

间充质干细胞在急性肾损伤中免疫调节作用的研究进展

郑志民¹, 杨红霞¹, 申众辉¹, 陈健文²

¹永州职业技术学院医学院 药理学教研室, 湖南永州 425000; ²解放军总医院第一医学中心 肾脏病科, 解放军肾脏病研究所, 肾脏疾病国家重点实验室, 国家慢性肾病临床医学研究中心, 肾脏疾病研究北京市重点实验室, 北京 100853

摘要: 间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 为干细胞家族重要成员之一, 可从骨髓、脂肪、脐带、外周血等多种组织中分离获得, 具有强大的免疫调节作用, 可广泛调节先天和适应性免疫系统。在急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 中, MSCs 可通过调节免疫、抑制全身及局灶炎症反应, 减轻肾损伤、促进组织再生。本文回顾 MSCs 在 AKI 中发挥的免疫调节作用机制及其近年来的研究进展, 旨在为 AKI 的临床治疗提供新的思路 and 方向。

关键词: 间充质干细胞; 急性肾损伤; 免疫调节; 炎症反应; 修复

中图分类号: R 692.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2021)11-1207-05 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2021.11.017

网络出版时间: 2021-09-23 12:05 **网络出版地址:** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/10.1117.R.20210922.1303.006.html>

引用本文: 郑志民, 杨红霞, 申众辉, 等. 间充质干细胞在急性肾损伤中免疫调节作用的研究进展 [J]. 解放军医学院学报, 2021, 42 (11) : 1207-1210, 1229.

Research advances in immunomodulatory effect of mesenchymal stem cells in acute kidney injury

ZHENG Zhimin¹, YANG Hongxia¹, SHEN Zhonghui¹, CHEN Jianwen²

¹ Department of Pharmacology, School of Medicine, Yongzhou Vocational and Technical College, Yongzhou 425000, Hunan Province, China; ² Department of Nephrology, the First Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Chinese PLA Institute of Nephrology, State Key Laboratory of Kidney Diseases, National Clinical Research Center for Kidney Diseases, Beijing Key Laboratory of Kidney Diseases, Beijing 100853, China

Corresponding author: CHEN Jianwen. Email: ilwincjw2015@126.com

Abstract: Mesenchymal stem cells (MSCs), one of the important members of the stem cell family, can be isolated from bone marrow, adipose tissue, umbilical cord, peripheral blood and other tissues. They play a strong immune regulatory role and can widely regulate the innate and adaptive immune system. In acute kidney injury (AKI), MSCs can alleviate kidney injury and promote tissue regeneration by regulating the immune system and inhibiting systemic and focal inflammatory responses. In this paper, we review the mechanism and research advances in MSCs in the immunoregulatory role of AKI in recent years, aiming to provide new ideas and directions for the clinical treatment of acute kidney injury.

Keywords: mesenchymal stem cells; acute kidney injury; immunoregulation; inflammatory response; repair

Cited as: Zheng ZHM, Yang HX, Shen ZHH, et al. Research advances in immunomodulatory effect of mesenchymal stem cells in acute kidney injury [J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2021, 42 (11) : 1207-1210, 1229.

急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 是由缺血、药物等因素导致的以短时间内肾小管上皮细胞坏死和肾功能减退为主的临床综合征。AKI 发

病率高、病死率高, 治疗措施有限^[1]。间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 为干细胞家族重要成员之一, 具有强大的自我更新、再生及向其他细胞谱系分化的能力, 还具有能够逃避宿主免疫监视、易于获取及体外扩增的特点^[2]。近年来, MSCs 的研究日趋增多, 其在 AKI 治疗中的应用也成为热点。目前研究表明, MSCs 减轻肾组织损伤及促进损伤修复作用的主要机制有增强免疫调节、促进肾小管上皮细胞增殖修复、促进血管再生、改善线粒体功能障碍、抑制氧化应激及抑制细胞凋亡等^[3-6], 其中 MSCs 强大的免疫调节

收稿日期: 2021-07-23

基金项目: 湖南省教育厅科学研究项目 (19C1855); 国家自然科学基金项目 (82100713); 中国博士后科学基金 (2021T140791)

Supported by the Scientific Research Project of Education Department of Hunan Province (19C1855); National Natural Science Foundation of China (82100713); China Postdoctoral Science Foundation (2021T140791)

作者简介: 郑志民, 男, 硕士。研究方向: 药理学。Email: Yaoli zzm@163.com

通信作者: 陈健文, 男, 博士, 主治医师, 博士后。Email: ilwincjw2015@126.com

作用在减轻组织损伤中发挥了重要的作用^[7]。免疫系统和肾损伤之间有着非常紧密的联系,在AKI早期,循环中的中性粒细胞和单核细胞迅速浸润损伤肾并释放溶酶体酶,导致小管上皮细胞损伤^[8]。随后,损伤的肾小管上皮细胞、激活的内皮细胞、组织巨噬细胞及自然杀伤(natural killer, NK)细胞之间的对话诱导氧化应激和补体激活,导致线粒体功能障碍和脂质过氧化,加重细胞损伤过程^[9]。这些免疫反应形成了一个持续的恶性循环,而MSCs可在上述各个过程中发挥免疫调节作用。因此,本文就MSCs在治疗AKI中发挥的免疫调节作用机制作一综述。

1 MSCs可抑制AKI后中性粒细胞浸润

多项研究表明,住院患者发生AKI的风险与循环中性粒细胞的百分比呈正相关,提示中性粒细胞参与了AKI的发病^[10]。中性粒细胞最早在急性损伤后1h即可检测到,并在24h时达到高峰^[11]。中性粒细胞通过与内皮趋化因子和黏附分子(整合素等)相互作用而被募集到损伤的肾,产生并分泌细胞毒性化合物(如活性氧),同时黏附在内皮上并渗透到炎症组织中,加剧组织损伤。在缺血再灌注期间,中性粒细胞可聚集到肾髓质血管内皮,造成血管充血,阻碍肾髓质血流,肾微循环的损害也增加了活化中性粒细胞的肾转运时间,增加其在肾小管周围毛细血管中释放的炎症介质浓度,进一步加重肾损伤^[12]。Simovic Markovic等^[13]报道,腹腔内给予MSCs可显著减轻顺铂诱导的肾损伤,显著抑制受损肾中性粒细胞的浸润,降低炎症因子肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白细胞介素(interleukin, IL)-17水平,提高血清IL-10、一氧化氮(nitric oxide, NO)等抗炎细胞因子的水平。Luo等^[14]研究也发现MSCs治疗可减少肾中性粒细胞浸润,降低血清和肾组织中IL-17等相关炎性因子的表达,降低脓毒症AKI的血液细菌负荷,促进肾小管功能恢复。Burgos-Silva等^[15]通过应用脂肪组织来源MSCs治疗叶酸诱导肾损伤小鼠,治疗24h后,趋化因子表达减少,中性粒细胞浸润减少,肾功能改善。

2 MSCs可促进AKI后巨噬细胞向M2型转换

单核-吞噬细胞在正常肾中较少。肾缺血再灌注损伤早期,中性粒细胞与NK细胞聚集至损伤肾并活化,释放活性氧(reactive oxygen species, ROS)及干扰素,损伤的小管释放损伤相关分子、单核细胞趋化蛋白(monocyte chemoattractant protein 1, MCP1)等趋化因子,通过CCR2等趋化

因子受体促进巨噬细胞浸润并促进M1型巨噬细胞激活^[16]。M1型巨噬细胞激活后,表达高水平的炎症因子(TNF- α 、INF- γ 、IL-1、IL-6、IL-12等)和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)等,一氧化氮与活性氧相互作用后会产生细胞毒性过氧亚硝酸盐,诱导小管细胞凋亡。损伤后的修复期,滞留和浸润的巨噬细胞转换到M2巨噬细胞调节表型,通过释放抗炎介质(IL-10、TGF- β 1、VEGF、IL-4等)限制炎症反应,通过Wnt通路,促进肾小管上皮细胞增殖,发挥损伤修复和免疫调节作用^[17]。MSCs分泌的前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)和吲哚胺2,3双加氧酶(indoleamine 2,3 dioxygenase, IDO)能促进巨噬细胞分化为抗炎的M2型巨噬细胞,改善MSCs的抗炎作用,减少顺铂引起的肾损害。Geng等^[18]发现, MSCs可促进巨噬细胞向M2表型转化,保护横纹肌溶解诱导的AKI小鼠免受肾功能损伤和严重肾小管损伤,且氯磷酸钠消耗巨噬细胞延迟了AKI修复。巨噬细胞(M1)与MSCs在体外共培养时,CD206水平高,标志着巨噬细胞从促炎的M1型向抗炎的M2型转化, M2巨噬细胞表达高水平的IL-10和低水平的TNF- α , 输注共培养的巨噬细胞后AKI损伤缓解^[18-19]。对MSC与巨噬细胞共培养的培养基进行细胞因子芯片分析,发现表皮生长因子、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子、CXCL1、CCL5、IL-6、IL-8、MCP1等因子在共培养上清中表达升高,提示这些因素可能在MSCs介导的巨噬细胞M1向M2极化转变中发挥重要作用^[19]。

3 MSCs可调节树突状细胞功能

肾小管上皮和肾小管周毛细血管之间存在大量树突状细胞(dendritic cell, DC),可与肾小管上皮和内皮及循环免疫效应细胞直接相互作用。DC有两种类型——促炎表型(成熟DC, mDCs)和抗炎表型(未成熟DC, iDCs),分别具有免疫诱导和免疫耐受能力。因此,DC的调节失衡将导致AKI的发生和进展^[7]。肾滞留的DC是AKI过程中TNF- α 分泌的主要来源,其通过分泌TNF- α 、细胞膜表面的Toll样受体和NOD样受体以及作为T细胞的抗原提呈细胞促进TH1细胞激活,释放TH17细胞诱导因子IL-1和IL-23,上调黏附分子表达,促进中性粒细胞外渗,介导肾损伤发生^[20-22]。在顺铂诱导的AKI中,IL-4和TNF- α 在初始阶段将iDCs激活为成熟表型,导致肾损伤^[22]。Wang等^[23]研究表明,IL-10主要来自DC而非调节性T细胞,其对顺

铂诱导的肾毒性具有显著的内源性保护作用。Tadagavadi 和 Reeves^[22] 研究表明, IL-10 主要由肾 iDCs 分泌, 可诱导一氧化氮合酶合成, 降低顺铂的肾毒性。MSCs 可通过促进肾 iDCs 分泌 IL-10, 促进一氧化氮合酶的活性, 减轻肾损伤^[13]。此外, MSCs 可以抑制 DC 成熟, 并促进其向耐受免疫抑制表型转变; 可以通过分泌 PGE2、单核细胞集落刺激因子、IL-10 和 TGF- β 等, 抑制单核细胞向 iDCs 转化; 还可通过分泌 TGF- β 、PGE2 等抑制 iDCs 向 mDCs 的成熟; MSCs 还能抑制 DC 的抗原提呈作用并减少促炎细胞因子的产生^[24]。这些免疫调节作用有助于减少 AKI 后的肾损伤。

4 MSCs 可诱导 T 细胞向调节性 T 细胞分化

调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 是一种免疫抑制性 T 细胞, 其表型特征是 IL-2 受体 (CD25) 的高表达并通过转录因子 FOXP3 维持功能, 它在 AKI 发生和进展中起到重要的作用^[25]。AKI 后, CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺ 的 Treg 通过释放 TGF- β 和 IL-10, 抑制 IL-1 β 、TNF- α 和 IFN- γ 的产生, 并减少 CD4⁺ T 细胞的增殖等多种途径抑制炎症, 减轻肾小管损伤^[26]。抗 CD25 抗体部分敲除 Treg, 导致 AKI 后肾中性粒细胞和巨噬细胞增多, 加重肾小管损伤, Treg 可能是通过 IL-10 介导的先天免疫系统的抑制来调节肾缺血再灌注后的损伤^[27]。在顺铂诱导的 AKI 中, CD4⁺ CD25⁺ 的 Treg 在顺铂给药后不久就可迁移到肾, 发挥肾保护作用, Treg 敲除后, 顺铂 AKI 模型肾损伤加重。将 Treg 移植入 T 细胞缺陷小鼠中, 可减轻肾功能不全, 缓解肾巨噬细胞浸润, 降低 TNF- α 和 IL-1 β 等因子水平, 发挥肾保护作用^[12]。MSCs 可抑制 Th 和 CD8⁺ T 细胞的产生和活化, 也可通过分泌肝细胞生长因子、TGF- β 、PGE2 和 IDO 等诱导幼稚 CD4⁺ T 细胞分化为 Treg, 进而发挥肾保护作用^[24]。MSCs 在体内和体外水平均增加脾细胞中 Treg 的百分比, 而且 MSCs 可抑制脾细胞的增殖, 抑制 T 细胞产生 IFN- γ , 减轻缺血再灌注诱导的 AKI; 脾切除术可降低 MSCs 对 AKI 的治疗作用, Treg 的清除也可减弱 MSCs 的治疗作用^[28]。

5 MSCs 可改善 AKI 后补体系统激活

补体系统是一种重要的先天性体液防御屏障, 由 20 多种血浆蛋白组成, 可通过 3 种途径激活——经典途径、替代途径或凝集素途径, 导致 C5 分裂为 C5a 和 C5b, 形成膜攻击复合物, 最终引起细胞膜穿孔受损^[29]。补体系统在 AKI 后快速激活^[30], 补体因子 B 的靶向缺失可加重肾损伤^[31],

C3 与 C6 敲除小鼠肾损伤减轻, 单克隆抗 C5 补体因子可改善肾内补体激活, 减少局部和全身炎症, 改善肾小球滤过率, 表明补体系统在 AKI 中发挥重要作用^[32-33]。补体激活通过膜攻击复合物的产生、免疫细胞的募集以及小管细胞和内皮细胞中 C3b 和 C5b 受体的激活造成肾损伤^[34]。MSCs 可显著降低 AKI 后小鼠血清中 C5a 水平和肾组织中 C5aR 的表达, 降低 NF- κ B 易位和炎症因子的表达, 因而 MSCs 可通过抑制 C5a/C5aR-NF- κ B 通路的激活缓解 AKI^[35]。

6 结语与展望

在 AKI 过程中, 先天性和适应性免疫系统的免疫细胞, 如中性粒细胞、巨噬细胞、树突状细胞、T 淋巴细胞、补体系统以及免疫系统分泌的各种细胞因子、趋化因子和活性氧参与了肾损伤的免疫病理机制, 促进了疾病进展。MSCs 具有强大的免疫调节作用, 在 AKI 中, MSCs 可通过调节先天和适应性免疫、抑制全身及局部炎症反应, 减轻肾损伤、促进组织再生并延缓 AKI 进展。

目前, 许多研究者通过各种预处理的方法提高 MSCs 的免疫调节能力, 调节相关免疫应答, 增强 MSCs 的肾修复作用^[36]。然而, 对于预处理的短期和长期影响, MSCs 发挥免疫调节作用的具体分子机制以及 MSCs 与免疫细胞间的相互作用关系的研究, 仍有待进一步拓广与深化。MSCs 在 AKI 不同阶段的免疫调节特点也需要得到更多的关注。将 MSCs 推广到 AKI 的临床治疗, 现阶段也还需要克服很多共性的困难^[6, 37]。首先, 肾结构高度复杂, 细胞类型有 30 余种, AKI 的病因各不相同, 发病机制也不尽相似, 每种类型的 AKI 的免疫微环境还可能影响 MSCs 的存活、定植、增殖、迁移和损伤组织的融入, 从而影响 MSCs 发挥作用。其次, 最佳给药方式目前仍然没有统一的定论。目前研究表明, 静脉注射、动脉注射、腹腔注射、大网膜包裹、肾实质注射以及肾包膜下注射给药均有良好的治疗效果。静脉给药最大的问题是肺部截留, 能够到达肾的 MSCs 非常少; 动脉给药最大的问题在于临床应用受限; 大网膜包裹与肾局部给药在临床应用中不太实际, 特别是由于肾病是弥漫性的, 局部给药效果有限。再次, MSCs 的注射时间、注射剂量, 仍然没有得到最佳的定论^[38]。MSCs 由于受到 AKI 损伤微环境影响, 其注射时机对组织修复的成功至关重要。大剂量 MSCs 会导致细胞滞留在肺内阻塞肺毛细血管, 引起通气和呼吸困难。而

低剂量多次给药容易引起免疫反应, 增加肺部滞留风险。MSCs 在体内环境下, 免疫豁免状态可能会逐渐消失, 且 MSCs 长期存活较为困难, 难以持续发挥作用。上述共性困难也需要更多的深入和系统的研究共同克服。

参考文献

- 1 Chen JW, Chen YL, Olivero A, et al. Identification and validation of potential biomarkers and their functions in acute kidney injury [J]. *Front Genet*, 2020, 11: 411.
- 2 Zakrzewski W, Dobrzyński M, Szymonowicz M, et al. Stem cells: past, present, and future [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10 (1) : 68.
- 3 Liu Y, Fang J. Mesenchymal Stem Cells as Therapeutic Agents and Novel Carriers for the Delivery of Candidate Genes in Acute Kidney Injury [J/OL]. <https://doi.org/10.1155/2020/8875554>.
- 4 Zhao LF, Hu CX, Zhang P, et al. Melatonin preconditioning is an effective strategy for mesenchymal stem cell-based therapy for kidney disease [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24 (1) : 25-33.
- 5 Huang Y, Yang L. Mesenchymal stem cells and extracellular vesicles in therapy against kidney diseases [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12 (1) : 219.
- 6 Sávio-Silva C, Soinski-Sousa PE, Balby-Rocha MTA, et al. Mesenchymal stem cell therapy in acute kidney injury (AKI): review and perspectives [J]. *Revista Da Assoc Med Brasileira* 1992, 2020, 66Suppl 1 (Suppl 1) : s45-s54.
- 7 Han Q, Wang X, Ding X, et al. Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells on drug-induced acute kidney injury [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 683003.
- 8 Lee KH, Tseng WC, Yang CY, et al. The anti-inflammatory, anti-oxidative, and anti-apoptotic benefits of stem cells in acute ischemic kidney injury [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (14) : E3529.
- 9 Huen SC, Cantley LG. Macrophages in renal injury and repair [J]. *Annu Rev Physiol*, 2017, 79: 449-469.
- 10 Gameiro J, Fonseca JA, Dias JM, et al. Neutrophil, lymphocyte and platelet ratio as a predictor of postoperative acute kidney injury in major abdominal surgery [J]. *BMC Nephrol*, 2018, 19 (1) : 320.
- 11 Kinsey GR, Okusa MD. Expanding role of T cells in acute kidney injury [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2014, 23 (1) : 9-16.
- 12 Singbartl K, Formeck CL, Kellum JA. Kidney-immune system crosstalk in AKI [J]. *Semin Nephrol*, 2019, 39 (1) : 96-106.
- 13 Simovic Markovic B, Gazdic M, Arsenijevic A, et al. Mesenchymal Stem Cells Attenuate Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in iNOS-Dependent Manner [J/OL]. <https://doi.org/10.1155/2017/1315378>.
- 14 Luo CJ, Zhang FJ, Zhang L, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate Sepsis-associated acute kidney injury in mice [J]. *Shock*, 2014, 41 (2) : 123-129.
- 15 Burgos-Silva M, Semedo-Kuriki P, Donizetti-Oliveira C, et al. Adipose tissue-derived stem cells reduce acute and chronic kidney damage in mice [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (11) : e0142183.
- 16 Huen SC, Cantley LG. Macrophage-mediated injury and repair after ischemic kidney injury [J]. *Pediatr Nephrol*, 2015, 30 (2) : 199-209.
- 17 Lever JM, Hull TD, Boddu R, et al. Resident macrophages reprogram toward a developmental state after acute kidney injury [J]. *JCI Insight*, 2019, 4 (2) : 125503.
- 18 Geng Y, Zhang L, Fu B, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate rhabdomyolysis-induced acute kidney injury via the activation of M2 macrophages [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2014, 5 (3) : 80.
- 19 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.
- 20 Pindjakova J, Hanley SA, Duffy MM, et al. Interleukin-1 accounts for intrarenal Th17 cell activation during ureteral obstruction [J]. *Kidney Int*, 2012, 81 (4) : 379-390.
- 21 Dong X, Swaminathan S, Bachman LA, et al. Resident dendritic cells are the predominant TNF-secreting cell in early renal ischemia-reperfusion injury [J]. *Kidney Int*, 2007, 71 (7) : 619-628.
- 22 Tadagavadi RK, Reeves WB. Endogenous IL-10 attenuates cisplatin nephrotoxicity: role of dendritic cells [J]. *J Immunol*, 2010, 185 (8) : 4904-4911.
- 23 Wang WW, Wang YM, Li K, et al. IL-10 from dendritic cells but not from T regulatory cells protects against cisplatin-induced nephrotoxicity [J]. *PLoS One*, 2020, 15 (9) : e0238816.
- 24 Abumaree MH, Abomaray FM, Alshabibi MA, et al. Immunomodulatory properties of human placental mesenchymal stem/stromal cells [J]. *Placenta*, 2017, 59: 87-95.
- 25 Radi ZA. Immunopathogenesis of acute kidney injury [J]. *Toxicol Pathol*, 2018, 46 (8) : 930-943.
- 26 Dellepiane S, Leventhal JS, Cravedi P. T cells and acute kidney injury: a two-way relationship [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1546.
- 27 Kinsey GR, Sharma R, Huang LP, et al. Regulatory T cells suppress innate immunity in kidney ischemia-reperfusion injury [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20 (8) : 1744-1753.
- 28 Hu J, Zhang L, Wang N, et al. Mesenchymal stem cells attenuate ischemic acute kidney injury by inducing regulatory T cells through splenocyte interactions [J]. *Kidney Int*, 2013, 84 (3) : 521-531.
- 29 Rodríguez E, Gimeno J, Arias-Cabrales C, et al. Membrane attack complex and factor H in humans with acute kidney injury [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2018, 43 (5) : 1655-1665.
- 30 Palviainen MJ, Junnikkala S, Raekallio M, et al. Activation of complement system in kidney after ketoprofen-induced kidney injury in sheep [J]. *Acta Vet Scand*, 2015, 57: 15.
- 31 Amura CR, Renner B, Lyubchenko T, et al. Complement activation and toll-like receptor-2 signaling contribute to cytokine production after renal ischemia/reperfusion [J]. *Mol Immunol*, 2012, 52 (3/4) : 249-257.
- 32 Zilberman-Itskovich S, Abu-Hamad R, Stark M, et al. Effect of anti-C5 antibody on recuperation from ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury [J]. *Ren Fail*, 2019, 41 (1) : 967-975.
- 33 Zhou W, Farrar CA, Abe K, et al. Predominant role for C5b-9 in renal ischemia/reperfusion injury [J]. *J Clin Invest*, 2000, 105 (10) : 1363-1371.