

文章编号: 1004-0374(2009)05-0701-05

骨髓间充质干细胞的免疫学研究进展

黄鑫[#], 韩晓燕[#], 洪雅贞[#], 苏娟娟, 田新莉,

陈箐, 李文钊, 寿培舜, 黄寅, 曹楷, 时玉舫^{*}

(中国科学院上海生命科学研究院 / 上海交通大学医学院健康科学研究所, 上海 200025)

摘要: 间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是骨髓中除造血干细胞以外的另一种成体干细胞, 广泛分布于动物体内骨髓、肝脏、脂肪等多种组织中。MSCs 具有强大的自我更新能力和多向分化潜能, 是移植领域应用前景广阔的再生来源细胞; 同时, MSCs 是一种重要的免疫调节细胞, MSCs 在炎症细胞因子刺激后对免疫系统表现出很强的抑制作用, 所以 MSCs 有望应用于减少免疫排斥, 延长移植体存活时间, 治疗相关免疫失调症, 如自身免疫疾病等方面。本文主要对间充质干细胞与免疫系统相互作用的研究做相关介绍。

关键词: 干细胞; 间充质干细胞; 免疫调节; 自身免疫病

中图分类号: Q813 **文献标识码:** A

Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells

HUANG Xin[#], HAN Xiao-yan[#], HONG Ya-zhen[#], SU Juan-juan, TIAN Xin-li, CHEN Qing,

LI Wen-zhao, SHOU Pei-shun, HUANG Yin, CAO Kai, SHI Yu-fang^{*}

(Institute of Health Sciences, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences & Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Abstract: Mesenchymal stem cells are a kind of adult stem cells existing in many tissues including bone marrow, liver, and fat and play a critical role in the maintenance of the cellular homeostasis in various tissues. Due to their strong self-renewal capacity and high potential of multilineage differentiation, MSCs are expected to contribute significantly to the development of new strategies for the treatment of some otherwise incurable disease. In addition, MSCs also possess strong immunomodulatory ability. They can actively suppress immune reactions after being stimulated by inflammatory cytokines, and therefore, they are being investigated for decreasing immunological rejections, prolonging the survival of allogeneic graft, and control autoimmune disorders. This review will focus on the current understanding of the mechanism of the interactions between MSCs and the immune system.

Key words: stem cell; mesenchymal stem cells; immunomodulation; autoimmune disease

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一种多能干细胞, 存在于各组织中并可分化为多种组织细胞, 特别是中胚层和神经外胚层来源的组织细胞, 如神经、软骨和脂肪细胞等^[1]。MSCs 的这种多分化潜能及容易获得、容易体外培养增殖、抗原性小等特性, 使其成为移植领域应用前景广阔的再生来源细胞, 临床应用前景十分广阔。

研究发现, MSCs 是一种重要的免疫调节细

胞。众多体内体外实验表明, MSCs 在刺激后(如体内创伤或体外某些细胞因子刺激)对免疫系统表现

收稿日期: 2009-08-31

基金项目: 中科院上海生命科学院首席科学家基金(SIBS2008005)

[#] 共同第一作者

^{*} 通讯作者: Tel: 021-63848329; E-mail: shiyufang2@gmail.com

出很强的抑制作用^[2]。所以MSCs 正被积极尝试应用于减少免疫排斥，延长移植物存活时间，治疗相关免疫失调症，如自身免疫疾病等方面。

1 MSCs 对免疫系统调控作用的研究

到目前为止，间充质干细胞对免疫系统抑制作用^[3]的机制已较为明确，主要的研究结果(图1)有：

1.1 MSCs 抑制 T 淋巴细胞的增殖

研究表明，细胞间接触及可溶性因子在MSCs 的免疫抑制作用中是关键因素。Krampera 等^[4]研究表明 MSCs 与 T 细胞之间必须接触才能产生抑制作用；而 Di Nicola 等^[5]认为 MSCs 与 T 细胞之间的接触并非必需，但可以增加其抑制作用。至于 MSCs 产生的免疫抑制因子，目前研究较多的包括 TGF β 、IL-10、前列腺素 E2 (PGE2)、肝细胞生长因子 (HGF)、吲哚胺 2,3-二氧化酶 (IDO)、血红素加氧酶 1 (HO-1)、一氧化氮合成酶 (iNOS) 及其产物 NO^[1]。同时无论是细胞之间的接触还是可溶性因子，它们仅仅是 MSCs 免疫抑制效应的启动步骤，启动步骤之后的信号通路网络更是亟需深入探索。

最近我们实验室的研究表明，未经处理的小鼠 MSCs 的确不具备抑制免疫反应的能力，但一旦受到相关促炎症因子的刺激，它们即具有很强的免疫抑制作用。使用激活的 T 细胞培养上清液，或 IFN γ

与 TNF α 、IL-1 α 、IL-1 β 中任一种联合刺激后，MSCs 会分泌大量 T 细胞特异性趋化因子，如 CXCL9、CXCL10 及 CXCL11，并且大幅上调 iNOS 的表达，增加 NO 的生成。T 细胞特异性趋化因子招募 T 细胞，使其聚集于 NO 浓度较高的 MSCs 周围，高浓度的 NO 抑制 T 细胞的增殖^[6]。这一 MSCs 诱导性免疫抑制作用机制的提出，为解释过去实验和临床中遇到的困惑开拓了一种新的思路和方法^[7]。

1.2 MSCs 对 B 细胞的作用是潜在的机制

从骨髓中分离的 MSCs 与从外周血中分离的 B 细胞共培养试验中发现，MSCs 对 B 细胞增殖的抑制作用不是通过诱发其凋亡途径，而是通过将 B 细胞阻滞在细胞周期的 G₀/G₁ 期达到抑制作用。研究还发现，MSCs 抑制 IgM、IgG、IgA 等抗体的产生来抑制 B 细胞的体液免疫作用。而 MSCs 对 B 细胞趋化因子受体 CXCR4、CXCR5 和 CCR7 表达的下调，也影响了其趋化源性^[2]。这一研究预示 MSCs 有望在 B 细胞发挥主要作用的一些免疫系统紊乱疾病中起到一定的治疗作用。

1.3 MSCs 影响 NK 细胞的增殖、细胞毒作用和细胞因子的分泌

NK 细胞有很强的溶细胞作用，但有研究表明，间充质干细胞不能被新鲜分离的 NK 细胞裂解

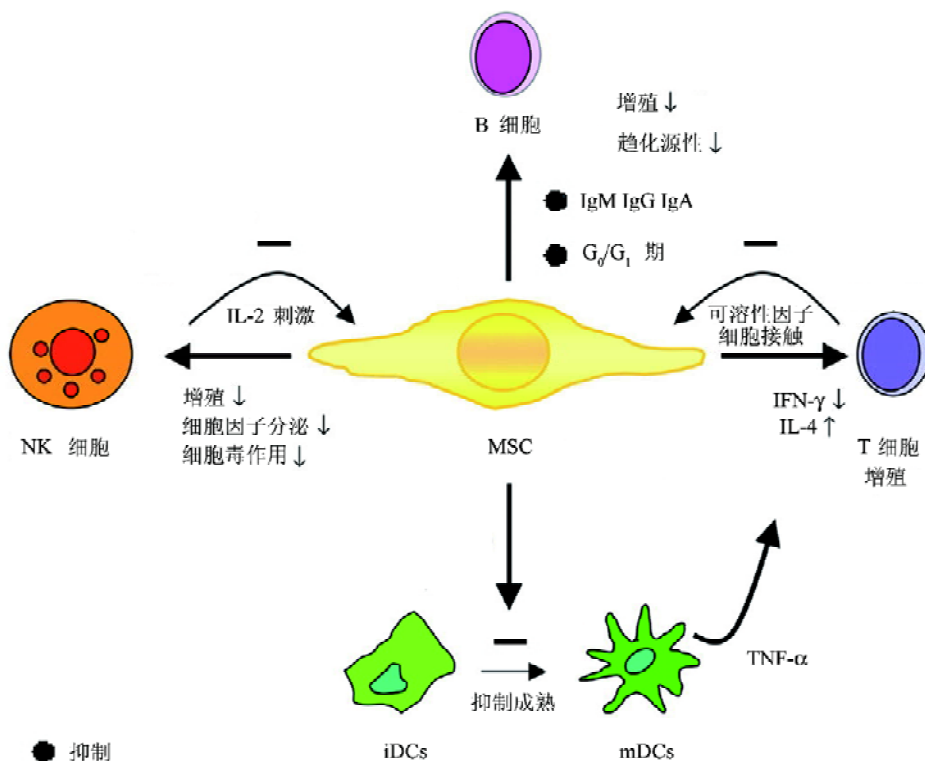


图1 间充质干细胞对免疫系统的调节作用^[3]

杀伤, 但容易被 IL-15 激活的 NK 细胞杀伤。MSCs 强烈抑制 IL-2 激活的 NK 细胞的增殖, 进一步研究发现 MSCs 不仅抑制新鲜分离的 NK 细胞的增殖, 而且影响其细胞因子的分泌以及细胞毒作用。此抑制效应和活化性 NK 受体 NKp30、NKp44 和 NKG2D 表达急剧下调有关^[8]。越来越多的研究证明, NK 细胞在移植物抗宿主反应 (graft versus host disease, GVHD) 及其他移植排斥反应中起重要作用, 因此 MSCs 将为组织器官移植提供新的治疗方法。

1.4 MSCs 影响抗原递呈细胞的成熟、活化和抗原递呈

树突状细胞 (DCs) 是专职抗原递呈细胞, 同时也是最强的刺激 T 淋巴细胞增生的细胞。一方面 DCs 可为 T 细胞递呈抗原及第二共刺激信号, 进一步活化淋巴细胞参与机体免疫反应; 另一方面, DCs 可分泌细胞因子诱导产生调节性 T 细胞 (Treg) 从而介导免疫耐受, 同时它通过直接分泌可溶性细胞因子或间接地经由 T 辅助细胞, 能在激活 B 细胞中起一定作用。因此, 树突状细胞对细胞介导的免疫以及体液免疫都尤为重要。但是, Jiang 等^[9]研究表明, 间充质干细胞和树突状细胞共培养后能够抑制树突状细胞的分化、成熟以及活化。

Zhang 等^[10]用体外培养的方法观察 MSCs 及其上清对单核细胞分化或 DCs 的影响, 结果发现 MSCs 抑制 DCs 分化过程中 CD1a、CD40、CD80、CD86 的表达; 抑制 DCs 成熟过程中 CD40、CD86、CD83 表达的上调。Aggarwal 和 Pittenger^[11]观察 MSCs 对髓系来源 DCs 的影响, 发现 MSCs 下调成熟 DC1 分泌 TNF- α 的能力, 上调成熟 DC2 分泌 IL-10 的能力。而 TNF- α 与 DCs 的成熟、迁移以及表达抗原捕捉和递呈中所需的表面受体的能力密切相关, 表明 MSCs 可通过抑制 DCs 分泌 TNF- α 而抑制 DCs 的成熟、迁移并导致其诱导 T 细胞增殖作用下降。

1.5 MSCs 促进 Treg 的产生

调节性 T 细胞是一个特殊的 T 细胞亚群, 它能抑制免疫系统的激活, 帮助维持稳态和对自身抗原的耐受。研究发现 MSCs 抑制 T 细胞增殖的同时还会降低 IFN- γ 的产生, 增加 IL-4 的产生^[11]。这表明 MSCs 可以调节 T 细胞亚群的平衡, 使其由促炎症状态 (IFN- γ -producing) 转变为抗炎状态 (IL-4-producing)。同时, MSCs 可以诱导 pDC 分泌 IL-10, 通过 IL-10 促进 Treg 的产生。此外, 与抗原特异性 T 细胞共培养, MSCs 可以通过释放 HLA-G5 诱导 Treg 的增殖^[12]。

2 免疫系统对间充质干细胞的调控作用的研究

目前关于 MSCs 免疫调节作用的研究较多, 而临床应用, 如移植后 MSCs 所处微环境对其的作用研究相对较少。由于 MSCs 所处的微环境相当复杂, 相关机制研究较少, 接下来就从可溶性因子及细胞之间的相互接触等方面来介绍一下已有的相关成果。

2.1 可溶性因子

目前研究较多的有趋化因子、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-1 β (IL-1 β)、转化生长因子- α (TGF- α)、促红细胞生成素 (EPO) 等等。

损伤或炎症处的免疫细胞通过分泌趋化因子、细胞因子或生长因子等, 可以促使 MSCs 向损伤处迁移定位。Mishima 和 Lotz^[13]的实验表明 MSCs 能显著地与高浓度 (50 ng/mL) 的 TGF- β 、VEGF、IGF-1、IL-8、PDGF-AA、BMP-2、BMP-4 和 BMP-7 起反应, 其中, 高浓度的 PDGF-AA 对 MSCs 具有最明显的趋化效应。

肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 是损伤部位释放的主要细胞因子之一, 同时也是 NF- κ B 通路的关键调控者。Bocker 等^[14]研究发现 TNF- α 强烈的增强了 hMSCs 穿过细胞外基质的迁移。此外, TNF- α 可以导致增殖相关基因 *cyclin D1* 的表达上调, 阻断 NF- κ B 通路, 还可以使 MSCs 的基底增殖速率下降。这些结果表明, TNF- α 可以通过 NF- κ B 通路调控 MSCs 在组织损伤修复过程中的浸润和增殖。同时 Lacey 等^[15]发现促炎症因子 IL-1 β 和 TNF- α 可以抑制 MSCs 的成骨分化。这两种细胞因子不仅抑制骨矿物质化, 还抑制分化相关的碱性磷酸酶 (ALP) 的活性和 ALP、 $\alpha 1(I)$ *procollagen*、*Runx2*、*osterix* 等基因的表达。在此过程中, 只有 TNF- α 会抑制 *osteonectin* 和 *osteopontin* 的 mRNA 的表达。IL-1 β 抑制细胞增殖。这些研究结果为我们在临床实验研究 MSCs 在骨及其他组织损伤修复过程中对炎症的考虑提供参考基础。

转化生长因子- α (TGF- α) 是创伤愈合和损伤反应的重要调控因子。人的 MSCs 能释放 VEGF, 通过旁分泌途径促进创伤愈合。Wang 等^[16]研究发现 TGF- α 通过 MEK 和 PI3-K 途径使 MSCs 产生的 VEGF 增加, 并且 TNF- α 可以使这一效果更加明显。

而 Bi 等^[17]的研究发现, MSCs 能表达促红细胞生成素的受体 EpoR, 在体外培养时, EPO 能刺激 MSCs 增殖, 并使其不会由于血清缺乏等导致细胞死亡。给小鼠服用 EPO 后, 骨髓及脾脏内的 CD45-

Fli1-CD105⁺MSCs 得到增殖并扩张, 并且, EPO 会诱导这些细胞及 CD45-Fli1⁺ 内皮细胞的前体细胞进入外周循环。

2.2 细胞间的相互接触

2.2.1 自然杀伤细胞(nature killer cells, NK细胞)与 MSCs 前面已经介绍 MSCs 可以快速地抑制 IL-2 诱导的 resting NK 细胞增殖和激活。同时 IL-2 激活的 NK 细胞也会通过 NKp30、NKG2D 和 DNAM-1 有效地杀伤自体或异体 MSCs。相应地, MSCs 也表达 ULBPs、PVR 和 Nectin-2 等被激活的 NK 细胞识别的配体^[8]。

2.2.2 抗原递呈细胞(antigen presenting cell, APC)与 MSCs Beyth 等^[18]研究发现, 在 MSCs 与纯化的 T 细胞培养中, 增加 APC 的量, 能抑制 T 细胞应答和增殖, 这种抑制是细胞接触和浓度依赖的, 同时分泌大量 IL-2、IL-10 和不成熟的 APC。当加入促使 APC 成熟的因子时, MSCs 对 T 细胞抑制作用被部分削减。这说明 MSCs 参与免疫调节是间接地通过依赖 APC 的诱导调节, 而 APC 数量的增长又受控于组织的微环境。

综上所述, 免疫细胞与 MSCs 相互之间通过分泌可溶性因子或细胞之间的直接接触, 使其微环境改变, 进而影响它的定位、增殖、转化及分化, 发挥不同的生物学功能。这个领域的研究刚刚开始, 许多重要问题还有待进一步探索。相信今后这方面的研究将为干细胞生物学及干细胞临床利用提供重要信息。

3 临床应用前景及展望

近年来发现 MSCs 具有的免疫抑制作用使其无论作为干细胞进行组织修复, 还是单独作为免疫抑制剂治疗 GVHD 等免疫相关疾病都具有良好的应用前景。目前, 国内关于 MSCs 的研究较少, 处于对现象的研究阶段, 临床实验很多, 但是机制不明确。

3.1 间充质干细胞在移植和 GVHD 治疗中的应用

由于间充质干细胞具有很强的免疫抑制功能, 它在临床上可以作为很好的免疫抑制剂用于移植和 GVHD 的治疗, 延长移植物的存活时间。Lazarus 等^[19]在用 HLA 同型的双胞胎来源的造血干细胞治疗一例骨髓瘤患者中, 使用了间充质干细胞, 发现它能明显促进移植并且减少 GVHD 的发生。Xu^[20]等选用了同种异基因的鼠皮肤移植模型。将间充质干细胞静脉注射入受体 BALB/c 小鼠, 第二天用供体 C57BL/6

小鼠进行皮肤移植实验。注射了间充质干细胞后, 皮肤移植物的平均生存时间从对照组的 10 d 延长到了用间充质干细胞处理组的 27 d。另外, 也有体外模型证明, 间充质干细胞可以改善炎症和减少角膜缘干细胞移植中的血管形成, 提高移植疗效^[21]。

3.2 间充质干细胞在治疗自身免疫性疾病中的应用

Madec 等^[22]利用 NOD 小鼠建立了自身免疫性糖尿病的体内模型, 静脉注射间充质干细胞观察其对 NOD 小鼠自身免疫性糖尿病的治疗作用, 结果发现, 间充质干细胞能够通过诱导 Treg 的产生来阻止自身免疫系统对胰岛 β 细胞的破坏, 从而缓解病情的进展。实验性自身免疫性脑脊髓炎 (EAE) 是常用的多发性硬化实验动物模型。Zappia 等^[23]研究发现 MSCs 移植在 EAE 炎症初期十分有效, 神经系统的病理结果显示 MSCs 移植后炎性渗出减少, 神经脱髓鞘也减少。Rafei 等^[24]认为间充质干细胞是通过 CCL2 途径抑制 CD4⁺Th17 细胞, 进而对实验性自身免疫性脑脊髓炎起到治疗作用。

3.3 间充质干细胞与肿瘤生长机制的关系研究

目前, 已有报道在肿瘤组织中分离出的肿瘤干细胞具有类似 MSCs 特性^[25]。提示 MSCs 可能对肿瘤组织的生长有着重要的作用, MSCs 对肿瘤组织的影响可能是: (1) MSCs 很可能通过转变成肿瘤细胞的基质细胞, 促进肿瘤细胞的生长^[26]; (2) 由 CD8⁺T 细胞所介导杀伤黑色素瘤细胞一样, 对肿瘤细胞进行抑制^[27]。事实上, MSCs 在抑制肿瘤细胞增殖或刺激肿瘤细胞增殖方面都曾有过报道^[27, 28]。推测这种完全相反的结论很可能是由于不同实验室所使用的肿瘤细胞不同, 甚至是不同实验室培养 MSCs 的条件不同, 造成的 MSCs 与肿瘤细胞相互作用体系微环境的差异导致的^[29]。因此, 研究 MSCs 如何对肿瘤组织产生的影响, 就是研究干细胞与病变组织相互作用体系的网络调控。通过观察标记的 MSCs 如何进入肿瘤组织, 也可以完善对干细胞移植后在体迁移及功能示踪方面的研究。

随着间充质干细胞及其相关技术的日益成熟, 临床研究已经在许多国家开展, 这将为我们提供丰富的临床信息, 进一步加深我们对 MSCs 和免疫系统相互作用机制的理解。虽然间充质干细胞的免疫抑制机制及相关代谢通路尚未阐明, 而且 MSCs 应用于临床的可行性和安全性还有待进一步研究, 但间充质干细胞的免疫调节机制的研究已取得一定进展, 相信这些问题的解决将会极大地促进 MSCs 在

临床上的应用。

[参 考 文 献]

- [1] Chabannes D, Hill M, Merieau E, et al. A role for heme oxygenase-1 in the immunosuppressive effect of adult rat and human mesenchymal stem cells. *Blood*, 2007, 110(10): 3691-4
- [2] Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood*, 2006, 107(1): 367-72
- [3] Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood*, 2007, 110(10): 3499-506
- [4] Krampera M, Glennie S, Dyson J, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide. *Blood*, 2003, 101(9): 3722-9
- [5] 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. *Blood*, 2002, 99(10): 3838-43
- [6] Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(9): 726-36
- [7] 寿培舜, 黄寅, 时玉舫, 等. 间充质干细胞免疫抑制机制及在疾病中的应用. *细胞生物学杂志*, 2009, 31(1): 6
- [8] 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. *Blood*, 2006, 107(4): 1484-90
- [9] Jiang XX, Zhang Y, Liu B, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. *Blood*, 2005, 105(10): 4120-6
- [10] Zhang W, Ge W, Li C, et al. Effects of mesenchymal stem cells on differentiation, maturation, and function of human monocyte-derived dendritic cells. *Stem Cells Dev*, 2004, 13(3): 263-71
- [11] Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood*, 2005, 105(4): 1815-22
- [12] Maccario R, Podesta M, Moretta A, 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. *Haematologica*, 2005, 90(4): 516-25
- [13] Mishima Y, Lotz M. Chemotaxis of human articular chondrocytes and mesenchymal stem cells. *J Orthop Res*, 2008, 26(10): 1407-12
- [14] Bocker W, Docheva D, Prall WC, et al. IKK-2 is required for TNF- α -induced invasion and proliferation of human mesenchymal stem cells. *J Mol Med*, 2008, 86(10): 1183-92
- [15] Lacey D, Park D, Short B, et al. TNF and IL-1 inhibits osteogenic differentiation of mouse mesenchymal stem cells *in vitro*: implications for bone repair during chronic inflammation. *Inflamm Res*, 2007, 56: S392-3
- [16] Wang Y, Crisostomo PR, Wang M, et al. TGF- α increases human mesenchymal stem cell-secreted VEGF by MEK- and PI3-K- but not JNK- or ERK-dependent mechanisms. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2008, 295(4): R1115-23
- [17] Bi B, Guo J, Marlier A, et al. Erythropoietin expands a stromal cell population that can mediate renoprotection. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, 295(4): F1017-22
- [18] Beyth S, Borovsky Z, Mevorach D, et al. Human mesenchymal stem cells alter antigen-presenting cell maturation and induce T-cell unresponsiveness. *Blood*, 2005, 105(5): 2214-9
- [19] Lazarus HM, Koc ON, Devine SM, et al. Cotransplantation of HLA-identical sibling culture-expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, 11(5): 389-98
- [20] Xu G, Zhang L, Ren G, et al. Immunosuppressive properties of cloned bone marrow mesenchymal stem cells. *Cell Res*, 2007, 17(3): 240-8
- [21] Oh J Y, Kim MK, Shin MS, et al. The anti-inflammatory and anti-angiogenic role of mesenchymal stem cells in corneal wound healing following chemical injury. *Stem Cells*, 2008, 26(4): 1047-55
- [22] Madec AM, Mallone R, Afonso G, et al. Mesenchymal stem cells protect NOD mice from diabetes by inducing regulatory T cells. *Diabetologia*, 2009, 52(7): 1391-9
- [23] Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. *Blood*, 2005, 106(5): 1755-61
- [24] Rafei M, Campeau PM, Aguilar-Mahecha A, et al. Mesenchymal stromal cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting CD4 Th17 T cells in a CC chemokine ligand 2-dependent manner. *J Immunol*, 2009, 182(10): 5994-6002
- [25] Suva ML, Riggi N, Stehle JC, et al. Identification of cancer stem cells in Ewing's sarcoma. *Cancer Res*, 2009, 69(5): 1776-81
- [26] Karnoub AE, Dash AB, Vo A P, et al. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis. *Nature*, 2007, 449(7162): 557-63
- [27] Djouad F, Plence P, Bony C, et al. Immunosuppressive effect of mesenchymal stem cells favors tumor growth in allogeneic animals. *Blood*, 2003, 102(10): 3837-44
- [28] Ramasamy R, Lam EW, Soeiro I, et al. Mesenchymal stem cells inhibit proliferation and apoptosis of tumor cells: impact on *in vivo* tumor growth. *Leukemia*, 2007, 21(2): 304-10
- [29] Liotta LA, Kohn EC. The microenvironment of the tumour-host interface. *Nature*, 2001, 411(6835): 375-9