

间充质干细胞移植治疗重症自身免疫病

王丹丹, 孙凌云

DOI: 10.7504/nk2015090201 中图分类号: R593.2 文献标识码: A

摘要: 自身免疫病发病机制复杂,重症患者临床治疗困难。间充质干细胞(MSCs)具有免疫调节及造血支持等生物学特性,可用于临床移植治疗重症难治性自身免疫病患者如系统性红斑狼疮、干燥综合征、系统性硬化症、多发性肌炎皮炎等,疗效显著。本文根据课题组近十年临床工作介绍 MSCs 治疗重症自身免疫病的相关研究进展。

关键词: 自身免疫病;间充质干细胞;移植

Mesenchymal stem cell transplantation for severe autoimmune diseases WANG Dan-dan, SUN Ling-yun. Department of Rheumatology and Immunology, the Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, China
Corresponding author: SUN Ling-yun, Email: linyunsun@nju.edu.cn

Abstract: The pathogenesis of autoimmune disease is complicated and the clinical treatment is difficult for severe patients. Mesenchymal stem cells (MSCs) are characterized by immunoregulation and hematopoietic support, and have been used in clinic for severe autoimmune diseases including systemic lupus erythematosus, Sjögren's syndrome, systemic sclerosis and polymyositis/dermatomyositis. Here we will describe the experience of MSCs in treating autoimmune diseases according to our ten years' clinical studies.

Keywords: autoimmune disease; mesenchymal stem cells; transplantation



孙凌云,主任医师、教授、博士生导师。南京大学医学院附属鼓楼医院免疫科主任,南京大学风湿免疫研究所所长。曾任中华医学会风湿病学分会副主任委员和江苏省风湿病学会主任委员。现任中国医师协会风湿免疫专科分会副会长、江苏省风湿病学会候

任主任委员。International Journal of Rheumatic Diseases 副主编,发表论文 320 余篇(其中 SCI 论文 102 篇),主编专著 6 部,参编 12 部。

自身免疫病发病机制复杂,可累及全身多器官多系统,传统治疗方案以糖皮质激素和细胞毒药物为主。随着新型免疫抑制剂如霉酚酸酯、来氟米特和生物制剂如 TNF 受体拮抗剂、抗 CD20 单克隆抗体的临床应用,患者愈后明显改善,但仍有部分患者对药物治疗反应不佳,病情迁延不愈并呈急性发作,直接威胁患者生命。

近年来,国内外开展造血干细胞移植(HSCT)治疗自身免疫病患者,如系统性红斑狼疮(SLE)、系统性硬化症(SSc)、多发性肌炎皮炎(DM/PM)等,短期疗效较好,但存在费用高,自体移植复发率高等问题,难以作为常规治疗。

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是来源于发育早期中胚层的多能干细胞,最早是由Friedenstein报道,并定义为构成骨髓微环境的一种具有粘附性的、成纤维细胞样细胞群。骨髓是MSCs的主要来源,其他组织包括脂肪、脐血、脐带、胎盘、肺等也能分离获得MSCs。MSCs具有易纯化、体外扩增迅速、可长期传代的特点。脐带MSCs由于其细胞更原始、来源更广泛而成为目前MSCs治疗中主要细胞。

MSCs没有特异性的表面标志物,其高表达多种细胞表面抗原,如CD73、CD90、CD105等及多种整合素和黏附分子,不表达CD14、CD34、CD45。MSCs具有多向分化潜能,在特定的诱导条件下,它不仅能分化为脂肪、骨和软骨等中胚层组织细胞,而且能够分化为其他胚层组织细胞,包括神经细胞及皮肤、肺、肝、肠等上皮细胞。MSCs分泌多种细胞

作者单位:南京大学医学院附属鼓楼医院风湿免疫科,南京210008

通信作者:孙凌云,电子信箱:linyunsun@nju.edu.cn

因子,如巨噬细胞集落刺激因子 (macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)、IL-6 和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 等,参与造血调控和细胞信号及免疫调控。目前 MSCs 已用于临床治疗急性移植物抗宿主反应 (GVHD)、缺血性脑病、缺血性心脏病等,安全有效^[1-3]。我们自 2007 年开展异体 MSCs 移植 (MSCT) 治疗重症难治性自身免疫病患者,取得良好疗效,至今已完成 600 余例。MSCs 可诱导疾病缓解,修复受损器官,改善疾病愈后,为重症难治性自身免疫病患者的临床治疗开辟了新途径。

1 MSCs 移植治疗重症系统性红斑狼疮 (SLE)

最初入组的 4 例重症难治性 SLE 患者对大剂量激素及环磷酰胺治疗无效,异体骨髓 MSCs 移植治疗后 12 个月,SLE 疾病活动度评分 (SLEDAI) 显著下降,24 h 尿蛋白定量较移植前显著降低,且患者外周血 CD4⁺Foxp3⁺ 调节性 T 细胞 (Treg) 比例显著上升,首次证明了异体骨髓 MSCs 移植治疗难治性 SLE 患者安全有效^[4]。随后,我们报道了异体骨髓及脐带 MSCs 移植治疗难治性 SLE 患者的 I 期临床研究,结果表明异体骨髓及脐带 MSCs 移植治疗均可显著诱导疾病缓解,降低蛋白尿,改善肾功能,上调血清白蛋白及补体、降低自身抗体水平^[5-6]。同时研究发现患者外周血 Treg 细胞比例移植后显著升高,并伴有细胞因子 TGF- β 的升高及 IL-10 的降低。

在此基础上课题组进一步开展了异体 MSCs 移植治疗 SLE 患者的 II 期临床研究^[7],87 例重症难治性 SLE 患者纳入研究,平均随访 27 个月 (12~48 个月),结果表明:94% 患者存活,第 4 年随访完全缓解率为 50%,维持缓解最长时间为 42 个月,总体复发率为 23%,8% 患者为临床无反应。临床评价指标方面的观察发现,血清白蛋白及补体 C3 水平移植后显著升高,SLEDAI 评分、24 h 尿蛋白定量、血清肌酐及尿素氮、血清自身抗体 (ANA 及抗 dsDNA) 显著下降,对于血液系统受累的患者,移植后血红蛋白及血小板水平显著升高。通过亚类分析表明,环磷酰胺预处理组与非预处理组、骨髓 MSCs 移植与脐带 MSCs 移植组疗效无显著差异。移植后患者病情稳定,激素及免疫抑制剂剂量减少。

近期我们报道了脐带 MSCs 移植治疗活动期 SLE 患者的多中心临床研究^[8],来自 4 家临床中心的 40 例患者入组,每例患者给予 2 次 MSCs 静脉输

注治疗,间隔 1 周,每次剂量 10⁶/kg 体重,随访 12 个月,发现 6 例非移植相关不良事件 (3 例患者死亡,3 例患者出现感染事件),总体生存率为 92.5%,临床反应率为 60% (32.5% 患者达到 MCR,27.5% 患者达到 PCR),移植后患者 SLEDAI 及 BILAG 评分显著下降,血清白蛋白及补体 C3 显著升高,24 h 尿蛋白定量、血清肌酐及尿素氮水平下降,同时发现 MSCs 移植可改善血液系统及皮肤系统 BILAG 评分。移植后 9 个月及 12 个月时复发率分别为 12.5% 及 16.7%,提示 MSCs 移植后 6 个月可给予重复输注以维持疾病的长期缓解。

基于以上研究结果,课题组进一步分析了 MSCs 1 次输注与 2 次输注之间疗效的差异^[9],入组 58 例难治性 SLE 患者,一次移植组 30 例,两次移植组 28 例,平均随访 26~27 个月,结果发现,两组患者生存率分别为 100% 及 96.4%,临床完全缓解率分别为 53.3% 及 28.6%;复发率分别为 26.7% 及 22.2%。SLEDAI 评分、血清白蛋白、补体 C3 及抗双链 DNA 抗体改善率方面两组无显著差异。两组中分别有 86.7% 及 88.9% 的患者有肾脏受累,异体 MSCs 移植后 24 h 尿蛋白均显著下降,12 个月随访时 1 移植组尿蛋白下降更为明显。肾功能不全患者移植后血清肌酐显著下降,且两组间无显著差异。对于血液系统受累的患者,MSCs 移植后外周血血小板及血红蛋白均显著上升,两组间差异无统计学意义。1 次移植组有 23.3% 的患者、两次移植组有 32.1% 的患者发生感染相关不良事件,两组间差异无统计学意义。在最后一次随访时,两组均有 2 例患者停用免疫抑制剂,一次移植组有 80.0% 患者、两次移植组有 78.6% 患者使用糖皮质激素 5~10 mg/d 维持剂量。

SLE 可累及多系统多器官,临床上 90% SLE 患者可有肾脏受累,通过异体 MSCs 移植治疗难治性狼疮肾炎患者,随访 12 个月,总体生存率为 95%,完全缓解率为 30.9%。通过 COX 回归分析发现,完全缓解率与基线蛋白尿及血清肌酐水平显著相关。总体缓解率 (CR+PR) 为 60.5%,且部分缓解率与基线蛋白尿水平显著相关。异体 MSCs 移植后肾脏 BILAG 评分、24 h 尿蛋白定量、血清肌酐及尿素氮显著下降;狼疮总体 SLEDAI 评分下降,血清白蛋白显著升高。该研究表明异体 MSCs 移植可显著诱导狼疮肾炎缓解,且越早移植,疗效越佳^[10]。对于血液系统受累患者,异体 MSCs 移植治疗后白细胞、血小板及血红蛋白水平显著升高^[11]。同时课题组用

异体 MSCs 移植抢救治疗了 4 例弥漫性肺泡出血患者,移植后患者血红蛋白及血小板水平显著升高,血氧饱和度显著改善,胸部 CT 平扫提示肺部出血病灶显著吸收^[12],提示异体 MSCs 移植可以作为重症 SLE 患者的抢救治疗措施之一。

2 MSCs 移植治疗重症难治性干燥综合征 (pSS)

I 期临床研究入组 24 例重症难治性干燥综合征 (pSS) 患者,随访 12 个月,所有患者均能耐受脐带 MSCs 移植治疗,无移植相关不良反应。MSCs 移植后口干眼干等临床症状明显缓解,干燥综合征疾病损伤指数 (Sjogren's syndrome disease damage index, SSDDI) 移植后下降 (移植前: 5.63 ± 1.44 , 1 个月: 4.33 ± 1.79 , 3 个月: 4.08 ± 1.44 , 6 个月: 3.46 ± 1.18 , 12 个月: 3.08 ± 1.21 , 与移植前比, P 均 <0.05); 疾病活动指数 (Sjogren's syndrome disease activity index, SSDAI) 移植后改善。静态唾液流率移植后 2 周即有显著改善 [2 周: (1.00 ± 0.78) mL/10 min, 基线: (0.63 ± 0.73) mL/10 min, $P < 0.001$, $n=11$], 移植后 1 个月较移植前上升 2 倍 [(1.26 ± 1.02) mL/10 min, 与移植前比 $P < 0.001$], 并在后续随访过程中维持稳定。动态唾液流率移植后显著升高 (与移植前比, P 均 <0.05)。视觉模拟评分 (VAS), 口干量表评分 (TESS) 在随访 2 周、1 个月及 3 个月时显著下降。腮腺造影提示移植后 12 个月患者唾液腺充盈及排空功能均改善。此外, pSS 并发的肝功能异常及血液系统受损在移植后均有显著改善。MSCs 移植后 1 个月患者血清抗 SSA/Ro 抗体水平下降 [移植前 (84.76 ± 62.19) kU/L, 1 个月 (0.51 ± 0.22) kU/L, $P < 0.01$]; 抗 SSB/La 抗体水平下降 [移植前 (146.62 ± 83.08) kU/L, 1 个月 (52.61 ± 38.67) kU/L, $P < 0.001$], 且血清球蛋白水平显著下降。机制方面的研究发现 MSCs 移植后患者外周血 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg 比例升高而 CD3⁺CD8⁺IL-17A⁺Th17 细胞比例下降, 血清 TGF- β 升高而 IL-17 下降。该研究表明 MSCs 移植治疗对 pSS 患者安全且有较好的临床疗效, 可能通过调节 Treg/Th17 细胞平衡发挥治疗作用^[13]。

3 MSCs 移植治疗重症难治性系统性硬化症 (SSc)

入组 5 例 SSc 患者, 均符合 SSc 分类诊断标准, 给予脐带 MSCs 移植治疗, 所有患者均无移植相关不良反应。MSCs 移植后患者皮肤厚度评分

(MRSS) 显著下降, 生活质量评分 (HAQ-DI) 改善, 血清抗核抗体水平下降, 伴有血管炎及难治性皮肤溃疡的患者移植后皮肤溃疡显著好转。此外, 机制方面的研究发现, UC MSC 移植后 SSc 患者外周血 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg 细胞比例增加, 血清 TGF- β 水平升高, 而外周血 CD3⁺T 细胞绝对数减少。进一步研究发现 MSCs 体内外均可诱导 SSc 患者 T 淋巴细胞凋亡, 而 SSc 患者骨髓来源 MSCs 表达 Fas、FasL 及 MCP-1 水平均显著下降, 不能诱导 T 细胞凋亡。该研究表明 MSCs 移植治疗 SSc 患者安全且有较好的临床疗效, 可通过诱导宿主 T 淋巴细胞凋亡上调 TGF- β 及 Treg 诱导宿主免疫耐受^[14]。

4 MSCs 移植治疗重症难治性多发性肌炎 / 皮肌炎 (PM/DM)

10 例 DM/PM 患者 (DM 4 例, PM 6 例), 女 9 例, 男 1 例, 年龄 19~44 岁, 病程 6~60 个月 (平均 7.5 个月), 均符合 Bohan 及 Peter 1975 年提出的 DM/PM 分类诊断标准, 所有患者均对大剂量激素及足疗程免疫抑制剂治疗无效, 伴有严重并发症如间质性肺炎、难治性皮肤溃疡。所有患者接受异体骨髓或脐带 MSCs 移植治疗。治疗后随访 7~24 个月, 平均 17 个月, 均无移植相关死亡及并发症。移植后 6 个月, 患者血清肌酸激酶 (CK) 持续下降 [移植前: (2380.0 ± 673.8) U/L; 1 个月: (1027.0 ± 266.7) U/L; 2 个月: (486.2 ± 143.1) U/L; 3 个月: (92.9 ± 19.5) U/L; 6 个月: (248.8 ± 135.6) U/L, 与移植前比, $P < 0.05$]; 6 例患者移植后 12 月 CK 降为 (106.0 ± 39.4) U/L。血清肌酸激酶同工酶 (CK-MB) 同步下降 [移植前: (145 ± 45) U/L; 1 个月: (96 ± 34) U/L; 2 个月: (67 ± 22) U/L; 3 个月: (28 ± 5) U/L; 6 个月: (36 ± 10) U/L, 与移植前比, P 均 <0.05]。患者总体生活质量评分 (VAS) 及手工肌力评分 (MMT) 较移植前明显改善。MRI 提示股四头肌处炎症信号较移植前显著减少。6 例患者伴有间质性肺炎, 移植后复查肺部高分辨 CT 提示炎症改变较前有不同程度吸收, 肺功能改善。1 例患者伴有双膝及双肘难治性皮肤溃疡, 移植后溃疡面渗出减少, 新生肉芽组织长出, 6 月后溃疡基本愈合。该研究表明异体 MSCs 移植治疗难治性 DM/PM 患者安全有效^[15]。

5 MSCs 移植治疗重症难治性其他自身免疫病

同时我们开展了异体 MSCs 移植治疗重症难治

性类风湿关节炎 (RA)、炎症性肠病 (IBD)、Stevens-Johnson 综合征、脓皮病等均有良好疗效,提示异体 MSCs 可用于治疗多种重症难治性自身免疫病患者^[16-19]。在这些研究基础上进一步开展随机对照临床研究可为自身免疫病患者的临床治疗开辟新途径。

参考文献

- [1] Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study [J]. *Lancet*, 2008, 371: 1579-1586.
- [2] Hare JM, Traverse JH, Henry TD, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54: 2277-2286.
- [3] Lee JS, Hong JM, Moon GJ, et al. A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke [J]. *Stem Cells*, 2010, 28: 1099-1106.
- [4] Sun LY, Akiyama K, Zhang HY, et al. Mesenchymal stem cell transplantation reverses multi-organ dysfunction in systemic lupus erythematosus mice and humans [J]. *Stem Cells*, 2009, 27: 1421-1432.
- [5] Liang J, Zhang HY, Hua BZ, et al. Allogenic mesenchymal stem cells transplantation in refractory systemic lupus erythematosus: a pilot clinical study [J]. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69: 1423-1429.
- [6] Sun LY, Wang DD, Liang J, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in severe and refractory systemic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62: 2467-2475.
- [7] Wang D, Zhang H, Liang J, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in severe and refractory systemic lupus erythematosus: 4 years experience [J]. *Cell Transplant*, 2013, 22: 2267-2277.
- [8] 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: R79.
- [9] Wang D, Akiyama K, Zhang H, et al. Double allogeneic mesenchymal stem cells transplantations could not enhance therapeutic effect compared with single transplantation in systemic lupus erythematosus [J]. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012: 273291.
- [10] 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: 1611-1619.
- [11] 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: 544-550.
- [12] 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: 841-846.
- [13] Xu J, Wang D, Liu D, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell treatment alleviates experimental and clinical Sjogren's syndrome [J]. *Blood*, 2012, 120: 3142-3151.
- [14] 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: 544-555.
- [15] Wang D, Zhang H, Cao M, et al. Efficacy of allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in patients with drug-resistant polymyositis and dermatomyositis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2011, 70: 1285-1288.
- [16] Liang J, Li X, Zhang H, et al. Allogeneic mesenchymal stem cells transplantation in patients with refractory RA [J]. *Clin Rheumatol*, 2012, 31: 157-161.
- [17] Liang J, Zhang H, Wang D, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in seven patients with refractory inflammatory bowel disease [J]. *Gut*, 2012, 61: 468-469.
- [18] Li X, Wang D, Lu Z, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in drug-induced Stevens-Johnson syndrome [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2013, 27: 659-661.
- [19] Yang X, Wang D, Liang J, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation for refractory severe pyoderma gangrenosum [J]. *J Stem Cell Res Ther*, 2014, 4: 6.

2015-07-20 收稿 本文编辑: 颜廷梅, 高 森