

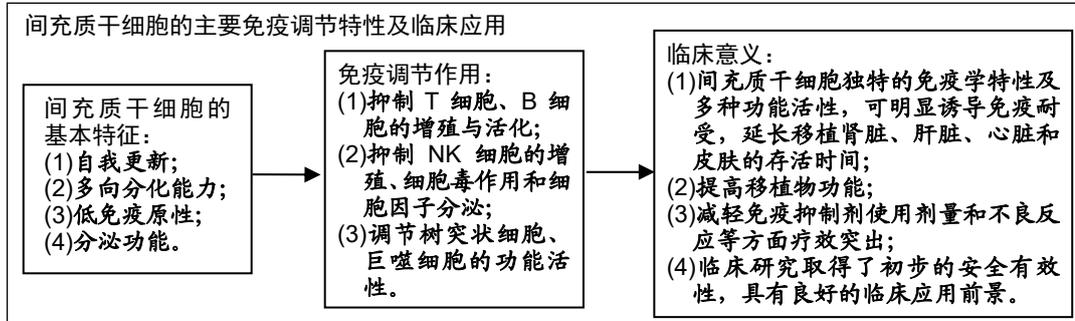
间充质干细胞免疫调节特性及在器官移植中的应用

蒋珊珊^{1,2}, 王峰³, 余丽梅^{1,2,4} (遵义医学院附属医院, ¹贵州省细胞工程重点实验室, ²贵州省生物治疗人才基地, ³心血管外科, ⁴遵义市干细胞与再生医学工程研究中心, 贵州省遵义市 563003)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.1530

ORCID: 0000-0003-3833-7381(蒋珊珊)

文章快速阅读:



文题释义:

间充质干细胞的特性: 间充质干细胞是一群来源于中胚层的具有自我更新和多向分化潜能的多能干细胞,广泛存在于多种组织器官,通过造血支持、分泌功能、免疫调节、改善微环境等,在多种组织器官损伤修复、自身免疫性疾病和移植抗宿主病及排异反应中发挥治疗作用。

间充质干细胞免疫调节特性及在器官移植中应用的研究意义: 间充质干细胞的免疫调节特性是其发挥疾病治疗作用的主要机制之一,已在造血干细胞移植后移植抗宿主病和多种自身免疫性疾病治疗中显示了良好疗效,间充质干细胞对 T 细胞、B 细胞、NK 细胞及抗原呈递细胞多方面的调节作用和诱导免疫耐受的重要功能,也为同种异基因器官移植的排异反应治疗提供了理论依据,并被大量动物实验和部分临床试验所证明,因此,为解决器官移植排异反应的重大难题,间充质干细胞移植作为一种新的治疗策略,其免疫调节功能及作用机制研究亟待明确,有关理论也将为其他炎症免疫损伤相关疾病的治疗奠定基础。

摘要

背景: 异体器官移植是解决终末期器官衰竭最为有效的方法之一,有效克服移植排斥反应、成功诱导移植免疫耐受是器官移植亟待攻克的重大难题,临床目前所用免疫抑制药仍存在减轻慢性排斥反应作用有限、毒性大,易引发慢性感染和肿瘤等问题。近年来,间充质干细胞在器官移植后诱导的免疫耐受是当前研究的热点。

目的: 综述间充质干细胞的免疫调节特性及其在器官移植中应用的研究进展。

方法: 应用计算机检索 CNKI 数据库、PubMed 生物医学数据库,中文检索关键词为“间充质干细胞;免疫调节;器官移植;排异反应;免疫耐受”,英文检索关键词为“mesenchymal stem cells; immunomodulatory; organ transplantation; rejection reaction; immune tolerance”。纳入有关间充质干细胞免疫学特性及在器官移植中应用的论文报道和综述。

结果与结论: 从骨髓、脂肪、脐带、羊膜等多种组织分离而来的间充质干细胞,除了具有自我复制和多向分化潜能外,还具有低免疫原性和免疫调节特性,可以抑制 T 细胞、B 细胞的增殖与活化;抑制 NK 细胞的增殖、细胞毒作用和细胞因子分泌;调节树突状细胞、巨噬细胞的功能活性,可诱导免疫耐受;在肾脏、肝脏、心脏和皮肤移植抗排斥反应的基础与临床研究中,显示了长期、良好的治疗效果和颇具潜力的应用前景。

关键词:

间充质干细胞; T 细胞; B 细胞; NK 细胞; 巨噬细胞; 免疫调节; 器官移植; 免疫耐受; 国家自然科学基金

主题词:

间充质干细胞; 免疫调节; 器官移植; 免疫耐受; 组织工程

中图分类号: R459.9; R394.2

基金资助:

国家自然科学基金(81660074),项目负责人:王峰;贵州省科技重大专项(黔科合重大专项字[2011]6002),项目负责人:余丽梅

缩略语:

间充质干细胞: mesenchymal stem cells, MSCs

Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their application in organ transplantation

Jiang Shanshan^{1,2}, Wang Feng³, Yu Limei^{1,2,4} (¹Key Laboratory of Cell Engineering in Guizhou Province, ²Biological Treatment Talent Base of Guizhou Province, ³Department of Cardiovascular Surgery, ⁴Zunyi Stem Cell and Regenerative Medicine Engineering Center, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563003, Guizhou Province, China)

文章编号:2095-4344(2019)01-00103-07

蒋珊珊,女,1991年生,重庆市丰都县人,汉族,遵义医学院在读硕士,主要从事干细胞工程学研究。

通讯作者:余丽梅,教授,博士,硕士生导师,遵义医学院附属医院,贵州省细胞工程重点实验室,贵州省生物治疗人才基地,遵义市干细胞与再生医学工程研究中心,贵州省遵义市 563003

共同通讯作者:王峰,副主任医师,在读博士,硕士生导师,遵义医学院附属医院心血管外科,贵州省遵义市 563003

文献标识码:A

稿件接受:2018-10-01

Jiang Shanshan, Master candidate, ¹Key Laboratory of Cell Engineering in Guizhou Province, ²Biological Treatment Talent Base of Guizhou Province, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Corresponding author: Yu Limei, MD, Professor, Master's supervisor, ¹Key Laboratory of Cell Engineering in Guizhou Province, ²Biological Treatment Talent Base of Guizhou Province, ⁴Zunyi Stem Cell and Regenerative Medicine Engineering Center, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Corresponding author: Wang Feng, Doctorate candidate, Associate chief physician, Master's supervisor, Department of Cardiovascular Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Abstract

BACKGROUND: Allogeneic organ transplantation is one of the most effective therapies to treat end-stage organ failure. However, it is an important problem to effectively overcome the transplantation reaction and induce the immune tolerance of transplantation. The current use of immunosuppressant drugs in clinical practice still has some problems such as limited effect on reducing chronic rejection and high toxicity, and causing chronic infection and tumor. In recent years, the immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells have attracted attention in immune tolerance after organ transplantation.

OBJECTIVE: To review the immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their research progress in organ transplantation.

METHODS: CNKI and PubMed databases were retrieved by using computer to search relevant articles about immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their application in organ transplantation. The key words were “mesenchymal stem cells; immune regulation; organ transplantation; rejection reaction; immune tolerance” in Chinese and English, respectively.

RESULTS AND CONCLUSION: Mesenchymal stem cells isolated from bone marrow, adipose tissue, umbilical cord, amniotic membrane and other tissues not only have self-replication and multidirectional differentiation potentials, but also have low immunogenicity and conspicuous immunomodulatory properties. Mesenchymal stem cells can inhibit the proliferation and activation of T cells and B cells, and inhibit the proliferation, cytotoxic effect and cytokine secretion of NK cells. Immune tolerance is induced by mesenchymal stem cells through regulating the function and activity of dendritic cells and macrophages. The basic and clinical researches have shown good long-term therapeutic effects and promising application prospect on the anti-rejection response to kidney, liver, heart and skin transplantation.

Subject headings: Mesenchymal Stem Cells; Immunomodulation; Organ Transplantation; Immune Tolerance; Tissue Engineering

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81660074 (to WF); Guizhou Provincial Science and Technology Major Project, No. Qian-ke-he-zhong-da-zhuan-xiang-zi [2011]6002 (to YLM)

0 引言 Introduction

器官移植是终末期器官衰竭患者现阶段最有效的治疗方法之一。近年来,随着供体保存、受者选择、外科技巧和术后管理等方面的改进及完善,患者的生存率和生活质量得到了明显提高和改善。慢性排斥反应是影响受者长期生存的最大障碍,且排斥反应会导致移植植物功能不全,长期使用免疫抑制剂也会导致慢性感染和恶性肿瘤的高发。迄今为止,没有免疫抑制剂能够完全有效抑制器官移植后的排斥反应。移植免疫耐受的诱导是目前解决器官移植排斥反应较为理想的方法^[1]。干细胞疗法作为一种新兴的治疗免疫排斥及抗免疫炎症的生物治疗手段逐渐成为国内外研究的重点之一。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一群来源于中胚层的多能干细胞,除了具有自我复制和多向分化潜能之外,它还具有低免疫原性和免疫调节作用的生物学特性,研究表明MSCs能抑制异基因移植植物抗宿主病发生、诱导免疫耐受并改善移植植物功能及存活时间。MSCs对T细胞、B细胞、树突状细胞、NK细胞和巨噬细胞等具有多种作用,通过发挥独特的免疫调节特性显著降低排斥反应的发生。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 检索CNKI数据库、PubMed生物医学数据库建库至2018年3月收录的相关文献。中文检索关键词为“间充质干细胞;免疫调节;器官移植;排斥反应;免疫耐受”,英文检索关键词为“Mesenchymal stem cells; Immunomodulatory; organ transplantation; rejection reaction; Immune tolerance”。

1.2 入选标准

纳入标准: ①近年发表有关间充质干细胞免疫调节特性研究及其在器官移植应用的相关文章; ②具有原创性,论点、论据可靠的文章; ③权威杂志的文献优先。

排除标准: 与文章关系不强或一些重复研究和相对陈旧的理论观点。

1.3 数据的提取 研究内容由3人独立提取,差异通过讨论解决,信息记录侧重于间充质干细胞的免疫调节特性及在器官移植中的应用。文献检索流程见图1。

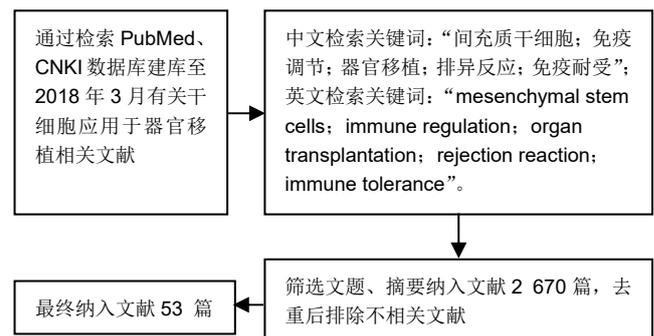


图1 文献检索流程

2 结果 Results

2.1 MSCs的基本特征 2006年国际细胞治疗协会(International Society for Cellular Therapy, ISCT)制定了MSCs的标准^[2]: ①在标准培养条件下, MSCs贴壁生长, 具有类似成纤维细胞样形态; ②大于95%的MSCs必须表达CD44、CD105、CD73和CD90, 但不表达(\leq 2%)CD45、CD34、CD14(或CD11b)、CD79a(或CD19)和HLA-DR; ③在体外特定条件下可诱导分化为成骨细胞、脂肪细胞和成软骨细胞。同时, MSCs大多数处于Go/G₁期, 表达Oct4、Nanog和SOX2等干性标志蛋白分子。

2.2 MSCs的免疫原性 来自于不同组织的MSCs均不表达或极低表达MHC-I类分子, 不表达MHC-II类分子、Fas配体和共刺激分子B7-1、B7-2、CD40、CD40L; 表达共抑制分子B7-H1和B7-H4^[3-4]。而免疫应答需要细胞表达如MHC、黏附分子ICAM、共刺激分子等特异性

分子及T细胞活化、功能发挥等多个环节与复杂机制的参与,一般认为效应T细胞活化依赖于MHC-II类分子和共刺激分子,以上充分说明MSCs的低免疫原性。

应用单克隆抗体阻断B7-1的表达或沉默T细胞HLA-DR α 表达, MSCs对T细胞增殖的抑制作用明显减弱^[5], T细胞不能被很好地激活,从而诱导免疫耐受;移植的同种异体MSCs可以在体内存活很长一段时间后才被受体免疫细胞识别^[6],也提示MSCs的低免疫原性,可能是MSCs在预防和治疗器官移植排斥反应中疗效维持的重要依据。

2.3 MSCs的免疫调节作用

2.3.1 对T淋巴细胞的影响 器官移植免疫排斥过程中的关键环节是T细胞对异种抗原的识别,其主要是两大信号途径:①直接识别,受者CD4⁺Th细胞或者CD8⁺CTL细胞可直接识别供体抗原提呈细胞(antigen presenting cells, APC)表面的MHCs分子和抗原肽-供者MHCs分子复合物;②间接识别,受者的APC如树突状细胞能够呈递供者抗原并通过自身的MHC分子-共刺激分子激活T细胞。在没有共刺激信号的情况下,受者的T细胞就处于无反应/克隆无能状态,因此通过阻断共刺激信号可以诱导免疫耐受。

调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)是具有抑制免疫功能的CD4⁺T淋巴细胞,占外周CD4⁺T淋巴细胞的5%-10%。Treg是研究最多且临床上最为有效的Th细胞,尤其是CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg。主要涉及两种作用机制:①通过细胞表面标志物(CD28、CD2、LFA-1、CD8)与其他抗原提呈细胞的配体(LFA-3、ICAM-1、MHC I、B7)接触来发挥抑制功能;②分泌一些免疫抑制性的细胞因子,间接发挥免疫抑制功能。最早是在小鼠皮肤移植模型中发现CD4⁺CD25⁺Treg可诱导移植免疫耐受^[7],随后的研究均表明,CD4⁺CD25⁺Treg参与了多种机制诱导的移植免疫耐受。在气道炎症小鼠中, MSCs抑制过敏原特异性的Th2细胞反应就与其诱导Treg生成有关^[8]。在小鼠自身免疫性脑脊髓炎模型和类风湿性关节炎患者T细胞体内外研究发现, MSCs均明显提高CD4⁺、CD25⁺Foxp3⁺或CD4⁺CD25⁺CD127^(low/-)的Treg细胞比例^[9-10]。在动物和人的器官移植研究中, MSCs能诱导同种异体移植免疫耐受,作用机制也与Treg细胞比例上调密不可分, Treg细胞比例减少,则出现移植排斥反应^[11]。MSCs还能显著抑制免疫性血小板减少症患者的Th1细胞分泌白细胞介素2和干扰素 γ ,同时促进Th2细胞分泌白细胞介素4和白细胞介素10,从而调节Th1/Th2的平衡; MSCs也可通过上调Treg的数量诱导ITP患者的免疫耐受^[12]。脂肪MSCs还可通过减少活化的T细胞数量及促进Th2型免疫应答,而抑制鼻息肉患者的嗜酸性粒细胞性炎症反应^[13], MSCs也可直接抑制CD4⁺T细胞增殖产生免疫抑制作用^[14]。最近的研究报

道, MSCs通过诱导前列腺素E2和吲哚胺-2,3-双加氧酶生成,抑制同种反应性T细胞激活,发挥免疫抑制作用^[15-16]。

2.3.2 对B淋巴细胞的调节 B淋巴细胞在抗原和T细胞的双重作用下,可以大量增殖并进一步分化成浆细胞,从而分泌抗体参与免疫反应。关于MSCs对B淋巴细胞免疫调节作用的研究报道并不完全一致,但大多数的研究认为MSCs是抑制B细胞功能的。MSCs对B细胞的免疫调节作用是通过释放可溶性因子^[17](干扰素 γ 、肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素2、白细胞介素6、白细胞介素10、转化生长因子 β)、细胞与细胞接触来抑制B淋巴细胞的增殖、抗体生成、分化和趋化。最近的研究还发现,在CpG刺激下,骨髓MSCs与CD3⁺T细胞的直接接触,明显提高MSCs对CD19⁺B细胞增殖的抑制效应^[18]。MSCs可以将B细胞阻滞于G₀/G₁期,却不引起B细胞凋亡。当去除抑制因素后, MSCs对B淋巴细胞的抑制作用可被解除, B淋巴细胞增殖、转化形成IgM、IgG3的能力均可得以恢复^[19], MSCs与B细胞非接触性共培养中发现, MSCs通过所分泌的物质介导B细胞终末分化主要调节因子Blimp-1表达的下调, PAX-5表达的上调来抑制B细胞的终末分化^[20]。MSCs与B细胞接触可诱导MSCs产生更多的血管内皮生长因子,进而诱导AKT磷酸化增加,抑制Caspase-3介导的CD19⁺B细胞凋亡^[21]。因而, MSCs可能是控制B细胞介导的移植物排斥和自身免疫性疾病的有效策略,然而MSCs如何与T细胞、树突状细胞或巨噬细胞相互作用,影响B细胞功能还了解甚少。

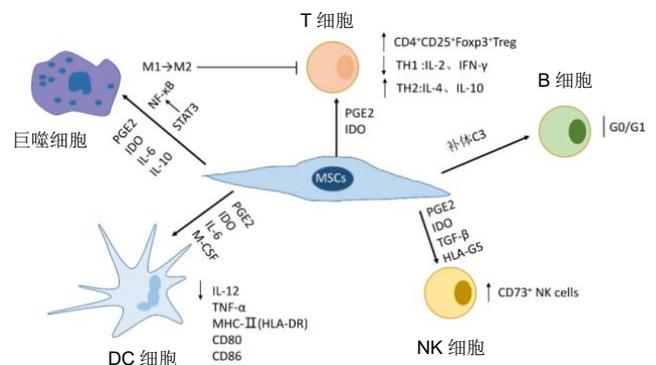
2.3.3 对NK细胞的影响 NK细胞是粒细胞毒性免疫细胞,除了有细胞杀伤功能外,还具有调节适应性免疫应答的作用。它们可以将自身和非自身细胞区别开来,通过裂解、激活靶细胞,产生炎症因子,引起炎症反应和组织器官损伤^[22]。MSCs能够抑制活化的NK细胞的细胞毒作用以及NK细胞增殖和细胞因子分泌;也可通过降低活化标志物如NKp30、NKp44、NKG2D和CD132的表达改变NK细胞表型^[23-24]。MSCs可以通过自分泌或旁分泌方式,经前列腺素E2、吲哚胺-2,3-双加氧酶、转化生长因子 β 和可溶性HLA-G5的调控介导对初始活化的及白细胞介素15或白细胞介素2诱导的NK细胞的增殖产生抑制效应^[25-27], MSCs对NK细胞的影响仍需要细胞-细胞接触来产生^[28]。另有研究认为, MSCs与NK细胞之间还具有双向调节作用^[25],也就是说活化的NK细胞还可以通过受体与配体结合的溶胞途径清除非自体来源的MSCs。而MSCs表达MHC-I分子,能躲避NK细胞的杀伤^[27]。MSCs与NK细胞共培养后, CD73⁺在NK细胞中显著表达,但CD39⁺表达水平保持不变^[29],表达CD73⁺的调节性NK细胞能够将5'-单磷酸腺苷转化为具有免疫调节作用的腺苷,从而控制炎症反应、维持

免疫稳态, 诱导免疫耐受^[30]。

2.3.4 对树突状细胞的调节 树突状细胞作为唯一专职的抗原提呈细胞, 主要是活化初始型T细胞, 它在免疫应答的启动、调控和维持中起重要作用。树突状细胞不仅是T细胞启动的决定性因素, 而且是维持体内自身耐受性的关键因素。未成熟的树突状细胞通常被认为是致免疫耐受性的, 而成熟的树突状细胞则呈现免疫原性。在肿瘤坏死因子 α 刺激条件下, 不完全成熟的树突状细胞诱导无反应性T细胞或调节性T细胞(分泌白细胞介素10)增多而引起T细胞免疫耐受^[31]。MSCs可影响树突状细胞的增殖、分化、抗原内吞、细胞因子释放及抗原递呈能力。当MSCs存在条件下培养树突状细胞刺激的外周血淋巴细胞时, T细胞的增殖可以被显著抑制, 这种抑制效应是由MSCs所分泌的前列腺素E2所介导^[32]。将同种异体胰岛和MSCs共同移植后, 受体小鼠树突状细胞的成熟、内吞作用和促炎因子白细胞介素12分泌均被显著抑制^[33]; MSCs不仅能抑制单核细胞向树突状细胞的初始分化, 还可通过MSCs衍生的前列腺素E2对早期树突状细胞的成熟和功能产生明显抑制作用^[34-35]; MSCs分泌的白细胞介素6和单核细胞集落刺激因子也可显著抑制树突状细胞的分化、内吞作用和白细胞介素12、肿瘤坏死因子 α 的分泌及诱导MHC II类分子的低表达, 而产生更高水平的白细胞介素 1β 和白细胞介素10^[36]。当用MSCs处理成熟的树突状细胞时, 抗原呈递分子HLA-DR、CD1a和共刺激分子CD80、CD86的表达降低, 与下调的白细胞介素12一起, 抑制成熟树突状细胞对同种异体T细胞的活化能力^[34], 树突状细胞转化或发育为诱导免疫耐受的免疫表型。MSCs对树突状细胞的影响是可逆的, 这可能有益于更好地规避其他免疫抑制剂使用所致的长期免疫力低下等突出缺点。

2.3.5 对巨噬细胞的影响 巨噬细胞在加工呈递抗原和免疫调节方面发挥重要作用, 既是一类APC, 又是机体固有免疫的重要组成部分。根据巨噬细胞的激活和发挥免疫功能的方式, 分为成M1型(致炎)和M2型(分泌白细胞介素10、抗炎)。在脂多糖刺激下, 骨髓MSCs的Toll样受体4被激活, 通过髓样分化因子88(MyD88)/NF- κ B途径促进环氧合酶2(COX2)/前列腺素E2的分泌, 作用于巨噬细胞的前列腺素受体EP2和EP4, 诱导巨噬细胞向M2型分化, 并促进抗炎因子白细胞介素10分泌^[37]。随后进一步发现MSCs分泌的肿瘤坏死因子诱导蛋白6与巨噬细胞上的CD44相互作用, 能减弱由酵母聚糖/TLR2/NF- κ B通路诱导的炎症^[38]。此外, MSCs的吲哚胺-2, 3-双加氧酶激活对M2巨噬细胞的生成也有明显促进作用, 而M2巨噬细胞还参与对T细胞的抑制效应, 进一步增强MSCs免疫抑制作用^[39]。MSCs在白细胞介素6的参与下通过前列腺素E2调节免疫抑制功能, 同时前列腺素E2的分泌对M1巨噬细胞向M2巨噬细胞转化产生协

同作用。在类风湿性关节炎小鼠中, 使用白细胞介素6缺乏的MSCs, 显著降低了在体内诱导Th2细胞的免疫应答作用, 表明MSCs的免疫抑制功能主要依赖于白细胞介素6激活的信号通路, 且前列腺素E2可能是其作用的下游信号分子^[40]; 在诱导破骨细胞分化时, COX2/前列腺素E2能够刺激白细胞介素6产生, 而白细胞介素6又反馈诱导破骨细胞中前列腺素E2、COX2的分泌增加^[41]。前列腺素E2所介导的巨噬细胞分泌的白细胞介素10主要是p38-MAPK信号途径被激活所致, 而白细胞介素6的增高与此信号途径无关。MSCs还可通过STAT3途径诱导M2型巨噬细胞的极化, 从而抑制免疫炎症反应^[42]。以上结果证实MSCs可影响巨噬细胞向M2型巨噬细胞的转化, 增强了免疫抑制功能, 减轻了免疫炎症反应。MSCs调节各免疫细胞涉及的相关机制, 见图2。



图注: PGE2: 前列腺素 E2; IDO: 吲哚胺-2, 3-双加氧酶; TGF- β : 转化生长因子 β ; TNF- α : 肿瘤坏死因子 α ; IFN- γ : 干扰素 γ ; IL-6: 白细胞介素 6; IL-10: 白细胞介素 10; HLA-G5: 人白细胞抗原 G; M-CSF: 单核细胞集落刺激因子。

图2 间充质干细胞调节多种免疫细胞涉及其主要作用机制

2.4 MSCs免疫调节特性在器官移植中的临床应用 MSCs对T细胞、B细胞、树突状细胞、NK细胞和巨噬细胞等发挥独特的免疫调节作用, 显著降低排斥反应的发生, 是其能够应用于器官移植领域的前提。大量基础研究及一些动物实验、临床研究已经证实, MSCs在调节免疫细胞功能和改善同种异体造血干细胞移植宿主病及治疗自身免疫性疾病方面展现明显疗效, 也为MSCs治疗器官移植排斥反应奠定了较好的理论和实践依据。截止2018年3月, 基于不同来源的MSCs(骨髓、脐带、脂肪等)在Clinical Trials.gov注册了734项临床试验^[43], 其中器官移植方面有13项, 主要应用于肝、肾、胰腺移植领域, 见表1。Vanikar等^[44]首先使用供者脂肪MSCs进行了一项非随机临床试验, 其主要目的是在100例终末期肾病患者中诱导肾移植的免疫低反应性, 经过18个月随访, 与100例对照组相比较, 脂肪MSCs组移植物的存活率显著提高, 肾小球滤过率高于对照组水平10.0 mL/min, 肾功能明显改善, 产生了持续的低水平的免疫抑制效应, 此后的其他研究也得到了类似的结果。同期的一项为期1年的前瞻性、随机非盲临床试验

表 1 Clinical Trials.gov 中注册的间充质干细胞应用于实体器官移植的临床试验

移植器官	MSCs 来源	MSCs 剂量	免疫抑制方案	给入途径	入选人数	试验阶段(期)	试验状态
肾脏	UC-MSCs	2 次: 移植前 48 h $2 \times 10^6/\text{kg}$, 术中经肾动脉 $5 \times 10^6/\text{kg}$	ATG、泼尼松龙 MMF、CNI	静脉注射、 动脉注射	260	I	注册, NCT02490020
肝脏	UC-MSCs	3 次: 术后 $1 \times 10^6/\text{kg}$, 每 4 周 1 次, 持续 12 周	未知	静脉注射	50	I	未知, NCT01690247
肾脏	同种异体 BM-MSCs	4 次: 术后每周 $1 \times 10^6/\text{kg}$, 连续 4 周	未知	静脉注射	120	I、II	进行中, NCT02563366
肾脏	自体 BM-MSCs	2 次: 移植前静脉松开 10 min 内及移植后 2 周内 $(1.0-2.0) \times 10^6/\text{kg}$	MMF、TAC、CsA	静脉注射	159	II	完成, NCT00658073
肾脏	自体 BM-MSCs	2 次: 移植期间及移植后 7 d $(1.0-2.0) \times 10^6/\text{kg}$	MMF、TAC/CsA、泼尼松龙	静脉注射	15	I	完成, NCT00734396
肾脏	自体 BM-MSCs	1 次: 移植后第 7 天 $2 \times 10^6/\text{kg}$	ATG、MMF、CsA、类固醇	静脉注射	4	I、II	已终止, NCT00752479
肾脏	自体 BM-MSCs	2 次: 移植前 1 d 及移植后第 30 天 $(1.0-2.0) \times 10^6/\text{kg}$	MMF、TAC、泼尼松龙	静脉注射	15	I	进行不招募 NCT02409940
肾脏和肝脏	同种异体 BM-MSCs	1 次: 移植后 3 d $(1.5-3.0) \times 10^6/\text{kg}$	MMF、TAC、类固醇	未知	40	I、II	未知, NCT01429038
肾脏	同种异体 BM-MSCs	4 次: 移植后第 1, 4, 7, 12 天 $1 \times 10^6/\text{kg}$	ATG、低剂量 TAC、MPA、泼尼松龙	静脉注射	120	I、II	尚未招募, NCT02561767
肾脏	自体 AD-MSCs	4 次: 移植后第 1, 4, 7, 12 天 $1 \times 10^6/\text{kg}$	巴利昔单抗诱导	未知	120	I、II	尚未招募, NCT02492308
肝脏	同种异体 BM-MSCs	2 次: 术中经门静脉及术后 2 d 静脉给予 $1 \times 10^6/\text{kg}$	巴利昔单抗、TAC、类固醇	门静脉、 静脉注射	7	I	招募中, NCT02957552
肾脏	自体 BM-MSCs	3 次: 术后第 1, 2, 3 天分别给予 $1 \times 10^6/\text{kg}$, $2 \times 10^6/\text{kg}$, $3 \times 10^6/\text{kg}$	巴利昔单抗、MMF、类固醇	静脉注射	24	II	招募, NCT03478215
胰腺	自体 BM-MSCs	未知	未知	未知	30	I、II	未知, NCT00646724

表注: UC-MSCs: 脐带间充质干细胞; BM-MSCs: 骨髓间充质干细胞; AD-MSCs: 脂肪间充质干细胞; ATG: 抗胸腺细胞球蛋白; MMF: 霉酚酸酯; CNI: 钙调神经磷酸酶抑制剂; TAC: 他克莫司; CsA: 环孢菌素; MPA: 麦考酚酸; NCT 为注册编号。

中, 比较了自体骨髓 MSCs 输注与抗 CD25 抗体巴利昔单抗诱导治疗结果的不同, 在肾移植后 1 个月以及 1 年的随访期中观测到 MSCs 组肾小球滤过率明显高于对照组 (平均差异 9.1 mL/min), 移植后肾功能得到了更明显的改善, 同时, MSCs 组的 105 例中仅有 8 例 (7.5%) 经活检证实存在急性排斥反应, 低于对照组 51 例中有 11 例 (21.6%)。MSCs 组的急性排斥反应的发生率和排斥反应的严重程度均明显降低, 机会性感染的发生率也较低^[45]。脂肪或供者来源的 MSCs 结合低剂量环孢素 A 在肾脏移植的临床试验中也有相同的报道, 即联合 MSCs 治疗器官移植排斥反应的效果更佳^[46-47]。也有文献报道, 短期内 MSCs 与低剂量免疫抑制药物联合使用可促进移植免疫耐受, 也存在潜在的损伤组织器官再生与功能恢复机制^[48]。在第 1 例肝脏移植患者使用干细胞产品的临床试验中, 为期 1 年的观察发现, 最小化的使用免疫抑制剂药物不但更加安全, 且移植获得了更长期的存活, 形成部分免疫耐受, 提示器官移植后 MSCs 移植或 MSCs 配合免疫抑制剂治疗, 可能是长期减少、减轻排斥反应, 减少免疫抑制药物用量和不良反应的有效手段, 为提高器官移植的安全性和有效性提供了诱人的新技术应用前景。

3 总结与展望 Conclusions and prospects

根据 ISCT 的建议提出了 MSCs 最低标准, 当前 MSCs

分离、扩增和治疗使用的程序标准化亦为分离和培养非克隆基质细胞群提供了基本要求, 中国在 2015 年颁布的《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》(试行) 也明确提出制剂质量的稳定性等。然而, 每个非克隆 MSCs 可能含有不同比例的干细胞亚群, 这反过来可能影响总细胞群的生物学特性, 包括 MSCs 的免疫调节功能, 因此在 MSCs 分离、纯化、扩增体系、质量控制等还缺乏针对其不同适应证的完善质量标准与评价体系的情况下^[49], 特别是受者患有终末期肾病、慢性肝病或慢性心功能衰竭等严重疾病时, 是否会对 MSCs 的生物学效力和治疗效果产生不利影响? 移植的 MSCs 非预期分化或长期治疗效果如何? 因此, 针对性地加强 MSCs 制剂工艺和质量标准研究, 对于 MSCs 应用于器官移植治疗, 具有安全性与有效性的基础性保障作用^[50]。

在 MSCs 临床转化应用的初期, 2015 年中国颁布的《干细胞临床研究机构管理办法》必将促进干细胞制剂研究与开发的科学化规范化发展, 从制剂质量可控, 移植途径和剂量明确, 体内示踪及功能学、免疫学、分子生物学评价, 长期随访等, 全面评价 MSCs 临床安全、有效性的体系建设, 也将为 MSCs 应用于器官移植提供可靠的临床参考。MSCs 的给予途径就是一个突出问题, 方便、常用的 MSCs 静脉注射, 可能因部分 MSCs 直径较大、中性粒细胞和血小板促进 MSCs 表达黏附分子等, 可使 MSCs 被“截留”在毛细血管网中^[51], 如肺组织大

量“扣留”MSCs的现象,可能影响MSCs归巢到靶组织,而动脉输注可能导致“微血管闭塞”^[52],通过介入方法经靶器官供血动脉输注MSCs,避免了被肺毛细血管网的“截留”,可实现最佳的治疗效果,但也有禁区或存在一定伤害^[53],局部注射虽然有MSCs定植的明显优势,但临床应用可行性低或存在明显损伤。此外,多中心、大样本研究数据库和规范化治疗方案的建立,更是建立可推而广之的标准化方案的重要基石。

总之,不同来源的MSCs发挥的免疫调节作用能够减轻异体器官移植的免疫排斥反应,改善移植物的生存状况;但是仍有许多问题需要解决,如MSCs其他的免疫调控机制仍不清楚, MSCs体内输注是否具有致癌性危险等。尽管还需要面对诸多的临床应用问题,仍有充分的理由相信,随着对不同来源MSCs认识的不断深入及对各自生物学特性与功能差异的了解,针对器官移植排斥反应发生机制的不断探索,采用适宜的MSCs来源和相应质量标准及最佳临床方案,终将实现移植MSCs治疗异体器官移植的排异反应。

致谢: 感谢遵义医学院附属医院心血管外科徐良研究生对资料搜集及制图工作提供的帮助。

作者贡献: 文章全部作者均参与了文章的撰写和评估。

经费支持: 该文章接受了“国家自然科学基金(81660074)”、“贵州省科技重大专项(黔科合重大专项字[2011]6002)”的资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南: 该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA指南)。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- Baran DA. New directions in immunosuppression after heart transplantation. *Nat Rev Cardiol*. 2013;10(7):422-427.
- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315-317.
- Le Blanc K, Tammik C, Rosendahl K, et al. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Exp Hematol*. 2003;31(10):890-896.
- Tse WT, Pendleton JD, Beyer WM, et al. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation. *Transplantation*. 2003;75(3):389-397.
- Jang IK, Yoon HH, Yang MS, et al. B7-H1 inhibits T cell proliferation through MHC class II in human mesenchymal stem cells. *Transplant Proc*. 2014;46(5):1638-1641.
- Cornelissen AS, Maijenburg MW, Nolte MA, et al. Organ-specific migration of mesenchymal stromal cells: Who, when, where and why. *Immunol Lett*. 2015;168(2):159-169.
- Hall BM. CD4+CD25+ T Regulatory Cells in Transplantation Tolerance: 25 Years On. *Transplantation*. 2016;100(12):2533-2547.
- Kavanagh H, Mahon BP. Allogeneic mesenchymal stem cells prevent allergic airway inflammation by inducing murine regulatory T cells. *Allergy*. 2011;66(4):523-531.
- Luz-Crawford P, Kurte M, Bravo-Alegria J, et al. Mesenchymal stem cells generate a CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cell population during the differentiation process of Th1 and Th17 cells. *Stem Cell Res Ther*. 2013;4(3):65.
- 穆思捷. 人羊膜间充质干细胞体外上调类风湿关节炎患者外周血Treg细胞比例[D]. 遵义:遵义医科大学, 2015.
- Kaundal U, Bagai U, Rakha A, et al. Immunomodulatory plasticity of mesenchymal stem cells: a potential key to successful solid organ transplantation. *J Transl Med*. 2018;16(1):31.
- Zhao X, Ding HF, Guo CS, et al. In vitro effects of mesenchymal stem cells on secreting function of T lymphocytes and CD4+CD25+ T cells from patients with immune thrombocytopenia. *ZhonghuaXue Ye XueZaZhi*. 2013;34(12):1015-1019.
- Cho KS, Kim YW, Kang MJ, et al. Immunomodulatory Effect of Mesenchymal Stem Cells on T Lymphocyte and Cytokine Expression in Nasal Polyps. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2014;150(6):1062-1070.
- Tobin LM, Healy ME, English K, et al. Human mesenchymal stem cells suppress donor CD4(+) T cell proliferation and reduce pathology in a humanized mouse model of acute graft-versus-host disease. *Clin Exp Immunol*. 2013;172(2):333-348.
- Hsu WT, Lin CH, Chiang BL, et al. Prostaglandin E2 potentiates mesenchymal stem cell-induced IL-10+IFN-γ+ CD4+ regulatory T cells to control transplant arteriosclerosis. *J Immunol*. 2013;190(5):2372-2380.
- Cagliani J, Grande D, Molmenti EP, et al. Immunomodulation by Mesenchymal Stromal Cells and Their Clinical Applications. *J Stem Cell Regen Biol*. 2017;3(2):1-26.
- Franquesa M, Hoogduijn MJ, Bestard O, et al. Immunomodulatory effect of mesenchymal stem cells on B cells. *Front Immunol*. 2012;3:212.
- Rosado MM, Bernardo ME, Scarsella M, et al. Inhibition of B-cell proliferation and antibody production by mesenchymal stromal cells is mediated by T cells. *Stem Cells Dev*. 2015;24(1):93-103.
- Tabera S, Pérez-Simón JA, Díez-Campelo M, et al. The effect of mesenchymal stem cells on the viability, proliferation and differentiation of B-lymphocytes. *Haematologica*. 2008;93(9):1301-1309.
- Asari S, Itakura S, Ferreri K, et al. Mesenchymal stem cells suppress B-cell terminal differentiation. *Exp Hematol*. 2009;37(5):604-615.
- Healy ME, Bergin R, Mahon BP, et al. Mesenchymal stromal cells protect against caspase 3-mediated apoptosis of CD19(+) peripheral B cells through contact-dependent upregulation of VEGF. *Stem Cells Dev*. 2015;24(20):2391-2402.

- [22] Reinders ME, Hoogduijn MJ. NK Cells and MSCs: Possible Implications for MSC Therapy in Renal Transplantation. *J Stem Cell Res Ther*. 2014;4(2):1000166.
- [23] Spaggiari GM, Capobianco A, Becchetti S, et al. Mesenchymal stem cell-natural killer cell interactions: evidence that activated NK cells are capable of killing MSCs, whereas MSCs can inhibit IL-2-induced NK-cell proliferation. *Blood*. 2006;107(4):1484-1490.
- [24] Spaggiari GM, Capobianco A, Abdelrazik H, et al. Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2, 3-dioxygenase and prostaglandin E2. *Blood*. 2008;111(3):1327-1333.
- [25] Sotiropoulou PA, Perez SA, Gritzapis AD, et al. Interactions between human mesenchymal stem cells and natural killer cells. *Stem Cells*. 2006;24(1):74-85.
- [26] Selmani Z, Naji A, Zidi I, et al. Human leukocyte antigen-G5 secretion by human mesenchymal stem cells is required to suppress T lymphocyte and natural killer function and to induce CD4+CD25highFOXP3+ regulatory T cells. *Stem Cells*. 2008;26(1):212-222.
- [27] Poggi A, Prevosto C, Massaro AM, et al. Interaction between human NK cells and bone marrow stromal cells induces NK cell triggering: role of NKp30 and NKG2D receptors. *J Immunol*. 2005;175(10):6352-6360.
- [28] Casado JG, Tarazona R, Sanchez-Margallo FM. NK and MSCs crosstalk: the sense of immunomodulation and their sensitivity. *Stem Cell Rev*. 2013;9(2):184-189.
- [29] Chatterjee D, Tufa DM, Baehre H, et al. Natural killer cells acquire CD73 expression upon exposure to mesenchymal stem cells. *Blood*. 2014;123(4):594-595.
- [30] Fu B, Tian Z, Wei H. Subsets of human natural killer cells and their regulatory effects. *Immunology*. 2014;141(4):483-489.
- [31] Hirata N, Yanagawa Y, Satoh M, et al. Dendritic cell-derived TNF-alpha is responsible for development of IL-10-producing CD4+ T cells. *Cell Immunol*. 2010;261(1):37-41.
- [32] van den Berk LC, Jansen BJ, Snowden S, et al. Cord blood mesenchymal stem cells suppress DC-T Cell proliferation via prostaglandin B2. *Stem Cells Dev*. 2014;23(14):1582-1593.
- [33] Li FR, Wang XG, Deng CY, et al. Immune modulation of co-transplantation mesenchymal stem cells with islet on T and dendritic cells. *Clin Exp Immunol*. 2010;161(2):357-363.
- [34] Jiang XX, Zhang Y, Liu B, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. *Blood*. 2005;105(10):4120-4126.
- [35] Spaggiari GM, Abdelrazik H, Becchetti F, et al. MSCs inhibit monocyte-derived DC maturation and function by selectively interfering with the generation of immature DCs: central role of MSC-derived prostaglandin E2. *Blood*. 2009;113(26):6576-6583.
- [36] Beyth S, Borovsky Z, Mevorach D, et al. Human mesenchymal stem cells alter antigen-presenting cell maturation and induce T-cell unresponsiveness. *Blood*. 2005;105(5):2214-2219.
- [37] Németh K, Leelahavanichkul A, Yuen PS, et al. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nat Med*. 2009;15(1):42-49.
- [38] Choi H, Lee RH, Bazhanov N, et al. Anti-inflammatory protein TSG-6 secreted by activated MSCs attenuates zymosan-induced mouse peritonitis by decreasing TLR2/NF-kB signaling in resident macrophages. *Blood*. 2011;118(2):330-338.
- [39] François M, Romieu-Mourez R, Li M, et al. Human MSC suppression correlates with cytokine induction of indoleamine 2, 3-dioxygenase and bystander M2 macrophage differentiation. *Mol Ther*. 2012;20(1):187-195.
- [40] Bouffi C, Bony C, Courties G, et al. IL-6-dependent PGE2 secretion by mesenchymal stem cells inhibits local inflammation in experimental arthritis. *PLoS One*. 2010;5(12):e14247.
- [41] Liu XH, Kirschenbaum A, Yao S, et al. Interactive effect of interleukin-6 and prostaglandin E2 on osteoclastogenesis via the OPG/RANKL/RANK system. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1068:225-233.
- [42] Gao S, Mao F, Zhang B, et al. Mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells induce macrophage M2 polarization through the nuclear factor-kB and signal transducer and activator of transcription 3 pathways. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2014;239(3):366-375.
- [43] Squillaro T, Peluso G, Galderisi U. Clinical Trials With Mesenchymal Stem Cells: An Update. *Cell Transplant*. 2016;25(5):829-848.
- [44] Vanikar AV, Trivedi HL, Feroze A, et al. Effect of co-transplantation of mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells as compared to hematopoietic stem cell transplantation alone in renal transplantation to achieve donor hypo-responsiveness. *Int Urol Nephrol*. 2011;43(1):225-232.
- [45] Tan J, Wu W, Xu X, et al. Induction therapy with autologous mesenchymal stem cells in living-related kidney transplants: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2012;307(11):1169-1177.
- [46] Vanikar AV, Trivedi HL, Kumar A, et al. Co-infusion of donor adipose tissue-derived mesenchymal and hematopoietic stem cells helps safe minimization of immunosuppression in renal transplantation - single center experience. *Ren Fail*. 2014;36(9):1376-1384.
- [47] Pan GH, Chen Z, Xu L, et al. Low-dose tacrolimus combined with donor-derived mesenchymal stem cells after renal transplantation: a prospective, non-randomized study. *Oncotarget*. 2016;7(11):12089-12101.
- [48] Obermajer N, Popp FC, Johnson CL, et al. Rationale and prospects of mesenchymal stem cell therapy for liver transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2014;19(1):60-64.
- [49] Menard C, Pacelli L, Bassi G, et al. Clinical-grade mesenchymal stromal cells produced under various good manufacturing practice processes differ in their immunomodulatory properties: standardization of immune quality controls. *Stem Cells Dev*. 2013;22(12):1789-1801.
- [50] Haarer J, Johnson CL, Soeder Y, et al. Caveats of mesenchymal stem cell therapy in solid organ transplantation. *Transpl Int*. 2015;28(1):1-9.
- [51] Teo GS, Yang Z, Carman CV, et al. Intravital imaging of mesenchymal stem cell trafficking and association with platelets and neutrophils. *Stem Cells*. 2015;33(1):265-277.
- [52] Vandeputte C, Taymans JM, Casteels C, et al. Automated quantitative gait analysis in animal models of movement disorders. *BMC Neurosci*. 2010;11:92.
- [53] 徐璐, 廖德怀, 陈正, 等. 肾移植中经移植肾动脉输注骨髓间充质干细胞3例报告[J]. *中国组织工程研究*, 2010, 14(53):10049-10052.