

间充质干细胞促进胰岛移植效果的研究进展

傅红兴¹ 王植楷² 谢贵林³ 蔡娟娟⁴ 杨威¹ 严盛¹

【摘要】 胰岛移植是目前恢复内源性胰岛素分泌和控制血糖最有效的方法,但仍存在胰岛移植物存活率低、长期功能下降和免疫排异等问题。间充质干细胞(MSCs)由于能分泌含多种细胞因子的细胞外基质(ECM),或直接通过细胞间相互作用,促进细胞损伤的修复、血管再生和抗炎作用而备受关注。将MSCs应用于胰岛移植,具有来源和免疫原性低等优势,还可有效解决胰岛移植物存活率低、功能差和免疫反应等问题,因此已成为胰岛移植领域的研究热点。本文综述了MSCs在胰岛移植中的研究进展,包括MSCs及其分泌的细胞因子在胰岛体外培养、体内移植研究和临床应用中的作用以及应用MSCs过程中存在的问题,旨在进一步促进MSCs在临床胰岛移植中的应用。

【关键词】 间充质干细胞; 条件培养基; 细胞外基质; 细胞因子; 胰岛移植

Advances in mesenchymal stem cells promoting the efficacy of islet transplantation

Fu Hongxing¹, Wang Zhikai², Xie Guilin³, Cai Juanjuan⁴, Yang Wei¹, Yan Sheng¹. ¹Department of Hepatobiliary Pancreatic Surgery, the Second Affiliated Hospital Zhejiang University School of Medicine, 310003 Hangzhou, China; ²Pennsylvania, School of Arts and Sciences, University of Pennsylvania, Philadelphia 19104-5160, USA; ³Department of Hepatobiliary Pancreatic Surgery, the Affiliated Hospital Shaoxing University School of Arts and Sciences, 312099 Shaoxing, China; ⁴Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Ningbo University, Ningbo University, 315020 Ningbo, China

Corresponding author: Sheng Yan, Email: shengyan@zju.edu.cn

【Abstract】 Islet transplantation is the most effective method to restore endogenous insulin secretion and control blood glucose, but there are still problems such as low survival rate, decline of long-term function and immune rejection of islet grafts. Mesenchymal stem cells (MSCs) have attracted much attention due to their ability to secrete the extracellular matrix (ECM) with a variety of cytokines, or promoting the restoration of cellular injury, angiogenesis and anti-inflammatory effects through direct cell-cell interaction. MSCs for islet transplantation has the advantages of wide source, low immunogenicity, and can effectively solve the problems of low survival rate, poor function and immune response of islet grafts, so they has become a research hotspot in islet transplantation. This paper reviews progress in MSCs in islet transplantation, including the role of MSCs and their secreted cytokines in islet culture *in vitro*, transplantation research *in vivo* and clinical application, as well as the problems in the application of MSCs, aiming to further promote the application of MSCs in clinical islet transplantation.

【Key words】 Mesenchymal stem cells; Conditioned media; Extracellular matrix; Cytokines; Islet transplantation

DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2024.06.005

基金项目: 国家自然科学基金(82270684); 浙江省医药卫生科技计划(2024KY1738); 宁波市自然科学基金(2021J248)

作者单位: 310003 杭州, 浙江大学医学院附属第二医院肝胆胰外科¹; 19104-5160 Pennsylvania, School of Arts and Sciences, University of Pennsylvania, Philadelphia, USA²; 312099 绍兴, 绍兴文理学院附属医院肝胆胰外科³; 315020 宁波, 宁波大学附属第一医院药学部⁴

通信作者: 严盛, Email: shengyan@zju.edu.cn

糖尿病患病早期可通过口服降血糖药物或注射胰岛素控制血糖,但晚期仍会继发眼底、肾和低血糖感知损伤等相关并发症^[1-3]。胰岛移植通过恢复患者内源性胰岛素和其他激素的分泌,可维持正常血糖和恢复对低血糖的意识,适用于有脆性血糖的1型糖尿病患者(type 1 diabetes mellitus, T1DM)、肾移植后的糖尿病患者和伴有胰岛功能衰竭的2型糖尿病患者(type 2 diabetes mellitus, T2DM)等^[4],还可用于自体胰岛移植^[5]。2023年6月28日,美国食品药品监督管理局(FDA)正式批准同种异体胰岛 Lantidra 作为用于治疗 T1DM 的细胞疗法上市^[6]。虽然胰岛移植治疗技术在澳大利亚、加拿大、法国、意大利、瑞士、英国和日本等多个国家早已纳入医保报销范围^[7-10],但由于胰腺供体来源受限、移植物死亡率高和免疫抑制剂相关并发症等问题^[11-12],胰岛移植治疗效果仍有待提高,大规模应用仍旧受限。促进胰岛体外培养和体内移植效果的药物和方法一直是胰岛移植研究的热点。

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)又称多能祖细胞,是具有自我更新和多向分化潜能的成体干细胞,存在于骨髓、脐带和脂肪等多种组织中,具有易于在体外获得和扩增^[13-17]、缺乏人白细胞 DR 抗原标记物,理论上不触发 II 类主要组织相容性复合体分子介导的免疫应答等特性^[18],能通过直接分化或旁分泌方式发挥修复组织缺损、促进血管生成、抗凋亡和抗炎等作用。MSCs 的临床研究和应用现已较为普遍^[19]。MSCs 和异基因造血干细胞联合输注可以加速恢复造血并阻止传统免疫抑制方法难以治疗的重症移植物抗宿主病(graft versus host disease, GvHD)^[20-21]。MSCs 对一些自身免疫性疾病,如实验性自身免疫性脑脊髓炎^[22]、胶原诱导的关节炎^[23]、自身免疫性肠病^[24]和实验性结肠炎^[25]具有治疗潜力,还能够逆转早期糖尿病^[26-27]和延长同种异体移植物的生存期^[28-29]。MSCs 在胰岛移植中能通过直接作用或分泌多种细胞因子,在建立微环境、促进胰岛损伤修复、血管再生和免疫调节等方面提升胰岛在体外和体内的存活和治疗效果^[30-31],因此在该领域有较多的研究和应用。

本文综述 MSCs 在胰岛移植中效果的研究进展,包括 MSCs 及其分泌的细胞因子在胰岛体外培养、体内移植研究和临床应用中的作用以及在 MSCs 应用过程中存在的问题,旨在进一步促进 MSCs 在临床胰岛移植中的应用。

1 MSCs 在胰岛体外共培养中可提高胰岛的存活和功能

1.1 MSCs 与胰岛共培养

MSCs 在体外和胰岛共培养的方式一般有 3 种^[32]:(1)直接接触共培养系统 I^[33], MSCs 接种在处理过的组织培养皿中,胰岛直接接触贴壁的 MSCs 层;(2)直接接触共培养系统 II^[34], MSCs 接种在未经处理的培养皿中,并保持与悬浮胰岛形成复合物共培养;(3)间接共培养系统^[35], MSCs 接种到处理的培养皿作为底部黏附的单层细胞,将胰岛放入小室作为上部隔间插入培养孔。胰岛与 MSCs 的直接接触

共培养,无论是与单层 MSCs 接触还是与 MSCs 形成悬浮复合物的培养,均被报道可改善胰岛的葡萄糖刺激胰岛素分泌(glucose-stimulated insulin secretion, GSIS)^[35-38]。直接接触共培养的有效性预计部分归因于 MSCs 能分泌大量的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)。ECM 成分主要包括胶原蛋白、层粘连蛋白、纤连蛋白和蛋白聚糖等,不仅作为物理支架,而且还可作为众多生物活性分子的储库^[39],在体外可模拟组织微环境的各个方面^[40],影响周围组织的功能和再生^[41],也可与胰岛细胞产生局部相互作用^[42]。如,用外源性抗炎分子膜联蛋白 A1 (annexin A1, ANXA1) 预培养胰岛,能激活胰岛 G 蛋白偶联受体(G-protein coupled receptors, GPCRs),增强胰岛的 GSIS^[35,43-44],保护胰岛细胞免受细胞因子诱导的凋亡,并提高其调节糖尿病小鼠血糖的能力^[43]。Rackham 等^[43]在小鼠和 Arzouni 等^[45]在人 MSCs 中均可发现高度表达和分泌 ANXA1,并定位于 MSCs 衍生的 ECM 中。然而,ANXA1 并不是 MSCs 影响胰岛功能的唯一机制,因为 MSCs 中 ANXA1 基因缺失或用 siRNA 敲减削弱了它们增强胰岛功能的能力,但并未完全消除^[43]。其他细胞因子,如有研究报道, MSCs 高度表达的弹性蛋白微纤维界面 1 (elastin microfibril interfacier 1, EMILIN-1) 和整合素连接蛋白激酶(integrin-linked protein kinase, ILK-1)^[46],基质细胞衍生因子 1 (stromal cell-derived factor 1, SDF-1)/趋化因子 C-X-C-基元配体 12 (SDF-1/CXCL12) 和 III 型胶原 $\alpha 1$ (Col III $\alpha 1$) 也可促进胰岛功能^[47], CXCL12 在糖尿病小鼠模型中还可提高胰岛移植物的存活率和功能^[48]。MSCs 还能促进 T2DM 胰岛的去分化。T2DM 患者胰岛细胞中促炎细胞因子的表达升高, Wang 等^[49]研究将 T2DM 胰岛与脐带来源 MSCs (umbilical cord MSCs, UC-MSCs) 进行间接共培养,结果发现 MSCs 可以分泌 IL-1R 拮抗剂(IL-1Ra),作用于炎症的胰岛并逆转 β 细胞去分化,从而减轻 β 细胞功能障碍。胰岛对氧气的需求很高,大多数胰岛在移植前后都会死于缺氧损伤, Wei 等^[50]在常氧和缺氧条件下,将胰岛与人 UC-MSCs 共培养,结果显示,与单独培养的胰岛相比,与 UC-MSCs 共培养的胰岛生存能力和功能改善,共培养组 HIF-1 α mRNA 转录增加, PFKFB3 蛋白表达随着 HIF-1 α 的增加而增加, HIF-1 α /PFKFB3 在抵抗缺氧中发挥重要作用,说明 UC-MSCs 可以保护胰岛免受缺氧引起的功能障碍,这也为改善胰岛移植的效果提供了一种潜在的策略。人骨髓来源 MSCs (bone marrow MSCs, BM-MSCs) 衍生 ECM 的质谱分析也已确定了多种分泌产物,包括生长因子和抗炎分子,使得 MSCs 分泌的 ECM 更像是促进组织再生的“流动药房”^[41]。

Rackham 等^[51]研究脂肪组织来源 MSCs (adipose-derived MSCs, AD-MSCs) 与胰岛 β 细胞直接共培养系统,结果显示, AD-MSCs 的线粒体可以通过形成的隧道纳米管(tunneling nanotube, TNT)样结构,转移到代谢受损的胰岛 β 细胞;这一过程与细胞中线粒体耗氧率(oxygen consumption rate, OCR)的增加和葡萄糖诱导的胰岛素分泌增强有关。所

以, MSCs 和胰岛共培养发挥对胰岛保护作用的方式, 包括 MSCs 通过感知损伤的胰岛 β 细胞发出信号传导, 迁移到损伤部位, 释放生物活性因子, 或细胞间直接接触, 产生线粒体转移等机制。

1.2 MSCs 条件培养基与胰岛共培养

MSCs 能分泌多种支持细胞存活并促进细胞再生的细胞因子, MSCs 的胰岛条件培养基 (conditioned medium, CM) 是指含 MSCs 分泌的细胞因子胰岛培养液, 此 MSCs-CM 可采用以下方法获得^[33]: 将 MSCs 置于 MSCs 生长培养基中 37 °C、5 % CO₂ 孵育过夜后, 洗涤细胞 2 次, 培养基换至 M199 或 CMRL 1066 (含 10 % FBS 和 1 % 青链霉素), 37 °C、5 % CO₂ 孵育适当时间后过滤去除 MSCs 获得 MSC-CM, 用于后续胰岛的培养。

Park 等^[33] 采用人 UC-MSCs 在胰岛培养液中孵育 24、48 和 72 h 后, 收集人 UC-MSC-CM (分别为 MSC-CM1、MSC-CM2、MSC-CM3), 与分离的胰岛进行共培养, 同时进行 MSCs 和胰岛直接共培养组、不含 MSCs 的单纯胰岛培养组的研究, 比较胰岛的活性、ADP/ATP 比值、GSIS、DNA 片段和血管生成相关的分子的差异。结果显示, 共培养 48 h 后, 与单纯胰岛培养组比, MSCs 和胰岛共培养组表现出更高的活性和 GSIS 指数, 胰腺和十二指肠同源盒蛋白 -1 (PDX-1)、抗凋亡信号分子水平 X 连锁凋亡抑制蛋白 (X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP)、Bcl-xL、Bcl-2 和热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) -32、Akt 磷酸化、血管内皮生长因子受体 2 (VEGFR2) 和 Tie-2 mRNA 的表达更高, Tie-2 和黏附斑激酶 (focal adhesion kinase, FAK) 的磷酸化被激活, ADP/ATP 的比率更低。在 MSC-CM 和胰岛共培养组中, MSC-CM2 胰岛共培养组胰岛 ADP/ATP 比率最低, 胰岛活性也比单纯胰岛培养组的好, DNA 碎片更少, GSIS 指数更高。同时, 在 MSC-CM 中也检测到肝细胞生长因子、IL-6、转化生长因子 β (transforming growth factor, TGF- β) 和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) -A 水平显著升高, 且未检测到促炎细胞因子 (TNF- α 和 IFN- γ)、胰岛素和 IGF-1 表达; 在单纯胰岛培养组的培养基中观察到有少量 TGF- β 的表达, 但 MSC-CM 中未测到该因子。Kuljanin 等^[52] 在人 BM-MSC-CM 中进行高通量定量蛋白质组学筛选, 鉴定出 16 个具有促进细胞再生能力的蛋白, 这些蛋白质组学筛选和功能验证研究显示了 MSCs 来源的细胞因子可用于促进细胞再生的基本证据; 该研究团队将浓缩的 MSC-CM 直接注入小鼠胰腺, 发现胰腺 Wnt 信号通路被激活, 胰岛再生增加, 小鼠血糖降低, 胰岛素分泌量增加, 糖耐量结果得到改善^[53]。Rackham 等^[54] 在糖尿病的实验模型中, 用人 UC-MSCs 分泌的含 GPCR 配体 ANXA1/SDF-1/C3a 的条件培养基培养胰岛, 提高了胰岛在体外的活性, 并改善胰岛移植的结果。

其他研究也表明, MSC-CM 可通过激活 AKT/ERK 信号通路^[55], PI3K/mTOR/eNOS、p38 MAPK 信号通路^[56], WNT 信号通路^[57], 保护胰岛细胞活性并增强其功

能。除了经典的促生存信号通路外, Chen 等^[15] 研究显示, UC-MSC-CM 来源的外泌体 (大小 50 ~ 100 nm) 通过减轻内质网应激和抑制 p38 MAPK 磷酸化, 通过 miR-21 保护胰岛 β 细胞免受缺氧诱导的凋亡。Tan 等^[58] 也报道了 UC-MSC-CM 通过分泌外泌体和 IL-6 来保护胰岛。Huber 等^[59] 总结 MSCs 和 MSC-CM 在体外保护胰岛移植物免受急性缺氧 (1 % ~ 2 % O₂) 或炎性细胞因子 (包括 IFN- γ 、TNF- α 和 IL-B) 诱导应激的机制, 主要通过分泌的细胞因子、通过物理转移功能性线粒体 (尤其是代谢损伤的 β 细胞)。Brandhorst 等^[60] 采用常氧和低氧培养的人 AD-MSCs 获得 MSC-CM, 再在低氧环境下与胰岛共培养 72 ~ 96 h, 结果显示 AD-MSCs 预处理的 MEM α (minimum essential medium α) 可提高缺氧培养人胰岛的存活率和体外功能。

胰岛 -MSCs 共培养和胰岛 -MSC-CM 共培养对胰岛功能的促进作用相似, 说明胰岛与 MSCs 共培养中质量的改善, 包括活性和功能的改善, 主要是由 MSCs 分泌的细胞因子引起的。

2 MSCs 与胰岛共移植的研究

对啮齿动物和非人类灵长类动物糖尿病模型的同基因和异基因胰岛移植模型的研究表明, 在血糖控制方面, 来源于人 MSCs 与胰岛联合移植可改善胰岛移植的结果^[61-69]; MSCs 分泌的细胞因子能增强移植后胰岛移植物的存活率、功能, 胰岛量和胰岛面积也均有所增加; MSCs 也有利于 T-reg/t 辅助细胞的平衡和激活、抑制宿主对移植物的免疫反应^[44,70-71], AKT/ERK 信号通路的激活、DLK1-ERK-FoxO1 信号级联的刺激^[33]、促进 VEGF 的表达和增强血管重建能力^[33,69]。然而, MSCs 也能改善同基因移植物的移植结果^[67]和微囊化胰岛移植物的移植结果^[68], 这些移植物不会引起免疫反应, 也不会再血管化, 这表明 MSCs 通过多种机制改善胰岛移植物。

2.1 不同移植位点的比较

MSCs 与胰岛共移植可通过多种途径进行, 静脉途径 (intravenous route, IVR) 和肾包膜下途径 (kidney subcapsule route, KSR) 是两种主要的途径, 皮下途径 (subcutaneous route, SQR) 也是常用的方法。选择不同共移植途径有不同的机理和有效性 (表 1)。

MSCs 和胰岛之间的物理接触可充分发挥其保护潜力^[13]。使用肾包膜下移植物部位, 因为它有助于胰岛和 MSCs 在解剖上的共定位, 并且可以通过单侧肾切除手术取出移植物 (血糖转为高血糖)。Forbes 等^[73] 系统研究了 MSCs 与胰岛当量的最佳比例, 并从 MSCs 剂量和代谢控制结果的角度比较了 IVR 和 KSR 的共移植; 发现只需给予少量 MSCs, 便能够快速控制血糖并维持长期优越的移植物功能。然而, 临床胰岛移植几乎全部为经肝门静脉输注, 这不利于胰岛和 MSCs 的共移植^[76], 因为门静脉分支结构复杂, MSCs 和胰岛大小有差异, 胰岛 (直径 100 ~ 200 μ m) 滞留在肝脏微循环中, 在那里它们重新血管化, 而更小的 MSCs

表1 不同胰岛 -MSCs 共移植途径的比较

	静脉注射途径 (IVR)	肾包膜下 (KSR)	皮下途径 (SQR)
安全性	(1) 有侵入性; (2) 腹部手术, 经门静脉注射, 有感染风险	(1) 有侵入性; (2) 有感染的风险, 从肾被膜下取出输注器时有泄漏的风险 ^[72]	(1) 创伤小; (2) 感染风险小; (3) 有注射部位脓肿风险
机理	间接接触, MSCs 随着血流迁移, 进入非靶器官, 通过体液因子对胰岛发挥保护作用 ^[13]	MSCs 改变了趋化因子和细胞因子的分泌谱, 改变了脾脏和血液中 T-reg 和 T 辅助细胞的平衡 ^[61,73]	间接接触, MSCs 形成多细胞聚集, 很少迁移, 通过细胞因子对胰岛发挥保护作用 ^[74]
有效性	(1) 对胰岛移植物有保护作用; (2) MSCs 迁移受限, 受肺部滞留的影响	(1) 需要降低 MSCs 对胰岛的比例, 早期血管化增加, 胰岛功能增强 ^[73] ; (2) 是免疫特惠位点 ^[61-62]	(1) 异体胰岛易引起排斥; (2) 皮下组织血管化不良, 移植物不易存活, 胰岛素水平较高 ^[74-75]

(15 ~ 30 μm) 则通过肝脏, 最终有可能进入肺微循环^[77]。通过生成胰岛 -MSCs 复合物来实现胰岛和 MSCs 共定位的尝试在体外也显示出了有限的功效, 但在糖尿病小鼠体内移植结果没有得到显著改善^[34]。

2.2 共移植的机制研究

胰岛对氧分压敏感, 胰岛素分泌受线粒体氧化呼吸和需氧线粒体 ATP 产生的调节^[45]。胰岛移植后, 移植部位血管供应差和氧分压低, 缺氧环境以及血液介导的瞬时炎症反应 (instant blood-mediated inflammatory responses, IBMIR) 导致胰岛死亡和功能障碍^[47]; 而且胰岛移植后 24 ~ 48 h 肝脏出现明显炎症, 其和免疫排斥反应也会导致胰岛早期功能的丧失^[79]。MSCs 与胰岛共移植可发挥促进胰岛移植的作用^[69,78], 但机制复杂。

2.2.1 MSCs 分泌的 ECM 和细胞因子改善胰岛移植效果

MSCs 通过迁移到损伤部位并分泌 ECM, 在组织修复中发挥主要作用^[45,80-81]。Arzouni 等^[45] 将小鼠胰岛和小鼠 AD-MSCs 在小鼠肾被膜下共移植 28d 后, 取移植物研究表明, 植入的胰岛内外有广泛的胶原纤维; 在单纯胰岛移植组中几乎没有发现这种胶原纤维, 这表明 AD-MSCs 在胰岛移植物内外分泌了较多的 ECM, 虽然此时免疫染色显示在胰岛移植物中已没有 AD-MSCs。ECM 作为修复支架和多种 MSCs 衍生的具有抗炎、免疫调节功能的生物活性分子的储库, 和促血管生成特性, 所有这些都有利于提高胰岛移植物的功能和存活率, 改善血糖控制效果有关^[67]。将人胰岛与 ECM 成分衍生的肽共包裹后移植也可增强胰岛的生存和功能^[82-83]。

然而 ECM 对胰岛的有益作用不及 AD-MSCs 与胰岛体外共培养的效果, 表明还存在其他机制。Rackham 等^[43] 发现 MSCs 分泌肽配体 Annexin 1, 在糖尿病动物的实验模型中, 用 MSCs 分泌的含 GPCR 配体 ANXA1/SDF-1/C3a 的 CM 培养胰岛, 可提高其在体外的存活, 并改善胰岛体内移植的结果^[84]。Park 等^[31] 采用在培养液改变后孵育 48 h 收集的 MSC-CM2 与分离的胰岛 (200 IEQ) 进行共培养 48 h 后进行糖尿病小鼠肾被膜下移植, 接受移植的小鼠显示出血糖水平降低和血管形成, 且优于单纯胰岛移植组。这些结果表明, MSCs 分泌的细胞因子增强了胰岛的生存和体内移植后的功能。

2.2.2 免疫调节作用

MSCs 介导的免疫抑制作用与抑制 T 细胞响应自体或同种异体抗原时的增殖^[85] 和减少炎症细胞因子的产生等有关^[86]。几个可溶性细胞因子参与了 MSCs 介导的免疫抑制机制, 包括 TGF- β 、吲哚胺 -2,3- 双加氧酶 (indoleamine-2,3-dioxygenase, IDO)、^[11]、一氧化氮^[87] 和血红素加氧酶 -1^[88]。Forbes 等^[73] 报道在良好生产质量管理规范 (Good Manufacturing Practice, GMP) 下生产的人脐带血管周围间充质干细胞 (human umbilical cord perivascular mesenchymal stem cells, HUCPVCs) 与胰岛联合移植, 在静息状态和诱导炎症状态下都强烈抑制宿主 T 细胞的反应, 细胞因子和趋化因子谱分析结果显示, TGF- β 、肿瘤坏死因子 - α 刺激基因 6 (TNF- α -stimulated gene 6, TSG-6)、IDO、CXCL8 和 VEGF 的表达上调, 突出 HUCPVCs 的抗炎和促血管生成特性。Ding 等^[44] 研究 MSCs 还可通过分泌基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs), 调节移植免疫。该团队在体外和体内研究了小鼠 BM-MSCs 对胰岛移植免疫抑制作用的分子机制。研究显示, BM-MSCs 分泌的 MMPs, 特别是 MMP-2 和 MMP-9, 可降低 CD25 在应答 T 细胞表面的表达, 减少对同种异体抗原的迟发型超敏反应, 可延长移植受者同种异体胰岛移植物的存活时间, 这些 MSCs 介导的保护作用可通过在体内抑制 MMP-2 和 MMP-9 而完全逆转。利用 MSCs 的免疫调节和保护 β 细胞的作用, 在新发 T1DM 中注射自体 BM-MSCs 或异基因 UC-MSCs, 也显示安全性好且有一定的治疗效果^[89-92]。

2.2.3 去分化胰岛的逆转

MSCs 促进人胰岛移植的效果还体现在其能逆转 T2DM 胰岛的去分化能力上。Wang 等^[49] 研究将 UC-MSCs 与 T2DM 胰岛共移植于糖尿病 SCID 小鼠肾被膜下, 并在 db/db 小鼠中静脉输注 MSCs, 结果显示 MSCs 被 T2DM 胰岛中促炎细胞因子的表达升高激活, 分泌 IL-1Ra, 它作用于炎症的胰岛并逆转 β 细胞的去分化 (去分化细胞和去分化的胰岛素分泌细胞均减少, 分化的胰岛素分泌细胞增多), 从而减轻 β 细胞功能障碍; 后者的小鼠 β 细胞去分化也获得逆转, 血糖控制得到改善。当前临床采用多次 MSCs 静脉输注能够缓解糖尿病症状, 减少外源性胰岛素利用, 可能也与 MSCs 促进去分化胰岛的逆转有关^[93]。

2.3 MSCs 与胰岛共封装后移植

海藻酸盐水凝胶微囊包裹胰岛可以减少或消除宿主对供体胰岛的免疫排斥反应,并可避免使用免疫抑制剂治疗的副作用^[94-95]。然而,微囊化胰岛移植也存在移植部位的炎症反应导致的胰岛早期功能障碍,囊化移植物的血运重建不良,移植物功能受损,胰岛难以移除等问题^[96-97]。由于 MSCs 和胰岛的大小差异以及肝血管系统的解剖结构,此两种成分不能完全共定位。因此,将 MSCs 与胰岛共封装,可最大限度地提高 MSCs 对胰岛移植物的保护作用。Montanari 等^[98]将胰岛和 MSCs 共封装在由海藻酸钙盐和共价交联聚乙二醇组成的新水凝胶微球,该微球允许与外界环境进行氧气、营养成分和小分子的交换,通过与胰岛单独封装进行移植疗效的比较,发现共封装微球能更持久地将链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的糖尿病小鼠血糖稳定在正常水平,机制可能为 MSCs 分泌的黏附分子 N-钙粘蛋白介导的细胞间直接接触作用。Vaithilingam 等^[99]使用类似方法,报道共封装胰岛移植能够减少囊周纤维化过度生长(pericapsular fibrotic overgrowth, PFO),以及巨噬细胞和成纤维细胞聚集,还能促进氧气和其他营养交换。

Razavi 等^[100]优化共封装方案,为以下三步:第一步,在细胞共封装之前,将 AD-MSCs 与胰岛在体外共培养,以便在胰岛上形成一层 AD-MSCs;第二步,将涂有 AD-MSCs 的胰岛共封装在薄薄的藻酸盐胶层中,使两种细胞成分彼此靠近,并移植到糖尿病小鼠肾包膜下;第三步,每 3 天用脉冲聚焦超声(pulsed focused ultrasound, pFUS)治疗,刺激两种细胞,以最大限度地发挥两种细胞的细胞保护作用。该方案有效地提高移植胰岛的总生存率和功能,增加血管生成和减少炎症反应。

Kogawa 等^[101]创造了一种名为“CellSaic”的细胞移植平台,是一种将细胞与一种新的生物可吸收材料结合而形成的三维结构体,可以提高细胞活力,增强 MSCs 的血运重建效果。基于此, Kogawa 提出一种新的胰岛移植方法,包括 3 种成分: MSC-CellSaic、微囊胰岛和一个宏观网袋,将 MSC-CellSaic 和微囊胰岛封装在一起,并可以被切除。研究发现含 MSC-CellSaic 移植方法能够更好的控制血糖,提高胰岛移植存活,减少包膜部位的炎症细胞浸润,诱导更多的血管生成。Nakamura 等^[102]总结 CellSaic 的特点及其在 MSCs 移植中的应用。通过改变胰岛的数量、大小以及对 MSC-CellSaic 微囊定位的方法非常有效。共封装或 MSC-CellSaic 的应用显示出共培养或共移植的有益作用,促进细胞间的直接接触,并允许 MSCs 介导的线粒体转移。该方法为改善临床胰岛移植的结果提供一种新的策略,后续还需要更多的临床前研究工作来进一步了解其机制,优化可行性,并评估整体安全性。

2.4 改造的 MSCs 与胰岛移植

为防止胰岛移植的免疫排斥, Wang 等^[103]利用 MSCs 易获取、易培养和广泛应用于组织再生等特性,创新性地利

用细胞编辑技术使 MSCs 过表达免疫细胞调节蛋白程序性死亡配体-1(programmed death ligand-1, PD-L1)和细胞毒性 T 淋巴细胞抗原 4 免疫球蛋白(cytotoxic T lymphocyte antigen 4 immunoglobulin, CTLA4-Ig),获得功能增强型 MSCs(engineered mesenchymal stem cell, eMSC),从而增强 MSCs 的免疫调节功能,并诱导产生局部免疫豁免的移植环境。对比未经编辑的 MSCs,该 eMSC 在体外能抑制 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞的增殖与功能。对照组中,外源性胰岛细胞移植到同种异体小鼠中,14 d 内被宿主免疫系统排斥。而 eMSC 与外源性胰岛细胞共移植到糖尿病小鼠体内,在不借助免疫抑制剂的情况下,能有效保护外源性胰岛细胞长达 100 多天,维持小鼠正常血糖,实现对外源性胰岛细胞的长期保护,实现了局部免疫豁免。该工作对于解决免疫排斥这一瓶颈问题具有重要意义,并可拓展至其他类型外源性细胞递送的应用。

也有研究采用病毒转染或细胞诱导分化技术,将 MSCs 诱导培养成分泌胰岛素的细胞进行移植,也取得降低实验动物血糖的效果,但疗效的持久性和安全性还需进一步研究^[104-106]。

2.5 MSCs 在临床胰岛移植中的应用

MSCs 和胰岛联合移植可能是一种安全以及可改善移植后胰岛植入的潜在方法。Hemattia 等^[107]提出了 BM-MSCs 在临床与胰岛共移植应用中的设计方案:

胰岛-MSCs 共移植:(1)从一个已故的异基因供体的胰腺中分离出胰岛;(2)之前从受体(自体)或异体第三方获取 BM-MSCs(提前 6~8 周);或者从不同的已故供者(不是胰岛供者)的 BM 中分离出 MSCs;(3)仅将胰岛移植到 T1DM 患者的门静脉中(单纯胰岛移植);(4)将胰岛和 MSCs 共同移植到 T1DM 患者体内。在共移植过程中, MSCs 可以通过门脉内或外周静脉输注。理想情况下, MSCs 可以保护最初移植的胰岛移植物免受随后的免疫细胞浸润。

胰岛移植后的 MSCs 加强输注:(1) MSCs 必须先启动输注前 6~8 周被分离并扩增。MSCs 可以来自受体(自体)、胰岛供体(同种异体)或第三方(同种异体)的 BM;(2)分离的 MSCs 可以经外周静脉或门静脉内注入受体。在加强输注前,胰岛的存活可能会因最初是否与胰岛共移植而有所不同。理想情况下, MSCs 与胰岛共移植后,由于 MSCs 的保护,胰岛存活率提高;加强输注后, MSCs 的局部和全身作用都将有助于同种异体胰岛的存活和功能发挥。

Wang 等^[76]对 3 例拟开展自体胰岛移植的患者术前进行 BM-MSCs 提取,并在 cGMP 实验室进行扩增培养。在移植当天, MSCs 与胰岛一起经门静脉注入患者体内。将移植后基线、6 个月和 12 个月的不良事件和血糖控制与前面 101 例未联合 MSCs 输注的自体胰岛移植患者做对比,未观察到与输注 MSCs 直接相关的不良事件。MSCs-胰岛共移植患者在围移植期间需要较少量的胰岛素,12 个月的空腹血糖水平较低,6 个月内下降 C 肽更小,与对照组相比生活质量更好。

3 存在的问题

小鼠和人胰岛在无细胞的 MSC-CM 共培养也足以提高胰岛活性、改善 GSIS,此结果预示似乎无需将 MSCs 作为培养和移植材料的一部分,这种富含 MSCs 分泌的细胞因子的“鸡尾酒”,提供了胰岛在移植前共培养期间进行细胞修复治疗的前景。但在实际使用间接、非接触共培养系统的研究中发现, MSCs 对胰岛功能的影响结果有差异,一些研究报告显示有 MSCs 依赖性的改善^[33,108],有的报告显示没有影响^[41,46,109]。MSCs 的功能与来源的变异性高度相关,以及缺乏比较有效的功能评价标准,给这种有临床应用前景的治疗方式造成一定的阻碍。

3.1 不同来源 MSCs 的特性异质性

MSCs 广泛分布于人体多个组织和器官,不同来源的 MSCs 虽然均符合 2006 年国际细胞治疗协会(International Society for Cellular Therapy, ISCT)制定的最低标准^[18],但在其分化潜能、增殖速度、分泌的细胞因子谱、免疫调节能力等生物学特征方面存在一定差异^[110]。以 BM-MSCs、UC-MSCs 和 AD-MSCs 为例,其特征差异见表 2 所示。甚至性别差异对 MSCs 的生物学特性也有影响^[111]。

3.2 不同培养条件导致 MSCs 分泌的细胞因子有差异

Brandhorst 等^[117]在常氧和缺氧条件下使用人 AD-MSC-CM 对人胰岛进行共培养,该研究模拟胰岛移植前体外培养、运输和门脉内胰岛移植过程中遇到的边际氧供应,结果显示人胰岛的完整性和胰岛功能得到提升。但无论氧水平如何,蛋白质组学分析显示分泌成分的异质性,包括血管生成、抗凋亡以及以相同模式释放的促炎因子。MSCs 促血管生成和促炎症分泌的矛盾特征也说明了需要识别 BM-MSCs 来源的保护性生物活性因子和 MSCs 相关有害细胞因子的重要性。尽管有促炎因子存在, MSCs 条件培养基对人胰岛功能作用总体上是有利的。

Shaibani 等^[118]分别在 2D 环境和 3D 环境下培养 AD-MSCs 并收集培养 24、48 和 96 h 的 AD-MSC-CM,结果显示来自 2D 培养的 MSCs 为成纤维细胞样细胞,流式细胞术显示其 CD73 和 CD105 阳性, CD14、CD19 和 HLA-DR 阴性。它们还能够分化为脂肪细胞、成骨细胞和软骨细胞。MSCs 在 3D 培养时能形成三维模型结构。从 2D 和 3D 培养收集的 MSC-CM 含有生长因子,例如血小板衍生生长因子 AB、TGF-1、肝细胞生长因子、SDF-1、白细胞介素 -1 和白细胞介素 -6。MSCs 在 3D 培养中分泌的细胞因子浓度高于 2D 培养。

3.3 MSCs 与胰岛的最佳细胞比例和给药次数不确定

在一些现有的临床研究中已经使用了可变剂量的 MSCs。有研究表明,剂量越高反应效果越大^[119-121]。然而 Forbes 等^[73]最近的一项临床前研究系统地检查了 MSCs 相对于胰岛的最佳剂量以评估疗效,发现最佳移植功能不一定与 MSCs 的最高剂量有关,这表明存在潜在的平台效应。但剂量实验在临床实践中很难进行。如果 MSCs 给药的平台效应也存在于人类中,那么确定不同个体的最佳剂量十分关键。此外,多剂量 MSCs 可能在某些个体中提供更多的益处和更长的保护,而在另一些个体可能只需要一剂就能实现代谢控制结果,同时还需避免任何 MSCs 过量导致的相关不良影响。

由于 MSCs 来源、培养条件、传代次数和研究细胞量的差异,导致其分泌成分的异质性,不同研究中使用的相关研究结果难以进行直接比较,且 T1DM 患者的复杂性,目前尚无使用符合 GMP 的同种异体 MSCs 进行人胰岛共移植的研究,也没有研究系统地探索过对短期和长期血糖控制影响的最佳胰岛 -MSCs 比率^[44]。作者所在团队也曾尝试过人 UC-MSCs 与人胰岛的共培养,结果显示 MSCs 浓度 1×10^5 组与胰岛共培养的胰岛活性、GSIS 高于 1×10^4 组、 1×10^6 组和无 MSCs 组(数据未发表)。

表 2 不同来源 MSCs 之间的特性差异

	BM-MSCs	UC-MSCs	AD-MSCs
来源	骨髓基质	脐带华通氏胶	脂肪组织
获取时间	任何时候	婴儿出生时	任何时候
分离操作	(1)有侵入性、痛苦,老年人体内难以提取; (2)与潜在的供体部位发病率相关; (3)产量低	(1)无创、无痛; (2)酶消化; (3)产量极低 ^[112-113]	(1)微创、安全、技术完善; (2)酶消化;含有其他细胞的混合物; (3)产量高,无需体外扩增 ^[114]
增殖能力和分化潜能	(1)增殖能力相对最低; (2)成骨分化相关基因表达相对较高; (3)基因上稳定; (4)分化潜能上有争议	(1)增殖能力相对最高; (2)与血管生成相关的基因相对表达更高; (3)在长期培养中保持表型和遗传稳定性; (4)扩增时间短,高增殖性,克隆性强	(1)增殖能力高; (2)与血管生成相关的基因相对高表达; (3)在基因和形态上保持稳定; (4)在长期培养中保持分化潜能
免疫表型和免疫调节活性	(1)低免疫原性; (2)高表达 CD106、CD49f、Podxl,不表达 CD34; (3)对 Ig 产生的抑制程度较小; (4)对防止血液单核细胞转化为树突状细胞和成熟树突状细胞共刺激分子的表达影响较小 ^[115]	(1)低免疫原性; (2)不表达 CD34; (3)通过刺激 B 细胞增殖和 B 细胞免疫球蛋白产生的旁分泌作用; (4)通过诱导 T 细胞凋亡和细胞周期阻滞来抑制效应 T 细胞 ^[116]	(1)低免疫原性; (2)表达 CD49d、CD54,不表达 CD106、CD49f、Podxl; (3)更抑制 Ig 的产生; (4)阻止单核细胞转化为树突状细胞,并从成熟的树突状细胞中表达共刺激分子,即更有效的免疫抑制因子 ^[115]

4 展望

MSCs 具有促进胰岛存活, 细胞再生, 增强胰岛素分泌, 并能调节受体免疫反应等特点, 通过直接 MSCs 或无细胞 MSC-CM 与胰岛共培养, 或 MSCs 与胰岛共移植, 或共封装后移植, 可恢复实验动物内源性胰岛素分泌来有效控制其血糖。但由于 MSCs 来源、培养条件等的不同, 其功能具有异质性, 使其较难成为临床胰岛移植中广泛应用的具有成本效益的细胞产品。使用精确定义的 MSC-CM, 含有 MSCs 所分泌的生物活性成分, 可建立类似于药物的方式评估其安全性、有效性、剂量和效力, 建立质量控制标准, 并可在 GMP 环境中进行大规模生产并保持产品质量稳定, 有望满足临床与人胰岛共培养和共移植所需的规模挑战。总体来说, MSCs 对胰岛移植有多种保护或修复胰岛 β 细胞来支持胰岛移植物功能的作用。随着对 MSCs 及其分泌的生物活性分子和对胰岛作用机制的理解、MSCs 规模化培养技术的发展^[122], 以及找到更多潜在的使用方法, 后续在临床胰岛的应用中可采用 MSCs 或无细胞的 MSC-CM 来促进胰岛移植。

参 考 文 献

- American Diabetes Association Professional Practice Committee.2. Diagnosis and classification of diabetes: standards of care in Diabetes-2024[J]. Diabetes Care, 2024, 47(Suppl 1):S20-S42.
- American Diabetes Association Professional Practice Committee.10. Cardiovascular disease and risk management: standards of care in diabetes-2024[J].Diabetes Care, 2024, 47(Suppl 1):S179-S218.
- McCoy RG, Van Houten HK, Ziegenfuss JY, et al. Increased mortality of patients with diabetes reporting severe hypoglycemia[J]. Diabetes Care, 2012, 35(9):1897-1901.
- 中华医学会器官移植学分会. 胰岛移植临床技术操作规范(2019版) [J]. 器官移植, 2019, 10(6): 621-627.
- Bellin MD, Ramanathan K, Chinnakotla S. Total pancreatectomy with islet auto-transplantation: surgical procedure, outcomes, and quality of life[J]. Adv Surg, 2023, 57(1):15-30.
- FDA approves first cellular therapy to treat patients with type 1 diabetes. U.S[N]. Food and Drug Administration, June 28, 2023.
- Food and Drug Administration.FDA approves first cellular therapy to treat patients with type 1 diabetes[N]. U.S.FDA Press Release, 2023-06-28.
- O'Connell PJ, Holmes-Walker DJ, Goodman D, et al. Multicenter Australian trial of islet transplantation: improving accessibility and outcomes[J]. Am J Transplant, 2013, 13(7):1850-1858.
- Rita B, Knoll MF, Knoll CA, et al.The future of islet transplantation is now[J]. Front Med (Lausanne), 2018, 5:202.
- Hering BJ, Clarke WR, Bridges ND, et al. Phase 3 trial of transplantation of human islets in type 1 diabetes complicated by severe hypoglycemia[J]. Diabetes Care, 2016, 39(7):1230-1240.
- Ricordi C, Strom TB. Clinical islet transplantation: advances and immunological challenges[J]. Nat Rev Immunol, 2004, 4(4):259-268.
- Chen QD, Liu L, Zhao XH, et al.Challenges and opportunities in the islet transplantation microenvironment: a comprehensive summary of inflammatory cytokine, immune cells, and vascular endothelial cells[J]. Front Immunol, 2023, 14:1293762.
- Khatri R, Petry SF, Linn T. Intrapancreatic MSC transplantation facilitates pancreatic islet regeneration[J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12(1):121.
- Li XY, Wu SY, Leung PS. Human fetal bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote the proliferation and differentiation of pancreatic progenitor cells and the engraftment function of islet-like cell clusters[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(17):4083.
- Chen J, Chen J, Cheng Y, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes protect beta cells against hypoxia-induced apoptosis via miR-21 by alleviating ER stress and inhibiting p38 MAPK phosphorylation[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1):97.
- Moll G, Drzeniek N, Kamhieh-Milz J, et al. MSC therapies for COVID-19: importance of patient coagulopathy, thromboprophylaxis, cell product quality and mode of delivery for treatment safety and efficacy[J]. Front Immunol, 2020, 11:1091.
- Liu C, Zhang W, Peradze N, et al. Mesenchymal stem cell (MSC)-mediated survival of insulin producing pancreatic β -cells during cellular stress involves signalling via Akt and ERK1/2[J]. Mol Cell Endocrinol, 2018, 473:235-244.
- 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.
- Ma C, Zhai Y, Li CT, et al. Translating mesenchymal stem cell and their exosome research into GMP compliant advanced therapy products: promises, problems and prospects[J]. Med Res Rev, 2024, 44(3):919-938.
- Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells[J]. Lancet, 2004, 363(9419):1439-1441.
- Bolanos-Meade J, Vogelsang GB. Novel strategies for steroid-refractory acute graft-versus-host disease[J]. Curr Opin Hematol, 2005, 12(1):40-44.
- Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy[J]. Blood, 2005, 106(5):1755-1761.
- Augello A, Tasso R, Negrini SM, et al. Cell therapy using allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells prevents tissue damage in collagen-induced arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2007, 56(4):1175-1186.
- Parekkadan B, Tilles AW, Yarmush ML. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells ameliorate autoimmune enteropathy independently of regulatory T cells[J]. Stem Cells, 2008, 26(7):1913-1919.
- Hayashi Y, Tsuji S, Tsujii M, et al. Topical implantation of mesenchymal stem cells has beneficial effects on healing of experimental colitis in rats[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2008, 326(2): 523-531.
- 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.
- Zang L, Li Y, Hao H, et al. Efficacy of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in the treatment of type 2 diabetes assessed by retrospective continuous glucose monitoring[J]. Stem Cells Translational Medicine, 2023, 12(12):775-782.
- Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation *in vitro* and prolong skin graft survival *in vivo*[J]. Exp Hematol, 2002, 30(1):42-48.

- 29 Casiraghi F, Azzollini N, Cassis P, et al. Pretransplant infusion of mesenchymal stem cells prolongs the survival of a semiallogeneic heart transplant through the generation of regulatory T cells[J]. *J Immunol*, 2008, 181(6):3933-3946.
- 30 朱淑芳, 曲泽澎, 陆赢, 等. 转基因猪骨髓间充质干细胞的分离及与猪胰岛的共培养研究[J]. *器官移植*, 2024, 15(1): 55-62.
- 31 Hemattia P, Kima J, Stein AP, et al. Potential role of mesenchymal stromal cells in pancreatic islet transplantation[J]. *Transplantation Reviews*, 2013, 27(1):21-29.
- 32 Arzouni AA, Vargas-Seymour A, Nardi N, et al. Using mesenchymal stromal cells in islet transplantation[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2018, 7(8):559-563.
- 33 Park KS, Kim YS, Kim JH, et al. Trophic molecules derived from human mesenchymal stem cells enhance survival, function, and angiogenesis of isolated islets after transplantation[J]. *Transplantation*, 2010, 89(5):509-517.
- 34 Rackham CL, Dhadda PK, LeLay AM, et al. Preculturing islets with adipose-derived mesenchymal stromal cells is an effective strategy for improving transplantation efficiency at the clinically preferred intraportal site[J]. *Cell Med*, 2014, 7(1):37-47.
- 35 Jung EJ, Kim SC, Wee YM, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stromal cells support rat pancreatic islet survival and insulin secretory function *in vitro*[J]. *Cytotherapy*, 2011, 13(1):19-29.
- 36 Rackham CL, Dhadda PK, Chagastelles PC, et al. Pre-culturing islets with mesenchymal stromal cells using a direct contact configuration is beneficial for transplantation outcome in diabetic mice[J]. *Cytotherapy*, 2013, 15(4):449-459.
- 37 Scuteri A, Donzelli E, Rodriguez-Menendez V, et al. A double mechanism for the mesenchymal stem cells' positive effect on pancreatic islets[J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e84309.
- 38 Karaoz E, Ayhan S, Okçu A, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells co-cultured with pancreatic islets display β cell plasticity[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2011, 5(6):491-500.
- 39 Hynes RO. The extracellular matrix: not just pretty fibrils[J]. *Science*, 2009, 326(5957): 1216-1219.
- 40 Fitzpatrick LE, McDevitt TC. Cell-derived matrices for tissue engineering and regenerative medicine applications[J]. *Biomater Sci*, 2015, 3(1): 12-24.
- 41 Prewitz MC, Seib FP, von Bonin M, et al. Tightly anchored tissue-mimetic matrices as instructive stem cell microenvironments[J]. *Nat Methods*, 2013, 10(8):788-794.
- 42 De Souza BM, Bouças AP, Oliveira FDS, et al. Effect of co-culture of mesenchymal stem/stromal cells with pancreatic islets on viability and function outcomes: a systematic review and meta-analysis[J]. *Islets*, 2017, 9(2):30-42.
- 43 Rackham CL, Vargas AE, Hawkes RG, et al. Annexin A1 is a key modulator of mesenchymal stromal cell-mediated improvements in islet function[J]. *Diabetes*, 2016, 65(1):129-139.
- 44 Ding Y, Xu D, Feng G, et al. Mesenchymal stem cells prevent the rejection of fully allogeneic islet grafts by the immunosuppressive activity of matrix metalloproteinase-2 and -9[J]. *Diabetes*, 2009, 58(8):1797-1806.
- 45 Arzouni AA, Vargas-Seymour A, Rackham CL, et al. Mesenchymal stromal cells improve human islet function through released products and extracellular matrix[J]. *Clin Sci*, 2017, 131(23):2835-2845.
- 46 Lavoie JR, Creskey MM, Muradia G, et al. Brief report: elastin microfibril interface 1 and integrin-linked protein kinase are novel markers of islet regenerative function in human multipotent mesenchymal stromal cells[J]. *Stem cells*, 2016, 34(8): 2249-2255.
- 47 Dunér P, Al-Amily IM, Soni A, et al. Adhesion G protein-coupled receptor G1 (ADGRG1/GPR56) and pancreatic β -cell function[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101(12):4637-4645.
- 48 Chen T, Yuan J, Duncanson S, et al. Alginate encapsulant incorporating CXCL12 supports long-term allo- and xenoislet transplantation without systemic immune suppression[J]. *Am J Transplant*, 2015, 15(3):618-627.
- 49 Wang L, Liu T, Liang R, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate β cell dysfunction of human type 2 diabetic islets by reversing β cell dedifferentiation[J]. *EBioMedicine*, 2020, 51:102615.
- 50 Wei L, Zhang L, Yan L, et al. Protective effect of mesenchymal stem cells on isolated islets survival and against hypoxia associated with the HIF-1 α /PFKFB3 pathway[J]. *Cell Transplant*, 2022, 31: 9636897211073127.
- 51 Rackham CL, Hubber EL, Czajka A, et al. Optimizing beta cell function through mesenchymal stromal cell-mediated mitochondria transfer[J]. *Stem Cells*, 2020, 38(4):574-584.
- 52 Kuljanin M, Elgamal RM, Bell GI, et al. Quantitative proteomics evaluation of human multipotent stromal cell for β cell regeneration[J]. *Cell Rep*, 2018, 25(9):2524-2536.e4.
- 53 Kuljanin M, Elgamal RM, Bell GI, et al. Human multipotent stromal cell secreted effectors accelerate islet regeneration[J]. *Stem Cells*, 2019, 37(4):516-528.
- 54 Ben Nasr M, Vergani A, Avruch J, et al. Co-transplantation of autologous MSCs delays islet allograft rejection and generates a local immunoprivileged site[J]. *Acta Diabetol*, 2015, 52(5):917-927.
- 55 Gao X, Song L, Shen K, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells promote the repair of islets from diabetic mice through paracrine actions[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 388(1-2):41-50.
- 56 Xu T, Lv Z, Chen Q, et al. Vascular endothelial growth factor over-expressed mesenchymal stem cells-conditioned media ameliorate palmitate-induced diabetic endothelial dysfunction through PI-3K/AKT/m-TOR/eNOS and p38/MAPK signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106:491-498.
- 57 Kuljanin M, Bell GI, Sherman SE, et al. Proteomic characterisation reveals active Wnt-signalling by human multipotent stromal cells as a key regulator of beta cell survival and proliferation[J]. *Diabetologia*, 2017, 60(10):1987-1998.
- 58 Tan Y, Nie W, Chen C, et al. Mesenchymal stem cells alleviate hypoxia-induced oxidative stress and enhance the pro-survival pathways in porcine islets[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2019, 244(9):781-788.
- 59 Hubber EL, Rackham CL, Jones PM. Protecting islet functional viability using mesenchymal stromal cells[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2021, 10(5):674-680.
- 60 Brandhorst D, Brandhorst H, Acreman S, et al. Hypoxia-induced damage in human islets is reduced with the use of mesenchymal stem cell-preconditioned medium[J]. *Transplant Proc*, 2017, 49(10):2330-2332.
- 61 孙平, 吴航飞, 程颖. 胰岛与干细胞共移植治疗糖尿病中干细胞来源与作用机制的研究进展[J/CD]. *实用器官移植电子杂志*, 2022, 10(2):183-188.
- 62 Borg DJ, Weigelt M, Wilhelm C, et al. Mesenchymal stromal cells improve transplanted islet survival and islet function in a syngeneic mouse model[J]. *Diabetologia*, 2014, 57(3):522-531.
- 63 Rackham CL, Chagastelles PC, Nardi NB, et al. Co-transplantation of mesenchymal stem cells maintains islet organisation and morphology

- in mice[J]. *Diabetologia*, 2011, 54(5):1127-1135.
- 64 Berman DM, Willman MA, Han D, et al. Mesenchymal stem cells enhance allogeneic islet engraftment in nonhuman primates[J]. *Diabetes*, 2010, 59(10):2558-2568.
 - 65 Wu H, Wen D, Mahato RI. Third-party mesenchymal stem cells improved human islet transplantation in a humanized diabetic mouse model[J]. *Mol Ther*, 2013, 21(9):1778-1786.
 - 66 Yoshimatsu G, Sakata N, Tsuchiya H, et al. The co-transplantation of bone marrow derived mesenchymal stem cells reduced inflammation in intramuscular islet transplantation[J]. *PLoS One*, 2015, 10:e0117561.
 - 67 Hayward JA, Ellis CE, Seeberger K, et al. Co-transplantation of mesenchymal stem cells with neonatal porcine islets improve graft function in diabetic mice[J]. *Diabetes*, 2017, 66(5):1312-1321.
 - 68 Kerby A, Jones ES, Jones PM, et al. Co-transplantation of islets with mesenchymal stem cells in microcapsules demonstrates graft outcome can be improved in an isolated-graft model of islet transplantation in mice[J]. *Cytotherapy*, 2013, 15:192-200.
 - 69 Ito T, Itakura S, Todorov I, et al. Mesenchymal stem cell and islet co-transplantation promotes graft revascularization and function[J]. *Transplantation*, 2010, 89(12):1438-1445.
 - 70 Fiorina P, Jurewicz M, Augello A, et al. Immunomodulatory function of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in experimental autoimmune type 1 diabetes[J]. *J Immunol*, 2009, 183(2):993-1004.
 - 71 Xu D, Yu X, Zhang D, et al. Mesenchymal stem cells differentially mediate regulatory T cells and conventional effector T cells to protect fully allogeneic islet grafts in mice[J]. *Diabetologia*, 2012, 55(4):1091-1102.
 - 72 Zhu F, Sun B, Wen Y, et al. A modified method for implantation of pluripotent stem cells under the rodent kidney capsule[J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23(17):2119-2125.
 - 73 Forbes S, Bond AR, Thirlwell KL, et al. Human umbilical cord perivascular cells improve human pancreatic islet transplant function by increasing vascularization[J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(526):eaan5907.
 - 74 Preda MB, Lupan AM, Neculachi CA, et al. Evidence of mesenchymal stromal cell adaptation to local microenvironment following subcutaneous transplantation[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(18):10889-10897.
 - 75 El-Halawani SM, Gabr MM, El-Far M, et al. Subcutaneous transplantation of bone marrow derived stem cells in macroencapsulation device for treating diabetic rats; clinically transplantable site[J]. *Heliyon*, 2020, 6(5):e03914.
 - 76 Wang H, Strange C, Nietert PJ, et al. Autologous mesenchymal stem cell and islet cotransplantation: safety and efficacy[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2018, 7(1):11-19.
 - 77 Eggenhofer E, Benseler V, Kroemer A, et al. Mesenchymal stem cells are short-lived and do not migrate beyond the lungs after intravenous infusion[J]. *Front Immunol*, 2012, 3:297.
 - 78 Cavallari G, Olivi E, Bianchi F, et al. Mesenchymal stem cells and islet cotransplantation in diabetic rats: improved islet graft revascularization and function by human adipose tissue-derived stem cells preconditioned with natural molecules[J]. *Cell Transplant*, 2012, 21(12):2771-2781.
 - 79 Kanak MA, Takita M, Kunnathodi F, et al. Inflammatory response in islet transplantation[J]. *Int J Endocrinol*, 2014, 2014: 451035.
 - 80 Prewitz MC, Seib FP, von Bonin M, et al. Tightly anchored tissue-mimetic matrices as instructive stem cell microenvironments[J]. *Nat Methods*, 2013, 10(8): 788-794.
 - 81 Coppola A, Tomasello L, Pitrone M, et al. Human limbal fibroblast-like stem cells induce immune-tolerance in autoreactive T lymphocytes from female patients with Hashimoto's thyroiditis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 154.
 - 82 Llacua A, de Haan BJ, de Vos P. Laminin and collagen IV inclusion in immunoisolating microcapsules reduces cytokine-mediated cell death in human pancreatic islets[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2018, 12(2): 460-467.
 - 83 Llacua A, de Haan BJ, Smink SA, et al. Extracellular matrix components supporting human islet function in alginate-based immunoprotective microcapsules for treatment of diabetes[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2016, 104(7): 1788-1796.
 - 84 Rackham CL, Amisten S, Persaud SJ, et al. Mesenchymal stromal cell secretory factors induce sustained improvements in islet function pre-and post-transplantation[J]. *Cytotherapy*, 2018, 20(12):1427-1436.
 - 85 Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells[J]. *Blood*, 2007, 110(10):3499-3506.
 - 86 Oh JY, Kim MK, Shin MS, et al. The anti-inflammatory and anti-angiogenic role of mesenchymal stem cells in corneal wound healing following chemical injury[J]. *Stem Cells*, 2008, 26(4):1047-1055.
 - 87 Lanzoni G, Ricordi C. Transplantation of stem cell-derived pancreatic islet cells[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2021, 17(1):7-8.
 - 88 Migliorini A, Nostro MC, Sneddon JB. Human pluripotent stem cell-derived insulin-producing cells: a regenerative medicine perspective[J]. *Cell Metab*, 2021, 33(4):721-731.
 - 89 Carlsson PO, Schwarcz E, Korsgren O, et al. Preserved β -cell function in type 1 diabetes by mesenchymal stromal cells[J]. *Diabetes*, 2015, 64(2):587-592.
 - 90 Lu J, Shen SM, Ling Q, et al. One repeated transplantation of allogeneic umbilical cord mesenchymal stromal cells in type 1 diabetes: an open parallel controlled clinical study[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1):340.
 - 91 Xv J, Ming Q, Wang X, et al. Mesenchymal stem cells moderate immune response of type 1 diabetes[J]. *Cell Tissue Res*, 2017, 368(2): 239-248.
 - 92 朱淑芳, 牟丽莎. 间充质干细胞在 1 型糖尿病胰岛移植中的应用进展 [J]. *器官移植*, 2024, 15(2): 214-219.
 - 93 de Klerk E, Hebrok M. Stem cell-based clinical trials for diabetes mellitus[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12:631463.
 - 94 O'Sullivan ES, Vegas A, Anderson DG, Weir GC. Islets transplanted in immunoisolation devices: a review of the progress and the challenges that remain[J]. *Endocr Rev*, 2011, 32(6):827-844.
 - 95 杨玉伟, 李万里, 陈继冰, 等. 间充质干细胞包裹人胰岛减轻即刻经血液介导的炎症反应的体外研究 [J]. *器官移植*, 2023, 14(4):562-569.
 - 96 Jo EH, Hwang YH, Lee DY. Encapsulation of pancreatic islet with HMGB1 fragment for attenuating inflammation[J]. *Biomater Res*, 2015, 19:21.
 - 97 Barkai U, Rotem A, de Vos P. Survival of encapsulated islets: More than a membrane story[J]. *World J Transplant*, 2016, 6(1):69-90.
 - 98 Montanari E, Meier RPH, Mahou R, et al. Multipotent mesenchymal stromal cells enhance insulin secretion from human islets via N-cadherin interaction and prolong function of transplanted encapsulated islets in mice[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1):199.
 - 99 Vaithilingam V, Evans MDM, Lewy DM, et al. Co-encapsulation and co-transplantation of mesenchymal stem cells reduces pericapsular fibrosis and improves encapsulated islet survival and function when allografted[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):10059.
 - 100 Razavi M, Ren T, Zheng F, et al. Facilitating islet transplantation using

- a three-step approach with mesenchymal stem cells, encapsulation, and pulsed focused ultrasound[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1):405.
- 101 Kogawa R, Nakamura K, Mochizuki Y. A new islet transplantation method combining mesenchymal stem cells with recombinant peptide pieces, microencapsulated islets, and mesh bags[J]. *Biomedicines*, 2020, 8(9):299.
- 102 Nakamura K. CellSaic, a cell aggregate-like technology using recombinant peptide pieces for MSC transplantation[J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2019, 14(1):52-56.
- 103 Wang X, Wang K, Yu M, et al. Engineered immunomodulatory accessory cells improve experimental allogeneic islet transplantation without immunosuppression[J]. *Sci Adv*, 2022, 8(29):eabn0071.
- 104 Abuarqoub D, Adwan S, Zaza R, et al. Effective generation of functional pancreatic β cells from human-derived dental stem cells of apical papilla and bone-marrow-derived stem cells: a comparative study[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2023, 16(5):649.
- 105 邱晓燕, 李碧欣, 黎敬弟, 等. MAFA-PDX1 过表达慢病毒感染人脐带间充质干细胞向胰岛素分泌细胞的分化 [J]. *中国组织工程研究*, 2024, (7): 1000-1006.
- 106 郭璇, 解军, 索金荣, 等. 人脐带间充质干细胞诱导的胰岛样细胞不同途径移植治疗 1 型糖尿病鼠 [J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(1): 78-83.
- 107 Hemattia P, Kima J, Stein AP, et al. Potential role of mesenchymal stromal cells in pancreatic islet transplantation[J]. *Transplantation Reviews*, 2013, 27(1):21-29.
- 108 Yamada S, Shimada M, Utsunomiya T, et al. Trophic effect of adipose tissue-derived stem cells on porcine islet cells[J]. *J Surg Res*, 2014, 187(2):667-672.
- 109 Bell GI, Meschino MT, Hughes-Large JM, et al. Combinatorial human progenitor cell transplantation optimizes islet regeneration through secretion of paracrine factors[J]. *Stem Cells Dev*, 2012, 21(11):1863-1876.
- 110 Anna A, Barbara L, Mirosław J. Concise review: mesenchymal stem cells: from roots to boost[J]. *Stem Cells*, 2019, 37(7):855-864.
- 111 孙旭燕, 张学娟, 赵江宁, 等. 性别差异对间充质干细胞生物学特性的影响 [J/OL]. *中华细胞与干细胞杂志(电子版)*, 2021, 11(5): 317-320.
- 112 Ding DC, Chang YH, Shyu WC, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells: a new era for stem cell therapy[J]. *Cell Transplant*, 2015, 24(3):339-347.
- 113 余诗琴, 尹玉杰, 张建中. 间充质干细胞及诱导分化后胰岛功能转归的相关性分析 [J]. *中国实验诊断学*, 2022, 26(8):1254-1257.
- 114 Mushahary D, Spittler A, Kasper C, et al. Isolation, cultivation, and characterization of human mesenchymal stem cells[J]. *Cytometry A*, 2018, 93(1):19-31.
- 115 Strioga M, Viswanathan S, Darinskas A, et al. Same or not the same? Comparison of adipose tissue-derived versus bone marrow-derived mesenchymal stem and stromal cells[J]. *Stem Cells Dev*, 2012, 21(14):2724-2752.
- 116 Zhou Y, Yamamoto Y, Xiao Z, et al. The immunomodulatory functions of mesenchymal stromal/Stem cells mediated via paracrine activity[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(7): 1025.
- 117 Brandhorst H, Brandhorst D, Abraham A, et al. Proteomic profiling reveals the ambivalent character of the mesenchymal stem cell secretome: assessing the effect of preconditioned media on isolated human islets[J]. *Cell Transplant*, 2020, 29:963689720952332.
- 118 Al-Shaibani MBH. Three-dimensional cell culture (3DCC) improves secretion of signaling molecules of mesenchymal stem cells (MSCs)[J]. *Biotechnol Lett*, 2022, 44(1):143-155.
- 119 Bhansali S, Dutta P, Kumar V, et al. Efficacy of autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cell and mononuclear cell transplantation in type 2 diabetes mellitus: a randomized, placebo-controlled comparative Study[J]. *Stem Cells Dev*, 2017, 26(7):471-481.
- 120 Skyler JS, Fonseca VA, Segal KR, et al. Allogeneic mesenchymal precursor cells in type 2 diabetes: a randomized, placebo-controlled, dose-escalation safety and tolerability pilot study[J]. *Diabetes Care*, 2015, 38(9):1742-1749.
- 121 Bhansali A, Asokumar P, Walia R, et al. Efficacy and safety of autologous bone marrow-derived stem cell transplantation in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized placebo-controlled study[J]. *Cell Transplant*, 2014, 23(9):1075-1085.
- 122 张闻宇, 黄玉香. 间充质干细胞体外大规模培养的研究进展 [J/OL]. *中华细胞与干细胞杂志(电子版)*, 2023, 13(6): 370-376.

(收稿日期: 2024-07-19)

(本文编辑: 陈媛媛)

傅红兴, 王植楷, 谢贵林, 等. 间充质干细胞促进胰岛移植效果的研究进展 [J/OL]. *中华细胞与干细胞杂志(电子版)*, 2024, 14(6): 351-360.