

特约综述

间充质干细胞免疫抑制机制及在疾病中的应用

寿培舜^{1#} 黄寅^{1#} 苏娟娟¹ 陈箐¹ 李文钊¹田新莉¹ 许光武² 任光文² 时玉舫^{1,2*}¹中国科学院上海生命科学研究院/上海交通大学医学院健康科学研究所, 上海 200025;²美国新泽西医科齿科大学, 罗伯特伍德约翰逊医学院, 分子遗传学、微生物学和免疫学系, 新泽西 08854, 美国)

摘要 间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)的分化潜能及免疫抑制能力的发现和研究的进展,使其有望应用于临床治疗退行性疾病和免疫失调症。MSCs发挥免疫抑制作用时,先通过免疫激活的T细胞释放IFN γ 、TNF α 和IL-1等细胞因子,进而刺激MSCs产生大量不同趋化因子和一氧化氮(nitric oxide, NO);趋化因子招募T细胞向MSCs聚集, MSCs生成的NO抑制T细胞增殖,产生免疫抑制效果。相关研究进展为MSCs有效应用于移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)等临床免疫性疾病治疗提供了理论指导,并展现出极大的应用前景。

关键词 免疫抑制; 间充质干细胞; 移植物抗宿主病; 趋化因子; 一氧化氮

1974年, Friedenstein等^[1]成功从骨髓中分离到了一群纺锤形,可克隆生长的细胞,他们称之为间质前体细胞(stromal precursors),这是最早被鉴定的骨髓间质细胞(bone-marrow-derived stromal cells)。Friedenstein等人的原创性发现虽然让人们认识到这群细胞的自我更新和分化的潜能,但未引发对骨髓间质细胞相关领域的深入研究。在1991年Caplan等^[2]将骨髓间质细胞更名为间充质干细胞(mesenchymal stem cells, multipotent mesenchymal stromal cells, MSCs)。在随后的研究中,人们先后从小鼠及其他哺乳动物的脐带血、外周血、脑、肝脏、肾脏、肺等组织中分离到MSCs^[3],但由于骨髓来源的MSCs获取和培养较为方便,故常将其作为主要的研究对象。

MSCs是一种多能干细胞,具有多分化潜能、自我更新及高度的增殖能力。骨髓中的MSCs主要分化为多种组织细胞,特别是中胚层和神经外胚层来源的组织细胞,如成骨、软骨和脂肪细胞等^[4-6]。MSCs的这种多分化潜能使其被积极地应用于退行性疾病的治疗中。

免疫抑制是指在某种物理因素(如X线辐射)、化学因素(如硫唑嘌呤、皮质类固醇等)或生物因素(如抗淋巴细胞血清)的作用下,机体免疫应答能力降低的过程。这些影响因素可用作免疫抑制剂以防止移植物被排斥和治疗自体性免疫疾病,但是这些治疗会对机体自身造成很大的损伤。近几年的研究揭示

MSCs在特定条件下具有良好的免疫抑制能力,这为细胞疗法用于副作用小的免疫抑制治疗提供了契机。

MSCs的免疫抑制作用在临床试验中已有一定尝试,尤其是在治疗移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)中,展现了十分诱人的应用前景。由于其具体分子作用机制尚不明确,故其安全性和治疗效果都还有待提高。本文将介绍最近MSCs免疫抑制机制的相关研究进展及其在临床治疗中的应用前景。

1 MSCs免疫抑制的机制

1.1 MSCs免疫抑制作用的临床研究

上世纪八、九十年代,针对MSCs的研究大多与其定向诱导分化相关,直到最近几年才开始兴起MSCs对免疫系统调节作用的研究, MSCs在免疫反应相关疾病方面已展现出极大的应用潜力。如Le Blanc等^[7]在临床上将患者母亲的MSCs注入到一个患有严重GVHD的9岁男孩体内,使其临床症状明显好转,且1年后仍无复发,从而在人体内证实了MSCs的免疫抑制能力。在后续的临床研究中,他们还发现来自第三方供体的MSCs和来自同型人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)或单倍体相同供体(haploidentical donors)的MSCs在免疫抑制效果和

* 同为第一作者

* 通讯作者。Tel: 021-63848329, Fax: 021-63846467, E-mail: shiyufang2@gmail.com

响应率上没有区别^[8]。类似的结果在实验室研究中也得到了证实, BALB/c 小鼠和 C57BL/6 小鼠来源的 MSCs 对激活的 C57BL/6 小鼠 T 细胞呈现相同的免疫抑制效果^[5]。这说明 MSCs 在发挥免疫抑制作用时没有主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)限制性, 为临床应用提供了极大便利。但 MSCs 在免疫抑制作用的效果上仍然存在较大争议, 也有研究报道没有发现这种免疫抑制作用^[9]。在临床或实验中发现的 MSCs 不同的治疗效果, 很大程度上是由于 MSCs 免疫抑制的分子机理还不甚清楚, 还不足以准确高效地指导临床治疗。因此, 对 MSCs 免疫抑制机制的进一步了解, 对基础及临床研究均有很大的指导意义。

1.2 MSCs 免疫抑制机制

此前已报道的 MSCs 进行免疫抑制的临床研究中, Koc 等^[10]用仅 2×10^6 个 MSCs 细胞/千克体重的剂量, 即可抑制骨髓移植病人 GVHD 的发生, 并且在病人体内没有发现同种异体反应性 T 细胞(alloreactive T cells)的增殖。数量如此有限的 MSCs 细胞要在整个体内环境中抑制大量 T 细胞的功能, 应该存在某种 MSCs 与 T 细胞相互识别的机制。近年来研究表明, 在 MSCs 对 T 细胞的免疫抑制过程中, 细胞间接触及可溶性因子的作用均十分重要。目前, 研究较多的相关因子包括 TGF β 、IL-10、前列腺素 E2 (prostaglandin E2,

PGE2)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、吲哚胺 2,3- 二氧化酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)、血红素加氧酶 1 (heme oxygenase-1, HO-1)等^[11-15]。最近也有报道诱导型一氧化氮合成酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)及其产物 NO (nitric oxide)在 MSCs 抑制 T 细胞增殖中发挥重要作用^[6,16]。然而, 到目前为止, 对 MSCs 免疫抑制机制还没有达成统一的认识。

最近我们的一组研究表明, 未经处理的小鼠 MSCs 的确不具备抑制免疫反应的能力, 但一旦受到相关促炎症因子的刺激, 它们即具有很强的免疫抑制作用。使用 CD3 特异性抗体(anti-CD3)激活的 T 细胞条件培养液(conditioned medium), 或 IFN γ 与 TNF α 、IL-1 α 、IL-1 β 中任一种联合刺激 MSCs 后, 即可使这些细胞获得免疫抑制能力^[6]。这一 MSCs 诱导性免疫抑制作用机制的提出, 为解释过去实验和临床中遇到的困惑开拓了一种新的思路和方法。

在该实验中, 我们发现中和抗体单独阻断 IFN γ 或联合阻断 TNF α 、IL-1 α 和 IL-1 β , 都将使 MSCs 丧失免疫抑制能力。而阻断 TNF α 、IL-1 α 和 IL-1 β 之一或其中两种, MSCs 的免疫抑制能力变化不大。同时, IFN γ RI 基因敲除(IFN γ RI^{-/-})小鼠的 MSCs 在以上细胞因子存在的条件下将丧失免疫抑制能力。这些结果证明 IFN γ 与 TNF α 、IL-1 α 、IL-1 β 中任一

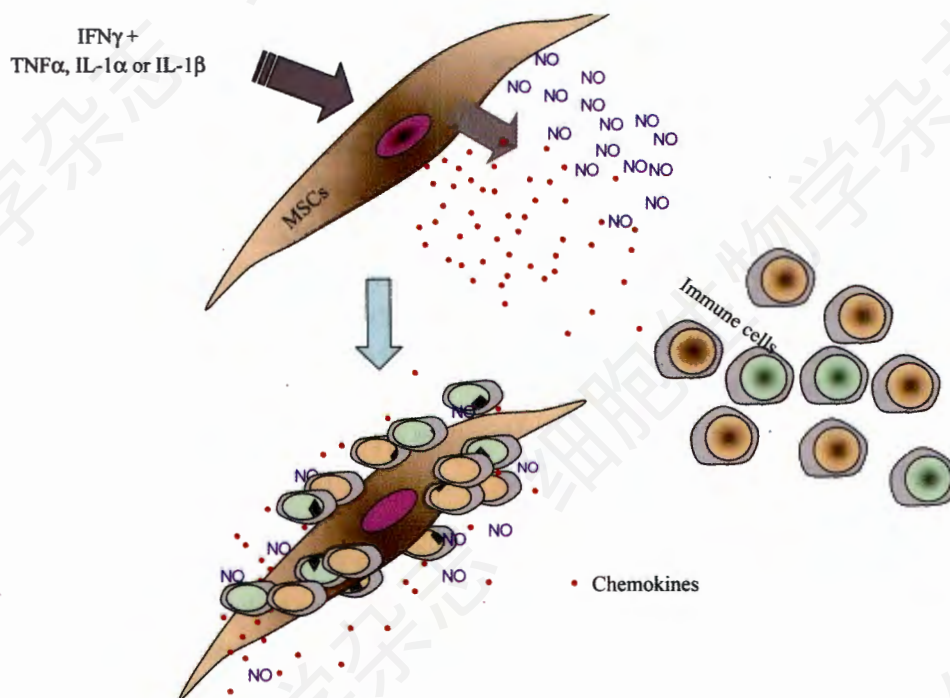


Fig.1 Schematic representation of immunosuppression mediated by MSCs^[6]

种细胞因子联合刺激在 MSCs 的免疫抑制过程中是必须的^[6]。

进一步研究表明, MSCs 在受 $IFN\gamma$ 与 $TNF\alpha$ 、 $IL-1\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 中任一种细胞因子联合刺激后, 会分泌大量 T 细胞特异性趋化因子如 CXCL9、CXCL10 及 CXCL11 (CXC-chemokine ligand), 并且大幅上调 iNOS 的表达, 增加 NO 的生成。由于 NO 扩散溶解迅速, 仅能在有效距离内发挥其细胞毒作用, 抑制 T 细胞增殖, 这就需要 T 细胞特异性趋化因子配合招募 T 细胞, 使其聚集于 NO 浓度较高的 MSCs 周围, MSCs 才能利用高浓度的 NO 抑制 T 细胞的增殖。使用 iNOS 的选择性抑制剂或将 iNOS 基因敲除 ($iNOS^{-/-}$), 均会使 MSCs 丧失免疫抑制能力^[6]。而阻断 CXCR3 (CXC-chemokine receptor 3, CXCL9、CXCL10 及 CXCL11 的受体)使 MSCs 不能招募 T 细胞, 进而使免疫抑制能力下降^[6]。

小鼠体内实验也证实了上述 MSCs 的免疫抑制作用机理。在小鼠 GVHD 疾病模型中, 注射来自于 $iNOS^{-/-}$ 小鼠或 $IFN\gamma RI^{-/-}$ 小鼠的 MSCs, 均不能缓解 GVHD 症状, 而使用来自于野生型小鼠的 MSCs 则能显著改善其症状并延长存活时间^[6]。

因此由以上研究提出了 MSCs 和 T 细胞相互作用, 产生免疫抑制的初步模型(图 1), 这也是目前为止关于 MSCs 免疫抑制机制的最为合理的解释之一。它很好地解决了此前研究中关于 MSCs 抑制免疫反应是通过可溶性因子还是细胞间接触发挥作用的争论^[5,6]。已有研究证明 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)不是免疫抑制过程的靶点, NO 介导的免疫抑制是通过抑制 TCR 下游 STAT5 的磷酸化, 进而影响其下游调控的代谢通路, 抑制 T 细胞增殖^[16-18]。T 细胞被 MSCs 抑制后, 其表达的细胞因子也将随之减少, 反馈调节减弱 MSCs 的免疫抑制能力。也有研究报道在 $IFN\gamma$ 和 $TNF\alpha$ 存在的条件下, MSCs 通过产生 NO 促进淋巴瘤细胞的凋亡^[19]。此外还发现, MSCs 与免疫细胞作用抑制细胞增殖的过程是双向性的, 在 MSCs 抑制免疫细胞增殖的同时, MSCs 自身的增殖也受到了影响^[5,6]。上述几方面的原因一起作用使 MSCs 发挥免疫抑制作用的同时也维持了免疫系统的稳态。

此免疫抑制模型还体现出促炎症因子在机体免疫系统中并非总是促进炎症反应, 在本模型中促炎症因子激活 MSCs 的免疫抑制能力, 并招募免疫细胞趋化性迁移, 使 NO 介导的免疫抑制得以发生。这个

发现让我们开始重新认识炎症因子在免疫系统中的作用, 是对现有免疫学知识的更新和补充。MSCs 免疫抑制作用的发现和作用机制的不断阐明, 不仅将促进我们对机体复杂免疫系统的深入研究, 而且使 MSCs 在应用于临床疾病治疗方面也具有更广阔的应用前景。

2 MSCs 免疫抑制在疾病治疗中的研究与应用

MSCs 在治疗多种疾病, 尤其是与免疫反应和再生修复相关的疾病上具有极大的应用潜力。由于胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)存在的伦理问题和较强的免疫原性, 在很大程度上限制了其临床应用。而 MSCs 所具有的免疫抑制能力, 使其能很好地处理与宿主免疫系统的关系, 因此我们可以大胆预言, 除造血干细胞外, 使用 MSCs 调节免疫反应将很可能是最早将干细胞应用于临床治疗的方法^[20-25]。Bartholomew 等^[26]研究 MSCs 在体内调节免疫的能力时发现, 通过给灵长类动物注射同种异体 MSCs 可以延长其皮肤移植的存活时间。人 MSCs 的免疫抑制作用机理与小鼠类似, 区别在于人的 MSCs 是通过 IDO 而不是 NO 发挥免疫抑制作用。MSCs 在疾病中的研究与应用主要集中在以下几个方面。

2.1 GVHD

GVHD 是一类常见的同种异体组织(如骨髓等)移植后的并发症, 供体组织中的免疫细胞会将受体细胞视为异己, 并对其进行攻击。目前, 异体骨髓移植仍是治疗造血系统恶性疾病、某些肿瘤及先天性疾病的最有效方法, 而 GVHD 是限制治疗的最大障碍, 急性重度 GVHD 是骨髓移植后致死的一个重要原因。即使供受体 HLA 配型基本吻合, 移植前后也使用了免疫抑制剂, 但 GVHD 的发生仍不能有效避免。

MSCs 免疫抑制的最显著效果就是其治疗 GVHD 的能力。有报道显示 MSCs 可以在体外抑制 TCR 诱导激活的 T 细胞增殖^[5], 体内实验也证实了 MSCs 对 GVHD 有显著的疗效。当 GVHD 疾病模型小鼠在接受骨髓移植术后立即用 MSCs 处理时, GVHD 症状显著改善, 且存活期得到明显延长。而用来自 $iNOS^{-/-}$ 或 $IFN\gamma RI^{-/-}$ 小鼠的 MSCs 处理 GVHD 模型小鼠, 其症状则没有改善^[7,27]。由此证明了 $IFN\gamma$ 及 NO 对 MSCs 调控的免疫抑制至关重要。

临床研究中也证实 MSCs 在治疗人 GVHD 中具有十分显著的疗效^[22]。通过给 8 个患有 3-4 级 GVHD 激

素耐药的病人和一个患有广泛型慢性GVHD的病人移植入 $(0.7\sim 9)\times 10^6$ 个MSCs细胞/千克体重,8个急性GVHD病人中的6人治疗后症状完全消失,但其中一人患上巨细胞病毒急性胃肠炎;2人经治疗后未见明显效果而死亡。5人在移植后2个月至3年内仍然存活,他们的存活率比未经治疗的16例病人要高得多。

2.2 自体免疫性疾病

自体免疫性疾病是一类人体自身免疫系统攻击自体正常细胞的疾病。正常情况下,人体内免疫系统只针对外来的抗原或体内的异常细胞(如肿瘤细胞)进行攻击并清除,是一种自我保护的生理机制。但在某些情形下,免疫系统可能会产生对自身正常细胞及组织的异常过度反应或组织伤害,进而造成疾病。而MSCs的免疫抑制特性恰好能为自体免疫性疾病的治疗提供解决方法。

2.2.1 I型糖尿病(IDDM) 胰岛素依赖型糖尿病(insulin-dependent diabetes mellitus, IDDM),也称I型糖尿病(diabetes mellitus type 1),是一类由机体免疫系统对分泌胰岛素的胰岛 β 细胞攻击的自体免疫性疾病^[28]。

将患IDDM的小鼠先经辐射处理,再同时注入骨髓细胞(bone marrow cells, BMCs)和MSCs,可以使其血糖水平和血清中的胰岛素水平迅速地恢复到正常水平。而BMCs和MSCs均不能独自发挥作用。研究显示BMCs和MSCs的作用机制是诱导受体自身胰腺胰岛素分泌细胞的再生,同时MSCs抑制了T细胞介导的免疫反应对新生胰岛 β 细胞的攻击^[29]。

2.2.2 实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE) 实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)是一类中枢神经系统的自体免疫性疾病。它是由T细胞和巨噬细胞介导的一类典型的多发性硬化症(multiple sclerosis, MS)小鼠模型。

关于EAE的针对T细胞的MSCs尝试治疗已经得到了成功,可以实现免疫抑制或免疫耐受^[30]。将MSCs注射入由髓鞘少突胶质细胞糖蛋白(myelin oligodendrocyte glycoprotein, MOG)引发EAE的不同病程小鼠,在发病前期及高峰期的小鼠中症状有显著改善,而对进入稳定期的小鼠没有作用。中枢神经系统的病理学分析显示接受MSCs移植的小鼠炎症反应及脱髓鞘作用有所缓解。T细胞对MOG的回应及有丝分裂原都能被MSCs抑制。在该过程中IFN γ 及TNF α 有所减少,而IL-2能解除MSCs的抑制作用。这些结果表明MSCs能通过免疫抑制作用有效地干

扰EAE中的自体免疫性攻击^[30]。

2.2.3 类风湿性关节炎(RA) 类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种由自身免疫障碍导致免疫系统攻击关节的长期慢性炎症。这种炎症会造成关节变形直至残疾,并会因关节痛楚及磨损而失去部分活动能力。这种疾病还会影响其他组织,包括皮肤、血管、心脏、肺部及肌肉等^[31]。

越来越多的证据显示CD4⁺T细胞介导的自身免疫应答及B细胞、渗入滑膜的巨噬细胞在RA的发病中起着关键性的作用^[32]。由单核细胞/巨噬细胞及成纤维细胞分泌的TNF α 在RA中也有着重要的作用,它主要通过诱导包括IL-1、IL-6、IL-15及IL-18等一些细胞因子和粒细胞巨噬细胞集落刺激因子影响RA的发生。最近一些治疗尝试通过使用相应的抑制剂来阻断TNF α 或IL-1与相应受体的结合,三种抗TNF药物已在临床实验中被证明对缓解甚至阻止损伤有效。而以胶原诱导性关节炎小鼠作为研究人风湿性关节炎的动物模型,给其注射MSCs后并未见效,经分析在关节处未见经标记的MSCs,因此MSCs的疗效与其是否能迁移到目标位置有密切联系^[33]。

有报道显示^[34],通过给小鼠注射溶于弗氏完全佐剂中的II型胶原以诱发胶原诱导性关节炎,在同时注入MSCs的小鼠中并未发生不可逆转的骨及软骨损伤,证明MSCs对胶原诱导性关节炎有治疗作用。研究显示,这是由于MSCs诱导T细胞的低反应性(hyporesponsiveness),从而使T细胞增殖减少,调节炎症细胞因子的表达,特别是显著下调了血清中TNF α 的浓度。

2.3 其他

除了上述所提及的临床应用研究,MSCs在心肌梗塞、中风、黑色素瘤、视网膜变性、器官衰竭等领域也有一定的应用潜力(表1)。

3 小结与展望

MSCs具有的多向分化潜能、低免疫原性和免疫调节能力等特性,使其成为多种疾病细胞治疗的首选。作为细胞药物,理想的种子细胞应具备的条件是:取材容易、对机体损伤小;体外培养过程中有较强的繁殖能力,易于扩增;植入机体后能够较快适应环境,综合来看,MSCs都能较好地符合这些要求。而且,近年来发现MSCs具有的免疫抑制作用使其无论作为干细胞进行组织修复,还是单独作为免疫抑制剂治疗GVHD等免疫相关疾病都具有良好的应用前景。

Table 1 Biological effects of MSCs in preclinical models of disease [35]

疾病	物种	目标器官	MSC 作用机制	MSC 给药方式
与人 HSCs 共移植	羊	造血器官	支撑移植并促进造血作用	全身
心肌梗塞	大鼠	心脏	通过 WNT 相关分子 SFRP2 实现抗凋亡及促有丝分裂	局部
中风	大鼠	CNS	分泌营养因子并诱导神经发生	全身
黑色素瘤	小鼠	皮肤	通过 CD8 ⁺ T 细胞抑制肿瘤特异性 T 细胞	局部
视网膜变性	大鼠	眼部	通过抗凋亡及营养因子减少视网膜变性	局部
急性肺损伤	小鼠	肺部	抑制促炎症因子的合成	全身
急性肾衰竭	大鼠	肾脏	抑制促炎症因子的合成并 诱导抗凋亡及营养因子的合成	全身
肝衰竭	大鼠	肝脏	释放细胞因子及趋化因子 抑制白细胞入侵	MSCs 条件培养液

当然 MSCs 要全面应用于临床治疗仍有多方面的问题亟待解决。尽管目前 MSCs 在绝大多数条件下应用仍被认为是安全的, 但它们对免疫功能的长期影响及引发肿瘤的可能性仍然未有系统的研究。此外, 目前的 MSCs 免疫抑制模型是通过什么代谢通路发挥作用仍不甚清楚, 其与研究较多的 STAT、NF- κ B 等通路存在怎样的关联, 如何协调控制免疫系统的稳态等问题都还有待探索。MSCs 在免疫抑制过程中如何感受细胞因子的刺激, 在细胞内又如何调控 iNOS 和相关趋化因子的表达等问题都还有待解决。同时 MSCs 在不同物种中的免疫抑制机制仍需进一步研究。

目前, MSCs 免疫抑制作用应用于治疗急性 GVHD 等免疫相关疾病的临床研究正在积极开展, 造血干细胞(haemopoietic stem cells, HSCs)移植相关的基础与临床研究也进展迅速, 这将为我们提供丰富的临床信息, 进一步加深我们对 MSCs 和免疫系统相互作用机制的理解。虽然在目前的临床实验中, MSCs 作为细胞药物应用于免疫相关疾病的治疗仍然存在响应率和安全性等问题。但随着 MSCs 免疫抑制作用机制研究的不断推进, 其分子机制不断被发现, 上述问题一定会逐步改善, MSCs 在临床治疗上将具有十分广阔的应用前景。

参考文献(References)

- [1] Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Latsinik NV, et al. Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues. Cloning *in vitro* and retransplantation *in vitro*, *Transplantation*, 1974, 17(4): 331-340
- [2] Caplan AI. Mesenchymal stem cells, *J Orthop Res*, 1991, 9(5): 641-650
- [3] da Silva Meirelles L, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues, *J Cell Sci*, 2006, 119(Pt11): 2204-2213
- [4] Kawada H, Fujita J, Kinjo K, et al. Nonhematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction, *Blood*, 2004, 104(12): 3581-3587
- [5] Xu G, Zhang L, Ren G, et al. Immunosuppressive properties of cloned bone marrow mesenchymal stem cells, *Cell Res*, 2007, 17(3): 240-248
- [6] Ren G, Zhang L, Zhao X, et al. Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide, *Cell Stem Cell*, 2008, 2(2): 141-150
- [7] Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells, *Lancet*, 2004, 363(9419): 1439-1441
- [8] Le Blanc K, Frassonni F, Ball L, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study, *Lancet*, 2008, 371(9624): 1579-1586
- [9] Nauta AJ, Westerhuis G, Kruisselbrink AB, et al. Donor-derived mesenchymal stem cells are immunogenic in an allogeneic host and stimulate donor graft rejection in a nonmyeloablative setting, *Blood*, 2006, 108(6): 2114-2120
- [10] Koc ON, Day J, Nieder M, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell infusion for treatment of metachromatic leukodystrophy (MLD) and Hurler syndrome (MPS-IH), *Bone Marrow Transplant*, 2002, 30(4): 215-222
- [11] Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, et al. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli, *Blood*, 2002, 99(10): 3838-3843
- [12] Rasmusson I, Ringdén O, Sundberg B, et al. Mesenchymal stem cells inhibit lymphocyte proliferation by mitogens and alloantigens by different mechanisms, *Exp Cell Res*, 2005, 305(1): 33-41
- [13] Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells, *Blood*, 2007, 110(10): 3499-3506
- [14] Keating A. Mesenchymal stromal cells, *Curr Opin Hematol*, 2006, 13(6): 419-425
- [15] Chabannes D, Hill M, Merieau E, et al. A role for heme oxygenase-1 in the immunosuppressive effect of adult rat and human mesenchymal stem cells, *Blood*, 2007, 110(10): 3691-3694
- [16] Sato K, Ozaki K, Oh I, et al. Nitric oxide plays a critical role in

- suppression of T-cell proliferation by mesenchymal stem cells, *Blood*, 2007, 109(1): 228-234
- [17] Welte T, Leitenberg D, Dittel BN, *et al.* STAT5 interaction with the T cell receptor complex and stimulation of T cell proliferation, *Science*, 1999, 283(5399): 222-225
- [18] Nosaka T, Kawashima T, Misawa K, *et al.* STAT5 as a molecular regulator of proliferation, differentiation and apoptosis in hematopoietic cells, *EMBO J*, 1999, 18(17): 4754-4765
- [19] Xu G, Zhang Y, Zhang L, *et al.* Bone marrow stromal cells induce apoptosis of lymphoma cells in the presence of IFN γ and TNF by producing nitric oxide, *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 375(4): 666-670
- [20] Ball LM, Bernardo ME, Roelofs H, *et al.* Cotransplantation of ex vivo expanded mesenchymal stem cells accelerates lymphocyte recovery and may reduce the risk of graft failure in haploidentical hematopoietic stem-cell transplantation, *Blood*, 2007, 110(7): 2764-2767
- [21] Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine, *J Cell Physiol*, 2007, 213(2): 341-347
- [22] Ringdén O, Uzunel M, Rasmusson I, *et al.* Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease, *Transplantation*, 2006, 81(10): 1390-1397
- [23] Rasmusson I. Immune modulation by mesenchymal stem cells, *Exp Cell Res*, 2006, 312(12): 2169-2179
- [24] Uccelli A, Pistoia V, Moretta L. Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression?, *Trends Immunol*, 2007, 28(5): 219-226
- [25] van Laar JM, Tyndall A. Adult stem cells in the treatment of autoimmune diseases, *Rheumatology (Oxford)*, 2006, 45(10): 1187-1193
- [26] Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, *et al.* Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation *in vitro* and prolong skin graft survival *in vivo*, *Exp Hematol*, 2002, 30(1): 42-48
- [27] Le Blanc K, Ringdén O. Mesenchymal stem cells: properties and role in clinical bone marrow transplantation, *Curr Opin Immunol*, 2006, 18(5): 586-591
- [28] Gepts W. Islet morphology in type I diabetes, *Behring Inst Mitt*, 1984(75): 39-41
- [29] Urbán VS, Kiss J, Kovács J, *et al.* Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes, *Stem Cells*, 2008, 26(1): 244-253
- [30] Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, *et al.* Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy, *Blood*, 2005, 106(5): 1755-1761
- [31] Majithia V, Geraci SA. Rheumatoid arthritis: diagnosis and management, *Am J Med*, 2007, 120(11): 936-939
- [32] Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis, *Nature*, 2003, 423(6937): 356-361
- [33] Djouad F, Fritz V, Apparailly F, *et al.* Reversal of the immunosuppressive properties of mesenchymal stem cells by tumor necrosis factor alpha in collagen-induced arthritis, *Arthritis Rheum*, 2005, 52(5): 1595-1603
- [34] Augello A, Tasso R, Negrini SM, *et al.* Cell therapy using allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells prevents tissue damage in collagen-induced arthritis, *Arthritis Rheum*, 2007, 56(4): 1175-1186
- [35] Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease, *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(9): 726-736

Mechanism of Immunosuppression and Clinical Applications of Mesenchymal Stem Cells

Pei-Shun Shou^{1#}, Yin Huang^{1#}, Juan-Juan Su¹, Qing Chen¹, Wen-Zhao Li¹,
Xin-Li Tian¹, Guang-Wu Xu², Guang-Wen Ren², Yu-Fang Shi^{1,2*}

(¹Institute of Health Sciences, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences & Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China; ²Department of Molecular Genetics, Microbiology and Immunology, Robert Wood Johnson Medical School, University of Medicine and Dentistry of New Jersey, NJ 08854, USA)

Abstract The discovery of the differentiation and immunosuppression capability of mesenchymal stem cells (MSCs) makes them great candidates for treating various immune disorders such as graft versus host disease (GVHD) and autoimmune diabetes. Recent studies have shown that the immunosuppression property of MSCs is not innate, but rather induced by inflammatory cytokines (IFN γ , in combination with TNF α , IL-1 α , or IL-1 β) released by activated T cells. The effect of these inflammatory cytokines is exerted through the induction of MSCs to produce large amount of chemokines and nitric oxide (NO). Chemokines drive T cell to the proximity of MSCs, whereby high concentration of NO suppresses T cell activities. These studies provide fundamental information for better clinical applications of MSCs in clinical settings.

Key words immunosuppression; mesenchymal stem cells; graft versus host disease; chemokine; nitric oxide

*These authors contributed equally to this work

*Corresponding author. Tel: 86-21-63848329, Fax: 86-21-63846467, E-mail: shiyufang2@gmail.com