

• 综述 •

间充质干细胞移植治疗系统性红斑狼疮的研究进展

魏姗姗， 赖宽， 曾抗

(南方医科大学南方医院皮肤科, 广东 广州 510515)

[摘要] 间充质干细胞是来源于发育早期中胚层的成体干细胞, 具有高度增殖、自我更新能力、多向分化潜能、损伤组织修复功能和免疫抑制能力。该文综述间充质干细胞, 主要是脐带间充质干细胞和骨髓间充质干细胞用于治疗系统性红斑狼疮的研究进展, 并提示间充质干细胞移植在未来的细胞治疗中是非常有前景的一种方法。

[关键词] 系统性红斑狼疮; 间充质干细胞; 狼疮肾炎; 治疗

[中图分类号] R593.24⁺1 **[文献标识码]** A **DOI:**10.3969/j.issn.1674-8468.2017.01.017

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种自身免疫系统疾病, 以产生病理性的自身抗体为特征, 损害多种器官的功能, 如肾、心血管、神经系统、骨骼肌和皮肤等。系统性红斑狼疮传统疗法能控制大多数SLE患者的病情, 改善预后, 但是部分患者疗效欠佳或不能耐受^[1]。而且传统的治疗手段存在感染、卵巢功能衰竭、恶性肿瘤、骨质疏松等副作用, 可能对SLE患者的生存时间、生活质量造成较大的影响。针对多种细胞因子的生物靶向治疗是近年来新兴的一种治疗方法, 也具有一定的临床应用价值。干细胞具有高度自我更新能力和多向分化潜能, 并且有强大的组织修复和免疫调节能力。最早应用于临床的是造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs), 是一种具有多分化潜能的成体干细胞, 其临床应用已有不少成功的报告^[2]。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是除了造血干细胞以外的另一类具有高度自我更新和多向分化潜能的干细胞, 可以从各种组织中得到, 比如骨髓、胎盘、脂肪组织等。近年来, 间充质干细胞移植(mesenchymal stem cell transplantations, MSCT)作为新的治疗手段被应用于难治性和重症SLE的治疗, 相关研究飞速发展, 但是仍存在挑战。本文就间充质干细胞在SLE治疗中的研究进展作一综述。

1 MSCs 治疗 SLE 的机制

1.1 SLE 患者 MSCs 受损

骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal

stem cells, BMSCs)是造血微环境的重要组成部分, 对造血和免疫调节有重要的作用。然而, 有研究证明SLE患者的BMSCs增殖、分化、衰老、分泌细胞因子、免疫调节等的功能受损, 主要有以下:①相对于正常患者, SLE患者的BMSCs在体外培养时生长慢、正常传代次数减少^[3]。②SLE患者BMSCs中细胞骨架和超微结构存在受损, 细胞内存在大量的自噬体, F-actin蛋白聚集在细胞质的边缘, 纽带蛋白在细胞质中无序密集存在, 最终导致细胞增殖受损^[4]。③与正常人BMSCs相比, SLE患者BMSCs与细胞衰老相关的因子或通路发生改变: Bcl-2下降, 细胞色素C、Fas、TNF- α 上升; 活性氧自由基的水平明显升高, 通过以上调控而加重或造成细胞衰老^[5]。④SLE患者MSCs免疫功能失衡: IL-6、IL-7水平下降, TNF- α 升高, B细胞增殖、分化、分泌抗体功能受损^[3, 6]。

1.2 MSCs 的免疫调节作用

间充质干细胞的免疫调节作用是多方面、复杂、原因不明的。荧光染料标记的异基因MSCs在移植后24 h出现在MRL/lpr狼疮鼠的肾脏、肺脏、肝脏、脾脏等组织, 11周仍可在肾脏中检测到^[7]。MSCs可以通过细胞间接触和分泌一些特殊的细胞因子, 比如TGF- β 1、前列腺素E2, 抑制CD4 $^+$ 、CD8 $^+$ 、记忆和幼稚T细胞的增殖^[8]。在SLE患者自身免疫性炎症环境中, MSCs可以纠正受损的Th1/Th2、Treg/Th17细胞亚群和比例的失衡^[9]。MSCs使B细胞静止在细胞周期G0/G1期, 从而抑制B细胞分化和趋化功能以及IgM、IgA和IgG抗体的分泌^[10]。也有研究表明MSCs是通过T细胞对B细胞起作用的^[11]。此外, MSCs还可以干涉树突状细胞的分化、成熟和功能^[12]。MSCs不仅可以对细胞产生作用, 还可以调节细胞因子的产生。例

通信作者: 曾抗, E-mail: npfkzk@163.com

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81301371); 广东省自然科学基金(编号: 2014A030313350)

如研究提示 UC-MSCT 可以下调 Th1 细胞因子 (IFN- γ 、IL-2) 和促炎因子 (TNF- α 、IL-6、IL-12), 增加 Th2 细胞因子 (IL-4、IL-10)^[13]。总之, MSCs 可能通过影响 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、自然杀伤细胞、抗原提呈细胞及细胞因子而起到免疫调节的作用。

2 MSCT 治疗 SLE 的实验室和临床研究

2.1 MSCT 在 SLE 动物模型中的研究

异基因正常小鼠 BM-MSCs 与环磷酰胺静脉注射治疗 MRL/lpr 狼疮鼠相比都可以逆转多器官功能障碍, 但是 BM-MSCs 更有效^[14]; 另一篇报道称人 BM-MSCs 和环磷酰胺一起治疗 MRL/lpr 鼠与单用环磷酰胺相比可以显著改变尿蛋白和肾脏病理损害^[15]。除此之外, 脐血间充质干细胞 (umbilical cord-MSCs, UC-MSCs) 治疗也可以缓解 MRL/lpr 鼠狼疮肾炎, 并且呈现剂量依赖性, 单次和多次 UC-MSCs 治疗都可以降低 24 h 尿蛋白、血肌酐和 anti-ds-DNA^[7]。Chang 等^[13] 用人脐带血来源的间充质干细胞 (human umbilical cord blood-MSCs, HUCB-MSCs) 治疗 NZB/W F1 狼疮鼠, 降低 anti-dsDNA, 减轻肾脏损害并延长寿命。近年来, 脂肪间充质干细胞在狼疮动物模型中的研究越来越多, 对于 SLE 所造成的免疫系统损害有一定的调节作用, 可以减轻肾脏的损害, 降低 anti-dsDNA、IL-17 的浓度^[16]。总之, 不同来源的 MSCs 在不同的狼疮鼠模型研究中均显示可以改善疾病的临床表现, 控制组织病变的发展。

2.2 MSCT 在 SLE 患者治疗中的研究

2.2.1 MSCT 治疗 SLE 的疗效

在动物实验的基础上, Sun 等在 2007 年率先应用异基因 BM-MSCT 治疗了 4 例难治性或严重 SLE 患者, 获得良好临床疗效。随访 18 个月, 4 例患者病情稳定未出现反复, 血清学指标、肾脏病理都有好转^[14]。2010 年 Liang J 等^[17] 报道应用 BM-MSCT 治疗 15 例难治性 SLE, 病情均得到控制, 随访 12 个月, SLEDAI 评分、蛋白尿和血清抗体均下降。一个多中心的 UC-MSCT 临床研究在 12 个月的临床随访中发现: 32.5% 的 SLE 患者达到显著的临床缓解, 27.5% 达到部分临床缓解, 16.7% 在 6 月内复发, 需要再次 MSCT 治疗^[18]。一个随访 4 年 (平均 27 月) 的 BM-MSCT/UC-MSCT 治疗 87 例 SLE 临床研究显示: MSCT 安全性高, 生存率达 94%, 50% 的患者达到临床缓解, 23% 的患者出现复发, 但没有发生严重的移植相关不良反应^[19]。Carrion F 等^[20] 报道了 2 例自体 BM-MSCs 治疗 SLE, 随访 14 周后发现: 并没有显著改善疾病的活动度, 但是可以增加 CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ T regulatory (Treg) 细胞的比例。

MSCT 在 SLE 合并症的应用也有显著的临床疗效。Gu F 等^[21] 利用 BM-MSCs/UC-MSCs 治疗难治性狼疮肾炎, 随访 12 月发现肾脏病变缓解率达到 60.5%, 虽然

22.4% 的患者出现了反复, 但与治疗基线相比, 肾小球滤过率显著升高。Li X 等^[22] 报道了应用 BM-MSCs/UC-MSCs 治疗 35 例出现顽固性血细胞减少的 SLE 患者 (20 例白细胞减少, 24 例红细胞减少或血小板减少), 治疗后血细胞都得到了明显的提高。Shi DY 等^[23] 利用 UC-MSCs 治疗出现弥漫性肺泡出血的 SLE 患者 4 例, 症状均得到了缓解, 1 月后血氧饱和度恢复正常, 血小板和血红蛋白也较移植前明显升高, 其中仅 1 例患者治疗后 3 个月因感冒出现了病情的反复。

2.2.2 MSCs 用法、用量及治疗前用药

MSCs 输注剂量一般是单次 1×10^6 cells/kg 静脉输注^[14, 19-23], 也有部分研究选用双次 (第 0 天, 第 7 天) 1×10^6 cells/kg 静脉输注^[18, 24]。Wang D 等^[25] 研究显示, 单次和双次输注相比, 在超过 1 年的随访时间内, SLE 的缓解率、复发率、疾病活动度、血清学改善并没有出现显著的差异。

在 MSCT 治疗前给药方面, 有不少研究在患者自身状况允许的情况下, 在治疗前 4, 3, 2 天分别给予 CTX 治疗, 10 mg/Kg · d 或治疗前共给予 CTX 0.4-1.8 g 等^[14, 18, 19, 22, 25]。在 Li X 等^[22] 的研究中, 15 例患者治疗前 2-4 天静脉给予 CTX 0.4-1.8 g, 20 例没有应用环磷酰胺治疗, 结果显示: 两组的 SLEDAI、缓解率、血细胞计数、Treg/Th17 细胞比例均没有显著的差异。

2.2.3 MSCT 的安全性

MSCT 治疗 SLE 的安全性较高。在已发表的临床研究中 (总共 356 例 SLE 患者), 除了 1 例患者在输注 UC-MSCs 开始后 5 分钟时出现轻度的头晕、发热 (很快得到缓解)^[24], 另外 1 例在治疗过程中出现了上呼吸道感染外^[17], 未见其他不良反应报道。

在远期不良反应方面, 因为 MSCT 的异基因甚至异种来源同时具有较强的免疫抑制性能, 需排除引起肿瘤易感性的可能。有报道称人胎儿 BMSCs 和人脂肪 MSCs 单独或与肿瘤细胞株 F6 或 SW480 (1:1 或 1:10) 一起可以促进 BALB/c-nu/nu 小鼠肿瘤细胞的生长^[26]。另一方面, 有报道称 MSCs 有抗肿瘤的作用。胎儿皮肤或脂肪组织来源的 MSCs 可以通过抑制人肝癌细胞株、乳腺癌 (MCF-7)、原代白血病细胞的增殖、克隆、致癌基因表达进而抑制其生长^[27]。Wang D 等^[24] 在一个长达 6 年的随访研究中发现: 肿瘤标记物 AFP、CEA、CA125、CA199 在 UC-MSCT 治疗前后并无差异。有纳入 36 篇研究的 meta 分析显示: 自体或异基因 MSCs 注射治疗和肿瘤的发生无相关性^[28]。但由于目前研究病例数较少, 缺乏大样本的长期研究。

3 MSCs 与造血干细胞移植治疗 SLE

相对于造血干细胞移植治疗 SLE, MSCT 发展晚, 推迟了 10 年, 但是发展迅速, 特别是近 5 年有飞跃的发展。目

前仅有的文献显示与造血干细胞移植相比,MSCT 有好的临床疗效,低复发率,低移植相关死亡率,低成本和好的耐受性。尽管如此,MSCT 的稳定仍依赖于小剂量的激素和环磷酰胺^[29-30]。但是对于造血干细胞移植是否清髓,是否进行 CD34⁺ 免疫选择及准备阶段免疫抑制剂和生物制剂的应用还需要多中心的临床试验进行验证。对于 MSCs 与造血干细胞移植治疗 SLE 的优劣目前并没有定论,暂有的证据仅限于目前仅存在的不多的临床研究。

4 展望

在过去的 5 年里,MSCT 在 SLE 治疗中的研究有了飞跃的发展,有很多体内和体外的研究证实了 MSCs 的免疫学特性以及多分化潜能,为 MSCs 在临床实践中的应用提供了理论的支持,让人们认识到 MSCT 可能是治疗难治性和重症 SLE 的一种新方法。虽然目前临床研究已初具规模,并显示出良好的前景,但由于 MSCs 本身存在的基因突变、过度增殖及分化、过度免疫抑制等的可能,具有导致感染及肿瘤发生等的风险,其大规模应用还需要进一步的研究和深入探讨。除此之外,最佳的治疗时间、剂量及频率、治疗间隔、输注途径、治疗前、后用药等还需要进一步的研究和完善。期待更大规模、更完善的临床及基础研究为 MSCT 在临床中的应用提供更充分、有力的证据,为 SLE 的治疗提供更安全、有效的干细胞治疗方法。

〔参考文献〕

[1] 许德清. 系统性红斑狼疮诊治的新进展[J]. 皮肤性病诊疗学杂志,2013,20(6):375-378.

[2] ILLEI G G, CERVERA R, BURT R K, et al. Current state and future directions of autologous hematopoietic stem cell transplantation in systemic lupus erythematosus [J]. Ann Rheum Dis,2011,70(12):2071-2074.

[3] SUN L Y, ZHANG H Y, FENG X B, et al. Abnormality of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in patients with systemic lupus erythematosus [J]. Lupus, 2007,16(2):121-128.

[4] SHI D, LI X, CHEN H, et al. High level of reactive oxygen species impaired mesenchymal stem cell migration via overpolymerization of F-actin cytoskeleton in systemic lupus erythematosus[J]. Pathol Biol (Paris),2014,62(6):382-390.

[5] LI X, LIU L, MENG D, et al. Enhanced apoptosis and senescence of bone-marrow-derived mesenchymal stem cells in patients with systemic lupus erythematosus[J]. Stem Cells Dev,2012,21(13):2387-2394.

[6] CHE N, LI X, ZHANG L, et al. Impaired B cell inhibition by lupus bone marrow mesenchymal stem cells is caused by reduced CCL2 expression [J]. J Immunol, 2014,193(10):5306-5314.

[7] GU Z, AKIYAMA K, MA X, et al. Transplantation of umbilical cord mesenchymal stem cells alleviates lupus nephritis in MRL/lpr mice [J]. Lupus, 2010, 19 (10): 1502-1514.

[8] DI NICOLA 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.

[9] LE BLANC K1, RINGDÉN O. Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience[J]. J Intern Med,2007,262(5):509-525.

[10] COMOLI P, GINEVRI F, MACCARIO R, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit antibody production induced in vitro by allostimulation [J]. Nephrol Dial Transplant,2008,23(4):1196-1202.

[11] ROSADO M M, BERNARDO M E, SCARSELLA M, et al. Inhibition of B-cell proliferation and antibody production by mesenchymal stromal cells is mediated by T cells [J]. Stem Cells Dev,2015,24(1):93-103.

[12] RAMASAMY R, FAZEKASOVA H, LAM E W, et al. Mesenchymal stem cells inhibit dendritic cell differentiation and function by preventing entry into the cell cycle [J]. Transplantation, 2007,83(1):71-76.

[13] CHANG J W, HUNG S P, WU H H, 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.

[14] SUN L, AKIYAMA K, ZHANG H, et al. Mesenchymal stem cell transplantation reverses multiorgan dysfunction in systemic lupus erythematosus mice and humans [J]. Stem Cells,2009,27(6):1421-1432.

[15] ZHOU K, ZHANG H, JIN O, et al. Transplantation of human bone marrow mesenchymal stem cell ameliorates the autoimmune pathogenesis in MRL/lpr mice[J]. Cell Mol Immunol,2008,5(6):417-424.

[16] PARK M J, KWOK S K, LEE S H, et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells induce expansion of interleukin-10-producing regulatory B cells and ameliorate autoimmunity in a murine model of systemic lupus erythematosus[J]. Cell Transplant,2015,24(11):2367-2377.

[17] LIANG J, ZHANG H, HUA B, et al. Allogenic mesenchymal stem cells transplantation in refractory systemic lupus erythematosus: a pilot clinical study[J]. Ann Rheum Dis,2010,69(8):1423-1429.

[18] WANG D, LI J, ZHANG Y, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in active and refractory systemic lupus erythematosus: a multicenter clinical study [J]. *Arthritis Res Ther*, 2014, 16(2):R79.

[19] WANG D, ZHANG H, LIANG J, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in severe and refractory systemic lupus erythematosus: 4 years of experience [J]. *Cell Transplant*, 2013, 22(12):2267-2277.

[20] CARRION F, NOVA E, RUIZ C, et al. Autologous mesenchymal stem cell treatment increased T regulatory cells with no effect on disease activity in two systemic lupus erythematosus patients [J]. *Lupus*, 2010, 19(3):317-322.

[21] GU F, WANG D, ZHANG H, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation for lupus nephritis patients refractory to conventional therapy [J]. *Clin Rheumatol*, 2014, 33(11):1611-1619.

[22] LI X, WANG D, LIANG J, et al. Mesenchymal SCT ameliorates refractory cytopenia in patients with systemic lupus erythematosus [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2013, 48(4):544-550.

[23] SHI D, WANG D, LI X, et al. Allogeneic transplantation of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells for diffuse alveolar hemorrhage in systemic lupus erythematosus [J]. *Clin Rheumatol*, 2012, 31(5):841-846.

[24] 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*, 2016. doi: 10.1007/s10238-016-0427-0.

[25] WANG D, AKIYAMA K, ZHANG H, et al. Double allogeneic mesenchymal stem cells transplants could not enhance therapeutic effect compared with single transplantation in systemic lupus erythematosus [J]. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012:273291. doi: 10.1155/2012/273291.

[26] ZHU W, XU W, JIANG R, et al. Mesenchymal stem cells derived from bone marrow favor tumor cell growth in vivo [J]. *Exp Mol Pathol*, 2006, 80(3):267-274.

[27] ARANGO-RODRIGUEZ M L, EZQUER F, EZQUER M, et al. Could cancer and infection be adverse effects of mesenchymal stromal cell therapy? [J]. *World J Stem Cells*, 2015, 7(2):408-417.

[28] LALU M M, MCINTYRE L, PUGLIESE C, et al. Safety of cell therapy with mesenchymal stromal cells (Safe-Cell): a systematic review and meta-analysis of clinical trials [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10):e47559.

[29] WANG D, SUN L. Stem cell therapies for systemic lupus erythematosus: current progress and established evidence [J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2015, 11(6):763-769.

[30] SUI W, HOU X, CHE W, et al. Hematopoietic and mesenchymal stem cell transplantation for severe and refractory systemic lupus erythematosus [J]. *Clin Immunol*, 2013, 148(2):186-197.

[收稿日期] 2016-11-16

[修回日期] 2017-02-09

《中国皮肤性病学书目提要及著者传略》征文及研修班招生通知

为了系统总结我国皮肤性病学文献及介绍做出重要贡献的著者,廖万清院士,禤国维国医大师领衔编辑《中国皮肤性病学书目提要及著者传略》。凡为本书提供书目及著者传略者、向筹建的中国皮肤科博物馆赠送文物者,可获赠《中国皮肤科学史》(600元)1册。

为推动、推进、推广我国政策规定的外用中药临方调剂、中医中药疗法,全面落实我国中医药发展战略,2017年继续举办全国皮肤美容化妆品制剂研修班,马振友、李斌传授实用处方,示教实习,学员学会为止,实现每个单位均有外用中药临方调剂室、人人会配制外用中药的局面。刘巧、刘红霞等全国名老中医传教示教火疗、火针、脐疗、薰蒸、烟薰、熨烙、鲜药、刺络拔罐、太乙神针等实用疗法,学员互教互学。报名注册者获赠《皮肤美容化妆品制剂手册》和《皮肤病中医方剂制剂手册》各1册。赠送临方调配乳膏基质及苍龙岭牌等皮肤外用产品试用。对索取征文及招生信息和获取试用药品者,来函必复、必赠。

联系人:马振友;手机/微信:13227015533,13379033002;QQ:386966727。