

DOI: 10.20135/j.issn.1006-8147.2025.01.0054

骨髓间充质干细胞治疗慢加急性肝衰竭小鼠实验研究

闻家兴¹, 杨阳², 孟玉静³, 董林毅¹

(1.天津医科大学药学院药物分析学系, 天津 300070; 2.天津中医药大学医学实验动物中心, 天津 300381; 3.天津凯诺医药科技有限公司, 天津 300457)

摘要 目的: 研究骨髓间充质干细胞(hBMSCs)对慢加急性肝衰竭(ACLF)模型小鼠的治疗作用。方法: 60只BALB/cJ小鼠随机分为正常组($n=8$)和ACLF造模组($n=52$), 采用四氯化碳(CCl_4)诱导法构建ACLF小鼠模型, ACLF造模组剔除死亡小鼠, 随机分为模型组($n=11$)、hBMSCs低剂量治疗组($n=12$)、中剂量治疗组($n=12$)、高剂量治疗组($n=12$)。采用生化分析仪检测小鼠血清谷氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBIL)、总蛋白(TP)和白蛋白(ALB)水平; 超敏多因子发光法(MSD)检测血清白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、趋化因子配体1(KC/GRO)水平含量; 苏木素-伊红(HE)和Masson染色, 评价肝组织病理损伤程度。结果: 与正常组相比, 模型组AST、ALT、TBIL、TP、ALB水平显著升高($F=5.409$ 、 26.27 、 21.20 、 23.44 、 22.81 , 均 $P<0.001$), AST/ALT比值显著降低($F=3.036$, $P<0.05$)。与ACLF模型组比较, hBMSCs低、中剂量治疗组血清AST、ALT、TBIL水平显著降低(均 $P<0.05$); 中、高剂量治疗组AST/ALT比值显著升高(均 $P<0.05$); hBMSCs低剂量治疗组血清IL-6、KC/GRO水平显著降低(均 $P<0.05$); hBMSCs低、中剂量治疗组IL-1 β 、TNF- α 水平降低(均 $P<0.05$), 而在hBMSCs低、中、高剂量治疗组中IL-10均升高(均 $P<0.05$); 低、中、高剂量治疗组TP、ALB、IFN- γ 、IL-2、IL-5差异没有统计学意义(均 $P>0.05$); hBMSCs低、中剂量治疗组肝组织炎细胞浸润及坏死区域均显著减少(均 $P<0.05$), 肝组织胶原纤维阳性面积显著降低(均 $P<0.05$)。结论: hBMSCs对 CCl_4 诱导的ACLF小鼠模型具有显著的治疗作用, 治疗效果未见剂量依赖, 其中低剂量组治疗效果更佳。

关键词 人骨髓间充质干细胞; 慢加急性肝衰竭; 炎症因子; 肝纤维化

中图分类号 R575.3

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2025)01-0054-06

Experimental investigation of human bone marrow mesenchymal stem cells on acute-on-chronic liver failure in mice

WEN Jiaxing¹, YANG Yang², MENG Yujing³, DONG Linyi¹

(1. Department of Pharmaceutical Analysis, School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Experimental Animal Center, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300381, China; 3. Tianjin Clin-nov Medical Technology Co., Ltd., Tianjin 300457, China)

Abstract Objective: To evaluate the therapeutic potential of human bone marrow mesenchymal stem cells(hBMSCs) on acute-on-chronic liver failure (ACLF) mice model. **Methods:** A total of 60 BALB/cJ mice were randomly divided into healthy control group ($n=8$) and ACLF model group ($n=52$). ACLF mice was established by intraperitoneal injection of carbon tetrachloride(CCl_4). ACLF model group excluded dead mice were randomly divided into model group ($n=11$), hBMSCs low dose group ($n=12$), medium dose group ($n=12$) and high dose group ($n=12$). The levels of aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase (ALT), total bilirubin (TBIL), total protein (TP), albumin (ALB) in mice were detect by a biochemical analyzer. Serum levels of interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and chemokine ligand 1 (KC/GRO) were detected by MSD electrochemiluminescence technology. HE and Masson staining were used to evaluate the degree of pathological damage in liver tissue. **Results:** Compared with the control group, the serum level of TBIL, AST, ALT, TP and ALB were significantly increased($F=5.409$, 26.27 , 21.20 , 23.44 , 22.81 , all $P<0.001$), AST/ALT was significantly decreased($F=3.036$, $P<0.05$). Compared with the ACLF model group, the serum level of TBIL, AST and ALT were significantly decreased in the low, and medium dose group (all $P<0.05$), AST/ALT was significantly increased both in medium and high dose group (all $P<0.05$). The serum levels of pro-inflammatory cytokines IL-6 and KC/GRO were significantly decreased in low dose group (all $P<0.05$). IL-1 β and TNF- α were significantly decreased in low, and medium dose group (all $P<0.05$), while anti-inflammatory cytokines IL-10 was significantly increased in the treated groups(all $P<0.05$). TP, ALB, IFN- γ , IL-2 and IL-5 were not significantly changed in all the treated groups (all $P>0.05$). The infiltration and necrosis area of inflammatory cells in the low and medium groups were significantly decreased (both $P<0.05$), and the positive area of collagen fibers in

基金项目 天津市教委科研计划重点项目(2022ZD053)

作者简介 闻家兴(1990-), 女, 硕士在读, 研究方向: 新型药物分析检测及药物研发; 通信作者: 董林毅, E-mail: dongliny@tmu.edu.cn。

liver tissue was significantly reduced(both $P<0.05$). **Conclusion:** hBMSCs has an obvious therapeutic effect on CCl_4 -induced ACLF mice model and the therapeutic effect is not dose-dependent. In contrast, low-dose group has better therapeutic effect.

Key words human bone marrow mesenchymal stem cells; acute-on-chronic liver failure; cytokines; hepatic fibrosis

慢加急性肝衰竭(ACLF)是发生在慢性肝病基础上,引起肝脏急性代偿或失代偿,以肝外多器官衰竭和短期内高死亡率为特征的肝衰竭综合征^[1]。在我国,ACLF是肝病相关死亡的主要原因,每10万人中约有2.53例患者^[2]。临床多采用肾上腺皮质激素、人工肝等治疗方法,但疗效甚微,目前除肝移植外,无特异性的治疗方法,因此,亟待新的治疗手段出现。

ACLF的病因和诱因极其复杂,诊断标准、发病机制等存在诸多争议,目前认为全身性炎症及免疫失衡是ACLF的核心发病机制,这种免疫的不平衡导致了连锁的器官功能障碍,也使ACLF患者易于被感染^[3]。尽管ACLF的28d内死亡率高达32%,病程发展迅猛,但前瞻性临床队列研究认为ACLF病情仍具备可逆性^[4]。干细胞以其多向分化、免疫调节、旁分泌、促进组织再生和血管生成等特性,在难治性疾病治疗方面具有广阔的临床应用前景^[5]。在特定的细胞因子和生长因子作用下,如肝细胞生长因子、表皮生长因子、胰岛素样生长因子等,干细胞在体内和体外均可分化成肝细胞样细胞^[6];间充质干细胞(MSCs)通过调节免疫细胞,抑制B细胞和调节性T细胞增殖和凋亡,发挥抗炎特性^[7]。研究表明,MSCs通过降低促炎细胞因子分泌,如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-12和干扰素(IFN)- γ 以及增加IL-10来调节炎症^[8]。在多项评估MSCs治疗肝病的临床试验中,包括血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、血清白蛋白(ALB)和总胆红素(TBIL)等肝功能指标均有显著改善^[9]。基于以上背景,本研究探讨人骨髓间充质干细胞(hBMSCs)对ACLF小鼠模型的保护作用并探究其药理机制,为干细胞用于ACLF的研究与临床治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 实验细胞 本研究所用的异体人hBMSCs购自广州赛隼生物科技有限公司。

1.2 实验动物 BALB/cJ小鼠60只,SPF级,雄性,5~6周龄,体重19.0~23.0g,购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司,动物生产许可证号:SCXK(苏)2018-0008;动物合格证号:320727221100235054。实验小鼠饲养于天津中医药大学动物中心,实验动物使用许可证号:SYXK(津)2020-0005。本实验涉及与动

物实验相关的内容,已通过天津中医药大学实验动物福利伦理委员会批准,批准号TCM-LAEC2021294。

1.3 实验试剂 四氯化碳(CCl_4),上海麦克林生化科技有限公司,批号C12896608;橄榄油,上海易恩化学技术有限公司,批号RH2374288;复方电解质注射液,上海百特医疗用品有限公司,批号S2009040;4%多聚甲醛固定液,福州飞净生物科技有限公司,批号20210903;超敏多因子发光法(MSD)细胞因子检测试剂盒,美国Meso Scale Discovery公司,批号K0081820;异氟烷,上海玉研科学仪器有限公司,批号S10010533。二甲苯(批号10023418),无水乙醇(批号100092683),中性树胶(批号10004160),国药集团化学试剂有限公司;苏木精-伊红(HE)染液套装(批号G1003),马松(Masson)染液套装(批号G1006),武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.4 实验仪器 全自动生化分析仪Hitachi3100,日本日立公司;MSD超敏多因子电化学发光分析仪Meso QuickPlex SQ 120,美国Meso Scale Discovery公司;正置光学显微镜Nikon Eclipse E100,日本尼康;成像系统NIKON DS-U3,日本尼康;病理切片机RM2016,上海徕卡仪器有限公司。

1.5 实验方法

1.5.1 动物分组与造模 动物适应性饲养后随机分为正常组($n=8$)和ACLF造模组($n=52$),除正常组外,其余小鼠按5 mL/kg的剂量,腹腔注射10% CCl_4 橄榄油溶液,每周2次,持续8周。ACLF造模组随机分为模型组($n=11$)、hBMSCs低剂量治疗组($n=12$)、中剂量治疗组($n=12$)、高剂量治疗组($n=12$)。治疗组在继续 CCl_4 诱导的同时,分别给予hBMSC 0.5×10^6 /次、 1×10^6 /次、 2×10^6 /次,模型组小鼠给予等体积复方电解质溶液,各组每周给予1次,连续4周,在最后1次给药后随即模型组、各治疗组按照4 mL/kg的体积腹腔注射50% CCl_4 橄榄油溶液。正常组小鼠不做任何处理,作为对照。于末次干预3d后进行相关指标检测,证明造模成功。

1.5.2 血清收集和指标检测 末次干预3d造模成功后,小鼠异氟烷吸入麻醉后眼底静脉丛取血,室温避光静置30 min后,3 000 r/min离心10 min,收集并分装血清;Hitachi3100全自动生化分析仪检测血清中TBIL、AST、ALT、总蛋白(TP)、ALB;MSD超敏多因子电化学发光分析仪检测血清中IFN- γ 、IL-

IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、趋化因子配体 1(KC/GRO)、IL-10 和 TNF- α 水平。

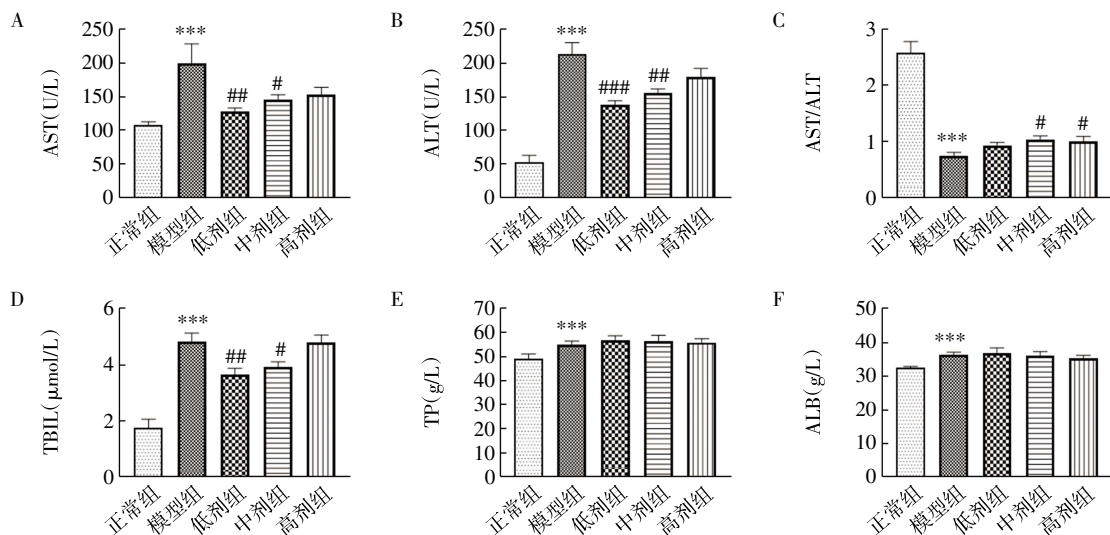
1.5.3 肝组织病理学检测 血生化分析取样完成后处死小鼠,取肝大叶用 4% 甲醛溶液固定 48 h 后进行脱水、石蜡包埋,取横切面制作蜡块后,进行 HE 染色和 Masson 染色,并全玻片扫描;使用 Case Viewer 和 Image J 软件,分析和统计 Masson 染色切片各肝组织胶原容积分数,即胶原容积分数 = 胶原纤维阳性面积/切片总面积 \times 100%;肝组织损伤区域进行量化分析,即肝损伤区域占比 = 所有圈定坏死区域总和/肝切片总面积 \times 100%。

1.6 统计学处理 本研究采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行实验数据的统计分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,当数据符合正态分布和方差齐性,则采用单因

素方差分析(One-way ANOVA)中最小显著性差异法(LSD)进行组间比较;当数据方差不齐,则采用 One-way ANOVA 中新复极差法检验(Dunnnett's T3)进行组间比较, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 hBMSCs 对 ACLF 小鼠血清肝脏功能指标的影响 与正常组相比,模型组 AST、ALT、TBIL、TP、ALB 水平显著升高($F=5.409, 26.27, 21.20, 23.44, 22.81$, 均 $P < 0.001$),AST/ALT 比值显著降低($F=3.036, P < 0.05$)。与模型组比较,hBMSCs 低、中剂量治疗组血清 AST、ALT、TBIL 水平均显著降低(均 $P < 0.01$);在 hBMSCs 中、高剂量治疗组 AST/ALT 比值显著升高(均 $P < 0.05$),低、中、高剂量治疗组 TP、ALB 未见显著差异(均 $P > 0.05$),见图 1。



注:与正常组比较,*** $P < 0.001$;与模型组比较,* $P < 0.05$,# $P < 0.01$,### $P < 0.001$;AST:谷草转氨酶;ALT:谷丙转氨酶;TBIL:总胆红素;TP:总蛋白;ALB:白蛋白

图1 各组肝功能指标比较

Fig.1 Comparison of liver function parameters in each group

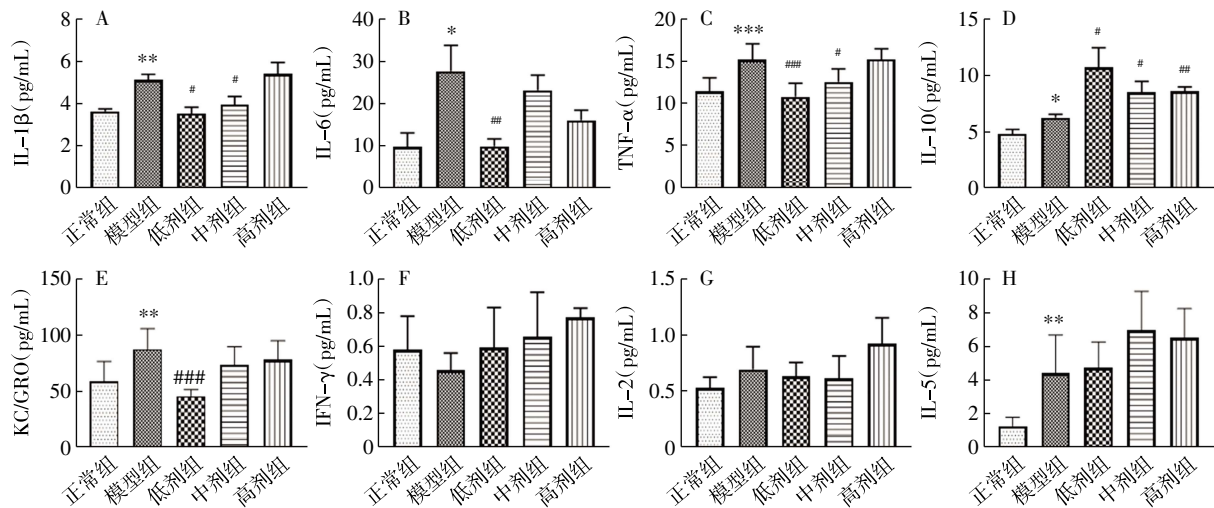
2.2 hBMSCs 对 ACLF 小鼠血清炎症因子的影响

如图 2 所示,与正常组相比,模型组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、IL-10、KC/GRO、IL-5 水平显著升高($F=5.380, 4.655, 11.51, 6.781, 8.898, 11.88$, 均 $P < 0.05$),IFN- γ 、IL-2 未见显著差异($F=2.395, 2.798$, 均 $P < 0.05$)。与模型组比较,hBMSCs 低剂量治疗组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、KC/GRO 水平显著降低(均 $P < 0.05$);中剂量治疗组血清 IL-1 β 、TNF- α 显著降低(均 $P < 0.05$);高剂量治疗组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、KC/GRO 未见显著差异(均 $P > 0.05$),而 IL-10 在 hBMSCs 低、中、高剂量治疗组中均较模型组显著升高(均 $P < 0.05$);低、中、高剂量治疗组 IFN- γ 、IL-2、IL-5 未见显著差异(均 $P > 0.05$)。

2.3 hBMSCs 对 ACLF 小鼠肝脏病理的影响

2.3.1 hBMSCs 对 ACLF 小鼠肝损伤的影响 正常组小鼠肝组织细胞排列紧密,核圆居中,形态正常,肝小叶完整,肝索结构清晰。而模型组小鼠肝细胞结构疏松明显,空泡及颗粒变性区域增加,细胞钙化坏死区域增多,坏死区域内可见大量炎性细胞浸润(图 3A)。

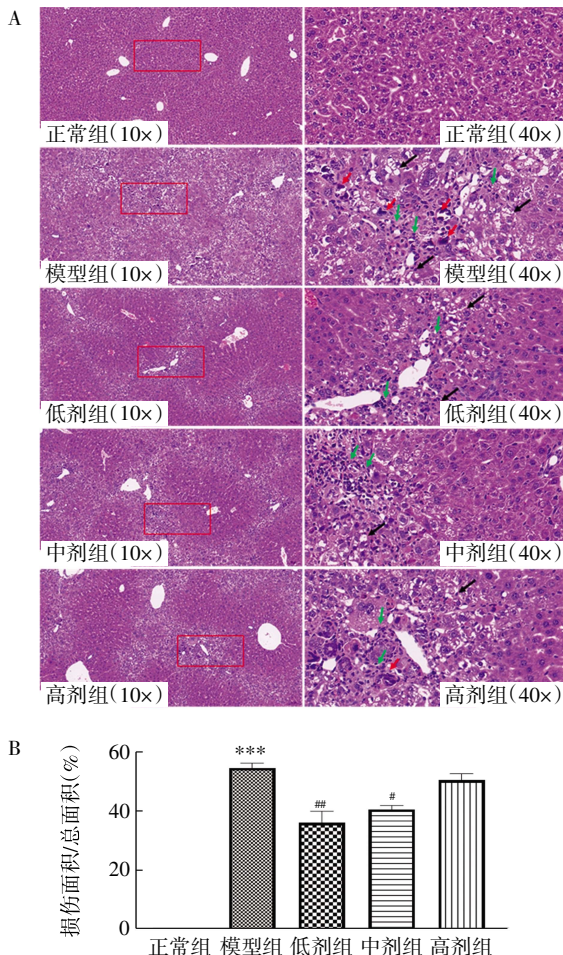
与模型组相比,hBMSCs 各治疗组小鼠肝组织空泡及颗粒变性区域明显降低,肝细胞结构疏松状况均有改善;如图 3B 所示,hBMSCs 低、中剂量治疗组肝细胞钙化坏死区域等损伤坏死面积较模型组显著减少($F=12.84$, 均 $P < 0.05$),高剂量治疗组有改善趋势,但无显著差异($P > 0.05$)。



注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$;与模型组比较,* $P<0.05$,## $P<0.01$,### $P<0.001$;IL-1 β :白细胞介素-1 β ;IL-6:白细胞介素-6;TNF- α :肿瘤坏死因子- α ;IL-10:白细胞介素-10;KC/GRO:趋化因子配体1;IFN- γ : γ 干扰素;IL-2:白细胞介素-2;IL-5:白细胞介素-5

图2 各组血清炎症因子变化比较

Fig.2 Comparison of serum inflammatory factors in each group



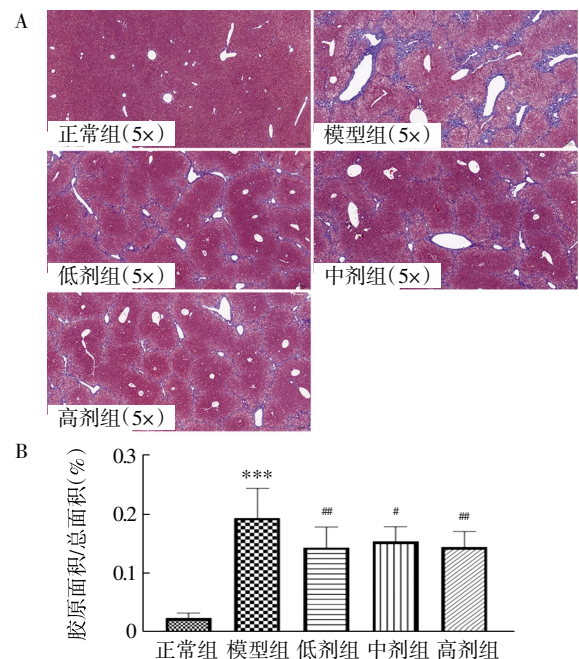
注:A:小鼠肝组织 HE 染色结果;大片肝组织坏死(红色箭头),炎细胞浸润(绿色箭头),肝细胞空泡化病变(黑色箭头);B:各组小鼠肝组织坏死病变变化分析图,与正常组比较,*** $P<0.001$;与模型组比较,* $P<0.05$,## $P<0.01$;hBMSCs:人骨髓间充质干细胞;ACLF:慢急性肝衰竭

图3 hBMSCs对ACLF小鼠肝组织病理组织学的影响

Fig.3 The effect of hBMSCs on hepatic histopathology in ACLF mice

2.3.2 hBMSCs对ACLF小鼠肝脏纤维化的影响

胶原纤维沉积是肝纤维化的形成的重要特征,Mas-son染色结果显示(图4A),正常组小鼠肝组织,除血管壁和胆管壁胶原纤维组织染成蓝色,其他区域未见明显纤维化。模型组小鼠肝小叶周围区域出现片状肝纤维化的表型,包绕形成假肝小叶,呈现显著胶原纤维阳性($F=32.28$, $P<0.05$)。与模型组比较(图4B),hBMSCs低、中、高剂量治疗组肝纤维化片状区域减少,胶原纤维阳性面积显著降低(均 $P<0.05$)。



注:A:肝组织切片 Masson 染色结果,蓝色为胶原纤维阳性区域;B:胶原纤维阳性面积量化分析图,与正常组比较,*** $P<0.001$;与模型组比较,* $P<0.05$,## $P<0.01$;hBMSCs:人骨髓间充质干细胞

图4 hBMSCs对肝组织纤维化的影响

Fig.4 Effects of hBMSCs on hepatic fibrosis

3 讨论

ACLF 是一种诱发因素和疾病进程极其复杂的综合征,是世界范围内常见的极具挑战性的医学难题。目前针对 ACLF 尚未有特异性药物,临床常规采取相应的病因和综合治疗措施,并积极防治并发症。因此,不断探索新的治疗手段和方法对 ACLF 患者防治具有重要意义。ACLF 病理生理进程复杂,目前还没有完全阐明其发病机制,血清 TBIL 水平持续处于较高水平,是 ACLF 的重要特征之一^[10]。肝细胞毒素 CCl₄ 被广泛应用于肝脏病理疾病模型的建立,后者的生化和形态学表征与人类肝脏疾病相似^[11]。研究显示,CCl₄ 通过抑制蛋白质合成、干扰细胞代谢过程等途径使小鼠肝组织在诱导 4~6 周后出现显著的生化指标改变,肝小叶单元病变开始形成,显示出早期纤维化迹象^[12-14]。因此本研究采用 CCl₄ 腹腔注射方式构建 ACLF 小鼠模型,诱导至第 6 周,造模组小鼠血清 TBIL 水平显著升高,出现肝损伤表现时,证明造模成功。

干细胞能够通过自分泌或诱导旁分泌作用,促进机体生成营养因子和细胞因子,刺激肝细胞再生,抑制肝细胞凋亡,促进受损肝功能的恢复,保护由毒性物质或病毒所致的肝损伤^[15-16]。本研究结果显示,反映肝脏疾病进程及预后的敏感指标 TBIL、ALT、AST,经 hBMSCs 治疗后均有显著改善。

此外,干细胞能够迁移归巢至受损的肝组织,分化为肝样细胞,替代受损细胞器而发挥功能作用^[17]。本研究中,治疗组小鼠肝组织空泡及颗粒变性区域明显降低,肝细胞结构疏松状况均有改善,肝纤维化片状区域减少,胶原纤维阳性面积显著降低,可能与干细胞分化为肝样细胞有关。然而值得关注的是,肝组织纤维化和损伤面积虽有改善,但病理状态仍未完全恢复正常水平,同时评价肝组织的蛋白合成和代谢功能的重要指标 TP 和 ALB,均未呈现显著改善。这可能与造模后干细胞衍生的肝细胞占总肝细胞的比例相对较少,迁移分化的肝细胞短期内无法补偿肝功能有关^[18]。

系统性炎症是 ACLF 病理进程中对肝脏造成损伤的重要原因,而肝脏又在宿主防御和炎症调节中发挥着关键作用^[19]。先前研究表明,肝损伤患者血液中 TNF- α 、IL-6 等水平通常显著升高^[20],同时,这些炎症因子的释放促进肝组织巨噬细胞、中性粒细胞浸润,加速肝损伤的进程^[21]。本研究中,hBMSCs 显著抑制了 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、KC/GRO 炎症因子的表达,促进抑炎因子 IL-10 的分泌,但炎症因子 IFN- γ 、IL-2、IL-5、IL-4 在血液中没有呈现规律性

改变。研究普遍认为,炎症因子的变化与肝损伤进程密切相关,干细胞中许多可溶性因子或旁分泌作用参与损伤进程^[22],推测这种治疗作用是干细胞综合作用的结果,确切机制仍需更深入的研究。

本研究中 hBMSCs 对 ACLF 的治疗作用并未呈现出明显的量效关系。这可能与干细胞的来源与适应证的选择^[23]以及宿主属性^[24]存在一定的差异有关。但是,一定剂量范围内 hBMSCs 能够有效缓解 ACLF 引起的肝功能异常、肝组织纤维化,炎症因子失衡等,作用机制与干细胞多向分化、免疫调节、迁移归巢相关。本研究将为探索干细胞疗法用于 ACLF 的防治和有针对性的干预提供理论支持。

参考文献:

- [1] ARROYO V, JALAN R. Acute-on-chronic liver failure: definition, diagnosis, and clinical characteristics[J]. *Semin Liver Dis*, 2016, 36(2):109-116.
- [2] QIN G, SHAO J G, ZHU Y C, et al. Population-representative incidence of acute-on-chronic liver failure: a prospective cross-sectional study[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2016, 50(8):670-675.
- [3] LALEMAN W, CLARIA J, VAN DER MERWE S, et al. Systemic inflammation and acute-on-chronic liver failure: too much, not enough[J]. *Can J Gastroenterol Hepatol*, 2018, 2018:1027152.
- [4] KUMAR R, MEHTA G, JALAN R. Acute-on-chronic liver failure [J]. *Clin Med (Lond)*, 2020, 20(5):501-504.
- [5] KOU M, HUANG L, YANG J, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for immunomodulation and regeneration: a next generation therapeutic tool? [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(7):580.
- [6] GHRBAWY N M, AFIFY R A, DYAA N, et al. Differentiation of bone marrow: derived mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells [J]. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 2016, 32(3):276-283.
- [7] SONG N, SCHOLTEMEIJER M, SHAH K. Mesenchymal stem cell immunomodulation: mechanisms and therapeutic potential[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2020, 41(9):653-664.
- [8] PLANAT-BENARD V, VARIN A, CASTEILLA L. MSCs and inflammatory cells crosstalk in regenerative medicine: concerted actions for optimized resolution driven by energy metabolism[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 626755.
- [9] LIU Y, DONG Y, WU X, et al. The assessment of mesenchymal stem cells therapy in acute on chronic liver failure and chronic liver disease: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1):204.
- [10] NAUTHIAL N, MAHESHWARI D, TRIPATHI D, et al. Establishment of a murine model of acute-on-chronic liver failure with multi-organ dysfunction[J]. *Hepatol Int*. 2021, 15(6):1389-1401.
- [11] POPOVIC D, KOCIC G, KATIC V, et al. Anthocyanins protect hepatocytes against CCl₄-induced acute liver injury in rats by inhibiting pro-inflammatory mediators, polyamine catabolism, lipocalin-2, and excessive proliferation of kupffer cells[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 8(10):1-23.
- [12] FUJII T, FUCHS B C, YAMADA S, et al. Mouse model of carbon

tetrachloride induced liver fibrosis: histopathological changes and expression of CD133 and epidermal growth factor[J]. *BMC Gastroenterol*, 2010, 10:79.

- [13] LI R, YANG W, YIN Y, et al. 4-OI Attenuates carbon tetrachloride-induced hepatic injury via regulating oxidative stress and the inflammatory response[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 651444.
- [14] XU M M, KONG M, YU P F, et al. Clinical course and outcome patterns of acute-on-chronic liver failure: a multicenter retrospective cohort study[J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2021, 9(5):626-634.
- [15] LIU M, HE J, ZHENG S, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells ameliorate acute liver failure by inhibiting apoptosis, inflammation and pyroptosis[J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(21):1615.
- [16] FU Y, KARBAAT L, WU L, et al. Trophic effects of mesenchymal stem cells in tissue regeneration[J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2017, 23(6):515-528.
- [17] AFSHARI A, SHAMDANI S, UZAN G, et al. Different approaches for transformation of mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1):54.
- [18] ZHANG Y, LI Y, LI W, et al. Therapeutic effect of human umbilical cord mesenchymal stem cells at various passages on acute liver failure in rats[J]. *Stem Cells Int*, 2018, 2018:1-11.
- [19] YANG ZHOU J. Innate immunity and early liver inflammation[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1-13.
- [20] WANG Y H, WANG M L, TAO Y C, et al. The high level of IL-1 beta in the serum of ACLF patients induces increased IL-8 expression in hUC-MSCs and reduces the efficacy of hUC-MSCs in liver failure[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2023, 14(1):231.
- [21] JIANG X, LI Z, JIANG S, et al. Lipoxin A4 exerts protective effects against experimental acute liver failure by inhibiting the NF-kappaB pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 37(3):773-780.
- [22] EZQUER F, HUANG YL, EZQUER M. New perspectives to improve mesenchymal stem cell therapies for drug-induced liver injury[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(5):2269.
- [23] KABAT M, BOBKOV I, KUMAR S, et al. Trends in mesenchymal stem cell clinical trials 2004-2018: is efficacy optimal in a narrow dose range?[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2020, 9(1): 17-27.
- [24] LEE O, LUK F, KOREVAAR S, et al. The importance of dosing, timing, and (in)activation of adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells on their immunomodulatory effects[J]. *Stem Cells Dev*, 2020, 29(1):38-48.

(2024-04-28 收稿)

(上接第 46 页)

- [2] MO M, ZHU Q, YANG L, et al. Comprehensive analysis of ETS1 expression and its prognostic value in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Am J Transl Res*, 2024, 16(4):1062-1080.
- [3] ZHU D, SHI X, TIAN Y, et al. Combining expression of RNF43 and infiltration level of CD163⁺ tumor associated macrophage predicts prognosis of clear cell renal cell carcinoma[J]. *Cancer Med*, 2023, 12(4):3962-3971.
- [4] FONTES-SOUSA M, CALVO E. First-line immune checkpoint inhibitors in advanced or metastatic renal cell carcinoma with sarcomatoid features[J]. *Cancer Treat Rev*, 2022, 105:102374.
- [5] YU Z, CHEN G, FENG Z, et al. Establishing a prognostic model based on five starvation-related long non-coding RNAs for clear cell renal cell carcinoma[J]. *Aging (Albany NY)*, 2023, 15(14): 6736-6748.
- [6] BAHADORAM S, DAVOODI M, HSSNZADEH S, et al. Renal cell carcinoma: an overview of the epidemiology, diagnosis, and treatment[J]. *G Ital Nefrol*, 2022, 39(3):2022-vol3.
- [7] KOBAYASHI G, HAYASHI T, SENTANI K, et al. MCM4 expression is associated with high-grade histology, tumor progression and poor prognosis in urothelial carcinoma[J]. *Diagn Pathol*, 2023, 18(1):106.
- [8] TAN Y, DING L, LI G. MCM4 acts as a biomarker for LUAD prognosis[J]. *J Cell Mol Med*, 2023, 27(21):3354-3362.
- [9] ROST L M, RADER S B, OLAISEN C, et al. PCNA regulates primary metabolism by scaffolding metabolic enzymes[J]. *Oncogene*, 2023, 42(8):613-624.
- [10] ALPHEY M S, WOLFORD C B, MACNEILL S A. Canonical binding of Chaetomium thermophilum DNA polymerase δ/ζ subunit PolD3 and flap endonuclease Fen1 to PCNA [J]. *Front Mol Biosci*, 2023, 10:1320648.
- [11] VILLEGAS-RUIZ V, ROMO-MANCILLAS A, MEDINA-VERA I, et al. The proliferating cell nuclear antigen(PCNA) transcript variants as potential relapse markers in B-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Cells*, 2022, 11(20):3205.
- [12] SIMONEAU A, ENGEL J L, BANDI M, et al. Ubiquitinated PCNA drives USP1 synthetic lethality in cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2023, 22(2):215-226.
- [13] PEI L P, ZHANG Y Z, LI G Y, et al. Comprehensive analysis of the expression and prognosis for MCM4 in uterine corpus endometrial carcinoma[J]. *Front Genet*, 2022, 13:890591.
- [14] SAUER T, FACHINETTI G, KOHL M, et al. Protein expression of AEBP1, MCM4, and FABP4 differentiate osteogenic, adipogenic, and mesenchymal stromal stem cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(5): 2568.
- [15] WANG W, YAN T, GUO X, et al. KAP1 phosphorylation promotes the survival of neural stem cells after ischemia/reperfusion by maintaining the stability of PCNA[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 290.

(2024-08-06 收稿)