

间充质干细胞免疫原性和免疫调节作用的研究进展

王 芳 综述,汤永红 审核

(南华大学附属第二医院神经内科,湖南 衡阳 421001)

摘 要: 间充质干细胞(MSCs)是一类可从多种组织中分离,并具有多向分化潜能的细胞,具有独特的免疫调节作用,并且具有低免疫原性,可迁移至受损组织,通过直接接触或分泌细胞因子发挥免疫抑制作用。研究表明 MSCs 可显著抑制 T 细胞的增殖与活化,抑制 B 细胞的增殖、分化、趋向性和抗体的生成,可调节 NK 细胞的增殖、毒性和细胞因子的分泌,抑制 DC 细胞的成熟、分化、增殖、迁移能力和抗原递呈能力。本文就 MSCs 对各类免疫细胞的调节特性作一综述,为其临床应用提供更有力的理论指导。

关键词: 间充质干细胞; 免疫原性; 免疫调节

中图分类号: R392

文献标识码: A

间充质干细胞(MSCs)是源自中胚层的非造血干细胞,可以从胎儿附属物、脐带、脂肪、骨髓等组织中分离得到,MSCs 在适宜条件下可以分化为内、中、外 3 个胚层的组织。研究发现,MSCs 具有免疫调节作用,在受到相关创伤和细胞因子刺激后能抑制免疫系统,发挥抗炎和抗增殖的作用^[1],本文主要就 MSCs 的免疫调节特性作一综述。

1 MSCs 的免疫原性

MSCs 免疫原性低,以往考虑主要与低表达主要组织相容性复合体 MHC I,不表达 MHC II 类分子、Fas 配体及共刺激分子 B7-1、B7-2、CD40L、CD40 等有关^[2]。在体外试验中,将 MSCs 与各类包括同种或者异种的 T 细胞共培养后并不能引起 T 细胞的增殖^[3],即使加入 IFN- γ 诱导 MSCs 表达完整的 MHC II 类分子后^[4]。或者是在混合淋巴细胞中培养或有丝丝裂原 PHA(植物血凝素)或者刀豆蛋白(ConA)刺激下,仍未见免疫应答,充分表明 MSCs 的低免疫原性^[5]。同时在混合淋巴细胞反应中提供 B7-1、B7-2、CD40L、CD40 等共刺激因子后,未能引起免疫应答。提示 MSCs 的低免疫原性与 MHC

及共刺激因子的表达无关,而与 MSCs 对免疫细胞的直接抑制作用及分泌相关因子形成免疫抑制微环境有关。并且有研究表明这种抑制作用对各类 T 细胞亚群均有效。在动物试验中发现,经体内扩增的 HLA 相合供者或“第三者”来源的 MSCs 输入动物体内后,未发生免疫排斥反应,且能显著延长移植器官存活时间,提示 MSCs 植入体内也具有低免疫原性,且能发挥免疫抑制效应^[5]。另外 MSCs 分化成其他类型如软骨、脂肪、成骨等细胞后,仍然具有低免疫原性^[6]。综上所述,无论何种 MSCs 都不会诱发宿主强烈的免疫排斥反应,因此 MSCs 可作为一种安全有效的基因治疗载体。有研究认为,在没有足够的证据证明异体 MSCs 体内移植不会引起免疫排斥反应之前,有必要适量应用免疫抑制剂,由此可见,MSCs 的免疫原性问题引起了争议。

2 MSCs 对各类免疫调节细胞的作用

MSCs 对各类免疫细胞均具有免疫调节作用,即使在体外扩增培养的 MSCs 在体内也可以发挥免疫调节作用,但由于自然状态存在于人体内的 MSCs 较少,发挥免疫调节作用机制未完全研究清楚,考虑主要与直接接触及分泌可溶性因子有关。但是实验环境、实验人员的不同会造成结果的差异。

2.1 MSCs 对 T 淋巴细胞的调节作用

MSCs 抑制 T 细胞的具体机制尚未完全清楚,主要考虑是由细胞间直接接触和分泌可溶性细胞因子来发挥作用的。Krampera 等^[7]认为细胞直接接

收稿日期:2013-09-30

作者简介:王芳,硕士研究生,住院医师,研究方向:干细胞移植和脑血管疾病,E-mail:514894146@qq.com. 通讯作者汤永红,硕士,主任医师,教授,研究方向:干细胞移植和脑血管疾病,E-mail:tang6246@tom.com.

触是产生抑制作用的必要条件,然而 Di Nicola 等^[8]应用 Transwell 系统表明细胞间直接接触和 MSCs 产生的可溶性细胞因子都在 MSCs 的免疫抑制中发挥作用。MSCs 与 T 细胞的直接接触非必要条件,避免两者直接接触后 T 细胞的增殖仍然受到明显抑制,考虑是可溶性因子发挥作用。当然,若允许 MSCs 与 T 细胞的直接接触,则抑制作用将明显增强。直接接触是通过受体与配体结合的方式发挥作用, MSC 缺乏共刺激因子,通过表达的 PD-L1 和 PD-L2 与 T 细胞表达的 PD-1 分子结合传递免疫信号,抑制 T 细胞的活化与增殖^[9]。另外 MSCs 还可以分泌可溶性因子如转化生长因子(TGF- β 1)、肝细胞生长因子(HGF)、INF- γ 、白介素-10(IL-10)^[10]、前列腺素 E-2(PGE-2)、吲哚胺 2,3 加氧酶(IDO)^[11-12]、NO^[13]等发挥免疫抑制作用。在混合淋巴细胞实验中加入 MSCs 发现 IL-10 水平有所升高,阻断 IL-10 信号通路能够部分恢复 T 细胞的增殖^[14]。Di Nicola 等^[8]发现 TGF- β 1 和 HGF 以协同的方式介导了 MSCs 的免疫抑制效应,在 MSCs 抑制的 T 细胞中分别加入 TGF- β 1 或 HGF 中和抗体后,可部分恢复 T 细胞的功能,两者同时加入则 T 细胞可恢复至正常无 MSCs 的水平。另有研究发现 MSCs 在经 IFN- γ 等细胞因子诱导下可表达 IDO,该酶作用机制可能是将色氨酸酶解为犬尿氨酸,从而抑制 T 细胞增殖,而加入色氨酸能够恢复 T 细胞的增殖^[15]。实际上 MSCs 的免疫调节作用是复杂的网络体系,与多种细胞因子的综合作用是分不开的,同时免疫微环境也是重要因素之一。此外 Le-Blanc 等^[16]发现 MSCs 对 T 细胞的抑制作用成剂量依赖性,当混合淋巴细胞中 MSCs 的个数是(10 ~ 1 000 个)时对 T 细胞增殖有促进作用,当数量是(10 000 ~ 40 000 个)时则具有明显抑制作用。同时 MSCs 对 T 细胞的作用是可逆性,接受新刺激时受抑制的 T 细胞仍能增生,可推测这种抑制作用并不是诱导凋亡而是限制其增殖能力来发挥抑制作用。

2.2 MSCs 对 B 细胞的调节作用

B 细胞是另一类主要的免疫细胞。MSCs 与 B 细胞的作用机制是通过细胞之间的直接接触来发挥作用。同时研究发现单独培养的 MSCs 上清液与 B 细胞不能发生反应,只有在两者共培养的情况下, MSCs 才能抑制 B 细胞的增殖。说明 MSCs 通过可溶性细胞因子来起主导作用的,与 T 细胞类似,但是前提是得激活 MSCs。具体来讲 MSCs 主要通过

抑制 B 细胞的增殖、分化、趋向性及抗体的生成来发挥作用,如抑制 CCR7、CXCR4、CXCR5 及其配体 CXCL13、CXCL12 的表达来影响 B 细胞的趋化能力, CXCL12、CXCL13 在 B 细胞归巢于次级淋巴器官中起决定性作用。另外阻止 B 细胞分化为浆细胞,抑制 IgM、IgA、IgG 的生成^[17]。Corcione 等^[18]报道称 MSCs 不是通过诱导凋亡而是通过使 B 细胞滞留于 G0/G1 期来抑制 B 细胞的增殖,这说明 MSCs 的作用不是永久性的,当抑制因素去除, B 细胞仍能恢复增殖。同时 Krampera 等^[19]研究发现 IFN- γ 在 MSCs 对 B 细胞的调节中起主导作用,其机制可能是诱导 MSCs 表达 IDO,而此种表达是通过色氨酸途径抑制 B 增殖的。MSCs 对 B 细胞调节作用存在较大争议,研究较晚,需要更进一步的研究来证实。

2.3 MSCs 对 NK 细胞的调节作用

NK 细胞是固有免疫的重要效应细胞,在抗肿瘤及抗感染中扮演着重要的角色, MSCs 抑制 NK 细胞的机制较复杂,主要是通过直接接触和分泌可溶性因子来发挥作用的。其因子中 PGE2 和 TGF- β 被认定是最重要的^[20], IDO 的作用有也相当重要。MSCs 通过下调 NK 细胞表面激动受体如 NKp44、NKG2D 和 NKp30 的表达来抑制 NK 细胞的增殖、毒性及因子的分泌^[21]。同时有研究表明 MSCs 与 NK 细胞作用是相互的, MSCs 能躲避 NK 细胞的杀伤作用,且对初始激活的及 IL-15 或 IL-2 诱导的 NK 细胞的增殖有抑制作用。其躲避能力主要是通过 MSCs 表面表达 MHC I^[21],这点提示若提前使用 IFN- γ 上调 MHC I 的表达,便能抑制 NK 细胞对 MSCs 的细胞毒作用。但是 MSCs 对于已激活的 NK 细胞不仅作用微弱,反而后者还可以通过受体与配体结合的溶胞途径清除非自体来源的 MSCs^[22],活化的 NK 细胞表达受体 DNAM-1、NKp30 和 NKG2D, MSCs 能依次表达相应的配体 nectin-2、ULBP 和 PVR。

2.4 MSCs 对树突状细胞(DC)的调节作用

DC 细胞在启动、调控和维持免疫反应方面有着重要的作用,但是 DC 细胞必须为成熟状态才能起作用,相关数据显示 MSCs 可影响 DC 的成熟、分化、增殖、迁移能力和抗原递呈作用^[23],且这种作用主要是通过分泌可溶性因子及细胞间直接接触来实现的。Zhang 等^[23]研究发现 MSCs 抑制 DC 的成熟是通过抑制 CD40、CD86、CD83、HLA-DR 和共刺激分子等表达来实现的,另外 MSCs 可阻碍其迁移到

淋巴结刺激 T 细胞的增殖,从而能诱导免疫耐受; MSCs 通过下调 CD40、CD1a、CD86、CD80 的表达抑制单核细胞向 DC 分化;此外 MSCs 通过改变细胞因子促使成熟 DC 转化为不成熟表型,如 TNF- α 降低和 IL-10 升高。不仅如此, MSCs 还能改变 DC 的分泌类型,抑制促炎症因子 IFN- γ 、IL-12 和 TNF- α 的分泌,促进抗炎因子 IL-10 分泌^[24]。同时应该看到若去除 MSCs 而加入 DC 诱导剂可逆转这种负调控作用,说明 MSCs 对 DC 的作用是可逆的。综上所述, MSCs 发挥抑制作用的关键是诱导成熟的 DC 表达抑制表型,从而抑制 T 细胞的活化,同时也说明 MSCs 通过依赖 APC 的抑制作用参与免疫调节, DC 参与间接抑制机制。

3 问题与展望

综上所述, MSCs 能够调节多种免疫细胞,具有重要的免疫调节作用,具有独特的医学优势,为临床相关的免疫性疾病及炎症失调性疾病带来了希望。但同时也应该看到仍有许多问题亟待解决,如输注 MSCs 后,其免疫调节具体的机制尚不确定,其免疫原性仍有争议,其安全性也有待验证。尽管 MSCs 距离临床大规模应用还有相当长的路要走,但是有理由相信在不久的将来这些问题将一一解决, MSCs 将另更多的患者受益。

参考文献:

- [1] Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions [J]. *Blood*, 2006, 107(1): 367-372.
- [2] Klyushnenkova E, Mosca JD, Zernetkina V, et al. T cell responses to allogeneic human mesenchymal stem cells: immunogenicity, tolerance, and suppression [J]. *J Biomedical Science*, 2005, 12(1): 47-57.
- [3] Krampera M, Glennie S, Dyson J, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cell to their cognate peptide [J]. *Blood*, 2003, 101(9): 3722-3729.
- [4] Le Blanc K, Tammik C, Rosendahl K, et al. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells [J]. *Experimental Hematology*, 2003, 31(10): 890-896.
- [5] Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo [J]. *Experimental Hematology*, 2002, 30(1): 42-48.
- [6] Le-Blanc K, Rasmusson I, Gotherstrom C, et al. Mesenchymal stem cells inhibit the expression of CD25 (interleukin-2 receptor) and CD38 on phytohemagglutinin-activated lymphocytes [J]. *Scandinavian J Immunology*, 2004, 60: 307.
- [7] 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 [J]. *Blood*, 2003, 101(9): 3722-3729.
- [8] 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.
- [9] Augello A, Tasso R, Negrini SM, et al. Bone marrow mesenchymal progenitor cells inhibit lymphocyte proliferation by activation of the programmed death 1 pathway [J]. *European J Immunology*, 2005, 35(5): 1482-1490.
- [10] Seung-Ha Y, Min-Jung P, Il-Hee Y, et al. Soluble mediators from mesenchymal stem cells suppress T cell proliferation by inducing IL-10 [J]. *Experimental Molecular Medicine*, 2009, 41(5): 315-324.
- [11] DelaRosa O, Lombardo E, Beraza A, et al. Requirement of IFN gamma-mediated indoleamine 2, 3-dioxygenase expression in the modulation of lymphocyte proliferation by human adipose-derived stem cells [J]. *Tissue Eng Part A*, 2009, 15(10): 2795-2806.
- [12] Meisel R, Zibert A, Laryea M, et al. Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2, 3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation [J]. *Blood*, 2004, 103(12): 4619-4621.
- [13] Sato K, Ozaki K, Oh I, et al. Nitric oxide plays a critical role in suppression of T-cell proliferation by mesenchymal stem cells [J]. *Blood*, 2007, 109(1): 228-234.
- [14] 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.
- [15] Meisel R, Zibert A, Laryea M, et al. Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2, 3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation [J]. *Blood*, 2004, 103: 4619-4621.
- [16] Le-Blanc K, Tamik L, Sundberg B, et al. Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic response independently of major histocompatibility complex [J]. *Scand J Immunol*, 2003, 57(1): 11-20.

- [17] Deng W, Han Q, Liao L, et al. Effects of allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells on T and B lymphocytes from BXS mice [J]. DNA Cell Biology, 2005, 24(7) :458-463.
- [18] Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions [J]. Blood, 2006, 107(1) :367-372.
- [19] 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 :386-398.
- [20] Sotiropoulou PA, Perez SA, Gritzapis AD, et al. Interactions between human mesenchymal stem cells and natural killer cells [J]. Stem Cells (Dayton, ohio), 2006, 24(1) :74-85.
- [21] Spaggiari GM, Capobianco A, Abdelrazik H, et al. Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2, 3-dioxygenase and prostaglandin E2 [J]. Blood, 2008, 111(3) :1327-1333.
- [22] 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.
- [23] Zhang W, Ge W, Li C, et al. Effects of mesenchymal stem cells on differentiation, maturation, and function of human monocyte-derived dendritic cells [J]. Stem Cells Development, 2004, 13(3) :263-271.
- [24] Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses [J]. Blood, 2005, 105(4) :1815-1822.

(此文编辑:朱雯霞)