

[文章编号] 1000-4718(2014)09-1694-05

# 骨髓间充质干细胞对重症哮喘患儿外周血 Th17/Treg 的免疫调节作用\*

黄雪琼<sup>1,2</sup>, 檀卫平<sup>1△</sup>, 吴葆菁<sup>1</sup>, 蓝丹<sup>1</sup>, 吴海飞<sup>1</sup>, 麦贤弟<sup>1</sup>( <sup>1</sup>中山大学孙逸仙纪念医院儿科, 广东 广州 510120 ; <sup>2</sup>中山大学附属第一医院儿童重症监护室, 广东 广州 510080)

**[摘要]** **目的:** 探讨骨髓间充质干细胞(MSCs)在体外对重度哮喘患儿外周血辅助性T细胞17(Th17)和CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞(Treg)的免疫调节作用。**方法:** 体外分离、培养和鉴定MSCs。MSCs经丝裂霉素处理后按不同比例(1:1、1:2、1:10和1:20)与哮喘患儿外周血T淋巴细胞(TLC)直接接触共培养,检测各组MSCs对TLC的增殖调节作用。选取上述1:2比例共培养体系和单独TLC培养体系,ELISA法分别检测Th17的效应分子白细胞介素17(IL-17)和Treg效应分子转化生长因子β(TGF-β)水平,qRT-PCR法检测转录因子维甲酸相关孤儿核受体(RORC)及叉头框蛋白3(Foxp3)mRNA表达水平。**结果:** MSCs可显著抑制重度哮喘患儿TLC增殖,且随着MSCs数量的增加,抑制作用增强。MSCs+TLC共培养组Th17转录因子RORC mRNA和效应因子IL-17表达较TLC组下降,同时TGF-β表达增高,而Treg细胞调控基因Foxp3 mRNA表达无明显改变。**结论:** MSCs在体外可能通过抑制Th17分化及IL-17的分泌,同时上调TGF-β的表达,进而有效改善哮喘患儿的Th17/Treg失衡状态。

[关键词] 间充质干细胞;哮喘;Th17细胞;调节性T细胞

[中图分类号] R725.6

[文献标志码] A

doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2014.09.026

## Bone marrow-derived mesenchymal stem cells regulate the function of Th17/Treg in peripheral blood of severe asthmatic children

HUANG Xue-qiong<sup>1,2</sup>, TAN Wei-ping<sup>1</sup>, WU Bao-jing<sup>1</sup>, LAN Dan<sup>1</sup>, WU Hai-fei<sup>1</sup>, MAI Xian-di<sup>1</sup>( <sup>1</sup>Department of Pediatrics, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China; <sup>2</sup>Pediatric Intensive Care Unit, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China. E-mail: weiptan@163.com)

**[ABSTRACT]** **AIM:** To investigate the regulatory function of bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) on T helper 17 cells (Th17) and regulatory T cells (Treg) in peripheral blood of severe asthmatic children. **METHODS:** MSCs were isolated, cultured and identified *in vitro*. MSCs digested with mitomycin were cocultured with T lymphocytes (TLC) at different ratios (1:1, 1:2, 1:10 and 1:20) from severe asthmatic children for 72 h. The proliferation of TLC was measured by CCK-8 method. In the coculture system of the 1:2 ratio and the single TLC system, the supernatant levels of interleukin-17 (IL-17) and transforming growth factor-β (TGF-β) were measured by ELISA. The mRNA expression of retinoic acid-related orphan nuclear receptor C (RORC) and forkhead box protein 3 (Foxp3) in TLC was detected by qRT-PCR. **RESULTS:** After cocultured with MSCs, the proliferation of TLC decreased significantly in a dose-dependent manner ( $P < 0.05$ ). It also showed decreases in IL-17 ( $3\ 799 \pm 441$  vs  $4\ 890 \pm 373$ ,  $P < 0.05$ ) and RORC mRNA level ( $1.21 \pm 0.14$  vs  $3.85 \pm 0.48$ ,  $P < 0.05$ ), while an increase in TGF-β level ( $209 \pm 32$  vs  $117 \pm 26$ ,  $P < 0.05$ ) was observed. No influence on the mRNA expression of Foxp3 was found ( $P > 0.05$ ). **CONCLUSION:** MSCs suppresses Th17 polarization of naive peripheral blood CD4<sup>+</sup> T cells and matures Th17 cells secreting IL-17, which may effectively revise Th17/Treg imbalance of asthma.

[KEY WORDS] Mesenchymal stem cells; Asthma; Th17 cells; Regulatory T cells

哮喘是儿童常见的气道慢性炎症性疾病。以吸入性糖皮质激素或联合β<sub>2</sub>受体激动剂的传统手段能较好控制大多数轻中度哮喘患者。而对于部分重症患者,规范抗哮喘治疗仍难以达到良好疗效,其急

[收稿日期] 2014-04-19 [修回日期] 2014-06-18

\* [基金项目] 广东省自然科学基金资助项目(No. 9451008901003013)

△通讯作者 Tel: 020-81332003; E-mail: weiptan@163.com

诊就诊率和住院率分别为轻、中度哮喘患者的 15 倍和 20 倍,是增加哮喘治疗费用的重要原因之一<sup>[1]</sup>。辅助性 T 细胞 17(T helper 17 cells, Th17)/调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)失衡被证实在重度哮喘发病过程中起重要作用<sup>[2-3]</sup>。骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)作为多能干细胞,具有多向分化性、高度增殖性、低免疫原性及免疫调节活性,成为近年来肺部疾病细胞治疗的研究热点<sup>[4]</sup>。本研究通过建立 MSCs 与重症哮喘患儿外周血 T 淋巴细胞体外共培养体系,探讨 MSCs 对 Th17 和 Treg 细胞的免疫调节作用,从而为以 MSCs 为基础的哮喘防治提供实验依据。

## 材 料 和 方 法

### 1 研究对象

入选病例为 2012 年 10 月~2013 年 10 月在中山大学孙逸仙纪念医院儿科哮喘专科门诊急性发作期重度哮喘儿童 20 例,诊断标准均符合 2008 年中华医学会儿科学分会呼吸学组修订的《儿童支气管哮喘诊断与防治指南》中儿童支气管哮喘诊断标准<sup>[5]</sup>。样本采集均取得患儿家属或法定监护人的同意(签署知情同意书并取得伦理委员会的同意)。

### 2 试剂及仪器设备

白细胞介素 17(interleukin-17, IL-17)和肿瘤转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ , TGF  $\beta$ ) ELISA 试剂盒,购自武汉华美科技有限公司;Trizol 试剂盒购自 TaKaRa; ABI MultiScribe™ Reverse Transcriptase 试剂盒和 Power SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒均购自 ABI;所有引物均由生工生物工程公司合成。ABI Cyclor PCR 仪;ABI Step One RT-PCR 仪。

### 3 主要方法

**3.1 骨髓 MSCs 的分离、培养及鉴定** 肝素抗凝的健康成人骨髓 10 mL,用等体积含 15% 胎牛血清(fetal calf serum, FCS)的 L-DMEM 培养液稀释吹打混匀,接种于 25 cm<sup>2</sup> 塑料培养瓶内,置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度培养箱培养。第 3~5 天首次换液,此后每 3 d 换液 1 次。当细胞达 80% 融合单层后传代,细胞传代用含 10% FCS 的 L-DMEM 培养液。

取第 3 代和第 5 代 MSCs,以 0.25% 胰酶(含 0.02% EDTA)消化成单细胞悬液,以 PBS 缓冲液洗涤 3 遍,调整细胞密度为  $1 \times 10^9$ /L,分别加入光标记的抗体:anti-CD34-FITC、anti-CD45-FITC、anti-CD29-PE 和 anti-CD105-FITC,振荡混匀后室温下避光孵育 15 min,应用流式细胞术分析样本中细胞相应标记抗原的阳性表达率。

**3.2 外周血 T 淋巴细胞(T lymphocytes, TLC)的分离及培养** 抽取入选研究对象的外周静脉血 4 mL

(EDTA 抗凝),PBS 等体积稀释,缓慢加入 Ficoll 淋巴细胞分离液上,2 500 r/min 离心 20 min;吸取中间白膜层,以 PBS 充分洗涤后,以 2 000 r/min 离心 10 min,弃去上清后,加入 RPMI-1640 培养液重悬细胞,调整细胞密度为  $2 \times 10^9$ /L。37 °C、5% CO<sub>2</sub> 孵箱内培养 3 h 后,吸取悬浮细胞为 TLC。

**3.3 CCK-8 法检测 MSCs 对 TLC 增殖的影响** 第 3~5 代的 MSCs 经消化、计数后,按 100  $\mu$ L/well 接种于 96 孔板,每组 3 个复孔,72 h 待其贴壁后,经丝裂霉素 C(25  $\mu$ g/L)孵育 30 min 后,换为常规培养液;实验分为 4 个组:阴性对照组:TLC 以  $2 \times 10^5$ /L 单独培养,未予植物血凝素(phytohaemagglutinin, PHA)刺激;阳性对照组:等量 TLC 经 PHA 刺激转化(50  $\mu$ g/L);MSCs 组:按每孔  $2 \times 10^4$ 、 $1 \times 10^4$ 、 $2 \times 10^3$  和  $1 \times 10^3$  个细胞密度接种 MSCs 于 96 孔板内;实验组:PHA 刺激下 MSCs 与 TLC 按不同比例(1:1、1:2、1:10 和 1:20)直接接触共培养。72 h 后加入 CCK-8 10  $\mu$ L/well,继续孵育 2 h,在 450 nm 波长处,酶联免疫检测仪测定各孔吸光度(A)值,并计算 TLC 增殖抑制率: $1 - (\text{共培养组 } A \text{ 值} - \text{MSCs 组 } A \text{ 值}) / \text{阳性对照组 } A \text{ 值} \times 100\%$ 。实验重复 3 次。

**3.4 ELISA 法检测细胞培养上清 IL-17 和 TGF- $\beta$  的含量** 收集 1:2 比例共培养体系培养上清及 TLC 单独培养上清,按 IL-17 和 TGF- $\beta$  定量检测试剂盒操作,每个样本和标准品均设 2 个复孔,记录酶标仪 492 nm 处数据。

**3.5 qRT-PCR 检测维甲酸相关孤儿核受体(retinoic acid-related orphan nuclear receptor C, RORC)及叉头框蛋白 3(forkhead box protein 3, Foxp3) mRNA 表达** 收集 1:2 比例共培养体中悬浮细胞及 TLC 单独培养细胞,采用 Trizol 法提取 RNA,ABI Script RT Kit 合成 cDNA,引物序列见表 1。根据 Real Master Mix(含 SYBR Green I)配置 PCR 反应体系,95 °C 10 min,95 °C 15 s,60 °C 30 s,40 个循环。反应结束,设定最佳阈值,获取扩增循环数(Ct 值),根据标准曲线和斜率,用公式  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法进行相对定量,计算得出目的基因相对于管家基因 GAPDH 的量。

表 1 引物序列

Table 1. Sequences of the primers

Name	Primer sequence (5'→3')	Product (bp)
RORC	Sence:ACAGTCTCATGCCACCGTAT	105
	Antisence:TCAAAGCAGGAGCAATGGAAGT	
Foxp3	Sence:GAGCGTGGCGTAGGTGAAAG	83
	Antisence:ACAGCACATTCCAGAGTTCCT	
GAPDH	Sence:GAAGATGCTGATGGCATTTC	226
	Antisence:GAAGGTGAAGGTCGGAGTC	

### 4 统计学处理

采用 SPSS 16.0 软件处理, 正态分布定量资料以均数 ± 标准差 (mean ± SD) 表示, 组间均数比较采用 *t* 检验或方差分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 1 MSCs 的形态和表型

传代培养的 MSCs 为成纤维细胞样, 形态均一、旋涡状生长。流式细胞仪检测第 3 和 5 代 MSCs 表面分子, 绝大部分细胞均表达 CD29 和 CD105, 不表

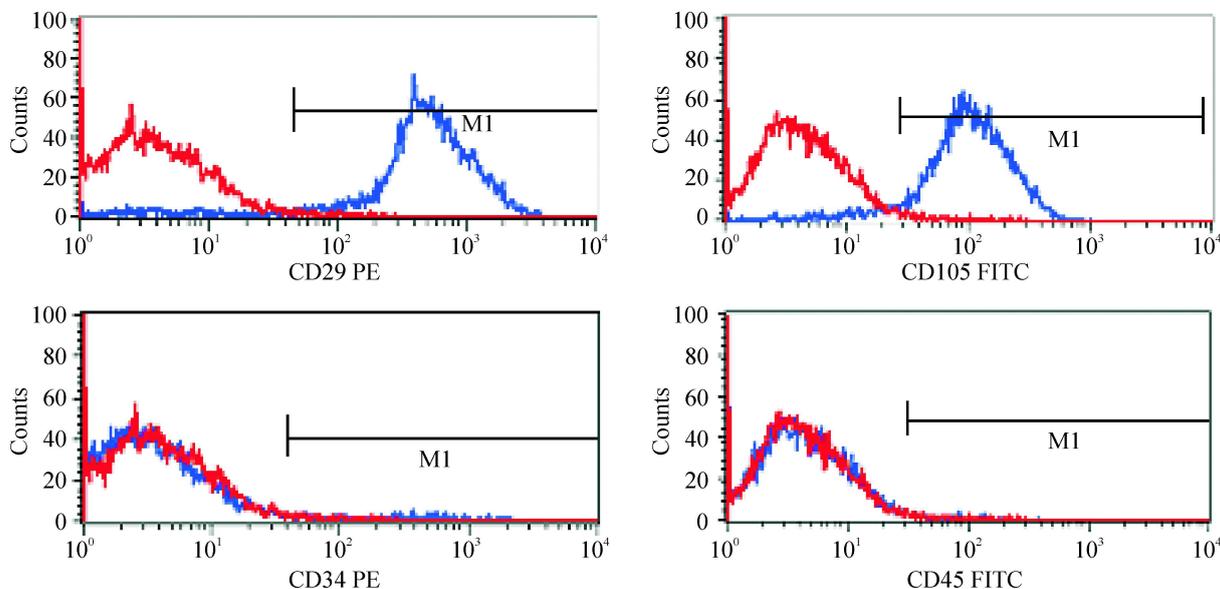


Figure 2. Surface markers of CD29, CD105, CD45 and CD34 in MSCs.

图 2 MSCs 表型鉴定 CD29、CD105、CD45 及 CD34

### 2 MSCs 对 TLC 体外诱导增殖的影响

PHA 刺激下 MSCs 与 TLC 共培养 72 h, 显微镜下观察到共培养组 TLC 生长稀疏, 增殖受限, 见图 3。CCK-8 法结果提示: 4 组不同浓度 MSCs 对 TLC 增殖的抑制具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。随着 MSCs 浓度的增高, 其抑制能力逐步增强, 见表 2。

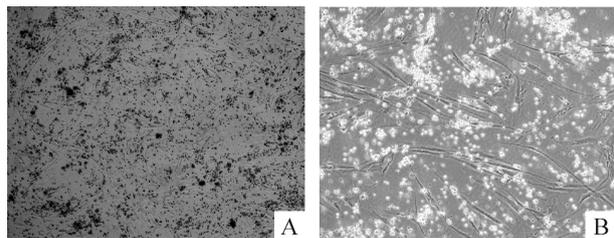


Figure 3. MSCs cocultured with TLC. A: ×40; B: ×100.

图 3 MSCs 与 TLC 共培养

### 3 MSCs 对重度哮喘患儿外周血 IL-17 及 TGF-β 表达水平的影响

MSCs + TLC 共培养组 IL-17 表达水平较 TLC 单

达 CD34 和 CD45, 见图 1、2。

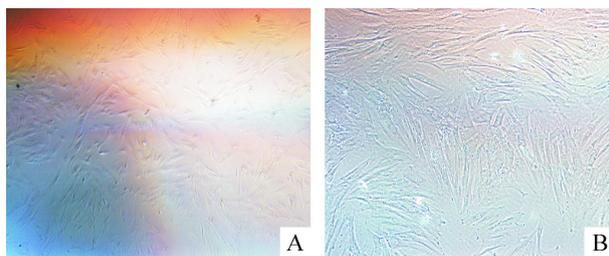


Figure 1. The 3rd passage of MSCs. A: ×40; B: ×100.

图 1 第 3 代骨髓间充质干细胞

独培养组降低, 差别有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 而共培养后 TGF-β 表达水平明显升高, 差别具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 3。

### 4 MSCs 对重度哮喘患儿外周血 RORC mRNA 及 Foxp3 mRNA 表达水平的影响

MSCs + TLC 共培养组 RORC mRNA 表达水平较 TLC 单独培养组明显减低, 差别有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 共培养组 Foxp3 mRNA 表达与 TLC 单独培养组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 4。

## 讨 论

重度哮喘是一种免疫紊乱的变态反应性疾病, 常表现为持续性气道炎症、气道重塑及糖皮质激素抵抗性, 常规治疗效果欠佳。近年来, 淋巴细胞亚群 Th17/Treg 失衡作为重度哮喘发病机制的重要环节受到广泛关注。课题组以往资料显示, 重度哮喘患儿体内 Th17 细胞过度活化, 占优势地位, 而 Treg 细胞数目相对减少及功能低下导致 Th17/Treg 失衡, 加

重哮喘的发生发展,与哮喘气道重塑密切相关<sup>[6-7]</sup>。Th17 与 Treg 细胞的分化成熟分别受其上游

表 2 MSCs 对 PHA 刺激下 TLC 增殖的影响

Table 2. Effect of MSCs on the proliferation of T lymphocytes (TLC) stimulated by PHA (Mean ± SD, n = 9)

Group	MSCs (cells/well)	$A_{MSCs+TLC}$	$A_{MSCs}$	$A_{TLC}$	Inhibitory rate (%)
Coculture system	$2 \times 10^4$	$0.636 \pm 0.030$	$0.890 \pm 0.150$	$-0.255 \pm 0.040$	$132.00 \pm 5.00^*$
	$1 \times 10^4$	$0.525 \pm 0.080$	$0.439 \pm 0.040$	$0.086 \pm 0.070$	$89.31 \pm 10.60^*$
	$2 \times 10^3$	$0.589 \pm 0.100$	$0.267 \pm 0.090$	$0.322 \pm 0.120$	$60.15 \pm 15.50^*$
	$1 \times 10^3$	$0.642 \pm 0.060$	$0.126 \pm 0.040$	$0.515 \pm 0.080$	$36.23 \pm 10.40^*$
Negative control	0	0	0	$0.447 \pm 0.130$	$44.65 \pm 16.10$
Positive control	0	0	0	$0.808 \pm 0.040$	0

\*  $P < 0.05$  vs positive control.

表 3 2 组培养上清 IL-17 及 TGF-β 的分泌情况

Table 3. Secretion of IL-17 and TGF-β in supernatants of the 2 groups (ng/L, Mean ± SD, n = 20)

Group	IL-17	TGF-β
TLC	$4\ 890 \pm 373$	$117 \pm 26$
MSCs + TLC	$3\ 799 \pm 441^*$	$209 \pm 32^*$

\*  $P < 0.05$  vs TLC.

表 4 重度哮喘患儿外周血 RORC 及 Foxp3 mRNA 表达

Table 4. The mRNA expression of RORC and Foxp3 in children with severe bronchial asthma (Mean ± SD, n = 20)

Group	RORC	TGF-β
TLC	$3.85 \pm 0.48$	$1.10 \pm 0.14$
MSCs + TLC	$1.21 \pm 0.14^*$	$1.05 \pm 0.14$

\*  $P < 0.05$  vs TLC.

转录因子 RORC 及 Foxp3 表达水平调控,而 IL-17 与 TGF-β 则分别是二者重要的效应因子。通过调控 Th17/Treg 之间的平衡,恢复免疫自稳状态,缓解炎症反应,将为哮喘的治疗提供新思路。

MSCs 广泛存在于全身结缔组织和器官间质中,具有强大的抗炎和免疫调节作用,被广泛应用于炎症性疾病和自身免疫疾病的动物实验及临床研究中<sup>[8-10]</sup>。本实验通过 MSCs 与重度哮喘患儿外周血 TLC 的共培养,探讨 MSCs 对 Th17 和 Treg 细胞效应因子 IL-17、TGF-β 及转录因子 RORC、Foxp3 mRNA 表达的影响。

近年研究表明, MSCs 在体外能够有效抑制 TLC 的增殖反应。Djouad 等<sup>[11]</sup>证实 MSCs 能明显抑制共培养体系中 TLC 的增殖活性,且在一定浓度范围内呈量效和时效正比关系。本实验结果表明, MSCs 对 PHA 刺激下重度哮喘患儿外周血 TLC 增殖具有显著抑制作用,且随着 MSCs 数量的增加,抑制作用也同步增强,具有一定的剂量依赖性,与大多数研究相符合。

以往研究显示, MSCs 在不同体外培养环境对

TLC 的免疫调节作用不尽相同。Ghannam 等<sup>[12]</sup>研究发现 MSCs 不仅能抑制原始 CD4<sup>+</sup> T 细胞向 Th17 细胞方向分化,减少 IL-17 和 IL-22 水平,并且通过诱导 Foxp3 的转录增加 Treg 细胞数量,从而发挥抗炎作用。而 Kapoor 等<sup>[13]</sup>将过敏性哮喘患者的外周血单个核细胞给予螨虫致敏后,与 MSCs 共培养,发现 MSCs 减少 IFN-γ、上调 IL-10 水平的同时, Treg 细胞数量没有明显改变,成熟树突状细胞反而明显增加,提示 MSCs 可能通过促进成熟树突状细胞而非 Treg 细胞的生成达到抗炎效果。本实验发现, MSCs 与 PHA 刺激下重度哮喘患儿外周血 TLC 直接接触共培养后, Th17 细胞转录因子 RORC mRNA 和效应因子 IL-17 均表达减少,提示 MSCs 可能通过抑制 Th17 细胞定向分化并下调 IL-17 的分泌,进而减少重度哮喘患儿体内的中性粒细胞炎症反应。另外我们还发现, MSCs 上调 TGF-β 水平的同时,对 Treg 细胞调控基因 Foxp3 mRNA 表达并无明显影响,证实了 TGF-β 是 MSCs 发挥免疫调节作用的重要因子。本研究显示, MSCs 对重度哮喘患儿的免疫调节作用并非通过上调 Treg 细胞的定向分化,可能通过高分泌 TGF-β 来抑制 T、B 淋巴细胞的增殖及巨噬细胞的活化,抑制 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群向 Th17 方向极化,从而纠正 Th17/Treg 失衡。

[参 考 文 献]

[1] Polosa R, Beneath GT. Managing patients with chronic severe asthma: Rise to the challenge [J]. Eur J Intern Med, 2009, 20(2):114-124.  
 [2] Al-Ramli W, Préfontaine D, Chouiali F, et al. Th17-associated cytokines (IL-17A and IL-17F) in severe asthma [J]. J Allergy Clin Immunol, 2009, 123(5):1185-1187.  
 [3] Weaver CT, Hatton RD. Interplay between the Th17 and Treg cell lineages: a (co-) evolutionary perspective [J]. Nat Rev Immunol, 2009, 9(12):883-889.

(28):4358-4369.

[5] Sivarajah A, Collino M, Yasin M, et al. Anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of hydrogen sulfide in a rat model of regional myocardial I/R[J]. Shock, 2009, 31(3):267-274.

[6] Sodha NR, Clements RT, Feng J, et al. Hydrogen sulfide therapy attenuates the inflammatory response in a porcine model of myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2009, 138(4):977-984.

[7] 贺忠梅, 张红霞, 杨敏, 等. 小鼠心肌梗死后补体系统激活与炎症反应的相关性研究[J]. 心肺血管病杂志, 2014, 33(1):98-102.

[8] Evora PR, Nather J, Tubino PV, et al. Curbing inflammation in the ischemic heart disease [J]. Int J Inflamm, 2013, 2013:183061.

[9] 樊艳, 王建军, 魏峰, 等. 脂肪间充质干细胞移植对心肌梗死后炎症反应及心室重构的影响[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(6):900-905.

[10] Hofmann U, Frantz S. How can we cure a heart “in flame”? A translational view on inflammation in heart failure[J]. Basic Res Cardiol, 2013, 108:356.

[11] 殷然, 王梦洪, 郑泽琪, 等. 肝X受体抑制乳鼠心肌细胞缺氧/复氧损伤[J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(9):1671-1675.

[12] 郭庆军, 王桂敏, 张秀秀. 淫羊藿苷预处理对心肌缺血再灌注损伤炎症反应的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2013, 29(11):2034-2038.

[13] 司良毅, 陈运贞, 何国祥, 等. 细胞间黏附分子-1 表达水平对心肌再灌注损伤的影响及 N-乙酰半胱氨酸的保护作用[J]. 中华心血管病杂志, 2000, 28(1):65-68.

[14] Hohensinner PJ, Niessner A, Huber K, et al. Inflammation and cardiac outcome [J]. Curr Opin Infect Dis, 2011, 24(3):259-264.

[15] 卢琳, 贾如意. 急性心肌梗死后心衰大鼠核因子-κB 与炎性细胞因子的相关性研究[J]. 心脏杂志, 2011, 23(3):309-312.

(上接第 1697 页)

[4] 甄国华, 刘红梅, 张珍祥, 等. 骨髓间充质干细胞移植对木瓜蛋白酶和<sup>60</sup>Co照射所致大鼠肺气肿的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2008, 24(8):1529-1533.

[5] 中华医学会儿科学分会呼吸学组. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南[J]. 中华儿科杂志, 2008, 46(10):745-753.

[6] 黄雪琼, 檀卫平, 麦贤弟, 等. 哮喘患儿外周血 RORC 和 Foxp3 mRNA 表达水平的变化及其意义[J]. 中山大学学报:医学科学版, 2012, 33(2):190-194.

[7] 黄雪琼, 檀卫平, 王东焯, 等. 哮喘患儿外周血 RORC mRNA、IL-17 水平及其与气道重塑的关系研究[J]. 新医学, 2014, 45(2):104-107.

[8] Beyth S, Borovsky Z, Mevorach D, et al. Human mesenchymal stem cells alter antigen-presenting cell maturation and induce T-cell unresponsiveness [J]. Blood, 2005, 105(5):2214-2219.

[9] Augello A, Tasso R, Negrini SM, et al. Cell therapy using allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells pre-

vents tissue damage in collagen-induced arthritis [J]. Arthritis Rheum, 2007, 56(4):1175-1186.

[10] Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy [J]. Blood, 2005, 106(5):1755-1761.

[11] Djouad F, Plence P, Bony C, et al. Immunosuppressive effect of mesenchymal stem cells favors tumor growth in allogeneic animals [J]. Blood, 2003, 102(10):3837-3844.

[12] 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.

[13] Kapoor S, Patel SA, Kartan S, et al. Tolerance-like mediated suppression by mesenchymal stem cells in patients with dust mite allergy-induced asthma [J]. J Allergy Clin Immunol, 2012, 129(4):1094-1101.