

间充质干细胞来源的细胞外囊泡：免疫相关疾病的理想细胞替代疗法

马聪^{1, 2}, 张青宜^{2*}, 郭子宽³, 王恒湘²

(1. 大连医科大学, 大连 116044; 2. 空军总医院 血液科, 北京 100142; 3. 军事医学科学院 辐射与放射医学研究所, 北京 100850)

摘要: 间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)作为一种具有多向分化潜能的非造血干细胞, 已被应用于多种组织损伤与免疫相关疾病的治疗。MSC 获得如此广泛应用的原因与其强大的促进受损组织再生和免疫调控功能密不可分。近年来, MSC 的免疫调控功能已在多种免疫相关疾病的治疗中得到广泛验证。研究表明, MSC 免疫调节作用的发挥主要通过旁分泌, 其中, MSC 分泌的细胞外囊泡(extracellular vesicle, EV)发挥着重要作用。EV 可以复制 MSC 的多种免疫调节功能, 但是, MSC-EV 在 MSC 的免疫调节中具体发挥哪些作用, MSC-EV 能否替代 MSC 用于免疫相关疾病的治疗? 文章结合以上问题, 对近年来 MSC 与 MSC-EV 的免疫调控功能进行综述。

关键词: 间充质干细胞; 细胞外囊泡; 免疫调控

中图分类号: R392.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2019)02-0159-05

间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)是一种来源于胚胎发育早期的中胚层、具有多向分化潜能的多能干细胞, 属于干细胞家族, 是临床应用最广泛的干细胞类型。它最先由 Friedenstein 等^[1]于 40 多年前从骨髓中分离得到, 目前, MSC 作为一种细胞治疗手段已广泛地被应用于多种疾病的治疗, 其中多项涉及自体及异体 MSC 的临床试验已获美国 FDA 批准。MSC 获得如此广泛的关注与其强大的组织修复和免疫调控功能密不可分, 并且与造血干细胞不同, MSC 在体内分布广泛且增殖能力旺盛, 利于被分离及体外扩增, 是一种实用的多能干细胞。近年来, 使用 MSC 治疗免疫系统疾病越来越引起人们的关注, 它现已广泛应用于治疗多种免疫相关疾病如 GVHD^[2-3]、1 型糖尿病^[4]、SLE^[5]、RA^[6] 和 CD^[7] 等。MSC 在体内的分布相当广泛, 自其首次从骨髓中被分离出来后, 已成功从多种其他组织中分离出来, 包括骨髓、肌肉结缔组织、软骨、脂肪组织、脐血、脐带、骨髓及羊

水等。不同来源的 MSC 具有相似的细胞表型, 但功能存在差异。由于组织来源的多样性与培养条件的差异, MSC 并不具有特异性表面标志物。根据国际细胞治疗协会的标准, 体外培养的 MSC 具有成纤维细胞样贴壁生长的特点, 表达 CD73、CD105 和黏附分子 CD90, 不表达造血细胞标志物 CD45、CD34、CD14/CD11b、CD19/CD79a 和 HLA-DR, 且具有分化为骨、软骨和脂肪细胞的能力。MSC 表面低表达 HLA II 类分子和共刺激分子 CD40、CD40L、CD80、CD86, 可以逃避 T 淋巴细胞的识别, 因而在同种异体移植中具有低免疫原性, 不会引起受者的免疫应答反应, 这是 MSC 用于细胞治疗的基础。MSC 参与多种免疫细胞功能的调控。最初, MSC 被认为是通过多向分化潜能和直接的细胞间相互作用来发挥功能的^[8]。后续研究表明 MSC 通过旁分泌而不是细胞接触的方式发挥它们的治疗功能。MSC 可以分泌生长因子、细胞因子和激素等多种生物活性分子, 并释放含有肽/蛋白质、mRNA 和 miRNA 的细胞外囊泡(extracellular vesicle, EV)。过去几年的大量研究证明 MSC-EV 可以发挥 MSC 的多种功能, 包括促进血管再生, 减轻啮齿类动物的心、肺、脑、肝、肾缺血损伤; 促进组织修复, 并在组织修复期间减轻炎症反应和增加细胞增殖; 减轻肝、肺的纤维化以及对多种免疫细胞进行调控^[5, 9-10]。近年来 MSC-EV 参与 MSC 免疫

收稿日期: 2017-11-05

基金项目: 首都卫生发展科研专项资助项目(2014-2-5122); 首都临床特色应用研究与成果推广项目(Z15110000415016)

作者简介: 马聪(1998—), 男, 硕士生, 主要从事间充质干细胞细胞外囊泡特性及功能的研究; 张青宜(1972—), 男, 博士, 副主任医师, 主要从事异基因造血干细胞移植

通信作者: 王恒湘(E-mail: wanghengxiang123@aliyun.com)

调控作用的机制和其在免疫调控中的作用引起了人们的广泛关注。本文整理分析了近几年有关 MSC 和 MSC-EV 的免疫调控功能,探讨其作为一种细胞替代疗法治疗免疫相关疾病的应用前景。

1 MSC 的免疫调控作用

过去十几年中, MSC 被证实具有极其广泛的免疫调节能力,对适应性和固有免疫都有调节作用。大量体内外实验表明, MSC 可以对多种免疫细胞包括 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、APC 等发挥调节作用。其中 MSC 对 T 淋巴细胞的调控作用被研究得最为广泛。MSC 可以调控多种炎症因子的分泌以调节免疫应答。MSC 可以减少 IFN- γ 、TNF- α 、IL-1、IL-6、IL-17A 和 IL-12 等促炎因子的分泌,增加 IL-10 等抑炎因子的分泌,促进 Th1 向 Th2 转化,改变 Th1/Th2 比例。MSC 分泌的 TGF- β 、肝细胞生长因子以及前列腺素 E₂ (prostaglandin E₂, PGE₂) 等可以介导 DC 对抑炎因子 IL-10 的表达上调,减少 TNF- α 和 IL-12 的分泌,进一步增加 Th1 向 Th2 的转化,这个过程中伴随着初始 T 淋巴细胞向 Treg 的转化,同时, MSC 可以上调 Treg CTLA-4 的表达,提高 Treg 对 T 淋巴细胞活化的抑制功能^[11-12]。Akiyama 等^[13]证实 MSC 能通过 Fas-FasL 介导促炎 T 淋巴细胞凋亡,然后以分泌的单核细胞趋化因子 1 (monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1) 为正反馈调节的一部分重新招募 T 淋巴细胞,凋亡 T 淋巴细胞的碎片会刺激吞噬细胞分泌 TGF- β ,使初始 T 淋巴细胞分化为 Treg。一系列以人 MSC 为研究对象的实验证实,在细胞表面 TLR 被聚肌胞苷酸 (polyinosinic-polycytidylic acid, polyI:C) 短暂刺激后 MSC 会表达高水平的吲哚胺-2,3-双加氧酶 (indoleamine-2,3-dioxygenase, IDO) 和 PGE₂,免疫细胞释放的 IFN- γ 会刺激 MSC 上调 IDO 的表达,后者促进 IFN- γ 依赖的色氨酸降解为犬尿酸,色氨酸水平的降低会导致 T 淋巴细胞停留于 G1 期,以提高处于 G0/G1 期细胞的比例。犬尿酸会抑制活化的 T 淋巴细胞增殖,诱导其凋亡,同时提高 Treg 比例^[8, 14]。而小鼠 MSC 缺乏 IDO,其主要通过一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 的表达参与免疫调控。炎症因子刺激后的小鼠 MSC 会通过提高 iNOS 的表达水平以产生 NO,从而对巨噬细胞和 T 淋巴细胞等产生

影响^[15]。此外,半乳凝素 1 和导向蛋白 3A 也是参与 T 淋巴细胞增殖调控的来源于 MSC 的分子。MSC 对 B 淋巴细胞的调控作用仍有争议,其具体机制尚不清楚,但目前普遍认为 MSC 同样可以使 B 淋巴细胞停留于 G0/G1 期。根据现有文献报道 MSC 并不通过介导细胞凋亡来调控 B 淋巴细胞的增殖、分化和 Ig 分泌。MSC 对 B 淋巴细胞的作用是间接的,即由其他类型的细胞介导,十分依赖于炎症微环境^[16-17]。MSC 可以使经典活化型巨噬细胞转化为部分活化型巨噬细胞,经 LPS 等处理后,巨噬细胞的 TLR2-NF- κ B 信号通路被激活,高水平分泌 IFN- γ 、IL-1 β 、IL-6 和 NO 等炎症因子。TNF- β 可以刺激 MSC 胞外蛋白 TNF-刺激基因 (TNF-stimulated gene, TSG) 蛋白的表达并通过 CD44 受体参与 NF- κ B 信号通路的负反馈调节以减少上述细胞因子的释放,降低共刺激分子 CD86/B7 和趋化因子 CCR7 的表达,同时上调抑炎因子 IL-10 和甘露糖受体 CD206 的表达,从而促进经典活化 M1 型巨噬细胞向部分活化 M2 型巨噬细胞转化^[18-19]。此外, PGE₂ 和 IDO 也参与对巨噬细胞的调控。MSC 可刺激 NK 细胞分泌 IFN- γ ,而 IFN- γ 会介导 IDO 的表达上调。MSC 会提高 NK 细胞激活受体 NKG2D 的表达量,减少 CD16 的表达,减少 NK 细胞颗粒酶的含量,从而抑制 NK 细胞的增殖和细胞毒作用。PGE₂ 的分泌伴随 TNF- α 、IL-1 等的下调,可以抑制 DC 和单核细胞成熟,下调成熟 DC 表面 MHC II 类分子、CD11c、CD83 和共刺激分子的表达,因而可以削弱 DC 的抗原提呈能力和促炎能力^[20]。

2 MSC-EV 的免疫调控作用

2.1 MSC-EV 的来源和结构 EV 由脂质双分子层包被的跨膜蛋白、胞质蛋白和 RNA 组成,根据 EV 亚细胞起源的不同可分为不同的类型:膜微囊 (microvesicle, MV) 和外泌体。MV 直接以细胞膜出芽的方式产生,直径约 100 nm~1 μ m,内含细胞质成分。外泌体,即由多囊泡体 (multivesicular body, MVB) 上的内吞体膜内陷产生,并通过与细胞膜融合的方式释放出细胞,直径一般小于 150 nm,因而其脂质双分子层与细胞膜成分相同且都富含细胞内成分。这造成了外泌体和 MV 生物物理学特性的重叠和可以区分二者的标志物的缺乏,现有的技术大都无法分离 EV 的不同亚群。

根据 Thery 等^[21]的描述, 目前文献所指的 EV 一般都为没有明确指出细胞来源的 EV 混合类群, 以 EV 的粒子大小将其分为没有明确指出粒子直径的广义 EV 和粒子直径小于 200 nm 的小 EV (small EV, sEV)。当前人们的研究多集中在粒子直径小于 200 nm 的 sEV, 因此文章中所提到的 EV 均为 sEV。

2.2 MSC-EV 的免疫调控作用 MSC 来源的 EV 表面含有 4 次跨膜蛋白如 CD9、CD63 和 CD81 等, 还含有 Alix(一种钙结合蛋白, 在核内体交通和细胞死亡中发挥作用)、肿瘤抑制蛋白 TSG101 和膜联蛋白 V 等^[22-23]。在过去的几年中, MSC 来源的 EV 已经成为治疗免疫相关疾病的潜在治疗手段, MSC 会通过 MSC-EV 承载其部分疗效, 即 MSC 通过其分泌的 EV 发挥部分生物学功能, 至少 MSC 部分疗效被认为通过其免疫调节能力实现。研究表明, MSC-EV 对多种免疫细胞同样具有调控作用。MSC-EV 可对免疫细胞多种炎症因子的表达产生影响, 包括下调促炎因子 IL-1 β 、IL-2、IL-6、IFN- γ 、TNF- α 和 IL-17A 的表达, 上调 IL-10 和 TGF- β 的表达, 但是各研究结果并不一致。既往研究发现, MSC-EV 可以抑制 T 淋巴细胞增殖, 并不会导致 T 淋巴细胞的凋亡和促炎因子 IL-6、IL-2、TNF- α 和 IFN- γ 的下调, 去除 EV 后的培养上清却会导致 IFN- γ 、TGF- β 、IL-17A 和 IL-6 的水平上升。这与既往的研究结论 MSC-EV 可以诱导活化 T 淋巴细胞凋亡, 并且减少促炎因子的分泌不一致, 而造成这种差异的机制尚不清楚, 可能与 EV 的提取方法有关^[23]。根据以往报道 MSC-EV 可以通过介导 T 淋巴细胞凋亡来抑制其增殖, 提高 Treg 比例及 CTLA-4 在 Treg 的表达, 从而提高 Treg 抑制 T 淋巴细胞活化的能力。MSC-EV 不表达 IDO 这一重要的免疫调控分子^[24]。MSC-EV 可诱导 Th1 转换成 Th2 而且可以减少 T 淋巴细胞向分泌 IL-17 的效应 T 淋巴细胞分化。在 MSC 与 PBMC 共培养体系中, MSC-EV 可以重现对 B 淋巴细胞增殖和分化的抑制作用及对 B 淋巴细胞分泌 Ig 的抑制作用, 且该作用均为剂量依赖型^[25]。MSC-EV 通过激活单核细胞的 MyD88 依赖信号通路介导其分化为 M2 样细胞, 这些活化的单核细胞反过来极化激活的 CD4⁺ T 淋巴细胞转化为 Treg。MSC-EV 可以降低 M1 型巨噬细胞相关分子 CCR7 的表达, 但不会降低 CD86 的表达量。

MSC-EV 可以提高 M2 型巨噬细胞相关标志物 CD206 的表达。MSC-EV M1 型巨噬细胞降低促炎因子 IL-1 β 和 IL-6 的 mRNA 表达, 同时提高抑炎因子 IL-10 的表达。MSC-EV 可增加 M2 型巨噬细胞标志物精氨酸酶的活性, 减少内源性 NO 的产生。总之, 经 MSC-EV 处理后, M1 型巨噬细胞可以表现出未经刺激的巨噬细胞表型^[19]。此外, MSC-EV 还可以诱导活化的 CTL 凋亡及单核细胞向 DC 分化。MSC-EV 表达半乳凝素 1, 一种促进活化的 T 淋巴细胞凋亡的内源性毒素, 和 PD-L1, 这两者被认为是调控 CD4⁺CD25⁺ T 淋巴细胞的关键效应分子, 二者都可以促进 Treg 增殖, 提高其功能。此外, MSC-EV 还含有重要的抑炎因子 TGF- β 1^[26]。近年来, 作为一种新型无细胞治疗手段, 自 MSC-EV 的治疗潜力在急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 模型和心肌缺血模型中被证实以后, MSC-EV 已被越来越多地应用于多种疾病的动物模型之中。除了可以降低促炎因子水平增加抑炎因子水平, 同时减少巨噬细胞等其他免疫细胞对损伤组织的浸润, MSC-EV 在不同的损伤模型中还表现出其他一些特性, 如在 AKI 中 MSC-EV 可以减轻其所介导的氧化应激、细胞凋亡和纤维化, 促进内源性肾细胞的血管生成; 在心肌梗死模型中, MSC-EV 可以减少缺血面积, 提高心功能, 减少纤维化和细胞凋亡; 在肝衰竭模型中, MSC-EV 可以抑制肝细胞凋亡, 改善肝功能; 在脑缺血模型中, MSC-EV 可以提高认知缺陷或认知障碍, 增加神经元再生, 减轻神经炎症反应。在临床应用方面, MSC-EV 用于治疗 GVHD 和慢性肾病的试验也取得了良好的效果^[10, 27-28]。

3 结语

作为一种细胞治疗手段, MSC 的临床应用效果已得到了认同。早在 2012 年, MSC 作为首个用于治疗儿童和成人急性 GVHD 的药物已在美国上市。韩国也在近几年批准了 MSC 作为治疗心肌梗死、CD 及关节退行性病变的细胞治疗药物的上市。虽然易于分离和体外扩增, 但经处理后 MSC 的生物学特性会发生改变, 而且原因目前并不十分清楚, 这极大地限制了 MSC 在临床上的应用。

在过去的几年中, 大量研究已证实了 MSC-EV 的免疫调控功能。MSC-EV 可以重现 MSC 的多种免疫调控作用, 虽然不能完全重现 MSC 的免

疫调控作用,但是与 MSC 相比, MSC-EV 同样具有很多优势。在大小结构不发生改变的情况下, MSC-EV 在 -20°C 可以保存 6 个月, -80°C 下可以保存 1 年以上,反复冻融及超速离心并不会改变其大小^[29]。MSC-EV 的这些特性使其作为 MSC 的替代疗法在无细胞治疗方面依然拥有着巨大的发展潜力, MSC-EV 治疗免疫相关疾病模型如 GVHD 等已取得了令人满意的效果。MSC 作为分泌 EV 能力最强的细胞类型,已经成为一种应用广泛的细胞治疗手段,尤其是对于免疫相关疾病的治疗。随着对 MSC-EV 研究的不断深入和 EV 提取技术的不断进步,人们对 MSC-EV 在 MSC 免疫调节功能中扮演的角色也将获得更加清晰的认识。

参考文献

- [1] Friedenstien AJ, Petrakova KV, Kurolesova AI, *et al.* Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues[J]. Transplantation, 1968, 6(2): 230-247.
- [2] Lim JY, Ryu DB, Lee SE, *et al.* Mesenchymal stem cells (MSCs) attenuate cutaneous sclerodermitous Graft-Versus-Host Disease (Scl-GVHD) through inhibition of immune cell infiltration in a mouse model[J]. J Invest Dermatol, 2017, 137(9): 1895-1904.
- [3] Dotoli GM, De Santis GC, Orellana MD, *et al.* Mesenchymal stromal cell infusion to treat steroid-refractory acute GvHD III/IV after hematopoietic stem cell transplantation[J]. Bone Marrow Transplant, 2017, 52(6): 859-862.
- [4] Fiorina P, Jurewicz M, Augello A, *et al.* Immunomodulatory function of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in experimental autoimmune type 1 diabetes[J]. J Immunol, 2009, 183(2): 993-1004.
- [5] Sharma J, Hampton JM, Valiente GR, *et al.* Therapeutic development of mesenchymal stem cells or their extracellular vesicles to inhibit autoimmune-mediated inflammatory processes in systemic lupus erythematosus[J]. Front Immunol, 2017, 8: 526.
- [6] Tanaka Y. Human mesenchymal stem cells as a tool for joint repair in rheumatoid arthritis[J]. Clin Exp Rheumatol, 2015, 33(4 Suppl 92): S58-S62.
- [7] Zhang XM, Zhang YJ, Wang W, *et al.* Mesenchymal stem cells to treat Crohn's disease with fistula[J]. Hum Gene Ther, 2017, 28(7): 534-540.
- [8] Spees JL, Lee RH, Gregory CA. Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function[J]. Stem Cell Res Ther, 2016, 7(1): 125.
- [9] Wang D, Niu L, Feng X, *et al.* Long-term safety of umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation for systemic lupus erythematosus: A 6-year follow-up study[J]. Clin Exp Med, 2017, 17(3): 333-340.
- [10] Giebel B, Kordelas L, Börgen V. Clinical potential of mesenchymal stem/stromal cell-derived extracellular vesicles[J]. Stem Cell Investig, 2017, 4: 84.
- [11] Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses[J]. Blood, 2005, 105(4): 1815-1822.
- [12] Sivanathan KN, Rojas-Canales DM, Hope CM, *et al.* Interleukin-17A-induced human mesenchymal stem cells are superior modulators of immunological function[J]. Stem Cell, 2015, 33(9): 2850-2863.
- [13] Akiyama K, Chen C, Wang D, *et al.* Mesenchymal-stem-cell-induced immunoregulation involves FAS-ligand-/FAS-mediated T cell apoptosis[J]. Cell Stem Cell, 2012, 10(5): 544-555.
- [14] Ben-Ami E, Berrih-Aknin S, Miller A. Mesenchymal stem cells as an immunomodulatory therapeutic strategy for autoimmune diseases[J]. Autoimmun Rev, 2011, 10(7): 410-415.
- [15] Wang SS, Jia J, Wang Z. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles suppresses iNOS expression and ameliorates neural impairment in Alzheimer's disease mice[J]. J Alzheimers Dis, 2018, 61(3): 1005-1013.
- [16] Cho KA, Lee JK, Kim YH, *et al.* Mesenchymal stem cells ameliorate B-cell-mediated immune responses and increase IL-10-expressing regulatory B cells in an EB13-dependent manner[J]. Cell Mol Immunol, 2017.
- [17] Wang W, Li H, Xu F, *et al.* IFN- γ up-regulates PD-L1 expression in human placenta mesenchymal stem cells and enhances cell ability to induce the differentiation of IL-10⁺ T cells from cord blood- and peripheral blood-derived T cells[J]. Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi, 2016, 32(2): 191-195.
- [18] Lo Sicco C, Reverberi D, Balbi C, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles as mediators of anti-inflammatory effects: Endorsement of macrophage polarization[J]. Stem Cell Transl Med, 2017, 6(3): 1018-1028.
- [19] Henao Agudelo JS, Braga TT, Amano MT, *et al.* Mesenchymal stromal cell-derived microvesicles regulate an internal pro-inflammatory program in activated macrophages[J]. Front Immunol, 2017, 8: 881.
- [20] Jiang XX, Zhang Y, Liu B, *et al.* Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells[J]. Blood, 2005, 105(10): 4120-4126.
- [21] Tkach M, Théry C. Communication by extracellular vesicles: Where we are and where we need to go[J]. Cell, 2016, 164(6): 1226-1232.
- [22] Sun Y, Kong W, Huang S, *et al.* Comparable therapeutic potential of umbilical cord mesenchymal stem cells in collagen-induced arthritis to TNF inhibitor or anti-CD20 treatment[J]. Clin Exp Rheumatol, 2017, 35(2): 288-295.
- [23] Monguió-Tortajada M, Roura S, Gálvez-Montón C, *et al.* Nano-

- sized UCMSC-derived extracellular vesicles but not conditioned medium exclusively inhibit the inflammatory response of stimulated T cells; Implications for nanomedicine[J]. *Theranostics*, 2017, 7(2): 270-284.
- [24] Chen W, Huang Y, Han J, *et al.* Immunomodulatory effects of mesenchymal stromal cells-derived exosome[J]. *Immunol Res*, 2016, 64(4): 831-840.
- [25] Zhang B, Yin Y, Lai RC, *et al.* Mesenchymal stem cells secrete immunologically active exosomes[J]. *Stem Cell Dev*, 2014, 23(11): 1233-1244.
- [26] Ghosh D, McGrail DJ, Dawson MR. TGF- β 1 pretreatment improves the function of mesenchymal stem cells in the wound bed [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2017, 5: 28.
- [27] De Luca L, Trino S, Laurenzana I, *et al.* Mesenchymal stem cell derived extracellular vesicles: A role in hematopoietic transplantation [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(5).
- [28] Börger V, Bremer M, Ferrer-Tur R, *et al.* Mesenchymal stem/stromal cell-derived extracellular vesicles and their potential as novel immunomodulatory therapeutic agents[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(7).
- [29] Sokolova V, Ludwig AK, Hornung S, *et al.* Characterisation of exosomes derived from human cells by nanoparticle tracking analysis and scanning electron microscopy[J]. *Colloid Surf B Biointerface*, 2011, 87(1): 146-150.

(上接第 119 页)

The protective effect and mechanism of IL-17 monoclonal antibody on Henoch-Schonlein purpura mice

GUI Lin¹, WU Xiao-lin¹, ZHU Song-bai¹, ZHENG Rong-hao¹, SHU Lan¹, ZHU Hong-fei^{2, 3}, WANG Zhi-tao⁴, WANG Yong⁵ (1. *Department of Pediatric kidney disease, Maternal and Child Health Hospital of Hubei Province, Wuhan 430000, China*; 2. *Department of Anesthesiology, Hubei Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430000, China*; 3. *Hubei Institute of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430000, China*; 4. *Department of Paediatrics, Wuchang Hospital of Wuhan, Wuhan 430000, China*; 5. *Animal Laboratory Center of Wuhan University, Wuhan 430000, China*)

Abstract: To investigate the protective effect and mechanism of IL-17 monoclonal antibody on Henoch-Schonlein purpura (HSP) mice, 50 C57BL/6 mice were randomly divided into normal control group, HSP model group, isotype control group, IL-17 mAb group and cimetidine positive control group, with 10 mice in each group. 4 HSP groups of mice were subjected to a 14-week HSP model construction. We detected the serum circulating immune complex (CIC) to verify whether the model was made successfully. Once we had HSP mice, they were subjected to 3 weeks of drug intervention. After the intervention, 24-hour urine volume of each group was collected and the urinary protein content was measured. The function of mononuclear phagocytic system (MPS) was evaluated by the method of carbon particles clearance. The levels of secretory IgE (S-IgE), IL-17, Th1-associated cytokine IFN- γ and Th2-related cytokine IL-4 in serum were detected by ELISA. Western blotting was carried out to detect the expression of IL-17 protein in the skin and kidney for each group; HE staining was used to evaluate the pathological changes in the skin and kidney. Our results showed that compared with the HSP group, IL-17 mAb significantly reduced the urine protein content in HSP mice ($P < 0.01$), enhanced MPS function (phagocytic index K and phagocytic coefficient α) (all $P < 0.01$), reduced serum S-IgE, IL-17, IL-4 levels (all $P < 0.01$), increased serum IFN- γ level and IFN- γ /IL-4 ratio (all $P < 0.01$). In addition, IL-17 mAb significantly improved the pathological changes of skin and kidney in HSP mice and reduced the expression of IL-17 protein ($P < 0.01$). Taken together, IL-17 mAb has a significant protective effect on HSP mice, and its mechanism may be related to the reduction of IL-17 protein expression who mediated Th1/Th2 balance regulation.

Key words: IL-17 monoclonal antibody; Henoch-Schonlein purpura; circulating immune complex; mononuclear phagocytic system; Th1/Th2 balance