

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00717

骨髓间充质干细胞的免疫调节活性

申 娜¹, 陈乃耀^{1*}, 郑丽坤²

1. 华北煤炭医学院附属医院血液科, 唐山 063000

2. 华北煤炭医学院附属开滦医院血液科, 唐山 063000

[摘要] 骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)是一种多潜能的非造血干细胞,可以向多系分化,如骨、脂肪和软骨,并优先归巢于损伤组织,有利于组织修复。体外研究显示它们不诱导免疫应答,对识别、清除同种异体抗原的免疫细胞具有抑制作用。在动物实验中,骨髓间充质干细胞可以诱导外周免疫耐受并向损伤处迁移,抑制致炎细胞因子的释放,促进损伤组织修复。这种独特作用说明它们在细胞治疗和自身免疫性疾病治疗中发挥了积极作用。

[关键词] 骨髓间充质干细胞; 免疫调节; 免疫抑制

[中图分类号] R 593; R 329.24 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)06-0717-05

Immunomodulation of bone marrow mesenchymal stem cells

SHEN Na¹, CHEN Nai-yao^{1*}, ZHENG Li-kun²

1. Department of Hematology, Affiliated Hospital of North China Coal Medical College, Tangshan 063000, China

2. Department of Hematology, Kailuan Hospital, North China Coal Medical College, Tangshan 063000

[ABSTRACT] Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) are multipotent nonhematopoietic progenitor cells capable of differentiating into multiple lineages, such as bone, fat, and cartilage. BMSCs preferentially home to the damaged tissue and are beneficial to tissue repair. *In vitro* studies have shown that they do not induce immune response and can inhibit immune cells involved in alloantigen recognition and elimination. In animal models, BMSCs have been shown to induce peripheral tolerance and migrate to injured tissues, where they can inhibit the release of pro-inflammatory cytokines and promote the survival of damaged cells. The unique properties of MSCs suggest a role in cell therapy and treatment of immunomediated diseases.

[KEY WORDS] bone marrow mesenchymal stem cells; immunomodulation; immunosuppression

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(6):717-721]

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)最初发现于骨髓细胞中的贴壁细胞群,由于它们具有向不同细胞系的分化潜能(尤其是向中胚层组织分化)而得名。过去相当长一段时间人们的兴趣集中在利用其分化特征进行组织工程研究,最近几年发现 BMSCs 在体内对外对 T 细胞增殖有明显抑制作用,随后又发现其对 B 细胞、树突状细胞和自然杀伤细胞都有类似作用,表明 BMSCs 可能具有治疗免疫性疾病和移植排斥反应的前景。本文就 BMSCs 在体内外的免疫调节机制研究进展作一综述。

1 BMSCs 与免疫细胞相互作用

1.1 BMSCs 的免疫抑制现象 MSCs 可抑制混合淋巴细胞培养体系(mixed lymphocyte cultures, MLC)中初始和记忆性 T 细胞反应, Rasmusson 等^[1]观察到这种抑制作用不完全

依赖于 MSCs。大剂量 BMSCs 存在时(BMSCs 与淋巴细胞比例大于 1:10),抑制程度有剂量依赖性,如果在 6 d 培养期的第 1 天加 BMSCs,抑制作用最显著;相反, BMSCs 比例低时(1:100~1:10 000)则促进淋巴细胞增殖。BMSCs 的免疫抑制作用并不随着分化而消失,已诱导分化为骨细胞和脂肪细胞的 BMSCs 仍有抑制作用^[2]。最新研究^[3]认为,当 IFN- γ 和致炎细胞因子 TNF- α 、IL-1 α 或 IL-1 β 中任何一种联合使用时,会诱导趋化因子和 NO 的协同作用以促进 BMSCs 免疫抑制。

BMSCs 介导的抑制作用可以跨越种系。猪 BMSCs 可抑制转基因淋巴细胞激活的人淋巴细胞增殖。大鼠和人源性 BMSCs 均可抑制移植性外源性反应。但不同种属间抑制机制不一样。无论是否把人 BMSCs 和淋巴细胞用半透膜分开,人 BMSCs 对淋巴细胞增殖都呈现抑制作用,而对于大鼠

[收稿日期] 2008-09-23 **[接受日期]** 2009-02-13

[作者简介] 申 娜, 硕士生. E-mail: shenna1982@sina.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 0315-3725878, E-mail: nychenncmc@yahoo.com.cn

BMSCs而言,只有当细胞间相互接触时才表现出抑制作用。人 BMSCs 不能诱导免疫耐受、无反应性或凋亡。去除人和狒狒 BMSCs,淋巴细胞可再次激活;BMSCs 在 MLC 中超过 24 h, T 细胞被再次激活后产生 IFN- γ , 但停留在细胞分裂 G₁ 期,不能增殖。

1.2 BMSCs 对 T 细胞的影响

1.2.1 BMSCs 对调节性 T 细胞作用

调节性 T 细胞是表达 CD25 的原始 CD4⁺ T 细胞亚群,具有潜在抑制力^[4]。在 IL-2 激活的淋巴细胞培养物和 MLC 中, BMSCs 可增加 CD4⁺ CD25⁺、CD4⁺、CTLA4⁺ 和 CD4⁺ CD25⁺ CTLA4⁺ 细胞比例^[5-6]。相反,在有丝分裂原激活的淋巴细胞培养物中, BMSCs 使 CD25⁺ 和 CD38⁺ 细胞数量下降^[7]。有丝分裂原活化单核细胞之前,去除 CD25⁺ 细胞,不会影响 BMSCs 抑制 T 细胞增殖的能力。在同种异体反应和有丝分裂原活化淋巴细胞培养物中,多种不同的因子参与调节性 T 细胞的诱导。此外, BMSCs 也可产生骨蛋白-2,该蛋白通过产生 CD8⁺ 调节性 T 细胞介导免疫抑制作用^[8]。

1.2.2 BMSCs 对辅助性 T 细胞和细胞毒性 T 细胞的作用

当促进辅助性 T 细胞分化的信号 CD3、CD28、IL-4、IL-2 和 IL-12 存在时,初始 T 细胞成熟为可分泌 IFN- γ 的细胞。BMSCs 抑制 T 细胞产生 IFN- γ 、IL-4 和 TNF- α 。最近有报道^[3]称 BMSCs 强烈抑制 IFN- γ 产生,但 IFN- γ 又是诱导其免疫抑制性所必需的,故认为 BMSCs 产生免疫抑制作用之前,必须遇到初始 T 细胞活化产生的一部分 IFN- γ 。该报道称 BMSCs 不能影响初始 T 细胞活化。且经进一步实验证实,源于 IFN- γ R1^{-/-} 大鼠的 BMSCs 不能抑制 CD3 抗体诱导的共培养体系中脾细胞增殖,IFN- γ 抗体可以完全阻断 BMSCs 抑制作用,这表明 BMSCs 附近细胞最初产生的 IFN- γ 对诱导其免疫抑制性具有重要作用。

如果在 MLC 体系刚开始培养时就加入 BMSCs,会抑制 CD8⁺ T 细胞介导的溶解反应。但在细胞溶解期加入 BMSCs,并不会影响细胞溶解的发生^[6]。BMSCs 可能抑制同种异体反应的传入期,并预防细胞毒性 T 淋巴细胞形成。一旦细胞毒性 T 淋巴细胞被激活, BMSCs 就不再有作用。

1.2.3 BMSCs 抑制 T 细胞的可能机制

人 BMSCs 通过可溶性因子抑制 CD4⁺ 和 CD8⁺ 细胞的形成。抑制因子不是由 BMSCs 分泌的,因为细胞培养的上清液不能抑制 T 细胞增殖。目前已发现一些可溶性因子,但所得资料有矛盾之处。肝细胞生长因子抗体和转化生长因子抗体可以部分恢复纯化 T 细胞增殖。其他一些与抑制 T 细胞增殖相关的因子包括 IFN- γ 、IL-10、TNF- α 、TGF- β 和 IL-2,它们确切机制尚不清楚。但 Xu 等^[9]报道 IL-10 和 TGF- β 并不具有抑制 T 细胞增殖的能力。Liu 等^[10]指出加入 FasL 和 TGF- β 抗体可减弱刀豆蛋白 A 活化的 MLC 中 BMSCs 的抑制作用,但 IL-10 抗体无此作用。

BMSCs 可能通过吡啶胺 2,3-二氧化酶(indoleamine 2,3-dioxygenase,IDO)抑制 T 细胞增殖。它由 IFN- γ 诱导产

生,可催化色氨酸变为丙氨酸,通过色氨酸缺失抑制 T 细胞反应。Meisel 等^[11]指出人 BMSCs 需经 IFN- γ 诱导后才表达 IDO,并且 IFN- γ 对 IDO 酶的活化存在剂量依赖性。经丝裂霉素 C 预处理的外周血单核细胞激活 T 细胞培养体系, BMSCs 存在时可检测到显著的 IDO 活性。加入色氨酸可以恢复 T 细胞增殖,说明 IDO 活化可能是 T 细胞免疫抑制机制之一。但在 MLC 中,以未分离的单核细胞做为应答细胞,去除色氨酸并无免疫抑制作用并且 1-甲基-DL-色氨酸(1-MT, IDO 抑制剂)抑制 IDO 不能阻断这种抑制效应^[12]。

早期报道^[5]称由环氧酶(cyclooxygenase, COX)合成的 PGE₂ (prostaglandin E₂, PGE₂),可诱导产生调节性 T 细胞。BMSCs 表达 COX-1 和 COX-2。当纯化 T 细胞和 BMSCs 共培养时, COX-2 和 PGE₂ 生成增加。植物血凝素活化的淋巴细胞与 BMSCs 共培养时,前列腺素合成物抑制剂可以恢复该淋巴细胞大部分的活性。但是, Sato 等^[13]报道称吡啶美辛(PGE₂ 阻断剂)、IL-10 抗体、TGF- β 抗体或 1-MT 对 BMSCs 介导的免疫抑制性没有影响,阻断实验说明这些因子未参与 BMSCs 介导的免疫抑制作用。Tse 等^[12]研究同种异体淋巴细胞培养体系发现,不论是 BMSCs 产生的 IL-10、TGF- β 、PGE₂ 还是去除色氨酸都没有免疫抑制作用。

关于 BMSCs 免疫抑制机制的早期报道各不相同。不同实验室研究结果的差异可能是实验条件或所用 BMSCs 不同引起的,也可能是培养方法和淋巴细胞激活方式等不同。

最近报道^[8]称 BMSCs 的免疫抑制功能与 IFN- γ 和 TNF- α 、IL-1 α 或 IL-1 β 中任何一个促炎症因子联合作用有关。这些细胞因子混合物诱导 BMSCs 高表达几种趋化因子和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)。趋化因子促使 T 细胞向邻近 BMSCs 的局部迁移,在该处一氧化氮(nitric oxide, NO)抑制 T 细胞应答。不加入细胞因子,单独培养 BMSCs 只产生最低限量的趋化因子,所以未被抗原处理的 BMSCs 不吸引 T 细胞。但是, CD3 抗体存在时, BMSCs 与脾细胞共培养,可产生大量细胞因子,包括 CXCL-9(MIG)和 CXCL-10(IP-10),这些是 T 细胞特异性趋化因子,不足 10 ng/ml 浓度就可产生显著趋化性。CXCR3 和 CCR5 是 T 细胞特异性受体,阻断它们可以抑制趋化作用,逆转 BMSCs 的免疫抑制效应。中和 IFN- γ 或阻断 TNF- α 、IL-1 α 和 IL-1 β 三者可抑制趋化因子的产生。T 细胞群和 BMSCs 共培养,并将 IFN- γ 抗体加入脾细胞上清液(SupCD3-act)中,可完全恢复 T 细胞增殖能力。在 SupCD3-act 中同时中和 TNF- α 、IL-1 α 和 IL-1 β ,可完全逆转 BMSCs 和 T 细胞共培养体系中对 T 细胞增殖的抑制作用,但是单独一个抗体或某两个抗体没有抑制 T 细胞增殖的作用。IFN- γ 和 TNF- α 、IL-1 α 或 IL-1 β 具有协同作用诱导 BMSCs 抑制 T 细胞增殖, TNF- α 、IL-1 α 和 IL-1 β 之间可以交替发挥作用。其他致炎细胞因子如 GM-CSF 和 IL-6 没有此作用。但 T 细胞不能产生大量的 IL-1 α 和 IL-1 β , 在脾细胞应答 T 细胞细胞因子时它们由抗原提呈细胞产生。

最近也有报道^[9]称在缺乏活化T细胞或外源性炎症细胞因子时,BMSCs可延长淋巴细胞生存期。相反,加入活化T细胞或外源性细胞因子,T细胞首先进入细胞周期停滞然后于24 h内死亡。他们认为这种凋亡依赖于NO,因为用iNOS抑制剂时没观察到T细胞凋亡。当使用iNOS^{-/-}或是IFN- γ R₁^{-/-} BMSCs时,也没观察到凋亡。因此推测NO诱导的细胞周期停滞和活化T细胞的凋亡,是BMSCs介导免疫抑制机制的一部分。

Sato等^[13]认为BMSCs介导的免疫抑制机制中较显著的是NO,它是快速弥散的气体活性分子。NO和来源于NO的活性氮可以和许多酶、离子通道和受体相互作用^[14]。iNOS催化NO产生,它在人和大鼠有3个基因型:(1)iNOS,可诱导巨噬细胞分化,在免疫调节中发挥作用;(2)nNOS,可诱导神经元分化;(3)eNOS,可诱导内皮细胞分化。NO高度不稳定,只在局部发挥作用,故认为BMSCs对致炎细胞因子产生应答,趋化因子介导淋巴细胞动员,借此趋化免疫细胞到邻近BMSCs的环境中,发挥NO对淋巴细胞的抑制作用。iNOS活性选择性抑制剂N⁶-甲基-精氨酸(L-NMMA)阻断iNOS之后,可以完全阻断T细胞细胞因子诱导的BMSCs免疫抑制作用^[13]。在BMSCs、脾细胞和CD3抗体混合共培养体系中,L-NMMA和其他iNOS抑制剂如1400W和L-NAME可以恢复正常的脾细胞增殖。此外,iNOS^{-/-} BMSCs不能抑制脾细胞克隆或成群增殖。在致炎细胞因子的作用下BMSCs对iNOS的表达高度上调。缺乏iNOS的BMSCs不具有免疫抑制能力,故NO在BMSCs的免疫抑制作用中很重要。

来源于iNOS缺失或IFN- γ R₁缺失大鼠的BMSCs缺乏这种细胞因子诱导的免疫抑制作用。注入野生型BMSCs,而不是iNOS^{-/-}或IFN- γ R₁^{-/-}型BMSCs,可以防止大鼠的移植物抗宿主病。野生型BMSCs可抑制迟发性超敏反应,但是iNOS^{-/-} BMSCs只能加重它。因此,BMSCs通过趋化因子和NO协调作用诱导的免疫抑制作用需要致炎细胞因子的参与。由此可见BMSCs免疫抑制性不是自发的,而是由致炎细胞因子IFN- γ 联合TNF- α 、IL-1 α 或IL-1 β 诱导产生^[3]。因此,致炎细胞因子可在特定状态下诱导免疫抑制。这些细胞因子诱导iNOS和趋化因子显著上调,这可能会使得免疫细胞包括T细胞、B细胞和抗原提呈细胞向邻近BMSCs的局部迁移,在该环境中高水平NO会抑制免疫细胞功能。因此细胞因子诱导趋化因子和NO协同作用是BMSCs介导免疫调节的关键。

1.3 BMSCs对自然杀伤细胞的作用 IL-2活化的NK细胞可以分泌IFN- γ ,而BMSCs可减弱其分泌^[5]。BMSCs不能抑制NK细胞介导的K562细胞溶解。BMSCs和淋巴细胞以1:1而不是1:10比例混合时,抑制细胞毒性T淋巴细胞和NK细胞的细胞毒功能^[6]。这说明BMSCs非常高浓度时,才能下调CD8⁺T细胞和NK细胞扩增。这种高浓度的BMSCs不可能在体内使用。

1.4 BMSCs调节B细胞功能 大鼠实验中,BMSCs在CD40L抗体和IL-4^[15]或有丝分裂原^[16]的激活下抑制B细胞增殖。已证实同种异体BMSCs抑制BXS鼠体内B细胞增殖、活化和分泌IgG,该BXS鼠用于制作人系统性红斑狼疮模型^[17]。与动物实验相一致,人BMSCs可以抑制由抗免疫球蛋白抗体、可溶性CD40配体和细胞因子活化的B细胞的增殖能力^[18]。此外,BMSCs会影响B细胞分化、产生抗体和趋化行为。Krampera等^[18]认为IFN- γ 存在时,BMSCs只能降低B细胞增殖能力。这可能与IFN- γ 诱导BMSCs产生的IDO有关,其次,BMSCs也可通过色氨酸途径抑制效应细胞的增殖反应。尽管这些现象的机制尚未完全清楚,但实验证实BMSCs释放的可溶性因子足以抑制B细胞增殖。相反,培养BMSCs的上清液并无作用,说明释放抑制因子需要来自B细胞的旁分泌信号。

1.5 BMSCs对抗原提呈细胞的作用 BMSCs通过减少单核细胞向树突状细胞转变,间接减弱T细胞活性^[6]。此外,BMSCs抑制Transwell体系中单核细胞来源的树突状细胞的功能和分化^[19]。去除BMSCs后抑制作用随之消失。树突状细胞成熟过程中,BMSCs抑制CD1A、CD40、CD80(B7-1)、CD86(B7-2)和HLA-DR水平上调,但是CD83表达增加^[5-6]。更重要的是,从BMSCs共培养体系中分离出的树突状细胞激活MLC中CD4⁺细胞的能力减弱了^[19]。

BMSCs可以削弱树突状细胞分泌促炎症细胞因子IFN- γ 、IL-12和TNF- α 的能力,而抗炎因子IL-10分泌量增加^[1,5]。TNF- α 抑制树突状细胞成熟、迁移以及激活T细胞的能力,这可能是诱导BMSCs免疫抑制作用的另一种途径。可见,间充质干细胞对T细胞活化抑制作用极有可能与抑制抗原提呈细胞活化有关。

2 BMSCs抑制体内免疫应答

尽管BMSCs体外免疫抑制作用研究广泛,但关于体内移植后的抑制能力研究甚少。

Xu等^[9]将有核骨髓细胞和C57BL/6大鼠的脾细胞注入到受致死性辐射的F1(C57BL/6 \times C3H)大鼠体内建立移植物抗宿主病(graft-versus-host disease,GVHD)模型。所有阳性对照组大鼠于15~22 d都发生广泛GVHD,阴性对照组大鼠接受同基因型F1骨髓者无此现象。经BMSCs预处理过的大鼠接受骨髓移植后,GVHD反应显著降低。所有经BMSCs预处理的大鼠至少存活33 d,有一些超过80 d。相反,经iNOS^{-/-}或是IFN- γ R₁^{-/-} BMSCs预处理的大鼠行骨髓移植后未见保护作用,因为它们的生存期与无BMSCs预处理的骨髓移植对照组相似。对骨髓移植后14 d大鼠行组织学检查发现,白细胞浸润程度与生存结果有明显相关性:GVHD诱导的大鼠显示肝脏、肺脏和皮肤淋巴细胞浸润,但MSCs预处理的大鼠几乎没有。此外,IFN- γ 抗体或L-NMMA扭转了这种保护作用,但是TNF- α 、IL-1 α 和IL-1 β 3种抗体该作用不明显。此实验证明IFN- γ 和NO对体内

BMSCs 介导的免疫抑制性有重要作用,这与体外实验结果相一致。

Nauta 等^[20]评价了 BMSCs 预防实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)的能力。EAE 是一种中枢神经系统自身免疫性疾病,该病受 T 细胞和巨噬细胞调节,是多发性硬化病模型。注入 MOG35-55 可造 EAE 大鼠模型。大鼠用 MOG35-55 免疫接种后第 3 天和第 8 天,向同基因型大鼠经静脉植入扩增的 BMSCs(10^6)。注入同基因型 BMSCs 可降低疾病严重程度,但不会影响疾病的发生。此外,注入 BMSCs 可使脑和骨髓的脱髓鞘作用减弱,也可使 T 细胞和巨噬细胞浸润降低。分析脾细胞增殖反应时,看到源于该模型大鼠的 T 细胞和同基因型 BMSCs 对 CD3/CD28 抗体或刀豆蛋白 A 显著无反应性,说明诱导出的 T 细胞无能性与早期的体外研究结果相一致。

其他神经性疾病的研究也证实了 BMSCs 对损伤神经细胞的保护作用。在这些研究中,大鼠发生卒中时,不论中枢神经损伤的类型如何,BMSCs 的治疗效应有赖于抗凋亡、抗炎症和营养分子的释放,也可能与局部祖细胞及其后代诱导分化为神经细胞有关^[21]。

中枢神经系统性疾病所得的结果与其他疾病动物模型实验所得结果一致。比如,链脲佐菌素造模的糖尿病大鼠,经 BMSCs 治疗后促进了胰岛和肾小球内源性修复^[22]。相似的,同时注入 BMSCs 和骨髓细胞可以抑制糖尿病大鼠胰腺 B 细胞特异性 T 细胞的增殖,并在缺乏 BMSCs 转分化(transdifferentiation)时,通过诱导受者来源的胰腺 B 细胞再生恢复大鼠的血糖和胰岛素水平^[23]。这些实验说明,体内注入 BMSCs 通过调节病理性 B 细胞和 T 细胞以及对靶器官的旁效应发挥治疗作用。

其他实验从另一个角度观察细胞因子介导的 BMSCs 旁效应。比如在急性肾功能衰竭的模型中,注入 BMSCs 后,通过抑制致炎细胞因子,如 IL-1 β 、TNF 和 IFN- γ ,以及对靶器官的抗凋亡作用恢复肾功能^[24]。相似的,肺纤维化模型中 BMSCs 也有抗炎活性,该模型中 BMSCs 通过释放 IL-1 受体的抗体抑制 T 细胞产生 IL-1 α 和巨噬细胞产生 TNF^[25]。BMSCs 另一个重要的治疗作用是由释放营养因子如 WNT 相关分子 SFRP2 介导的,可以治疗局限性缺血性心肌病和恢复心室功能^[26]。

值得注意的是,在所有的研究中,尽管 BMSCs 植入和转分化水平极度有限,但仍有疗效,这说明临床治疗中这些细胞的多分化潜能(这是干细胞的特性)并不是必需的。

BMSCs 的免疫调节作用引起了人们关于 BMSCs 对肿瘤生长影响的观察。据报道,BMSCs 可以抑制或更多的是刺激体外肿瘤细胞增殖和(或)体内肿瘤生长^[8,27-30]。这些相互矛盾的结果可能与 BMSCs 的异型性、所采用的实验肿瘤模型有关,肿瘤的内环境可能会影响 BMSCs 的行为^[22]。BMSCs 促进肿瘤生长可能有 2 个主要机制:(1)BMSCs 与肿瘤细胞相互接触可能会支持肿瘤的发生发展,比如与肿瘤相

关的基质细胞整合在一起^[30];(2)BMSC 对肿瘤宿主免疫系统的抑制作用有助于肿瘤发生,正如抑制黑素瘤的排斥反应一样,这可能是由调节性 CD8⁺ T 细胞介导的^[8]。不考虑肿瘤细胞、免疫细胞和 MSCs 之间的相互作用,但是必须考虑 MSCs 具有引起肿瘤发生的潜在危险性。

3 展 望

当前关于 BMSCs 免疫抑制性的资料普遍认为它治疗免疫介导性疾病有很大潜力。但是,不能过高估计 BMSCs 的潜在治疗效果,在细胞治疗实现之前还有很多问题需要解决。当前我们所了解的 BMSCs 生物学特性都是在细胞培养扩增状态下,而原始未给予人工干预状态下的 BMSCs 的生物学功能了解甚少。培养扩增后的 BMSCs 改变了它们最基本的生物学特性,包括分子改变的积累。此外,不同的分离方式和培养条件也使得不同的实验小组对 BMSCs 有不同的生物特性描述,甚至有时相互矛盾。尽管已经有些表面标志物用于识别分离人间充质干细胞,但是仍需要有一个统一的标准,现在尚没有确切的普遍认可的表面标志物。

进一步研究的方向包括:(1)用于动物和临床试验中分离培养扩增间充质干细胞所采用的方法,以利于比较取自不同部位细胞的产物;(2)鉴别细胞表面标志物以更好地分析间充质干细胞内部的体系分布,以利于更好地增殖同系细胞;(3)进行动物实验研究间充质干细胞免疫抑制机制以更好地利用其免疫抑制性;(4)体内跟踪实验观测间充质干细胞体内的存活和归巢;(5)多中心随机临床试验进一步证实其安全性和有效性。最后,患者体内追踪间充质干细胞可以直接诊断以进一步研究局部效应,从而说明间充质干细胞的生物学活性。更好地理解认识这一细胞群体,就意味着有新的治疗方法进行免疫调节用于治疗多种免疫疾病。

[参 考 文 献]

- [1] Rasmusson I, Ringden O, Sundberg B, Le Blanc K. Mesenchymal stem cells inhibit lymphocyte proliferation by mitogens and alloantigens by different mechanisms[J]. *Exp Cell Res*, 2005, 305:33-41.
- [2] Le Blanc K, Tammik C, Rosendahl K, Zetterberg E, Ringden O. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells[J]. *Exp Haematol*, 2003, 31:890-896.
- [3] Ren G, Zhang L, Zhao X, Xu G, Zhang Y, Roberts A I, et al. Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide[J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 2:141-150.
- [4] Blazar B R, Taylor P A. Regulatory T cells[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, 11(2 Suppl 2):46-49.
- [5] Aggarwal S, Pittenger M F. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses[J]. *Blood*, 2005, 105:1815-1822.
- [6] Maccario R, Podest M, Moretta A, Cometa A, Comoli P, Montagna D, et al. Interaction of human mesenchymal stem cells

- with cells involved in alloantigen-specific immune response favors the differentiation of CD4⁺ T-cell subsets expressing a regulatory/suppressive phenotype [J]. *Haematologica*, 2005, 90:516-525.
- [7] Jiang X X, Zhang Y, Liu B, Zhang S X, Wu Y, Yu X D, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells [J]. *Blood*, 2005, 105:4120-4126.
- [8] Djouad F, Plence P, Bony C, Tropel P, Apparailly F, Sany J, et al. Immunosuppressive effect of mesenchymal stem cells favors tumor growth in allogeneic animals [J]. *Blood*, 2003, 102:3837-3844.
- [9] Xu G, Zhang Y, Zhang L, Ren G, Shi Y. The role of IL-6 in inhibition of lymphocyte apoptosis by mesenchymal stem cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 361:745-750.
- [10] Liu J, Lu X F, Wan L, Li Y P, Li S F, Zeng L Y, et al. Suppression of human peripheral blood lymphocyte proliferation by immortalized mesenchymal stem cells derived from bone marrow of Banna Minipig inbred-line [J]. *Transplant Proc*, 2004, 36:3272-3275.
- [11] Meisel R, Zibert A, Laryea M, Göbel U, Däubener W, Dilloo D. Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2, 3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation [J]. *Blood*, 2004, 103:4619-4621.
- [12] Tse W T, Pendleton J D, Beyer W M, Egalka M C, Guinan E C. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation [J]. *Transplantation*, 2003, 75:389-397.
- [13] Sato K, Ozaki K, Oh I, Meguro A, Hatanaka K, Nagai T, et al. Nitric oxide plays a critical role in suppression of T-cell proliferation by mesenchymal stem cells [J]. *Blood*, 2007, 109:228-234.
- [14] Edwards T M, Rickard N S. New perspectives on the mechanisms through which nitric oxide may affect learning and memory processes [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2007, 31:413-425.
- [15] Aggarwal S, Pittenger M F. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses [J]. *Blood*, 2005, 105:1815-1822.
- [16] Deng W, Han Q, Liao L, You S, Deng H, Zhao R C. Effects of allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells on T and B lymphocytes from BXSB mice [J]. *DNA Cell Biol*, 2005, 24:458-463.
- [17] Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, Giunti D, Cappiello V, Cazzanti F, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions [J]. *Blood*, 2006, 107:367-372.
- [18] Krampera M, Cosmi L, Angeli R, Pasini A, Liotta F, Andreini A, et al. Role for interferon-gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Stem Cells*, 2006, 24:386-398.
- [19] Augello A, Tasso R, Negrini S M, Amateis A, Indiveri F, Cancedda R, et al. Bone marrow mesenchymal progenitor cells inhibit lymphocyte proliferation by activation of the programmed death 1 pathway [J]. *Eur J Immunol*, 2005, 35:1482-1490.
- [20] Nauta A J, Westershuis G, Kruijselbrink A B, Lurvink E G, Willemze R, Fibbe W E. Donor-derived mesenchymal stem cells are immunogenic in an allogeneic host and stimulate donor graft rejection in a nonmyeloablative setting [J]. *Blood*, 2006, 108:2114-2120.
- [21] Munoz J R, Stoutenger B R, Robinson A P, Spees J L, Prockop D J. Human stem/progenitor cells from bone marrow promote neurogenesis of endogenous neural stem cells in the hippocampus of mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102:18171-18176.
- [22] Liotta L A, Kohn E C. The microenvironment of the tumour host interface [J]. *Nature*, 2001, 411:375-379.
- [23] Urbán V S, Kiss J, Kovács J, Gócsa E, Vas V, Monostori E, et al. Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes [J]. *Stem Cells*, 2008, 26:244-253.
- [24] Tögel F, Hu Z, Weiss K, Isaac J, Lange C, Westenfelder C. Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanisms [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2005, 289:F31-F42.
- [25] Ortiz L A, Dutreil M, Fattman C, Pandey A C, Torres G, Go K, et al. Interleukin 1 receptor antagonist mediates the anti-inflammatory and antifibrotic effect of mesenchymal stem cells during lung injury [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104:11002-11007.
- [26] Mirosou M, Zhang Z, Deb A, Zhang L, Gnecci M, Noiseux N, et al. Secreted frizzled related protein 2 (Sfrp2) is the key Akt-mesenchymal stem cell-released paracrine factor mediating myocardial survival and repair [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104:1643-1648.
- [27] Ramasamy R, Lam E W, Soeiro I, Tisato V, Bonnet D, Dazzi F. Mesenchymal stem cells inhibit proliferation and apoptosis of tumor cells: impact on *in vivo* tumor growth [J]. *Leukemia*, 2007, 21:304-310.
- [28] Amé-Thomas P, Maby-El Hajjami H, Monvoisin C, Jean R, Monnier D, Caulet-Maugendre S, et al. Human mesenchymal stem cells isolated from bone marrow and lymphoid organs support tumor B-cell growth: role of stromal cells in follicular lymphoma pathogenesis [J]. *Blood*, 2007, 109:693-702.
- [29] Khakoo A Y, Pati S, Anderson S A, Reid W, Elshal M F, Rovira I I, et al. Human mesenchymal stem cells exert potent antitumor effects in a model of Kaposi's sarcoma [J]. *J Exp Med*, 2006, 203:1235-1247.
- [30] Karnoub A E, Dash A B, Vo A P, Sullivan A, Brooks M W, Bell G W, et al. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis [J]. *Nature*, 2007, 449:557-563.