

间充质干细胞对类风湿关节炎适应性免疫细胞的调节作用

张卓君 李 芳 李 欣

摘 要 类风湿关节炎的常规用药主要是改善病情的药物及生物制剂,但这些药物的不良反应及逐渐产生的耐药性给部分患者的治疗带来一定困难。因此,寻求新的治疗方案势在必行。间充质干细胞除了具有自我更新及多向分化潜能外,还具有较强的免疫调节能力。从类风湿关节炎小鼠模型到人类,间充质干细胞对类风湿关节炎的治疗作用逐渐得到认可,但其对类风湿关节炎 T、B 淋巴细胞的调节作用及其机制尚未完全明确。因此,本文主要阐述间充质干细胞对类风湿关节炎部分适应性免疫细胞的影响及可能的机制。

关键词 类风湿关节炎 间充质干细胞 T 淋巴细胞 B 淋巴细胞 免疫调节

中图分类号 R593.22

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.05.006

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种病因未明的以滑膜增生、炎性细胞浸润、关节骨和软组织的进行性损伤以及多器官受累为主要特征的自身免疫性疾病。RA 不受控制的进行性炎症和关节损伤使患者出现不可逆的关节畸形,降低患者的生活质量。尽管临床上已常规使用改善病情的抗风湿药及生物制剂来预防或延缓疾病的进展,但有研究发现,这些药物的不良反应及逐渐产生的耐药性不利于疾病的治疗^[1]。由此可见,目前仍缺乏有效的治疗 RA 的方法。

间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 长期以来被认为是一种具有自我更新及多向分化潜能的干细胞类型,但后来的研究发现,MSCs 具有低免疫原性及较强的免疫抑制作用。MSCs 低表达 MHC I 类分子且缺乏 MHC II 类分子和共刺激分子的表达,不易被免疫系统识别,从而具有较低的免疫原性。MSCs 可以抑制 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的增殖和发育,诱导调节性 T 细胞的产生,促进 M2 巨噬细胞的极化,削弱树突状细胞的功能,并抑制自然杀伤细胞的成熟^[2]。而 MSCs 这些作用的发挥,是通过细胞接触或分泌可溶性因子实现的。本文重点介绍 MSCs

对参与 RA 发生、发展的部分 T、B 淋巴细胞的调节作用及其可能的机制。

一、T 淋巴细胞

T 淋巴细胞主要参与细胞免疫,其主要功能是释放细胞因子、参与抗原递呈以及直接杀伤靶细胞。MSCs 能够抑制 T 淋巴细胞的增殖、分化、迁移及炎性细胞因子的释放,同时诱导具有免疫调节功能的 T 细胞,从而发挥免疫抑制作用。大量研究证实,CD4⁺T 辅助细胞参与 RA 的病理过程,其中 Th1/Th2 及 Th17/Treg 比值的失衡与 RA 的疾病活动密切相关,除此以外,还有研究发现,Tfh 细胞和以 V γ 9V δ 2⁺T 细胞为代表的异质性 $\gamma\delta$ T 细胞与 RA 的发生密切相关^[3,4]。因此,以下重点阐述 MSCs 对这些免疫细胞的调节作用。

1. 调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg): Treg 细胞通常表现为 FOXP3⁺CD4⁺CD25⁺表型,通过细胞接触与分泌白细胞介素 - 10 (interleukin - 10, IL - 10)、转化生长因子 - β (transforming growth factor, TGF - β) 等免疫抑制性细胞因子发挥免疫抑制作用,从而诱导免疫耐受及维持免疫稳态。有研究发现, MSCs 通过上调胶原诱导关节炎 (collagen induced arthritis, CIA) 小鼠 Treg 细胞 FOXP3 启动区转录因子 Helios 表达,促进 Treg 细胞的增殖及 IL - 10、TGF - β 的分泌,并呈剂量依赖性,而 Treg 细胞分泌的 TGF - β 还可诱导 T 淋巴细胞上发挥免疫抑制活性的 FOXP3 的产生。本研究还发现,骨髓来源的 MSCs 的这种调节作用优于脂肪及脐带血来源的 MSCs^[5]。

基金项目:山西省回国留学人员科研资助项目(2016 - 117)

作者单位:030001 太原,山西医科大学第二医院风湿免疫科(张卓君、李芳);101149 首都医科大学附属北京潞河医院内分泌代谢与免疫性疾病中心(李欣)

通讯作者:李芳,博士,主任医师,硕士生导师,电子信箱:sunshine5670@hotmail.com

MSCs 促进 Th1 和 Treg 细胞向炎症组织内迁移及其在引流淋巴结内的优先积聚,同时还能在不改变 II 型胶原抗体水平的情况下调节 Th17/Treg 的平衡,而这可能与 MSCs 诱导的 IFN- γ ⁺ Th1 细胞诱导 CIA 小鼠内源性吲哚胺 2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3 dioxygenase, IDO)的产生有关^[6]。Vasilev 等^[7]研究发现,脂肪间充质干细胞(adipose mesenchymal stem cells, AD-MSCs)通过分泌可溶性因子 PGE₂、IL-6、sVEGF-A、CCL2 促进中、高疾病活动度 RA 患者外周血单个核细胞中 CD4⁺ FOXP3⁺ T 细胞增殖。一项关于 RA 的体内 I a 期临床试验中发现中度活动的 RA 患者在静脉注射脐带间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cells, UC-MSCs)后,其外周血产生 IL-10 的 Treg 细胞的数量显著增加^[8]。由此可知,无论在体内、体外, MSCs 均能诱导 Treg 细胞产生,从而诱导免疫耐受。

2. 辅助性 T 细胞 17 (T helper cell 17, Th17): Th17 细胞是 CD4⁺ 辅助性 T 细胞的一个独特亚型,其定义与其分泌 IL-17 有关,而 IL-17 与机体对感染因素的防御及多种自身免疫性疾病的发生、发展相关。值得注意的是, Th17 细胞的活性受 Th1 和 Th2 型细胞因子的调节。MSCs 通过上调转录因子 FOXP3 的表达及下调 ROR γ t 的表达促进 Treg 细胞的分化及抑制 RA 患者外周血 Th17 细胞的分化,从而调节 Th17/Treg 的平衡,并促进 TGF- β 的分泌及抑制 IL-17 的分泌^[9]。研究发现, AD-MSCs 促进 CIA 小鼠脾脏内 T 淋巴细胞向引流淋巴结的迁移并促进 Th17 细胞向分泌 IL-10 的调节表型转变^[10]。MSCs 还能通过释放依赖于 IL-6 的 PGE₂ 诱导宿主的 Th1/Th17 反应向 Th2 反应转变,从而减轻宿主的炎症反应^[11]。在骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs)与 PBMC 共培养的实验中发现, Th17 细胞的增殖受到抑制,而这可能与 BM-MSCs 分泌的趋化因子 CCL2 有关^[12]。MSCs 除了分泌可溶性因子抑制 Th17 细胞的增殖和功能外,还可通过细胞接触依赖机制将线粒体转移入记忆性 Th17 细胞使其表达 FOXP3 获得抗炎表型^[13]。

3. 滤泡辅助 T 细胞(T follicular helper cell, Tfh): Tfh 细胞表达 C-X-C 趋化因子受体 5(C-X-C chemokine receptor type 5, CXCR5)、诱导共刺激分子(induced costimulatory molecule, ICOS)、程序性细胞死亡蛋白 1(programmed death protein-1, PD-1)、CD40 配体(CD40 ligand, CD40L)等分子,主要位于次

级淋巴组织的 B 淋巴细胞滤泡,参与 B 淋巴细胞生发中心的形成。Tfh 细胞通过分泌 IL-21 作用于 IL-21 受体促进 B 淋巴细胞分化为抗体形成细胞,从而产生抗体参与免疫反应,因此, Tfh 细胞的功能失调及其相关分子的过度表达或缺失都有可能自身免疫病或免疫缺陷的发生^[14]。有研究发现, RA 患者外周血 Tfh 细胞的数量明显增加,并与血清 IL-21、抗环瓜氨酸多肽抗体水平及疾病活动度呈正比,这表明 Tfh 细胞可能与 RA 的发病机制及疾病进展相关^[3]。Liu 等^[15]研究发现, UC-MSCs 通过分泌 IDO 抑制 Tfh 细胞的增殖、分化及其功能,但不促进其凋亡。同时, Tfh 细胞分泌的 IFN- γ 还能诱导 UC-MSCs 分泌 IDO,这进一步增强了 MSCs 的免疫抑制活性,从而进一步延缓 RA 的进展。MSCs 通过分泌 PGE₂ 与 CD4⁺ T 细胞上的前列腺素受体 EP₂、EP₄ 结合,从而抑制 CIA 小鼠外周血 CD4⁺ CXCR5⁺ ICOS⁺ Tfh 细胞的增殖,减轻炎症反应^[16]。

4. 辅助性 T 细胞 1(T helper cell 1, Th1)/辅助性 T 细胞 2(T helper cell 2, Th2): Th1 细胞主要分泌 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2 等 Th1 型细胞因子,并与 RA 等多种自身免疫性疾病的发生、发展相关。Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-6、IL-10 等 Th2 型细胞因子,它们参与了 B 淋巴细胞的活化,并能抑制 Th1 细胞的增殖。MSCs 通过分泌半乳糖凝集素 1 抑制 Th1 细胞的增殖和分化及促进 Th2 细胞的增殖和分化^[17]。MSCs 还能通过促进 Th1 细胞向分泌 IL-10 的免疫表型转化及通过抑制其他 CD4⁺ T 细胞上的 IFN- γ 受体的功能抑制其增殖,从而减轻与 Th1 细胞相关的炎症反应^[18]。Luz-Crawford 等^[19]研究发现, MSCs 抑制 CIA 小鼠 Th1 和 Th17 细胞分化并促进淋巴结及脾脏中 Th2 相关细胞因子 IL-5、IL-10、IL-13 的分泌,最终调节 Th1/Th2 的平衡,从而延缓 CIA 的进展。

5. V γ 9V δ 2⁺ T 细胞: γ δ T 细胞是 RA 患者血清和滑液中炎症细胞因子的重要来源,其中, V γ 9V δ 2⁺ T 细胞分泌高水平的 IFN- γ 、IL-17 加重炎症和免疫功能紊乱^[4]。V γ 9V δ 2⁺ T 细胞在 RA 患者的血液及关节滑液中大量存在,可将抗原递呈给初始 CD4⁺ T 细胞并激活更多的效应 T 细胞引起过度免疫反应。MSCs 能够抑制 V γ 9V δ 2⁺ T 细胞增殖、细胞毒作用和细胞因子的产生。UC-MSCs 通过抑制 V γ 9V δ 2⁺ T 细胞表面 FasL 及肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体的表达抑制其细胞溶解反应,同时不影响 V γ 9V δ 2⁺ T

细胞的凋亡^[20]。MSCs 释放的环氧化酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 依赖的 PGE₂ 作用于 V γ 9V δ 2⁺T 细胞上的受体 EP₂ 和 EP₄ 抑制 V γ 9V δ 2⁺T 细胞增殖并抑制其 IFN- γ 及功能酶颗粒的释放,这一过程与共培养的 MSCs 的数量相关^[20,21]。由此可见, MSCs 通过抑制炎症细胞因子的产生和改变 V γ 9V δ 2⁺T 细胞的活性抑制 V γ 9V δ 2⁺T 细胞介导的免疫应答,从而减轻机体的过度免疫状态,并最终预防自身免疫病的发生及延缓 RA 的进展。

二、B 淋巴细胞

B 淋巴细胞除了在 T 淋巴细胞及抗原刺激下分化为浆细胞产生抗体参与体液免疫外,还可分化为调节性 B 细胞参与免疫抑制过程。RA 除了累及全身多关节外,还累及关节外器官和组织,而 B 淋巴细胞参与了这一过程。有研究发现,RA 患者受累关节的异位淋巴滤泡组织分泌的抗环瓜氨酸多肽抗体与 RA 的疾病活动相关^[22]。

1. 浆细胞:浆细胞是参与适应性免疫的 B2 细胞分化形成的抗体形成细胞,与 RA 的疾病活动相关。MSCs 通过 COX-2 途径抑制 B 淋巴细胞的增殖和成熟,从而减轻与 B 淋巴细胞相关的炎症反应^[23]。另外, MSCs 通过抑制 B 淋巴细胞表面早期活化标志物 CD69 和共刺激分子 CD86 的表达来抑制 B 淋巴细胞的活化,并抑制 B 淋巴细胞对 T 淋巴细胞的抗原递呈功能的调节作用^[24]。Corcione 等^[25] 研究发现, MSCs 可通过分泌可溶性抑制因子将 B 淋巴细胞阻滞于 G₀/G₁ 期,从而抑制 B 淋巴细胞的增殖,但不诱导其凋亡。同时, BM-MSCs 释放可溶性因子上调 PAX5 的表达及下调 B 淋巴细胞终末分化主要转录调节因子 Blimp-1 抑制 B 淋巴细胞向浆细胞的终末分化^[26]。MSCs 可通过抑制 B 淋巴细胞分泌 IL-4 来抑制效应 B 细胞的活化,同时诱导 B 淋巴细胞向分泌 IL-10 的调节性 B 细胞表型转化,进一步加强 MSCs 对 B 淋巴细胞活化的抑制作用^[24]。Gowhari 等^[27] 研究发现,自体 BM-MSCs 通过抑制难治性 RA 患者体内促进 B 淋巴细胞分化和存活的 B 淋巴细胞活化因子 (B-cell activating factor, BAFF)、增殖诱导配体 (a proliferation-inducing ligand, APRIL) 的产生及抑制 B 淋巴细胞表面受体 BAFF 受体 3 (BAFF receptor, BR3)、B 淋巴细胞成熟抗原 (B cell maturation antigen, BCMA)、跨膜激活剂和钙调亲环素配体相互作用分子 (interaction molecules between transmembrane activators and calmodulin ligands, TACI) 的表达

抑制 B 淋巴细胞的增殖和分化,同时抑制抗环瓜氨酸多肽抗体的产生,从而抑制 B 淋巴细胞介导的体液免疫,最终缓解 RA 的症状。除此以外, MSCs 还可通过抑制 Tfh 细胞的功能间接抑制 B 淋巴细胞向浆细胞分化及 IgM、IgG 的合成^[15]。

2. 调节性 B 细胞 (regulatory B cell, Breg): Breg 细胞包括多种亚型,除了分泌 IL-10 发挥免疫调节作用外,还能通过分泌 IL-35 抑制炎症性 Th1 细胞和 Th17 细胞的分化及诱导 Treg 细胞和 Breg 细胞的增殖,从而抑制自身免疫性疾病的发生和延缓疾病进展^[28]。MSCs 可通过趋化因子 SDF-1 α 及其受体 CCR7 途径直接促进 CD19⁺IL-10⁺Breg 细胞的增殖,从而产生免疫抑制微环境^[29]。Luz-Crawford 等^[30] 研究发现, BM-MSCs 通过分泌白细胞介素-1 受体拮抗剂 (interleukin-1 receptor antagonist, IL-1RA) 抑制 B 淋巴细胞向分泌 IgG 的 CD19⁺CD138⁺ 浆细胞的分化,同时促进 B 淋巴细胞分泌 IL-10,这可能与 IL-1RA 促进产生 IL-10 的 Breg 样细胞的分化有关,而在 CIA 小鼠体内, BM-MSCs 仅能抑制 B 淋巴细胞的成熟和分化,未观察到产生 IL-10 的 Breg 样细胞的显著增加。这种差异可能与 BM-MSCs 所处的炎症微环境有关。

三、展 望

RA 所致的关节畸形严重影响患者的生活质量,目前的治疗方式不能有效缓解患者的关节症状。因此,寻找新的治疗方式势在必行。MSCs 可以抑制促炎 T 细胞 (Th1、Th17、Tfh 等)、B 淋巴细胞的功能和诱导具有调节表型的 T 细胞 (Th2、Treg)、Breg 细胞而发挥免疫抑制功能。另外, MSCs 的免疫调节作用还呈剂量依赖性, MSCs 数量过多或过少都不会达到预想的结果。目前,无论从 RA 炎症模型到 RA 患者,还是由体外实验到体内研究, MSCs 对 RA 的有益作用都得到了逐步确认。但是,关于 MSCs 的研究大多还是动物实验,由于动物和人体基因的差异,不同物种的 MSCs 的免疫调节作用可能不完全相同,除此以外, MSCs 的免疫调节机制尚未完全清楚,因此,对于 MSCs 对 RA 的治疗作用仍有待于进一步研究。但 MSCs 必将会对治疗 RA、提高 RA 患者生活质量产生重要的临床意义。

参考文献

- 1 Guo Q, Wang Y, Xu D, et al. Rheumatoid arthritis: pathological mechanisms and modern pharmacologic therapies [J]. Bone Res, 2018, 6(7): 15
- 2 Uccelli A, de Rosbo NK. The immunomodulatory function of mesen-

- chymal stem cells; mode of action and pathways[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2015, 1351(1): 114-126
- 3 Liu R, Wu Q, Su D, *et al.* A regulatory effect of IL-21 on T follicular helper-like cell and B cell in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2012, 14(6): R255
 - 4 Hu C, Qian L, Miao Y, *et al.* Antigen-presenting effects of effector memory V γ 9V δ 2 T cells in rheumatoid arthritis[J]. *Cell Mol Immunol*, 2012, 9(3): 245-254
 - 5 Park KH, Mun CH, Kang MI, *et al.* Treatment of collagen-induced arthritis using immune modulatory properties of human mesenchymal stem cells[J]. *Cell Transplant*, 2016, 25(6): 1057-1072
 - 6 Gonzalo-Gil E, Pérez-Lorenzo MJ, Galindo M, *et al.* Human embryonic stem cell-derived mesenchymal stromal cells ameliorate collagen-induced arthritis by inducing host-derived indoleamine 2,3-dioxygenase[J]. *Arthritis Res Ther*, 2016, 18(1): 77
 - 7 Vasilev G, Ivanova M, Ivanova-Todorova E, *et al.* Secretory factors produced by adipose mesenchymal stem cells downregulate Th17 and increase Treg cells in peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients[J]. *Rheumatol Int*, 2019, 39(5): 819-826
 - 8 Park EH, Lim HS, Lee S, *et al.* Intravenous infusion of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in rheumatoid arthritis: A phase I clinical trial[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2018, 7(9): 636-642
 - 9 Ma D, Xu K, Zhang G, *et al.* Immunomodulatory effect of human umbilical cord mesenchymal stem cells on T lymphocytes in rheumatoid arthritis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 74: 105687
 - 10 Lopez-Santalla M, Mancheño-Corvo P, Menta R, *et al.* Human adipose-derived mesenchymal stem cells modulate experimental autoimmune arthritis by modifying early adaptive T cell responses[J]. *Stem Cells*, 2015, 33(12): 3493-3503
 - 11 Bouffi C, Bony C, Courties G, *et al.* IL-6-dependent PGE₂ secretion by mesenchymal stem cells inhibits local inflammation in experimental arthritis[J]. *PLoS One*, 2010, 5(12): e14247
 - 12 Sun Y, Deng W, Geng L, *et al.* Mesenchymal stem cells from patients with rheumatoid arthritis display impaired function in inhibiting Th17 cells[J]. *J Immunol Res*, 2015, 2015: 284215
 - 13 Luz-Crawford P, Hernandez J, Djouad F, *et al.* Mesenchymal stem cell repression of Th17 cells is triggered by mitochondrial transfer[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 232
 - 14 King C, Tangye SG, Mackay CR. T follicular helper (TFH) cells in normal and dysregulated immune responses[J]. *Annu Rev Immunol*, 2008, 26: 741-766
 - 15 Liu R, Li X, Zhang Z, *et al.* Allogeneic mesenchymal stem cells inhibited T follicular helper cell generation in rheumatoid arthritis[J]. *Sci Rep*, 2015, 5(1): 12777
 - 16 Wei J, Ouyang X, Tang Y, *et al.* ER-stressed MSC displayed more effective immunomodulation in RA CD4⁺CXCR5⁺ICOS⁺ follicular helper-like T cells through higher PGE₂ binding with EP₂/EP₄[J]. *Mod Rheumatol*, 2020, 30(3): 509-516
 - 17 孙琳, 安卓, 李常虹, 等. 半乳糖凝集素 1 在脐带来源间充质干细胞调控类风湿关节炎患者 T 细胞功能中的作用[J]. *北京大学学报: 医学版*, 2016, 48(6): 964-969
 - 18 Selleri S, Dieng MM, Nicoletti S, *et al.* Cord-blood-derived mesenchymal stromal cells downmodulate CD4⁺T-cell activation by inducing IL-10-producing Th1 cells[J]. *Stem Cells Dev*, 2013, 22(7): 1063-1075
 - 19 Luz-Crawford P, Tejedor G, Mausset-Bonnefont AL, *et al.* Glucocorticoid-induced leucine zipper governs the therapeutic potential of mesenchymal stem cells by inducing a switch from pathogenic to regulatory Th17 cells in a mouse model of collagen-induced arthritis[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2015, 67(6): 1514-1524
 - 20 Liu X, Feng T, Gong T, *et al.* Human umbilical cord mesenchymal stem cells inhibit the function of allogeneic activated V γ 9V δ 2 T lymphocytes in vitro[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 317801
 - 21 Martinet L, Fleury-Cappellesso S, Gadelorge M, *et al.* A regulatory cross-talk between V γ 9V δ 2 T lymphocytes and mesenchymal stem cells[J]. *Eur J Immunol*, 2009, 39(3): 752-762
 - 22 Sakkas LI, Bogdanos DP, Katsiari C, *et al.* Anti-citrullinated peptides as autoantigens in rheumatoid arthritis - relevance to treatment[J]. *Autoimmun Rev*, 2014, 13(11): 1114-1120
 - 23 Shin TH, Lee BC, Choi SW, *et al.* Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells alleviate atopic dermatitis via regulation of B lymphocyte maturation[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(1): 512-522
 - 24 Lu D, Ma T, Zhou XB, *et al.* B lymphocytes are the target of mesenchymal stem cells immunoregulatory effect in a murine graft-versus-host disease model[J]. *Cell Transplant*, 2019, 28(9-10): 1279-1288
 - 25 Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, *et al.* Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions[J]. *Blood*, 2006, 107(1): 367-372
 - 26 Asari S, Itakura S, Ferreri K, *et al.* Mesenchymal stem cells suppress B-cell terminal differentiation[J]. *Exp Hematol*, 2009, 37(5): 604-615
 - 27 Gowhari SA, Shariati-Sarabi Z, Tavakkol-Afshari J, *et al.* A significant decrease of BAFF, APRIL, and BAFF receptors following mesenchymal stem cell transplantation in patients with refractory rheumatoid arthritis[J]. *Gene*, 2020, 732: 144336
 - 28 Sakkas LI, Daoussis D, Mavropoulos A, *et al.* Regulatory B cells: new players in inflammatory and autoimmune rheumatic diseases[J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2019, 48(6): 1133-1141
 - 29 Qin Y, Zhou Z, Zhang F, *et al.* Induction of regulatory B-cells by mesenchymal stem cells is affected by SDF-1 α -CXCR7[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37(1): 117-130
 - 30 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

(收稿日期: 2020-12-28)

(修回日期: 2021-01-13)