

doi:10.3969/j.issn.1000-484X.2020.10.021

· 专题综述 ·

间充质干细胞治疗与自然杀伤细胞的相互作用^①

李华杰 王福生 施 明

(北京大学三〇二临床医学院,解放军总医院第五医学中心感染性疾病诊疗与研究中心,北京 100039)

中图分类号 R-1 R392 文献标志码 A 文章编号 1000-484X(2020)10-1262-04

[摘 要] 干细胞治疗是移植医学的新希望。间充质干细胞(MSCs)由于其具有跨胚层多向分化和免疫调节特性,已被用于免疫系统相关疾病治疗。MSCs 具有向炎症损伤部位趋化的特性,通过释放各种细胞因子,影响局部免疫环境来调节固有免疫和适应性免疫。自然杀伤细胞(nature killer cell,NK 细胞)是天然免疫系统的重要环节,与其他免疫细胞相辅相成,在多种疾病中发挥着作用。MSCs 与 NK 细胞会相互影响、相互作用并促进 MSCs 治疗,本文对 NK 与 MSCs 细胞相互作用的机制以及 NK 细胞对 MSCs 治疗影响的研究进展作一综述。

[关键词] 间充质干细胞(MSCs);自然杀伤细胞(NK 细胞)

Interaction between mesenchymal stem cells therapy and natural killer cells

LI Hua-Jie, WANG Fu-Sheng, SHI Ming. Peking University 302 Clinical Medical School, Treatment and Research Center for Infectious Diseases the Fifth Medical Centre of Chinese PLA (People's Liberation Army) General Hospital, Beijing 100039, China

[Abstract] Stem cells therapy is new hope for transplant medicine. Mesenchymal stem cells (MSCs) are most commonly used as therapeutic agents for the treatment of immune-induced diseases due to their multi-directional differentiation and immunomodulatory properties across the germ layer. MSCs have chemotactic properties of inflammatory lesion sites, and regulate innate and adaptive immunity by affecting the local immune environment by various cytokines. Natural killer cells (NK cells) are an important part of the immune system. They not only interact with other immune cells but also play a role in many diseases. Therefore, the interaction of MSCs with NK cells affects the treatment of MSCs. This review explores the effects of their interaction on the treatment of MSCs.

[Key words] Mesenchymal stem cells; Nature killer cells

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)有干细胞分化特性,但其分化能力有限,在许多疾病的治疗中, MSCs 通过可溶性细胞因子发挥的诱导分化、免疫调节能力,是其更加关键的治疗机制。MSCs 发挥的免疫调节能力影响着免疫系统的各个方面,其中 TGF- β 、NO/IDO、PGE2 对自然杀伤细胞(nature killer cell, NK 细胞)有着重要作用并借此影响着治疗效果^[1]。NK 细胞是固有免疫中无须预先

抗原刺激与活化,即能够直接杀伤被病毒感染的细胞或肿瘤细胞的一群细胞。NK 细胞广泛分布于骨髓、肝脏、淋巴结、脾脏、肺脏和黏膜等器官。NK 细胞根据其分化状态可分为过渡型 NK 和成熟型 NK,其表型各异,可根据需要向各类器官或组织迁移并进一步成熟分化。NK 细胞有多种亚群,根据表达 CD56 分子密度可分为杀伤功能为主的 CD56^{dim}亚群和分泌细胞因子为主的 CD56^{bright}亚群^[2]。NK 细胞表达许多表面抑制性和活化性受体,在不同疾病中发挥不同的作用,影响着疾病进展,是 MSCs 治疗的靶点之一。

1 MSCs 与 NK 细胞的相互作用

1.1 MSCs 对 NK 细胞的作用 现有研究普遍认为 MSCs 发挥免疫抑制效应,无论静态细胞模型还是模拟感染和组织损伤的动态模型,都发现 MSCs 会抑

①本文受国家自然科学基金创新群体项目(81721002)、国家科技重点研发计划(2017YFA0105703)和国家自然科学基金面上项目(81571567)资助。

作者简介:李华杰,男,在读硕士,主要从事肝病免疫机制研究, E-mail: lihuajiepkmu@sina.com。
通讯作者及指导教师:施 明,男,医学博士,硕士生导师,主要从事肝病免疫机制研究, E-mail: shiming302@sina.com。

制 NK 细胞以减弱炎症反应^[3-5]。MSCs 不仅会影响 NK 细胞表面分子表达,如共培养后 MSCs 对 NKp30、NKp44 和 CD69 等表达的抑制^[6],还会抑制其增殖和发挥功能(细胞因子分泌及细胞毒作用)^[7],如斑秃小鼠模型中 MSCs 可通过抑制 NKG2D 来控制毛囊炎症^[8]。在应用 CCl₄ 建立的肝炎小鼠模型中发现,应用 IFN- γ 、TGF- β 等细胞因子预处理的 MSCs 在小鼠体内更倾向分布于肝脏,且其免疫调节能力会进一步升高,炎性因子的下降和其对 NK 细胞裂解敏感性的降低使 MSCs 的更加适用于治疗^[9]。

MSCs 对各种免疫细胞有抑制效应,但它在特定条件下亦有额外的免疫刺激能力。有研究发现无论健康捐献者还是免疫抑制患者,IL-12 和 IL-18 刺激下的 MSCs 能促进 NK 细胞释放 IFN- γ ,高水平表达 CCR2 的 CD56^{bright} NK 细胞对 MSC 的作用更加敏感^[10]。MSCs 对 NK 细胞的影响还随时间变化而变化。使用聚肌胞甘酸(poly I:C)刺激模拟 MSCs 与 NK 的相互作用发现,在早期 MSCs 可通过分泌 I 型干扰素增强 NK 细胞效应功能,但随后 MSC 分泌的 TGF- β 和 IL-6 又会诱导调节衰老样 NK 细胞表型,下调炎症反应,限制 NK 细胞效应功能,反过来促进了 MSCs 的存活、增殖和促血管生成。以上结果表明 MSCs 的功能可能会随感染阶段不同而改变^[11]。

在一项多中心的临床实验中,62 名慢性移植物抗宿主病(chronic graft versus-host disease, cGVHD)患者经过 230 次输注脐带血间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cells, UC-MSCs) (3×10^7 cells/100 ml/per month)后 NK 细胞数量减少^[12]。同时 Zhao 等^[13]证明同种异体移植物中高浓度的 NK 细胞与急性和慢性 GVHD 风险增加有关。因此,观察到 NK 细胞减少可能是 MSCs 组中 cGVHD 发生率较低的原因之一。

1.2 NK 对 MSCs 的作用 生理条件下,NK 细胞可以与组织内除 NKT 和 $\gamma\delta$ T 细胞外其他细胞相互作用,如单核细胞衍生的巨噬细胞和树突细胞,中胚层细胞和细胞外基质成分等,其中就包括 MSCs^[14]。

MSCs 对静息的 NK 细胞有抑制作用,但对已活化的 NK 细胞反而有促进作用,可以进一步提高 NK 细胞毒性^[15,16]。各种刺激活化的 NK 细胞与骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BM-MSCs)共培养均发现,NK 细胞分泌 IFN- γ 和 TNF- α 增加,且活化 NK 细胞会杀伤 BM-MSCs,诱导 BM-MSCs 内活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生,减弱细胞活力,降低 serpin B9(一种丝氨

酸蛋白酶抑制蛋白,抑制粒酶 B 的释放)表达^[17]。MSCs 会被 IL-2 刺激活化的 NK 细胞溶解,且 NK 细胞毒性与其 CD16 表达的减少和 CD56 表达的升高呈正相关^[18]。NK 细胞可以攻击 MSCs 上识别 NKG2D 和 DNAM1 的配体,借此诱导杀伤 MSCs,释放促炎因子^[19]。

体外活化 NK 细胞对 MSCs 的杀伤作用可以削弱 MSCs 的治疗效力,且已有研究发现这种能力不会被免疫抑制药物影响,在培养基内活化前以及活化期 NK 细胞中添加免疫抑制药物可以减少 NK 数量但不影响它裂解 MSCs 的能力^[20]。

对这种杀伤作用 MSCs 并不是完全没有抵抗能力的, MSCs 的 Toll 样受体 3 与配体的结合可以削弱 NK 细胞的杀伤^[21]。Toll 样受体是 MSCs 重要的表面受体,这些受体传递的信号既影响 MSCs 对固有性免疫和适应性免疫的调节作用,又影响 NK 细胞对 MSCs 的杀伤作用^[22,23],是在活体内 MSCs 的作用依然占主导而没有被完全杀伤的原因之一。比较细胞因子预处理的 UC-MSCs 发现,经过细胞因子 [TGF- β 、IFN- γ 、多细胞因子混合物(multiple cytokine cocktail, MC)]处理的脐血 MSCs 可以免受 NK 细胞的裂解(与未处理 UC-MSCs 相比 NK 细胞 CD107a 的表达显著降低)^[9]。

2 MSCs 在治疗中对 NK 细胞的影响

由于多样化的表面受体、细胞内信号分子及转录因子表达、组织特异性印迹和外来抗原暴露,人们对 NK 细胞多样性的认识比最初认为的要广泛得多。尽管多数亚群有共同的 CD56^{bright} CD16⁻ 显性,但它们受各个组织独特的微环境所影响,因此彼此不全相同^[2]。各个组织的 NK 细胞亚群都具有独特的表型特征,其表型和功能亦不相同。如肝脏富集 NK 细胞,占肝总淋巴细胞的 30% ~ 50%,且 CD56^{bright} 肝 NK 细胞亚群占其中 40%,远高于外周血比例,它们的表面分子(如 CXCR6)表达、颗粒、功能(如产生促炎性细胞因子减少及脱颗粒和细胞毒作用增强)与外周血 NK 细胞均不同^[11]。

因此,机体内的 NK 细胞在比例、含量、亚群、表达及功能上差异的 NK 细胞对疾病及治疗有着深刻影响。

2.1 NK 细胞是 MSCs 治疗的重要靶点 MSCs 与 NK 细胞会形成一个稳定的炎症-修复系统,既保证了适当的炎症抵御外界侵害的损伤,又避免了过度炎症及组织的破坏。这已经在许多体内外实验中得到验证^[11,14],包括移植物抗宿主病的临床治疗、肝

衰竭的治疗等。例如使用 MSCs 治疗 HBV 感染的小鼠的实验中,体内成像发现 MSCs 在受损肝内聚集且肝脏炎性细胞浸润减少,同时抑制 HBV 感染所需的 NK 细胞激活性受体 NKG2D 的表达^[24]。

整体上并未观察到 NK 细胞抑制 MSCs 的实际疗效,但消除 MSCs 对 NK 细胞的影响可以进一步确定 MSCs 的疗效并可能促进 MSCs 治疗的优化^[20]。如 IL-2 活化的 NK 细胞对 MSCs 的杀伤会因淋巴细胞和 MSCs 的比例不同而改变,因此研究活化 NK 细胞对 MSCs 的影响可能改善 MSCs 治疗的潜力^[18]。

综上, MSCs 对 NK 细胞的抑制主要体现在活化及增殖的削弱,而 MSCs 发挥功能的前提亦需要炎性环境等激活,未激活的 MSCs 功能并不明显。因此它们的相互作用促进了 MSCs 对疾病的治疗。

2.2 不同来源 MSCs 的选择对治疗和 NK 细胞的影响 尽管 MSCs 最终会被异体受者的免疫系统清除,但 MSCs 低表达 MHC I 类分子,不表达 MHC II 类分子,这种低免疫原性保护 MSCs 免受 NK 细胞的攻击并抵抗移植排斥^[25]。不同来源的 MSCs 对不同的疾病的作用和影响不尽相同,其中 UC-MSCs 是异体移植中较好的选择^[26]。UC-MSCs 相比 BM-MSCs 和脂肪间充质干细胞 (adipose-derived mesenchymal stem cells, AT-MSCs) 寿命长、数量多、易于增殖、无侵入性、伦理争议小且 p53、p21 和 p16 这些衰老相关标志表达更低^[26,27]。长期体外扩增的 MSCs 可以保持自身的稳定,但其免疫抑制特性会略有下降^[28]。

不同来源的 MSCs 对包括 NK 细胞在内的免疫细胞影响也不尽相同。使用较多的 BM-MSCs 与 AT-MSCs 有着相似的表型,都可以削弱 NK 细胞的增殖和细胞因子分泌^[29],但只有 BM-MSCs 明显减弱 NK 细胞毒作用。此外,它们对其他免疫细胞的作用亦略有不同^[30]。

2.3 MSCs 抑制 NK 诱导的促肿瘤风险 应用 MSCs 的免疫抑制功能来减弱免疫损伤可以治疗疾病,但对于有肿瘤风险的患者(而非肿瘤患者)是把双刃剑,可能促使肿瘤形成。在肿瘤形成时,肿瘤内 MSCs (肿瘤微环境影响下的 MSCs,有分泌能力等的改变)对免疫系统的作用同样是抑制的,可能增加肿瘤风险^[3,31]。肿瘤内 MSCs 通过直接及间接影响调节性 T 细胞和巨噬细胞对 NK 有抑制作用,可以促进肿瘤的生长^[32]。如肿瘤内 MSCs 比正常来源的 MSCs 有更强的免疫抑制性,且对 NK 细胞亚群影响不同,它们诱导 NK 细胞 CD56^{dim} 表型 NK 增多且抑制 CD56^{bright} 亚群产生 IFN- γ ^[33]。正常人和乳腺癌

患者中的 MSCs 在同等情况下对 NK 细胞有相似的抑制效应^[34]。

尽管 MSCs 有促肿瘤风险,但对肿瘤患者可以利用 MSCs 的肿瘤趋向性来抗肿瘤,如通过基因操作、体外 IFN- α 或化学试剂处理来调节它们的免疫修饰能力。这样, MSCs 可以用于增强抗肿瘤免疫反应或特异运输抗肿瘤信号,并还可作为载体用于运送细胞毒药物直接到肿瘤位点。但基于 MSCs 的肿瘤治疗应依据肿瘤的类型、定位和阶段以及肿瘤微环境中的免疫状态来选择^[3],因此其在有肿瘤风险患者中的应用安全性还有待商榷。

3 结语与展望

间充质干细胞是干细胞治疗中的优势选择,它具有来源广泛、易于增殖、伦理争议小、免疫原性低、分化潜能高和免疫调节性强等治疗优势。其中,分化潜能在实际治疗中发挥作用较小,而针对时刻变化的疾病状况中错综复杂的免疫系统, MSCs 的免疫调节能力可以更加广泛的应对。 MSCs 如何与免疫系统相互作用,其背后的机制十分值得探究, NK 细胞与 MSCs 的相互作用仅是其机制的一部分,对其机制的进一步研究可为应用 MSCs 治疗疾病提供理论支撑。尽管活化的 NK 细胞有杀伤 MSCs 的作用,但 MSCs 的治疗作用在过去的许多实践中已经被证实,在各种动物以及人的疾病模型实验中都发挥了积极的作用^[35]。且通过不同的处理可进一步改善 MSCs 的功能以改进治疗效果,活化 NK 细胞对 MSCs 的杀伤作用在活体中并未观察到。本篇综述讨论了过去所做的成果以进一步探究背后的机制与意义。NK 细胞作为免疫系统的关键环节在疾病发生发展中发挥关键作用, MSCs 治疗中, MSCs 对 NK 细胞的抑制作用影响着治疗效果,是治疗机制的一环,可以促进 MSCs 在治疗上的应用。

参考文献:

- [1] Blazar BR, MacDonald K, Hill GR. Immune regulatory cell infusion for graft-versus-host disease prevention and therapy [J]. *Blood*, 2018, 131(24):2651-2660.
- [2] Freud AG, Mundy-Bosse BL, Yu J, et al. The broad spectrum of human natural killer cell diversity [J]. *Immunity*, 2017, 47(5):820-833.
- [3] Shi Y, Du L, Lin L, et al. Tumour-associated mesenchymal stem/stromal cells: emerging therapeutic targets [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(1):35-52.
- [4] Volarevic V, Gazdic M, Simovic MB, et al. Mesenchymal stem cell-derived factors: Immuno-modulatory effects and therapeutic potential [J]. *Biofactors*, 2017, 43(5):633-644.
- [5] Petri RM, Hackel A, Hahnel K, et al. Activated tissue-resident mesenchymal stromal cells regulate natural killer cell immune and

- tissue-regenerative function [J]. *Stem Cell Rep*, 2017, 9 (3): 985-998.
- [6] Bahrami B, Hosseini A, Talei AR, *et al.* Adipose derived stem cells exert immunomodulatory effects on natural killer cells in breast cancer [J]. *Cell J*, 2017, 19 (1): 137-145.
- [7] 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.
- [8] Byun JW, Kim HJ, Na K, *et al.* Bone marrow-derived mesenchymal stem cells prevent alopecia areata development through the inhibition of NKG2D expression: A pilot study [J]. *Exp Dermatol*, 2017, 26 (6): 532-535.
- [9] de Witte S, Merino AM, Franquesa M, *et al.* Cytokine treatment optimises the immunotherapeutic effects of umbilical cord-derived MSC for treatment of inflammatory liver disease [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8 (1): 140.
- [10] Cui R, Rekasi H, Hepner-Schefczyk M, *et al.* Human mesenchymal stromal/stem cells acquire immunostimulatory capacity upon cross-talk with natural killer cells and might improve the NK cell function of immunocompromised patients [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7 (1): 88.
- [11] Harmon C, Robinson MW, Fahey R, *et al.* Tissue-resident Eomes (hi) T-bet (lo) CD56 (bright) NK cells with reduced proinflammatory potential are enriched in the adult human liver [J]. *Eur J Immunol*, 2016, 46 (9): 2111-2120.
- [12] Gao L, Zhang Y, Hu B, *et al.* Phase II multicenter, randomized, double-blind controlled study of efficacy and safety of umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells in the prophylaxis of chronic graft-versus-host disease after HLA-haploidentical stem-cell transplantation [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34 (24): 2843-2850.
- [13] Zhao XY, Chang YJ, Xu LP, *et al.* Association of natural killer cells in allografts with transplant outcomes in patients receiving G-CSF-mobilized PBSC grafts and G-CSF-primed BM grafts from HLA-haploidentical donors [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2009, 44 (11): 721-728.
- [14] Poggi A, Zocchi MR. NK cell autoreactivity and autoimmune diseases [J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 27.
- [15] 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.
- [16] Poggi A, Prevosto C, Massaro AM, *et al.* Interaction between human NK cells and bone marrow stromal cells induces NK cell triggering; role of NKP30 and NKG2D receptors [J]. *J Immunol*, 2005, 175 (10): 6352-6360.
- [17] Najar M, Fayyad-Kazan M, Meuleman N, *et al.* Mesenchymal stromal cells of the bone marrow and natural killer cells: cell interactions and cross modulation [J]. *J Cell Commun Signal*, 2018, 12 (4): 673-688.
- [18] Svirshchevskaya EV, Poltavtsev AM, Os'Mak GZ, *et al.* Activation of NK cells in mixed cultures of wharton's jelly mesenchymal stromal cells and peripheral blood lymphocytes [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2018, 164 (3): 339-343.
- [19] Poggi A, Prevosto C, Zancolli M, *et al.* NKG2D and natural cytotoxicity receptors are involved in natural killer cell interaction with self-antigen presenting cells and stromal cells [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1109: 47-57.
- [20] Hoogduijn MJ, Roemeling-van RM, Korevaar SS, *et al.* Immunological aspects of allogeneic and autologous mesenchymal stem cell therapies [J]. *Hum Gene Ther*, 2011, 22 (12): 1587-1591.
- [21] Giuliani M, Bennaceur-Griscelli A, Nanbakhsh A, *et al.* TLR ligands stimulation protects MSC from NK killing [J]. *Stem Cells*, 2014, 32 (1): 290-300.
- [22] Lu Y, Liu J, Liu Y, *et al.* TLR4 plays a crucial role in MSC-induced inhibition of NK cell function [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 464 (2): 541-547.
- [23] Abdi J, Rashedi I, Keating A. Concise review: TLR pathway-miRNA interplay in mesenchymal stromal cells: regulatory roles and therapeutic directions [J]. *Stem Cells*, 2018, 36 (11): 1655-1662.
- [24] Qu M, Yuan X, Liu D, *et al.* Bone marrow-derived mesenchymal stem cells attenuate immune-mediated liver injury and compromise virus control during acute hepatitis B virus infection in mice [J]. *Stem Cells Dev*, 2017, 26 (11): 818-827.
- [25] Svirshchevskaya EV, Poltavtseva RA, Beletskii IP, *et al.* Interaction of lymphocytes with mesenchymal stem cells [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2016, 161 (4): 571-579.
- [26] Lu LL, Liu YJ, Yang SG, *et al.* Isolation and characterization of human umbilical cord mesenchymal stem cells with hematopoiesis-supportive function and other potentials [J]. *Haematologica*, 2006, 91 (8): 1017-1026.
- [27] Jin HJ, Bae YK, Kim M, *et al.* Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood as sources of cell therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14 (9): 17986-18001.
- [28] de Witte S, Lambert EE, Merino A, *et al.* Aging of bone marrow- and umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells during expansion [J]. *Cytotherapy*, 2017, 19 (7): 798-807.
- [29] Valencia J, Blanco B, Yanez R, *et al.* Comparative analysis of the immunomodulatory capacities of human bone marrow- and adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells from the same donor [J]. *Cytotherapy*, 2016, 18 (10): 1297-1311.
- [30] Blanco B, Herrero-Sanchez MD, Rodriguez-Serrano C, *et al.* Immunomodulatory effects of bone marrow versus adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells on NK cells; implications in the transplantation setting [J]. *Eur J Haematol*, 2016, 97 (6): 528-537.
- [31] Gazdic M, Simovic MB, Jovicic N, *et al.* Mesenchymal stem cells promote metastasis of lung cancer cells by downregulating systemic antitumor immune response [J]. *Stem Cells Int*, 2017, 2017: 6294717.
- [32] Chiossone L, Conte R, Spaggiari GM, *et al.* Mesenchymal stromal cells induce peculiar alternatively activated macrophages capable of dampening both innate and adaptive immune responses [J]. *Stem Cells*, 2016, 34 (7): 1909-1921.
- [33] Galland S, Vuille J, Martin P, *et al.* Tumor-derived mesenchymal stem cells use distinct mechanisms to block the activity of natural killer cell subsets [J]. *Cell Rep*, 2017, 20 (12): 2891-2905.
- [34] Patel SA, Meyer JR, Greco SJ, *et al.* Mesenchymal stem cells protect breast cancer cells through regulatory T cells; role of mesenchymal stem cell-derived TGF-beta [J]. *J Immunol*, 2010, 184 (10): 5885-5894.
- [35] 何 霞, 崔 璨, 陈 敏. 骨髓间充质干细胞移植对实验性大鼠缺血性脑梗死免疫炎症反应的影响研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 2018, 34 (5): 637-652.
- He X, Cui C, Chen M. Effect of bone marrow mesenchymal stem cells transplantation on immune inflammatory response in experimental ischemic cerebral infarction in rats [J]. *Chin J Immunol*, 2018, 34 (5): 637-652.