬博和韩英负责审核。

利益冲突：文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程不存在利益冲突。

开放获取声明：这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让：文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范：文章撰写遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA声明)；出版前经过专业反剽窃文献检测系统进行3次文字和图表查重；经小同行外审专家双盲审稿，同行评议认为符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

- [1] TSUCHIDA T, FRIEDMAN SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14(7):397-411.
- [2] LEE CW, CHEN YF, WU HH, et al. Historical perspectives and advances in mesenchymal stem cell research for the treatment of liver diseases. *Gastroenterology*. 2018;154(1):46-56.
- [3] HU C, ZHAO L, DUAN J, et al. Strategies to improve the efficiency of mesenchymal stem cell transplantation for reversal of liver fibrosis. *J Cell Mol Med*. 2019;23(3):1657-1670.
- [4] SHI Y, WANG Y, LI Q, et al. Immunoregulatory mechanisms of mesenchymal stem and stromal cells in inflammatory diseases. *Nat Rev Nephrol*. 2018;14(8):493-507.
- [5] MIGUEL MP DE, PRIETO I, MORATILLA A, et al. Mesenchymal stem cells for liver regeneration in liver failure: from experimental models to clinical trials. *Stem Cells Int*. 2019;2019:3945672.
- [6] CHEN L, ZHANG C, CHEN L, et al. Human menstrual blood-derived stem cells ameliorate liver fibrosis in mice by targeting hepatic stellate cells via paracrine mediators. *Stem Cells Transl Med*. 2017;6(1):272-284.
- [7] SHI M, LI YY, XU RN, et al. Mesenchymal stem cell therapy in decompensated liver cirrhosis: a long-term follow-up analysis of the randomized controlled clinical trial. *Hepatol Int*. 2021;15(6):1431-1441.
- [8] IDRIS NK, SAYYED HG, OSAMA A, et al. Treatment efficiency of different routes of bone marrow-derived mesenchymal stem cell injection in rat liver fibrosis model. *Cell Physiol Biochem*. 2018;48(5):2161-2171.
- [9] TSUCHIYA A, TAKEUCHI S, WATANABE T, et al. Mesenchymal stem cell therapies for liver cirrhosis: MSCs as “conducting cells” for improvement of liver fibrosis and regeneration. *Inflamm Regen*. 2019;39(1):18.
- [10] ZHANG GZ, SUN HC, ZHENG LB, et al. In vivo hepatic differentiation potential of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells: Therapeutic effect on liver fibrosis/cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 2017;23(46):8152-8168.
- [11] JIMENEZ-PUERTA GJ, MARCHAL JA, LÓPEZ-RUIZ E, et al. Role of mesenchymal stromal cells as therapeutic agents: potential mechanisms of action and implications in their clinical use. *J Clin Med*. 2020;9(2):445.
- [12] JIANG W, XU J. Immune modulation by mesenchymal stem cells. *Cell Prolif*. 2020;53(1):e12712.
- [13] DAVIES LC, HELDRING N, KADRI N, et al. Mesenchymal stromal cell secretion of programmed death-1 ligands regulates t cell mediated immunosuppression. *Stem Cells*. 2017;35(3):766-776.
- [14] YI T, SONG SU. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their therapeutic applications. *Arch Pharm Res*. 2012;35(2):213-221.
- [15] RASHEDI I, GÓMEZ-ARISTIZÁBAL A, WANG XH, et al. TLR3 or TLR4 activation enhances mesenchymal stromal cell-mediated treg induction via notch signaling. *Stem Cells*. 2017;35(1):265-275.
- [16] YAN Z, ZHUANSUN Y, CHEN R, et al. Immunomodulation of mesenchymal stromal cells on regulatory T cells and its possible mechanism. *Exp Cell Res*. 2014;324(1):65-74.
- [17] WANG S, KIM J, LEE C, et al. Tumor necrosis factor-inducible gene 6 reprograms hepatic stellate cells into stem-like cells, which ameliorates liver damage in mouse. *Biomaterials*. 2019;219:119375.
- [18] POURGHOLAMINEJAD A, AGHDAMI N, BAHARVAND H, et al. The effect of pro-inflammatory cytokines on immunophenotype, differentiation capacity and immunomodulatory functions of human mesenchymal stem cells. *Cytokine*. 2016;85:51-60.
- [19] ALLAKHVERDI Z, COMEAU MR, ARMANT M, et al. Mast cell-activated bone marrow mesenchymal stromal cells regulate proliferation and lineage commitment of CD34(+) progenitor cells. *Front Immunol*. 2013;4:461.
- [20] CHIA JJ, ZHU T, CHYOU S, et al. Dendritic cells maintain dermal adipose-derived stromal cells in skin fibrosis. *J Clin Invest*. 2016;126(11):4331-4345.
- [21] ALMEIDA CR, CAIRES HR, VASCONCELOS DP, et al. NAP-2 secreted by human NK cells can stimulate mesenchymal stem/stromal cell recruitment. *Stem Cell Rep*. 2016;6(4):466-473.
- [22] GÖTHERSTRÖM C, LUNDQVIST A, DUPREZ I R, et al. Fetal and adult multipotent mesenchymal stromal cells are killed by different pathways. *Cytotherapy*. 2011;13(3):269-278.
- [23] LIU G, LV H, AN Y, et al. Tracking of transplanted human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells labeled with fluorescent probe in a mouse model of acute lung injury. *Int J Mol Med*. 2018;41(5):2527-2534.
- [24] AL-DHAMIN Z, LIU LD, LI DD, et al. Therapeutic efficiency of bone marrow-derived mesenchymal stem cells for liver fibrosis: a systematic review of in vivo studies. *World J Gastroenterol*. 2020;26(47):7444-7469.
- [25] GHOLAMREZANEZHAD A, MIRPOUR S, BAGHERI M, et al. In vivo tracking of 111In-oxine labeled mesenchymal stem cells following infusion in patients with advanced cirrhosis. *Nucl Med Biol*. 2011;38(7):961-967.
- [26] 古春, 俞小炯, 董科, 等. 不同途径移植脂肪间充质干细胞修复肝纤维化: 客观标准评价的比较 [J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(29): 4663-4668.
- [27] CAI J, ZHANG X, WANG X, et al. In vivo MR imaging of magnetically labeled mesenchymal stem cells transplanted into rat liver through hepatic arterial injection. *Contrast Media Mol Imaging*. 2008;3(2):61-66.
- [28] LI Z, HU X, MAO J, et al. Optimization of mesenchymal stem cells (MSCs) delivery dose and route in mice with acute liver injury by bioluminescence imaging. *Mol Imaging Biol*. 2015;17(2):185-194.
- [29] XIE P, HU X, LI D, et al. Bioluminescence imaging of transplanted mesenchymal stem cells by overexpression of hepatocyte nuclear factor4α: tracking biodistribution and survival. *Mol Imaging Biol*. 2019;21(1):44-53.
- [30] MIYAZAKI M, HARDJO M, MASAKA T, et al. Isolation of a bone marrow-derived stem cell line with high proliferation potential and its application for preventing acute fatal liver failure. *Stem Cells*. 2007;25(11):2855-2863.
- [31] YAOCHITE JNU, CALIARI-OLIVEIRA C, SOUZA LEB DE, et al. Therapeutic efficacy and biodistribution of allogeneic mesenchymal stem cells delivered by intrasplenic and intrapancreatic routes in streptozotocin-induced diabetic mice. *Stem Cell Res Ther*. 2015;6(1):31.
- [32] HSU MJ, PRIGENT J, DOLLET PE, et al. Long-term in vivo monitoring of adult-derived human liver stem/progenitor cells by bioluminescence imaging, positron emission tomography, and contrast-enhanced computed tomography. *Stem Cell Res Ther*. 2017;26(13):986-1002.
- [33] LOPEZ-SANTALLA M, MANCHEÑO-CORVO P, ESCOLANO A, et al. Biodistribution and efficacy of human adipose-derived mesenchymal stem cells following intranodal administration in experimental colitis. *Front Immunol*. 2017;8:638.
- [34] MARQUINA M, COLLADO JA, PÉREZ-CRUZ M, et al. Biodistribution and immunogenicity of allogeneic mesenchymal stem cells in a rat model of intraarticular chondrocyte xenotransplantation. *Front Immunol*. 2017;8:1465.
- [35] YANG YHK, OGANDO CR, WANG SEE C, et al. Changes in phenotype and differentiation potential of human mesenchymal stem cells aging in vitro. *Stem Cell Res Ther*. 2018;9(1):131.
- [36] SOUSA BR, PARREIRA RC, FONSECA EA, et al. Human adult stem cells from diverse origins: an overview from multiparametric immunophenotyping to clinical applications. *Cytometry A*. 2014;85(1):43-77.

- [37] 熊全, 冯吉, 王军, 等. 3种不同途径移植骨髓间充质干细胞治疗肝硬化模型大鼠的效果比较 [J]. 第三军医大学学报, 2011,33(8): 804-808.
- [38] 吴玉卓. 不同途径移植骨髓间充质干细胞改善大鼠肝硬化 [J]. 中国组织工程研究, 2012,16(41):7677-7680.
- [39] WANG Y, LIAN F, LI J, et al. Adipose derived mesenchymal stem cells transplantation via portal vein improves microcirculation and ameliorates liver fibrosis induced by CCl₄ in rats. *J Transl Med.* 2012; 10:133.
- [40] ZHAO W, LI JJ, CAO DY, et al. Intravenous injection of mesenchymal stem cells is effective in treating liver fibrosis. *World J Gastroenterol.* 2012;18(10):1048-1058.
- [41] 雷香丽, 佟明华, 张建, 等. 不同途径移植大鼠骨髓间充质干细胞对大鼠肝硬化的作用研究 [J]. 华南国防医学杂志, 2012,26(3): 195-200.
- [42] 张雯, 陈香宇, 何巧玉, 等. 经不同方式移植骨髓间充质干细胞治疗肝纤维化的疗效 [J]. 实用医学杂志, 2013,29(6):889-891.
- [43] 游佳, 焦艳, 郑琦, 等. 不同途径移植骨髓间充质干细胞对大鼠肝纤维化进程的影响 [J]. 中华实验外科杂志, 2015,32(10):2417-2419.
- [44] SONG YM, LIAN CH, WU CS, et al. Effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells transplanted via the portal vein or tail vein on liver injury in rats with liver cirrhosis. *Exp Ther Med.* 2015;9(4): 1292-1298.
- [45] 李蓉. 脂肪间质干细胞移植对肝硬化大鼠的实验研究 [J]. 河北医学, 2016,22(2):180-184.
- [46] TRUONG NH, NGUYEN NH, VAN LE T, et al. Comparison of the treatment efficiency of bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation via tail and portal veins in CCl₄-induced mouse liver fibrosis. *Stem Cells Int.* 2016;2016:5720413.
- [47] 王敏, 胡皓, 韩英. 小鼠骨髓间充质干细胞移植途径对肝硬化治疗效果比较 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2018,27(7):786-791.
- [48] AITHAL AP, BAIRY LK, SEETHARAM RN, et al. Hepatoprotective effect of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in CCl₄-induced liver cirrhosis. *3 Biotech.* 2021;11(2):107.
- [49] 张丽霞, 李莹, 王黎明, 等. 不同途径移植骨髓间充质干细胞治疗肝硬化小鼠的效果比较 [J]. 临床肝胆病杂志, 2016,32(10):1906-1910.
- [50] ZHONG Y, TANG Z, XU R, et al. Effect of transplantation route on stem cell migration to fibrotic liver of rats via cellular magnetic resonance imaging. *Cytotherapy.* 2013;15(10):1266-1274.
- [51] 郑盛, 杨涓, 殷芳, 等. 脐带间充质干细胞移植治疗大鼠急性肝功能衰竭以及移植途径的选择 [J]. 中华器官移植杂志, 2014,35(12): 747-752.
- [52] KHARAZIHA P, HELLSTRÖM P M, NOORINAYER B, et al. Improvement of liver function in liver cirrhosis patients after autologous mesenchymal stem cell injection: a phase I-II clinical trial. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2009;21(10):1199-1205.
- [53] AMER MEM, EL-SAYED SZ, EL-KHEIR WA, et al. Clinical and laboratory evaluation of patients with end-stage liver cell failure injected with bone marrow-derived hepatocyte-like cells. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2011;23(10):936-941.
- [54] PENG L, XIE DY, LIN BL, et al. Autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in liver failure patients caused by hepatitis B: short-term and long-term outcomes. *Hepatology.* 2011;54(3):820-828.
- [55] ZHANG Z, LIN H, SHI M, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells improve liver function and ascites in decompensated liver cirrhosis patients. *J Gastroenterol Hepatol.* 2012;27 Suppl 2:112-120.
- [56] SHI M, ZHANG Z, XU R, et al. Human mesenchymal stem cell transfusion is safe and improves liver function in acute-on-chronic liver failure patients. *Stem Cells Transl Med.* 2012;1(10):725-731.
- [57] EL-ANSARY M, ABDEL-AZIZ I, MOGAWER S, et al. Phase II trial: undifferentiated versus differentiated autologous mesenchymal stem cells transplantation in Egyptian patients with HCV induced liver cirrhosis. *Stem Cell Rev Rep.* 2012;8(3):972-981.
- [58] AMIN MA, SABRY D, RASHED LA, et al. Short-term evaluation of autologous transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in patients with cirrhosis: egyptian study. *Clin Transplant.* 2013;27(4):607-612.
- [59] MOHAMADNEJAD M, ALIMOGHADDAM K, BAGHERI M, et al. Randomized placebo-controlled trial of mesenchymal stem cell transplantation in decompensated cirrhosis. *Liver Int.* 2013;33(10): 1490-1496.
- [60] SALAMA H, ZEKRI A-R N, MEDHAT E, et al. Peripheral vein infusion of autologous mesenchymal stem cells in Egyptian HCV-positive patients with end-stage liver disease. *Stem Cell Res Ther.* 2014;5(3):70.
- [61] XU L, GONG Y, WANG B, et al. Randomized trial of autologous bone marrow mesenchymal stem cells transplantation for hepatitis B virus cirrhosis: regulation of Treg/Th17 cells. *J Gastroenterol Hepatol.* 2014; 29(8):1620-1628.
- [62] JANG YO, KIM YJ, BAIK SK, et al. Histological improvement following administration of autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells for alcoholic cirrhosis: a pilot study. *Liver Int.* 2014;34(1):33-41.
- [63] SUK KT, YOON JH, KIM MY, et al. Transplantation with autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells for alcoholic cirrhosis: Phase 2 trial. *Hepatology.* 2016;64(6):2185-2197.
- [64] LIN BL, CHEN JF, QIU WH, et al. Allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stromal cells for hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure: a randomized controlled trial. *Hepatology.* 2017; 66(1):209-219.
- [65] SAKAI Y, TAKAMURA M, SEKI A, et al. Phase I clinical study of liver regenerative therapy for cirrhosis by intrahepatic arterial infusion of freshly isolated autologous adipose tissue-derived stromal/stem (regenerative) cell. *Regen Ther.* 2017;6:52-64.
- [66] XU WX, HE HL, PAN SW, et al. Combination treatments of plasma exchange and umbilical cord-derived mesenchymal stem cell transplantation for patients with hepatitis b virus-related acute-on-chronic liver failure: a clinical trial in china. *Stem Cells Int.* 2019; 2019:4130757.
- [67] SCHACHER FC, MARTINS PEZZI DA SILVA A, SILLA L M R, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells in acute-on-chronic liver failure grades 2 and 3: a phase I-II randomized clinical trial. *Can J Gastroenterol Hepatol.* 2021;2021:3662776.
- [68] 王方, 寇俊峰, 云升皓, 等. 两种途径移植自体骨髓干细胞治疗肝硬化患者的疗效比较 [J]. 临床肝胆病杂志, 2013,29(11):844-847.
- [69] YANG X, MENG Y, HAN Z, et al. Mesenchymal stem cell therapy for liver disease: full of chances and challenges. *Cell Biosci.* 2020;10:123.
- [70] ZHU M, HUA T, OUYANG T, et al. Applications of mesenchymal stem cells in liver fibrosis: novel strategies, mechanisms, and clinical practice. *Stem Cells Int.* 2021;2021:6546780.
- [71] CAO Y, JI C, LU L. Mesenchymal stem cell therapy for liver fibrosis/ cirrhosis. *Ann Transl Med.* 2020;8(8):562.
- [72] SANT'ANA AN, ARAÚJO AB, GONÇALVES F C, et al. Effects of living and metabolically inactive mesenchymal stromal cells and their derivatives on monocytes and macrophages. *World J Stem Cells.* 2021;13(9): 1160-1176.
- [73] LI L, DUAN M, CHEN W, et al. The spleen in liver cirrhosis: revisiting an old enemy with novel targets. *J Transl Med.* 2017;15(1):111.

(责任编辑: WJ, ZN, ZH)