

· 论著 ·

人脐带间质干细胞对大鼠的免疫毒性研究^{*}

李岩¹ 刘拥军² 秦超¹ 陈威¹ 徐萌² 刘广洋² 朱德琳^{2**} 高虹^{1**} (¹中国医学科学院医学实验动物研究所, 北京 100050; ²和泽生物科技有限公司干细胞研发中心, 北京 100070)

摘要 目的: 研究人脐带间质干细胞(UCMSC)对 Wistar 大鼠的免疫毒性作用。方法: SPF 级 Wistar 大鼠 112 只分为 4 组: 溶媒组(给予溶媒 5 ml/kg)、低剂量组(给予人 UCMSC 1×10^7 个/kg)、高剂量组(给予人 UCMSC 5×10^7 个/kg)和对照组(给予大鼠 UCMSC 1×10^7 个/kg)。每组 28 只大鼠, 雌雄各 14 只。大鼠尾静脉注射给药, 2 周 1 次, 共注射 4 次。给 UCMSC 后每周进行受体鼠临床移植抗宿主病(GVHD)评分, 末次注射 UCMSC 后 1、13 周检测血 IgG、IgM 含量, CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞数量, 并对大鼠淋巴结、胸腺、脾脏进行脏器系数计算和组织病理学检查。结果: 给予 UCMSC 后, 各组大鼠的 GVHD 评分值均为 0。末次给予 UCMSC 后 1 周, 低、高剂量组雌性大鼠 IgG [(0.65 ± 0.12)、(0.63 ± 0.14) g/L] 和 IgM 含量 [(0.06 ± 0.01)、(0.06 ± 0.01) g/L] 明显高于溶媒组雄性大鼠 [(0.41 ± 0.17) g/L、(0.04 ± 0.01) g/L, $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$]; 高剂量组雄性大鼠 IgM 含量 [(0.05 ± 0.01) g/L] 明显高于溶媒组雄性大鼠 [(0.03 ± 0.01) g/L, $P < 0.01$]; 对照组雌性、雄性大鼠 IgM [(0.06 ± 0.02)、(0.05 ± 0.02) g/L] 也明显高于溶媒组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。末次给予 UCMSC 后 13 周, 各剂量组雌、雄性大鼠 IgG、IgM 与溶媒组相比差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。末次给予 UCMSC 后 1 周, 低、高剂量组雌性大鼠的脾脏系数 [分别为 (0.274 ± 0.016) %、(0.294 ± 0.019) %] 明显高于溶媒组 [(0.232 ± 0.012) %, $P < 0.01$]; 高剂量组雄性大鼠的脾脏系数 [(0.242 ± 0.027) %] 明显高于溶媒组 [(0.202 ± 0.012) %, $P < 0.01$]; 对照组雌、雄性大鼠脾脏系数 [分别为 (0.261 ± 0.019) %、(0.236 ± 0.014) %] 也明显高于溶媒组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。末次给予 UCMSC 后 13 周各组大鼠的脾脏和胸腺系数差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。各组大鼠 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞百分比及 CD4⁺/CD8⁺ 比值均在正常范围内。各组大鼠胸腺、脾脏和肠系膜淋巴结组织病理学检查均未见明显异常。结论: 人脐带间质干细胞可引起正常 Wistar 大鼠免疫球蛋白含量和脾脏系数的升高, 该作用具有一过性和可逆性。

关键词 脐带间质干细胞; 免疫毒性; 大鼠, Wistar

中图分类号: R 392.4

文献标识码: A

文章编号: 1008-5734(2011)2-0078-07

Immune toxicity of human umbilical cord mesenchymal stem cells on rats

Li Yan¹, Liu Yongjun², Qin Chao¹, Chen Wei¹, Xu Meng², Liu Guangyang², Zhu Delin², Gao Hong¹

(¹Institute of Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China; ²Stem Cell R&D Center, Allian Cells Bioscience Co., Ltd, Beijing 100070, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the immune toxicity of human umbilical cord mesenchymal stem cells (UCMSC) on Wistar rats. **Methods:** One hundred and twelve SPF grade Wistar rats were randomly divided into 4 groups: the solvent group (a dose of solvents 5 ml/kg), the low-dose group (a dose of 1×10^7 human UCMSC/kg), the high-dose group (a dose of 5×10^7 human UCMSC/kg) and the control group (a dose of 1×10^7 rat UCMSC/kg). Each group comprised 28 rats (14 males and 14 females). UCMSC once every 2 weeks was given via the caudal vein for 4 doses. The graft versus host diseases (GVHD) scores were evaluated every week after the UCMSC injection start. The IgG and IgM levels and the numbers of T cell subtypes (CD3⁺, CD4⁺, and CD8⁺) were measured. The pathological changes in lymphonode, thymus and spleen were observed and organ coefficients were calculated 1 and 13 weeks after the final dose of UCMSC. **Results:** The GVHD scores were 0 after injection of UCMSC in all groups. One week after the final dose of UCMSC, the IgG and IgM levels of female rats in the low-dose group [(0.65 ± 0.12) and (0.63 ± 0.14) g/L, respectively] and the high-dose group [(0.06 ± 0.01) and (0.06 ± 0.01) g/L, respectively] increased markedly than those in the solvent group [(0.41 ± 0.17) g/L and (0.04 ± 0.01) g/L, $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively]. Thirteen weeks after the final

^{*} 基金项目: 中国医学科学院国际标准药物安全评价技术平台建设项目 (2008ZX09305-001)

^{**} 通信作者: 朱德琳, 男, Tel: (010) 52252588, E-mail: delzhu@126.com; 高虹, 女, 副研究员, 硕士生导师, Tel: (010) 63031049, E-mail: gaohongdws@yahoo.com.cn

dose of UCMSC, the IgM level of the male rats in the high-dose group [(0.05 ± 0.01) g/L] increased markedly than that in the solvent group [(0.03 ± 0.01) g/L, $P < 0.05$]. The IgM levels of male and female rats in the control group [(0.06 ± 0.02) and (0.05 ± 0.02) g/L, respectively] increased markedly than those in the solvent group [(0.05 ± 0.02) g/L, both $P < 0.05$]. There were no statistically differences in the IgG and IgM levels of male and female rats among groups 13 weeks after the final dose of UCMSC (all $P < 0.05$). One week after the final dose of UCMSC, the spleen coefficient of female rats in the low-dose group [(0.274 ± 0.016) %] and the high-dose group [(0.294 ± 0.019) %] increased markedly than that in the solvent group [(0.232 ± 0.012) %, $P < 0.01$]. The spleen coefficient of male rats in the high-dose group [(0.242 ± 0.027) %] increased markedly than that in the solvent group [(0.202 ± 0.012) %, $P < 0.01$]. The spleen coefficient of male and female rats in the control group [(0.261 ± 0.019) % and (0.236 ± 0.014) %, respectively] increased markedly than that in the solvent group ($P < 0.01$). There were no statistically differences in the spleen and thymus coefficients among groups 13 weeks after the final dose of UCMSC (all $P > 0.05$). The percentage of CD3⁺, CD4⁺, and CD8⁺ T cells and ratio of CD4⁺/CD8⁺ in all groups were within the normal range. The histopathological examination of thymus, lymphnode and spleen showed no abnormal changes. **Conclusion:** Human umbilical cord mesenchymal stem cells can induce elevation of immunoglobulin level and spleen coefficients in Wistar rats, and this effect is transient and reversible.

KEY WORDS umbilical cord mesenchymal stem cells; immune toxicity; Wistar rats

间质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)是来源于中胚层发育早期的一类多能干细胞,存在于身体的很多部位如骨髓、脐带、脐血及胎儿内脏等。MSC具有自我更新的能力和多向分化的潜能^[1],在多系统疾病治疗中应用前景广阔^[2-3]。由于具备来源广泛、取材方便及不受伦理限制等优点,脐带间质干细胞(UCMSC)成为临床应用 MSC 的主要类型。MSC具有弱免疫原性,而且具有独特的免疫调节作用,国内外对此开展了大量研究,但多为体外研究和体内特定疾病动物模型研究^[4-5],对免疫功能正常动物影响的研究报道较少。本研究中,我们将人 UCMSC 静脉输注到正常 Wistar 大鼠体内,动态监测大鼠体液免疫、细胞免疫以及免疫器官的组织病理学等相关指标的变化,以阐明人 UCMSC 输注对大鼠的免疫毒性作用,从而为其临床应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SPF 级 Wistar 大鼠 112 只,封闭群,雌雄各半,体重 140 ~ 170 g,购自中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心,生产许可证号:SCXK(军)2007-004。

1.1.2 药物 人 UCMSC、Wistar 大鼠 UCMSC 和溶媒(含复方电解质注射液、低分子肝素钙、人血白蛋白)由和泽生物科技有限公司提供。人 UCMSC 细胞存活率 $\geq 90\%$,细胞 CD73、CD90、CD105 阳性率 $\geq 95\%$,CD19、CD34、CD11b、CD45、HLA-DR 阴性。

1.1.3 主要试剂 IgG、IgM 购自中生北控生物科技股份有限公司; FITC-CD3、PE-CD4、PerCP-CD8a 和同型对照 FITC-IgG3、PE-IgG2a、PerCP-IgG1 为美国 BD 公司产品。

1.1.4 主要仪器设备 7020 型日立全自动生化分析仪(日本日立公司),FACS Calibur 流式细胞仪(美国 BD 公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组及给药方法 112 只大鼠按随机数字法随机分为 4 组:低剂量组(给予人 UCMSC 1×10^7 个/kg)、高剂量组(给予人 UCMSC 5×10^7 个/kg)、对照组(给予 Wistar 大鼠 UCMSC 1×10^7 个/kg)和溶媒组(给予溶媒 5 ml/kg)。每组 28 只大鼠,雌、雄性各 14 只。大鼠尾静脉注射给药,2 周 1 次,共给药 4 次。

1.2.2 受体鼠临床移植宿主病(GVHD)评分^[6] 给予 UCMSC 后观察动物的外观、行为、分泌物和排泄物等,并按以下 5 个参数每周对动物进行 GVHD 评分,每个参数总分 2 分。体重:每周体重下降 $< 10\%$ 记为 0 分;下降 $10\% \sim 25\%$ 记为 1 分;下降 $> 25\%$ 记为 2 分。活动度:无活动度下降记为 0 分;轻度活动度下降记为 1 分;重度活动度下降记为 2 分。皮肤溃疡:皮肤完整无脱毛记为 0 分;小片浅溃疡、轻度溃疡记为 1 分;大片溃疡、脱毛记为 2 分。姿势:无姿势异常记为 0 分;轻度姿势异常记为 1 分;姿势呈弓背样改变记为 2 分。耸毛:无耸毛记为 0 分;轻度耸毛记为 1 分;重度耸毛记为 2 分。

1.2.3 免疫球蛋白含量测定 末次给予 UCMSC 后 1、13 周用免疫比浊法测定大鼠血清 IgG、IgA 和 IgM 含量。

1.2.4 T 细胞亚群分析 末次给予 UCMSC 后 1、13 周用流式细胞仪检测外周血中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞的分布,计算 CD4⁺/CD8⁺ 比值。

1.2.5 病理检查

1.2.5.1 大体解剖和脏器系数 末次给予 UCMSC 后 1、13 周,用戊巴比妥钠按 30 mg/kg 腹腔注射麻

醉处死动物(第 1 周 8 只,13 周 6 只),进行大体解剖,观察淋巴结、胸腺、脾脏有无异常,称量胸腺、脾脏重量并计算脏器系数,脏器系数(%) = 脏器重量/体重 × 100%。

1.2.5.2 组织病理学检查 取动物的胸腺、脾脏和肠系膜淋巴结,放入 4% 中性甲醛中固定,进行 HE 染色。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 13.0 统计软件进行数据处理。多组间比较采用单因素方差分析,采用 Dunnett *t* 检验进行两两比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠 GVHD 评分

给予 UCMSC 后各组大鼠的外观、行为等均未见异常,每周进行 GVHD 评分,动物未出现体重下降、活动度减少、溃疡、姿势异常和耸毛现象,GVHD 评分均为 0。

2.2 免疫球蛋白含量

末次给予 UCMSC 后 1 周,低、高剂量组雌性大鼠 IgG、IgM 与溶媒组相比差异有统计学意义($P <$

0.01 或 $P < 0.05$),高剂量组雄性大鼠 IgM 与溶媒组相比差异有统计学意义($P < 0.01$),对照组雌、雄性大鼠 IgM 与溶媒组相比差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);末次给予 UCMSC 后 13 周:各剂量组雌、雄性大鼠 IgG、IgM 与溶媒组相比差异均无统计学意义(表 1、2)。给予 UCMSC 后各时间点各组大鼠均未检测出 IgA。

2.3 T 细胞亚群分类

各组大鼠 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞百分比及 CD4⁺/CD8⁺ 比值均在正常范围内(表 3、4)。

2.4 病理检查

末次给予 UCMSC 后 1 周,低、高剂量组雌性大鼠、高剂量组雄性大鼠和对照组雌、雄性大鼠脾脏系数均增大,与溶媒组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);末次给予 UCMSC 后 13 周,各组大鼠的脾脏和胸腺系数未见明显异常(表 5、6)。

各组大鼠胸腺、脾脏和肠系膜淋巴结大体解剖和组织病理学检查均未见明显异常(图 1)。

表 1 UCMSC 对各组雌性大鼠血清 IgG、IgM 含量的影响(g/L, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effects of UCMSC on IgG and IgM levels in the female rats in all groups(g/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	1 周		13 周	
	IgG	IgM	IgG	IgM
溶媒组	0.41 ± 0.17	0.04 ± 0.01	0.75 ± 0.12	0.05 ± 0.01
对照组	0.45 ± 0.12	0.06 ± 0.02 ^a	0.58 ± 0.24	0.05 ± 0.01
低剂量组	0.65 ± 0.12 ^a	0.06 ± 0.01 ^a	0.73 ± 0.13	0.05 ± 0.01
高剂量组	0.63 ± 0.14 ^b	0.06 ± 0.01 ^a	0.70 ± 0.07	0.04 ± 0.01

注: 末次给予 UCMSC 后 1、13 周各组的样本数分别为 8 和 6;与溶媒组比较,^a $P < 0.01$,^b $P < 0.05$

表 2 UCMSC 对各组雄性大鼠血清 IgG、IgM 含量的影响(g/L, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effects of UCMSC on IgG and IgM levels in the male rats in all groups(g/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	1 周		13 周	
	IgG	IgM	IgG	IgM
溶媒组	0.27 ± 0.08	0.03 ± 0.01	0.55 ± 0.17	0.04 ± 0.01
对照组	0.32 ± 0.15	0.05 ± 0.02 ^b	0.61 ± 0.04	0.04 ± 0.01
低剂量组	0.31 ± 0.10	0.04 ± 0.01	0.62 ± 0.12	0.04 ± 0.01
高剂量组	0.45 ± 0.18	0.05 ± 0.01 ^a	0.54 ± 0.11	0.04 ± 0.01

注: 末次给予 UCMSC 后 1、13 周各组的样本数分别为 8 和 6;与溶媒组比较,^a $P < 0.01$,^b $P < 0.05$

表 3 UCMSC 对各组雌性大鼠 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞百分比和 CD4⁺/CD8⁺ 比值的影响(%, $\bar{x} \pm s$)Tab 3 Effects of UCMSC on percentages of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ T cell subtypes and ratio of CD4⁺/CD8⁺ in the female rats in all groups(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	1 周				13 周			
	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
溶媒组	57.4 ± 4.1	42.8 ± 3.8	16.3 ± 1.7	2.6 ± 0.3	56.6 ± 4.2	40.3 ± 3.3	16.2 ± 4.0	2.6 ± 0.7
对照组	50.2 ± 4.7	36.9 ± 4.1	14.9 ± 2.0	2.5 ± 0.4	57.1 ± 3.6	40.7 ± 3.7	16.1 ± 2.0	2.6 ± 0.5
低剂量组	53.7 ± 5.0	38.8 ± 5.4	16.1 ± 2.2	2.5 ± 0.6	57.3 ± 6.0	41.8 ± 4.8	15.4 ± 4.1	2.9 ± 0.8
高剂量组	52.8 ± 4.1	37.88 ± 4.4	16.2 ± 2.7	2.4 ± 0.5	56.6 ± 7.4	40.6 ± 5.9	16.0 ± 2.8	2.6 ± 0.5

注: 末次给予 UCMSC 后 1、13 周各组的样本数分别为 8 和 6;与溶媒组比较, $P > 0.05$ **表 4** UCMSC 对各组雄性大鼠 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞百分比和 CD4⁺/CD8⁺ 比值的影响(%, $\bar{x} \pm s$)Tab 4 Effects of UCMSC on percentages of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ T cell subtypes and ratio of CD4⁺/CD8⁺ in the male rats in all groups(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	1 周				13 周			
	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
溶媒组	52.3 ± 4.9	36.0 ± 5.2	16.2 ± 2.6	2.3 ± 0.6	44.2 ± 3.2	30.7 ± 2.7	13.5 ± 2.1	2.3 ± 0.5
对照组	50.6 ± 3.4	35.9 ± 3.1	14.5 ± 2.3	2.6 ± 0.6	46.2 ± 3.3	31.9 ± 3.0	14.2 ± 3.0	2.4 ± 0.6
低剂量组	55.6 ± 5.5	39.0 ± 4.7	17.0 ± 2.0	2.3 ± 0.3	49.0 ± 5.4	30.2 ± 3.4	18.6 ± 4.2	1.7 ± 0.4
高剂量组	55.7 ± 4.2	40.1 ± 3.9	15.5 ± 2.0	2.6 ± 0.5	48.3 ± 4.4	33.5 ± 5.7	14.7 ± 4.8	2.6 ± 1.4

注: 末次给予 UCMSC 后 1、13 周各组的样本数分别为 8 和 6;与溶媒组比较, $P > 0.05$ **表 5** UCMSC 对各组雌性大鼠脏器系数的影响(%, $\bar{x} \pm s$)Tab 5 Effects of UCMSC on organ coefficient in the female rats in all groups(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	1 周		13 周	
	脾脏	胸腺	脾脏	胸腺
溶媒组	0.232 ± 0.012	0.139 ± 0.024	0.226 ± 0.009	0.067 ± 0.015
对照组	0.261 ± 0.019 ^b	0.131 ± 0.017	0.216 ± 0.009	0.074 ± 0.011
低剂量组	0.274 ± 0.016 ^a	0.133 ± 0.016	0.224 ± 0.013	0.085 ± 0.033
高剂量组	0.294 ± 0.019 ^a	0.135 ± 0.020	0.223 ± 0.008	0.072 ± 0.010

注: 末次给予 UCMSC 后 1、13 周各组的样本数分别为 8 和 6;与溶媒组比较, ^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$ **表 6** UCMSC 对各组雄性大鼠脏器系数的影响(%, $\bar{x} \pm s$)Tab 6 Effects of UCMSC on organ coefficient in the male rats in all groups(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	1 周		13 周	
	脾脏	胸腺	脾脏	胸腺
溶媒组	0.202 ± 0.012	0.097 ± 0.015	0.166 ± 0.008	0.063 ± 0.010
对照组	0.236 ± 0.014 ^a	0.103 ± 0.016	0.170 ± 0.024	0.073 ± 0.012
低剂量组	0.225 ± 0.019	0.108 ± 0.024	0.172 ± 0.008	0.064 ± 0.016
高剂量组	0.242 ± 0.027 ^a	0.103 ± 0.019	0.193 ± 0.023	0.063 ± 0.012

注: 末次给予 UCMSC 后 1、13 周各组的样本数分别为 8 和 6;与溶媒组比较, ^a $P < 0.01$

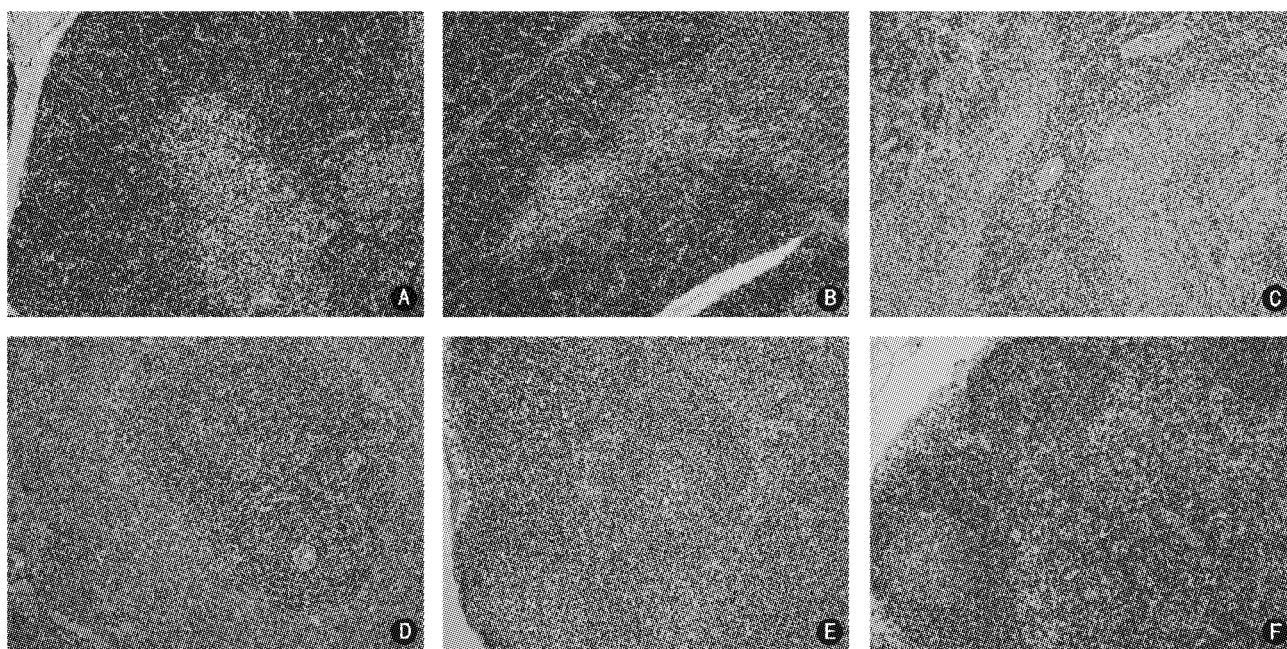


图 1 末次给予人脐带间质干细胞 (UCMSC) 后 13 周溶媒组和高剂量组大鼠胸腺、脾脏和肠系膜淋巴结组织病理学检查 (HE $\times 100$) A: 溶媒组胸腺组织; B: 高剂量组胸腺组织; C: 溶媒组脾脏组织; D: 高剂量组脾脏组织; E: 溶媒组肠系膜淋巴结组织; F: 高剂量组肠系膜淋巴结组织

Fig 1 Pathological examination of rat's thymus, spleen, and mesenteric lymphnode tissues 13 weeks after the final dose of UCMSC in the solvent and high-dose groups (HE $\times 100$) A: thymus tissue in the solvent group; B: thymus tissue in the high-dose group; C: spleen tissue in the solvent group; D: spleen tissue in the high-dose group; E: mesenteric lymphnode tissue in the solvent group; F: mesenteric lymphnode tissue in the high-dose group

3 讨论

UCMSC 是从脐带不同部位如脐带静脉内皮、内皮下层、Wharton's jelly、血管及其周围组织分离得到的 MSC^[7], 具有分化潜力大、增殖能力强、免疫原性低、取材方便、无道德伦理问题的限制、易于工业化制备等特征, 因而成为最具临床应用前景的多能干细胞。在造血干细胞共移植^[8]、组织损伤修复(骨、软骨^[9]、关节及肺损伤^[1]和神经系统疾病)、自身免疫性疾病(自身免疫性脑脊髓炎^[10]、系统性红斑狼疮^[11]、硬皮病、炎性肠炎等)的治疗及作为基因治疗的载体等方面, 取得了令人鼓舞的结果, 但有关 MSC 的临床前安全性报道较少。MSC 是具有独特生物学活性的生物制剂, 对机体的影响主要是对免疫系统的调节作用和潜在的致癌风险。本研究以同种大鼠的 UCMSC 作为参照, 综合分析了人 UCMSC 输注对正常 Wistar 大鼠的免疫毒性作用。

本研究结果显示, 同种、异种 UCMSC 输注未引起大鼠 GVHD 的相关表现。Koc 等^[12]的研究也表明, 将异体 MSC 注入脂肪软骨营养不良症或异染色质脑白质营养不良症的患者体内未发生 GVHD, 说明 UCMSC 移植能诱导机体的免疫耐受, 这是否与

吡胺 2,3-过氧化酶 (IDO) 的表达^[13]和细胞因子白细胞介素 10 (IL-10)、转化生长因子 β (TGF- β)^[14]等的分泌有关, 仍有待进一步研究。

本研究表明同种、异种 UCMSC 对大鼠外周血的 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 细胞亚群的分类无明显影响, 而国内外大多数研究表明 MSC 对免疫系统有负调节作用。Dinicola 等^[15]的研究发现, MSC 能够抑制混合淋巴细胞反应 (MLR) 或植物凝集素 (PHA) 刺激引起的 T 细胞的增殖, 并具有显著的剂量依赖效应; 体内研究也显示在进行造血干细胞移植和皮肤移植时, 同时输入 MSC 能有效减轻 GVHD 和移植排斥反应^[16]。本研究结果与国内外有关报道有所差异的原因, 一方面是由于目前对 MSC 的研究多为体外研究; 另一方面, 文献报道的体内研究多是将 MSC 移植于免疫相关性疾病或特定疾病的动物模型中, 而动物自身的免疫状态很可能是促使 MSC 对 T 细胞进行免疫负调控的诱因。

本研究结果还显示, 同种 UCMSC 移植可引起大鼠血清 IgM 的一过性升高, 异种 UCMSC 移植可引起大鼠血清 IgG、IgM 的一过性升高。目前关于 MSC 对 B 细胞的免疫调节研究报道较少。Corcione 等^[17]

发现体外人 MSC 通过影响 B 细胞周期而使免疫球蛋白 IgG、IgM 和 IgA 的分泌显著减少。Deng 等^[18]发现 BALB/C 小鼠骨髓 MSC 对系统性红斑狼疮小鼠由脂多糖诱导的 B 细胞增殖和免疫球蛋白分泌具有抑制作用。上述研究说明 MSC 对 B 细胞具有免疫抑制作用。而将 BALB/C 小鼠骨髓 MSC 移植到同基因和异基因正常小鼠的研究则发现 MSC 可促进有丝分裂原诱导的 B 细胞增殖和免疫球蛋白分泌^[15], 本研究结果与之一致。这提示 MSC 虽然可对 B 细胞产生抑制作用, 但自身作为外来物质, 可诱导免疫功能健全宿主产生一定的免疫反应。Grinnemo 等^[19]的研究也发现人 MSC 在免疫缺陷大鼠心肌可长期存在, 而注射于正常大鼠心肌则可引起排斥反应和巨噬细胞的浸润, 进一步证实了 MSC 并非具有真正的免疫豁免特性的观点, 即 MSC 在免疫缺陷宿主和免疫豁免部位能够移植, 但对免疫系统完整的宿主则可引发免疫反应, 因此在临床应用时应综合考虑宿主的免疫状况。而本研究中, 同种、异种 UCMSC 移植对大鼠 IgG 影响的差异可能与物种差异有关。

病理学研究结果显示同种、异种 UCMSC 移植可引起大鼠脾脏系数的一过性升高, 结合本研究中免疫球蛋白研究结果, 说明 UCMSC 作为异源性物质能引起免疫功能正常大鼠的免疫反应。

综上所述, 本研究表明人 UCMSC 对正常 Wistar 大鼠免疫系统有一定的药理毒理作用, 主要表现为免疫球蛋白含量和脾脏系数的一过性升高, 其具体作用机制尚不清楚, 应进一步深入研究 MSC 对正常动物和免疫相关性疾病动物的免疫调节作用机制, 为 MSC 的临床应用提供理论支持。

参考文献

- [1] Gupta N, Su X, Popov B, *et al.* Intrapulmonary delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves survival and attenuates endotoxin-induced acute lung injury in mice[J]. *J Immunol*, 2007, 179(3):1855-1863.
- [2] Augello A, Tasso R, Negrini SM, *et al.* Cell therapy using allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells prevents tissue damage in collagen-induced arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2007, 56(4):1175-1186.
- [3] Lee RH, Seo MJ, Reger RL, *et al.* Multipotent stromal cells from human marrow home to and promote repair of pancreatic islets and renal glomeruli in diabetic NOD/scid mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(46):17438-17443.
- [4] 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.
- [5] Chidgey AP, Layton D, Trounson A, *et al.* Tolerance strategies for stem-cell-based therapies [J]. *Nature*, 2008, 453(7193):330-337.
- [6] Bryson JS, Jennings CD, Lowery DM, *et al.* Rejection of an MHC class II negative tumor following induction of murine syngeneic graft-versus-host disease [J]. *Bone Marrow Transplant*, 1999, 23(4):363-372.
- [7] Secco M, Zucconi E, Vieira NM, *et al.* Multipotent stem cells from umbilical cord: cord is richer than blood! [J]. *Stem Cells*, 2008, 26(1):146-150.
- [8] Tisato V, Naresh K, Girdlestone J, *et al.* Mesenchymal stem cells of cord blood origin are effective at preventing but not treating graft-versus-host disease [J]. *Leukemia*, 2007, 21(9):1992-1999.
- [9] Vinardell T, Thorpe SD, Buckley CT, *et al.* Chondrogenesis and integration of mesenchymal stem cells within an in vitro cartilage defect repair model [J]. *Ann Biomed Eng*, 2009, 37(12):2556-2565.
- [10] Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, *et al.* Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy [J]. *Blood*, 2005, 106(5):1755-1761.
- [11] Chang JW, Hung SP, Wu HH, *et al.* Therapeutic effects of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cell transplantation in experimental lupus nephritis [J]. *Cell Transplant*, 2011, 20(2):245-257.
- [12] Koc ON, Day J, Nieder M, *et al.* Allogeneic mesenchymal stem cell infusion for treatment of metachromatic leukodystrophy (MLD) and Hurler syndrome (MPS2-IH) [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2002, 30(4):215-222.
- [13] Meisel R, Zibert A, Laryea M, *et al.* Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation [J]. *Blood*, 2004, 103(12):4619-4621.
- [14] Deuse T, Stubbendorff M, Tang-Quan K, *et al.* Immunogenicity and immunomodulatory properties of umbilical

- cord lining mesenchymal stem cells[J/OL]. Cell Transplant, 2010, [2010-11-05]. <http://miranda.ingentaselect.co.uk/fstemp/0dd461e88bd6480908f577c9fe93a5ec.pdf>.
- [15] Dinicola M, Carlo-Stella C, Magni M, *et al.* Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli [J]. Blood, 2002; 99(10):3838-3843.
- [16] Ball LM, Bernardo ME, Roelofs H, *et al.* Cotransplantation of ex vivo expanded mesenchymal stem cells accelerates lymphocyte recovery and may reduce the risk of graft failure in haploidentical hematopoietic stem-cell transplantation [J]. Blood, 2007, 110(7):2764-2767.
- [17] Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, *et al.* Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions [J]. Blood, 2006, 107(1):367-372.
- [18] Deng W, Han Q, Liao L, *et al.* Effects of allogeneic bone marrow derived mesenchymal stem cells on T and B lymphocytes from BXSB mice [J]. DNA Cell Biol, 2005, 24(7):458-463.
- [19] Grinnemo KH, Mansson A, Dellgren G, *et al.* Xenoreactivity and engraftment of human mesenchymal stem cells transplanted into infarcted rat myocardium [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2004, 127(5):1293-1300.

(收稿日期: 2010-03-12)

(本文编辑: 孟艳)

· 安全信息 ·

长期使用质子泵抑制剂增加低镁血症风险

刘琛 (首都医科大学宣武医院药剂科, 北京 100053)

美国食品和药品管理局(FDA)于2011年3月2日对医护人员和患者发布安全警告:长期(>1年)使用质子泵抑制剂(PPI)处方药可能增加低镁血症风险^[1]。

PPI可减少胃酸分泌,用于治疗胃食管反流综合征、胃和小肠溃疡、食管炎。PPI类常用药物包括埃索美拉唑(esomeprazole)、右兰索拉唑(dexlansoprazole)、奥美拉唑(omeprazole)、兰索拉唑(lansoprazole)、泮托拉唑钠(pantoprazole sodium)和雷贝拉唑钠(rabeprazole sodium)等处方药和非处方药。

已有PPI所致低镁血症病例61例,其中来源于FDA不良事件报告系统(AERS)38例,文献报道23例。评估结果发现低镁血症与长期使用PPI处方药有关。成人患者在服用PPI至少3个月后发现低镁血症,多数服药1年以后发生,约四分之一的患者服用镁补充剂未改善低镁水平,须同时停用PPI。停用PPI后,患者血镁水平恢复正常的中位时间为1周。一些患者再次使用PPI后低镁血症再次出现,出现低镁血症的中位时间为2周。低镁血症的临床表现包括手足抽搐、惊厥、震颤、心房颤动、室上性心动过速、QT间期异常。低镁血症还可使甲状旁腺激素分泌受损,导致低血钙。长期使用PPI致低镁血症的机制尚不明确,可能与肠道对镁吸收的改变有关^[2]。

PPI非处方药多用于治疗频繁的胃灼热,一般给予低剂量,14 d为1疗程,每疗程间隔4个月,1年最多服用3个疗程。FDA认为患者如严格遵照药品说明书服用,则发生低镁血症的风险很低。FDA提示患者,服用PPI后一旦出现心律异常、心跳加速、心悸、肌肉痉挛、震颤或抽搐,应立即就医;儿童异常心率可能导致疲劳、胃部不适和眩晕;已有低镁血症或正在服用地高辛、利尿药及其他可能降低血镁浓度的药物应提前告知医务人员。FDA提示医生,开具PPI长期处方时应定期监测患者体内的血镁浓度,并询问患者是否正在使用地高辛、利尿剂等其他可能引发低镁血症的药物;对正在使用地高辛的患者慎用PPI,因为低镁血症可能引发严重不良反应;髓祥利尿药(呋塞米、布美他尼、托拉塞米和依他尼酸)和噻嗪类利尿药(氯噻嗪、氢氯噻嗪、吲哒帕胺、美托拉宗)单用或联用其他抗高血压药(如 β 受体阻滞剂、血管紧张素受体拮抗剂、血管紧张素转化酶抑制剂)时可能引起低镁血症,均不应与PPI联合应用;对确诊低镁血症的患者可补充镁制剂,必要时停用PPI。对超适应证、超疗程服用PPI非处方药的患者,医务人员应告知也有致低镁血症风险。

参考文献

- [1] FDA Drug Safety Communication. Low magnesium levels can be associated with long-term use of Proton Pump Inhibitor drugs (PPIs) [EB/OL]. (2011-03-02) [2011-04-02]. <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm245011.htm>.
- [2] Cundy T, Mackay J. Proton pump inhibitors and severe hypomagnesaemia [J]. Curr Opin Gastroenterol, 2011, 27(2):180-185.

(收稿日期: 2011-04-08)

(本文编辑: 吴小艳)