

789-801.

[9] Badzio A, Wynes MW, Dziadziuszko R, et al. Increased insulin-like growth factor I receptor protein expression and gene copy number in small cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2010, 5(12): 1905-1911.

[10] 李萍, 章青, 李兆斌, 等. 阻断胰岛素样生长因子-1 受体信号传导路径对人乳腺癌细胞放射增敏作用机制研究[J]. *中华放射肿瘤学杂志*, 2012, 21(1): 11-12.

[11] Ye M, Yu H, Yu W, et al. Evaluation of the significance of circulating insulin-like growth factor-1 and c-reactive protein in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Int Med Res*, 2012, 40(3): 1025-1035.

[12] Coskun F, Ege E, Uzaslan E, et al. Evaluation of thyroid hormone levels and somatomedin-C (IGF-1) in patients with chronic obstructive pulmonary disease(COPD) and relation with the severity of the disease[J]. *Tuberk Toraks*, 2009, 57(4): 369-375.

[13] Kythreotis P, Kokkini A, Avgeropoulou S, et al. Plasma leptin and insulin-like growth factor I levels during acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *BMC Pulm Med*, 2009, 9(1): 11.

[14] 申璐璐, 宋亚茹, 赵卉, 等. 胰岛素样生长因子及组织蛋白酶 B 在慢性阻塞性肺疾病患者血浆中的表达及临床意义[J]. *当代医学*, 2012, 18(7): 112-113.

[15] Zhu C, Qi X, Chen Y, et al. PI3K/Akt and MAPK/ERK1/2 signaling pathways are involved in IGF-1-induced VEGF-C upregulation in breast cancer[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137(11): 1587-1594.

[16] Duggan C, Wang CY, Neuhaus ML, et al. Associations of insulin-like growth factor and insulin-like growth factor binding protein-3 with mortality in women with breast cancer[J]. *Int J Cancer*, 2012, 7(10): 1002-1008.

[17] Forbes BE. Molecular mechanisms underlying insulin-like growth factor action; how mutations in the GH · IGF axis lead to short stature[J]. *Pediatr Endocrinol Rev*, 2011, 8(4): 374-381.

[18] 陈莉, 张艳, 张珠兰. 血清中胰岛素样生长因子系统与早期自然流产相关性研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(2): 169-170.

[19] Rohrmann S, Linseisen J, Becker S, et al. Concentrations of IGF-I and IGFBP-3 and brain tumor risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2011, 20(10): 2174-2182.

[20] 武海龙, 高文生, 张宁, 等. IGF-1 表达与人脑膜瘤细胞增殖活性关系[J]. *脑与神经疾病杂志*, 2012, 20(1): 66-69.

[21] Celiker R, Arslan S. Insulin-like growth factor-1 and growth hormone levels in osteoporotic and non-osteoporotic postmenopausal women[J]. *Rheumatol Int*, 2000, 19(6): 205-208.

[22] Wang S, Mu J, Fan Z, et al. Insulin-like growth factor 1 can promote the osteogenic differentiation and osteogenesis of stem cells from apical papilla[J]. *Stem Cell Res*, 2012, 8(3): 346-356.

[23] Kasukawa Y, Stabnov L, Miyakoshi N, et al. Insulin-like growth factor I effect on the number of osteoblast progenitors is impaired in ovariec-tomized mice[J]. *J Bone Miner Res*, 2002, 17(10): 1579-1587.

[24] 赵弘轶, 赵忠新, 黄流清. 胰岛素样生长因子-1 与阿尔茨海默病关系研究进展[J]. *中国临床神经科学*, 2011, 19(5): 534-538.

[25] 牛坚, 赵何伟, 郑苏文, 等. CD90 和胰岛素样生长因子 1 受体在原发性肝癌中的表达[J]. *中华普通外科杂志*, 2012, 27(2): 131-133.

(收稿日期: 2012-12-06)

• 综 述 •

## 间充质干细胞在防治同种异体组织器官移植免疫耐受方面的作用研究

杨 铮<sup>1</sup>, 岳 波<sup>2</sup>综述, 杨 阳<sup>3,4△</sup>, 李 臻<sup>5▲</sup>审校

(1. 第四军医大学口腔医学系, 陕西西安 710032; 2. 西京医院耳鼻咽喉头颈外科, 陕西西安 710032; 3. 西京医院全军整形外科研究所, 陕西西安 710032; 4. 中国人民解放军第二五二医院烧伤整形科, 北京 100051; 5. 第四军医大学基础部组织胚胎学教研室, 陕西西安 710032)

关键词: 间充质干细胞; 移植, 同种; 器官移植; 免疫耐受

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.07.044

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)07-0850-03

间充质干细胞(MSCs)是一种具有自我更新和多向分化潜能的成体干细胞, 可被诱导成脂肪、骨、软骨、肌肉、神经和内皮细胞等多种组织细胞, 已成为再生医学、组织工程和人工器官研究的重要种子细胞<sup>[1]</sup>。近年研究发现, MSCs 具有低免疫原性和免疫调节的特性, 能在体外大量扩增, 在组织器官移植可抑制树突状细胞(DC)成熟, 避免和减轻宿主免疫应答, 诱导特异性免疫耐受的形成, 而且还能通过分泌多种细胞因子, 改善造血微环境, 促进移植后造血功能的重建具有一定的作用<sup>[2-5]</sup>。

### 1 MSCs 的来源、分布及免疫学特性

MSCs 起源于中胚层的间充质, 其形态与成纤维细胞相似, 主要分布于骨髓、肌肉、肝脏、脂肪、外周血、脐带血、胎盘、胎肺、胎肾等结缔组织和器官间质中<sup>[6]</sup>。到目前为止, 仍未发现 MSCs 的特异性标志分子, 据国际细胞协会, MSCs 表达 CD73、CD90 和 CD105, 而不表达 CD45、CD34、CD14 以及 CD11b、CD79a、HLA-DR 等<sup>[7]</sup>。同时, MSCs 表面仅表达中等量的 MHC-I 类分子, 不表达 MHC-II 类分子和共刺激分子, 如 CD40、CD80 和 CD86 等, 因此 MSCs 具有低免疫原性, 体外培养和体内输注均体现出“免疫逃避”的特性, 不引起 T 细胞

作者简介: 杨铮, 女, 在读本科, 主要从事免疫排斥及心肌保护基础研究。 △ 通讯作者, E-mail: yangmg@fmmu.edu.cn. ▲ 通讯作者,

E-mail: zhenli@fmmu.edu.cn.

的活化和增殖<sup>[8]</sup>。体内外实验还表达 MSCs 具有非 MHC 限制性的免疫调节作用,及调控机制十分复杂,包括抑制 T 细胞增殖、诱导调节性 T 细胞扩增、抑制 B 淋巴细胞分泌抗体和自然杀伤(NK)细胞增殖、影响抗原递呈 DC 成熟和迁移等,其调节作用主要通过转化生长因子(TGF)- $\beta$ 1、前列腺素(PG)E<sub>2</sub>、白介素(IL)-10、一氧化氮、干扰素(IFN)- $\gamma$  等可溶性细胞因子介导,还有可能经过细胞间直接作用进一步加强<sup>[9-11]</sup>。MSCs 的分离鉴定需具备塑料表面黏附性、定向诱导性及复合细胞分子标志表达等特征。

## 2 MSCs 免疫耐受能力的调节

**2.1 MSCs 对 DC 功能的影响** MSCs 的免疫调节作用是目前移植领域研究的热点,其抑制 T 淋巴细胞活化增殖的特性已得到公认。然而免疫应答的发生不仅与 T 淋巴细胞有关,还有赖于 DC 与 T 淋巴细胞之间的相互作用。因此, MSCs 也有可能在抗原特异性的淋巴细胞活化、增殖之前通过调节 DC 的产生或其抗原提呈能力来发挥作用。DC 作为体内功能最强大的抗原提呈细胞,不仅是机体启动免疫应答的关键角色,而且在诱导和维持外周免疫耐受中起着重要作用<sup>[2]</sup>。MSCs 对 DC 分化成熟免疫调节发挥着重要作用。邓春艳等<sup>[12]</sup> 研究小鼠 MSCs 在体外对同种异体骨髓来源的 DC 分化、成熟及功能的影响,发现 MSCs 能对 DC 发挥强烈的抑制作用,且这种作用受 MSC/BMC(骨髓有核细胞)比例的影响,较高的 MSC/BMC 比例(1:10)能完全抑制 BMC 向 DC 的转化,表现为 DC 特异性抗原 CD11c 表达明显受抑单核细胞相关抗原 CD14 表达增加,抗原提呈分子 MHC-II 类抗原 I-Ab、共刺激分子 CD86 以及成熟相关抗原 CD83 的表达均相应下降,细胞的抗原摄取能力亦明显下降;较低的 MSC/BMC 比例(1:50)也能发挥部分抑制作用,CD11c、CD14、CD83 表达轻度下降,提示 DC 的转化及后期成熟过程受到制约,不成熟 DC 增多,对维持同种异体组织器官移植免疫耐受延长存活有着非常重要的价值<sup>[2]</sup>。

**2.2 MSCs 对 T 细胞的作用** 近年研究,体外诱导扩增调节性 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞(regulatory T cells, Treg)能够诱导供者特异性免疫耐受。MSCs 可通过抑制抗原特异性 T 细胞增殖,促进 Treg 的产生和改变 Th1 和 Th2 的平衡,进而起到调节 T 细胞免疫的作用<sup>[13-14]</sup>。在给链脲霉素诱导的胰腺  $\beta$  细胞损伤大鼠模型输注 MSCs,结果使 Treg 细胞升高<sup>[15]</sup>。将大鼠 MSCs 与 BALB/c 小鼠 T 细胞共同培养,发现培养的小鼠 Treg 显著上升。MSCs 对非同种 T 细胞的作用是否通过 MSCs 分泌的细胞因子诱导产生 Treg 而介导免疫耐受仍有待研究<sup>[16]</sup>。

**2.3 MSCs 对 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> T 细胞的作用** MSCs 能诱导同种异体 CD4<sup>+</sup>T 细胞 Foxp3<sup>+</sup> 和 CD25<sup>+</sup>mRNA 蛋白的表达。尽管 MSCs 诱导单个核细胞表达 Foxp3 不需要细胞间的直接接触,但诱导纯化 T 细胞表达 Foxp3 则需细胞间直接接触。经用拮抗剂和抗体中和证实, MSCs 产生的 PGE2 和 TGF- $\beta$ 1 在 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> T 细胞的诱导中具有同等的作用。纯化的 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> T 细胞经与 MSCs 共培养后可表达 TGF- $\beta$ 1 并能够抑制混合淋巴细胞反应中同种抗原驱动的 T 细胞增殖应答,支持诱导调节性 T 细胞涉及 MSCs

与 CD4<sup>+</sup>T 细胞间的直接接触及随后 PGE2 和 TGF- $\beta$ 1 的表达<sup>[17]</sup>。Selmani 等<sup>[18]</sup>发现 MSCs 与活化 T 细胞直接接触,通过 IL-10 依赖途径分泌可溶性 HLA-G5H 而抑制同种异体 T 细胞的增殖,增加 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> T 细胞数量,表明 MSCs 分泌的 HLA-G5 是 MSCs 抑制功能的关键分子。

**2.4 MSCs 对 B 淋巴细胞及 NK 细胞的作用** 经体外研究发现, MSCs 能抑制 B 淋巴细胞的增殖,使其停滞于 G0/G1 期,而致其凋亡,并影响其趋化活性。还能下调 B 淋巴细胞趋化因子 CXCR4 和 CXCR5 等及其配体,减少 IgM、IgG 和 IgA 的表达<sup>[19]</sup>。且这种作用与 MSCs 分泌的可溶性因子有关,因此 MSCs 产生的某些可溶性因子有可能在防治组织器官移植排斥过程中也起着重要的作用。MSCs 还可影响 NK 细胞。MSCs 不单抑制 NK 细胞增殖,而且阻碍相关效应分子的诱导功能。MSCs 对 NK 的抑制作用与 NK 细胞表面受体 NKp30、NKp44 和 NKG2D 的下调,其与吲哚胺 2,3-双加氧酶和 PGE2 等的介导有关<sup>[20]</sup>。

## 3 MSCs 在同种异体动物组织器官移植实验中的免疫耐受作用

同种异体组织器官移植排斥反应是目前尚未克服的世界性难题,长期免疫抑制剂的应用不仅要面临药物本身的毒副作用的危险,而且还伴随着高感染和潜在的诱发肿瘤等的风险, MSCs 独特的免疫抑制作用在这方面可能具有潜在的防治组织排斥功效。Wang 等<sup>[21]</sup>在大鼠异基因肝移植模型中实验发现, MSCs 能显著抑制急性异体移植的排斥反应,是 MSCs 诱导 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> T 细胞增殖,提示 MSCs 的免疫调节效应与 Treg 细胞的增殖有关。Wan 等<sup>[22]</sup>将肝脏移植大鼠分为自体骨髓 MSCs 治疗组和未治疗组,发现 IL-2、ALT、TBIL 水平显著下降 IL-10 水平升高。Yu 等<sup>[23]</sup>给小面积肝移植的小鼠,静脉回输经基因修饰表达肝细胞生长因子的 MSCs,可明显改善移植肝的功能,促进移植肝的再生。证明 MSCs 输注可提高肝移植的免疫耐受,延长移植肝的存活时间。Popp 等<sup>[24]</sup>对大鼠心脏移植发现, MSCs 联合低剂量麦考酚吗乙酯(MMF),可使移植心脏的大鼠平均存活时间大于 100 d,而对照组仅为 13 d。周云峰等<sup>[25]</sup>对同种异体大鼠肾移植前后输注供体的 MSCs 观察到可使受试大鼠生存期显著延长,肾功能改善,病理切片检查显示免疫排斥程度减轻。表明 MSCs 可降低受者对移植肾的免疫排斥反应。Bartholomew 等<sup>[10]</sup>实验观察到狒狒在皮肤移植的同时体内一次性静脉注射供者或第三者 BMSCs,可以延长移植皮片的存活时间,其效果相当于目前临床应用的免疫抑制剂环孢霉素 A。MSCs 诱导免疫耐受的机制目前认为具有两种方式,即通过细胞间直接接触和释放可溶性细胞因子,使淋巴细胞获得免疫抑制能力及增殖活化,启动级联信号放大系统。混合淋巴细胞反应证实 BMSCs 能够促进 Treg 增殖,齐丙迪等<sup>[26]</sup>研究小鼠 BMSCs 诱导同种异体移植受体免疫耐受,证实 BMSCs 具有刺激 T 淋巴细胞向 Treg 细胞分化,受体外周血在 BMSCs 输注 1 周后能较对照组明显刺激 TGF- $\beta$  和 IL-10,抑制 IFN- $\gamma$  的分泌。这可是受体形成一个有利于免疫耐受的微环境,并使静脉输注 BMSCs 可减少 Th1 分泌的细胞因子,IFN- $\gamma$ 、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$  而增加 Th2 细胞分泌的 IL-4、TGF- $\beta$  和 IL-10 的分泌,因此,间接推断

BMSCs 改变 Th1/Th2 的比例,使 T 细胞向有利于免疫耐受的 Th2 细胞分化。另外异基因 BMSCs 可以通过抑制受体髓系 DC 细胞表面分子表达和抑制 DC 分泌 IL-12 的方式抑制其成熟和功能,从而促进移植物的存活,诱导免疫耐受<sup>[4,27]</sup>。胎盘和脐带来源的 MSCs 具有增殖能力强、免疫原性低、取材方便、无道德伦理问题限制等特点,最有可能替代不易获取,培养需要时间,不能及时用于患者需要的供体骨髓 MSCs 成为更具临床应用前景的细胞来源。为了满足临床研究的需要,美国 Osiris 公司提供标准,最大限度地减少异质性的 MSCs 商品,已获 FDA 批准进行多项 MSCs 临床研究,相信在不久的将来 MSCs 在组织器官移植和移植物抗宿主病(GVHD)等的防治上创造更加灿烂的辉煌。

## 参考文献

- [1] Conget PA, Minguell JJ. Phenotypical and functional properties of human bone marrow mesenchymal progenitor cells [J]. *J Cell Physiol*, 1999, 181(1):67-73.
- [2] 杨阳,岳波,郭树忠,等.维持树突状细胞未成熟状态诱导同种异体组织移植免疫耐受的研究进展[J]. *中华外科杂志*, 2011, 49(1):87-90.
- [3] Le Blanc K, Ringdén O. Immunobiology of human mesenchymal stem cells and future use in hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, 11(5):321-334.
- [4] Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses [J]. *Blood*, 2005, 105(4):1815-1822.
- [5] Ringden O, Le Blanc K. Mesenchymal stem cells for treatment of acute and chronic graft-versus-host disease, tissue toxicity and hemorrhages [J]. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2011, 24(1):65-72.
- [6] da Silva Meirelles L, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues [J]. *J Cell Sci*, 2006, 119(Pt 11):2204-2213.
- [7] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement [J]. *Cytotherapy*, 2006, 8(4):315-317.
- [8] Tse WT, Pendleton JD, Beyer WM, et al. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation [J]. *Transplantation*, 2003, 75(3):389-397.
- [9] Chen X, Armstrong MA, Li G. Mesenchymal stem cells in immunoregulation [J]. *Immunol Cell Biol*, 2006, 84(5):413-421.
- [10] Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo [J]. *Exp Hematol*, 2002, 30(1):42-48.
- [11] English K, French A, Wood KJ. Mesenchymal stromal cells: facilitators of successful transplantation? [J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 7(4):431-442.
- [12] 邓春艳,李富荣,王新根,等.小鼠骨髓间充质干细胞对同种异体骨髓来源的树突状细胞分化和功能的影响 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2009, 25(12):1098-1100.
- [13] 许超,廖继东,李扬秋.间充质干细胞对 T 细胞的影响及其机制 [J]. *国际输血及血液学杂志*, 2010, 33(4):359-362.
- [14] 杨阳,李媛,韩岩,等.同种异体复合组织移植排斥反应的防治进展 [J]. *中华外科杂志*, 2010, 60(2):149-151.
- [15] Bounaza I, Srinivasan S, Witt WT, et al. Autologous bone marrow-derived rat mesenchymal stem cells promote PDX-1 and insulin expression in the islets, alter T cell cytokine pattern and preserve regulatory T cells in the periphery and induce sustained normoglycemia [J]. *J Autoimmun*, 2009, 32(1):33-42.
- [16] 朱劲明,蔡德鸿,张桦,等.大鼠 MSCs 对 BALB/c 小鼠体外淋巴细胞的影响 [J]. *广东医学*, 2009, 30(1):20-22.
- [17] English K, Ryan JM, Tobin L, et al. Cell contact, prostaglandin E (2) and transforming growth factor beta 1 play non-redundant roles in human mesenchymal stem cell induction of CD4<sup>+</sup> CD25 (high) forkhead box P3<sup>+</sup> regulatory T cells [J]. *Clin Exp Immunol*, 2009, 156(1):149-160.
- [18] Selmani Z, Naji A, Zidi I, et al. Human leukocyte antigen-G5 secretion by human mesenchymal stem cells is required to suppress T lymphocyte and natural killer function and to induce CD4<sup>+</sup> CD25 high FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells [J]. *Stem Cells*, 2008, 26(1):212-222.
- [19] Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions [J]. *Blood*, 2006, 107(1):367-372.
- [20] 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.
- [21] Wang Y, Zhang A, Ye Z, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells inhibit acute rejection of rat liver allografts in association with regulatory T-cell expansion [J]. *Transplant Proc*, 2009, 41(10):4352-4356.
- [22] Wan CD, Cheng R, Wang HB, et al. Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells derived from adipose tissues in a rat orthotopic liver transplantation model [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2008, 7(1):29-33.
- [23] Yu Y, Yao AH, Chen N, et al. Mesenchymal stem cells over-expressing hepatocyte growth factor improve small-for-size liver grafts regeneration [J]. *Mol Ther*, 2007, 15(7):1382-1389.
- [24] Popp FC, Eggenhofer E, Renner P, et al. Mesenchymal stem cells can induce long-term acceptance of solid organ allografts in synergy with low-dose mycophenolate [J]. *Transpl Immunol*, 2008, 20(1/2):55-60.
- [25] 周云峰,张炜,张炜小,等.骨髓 MSCs 输注对移植肾的保护作用 [J]. *中华实验外科杂志*, 2007, 24(6):721-723.
- [26] 齐丙迪,孟宝玺,杨阳,等.第三方骨髓间充质干细胞诱导同种异体移植受体免疫耐受机制的研究 [J]. *中华整形外科杂志*, 2011, 27(3):207-212.
- [27] 孟宝玺,郑岩,杨阳,等.第三方骨髓间充质干细胞对同种异体皮肤移植的影响 [J]. *中华整形外科杂志*, 2010, 26(2):120.