

人脐带间充质干细胞连续静脉注射对大鼠的安全性及肝脏的影响*

梅小利¹ 杜伟¹ 吴思澜¹ 杨雪^{1,2} 于冰^{3,4} 李聪⁵ 黄崇刚^{1,2}

(1. 重庆市中药研究院·重庆市药物安全评价中心, 重庆 400065; 2. 重庆中医药学院, 重庆 402760; 3. 山东省药物研究院, 山东 济南 250062; 4. 山东第一医科大学·山东省医学科学院, 山东 济南 250062; 5. 中国医学科学院医学生物学研究所, 云南 昆明 650031)

【摘要】 目的 探讨人脐带间充质干细胞(hUC-MSCs)多次注射对大鼠的安全性及肝脏的影响,为 hUC-MSCs 临床应用的安全性提供支持。方法 取 SPF 级健康 SD 大鼠 50 只,随机分成阴性对照组(生理盐水)、溶媒对照组(白蛋白)、hUC-MSCs 高剂量(1.0×10^7 cells/kg)、中剂量(5.0×10^6 cells/kg)、低剂量组(2.5×10^6 cells/kg),每组 10 只,尾静脉注射给药 4 次,1 次/周。在末次给药后 24 h,采集大鼠血样,检测血生化指标(TBIL、AST、ALT、GGT)、血清细胞因子(IFN- γ 、IL-17、TNF- α)以及 T 淋巴细胞亚群(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺);观察大鼠肝脏重量、脏器比指数及组织病理学变化;提取大鼠肝脏组织总 RNA, qRT-PCR 分析 Act1、IL-17A、Hsp90aa1 基因水平的表达情况。结果 hUC-MSCs 高、中、低剂量组多次静脉注射后,大鼠血生化、血清细胞因子 IFN- γ 、IL-17、TNF- α 以及 T 淋巴细胞亚群、肝脏重量、脏器比指数及组织病理学变化与阴性对照组、溶媒对照组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。hUC-MSCs 可明显降低肝组织中 IL-17A mRNA 表达水平,对 Act1、Hsp90aa1 mRNA 表达未见明显影响($P > 0.05$)。结论 hUC-MSCs 在 1.0×10^7 、 5.0×10^6 、 2.5×10^6 cells/kg 剂量下多次静脉注射大鼠安全性好,可下调 IL-17A 水平。

【关键词】 人脐带间充质干细胞;安全性;IL-17 信号通路;大鼠

【中图分类号】 R394.2 **【文献标志码】** A **DOI:**10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2023. 07. 004

Study on the safety of continuous intravenous injection of human umbilical cord mesenchymal stem cells in rats and its effect on hepatic IL-17 signaling pathway

MEI Xiaoli¹, DU Wei¹, WU Silan¹, YANG Xue^{1,2}, YU Bing^{3,4}, LI Cong⁵, HUANG Chonggang^{1,2}

(1. Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing Drug Safety Evaluation Center, Chongqing 400065, China;

2. Chongqing College of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 402760, China;

3. Shandong Institute of Pharmaceutical Research, Jinan 250062, China;

4. Shandong First Medical University, Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250062, China;

5. Institute of Medical, Chinese Academy of Medical Sciences, Kunming 650031, China)

【Abstract】 **Objective** To observe the safety of human umbilical cord mesenchymal stem cells (hUC-MSCs) injected into rats for many times and its effect on rat's liver, so as to provide support for the safety hUC-MSCs in clinical application. **Methods** Fifty SPF healthy SD rats were randomly divided into negative control group, vehicle control group, high dose, medium dose and low dose groups of hUC-MSCs, with ten rats in each group. The drugs were injected into the caudal vein 4 times, once a week. At 24 hours after the last administration, blood samples were collected for the detection of blood biochemistry, serum cytokine IFN- γ , IL-17, TNF- α and T lymphocyte subsets. The liver weight, organ body ratio index and histopathological changes were observed. Total RNA was extracted from rat liver tissue, and the expression of Act1, IL-17A and Hsp90aa1 genes was analyzed by qRT-PCR. **Results** After multiple intravenous injections of 1×10^7 , 5.0×10^6 , 2.5×10^6 cells/kg hUC-MSCs, there were no significant differences in blood biochemistry, serum cytokines IFN- γ , IL-17, TNF- α , T lymphocyte subsets, liver weight, organ body index and histopathological

基金项目:重庆市技术创新与应用发展专项重点项目(cstc2020jscx-lyggX0004)

通讯作者:黄崇刚, E-mail: hcg2091@163.com

引用本文:梅小利,杜伟,吴思澜,等.人脐带间充质干细胞连续静脉注射对大鼠的安全性及肝脏的影响[J].西部医学,2023,35(7):959-963.

DOI:10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2023. 07. 004

changes between negative control group and solvent control group ($P > 0.05$). hUC-MSCs could significantly reduce the expression of IL-17A mRNA in liver tissue, but had no significant effect on the expression of Act1 and hsp90aa1 mRNA.

Conclusion hUC-MSCs are safe to be injected intravenously at doses of 1×10^7 , 5.0×10^6 , 2.5×10^6 cells/kg, and can reduce the level of IL-17A.

【Key words】 HUC-MSCs; Safety; IL-17 signaling pathway; Rat

由于间充质干细胞 (Mesenchymal stem cells, MSCs) 能够自我更新并且具有多向分化的潜能, 成为当前干细胞研究的热点。目前研究较多的 MSCs 主要来源于骨髓、脐血、脐带、外周血和脂肪组织, 不同组织来源的 MSCs 在分子表型和分化潜能等各方面不尽相同^[1], 被应用于治疗多种疾病, 如肝脏疾病、新型冠状病毒肺炎、肺纤维化、卵巢早衰、银屑病、难治性重型再生障碍性贫血等^[2-10]。与其他组织来源的 MSCs 相比, 人脐带间充质干细胞 (Human umbilical cord mesenchymal stem cells, hUC-MSCs) 具有一定的优势, 如取材简单、来源广泛、伦理争议小、更易体外扩增等, 应用前景广阔^[11-12]。生物安全是 MSCs 临床转化的主要障碍之一, 现有研究从微生物学、遗传稳定性、致肿瘤发生、免疫原性方面对 hUC-MSCs 的安全性进行了研究报道^[13-17], 但对 hUC-MSCs 的安全性仍缺乏足够认识。肝脏是临床上免疫不良相关事件 (irAEs) 发生时重要的受害部位之一^[18], 而 hUC-MSCs 临床广泛用于治疗肝脏相关疾病, 因此本研究拟通过静脉多次注射 hUC-MSCs 后大鼠肝脏相关指标变化来探讨 hUC-MSCs 的安全性, 为 hUC-MSCs 的临床应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级 SD 大鼠 50 只, 120~160 g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 实验动物生产许可证: SCXK(京)2021-0001。动物实验在符合 GLP 规范的实验室进行, 本试验经重庆市中药研究院实验动物福利伦理审查委员会批准, 并遵循国家有关实验动物管理和使用的规定。

1.2 药物 hUC-MSCs (山东新创生物科技有限公司), 细胞活率 $\geq 90\%$, 镜检可见细胞贴壁生长、呈螺旋样或指纹样, 基因测序显示为单一细胞来源, 流式细胞术检测细胞表面标志物, 以 $\geq 95\%$ 判定 CD73、CD90、CD105、CD29、CD44、CD106 为阳性, 以 $\leq 2\%$ 判定 CD34、CD45、CD31、CD14、CD19 为阴性, 无细菌或真菌生长。

1.3 试剂 ALT (批号: AUZ8785)、AST (批号: AUZ9463)、TBIL (批号: AUZ9715)、 γ -GT (批号: AUZ8805) 试剂盒, 均由贝克曼库尔特商贸有限公司提供; Rat IFN- γ (批号: 202202)、Rat IL-17 (批号:

202202) ELisa 试剂盒, 均由泉州市睿信生物科技有限公司提供; Rat TNF- α ELisa 试剂盒 (批号: P302238, R&D Systems, Inc); CD3⁺ (批号: B336282)、CD4⁺ (批号: B292851)、CD8⁺ (批号: B334055) 试剂, 均购自 Biologend。

1.4 仪器 CytoFlex 流式细胞仪 (美国贝克曼库尔特有限公司); ST-360 酶标仪 (上海科华试验系统有限公司); 荧光定量 PCR (BIO-RAD); TC20 细胞计数仪 (BIO-RAD); AU480 全自动生化分析仪 (美国贝克曼库尔特有限公司); TR-180 生物组织自动染色机 (湖北泰维医疗科技有限责任公司); Mias-2000 病理图像处理系统 (四川大学图像处理国家研究所)。

1.5 方法

1.5.1 药物配制与配制后质控 以常规的方法复苏细胞, 洗涤, 用生理盐水稀释至 1.0×10^6 cells/mL、 5×10^5 cells/mL、 2.5×10^5 cells/mL, 加入白蛋白 (Grifols Biologicals LLC) 使浓度为 8 mg/mL。配制后用移液器取 54 μ L hUC-MSCs 混悬液母液与 0.4% 台盼蓝染液以 9:1 比例混匀, 染色 3 min 后, 吸取 10 μ L 经过染色的细胞加入一次性细胞计数板凹槽内, 使用自动细胞计数仪计数。计数结果与理论密度差 (RE) 在 $\pm 15\%$ 内, 细胞存活率 $\geq 85\%$, 符合使用要求。

1.5.2 实验动物给药 参考《药物重复给药毒性研究技术指导原则》(2014) 及文献^[19], 将检疫合格的 50 只大鼠随机分为 5 组, 即阴性对照组 (生理盐水)、溶媒对照组 (白蛋白)、hUC-MSCs 高剂量组 (1.0×10^7 cells/kg)、中剂量组 (5.0×10^6 cells/kg)、低剂量组 (2.5×10^6 cells/kg), 每组 10 只, 雌雄各半。分组后按组别尾静脉注射给药, 给药体积为 10 mL/kg, 每周给药 1 次, 共 4 次。

1.5.3 血液生化学及免疫相关指标检测 末次给药次日, 麻醉动物后腹主动脉采血, 取 3 mL 全血加入一次性试管, 以 1 000 g/min 离心 20 min, 分离血清存于 -80°C 冰箱保存, 用于肝脏相关的血清生化学指标 (TBIL、AST、ALT、GGT) 检测及细胞因子 (IFN- γ 、IL-17、TNF- α) 含量检测; 另取 1 mL 全血用动物外周血淋巴细胞分离液分离淋巴细胞, 用于 T 淋巴细胞亚群 (CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺) 检测。

1.5.4 肝脏重量检查 安乐处死大鼠后, 立即剖取

肝脏,称取肝脏重量,并计算脏体比指数。脏体比指数=肝脏重量/体重 $\times 100\%$ 。

1.5.5 肝脏组织病理学检查 将称重后肝脏组织留取一部分于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,用于 IL-17 基因表达检测,剩余部分肝脏置于 10% 中性甲醛固定,常规制备石蜡组织切片,HE 和过碘酸-雪夫染色后光学显微镜($100\times$)下定性观察肝脏组织病理变化。

1.5.6 qPCR 法检测肝脏组织 IL-17 信号通路变化 取 20 mg 肝脏组织,按照 Trizol 试剂盒使用方法提取血清总 RNA。微量紫外分光光度计测 RNA 浓度,500 ng RNA 用第一链合成试剂盒逆转录成 cDNA。采用 SYBR 染料,以 DBI 三步法 PCR 扩增标准程序扩增 45 个循环。将 GAPDH 作内参,根据公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算目的基因的相对表达量。所有引物由南京金斯瑞生物科技有限公司合成,引物序列见表 1。

表 1 qPCR 引物序列
Table 1 qPCR Primer Sequence

引物	上游 5'→3'	下游 5'→3'
Act1	GACCTGAACCCAAAGC	AAAGGCACAGCAGCATATT
Hsp90aa1	GAGCATCTGAGGAGTTGGA	CAATGGAGGAAGAGGAGGT
IL-17A	CCAGAACGTGAAGGTC AAC	CAGAGTCCAGGGTGAA GTG
GAPDH	GTTGTGGCTCTGACATGCT	CCCAGGATGCCCTTTAGT

1.6 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件进行数据分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 hUC-MSCs 对血液生化学相关指标的影响 与阴性对照组比较,hUC-MSCs 高、中、低剂量组 TBIL、AST、ALT、GGT 无显著改变($P > 0.05$);与溶媒对照组相比,hUC-MSCs 高、中、低剂量组 TBIL、AST、ALT、GGT 无显著改变($P > 0.05$);阴性对照组、溶媒对照组之间比较,TBIL、AST、ALT、GGT 差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 hUC-MSCs 对 SD 大鼠血液生化学指标的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 2 Effect of hUC-MSCs on blood biochemical indexes in SD rats

组别	TBIL ($\mu\text{mol/L}$)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	GGT (IU/L)
阴性对照组	2.9 \pm 0.5	148 \pm 45	45 \pm 8	0.40 \pm 0.23
溶媒对照组	2.9 \pm 0.4	139 \pm 58	45 \pm 9	0.49 \pm 0.29
hUC-MSCs 高剂量组	3.2 \pm 0.4	110 \pm 20	43 \pm 8	0.53 \pm 0.23
hUC-MSCs 中剂量组	3.3 \pm 0.8	122 \pm 33	50 \pm 6	0.43 \pm 0.29
hUC-MSCs 低剂量组	3.0 \pm 0.5	132 \pm 42	51 \pm 12	0.48 \pm 0.19

2.2 hUC-MSCs 对血清细胞因子的影响 血清细胞因子检测结果显示,血清 IFN- γ 、IL-17、TNF- α 大部分检测结果均低于最低检测限,未检测到,故采用 OD 值进行计算。与阴性对照组及溶媒对照组相比,hUC-MSCs 各剂量组 TNF- α 、IL-17、IFN- γ 含量无显著改变($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 hUC-MSCs 对 SD 大鼠免疫指标(细胞因子)的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)
Table 3 Effect of hUC-MSCs on immune indexes (cytokines) in SD rats

组别	IFN- γ (OD)	IL-17(OD)	TNF- α (OD)
阴性对照组	0.073 \pm 0.052	0.030 \pm 0.036	0.016 \pm 0.012
溶媒对照组	0.066 \pm 0.024	0.037 \pm 0.027	0.014 \pm 0.005
hUC-MSCs 高剂量组	0.048 \pm 0.021	0.040 \pm 0.023	0.018 \pm 0.009
hUC-MSCs 中剂量组	0.066 \pm 0.033	0.025 \pm 0.018	0.020 \pm 0.011
hUC-MSCs 低剂量组	0.067 \pm 0.045	0.056 \pm 0.040	0.016 \pm 0.010

2.3 hUC-MSCs 对 T 淋巴细胞亚群指标的影响 与阴性对照组及溶媒对照组相比,hUC-MSCs 各剂量组的 CD3 $^+$ 、CD4 $^+$ 、CD8 $^+$ T 淋巴细胞百分数 CD4 $^+$ /CD8 $^+$ 比值无显著改变($P > 0.05$)。见表 4、图 1。

表 4 hUC-MSCs 对 SD 大鼠免疫指标(T 淋巴细胞亚群)的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)
Table 4 Effect of hUC-MSCs on immune indexes (T-lymphocyte subsets) in SD rats

组别	CD3 $^+$ (%)	CD4 $^+$ (%)	CD8 $^+$ (%)	CD4 $^+$ /CD8 $^+$
阴性对照组	16.1 \pm 10.9	11.1 \pm 7.8	4.98 \pm 3.24	0.260 \pm 0.191
溶媒对照组	24.0 \pm 3.3	16.3 \pm 2.6	7.69 \pm 1.01	0.375 \pm 0.149
hUC-MSCs 高剂量组	19.2 \pm 9.0	13.8 \pm 6.5	5.41 \pm 2.53	0.277 \pm 0.204
hUC-MSCs 中剂量组	25.8 \pm 3.8	17.7 \pm 3.2	8.17 \pm 0.98	0.637 \pm 0.340
hUC-MSCs 低剂量组	22.4 \pm 7.4	15.3 \pm 4.6	7.11 \pm 2.93	0.447 \pm 0.354

2.4 hUC-MSCs 对肝脏重量及脏器系数的影响 与阴性对照组比,各剂量组肝脏重量及脏器系数未见明显变化($P > 0.05$);与溶媒对照组相比,各剂量组肝脏重量及脏器系数未见明显变化($P > 0.05$)。见表 5。

表 5 hUC-MSCs 对 SD 大鼠脏器重量的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 5 Effect of hUC-MSCs on organ weight in SD rats

组别	体重(g)	肝脏重量(g)	肝脏脏体系数(%)
阴性对照组	283 \pm 70	9.04 \pm 2.02	3.21 \pm 0.14
溶媒对照组	282 \pm 70	8.84 \pm 2.17	3.14 \pm 0.06
hUC-MSCs 高剂量组	280 \pm 53	9.11 \pm 1.73	3.25 \pm 0.19
hUC-MSCs 中剂量组	289 \pm 81	9.11 \pm 2.46	3.16 \pm 0.17
hUC-MSCs 低剂量组	286 \pm 67	9.27 \pm 1.91	3.26 \pm 0.19

2.5 对肝脏组织病理学的影响 光镜($100\times$)的观察结果表明,阴性对照组、溶媒对照组、hUC-MSCs 各剂量组大鼠肝脏组织未见明显的病理变化。见图 2。

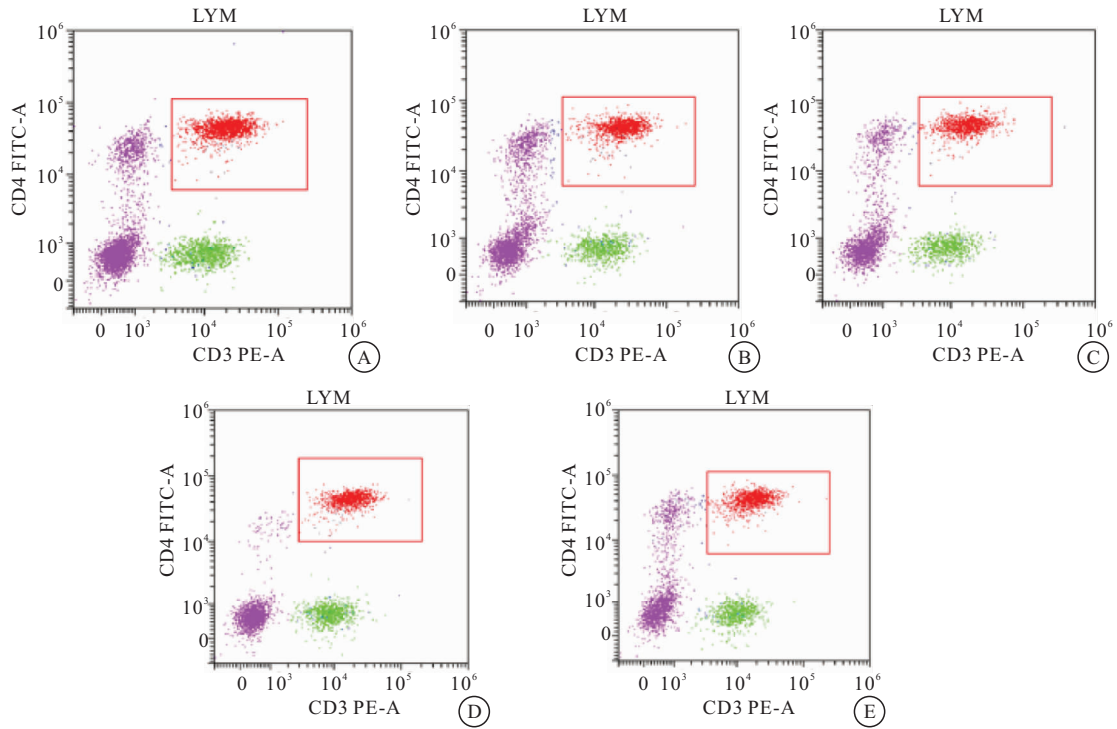


图 1 hUC-MSCs 对 SD 大鼠免疫指标 (T 淋巴细胞亚群) 的影响

Figure 1 Effect of hUC-MSCs on immune indexes (T-lymphocyte subsets) in SD rats

注: A~E: 分别为阴性对照组、溶媒对照组、hUC-MSCs 高、中、低剂量组。

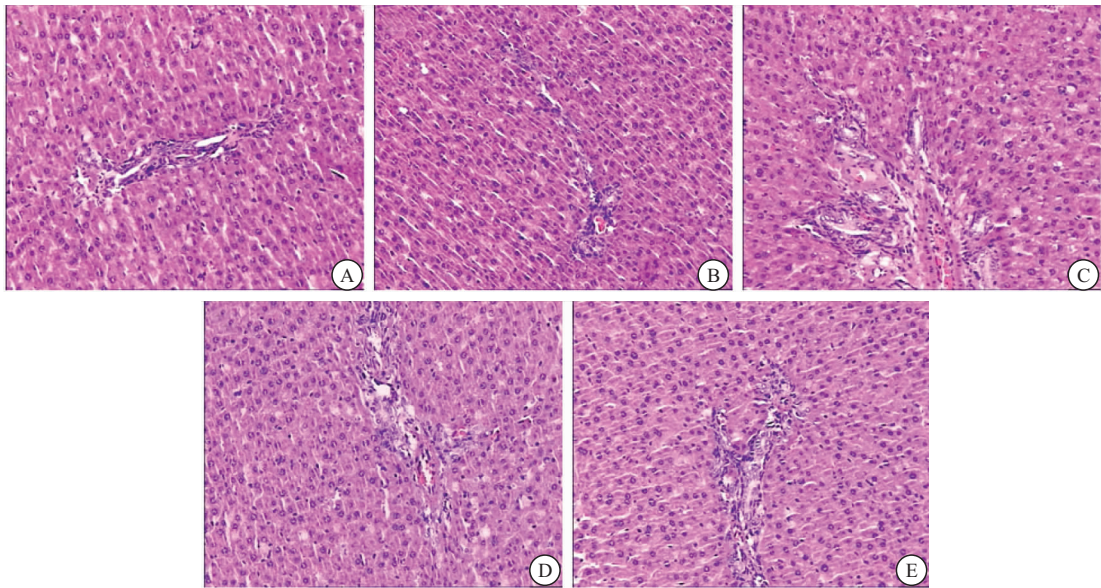


图 2 hUC-MSCs 对大鼠肝脏组织病理学的影响 (100×)

Figure 2 Effect of hUC-MSCs on liver histopathology in rats

注: A~E: 分别为阴性对照组、溶媒对照组、hUC-MSCs 高、中、低剂量组 HE 染色结果。

2.6 hUC-MSCs 对肝脏组织 IL-17 信号通路变化的影响 与阴性对照组及溶媒对照组相比,高剂量组肝脏组织 IL-17A 明显降低 ($P < 0.05$), Act1、Hsp90aa1 变化不显著 ($P > 0.05$); 阴性对照组、溶媒对照组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 6。

3 讨论

在本研究中,尾静脉注射 4 次 hUC-MSCs 后,

表 6 hUC-MSCs 对大鼠肝脏组织 IL-17 信号通路表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	Act1	IL-17A	Hsp90aa1
阴性对照组	1.04 ± 0.29	1.06 ± 0.38	1.22 ± 0.77
溶媒对照组	1.03 ± 0.29	1.08 ± 0.41	1.32 ± 0.95
hUC-MSCs 高剂量组	1.03 ± 0.27	0.63 ± 0.17 ^①	1.03 ± 0.27
hUC-MSCs 中剂量组	1.01 ± 0.15	0.95 ± 0.16	1.23 ± 0.83
hUC-MSCs 低剂量组	1.01 ± 0.19	1.01 ± 0.53	1.00 ± 0.09

注: 与阴性对照组比较, ① $P < 0.05$; 与溶媒对照组比较, ② $P < 0.05$ 。

hUC-MSCs 组大鼠一般情况及肝功能指标与对照组差异无统计学意义,病理组织学检查 hUC-MSCs 组肝脏未出现明显组织病理学改变。同时观察了多次静脉注射 hUC-MSCs 后,大鼠血清细胞因子及 T 淋巴细胞亚群的变化,结果发现细胞因子 γ -IFN、IL-17、TNF- α 及 T 淋巴细胞亚群均无明显改变。说明在本试验中多次静脉注射 hUC-MSCs 对大鼠未产生明显毒副作用,免疫耐受性好,是安全的。

目前越来越多的研究发现,干细胞具有免疫调节功能,能有效改善肝脏疾病患者的肝功能^[20-21]。而相关研究表明 IL-17 参与多种肝脏疾病的病理损伤过程^[22-24],IL-17 可能与肝脏损伤的严重程度密切相关。IL-17 是由 CD4⁺ T 细胞分泌的促炎因子,IL-17A 是其家族中重要的一员。Act1 是激活所有已知的 IL-17 依赖性信号通路所需的一种独特的细胞质适配器。热休克蛋白 90(Hsp90)是一种有助于蛋白质折叠和组装的伴侣,在蛋白质水平上维持 Act1 的完整性。Hsp90 被抑制则会导致 Act1 的蛋白酶体降解,从而下调 IL-17 的活性,Hsp90aa1 为其亚型。因此本研究进一步观察了多次静脉注射 hUC-MSCs 后,与 IL-17 信号通路相关的 Act1、IL-17A、Hsp90aa1 的变化。结果发现,hUC-MSCs 可明显降低肝组织中 IL-17A 表达水平,对 Act1、Hsp90aa1 表达未见明显影响,提示 hUC-MSCs 可能通过影响 IL-17 信号通路来调节肝微环境。本研究仅观察了 hUC-MSCs 对正常大鼠的作用,其改善肝脏疾病的作用还需进一步进行研究。

4 结论

多次静脉注射 hUC-MSCs 未引起大鼠与肝脏相关的血液生化、血清免疫学、组织病理学等指标明显改变,有较好的安全性,为 hUC-MSCs 的临床应用提供了数据支持。

【参考文献】

- [1] 卢加琪,韦薇,刘伯宁,等.间充质干细胞的研究进展与药学评价[J].药学学报,2019,54(7):1317-1324.
- [2] 黄晶晶,王小娇,郭炎,等.鳖甲煎丸联合骨髓间充质干细胞对大鼠肝纤维化的作用[J].中华中医药杂志,2021,36(8):4687-4690.
- [3] 丁翼,罗晓敏,杨斌,等.骨髓间充质干细胞改善肝纤维化机制的研究进展[J].药学学报,2022,57(4):863-874.
- [4] 韩霞,云升.人脐带血单个核细胞联合人脐带间充质干细胞疗法对乙型肝炎肝硬化患者肝功能,炎症程度及免疫功能的影响[J].临床肝胆病杂志,2021,37(8):1822-1828.
- [5] 刘静静,时宇鹏,张勇,等.生物发光成像对肝损伤小鼠体内骨髓间充质干细胞迁移的动态示踪研究[J].中华放射学杂志,2021,55(10):1086-1091.
- [6] 王明强,杨丹,蔡红雁.间充质干细胞治疗新型冠状病毒肺炎的研究现状[J].武汉大学学报(医学版),2021,42(4):584-588.
- [7] 牛慧,胥武剑,朱晓萍.间充质干细胞与特发性肺纤维化[J].中华结核和呼吸杂志,2021,44(9):844-847.
- [8] 李仲康,郑嘉华,田彦鹏,等.间充质干细胞治疗卵巢早衰的最新进展及机制[J].中国组织工程研究,2022,26(1):141-147.
- [9] 赵子葳,李俊琴,牛旭平,等.间充质干细胞移植治疗银屑病研究进展[J].中国麻风皮肤病杂志,2022,38(7):488-492.
- [10] 王姣,兰坚,周颖.脐带间充质干细胞静脉输注治疗难治性重型再生障碍性贫血疗效及对外周血 Th1, Th17 水平的影响[J].标记免疫分析与临床,2021,28(4):549-553,590.
- [11] 蒋杨,陈博,王贤君,等.人脐带间充质干细胞治疗肺部疾病的研究与应用进展[J].临床肺科杂志,2022,27(1):124-129.
- [12] CHUNG Y W, YANG H Y, KANG S J, *et al.* Allogeneic umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells combined with high tibial osteotomy: a retrospective study on safety and early results[J]. Int Orthop, 2021, 45(2): 481-488.
- [13] 张颖,李娜,林箐,等.大鼠静脉多次注射人脐带间充质干细胞安全性的研究[J].心血管病杂志,2015,34(3):221-227.
- [14] 曾贵荣,杨柳,罗桂芳,等.间充质干细胞治疗的生物安全研究进展[J].中国比较医学杂志,2020,30(11):140-145.
- [15] 陈千晴,别亚男,陈柏羽,等.人脐带间充质干细胞治疗小鼠急性肺损伤的安全性及有效性研究[J].中国比较医学杂志,2022,32(5):77-84.
- [16] 王慧娜,杜丽欣,宋亚昆,等.人脐带间充质干细胞体内移植的安全性研究[J].生物技术通讯,2015,26(1):85-87.
- [17] 冯波,黎啸峰,彭海宁,等.人脐带间充质干细胞的安全性评价[J].激光生物学报,2022,31(1):43-49.
- [18] SIWICKI M, GORT-FREITAS N A, MESSEMAKER M, *et al.* Resident Kupffer cells and neutrophils drive liver toxicity in cancer immunotherapy[J]. Sci Immunol, 2021, 6(61): ea-bi7083.
- [19] 林春华,肖敏,董润聰,等.脐带间充质干细胞注射液对 SD 大鼠尾静脉注射 24W 重复给药毒性试验[C].中国毒理学会药物毒理与安全性评价学术大会(2019 年)暨粤港澳大湾区生物医药产业第一届高峰论坛,2019:235-236.
- [20] 马致洁,赵奎君.干扰素 γ 对血小板裂解液扩增的人脐带间充质干细胞免疫调节功能的影响[J].中国生物制品学杂志,2018,31(5):497-501.
- [21] 骆亚莉,李研,刘永琦,等.TNF- α 相关的炎症与肿瘤环境中益气解毒类中药对 BMSCs 的保护机制[J].中华中医药杂志,2021,36(10):6225-6229.
- [22] WANG L, CHEN S, XU K. IL-17 expression is correlated with hepatitis B related liver diseases and fibrosis[J]. Int J Mol Med, 2011, 27(3): 385-392.
- [23] LI J, QIU S J, SHE W M, *et al.* Significance of the balance between regulatory T (Treg) and T helper 17(Th17) cells during hepatitis B virus related liver fibrosis[J]. Plos One, 2012, 7(6): e39307.
- [24] ZHANG J P, YAN J, XU J, *et al.* Increased intratumoral IL-17-producing cells correlate with poor survival in hepatocellular carcinoma patients[J]. J Hepatol, 2009, 50(5): 980-989.

(收稿日期:2022-08-24;修回日期:2023-03-28;编辑:刘灵敏)