

间充质干细胞——调节免疫的新宠

李成华¹, 李蓓², 金岩²

(第四军医大学口腔医学院: ¹牙周黏膜病科, ²组织工程中心, 陕西 西安 710032)

Mesenchymal stem cells: a new favorite for immunomodulation

LI Cheng-Hua¹, LI Bei², JIN Yan²

¹Department of Periodontology and Oral Medicine, ²Tissue Engineering Center, School of Stomatology, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

【Abstract】 Mesenchymal stem cells (MSCs) not only possess the properties of self-renew and multi-differentiation, but also have the property of immunomodulation, which implying their possible application in dealing with diseases mediated by abnormal immunity. We focus on the relationship between MSCs and the immune system and their clinical application prospects in this review.

【Keywords】 mesenchymal stem cells; immunomodulation; Toll-like receptors

【摘要】 间充质干细胞不仅具有自我更新及多向分化等特性, 近年来人们发现其还具有免疫调节能力, 提示其在治疗免疫介导的相关疾病中有着一定的应用前景。本文重点就间充质干细胞与免疫系统的关系及其临床应用前景进行探讨。

【关键词】 间充质干细胞; 免疫调节; Toll样受体

【中图分类号】 R392 **【文献标识码】** A

在干细胞研究领域, MSC既可以是mesenchymal stem cell (间充质干细胞)的缩写, 也可以是mesenchymal stromal cell (间质细胞)的缩写。两者实际上代表的是同一类细胞, 但mesenchymal stem cell的应用远比mesenchymal stromal cell广泛。这类细胞首先被Friedenstein等^[1-3]发现, 他们发现在小鼠或者豚鼠的骨髓中存在一类非造血细胞。它们能够贴敷在培养皿表面, 形成克隆并且在异位移植后能够形成骨组织。随后在人的骨髓中也发现了类似细胞。Caplan首先提出了mesenchymal stem cell的概念, 他认为这种

细胞可以分化为任何中胚层来源的细胞, 由此掀起了MSC研究的热潮。

1 MSC成为调节免疫的新宠

MSC研究的早期集中于研究骨髓MSC (bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC), 由于类似的细胞随后在多种组织中都被发现 (脂肪、脐带血、牙周膜、牙髓等), 是人体各组织普遍存在的一类细胞。所以MSC的概念早已不局限于骨髓来源的一种特定细胞, 而被赋予了更广阔的含义。在特定的组

基金项目: 国家自然科学基金 (81170964)

通讯作者: 金岩, 博士, 教授, 主任医师, 组织工程研发中心主任。研究方向: 牙、骨和皮肤等组织器官的再生及相关细胞分化调控研究。Tel:(029)84776472 Email:yanjin@fmmu.edu.cn

作者简介: 李成华, 博士生。研究方向: 炎症微环境下牙周膜干细胞的分化与调控。Tel:(029)84776472 Email:lichenghua1@yahoo.cn

组织中MSC样的细胞通常会以特定的组织来命名, 比如脂肪内的MSC又叫脂肪干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs), 牙周膜内的MSC又叫牙周膜干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)。

人们在MSC研究的初期寄希望于利用它的多向分化能力修复受损组织。随着研究的深入, 人们发现MSC不仅能够分化为中胚层组织来源细胞, 还具有较低的免疫原性, 不为受体体内的T细胞和NK细胞所排斥等特点。体外培养的MSC在特定条件下能够抑制多种免疫细胞的功能。尤其在Le Blanc等^[4]应用MSC成功地治疗了一位严重的急性移植物抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)患者后, 人们对于MSC的这种免疫调节能力引起了足够的重视, 开始尝试利用其这方面的特性治疗各种免疫相关的疾病。

MSC体外能够抑制CD4⁺T、CD8⁺T及记忆性T淋巴细胞的增殖、分化及炎性因子的分泌; 能够抑制B淋巴细胞增殖、分化为成熟的浆细胞; 能够抑制NK细胞增殖、NK细胞INF- γ 的分泌及其对细胞的杀伤作用; 能够抑制树突状细胞的增殖、成熟、趋化及抗原提呈能力; 能够抑制CD4⁺T细胞分化为Th17细胞以及它们炎症因子的分泌。另外其对于 $\gamma\delta$ ⁺T细胞的功能同样是抑制的^[5]。

2 MSC调节免疫细胞发挥免疫调节作用

关于体外MSC的免疫调节作用机制, 比较公认的是由其分泌的一些可溶性的细胞因子介导的。具体因子包括IDO、NO、HLA-G、PGE2、TGF- β 、HO-1、HGF和Galectin-1等^[5]。不同的因子可能在MSC免疫调节过程中发挥不同的作用。例如, galectin-1敲除MSC对于T细胞的抑制作用明显减弱, 而对于NK细胞的免疫反应却没有明显影响^[6]。MSC总的作用效果可能是各因子协同实现的, 加之考虑到细胞因子作用的空间及时间上的限制, 因此, 打算单纯利用各种免疫调节因子模拟出MSC的免疫调节作用以达到治疗的效果是很难实现的。

MSC也可以通过促进调节性T细胞(Treg)产生、抑制Th17细胞分化来调节免疫^[7]。但值得注意的是, 有报道称MSC对于Treg的促进可能帮助肿瘤逃避免疫系统的清除^[8-10]。MSC也可以通过单核/巨噬细胞调节免疫系统。例如, 其可以诱导单核细胞发育成具有免疫耐受特性的树突状细胞, 使其IL-10分泌增多, INF- γ 和TNF- α 分泌减少, 抗原提呈能力减

弱。对于巨噬细胞来讲有两个亚型, 促炎性的M1及抑炎性的M2。在特定情况下MSC能够促进巨噬细胞向M2亚型分化, 帮助组织进行修复^[11]。Akiyama等^[12]提出MSC还可以通过FAS/FASL通路诱导T细胞凋亡, 进而引起巨噬细胞表达高浓度的TGF- β , 促进Treg产生, 最终产生治疗作用。Chiesa等^[13]发现回输到小鼠体内的MSC能够通过降低树突状细胞向引流区淋巴结迁移, 减弱其抗原提呈能力, 抑制炎症反应。总之, MSC的免疫调节作用涉及多方面、复杂的机制。

目前关于MSC免疫调节能力的研究都是针对体外培养或者回输到生物体内的MSC, 而生物体内固有的MSC的功能, 尤其与免疫系统的关系尚不清楚。MSC缺少特异性表面标记以及在体内的含量较少等特点都限制了体内MSC生理功能的研究。骨髓MSC作为最早发现、且研究最广泛的一类MSC, 与造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSC)有着密切的接触。HSC是多种免疫细胞的前体细胞。骨髓中的MSC可能在正常情况下通过调节HSC的增殖分化维持机体免疫稳态, 在炎症或感染性疾病发生时通过调控HSC及单核细胞的趋化调节免疫反应。有研究报道骨髓中位于血管周围Nestin⁺的MSC能够在低水平的病原体相关分子刺激下, 通过表达CCL2促进骨髓中的单核细胞趋化到血管内, 进入体循环, 进而参与外周的免疫反应^[14]。而单核巨噬细胞在正常状态下也可以通过调节MSC分泌CXCL12, 减少HSC过多地动员入血^[15]。

3 MSC免疫调节不等同于免疫抑制

通常所讲的MSC的免疫调节能力一般指其能抑制免疫反应, 但两者不能等同。在某些条件下MSC也能发挥促进炎症反应的作用。前面提到的MSC所产生的一些免疫调节因子并不都是其固有表达的, 外界的环境对于MSC发挥免疫调节作用有重要的影响。目前比较公认的是MSC发挥其免疫调节作用需要其暴露在某些特定的炎症环境中, 这个过程叫MSC的激活(licensing)。能够激活MSC的免疫抑制作用的最主要因子是INF- γ 。在体外应用INF- γ 抗体中和掉INF- γ 后可以阻断其对于MSC的激活作用, 可以导致MSC的免疫抑制作用消失^[16]。另外TNF- α 和IL-1 β 也可以参与激活MSC。这个过程可能比想象的还要复杂。有研究报道INF- γ 在低剂量时不但不能激活MSC的免疫抑制作用, 反而可以使MSC表现出抗原提呈细胞的特点, 使其在体内能促进具有细胞毒性的

抗原特异性的CD8⁺T细胞产生^[17-18]。外界环境能够影响MSC的免疫调节功能,关于这一方面最有争议的要数Toll样受体激活后对于MSC免疫调节能力的影响。MSC表达多种具有功能的Toll样受体,其中研究最多的是TLR3和TLR4。有研究报道MSC的TLR3或者TLR4激活后能够通过影响Notch通路减弱MSC的免疫抑制能力^[19]。也有研究报道TLRs激活后能够促进MSC表达IDO,进而增强其免疫抑制能力^[20]。更有报道称, MSC的TLRs激活后不但不能抑制免疫反应,反而能使其具有促炎表型,促进机体的炎症反应^[21]。这些实验结果的不一致,甚至矛盾,正说明了MSC免疫调节作用的复杂性,可能实验设计及实验条件上微小的差异都能导致不同的结论。Bunnell等^[22]关于MSC的免疫调节作用提出了一个模型,他认为MSC既可以促炎也可以抑炎,就像单核细胞那样具有M1与M2两个亚型。短期、低剂量的TLR4激活能够使MSC表达促炎的表型,增强炎症反应,而TLR3激活却能使MSC表达抑炎表型,抑制炎症反应。

细胞所处的微环境影响MSC的免疫调节作用,这对于有效地应用MSC进行治疗是非常重要的。例如在应用MSC治疗GVHD的过程中,只有当机体内发生足够程度的炎症反应,IFN- γ 浓度达到一定水平时注射MSC才能发挥治疗效果。预防性地应用MSC并不能减轻或者减少GVHD的发生。另外MSC并不是对于所有类型的炎症反应性疾病都有治疗作用,在胶原诱导的关节炎动物模型中, MSC对于急性炎症有很好的治疗作用,但对于慢性炎症,其不但不能治疗疾病,反而能加速疾病的进展。有趣的是MSC对于GVHD的治疗也显示出了急性组更好的治疗效果^[5]。

4 MSC可以治疗免疫系统疾病

在过去的30年,大量的报道集中于研究MSC治疗疾病的作用。在动物模型中MSC已经被证明可以有效地治疗试验性的自身免疫性的脑脊髓炎、糖尿病、自身免疫性肠病等^[15]。美国国立健康卫生院的网站也公布了目前所进行的关于MSC的临床试验,这些实验主要也是涉及MSC的免疫调节作用,具体包括Crohn病、GVHD、自身免疫性肝炎、多发性硬化、系统性红斑狼疮、慢性儿童免疫性血小板减少和1型糖尿病等(<http://www.clinicaltrials.gov>)。由于其免疫抑制的特性,人们认为MSC在外周免疫耐受和诱导移植免疫耐受中发挥着重要的作用。最近Le Blanc等^[23]又报道

应用来源于HLA血缘相合的供者、非血缘相合供者及HLA不相合的非血缘供者的MSC注射入55例GVHD患者,其中超过一半的患者得到治疗。这项研究说明MSC对HLA相合及不相合的GVHD患者均具有治疗作用。此外Liang等^[24]也报道异体来源的MSC具有治疗SLE患者的作用,表现为血清学指标的改善和肾脏功能的恢复。

此外, MSC与疾病的关系不仅体现在治疗疾病方面,其同样有可能在预防疾病方面一展身手。MSC易于获得和扩增,不易引起异体的排斥反应并且能够被稳定地转染特定的基因,因此可以作为特异性抗原表位的载体,有可能在疫苗制备方面得以应用。目前虽然公认MSC具有抑制免疫反应的特性,但是经过特定修饰的MSC表现出了一定的激发机体特异性免疫反应的能力^[25],具体机制尚不清楚。

目前应用MSC的临床治疗实验大部分是治疗异常免疫相关疾病的。MSC应用的方法可简单分为局部应用和系统应用两种。局部应用可能更侧重于利用MSC的旁分泌及替代作用;系统应用目前比较接受的观点是利用其抗炎及调节免疫的作用。自GVHD之后, MSC也被大量地用来尝试治疗其他免疫相关疾病。虽然有许多关于MSC有效性的报道,但是这一方面仍然存在一定问题:缺乏足够的监督及严格的实验设计;一些已完成的试验并未公布试验结果,无法参考;缺乏长期的安全性及有效性方面的证据。总之, MSC作为一种极具治疗潜力的细胞,距其真正走入临床还有一段很长的路要走。

【参考文献】

- [1] Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells[J]. Cell Tissue Kinet, 1970, 3(4):393-403.
- [2] Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs[J]. Exp Hematol, 1976, 4(5):267-274.
- [3] Friedenstein AJ, Petrakova KV, Kurolesova AI, et al. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues[J]. Transplantation, 1968, 6(2):230-247.
- [4] Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party

- haploidentical mesenchymal stem cells[J]. *Lancet*, 2004, 363(9419):1439-1441.
- [5] Dazzi F, Lopes L, Weng L. Mesenchymal stromal cells: a key player in 'innate tolerance'?[J]. *Immunology*, 2012, 137(3):206-213.
- [6] Gieseke F, Bohringer J, Bussolari R, et al. Human multipotent mesenchymal stromal cells use galectin-1 to inhibit immune effector cells[J]. *Blood*, 2010, 116(19):3770-3779.
- [7] Ghannam S, Pene J, Torcy-Moquet G, et al. Mesenchymal stem cells inhibit human Th17 cell differentiation and function and induce a T regulatory cell phenotype[J]. *J Immunol*, 2010, 185(1):302-312.
- [8] Curiel TJ, Coukos G, Zou L, et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival[J]. *Nat Med*, 2004, 10(9):942-949.
- [9] Patel SA, Meyer JR, Greco SJ, et al. Mesenchymal stem cells protect breast cancer cells through regulatory T cells: role of mesenchymal stem cell-derived TGF-beta[J]. *J Immunol*, 2010, 184(10):5885-5894.
- [10] Vianello F, Dazzi F. Mesenchymal stem cells for graft-versus-host disease: a double edged sword?[J]. *Leukemia*, 2008, 22(3):463-465.
- [11] Nemeth K, Leelahavanichkul A, Yuen PS, et al. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production[J]. *Nat Med*, 2009, 15(1):42-49.
- [12] Akiyama K, Chen C, Wang D, et al. Mesenchymal-stem-cell-induced immunoregulation involves FAS-ligand-/FAS-mediated T cell apoptosis[J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 10(5):544-555.
- [13] Chiesa S, Morbelli S, Morando S, et al. Mesenchymal stem cells impair in vivo T-cell priming by dendritic cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(42):17384-17389.
- [14] Shi C, Jia T, Mendez-Ferrer S, et al. Bone marrow mesenchymal stem and progenitor cells induce monocyte emigration in response to circulating toll-like receptor ligands[J]. *Immunity*, 2012, 34(4):590-601.
- [15] Shi C. Recent progress toward understanding the physiological function of bone marrow mesenchymal stem cells[J]. *Immunology*, 2012, 136(2):133-138.
- [16] Krampera M, Cosmi L, Angeli R, et al. Role for interferon-gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cells*, 2006, 24(2):386-398.
- [17] Chan JL, Tang KC, Patel AP, et al. Antigen-presenting property of mesenchymal stem cells occurs during a narrow window at low levels of interferon-gamma[J]. *Blood*, 2006, 107(12):4817-4824.
- [18] Stagg J, Pommey S, Eliopoulos N, et al. Interferon-gamma-stimulated marrow stromal cells: a new type of nonhematopoietic antigen-presenting cell[J]. *Blood*, 2006, 107(6):2570-2577.
- [19] Liotta F, Angeli R, Cosmi L, et al. Toll-like receptors 3 and 4 are expressed by human bone marrow-derived mesenchymal stem cells and can inhibit their T-cell modulatory activity by impairing Notch signaling[J]. *Stem Cells*, 2008, 26(1):279-289.
- [20] Opitz CA, Litzemberger UM, Lutz C, et al. Toll-like receptor engagement enhances the immunosuppressive properties of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells by inducing indoleamine-2,3-dioxygenase-1 via interferon-beta and protein kinase R[J]. *Stem Cells*, 2009, 27(4):909-919.
- [21] Romieu-Mourez R, Francois M, Boivin MN, et al. Cytokine modulation of TLR expression and activation in mesenchymal stromal cells leads to a proinflammatory phenotype[J]. *J Immunol*, 2009, 182(12):7963-7973.
- [22] Bunnell BA, Betancourt AM, Sullivan DE. New concepts on the immune modulation mediated by mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2010, 1(5):34.
- [23] Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study[J]. *Lancet*, 2008, 371(9624):1579-1586.
- [24] Liang J, Zhang H, Hua B, et al. Allogenic mesenchymal stem cells transplantation in refractory systemic lupus erythematosus: a pilot clinical study[J]. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69(8):1423-1429.
- [25] Tomchuck SL, Norton EB, Garry RF, et al. Mesenchymal stem cells as a novel vaccine platform[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2012, 2:140.

(2013-01-24收稿; 2013-06-10修回)