DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.03.020

·综　述·

间充质干细胞对移植物抗宿主病的免疫调节作用

Immunoregulation effect of mesenchymal stem cells on graft versus host disease

杨兴肖 综述,单保恩 审阅(河北医科大学 第四附属医院 科研中心,石家庄 050011)

[摘　要] 间充质干细胞(mesenchymal stem cells,MSCs)是骨髓中具有自我更新和多向分化潜能的一种非造血干细胞,其免疫原性很低,在体外能抑制丝裂原或同种异基因抗原刺激的T细胞增殖。移植物抗宿主病(graft versus host disease,GVHD)是异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation,alloHSCT)后最主要的并发症,主要由供者T细胞所介导,是多种机制共同参与的复杂过程。在动物实验和临床试验中,MSCs具有较强的免疫调节作用,能显著抑制GVHD的发生,缓解其症状,提高受者的存活率;其机制为MSCs通过抑制T细胞的增殖,阻断DCs的分化和成熟,并通过增加CD4$^+$CD25$^+$调节性T细胞的比例来提高干细胞移植的成功率,使GVHD造成的病理损伤明显减轻,从而达到预防和治疗GVHD的目的。相关研究为MSCs有效应用于GVHD等临床免疫性疾病治疗提供了理论指导,并展现出极大的应用前景。

[关键词] 间充质干细胞;移植物抗宿主病;免疫调节
[中图分类号] R392.4; R730.5　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1007-385X(2011)03-0337-06

目前,异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation,alloHSCT)已成为治疗白血病等恶性血液病的一种有效方法。在临床上alloHSCT虽然已得到较广泛应用,但移植物抗宿主病(graft versus host disease,GVHD)的发生严重制约了移植效果和受者术后生存时间,尤其急性移植物抗宿主病(acute graft versus host disease,aGVHD)是异基因骨髓移植后发生的最主要的并发症,发生率及病死率均很高。虽然类固醇激素和其他一些免疫抑制剂对aGVHD有一定的疗效,但可能因此而诱发更为严重的激素耐药性GVHD,并且增加了患者感染的机会。Ning等[1]发现,去除供者骨髓中T细胞可以使aGVHD的发生率降低,但该治疗措施增加了患者原发疾病的复发,最终导致移植失败。间充质干细胞(mesenchymal stem cell,MSCs)是骨髓中造血干细胞以外的另一类干细胞,具有自我更新和多向分化的特性,并且具有较强的免疫调节作用[2],为预防和治疗aGVHD提供了新思路。本文就MSCs的生物学特性及其对GVHD的作用进行相应探讨。

1　MSCs的生物学特性

骨髓是MSCs的主要来源,其在脐血、外周血、胎盘、肺、羊水、肌肉、网膜等组织中也有少量存在[3]。迄今为止,尚没有发现绝对特异性的MSCs表面标志,因此,对MSCs的鉴定需多种细胞表面标志联合检测。MSCs不表达造血细胞表面标志,如CD11b、CD14、CD31、CD33、CD34、CD133和CD45等[4],表达CD44、CD105、CD166、CD29、CD73、CD90、基质细胞抗原1(stroma cell antigen 1, Stro-1)、干细胞抗原1(stem cell antigen 1, Sca-1)、CXC类趋化因子受体4(CXC type chemokine receptor 4, CXCR-4)和CXCR-6等表面分子[5-6]。MSCs体外具有多向分化潜能,在不同培养条件下能够诱导分化成骨、软骨、肌肉、脂肪、神经、胰岛细胞等[7]。

MSCs免疫原性很低,表达少量的主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex,MHC)I类分子以及血管细胞黏附分子、细胞间黏附分子,不表达或弱表达MHC Ⅱ类分子,也不表达协同刺激分子CD40、CD80、CD86[8]。这些特点使MSCs免受NK细胞和T细胞的识别和攻击。此外,在炎症因子IFN-γ的刺激下,MHC Ⅰ和MHC Ⅱ类分子的表达上调,然而,MSCs仍不能有效刺激淋巴细胞增殖,这说明MSCs低免疫原性的发生机制复杂,尚待进一步探讨。

MSCs还具有较强的免疫调节作用。目前的研究[9]表明,在体外实验中,MSCs既能抑制丝裂原如PHA或ConA刺激T细胞增殖,也能抑制混合淋巴细胞反应(mixed lymphocyte reaction,MLR)体系中T

[基金项目] 河北省高校强势特色学科资助项目(No. 200552)。Project supported the Key Specific Discipline Foundation of Higher Institutions of Hebei Province (No. 200552)
[作者简介] 杨兴肖(1984-)女,河北保定人,硕士生,主要从事肿瘤分子生物学诊断方面的研究,Email: yangxingxiao2007@sina.com
[通信作者] 单保恩(SHAN Bao-en, corresponding author), Email: baoenshan@yahoo.com

细胞增殖。研究[2]发现,MSCs 能明显抑制 ConA 刺激单个核细胞(mononuclear cell, MNC)的增殖反应,且这种抑制作用随 MSCs 比例的增加而增强。

2　GVHD 的发病机制

GVHD 的发生过程复杂。目前一般认为,GVHD 的病理生理过程分为三个阶段[10]:(1)免疫启动阶段。在移植前进行大剂量的放、化疗,不仅增加了感染发生的机会,并且由于损伤组织而活化了抗原提呈细胞(antigen presenting cell,APC),从而促进供者 T 细胞分泌大量的细胞因子,如 IL-1、IL-6、TNF-α 等,而这又会使 T 细胞向 Th1 方向分化,从而促进 T 细胞的增殖和分化,以产生更多的细胞因子,这些细胞因子使供者 T 细胞易于识别受者抗原。(2)效应 T 细胞活化与扩增阶段。外源性抗原可沿淋巴液和血液转运至淋巴组织或停留在局部,在相应部位被 APC 摄取、加工、处理成抗原肽,与 MHC 结合成复合物表达于 APC 表面,提呈给 T 细胞,使其活化、增殖。(3)免疫效应阶段。临床试验[11]证实,供者 T 细胞是发生 GVHD 的主要效应细胞,T 细胞经穿孔素/颗粒酶和 Fas/FasL 途径发挥效应,在一些炎症因子瀑布式暴发的辅助下,引起肝脏、皮肤、胃肠道黏膜的病理损害,出现 GVHD 的典型症状。Fas 通路与 T 细胞介导的 GVHD 关系重大,特别是肝细胞对 Fas 通路介导的细胞溶解最为敏感。研究[12]表明,小鼠肝脏 GVHD 病理损伤能被抗 Fas 配体物质如可溶性 Fas-Fc 融合蛋白所减轻。

有关 GVHD 发生的具体机制还不清楚。有人认为,它的发生与 Th1/Th2 细胞亚群比例的失衡有关。一般情况下,Th1/Th2 细胞比例能保持平衡,这对于机体保持免疫自稳有着重要意义。Th1/Th2 细胞发生漂移将会打破机体的免疫系统平衡,引发各种免疫疾病。有报道[13]显示,Th1 细胞主要分泌的细胞因子是 IL-2、TNF-α、IFN-γ 等,介导机体的细胞免疫反应,同时抑制 Th2 细胞的分化和功能;Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 等细胞因子,介导体液免疫反应,又可抑制 Thl 细胞的分化和功能。其中 IL-2、IFN-γ 等能够放大 Thl 细胞对异体抗原的免疫应答,是引发 aGVHD 的主要细胞因子;而 IL-4、IL-10 等能够诱导免疫耐受,抑制 aGVHD 的发生。田莹等[14]报道,在移植后出现的 GVHD 组 Th1/Th2 细胞亚群比例明显高于对照组,且 GVHD 组 IL-4 的表达减少,这说明 GVHD 组中 Th1 发挥了优势免疫应答及向 Th1 类细胞因子的偏移,使 Th1 细胞及其分泌的细胞因子对机体的免疫损伤加重;而 Th2 细胞及其分泌的细胞因子诱导的免疫耐受作用减轻,从而促进 T 细胞由 Th0 向 Th1 的分化,抑制 Th0 向 Th2 分化,加剧了 GVHD 的发生,导致更多的炎性细胞因子释放,不断刺激 APC 的活化和 T 细胞的增殖,引起“细胞因子风暴”造成组织器官损伤。

3　MSCs 对 GVHD 的免疫调节作用

无论是 GVHD 模型动物实验,还是在临床试验,结果[15-16]均显示,MSCs 具有较强的免疫调节作用,显著抑制 GVHD 的发生,缓解其症状,从而提高受者的存活率。

在鼠类 GVHD 模型研究[17-18]中发现,对接受同种异基因骨髓移植的受鼠,共输注供者骨髓 MSCs 能够显著地促进移植物的植入,并明显降低了 GVHD 的发病率,改善了 GVHD 症状,且显著延长移植物的存活时间。Tian 等[19]研究发现,MSCs 与造血干细胞(hematopoietic stem cell,HSC)同时输注的大鼠有 60% 长期存活,仅 40% 死于 GVHD;而未输注 MSCs 的大鼠有 20% 长期存活,80% 死于 GVHD。田莹等[14]成功构建了大鼠 GVHD 模型,并根据是否输注 MSCs 将实验进行了分组,发现未输入 MSCs 的模型组中 10 只受鼠全部发生 GVHD,该组大鼠的平均生存时间为(17.30 ± 2.33)d。共输入 MSCs 的实验组大鼠发生 GVHD 的情况明显较 GVHD 组为轻,10 只受鼠中只有 4 只发生较明显的 GVHD,该组大鼠的平均生存时间为(24.10 ± 2.36)d,实验组受鼠的生存时间明显长于 GVHD 组,说明 MSCs 与 HSC 共移植有效抑制了 HSC 移植后致死性 GVHD 的发生,使生存时间显著延长。将模型组与实验组受鼠的骨髓、脾脏、皮肤、小肠和肝脏组织经 H-E 染色,观察其病理改变发现,与模型组受鼠相比,实验组受鼠组织器官的病理损伤明显改善。

临床试验的研究结果也是如此。LeBlanc 等[16]将 MSCs 输注给 55 例激素抵抗的严重 aGVHD 患者,其中有 39 例患者获得完全缓解,11 例患者取得部分缓解,注入 MSCs 显著提高了获得缓解患者的生存率。Kebriaei 等[20]对严重 GVHD 患者输注与供者来源无关的 MSCs,并随机将患者分组,输注不同剂量 MSCs(8×10^6/kg 和 2×10^6/kg),结果表明,未发现任何输注不良反应及毒性反应,94% 的患者治疗后 GVHD 症状得到缓解,并且低剂量组和高剂量组之间无明显差异,结果说明,MSCs 输注安全可靠并且治疗 GVHD 有效。Ning 等[1]对 30 例急性髓系白血病患者 alloHSCT 后输注了 MSCs,观察 MSCs 对发生 GVHD 的治疗效果。受体随机分为两组,即

输注和不输注 MSCs 组,结果显示,在输注 MSCs 的 15 例患者中,仅发现了 1 例 aGVHD,严重程度为Ⅱ级;而未输注 MSCs 的 15 例患者,有 8 例发展到Ⅱ级 aGVHD。从而得出 MSCs 对治疗 GVHD 有效的结论。

4 MSCs 调节 GVHD 的可能机制

体内、外实验均证明,MSCs 能有效减轻 GVHD 的发生率和病死率。然而,MSCs 对 GVHD 的作用机制仍未确定,目前考虑可能的机制如下。

4.1 MSCs 对 T 细胞的作用

如前所述,T 细胞在 GVHD 的发病过程中起关键作用,MSCs 对 GVHD 的预防和治疗作用是否是通过其对 T 细胞的作用而实现的呢? 体外研究[21-22]发现,MSCs 能够调节细胞周期蛋白 D1、E 等的表达,使 T 细胞大多数处于 G_0/G_1 期,从而抑制丝裂原或同种异基因抗原刺激的 T 细胞增殖。还有报道[14]显示,在 MSCs 治疗 GVHD 大鼠模型实验中,骨髓移植共输注 MSCs 的大鼠脾脏表达 Th1 类细胞因子 IFN-γ 的水平明显低于单独骨髓移植组,而表达 Th2 类细胞因子 IL-4 的水平明显升高。体外实验[23]结果也显示,无论在丝裂原或同种异基因抗原刺激的条件下,MSCs 均能够促进 T 细胞分泌 Th2 类细胞因子,并抑制其分泌 Th1 类细胞因子。这些实验均提示,MSCs 能够促进 T 细胞向 Th2 方向分化,并抑制其向 Th1 方向分化。该作用可部分解释 MSCs 对 GVHD 的调节作用。

4.2 MSCs 对 $CD4^+CD25^+$ 调节性 T 细胞的作用

$CD4^+CD25^+$T 细胞约占外周血 $CD4^+$T 细胞的 5% ~10% ,$CD4^+CD25^+$T 细胞具有免疫抑制作用,在维持自身免疫耐受方面具有重要作用。多数研究表明,$CD4^+CD25^+$T 细胞在 MSCs 的免疫调节中发挥了重要作用。叶芳等[24]研究发现,与 MSCs 共培养的 T 细胞中,$CD4^+CD25^+$T 细胞的比例明显上调,故而认为,MSCs 可通过上调 $CD4^+CD25^+$T 细胞的表达来发挥免疫调节作用。王劲松等[25]检测了给大鼠输注 MSCs 7 d 后,MSCs 输注组 $CD4^+CD25^+$T 细胞的比例明显高于未输注 MSCs 的对照组,这提示 MSCs 能上调 $CD4^+CD25^+$T 细胞的表达,以提高大鼠的免疫耐受能力。以上研究显示,MSCs 可能通过 $CD4^+CD25^+$T 细胞发挥免疫调节作用,但有关 $CD4^+CD25^+$T 细胞作用的具体机制还不太清楚。然而,张伟等[26]报道,经 PHA 刺激 72 h 后,与 MSCs 共培养的 T 细胞中,$CD4^+CD25^+$T 细胞的数量显著减少,并据此认为,$CD4^+CD25^+$调节性 T 细胞未参与 MSCs 的抑制作用。以上结论的差异可能是由于实验条件的不同所致。因此,$CD4^+CD25^+$T 细胞在 MSCs 发挥免疫调节作用的过程中所扮演的角色依然有待研究。

4.3 MSCs 对树突状细胞的作用

树突状细胞(dendritic cell,DC)是主要的 APC,MSCs 能够明显抑制 DC 的活性。邓春艳等[27]研究发现,小鼠 MSCs 能够显著抑制 DC 的分化、成熟及抗原提呈功能,使其成熟分子 CD11c、CD14、CD83、CD86 等的表达下降,并显著抑制 DC 分泌 IL-12,且该抑制效应呈剂量依赖性。而 IL-12 是促进 DC 成熟和发挥免疫功能的重要因子,且对维持 Th1 与 Th2 的平衡也有重要作用,IL-12 分泌的减少势必会影响到 DC 的功能。还有研究[28-29]发现,在已成熟的 DC 中加入 MSCs,能使成熟 DC 逆转为未成熟 DC。另外,MSCs 能够将 DC 细胞阻滞在 G_0/G_1 期,抑制 DC 的增殖[30]。但 MSCs 通过何种途径抑制 DC 的功能依然有争议。Devorah 等[31]认为,MSCs 在抑制 DC 细胞作用的过程中需要细胞间的直接接触;而还有一些学者认为,该作用主要通过可溶性的细胞因子,例如 Aggarwal 等[32]认为,PGE2 在 MSCs 抑制 DC 细胞的成熟和作用方面发挥了重要作用。Jiang 等[33]研究发现,IL-6 也参与了 MSCs 对 DC 的免疫抑制作用。以上研究显示,MSCs 可以从不同方面通过抑制 DC 分化、成熟及其功能,发挥免疫调节作用。

4.4 其他机制

除了上述各种机制外,还有其他一些机制可能参与了 MSCs 的免疫调节作用。例如,在 IFN-γ 刺激下,MSCs 能抑制 T 细胞的增殖,并介导 MSCs 对 GVHD 的免疫抑制作用,且呈剂量依赖性。在小鼠体内注入 $IFN\text{-}\gamma R1^{-/-}$ 小鼠的 MSCs,不但不能缓解 GVHD,反而使 GVHD 症状加剧[34-35]。English 等[36]进一步研究发现,MSCs 在 IFN-γ 刺激下可表达较高水平的吲哚胺-2,3 双加氧酶(indolamine dioxygenase,IDO)。在 IDO 作用下,色氨酸能转化成犬尿酸,而色氨酸是 T 淋巴细胞活化、增殖过程中必需的氨基酸,并且它对蛋白质的构成也必不可少。色氨酸的缺失会使 T 细胞增殖受抑。因此,IDO 可能是 MSCs 发挥免疫调节作用的因子之一。同时,炎性环境中的 IFN-γ 可能是 MSCs 免疫调节作用的启动因素之一。此外,还有研究[37-38]表明,在炎性环境中由于 IFN-γ 和 TNF-α 的存在,可诱导 MSCs 产生 NO,从而抑制 T 细胞转录因子 STAT5 的磷酸化,进而抑制 T 细胞增殖,并促进淋巴细胞的凋亡。综

上所述, MSCs 的免疫抑制作用机制存在于多个方面,是多种机制共同作用的结果,因此,对 MSCs 免疫抑制作用机制的研究必须从多方面进行。

5 输注 MSCs 可能存在的问题

MSCs 具有的免疫调节作用使其在 GVHD 的预防和治疗领域具有良好的前景,但问题在于异基因干细胞移植的对象通常为各种恶性血液病患者, MSCs 在减轻 GVHD 病情的同时是否会削弱机体的抗肿瘤免疫力呢? Ning 等[1]随机对 30 例恶性血液病患者在接受 alloHSCT 后出现的 GVHD 进行输注或不输注 MSCs 的研究,发现与未接受 MSCs 组相比,输注 MSCs 组 GVHD 的发生率明显降低,然而,又发现输注 MSCs 后,患者白血病的复发率由未输注组的 20% 上升到了 60% ,从而得出 MSCs 治疗 GVHD 的同时也会影响移植物抗白血病反应(graft-versus-leukemia, GVL)。宋丽等[39]报道,在体内外实验中,MSCs 能抑制细胞毒性 T 细胞(cytotoxic T cell, CTL)生成,且该抑制效应为剂量依赖性。由于 CTL 是 GVL 的主要效应细胞之一,而 MSCs 能够抑制 CTL 的杀伤作用。这说明 MSCs 可能是通过抑制 CTL 的杀伤作用,削弱了 GVL 效应,从而引起白血病的复发。这些结果都提示,在 MSCs 的临床应用中,必须采取措施防止上述可能出现的不良反应。

6 展 望

MSCs 在体外易于分离、扩增,同时还具有再生修复实质组织器官和免疫调节的生物学特性,在治疗 GVHD 方面有着积极作用。此外,MSCs 在治疗 GVHD 以外的其他一些疾病,特别是自身免疫性疾病方面也受到广泛关注。王黎明等[40]报道,给 17 例类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)患者静脉输注 MSCs,发现全部患者在饮食、睡眠、体力、疲劳等临床症状方面均有明显改善,且所有患者治疗前后血常规、肝肾功能、血清免疫球蛋白等检测指标均无显著变化。据此认为,MSCs 在治疗 RA 的同时,无不良反应,为临床治疗 RA 寻找到一条新途径。另外,还有一些研究报道,输注 MSCs 在治疗如严重硬皮症[41](scleroderma)、银屑病关节炎[42](psoriatic arthritis)及系统性红斑狼疮[43-44](systemic lupus erythematosus, SLE)等疾病方面也有积极的治疗作用。Gordon 等[45]报道,MSCs 能够使多发性硬化(multiple sclerosis, MS)动物模型实验性脑脊髓炎的症状得到缓解,并使神经轴突的病理损伤显著减轻。吴立克等[46]研究也证明,帕金森患者在利用脐血 MSCs 治疗后能够使患者的临床症状如震颤、强直、运动迟缓、体位不稳等得到改善。不仅如此, MSCs 在预防和治疗再生障碍性贫血、糖尿病、肿瘤以及骨损伤等疾病方面的积极作用也见较多报道[47-49]。这些研究都充分证明,MSCs 可作为生物治疗的种子细胞在临床治疗方面有着广阔的前景。但目前关于 MSCs 的研究仍处于动物实验或临床前期,许多问题有待进一步解决,如 MSCs 输注的安全性、作用的持久性以及输注时间、剂量、途径等。这些问题已成为制约 MSCs 基础及临床研究的瓶颈。但随着人们对 MSCs 免疫调节作用机制研究的深入,上述问题一定会逐步解决,MSCs 在临床治疗及预防各种疾病特别是 GVHD 上将具有更加广阔的应用前景。

[参 考 文 献]

[1] Ning H, Yang F, Jiang M, et al. The correlation between cotransplantation of mesenchymal stem cells and higher recurrence rate in hematologic malignancy patients: Outcome of a pilot clinical study [J]. Leukemia, 2008, 22(3): 593-599.

[2] 马鸣, 单保恩, 刘伟, 等. 大鼠骨髓间充质干细胞对脾单个核细胞的免疫调节作用 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2009, 25 (12): 1119-1122.

[3] Keyser KA, Beagles KE, Kiem HP. Comparison of mesenchymal stem cells from different tissues to suppress T-cell activation [J]. Cell Transplant, 2007, 16(5): 555-562.

[4] 王健民, 宋宁霞. 间充质干细胞与造血干细胞移植相关研究的进展 [J]. 内科理论与实践, 2010, 5(1): 24-30.

[5] Brooke G, Tong H, Levesque JP, et al. Molecular trafficking mechanisms of multipotent mesenchymal stem cells derived from human bone marrow and placenta [J]. Stem Cells Dev, 2008 ,17 (5): 929-940.

[6] Sordi V, Malosio ML, Marchesi F, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells express a restricted set of functionally active chemokine receptors capable of promoting migration to pancreatic islets [J]. Blood, 2005, 106(2): 419-427.

[7] Chao KC, Chao KF, Fu YS, et al. Islet-like clusters derived from mesenchymal stem cell in Wharton's jelly of the human umbilical cord for transplantation to control type 1 diabetes [J]. Plos One, 2008, 3(1): 1451-1451.

[8] 单保恩,杨从容. 骨髓间充质干细胞对大鼠异基因骨髓移植后移植物抗宿主病的影响 [J]. 中国免疫学杂志,2008, 24(1): 49-53.

[9] Suva D, Passweg J, Arnaudeau S, et al. In vitro activated human T lymphocytes very efficiently attach to allogenic multipotent mesenchymal stromal cells and transmigrate under them [J]. J Cell Physiol, 2008; 214(3): 588-594.

[10] 马洁娴,谢彦晖. 移植物抗宿主病与移植物抗白血病效应研究新进展 [J]. 复旦学报, 2008, 35(5): 779-781.

[11] Ho VT, Cutler C. Current and novel therapies in acute GVHD

[J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2008, 21(2): 223-237.

[12] Mori T, Nishimura T, Ikeda Y, et al. Involvement of Fas-mediated apoptosis in the hematopoietic progenitor cells of graft-versus-host reaction-associated myelosuppression[J]. Blood, 1998, 92(1), 101-107.

[13] 毕延智，曾冬香，盛桂凤，等. 不同途径的供者淋巴细胞输注对移植物抗宿主病的影响[J]. 中国免疫学杂志，2009，25(11)：999-1002.

[14] 田莹，邓宇斌，王亚柱，等. 骨髓间质干细胞降低大鼠移植物抗宿主反应的实验研究[J]. 免疫学杂志，2008，24(1)：29-33.

[15] Nauta AJ, Westerhuis G, Kruisselbrink AB, et al. Donor-derived mesenchymal stem cells are immunogenic in an allogeneic host and stimulate donor graft rejection in a nonmyeloablative setting[J]. Blood, 2006, 108(6): 2114-2120.

[16] 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.

[17] Xu G, Zhang L, Ren G, et al. Immunosuppressive properties of cloned bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Cell Res, 2007, 17(3): 240-248.

[18] 雷俊霞，郭振宇，赵东长，等. 骨髓间质干细胞对大鼠移植物抗宿主效应和脾脏结构的影响[J]. 中山大学学报，2008，29(6)：680-683.

[19] Tian Y, Deng YB, Huang YJ, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells decrease acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cells transplantation[J]. Immunol Invest, 2008, 37(1): 29-42.

[20] Kebriaei P, Isola L, Bahceci E, et al. Adult human mesenchymal stem cells added to corticosteroid therapy for the treatment of acute graft-versus-host disease[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2009, 15(7): 804-811.

[21] Kim JA, Hong S, Lee B, et al. The inhibition of T-cells proliferation by mouse mesenchymal stem cells through the induction of p16INK4A-cyclin D1/cdk4 and p21waf1, p27kip1-cyclin E/cdk2 pathways[J]. Cell Immunol, 2007, 245(1): 16-23.

[22] Suva D, Passweg J, Arnaudeau S, et al. In vitro activated human T lymphocytes very efficiently attach to allogenic multipotent mesenchymal stromal cells and transmigrate under them[J]. J Cell Physiol, 2008, 214(3): 588-594.

[23] 宣旻，谢晓宝，邱国强. 间充质干细胞对不同刺激条件下Th1/Th2细胞比值的影响[J]. 基础医学与临床，2006，26(11)：1235-1238.

[24] 叶芳，乔振华，朱镭，等. 间充质干细胞对活化T淋巴细胞的免疫调节作用[J]. 中国实验血液学杂志，2008，16(5)：1116-1120.

[25] 王劲松，秦晓晔，舒振波，等. 大鼠骨髓间充质干细胞对免疫耐受的作用[J]. 中国免疫学杂志，2008，24(12)：1113-1115.

[26] 张伟，杨默，陈志峰. 骨髓间充质干细胞对T细胞亚群的影响[J]. 中国实验血液学杂志，2008，16(4)：863-866.

[27] 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.

[28] Djouad F, Charbonnier LM, Bouffi C, et al. Mesenchymal stem cells inhibit differentiation of the dendritic cells through an interleukin-6-dependent mechanism[J]. Stem Cells, 2007, 25(8): 2025-2032.

[29] 杨靖，曾秋棠，王庆海，等. 人骨髓间质干细胞对树突状细胞成熟和功能影响的实验研究[J]. 中国现代医学杂志，2007，17(4)：445-449.

[30] Ramasamy R, Fazekasova H, Lam EW, et al. Mesenchymal stem cells inhibit dendritic cell differentiation and function by preventing entry into the cell cycle[J]. Transplantation, 2007, 83(1): 71-76.

[31] Gur-Wahnon D, Borovsky Z, Beyth S, et al. Contact-dependent induction of regulatory antigen-presenting cells by human mesenchymal stem cells is mediated via STAT3 signaling[J]. Exp Hematol, 2007, 35(3): 426-433.

[32] Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses[J]. Blood, 2005, 105(4): 1815-1822.

[33] Jiang XX, Zhang Y, Liu B, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells[J]. Blood, 2005, 105(10): 4120-4126.

[34] Ren G, Zhang L, Zhao X, et al. Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide[J]. Cell Stem Cell, 2008, 2(2): 141-150.

[35] Polchert D, Sobinsky J, Douglas G, et al. IFN-gamma activation of mesenchymal stem cells for treatment and prevention of graft versus host disease[J]. Eur J Immunol, 2008, 38(6): 1745-1755.

[36] English K, Barry FP, Field-Corbett CP, et al. IFN-gamma and TNF-alpha differentially regulate immunomodulation by murine mesenchymal stem cells[J]. Immunol Lett, 2007, 110(2): 91-100.

[37] Ozawa K, Sato K, Oh I, et al. Cell and gene therapy using mesenchymal stem cells (MSCs)[J]. J Autoimmun, 2008, 30(3): 121-127.

[38] Xu G, Zhang Y, Zhang L, et al. Bone marrow stromal cells induce apoptosis of lymphoma cells in the presence of IFNgamma and TNF by producing nitric oxide[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 375(4): 666-670.

[39] 宋丽，陈嘉林. 间充质干细胞免疫调节作用及其在自身免疫病中的意义[J]. 基础医学与临床，2009，29(11)：1221-1223.

[40] 王黎明，周建军，白雯，等. 脐带间充质干细胞治疗17例类风湿性关节炎患者的临床疗效观察[J]. 中国免疫学杂志，2010，26(7)：659-662.

[41] Cipriani P, Guiducci S, Miniati I, et al. Impairment of endothelial cell differentiation from bone marrow-derived mesenchymal stem cells: New insight into the pathogenesis of systemic sclerosis[J]. Arthritis Rheum, 2007, 56(6): 1994-2004.

[42] Ringe J, Haupl T, Sittinger M. Future of tissue engineering in rheumatic diseases[J]. Expert Opin Biol Ther, 2007, 7(3): 283-287.

[43] Uccelli A, Pistoia V, Moretta L. Mesenchymal stem cells: A new

strategy for immunosuppression [J]? Trends Immunol, 2007, 28 (5): 219-26.

[44] Krampera M, Pasini A, Pizzolo G, et al. Regenerative and immunomodulatory potential of mesenchymal stem cells [J]. Curr Opin Pharmacol, 2006, 6(4): 435-441.

[45] Gordon D, Pavlovska G, Glover CP, et al. Human mesenchymal stem cells abrogate experimental allergic encephalomyelitis after intraperitoneal injection, and with sparse CNS infiltration [J]. Neurosci Lett, 2008, 448(1): 71-73.

[46] 吴立克, 王晓娟, 褚赛纯, 等. 脐血间充质干细胞移植治疗帕金森病 30 例 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13 (40): 7951-7954.

[47] 翟旭, 张 弘, 霍晓川, 等. 骨髓间充质干细胞表达外源性 IL-12 对胶质瘤 C6 细胞增殖的影响 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2009,16(1): 71-74

[48] 封冰, 陈龙邦. 间充质干细胞与肿瘤:抑制或促进[J]? 中国肿瘤生物治疗杂志, 2009, 16(5): 532-536

[49] 李佩恩, 吴秉毅, 李真慧, 等. 间充质干细胞可能通过调控免疫细胞促进再生障碍性贫血小鼠骨髓的造血功能 [J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26(5): 987-990.

[收稿日期] 2011 - 01 - 14　　**[修回日期]** 2011 - 03 - 05
[本文编辑] 韩　丹

· 科技动态 ·

铝盐主要通过与 DC 质膜相互作用发挥其免疫佐剂功能

通过疫苗来保护机体免于病原体感染是免疫学家一直以来致力研究的目标,而疫苗要充分发挥其作用又有赖于免疫佐剂的应用。作为唯一一种美国 FDA 批准的可大范围应用于人类的疫苗佐剂,铝盐具有很高的临床应用价值。但是由于铝盐的特殊晶体结构,一直以来其发挥功能的具体机制知之甚少,比如铝盐的靶细胞、受体、信号通路究竟为何尚不知晓,且为何铝盐只特异性活化 Th2 型体液免疫反应也没有一个合理的解释。

论文作者发现在加用了铝盐佐剂后可以明显地提高小鼠血清中 OVA 抗原诱导产生的抗体滴度水平,借助原子力显微镜发现,铝盐可以特异性的与 DC 形成一种持续的亲和力。通过扫描电镜观察进一步发现,铝盐只是附着在 DC 细胞表面而无法像尿酸单钠(MSU)一样被 DC 所吞噬,更为奇怪的是,铝盐只能和 DC 产生亲和力而巨噬细胞,B 细胞等其他抗原提呈细胞则无此现象。为了解释这一现象,作者使用链霉蛋白酶预处理了 DC,发现该亲和力仍然存在,表明并非 DC 表面的蛋白受体介导了该亲和力的产生。随后作者又人工合成了卵磷脂、脑磷脂、鞘磷脂、胆固醇的类似物,发现铝盐可以与它们产生持续的亲和力,这就说明 DC 质膜与铝盐的相互作用介导了该亲和力的产生。

已有研究表明,晶体可以使细胞脂伐重排继而活化 ITAM-Syk-PI3K 信号途径,那么该体系中是否也存在类似现象呢? 通过抑制剂实验及特异性基因敲除小鼠,作者发现的确是该通络介导了铝盐对 DC 的活化,而与炎性复合体无关。那么同样作为抗原提呈细胞为何 DC 和巨噬细胞会对铝盐产生截然相反的两种反应呢,作者首先怀疑是细胞异质性造成的质膜成分不同所致,但随后通过 Western blooting 实验发现 DC 和巨噬细胞的胞内 erk 呈现不同程度的活化,而 erk 的活化对 ITAM-Syk-PI3K 信号途径有抑制作用,巨噬细胞胞内 erk 处于高度活化态,DC 则恰恰相反。作者随后用 erk 激动剂处理 DC,发现其与铝盐的亲和力消失,而 erk 抑制剂处理的巨噬细胞与铝盐亲和力提高,这就表明 DC 之所以能够与铝盐产生持续亲和力是由于胞内 erk 的低度活化对 ITAM-Syk-PI3K 信号途径无抑制所致。

研究还表明,铝盐活化 DC 的迁移能力明显增强,且会和 $CD4^+$ T 细胞产生更为稳定的连接。通过流式分析发现,铝盐可以像其他 TLR 激动剂一样上调 DC 表面的 ICAM-1;进一步研究发现无论是 ICAM-1 缺陷的 DC 还是 LFA-1 缺陷的 T 细胞,这种稳定连接均被破坏,说明 ICAM-1 和 LFA-1 介导了 DC 与 T 之间的稳固连接。

综上所述,本研究表明铝盐与 OVA 抗原充分混匀后与 DC 表面质膜发生相互作用介导脂伐重排,随后活化 ITAM-Syk-PI3K 信号通路,由于 DC 胞内 erk 呈低度活化对该通路无抑制故与铝盐之间形成持续的亲和力;另一方面诱导 DC 的活化,上调 DC 表面的 ICAM-1,从而与 T 细胞表面的 LFA-1 形成稳定连接,便于抗原的充分提呈,同时便于同源 B 细胞的活化。该研究不仅揭示了晶体与免疫系统相互作用的新机制,还发现细胞质膜可以作为晶体的一个感受器介导下游信号活化,为今后如何在临床中提高疫苗活性提供了理论基础和研究靶点。

[白易 摘译,钱程 审阅. Flach TL, Ng G, Hari A, et al. Nature Med, 2011, 17(4): 479-487.]