

## 特约综述



本实验室主要从事造血干细胞生物学研究,从细胞周期抑制角度揭示造血干细胞静息状态、效能、自我更新、分化、衰老、恶性转化以及重编程的部分分子基础;近几年来,率先开展疾病(如白血病)环境下造血干细胞的行为变化及其调控机制研究,为白血病等疾病的治疗提供新策略。为此,我们还建立了干细胞分选与单细胞分析技术、多种白血病动物模型、鼠源和血液病人来源的iPS细胞系以及干细胞药物筛选平台,以期干细胞转化医学研究探索一条可行的路径。

## 诱导性多能干细胞免疫原性的发生机制与干预对策

王娅婕 郝莎 袁卫平 程涛\*

(中国医学科学院、北京协和医学院血液学研究所、血液病医院实验血液学国家重点实验室,天津 300020)

**摘要** 诱导性多能干细胞(iPSC)技术为再生医学开辟了一条广阔而富有前景的新途径。但近期对于自体来源的iPSC及其分化细胞免疫原性的研究结果存在争议,因此研究影响iPSC免疫原性的因素、机体对其可能的免疫排斥及相关免疫耐受机制是未来实现iPSC成功临床应用的重要基础课题。该文将就诱导性多能干细胞的免疫原性相关研究进展作一综述。

**关键词** 诱导性多能干细胞(iPSC); 免疫原性; 免疫耐受; 再生医学

## Mechanisms on Immunogenicity of Induced Pluripotent Stem Cells and Interferring Strategies

Wang Yajie, Hao Sha, Yuan Weiping, Cheng Tao\*

(State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology and Blood Disease Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China)

**Abstract** Induced pluripotent stem cells (iPSC) hold the great promise for dealing with a wide range of genetic and acquired diseases in regenerative medicine. However, to reveal the full potential of iPSC, many obstacles must be overcome. Immunogenicity of iPSC appears to be an important and controversial issue surrounding potential therapeutic applications of iPSC. In the current review, we discuss the mechanisms that contribute to the immunogenicity of iPSC and iPSC-derived cells, and highlight the potential strategies for successful engraftment of

国家医药重大专项(批准号: 2011ZX09102-010-04)、国家重点基础研究发展计划(973)项目(批准号: 2010CB945204、2012CB966600)和科技部国际合作计划(批准号: 2010DFB30270)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 022-23909166, E-mail: chengtao@ihcams.ac.cn

This work was supported by the Major National Pharmaceutical Project (Grant No.2011ZX09102-010-04), the State Key Development Program for Basic Research of China (Grant No.2010CB945204, 2012CB966600) and International Cooperation Project of Ministry of Science and Technology (Grant No.2010DFB30270)

\*Corresponding author. Tel: +86-22-23909166, E-mail: chengtao@ihcams.ac.cn

网络出版时间: 2013-04-01 14:51

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130401.1451.004.html>

iPSC-derived cells in the recipients.

**Key words** induced pluripotent stem cells(iPSC); immunogenicity; immune tolerance; regenerative medicine

## 前言

人类干细胞研究是再生医学的基础。诱导性多潜能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSC)是Takahashi等<sup>[1]</sup>率先通过逆转录病毒介导, 将*Oct3/4*、*Sox2*、*Klf4*和*c-Myc* 4个基因转入小鼠和人的成纤维细胞, 诱导其发生重编程为与胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESC)相似的多能干细胞。基于iPSC的细胞替代治疗(cell replacement therapy, CRT)不仅可以避免ESC来源有限及相关医学伦理问题, 更为多种难治性疾病的个体化治疗带来了新的希望。然而, iPSC技术不仅存在重编程效率低、安全性欠佳等问题, 而且Zhao等<sup>[2]</sup>证明了即使是同基因的iPSC移植后也会出现免疫排斥反应。但Araki等<sup>[3]</sup>和Guha等<sup>[4]</sup>分别运用嵌合体鼠和体外培养iPSC来源的成熟细胞同基因移植证明了iPSC及其来源细胞可能不存在免疫排斥问题, 针对目前关于iPSC免疫原性研究的现状, 本文将从iPSC及其分化细胞免疫原性的影响因素和在CRT中的免疫排斥机制及关键分子的作用等方面进行阐述。

## 1 影响iPSC免疫原性的因素

### 1.1 iPSC的来源细胞类型与免疫原性

iPSC的来源细胞是影响其免疫原性的一个重要因素<sup>[5]</sup>。自体移植iPSC畸胎瘤的形成率与其免疫原性呈负相关。Miura等<sup>[6]</sup>在研究不同细胞来源的iPSC自体移植畸胎瘤的形成率时, 发现胚胎成纤维细胞(embryonic fibroblast)来源的iPSC形成畸胎瘤能力与ESC相同, 即具有相似的低免疫原性。Polo等<sup>[7]</sup>研究也发现, 脐带血来源的iPSC成畸胎瘤能力似乎强于其他更为成熟的体细胞(如皮肤细胞)来源的iPSC, 这表明也许更原始的细胞来源的iPSC拥有更低的免疫原性。这种不同细胞来源的iPSC的免疫原性差异似乎与表观遗传记忆有密切的关系<sup>[8]</sup>, 虽然通过连续传代培养可以消除这种表观遗传记忆, 但其具体分子机制仍需进一步探索。

### 1.2 iPSC的重编程方法、分化阶段、受者微环境与免疫原性

iPSC重编程的方法似乎也影响着它的免疫原性。虽然Bilic等<sup>[9]</sup>分析了7种鼠源和12种人源iPSC后

发现其蛋白编码基因变异与其重编程方法无关, 但是这些iPSC重编程都采用了逆转录病毒作为载体, 都含有多能基因*Oct4*、*Sox2*、*Klf4/Nanog*。Dhodapkar等<sup>[10]</sup>已证实, 人体免疫系统可以识别并排斥多能基因*Oct4*的抗原表位成功解释了这一点。所以, 有外源基因整合的iPSC的免疫原性增强可能诱发CRT的免疫排斥。Zhao等<sup>[2]</sup>利用episomal的方法, 筛选未整合外源基因iPSC进行同基因小鼠移植, 发现这种未整合外源基因的iPSC的免疫原性低于逆转录病毒介导有整合外源基因的iPSC。Judson等<sup>[11]</sup>已成功利用microRNA干扰小鼠皮肤细胞诱导为iPSC, 这为获得更加安全和更低免疫原性的iPSC提供了希望。

异基因或同基因来源的iPSC的分化细胞可能在体内诱发免疫排斥<sup>[2]</sup>。运用iPSC进行CRT时, 需要将其诱导分化为特定组织的前体细胞<sup>[5]</sup>, 如Robertson等<sup>[12]</sup>在ESC的分化中观察到的一样, iPSC免疫原性可能会随着其分化为特定前体细胞而增加, 但同时其调节机体免疫耐受的能力也会增加。另外, iPSC所处的微环境可能也是影响其免疫原性的重要因素。Li等<sup>[13]</sup>发现, 将异基因的ESC移植入非照射小鼠的髓腔中, ESC至少能存活100天并保持其不分化状态。Fujisaki等<sup>[14]</sup>证明了这种保护干细胞不受机体免疫攻击的作用与骨髓中的Treg细胞有密切的联系。另外, Guha等<sup>[4]</sup>也承认, 他们通过将iPSC体外分化为内皮细胞、肝细胞和神经细胞进行同基因移植时没有发现免疫反应可能是由于移植部位与之前的研究不一样, 是否微环境也参与了iPSC免疫原性的调控还有待进一步研究。

iPSC的细胞来源、诱导方式和分化阶段都是影响iPSC免疫原性的关键因素, 基因的突变、表观遗传记忆和宿主微环境是否与其免疫原性紧密相关, 这些都是需要解决的问题。

## 2 参与iPSC免疫排斥的抗原

iPSC将来可能有两种临床用途<sup>[15]</sup>, 一种是iPSC特殊分化为与病变组织相同的细胞类型用于治疗退行性、局部损伤性疾病(如帕金森氏病、心肌梗死等); 另一种iPSC则作为携带有治疗作用的基因载体细胞用于遗传性疾病的治疗。那么自体来源的iPSC直接

分化的细胞和经过基因修饰的iPSC会不会被机体免疫系统识别? 如果会被识别并排斥, 其特异性抗原将是重要的因素。参与iPSC免疫排斥的抗原可能包括主要组织相容性抗原(MHC)、次要组织相容性抗原(mH)、ABO血型抗原和其他抗原等。

## 2.1 MHC分子与iPSC免疫排斥

MHC分子是大约由200个基因编码组成的多态性糖蛋白, 其在抗原递呈细胞(APC)介导的T细胞免疫排斥中发挥重要作用。人MHC分子主要分为两大类, 即分布于有核细胞表面的MHCI类分子及分布于骨髓源APC和胸腺上皮细胞的MHCII类分子。MHCI类分子主要将内源性抗原递呈给CD8<sup>+</sup>T细胞, 而MHCII类分子则将外源性抗原递呈给CD4<sup>+</sup>T细胞。MHC高度的多态性在保证个体高效免疫应答的同时直接导致了异基因移植排斥反应<sup>[16]</sup>。人源和鼠源的未分化ESC均表达较成体细胞略低的MHCI类抗原, 随着ESC的分化或给予IFN- $\gamma$ 的刺激, ESC的MHCI表达量将会升高。MHCI类抗原的低表达也体现在成人生殖系干细胞(maGSC)和iPSC细胞表面, 并足以在体内外引起CD8<sup>+</sup>T细胞的免疫排斥作用<sup>[17]</sup>。有趣的是, Dressel等<sup>[17]</sup>通过实时定量PCR分析发现, 这种低表达的MHCI类分子似乎与抗原递呈相关蛋白TAP1/2和H2K、H2D的低度或缺失表达相关。Cabrera等<sup>[18]</sup>发现在人ESC中也存在类似的现象, 并且随着ESC的分化TAP1/2的表达会升高。Suárez-Alvarez等<sup>[19]</sup>则证明了在原始ESC和iPSC中这种低表达或缺失表达的MHCI分子和抗原递呈相关蛋白, 是由于其编码基因启动子被甲基化修饰造成的。甲基化抑制剂Trichostatin A(TSA)和5-azacytidine(5aza-C)能够成功上调iPSC MHCI和抗原递呈相关蛋白的表达。可能由于MHCII类分子分布的特殊性, 目前在iPSC的表面还未检测到MHCII类分子的表达, 并且随着体外IFN- $\gamma$ 的刺激也未诱发其表达<sup>[20]</sup>, 但不能得出ESC和iPSC一定没有MHCII表达的结论, 特别是考虑将其诱导为髓系和胸腺来源细胞进行治疗时这将是一个具有挑战性的问题。

## 2.2 次要组织相容性抗原、其他抗原、ABO抗原与iPSC免疫原性

次要组织相容性抗原(mH)是由于不同个体间等位基因的差异造成的, 分布于细胞内, 来源于mH的肽段被APC递呈启动免疫排斥。Robertson等<sup>[12]</sup>在进行同基因小鼠ESC来源胚体移植时发现, 仅有

mH(H-Y)不合的小鼠能产生接近异基因移植的强烈免疫排斥。虽然目前关于iPSC mH的特点还不太清楚, 但HLA相同而mH不同引起的移植物抗宿主病(GVHD)的发病率在造血干细胞移植中高达40%, 表明在iPSC进行CRT时, 特别在将其用于异基因造血干细胞移植时, mH的分子特点是一个重要的问题。其他抗原也能诱发iPSC的免疫排斥, Zhao等<sup>[2]</sup>发现 *Hormad1*、*Zgl16*两个基因在iPSC的高表达会引起T淋巴细胞介导的免疫排斥, 并且这两个基因在ESC中的高表达也能引起同基因移植的T细胞浸润, 但Araki等<sup>[3]</sup>和Guha等<sup>[4]</sup>的研究结果证明这两个基因并没有在同基因iPSC及其来源细胞中高表达, 并且也没有引起体内外的免疫排斥反应, 因此iPSC相关次要组织相容性抗原还有待深入研究。

近期研究显示, 在人ESC和其分化的造血和心肌细胞表面也能检测到高表达的ABO抗原<sup>[21]</sup>, 这表明ABO配型同样影响着干细胞移植的应用。并且Araki等<sup>[3]</sup>通过诱导iPSC向心肌细胞分化, 在同基因移植中引起了强烈的T细胞浸润, 是否可能与ABO抗原有关有待进一步研究。但Xu等<sup>[22]</sup>运用同基因iPSC诱导分化的内皮细胞和内皮细胞祖细胞已成功治疗了凝血VIII因子缺乏的A型血友病小鼠模型, 证明了iPSC的优势。由于ABO血型不符的骨髓移植造成的严重溶血和超急性排斥反应对于病人是致命的<sup>[23]</sup>, 因此ABO抗原在iPSC及其分化细胞的CRT中仍需考虑。

## 3 iPSC细胞替代治疗中的免疫排斥机制

人体免疫系统在抵御病原体入侵和清除体内病变细胞的同时, 也是影响CRT成功与否的一个重要因素。在iPSC来源细胞的CRT中, 免疫系统把其看做一种异己的成分而启动免疫排斥。

### 3.1 固有免疫

在临床移植术中, 手术机械性、缺血-缺氧-再灌注性损伤等可启动组织细胞的非特异性免疫<sup>[24]</sup>, 损伤细胞通过释放损伤相关模式分子(DAMP)、促炎细胞因子、趋化因子等募集APC、B细胞、中性粒细胞和自然杀伤细胞(NKC)等诱发固有免疫并启动适应性免疫。Swijnenburg等<sup>[25]</sup>发现在心肌缺血的小鼠中, 进行异基因ESC及其分化的心肌细胞移植时, 均有明显的单核巨噬细胞和粒细胞的浸润, 提示CRT虽然常被认为创伤性较小, 但仍足以引起机体

固有免疫反应。

NKC在iPSC的CRT引起的免疫排斥反应中十分重要。根据“丢失自我(missing self)”理论<sup>[26]</sup>, NKC靶向作用于自身MHC I类分子丢失的细胞, 甚至仅当靶细胞接受的激活信号超过其抑制信号时, 能诱发其释放IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 或直接溶解细胞作用于杀伤靶细胞。在未分化ESC、iPSC表面低表达MHC I, 能够启动IL-2诱导的NK细胞毒作用<sup>[27]</sup>。另外, 鼠ESC能启动NK细胞毒作用是由于其表达ICAM1、RAE-1, 与NK激活型受体NKG2D结合, 但随着ESC分化为心肌细胞, 这种激活型配体的表达量会逐渐下降<sup>[28-29]</sup>。MHC I类分子表达、激活信号通路和抑制信号通路之间的平衡将影响着NKC是否活化杀伤iPSC。另外, 机体本身可能会含有针对异己抗原的预存抗体, 通过抗原抗体结合活化补体级联反应介导移植体内皮细胞溶破<sup>[30]</sup>。虽然移植iPSC及其分化细胞可以不含内皮细胞, 但对于异基因iPSC的ABO血型 and MHC配型不合还是应该避免的, 因为一旦预存抗体识别异己抗原, 移植失败将是不可逆转的。

Zhao等<sup>[2]</sup>发现, 通过将具有免疫原性的Hormad1-ESC、Zg16-ESC、EiPSC(未整合外源基因)、ViPSC(整

合外源基因)移植到同基因的CD4<sup>-/-</sup>、CD8<sup>-/-</sup>小鼠中没有引起机体免疫反应, 说明可能在基于iPSC的同基因CRT中, 如果存在免疫排斥, 单独的固有免疫不能诱发可检测的免疫排斥, T细胞参与的适应性免疫占有更为重要的地位。

### 3.2 T细胞识别iPSC启动的免疫排斥

在同种异基因或异种器官、组织和细胞移植的排斥反应中, T细胞介导的细胞免疫应答发挥着关键的作用。Zhao等<sup>[2]</sup>发现, 运用EiPSC进行同基因小鼠移植时能产生CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup> T细胞依赖的免疫排斥。Dressel等<sup>[17]</sup>也发现了未分化iPSC引起的CD8<sup>+</sup> T细胞毒作用。但Araki等<sup>[3]</sup>和Guha等<sup>[4]</sup>并未发现iPSC来源成熟细胞引发的同基因免疫排斥, 值得注意的是, 这些成熟细胞包括了表皮、骨髓和三胚层来源的内皮细胞、肝细胞、神经细胞, 与此同时, Araki等<sup>[3]</sup>的研究同样发现体外诱导iPSC来源心肌细胞进行同基因移植时有明显的T细胞浸润。在经典移植免疫中, T细胞主要是通过识别供者APC表面MHC抗原肽复合物(直接识别)或者受者APC表面MHC抗原肽(间接识别)两种途径并接受APC共刺激信号而被激活的。活化的CD4<sup>+</sup> Th2细胞可释放IL2,4,5,6,13等辅助

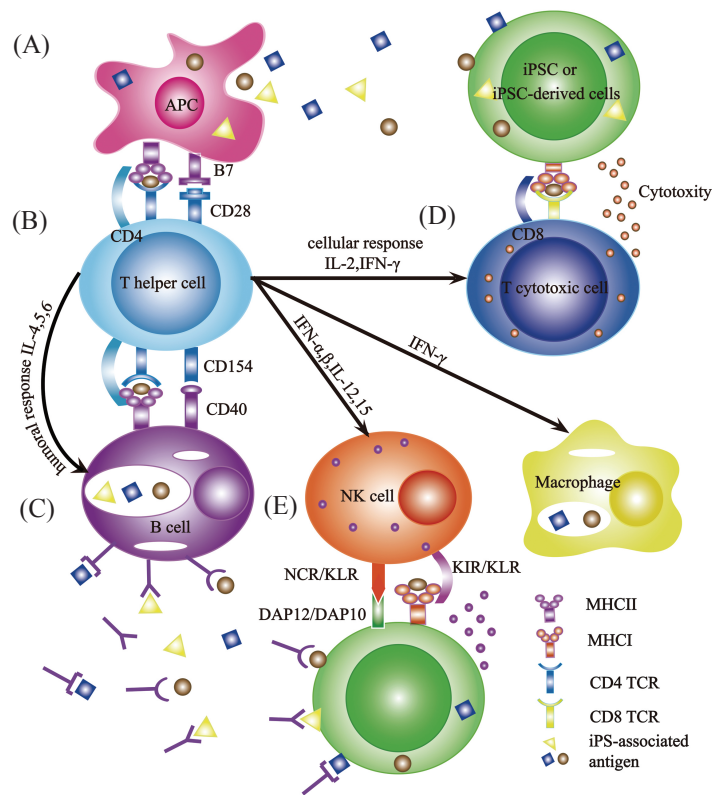


图1 机体对iPSC及其来源细胞可能的免疫排斥机制

Fig.1 Possible immunological rejection mechanisms in response to foreign antigen of iPSC

B细胞分化为浆细胞并产生特异性抗体;另外激活的CD4<sup>+</sup> Th1细胞还可通过释放IFN- $\gamma$ 、IL-2等活化NKC、巨噬细胞,最重要的是通过作用于CD8<sup>+</sup> T细胞增强其细胞杀伤作用。活化的CD8<sup>+</sup> T细胞通过穿孔素/颗粒酶及Fas/FasL等途径诱导靶细胞死亡<sup>[31]</sup>。

随着iPSC的分化其MHC I类分子的表达会升高<sup>[17,19]</sup>,那么其介导的CD8<sup>+</sup> T细胞的直接识别将不可避免。虽然未检出iPSC表达MHC II类分子,但不能排除CD4<sup>+</sup> T也能通过MHC II直接识别iPSC异己抗原。目前,科学家正试图寻找一种没有外源载体基因整合,并且没有自体基因突变的重编程方法诱导自身特异性iPSC<sup>[32]</sup>,因为基因改变所带来的异己抗原及胚胎抗原的表达将使供者T细胞间接识别介导的免疫排斥不可避免。在iPSC的CRT中,随着移植血供的建立(心脏、胰岛、大脑iPSC移植等)或随血液循环(骨髓移植等),iPSC及其特异性抗原将会接触受者APC诱发免疫排斥。因此,在运用iPSC来源细胞进行细胞替代治疗时,特别是异基因移植中,免疫排斥是不可忽视并且需要解决的问题。

Xu认为,虽然Araki等<sup>[3]</sup>的研究未发现iPSC嵌合鼠来源的成熟细胞在同基因移植中的免疫排斥,但是在C57BL/6嵌合小鼠发育过程中,免疫原性iPSCs来源细胞在移植进C57BL/6受体之前,会受到其免疫系统的免疫排斥,并且由C57BL/6免疫系统引发免疫耐受,这或许可以解释为什么没有观察到免疫排斥<sup>[33]</sup>。值得注意的是,Apostolou等<sup>[5]</sup>也认为Zhao等<sup>[2]</sup>的研究只能说明iPSCs来源畸胎瘤的免疫原性,因此也能解释引起免疫排斥的Hormad1和Zg16是畸胎瘤相关的抗原。另外,iPSC分化的不同细胞类型也是需要考虑的问题。并且这种免疫排斥是否发生在体外诱导的人iPSCs终末分化细胞中还有待进一步研究。

## 4 iPSC移植排斥反应的防治措施

若将iPSC细胞替代治疗,特别是应用于临床,对其移植排斥的干预和预防是十分关键的。在目前的移植技术中主要有两种方法抑制机体免疫功能:一种是通过非特异的免疫抑制方法,降低受者对所有外来抗原的免疫应答能力;而另一种是通过诱导特异性免疫耐受,获得受者对供者特异性的免疫无应答。

### 4.1 免疫抑制剂

一般临床或实验用免疫抑制药物,通过抑制淋巴细胞基因转录(糖皮质激素)、抑制细胞因子信号

转导(雷帕霉素)、抑制核酸合成(硫唑嘌呤)等全面降低机体免疫功能,但广泛的免疫抑制会产生高感染风险及对移植物恶变免疫监视功能的降低<sup>[34]</sup>,这也是iPSC及其分化细胞的CRT应该克服的难题。

### 4.2 诱导免疫耐受: 中枢免疫耐受

鉴于免疫抑制剂的多种毒副作用,诱导机体特异的免疫耐受理论上更为优越。免疫耐受又分为中枢免疫耐受和外周免疫耐受<sup>[35]</sup>,中枢免疫耐受主要是指T细胞的阴性选择(针对供者抗原的特异性T细胞的去除);外周免疫耐受则是通过干扰共刺激信号途径和上调Treg细胞的作用等来实现的<sup>[36]</sup>。

中枢免疫耐受的建立有两个主要的因素:供者特异性抗原能递呈给胸腺内T细胞,并且胸腺能够通过阴性选择去除这些反应性T细胞;另外胸腺(骨髓)要能够提供这种阴性选择的微环境<sup>[35]</sup>。通过受者和供者混合造血干细胞(HSC)取代受者HSC构建造血嵌合体可以诱导中枢免疫耐受<sup>[37]</sup>,但这将带来两个问题,构建混合造血嵌合体需辅以化疗或放疗摧毁受者造血系统;且对于胸腺(骨髓)已萎缩的年迈患者无法提供适宜的胸腺(骨髓)微环境,因此建立中枢免疫耐受的代价是不可忽视的。

### 4.3 外周免疫耐受: 阻断共刺激信号、Treg细胞诱导免疫耐受

外周免疫耐受可以通过干扰同种反应性T细胞或APC表面黏附分子的表达,或应用抗黏附分子(或配体)抗体、可溶性配体封闭相应黏附分子诱导T细胞无能而获得<sup>[38]</sup>。Pearl等<sup>[39]</sup>运用anti-CD40L/CTLA4Ig/anti-LFA-1阻断共刺激信号可以有效诱导机体对同种或异种来源iPSC的免疫耐受,并且发现了受者体内CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg细胞的明显上调。

Treg细胞通过直接细胞接触及分泌可溶性分子抑制抗原特异性免疫效应细胞的增殖、分化和活性<sup>[40]</sup>,Treg的体外扩增后回输可以成功诱导受者对移植物的免疫耐受。Kang等<sup>[41]</sup>运用体外可溶性分子TGF- $\beta$ 、IL-10等成功诱导外周CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T细胞转化为CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg细胞。Wada等<sup>[42]</sup>也成功地将B细胞来源的iPSC诱导分化为T细胞系,但尚未分化为Treg细胞,病人来源的治疗性iPSC与Treg共移植诱导iPSC的CRT免疫耐受还需进一步研究。

### 4.4 免疫调节作用的细胞: MDSCs、imDCs、MSCs

其他有免疫调节功能的细胞也能诱导CRT中受

者针对iPSC来源细胞特异性的免疫耐受。其中间充质干细胞(MSC)具有低免疫原性, 低表达MHC I类分子、不表达MHC II类分子、FasL、B7-1/2。其免疫调节机制是通过释放PGE2、NO、HGF、IL-10、TGF- $\beta$ 及IDO来抑制树突状细胞(DC)成熟, T、B细胞增殖和活化, NKC扩增实现的<sup>[43]</sup>。Puymirat等<sup>[44]</sup>运用同种异基因MSC和ESC共移植治疗心肌缺血小鼠模型时发现, MSC能有效降低机体对ESC的免疫排斥和维持ESC的功能。Villa-Diaz等<sup>[45]</sup>通过没有外源基因的体外培养体系PMEDSAH成功培养了iPSC来源的MSC。虽然Lian等<sup>[46]</sup>证明了iPSC来源的MSC有助于肌肉和血管再生, 但其免疫调节作用是否和机体自身MSC一样还不清楚。

未成熟的树突状细胞(imDC)低表达MHC II类分子及共刺激分子, 通过分泌抑制性细胞因子IL-10、I型IFN- $\gamma$ , 诱导T细胞向Treg细胞的转化抑制细胞免疫和体液免疫, 并且Senju等<sup>[47]</sup>已诱导iPSC分化为DC。此外, 已获得ESC分化的骨髓来源的抑制细胞(MDSC), 其也能有效诱导移植后免疫耐受。iPSC联合免疫调节性细胞的CRT可能是诱导移植免疫耐受的有效途径。随着对iPSC免疫原性及相关免疫分子机制的研究深入, 也许通过基因工程的方法改造iPSC的免疫原性能够获得更加特异性的免疫耐受。

## 结语

本文概述了关于iPSC及其分化细胞的免疫原性及其未来在CRT中的相关免疫机制的研究现状及其干预策略。iPSC的细胞来源、重编程方法和分化阶段都影响着iPSC的免疫原性。原始的细胞来源、稳定控制基因背景的重编程方法和选取合适分化程度的iPSC都有助于获得低免疫原性的iPSC。iPSC表面MHC、mH、其他抗原及ABO抗原的表达与CRT后的免疫排斥紧密相关。虽然iPSC低表达MHC I不表达MHC II, 但其在CRT的免疫排斥中发挥了主导作用。并且iPSC的MHC表达是不稳定的, 会随其分化逐渐升高并受表观遗传修饰的影响。iPSC在异基因CRT中的免疫排斥机制与经典移植免疫机制基本相似, 包括固有免疫和适应性免疫, 其中T细胞通过对供者和受者APC表面的MHC抗原肽复合物的直接和间接识别启动的适应性免疫排斥发挥着关键的作用。所以诱导机体针对iPSC来源细胞特异的中枢和外周免疫耐受十分必要, 而其中通过iPSC联合

免疫调节性细胞的CRT可能是诱导机体针对异基因iPSC产生免疫耐受的有效途径。因此深入研究iPSC及其分化细胞的免疫原性、移植相关免疫排斥以及iPSC与受者免疫微环境之间的相互作用对实现iPSC及其分化细胞应用于再生医学具有重要意义。

## 致谢

感谢张磊博士、冯晓明博士阅读本文并提出宝贵建议。

## 参考文献 (References)

- 1 Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126(4): 663-76.
- 2 Zhao T, Zhang ZN, Rong Z, Xu Y. Immunogenicity of induced pluripotent stem cells. *Nature* 2011; 474(7350): 212-5.
- 3 Araki R, Uda M, Hoki Y, Sunayama M, Nakamura M, Ando S, *et al.* Negligible immunogenicity of terminally differentiated cells derived from induced pluripotent or embryonic stem cells. *Nature* 2013; 494(7435): 100-4.
- 4 Guha P, Morgan JW, Mostoslavsky G, Rodrigues NP, Boyd AS. Lack of immune response to differentiated cells derived from syngeneic induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 2013; doi: 10.1016/j.stem.2013.01.006.
- 5 Apostolou E, Hochedlinger K. Stem cells: iPSCs under attack. *Nature* 2011; 474(7350): 165-6.
- 6 Miura K, Okada Y, Aoi T, Okada A, Takahashi K, Okita K, *et al.* Variation in the safety of induced pluripotent stem cell lines. *Nat Biotechnol* 2009; 27(8): 743-5.
- 7 Polo JM, Liu S, Figueroa ME, Kulalert W, Eminli S, Tan KY, *et al.* Cell type of origin influences the molecular and functional properties of mouse induced pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol* 2010; 28(8): 848-55.
- 8 Kim K, Doi A, Wen B, Ng K, Zhao R, Cahan P, *et al.* Epigenetic memory in induced pluripotent stem cells. *Nature* 2010; 467(7313): 285-90.
- 9 Bilic J, Izpisua BJ. Concise review: Induced pluripotent stem cells versus embryonic stem cells: Close enough or yet too far apart? *Stem Cells* 2012; 30(1): 33-41.
- 10 Dhodapkar KM, Feldman D, Matthews P, Radfar S, Pickering R, Turkula S, *et al.* Natural immunity to pluripotency antigen OCT4 in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(19): 8718-23.
- 11 Judson RL, Babiarz JE, Venere M, Billech R. Embryonic stem cell-specific microRNAs promote induced pluripotency. *Nat Biotechnol* 2009; 27(5): 459-61.
- 12 Robertson NJ, Brook FA, Gardner RL, Cobbold SP, Waldmann H, Fairchild PJ. Embryonic stem cell-derived tissues are immunogenic but their inherent immune privilege promotes the induction of tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(52): 20920-5.
- 13 Li Y, Liu Y, He J, Wang F, Liu S, Zhang Y, *et al.* Long-term survival of exogenous embryonic stem cells in adult bone marrow. *Cell Res* 2011; 21(7): 1148-51.
- 14 Fujisaki J, Wu J, Carlson AL, Silberstein L, Putheti P, Larocca R, *et*

- al. In vivo* imaging of Treg cells providing immune privilege to the haematopoietic stem-cell niche. *Nature* 2011; 474(7350): 216-9.
- 15 Song M, Paul S, Lim H, Dayem AA, Cho SG. Induced pluripotent stem cell research: A revolutionary approach to face the challenges in drug screening. *Arch Pharm Res* 2012; 35(2): 245-60.
  - 16 Ryan SO, Cobb BA. Roles for major histocompatibility complex glycosylation in immune function. *Semin Immunopathol* 2012; 34(3): 425-41.
  - 17 Dressel R, Guan K, Nolte J, Elsner L, Monecke S, Nayernia K, *et al.* Multipotent adult germ-line stem cells, like other pluripotent stem cells, can be killed by cytotoxic T lymphocytes despite low expression of major histocompatibility complex class I molecules. *Biol Direct* 2009; 4: 31.
  - 18 Cabrera CM, Nieto A, Cortes JL, Montes RM, Catalina P, Cobo F, *et al.* The low rate of HLA class I molecules on the human embryonic stem cell line HS293 is associated with the APM components' expression level. *Cell Biol Int* 2007; 31(9): 1072-8.
  - 19 Suárez-Alvarez B, Rodríguez RM, Calvanese V, Blanco-Gelaz MA, Suhr ST, Ortega F, *et al.* Epigenetic mechanisms regulate MHC and antigen processing molecules in human embryonic and induced pluripotent stem cells. *PLoS One* 2010; 5(4): e10192.
  - 20 Deleidi M, Hargus G, Hallett P, Osborn T, Isacson O. Development of histocompatible primate-induced pluripotent stem cells for neural transplantation. *Stem Cells* 2011; 29(7): 1052-63.
  - 21 Molne J, Bjorquist P, Andersson K, Diswall M, Jeppsson A, Strokan V, *et al.* Blood group ABO antigen expression in human embryonic stem cells and in differentiated hepatocyte- and cardiomyocyte-like cells. *Transplantation* 2008; 86(10): 1407-13.
  - 22 Xu D, Alipio Z, Fink LM, Adcock DM, Yang J, Ward DC, *et al.* Phenotypic correction of murine hemophilia A using an iPS cell-based therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(3): 808-13.
  - 23 Rowley SD, Donato ML, Bhattacharyya P. Red blood cell-incompatible allogeneic hematopoietic progenitor cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2011; 46(9): 1167-85.
  - 24 Oberbarnscheidt MH, Zecher D, Lakkis FG. The innate immune system in transplantation. *Semin Immunol* 2011; 23(4): 264-72.
  - 25 Swijnenburg RJ, Schrepfer S, Govaert JA, Cao F, Ransohoff K, Sheikh AY, *et al.* Immunosuppressive therapy mitigates immunological rejection of human embryonic stem cell xenografts. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(35): 12991.
  - 26 Raulet DH. Missing self recognition and self tolerance of natural killer (NK) cells. *Semin Immunol* 2006; 18(3): 145-50.
  - 27 Dressel R, Nolte J, Elsner L, Novota P, Guan K, Streckfuss-Bomeke K, *et al.* Pluripotent stem cells are highly susceptible targets for syngeneic, allogeneic, and xenogeneic natural killer cells. *Faseb J* 2010; 24(7): 2164-77.
  - 28 Bonde S, Zavazava N. Immunogenicity and engraftment of mouse embryonic stem cells in allogeneic recipients. *Stem Cells* 2006; 24(10): 2192-201.
  - 29 Frenzel LP, Abdullah Z, Kriegeskorte AK, Dieterich R, Lange N, Busch DH, *et al.* Role of natural-killer group 2 member D ligands and intercellular adhesion molecule 1 in natural killer cell-mediated lysis of murine embryonic stem cells and embryonic stem cell-derived cardiomyocytes. *Stem Cells* 2009; 27(2): 307-16.
  - 30 Al KM, de Almeida JR, Guyatt GH, Kuruvilla J, Crump M. Autologous stem cell transplantation in follicular lymphoma: A systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2012; 104(1): 18-28.
  - 31 Getts DR, Shankar S, Chastain EM, Martin A, Getts MT, Wood K, *et al.* Current landscape for T-cell targeting in autoimmunity and transplantation. *Immunotherapy* 2011; 3(7): 853-70.
  - 32 Wang P, Na J. Mechanism and methods to induce pluripotency. *Protein Cell* 2011; 2(10): 792-9.
  - 33 Baker M. Safety of induced stem cells gets a boost. *Nature* 2013; 493(7431): 145.
  - 34 Goldstein DR. T cell costimulation blockade and organ transplantation: A change of philosophy for transplant immunologists? *J Immunol* 2011; 186(5): 2691-2.
  - 35 Chidgey AP, Layton D, Trounson A, Boyd RL. Tolerance strategies for stem-cell-based therapies. *Nature* 2008; 453(7193): 330-7.
  - 36 Miyara M, Sakaguchi S. Natural regulatory T cells: Mechanisms of suppression. *Trends Mol Med* 2007; 13(3): 108-16.
  - 37 Gibbons C, Sykes M. Manipulating the immune system for anti-tumor responses and transplant tolerance via mixed hematopoietic chimerism. *Immunol Rev* 2008; 223: 334-60.
  - 38 Viglietta V, Khoury SJ. Modulating co-stimulation. *Neurotherapeutics* 2007; 4(4): 666-75.
  - 39 Pearl JI, Lee AS, Leveson-Gower DB, Sun N, Ghosh Z, Lan F, *et al.* Short-term immunosuppression promotes engraftment of embryonic and induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 2011; 8(3): 309-17.
  - 40 Loser K, Beissert S. Regulatory T cells: Banned cells for decades. *J Invest Dermatol* 2012; 132(3 Pt 2): 864-71.
  - 41 Kang N, Tang L, Li X, Wu D, Li W, Chen X, *et al.* Identification and characterization of Foxp3(+) gammadelta T cells in mouse and human. *Immunol Lett* 2009; 125(2): 105-13.
  - 42 Wada H, Kojo S, Kusama C, Okamoto N, Sato Y, Ishizuka B, *et al.* Successful differentiation to T cells, but unsuccessful B-cell generation, from B-cell-derived induced pluripotent stem cells. *Int Immunol* 2011; 23(1): 65-74.
  - 43 Shi Y, Su J, Roberts AI, Shou P, Rabson AB, Ren G. How mesenchymal stem cells interact with tissue immune responses. *Trends Immunol* 2012; 33(3): 136-43.
  - 44 Puymirat E, Geha R, Tomescot A, Bellamy V, Larghero J, Trinquart L, *et al.* Can mesenchymal stem cells induce tolerance to cotransplanted human embryonic stem cells? *Mol Ther* 2009; 17(1): 176-82.
  - 45 Villa-Diaz LG, Brown SE, Liu Y, Ross AM, Lahann J, Parent JM, *et al.* Derivation of mesenchymal stem cells from human induced pluripotent stem cells cultured on synthetic substrates. *Stem Cells* 2012; 30(6): 1174-81.
  - 46 Lian Q, Zhang Y, Zhang J, Zhang HK, Wu X, Zhang Y, *et al.* Functional mesenchymal stem cells derived from human induced pluripotent stem cells attenuate limb ischemia in mice. *Circulation* 2010; 121(9): 1113-23.
  - 47 Senju S, Haruta M, Matsumura K, Matsunaga Y, Fukushima S, Ikeda T, *et al.* Generation of dendritic cells and macrophages from human induced pluripotent stem cells aiming at cell therapy. *Gene Ther* 2011; 18(9): 874-83.