

· 专家论坛 ·

## 间充质干细胞疗法在肾移植中的应用： 一个未完待续的故事

谢思雨 路君

**【摘要】** 免疫抑制药是预防器官移植术后排斥反应的主要手段，但会降低机体对病原体的反应能力，导致感染等的风险增加。近年来，间充质干细胞（MSC）疗法在实体器官移植领域的应用备受关注。临床前研究表明，MSC疗法能够延长移植肾存活时间，诱导免疫耐受，加速急性肾损伤修复，促进肾功能恢复。临床试验则验证了MSC疗法的安全性、耐受性和有效性。因此，本文对MSC的一般特性、MSC的免疫调节和组织修复作用以及MSC在肾移植临床试验中的应用进行综述，简要讨论待继续研究的问题和对未来的展望，旨在为推动MSC治疗在临床肾移植中的应用提供参考。

**【关键词】** 间充质干细胞；肾移植；免疫调节；组织修复；外泌体；免疫抑制药；排斥反应；炎症

**【中图分类号】** R617,R329.2 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445(2024)03-0010-08

**Application of mesenchymal stem cell therapy in kidney transplantation: a continued story** Xie Siyu, Lu Jun. *The 900th Hospital of the Joint Logistics Support Force of Chinese People's Liberation Army, Fujian Provincial Key Laboratory of Transplantation Biology, Fuzhou 350025, China*

Corresponding author: Lu Jun, Email: junlu.heather@xmu.edu.cn

**【 Abstract 】** Immunosuppressant is one of the main preventive measures for rejection after organ transplantation, whereas it may reduce the host response capability to pathogens and increase the risk of infection. In recent years, the application of mesenchymal stem cell (MSC) therapy in the field of solid organ transplantation has attracted widespread attention. Preclinical studies have shown that MSC therapy may prolong the survival time of transplant kidney, induce immune tolerance, accelerate the repair of acute kidney injury and promote the recovery of renal function. Clinical trials have confirmed the safety, tolerance and effectiveness of MSC therapy. Consequently, general characteristics, immunomodulation and tissue repair function of MSC, and the application of MSC in clinical trials of kidney transplantation were reviewed, the unresolved issues were briefly discussed and the prospects for subsequent research were predicted, aiming to provide reference for promoting the application of MSC therapy in clinical kidney transplantation.

**【 Key words 】** Mesenchymal stem cell; Kidney transplantation; Immunomodulation; Tissue repair; Exosome; Immunosuppressant; Rejection; Inflammation

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2023228

基金项目: 福建省自然科学基金面上项目(2023J01207); 中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院重点学科支撑项目(2023XKYZ01)

作者单位: 350025 福州, 中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院 福建省移植生物学重点实验室

作者简介: 谢思雨 (ORCID 0009-0009-4452-2875), 硕士, 技师, 研究方向为肾脏损伤与修复, Email: 18950388184@163.com

通信作者: 路君 (ORCID 0000-0003-2221-1872), Email: junlu.heather@xmu.edu.cn



**作者简介:** 路君, 现任中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院基础医学实验室主任, 福建省移植生物学重点实验室主任, 厦门大学、福建医科大学、福建中医药大学硕士研究生导师。兼任中华医学会组织修复与再生分会委员, 中华医学会器官移植学分会移植基础学组委员兼秘书, 福建省遗传学会副会长, 福建省遗传学会人类与医学遗传专业委员会副主任委员, 福建省实验动物学会青年委员会主任委员。从事急慢性肾损伤分子机制、组织修复与功能重建新策略研究。先后主持国家自然科学基金青年项目、面上项目, 中国博士后基金特别资助项目和面上项目, 福建省科技创新联合资金重大项目、卫生联合基金以及青年科技人才创新基金等项目。以第一或通信作者发表论文30余篇, 其中中文核心期刊论文10余篇, SCI论文20篇。获得实用新型专利4项。

器官移植是20世纪医学发展中最重要成就之一, 是终末期器官衰竭患者的首选治疗方案<sup>[1]</sup>。虽然同种异体器官移植的短期存活率已大幅提高, 但是其长期存活率的提升仍是临床医学面临的一大挑战。目前, 免疫抑制药联合应用是预防器官移植术后排斥反应的主要手段, 但会降低机体对病原体的反应能力并抑制机体肿瘤免疫, 从而造成严重的不良反应, 包括产生肾毒性、增加心血管疾病和糖尿病的风险等<sup>[2-3]</sup>。为解决这一问题, 研究者开始探索为受者输注具有免疫调节特性的细胞治疗策略, 以期控制排斥反应、诱导移植免疫耐受、减少受者对终身非特异性免疫抑制的需求。

间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 是一种非特化细胞, 可以从多种组织中分离, 包括骨髓、脂肪、真皮、脐带和关节滑液等, 已在自身免疫性疾病以及实体器官移植等临床研究中应用<sup>[4-5]</sup>。以往研究表明, MSC能够诱导调节性免疫细胞, 同时干扰抗原提呈细胞的成熟和激活。MSC暴露于炎症介质中, 可以产生细胞因子、生长因子、细胞迁移因子, 有助于组织的维持和修复。输注的外源性MSC能够迁移到受损器官, 抑制组织损伤并促进修复和再生<sup>[6]</sup>。临床前研究结果加速了MSC治疗向临床应用的转化, 多项临床试验已深入探究了MSC治疗的安全性和有效性<sup>[7-9]</sup>。本文通过综述MSC的免疫抑制作用及组织修复机制, 概述MSC及其衍生物在肾移植治疗方面的临床前研究和临床试验进展, 并讨论未来临床研究中将要解决的关键问题和可能的应对措施。

## 1 MSC的主要特征

根据国际细胞治疗学会的定义, MSC是一种异质性的非造血多能细胞群, 其定义包括: (1) 可在塑料介质上黏附生长; (2) 表达表面抗原CD105、

CD73和CD90, 而不表达CD45、CD34、CD14、CD11b、CD79 $\alpha$ 、CD19和人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) -DR; (3) 具备分化为骨细胞、脂肪细胞和软骨细胞的潜力<sup>[10]</sup>。尽管从不同组织中分离的MSC具有相似特征, 但它们并不完全相同。MSC存在同源异质性, 并具有不同的功能特性。

## 2 MSC的主要作用机制

### 2.1 免疫调节

MSC仅表达低水平的主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) I类分子, 几乎不表达MHC II类分子, 缺乏共刺激分子, 具有极低的免疫原性和较低的抗原提呈能力, 不容易引起严重的排斥反应<sup>[11-12]</sup>。同时, MSC具有维持免疫稳态的功能, 它的免疫调节特性具有双向性, 在免疫力低下时候, 起到增强免疫的作用; 而对过强的免疫反应产生抑制作用<sup>[13]</sup>。已有研究表明, MSC适用在同种异体移植时诱导免疫耐受微环境, 输注MSC可有效延长移植物存活<sup>[14]</sup>。MSC通过旁分泌机制分泌可溶性免疫调节因子, 并通过直接接触调节降低宿主对移植物的反应。MSC可抑制T细胞, 活化调节B细胞、树突状细胞 (dendritic cell, DC) 和巨噬细胞, 从而减少急性和慢性同种异体免疫反应<sup>[15]</sup>。

T细胞诱导的同种异体反应阻碍机体免疫耐受。研究证明, 人类自体 and 同种异体MSC抑制记忆T细胞产生, 延长同种异体移植物存活时间<sup>[16]</sup>。MSC可抑制辅助性T细胞 (helper T cell, Th) 1增殖并使其极化为Th2, 增加白细胞介素 (interleukin, IL) -10及其他Th2的细胞因子分泌。此外, MSC还可通过提高Foxp3<sup>+</sup>调节性T细胞 (regulatory T cell, Treg) 比例, 诱导同种异体移植物免疫耐受<sup>[17]</sup>。

B细胞分泌与供器官结合的抗体, 诱导抗体介导的排斥反应。以往研究证明, MSC可抑制供者特异

性抗体形成, 通过阻滞细胞周期, 阻止 B 细胞成熟, 减少抗体分泌<sup>[18]</sup>。此外, MSC 输注可提高调节性 B 细胞数量和 IL-10 水平, 调节体液免疫。接受 MSC 输注的肾移植受者调节性 B 细胞亚群增多, 有助于其建立自发的免疫耐受<sup>[19]</sup>。

DC 负责将同种异体抗原直接提呈给 CD4<sup>+</sup>T 细胞, 将相关蛋白质抗原交叉提呈给 CD8<sup>+</sup>T 细胞。输注的 MSC 能够干扰 DC 增殖和成熟, 阻止 DC 归巢到次级淋巴器官, 下调 MHC II 类分子和共刺激分子表达, 抑制同种异体反应并诱导 Treg 产生。接受 MSC 输注的肾移植受者移植物和次级淋巴器官中出现大量未成熟的耐受 DC, 诱导 Treg 数量增多, 供者特异性 T 细胞增殖被抑制<sup>[20]</sup>。

巨噬细胞具有 M1 和 M2 两种亚型。M1 型巨噬细胞拥有抗原提呈能力, 诱导强烈的 Th1 反应。与之相反, M2 型巨噬细胞在限制免疫反应、诱导血管生成和组织修复方面起着关键作用<sup>[21]</sup>。MSC 存在时, 巨噬细胞大量增殖和迁移并表现出 M2 表型, 而 M2 表型被认为是一种促耐受表型, 可减少肿瘤坏死因子、干扰素 (interferon, IFN) 和 IL-12 分泌, 增加 IL-10 产生, 促进 Treg 增殖并抑制效应性 T 细胞反应<sup>[22]</sup>。在角膜移植模型中, 输注的 MSC 通过将巨噬细胞极化为 M2 表型, 抑制同种异体排斥反应<sup>[23]</sup>。

在免疫调节过程中, MSC 阻止激活的中性粒细胞被招募到损伤区域, 减少它们与血管内皮细胞结合, 降低中性粒细胞对血管的损伤。同时, MSC 抑制补体介导的外周血单核细胞增殖。由 MSC 分泌的促炎因子限制肥大细胞脱颗粒及趋化因子迁移。此外, MSC 可抑制自然杀伤 (natural killer, NK) 细胞增殖, 降低 NK 细胞毒性<sup>[15]</sup>。

## 2.2 组织修复

再生微环境中, MSC 通过旁分泌与其他细胞 (包括成纤维细胞、内皮细胞、上皮细胞和巨噬细胞) 发生相互作用, 在组织修复过程中扮演关键角色<sup>[24]</sup>。血管生成是组织修复中的关键步骤, MSC 通过分泌血管内皮生长因子、血管生成素和基质细胞衍生因子等调控该过程<sup>[5]</sup>。MSC 抑制氧化应激过程并激活蛋白激酶 B 途径发挥抗凋亡作用, 调控内皮细胞增殖和迁移<sup>[25]</sup>。此外, MSC 细胞外囊泡可能通过将线粒体转移到受损细胞中, 促进缺血-再灌注后细胞快速恢复三磷酸腺苷供应<sup>[26]</sup>。

动物模型研究发现, MSC 可降低心脏和其他器

官 (如肺、肝和肾) 的纤维化程度, 减缓肾移植术后间质纤维化和小管萎缩 (interstitial fibrosis and tubular atrophy, IF/TA) 的发生过程<sup>[27]</sup>。同时, MSC 处理组大鼠间质组织内 DC 浸润减少, 促炎因子表达减少, 抗炎因子表达增多<sup>[28]</sup>。在同种异体移植中, MSC 可抑制内皮细胞损伤, 通过稳定微血管系统修复同种异体移植血管组织生理功能<sup>[29]</sup>。此外, 有研究表明 MSC 介导的代谢调节以及对脂质毒性预防作用可减轻急性肾损伤<sup>[30]</sup>。

## 3 MSC 在肾移植临床试验中的应用

鉴于 MSC 的免疫调节特性, 肾移植临床试验研究重点关注 MSC 是否调控宿主对同种异体移植物的免疫反应。大量动物模型的临床前数据为 MSC 在肾移植中的应用奠定了基础。

2009 年, 意大利的一个团队启动自体 MSC 在活体肾移植受者中的安全性和可行性的试点研究, 2 例患者除使用低剂量抗胸腺细胞球蛋白 (antithymocyte globulin, ATG)、巴利昔单抗和糖皮质激素外, 在肾移植术后 7 d 静脉输注了骨髓来源的 MSC, 结果发现 MSC 抑制 T 细胞增殖的作用没有受到药物影响, 细胞输注后 2 周内 2 例患者出现肾功能恶化, 组织学检测证实与急性排斥反应无关, CD4<sup>+</sup>T 细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞、CD14<sup>+</sup>单核细胞、CD20<sup>+</sup>细胞和 CD68<sup>+</sup>巨噬细胞水平下降, 而中性粒细胞增加、补体 C3d 沉积增多。基于早前小鼠肾移植模型的实验结果, 推测可能是因为输注 MSC 产生了促炎介质, 促进中性粒细胞募集。随后团队修改临床研究方案, 在移植前 1 d 进行 MSC 输注, 2 例活体肾移植受者接受 MSC 输注后未出现移植综合征<sup>[31]</sup>。该团队 2018 年发布了 4 例接受 MSC 治疗的患者 5~7 年的临床和随访情况。结果显示, 所有患者的移植物功能稳定, 未增加感染或肿瘤的易感性, 3 例患者循环记忆 CD8<sup>+</sup>T 细胞比例仍然低于基础水平, 2 例患者 Treg/记忆 CD8<sup>+</sup>T 细胞比值、循环中幼稚 B 细胞和过渡 B 细胞数量持续升高, 1 例患者仅使用小剂量吗替麦考酚酯 (mycophenolate mofetil, MMF) 单药治疗<sup>[32]</sup>。

2012 年一项前瞻性随机试验研究包括 156 例活体肾移植受者, 是肾移植研究领域规模最大的 MSC 临床治疗, 研究了自体 MSC 联合低剂量钙调磷酸酶抑制剂 (calcineurin inhibitor, CNI) (52 例)、标准剂量 CNI (53 例), 以及抗 IL-2 受体抗体联合

标准剂量 CNI (51 例) 的治疗情况, 分别在术中再灌注时和移植后第 2 周静脉给予  $1\sim 2\times 10^6/\text{kg}$  MSC, 期间继续维持 MMF 和糖皮质激素治疗。在 12 个月的随访中, 各组患者和移植物存活率差异无统计学意义, 但 MSC 治疗组患者术后 1 个月内肾功能恢复更快, 前 6 个月内急性排斥反应发生率较低, 与对照组相比, MSC 联合低剂量 CNI 组机会性感染率降低, 而 MSC 联合标准剂量 CNI 组未观察到<sup>[33]</sup>。2015 年, Mudrabettu 等<sup>[34]</sup> 对 4 例活体肾移植受者进行了 2 次静脉注射 MSC 的安全性评估, MSC 分别于肾移植前 1 d 和移植后 1 个月输注。结果显示 MSC 给药安全且耐受性良好, 未发生移植物功能障碍或急性排斥反应, MSC 治疗后患者 Treg 水平显著升高,  $\text{CD4}^+$  T 细胞增殖水平未降低。荷兰 Reinders 等<sup>[35]</sup> 研究了使用自体 MSC 治疗肾移植术后急性排斥反应, 与肾移植术后 4 周相比, 术后 6 个月急性排斥反应和 (或) IF/TA 增加, 6 例患者中, 2 例患者未发现持续的小血管炎现象, 但 3 例患者出现了机会性感染。

肾移植临床试验研究中还尝试了同种异体 MSC 治疗。Peng 等<sup>[36]</sup> 的研究中, 6 例肾移植受者分别接受了 2 次供者来源的 MSC 输注: 手术期间通过动脉注射、术后 1 个月时通过静脉注射, 同时使用低剂量他克莫司。1 年随访结果显示, MSC 输注联合低剂量他克莫司治疗是安全的, 联合治疗组的急性排斥反应发生率、患者和移植物存活率以及肾功能与对照组差异无统计学意义。该研究后续又纳入 20 例患者, 肾移植术后 2 年随访结果提示, MSC 与低剂量他克莫司联用治疗方案与使用标准剂量他克莫司治疗方案在移植物存活方面的效率相同。此外, 与对照组相比, MSC 联用组肾组织中 NK 细胞比例下降<sup>[37]</sup>。Lee 等<sup>[38]</sup> 研究了将供者 MSC 输注在 HLA 不匹配活体供肾移植受者中的安全性和有效性。结果显示, MSC 输注期间和输注后未发生不良反应, 但随访期间 3 例受者分别于肾移植术后 1 周和 8 周发生急性排斥反应, 受者外周血未检测到混合嵌合现象。

Sun 等<sup>[39]</sup> 在 21 例尸体供肾移植受者中评估了第三方脐带来源 MSC 的应用效果, MSC 在肾移植术前 30 min 静脉注射和术间肾动脉注射, 并与一项多中心随机试验中的配对肾移植受者进行比较。结果显示, 两组间急性排斥反应发生率和移植物功能差异无统计学意义, 随访 1 年, 两组的感染率和估算肾小球滤过率相似, 但肾移植术后 7 d, 1 例患者移植肾组

织中未检测到 MSC。一项前瞻性 I~II 期临床对照试验评估了除标准免疫抑制外, 为尸体供肾移植受者注射第三方 MSC 的可行性、安全性和耐受性<sup>[40]</sup>。除 1 例有缺血性心脏病病史患者输注 MSC 约 3 h 后发生非 ST 段抬高型心肌梗死, 未见其他不良反应, 各组间机会性感染发生率相似。与其他肾移植受者队列相比, MSC 治疗患者在肾移植术后 30 d  $\text{CD4}^+$ Treg 数量增加, 且与移植物功能改善情况相关。尽管存在 HLA 错配, 但仅 1 例患者产生了新生供者特异性抗体。Dreyer 等<sup>[41]</sup> 在 2020 年报道了一项临床试验结果, 评估了肾移植术后 6 个月进行单次第三方 MSC 输注的安全性。与以往研究结果不同, 无患者发生新生供者特异性抗体, 这可能是因为 MSC 输注时患者的免疫状态比移植期更稳定。MSC 输注后未观察到白细胞亚群显著变化, 表明延迟给药可能也具有免疫调节作用<sup>[27]</sup>。通过对以上临床试验数据结果整理分析, 我们合理地假设 MSC 可以有效诱导移植免疫耐受状态, 允许部分患者停用免疫抑制药。

#### 4 MSC 外泌体在肾移植研究中的应用

MSC 治疗方法已普及, 然而研究尚不能排除长期培养的 MSC 促进肿瘤生长、排斥反应发生和病原体传播、细胞分化缺失和形态改变的风险。为降低这些风险, 需要开发更安全、更有效的治疗方法。

外泌体 (exosome, Exo) 是细胞分泌的膜封闭囊泡, 含有多种生物活性成分, 包括蛋白质、核酸和脂质, 是细胞间通讯的主要介质, 可通过向靶细胞递送各种遗传和蛋白质来复制原始 MSC 功能。临床前研究已确定 Exo 在 MSC 介导的损伤组织修复过程中起主导作用。MSC-Exo 因具有与 MSC 相似的修复功能而被广泛应用于慢性肾病特别是糖尿病肾病和肾纤维化的治疗。MSC-Exo 通过将多种生长因子和非编码微小 RNA 转移到受损肾细胞, 促进细胞增殖、自噬和血管生成, 抑制细胞凋亡、炎症、氧化应激和小管间质纤维化, 减轻肾损伤, 恢复肾功能。尽管 MSC-Exo 的功能可能因 MSC 的来源而异, 但都有治疗作用。

Wu 等<sup>[42]</sup> 实验证实 MSC-Exo 中的长链非编码 RNA 通过下调 SIRT1 基因表达, 促进  $\text{CD4}^+$ T 细胞向 Treg 分化, 从而诱导肾移植免疫耐受。也有研究证实, Exo 可以作为监测肾、心、肝、胰岛和肺移植免疫耐受的生物标志物, 且 Exo 能够减轻缺血-再灌注

引起的移植物损伤<sup>[43]</sup>。MSC-Exo 能够作为药物和分子传递的载体, 预处理靶效应微小 RNA, 使用预处理的 Exo 提高药物敏感性, 可缩短患者治疗时间, 改善患者预后。

临床前研究引入了 MSC 培养新技术, 如使用水凝胶、球形或中空纤维和生物反应器的 3D 培养条件, 有利于大规模生产 Exo。为了优化 Exo 的分离和纯化过程, 切向流过滤和不对称场流分离等新方法开始应用, 但仍缺乏快速分离、纯化、定量和鉴定 Exo 的标准技术<sup>[44]</sup>。Exo 在体内的分布是一个动态的过程, 虽然研究者已经制定了几种 Exo 体内追踪方案, 但目前对 MSC-Exo 分布情况的认识仍然有限, 其在体内的分布和清除情况, 还需要深入研究。总之, MSC-Exo 为预防肾移植术后排斥反应及肾功能下降提供了更多选择。随着 MSC-Exo 生产、纯化和表征的标准化, 其质量和安全性不断提高, MSC-Exo 在器官移植中的应用效果将会越来越好。

## 5 MSC 治疗有待解决的问题及展望

### 5.1 剂量和来源

目前, 达到临床效果所需的 MSC 剂量尚未标准化, 器官移植中 MSC 的理想来源尚未确定。早期 MSC 通常从骨髓中分离, 现阶段可以从其他易得组织如脂肪组织或脐带中分离。脂肪来源的 MSC 与骨髓来源的 MSC 具有相似的表型和免疫调节特性<sup>[45]</sup>, 但不同来源 MSC 许多基因存在表达差异, 这些差异会影响细胞功能。此外, 多次传代培养的 MSC 可能发生染色体变异, 因此, 临床试验研究需要选择适合的来源 MSC, 且 MSC 培养过程应避免过多的传代次数。

MSC 可以从器官移植受者、供者或第三方同种异体中分离。以往研究表明, 自体 and 异体 MSC 都能够抑制同种异体反应, 并且具有相当的疗效<sup>[46]</sup>。MSC 具有低免疫原性, 输注完全不匹配的同种异体 MSC 后, 未观察到受者出现排斥反应。Crop 等<sup>[47]</sup>证明在肾移植术前输注供者来源的 MSC 不会导致排斥反应, 反而可以抑制同种异体反应。然而, 也有报道同种异体 MSC 输注后会诱导产生记忆 T 细胞并导致排斥反应<sup>[48]</sup>。因此, 不能排除同种异体来源的 MSC 会加速移植物排斥反应的可能。

### 5.2 与免疫抑制药的相互作用

由于 MSC 和免疫抑制药有相同的靶标 (主要为

T 细胞), 因此它们之间可能存在相互作用。了解哪些药物对 MSC 功能产生积极或消极的影响是至关重要的。体外研究表明, 他克莫司和西罗莫司 (雷帕霉素) 可降低 MSC 的免疫抑制功能, 同时, MSC 也会降低这两种药物的免疫抑制作用<sup>[49]</sup>。MSC 与霉酚酸联用则未见对彼此免疫功能的影响。高剂量他克莫司对 MSC 有细胞毒性, 而治疗剂量的霉酚酸和雷帕霉素仅抑制 MSC 增殖。环孢素和 MSC 对多种活化淋巴细胞的抑制作用具有叠加效应, 也有研究表明霉酚酸和 MSC 具有协同免疫抑制作用<sup>[6]</sup>。

与体外观察结果不同, 体内实验发现雷帕霉素和 MSC 有协同作用, 可以延长同种异体移植物的存活时间<sup>[50]</sup>。在大鼠肾移植模型中, 环孢素降低了 MSC 的免疫抑制作用<sup>[51]</sup>。因此, 需要更多研究明确哪些药物与 MSC 联用对治疗最有效。

### 5.3 给药时间

MSC 可以在移植前、移植中或移植后输注, 可以单次或多次注射。确定给药时机是另一个关键问题。小鼠心脏移植模型研究结果显示, 移植前输注 MSC 比移植后输注更有效地预防移植排斥反应<sup>[52]</sup>。Perico 等<sup>[53]</sup>的临床试验也观察到移植后早期输注 MSC 可导致一过性的肾功能障碍。因此最佳的细胞输注方案和输注时间需要纳入更多的试验患者提供更有力的数据。

### 5.4 不良反应及安全性

为了获得足够数量的细胞, MSC 需要在体外大量扩增, 扩增过程中存在 MSC 基因突变风险, 增加细胞输注后肿瘤的形成风险<sup>[54]</sup>。另外, MSC 的免疫抑制作用也可能诱发机会性感染和肿瘤。虽然以往 MSC 的研究尚未观察到病毒感染风险增加<sup>[5]</sup>, 但是仍然需要持续监测临床不良反应, 并长期观察统计细胞治疗疗效。

### 5.5 微环境因素影响治疗效果

体外研究可以精准控制培养条件, 密切监测 MSC 状态。然而 MSC 在体内发挥的免疫抑制作用并不一定总能达到预期效果。体内给药后, MSC 暴露于宿主免疫细胞和可溶性细胞因子或趋化因子中, 可能引起表型改变, 影响治疗结果。细胞因子在疾病进展中起着关键作用, 而它们的表达在疾病的不同阶段有所不同。不稳定的细胞因子可能导致 MSC 疗效降低。此外, 用于器官移植和治疗免疫性疾病的免疫抑制药也会增加体内微环境的复杂性<sup>[55]</sup>。

## 5.6 储存

维持细胞稳定性对于细胞治疗至关重要。大量体外研究表明, 细胞储存条件影响细胞形态、活力和治疗特性。保存不当可能大幅减少细胞药品中活细胞数量并影响治疗效果, 2~8 °C 的低温保存是无细胞破坏性的储存条件, 在短时间内能够适于维持细胞活力<sup>[56]</sup>。而超低温冻存的细胞复苏后, 需要一个恢复阶段, 才能保证其在体内存活并发挥免疫调节和治疗作用。

储存液成分也会影响 MSC 的活力。储存过程中, 次黄嘌呤和黄嘌呤氧化酶累积以及细胞膜去极化可导致离子稳态破坏<sup>[57]</sup>。虽然与分化细胞相比, MSC 更能抵抗渗透和氧化应激, 但是仍需尽量减少载体溶液对细胞的破坏。储存介质的离子平衡需要与细胞内环境相似, 避免细胞活力随时间延长而下降。溶液组成需严格模拟人体血浆的电解质组成、渗透压和 pH 值。添加 1% 人血清白蛋白的乳酸钠林格溶液有助于提高 MSC 在低温储存时的存活率<sup>[58]</sup>。未来研究应严格测试不同的储存溶液并确定最佳储存时长, 最大程度确保细胞的稳定性和疗效。

## 5.7 临床前应用研究

在大型动物实验中, 我们可以更好地了解 MSC-Exo 的生物学和功能特征。然而, 目前还没有关于 MSC-Exo 在大型动物模型中的应用研究。大型动物 (猪或猴子) 比使用小动物模型更有说服力, 在疾病的复杂性、有效细胞剂量、移植后的细胞存活率以及与移植相关的组织炎症和免疫反应方面大型动物实验表现与人类更接近。因此, 在临床应用前, 增加 MSC-Exo 在大型动物移植模型中的作用研究是非常有必要的<sup>[51]</sup>。

## 6 小结

综上所述, 目前关于 MSC 治疗在肾移植中应用研究主要集中在以下 2 个方面: (1) 预防或减轻缺血-再灌注损伤; (2) 急性排斥反应治疗、免疫耐受诱导以及最小化免疫抑制药物的不良反应。MSC 可能通过诱导持久的免疫抑制微环境, 在肾移植中预防或治疗同种异体移植功能障碍和排斥反应。使用 MSC 可减少患者对免疫抑制药的需求, 避免产生药物相关的严重不良反应。

目前的临床数据表明, MSC 治疗在中短期是安全的, 但长期影响还需进一步评估。部分体外和体内结果矛盾, 可能是一些未知参数影响了 MSC 治疗的有效性, 未来还需制定更加严谨的治疗方案。而关

于 MSC 在肾移植中的疗效, 目前的数据尚不足以得出明确结论, 需要进一步的研究。在将基于 MSC 疗法推向广泛的临床试验前, 仍需对给药剂量等条件进行研究。即使该领域还存在许多的未知和困难需要解决, 我们依然坚信 MSC 的功能探索和临床应用之间的差距终将被弥合, 在肾移植中应用 MSC 治疗方法的未来可期。

## 参考文献:

- [1] GUO Z, LUO T, MO R, et al. Ischemia-free organ transplantation - a review[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2022, 27(4): 300-304. DOI: 10.1097/MOT.0000000000000998.
- [2] MASSICOTTE-AZARNIOUCH D, DETWILER RK, HU Y, et al. Malignancy risk in kidney transplant recipients exposed to immunosuppression pre-transplant for the treatment of glomerulonephritis[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2023, 38(9): 2009-2018. DOI: 10.1093/ndt/gfac337.
- [3] YOHANNAN B, SRIDHAR A, KAUR H, et al. Screening for renal cell carcinoma in renal transplant recipients: a single-centre retrospective study[J]. *BMJ Open*, 2023, 13(9): e071658. DOI: 10.1136/bmjopen-2023-071658.
- [4] 邱煜程, 周显玉, 刘菲, 等. 间充质干细胞及其外泌体在移植中的应用进展[J]. *组织工程与重建外科杂志*, 2023, 19(2): 184-188. DOI: 10.3969/j.issn.1673-0364.2023.02.016.
- QIU YC, ZHOU XY, LIU F, et al. Application progress of mesenchymal stem cells and their exosomes in allotransplantation[J]. *J Tissue Eng Reconstr Surg*, 2023, 19(2): 184-188. DOI: 10.3969/j.issn.1673-0364.2023.02.016.
- [5] 冯星, 靳洪涛, 马隽, 等. 间充质干细胞治疗性关节炎的研究进展[J/OL]. *中华细胞与干细胞杂志 (电子版)*, 2023, 13(2): 87-92. DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2023.02.004.
- FENG X, JI HT, MA J, et al. Progress in the treatment of inflammatory arthritis with mesenchymal stem cells[J/OL]. *Chin J Cell Stem Cell (Electr Edit)*, 2023, 13(2): 87-92. DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2023.02.004.
- [6] MARGIANA R, MARKOV A, ZEKIY AO, et al. Clinical application of mesenchymal stem cell in regenerative medicine: a narrative review[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 366. DOI: 10.1186/s13287-022-03054-0.
- [7] ZANG L, LI Y, HAO H, et al. Efficacy and safety of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in Chinese adults with type 2 diabetes: a single-center, double-blinded, randomized, placebo-controlled phase II trial[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 180. DOI: 10.1186/s13287-022-02848-6.
- [8] SINGH J, SINGH S. Review on kidney diseases: types, treatment and potential of stem cell therapy[J]. *Ren Replace Ther*, 2023, 9(1): 21. DOI: 10.1186/s41100-023-00475-2.
- [9] 高世春, 冯一梅, 高蕾, 等. 维多珠单抗治疗糖皮质激素耐药急性肠道移植抗宿主病 2 例报告并文献复习[J]. *中华血液学杂志*, 2022, 43(12): 1046-1049. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2022.12.013.

- GAO SC, FENG YM, GAO L, et al. Vedolizumab for treatment of steroid-refractory intestinal acute graft-versus-host disease: two cases report and literature review[J]. *Chin J Hematol*, 2022, 43(12): 1046-1049. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2022.12.013.
- [10] DOMINICI M, LE BLANC K, MUELLER I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. the International Society for Cellular Therapy position statement[J]. *Cytotherapy*, 2006, 8(4): 315-317. DOI: 10.1080/14653240600855905.
- [11] HUANG Y, WU Q, TAM PKH. Immunomodulatory mechanisms of mesenchymal stem cells and their potential clinical applications[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(17): 10023. DOI: 10.3390/ijms231710023.
- [12] SEL FA, OGUZ FS. Regenerative medicine application of mesenchymal stem cells[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2022, 1387: 25-42. DOI: 10.1007/5584\_2022\_713.
- [13] ZARIPOVA LN, MIDGLEY A, CHRISTMAS SE, et al. Mesenchymal stem cells in the pathogenesis and therapy of autoimmune and autoinflammatory diseases[J]. *Int J MolSci*, 2023, 24(22): 16040. DOI: 10.3390/ijms242216040.
- [14] PISTOIA V, RAFFAGHELLO L. Mesenchymal stromal cells and autoimmunity[J]. *Int Immunol*, 2017, 29(2): 49-58. DOI: 10.1093/intimm/dxx008.
- [15] DEO D, MARCHIONI M, RAO P. Mesenchymal stem/stromal cells in organ transplantation[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(4): 791. DOI: 10.3390/pharmaceutics14040791.
- [16] DE MARTINO M, ZONTA S, RAMPINO T, et al. Mesenchymal stem cells infusion prevents acute cellular rejection in rat kidney transplantation[J]. *Transplant Proc*, 2010, 42(4): 1331-1335. DOI: 10.1016/j.transproceed.2010.03.079.
- [17] 洪政, 王峰. 间充质干细胞在同种异体心脏移植中诱导免疫耐受的进展[J]. *湖北民族大学学报(医学版)*, 2022, 39(4): 56-59.
- HONG Z, WANG F. Progress of mesenchymal stem cells inducing immune tolerance in allogeneic heart transplantation[J]. *J Hubei Univ (Med Edit)*, 2022, 39(4): 56-59.
- [18] GARCIA SG, SANDOVAL-HELLÍN N, CLOSANSALVADOR M, et al. Mesenchymal stromal cells induced regulatory B cells are enriched in extracellular matrix genes and IL-10 independent modulators[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 957797. DOI: 10.3389/fimmu.2022.957797.
- [19] FOUZA A, TAGKOUTA A, DAOUDAKI M, et al. Exploring perturbations in peripheral B cell memory subpopulations early after kidney transplantation using unsupervised machine learning[J]. *J Clin Med*, 2023, 12(19): 6331. DOI: 10.3390/jcm12196331.
- [20] UNAR A, BERTOLINO L, PATAUNER F, et al. Decoding sepsis-induced disseminated intravascular coagulation: a comprehensive review of existing and emerging therapies[J]. *J Clin Med*, 2023, 12(19): 6128. DOI: 10.3390/jcm12196128.
- [21] YANG S, ZHAO M, JIA S. Macrophage: key player in the pathogenesis of autoimmune diseases[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1080310. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1080310.
- [22] GAO S, MAO F, ZHANG B, et al. Mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells induce macrophage M2 polarization through the nuclear factor- $\kappa$ B and signal transducer and activator of transcription 3 pathways[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2014, 239(3): 366-375. DOI: 10.1177/1535370213518169.
- [23] SCHRODT MV, BEHAN-BUSH RM, LISZEWSKI JN, et al. Efferocytosis of viable versus heat-inactivated MSC induces human monocytes to distinct immunosuppressive phenotypes[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2023, 14(1): 206. DOI: 10.1186/s13287-023-03443-z.
- [24] 蔡海军. 间充质干细胞在组织修复和再生中应用的研究进展[J]. *重庆医学*, 2023, 52(5): 782-786. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2023.05.030.
- CAI HJ. Advances in the application of mesenchymal stem cells in tissue repair and regeneration[J]. *Chongqing Med*, 2023, 52(5): 782-786. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2023.05.030.
- [25] YANG J, XIAO M, MA K, et al. Therapeutic effects of mesenchymal stem cells and their derivatives in common skin inflammatory diseases: atopic dermatitis and psoriasis[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1092668. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1092668.
- [26] BLONDEEL J, GILBO N, DE BONDT S, et al. Stem cell derived extracellular vesicles to alleviate ischemia-reperfusion injury of transplantable organs. a systematic review[J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2023, 19(7): 2225-2250. DOI: 10.1007/s12015-023-10573-7.
- [27] PODESTÀ MA, REMUZZI G, CASIRAGHI F. Mesenchymal stromal cell therapy in solid organ transplantation[J]. *Front Immunol*, 2021, 11: 618243. DOI: 10.3389/fimmu.2020.618243.
- [28] FRANQUESA M, HERRERO E, TORRAS J, et al. Mesenchymal stem cell therapy prevents interstitial fibrosis and tubular atrophy in a rat kidney allograft model[J]. *Stem Cells Dev*, 2012, 21(17): 3125-3135. DOI: 10.1089/scd.2012.0096.
- [29] 马元, 庄雪莹, 陈旭. 间充质干细胞外泌体调控血管生成机制的研究进展[J]. *中国医科大学学报*, 2021, 50(10): 944-947. DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2021.10.016.
- MA Y, ZHUANG XY, CHEN X. Advances in research regarding the mechanisms whereby mesenchymal stem cell-derived exosomes regulate angiogenesis[J]. *J China Med Univ*, 2021, 50(10): 944-947. DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2021.10.016.
- [30] LEE K, JANG HR. Role of T cells in ischemic acute kidney injury and repair[J]. *Korean J Intern Med*, 2022, 37(3): 534-550. DOI: 10.3904/kjim.2021.526.
- [31] RAMA I, GRINYÓ JM. Malignancy after renal transplantation: the role of immunosuppression[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2010, 6(9): 511-519. DOI: 10.1038/nrneph.2010.102.
- [32] PERICO N, CASIRAGHI F, TODESCHINI M, et al. Long-term clinical and immunological profile of kidney transplant patients given mesenchymal stromal cell immunotherapy[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1359. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01359.
- [33] TAN J, WU W, XU X, et al. Induction therapy with autologous mesenchymal stem cells in living-related kidney transplants: a randomized controlled trial[J]. *JAMA*, 2012, 307(11): 1169-1177. DOI: 10.1001/jama.2012.316.
- [34] MUDRABETTU C, KUMAR V, RAKHA A, et al. Safety and efficacy of autologous mesenchymal stromal cells transplantation in patients undergoing living donor kidney transplantation: a pilot study[J]. *Nephrology (Carlton)*, 2015, 20(1): 25-33. DOI: 10.1111/nep.12338.
- [35] REINDERS ME, DE FIJTER JW, ROELOFS H, et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal

- cells for the treatment of allograft rejection after renal transplantation: results of a phase I study[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2013, 2(2): 107-111. DOI: 10.5966/sctm.2012-0114.
- [36] PENG Y, KE M, XU L, et al. Donor-derived mesenchymal stem cells combined with low-dose tacrolimus prevent acute rejection after renal transplantation: a clinical pilot study[J]. *Transplantation*, 2013, 95(1): 161-168. DOI: 10.1097/TP.0b013e3182754c53.
- [37] PAN GH, CHEN Z, XU L, et al. Low-dose tacrolimus combined with donor-derived mesenchymal stem cells after renal transplantation: a prospective, non-randomized study[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(11): 12089-12101. DOI: 10.18632/oncotarget.7725.
- [38] LEE H, PARK JB, LEE S, et al. Intra-osseous injection of donor mesenchymal stem cell (MSC) into the bone marrow in living donor kidney transplantation; a pilot study[J]. *J Transl Med*, 2013, 11: 96. DOI: 10.1186/1479-5876-11-96.
- [39] SUN Q, HUANG Z, HAN F, et al. Allogeneic mesenchymal stem cells as induction therapy are safe and feasible in renal allografts: pilot results of a multicenter randomized controlled trial[J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 52. DOI: 10.1186/s12967-018-1422-x.
- [40] ERPICUM P, WEEKERS L, DETRY O, et al. Infusion of third-party mesenchymal stromal cells after kidney transplantation: a phase I-II, open-label, clinical study[J]. *Kidney Int*, 2019, 95(3): 693-707. DOI: 10.1016/j.kint.2018.08.046.
- [41] DREYER GJ, GROENEWEG KE, HEIDT S, et al. Human leukocyte antigen selected allogeneic mesenchymal stromal cell therapy in renal transplantation: the Neptune study, a phase I single-center study[J]. *Am J Transplant*, 2020, 20(10): 2905-2915. DOI: 10.1111/ajt.15910.
- [42] WU X, WANG Z, WANG J, et al. Exosomes secreted by mesenchymal stem cells induce immune tolerance to mouse kidney transplantation via transporting lncRNA DANCR[J]. *Inflammation*, 2022, 45(1): 460-475. DOI: 10.1007/s10753-021-01561-5.
- [43] 曾可君, 杨煜辉, 胡喆. 外泌体在重要脏器缺血再灌注损伤中的治疗作用研究进展[J]. *中国医药导报*, 2022, 19(25): 33-37. DOI: 10.20047/j.issn1673-7210.2022.25.07. ZENG KJ, YANG YH, HU Z. Research progress on the therapeutic effect of exosomes in ischemia reperfusion injury in important organs[J]. *China Med Herald*, 2022, 19(25): 33-37. DOI: 10.20047/j.issn1673-7210.2022.25.07.
- [44] CAO Q, HUANG C, CHEN XM, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: toward cell-free therapeutic strategies in chronic kidney disease[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9: 816656. DOI: 10.3389/fmed.2022.816656.
- [45] KERN S, EICHLER H, STOEVE J, et al. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue[J]. *Stem Cells*, 2006, 24(5): 1294-1301. DOI: 10.1634/stemcells.2005-0342.
- [46] ABBASI B, SHAMSASENJAN K, AHMADI M, et al. Mesenchymal stem cells and natural killer cells interaction mechanisms and potential clinical applications[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 97. DOI: 10.1186/s13287-022-02777-4.
- [47] CROP MJ, BAAN CC, KOREVAAR SS, et al. Donor-derived mesenchymal stem cells suppress alloreactivity of kidney transplant patients[J]. *Transplantation*, 2009, 87(6): 896-906. DOI: 10.1097/TP.0b013e31819b3d72.
- [48] NAUTA AJ, WESTERHUIS G, KRUISSELBRINK AB, et al. Donor-derived mesenchymal stem cells are immunogenic in an allogeneic host and stimulate donor graft rejection in a nonmyeloablative setting[J]. *Blood*, 2006, 108(6): 2114-2120. DOI: 10.1182/blood-2005-11-011650.
- [49] BURON F, PERRIN H, MALCUS C, et al. Human mesenchymal stem cells and immunosuppressive drug interactions in allogeneic responses: an in vitro study using human cells[J]. *Transplant Proc*, 2009, 41(8): 3347-3352. DOI: 10.1016/j.transproceed.2009.08.030.
- [50] POPP FC, EGGENHOFER E, RENNER P, et al. Mesenchymal stem cells can induce long-term acceptance of solid organ allografts in synergy with low-dose mycophenolate[J]. *Transpl Immunol*, 2008, 20(1/2): 55-60. DOI: 10.1016/j.trim.2008.08.004.
- [51] GE W, JIANG J, BAROJA ML, et al. Infusion of mesenchymal stem cells and rapamycin synergize to attenuate alloimmune responses and promote cardiac allograft tolerance[J]. *Am J Transplant*, 2009, 9(8): 1760-1772. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2009.02721.x.
- [52] KAUNDAL U, BAGAI U, RAKHA A. Immunomodulatory plasticity of mesenchymal stem cells: a potential key to successful solid organ transplantation[J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 31. DOI: 10.1186/s12967-018-1403-0.
- [53] PERICO N, CASIRAGHI F, INTRONA M, et al. Autologous mesenchymal stromal cells and kidney transplantation: a pilot study of safety and clinical feasibility[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2011, 6(2): 412-422. DOI: 10.2215/CJN.04950610.
- [54] CASIRAGHI F, AZZOLLINI N, TODESCHINI M, et al. Localization of mesenchymal stromal cells dictates their immune or proinflammatory effects in kidney transplantation[J]. *Am J Transplant*, 2012, 12(9): 2373-2383. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2012.04115.x.
- [55] WU B, SHI X, JIANG M, et al. Cross-talk between cancer stem cells and immune cells: potential therapeutic targets in the tumor immune microenvironment[J]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 38. DOI: 10.1186/s12943-023-01748-4.
- [56] GNIADEK TJ, GARRITSEN HSP, STRONCEK D, et al. Optimal storage conditions for apheresis research (OSCAR): a biomedical excellence for safer transfusion (BEST) Collaborative study[J]. *Transfusion*, 2018, 58(2): 461-469. DOI: 10.1111/trf.14429.
- [57] DRELA K, STANASZEK L, NOWAKOWSKI A, et al. Experimental strategies of mesenchymal stem cell propagation: adverse events and potential risk of functional changes[J]. *Stem Cells Int*, 2019: 7012692. DOI: 10.1155/2019/7012692.
- [58] LECHANTEUR C, BRIQUET A, BETTONVILLE V, et al. MSC manufacturing for academic clinical trials: from a clinical-grade to a full GMP-compliant process[J]. *Cells*, 2021, 10(6): 1320. DOI: 10.3390/cells10061320.

(收稿日期: 2023-11-02)

(本文编辑: 方引超 鄢加佳)