

间充质干细胞在炎性关节炎中的应用前景

黄志芳 黄烽

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是存在于健康人体骨髓、脂肪、脐带、脐血、胎盘等组织中具有多向分化潜能的非造血干细胞,在适宜条件下可诱导分化为软骨细胞、成骨细胞、脂肪细胞、心肌细胞、神经细胞等。近年研究发现 MSCs 不仅具有多向分化潜力,同时具有强大的免疫调节和抗炎特性,这一特性给多种自身免疫性疾病的治疗带来了希望。本文就 MSCs 在炎性关节炎中的应用前景做一综述。

1 MSCs 的生物学特性

1.1 MSCs 的最低标准:MSCs 可以从多种组织、器官中分离培养,不同来源 MSCs 具有不同生物学特性,体外分离培养方法不同获得的 MSCs 也不尽相同,为了使 MSCs 的鉴定标准更加明确、统一,国际细胞治疗协会规定了 MSCs 的最低标准^[1]:①在标准培养条件下贴壁生长;②表达特征性表面抗原,CD73、CD90、CD105 表达率>95%,不表达造血细胞表面标志,CD45、CD34、CD14 或 CD11b、CD79 α 或 CD19、人类白细胞抗原(HLA)-DR 应阴性或表达率 $\leq$ 2%;③具有多向分化潜力,可以向成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞分化。

1.2 MSCs 的免疫学特性:MSCs 的免疫调节作用成为近年的研究热点。目前多项研究证实 MSCs 几乎可以和免疫系统的所有成分发生作用,发挥强大的免疫调节作用。

MSCs 分泌 H 因子,并表达补体调节蛋白 CD55、CD46、CD59,抑制补体系统活化。自然杀伤细胞(natural killer, NK)是固有免疫系统的重要成员,MSCs 抑制自然杀伤细胞增殖及表面受体的表达,降低干扰素- γ 的分泌,从而抑制自然杀伤细胞的功能。MSCs 表达 Toll 样受体, Toll 样受体配基 3 和 Toll 样受体配基 4 会降低 MSCs 的免疫调节作用,这使得 MSCs 不会削弱机体的抗微生物感染的能力;而干扰素- γ 能够增强 MSCs 的免疫调节作用,提示 MSCs 在自身免疫病的慢性炎症反应中能够发挥更为强大的免疫调节作用^[2]。单核-巨噬细胞是固有免疫系统的另一重要成员, MSCs 能够抑制活化巨噬细胞肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白细胞介素(IL)-6、IL-12p70 和干扰素- γ 的分泌,促进抗炎细胞因子 IL-10、IL-12p40 的产生,并通过抑制 CD86 和主要组织相容性复合体(MHC)II 类分子的表达,降低巨噬细胞活化 CD4⁺ T 细胞的能力^[3]。

MSCs 在获得性免疫过程中亦发挥重要调节作用。MSCs 低度表达 MHC I 类分子,不表达 MHC II 类分子和 T 细胞激活所必需的共刺激分子 CD40、CD80、CD86,因此异基因

MSCs 不会引起 T 细胞增殖反应^[4]。MSCs 呈剂量依赖性抑制 T 细胞增殖,促进初始 Th 细胞向调节性 T 细胞和 Th2 细胞亚群分化,抑制 Th1 和 Th17 亚群分化,从而发挥免疫调节和抗炎作用。MSCs 对 B 细胞功能的影响目前仍然存有较大争议。部分学者在研究中发现 MSCs 与 B 细胞共培养,能够抑制 B 细胞增殖及免疫球蛋白的产生;而另有学者在研究中得出相反的结论, MSCs 对 B 细胞的功能具有刺激作用,产生不同结论的具体机制仍然不明,可能与 MSCs 的来源和特性不同有关,或者与 B 细胞的刺激抗原不同有关。MSCs 的免疫调节作用是通过细胞之间直接接触和分泌可溶性细胞因子共同实现的, IL-10、转化生长因子(TGF)- β 、前列腺素 E₂ 等是 MSCs 发挥作用的重要介质^[5]。

1.3 MSCs 的多向分化潜力:MSCs 来源于中胚层,可以定向诱导分化为各种中胚层组织细胞,如成骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞,在特定条件下,也可以跨谱系、甚至跨胚层分化,如分化为神经组织细胞、胰岛样细胞、上皮细胞等。不同组织来源的 MSCs 其增殖、分化能力各有特点,如滑膜来源 MSCs 成软骨能力最强,其次是骨髓、骨膜来源的 MSCs^[6]。

2 MSCs 在炎性关节炎中的应用

MSCs 来源广泛,在体外具有自我更新和多向分化能力,同时具有强大的抗炎和免疫调节特性,在炎性关节炎的治疗中具有一定的应用前景。

2.1 类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA):RA 是一种常见的以慢性、对称性、进行性滑膜炎为主要表现的炎性关节炎,最终导致骨和软骨破坏。Jones 等^[7]在研究中发现, RA 患者滑膜 MSCs 的数目、体外增殖能力以及软骨分化能力均明显下降,提示 RA 患者的滑膜炎不仅导致骨和软骨破坏,同时损伤了关节固有的软骨再生能力。MSCs 兼具软骨分化及免疫调节特性使其成为治疗 RA 的希望。Zheng 等^[8]在研究中发现同种异体骨髓来源 MSCs 和 MSCs 诱导分化的软骨细胞能够在体外呈剂量依赖性抑制 II 型胶原诱导的 RA 患者外周血和(或)关节液的 T 细胞增殖反应,并抑制炎症细胞因子干扰素- γ 和 TNF- α 的产生,促进抗炎因子 IL-4 和 IL-10 的分泌,显示了 MSCs 治疗 RA 的应用前景。另一项关于 MSCs 的体外研究证实,同种异体脂肪来源 MSCs 呈剂量依赖性抑制 RA 患者外周血 T 细胞增殖,降低炎症细胞因子干扰素- γ 、TNF- α 和 IL-17 的分泌,增加抗炎因子 IL-10 的释放,并促进调节性 T 细胞亚群的分化;不仅如此,脂肪来源 MSCs 还能够抑制 RA 患者成纤维细胞样滑膜细胞炎症细胞因子的释放,减少基质降解酶的产生^[9]。

与体外实验的一致结果相反, MSCs 在 RA 动物模型的治

疗效果却颇具争议。部分动物实验的研究结果显示,胶原诱导性关节炎(CIA)模型鼠腹腔或静脉单次注射 $(5-6) \times 10^6$ 个异基因 MSCs 能够降低关节炎的发病率,减轻关节炎症状,并阻止骨和软骨的破坏^[9-12]。而另有部分研究者在动物实验中发现异基因 MSCs 并不能改善 CIA 模型鼠的病情,甚至会加重关节炎的症状。Schurgers 等^[13]腹腔或静脉注射 1×10^6 个同种异体骨髓来源 MSCs 并未改善 CIA 模型鼠的病情,可能是体外培养导致 MSCs 归巢至淋巴器官的能力下降,从而使其免疫调节能力难以发挥。影响 MSCs 疗效的另一原因可能是 CIA 模型鼠体内的炎症环境使 MSCs 的免疫调节作用发生改变。TNF- α 是 CIA 模型鼠体内主要的炎症细胞因子,HLA-G、CD90 是 MSCs 发挥免疫调节作用的主要介质。TNF- α 处理 MSCs 超过 48 h,HLA-G、CD90 的表达明显下降,TNF- α 可能是 MSCs 丧失免疫调节能力的主要原因之一。TNF- α 抑制剂与 MSCs 联合关节腔注射治疗 CIA 模型鼠,不仅关节炎症状得到明显改善,而且促进了关节软骨的再生^[14]。

目前国内外尚缺乏 MSCs 治疗 RA 的大规模临床试验,在部分病例报告中,显示自体或异体 MSCs 治疗 RA 具有一定的疗效。Ra 等^[15]利用自体脂肪来源 MSCs 治疗 3 例难治性 RA,3 例患者均显示了良好的安全性及有效性。Liang 等^[16]利用同种异体脐带来源 MSCs 或骨髓来源 MSCs 治疗 4 例难治性 RA,其中 1 例无效,另外 3 例病情均得到一定的缓解。王秦等^[17]应用异基因脐带 MSCs 移植治疗 1 例 RA 亦取得了较好疗效,且未见明显的不良反应发生。由于病例数偏少,MSCs 治疗 RA 的安全性及有效性尚需进一步验证。

2.2 骨关节炎:骨关节炎是一种退行性骨关节疾病,主要表现为关节软骨进行性消失,骨质过度增生。骨关节炎发病与衰老、肥胖、创伤、炎症、遗传等多因素相关。由于关节软骨的再生修复能力有限,临床上又缺乏有效促进软骨修复的治疗方法,目前骨关节炎治疗以减轻症状为主。近年对于 MSCs 的多向分化潜力及抗炎特性的逐步深入了解,使得 MSCs 成为有效控制骨关节炎的希望。Mokbel 等^[18]利用两性霉素 B 注入驴的双侧腕关节诱导骨关节炎模型,造模成功后右腕关节注入悬浮于 3 ml 透明质酸的 $(1.8-2.3) \times 10^6$ ml 自体骨髓来源 MSCs,左腕关节注射相同体积透明质酸作为对照组,实验结果显示自体骨髓来源 MSCs 关节腔注射不仅能够改善骨关节炎症状,而且能够延缓骨关节炎的放射学进展,促进关节软骨修复。Toghraie 等^[19]单次关节腔注射 1×10^6 个同种异体腋下脂肪垫来源 MSCs 治疗兔的骨关节炎模型,治疗后 8 周放射学及组织学检查显示 MSCs 治疗能够延缓骨关节炎的进展。

MSCs 治疗骨关节炎动物模型的有效性及其安全性使其逐步开始进入骨关节炎的临床治疗。Varma 等^[20]将 50 例轻中度膝骨关节炎患者分为 2 组,其中 A 组接受关节镜手术治疗,B 组在关节镜手术同时接受了 MSCs 局部关节腔注射,随访结果显示关节镜手术联合 MSCs 治疗能够显著改善骨关节炎的临床转归,提高生活质量。Davatchi 等^[21]利用自体骨髓来源 MSCs 关节腔注射治疗 4 例中重度膝骨关节炎患者,4 例患者

疼痛症状均有减轻,其中 3 例患者行走时间延长,但关节活动范围没有明显改变。MSCs 治疗骨关节炎的有效性及其安全性尚需大规模临床试验进一步验证。

2.3 脊柱关节炎 (spondyloarthritis, SpA):SpA 是一组相互关联的系统疾病,包括强直性脊柱炎 (ankylosing spondylitis, AS)、反应性关节炎、银屑病关节炎、炎症肠病相关性关节炎等。其发病均与 HLA-B27 具有不同程度的相关性。HLA-B27 诱发 SpA 发病的确切机制未明,可能是 HLA-B27 游离重链在内质网发生错误折叠,激发未折叠蛋白反应,活化 CD4⁺Th 细胞,导致 IL-17 等前炎症细胞因子的释放^[22];或游离重链在抗原递呈细胞表面形成同源二聚体,与 KIR3DL2⁺CD4⁺T 细胞结合,促进后者的存活、增殖及释放炎症细胞因子^[23]。在 B27 诱发 SpA 发病过程中,自身免疫功能紊乱起重要作用,而 MSCs 免疫调节作用异常可能参与这一过程的发生。Wu 等^[24]发现 AS 患者骨髓来源 MSCs 的免疫调节作用显著低于健康人,异常的 MSCs 导致初始 CD4⁺Th 细胞向 Th17 分化,调节性 T 细胞数目减少,MSCs 免疫调节作用异常可能是 AS 发病的始动因素,而健康同种异体来源的 MSCs 可能具有一定的治疗作用。Channam 等^[25]在研究中发现骨髓 MSCs 能够抑制脐带血初始 CD4⁺Th 细胞向 Th17 分化,并抑制 Th17 细胞产生 IL-17、IL-22 等前炎症细胞因子,促进 Th17 表达转录因子 FOXP3,使其具有调节性 T 细胞表型。另有学者在研究中证实骨髓 MSCs 抑制小鼠腹膜活化巨噬细胞 TNF- α 、IL-6 等炎症细胞因子的释放^[3]。健康同种异体来源 MSCs 对 SpA 关键致病因子 IL-17、TNF- α 的抑制作用,以及促进调节性 T 细胞分化的能力使其在 SpA 临床治疗中颇具前景。

尽管目前国内外尚未见到 MSCs 治疗 SpA 的相关报道,但是已有学者在一些相关疾病的治疗中取得了一定的进展,如炎症肠病^[26],预示 MSCs 可能在 SpA 的临床治疗中具有一定的前景。

MSCs 具有强大的免疫调节和抗炎特性,并具有多向分化潜力,而其低免疫原性又为其应用于临床治疗提供了安全性保障,使其在炎症性关节炎的治疗中具有一定的应用前景。但是 MSCs 治疗炎症性关节炎的疗效、安全性以及个体化方案的制定尚需大规模临床试验的验证。

参考文献

- [1] 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. *Cytotherapy*, 2006, 8: 315-317.
- [2] Griffin MD, Ritter T, Mahon BP. Immunological aspects of allogeneic mesenchymal stem cell therapies. *Hum Gene Ther*, 2010, 21: 1641-1655.
- [3] Maggini J, Mirkin G, Bognanni L, et al. Mouse bone marrow-derived mesenchymal stromal cells turn activated macrophages into a regulatory-like profile. *PLoS One*, 2010, 5: e9252.
- [4] Bassi EJ, Aita CAM, Saraiva Câmara NO. Immune regulatory properties of multipotent mesenchymal stromal cells: where do we stand? *World J Stem Cells*, 2011, 3: 1-8.

- [5] 丁志, 杨松林. 间充质干细胞生物学特性及其分化潜能. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15: 147-150.
- [6] Jones E, Churchman SM, English A, et al. Mesenchymal stem cells in rheumatoid synovium: enumeration and functional assessment in relation to synovial inflammation level. Ann Rheum Dis, 2010, 69: 450-457.
- [7] Zheng ZH, Li XY, Ding J, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell and mesenchymal stem cell-differentiated chondrocyte suppress the responses of type II collagen-reactive T cells in rheumatoid arthritis. Rheumatology, 2008, 47: 22-30.
- [8] Gonzalez-Rey E, Gonzalez MA, Varela N, et al. Human adipose-derived mesenchymal stem cells reduce inflammatory and T cell responses and induce regulatory T cells *in vitro* in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis, 2010, 69: 241-248.
- [9] Augello A, Tasso R, Negrini SM, et al. Cell therapy using allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells prevents tissue damage in collagen-induced arthritis. Arthritis Rheum, 2007, 56: 1175-1186.
- [10] González MA, Gonzalez-Rey E, Rico L, et al. Treatment of experimental arthritis by inducing immune tolerance with human adipose-derived mesenchymal stem cells. Arthritis Rheum, 2009, 60: 1006-1019.
- [11] Liu Y, Mu R, Wang S, et al. Therapeutic potential of human umbilical cord mesenchymal stem cells in the treatment of rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther, 2010, 12: R210.
- [12] Zhou B, Yuan J, Zhou Y, et al. Administering human adipose-derived mesenchymal stem cells to prevent and treat experimental arthritis. Clin Immunol, 2011, 141: 328-337.
- [13] Schurgers E, Kelchtermans H, Mitera T, et al. Discrepancy between the *in vitro* and *in vivo* effects of murine mesenchymal stem cells on T-cell proliferation and collagen-induced arthritis. Arthritis Res Ther, 2010, 12: R31.
- [14] Wu CC, Wu TC, Liu FL, et al. TNF- α inhibitor reverse the effects of human umbilical cord-derived stem cells on experimental arthritis by increasing immunosuppression. Cell Immunol, 2012, 273: 30-40.
- [15] Ra JC, Kang SK, Shin IS, et al. Stem cell treatment for patients with autoimmune disease by systemic infusion of culture-expanded autologous adipose tissue derived mesenchymal stem cells. J Transl Med, 2011, 9: 181.
- [16] Liang J, Li X, Zhang H, et al. Allogeneic mesenchymal stem cells transplantation in patients with refractory RA. Clin Rheumatol, 2012, 31: 157-161.
- [17] 王秦, 马丽辉, 李军霞, 等. 异基因脐带间充质干细胞移植治疗类风湿关节炎一例. 中华风湿病学杂志, 2012, 16: 356-357.
- [18] Mokbel AN, El Tookhy OS, Shamaa AA, et al. Homing and reparative effect of intra-articular injection of autologous mesenchymal stem cells in osteoarthritic animal model. BMC Musculoskelet Disord, 2011, 12: 259.
- [19] Toghraie FS, Chenari N, Gholipour MA, et al. Treatment of osteoarthritis with infrapatellar fat pad derived mesenchymal stem cells in Rabbit. Knee, 2011, 18: 71-75.
- [20] Varma HS, Dadarya B, Vidyarthi A. The new avenues in the management of osteoarthritis of knee-stem cells. J Indian Med Assoc, 2010, 108: 583-585.
- [21] Davatchi F, Abdollahi BS, Mohyeddin M et al. Mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis: preliminary report of four patients. Int J Rheum Dis, 2011, 14: 211-215.
- [22] DeLay ML, Turner MJ, Klenk EI, et al. HLA-B27 misfolding and the unfolded protein response augment IL-23 production and are associated with Th17 activation in transgenic rats. Arthritis Rheum, 2009, 60: 2633-2643.
- [23] Bowness P, Ridley A, Shaw J, et al. Th17 cells expressing KIR3DL2* and responsive to HLA-B27 homodimers are increased in ankylosing spondylitis. J Immunol, 2011, 186: 2672-2680.
- [24] Wu YF, Ren ML, Yang R, et al. Reduced immunomodulation potential of bone marrow-derived mesenchymal stem cells induced CCR4⁺CCR6⁺ Th/Treg cell subset imbalance in ankylosing spondylitis. Arthritis Res Ther, 2011, 13: R29.
- [25] Ghannam S, Pène J, Torcy-Moquet G, et al. Mesenchymal stem cells inhibit human Th17 cell differentiation and function and induce a T regulatory cell phenotype. J Immunol, 2010, 185: 302-312.
- [26] Liang J, Zhang H, Wang D, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in seven patients with refractory inflammatory bowel disease. Gut, 2012, 61: 468-469.

(收稿日期:2012-11-01)

(本文编辑:王炳彦)