

间充质干细胞对巨噬细胞免疫调节效应的研究进展

薛婧, 程愈, 郝好杰, 母义明

解放军总医院 内分泌科, 北京 100853

摘要: 间充质干细胞是一类具有自我更新和多向分化潜能的成体干细胞, 近年来间充质干细胞强大的免疫调节能力越来越受到重视。巨噬细胞是人体重要的固有免疫细胞, 研究发现间充质干细胞能显著调节巨噬细胞的表型和功能, 此特性是间充质干细胞抑制炎症和促进组织修复的重要机制之一。本综述主要对间充质干细胞在体内和体外对巨噬细胞功能、表型的调节及其机制进行了分析和总结, 为间充质干细胞的临床应用提供新思路。

关键词: 间充质干细胞; 巨噬细胞; 免疫调控

中图分类号: R 392 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2018)04-0353-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2018.04.020

网络出版时间: 2018-02-09 15:59 **网络出版地址:** http://kns.cnki.net/kcms/detail/10.1117.R.20180209.1558.004.html

Advances in immunomodulatory effect of mesenchymal stem cells on macrophages

XUE Jing, CHENG Yu, HAO Haojie, MU Yiming

Department of Endocrinology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: MU Yiming. Email: muyiming@301hospital.com.cn

Abstract: Mesenchymal stem cells are a kind of adult stem cells characterized by the ability to self-renew and differentiate into multiple cell types. Recently, more attention has been paid to the immunomodulation and regenerative capacities of mesenchymal stem cells (MSCs). Macrophages are essential components of innate immunity. Researches have illustrated that mesenchymal stem cells are able to regulate the phenotype and function of macrophages, and the alteration of macrophages plays a pivotal role in controlling inflammation and facilitating tissue repair. In this review, the mechanism of the regulatory effect of MSCs on macrophages are analyzed and summarized, which may provide a new insight into the clinical application of mesenchymal stem cells.

Keywords: mesenchymal stem cells; macrophages; immunoregulation

间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)是低免疫原性的成体干细胞, 在特定的条件下可分化为脂肪细胞、成骨细胞以及软骨细胞等多种组织细胞。研究发现除了多向分化潜能, MSC还具有强大免疫调控能力, 包括诱导Treg细胞的分化, 抑制CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞的增殖, 调节B细胞的增殖、分化和抗体分泌能力等^[1]。近年来MSC对固有免疫细胞的调节作用受到了越来越多的关注。巨噬细胞是固有免疫的重要组成部分, 在抗击病原微生物、损伤修复等方面具有重要作用, 并能随着微环境变化而调整分泌谱和功能状态^[2]。研究发现MSC对巨噬细胞表型具有调节作用, 促进其从促炎表型向抗炎表型极化, 从而发挥抑制炎症反应, 维持微环境稳态的效应, 这一效应在糖尿病、心肌梗死、难愈性创伤等多种疾病的治疗中发挥着重要作用^[3-6]。本文将MSC对巨噬细胞表型和功能调节的相关研究进展进行了分析和总结, 以期对MSC的免疫调节效应有更深层的理解。

1 巨噬细胞分型

巨噬细胞根据其表面标记物、细胞因子分泌谱、功能

等可基本分为两种类型: 经典活化的M1型巨噬细胞和选择性活化的M2型巨噬细胞。M1型巨噬细胞主要分泌促炎因子, 如肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor, TNF- α)、白细胞介素1 β (interleukin 1 β , IL-1 β)、IL-12、IL-23等, 在炎症的起始和发展中有着重要作用。常见M1型巨噬细胞分子标志有CD11c、HLA-DR、CD197等; M2型巨噬细胞主要分泌高浓度的抑炎因子和营养因子, 如IL-10、转化生长因子 β 、血管内皮生长因子等, 能缓解炎症反应, 促进组织修复, 常见M2型巨噬细胞分子标志有CD206、CD163、CD301等^[2]。机体内多种因素能调节巨噬细胞的表型, 并且巨噬细胞表型变化与机体生理及病理过程密切相关。如人体正常脂肪组织中, 固有巨噬细胞大多为CD11b、CD301和CD206阳性的M2型巨噬细胞, 它们通过分泌IL-10等抗炎型细胞因子促进脂肪细胞的胰岛素敏感性。随着肥胖进程, 脂肪细胞释放的高饱和脂肪酸、白三烯B4, 干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)等炎性介质促进巨噬细胞的招募和向M1方向极化, 增多的M1型巨噬细胞分泌TNF- α 、IL-1 β 等促炎因子, 进一步加重了脂肪组织的胰岛素抵抗^[7]。

2 MSC对巨噬细胞的调节机制

2.1 MSC通过分泌效应促进巨噬细胞极化 研究发现, MSC能分泌多种细胞因子和营养性因子, 如前列腺素E2 (prostaglandin E2, PGE2)、IL10、TSG-6、NO、(TGF- β)-1、IL6、犬尿氨酸、乳酸盐等, 这些因子在缓解炎症和修复受损组织过程中发挥着关键作用。MSC对巨噬细胞的

收稿日期: 2018-01-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(81700680; 81700679)

Supported by the National Basic Science and Development Program (81700680; 81700679)

作者简介: 薛婧, 女, 在读硕士。Email: 1404492873@qq.com

通信作者: 母义明, 男, 博士, 主任医师, 主任。Email: muyiming@301hospital.com.cn

调节作用与MSC的分泌效应密切相关,研究发现MSC分泌的多种因子具有调节巨噬细胞表型和功能的作用。

PGE2是一种重要的细胞生长因子,具有抗炎和免疫抑制作用。Nemeth等^[8]最早报道小鼠骨髓来源MSC能通过分泌PGE2促使巨噬细胞向M2表型分化,巨噬细胞分泌IL10增加,从而缓解小鼠败血症。Ylostalo等^[9]的研究发现人源性MSC同样能通过PGE2促进巨噬细胞向M2表型极化。Chiossone等^[3]发现,人骨髓来源MSC通过分泌PGE2促进单核细胞在巨噬细胞集落刺激因子作用下极化为一种特殊类型的抑炎型巨噬细胞。这些巨噬细胞能够抑制NK细胞的激活和CD8⁺T细胞复制、促进调节性T细胞的增殖,从而同时减轻固有免疫和获得性免疫反应。以上研究表明PGE2是MSC促进巨噬极化的重要细胞因子之一。

肿瘤坏死因子诱导蛋白6(tumor necrosis factor- α -stimulated protein-6, TSG-6)是一种30 kU的糖蛋白,与炎症调节和细胞外基质的稳定性相关。Ko等^[10]发现,输注人源MSC后,通过分泌TSG-6使小鼠肺部B220及CD11b呈阳性并伴有IL-10、F4/80、Ly6C高表达的单核/巨噬细胞增多,提示单核/巨噬细胞向M2极化。Liu等^[11]在小鼠骨髓来源MSC治疗小鼠结肠炎的研究中,同样发现MSC通过分泌TSG-6抑制巨噬细胞炎性因子分泌,从而有效缓解结肠炎。

白细胞介素1受体拮抗剂(interleukin-1-receptor antagonist, IL-1RA)属于IL-1家族,可与IL-1竞争结合位点,从而拮抗IL-1的促炎作用。在非特异性有丝分裂原导致的肝损伤模型中, Lee等^[12]发现MSC输注后肺部M2型巨噬细胞增多,敲除MSC的IL-1RA基因后,肺部巨噬细胞IL-10、Arg1的表达下降, MSC缓解肝损伤作用减弱。Luz-Crawford等^[13]在小鼠关节炎模型中用IL1RA基因敲除MSC进一步验证了IL1RA在MSC促进巨噬细胞极化中的作用。

除了以上细胞因子,近年来也有报道MSC可通过分泌IL-6、吲哚胺2,3-二加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)、乳酸盐等因子以及外泌体促进巨噬细胞向抑炎表型极化^[5,14-16]。如Tang等^[17]发现MSC分泌的小囊泡中Ang-1 mRNA能调节巨噬细胞表型向M2极化。François等^[14]发现,经过IFN- γ 和TNF- α 预处理的人源MSC分泌IDO增加,促使人单核细胞向CD14(+)/CD206(+)的M2型巨噬细胞的分化。该型巨噬细胞能通过IL-10抑制T细胞分化。以上研究提示, MSC在不同疾病模型中,分泌的主要效应因子有所差异,但是这些细胞因子大多能调节巨噬细胞表型,从而达到放大MSC免疫抑制效应的效果。

2.2 其他调节机制 MSC的分泌效应被认为是MSC调节巨噬细胞表型和功能的主要方式,但近期有研究团队另辟蹊径,发现MSC和巨噬细胞的直接接触同样参与了巨噬细胞的表型转变。Braza等发现肺部巨噬细胞吞噬了外源输注的MSC后会转变为M2表型,有效缓解了小鼠哮喘^[18]。同样,有研究报道热失活的人源MSC仍有免疫调节效应。Luk等^[19]通过热失活使MSC在保留细胞完整性和免疫表型的同时,失去分泌效应对炎症信号主动回应的能力。热失活MSC失去对T细胞和B细胞的调节能力,但仍能抑制单核/

巨噬细胞TNF- α 的合成。Gonçalves等^[20]将MSC破裂后细胞膜形成的颗粒(membrane particles, MP)输入体内,发现MP能被单核细胞识别并捕获,诱导促炎单核细胞凋亡,并增加抗炎单核细胞比例。这些研究提示我们,除了MSC主动分泌细胞因子,单核/巨噬细胞对MSC的主动识别、吞噬也参与了巨噬细胞表型的改变。

此外最近研究报道, MSC还能够通过向巨噬细胞传递线粒体调节巨噬细胞功能^[21-24]。Phinney等^[22]发现, MSC可分泌外泌体调低巨噬细胞Toll样受体的表达,使巨噬细胞更易吞噬MSC释放的线粒体。进一步的, Jackson等^[23]报道了MSC线粒体可以通过细胞间隧道纳米管直接传递给巨噬细胞。通过吞噬MSC来源线粒体,巨噬细胞的能量代谢和噬菌作用均有所增强,从而增加了清除病原微生物的能力。

MSC能通过多种机制调节巨噬细胞表型和功能,但是值得注意的是, MSC对巨噬细胞功能的调节不是单向的,巨噬细胞同样能够影响MSC的分泌功能。如巨噬细胞能分泌IL-1 β 刺激MSC的IL-1RA和PGE2合成, MSC分泌的IL-1RA和PGE2进一步改变了巨噬细胞表型^[8,25]。

3 MSC对巨噬细胞的调节与疾病治疗的关系

巨噬细胞分布广泛,是机体内重要的抗原提呈细胞和吞噬细胞,在应对外源性病原微生物和维持机体稳态上发挥着重要作用,参与了许多免疫和炎症性疾病的发生、发展和修复过程。在体内和体外研究中均发现MSC可促进单核细胞/M1型巨噬细胞向M2型巨噬细胞极化^[3,8,14,26-27]。Kim和Hematti^[26]最早报道人骨髓来源的MSC能促进M2型巨噬细胞产生。他们发现人源性巨噬细胞与人骨髓来源的MSC共培养后,巨噬细胞CD206表达上调,抗炎因子如IL-10分泌增加,并伴随着吞噬功能增强。张泽宇等^[28]也发现脂肪间充质干细胞能促进巨噬细胞极化,并增强巨噬细胞清除凋亡中性粒细胞的能力。体内研究方面,多种疾病的动物模型中均发现MSC输注后受损组织内的巨噬细胞表型和功能发生改变,从而缓解疾病进展,促进组织修复。Wang等^[29]研究发现急性心肌梗死模型小鼠输注小鼠骨髓间充质干细胞后,受损心肌组织M2型巨噬细胞增多,促进了心肌组织血管再生和形态、功能的修复。用氯膦酸盐去除巨噬细胞后, MSC治疗作用被削弱。在输注MSC治疗急性肾损伤、STZ诱导的急性胰岛损伤、难愈型创伤、败血症、脊髓挫伤等以急性炎症为特征的疾病过程中也有类似现象报道^[16,30-32]。对于慢性炎症性疾病,如类风湿关节炎、2型糖尿病等, MSC也能够通过调节组织巨噬细胞表型向M2型分化,延缓了疾病进展^[5,32]。此外, MSC对巨噬细胞的调节也参与了自身免疫性疾病的治疗^[33]。You等^[33]发现MSC输注后诱导肝Kupffer细胞向抑炎表型极化,从而减轻大鼠肝移植后的急性免疫排斥反应。Ko等^[10]发现MSC输注后,通过调节肺部单核/巨噬细胞向免疫抑制表型分化,减轻了小鼠角膜异体移植术后的排斥反应和自身免疫性葡萄膜炎。MSC对巨噬细胞的调节作用同样参与了MSC在生物工程学中的应用。Ding等^[34]报道以骨髓间充质干细胞为基础的工程软骨可以通过增加巨噬细胞向M2极化抑制炎症,从

而使工程软骨更好地在体内发挥作用。需要注意的是,间充质干细胞调节巨噬细胞向M2表型极化也参与了肿瘤的发展^[35-36],这提示我们揭示间充质干细胞对巨噬细胞的调节机制,将有助于肿瘤性疾病的治疗。

4 结语

近年来研究揭示了MSC和巨噬细胞之间存在着复杂的调控关系。MSC能通过分泌PGE2、TSG-6、ILRA、IL6、IDO等多种因子,传递线粒体等调节巨噬细胞的表型和功能,此外巨噬细胞对MSC的主动识别、吞噬也参与了巨噬细胞表型的改变。MSC通过调节巨噬细胞显著放大自身的抗炎效应和免疫抑制效应,这是MSC治疗2型糖尿病、急性肾损伤、类风湿关节炎、移植后排斥反应等多种炎症性疾病和自身免疫性疾病的重要机制之一。目前MSC调节巨噬细胞的具体分子机制仍有许多不明确之处,进一步研究MSC对巨噬细胞表型和功能的影响将能更好地阐明MSC对各种自身免疫性及炎症性疾病的治疗机制,帮助我们优化干细胞临床运用方式,对于MSC治疗的发展具有重要意义。

参考文献

- Bernardo ME, Fibbe WE. Mesenchymal stromal cells: sensors and switchers of inflammation [J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 13 (4): 392-402.
- Murray PJ, Allen JE, Biswas SK, et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines [J]. *Immunity*, 2014, 41 (1): 14-20.
- Chiossone L, Conte R, Spaggiari GM, et al. Mesenchymal Stromal Cells Induce Peculiar Alternatively Activated Macrophages Capable of Dampening Both Innate and Adaptive Immune Responses [J]. *Stem Cells*, 2016, 34 (7): 1909-1921.
- Ti D, Hao H, Tong C, et al. LPS-preconditioned mesenchymal stromal cells modify macrophage polarization for resolution of chronic inflammation via exosome-shuttled let-7b [J]. *J Transl Med*, 2015, 13: 308.
- Xie Z, Hao H, Tong C, et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells elicit macrophages into an anti-inflammatory phenotype to alleviate insulin resistance in type 2 diabetic rats [J]. *Stem Cells*, 2016, 34 (3): 627-639.
- 谢敏,郝好杰,刘杰杰,等.间充质干细胞治疗代谢综合征的机制研究进展 [J]. *解放军医学院学报*, 2017 (7): 700-702.
- McNelis JC, Olefsky JM. Macrophages, immunity, and metabolic disease [J]. *Immunity*, 2014, 41 (1): 36-48.
- Nemeth 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 [J]. *Nat Med*, 2009, 15 (1): 42-49.
- Ylostalo JH, Bartosh TJ, Coble K, et al. Human mesenchymal stem/stromal cells cultured as spheroids are self-activated to produce prostaglandin E2 that directs stimulated macrophages into an anti-inflammatory phenotype [J]. *Stem Cells*, 2012, 30 (10): 2283-2296.
- Ko JH, Lee HJ, Jeong HJ, et al. Mesenchymal stem/stromal cells precondition lung monocytes/macrophages to produce tolerance against allo- and autoimmunity in the eye [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113 (1): 158-163.
- Liu Y, Zhang R, Yan K, et al. Mesenchymal stem cells inhibit lipopolysaccharide-induced inflammatory responses of BV2 microglial cells through TSG-6 [J]. *J Neuroinflammation*, 2014, 11: 135.
- Lee KC, Lin HC, Huang YH, et al. Allo-transplantation of mesenchymal stem cells attenuates hepatic injury through IL1Ra dependent macrophage switch in a mouse model of liver disease [J]. *J Hepatol*, 2015, 63 (6): 1405-1412.
- Luz-Crawford P, Djouad F, Toupet K, et al. Mesenchymal Stem Cell-Derived Interleukin 1 Receptor Antagonist Promotes Macrophage Polarization and Inhibits B Cell Differentiation [J]. *Stem Cells*, 2016, 34 (2): 483-492.
- 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 [J]. *Mol Ther*, 2012, 20 (1): 187-195.
- Selleri S, Bifsha P, Civini S, et al. Human mesenchymal stromal cell-secreted lactate induces M2-macrophage differentiation by metabolic reprogramming [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (21): 30193.
- Lankford KL, Arroyo EJ, Nazimek K, et al. Intravenously delivered mesenchymal stem cell-derived exosomes target M2-type macrophages in the injured spinal cord [J]. *PLoS ONE*, 2018, 13 (1): e0190358.
- Tang XD, Shi L, Monsel A, et al. Mesenchymal Stem Cell Microvesicles Attenuate Acute Lung Injury in Mice Partly Mediated by Ang-1 mRNA [J]. *Stem Cells*, 2017, 35 (7): 1849-1859.
- Lu W, Fu C, Song L, et al. Exposure to supernatants of macrophages that phagocytized dead mesenchymal stem cells improves hypoxic cardiomyocytes survival [J]. *Int J Cardiol*, 2013, 165 (2): 333-340.
- Luk F, de Witte SF, Korevaar SS, et al. Inactivated Mesenchymal Stem Cells Maintain Immunomodulatory Capacity [J]. *Stem Cells Dev*, 2016, 25 (18): 1342-1354.
- Gonçalves FDC, Luk F, Korevaar SS, et al. Membrane particles generated from mesenchymal stromal cells modulate immune responses by selective targeting of pro-inflammatory monocytes [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 12100.
- Lo Sicco C, Reverberi D, Balbi C, et al. Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles as Mediators of Anti-Inflammatory Effects: Endorsement of Macrophage Polarization [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6 (3): 1018-1028.
- Phinney DG, Di Giuseppe M, Njah J, et al. Mesenchymal stem cells use extracellular vesicles to outsource mitophagy and shuttle microRNAs [J]. 2015, 6: 8472.
- Jackson MV, Morrison TJ, Doherty DF, et al. Mitochondrial Transfer via Tunneling Nanotubes is an Important Mechanism by Which Mesenchymal Stem Cells Enhance Macrophage Phagocytosis in the In Vitro and In Vivo Models of ARDS [J]. *Stem Cells*, 2016, 34 (8): 2210-2223.
- Jackson MV, Krasnodemskaia AD. Analysis of Mitochondrial Transfer in Direct Co-cultures of Human Monocyte-derived Macrophages (MDM) and Mesenchymal Stem Cells (MSC) [J]. *Bio Protoc*, 2017, 7 (9): e2255.
- Bustos ML, Huleihel L, Meyer EM, et al. Activation of human mesenchymal stem cells impacts their therapeutic abilities in lung injury by increasing interleukin (IL)-10 and IL-1RN levels [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2013, 2 (11): 884-895.
- Kim J, Hematti P. Mesenchymal stem cell-educated macrophages: a novel type of alternatively activated macrophages [J]. *Exp Hematol*, 2009, 37 (12): 1445-1453.
- Zhang QZ, Su WR, Shi SH, et al. Human gingiva-derived mesenchymal stem cells elicit polarization of m2 macrophages and enhance cutaneous wound healing [J]. *Stem Cells*, 2010, 28 (10): 1856-1868.
- 张泽宇,易军,陈光辉.脂肪间充质干细胞对巨噬细胞清除凋亡中性粒细胞的影响 [J]. *解放军医学院学报*, 2016 (3): 256-260.

(上接355页)

- 29 Wang M, Zhang G, Wang Y, et al. Crosstalk of mesenchymal stem cells and macrophages promotes cardiac muscle repair [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2015, 58 : 53–61.
- 30 Cao X, Han ZB, Zhao H, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells recruits trophic macrophages to induce pancreatic beta cell regeneration in diabetic mice [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2014, 53 : 372–379.
- 31 Wise AF, Williams TM, Kiewiet MB, et al. Human mesenchymal stem cells alter macrophage phenotype and promote regeneration via homing to the kidney following ischemia–reperfusion injury [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2014, 306 (10) : F1222–F1235.
- 32 Anderson P, Souza-Moreira L, Morell M, et al. Adipose-derived mesenchymal stromal cells induce immunomodulatory macrophages which protect from experimental colitis and sepsis [J]. *Gut*, 2013, 62 (8) : 1131–1141.
- 33 You Y, Zhang J, Gong J, et al. Mesenchymal stromal cell-dependent reprogramming of Kupffer cells is mediated by TNF- α and PGE2 and is crucial for liver transplant tolerance [J]. *Immunol Res*, 2015, 62 (3) : 292–305.
- 34 Ding J, Chen B, Lv T, et al. Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell-Based Engineered Cartilage Ameliorates Polyglycolic Acid/Poly-lactic Acid Scaffold-Induced Inflammation Through M2 Polarization of Macrophages in a Pig Model [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5(8) : 1079–1089.
- 35 Ren G, Zhao X, Wang Y, et al. CCR2-dependent recruitment of macrophages by tumor-educated mesenchymal stromal cells promotes tumor development and is mimicked by TNF α [J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 11 (6) : 812–824.
- 36 Motegi SI, Ishikawa O. Mesenchymal stem cells : The roles and functions in cutaneous wound healing and tumor growth [J]. *J Dermatol Sci*, 2017, 86 (2) : 83–89.