

间充质干细胞与原发性干燥综合征

苏娟 综述 李占全 崔森 审校

原发性干燥综合征(primary sjögren's syndrome,pSS)是主要累及外分泌腺体的自身免疫病,腺体外可出现肺间质、肝脏、血液系统等多系统受累的表现。治疗主要是改善症状,合并内脏损害者可应用糖皮质激素及免疫抑制剂,但疗效欠佳^[1]。

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)具有很强的抗炎、抑制免疫和组织损伤修复能力。近期逐渐有 MSCs 治疗 pSS 的报道,现将 MSCs 在 pSS 中的应用作一综述。

1 MSCs

MSCs 有广泛的免疫调节能力:(1)对 T 细胞的免疫调节:①抑制 T 淋巴细胞的增殖,使其处于 G0/G1 期。在 INF- γ 存在下, MSCs 可提高吲哚胺-2,3 双加氧酶的活性,更能抑制 T 细胞增殖^[2]。② MSCs 可改变 Th1/Th2 的平衡^[3];③提高调节性 T 细胞的比例^[4]。(2)对 B 细胞的调节:①活化 B 细胞: MSCs 能直接或间接通过 Th 抑制活化 B 细胞的增殖、分化能力和免疫球蛋白的产生^[5];②幼稚 B 细胞、转化型 B 细胞及记忆 B 细胞:与活化 B 细胞相反, MSCs 可促进以上 3 种 B 细胞的增殖和分化^[6]。(3) MSCs 可以抑制 NK 细胞的增殖及其细胞毒作用;抑制 DC 细胞和巨噬细胞的产生,削弱 DC 细胞的抗原提呈功能和促炎症的潜能^[7]。

MSCs 体外培养增殖迅速,并具有多向分化的能力。将 MSCs 与人唾液腺组织共同培养后可分化为具有紧密连接结构和大量分泌颗粒的唾液腺上皮细胞^[8]。

2 MSCs 治疗 pSS 的基础研究

pSS 中 MSCs 功能异常; Xu 等^[9]发现 pSS 模型 NOD 小鼠骨髓来源间充质干细胞(bone marrow derived mesenchymal stem cells, BMMSCs)增殖能力明显降低,向骨和脂肪的分化能力也降低。将

其与 T 细胞培养后发现, T 细胞增殖能力增高,但其中 Foxp3⁺ Treg 减少;脾脏细胞与 NOD 小鼠 BMMSCs 共同培养后发现, CD4⁺ T 细胞比例较对照组明显升高。提示 NOD 小鼠 BMMSCs 免疫调节能力受限,可能是由于 Treg 细胞的减少而缺乏抑制免疫活性的能力。同样的方法研究 pSS 患者,发现 BMMSCs 也表现为免疫抑制缺陷。这说明 BMMSCs 的免疫调节能力降低可能是 pSS 发病的重要机制之一。

3 MSCs 治疗 pSS 的动物研究

3.1 MSCs 的免疫调节 Khalili 等^[10]根据治疗方法不同将 NOD 小鼠分为 4 组:(1)胰岛素治疗(对照组);(2)给予注射弗氏佐剂(Freund's adjuvant, CFA)以清除自身反应性 T 细胞(免疫抑制剂治疗组);(3) BMMSCs 移植;(4) CFA + BMMSCs 联合治疗。CFA、移植组及联合治疗组与对照组相比较,唾液腺病理组织中炎症反应、细胞浸润都较对照组减少,但后两组淋巴细胞浸润减少程度较单纯 CFA 治疗组更为明显。

pSS 患者主要是 Th1 细胞活化为 T_H17^[11]。转基因 BMMSCs 治疗 NOD 小鼠 INF- γ (Th1 样细胞因子)并无下降活化,但能提高 IL-4、IL-13 (Th2 样细胞因子)含量^[9]。Th17 及其相关细胞因子 IL-17、IL-6、IL-23 和 IL-12 在 pSS 涎腺组织及血清中均升高,提示 Th17 是 pSS 发生、发展的重要因素^[12]。转基因 BMMSCs 移植后 IL-6、IL-17 显著下降,说明 BMMSCs 移植可通过抑制 Th17 减轻炎症反应。

MSCs 治疗自身免疫性风湿病时,可增加 Foxp3⁺ Treg 细胞数目^[13]。Khalili 等^[10]发现 BMMSCs 移植组及联合治疗组腺体组织中 Treg Foxp3⁺ 增加,而 CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺ 及 B 细胞活化因子均显著低于对照组,随着 Treg Foxp3⁺ 的增加,腺体炎症也逐渐缓解。TGF- β 和 IL-10 是维持 Treg 增殖和功能的重要的细胞因子, TGF- β 在腺体炎症和异常状态下高表达^[14]。BMMSCs 移植后唾液腺中 TGF- β 、IL-10 均增高^[9]。TNF α 等

炎症细胞因子在 pSS 发病机制中有重要作用^[15]。Khalili 等^[10]发现 CFA 组、BMMSCs 移植组及联合治疗组的唾液腺组织中, TNF- α mRNA、TNF- α 浓度均明显低于对照组,但后两组降低程度更为明显。这提示 BMMSCs 可通过 TGF- β 和 IL-10 调控免疫反应,并可降低 TNF- α 减缓炎症反应。

NOD 小鼠输注转基因 GFP 标记的 BMMSCs 后,唾液腺组织中可见 GFP 阳性的细胞,而正常小鼠移植后未见此类细胞。说明 NOD 小鼠颌下腺可能存在异常微环境从而诱导 BMMSCs 迁移至局部。基质细胞源性因子 1 (Stromal cell-derived factor-1, SDF-1)/C-X-C 趋化因子受体 4 (C-X-C chemokine receptor 4, CXCR4) 轴被认为是调节 MSCs 的细胞因子^[16]。NOD 小鼠唾液腺组织、血浆、淋巴结以及脾脏中 SDF-1 均增高,但唾液腺组织中增高更为显著,提示 SDF-1 可能是决定 BMMSCs 迁移到炎症局部的重要因子^[9]。

与此同时,他们发现 NOD 小鼠和 pSS 患者 BMMSCs 的 CXCR4 表达均明显低于对照组,给予 NOD 小鼠输注 GFP 标记的、同时加入 CXCR4 中和抗体的 BMMSCs 后发现,在唾液腺中 CXCR4 封闭的 BMMSCs 较未封闭者明显减少,更为重要的是发现输注 CXCR4 封闭的 BMMSCs 后唾液腺分泌功能没有修复。前述的 BMMSCs 移植后 NOD 小鼠的 Treg 细胞数目、IL-10、IL-6 和 TGF- β 浓度的改变,在应用 CXCR4 中和抗体的 BMMSCs 移植后全部消除或减弱了。另外, BMMSCs 移植后血浆中 pSS 相关的抗核抗体、抗 α -胞衬蛋白抗体及抗 SSA 抗体均显著下降,而 CXCR4 封闭后则这种抑制作用降低。这表明 BMMSCs 可通过 SDF-1/CXCR4 轴迁移至炎症组织,进而发挥免疫调节、腺体修复等作用。

3.2 MSCs 对腺体的修复 转基因 BMMSCs 移植后 NOD 小鼠颌下腺炎症反应的区域较未移植者明显缩小,唾液流率增加^[9]。表皮生长因子(epidermal

growth factor, EGF) 是唾液腺导管细胞分泌的生长因子, 有助于维持腺体功能^[17]。Khalili 等^[10]发现联合治疗组 NOD 小鼠的血浆 EGF 水平及 EGF mRNA 较其他各组增高。提示转基因 BMMSCs 可有效抑制 pSS 模型小鼠炎症反应, 修复唾液腺的分泌功能。

4 MSCs 移植治疗 pSS 的临床研究

Xu 等^[9]对 24 例 pSS 患者进行异基因脐血来源间充质干细胞移植。移植后几乎所有患者临床症状都能改善, SSDAI 及 VAS 评分下降。11 例口干干燥的患者在移植 2 周后唾液流率显著增加。4 例血小板减少的患者, 在移植 2 周后血小板上升; 3 例严重的溶血性贫血患者的血红蛋白提高; 7 例 pSS 相关的自身免疫性肝病患者的肝功能较前改善; 1 例合并有严重肠炎、腹泻的患者在移植后症状改善, 同时体重较前增加; 但 3 例合并有神经系统损害(脊髓炎、脑白质营养不良、周围神经病变)的患者疗效并不满意。所有患者的临床用药均减少, 2 例停用免疫抑制剂, 1 例停用激素。所有患者移植后血浆抗 SSA 和抗 SSB 抗体浓度均下降。

5 总结与展望

尽管以上研究表明 MSCs 治疗可能为 pSS 带来新的曙光, 但仍有许多问题亟待解决。如: MSCs 对体内的不同生理免疫应答水平有何影响; 予以 MSCs 治疗后免疫调节作用能维持多久; 不同来源的 MSCs 作用有无差异等等。虽然临床研究中尚未有 MSCs 移植后出现肿瘤的报道^[18]。但现有的临床研究报告随访时间较短、例数少, 尚需长期、大样本临床观察, 才能对其安全性做出正确地评估。

6 参考文献

- [1] Lee B H, Tudares M A, Nguyen C Q. Sjogren's syndrome: an old tale with a new twist [J]. Arc immuno Ther Exp, 2009, 57(1): 57-66.
- [2] Croitoru-Lamourey, Lamourey F M, Caristo M, et al. Interferon- γ regulates the

- proliferation and differentiation of mesenchymal stem cells via activation of indoleamine 2,3 dioxigenase (IDO) [J]. PLoS One, 2011, 6(2): e14698.
- [3] Buron F, Perrin H, Malcus C, et al. Human mesenchymal stem cells and immuno-suppressive drug interactions in allogeneic responses: an *in vitro* study using human cells [J]. Transplant Proc, 2009, 41(8): 3347-3352.
- [4] Duffy M M, Ritter T, Ceredig R, et al. Mesenchymal stem cell effect on T-cell effector pathways [J]. Stem Cell Res Ther, 2011, 2(4): 34.
- [5] Crop M J, Baan C C, Kotevaar S S, et al. Inflammatory conditions affect gene expression and function of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells [J]. Clin Exp Immunol, 2010, 162(3): 474-486.
- [6] DelaRosa O, Lombardo E. Modulation of adult mesenchymal stem cells activity by toll-like receptors: implications on therapeutic potential [J]. Mediator Inflamm, 2010: 865601.
- [7] Spaggiari G M, Moretta L. Cellular and molecular interactions of mesenchymal stem cells in innate immunity [J]. Immunol Cell Biol, 2013, 91(1): 27-31.
- [8] Maria O M, Tran S D. Human mesenchymal stem cells cultured with salivary gland biopsies adopt an epithelial phenotype [J]. Stem Cell Dev, 2011, 20(6): 959-967.
- [9] Xu J, Wang D, Liu D, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell treatment alleviates experimental and clinical Sjögren syndrome [J]. Blood, 2012, 120(15): 3142-3151.
- [10] Khalili S, Liu Y, Kornete M, et al. Mesenchymal stromal cells improve salivary function and reduce lymphocytic infiltrates in mice with sjögren's-like disease [J]. Plos One, 2011, 7(6): e38615.
- [11] vanWoerkom J M, Kruize A A,

- Wenting-van Wijk M J, et al. Salivary gland and peripheral blood T helper 1 and 2 cell activity in Sjogren's syndrome compared with non-Sjogren's sicca syndrome [J]. Ann Rheum Dis, 2005, 64(10): 1474-1479.
- [12] Katsifis G E, Rekka S, Moutsopoulos N M, et al. Systemic and local interleukin-17 and linked cytokines associated with Sjogren's syndrome immunopathogenesis [J]. Am J Pathol, 2009, 175(3): 1167-1177.
- [13] MacDonald G I, Augello A, De Bari C. Role of mesenchymal stem cells in reestablishing immunologic tolerance in autoimmune rheumatic diseases [J]. Arthritis Rheum, 2011, 63(9): 2547-2557.
- [14] Hall B E, Zheng C, Swaim W D, et al. Conditional overexpression of TGF-beta1 disrupts mouse salivary gland development and function [J]. Lab Invest, 2010, 90(4): 543-555.
- [15] Bayetto K, Logan R M. Sjogren's syndrome: a review of etiology, pathogenesis, diagnosis and management [J]. Aust Dent J, 2010, 55 Suppl 1: 39-47.
- [16] Ratajczak M Z, Zuba-Surma E, Kucia M, et al. The pleiotropic effects of the SDF-1-CXCR4 axis in organogenesis, regeneration and tumorigenesis [J]. Leukemia, 2006, 20(11): 1915-1924.
- [17] Nakamura H, Kawakami A, Ida H, et al. EGF activates PI3K-Akt and NF-kappaB via distinct pathways in salivary epithelial cells in Sjogren's syndrome [J]. Rheumatol Int, 2007, 28(2): 127-136.
- [18] Lalu M M, McIntyre L, Pugliese C, et al. Safety of cell therapy with mesenchymal stromal cells (SafeCell): a systematic review and Meta-analysis of clinical trials [J]. Plos One, 2012, 7(10): e47559.

(收稿: 2012-12-25 编辑: 张倩)