

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]。②MSCs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细胞活化为主^[11]。异基因BMMSCs治疗NOD小鼠IFN-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]。异基因BMMSCs移植后IL-6,IL-17显著下降,说明BMMSCs移植可通过抑制Th17减轻炎性反应。

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]。TNFα等

炎性细胞因子在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减缓炎性反应。

NOD小鼠输入异基因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迁移到炎性局部的重要因子^[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小鼠输入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入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轴迁移至炎性组织,进而发挥免疫调节、腺体修复等作用。

3.2 MSCs对腺体的修复 异基因BMMSCs移植后NOD小鼠颌下腺炎性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。提示异基因 BMMSCs 可有效抑制 pSS 模型小鼠炎性反应, 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 例口眼干燥的患者在移植 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道随访时间较短、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-Lamoury, Lamoury F M, Caristo M, et al. Interferon- γ regulates the proliferation and differentiation of mesenchymal stem cells via activation of indoleamine 2,3 dioxygenase (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 Sjögren's syndrome compared with non-Sjögren' 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 Sjögren' 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. Sjögren' 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 Sjögren' 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)