

间充质干细胞治疗克罗恩病肛周瘘管的研究进展

陈亚珍, 詹学*

重庆医科大学附属儿童医院消化内科, 儿童发育疾病研究教育部重点实验室, 国家儿童健康与疾病临床医学研究中心, 儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地, 儿科学重庆市重点实验室, 重庆

收稿日期: 2023年3月11日; 录用日期: 2023年4月7日; 发布日期: 2023年4月14日

摘要

克罗恩病(Crohn's disease, CD)是一种肠道慢性进展性炎性疾病, 病变以末段回肠及其邻近结肠为主, 可累及从口腔至肛周的任一部位, 肛周瘘管是克罗恩病的常见并发症, 严重影响患者的生活质量。间充质干细胞(Mesenchymal Stem Cells, MSCs)具有免疫调节和抗炎作用, 在治疗克罗恩病肛周瘘管方面具有发展潜力。本文将对近年来MSCs用于克罗恩病肛周瘘管的治疗情况进行综述。

关键词

克罗恩病, 肛周瘘管, 间充质干细胞

Study Advances in the Treatment of Perianal Fistulizing Crohn's Disease with Mesenchymal Stem Cells

Yazhen Chen, Xue Zhan*

Department of Digestion, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, National Clinical Research Center for Child Health and Disorders, China International Science and Technology Cooperation Base of Child Development and Critical Disorders, Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing

Received: Mar. 11th, 2023; accepted: Apr. 7th, 2023; published: Apr. 14th, 2023

Abstract

Crohn's disease (CD) is a chronic and progressive inflammatory disease of the intestinal tract. The

*通讯作者。

pathological changes of CD are mainly in the terminal ileum and its adjacent colon, and can affect any part from oral cavity to perianal region. Perianal fistula is a common complication of CD, which seriously affects the quality of life of patients. Mesenchymal stem cell (MSC) has immunomodulatory and anti-inflammatory effects and has a good effect in the treatment of Crohn's disease anal fistula. This article will review the application of MSCs in the treatment of perianal fistula in Crohn's disease in recent years.

Keywords

Crohn's Disease, Perianal Fistula, Mesenchymal Stem Cell

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

克罗恩病(Crohn's disease, CD)是一种可累及全消化道的肠道慢性炎性疾病,病变以末端回肠及其邻近结肠为主。CD在西方国家发病率较高,为8.9/10万~17.7/10万,我国的CD发病率约为0.34/10万[1][2],虽然发病率较西方国家低,但随着城市工业化和人口密度的增加,CD的发病率也显示出逐年上升的趋势[2]。克罗恩病的常见症状是腹泻、腹痛、体重减轻,可伴有皮肤、黏膜、关节和器官受累等肠外病变,以及发热、食欲不振、贫血等全身症状,还可伴有肛周病变(如肛周瘘管、肛周脓肿、皮赘、肛裂、溃疡等)、瘘管形成、腹腔脓肿、肠腔狭窄和肠梗阻、消化道出血、穿孔等并发症,其中以肛周病变为首发症状者并不少见,报道指出约43.7%~72.4%的肛周克罗恩病(perianal Crohn's disease, PCD)患者在CD确诊前出现肛周病变[3],其中肛周瘘管是最常见的肛周病变类型,约达69.8%[4],病情严重的CD肛瘘患者会出现肛周疼痛、肛周瘘管脓性分泌物渗出、大便失禁等症状,严重影响患者生活质量[5][6][7][8]。

肛周瘘管是克罗恩病(CD)的常见并发症。流行病学研究表明,诊断CD后的20年后肛周瘘管的累计发病风险为23%~28.3%,在一项关于儿童CD的队列研究报告5年内儿童CD肛周瘘的累积发生率为5.0%,10年内为9.4%[9][10][11][12]。CD肛瘘的发生机制尚未完全明确,根据目前的研究结果,CD肛瘘的发生可能与上皮-间质转化、基质重塑酶、遗传易感性、炎症因子、肠道微生物环境、瘘道上皮化和肛管腔内高压等因素相关[13][14]。美国胃肠病学协会将瘘管分为单纯性瘘管和复杂性瘘管,单纯性瘘管是指只有一个外部开口的低位瘘管,包括表面瘘管、低位括约肌间或低位跨括约肌瘘管,不伴有疼痛或肛周脓肿、直肠阴道瘘及肛门直肠狭窄;复杂性瘘管包括括约肌外瘘、括约肌上瘘、括约肌间高位瘘或经括约肌高位瘘,或有多个外开口,或伴有脓肿、直肠阴道瘘或肛管直肠狭窄[15][16]。研究结果表明:单纯瘘管比复杂瘘管更容易愈合,且复发较少,而在复杂的肛周瘘管患者中,仅1/3的患者在常规治疗后获得持久的缓解,因此肛瘘的治疗极具挑战性[17]。

2. 肛周瘘管的常规治疗方法

现有的关于CD肛周瘘管的临床治疗方法包括抗菌药物(常用的有甲硝唑、环丙沙星)、糖皮质激素、免疫调节剂(如硫唑嘌呤、巯基嘌呤、环孢素、甲氨蝶呤等)、抗肿瘤坏死因子药物(如英夫利昔单抗(infliximab)、阿达木单抗(adalimumab)和赛妥珠单抗(certolizumab)等)、手术治疗(脓肿引流和挂线疗法、瘘管切开、纤维蛋白胶、生物假肢插头、粘膜瓣推移术、括约肌间瘘管结扎术、粪便改道、直肠切除术

等) [18]。一项研究表明, 经过药物治疗和/或手术治疗后, 单纯瘻管比复杂瘻管更容易出现持久缓解(66.7% vs 37%), 然而大约有 37.7% 的 CD 肛瘻患者出现复发, 而与复杂瘻管相比, 单纯瘻管的复发率较低(26.7% 比 41.9%), 因此对于 CD 肛瘻的常规策略的治疗效果并不令人满意, 尤其是复杂肛瘻[17]。

3. 间充质干细胞

近年来, 干细胞疗法成为治疗克罗恩病的一种有前途的方法, MSCs 免疫原性较弱, 因此可以跨越人类白细胞抗原屏障使用, 其具有免疫抑制、抗炎、修复损伤组织等作用, 在 CD 肛周瘻管的治疗中显示出可喜的效果。

3.1. MSCs 的来源

MSCs 的概念最先被 Caplan 等提出, 它可以在体外以贴壁细胞的形式增殖, 具有成纤维细胞样的形态, 在体外形成集落, 并可以分化为成骨细胞、成软骨细胞和脂肪细胞[19] [20]。MSCs 来源广泛, 目前的研究表明, 可以从骨髓、脂肪组织、脐带、胎盘、子宫内息肉、月经血或大多数器官的结缔组织中(肾、肝、肺和牙科组织)分离[21] [22] [23] [24]。根据目前的研究, 治疗 CD 肛瘻的细胞来源大多是骨髓组织、脂肪组织, 仅有 1 项研究的细胞来源是脐带, 可能是由于脐带间充质干细胞(UC-MSCs)的获取相较于骨髓以及脂肪组织来源的 MSCs 而言, 在临床上更不易获得[25]-[32]。此外, 采用异体干细胞的研究略多于自体干细胞, 这可能是由于自体骨髓间充质干细胞不能根据要求立即获得, 因为分离和扩增到足够数量的骨髓间充质干细胞需要数周时间, 这会导致治疗延迟[30]。对于不同来源的 MSCs 治疗 CD 的疗效和安全性的差异, 仍需更多的大样本的临床研究加以证实。

3.2. MSCs 治疗 CD 的作用机制

目前关于 MSCs 治疗 CD 肛瘻的确切机制尚不清楚, 已知的 MSCs 治疗 CD 肛瘻相关的机制涉及以下几个方面: 1) 免疫调节功能: MSCs 在炎症细胞因子的刺激下可以表达吡咯啉 2, 3-双加氧酶(IDO)或诱导型一氧化氮合酶(iNOS), 可以抑制 T 细胞分裂增殖, 阻断 T 细胞周期, 使 T 细胞停留在 G0/G1 期[33]; MSCs 可以诱导 Th2 的分化与成熟, 进而促进 Th1 细胞的凋亡, 减轻肠道黏膜炎症[34]。MSCs 抑制单核细胞产生树突状细胞, 抑制幼稚和记忆性的 CD4+ 细胞, 通过下调成熟树突状细胞上的共刺激分子来阻止 T 细胞的激活, 促进调节性 T 细胞(Treg)的产生[35]。MSCs 可以通过抑制 T 细胞分泌干扰素(IFN)- γ 来抑制 B 细胞增殖和浆细胞分化, 也可以通过下调树突状细胞(DC)分泌的 BAFF (B-cell activating factor) 来抑制 B 细胞, 还可以通过促进 CD23+CD43+ 调节性 B 细胞(Breg)的增殖和 CD23-CD43- B 细胞的转化来增加 CD23+CD43+ Breg 细胞, 进一步增加抗炎因子白细胞介素-10 (IL-10)的产生, 从而抑制炎症因子的分泌和 T 细胞的增殖, 减轻肠道炎症[36] [37]。MSCs 可以直接与激活的巨噬细胞相互作用, 下调 Th1 细胞增殖, 激活 Treg, 并增加 IL-10 的产生[38]。2) 抗炎功能: MSCs 的抗炎特性主要与细胞因子有关。MSCs 可以降低创面组织中 IL-1、IL-6、IL-8、IL-17、IFN- γ 和肿瘤坏死因子(TNF)- α 等促炎因子的水平, 并能上调抗炎因子 IL-3、IL-4、IL-5、IL-10 等的表达, 通过改变免疫细胞的细胞因子谱, 调控免疫细胞的增殖活化, 从而减轻创面炎症反应[39]。MSCs 还可以在促炎因子如 TNF- α 、干扰素 IFN- γ 的刺激下分泌免疫调节因子, 如前列腺素 E2 (PGE2)和肿瘤坏死因子 α 刺激基因-6, 诱导促炎性的 M1 型巨噬细胞转化为抗炎性的 M2 型巨噬细胞[40]。3) 组织修复功能: MSCs 具有归巢特性, 在趋化因子(如基质衍生因子-1 (SDF-1)/CXC 趋化因子受体 4 (CXCR4)轴)、细胞因子(如: 骨桥蛋白, OPN)、生长因子(如: 血管内皮生长因子(VEGF)、肝细胞生长因子(HGF)、胰岛素样生长因子-1 (IGF1)、血小板衍生生长因子(PDGF)、转化生长因子 β 1 (TGF- β 1)等)以及机械因素的作用下可以迁移到损伤部位, 定向分化成损伤部位的局部

成分, 以及分泌旁分泌因子(如: TGF- β 、VEGF-1、IGF1 等)促进组织修复或再生, 改善创面[41]。4) 改善肠道菌群: 肠道菌群的变化在 CD 的发病中起着重要作用, 与 CD 肛瘘的发生也相关。一项动物实验[42]表明 MSCs 可以使结肠炎小鼠模型肠道内的拟杆菌门、非杆菌门和 T 菌门表达上调, 变形杆菌门表达下调, 恢复了 α 多样性, 并逆转了肠道微生物区系丰度的变化, 提示 MSCs 治疗 CD 的机制可能与肠道微生物区系有关, 但由于小鼠模型无法完全模拟人类 CD, 因此还需进一步的临床研究确定 MSCs 治疗是否使 CD 患者的肠道微生物区系正常, 但这为 MSCs 治疗 CD 肛瘘的机制研究提供了一个新的方向。

3.3. MSCs 治疗 CD 的方式

目前临床研究常用的 MSCs 治疗 CD 方式主要为局部注射和静脉输注。在 MSCs 治疗 CD 的临床研究中, 主要使用静脉输注 MSCs, 其操作简便。静脉输注 MSCs 后可能出现一些不良反应, 如: 输注后出现阑尾炎及艰难梭菌结肠炎[43]、短暂轻微的过敏反应[44]、轻度上呼吸道感染[45]、轻度头痛、恶心[46]等, 虽然有报道输注后发现乙状结肠腺癌, 但由于其输注前即存在黏膜异型增生, 所以 MSCs 输注与肿瘤之间的关联并不好区分, 除此之外未见其他严重不良反应, 耐受性较好。MSCs 治疗 CD 肛瘘的临床研究主要应用局部注射的方法, 将 MSCs 注射在瘘管内口和/或瘘管壁周围。在一项系统评价, 静脉注射 MSCs 治疗管腔炎症性肠病(包括 CD)的有效率高达 40.5% (95% CI, 7.5%~78.5%), 而当 MSCs 局部注射到病变的 CD 瘘管时, 有效率为 61.3% (95% CI, 35.6%~84.6%), 静脉注射 MSCs 的疗效低的原因尚不清楚, 有结肠炎动物模型研究表明, 静脉注射的 MSCs 只有一小部分(1%~5%)到达炎症的结肠, 剩余的间充质干细胞由肺部过滤(首过效应) [47]。另外还有将 MSCs 包裹于可吸收的生物基质上作为瘘管塞放置于瘘管处[48], 或将 MSCs 与纤维蛋白胶混合注射于瘘管内口周围黏膜及瘘管壁[49], 已有研究证实其安全性和可行性, 不过该研究样本量小, 需要进一步的大样本的临床研究支持[40]。目前有通过肠系膜上动脉注射 MSCs 治疗溃疡性结肠炎的报道, 输注后无明显不良反应[50], 但由于其为有创性操作, 容易增加感染及并发症风险, 不利于临床应用。有一项研究报道了经肠系膜动脉输注 MSCs 治疗 CD, 尚未有报道其有不良反应发生。

3.4. MSCs 治疗 CD 的剂量

目前, 对于间充质干细胞治疗 CD 的剂量尚无统一的标准。Ilse Molendijk 等[25]对 21 名难治性克罗恩病肛瘘患者进行局部注射同种异体骨髓间充质干细胞的双盲安慰剂对照试验, 将 MSCs 分为 1×10^7 、 3×10^7 、 9×10^7 三个组与安慰剂(无细胞溶液)进行对照, 结果表明异体骨髓来源的骨髓间充质干细胞在难治性肛周瘘管患者中的局部应用是安全可行的。与安慰剂相比, 3×10^7 MSCs 的局部治疗显示出更好的瘘管愈合。Jian Zhang 等[26]对 82 例确诊为 CD 并接受类固醇维持治疗超过 6 个月的患者进行随机对照研究, 随机选择 41 名共接受 4 次外周静脉输注 1×10^6 个 UC-MSCs/kg, 每周 1 次, 随访 12 个月, 结果表明在接受稳定类固醇剂量的 CD 患者中, UC-MSCs 疗法可以显著且安全地改善疾病状况。一项单中心的回顾性研究[31]对 12 名克罗恩病肛周瘘管患者予以局部注射 MSC 治疗, 66.7% 的患者获得了长期愈合, 为 MSCs 治疗 CD 的有效性和安全性提供了数据。但 Jian Zhang 等[26]、Schwandner O 等[31]对于 MSCs 的试验并未对细胞剂量进行研究, 无法确定剂量多少对于 CD 瘘管的效果高低, 而 Ilse Molendijk 等[25]进行了 3 个梯度的细胞剂量的研究, 初步证明 3×10^7 MSCs 剂量的瘘管愈合率更高, 但此次研究涉及样本量较小, 尚缺乏多中心大样本验证。

3.5. MSCs 治疗 CD 的有效性和安全性

对克罗恩病患者肛周瘘管局部注射间充质干细胞的有效性首先在开放标签研究中被测试, 该研究使

用来自脂肪或骨髓来源的自体细胞, 在所有研究中都观察到了高的瘘管闭合率(75%~77%) [28] [51] [52]。一项安慰剂对照试验[25]纳入了 21 名克罗恩病肛周瘘管患者, 以 MSCs 剂量递增的方式研究了 MSCs 的有效性, 获得了 28.6%~85.7%的瘘管愈合率, 相对于安慰剂组 33.3%而言, 疗效可观, 且所有患者对局部注射间充质干细胞耐受性良好, 术中或手术后均未出现输液反应, 其中 1 例患者术后 6 小时出现发烧(39.7℃), 但考虑术前肛管狭窄扩张有关。一项大样本的随机安慰剂对照试验比较了单次注射 1.2×10^8 同种异体脂肪来源的间充质干细胞或安慰剂的疗效, 分别在 107 名和 105 名患者中进行了比较[32]。该项研究中, 将主要终点定义为第 24 周的综合缓解, 即在基线时引流的所有外部开口经治疗后闭合, 以及通过 MRI 证实在至少两个三维空间中没有大于 2 cm 瘘管。结果表明克罗恩病伴复杂肛周瘘管且对常规或生物治疗无反应的患者中, 单独注射 Cx601 或在现有药物治疗基础上加用 Cx 601 治疗的患者中, 50%在第 24 周获得了联合缓解, 而安慰剂组为 34%, 并且该治疗的有效性可持续至注射治疗后 52 周, 甚至超过半数的患者持续缓解至治疗后 156 周, 耐受性良好[53] [54]。一项有 24 名患者参加的开放式临床试验显示 56.3%的患者治疗后瘘管完全闭合, 30%的患者现有瘘道完全闭合[29]。江滨等[27]的研究显示总瘘管愈合率 60.57%, 其中克罗恩病瘘管愈合率为 90.91%, 表明自体脂肪干细胞移植是治疗复杂性肛瘘特别是克罗恩病肛瘘的一种有效方法, 实验中出现的不良事件均可用其他原因解释, 且无需处理, 无严重不良事件发生。大多数研究都是将 MSCs 通过静脉或直接注入瘘管中, 均获得了良好的疗效, 在一项 I 期研究中, 将自体骨髓间充质干细胞附着到生物可吸收基质上, 进而将瘘管塞放置于瘘管处, 结果显示 12 例患者中 9 例在 3 个月时完全闭合, 10 例(83.3%)在 6 个月时完全闭合, 在试验中没有发生与输注 MSCs 相关的不良反应事件[48]。尽管研究数量小, 但也为 MSCs 治疗 CD 肛瘘的有效性提供了数据, 同时也提供了一种新的输送 MSC 的方法。另有一项为期 4 年的研究[30]显示, 在 3×10^7 的队列中, 所有的瘘管在 bmMSCs 治疗 4 年后全部闭合, 队列 1×10^7 和队列 9×10^7 的瘘管闭合率分别为 63%和 43%, 也初步表明 bmMSCs 治疗长期来看也是安全有效的, 不过需要更多大样本的研究进一步证实该观点。

动物研究表明在肿瘤微环境的诱导下, MSCs 通过 TGF β 1-Smad2 信号通路可以分化为肌成纤维细胞, 并通过促进肿瘤间质微环境重塑, 进一步加速肿瘤的发展[55]。有研究报道静脉输注 MSCs 治疗腔内 CD 后发现乙状结肠腺癌, 该患者进入研究前便存在黏膜异型增生及建议手术治疗的病史, 但研究者并未注意这一点, 研究完成后发现乙状结肠腺癌, 关于 MSCs 与肿瘤的关联尚不明确, 但不完全排除 MSCs 使异型增生进展为肿瘤的可能[46]。4 年的随访研究报道了一例与 MSCs 注射无关的 B 细胞淋巴组织增生性疾病[30], 另有 MSCs 治疗 CD 肛瘘的研究随访至 156 周, 报道一例与 MSCs 无关的良性纤维腺瘤, 并未发现与治疗相关的致癌性或异位组织形成相关的安全性问题[54], 一项病例系列研究报告了一例患者局部注射 MSCs 后 16 周发生睾丸癌, 考虑与 MSCs 注射的关系不大, 但不排除局部免疫抑制促进肿瘤进展的可能性[55], 有研究报告了一例子官肌瘤, 但综合多方面因素后, 不认为与 MSCs 致癌性相关[29]。其他关于 MSCs 治疗 CD 的临床研究尚未有相关报道, 仍需进一步研究。

对于接受 MSCs 治疗的患者, 获得瘘管闭合的比例 28%~90%不等, 不同的剂量、注射方式可能会影响瘘管的愈合率, 从两项研究结果综合来看, 3×10^7 的治疗剂量似乎瘘管愈合率更高, 并且疗效能持续 4 年[25] [30], 但一项关于 MSCs 治疗 CD 肛瘘的 meta 分析提示高剂量治疗组不具有提高疗效的趋势[57], 但该研究纳入文献的数量小, 仅纳入了 5 篇文献, 其中有剂量对比研究的文献只有 2 篇, 且涉及的样本量较小, 结论尚需更多大样本随机对照研究进行验证。

4. 讨论

综上, 间充质干细胞作为新兴的治疗方法, 在治疗克罗恩病肛周瘘管方面有其独特的优势, 已有研究证实应用 MSCs 是安全可靠的[25] [27] [30] [32] [48] [53] [54], 甚至有可能作为抗菌药物、免疫抑制剂

或生物制剂治疗失败的补救治疗措施。MSCs 的短期治疗效果已经得到了证实, 而 Garcia-Olmo D.等[58]、Barnhoorn M. C.等[30]、Panés J.等[54]的研究证实 MSCs 治疗 CD 肛瘘的疗效可以长期维持至治疗后 52 周、104 周甚至 4 年, 虽然样本量小, 但为临床治疗方法的选择提供了方向, 也为进一步的循证学研究提供了支持。但目前仍存在问题需进一步研究: 1) 关于治疗 CD 肛瘘的 MSCs 最理想的来源尚未有定论, Cheng F.等[59]的 meta 分析表明自体骨髓间充质干细胞的疗效优于异体骨髓间充质干细胞, 并且不存在伦理冲突, 但由于自体骨髓 MSCs 不能及时获得, 同时需考虑患者的一般情况, 因此相对而言, 异体骨髓 MSCs 更容易获得; 此外, 该研究表明, 脂肪来源与骨髓来源的 MSCs 的疗效并没有统计学差异, 但一项研究[60]表明, 脂肪组织来源的间充质干细胞在体外抑制免疫反应方面可能优于骨髓间充质干细胞, 结合脂肪来源的 MSCs 容易获得且来源丰富, 因此, 脂肪组织来源的 MSCs 可能是未来的优先选择, 但该研究目前仍缺乏不同来源 MSCs 治疗 CD 疗效的对比研究; 2) 理想 MSCs 的治疗剂量尚不明确, Ilse Molendijk 等[25]和 Barnhoorn M. C.等[30]的研究提示相比 1×10^7 和 9×10^7 的治疗剂量来说, 3×10^7 的细胞数量, 瘘管愈合率更高, 但 Cheng, F.等[59]则认为与瘘管大小成比例的细胞数量可以提高疗效, 因为细胞可以均匀地注射到瘘管中, 而较高的细胞浓度可能导致较低的存活率和/或细胞功能, 并且大量的细胞可能会表现出免疫原性, 进而导致细胞的清除或失活增加, 这为将来关于 MSCs 的给药方式的研究提供了指导。但由于研究数量有限, 不能提供最佳剂量的建议, 还需要更多大样本的随机对照研究提供循证医学支持; 3) 由于 MSCs 的免疫抑制性, 治疗过程中是否致癌尚不明确。有动物研究[61] [62] [63] 表明间充质干细胞可以促进肿瘤生长, 但在已发表的研究中尚未有相关报道, 考虑到 MSCs 的特殊性, 未来仍需更大样本的长期随访研究评估其安全性以及是否致癌; 4) MSCs 能否联合其他药物以提高瘘管愈合率, Belyakov N.等[64]、Knyazev O. V.等[65]的研究表明, MSCs 联合抗肿瘤坏死因子药物有助于降低单纯瘘管的复发, 延长瘘管闭合时间, 但样本量尚小, 未来仍需更多大样本随机对照实验对 MSCs 联合抗肿瘤坏死因子甚至免疫抑制剂进行研究, 以为临床决策提供证据。

参考文献

- [1] Ng, S.C., Kaplan, G.G., Tang, W., *et al.* (2019) Population Density and Risk of Inflammatory Bowel Disease: A Prospective Population-Based Study in 13 Countries or Regions in Asia-Pacific. *The American Journal of Gastroenterology*, **114**, 107-115. <https://doi.org/10.1038/s41395-018-0233-2>
- [2] Mak, W.Y., Zhao, M., Ng, S.C., *et al.* (2019) The Epidemiology of Inflammatory Bowel Disease: East Meets West. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, **35**, 380-389. <https://doi.org/10.1111/jgh.14872>
- [3] 汪海潮, 叶晨, 吴亚玲, 等. 肛周病变不同起病时间克罗恩病患者的临床特征和变化趋势[J]. 中华消化杂志, 2020(2): 99-100.
- [4] 李浩, 王巧民, 李鸣涛, 等. 克罗恩病伴肛周病变的临床特征及相关因素分析[J]. 中国当代医药, 2019, 26(9): 57-60.
- [5] 赵杰, 宋世铎, 朱新国. 克罗恩病、自噬和营养的关系研究进展[J]. 中华炎性肠病杂志, 2018(4): 311-312.
- [6] 张义宝, 钟继红. 间充质干细胞在克罗恩病治疗中的应用研究进展[J]. 山东医药, 2021, 61(6): 90-94.
- [7] 李菁, 钟丽坤, 梁列新. 克罗恩病诊断及疾病评估方法的研究进展[J]. 广西医学, 2017, 39(5): 693-695.
- [8] 郭亚慧, 牛巍巍, 张晓岚. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018年, 北京): 克罗恩病部分解读[J]. 临床荟萃, 2018, 33(12): 1077-1079.
- [9] Schwartz, D.A., Loftus, E.V., Tremaine, W.J., *et al.* (2002) The Natural History of Fistulizing Crohn's Disease in Olmsted County, Minnesota. *Gastroenterology*, **122**, 875-880. <https://doi.org/10.1053/gast.2002.32362>
- [10] Eglinton, T.W., Barclay, M.L., Gearry, R.B., *et al.* (2012) The Spectrum of Perianal Crohn's Disease in a Population-Based Cohort. *Diseases of the Colon & Rectum*, **55**, 773-777. <https://doi.org/10.1097/DCR.0b013e31825228b0>
- [11] Park, S.H., Aniwani, S., Scott, H.W., *et al.* (2019) Update on the Natural Course of Fistulizing Perianal Crohn's Disease in a Population-Based Cohort. *Inflammatory Bowel Diseases*, **25**, 1054-1060. <https://doi.org/10.1093/ibd/izy329>
- [12] Gupta, N., Bostrom, A.G., Kirschner, B.S., *et al.* (2010) Incidence of Strictureing and Penetrating Complications of

- Crohn's Disease Diagnosed in Pediatric Patients. *Inflammatory Bowel Diseases*, **16**, 638-644. <https://doi.org/10.1002/ibd.21099>
- [13] 张昊悦, 王业皇, 吴燕兰. 克罗恩肛瘘发病机制的研究进展[J]. 广西医学, 2019, 41(24): 3193-3197.
- [14] Tozer, P.J., Lung, P., Lobo, A.J., *et al.* (2018) Review Article: Pathogenesis of Crohn's Perianal Fistula-Understanding Factors Impacting on Success and Failure of Treatment Strategies. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, **48**, 260-269. <https://doi.org/10.1111/apt.14814>
- [15] Sandborn, W.J., Fazio, V.W., Feagan, B.G., *et al.* (2003) AGA Technical Review on Perianal Crohn's Disease. *Gastroenterology*, **125**, 1508-1530. <https://doi.org/10.1016/j.gastro.2003.08.025>
- [16] Cheng, F., Huang, Z. and Li, Z. (2020) Efficacy and Safety of Mesenchymal Stem Cells in Treatment of Complex Perianal Fistulas: A Meta-Analysis. *Stem Cells International*, **2020**, Article ID: 8816737. <https://doi.org/10.1155/2020/8816737>
- [17] Molendijk, I., Nuij, V.J.A.A., van der Meulen-de Jong, A.E., *et al.* (2014) Disappointing Durable Remission Rates in Complex Crohn's Disease Fistula. *Inflammatory Bowel Diseases*, **20**, 2022-2028. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000148>
- [18] Panés, J. and Rimola, J. (2017) Perianal Fistulizing Crohn's Disease: Pathogenesis, Diagnosis and Therapy. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, **14**, 652-664. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.104>
- [19] Naji, A., Eitoku, M., Favier, B., *et al.* (2019) Biological Functions of Mesenchymal Stem Cells and Clinical Implications. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **76**, 3323-3348. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03125-1>
- [20] Uccelli, A., Moretta, L. and Pistoia, V. (2008) Mesenchymal Stem Cells in Health and Disease. *Nature Reviews Immunology*, **8**, 726-736. <https://doi.org/10.1038/nri2395>
- [21] Ding, D.C., Shyu, W.C. and Lin, S.Z. (2011) Mesenchymal Stem Cells. *Cell Transplantation*, **20**, 5-14. <https://doi.org/10.3727/096368910X>
- [22] Young, H.E., Mancini, M.L., Wright, R.P., *et al.* (1995) Mesenchymal Stem Cells Reside within the Connective Tissues of Many Organs. *Developmental Dynamics*, **202**, 137-144. <https://doi.org/10.1002/aja.1002020205>
- [23] Shi, Y., Wang, Y., Li, Q., *et al.* (2018) Immunoregulatory Mechanisms of Mesenchymal Stem and Stromal Cells in Inflammatory Diseases. *Nature Reviews Nephrology*, **14**, 493-507. <https://doi.org/10.1038/s41581-018-0023-5>
- [24] Lv, F.J., Tuan, R.S., Cheung, K.M., *et al.* (2014) Concise Review: The Surface Markers and Identity of Human Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells*, **32**, 1408-1419. <https://doi.org/10.1002/stem.1681>
- [25] Molendijk, I., Bonsing, B.A., Roelofs, H., *et al.* (2015) Allogeneic Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells Promote Healing of Refractory Perianal Fistulas in Patients with Crohn's Disease. *Gastroenterology*, **149**, 918-927. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.06.014>
- [26] Zhang, J., Lv, S., Liu, X., *et al.* (2018) Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell Treatment for Crohn's Disease: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Gut and Liver*, **12**, 73-78. <https://doi.org/10.5009/gnl17035>
- [27] 江滨, 时宏珍, 史央, 等. 自体脂肪干细胞移植治疗复杂性肛瘘的临床观察[J]. 中华结直肠疾病电子杂志, 2019, 8(6): 566-573.
- [28] García-Olmo, D., García-Arranz, M., Herreros, D., *et al.* (2005) A Phase I Clinical Trial of the Treatment of Crohn's Fistula by Adipose Mesenchymal Stem Cell Transplantation. *Diseases of the Colon & Rectum*, **48**, 1416-1423. <https://doi.org/10.1007/s10350-005-0052-6>
- [29] de la Portilla, F., Alba, F., García-Olmo, D., *et al.* (2013) Expanded Allogeneic Adipose-Derived Stem Cells (eASCs) for the Treatment of Complex Perianal Fistula in Crohn's Disease: Results from a Multicenter Phase I/IIa Clinical Trial. *International Journal of Colorectal Disease*, **28**, 313-323. <https://doi.org/10.1007/s00384-012-1581-9>
- [30] Barnhoorn, M.C., Wasser, M., Roelofs, H., *et al.* (2020) Long-Term Evaluation of Allogeneic Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cell Therapy for Crohn's Disease Perianal Fistulas. *Journal of Crohn's and Colitis*, **14**, 64-70. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjz116>
- [31] Schwandner, O. (2021) Stem Cell Injection for Complex anal Fistula in Crohn's Disease: A Single-Center Experience. *World Journal of Gastroenterology*, **27**, 3643-3653. <https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i24.3643>
- [32] Panés, J., García-Olmo, D., Van Assche, G., *et al.* (2016) Expanded Allogeneic Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells (Cx601) for Complex Perianal Fistulas in Crohn's Disease: A Phase 3 Randomised, Double-Blind Controlled Trial. *The Lancet*, **388**, 1281-1290. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31203-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31203-X)
- [33] 张国兴, 石荣, 陈昌捷, 等. 间充质干细胞治疗克罗恩病肛瘘的研究进展[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2019, 25(5): 846-850.
- [34] Mounayar, M., Kefaloyianni, E., Smith, B., *et al.* (2015) PI3ka and STAT1 Interplay Regulates Human Mesenchymal Stem Cell Immune Polarization. *Stem Cells*, **33**, 1892-1901. <https://doi.org/10.1002/stem.1986>

- [35] Lightner, A.L. and Faubion, W.A. (2017) Mesenchymal Stem Cell Injections for the Treatment of Perianal Crohn's Disease: What We Have Accomplished and What We Still Need to Do. *Journal of Crohn's and Colitis*, **11**, 1267-1276. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjx046>
- [36] Chen, X., Cai, C., Xu, D., *et al.* (2019) Human Mesenchymal Stem Cell-Treated Regulatory CD23(+)CD43(+) B Cells Alleviate Intestinal Inflammation. *Theranostics*, **9**, 4633-4647. <https://doi.org/10.7150/thno.32260>
- [37] Fan, L., Hu, C., Chen, J., *et al.* (2016) Interaction between Mesenchymal Stem Cells and B-Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, **17**, 650. <https://doi.org/10.3390/ijms17050650>
- [38] Al-Ghadban, S. and Bunnell, B.A. (2020) Adipose Tissue-Derived Stem Cells: Immunomodulatory Effects and Therapeutic Potential. *Physiology (Bethesda, Md.)*, **35**, 125-133. <https://doi.org/10.1152/physiol.00021.2019>
- [39] 秦菊, 江滨, 周春根. 脂肪间充质干细胞治疗复杂性肛瘘的机制探讨[J]. 医学研究杂志, 2022, 51(6): 181-183, 167.
- [40] Fontaine, M.J., Shih, H., Schäfer, R., *et al.* (2016) Unraveling the Mesenchymal Stromal Cells' Paracrine Immunomodulatory Effects. *Transfusion Medicine Reviews*, **30**, 37-43. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2015.11.004>
- [41] Fu, X., Liu, G., Halim, A., *et al.* (2019) Mesenchymal Stem Cell Migration and Tissue Repair. *Cells (Basel, Switzerland)*, **8**, 784. <https://doi.org/10.3390/cells8080784>
- [42] Yang, F., Ni, B., Liu, Q., *et al.* (2022) Human Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cells Ameliorate Experimental Colitis by Normalizing the Gut Microbiota. *Stem Cell Research & Therapy*, **13**, Article No. 475. <https://doi.org/10.1186/s13287-022-03118-1>
- [43] Dhere, T., Copland, I., Garcia, M., *et al.* (2016) The Safety of Autologous and Metabolically Fit Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells in Medically Refractory Crohn's Disease—A Phase 1 Trial with Three Doses. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, **44**, 471-481. <https://doi.org/10.1111/apt.13717>
- [44] Duijvestein, M., Vos, A.C.W., Roelofs, H., *et al.* (2010) Autologous Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cell Treatment for Refractory Luminal Crohn's Disease: Results of a Phase I Study. *Gut*, **59**, 1662-1669. <https://doi.org/10.1136/gut.2010.215152>
- [45] Gregoire, C., Briquet, A., Pirenne, C., *et al.* (2018) Allogeneic Mesenchymal Stromal Cells for Refractory Luminal Crohn's Disease: A Phase I-II Study. *Digestive and Liver Disease*, **50**, 1251-1255. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2018.08.015>
- [46] Forbes, G.M., Sturm, M.J., Leong, R.W., *et al.* (2014) A Phase 2 Study of Allogeneic Mesenchymal Stromal Cells for Luminal Crohn's Disease Refractory to Biologic Therapy. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, **12**, 64-71. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2013.06.021>
- [47] Dave, M., Menghini, P., Sugi, K., *et al.* (2017) Ultrasound-Guided Intracardiac Injection of Human Mesenchymal Stem Cells to Increase Homing to the Intestine for Use in Murine Models of Experimental Inflammatory Bowel Diseases. *Journal of Visualized Experiments*, No. 127, 55367. <https://doi.org/10.3791/55367-v>
- [48] Dietz, A.B., Dozois, E.J., Fletcher, J.G., *et al.* (2017) Autologous Mesenchymal Stem Cells, Applied in a Bioabsorbable Matrix, for Treatment of Perianal Fistulas in Patients with Crohn's Disease. *Gastroenterology (New York, N.Y. 1943)*, **153**, 59-62. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.04.001>
- [49] Cho, Y.B., Park, K.J., Yoon, S.N., *et al.* (2015) Long-Term Results of Adipose-Derived Stem Cell Therapy for the Treatment of Crohn's Fistula. *Stem Cells Translational Medicine*, **4**, 532-537. <https://doi.org/10.5966/sctm.2014-0199>
- [50] Hu, J., Zhao, G., Zhang, L., *et al.* (2016) Safety and Therapeutic Effect of Mesenchymal Stem Cell Infusion on Moderate to Severe Ulcerative Colitis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **12**, 2983-2989. <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3724>
- [51] Garcia-Olmo, D., Herreros, D., Pascual, I., *et al.* (2009) Expanded Adipose-Derived Stem Cells for the Treatment of Complex Perianal Fistula: A Phase II Clinical Trial. *Diseases of the Colon & Rectum*, **52**, 79-86. <https://doi.org/10.1007/DCR.0b013e3181973487>
- [52] de Groof, E.J., Sahami, S., Lucas, C., *et al.* (2016) Treatment of Perianal Fistula in Crohn's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis Comparing Seton Drainage and Anti-Tumour Necrosis Factor Treatment. *Colorectal Disease*, **18**, 667-675. <https://doi.org/10.1111/codi.13311>
- [53] Panes, J., García-Olmo, D., Van Assche, G., *et al.* (2017) Long-Term Efficacy and Safety of Cx601, Allogeneic Expanded Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells, for Complex Perianal Fistulas in Crohn's Disease: 52-Week Results of a Phase III Randomised Controlled Trial. *Journal of Crohn's and Colitis*, **11**, S5. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjx002.008>
- [54] Panés, J., Bouma, G., Ferrante, M., *et al.* (2022) INSPECT: A Retrospective Study to Evaluate Long-Term Effectiveness and Safety of Darvadstrocel in Patients with Perianal Fistulizing Crohn's Disease Treated in the ADMIRE-CD Trial. *Inflammatory Bowel Diseases*, **28**, 1737-1745. <https://doi.org/10.1093/ibd/izab361>
- [55] Yang, Q., Chen, J., Zhu, Y., *et al.* (2019) Mesenchymal Stem Cells Accelerate the Remodeling of Bladder VX2 Tumor

- Interstitial Microenvironment by TGF β 1-Smad Pathway. *Journal of Cancer*, **10**, 4532-4539. <https://doi.org/10.7150/jca.30788>
- [56] Cabalzar-Wondberg, D., Turina, M., Biedermann, L., *et al.* (2021) Allogeneic Expanded Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cell Therapy for Perianal Fistulas in Crohn's Disease: A Case Series. *Colorectal Disease*, **23**, 1444-1450. <https://doi.org/10.1111/codi.15587>
- [57] 刘建伟, 刘建平, 吴玉怀. 间充质干细胞治疗克罗恩病相关性肛周瘘管的 meta 分析[J]. 临床荟萃, 2019, 34(4): 347-351.
- [58] Garcia-Olmo, D., Gilaberte, I., Binek, M., *et al.* (2022) Follow-Up Study to Evaluate the Long-Term Safety and Efficacy of Darvadstrocel (Mesenchymal Stem Cell Treatment) in Patients with Perianal Fistulizing Crohn's Disease: ADMIRE-CD Phase 3 Randomized Controlled Trial. *Diseases of the Colon & Rectum*, **65**, 713-720. <https://doi.org/10.1097/DCR.0000000000002325>
- [59] Cheng, F., Huang, Z. and Li, Z. (2019) Mesenchymal Stem-Cell Therapy for Perianal Fistulas in Crohn's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Techniques in Coloproctology*, **23**, 613-623. <https://doi.org/10.1007/s10151-019-02024-8>
- [60] Ivanova-Todorova, E., Bochev, I., Mourdjeva, M., *et al.* (2009) Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Are More Potent Suppressors of Dendritic Cells Differentiation Compared to Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Immunology Letters*, **126**, 37-42. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2009.07.010>
- [61] Dong, L., Pu, Y., Zhang, L., *et al.* (2018) Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles Promote Lung Adenocarcinoma Growth by Transferring miR-410. *Cell Death & Disease*, **9**, 218. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0323-5>
- [62] Chen, J., Ma, L., Zhang, N., *et al.* (2018) Mesenchymal Stem Cells Promote Tumor Progression via Inducing Stroma Remodeling on Rabbit VX2 Bladder Tumor Model. *International Journal of Biological Sciences*, **14**, 1012-1021. <https://doi.org/10.7150/ijbs.25200>
- [63] Liu, C., Feng, X., Wang, B., *et al.* (2018) Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Promote Head and Neck Cancer Progression through Periostin-Mediated Phosphoinositide 3-Kinase/Akt/Mammalian Target of Rapamycin. *Cancer Science*, **109**, 688-698. <https://doi.org/10.1111/cas.13479>
- [64] Belyakov, N., Knyazev, O., Fadeeva, N., *et al.* (2018) Combined Anticytokine and Local Mesenchymal Stem Cells Therapy Promotes Longer Healing of Simple Fistulas in Patients with Crohn's Disease. *Journal of Crohn's and Colitis*, **12**, S71-S72. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjx180.096>
- [65] Knyazev, O.V., Fadeeva, N.A., Kagramanova, A.V., *et al.* (2018) Stem Cell Therapy for Perianal Crohn's Disease. *Terapevticheskii Arkhiv*, **90**, 60-66. <https://doi.org/10.26442/terarkh201890360-66>