

骨髓间充质干细胞在移植免疫方面的研究进展*

黄小进 王效民[△]

(福建医科大学教学医院 厦门大学医学院附属中山医院) 福建 厦门 361000)

摘要:骨髓间充质干细胞(Mesenchymal stem cells, MSCs)是存在于骨髓中一类低免疫原性的非造血成体干细胞,体外研究表明MSCs能够通过抑制混合淋巴细胞反应、抑制抗原呈递细胞分化成熟及功能发挥、抑制CTL形成、抑制NK细胞活性、增加调节性T细胞比例等途径发挥免疫调节作用。体内实验证明, MSC输注能够延长狒狒异体皮肤移植的存活时间,而在小鼠心脏移植的模型中,体外诱导免疫耐受的MSCs在活体内反而加速了小鼠的排斥反应,临床上输注MSCs可缓解移植物抗宿主病(GVHD)。本文对MSCs的免疫学特性及免疫调控功能的研究进展作一综述。

关键词:间充质干细胞;免疫调控;移植物抗宿主病;移植免疫

中图分类号:R392.4, Q813 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2008)09-1771-03

A dvancement in Research on Immunomodulatory Function of Mesenchymal Stem Cells*

HUANG Xiaojin, WANG Xiaomin[△]

(Fujian medical university, fuzhou 35004 china, Xiamen University, Xiamen 361000 China)

ABSTRACT: Mesenchymal stem cells (MSCs) are a kind of adult stem cells with low immunogenic and able to exert immunomodulatory function by various approaches, such as suppression of lymphocyte proliferation through the mixed lymphocyte reaction, reduction of the dendritic cell generation, maturation and function, inhibition NK activity, down-regulation of the CTL formation and enhancement of regulatory T-cell proportion. In vivo experiments show that MSCs infusion can prolong the survival time of allogeneic skin graft in baboon, but aggravation of acute rejection of heart allograft in mice, clinical reports have been documented about clinical application of MSC in the management of graft-versus-host disease. In this review, the immunological characteristics and the immunomodulation functions in vitro and in vivo of MSCs were summarized.

Key words: Mesenchymal stem cells; Immunomodulation; Graft-versus-host disease; Transplantation Immunology

Chinese Library Classification: R730.51, R457 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2008)09-1771-03

器官移植已逐渐成为治疗各种终末期肾、肝、心、肺疾病的首选治疗方案,已有报道,骨髓干细胞移植后在受体体内可通过形成稳定的造血系统的嵌合状态诱导对供者移植物的特异性耐受^[1]。将胚胎样干细胞移植入未经任何预处理的大鼠体内形成造血嵌合状态可特异性地诱导受体对相同供者来源的心脏移植物的耐受^[2]。但是胚胎干细胞潜在的致癌性和它所存在的伦理道德的问题限制了它的临床应用。骨髓间充质干细胞(Mesenchymal stem cells, MSCs)是存在于骨髓中一类非造血干细胞,在适宜的条件下可以分化为多种组织细胞,如成骨细胞^[3]、软骨细胞、成肌细胞、神经细胞等等^[4]。具有容易获得、容易体外培养增殖、抗原性小、组织修复能力强等特性,是移植领域应用前景广阔的种子细胞。利用MSCs的低免疫原性,抑制免疫反应的功能,在细胞移植、器官移植等方面的应用研究已成为热点。本文就MSCs的免疫特性以及诱导移植免疫耐受的研究进展作一综述。

1 MSCs的低免疫原性

大量文献显示MSCs能逃避同种异体免疫反应细胞的识别,或者说MSCs具有低免疫原性^[5]。MSC不表达MHC II类分子和FasL,不表达共刺激分子B7-1, B7-2,也不表达或低水平表达MHC I类分子, CD40和CD40L^[6]。此外将MSCs与异基因外周血单个核细胞或同种异体T细胞共同培养后不能引起同种异体T细胞显著的增殖,不能刺激外周血单个核细胞释放干扰素(INF- γ),与之相反,人或鼠科动物的成纤维细胞则能刺激T细胞,分泌INF- γ ^[7]。MSCs不仅具有低免疫原性还具备较低的抗原提呈能力。这种免疫逃避机制可能在器官移植方面有临床应用价值。一项体外的实验证实,相对于自体MSCs,同种异体的间充质干细胞有更强的免疫抑制作用^[8],通常MSCs被认为表达MHC I类抗原,低表达MHC II类抗原,但是Krampera等。发现鼠科动物MSC既不表达MHC I类抗原也不表达MHC II类抗原^[9],而Potian等^[10]发现人的MSC既表达MHC I类抗原也表达MHC II类抗原,但是二者都没有免疫原性,都对免疫反应有抑制作用,这说明MHC的表达与否并不是MSCs免疫逃避或者免疫抑制的原因。在 γ 干扰素作用下可以诱导

* 基金项目:卫生部科学研究基金福建省卫生教育联合攻关计划项目(WKJ2005-2-020)

作者简介:黄小进(1973-)男,硕士,主治医师,主要研究方向:移植免疫, Tel:13600900216, E-mail:docthrhx@hotmail.com

[△]通讯作者:姓名 王效民, E-mail:wxm@xmzsh.com

(收稿日期:2008-03-13 接受日期:2008-04-15)

MHC II 类抗原的表达,但经过这样处理的 MHC 并不能刺激 T 细胞的增生和分化^[11],这说明 MSCs 免疫抑制的机制并不依赖 MHC 表达,抗原递呈细胞和调节性 T 细胞。Nicola 等应用 Transwell 的研究表明,细胞间的直接接触和 MSCs 产生的可溶性的细胞因子都在 MSCs 的免疫抑制中起着一定的作用^[12]。

2 体外 MSCs 免疫抑制作用

体外研究表明, MSCs 能够抑制混合淋巴细胞反应 (MLR) 中或丝裂源 PHA 刺激引起的 T 淋巴细胞的增殖, MSCs 还能够抑制抗 CD3 抗体和抗 CD28 抗体刺激引起的 T 细胞的增殖反应,进一步的研究表明 MSCs 对 T 淋巴细胞增殖反应的抑制作用与 MSCs 的来源无关, MSCs 的抑制作用是不受主要组织相容性复合物限制的,因为 MSCs 不论来自与刺激细胞,效应细胞相同的供体或是来自第三者,都具有抑制作用^[13]。MSCs 对淋巴细胞亚群的抑制作用已经有很多报道。CD3+、CD4+、CD8+T 细胞都是有抑制作用^[14]。鼠源性的 MSCs 显示对 T 细胞、B 细胞的分裂增殖均有抑制^[15]。MSCs 培养液的上清对 T 细胞的活化没有影响,但对激活的 B 细胞有抑制作用,在通过 IL-4, 抗 CD40 激活的鼠科动物的 B 细胞中, MSCs 培养液的上清显示出抑制作用^[16]。MSCs 抑制免疫并不是通过诱导淋巴细胞凋亡或致 T 细胞无能而实现的,有文献报道加入抗 -TGF β 可恢复 T 细胞增殖,这提示细胞因子在 MSCs 抑制免疫中起到重要的中介作用^[17]。很多研究显示不论是自体的,还是同种异体的 MSCs 都对免疫反应有抑制作用。这说明 MSCs 具有遗传的非限制性, Djouad [18] 等证实无论人源的还是鼠源的 MSCs 都能抑制异基因的混合淋巴细胞试验,这说明其作用机制可能是跨越物种界限。MSCs 与淋巴细胞以隔膜分离或直接细胞接触其抑制率相似,这表明抑制效应是由可溶性因子介导的。MSCs 不是 CTL 的靶细胞,实验表明 CTL 在裂解相应靶细胞时,对同一供体来源的 MSCs 却没有裂解效应^[19]。Jiang^[20] 等证明, MSC 抑制了 CD14 单核细胞向 DC 的分化; MSC 在 DC 成熟的过程中下调了 APC 相关分子,如 CD1a、CD40、CD80、CD83、CD86 和 HLA-DR 的表达,体系中如去除 MSC 并加入 DC 的诱导剂后可逆反这种抑制作用。与 MSC 共培养后的 DC 与单纯 DC 相比,炎症因子如 IFN- γ 、IL-12、TNF- α 分泌减少,炎症抑制因子如 IL-10 分泌增加。最近, Nauta 等^[21] 报道了 MSC 不仅对单核细胞来源 DC, 并且对 CD34 细胞来源 DC 的分化和功能也有抑制作用。此研究结果提示, MSC 抑制 DC 的发育与成熟是其免疫调节功能的机制之一。MSC 能抑制由白介素-2 激活的 NK 细胞分泌 INF- γ ^[22], MSCs 不能诱导 NK 细胞产生 INF- γ , 说明它不能激活 NK 细胞,而且它们可逃避被同种异体反应的自然杀伤细胞的识别,不能够被同种异体的细胞毒性 T 淋巴细胞或自然杀伤细胞裂解^[23]。

3 MSCs 在活体内免疫抑制的作用

实验发现骨髓移植同时进行骨移植能促进嵌合体的形成,延长移植物的存活时间,表明骨中包含了具有免疫调节能力的细胞^[24]。Bartholmew 等^[25] 以狒狒为动物模型,发现以 2.0×10^6 MSC/kg 体重剂量输注体外扩增的供体狒狒的 MSCs 可以延长组织不相容植皮的存活时间,即使采用第三方 (即不是

供体也不是受体) MSCs 输注仍能抑制免疫排斥反应。2000 年 Liechty 等^[26] 报道,将人体 MSCs 植入妊娠早期的胎羊,在胎羊免疫功能发育前及发育后分别植入,在这种异基因的体系中,人类 MSCs 在各种组织中持续存在达 13 个月,移植的人类 MSCs 经历了部位特异性分化,成为软骨细胞、脂肪细胞、肌细胞、心肌细胞、骨髓基质细胞和胸腺基质细胞,出乎意料的是,在胎羊免疫功能发育后,这些细胞也能长期存活,而且保持他们各自分化潜能完全没有出现排斥反应。然而, G Rinne 等^[27] 研究用人的 MSCs 治疗小鼠心肌缺血时,在注射 MSCs 一周后发现小鼠外周血单核细胞在注射部位聚集,增殖,分化,而对照组没有这种反应,显示 MSCs 引发了小鼠在心肌的局部免疫反应。Inoue S 关于小鼠心脏移植的模型中,体外诱导免疫耐受的 MSC 在活体内反而加速了小鼠的排斥反应^[28],而在胰岛移植中应用 MSCs 门脉注射后显著延长胰岛细胞的生存时间^[29],这说明 MSCs 在活体内免疫反应的机制比较复杂。

4 MSCs 与移植抗宿主病 (GVHD)

移植抗宿主病是同种异基因造血干细胞移植的主要并发症之一,它是指移植对宿主抗原的反应,移植物中包含成熟 T 细胞,输入宿主体内后对免疫力低下的宿主细胞产生排斥反应,通过刺激宿主细胞释放炎症介质如 TNF- α 、IL-1。轻微的 GVHD 能防止宿主原发病的复发,特别是对白血病,而严重的 GVHD 常常是致命的。急性的 GVHD 机制是供体成熟的 T 细胞遇到宿主抗原递呈细胞 (APC) 时,发生序贯的激活、增殖等反应, MSCs 能抑制 T 细胞的活化与增殖,改变细胞因子的水平与成分,抑制免疫应答,从机理来看 MSCs 有细胞治疗的潜在价值,在动物移植的研究中已取得了令人鼓舞的结果,证明 MSCs 能提高同种异型造血干细胞 (HSC) 的移植成活率^[30]。在临床上病案报告 20 岁女性患急性髓细胞样白血病骨髓移植后出现 IV 度 GVHD,导致肝、肠功能受影响,并且对免疫抑制剂没有反应,在给予其母亲的 MSCs 移植后,肝、肠功能迅速改善,停用环孢霉素 A 后复发,再次输注 MSCs 后,病情再次缓解^[31]。

5 结语

MSCs 体内外的实验研究中所显示出的低免疫原性和免疫调节特性,为它们在器官移植,自身免疫性疾病等方面的临床应用提供了一个新的方法,但是它在活体内是否和体外作用一致,活体内的免疫作用机理,是否会导致感染与肿瘤都有待于进一步研究。从基础研究到临床应用,对 MSCs 诱导移植免疫来说仍有很长的路要走。

参考文献 (References)

- [1] Sorof JM, Koerper MA, Portale AA, et al. Renal transplantation without chronic immunosuppression after T cell-depleted, HLA-mismatched bone marrow transplantation [J]. Transplantation, 1995; 59: 1633-1635
- [2] Fandrich F, Lin X, Chai GX, et al. Preimplantation-stage stem cells induce long-term allogeneic graft acceptance without supplementary host conditioning [J]. Nat Med, 2002; 8: 171-178
- [3] Wang Guang-jun, Zhang Jiao, Zhang Qing-guo. Experimental Study on Repairing of Radial Bone Defects of Rabbits by Implantation of

- BM SCs and Biphasic Ceramics Coated with Low Crystalline Hydroxylapatite[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2007, 7(6): 849-852 (In Chinese)
- [4] Arnold I, Caplan, Scott P, Bruder. Mesenchymal stem cells building blocks for molecular medicine in the 21st century [J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2001, 7(6): 259-264
- [5] B. Maitra, E. Szekely, K. G. Jini, et al. Human mesenchymal stem cells support unrelated donor hematopoietic stem cells and suppress T-cell activation [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2004, 33: 597-604
- [6] Deans RJ, Moseley AB. Mesenchymal stem cells: Biology and potential clinical uses [J]. *Exp Hematol*, 2000, 28: 875-84
- [7] Tse W T, Pendleton JD, Beyer W M, et al. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation [J]. *Transplantation*, 2003, 75: 389-397
- [8] R. Maccario, M. Podesta, A. Moretta, et al. Interaction of human mesenchymal stem cells with cells involved in alloantigen-specific immune response favors the differentiation of CD4+ T-cell subsets expressing a regulatory/suppressive phenotype [J]. *Hematologica*, 2005, 90: 516-525
- [9] M. Krampera, S. Glennie, J. Dyson, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide [J]. *Blood*, 2003, 101: 3722-3729
- [10] J.A. Potian, H. Aviv, N.M. Ponzio, et al. Veto-like activity of mesenchymal stem cells: functional discrimination between cellular responses to alloantigens and recall antigens [J]. *Immunol*, 2003, 171: 3426-3434
- [11] E. Klyushenkova, J.D. Mosca, V. Zemelkina, et al. T cell responses to allogeneic human mesenchymal stem cells: immunogenicity, tolerance and suppression [J]. *Biomol Sci*, 2005, 12: 47-57
- [12] Nicola Di 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: 3838-3843
- [13] LeBlanc K, Tamik L, Sundberg B, et al. Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex [J]. *Immunol*, 2003, 57: 11-20
- [14] K. LeBlanc, I. Rasmussen, C. Gotherstrom, et al. Mesenchymal stem cells inhibit the expression of CD25 (interleukin-2 receptor) and CD38 on phytohemagglutinin-activated lymphocytes [J]. *Immunol*, 2004, 60: 307-315
- [15] A. Ugello, R. Tasso, S.M. Negrini, et al. Bone marrow mesenchymal progenitor cells inhibit lymphocyte proliferation by activation of the programmed death 1 pathway [J]. *Immunol*, 2005, 35: 1482-1490
- [16] S. Glennie, I. Soeiro, P.J. Dyson, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest energy of activated T cells [J]. *Blood*, 2005, 105: 2821-2827
- [17] Tse W T, Pendleton JD, Beyer W M, et al. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation [J]. *Transplantation*, 2003, 75(3): 389-397
- [18] F. Djouad, P. Plence, C. Bony, et al. Immunosuppressive effect of mesenchymal stem cells favors tumor growth in allogeneic animals [J]. *Blood*, 2003, 102: 3837-3844
- [19] Reinsson NL, Jackson A, McSherry C. Organ-specific patterns of donor antigen-specific hyporeactivity and peripheral blood allogeneic microchimerism in lung, kidney, and liver transplant recipients [J]. *Transplantation*, 1995, 60(12): 1546-1554
- [20] Jiang X X, 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
- [21] Nauta A J, Kruiselbrink AB, Lurvink E, et al. Mesenchymal stem cells inhibit generation and function of both CD34+ derived and monocyte-derived dendritic cells [J]. *Immunol*, 2006, 177(4): 2080-2087
- [22] S. Aggarwal, M.F. Pittenger, Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses [J]. *Blood*, 2005, 105: 1815-1822
- [23] Rasmussen I, Ringden O, Sundberg B, et al. Mesenchymal stem cells inhibit the formation of cytotoxic T lymphocytes, but not activated cytotoxic T lymphocytes or natural killer cells [J]. *Transplantation*, 2003, 76: 1208-1213
- [24] Yin D, Ma L, Zeng H. Allograft tolerance induced by intact active bone co-transplantation and anti-CD40L monoclonal antibody therapy [J]. *Transplantation*, 2002, 74(3): 345-354
- [25] Bartholomew A, Sturgeon C, Nelson M, et al. Allogeneic mesenchymal stem cells have significant immunosuppressive activity [J]. *Exp Hematol*, 1999, 27: 123
- [26] Liechty KW, Mackenzie TC, Shaaban AF, et al. Human mesenchymal stem cells engraft and demonstrate site-specific differentiation after in utero transplantation in sheep [J]. *Nat Med*, 2000, 6(11): 1282-1286
- [27] K.H. G. Rinne, A. M. Ansson, G. Dellgren, et al. Xenoreactivity and engraftment of human mesenchymal stem cells transplanted into infarcted rat myocardium [J]. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2004, 127: 1293-1300
- [28] Inoue S, Popp FC, Koehle GE, et al. Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells in a rat organ transplant model [J]. *Transplantation*, 2006, 81(11): 1589-1595
- [29] Chen, L.B., Jiang, X.B., Yang, L.D. Differentiation of rat marrow mesenchymal stem cells into pancreatic islet beta-cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(20): 3016-3020
- [30] Maitra B, Szekely E, G. Jini, et al. Mesenchymal stem cells Human mesenchymal stem cells support unrelated donor hematopoietic stem cells and suppress T-cell activation. *Bone Marrow* [J]. *Transplantation*, 2004, 33: 597
- [31] LeBlanc K, Rasmussen I, Sundberg B, et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells [J]. *Lancet*, 2004, 363: 1439-1441