

间充质干细胞产品及其外泌体在炎症性肠病治疗中的研究进展

杨靖雯¹, 陈 芊¹, 单云龙¹, 刘嘉莉¹, 尉 宁^{1,2}, 王 婧², 王广基^{1*}, 周 芳^{1**}

(¹ 中国药科大学药物代谢动力学重点实验室, 南京 210009; ² 江苏睿源生物技术有限公司, 南京 211103)

摘 要 炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 发病机制不明, 特征为进行性和终身复发性消化道炎症反应。尽管现阶段新的治疗药物和策略不断涌现, 但治疗作用局限于单一的抗炎功能, 在复杂黏膜免疫环境下易出现耐药导致治疗失败。间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 能定向归巢到结肠炎症部位, 具有强大的免疫调节能力, 可重塑肠道免疫环境和修复上皮屏障, 为药物难治性患者的治疗提供了极具潜力的替代方案。本文对 MSCs 产品及其衍生的外泌体在临床上的应用、作用机制和工程化进行综述, 以期对 MSCs 及其外泌体产品用于 IBD 的治疗提供参考。

关键词 炎症性肠病; 间充质干细胞; 外泌体; 工程化

中图分类号 R574 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2024)01-0103-12

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.2023113001

引用本文 杨靖雯, 陈芊, 单云龙, 等. 间充质干细胞产品及其外泌体在炎症性肠病治疗中的研究进展 [J]. 中国药科大学学报, 2024, 55(1): 103 – 114.

Cite this article as: YANG Jingwen, CHEN Qian, SHAN Yunlong, *et al.* Research progress on mesenchymal stem cell products and their exosomes in the treatment of inflammatory bowel disease[J]. *J China Pharm Univ*, 2024, 55(1): 103 – 114.

Research progress on mesenchymal stem cell products and their exosomes in the treatment of inflammatory bowel disease

YANG Jingwen¹, CHEN Qian¹, SHAN Yunlong¹, LIU Jiali¹, WEI Ning^{1,2}, WANG Jing², WANG Guangji^{1*}, ZHOU Fang^{1**}

¹Key Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009;

²Renocell Biotechnology Co., Ltd., Nanjing 211103, China

Abstract Inflammatory bowel disease (IBD), whose pathogenesis remains elusive, is a group of autoimmune diseases characterized by chronic, progressive, and lifelong inflammation of the digestive tract. The pathogenesis of IBD remains elusive. Although a number of drugs have been developed to treat IBD, their effects are merely anti-inflammatory. In addition, current treatments for IBD are easily susceptible to resistance in clinical practice. Mesenchymal stem cells (MSCs) have been reported to have the ability to migrate to the site of inflammation, with potent immunoregulatory effects, and to rebalance the immune microenvironment and restore the integrity of the epithelial barrier with significant value of application, particularly for patients who are refractory to classic medicines. In this paper, we reviewed the clinical applications, mechanisms and engineerable properties of MSC products and their exosomes to provide some reference for the use of MSCs and their exosomes in the treatment of IBD.

Key words inflammatory bowel disease; mesenchymal stem cells; exosomes; engineering

收稿日期 2023-11-30 通信作者 *Tel: 025-83271179 E-mail: guangjiwang@hotmail.com

**Tel: 025-83271179 E-mail: zf1113@163.com

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 82073928); 南京市生命健康科技专项 (No.202110006); 细胞生态海河实验室创新基金项目 (22HHXBSS00005); 江苏省南京市联合资助项目 (SBK2023070039)

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 82073928); the Nanjing Life and Health Science and Technology Program (No.202110006); the Haihe Laboratory of Cell Ecosystem Innovation Fund (22HHXBSS00005); and the Co-funded Programs in Nanjing, Jiangsu Province (SBK2023070039)

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD),是由环境、免疫系统、肠道微生物组和个体遗传等因素的复杂互作引起的一类自身免疫性疾病,其一线治疗药物包括糖皮质激素、免疫抑制剂、抗生素和抗肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)疗法。近年来,国际上有多项创新药研究正在进行中,包括抗 IL-12 / IL-23、Janus 激酶(Janus kinase, JAK)抑制剂、抗细胞黏附分子等。虽然目前用于治疗自身免疫性疾病的生物制剂快速发展,极大地丰富了治疗手段,但临床上仍存在无法满足的用药需求,即治疗无反应、免疫不耐受、用药不良反应甚至罹患严重感染和恶性肿瘤的风险^[1-3]。此外,多种生物疗法也复杂化了 IBD 的初始和长期缓解治疗用药的选择^[4]。因此,对 IBD 的治疗方案进入了瓶颈阶段。

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)因在多种自身免疫性疾病的治疗中展现出卓越的疗效而备受瞩目,例如移植物抗宿主病和难治性类风湿性关节炎等^[5-6]。MSCs 可从骨髓、脂肪、牙髓、胎盘和脐带华通氏胶等组织分离,通过旁分泌生物活性因子和细胞间物质传递发挥抗炎、抗纤维化、抗凋亡和黏膜屏障修复等作用,在难治性自身免疫病的治疗方面显示出广阔的应用前景。截至 2023 年 11 月,共有 1589 项关于 MSCs 的临床试验在 Clinicaltrials.gov 上注册,其中 56 项适应证为 IBD 及相关肛周瘘和贮袋炎。目前全球范围内批准的符合药品定义的 MSCs 产品共 10 种,适应证包括移植物抗宿主病、急性心肌梗死、复杂性 IBD 并发肛瘘、脊髓损伤、膝关节软骨损伤、肌萎缩侧索硬化症和血栓闭塞性动脉炎。Cupistem 和 darvadstrocel 可用于 CD 复杂性肛瘘的治疗,前者于 2012 年在韩国获批上市,后者分别于 2018 年和 2021 年在欧盟和日本获批上市。目前我国国家药品监督管理局批准的 46 项 MSCs 临床默示许可中,有 3 项适应证分别为中重度活动性 IBD、急慢性 UC 和非活动性/轻度活动性腔内 CD 的成年患者的复杂肛周瘘,表明 MSCs 在 IBD 治疗中的价值得到了广泛认可。

目前 MSCs 及其外泌体(exosomes, Exos)的产

品研发和临床转化应用是药物研发的前沿热点。MSCs 疗法作为突破性的临床治疗技术具有独特的作用,对 IBD 尤其是难治复发患者和 CD 合并复杂性肛瘘患者展现出极具价值的临床潜力。

1 MSCs 在难治性 IBD 治疗中的优势

《炎症性肠病诊断与治疗的共识意见》中指出药物是 IBD 当前的主要治疗途径^[7],传统用药以氨基水杨酸、皮质类固醇激素为主,但常伴有神经毒性、心血管、肝损等诸多不良反应(表 1)。近些年, TNF- α 单抗、IL-23 单抗、JAK 小分子抑制剂等生物/分子靶向制剂成为了 IBD 常规疗法失败后的首选药物。

一项前瞻性队列研究显示,IBD 患者在诊断后 10 年复发风险为 70%~80%^[8]。在接受口服 5-氨基水杨酸治疗的 UC 患者中,高达 50% 以上的患者无法实现疾病缓解^[9],甲氨蝶呤仅对 44% 的 CD 患者有效^[10],超过一半的 UC 患者和 1/3 的 CD 患者在停用硫唑嘌呤后复发^[11],这说明超过一半的 IBD 患者可能无法通过传统药物控制疾病。20%~30% 的患者在多次复发后不得不通过手术切除部分肠道^[12],严重影响患者的生活质量。虽然新兴的生物靶向药物呈现不错的临床疗效,但依然有 30% 的患者对首次治疗没有反应,50% 的患者随着时间推移产生抗药性,并且这些临床治疗的主流药物均伴有一定程度的不良反应,因此,亟待寻找新的疗法重塑 IBD 治疗格局。

1.1 MSCs 与药物无反应性难治性 IBD

难治性 IBD 是使用至少两种不同作用机制的生物制剂和先进的小分子药物治疗失败,或 CD 在手术切除(成人 2 次,儿童 1 次)后复发的 IBD。此外,抗生素难治性慢性贮袋炎、复杂肛周疾病和影响疾病管理的心理并发症也属于难治性 IBD^[13]。

难治型 IBD 治疗失败可能是由于患者之间个体差异大、发病机制复杂、黏膜免疫及肠道微生物群紊乱等因素导致的。大队列全基因组关联分析表明,IBD 在遗传上具有高度的异质性^[14]。例如,已证明的白介素-10 受体亚基 α 、核苷酸结合寡聚化结构域 2、X 连锁凋亡抑制蛋白等基因突变是 IBD

表 1 已上市用于炎症性肠病治疗的药物与间充质干细胞(MSCs)产品的对比

分类	代表药物	作用机制	适应证	给药方式	剂量	不良反应
氨基水杨酸类	美沙拉嗪	抑制免疫细胞的免疫反应和促炎因子产生	轻、中度UC和轻度CD诱导和维持缓解	po	2~4 g/d分次口服或顿服	磺胺过敏、胃肠道反应、肝肾功能损害和胰腺炎
糖皮质激素	泼尼松龙	抑制炎症因子转录, 促进炎症细胞凋亡	UC&CD 不用于维持治疗	po iv im	活动期每日0.75~1 mg/kg, <i>t.i.d.</i>	青光眼、高血糖症、高血压和库欣综合征等
抗TNF- α	英夫利昔单抗	抑制TNF- α 信号转导通路	UC&CD	iv	5 mg/kg, 0, 2, 6 w给药, 随后每8周给药	严重感染、恶性肿瘤、银屑病等
抗IL-12/IL-23	乌司奴单抗	与IL-12p40结合, 阻断IL-12 / IL-23通路	UC&CD	iv <i>s.c.</i>	45 mg, 0, 4 w给药, 随后每12周给药	感染、恶性肿瘤、过敏反应
抗整合素	维得利珠单抗	抑制白细胞归巢	UC&CD	iv	300 mg, 0, 2, 6 w给药, 随后每8周给药	严重感染、过敏反应、多灶性脑白质病
免疫调节剂	6-巯基嘌呤	破坏嘌呤代谢	UC&CD	po	每日1.5~2.5 mg/kg, <i>b.i.d.</i> , <i>t.i.d.</i>	骨髓抑制、肝功能损害、恶心、呕吐
JAK 抑制剂	托法替尼	阻断JAK介导的细胞因子信号通路	UC&CD	po	5~10 mg, <i>b.i.d.</i>	头晕、头痛、胃肠反应、感染
S1P 受体调节剂	奥扎莫德	抑制淋巴细胞归巢	UC	po	开始治疗需滴定维持: 0.92 mg, <i>q.d.</i>	上呼吸道感染、头痛
MSCs	Darvadstrocel Cupistem	免疫抑制、组织修复、抗纤维化、保护神经元	CD合并复杂性肛瘘	瘘管内注射	每千克 $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^6$ 个细胞, 长期有效	暂无不良反应事件报告

UC: 溃疡性结肠炎; CD: 克罗恩病; IL: 白介素; TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; JAK: Janus激酶; S1P: 鞘氨醇-1-磷酸

的病因之一^[15-17], 但仍有大量患者病难以阐明, 无法针对发病机制为患者选择理想的治疗药物。另一方面, 体内普遍存在的代偿机制可能导致在阻断单一炎症因子或者通路时可能在一段时间内对部分患者有利, 而半数以上的 IBD 患者对药物不敏感或疾病复发^[18]。

多项临床研究显示, 自体 and 异体 MSCs 输注疗法在常规治疗(包括免疫调节剂、抗 TNF- α 药物)和局部手术不再有效的患者中显示出较好的治疗作用^[19-20]。Lightner 等^[21]研究发现, 在抗 TNF- α 或抗整合素治疗失败的 6 例难治性 UC 患者中, 4 例接受 MSCs 治疗的患者 2 周后 Mayo 内镜评分显著下降, 且良好的治疗效果一直持续到第 12 周, 另 2 例对照组患者在此期间病情无变化。31 例难治性 IBD 患者接受了同种异体 MSCs 输注治疗, 其中约 60% 的患者出现应答且 40% 达到临床缓解^[22]。Forbes 等^[23]在 15 例英夫利昔单抗或阿达木单抗治疗无效的 IBD 患者中进行 MSCs 输注治疗, 42 d 观察期内发现 12 例患者有临床反应, 7 例患者内镜下炎症明显改善。与现有的临床用药相比, MSCs 输注并未引发严重不良反应, 长期随访亦无肿瘤诱发风险, 为 MSCs 作为难治性 IBD 临床治疗的潜在价值提供了有力支持。

难治性 IBD 患者的肠道炎症微环境复杂, 由

IgG⁺浆细胞、单核吞噬细胞、活化的 T 细胞及基质细胞构成的交互网络中, 炎性巨噬细胞释放多种因子, 如 IL-1 β 、IL-1 α 、IL-6、IL-23、TNF- α 以及抑瘤素 M(oncostatin M, OSM)^[24](图 1-A)。IL-1 驱动基质细胞-中性粒细胞互作, 与抗 TNF- α 、皮质类固醇和抗整合素治疗的耐药性密切相关^[25], OSM 在抗 TNF- α 疗法耐药患者中高表达, 促进肠道基质细胞的炎症活性^[26]。然而 MSCs 对难治性患者发挥作用的具体机制仍待揭示, 可能与 MSCs 受 TNF- α 和 IFN- γ 刺激后促进免疫调节分子吡啶胺-2,3-双加氧酶(indolamine dioxygenase, IDO)和 TNF- α 刺激基因-6(tumor necrosis factor- α stimulated gene 6, TSG-6)表达有关^[27]。TSG-6 可诱导巨噬细胞表型从 M1 向 M2 转换, 降低促炎因子 IL-1 β 和 TNF- α 的表达^[28], 中断 IL-1 介导的基质细胞-中性粒细胞互作。另一方面, MSCs 可通过 IDO 上调结肠炎中 I 型调节性 T 细胞(type I regulatory T cells, Tr1)发挥免疫抑制作用^[29], MSCs 还能归巢到炎症部位触发 Fas 配体和程序性死亡配体 1(programmed cell death ligand 1, PD-L1)依赖性的 T 细胞死亡^[30]。为提高患者应答和减少复发, 深入探索 MSCs 对难治性 IBD 发挥治疗作用的分子机制和调控途径将是开发 MSCs 产品、提升临床治疗效果的关键研究方向(图 1-B)。

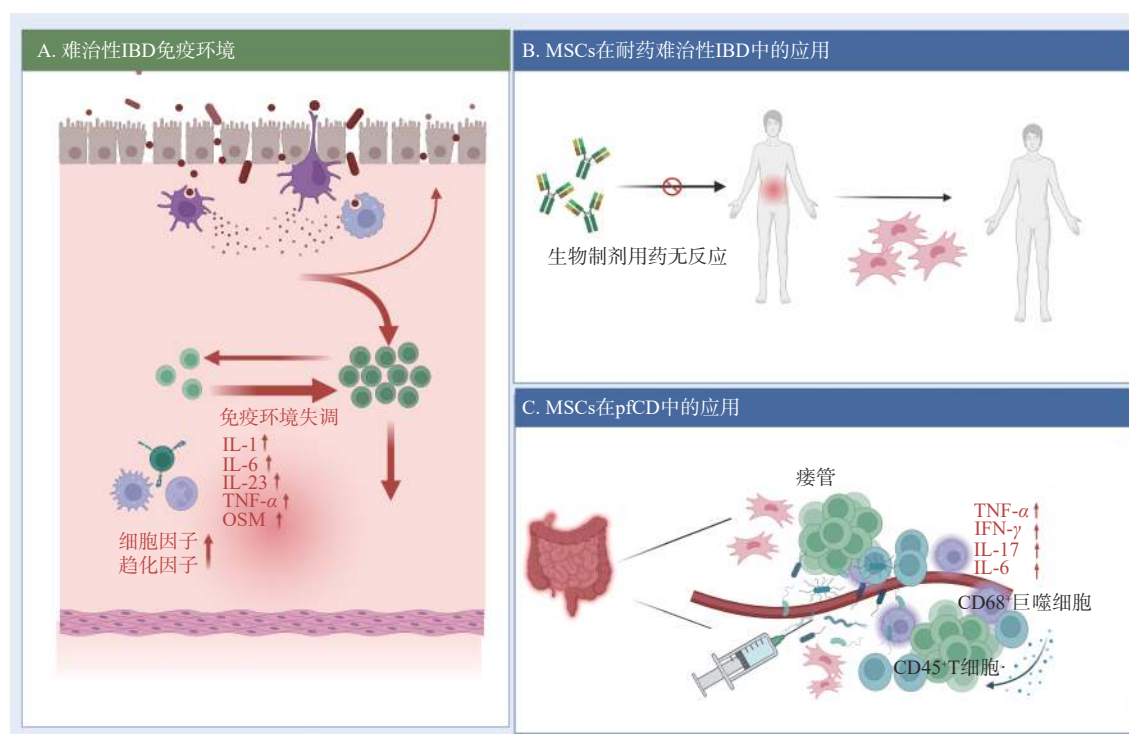


图1 MSCs用于难治性炎症性肠病(IBD)治疗的优势示意图

A: 在难治性 IBD 患者的肠壁损伤部位, 炎性巨噬细胞可释放多种细胞因子, 加重局部免疫微环境的失调; B: MSCs 对于应用抗体类生物药物或传统药物无效的 IBD 患者具有治疗效果; C: MSCs 在 pCD 患者中的应用: 瘻管部位 $CD68^+$ 巨噬细胞、 $CD45RO^+$ T 细胞和 $CD20^+$ B 细胞密集浸润, 释放很多 $TNF-\alpha$ 、 $IFN-\gamma$ 、 $IL-6$ 和 $IL-17$, MSCs 可对瘻管的局部炎症微环境做出响应, 发挥免疫调节及瘻管修复作用

OSM: 抑瘤素-M; $IFN-\gamma$: 干扰素- γ ; pCD: 肛周瘻管性克罗恩病

1.2 MSCs 与 CD 相关复杂性肛瘻

CD 常并发肛周疾病, 患者初次诊断 10 年后肛瘻发生率为 33%, 20 年后升至 50%, 34% 的 CD 患者至少复发 1 例瘻管病灶^[31]。肛周瘻管性克罗恩病(perianal fistulous Crohn's disease, pCD)往往病情反复, 多发复杂性肛瘻, 部分病例伴随急性化脓性感染。23% 的 pCD 患者需要手术治疗^[31]。pCD 一线治疗通常是抗 $TNF-\alpha$ 和手术引流, 5 年内随访发现抗 $TNF-\alpha$ 疗法瘻管闭合率仅为 55%, 40.1% 的患者在 5 年内首例瘻管复发^[32]。目前 pCD 的治疗有明显的局限性, 愈合率远未达到预期, pCD 是 CD 最具挑战性的病变特征之一。

MSCs 在这类治疗困难的 pCD 患者群体中具有卓越的疗效。Reenaers 等^[33]对 16 例 pCD 患者使用骨髓来源的 MSCs 治疗, 磁共振成像显示 MSCs 注射后第 48 周 86% 的患者瘻管闭合。Darvadstrocel 是同种异体脂肪来源的 MSCs, 用于对已有药物无反应的 pCD 患者时, 与安慰剂组相比 darvadstrocel 治疗组患者缓解比例更高(50% vs 34%)^[34]。Ciccocioppo 等^[35]招募了常规方法难治的 pCD 患者接受

自体骨髓来源的 MSCs 治疗, 所有 10 例患者均有效, 其中 7 例患者瘻管持续完全闭合, 3 例患者不完全闭合。治疗期间黏膜 Treg 细胞和循环 Treg 细胞的百分比显著升高, 并在随访结束前保持稳定。Cupistem 是自体脂肪来源的 MSCs, 用于 43 例 pCD 患者治疗时, 80.8% 的患者在治疗 12 个月后退管完全愈合。且在后续观察的 24 个月内, 仍有 75% 的患者保持了瘻管封闭状态, 证实 MSCs 具备良好的长期疗效与安全性^[36]。

在 CD 患者中, $CD68^+$ 巨噬细胞富集在瘻管内壁, $CD45RO^+$ T 细胞和 $CD20^+$ B 细胞密集浸润于瘻管深层。受肠内共生菌和肠道内容物刺激, pCD 瘻管中巨噬细胞大量激活, 诱导 T 细胞和 B 细胞向炎症部位迁移^[37]。细菌代谢物驱动辅助性 T 细胞 17(T helper cell 17, Th17)细胞分化, 促进 $IL-17$ 和 $IFN-\gamma$ 积累^[38], 瘻管中免疫细胞强烈激活并导致组织损伤。有研究者测定了 UC 患者结肠、CD 患者结肠和 pCD 患者瘻管中 $TNF-\alpha$ 、 $IFN-\gamma$ 、 $IL-6$ 和 $IL-17$ 等细胞因子水平, pCD 患者炎症因子水平显著高于其他两组^[39]。pCD 瘻管类似的高浓度炎症因子

处理 MSCs 时, MSCs 分泌了更多的 COX-2、IDO 和 TGF- β , 提示 MSCs 可对高炎症因子水平有更好的响应, 可能是其高效闭合瘘管的原因之一^[39](图 1-C)。可见自身免疫性疾病中炎症因子水平能影响 MSCs 的抑炎能力, MSCs 能依据疾病严重程度发挥适当的抗炎作用, 减少不良反应。因此, 深入探讨 MSCs 在不同炎症环境中的抗炎能力对于制定基于 MSCs 的治疗方案至关重要, 将为基于 MSCs 的精准医疗和治疗方案的制订提供更多依据。

2 MSCs 及 MSC-Exos 治疗 IBD 的作用机制及特点

MSCs 及 MSC-Exos 对黏膜免疫微环境的重塑包括协调抗炎免疫、上皮细胞保护、成纤维细胞活化和肠道神经保护多方面的作用, MSCs 治疗效果主要由其分泌的免疫调节因子介导, MSC-Exos 是 MSCs 分泌的一种重要组分, 其免疫抑制效力与 MSCs 相当^[40], 因在体外没有增殖能力而具有更高的安全性。MSC-Exos 携带大量活性分子, 包括非编码 RNA、生长因子和免疫调节因子, 也能通过多种途径发挥抗炎免疫、促进组织修复作用。

2.1 MSCs 及 MSC-Exos 多途径的免疫调节作用

MSCs 能调控炎症环境中的巨噬细胞、T 细胞和中性粒细胞等多种免疫细胞, 重塑炎症免疫微环境。MSCs 可分泌 TSG-6 诱导巨噬细胞表型向 M2 转换^[28]; 抑制中性粒细胞的 ERK 磷酸化, 上调 N2 型中性粒细胞, 有效减轻肠黏膜损伤、降低疾病活动指数^[41]; 可增加 IL-10 的产生和 Treg 细胞浸润, 减少炎症因子产生^[42](图 2-A)。鞘氨醇-1-磷酸 (sphingosine-1-phosphate, S1P) 在 IBD 进展中发挥促细胞增殖、迁移和炎症因子浸润作用, 抑制 S1P 合成和促进分解是治疗 IBD 可行的途径之一^[43], MSCs 降低 S1P 合成的关键酶鞘氨醇激酶 mRNA 表达水平, 上调鞘氨醇-1-磷酸裂解酶表达, 促进 S1P 分解^[44]。MSC-Exos 在体外可抑制 Th1 和 Th17 细胞的分化, 减少 IL-17、IFN- γ 分泌, 显著降低疾病的严重程度^[45]。MSCs 可显著下调急性黏膜炎症, 有报道显示 MSCs 在抗炎方面和泼尼松龙同样有效^[46], 且单次使用 MSCs 即可诱导结肠炎症反应的持久缓解^[47]。

2.2 MSCs 及 MSC-Exos 向炎症部位归巢

MSCs 在输注后能向局部炎症部位迁移, MSCs 的归巢由炎症因子、趋化因子、黏附分子、生长因子和基质金属蛋白酶等多种配受体互作驱动, 最终

导致 MSCs 沿趋化因子浓度梯度迁移至损伤部位。由于炎症部位多种趋化因子表达显著上调, 常见的全身给药途径如静脉注射给药后 MSCs 能迁移到炎症组织。特别是 IL-1 β 可上调 MSCs 的 CXCR4 蛋白表达, 进一步促进 MSCs 向 DSS 模型小鼠的脾脏、肠系膜淋巴结和结肠炎症区域的聚集^[48]。Duijvestein 等^[49]发现用 IFN- γ 处理的 MSCs 增加了向 DSS 模型和 TNBS 模型小鼠结肠炎症部位的归巢(图 2-B)。MSCs 归巢进入发炎部位促进黏膜免疫耐受, 这可能是 MSCs 选择性作用于炎症部位的原因。直径 40~160 nm 的 MSC-Exos 得益于尺寸和柔韧性能够跨越主要的生物屏障, MSC-Exos 从脉管系统或是腹腔给药对结肠炎症部位具有趋向性, 可作为药物靶向递送有前景的生物载体^[40]。

2.3 MSCs 及 MSC-Exos 修复黏膜屏障

内镜下肠黏膜愈合是临床试验的重要终点, 黏膜愈合可以显著降低住院率、结肠切除术数量、类固醇使用量和临床复发的风险^[50-51]。黏膜愈合需要肠道炎症水平的广泛降低和上皮细胞的增殖和再生, 提高肠道屏障完整性。因此, 在抑制炎症的前提下从促进上皮稳态的角度探索 IBD 的解决方案有望降低疾病的复发率。当前对 IBD 的治疗局限于免疫抑制和缓解症状, 英夫利昔单抗治疗 IBD 仅 45.4%(83/183) 的患者实现黏膜完全愈合^[52], 219 例 CD 患者使用乌司奴单抗治疗至第 48 周时并未能显著改善其内镜评估结果^[53], 因此, 现有治疗方法对促进肠黏膜愈合作用有限。MSCs 能以 VEGF 依赖性方式刺激血管生成, 减少穿透性溃疡形成^[54](图 2-C)。Yang 等^[55]发现诱导多能干细胞来源的 MSCs 通过 TSG-6 以蛋白激酶 B 依赖的方式促进上皮细胞增殖(图 2-D)。Xu 等^[56]发现 MSCs 可通过分泌胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) 促进结肠细胞和类器官的生长和增殖, 从而有利于提高结肠屏障完整性。MSCs-Exos 以 miR-539-5p 依赖性方式抑制脂多糖诱导的肠上皮细胞焦亡, 降低 ROS 和促炎细胞因子水平^[57]。MSC-Exos 上调富含亮氨酸重复序列的 G 蛋白偶联受体 5 (leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 5, Lgr5) 表达, 加速肠上皮的增殖。同时, 在 TNF- α 刺激下, MSC-Exos 赋予肠道类器官更强的生长和增殖能力。对 MSC-Exos 的生物信息学分析表明, 其中丰富的 miRNA 广泛参与了上皮屏障建立过程^[58]。

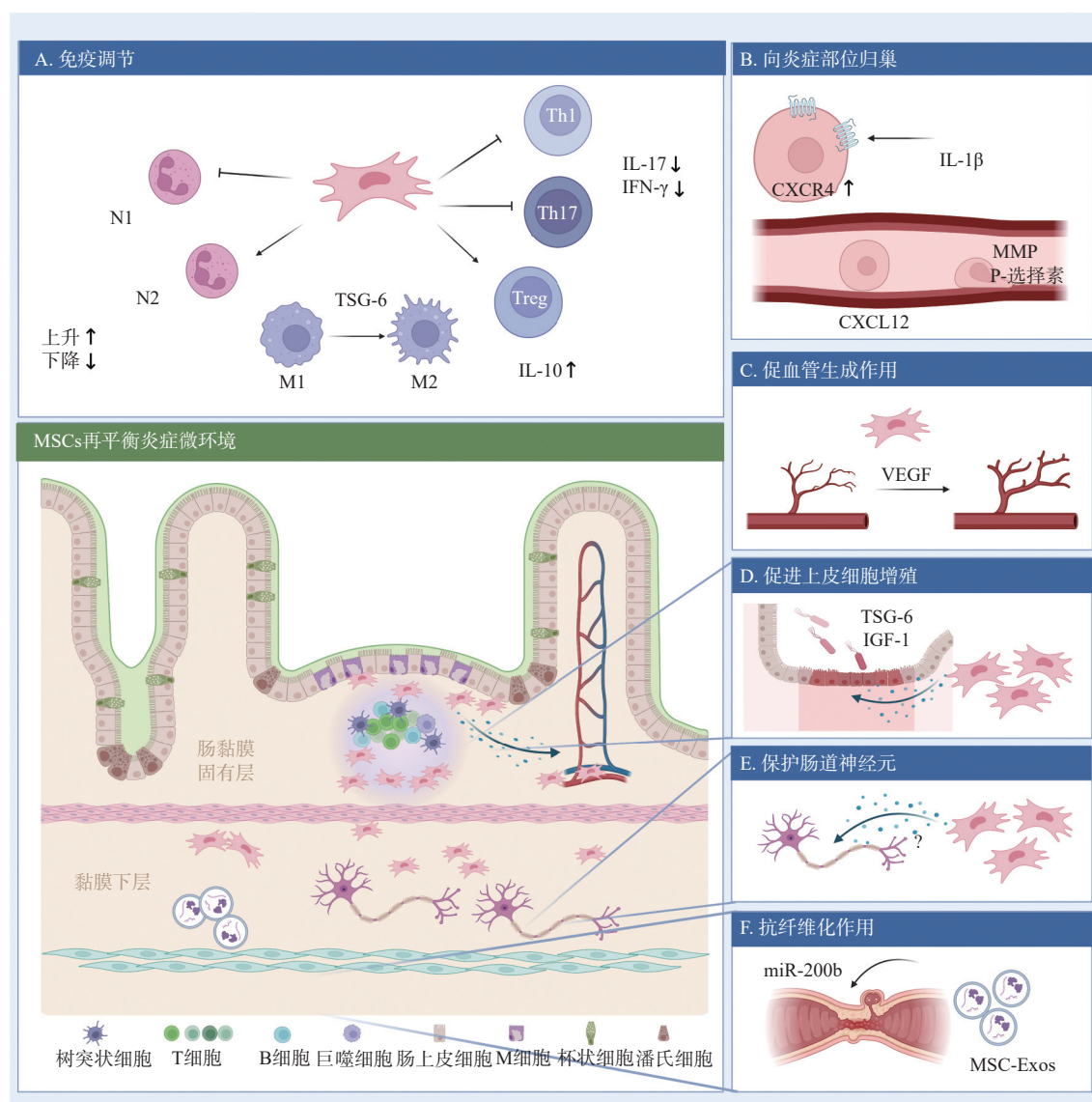


图 2 MSCs 治疗 IBD 的机制和特征

A: MSCs 能与各种免疫细胞如巨噬细胞、T 细胞和中性粒细胞相互作用, 抑制炎症; B: 给药后, MSCs 可以迁移到炎症部位, MSCs 的定向迁移受到多种因子的驱动, 如 MMP、P-选择素和 CXCR4-CXCL12 轴; C: MSCs 分泌 VEGF 促进血管生成; D: 通过分泌 TSG-6 和 IGF-1, MSCs 促进上皮细胞增殖, 增强肠道屏障完整性; E: MSCs 对肠道神经元的保护作用; F: MSC-Exos 含有 miR-200b 能够逆转 IBD 结肠纤维化
TSG-6: 肿瘤坏死因子刺激基因-6; IGF-1: 胰岛素样生长因子-1; MMP: 基质金属蛋白酶; VEGF: 血管内皮生长因子; CXCR: C-X-C 趋化因子受体; CXCL: C-X-C 趋化因子配体; MSC-Exos: 由 MSCs 产生的外泌体(exosomes)

2.4 MSCs 保护肠道神经元

肠道炎症进展时中性粒细胞和巨噬细胞大量浸润, 促进诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)表达, 导致 NO 急剧升高和神经元死亡。在体外, NO 和炎性细胞能选择性地引起轴突损伤和神经元死亡^[59]。炎症期间, P2X7 受体(purinergic receptor P2X7 receptor, P2X7R)、泛连接蛋白-1、ASC 衔接蛋白和 Caspase-1 组成的神经元信号复合体导致肠道神经元死亡^[60], 引发肠功能

障碍。Dong 等^[61]发现内源性 TNF- α 通过 TNFR2 对神经元具有保护作用, 因此抗 TNF- α 疗法不能保护神经元。MSCs 可通过剂量依赖性方式表现出抗炎和神经保护特性, 高于 1×10^6 个的 MSCs 明显降低炎症水平, 表现出神经保护作用^[62]。MSCs 神经保护的确切机制尚不清楚(图 2-E), 但 MSCs 可能不是通过遏制 TNF- α 的下游通路而是通过分泌神经营养因子的旁分泌机制起作用。具体机制还需要进一步研究。

2.5 MSCs 及 MSC-Exos 抵抗纤维化

肠道纤维化通常由慢性炎症驱动, 表现为肌成纤维细胞和胶原蛋白沉积增加导致肠道蠕动性丧失和管腔狭窄, 是 UC 和 CD 的常见并发症。高达 27.1% 的 CD 患者在确诊 10 年后并发肠道狭窄^[63]。UC 长期慢性炎症导致的纤维化是肠道功能受损的原因之一^[64]。回肠 CD 炎性狭窄和纤维性狭窄是肠梗阻的重要诱因^[65], 临床上采用抗炎治疗缓解炎性狭窄, 尚无直接改善和逆转纤维化所致狭窄的药物。MSC-Exos 包含的 miR-200b 可逆转 TGF- β 1 处理的 IEC-6 细胞的形态学改变, 增加 E-钙黏蛋白 (E-cadherin) 表达、降低波形蛋白 (vimentin) 和 α -肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA) 表达, 并在组织学上改善 TNBS 诱导的结肠炎纤维化^[66] (图 2-F)。Ye 等^[67]发现脂肪来源的 MSCs 和犬尿氨酸处理的 MSCs 减少了 TNBS 小鼠结肠胶原沉积。

3 工程化 MSCs 及 MSC-Exos

3.1 工程化 MSCs

对 MSCs 进行适当的基因工程改造、药物装载

和表面修饰可提高其归巢效率、延长作用时间、提升活力和减少不良反应, 推动其更好地向临床转化和应用。MSCs 在过表达趋化因子受体 CXCR4 后, 增加了结肠归巢并减少了小鼠 IBD 相关肿瘤的发生^[68]。研究人员对 MSCs 分别过表达了 CX3CR1 和 CXCR2, 均大大提高了 MSCs 的归巢效率^[69-70]。细胞间黏附分子 1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1) 过表达的 MSCs 相比于初始的 MSCs 增加了 IBD 小鼠结肠和脾脏归巢, 显著减轻 IBD 小鼠的炎症损伤^[71] (图 3-A)。Ye 等^[72]制备了多价 VCAM1 抗体工程化的 MSCs, 发现工程化的 MSCs 对发炎的内皮细胞黏附性增加, 增加了对病变组织的靶向性, 在结肠炎模型小鼠中展现出更好的治疗效果 (图 3-B)。Li 采用聚己内酯纤维片段和 HA 水凝胶偶联合成了复合材料 mfNHC, 该复合材料装载了脂肪来源的 MSCs, 用于治疗 CD 大鼠瘘管。与瘘管模型组相比, mfNHC 负载 MSCs 降低了局部炎症水平并改善组织再生^[73] (图 3-C)。疾病状态、输注后的体内过程与药效三者间的关系是 MSCs 成药转化研究的重要问题^[74], MSCs 的趋化因子受体过表达和多价抗体修饰改善了 MSCs 的迁

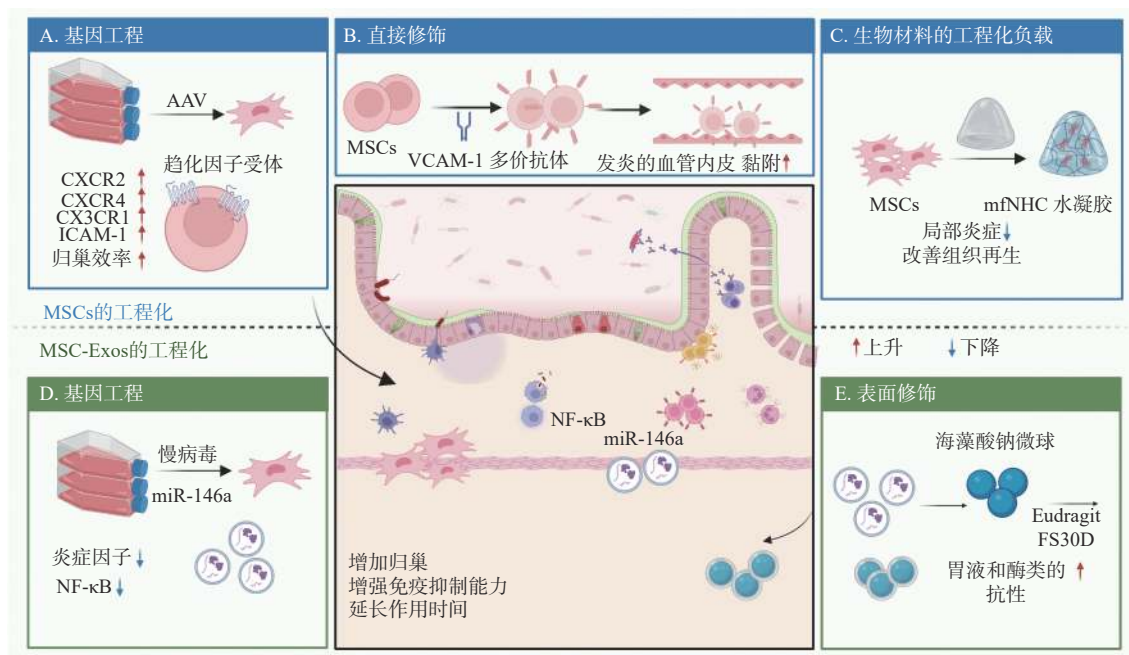


图 3 MSCs 及 MSC-Exos 的工程化

A: 过表达 CXCR2、CXCR4、CX3CR1 和 ICAM-1 的 MSCs 表现出对结肠的增强的定向迁移; B: 多价 VCAM-1 抗体修饰的 MSCs 显示对炎症性内皮细胞的增强黏附, 提高了对炎症部位的归巢; C: 负载于生物材料支架上的 MSCs 减轻局部炎症并促进再生; D: 过表达 miR-146a 的 MSC-Exos 具有更强的抗炎效果; E: MSC-Exos 包裹在海藻酸钠微球中, 微球被明胶层和 pH 敏感的 Eudragit FS30D 丙烯酸树脂壳包裹, 可保护 MSC-Exos 免受降解

AAV: 腺相关病毒; CX3CR: C-X3-C 趋化因子受体; ICAM-1: 细胞间黏附分子-1; VCAM-1: 血管细胞黏附分子-1; NF- κ B: 核因子- κ B

移和组织分布,对 pFCD 可采用适当的生物支架实现 MSCs 对局部瘘管的保留性能。MSCs 及 MSC-Exos 在体内的归巢后的生物活性和清除时间等还不明确,借助生物成像技术例如荧光成像等阐明药物的体内过程,可优化给药方案、增强治疗的靶向性^[75]。工程化 MSCs 能更有效地减少炎症微环境免疫细胞的激活,根据患者具体病情和用药位置(如腔内或瘘管)来设计工程化 MSCs,有望成为 IBD 个体化治疗方案的有力工具。

3.2 工程化 MSC-Exos

Exos 是具有低免疫原性、高靶向性以及良好的生物相容性的仿生纳米制剂,可避免被网状内皮系统清除,在体内血液循环时间更长^[76]。Exos 保留了 MSCs 的复杂生物功能, MSC-Exos 作为优越的治疗性蛋白和核酸药物的靶向递送载体,其工程化为靶向炎症递送和个性化高性能治疗技术提供了可能。对 Exos 的改造包括基因工程、表面修饰等。Wu 等^[77]用慢病毒在 MSCs 中过表达 miR-146a,增加了 miR-146a 在 Exos 中的丰度,比未改造的 Exos 更明显地降低了 DSS 模型小鼠炎症细胞因子水平和 NF- κ B 的激活程度(图 3-D)。Gan 等^[78]将 MSC-Exos 包裹在海藻酸钠微球中,微球包被明胶层,以保护 MSC-Exos 免受胃酸和酶类降解。为了进一步增强微胶囊对胃液的抗性,选择 pH 敏感的丙烯酸树脂 Eudragit FS30D 外壳作为微胶囊的外层(图 3-E)。将 MSC-Exos 微胶囊用于 DSS 模型小鼠,微胶囊能抑制炎症巨噬细胞激活。

MSC-Exos 还可以根据需求设计多样化的制剂形式。口服给药不良反应少,不直接损伤皮肤或黏膜,方便患者使用,因而一般被视为首选的药物给药方式。Deng 等构建了一种逐层自组装系统,用于构建口服靶向结肠的 MSC-Exos(LbL-Exos),可生物降解的 N-(2-羟基)丙基-3-三甲基壳聚糖氯化铵(HTCC)和氧化魔芋葡甘露聚糖(OKGM)被用作外层以靶向结肠并保护 Exos 免于降解。LbL-Exos 在组织中受控释放。与静脉给药相比,口服 LbL-Exos 可有效缓解炎症并减少 MSC-Exos 使用的数量。机制研究表明,LbL-Exos 被巨噬细胞和肠上皮细胞内化,发挥抗炎和组织修复作用^[79],多样化的给药途径有助于优化基于 MSC-Exos 的治疗。

在 MSCs 制剂的实际开发中, MSCs 活细胞旁分泌能力可能受传代次数、培养条件等多种因素影

响^[80-81]。为保证产品符合《药品生产质量管理规范》和提高产量,可采用悬浮细胞 3D 培养结合切向流过滤分离 Exos^[82]。国际细胞外囊泡研究协会对 Exos 的培养、收获时间、表征、分析研究和基于 MSC-Exos 的药物开发提供了指南^[83]。

4 总结与展望

当前,干细胞及其衍生产品的药物研发已成为全球最具发展潜力、最具临床转化价值的前沿领域之一。MSCs 及其 Exos 作为集智能靶向递送、多途径抗炎抗纤维化、修复黏膜屏障和神经保护等功能于一体的细胞药物将为 IBD 的临床治疗带来变革,有望为抗 TNF- α 药物等治疗无效的重度难治性 IBD 患者以及 CD 并发肛周瘘管的患者提供新的有效治疗手段。

尽管基础科研在 MSCs 的生物学特性、分泌组、免疫调节及细胞间相互作用等方面已取得很多重大突破,但由于疾病状态下 MSCs 的可塑性以及 MSCs 与免疫细胞通讯的复杂性和多样性的存在, MSCs 在不同疾病状态下发挥作用的机制还不能清晰地阐明。MSCs 输注后在体的活性、增殖分化能力、归巢行为、活性因子和代谢物释放的时空特征以及机体细胞交互调控等依然存在大量未解决的问题。时空细胞药代动力学、新型的体内生物成像示踪技术、高维流式、空间组学等将为未来探讨 MSCs 作用规律提供新的技术方法。越来越多的研究者正在设计下一代 MSCs 及其工程化的产品,以研发出更安全、更精准、更智能的 MSCs 及 MSC-Exos 治疗产品。随着 MSCs 和 MSC-Exos 作用机制的深入研究及其工程化改造进展,可能会带来创新机制的 MSCs 药物发现,改变未来结肠炎的治疗方式。

References

- [1] Targan SR, Hanauer SB, van Deventer SJ, *et al.* A short-term study of chimeric monoclonal antibody CA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's Disease CA2 Study Group[J]. *N Engl J Med*, 1997, 337(15): 1029-1035.
- [2] Ward D, Nyboe Andersen N, Gørtz S, *et al.* Tumor necrosis factor inhibitors in inflammatory bowel disease and risk of immune mediated inflammatory diseases[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2024, 22(1): 135-143. e8.
- [3] Beaugerie L, Rahier JF, Kirchgesner J. Predicting, preventing, and managing treatment-related complications in patients with

- inflammatory bowel diseases[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2020, 18(6): 1324-1335. e2.
- [4] Click B, Regueiro M. A practical guide to the safety and monitoring of new IBD therapies[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2019, 25(5): 831-842.
- [5] le Blanc K, Frasson F, Ball L, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study[J]. *Lancet*, 2008, 371(9624): 1579-1586.
- [6] Álvaro-Gracia JM, Jover JA, García-Vicuña R, et al. Intravenous administration of expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells in refractory rheumatoid arthritis (Cx611): results of a multicentre, dose escalation, randomised, single-blind, placebo-controlled phase Ib/IIa clinical trial[J]. *Ann Rheum Dis*, 2017, 76(1): 196-202.
- [7] Wu K, Liang J, Ran Z, et al. Chinese consensus on diagnosis and treatment of inflammatory bowel disease (Beijing, 2018)[J]. *Chin J Pract Intern Med*(中国实用内科杂志), 2018, 38(9): 796-813.
- [8] Fumery M, Singh S, Dulai PS, et al. Natural history of adult ulcerative colitis in population-based cohorts: a systematic review[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2018, 16(3): 343-356. e3.
- [9] Sutherland L, MacDonald JK. Oral 5-aminosalicylic acid for induction of remission in ulcerative colitis[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2006(2): CD000543.
- [10] Ardiszone S, Bollani S, Manzionna G, et al. Comparison between methotrexate and azathioprine in the treatment of chronic active Crohn's disease: a randomised, investigator-blind study[J]. *Dig Liver Dis*, 2003, 35(9): 619-627.
- [11] Cassinotti A, Corona A, Duca P, et al. Noninvasive monitoring after azathioprine withdrawal in patients with inflammatory bowel disease in deep remission[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2021, 19(11): 2293-2301. e1.
- [12] Wylezinski LS, Gray JD, Polk JB, et al. Illuminating an invisible epidemic: a systemic review of the clinical and economic benefits of early diagnosis and treatment in inflammatory disease and related syndromes[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(4): 493.
- [13] Parigi TL, D'Amico F, Abreu MT, et al. Difficult-to-treat inflammatory bowel disease: results from an international consensus meeting[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2023, 8(9): 853-859.
- [14] Liu JZ, van Sommeren S, Huang HL, et al. Association analyses identify 38 susceptibility loci for inflammatory bowel disease and highlight shared genetic risk across populations[J]. *Nat Genet*, 2015, 47(9): 979-986.
- [15] Ye ZQ, Qian L, Hu WH, et al. Clinical outcome of infantile-onset inflammatory bowel disease in 102 patients with interleukin-10 signalling deficiency[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2022, 55(11): 1414-1422.
- [16] Moltzau Anderson J, Lipinski S, Sommer F, et al. NOD2 influences trajectories of intestinal microbiota recovery after antibiotic perturbation[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2020, 10(2): 365-389.
- [17] Strigli A, Gopalakrishnan S, Zeissig Y, et al. Deficiency in X-linked inhibitor of apoptosis protein promotes susceptibility to microbial triggers of intestinal inflammation[J]. *Sci Immunol*, 2021, 6(65): eabf7473.
- [18] Baumgart DC, Le Berre C. Newer biologic and small-molecule therapies for inflammatory bowel disease[J]. *N Engl J Med*, 2021, 385(14): 1302-1315.
- [19] Hawkey CJ, Allez M, Clark MM, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation for refractory Crohn's disease: a randomized clinical trial[J]. *JAMA*, 2015, 314(23): 2524-2534.
- [20] Lindsay JO, Allez M, Clark M, et al. Autologous stem-cell transplantation in treatment-refractory Crohn's disease: an analysis of pooled data from the ASTIC trial[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2017, 2(6): 399-406.
- [21] Lightner AL, Dadgar N, Matyas C, et al. A phase IB/IIA study of remestemcel-L, an allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cell product, for the treatment of medically refractory ulcerative colitis: an interim analysis[J]. *Colorectal Dis*, 2022, 24(11): 1358-1370.
- [22] Grégoire C, Lechanteur C, Briquet A, et al. Review article: mesenchymal stromal cell therapy for inflammatory bowel diseases[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2017, 45(2): 205-221.
- [23] Forbes GM, Sturm MJ, Leong RW, et al. A phase 2 study of allogeneic mesenchymal stromal cells for luminal Crohn's disease refractory to biologic therapy[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2014, 12(1): 64-71.
- [24] Martin JC, Chang C, Boschetti G, et al. Single-cell analysis of Crohn's disease lesions identifies a pathogenic cellular module associated with resistance to anti-TNF therapy[J]. *Cell*, 2019, 178(6): 1493-1508. e20.
- [25] Friedrich M, Pohin M, Jackson MA, et al. IL-1-driven stromal-neutrophil interactions define a subset of patients with inflammatory bowel disease that does not respond to therapies[J]. *Nat Med*, 2021, 27(11): 1970-1981.
- [26] West NR, Hegazy AN, Owens BMJ, et al. Oncostatin M drives intestinal inflammation and predicts response to tumor necrosis factor-neutralizing therapy in patients with inflammatory bowel disease[J]. *Nat Med*, 2017, 23(5): 579-589.
- [27] Xu CC, Feng C, Huang PQ, et al. TNF- α and IFN- γ rapidly activate PI3K-AKT signaling to drive glycolysis that confers mesenchymal stem cells enhanced anti-inflammatory property[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 491.
- [28] Song WJ, Li Q, Ryu MO, et al. TSG-6 released from intraperitoneally injected canine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells ameliorate inflammatory bowel disease by inducing

- M2 macrophage switch in mice[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 91.
- [29] Qi LL, Wu J, Zhu S, *et al*. Mesenchymal stem cells alleviate inflammatory bowel disease via Tr1 cells[J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2022, 18(7): 2444-2457.
- [30] Akiyama K, Chen C, Wang DD, *et al*. Mesenchymal-stem-cell-induced immunoregulation involves FAS-ligand-/ FAS-mediated T cell apoptosis[J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 10(5): 544-555.
- [31] Schwartz DA, Loftus EV Jr, Tremaine WJ, *et al*. The natural history of fistulizing Crohn's disease in Olmsted County, Minnesota[J]. *Gastroenterology*, 2002, 122(4): 875-880.
- [32] Bouguen G, Siproudhis L, Gizard E, *et al*. Long-term outcome of perianal fistulizing Crohn's disease treated with infliximab[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2013, 11(8): 975-981. e1-4.
- [33] Reenaers C, Gillard RP, Coimbra C, *et al*. Clinical and MRI evolution after local injection of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in perianal fistulae in Crohn's disease: results from a prospective monocentric study[J]. *J Crohns Colitis*, 2023, 17(5): 728-737.
- [34] Panés J, García-Olmo D, van Assche G, *et al*. Expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells (Cx601) for complex perianal fistulas in Crohn's disease: a phase 3 randomised, double-blind controlled trial[J]. *Lancet*, 2016, 388(10051): 1281-1290.
- [35] Ciccocioppo R, Bernardo ME, Sgarella A, *et al*. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in the treatment of fistulising Crohn's disease[J]. *Gut*, 2011, 60(6): 788-798.
- [36] Cho YB, Park KJ, Yoon SN, *et al*. Long-term results of adipose-derived stem cell therapy for the treatment of Crohn's fistula[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4(5): 532-537.
- [37] Bataille F, Klebl F, Rümmele P, *et al*. Morphological characterisation of Crohn's disease fistulae[J]. *Gut*, 2004, 53(9): 1314-1321.
- [38] Alexander M, Ang QY, Nayak RR, *et al*. Human Gut bacterial metabolism drives Th17 activation and colitis[J]. *Cell Host Microbe*, 2022, 30(1): 17-30. e9.
- [39] Barnhoorn MC, van der Meulen-de Jong AE, Schrama ECLM, *et al*. Cytokine mixtures mimicking the local milieu in patients with inflammatory bowel disease impact phenotype and function of mesenchymal stromal cells[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2022, 11(9): 932-945.
- [40] Li Y, Altemus J, Lightner AL. Mesenchymal stem cells and acellular products attenuate murine induced colitis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 515.
- [41] Wang GY, Joel MDM, Yuan JT, *et al*. Human umbilical cord mesenchymal stem cells alleviate inflammatory bowel disease by inhibiting ERK phosphorylation in neutrophils[J]. *Inflammopharmacology*, 2020, 28(2): 603-616.
- [42] Kim HS, Shin TH, Lee BC, *et al*. Human umbilical cord blood mesenchymal stem cells reduce colitis in mice by activating NOD2 signaling to COX2[J]. *Gastroenterology*, 2013, 145(6): 1392-1403. e1-8.
- [43] Mei HF, Sun LX, Jiang ZZ, *et al*. Sphingosine 1-phosphate signaling pathway: a novel target for regulation of epithelial and endothelial barrier function[J]. *J China Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2016, 47(6): 654-660.
- [44] Yousefi-Ahmadipour A, Rashidian A, Mirzaei MR, *et al*. Combination therapy of mesenchymal stromal cells and sulfasalazine attenuates trinitrobenzene sulfonic acid induced colitis in the rat: the S1P pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(7): 11078-11091.
- [45] Tian J, Zhu QG, Zhang YD, *et al*. Olfactory ecto-mesenchymal stem cell-derived exosomes ameliorate experimental colitis via modulating Th1/Th17 and Treg cell responses[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 598322.
- [46] Webb TL, Webb CB. Comparing adipose-derived mesenchymal stem cells with prednisolone for the treatment of feline inflammatory bowel disease[J]. *J Feline Med Surg*, 2022, 24(8): e244-e250.
- [47] Freitas Alves VBF, de Sousa BC, Fonseca MTC, *et al*. A single administration of human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells (MSC) induces durable and sustained long-term regulation of inflammatory response in experimental colitis[J]. *Clin Exp Immunol*, 2019, 196(2): 139-154.
- [48] Fan HY, Zhao GF, Liu L, *et al*. Pre-treatment with IL-1 β enhances the efficacy of MSC transplantation in DSS-induced colitis[J]. *Cell Mol Immunol*, 2012, 9(6): 473-481.
- [49] Duijvestein M, Wildenberg ME, Welling MM, *et al*. Pretreatment with interferon- γ enhances the therapeutic activity of mesenchymal stromal cells in animal models of colitis[J]. *Stem Cells*, 2011, 29(10): 1549-1558.
- [50] Takenaka K, Ohtsuka K, Fujii T, *et al*. Deep neural network accurately predicts prognosis of ulcerative colitis using endoscopic images[J]. *Gastroenterology*, 2021, 160(6): 2175-2177. e3.
- [51] Fernandes SR, Serrazina J, Botto IA, *et al*. Transmural remission improves clinical outcomes up to 5 years in Crohn's disease[J]. *United European Gastroenterol J*, 2023, 11(1): 51-59.
- [52] Schnitzler F, Fidler H, Ferrante M, *et al*. Mucosal healing predicts long-term outcome of maintenance therapy with infliximab in Crohn's disease[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2009, 15(9): 1295-1301.
- [53] Danese S, Vermeire S, D'Haens G, *et al*. Treat to target versus standard of care for patients with Crohn's disease treated with ustekinumab (STARDUST): an open-label, multicentre, randomised phase 3b trial[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2022, 7(4): 294-306.
- [54] Manieri NA, Mack MR, Himmelrich MD, *et al*. Mucosally

- transplanted mesenchymal stem cells stimulate intestinal healing by promoting angiogenesis[J]. *J Clin Invest*, 2015, **125**(9): 3606-3618.
- [55] Yang HS, Feng R, Fu QL, *et al*. Human induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells promote healing via TNF- α -stimulated gene-6 in inflammatory bowel disease models[J]. *Cell Death Dis*, 2019, **10**(10): 718.
- [56] Xu J, Wang XF, Chen JY, *et al*. Embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells promote colon epithelial integrity and regeneration by elevating circulating IGF-1 in colitis mice[J]. *Theranostics*, 2020, **10**(26): 12204-12222.
- [57] Wang DD, Xue H, Tan JF, *et al*. Bone marrow mesenchymal stem cells-derived exosomes containing miR-539-5p inhibit pyroptosis through NLRP3/caspase-1 signalling to alleviate inflammatory bowel disease[J]. *Inflamm Res*, 2022, **71**(7/8): 833-846.
- [58] Liang XN, Li CY, Song J, *et al*. HucMSC-exo promote mucosal healing in experimental colitis by accelerating intestinal stem cells and epithelium regeneration via Wnt signaling pathway[J]. *Int J Nanomedicine*, 2023, **18**: 2799-2818.
- [59] Venkataramana S, Lourenssen S, Miller KG, *et al*. Early inflammatory damage to intestinal neurons occurs via inducible nitric oxide synthase[J]. *Neurobiol Dis*, 2015, **75**: 40-52.
- [60] Gulbransen BD, Bashashati M, Hirota SA, *et al*. Activation of neuronal P2X7 receptor-pannexin-1 mediates death of enteric neurons during colitis[J]. *Nat Med*, 2012, **18**(4): 600-604.
- [61] Dong Y, Fischer R, Naudé PJ, *et al*. Essential protective role of tumor necrosis factor receptor 2 in neurodegeneration[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, **113**(43): 12304-12309.
- [62] Robinson AM, Rahman AA, Miller S, *et al*. The neuroprotective effects of human bone marrow mesenchymal stem cells are dose-dependent in TNBS colitis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, **8**(1): 87.
- [63] Louis E, Collard A, Oger AF, *et al*. Behaviour of Crohn's disease according to the Vienna classification: changing pattern over the course of the disease[J]. *Gut*, 2001, **49**(6): 777-782.
- [64] de Bruyn JR, Meijer SL, Wildenberg ME, *et al*. Development of fibrosis in acute and longstanding ulcerative colitis[J]. *J Crohns Colitis*, 2015, **9**(11): 966-972.
- [65] D'Alessio S, Ungaro F, Noviello D, *et al*. Revisiting fibrosis in inflammatory bowel disease: the Gut thickens[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2022, **19**(3): 169-184.
- [66] Yang J, Zhou CZ, Zhu R, *et al*. MiR-200b-containing microvesicles attenuate experimental colitis associated intestinal fibrosis by inhibiting epithelial-mesenchymal transition[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2017, **32**(12): 1966-1974.
- [67] Ye YX, Zhang XM, Su DS, *et al*. Therapeutic efficacy of human adipose mesenchymal stem cells in Crohn's colon fibrosis is improved by IFN- γ and kynurenic acid priming through indoleamine 2, 3-dioxygenase-1 signaling[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, **13**(1): 465.
- [68] Zheng XB, He XW, Zhang LJ, *et al*. Bone marrow-derived CXCR4-overexpressing MSCs display increased homing to intestine and ameliorate colitis-associated tumorigenesis in mice[J]. *Gastroenterol Rep*, 2019, **7**(2): 127-138.
- [69] Fu Y, Ni JJ, Chen JH, *et al*. Dual-functionalized MSCs that express CX3CR1 and IL-25 exhibit enhanced therapeutic effects on inflammatory bowel disease[J]. *Mol Ther*, 2020, **28**(4): 1214-1228.
- [70] Li QJ, Lian YF, Deng YW, *et al*. mRNA-engineered mesenchymal stromal cells expressing CXCR2 enhances cell migration and improves recovery in IBD[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, **26**: 222-236.
- [71] Li X, Wang Q, Ding L, *et al*. Intercellular adhesion molecule-1 enhances the therapeutic effects of MSCs in a dextran sulfate sodium-induced colitis models by promoting MSCs homing to murine colons and spleens[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, **10**(1): 267.
- [72] Ye TH, Liu X, Zhong XH, *et al*. Nongenetic surface engineering of mesenchymal stromal cells with polyvalent antibodies to enhance targeting efficiency[J]. *Nat Commun*, 2023, **14**(1): 5806.
- [73] Li L, Yao ZC, Parian A, *et al*. A nanofiber-hydrogel composite improves tissue repair in a rat model of Crohn's disease perianal fistulas[J]. *Sci Adv*, 2023, **9**(1): eade1067.
- [74] Wei M, Dang Y, Pu Z, *et al*. Pharmacokinetics and druggability evaluation of mesenchymal stem cells[J]. *Drug Eval Res (药物评价研究)*, 2023, **46**(7): 1587-1594.
- [75] Wei N, Wang G, Zhang J. Advances in research on visualization of living cell drugs *in vivo*[J]. *J China Pharm Univ(中国药科大学学报)*, 2022, **53**(2): 156-163.
- [76] Zhang Q, Luo X, Bao Y, *et al*. Research progress in biomimetic nano formulations of biofilms[J]. *J China Pharm Univ(中国药科大学学报)*, 2023, **54**(5): 544-552.
- [77] Wu H, Fan H, Shou ZX, *et al*. Extracellular vesicles containing miR-146a attenuate experimental colitis by targeting TRAF6 and IRAK1[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, **68**: 204-212.
- [78] Gan JJ, Sun LY, Chen GP, *et al*. Mesenchymal stem cell exosomes encapsulated oral microcapsules for acute colitis treatment[J]. *Adv Healthc Mater*, 2022, **11**(17): e2201105.
- [79] Deng C, Hu YW, Conceição M, *et al*. Oral delivery of layer-by-layer coated exosomes for colitis therapy[J]. *J Control Release*, 2023, **354**: 635-650.
- [80] Haneef K, Salim A, Hashim Z, *et al*. Chemical hypoxic preconditioning improves survival and proliferation of mesenchymal stem cells[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2023. doi: 10.1007/s12010-023-04743-z.
- [81] Jin LH, Lu N, Zhang WX, *et al*. Altered properties of human adipose-derived mesenchymal stromal cell during continuous in

- vitro* cultivation[J]. *Cytotechnology*, 2021, 73(4): 657-667.
- [82] Haraszti RA, Miller R, Stoppato M, *et al.* Exosomes produced from 3D cultures of MSCs by tangential flow filtration show higher yield and improved activity[J]. *Mol Ther*, 2018, 26(12): 2838-2847.
- [83] Théry C, Witwer KW, Aikawa E, *et al.* Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines[J]. *J Extracell Vesicles*, 2018, 7(1): 1535750.



[专家介绍] 王广基, 教授, 中国工程院院士, 曾任中国药科大学副校长, 现任中国药科大学学术委员会主席, 江苏省科学技术协会副主席, 江苏省药物代谢动力学重点实验室主任, 国家中医药管理局中药复方药代动力学重点实验室主任, 教育部药物代谢动力学博士学位授权点学科带头人(全国唯一)。兼任中国药理学会制药工业专业委员会主任委员, 江苏省药学会理事长。第十一、十二届全国人大代表。致力于药物代谢动力学的教学和研究工作, 荣获国家科学技术进步二等奖 4 项、省部级科技进步奖一等奖 4 项; 获 2012 年何梁何利基金科学与技术进步奖。



[专家介绍] 周芳, 中国药科大学药物代谢动力学重点实验室研究员, 博士生导师。教育部新世纪优秀人才, 全国创新争先团队核心成员, 江苏省 333 工程人才, 江苏省青年科技奖获得者。长期致力于“细胞药代动力学新技术及新模型在创新药物研发和临床用药中的应用”研究, 获 2017 年江苏省科技进步奖一等奖(排 2), 揭示了药物在微观细胞/亚细胞层面的命运, 为创新药物研发和临床合理用药做出较大的推动作用。获省部级以上科技奖励 4 项; 主持重大新药创制专项 2 项、国家自然科学基金 5 项, 参与重大项目十多项。以第一/通信作者在 *Acta Pharm Sin B*、*J Control Release*、*J Exp Clin Cancer Res*、*Br J Pharmacol* 等药理学领域权威期刊发表 SCI 论文 47 篇; 申请发明专利 7 项, 授权 5 项; 获软件著作权 2 项。