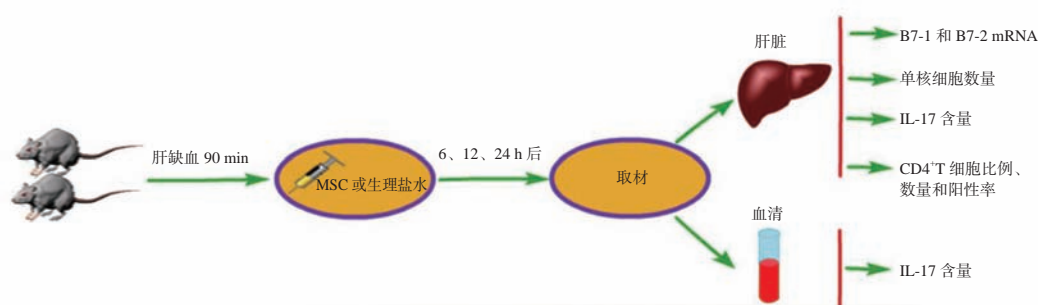


· 实验研究 ·

人脐带间充质干细胞对小鼠肝缺血-再灌注损伤后肝内CD4⁺T细胞的影响

周朝荣 吕海金 孙瑶 安玉玲 范明明 易慧敏

结构式摘要



【摘要】 目的 探讨人脐带间充质干细胞（HUC-MSCs）对小鼠肝缺血-再灌注损伤（HIRI）后肝内CD4⁺T细胞的影响。方法 将225只小鼠随机分为sham组、control组和MSC组，每组75只。其中MSC组和control组均为HIRI模型小鼠，MSC组通过下腔静脉注射HUC-MSCs，control组通过下腔静脉注射生理盐水，sham组仅进行开腹、关腹等操作，不行血管夹闭。分别于术后6、12、24 h，每组随机取15只小鼠，用于眼球取血法采血及取肝组织样本，每组剩下的30只小鼠用于肝内单核细胞的提取。比较各组小鼠不同时间点肝内单核细胞数量，CD4⁺T细胞比例、数量和阳性率；比较各组小鼠不同时间点血清和肝组织中白细胞介素（IL）-17含量，及肝组织内共刺激分子B7-1和B7-2信使核糖核酸（mRNA）表达水平。结果 术后12、24 h，control组的肝内单核细胞数量明显高于sham组，而MSC组的肝内单核细胞数量明显低于control组（ $P<0.01\sim 0.05$ ）。术后6、12、24 h，control组的CD4⁺T细胞比例、数量及阳性率均明显高于sham组（均为 $P<0.01$ ），MSC组的CD4⁺T细胞比例明显低于control组（ $P<0.01\sim 0.05$ ）；术后12、24 h，MSC组的CD4⁺T细胞数量和阳性率均明显低于control组（ $P<0.01\sim 0.05$ ）。术后6、12、24 h，control组血清和肝组织中的IL-17含量均高于sham组（均为 $P<0.01$ ），而MSC组血清和肝组织中的IL-17含量均低于control组（均为 $P<0.01$ ）。术后6 h，control组B7-2的mRNA表达水平高于sham组（ $P<0.05$ ）；术后12、24 h，control组B7-1和B7-2的mRNA表达水平均高于sham组（均为 $P<0.01$ ），而MSC组B7-1和B7-2的mRNA表达水平均低于control组（均为 $P<0.01$ ）。结论 HUC-MSCs抑制HIRI后肝内CD4⁺T细胞的数量和IL-17的分泌，同时减少肝内单核细胞数量及B7-1和B7-2 mRNA表达，减轻HIRI。

【关键词】 间充质干细胞，人脐带；缺血-再灌注损伤，肝脏；CD4⁺T细胞；白细胞介素（IL）-17；单核细胞；共刺激分子；流式细胞术；聚合酶链反应

【中图分类号】 R617 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445（2018）02-0003-07

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2018.02.003

基金项目：广东省科技计划项目（2014A020211010）

作者单位：510630 广州，中山大学附属第三医院外科重症监护室

作者简介：周朝荣，男，1989年生，硕士研究生，研究方向为干细胞治疗，Email: zhouchr3@hotmail.com

通讯作者：易慧敏，女，1975年生，博士，主任医师，研究方向为干细胞治疗，Email: ylhmin@hotmail.com

Effect of human umbilical cord mesenchymal stem cells on CD4⁺ T cells in liver after hepatic ischemia-reperfusion injury in mice
Zhou Chaorong, Lyu Haijin, Sun Yao, An Yuling, Fan Mingming, Yi Huimin. *Surgical Intensive Care Unit, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China*

Corresponding author: Yi Huimin, Email: ylhmin@hotmail.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of human umbilical cord mesenchymal stem cells (HUC-MSCs) on CD4⁺ T cells in liver after hepatic ischemia-reperfusion injury (HIRI) in mice. **Methods** Two hundred and twenty-five mice were randomly divided into sham group, control group and MSC group, with 75 mice in each group. HIRI model mice were used in MSC group and control group. HUC-MSCs were injected in MSC group through inferior vena cava. Normal saline was injected in control group through inferior vena cava. Only laparotomy and abdominal closure were performed in sham group without blood vessel clipping. At 6, 12 and 24 h after operation, 15 mice of each group were randomly selected to sample eyeball blood and liver tissues, and the 30 mice left in each group were used to extract intrahepatic mononuclear cells. The number of intrahepatic mononuclear cells, percentage, number and positive rate of CD4⁺ T cells in the mice of various groups at different time points were compared. The content of interleukin (IL)-17 in serum and liver tissue as well as expression levels of costimulatory molecules B7-1 and B7-2 messenger RNA (mRNA) in liver tissues of the mice at different time points were compared. **Results** At 12 and 24 h after operation, the number of intrahepatic mononuclear cells of control group was significantly higher than that of sham group, while the number of intrahepatic mononuclear cells of MSC group was significantly lower than that of control group ($P<0.01-0.05$). At 6, 12 and 24 h after operation, the percentage, number and positive rate of CD4⁺T cells of control group were significantly higher than those of sham group (all $P<0.01$), while the percentage of CD4⁺T cells of MSC group was significantly lower than that of control group ($P<0.01-0.05$). At 12 and 24 h after operation, the number and positive rate of CD4⁺ T cells of MSC group were significantly lower than those of control group ($P<0.01-0.05$). At 6, 12 and 24 h after operation, the IL-17 contents in serum and liver tissues of control group were higher than those of sham group (all $P<0.01$), while the IL-17 contents in serum and liver tissues of MSC group were lower than those of control group (all $P<0.01$). At 6 h after operation, the mRNA expression level of B7-2 of control group was higher than that of sham group ($P<0.05$). At 12 and 24 h after operation, the mRNA expression levels of B7-1 and B7-2 of control group were higher than those of sham group (all $P<0.01$), while the mRNA expression levels of B7-1 and B7-2 of MSC group were lower than those of control group (all $P<0.01$). **Conclusions** HUC-MSCs inhibits the number of CD4⁺T cells and the secretion of IL-17 in liver after HIRI, as well as decreases the number of intrahepatic mononuclear cells and the mRNA expression of B7-1 and B7-2, thereby alleviating HIRI.

【Key words】 Mesenchymal stem cells, human umbilical cord; Ischemia-reperfusion injury, hepatic; CD4⁺ T cell; Interleukin(IL)-17; Mononuclear cell; Costimulatory molecule; Flow cytometry; Polymerase chain reaction

肝缺血 - 再灌注损伤 (hepatic IRI, HIRI) 是肝脏外伤性外科手术、肝移植、肝切除等肝胆手术中经常遇到的病理生理过程。缺血 - 再灌注介导的组织损伤机制相当复杂, 但主要由缺血缺氧细胞应激和炎症介导的再灌注损伤两阶段相结合, 其中氧自由基造成局部组织循环启动障碍, 伴随着免疫介导的炎症级联放大, 最终导致肝脏损伤^[1]。目前许多研究表明, 活化的 CD4⁺ T 细胞在促进 HIRI 性炎症及肝细胞损伤中发挥重要作用^[2-4]。Caldwell 等^[3] 的研究提示 HIRI 后 CD4⁺ T 细胞被招募至肝脏, 激活及产生一些炎症因子, 如白细胞介素 (IL) -17, 其可以调节中性粒细胞趋化

因子 -2 的产生及促使中性粒细胞的聚集, 加重肝脏的炎症损伤, 而敲除 CD4⁺ T 细胞的小鼠或应用抗体去除小鼠体内 CD4⁺ T 细胞或应用中和抗体中和小鼠体内 IL-17, 则 HIRI 明显减轻, 这些研究均表明 CD4⁺ T 细胞在促进 HIRI 中起关键性作用。但对于 HIRI 的治疗, 目前尚缺有效的治疗手段^[5]。近几年来, 许多研究证实间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 对 HIRI 具有治疗作用^[6-7], 至于 MSC 治疗 HIRI 的相关机制, 目前仍未完全阐明, MSC 对 HIRI 后肝内 CD4⁺ T 细胞的影响, 笔者亦尚未见相关研究。为此, 本研究探讨人脐带间充质干细胞 (human umbilical

cord mesenchymal stem cells, HUC-MSCs) 对小鼠 HIRI 后肝内 CD4⁺ T 细胞影响, 为临床治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 主要实验仪器与实验动物

主要仪器包括: 普通光学显微镜(日本 Nikon 公司)、冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司)、培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)、流式细胞仪(美国 BD 公司)、紫外分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)、细胞计数仪(美国 Nexcelom 公司)。

主要实验动物包括: 第 3~5 代 HUC-MSCs 由中山大学附属第三医院岭南医院生物治疗中心提供; 雄性小鼠 C57BL/6 小鼠 225 只, 周龄 8~10 周, 由南方医科大学实验动物中心提供。

1.2 实验方法

1.2.1 人脐带间充质干细胞的培养 第 3~5 代 HUC-MSCs 用含有 4 ng/mL 碱性纤维母细胞生长因子(美国 Sigma 公司)、10% 胎牛血清(德国 PAN-Biotech 公司)的低糖 DMEM(美国 Gibco 公司)完全培养基培养; 对 HUC-MSCs 的表面标志物进行流式鉴定, 结果符合 HUC-MSCs 特有的表型表达情况。

1.2.2 肝缺血-再灌注损伤模型构建 小鼠 HIRI 模型构建参考 Uchida 等^[8]的操作方式, 用显微动脉血管夹夹闭肝左、肝中叶脉管的共干, 使肝左叶及肝中叶缺血, 实现 70% 的肝组织缺血, 90 min 后, 松开血管夹, 使得缺血肝叶恢复血流灌注, 然后根据分组进行下腔静脉缓慢注射 100 μ L 含有 1×10^6 个 HUC-MSCs 的生理盐水或生理盐水, 随后关腹。

1.2.3 分组与取材 225 只小鼠随机分为 sham 组、control 组和 MSC 组, 每组 75 只; 其中 MSC 组和 control 组均为 HIRI 模型小鼠, MSC 组通过下腔静脉注射 HUC-MSCs, control 组通过下腔静脉注射生理盐水, sham 组仅进行开腹、关腹等操作, 不行血管夹闭。分别于术后 6、12、24 h, 每组随机取 15 只小鼠, 用于眼球取血法采血及取肝组织样本, 每组剩下的 30 只小鼠用于肝内单核细胞的提取。

1.2.4 肝内单核细胞的提取与计数 采用胶原酶 H(瑞士 Roche 公司)消化肝组织, 手术镊扯碎, 经 75 μ M 直径滤网过滤; 分散的肝细胞悬浮液转移到 50 mL 锥形离心管, 按鼠和小型哺乳动物淋巴细胞分离液试剂盒(美国 Sigma 公司, 型号 histopaque-1083)的说明书操作, 收集中间层的白膜即肝内单核细胞,

磷酸盐缓冲液(PBS)重悬细胞。采用细胞计数仪计数每个样本中肝内单核细胞的数量。

1.2.5 流式细胞术分析 CD4⁺ T 细胞的比例和数量 采用别藻蓝蛋白(allophycocyanin, APC)标记的 CD3 单克隆抗体(CD3-APC)和多甲藻黄素-叶绿素-蛋白质复合物(peridinin-chlorophyll-protein complex, PerCP)标记的 CD4 单克隆抗体(CD4-PerCP, 美国 eBioscience 公司)标记每个样本肝内单核细胞中 CD4⁺ T 细胞, 采用流式细胞仪检测其比例及数量。

1.2.6 免疫组织化学法分析 CD4⁺ T 细胞的阳性率 为了进一步证实 MSC 能有效地抑制 HIRI 后 CD4⁺ T 细胞在肝脏中的数量, 采用免疫组织化学(免疫组化)法检测肝组织切片中 CD4⁺ T 细胞的阳性率。肝组织采用石蜡切片, 一抗采用抗小鼠 CD4 多克隆抗体(1:100 稀释, 美国 BD 公司), 亲和素-生物素-过氧化物酶复合物(avidin-biotin-peroxidase complex, ABC)法染色后封片, 在光学显微镜下观察切片 10 个不重叠视野, 计算每个视野阳性细胞率。

1.2.7 小鼠血清和肝组织中炎症因子的检测 小鼠全血 $12\ 000 \times g$, 4 $^{\circ}$ C 离心 10 min 后取血清, 肝组织匀浆, 按照酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(美国 BD 公司)说明书, 检测血清和肝组织中炎症因子 IL-17 含量。

1.2.8 实时定量聚合酶链反应检测小鼠肝内 B7-1 和 B7-2 信使核糖核酸表达水平 利用 Trizol 法提取各组肝组织样本的总 RNA, 紫外分光光度计测定 RNA 含量, 采用 TaqMan 逆转录试剂盒, 将 RNA 反转录成互补脱氧核糖核酸(cDNA), 取反转录产物采用 Power SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒进行实时荧光定量聚合酶链反应(PCR), 以磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH)为内参。B7-1、B7-2、GAPDH 引物由北京睿博兴科生物技术有限公司合成。B7-1 上游引物为 5'-CGGCGCAGTAATAACAGTCG-3'; 下游引物为 5'-TGTTTGTCTCTGCTTGCCCT-3'。B7-2 上游引物为 5'-ACCAAATGCAGAGTGAAGGC-3'; 下游引物为 5'-AGAATTCCAATCAGCTGAGAACA-3'。GAPDH 上游引物为 5'-TGTTGAAGTCACAGGAGACAACCT-3'; 下游引物为 5'-AACCTGCCAAGTATGATGACATCA-3'。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算信使核糖核酸(mRNA)的相对表达量。

1.3 研究方法

比较各组小鼠不同时间点肝内单核细胞数量, CD4⁺ T 细胞比例、数量和阳性率; 比较各组小鼠不同时间点血清和肝组织中 IL-17 含量, 及肝组织内共刺激分子 B7-1 和 B7-2 mRNA 表达水平。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析。计量资料采用均数 ± 标准差表示, 各组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

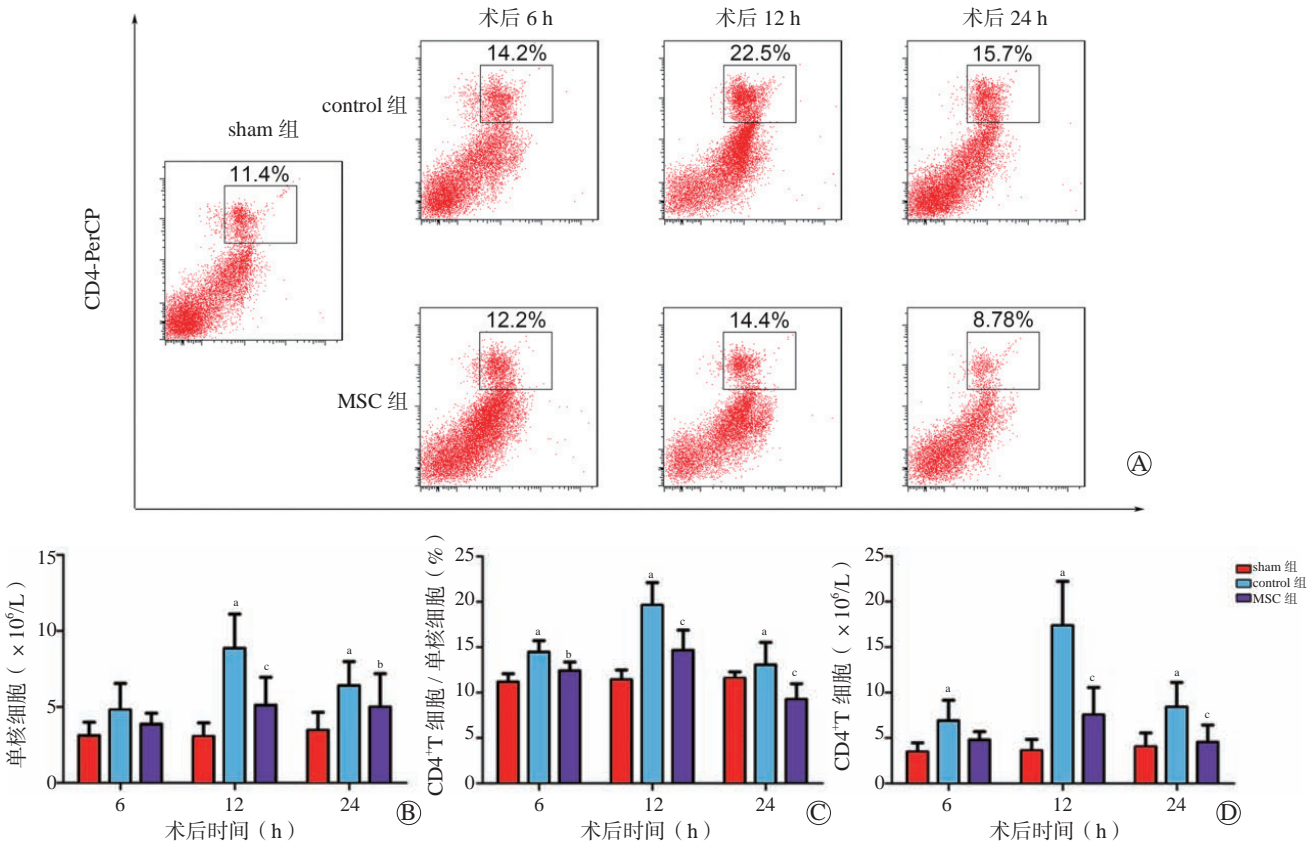
2 结果

2.1 HUC-MSCs 抑制 HIRI 后肝内单核细胞和 CD4⁺ T 细胞的数量

2.1.1 各组小鼠不同时间点肝内单核细胞数量的比较 见图 1B。与 sham 组比较, control 组和 MSC 组小鼠 HIRI 后各时段肝内单核细胞数量均不同程度增

加; 术后 6 h, sham 组、control 组和 MSC 组的肝内单核细胞数量比较, 差异均无统计学意义 (均为 P>0.05); 术后 12 h, control 组的肝内单核细胞数量明显高于 sham 组 (P<0.01), 而 MSC 组的肝内单核细胞数量明显低于 control 组 (P<0.01); 术后 24 h, control 组和 MSC 组的肝内单核细胞数量变化趋势与 12 h 类似, 但程度较轻 (P<0.01~0.05)。

2.1.2 各组小鼠不同时间点 CD4⁺ T 细胞比例和数量的比较 见图 1A、C、D。流式细胞术分析结果显示, 术后 6、12、24 h, control 组的 CD4⁺ T 细胞比例均明显高于 sham 组 (均为 P<0.01), control 组的 CD4⁺ T 细胞数量均明显高于 sham 组 (均为 P<0.01), MSC 组的 CD4⁺ T 细胞比例均明显低于 control 组 (P<0.01~0.05); 术后 6 h, 与 control 组比较, MSC 组的 CD4⁺ T 细胞数量差异无统计学意义 (P>0.05), 术后 12、24 h, MSC 组的 CD4⁺ T 细胞数量均明显低于 control 组 (均为 P<0.01)。



A 图为 3 组小鼠肝内 CD4⁺T 细胞的流式细胞图; B 图为 3 组小鼠肝脏单核细胞数量的比较; C 图为 3 组小鼠 CD4⁺T 细胞比例的比较; D 组为 3 组小鼠 CD4⁺T 细胞数量的比较; 与 sham 组比较, ^aP<0.01; 与 control 组比较, ^bP<0.05, ^cP<0.01

图 1 3 组小鼠肝内单核细胞和 CD4⁺T 细胞的数量和比例

Figure 1 The counts and ratio of monocytes and CD4⁺ T cells in liver of mice of three groups

2.1.3 各组小鼠不同时间点 CD4⁺ T 细胞阳性率的比较 见图 2。免疫组化结果显示，术后 6、12、24 h，control 组 CD4⁺ T 细胞阳性率均明显高于 sham 组（均为 $P<0.01$ ）；术后 12、24 h，MSC 组的 CD4⁺ T 细胞阳性率均明显低于 control 组（ $P<0.01\sim 0.05$ ）。

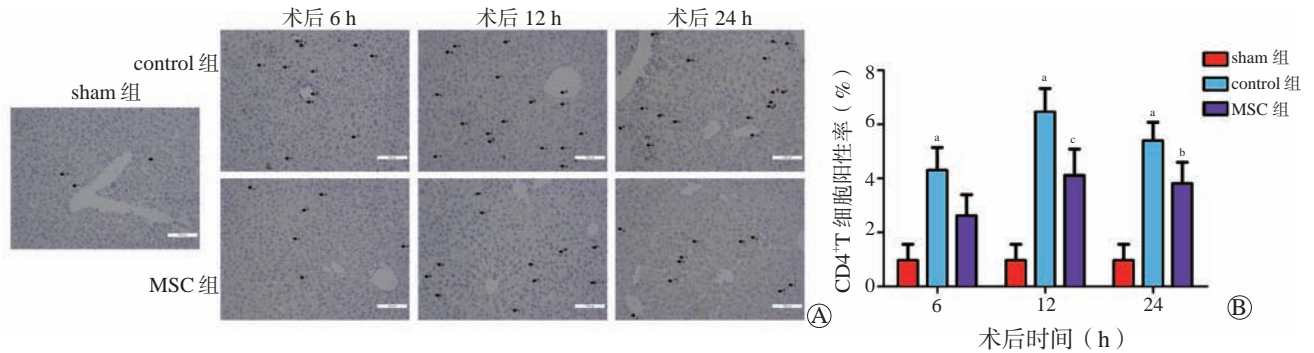
2.2 HUC-MSCs 减少 HIRI 后 IL-17 的分泌

各组小鼠不同时间点血清和肝组织中 IL-17 含

量的比较见图 3。结果显示，术后 6、12、24 h 各时间点，control 组血清和肝组织中的 IL-17 含量均高于 sham 组（均为 $P<0.01$ ），而 MSC 组血清和肝组织中的 IL-17 含量均低于 control 组（均为 $P<0.01$ ）。

2.3 HUC-MSCs 抑制 B7-1 和 B7-2 mRNA 的表达水平

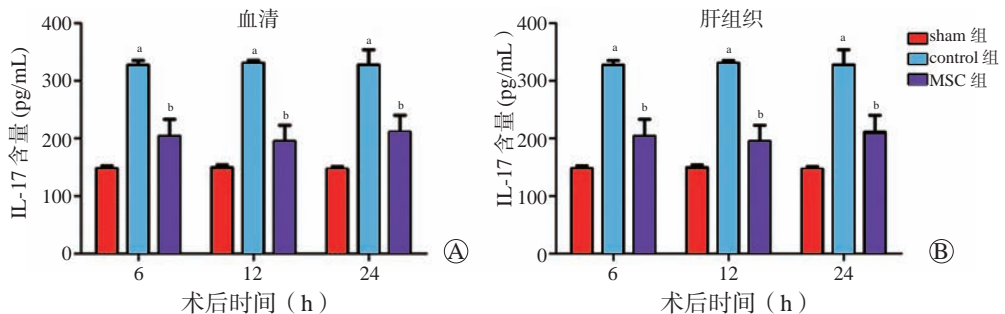
各组小鼠不同时间点肝组织 B7-1 和 B7-2 mRNA 表达水平的比较见图 4。术后 6 h，各组间 B7-1 的



A 图为 3 组小鼠肝内 CD4⁺T 细胞的免疫组化图片（×200），箭头所示为 CD4⁺T 细胞；B 图为 3 组小鼠 CD4⁺T 细胞阳性率的比较，与 sham 组比较，^a $P<0.01$ ；与 control 组比较，^b $P<0.05$ ，^c $P<0.01$

图 2 3 组小鼠肝内 CD4⁺T 细胞的阳性率

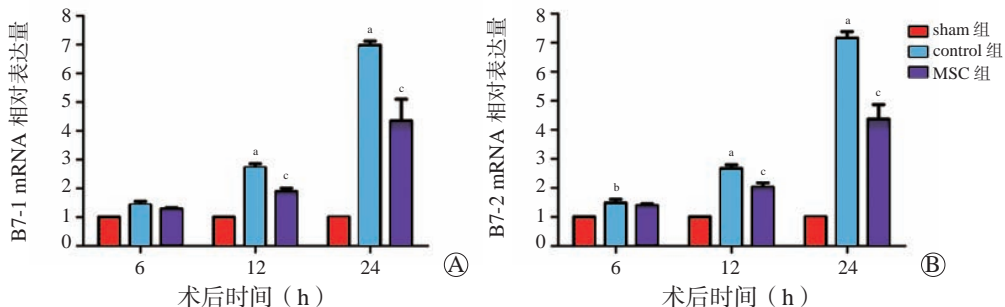
Figure 2 The positive rate of CD4⁺ T cells in liver of mice of three groups



与 sham 组比较，^a $P<0.01$ ；与 control 组比较，^b $P<0.01$

图 3 3 组小鼠血清和肝组织中 IL-17 含量的比较

Figure 3 Comparison of the content of IL-17 in serum and liver tissue of mice among three groups



A 图为 3 组小鼠肝组织中 B7-1 mRNA 表达水平的比较；B 图为 3 组小鼠肝组织中 B7-2 mRNA 表达水平的比较；与 sham 组比较，^a $P<0.01$ ，^b $P<0.05$ ；与 control 组比较，^c $P<0.01$

图 4 3 组小鼠肝组织中 B7-1 和 B7-2 mRNA 表达水平的比较

Figure 4 Comparison of the expression levels of B7-1 and B7-2 mRNA in liver tissue of mice among three groups

mRNA 表达水平比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 而 control 组 B7-2 的 mRNA 表达水平高于 sham 组 ($P<0.05$), MSC 组与 control 组 B7-2 的 mRNA 表达水平比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 术后 12、24 h, control 组 B7-1 和 B7-2 的 mRNA 表达水平均高于 sham 组 (均为 $P<0.01$), 而 MSC 组 B7-1 和 B7-2 的 mRNA 表达水平均低于 control 组 (均为 $P<0.01$)。

3 讨论

HIRI 诱发的免疫反应以及释放的炎症因子会导致患者肝脏以及肺等远隔脏器功能的损伤, 影响术后各器官功能的恢复, 增加患者的围手术期死亡风险^[9]。HIRI 过程中, $CD4^+$ T 细胞首先募集至肝内, 而非 $CD8^+$ T 细胞^[10]。若预先抑制机体 $CD4^+$ T 细胞的数量或采用 CD4 敲除 ($CD4^{-/-}$) 小鼠, 对 HIRI 将起到很好的保护作用, 这更加明确了 $CD4^+$ T 细胞为 HIRI 重要的免疫细胞^[3]。有研究表明, 在 HIRI 过程中 IL-17 为 $CD4^+$ T 细胞分泌的起重要作用的促炎因子, 其可募集中性粒细胞在肝内浸润, 且促进肝内炎症因子和趋化因子的分泌, 若应用相应的 IL-17 拮抗剂, 则对 HIRI 会有所逆转^[3, 11-12]。本研究发现, HIRI 后 $CD4^+$ T 细胞在肝内数量增加, 且分泌 IL-17 增加, 说明 $CD4^+$ T 细胞通过募集到肝脏的数量增多和分泌 IL-17 的含量增加, 导致 HIRI。至于 $CD4^+$ T 细胞为何能在 HIRI 模型中激活, 有研究发现在 HIRI 过程中, 作用于 T 细胞 CD3 激活第一信号的主要组织相容性复合体 (MHC) 和作用于 T 细胞 CD28 激活第二信号的 B7-1 和 B7-2 明显升高^[13-14], 且发现 B7-1 和 B7-2 主要来源于受损肝窦内皮细胞的大量分泌^[13], 说明 $CD4^+$ T 细胞的激活, 一定程度上受到 B7-1 和 B7-2 的升高所影响。本研究亦发现, HIRI 过程中, B7-1 和 B7-2 mRNA 表达水平明显升高, 说明 B7-1 和 B7-2 作为激活 T 细胞的协同共刺激因子, 可激活 T 细胞的促炎作用^[13-15]。

对于 HIRI 的治疗, 目前尚缺有效的治疗手段^[5]。MSC 有自我更新及分化能力, 在特定条件下能诱导分化为多种组织细胞如脂肪、骨、软骨、肌腱、韧带等, 这种特性引起了众多学者的兴趣, 应用其分化能力来修复机体组织器官的受损部位, 为难治重症、遗传疾病等提供新型治疗手段^[16-17]。另外, MSC 具有低免疫原性, 因只表达低水平 MHC I 类分子而不

表达 MHC II 类分子, 避开 T 细胞对其免疫原性的识别, 且不表达一些提供 T 细胞活化的第二信号的协同刺激分子 CD80、CD86, 从而使得机体免疫系统对其耐受^[18]。这种低免疫原性成为其能在异种间或同种异体间移植治疗的重要基础, 避免了组织器官移植中常见的排斥反应问题, 这也是我们应用 HUC-MSCs 治疗小鼠 HIRI 的重要依据。很多研究证实, MSC 具有抗炎、抗渗透、抗氧化、抗凋亡和免疫调节等作用^[19-21], 目前已有许多研究应用 MSC 对 HIRI 进行治疗, 取得较好的治疗效果^[6-7], 但 MSC 对于 HIRI 的治疗机制目前仍未完全阐明。本研究发现, HUC-MSCs 能有效地减少肝内单核细胞的浸润数量, 更为重要的是, 且 HUC-MSCs 能有效地抑制 HIRI 中起关键作用的 $CD4^+$ T 细胞数量, 并明显抑制 IL-17 的分泌。

至于 HUC-MSCs 对 HIRI 过程中肝内 B7-1 和 B7-2 表达的影响, 笔者查阅文献, 未见相关研究。我们通过实时荧光定量 PCR 检测肝内 B7-1 和 B7-2 的 mRNA 表达, 结果显示 HUC-MSCs 可以降低 B7-1 和 B7-2 的 mRNA 表达水平, 反映出 HUC-MSCs 可以通过降低 B7-1 和 B7-2 表达, 而抑制 $CD4^+$ T 细胞的激活。另外, B7-1、B7-2 经 HUC-MSCs 处理后降低, 很可能与减轻内皮细胞的损伤有关, 不过这仍需进一步研究证实。许多体外研究阐明了 HUC-MSCs 对 T 细胞的增殖及免疫抑制作用, 且证实了 HUC-MSCs 通过分泌吲哚胺-2,3-双加氧酶 (indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)、前列腺素 (prostaglandin, PG) E_2 等起作用^[20, 22], 而 HUC-MSCs 是否还可通过其他信号通路或机制影响 $CD4^+$ T 细胞的促炎功能, 减轻 HIRI, 这是我们后续进一步研究的工作。

综上所述, HUC-MSCs 可通过抑制肝内 $CD4^+$ T 细胞的数量和 IL-17 的分泌, 降低肝内单核细胞的数量, 及减少激活 $CD4^+$ T 细胞的协同刺激分子 B7-1 和 B7-2 的表达, 减轻 HIRI。

参考文献:

- [1] CALDWELL CC, TSCHOEP J, LENTSCH AB, et al. Lymphocyte function during hepatic ischemia/reperfusion injury[J]. *J Leukoc Biol*, 2007, 82(3): 457-464.
- [2] SHEN X, WANG Y, GAO F, et al. CD4 T cells promote tissue inflammation via CD40 signaling without de novo activation in a murine model of liver ischemia/reperfusion injury[J]. *Hepatology*, 2009, 50(5): 1537-1546. DOI: 10.1002/hep.23153.
- [3] CALDWELL CC, OKAYA T, MARTIGNONI A, et al.

- Divergent functions of CD4⁺ T lymphocytes in acute liver inflammation and injury after ischemia-reperfusion[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2005, 289(5): G969-G976.
- [4] REIFART J, RENTSCH M, MENDE K, et al. Modulating CD4⁺ T cell migration in the postischemic liver: hepatic stellate cells as new therapeutic target?[J]. *Transplantation*, 2015, 99(1): 41-47. DOI: 10.1097/TP.0000000000000461.
- [5] MAGGI U, FORNONI G, CENTONZE L, et al. Ischemia time and liver transplantation, today[J]. *Transplant Proc*, 2014, 46(7): 2295-2299. DOI: 10.1016/j.transproceed.2014.07.040.
- [6] HAGA H, YAN IK, BORRELLI DA, et al. Extracellular vesicles from bone marrow-derived mesenchymal stem cells protect against murine hepatic ischemia/reperfusion injury[J]. *Liver Transpl*, 2017, 23(6): 791-803. DOI: 10.1002/lt.24770.
- [7] ROWART P, ERPICUM P, DETRY O, et al. Mesenchymal stromal cell therapy in ischemia/reperfusion injury[J]. *J Immunol Res*, 2015: 602597. DOI: 10.1155/2015/602597.
- [8] UCHIDA Y, FREITAS MC, ZHAO D, et al. The protective function of neutrophil elastase inhibitor in liver ischemia/reperfusion injury[J]. *Transplantation*, 2010, 89(9): 1050-1056. DOI: 10.1097/TP.0b013e3181d45a98.
- [9] VAN GOLEN RF, REINIERS MJ, VRISEKOOOP N, et al. The mechanisms and physiological relevance of glycocalyx degradation in hepatic ischemia/reperfusion injury[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 21(7): 1098-1118. DOI: 10.1089/ars.2013.5751.
- [10] ZWACKA RM, ZHANG Y, HALLDORSON J, et al. CD4(+) T-lymphocytes mediate ischemia/reperfusion-induced inflammatory responses in mouse liver[J]. *J Clin Invest*, 1997, 100(2): 279-289.
- [11] YAO Z, PAINTER SL, FANSLOW WC, et al. Human IL-17: a novel cytokine derived from T cells[J]. *J Immunol*, 1995, 155(12): 5483-5486.
- [12] KONO H, FUJII H, OGIKU M, et al. Role of IL-17A in neutrophil recruitment and hepatic injury after warm ischemia-reperfusion mice[J]. *J Immunol*, 2011, 187(9): 4818-4825. DOI: 10.4049/jimmunol.1100490.
- [13] KOJIMA N, SATO M, SUZUKI A, et al. Enhanced expression of B7-1, B7-2, and intercellular adhesion molecule 1 in sinusoidal endothelial cells by warm ischemia/reperfusion injury in rat liver[J]. *Hepatology*, 2001, 34(4 Pt 1): 751-757.
- [14] TAKADA M, CHANDRAKER A, NADEAU KC, et al. The role of the B7 costimulatory pathway in experimental cold ischemia/reperfusion injury[J]. *J Clin Invest*, 1997, 100(5): 1199-1203.
- [15] LENTSCH AB. Regulatory mechanisms of injury and repair after hepatic ischemia/reperfusion[J]. *Scientifica (Cairo)*, 2012: 513192. DOI: 10.6064/2012/513192.
- [16] FEISST V, BROOKS AE, CHEN CJ, et al. Characterization of mesenchymal progenitor cell populations directly derived from human dermis[J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23(6): 631-642. DOI: 10.1089/scd.2013.0207.
- [17] 徐士炳, 李莉, 罗兴迪, 等. 骨髓间充质干细胞在肝细胞损伤恢复中的作用[J]. *实用医学杂志*, 2017, 33(5): 687-692. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2017.05.004.
- XU TB, LI L, LUO XD, et al. Role of bone marrow mesenchymal stem cells in recovery process of hepatocyte injury[J]. *J Pract Med*, 2017, 33(5): 687-692. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2017.05.004.
- [18] ROSSIGNOL J, BOYER C, THINARD R, et al. Mesenchymal stem cells induce a weak immune response in the rat striatum after allo or xenotransplantation[J]. *J Cell Mol Med*, 2009, 13(8B): 2547-2558. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2009.00657.x.
- [19] 唐飞龙, 栾佐, 吴南海, 等. 脐带间充质干细胞治疗儿童移植相关并发症的疗效观察[J]. *转化医学杂志*, 2017, 6(3): 132-136. DOI: 10.3969/j.issn.2095-3097.2017.03.002.
- TANG FL, LUAN Z, WU NH, et al. Therapeutic effect of umbilical cord-mesenchymal stem cell on transplantation-related complications in children[J]. *Translat Med J*, 2017, 6(3): 132-136. DOI: 10.3969/j.issn.2095-3097.2017.03.002.
- [20] BLOOM DD, CENTANNI JM, BHATIA N, et al. A reproducible immunopotency assay to measure mesenchymal stromal cell-mediated T-cell suppression[J]. *Cytotherapy*, 2015, 17(2): 140-151. DOI: 10.1016/j.jcyt.2014.10.002.
- [21] DANCHUK S, YLOSTALO JH, HOSSAIN F, et al. Human multipotent stromal cells attenuate lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice via secretion of tumor necrosis factor- α -induced protein 6[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2011, 2(3): 27. DOI: 10.1186/scrt68.
- [22] HSU WT, LIN CH, CHIANG BL, et al. Prostaglandin E₂ potentiates mesenchymal stem cell-induced IL-10⁺IFN- γ ⁺CD4⁺ regulatory T cells to control transplant arteriosclerosis[J]. *J Immunol*, 2013, 190(5): 2372-2380. DOI: 10.4049/jimmunol.1202996.

(收稿日期: 2017-12-20)

(本文编辑: 邬加佳 朱佩玲)