·自身免疫性肝病·

DOI：10.12449/JCH250719

牙髓间充质干细胞治疗自身免疫性肝炎小鼠模型的效果及其免疫调控机制

李　茵[1]，李晓东[2]，宋光元[2]，史婉婉[3]，王贵强[3]

1 首都医科大学附属北京积水潭医院口腔科，北京 100035
2 免疫细胞治疗北京市工程研究中心，北京 102609
3 北京大学第一医院感染疾病科，北京 100034

通信作者：王贵强，john131212@hotmail.com（ORCID：0000-0003-0515-7974）；李茵，leeyin78@163.com（ORCID：0009-0008-8606-2769）

摘要：目的　探讨牙髓间充质干细胞（DPSC）在体内外实验中对自身免疫性肝炎的治疗作用及相关机制。**方法**　首先通过体外共培养体系评估DPSC的免疫调节作用；然后进行动物实验，将32只小鼠随机分成健康对照组、模型组、阳性药物组、DPSC治疗组，每组8只。检测各组血清ALT、AST及炎症因子水平，HE染色评估肝脏病理损伤。计量资料符合正态分布多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用LSD-t检验。**结果**　体外实验结果显示DPSC的CD105、CD73和CD90阳性率分别为99.97%、100%和99.53%；而CD34、HLA-DR和CD45阳性率分别为0.56%、0.17%和0，符合间充质干细胞特征。DPSC可显著抑制辅助性T细胞（Th）1和Th17的增殖，抑制率分别为31.32%、45.76%；DPSC可促进调节性T细胞（Treg）（$CD4^+CD25^+FoxP3^+$）的增殖，促进率为52.29%。DPSC对淋巴细胞的增殖抑制率为93.70%。在自身免疫性肝炎小鼠模型中，DPSC治疗组小鼠血清ALT、AST水平较模型组显著下降66.8%和60.0%（t值分别为3.321、2.907，P值分别为0.007 5、0.017 5），炎症相关因子TNF-α和IL-1β显著下降57.5%和71.3%（t值分别为2.484、2.796，P值分别为0.039 8、0.020 6），组织病理学结果显示门静脉周桥接坏死改善不明显（t=1.969，P=0.098）。**结论**　DPSC通过免疫调节有效缓解免疫性肝损伤，为临床转化提供了实验依据。

关键词：间质干细胞；牙髓；肝炎，自身免疫性；小鼠，近交BALB/C；免疫调节

基金项目：北京市科技新星计划交叉合作项目（20220484166）

Therapeutic effects of dental pulp stem cells in a mouse model of autoimmune hepatitis and related immunoregulatory mechanisms

LI Yin[1], *LI Xiaodong*[2], *SONG Guangyuan*[2], *SHI Wanwan*[3], *WANG Guiqiang*[3]

1. Department of Stomatology, Beijing Jishuitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100035, China; 2. Beijing Engineering Research Center of Immunocellular Therapy, Beijing 102609, China; 3. Department of Infectious Diseases, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China

Corresponding authors: WANG Guiqiang, john131212@hotmail.com (ORCID: 0000-0003-0515-7974); LI Yin, leeyin78@163.com (ORCID: 0009-0008-8606-2769)

Abstract: Objective　To investigate the therapeutic effect of dental pulp stem cells (DPSCs) on autoimmune hepatitis in *in vivo* and *in vitro* experiments and the related mechanism. **Methods**　An *in vitro* co-culture system was used to evaluate the immunoregulatory effect of DPSCs, and 32 mice were randomly divided into healthy control group, model group, positive drug group, and DPSCs treatment group, with 8 mice in each group. The serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and inflammatory factors were measured, and HE staining was used to assess liver pathological injury. An analysis of variance was used for comparison of normally distributed continuous data between multiple groups, and the least significant difference t-test was used for further comparison between two groups. **Results**　The *in vitro* experiment showed that the

positive rates of CD105, CD73, and CD90 in DPSCs were 99.97%, 100%, and 99.53%, respectively, while the positive rates of CD34, HLA-DR, and CD45 were 0.56%, 0.17%, and 0, respectively. DPSCs significantly inhibited the proliferation of Th1 and Th17 subsets, with inhibition rates of 31.32% and 45.76%, respectively; DPSCs promoted the proliferation of Treg ($CD4^+CD25^+FoxP3^+$), with a promoting rate of 52.29%. DPSCs had an inhibition rate of 93.70% on the proliferation of lymphocytes. In the mouse model of autoimmune hepatitis, compared with the model group, the DPSCs treatment group had significant reductions in the serum levels of ALT and AST, with reduction rates of 66.8% and 60.0%, respectively (t=3.321 and 2.907, P=0.007 5 and 0.017 5) and significant reductions in the inflammatory factors tumor necrosis factor-α and interleukin-1β, with reduction rates of 57.5% and 71.3%, respectively (t=2.484 and 2.796, P=0.039 8 and 0.020 6), and histopathological examination showed no significant improvement in periportal bridging necrosis (t=1.969, P=0.098). **Conclusion** DPSCs effectively alleviate immune-mediated liver injury through immunoregulation, which provides an experimental basis for clinical translation.

Key words: Mesenchymal Stem Cells; Dental Pulp; Hepatitis, Autoimmune; Mice, Inbred BALB C; Immunoregulation

Research funding: Beijing Nova Program (20220484166)

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)是一种由自身免疫异常导致的肝脏炎症性疾病,多发于女性,其临床表现通常为转氨酶升高、自身抗体如抗核抗体及平滑肌抗体等检测阳性、IgG水平升高,病理方面表现为巨噬细胞和浆细胞增多,肝组织中淋巴细胞浸润形成界面性肝炎[1]。现有AIH的一线治疗为糖皮质激素(泼尼松/泼尼松龙)联合硫唑嘌呤[2]。然而,有20%患者对标准治疗应答不佳,且长期使用可导致骨质疏松、代谢综合征等疾病发生;同时,基线碱性磷酸酶升高者停药后复发风险增加,需终身监测[3]。

间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)最早在成人骨髓中被发现,是一种黏附的成纤维细胞样群体[4-5]。MSC具有与多种免疫系统细胞相互作用的免疫调节特性,包括对T细胞[6-7]、B细胞[8]、树突状细胞[9-10]和自然杀伤细胞[11]等的免疫抑制作用。当暴露于炎症环境中时,MSC可以通过释放多种介质(包括免疫抑制分子、生长因子、外泌体、趋化因子、补体成分和各种代谢产物)来协调局部及全身的先天性和适应性免疫反应[12-13]。牙髓间充质干细胞(dental pulp stem cell, DPSC)作为一种独特的干细胞来源,正在被探索用于细胞医学、组织再生和各种疾病的组织工程[14-18]。DPSC可通过分泌IL-10、转化生长因子(TGF)-β等抗炎因子抑制T细胞活化,并分化为肝细胞、成骨细胞等多种功能细胞[19]。在治疗机制上,DPSC主要通过抑制增殖活化的淋巴细胞和促进调节性T细胞(Treg)的形成。体外研究表明,PHA-$CD3^+$ T细胞相关的旁分泌机制中的可溶性因子和细胞因子等具有免疫抑制效应[20]。

刀豆蛋白A(ConA)诱导的小鼠肝炎是经典的T细胞依赖性肝炎模型。该模型在临床表现和组织病理学特征(如肝细胞坏死、炎症细胞浸润)方面与人类AIH高度相似。静脉注射ConA后,活化的T细胞和巨噬细胞会释放大量炎症因子[如肿瘤坏死因子(TNF)-α、干扰素(IFN)-γ、IL-6],导致肝损伤,表现为血清ALT和AST显著升高,这些指标变化同样是人类AIH的重要特征。已有研究表明在小鼠模型中DPSC在逆转肝脏炎症和逆转肝纤维化方面与脐带血来源的MSC有类似的治疗效果[21]。另一项研究也揭示了DPSC在体内具有抗纤维化和抗炎作用以及促进肝源性相关肝再生的作用[22]。本研究旨在通过体内外实验验证DPSC对自身免疫性肝损伤小鼠模型的疗效及其免疫调控作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物、材料和仪器 实验动物选用质量20~25 g的雄性8周龄BALB/C小鼠32只,均购自上海灵畅生物科技有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(沪)2023-0003,动物使用许可证号:SYXK(沪)2020-0034。牙髓来源于患者捐赠。药品生产质量管理规范(GMP)级MSC无血清培养基购自友康生物科技(北京)股份有限公司;GMP级MSC无血清培养基添加剂购自友康生物科技(北京)股份有限公司;外周血单核细胞(PBMC)购自浙江自贸区迈顺生物科技有限公司;羧基荧光素琥珀酰亚胺酯(CFSE)细胞增殖试剂盒购自美国Thermo Fisher;DxFLEX流式细胞仪购自美国贝克曼公司。anti-CD34、anti-HLA-DR、anti-CD45、anti-CD90、anti-CD105、anti-CD73、anti-CD8、anti-IFN-γ、anti-IL-17A、anti-CD25和anti-FoxP3均购自美国Biolegend公司。三系分化培养基及其添加物购自加拿大Stemcell公司。丝裂霉素C购自美国Sigma公司。

1.2 DPSC的分离与培养 取出患者捐赠牙齿中的牙髓后进行消化和培养,培养液为包含GMP级MSC无血清

培养基添加剂的GMP级MSC无血清培养基。

1.3 细胞表型测试 将DPSC重悬于PBS溶液中，细胞密度调整为2×10^6个/mL，分成6管，每个待测管中加入200 μL细胞悬液，分别加入anti-CD34、anti-HLA-DR、anti-CD45、anti-CD90、anti-CD105和anti-CD73，室温孵育20 min。孵育结束后PBS洗2次，行流式细胞仪检测，以上实验均需避光操作。

1.4 三系分化检测 成骨分化：将DPSC按每孔5×10^4个细胞加入六孔板中，置于培养箱中直至细胞汇合度达到约70%，吸弃干细胞培养基，加入成骨分化培养基（4倍体积基础培养基+1倍体积的添加物），继续培养，每3天更换一次培养基，直至显微镜下观察到骨基质形成，使用茜素红进行染色观察。

成脂分化：将DPSC按每孔5×10^4个细胞加入六孔板中，置于培养箱中直至细胞汇合度达到约100%，吸弃干细胞培养基，加入成脂分化培养基（4倍体积基础培养基+1倍体积的添加物），继续培养，每3天更换一次培养基，直至显微镜下观察到油滴，继续培养6天，使用油红O染色。

成软骨分化：取消化后的DPSC约5×10^5个细胞离心并重悬于成软骨分化培养基（4倍体积基础培养基+1倍体积的添加物）中，将含细胞的离心管置于培养箱中培养，每3天进行一次半换液，直至细胞形成软骨球后切片，使用阿利新蓝染色。

1.5 辅助性T细胞（Th）1、Th17增殖抑制实验 空白刺激组在12孔细胞培养板中加入PBMC、PHA（总浓度2.5 μg/mL）、IL-2（终浓度50 U/mL），实验组将DPSC接种六孔板过夜孵育后加入终浓度5 μg/mL的丝裂霉素C处理2 h，与PBMC共孵育48～72 h，加入终浓度2.5 μg/mL的PHA作为刺激剂培养4～6 h后，收集细胞悬液离心后重悬，加入anti-CD3、anti-CD4、anti-CD8室温避光孵育20 min，PBS清洗2次，加入固定破膜液，2～8 ℃避光孵育20 min，破膜液清洗2次，加入anti-CD3、anti-CD4、anti-CD8、anti-IFN-γ和anti-IL-17A，2～8 ℃避光孵育30 min，孵育结束后使用破膜液清洗2次，PBS重悬，进行流式细胞仪检测。

1.6 Treg增殖促进实验 单培养组在12孔细胞培养板中加入PBMC，共培养组将DPSC接种六孔板过夜孵育后加入丝裂霉素C处理2 h，与PBMC共孵育48～72 h，收集细胞悬液离心后重悬，加入CD3、CD4、CD25室温避光孵育20 min，PBS清洗2次，加入固定破膜液，2～8 ℃避光孵育45 min，破膜液清洗2次，加入anti-CD3、anti-CD4、anti-CD25和anti-FoxP3，2～8 ℃避光孵育30 min，孵育结束后使用破膜液清洗2次，PBS重悬，进行流式细胞仪检测。

1.7 淋巴细胞增殖抑制实验 标记刺激组为PBMC+CFSE（终浓度5 μmol/L）+PHA+IL-2，实验组将DPSC接种六孔板过夜孵育后加入丝裂霉素C处理2 h，与用CFSE标记的PBMC共孵育48～72 h，收集细胞悬液离心后PBS重悬，进行流式细胞仪检测。

1.8 实验动物分组 32只小鼠在造模前1天，按照各组之间差异体质量最小的原则随机分成4组：健康对照组（G1组）、模型组（G2组）、阳性药物组（G3组）、干细胞治疗组（G4组），每组8只小鼠。

1.9 ConA诱导造模及给药 给予ConA造模的当天设定为第0天（0 h）。G2～G4组动物在第0天（0 h）通过尾静脉注射20 mg/kg ConA诱导小鼠免疫性肝损伤，建立AIH模型；G1组按照同样的方式和剂量注射PBS。G3组：在ConA造模前2 h给予150 mg/kg NAC（N-乙酰半胱氨酸）；G4组：在ConA造模后1 h尾静脉给予干细胞注射液1×10^6个细胞/只小鼠。所有小鼠在ConA诱导造模8 h后，进行终点取材。收集动物血清和肝脏样品。血清样品在收集后快速冷冻并保存在−80 ℃冰箱中，用于体外血生化指标检测。肝组织样品分成2份，1份用液氮快速冷冻后保存在−80 ℃冰箱中用于体外检测使用；1份用福尔马林固定后用于病理分析。

1.10 血清生物标志物检测 按照试剂盒的说明检测ALT、AST、TBil、IL-6、TNF-α、IL-1β的水平。将所有试剂置于室温，用200 μL/孔的Wash Buffer洗涤3次。每孔加入50 μL制备好的样品，用黏接板密封，在摇床上室温孵育2 h。用200 μL/孔的Wash Buffer洗涤3次。每孔加入25 μL检测抗体溶液，用黏接板密封，在摇床上室温孵育2 h。用200 μL/孔的Wash Buffer洗涤3次。每孔加入150 μL 2×Read buffer T，在MSD仪器上进行分析。上述所有血清生物标志物检测均重复3次，取平均值。

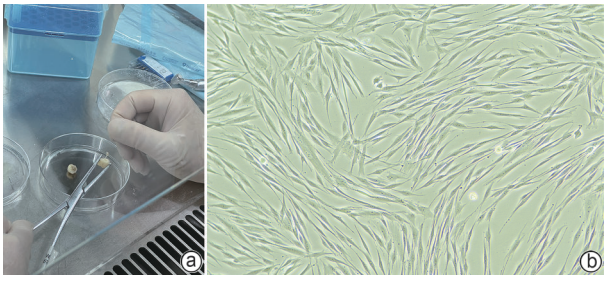
1.11 组织病理学分析 所有肝脏样品均通过脱水仪器（Leica HistoCore Pearl-0348）脱水，然后使用石蜡包埋机进行包埋，再通过Lecia RM2245机器将嵌入的肝脏样品切片。切片HE染色后，由病理专家对样品进行慢性肝损伤单盲评分，包含门静脉周桥接坏死、小叶内肝细胞变性和局灶性坏死、汇管区炎症、纤维化四个维度，按严重程度进行综合评分。

1.12 统计学方法 采用SPSS 25.0统计软件进行数据分析。计量资料符合正态分布以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用LSD-t检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　DPSC的分离、培养与鉴定　本实验自牙髓组织中分离获得PBMC（图1a），在培养过程中呈梭形且螺旋生长的细胞形态（图1b）。流式细胞仪检测结果显示，DPSC的CD105、CD73和CD90表达阳性，阳性率分别为99.97%、100%和99.53%；而CD34、HLA-DR和CD45表达为阴性，阳性率分别为0.56%、0.17%和0（图2），符合MSC的特征。成骨诱导发现细胞形态发生明显变化，有明显的红色钙结节组织；成脂分化显示DPSC周围出现空泡状的脂滴，脂滴呈现橘红色；成软骨分化中，细胞内缩脱落呈现为软骨球，培养后切片染色，显示蓝色的软骨组织（图3）。

2.2　DPSC的体外免疫调节作用　流式细胞仪检测结果显示，与对应的空白刺激组相比，DPSC与PBMC共培养后Th1（$CD4^+IFN\gamma^+$）的增殖抑制率为31.32%（15.36% vs 10.55%）（图4a），Th17（$CD4^+IL\text{-}17A^+$）的增殖抑制率为45.76%（1.18% vs 0.64%）（图4b）。与对应的单培养组相比，DPSC处理后Treg（$CD4^+CD25^+FoxP3^+$）的增殖促进率为52.29%（1.09% vs 1.66%）（图4c），即干细胞可显著促进Treg细胞增殖。对应的，与刺激后的PBMC培养组相比，DPSC与刺激后PBMC共培养使PBMC出现明显增殖抑制（图4d），对淋巴细胞的增殖抑制率为93.70%（52.72% vs 3.32%）。



注：a，牙髓分离；b，DPSC细胞培养光镜照片（×10）。

图1　DPSC的培养与鉴定

Figure 1　Cultivation and identification of DPSC

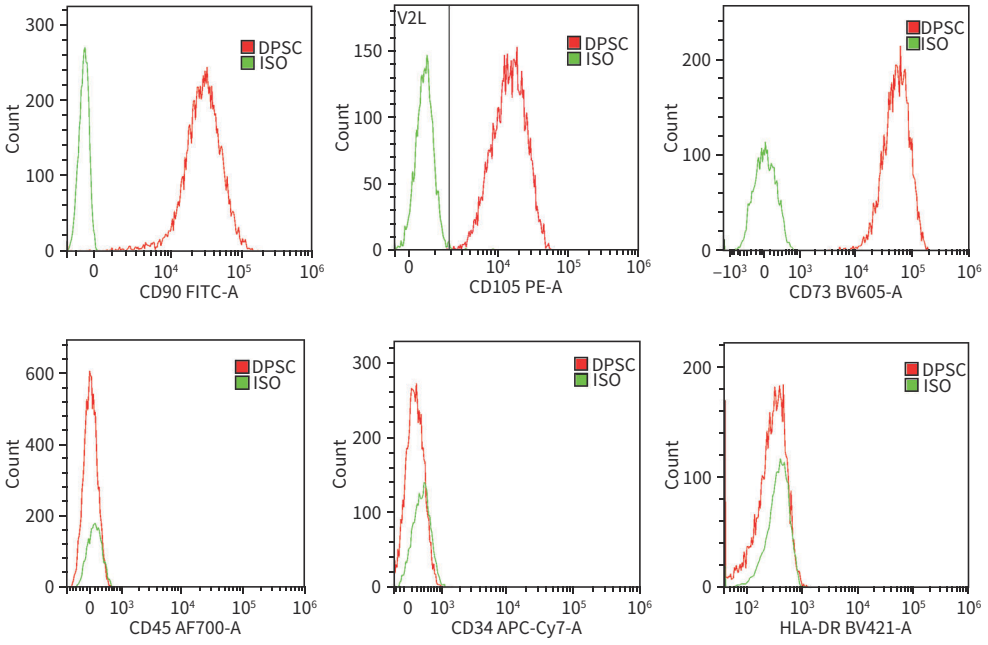
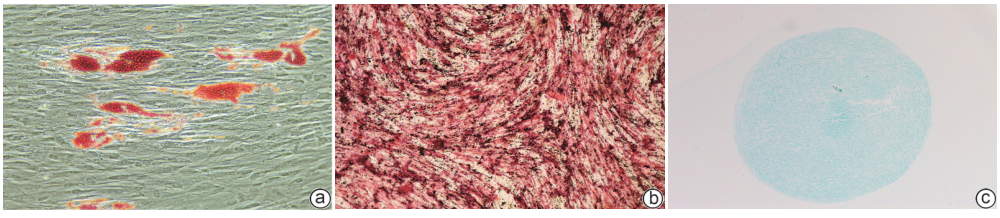


图2　DPSC鉴定的流式细胞仪结果

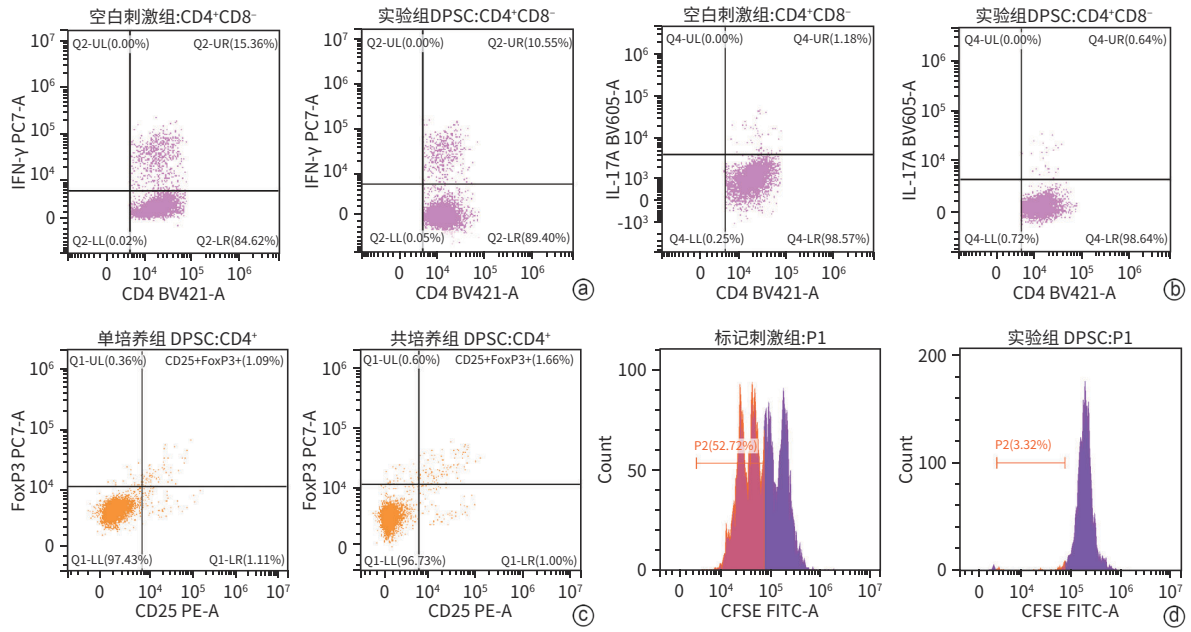
Figure 2　Flow cytometry results of DPSC identification



注：a，成脂分化（油红O染色，×20）；b，成骨分化（茜素红染色，×4）；c，成软骨分化（阿利新蓝染色，×10）。

图3　DPSC的三系分化能力

Figure 3　Osteogenic，adipogenic and chondrogenic differentiation of DPSC



注：a，Th1流式细胞仪结果；b，Th17流式细胞仪结果；c，Treg流式细胞仪结果；d，经CFSE染色的PBMC扩增分析。

图4　DPSC在体外的免疫调节作用

Figure 4　Immunoregulation of DPSC *in vitro*

2.3　DPSC在小鼠模型中对肝脏及外周免疫炎症的作用　实验流程图如图5所示。与G1组相比，ConA造模各组（G2～G4组）的体质量无明显变化（P=0.468）（图6a）。与G1组相比，各模型组（G2～G4组）的肝质量增加（P=0.047）；与G2组相比，G4组小鼠肝质量显著降低（P<0.05），说明干细胞治疗可一定程度改善肝损伤（图6b）。如图7所示，与G1组相比，G2组的肝功能相关指标ALT和AST水平显著升高（P值均<0.001），同时炎症相关因子TNF-α和IL-1β也显著上升（P值均<0.001），提示ConA通过激活T细胞和NKT细胞，以及释放相应促炎因子，造成免疫性肝损伤。在ConA建模1 h后实施干细胞治疗，发现ALT和AST分别降低66.8%和60.0%（t值分别为3.321、2.907，P值分别为0.007 5、0.017 5），TNF-α和IL-1β分别下降57.5%和71.3%（t值分别为2.484、2.796，P值分别为0.039 8、0.020 6），该结果提示干细胞通过免疫调节作用降低促炎因子释放，减轻炎症反应，保护了小鼠的肝细胞功能。

2.4　DPSC在小鼠模型中对免疫病理损伤的作用　与G1组相比，G2组的门静脉周桥接出现广泛坏死。在ConA建模1 h后实施干细胞治疗，门静脉周桥接坏死无显著变化（t=1.969，P=0.098）（图8）。

3　讨论

MSC的来源广泛，在牙齿、脂肪、脐带、骨髓等多种

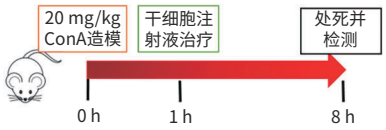
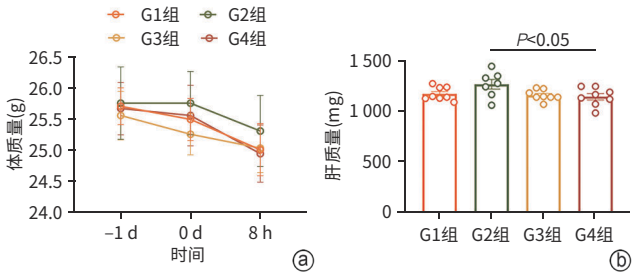


图5　干细胞治疗ConA诱导的自身免疫性肝损伤的动物实验流程图

Figure 5　Flowchart of stem cell treatment for ConA-induced autoimmune liver injury in mouse



注：a，体质量变化；b，肝重量变化。

图6　干细胞治疗前后小鼠体质量和肝质量变化

Figure 6　Changes in body weight and liver weight of mice before and after stem cell treatment

组织中均可提取扩增，具有良好的自我增殖与多向分化潜能，在过继细胞疗法中，其免疫原性低，治疗风险小，副作用少，在临床中的应用日渐广泛。

课题组前期研究对比了DPSC与人骨髓MSC或人脐带MSC在免疫调节方面的差异，并通过转录组测序的方法发现DPSC具有较强的免疫调节能力，通过免疫细胞招募评分可知DPSC对各种免疫细胞的趋化性比脐带干

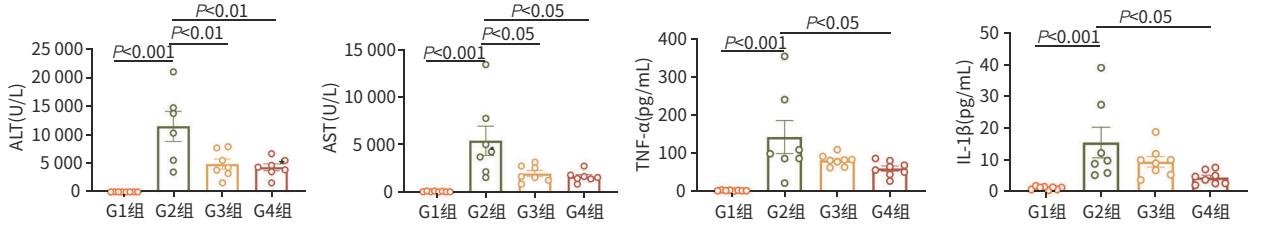
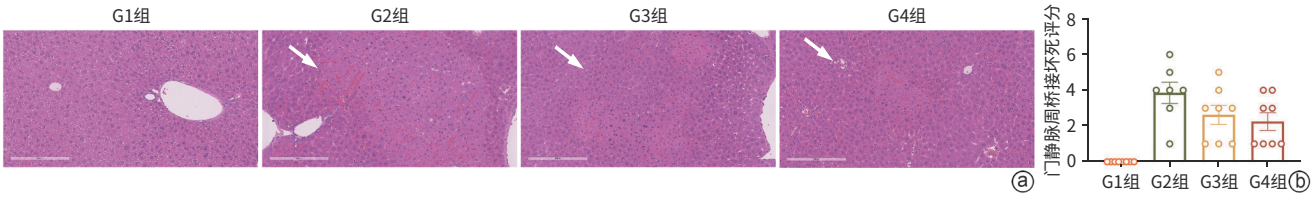


图7　DPSC改善ConA诱导免疫性肝损伤小鼠的转氨酶和炎症因子

Figure 7　DPSC improve transaminase and inflammatory factors in ConA-induced immune liver injury mice



注：a，4组的组织病理学结果（HE染色，×10），白色箭头表示各组门静脉周桥接坏死情况；b，直方图展示病理结果。

图8　各组小鼠肝组织病理学结果

Figure 8　The histopathology results of liver tissues in each group of mice

细胞更强且更广泛，尤其表现在对Th17、Th22和Treg的影响[23]。经过体外验证，研究者发现培养后的DPSC符合MSC的表型特征，与免疫细胞共培养过程中显示出对促炎相关群体如Th1、Th17的明显抑制，抑制率分别达到31.32%和45.76%，该调控作用同时体现在对Treg群体的增殖促进，促进率达52.29%。这种对不同类型T细胞亚群的精准调控作用充分显示DPSC精细的免疫调节能力。从免疫调节作用方面，Th1通过分泌IFN-γ等细胞因子参与细胞免疫反应，在AIH的发病过程中，其过度激活可导致肝细胞受损；Th17则在炎症反应和自身免疫性疾病的发生发展中扮演关键角色，其分泌的IL-17能够招募中性粒细胞至炎症部位，加剧肝脏炎症反应；而Treg作为维持免疫耐受的关键细胞群，能够通过多种机制抑制过度的免疫反应，其数量和功能的增强有助于恢复免疫平衡。DPSC对这些细胞亚群的调节作用，可能通过分泌多种细胞因子和趋化因子，以及与免疫细胞的直接接触等方式实现，从而在细胞水平上减轻肝脏炎症。

在ConA诱导的免疫性肝损伤小鼠模型中，DPSC干预组表现出显著的护肝效应，不仅显著降低血清ALT、AST水平，还有效抑制促炎因子（TNF-α、IL-1β）表达，并具有缓解门静脉周桥接坏死等组织损伤的趋势，进一步验证其抗炎和免疫调节作用。TNF-α和IL-1β作为促炎性细胞因子，在免疫性肝损伤中起着核心作用，其过度表达可激活肝内多种细胞，引发一系列炎症反应，加重肝细胞损伤。DPSC可能通过分泌抗炎因子如IL-10、TGF-β等，抑制炎症因子的产生和释放，阻断炎症信号通路的传导，从而减轻肝脏炎症反应。此外，DPSC还可能通过调节肝脏局部免疫微环境，促进肝脏组织自我修复和再生。

从组织病理学角度分析，经DPSC治疗后，门静脉周桥接坏死情况与造模组相比虽无统计学差异，但其病理损伤程度有好转的趋势。这表明DPSC不仅在分子和细胞水平上发挥作用，还能在组织层面有效缓解肝脏损伤，促进肝脏结构的修复和再生。肝脏损伤后的修复过程涉及多种细胞类型和复杂的细胞信号通路，DPSC可能通过分泌细胞外基质成分、生长因子等，促进肝细胞的增殖和分化，改善肝脏组织的结构和功能。

综上所述，DPSC在自身免疫领域已经取得部分进展，但临床应用治疗AIH仍需进一步探索，尤其是在激素治疗后效果较差或副反应较大的患者群体中疗效亟需评价。基于其较强的免疫调节功能，其抑制肝脏炎症反应的机制与调控淋巴细胞扩增，减少淋巴细胞浸润等有密不可分的关系。与传统治疗方法相比，DPSC治疗具有独特的优势。其来源便捷，可从拔除的智齿或脱落的乳牙中获取，避免了传统骨髓来源干细胞的有创采集过程，减少了患者的痛苦和风险。同时，DPSC具有更强的增殖能力和免疫调节活性，这在体内外实验中已经验证。此外，DPSC的免疫原性较低，不表达MHC-Ⅱ分子，这使其在异体移植时不太可能引发强烈的免疫排斥反应，拓宽了其临床应用的前景。

尽管本研究取得了积极的成果，但仍存在一些局限性和需要进一步探讨的问题。首先，动物模型与人类AIH在病理生理机制上存在差异，DPSC在人体内的疗效

和安全性仍需通过临床试验进行验证。其次，本研究主要关注了DPSC对肝脏炎症的短期调节作用，但对于其在肝纤维化、肝细胞再生等方面的长期影响尚未深入探讨。此外，DPSC的最佳给药剂量、给药时间、治疗疗程等临床应用关键问题，也有待进一步研究明确。未来的研究应进一步优化实验设计，深入探索DPSC的作用机制和临床应用策略，以期为AIH患者带来更有效的治疗方案。

伦理学声明：本研究方案于2023年6月14日经由首都医科大学附属北京积水潭医院动物研究委员会批准，批号：202306006，符合实验室动物管理与使用准则。

利益冲突声明：本文不存在任何利益冲突。

作者贡献声明：李茵负责设计论文框架，起草论文；宋光元负责实验操作，研究过程的实施；李晓东负责数据收集，统计学分析、绘制图表；史婉婉负责论文修改；王贵强负责拟定写作思路，指导撰写文章并最后定稿。

参考文献：

[1] KERKAR N, CHAN A. Autoimmune hepatitis, sclerosing cholangitis, and autoimmune sclerosing cholangitis or overlap syndrome[J]. Clin Liver Dis, 2018, 22(4): 689-702. DOI: 10.1016/j.cld.2018.06.005.

[2] VOLK ML, REAU N. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis in adults and children: A patient-friendly summary of the 2019 AASLD guidelines[J]. Clin Liver Dis (Hoboken), 2021, 17(2): 85-89. DOI: 10.1002/cld.1080.

[3] LOHSE AW, SEBODE M, JØRGENSEN MH, et al. Second-line and third-line therapy for autoimmune hepatitis: A position statement from the European Reference Network on Hepatological Diseases and the International Autoimmune Hepatitis Group[J]. J Hepatol, 2020, 73(6): 1496-1506. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.07.023.

[4] FRIEDENSTEIN AJ. Precursor cells of mechanocytes[J]. Int Rev Cytol, 1976, 47: 327-359. DOI: 10.1016/s0074-7696(08)60092-3.

[5] NOORT WA, KRUISSELBRINK AB, IN'T ANKER PS, et al. Mesenchymal stem cells promote engraftment of human umbilical cord blood-derived CD34$^+$ cells in NOD/SCID mice[J]. Exp Hematol, 2002, 30(8): 870-878. DOI: 10.1016/S0301-472X(02)00820-2.

[6] di NICOLA M, CARLO-STELLA C, MAGNI M, et al. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli[J]. Blood, 2002, 99(10): 3838-3843. DOI: 10.1182/blood.v99.10.3838.

[7] TSE WT, PENDLETON JD, BEYER WM, et al. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: Implications in transplantation[J]. Transplantation, 2003, 75(3): 389-397. DOI: 10.1097/01.TP.0000045055.63901.A9.

[8] CORCIONE A, BENVENUTO F, FERRETTI E, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions[J]. Blood, 2006, 107(1): 367-372. DOI: 10.1182/blood-2005-07-2657.

[9] JIANG XX, ZHANG Y, LIU B, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells[J]. Blood, 2005, 105(10): 4120-4126. DOI: 10.1182/blood-2004-02-0586.

[10] ENGLISH K, BARRY FP, MAHON BP. Murine mesenchymal stem cells suppress dendritic cell migration, maturation and antigen presentation[J]. Immunol Lett, 2008, 115(1): 50-58. DOI: 10.1016/j.imlet.2007.10.002.

[11] SPAGGIARI GM, CAPOBIANCO A, BECCHETTI S, et al. Mesenchymal stem cell-natural killer cell interactions: Evidence that activated NK cells are capable of killing MSCs, whereas MSCs can inhibit IL-2-induced NK-cell proliferation[J]. Blood, 2006, 107(4): 1484-1490. DOI: 10.1182/blood-2005-07-2775.

[12] SHI YF, WANG Y, LI Q, et al. Immunoregulatory mechanisms of mesenchymal stem and stromal cells in inflammatory diseases[J]. Nat Rev Nephrol, 2018, 14(8): 493-507. DOI: 10.1038/s41581-018-0023-5.

[13] STEFAŃSKA K, VOLPONI AA, KULUS M, et al. Dental pulp stem cells-A basic research and future application in regenerative medicine[J]. Biomed Pharmacother, 2024, 178: 116990. DOI: 10.1016/j.biopha.2024.116990.

[14] LIU H, GRONTHOS S, SHI S. Dental pulp stem cells[J]. Methods Enzymol, 2006, 419: 99-113. DOI: 10.1016/s0076-6879(06)19005-9.

[15] TAŞLI PN, TAPŞIN S, DEMIREL S, et al. Isolation and characterization of dental pulp stem cells from a patient with Papillon-Lefèvre syndrome[J]. J Endod, 2013, 39(1): 31-38. DOI: 10.1016/j.joen.2012.09.024.

[16] RODAS-JUNCO BA, VILLICAÑA C. Dental pulp stem cells: Current advances in isolation, expansion and preservation[J]. Tissue Eng Regen Med, 2017, 14(4): 333-347. DOI: 10.1007/s13770-017-0036-3.

[17] LAN XY, SUN ZW, CHU CY, et al. Dental pulp stem cells: An attractive alternative for cell therapy in ischemic stroke[J]. Front Neurol, 2019, 10: 824. DOI: 10.3389/fneur.2019.00824.

[18] MATSUBARA K, MATSUSHITA Y, SAKAI K, et al. Secreted ectodomain of sialic acid-binding Ig-like lectin-9 and monocyte chemoattractant protein-1 promote recovery after rat spinal cord injury by altering macrophage polarity[J]. J Neurosci, 2015, 35(6): 2452-2464. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4088-14.2015.

[19] LI FY, WANG XX, SHI J, et al. Anti-inflammatory effect of dental pulp stem cells[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1284868. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1284868.

[20] DEMIRCAN PC, SARIBOYACI AE, UNAL ZS, et al. Immunoregulatory effects of human dental pulp-derived stem cells on T cells: Comparison of transwell co-culture and mixed lymphocyte reaction systems[J]. Cytotherapy, 2011, 13(10): 1205-1220. DOI: 10.3109/14653249.2011.605351.

[21] CHEN PX, LIN YC, LIN WB, et al. Human dental pulp stem cells have comparable abilities to umbilical cord mesenchymal stem/stromal cells in regulating inflammation and ameliorating hepatic fibrosis[J]. Hum Cell, 2024, 37(1): 204-213. DOI: 10.1007/s13577-023-01004-3.

[22] IWANAKA T, YAMAZA T, SONODA S, et al. A model study for the manufacture and validation of clinical-grade deciduous dental pulp stem cells for chronic liver fibrosis treatment[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 134. DOI: 10.1186/s13287-020-01630-w.

[23] LI Y, SONG GY, JIANG Y, et al. Single-cell transcriptome analysis of stem cells from human exfoliated deciduous teeth investigating functional heterogeneity in immunomodulation[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 31279. DOI: 10.1038/s41598-024-82734-8.

收稿日期：2025-05-26；**录用日期：**2025-06-26

本文编辑：王亚南

引证本文：LI Y, LI XD, SONG GY, et al. Therapeutic effects of dental pulp stem cells in a mouse model of autoimmune hepatitis and related immunoregulatory mechanisms[J]. J Clin Hepatol, 2025, 41(7): 1351-1357.
李茵, 李晓东, 宋光元, 等. 牙髓间充质干细胞治疗自身免疫性肝炎小鼠模型的效果及其免疫调控机制[J]. 临床肝胆病杂志, 2025, 41(7): 1351-1357.