

间充质干细胞在干燥综合征发病机制中的作用与治疗前景

路臻豪 汤建平

干燥综合征(Sjögren's syndrome, SS)是一种以侵犯涎腺和泪腺等外分泌腺、具有高度淋巴细胞浸润为特征的弥漫性结缔组织病。本病可单独存在,称为原发性干燥综合征(primary Sjögren's syndrome, pSS),也可以和肯定的自身免疫病并存,称为继发性干燥综合征(secondary Sjögren's syndrome, sSS)。临床表现复杂,最常见的症状是口、眼干燥,且常伴有内脏损害而出现多种临床表现,部分患者可向恶性淋巴瘤发展。免疫功能紊乱为其发病及病变延续的主要基础,确切病因仍不清楚,目前尚无根治的方法。近年来应用间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)治疗自身免疫性疾病的临床试验越来越多,对其在 pSS 发病机制中的作用也有了更深入的研究,本文通过查阅 pSS 发病机制及 MSCs 研究的相关文献,主要对 MSCs 在 pSS 发病机制中的作用及治疗方面的研究进展进行综述。

1 pSS 的发病机制

吴东海和王国春^[1]认为 pSS 的发生和发展可分为 3 个阶段:①某一环境因子作用于有遗传易感性的个体启动自身免疫反应;②通过免疫反应的正反馈机制使自身免疫持续下去;③不断产生的炎症引起组织损伤。

细菌或病毒感染导致单核巨噬细胞、树突状细胞等抗原递呈细胞激活,通过释放细胞因子促使 T 细胞在外分泌腺导管周围浸润,进而 B 细胞活化,分化为浆细胞,产生大量免疫球蛋白及自身抗体(如抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体),同时自然杀伤(NK)细胞功能下降,导致机体细胞免疫和体液免疫的异常反应,T、B 细胞的活化和局部浸润产生多种炎症介质和细胞因子,使腺泡和导管呈慢性、进行性破坏,导致导管阻塞、腺泡萎缩、腺体外分泌功能受损,出现口、眼干燥等临床表现。

2 MSCs 在 pSS 发病机制中的作用

MSCs 是干细胞家族的重要成员,来源于发育早期的中胚层和外胚层。MSCs 最早在骨髓中发现,随后还发现其存在于人体发生、发育过程的许多种组织中。目前,我们能够从骨髓、脂肪、滑膜、骨骼、肌肉、肺、肝、胰腺等组织以及羊水、脐带血中分离和制备 MSCs,用得最多的是骨髓来源的 MSCs。MSCs 因其具有多向分化潜能、造血支持和促进干细胞植入、免疫调控和自我复制等特点而日益受到人们的关注。研究发

现 MSCs 能通过多种机制改善涎腺和泪腺的外分泌功能。

2.1 重建涎腺的功能

目前对骨髓来源细胞(bone marrow-derived cells, BMDCs)的研究发现其能改善涎腺的功能。BMDCs 包括 2 种干细胞:造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)和骨髓间充质干细胞(BMMSCs)。

BMDCs 主要通过以下 4 种机制改善涎腺的功能:①细胞融合:BMDCs 与涎腺上皮细胞融合;②细胞转分化:BMDCs 分化为涎腺腺泡细胞;③内皮(壁)祖细胞的血管发生:BMDCs 中的内皮祖细胞分化为新的血管并改善涎腺的功能;④局部干细胞的旁分泌作用:BMDCs(如 MSCs 等)通过释放白细胞介素(IL)-10 或前列腺素 E₂ 对涎腺细胞产生旁分泌作用^[2]。

2.1.1 细胞融合和细胞转分化:细胞融合和细胞转分化即 BMDCs 在体内通过转化或表观遗传修饰成为非骨髓非造血谱系的体细胞如涎腺上皮细胞。但研究表明口腔和涎腺上皮细胞中细胞融合的发生率小于 0.01%^[3-4],细胞转分化在 1%~12% 的口腔细胞和 1% 的涎腺细胞中发生^[5],两者的发生率都很低,故认为细胞融合和细胞转分化是可能发生的,但这 2 种机制可能不适用于临床^[6]。

2.1.2 内皮(壁)祖细胞的血管发生:内皮(壁)祖细胞的血管发生即由属于外周血干细胞(peripheral blood stem cells, PBSCs)的血管内皮祖细胞或骨髓单核细胞发生分化出新的血管。Tran 等^[7]和 Lombaert 等^[8]在研究颈部接受照射的小鼠时发现在涎腺中有 BMDCs 来源的血管(内皮细胞),这些发现与腺体的涎量和质量的改善是一致的,但 Tran 等在非肥胖性糖尿病(NOD)小鼠中没有发现 BMDC 来源的内皮细胞^[9]。

2.1.3 局部干细胞的旁分泌作用:BMDCs(主要来自 MSCs)发挥了局部的旁分泌作用。研究通过插套管于涎腺导管中并注入重组腺相关病毒(rAAV)进行 IL-10 的局部输送,发现其对 NOD 小鼠的涎腺有调节作用,如增加涎量、减少炎症浸润等^[10],提示 BMDCs 移植(来自 MSCs)后释放的 IL-10 可能会在涎腺中起到类似的有益作用;另一个可能的机制是 MSCs 被肿瘤坏死因子(TNF)- α 激活并释放前列腺素 E₂,使巨噬细胞再程序化并分泌 IL-10^[11]。

目前关于 BMDCs 是否可再生涎腺上皮细胞仍有争议,但对于 BMDCs 能使小鼠涎腺功能改善已达成共识。

2.2 参与泪腺的组织修复

发生在 pSS 的泪腺炎症可导致泪膜水层分泌不足,引起干燥性角结膜炎。泪腺炎症的特点是存在免疫细胞浸润,腺泡上皮细胞(分泌细胞)丢失以及炎症细胞因子产生增多。到目前为止,还不清楚导致腺泡细胞丢失和泪腺分泌减少的机制

DOI:10.3760/cma.j.issn.1007-7480.2013.07.016

基金项目:国家自然科学基金(81273295);教育部留学回国人员基金(20101174);上海市卫生局基金(2011276)

作者单位:200065 上海,同济大学附属同济医院风湿免疫科

通信作者:汤建平,Email:tangjp6512@126.com

以及为什么剩下的泪腺细胞不能增殖以重建一个有功能的泪腺。

对于泪腺的组织修复机制还存在争议:一种是通过干/祖细胞的增殖进行修复,另一种是通过现有细胞的转分化进行修复^[11-13]。几个关于涎腺和胰腺的研究表明干/祖细胞存在于这些组织中并参与组织的修复^[13-18],但要区分上述 2 种假说仍存在技术困难^[19]。利用世系遗传标记追踪胰岛素启动子,结果表明在胰腺修复期间,新的 β -细胞可由现有的 β -细胞产生,与干/祖细胞参与的假说矛盾^[19]。相反,已从涎腺和胰腺中分离并扩增出干细胞^[15-18],其来源可能是肌上皮细胞,定居在导管周围区域^[20],且组织损伤后其数量急剧增加^[15]。目前认为很可能有多种机制参与组织的修复^[11,13-14]。

在 SS 患者的泪腺中,免疫细胞浸润并在导管周围区域形成病灶^[21],如果泪腺的这个区域确实定居有干细胞,就可以推测这些干细胞在免疫攻击中丢失,因此缺乏泪腺的修复。反之,如果可以在体外分离并扩增出泪腺干细胞,就能移植到病变的泪腺进行组织修复,这个方法可以与那些旨在抑制自身免疫性炎症环境的方法结合以恢复或增强泪腺的功能。

3 MSCs 治疗 pSS 的研究进展

目前 pSS 的治疗目的主要是缓解临床症状,阻止免疫病理的进展和保护脏器功能,尚无可以根治该病的方法。治疗包括 3 个层次:①涎和泪液的替代治疗以改善口干眼干燥症状;②增强 pSS 外分泌腺的残余功能,刺激涎和泪液分泌;③系统用药改变 pSS 的免疫病理过程,最终保护患者的外分泌腺体和脏器功能^[22]。

研究表明,在 SS 的 NOD/Lj 小鼠模型和人类患者中的 BMMSCs 均存在免疫功能的缺陷,而应用 BMMSCs 进行治疗后均能抑制自身免疫及恢复涎腺的分泌功能^[23],故 MSCs 治疗可能为 pSS 患者提供了一种崭新、有效、安全的治疗方式。

3.1 MSCs 促进涎分泌:人工涎替代治疗的效果很不理想,而对于出现系统损害的患者才给予糖皮质激素、免疫抑制剂等治疗,故主要依靠药物(如毛果芸香碱、环戊硫酮等)刺激涎分泌。但这必须建立在患者的腺体仍有足够的分泌涎的腺泡细胞的基础上,在大部分腺泡细胞都被破坏的情况下,则对药物刺激不敏感,甚至毫无作用,同时长期应用催涎剂只能缓解口干而且通常有不良反应。此时,间充质干细胞促进涎分泌的作用就显得尤为重要。

杨兆安等^[24]在研究 SS 大鼠模型的过程中发现:BMMSCs 移植治疗组静态涎总流率和每天饮水量与对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。经标记的 BMMSCs 移植后第 1 周主要分布于针道附近,第 2 周主要分布于腺泡之间的间质中,第 4 周开始在下颌下腺其他区域出现。术后第 1 周,免疫组织化学染色移植干细胞未见淀粉酶表达,第 8 周少量移植干细胞可见淀粉酶表达,具备了类似腺泡细胞的分泌功能;对照组则未见以上现象。结果表明,BMMSCs 移植入 SS 大鼠下颌下腺后能长时间存活,且有较强的迁徙、分化能力,可促进涎分泌,显著改善大鼠的口干症状。可见 BMMSCs 移植对 SS 的治疗是有效的,但其作用机制是干细胞向涎腺细胞分化,

还是干细胞修复下颌下腺浸润灶,或是两者皆有,仍有待进一步研究。

3.2 脐带间充质干细胞 (umbilical cord mesenchymal stem cells, UCMSCs) 移植治疗 SS: 和 BMMSCs 相比,UCMSCs 作为一个细胞来源有以下优点:①从脐带收集对捐献者来说简单、无非侵袭性;②脐带可以被预先贮存,而骨髓标本在注入前必须立即从捐献者处采集;③ UCMSCs 相对于从其他组织来源分离出来的 MSCs 更加原始;④ UCMSCs 有更大的增殖潜能,并对实验动物及人类的自身免疫性疾病均具有疗效。故 UCMSCs 很可能成为骨髓 MSCs 的理想替代物,并具有更大的应用潜能。

Xu 等^[25]发现注入异基因 UCMSCs 能使患者的 pSS 得到缓解,疗效可归因于其具有免疫调节活性,使 CD4⁺ T 细胞分化为调节性 T 细胞和 Th2 细胞,同时抑制 Th17 和滤泡辅助性细胞(Tfh 细胞)的炎症反应。他们应用 UCMSCs 治疗 24 例 pSS 患者的研究表明 UCMSCs 能够使患者在疾病活动和器官功能方面有相当大的改善。

免疫功能紊乱为 pSS 发病及病变延续的主要基础。涎腺组织的导管上皮细胞起了抗原递呈细胞的作用,早期细菌或病毒刺激激活抗原递呈细胞,从而使 T 细胞在导管周围浸润,进而 B 细胞活化,T、B 细胞的活化和局部浸润产生多种炎症介质和细胞因子,引起腺体破坏,出现口、眼干燥等临床表现。

pSS 的主要特点是存在免疫细胞浸润,腺泡上皮细胞(分泌细胞)丢失以及炎症细胞因子产生增多。研究表明免疫细胞浸润并在导管周围区域形成病灶,而 MSCs 很可能定居在导管周围区域并在免疫攻击中丢失,因此缺乏腺体功能的修复;MSCs 可在内皮(壁)祖细胞的血管发生、局部干细胞的旁分泌等协同作用下重建腺体的功能;在组织修复过程中,很可能有多种机制参与,包括干/祖细胞的增殖和现有细胞的转分化等。

目前 pSS 的研究进展受制于对疾病病理生理和临床演变的认识不足。合适的动物模型对于进一步了解该病是必要的,为此已构建了多种 SS 动物模型,包括自发性、转基因、基因敲除、免疫诱导及移植嵌合体模型等,使我们能观察到腺体打破免疫耐受及最终导致临床疾病的不同阶段,并且已在治疗领域取得了一些成功,发现 MSCs 能在大部分腺泡细胞都被破坏的情况下促进涎分泌,UCMSCs 相对于 BMMSCs 的优势使其逐渐成为研究的热点,在 pSS 的治疗中有巨大的应用潜能。这些研究结果尚有待于在临床上进一步论证,但 MSCs 作为一种有效的治疗 pSS 的新方法正日益受到关注。

参考文献

- [1] 吴东海,王国春. 临床风湿病学. 北京:人民卫生出版社, 2008: 317.
- [2] Burt RK, Loh Y, Pearce W, et al. Clinical applications of blood-derived and marrow-derived stem cells for nonmalignant diseases. JAMA, 2008, 299: 925-936.
- [3] Tran SD, Pillemer SR, Dutra A, et al. Differentiation of human bone marrow-derived cells into buccal epithelial cells *in vivo*: a

- molecular analytical study. *Lancet*, 2003, 361: 1084-1088.
- [4] Tran SD, Redman RS, Barrett AJ, et al. Microchimerism in salivary glands after blood- and marrow-derived stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2011, 17: 429-433.
- [5] Tran SD, Sumita Y, Khalili S. Bone marrow-derived cells: a potential approach for the treatment of xerostomia. *Int J Biochem Cell Biol*, 2011, 43: 5-9.
- [6] Lombaert IM, Brunsting JF, Wierenga PK, et al. Rescue of salivary gland function after stem cell transplantation in irradiated glands. *PLoS ONE*, 2008, 3: e2063.
- [7] Lombaert IM, Brunsting JF, Wierenga PK, et al. Cytokine treatment improves parenchymal and vascular damage of salivary glands after irradiation. *Clin Cancer Res*, 2008, 14: 7741-7750.
- [8] Khalili S, Liu Y, Sumita Y, et al. Bone marrow cells are a source of undifferentiated cells to prevent Sjögren syndrome and to preserve salivary glands function in the non-obese diabetic mice. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42: 1893-1899.
- [9] Kok MR, Yamano S, Lodde BM, et al. Local adeno-associated virus-mediated interleukin 10 gene transfer has disease modifying effects in a murine model of Sjögren syndrome. *Hum Gene Ther*, 2003, 14: 1605-1618.
- [10] Németh K, Leelahavanichkul A, Yuen PS, et al. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E₂-dependent re-programming of host macrophages to increase their interleukin10 production. *Nat Med*, 2009, 15: 42-49.
- [11] Dor Y, Melton DA. How important are adult stem cells for tissue maintenance? *Cell Cycle*, 2004, 3: 1104-1106.
- [12] Parenteau NL, Rosenberg L, Hardin-Young J. The engineering of tissues using progenitor cells. *Curr Top Dev Biol*, 2004, 64: 101-139.
- [13] Kume S. Stem-cell-based approaches for regenerative medicine. *Dev Growth Differ*, 2005, 47: 393-402.
- [14] Holland AM, Gonez LJ, Harrison LC. Progenitor cells in the adult pancreas. *Diabetes Metab Res Rev*, 2004, 20: 13-27.
- [15] Hisatomi Y, Okumura K, Nakamura K, et al. Flow cytometric isolation of endodermal progenitors from mouse salivary gland differentiate into hepatic and pancreatic lineages. *Hepatology*, 2004, 39: 667-675.
- [16] Okumura K, Nakamura K, Hisatomi Y, et al. Salivary gland progenitor cells induced by duct ligation differentiate into hepatic and pancreatic lineages. *Hepatology*, 2003, 38: 104-113.
- [17] Kishi T, Takao T, Fujita K, et al. Clonal proliferation of multipotent stem/progenitor cells in the neonatal and adult salivary glands. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 340: 544-552.
- [18] Zhang YQ, Kritzik M, Sarvetnick N. Identification and expansion of pancreatic stem/progenitor cells. *J Cell Mol Med*, 2005, 9: 331-344.
- [19] Dor Y, Brown J, Martinez OI, et al. Adult pancreatic beta-cells are formed by selfduplication rather than stem-cell differentiation. *Nature*, 2004, 429: 41-46.
- [20] Zoukhri D, Fix A, Alroy J, et al. Mechanisms of murine lacrimal gland repair after experimentally induced inflammation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49: 4399-4406.
- [21] Fox RI. Sjögren syndrome. *Lancet*, 2005, 366: 321-331.
- [22] 中华医学会风湿病学分会. 干燥综合征诊断及治疗指南. *中华风湿病学杂志*, 2012, 16: 30-32.
- [23] Xu J, Wang D, Liu D, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell treatment alleviates experimental and clinical Sjögren syndrome. *Blood*, 2012, 120: 3142-3151.
- [24] 杨兆安, 夏碧清, 吕汉孝, 等. 骨髓间充质干细胞移植对舍格伦综合征大鼠模型的治疗作用. *上海口腔医学*, 2011, 20: 152-158.

(收稿日期:2012-11-10)

(本文编辑:张军锋)