

Flk-1⁺骨髓间充质干细胞移植上调白细胞介素6水平：是否同时加重了胶原诱导性关节炎小鼠的症状？**☆

陈斌, 黄姗, 胡建立, 孙昭, 韩钦, 宋增璇, 赵春华

Flk-1⁺ bone marrow mesenchymal stem cell transplantation upregulates interleukin-6 level: Whether it simultaneously aggravates collagen-induced arthritis in mice?

Chen Bin, Huang Shan, Hu Jian-li, Sun Zhao, Han Qin, Song Zeng-xuan, Zhao Chun-hua

Abstract

Tissue Engineering Center, Institute of Basic Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100005, China

Chen Bin☆, Doctor, Tissue Engineering Center, Institute of Basic Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100005, China
cb84@163.com

Correspondence to: Zhao Chun-hua, Doctor, Professor, Tissue Engineering Center, Institute of Basic Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100005, China
chunhuaz@public.tpt.tj.cn

Supported by: the Major 863 Project Foundation, 2006AA02A109, 2006AA02A115**

Received: 2009-11-17
Accepted: 2009-12-20

BACKGROUND: Immunoregulation of mesenchymal stem cells (MSCs) is commonly approved. Previous studies have confirmed the ability of Flk-1⁺ bone marrow MSCs (BMSCs) to inhibit T/B lymphocyte proliferation *in vitro*.
OBJECTIVE: To investigate the therapeutic effect of Flk-1⁺ BMSCs in collagen-induced arthritis mice.
METHODS: A total of 18 healthy male DBA-1(H-2K^q) mice aged 10 weeks were randomly divided into 3 groups. All the mice were injected at the base of the tail with bovine type II collagen (CII), and received a booster injection of CII on day 21 to establish the CIA mice model. DBA-1(H-2K^q)mouse Flk-1⁺ BMSCs were isolated *in vitro* by the density gradient centrifugation and adherence screening. Following initial immunity, mice in the cell transplantation group were infused with Flk-1⁺ BMSCs (1-2)×10⁶ cells/mouse *via* the caudal vein. Mice in the cell transplantation group were injected with the same volume of Flk-1⁺ BMSCs during booster. Mice in the model control group were injected with an equal volume of saline 0 or 21 days following initial immunity. Following initial immunity and booster immunization, claw pad thickening and clinical score were observed, changes of joint pathology and dynamic changes in serum factor mass concentration were determined in mice.
RESULTS AND CONCLUSION: Compared with the model control group, no significant difference in claw pad thickening and mean clinical score was detected in the cell transplantation group following initial immunity ($P > 0.05$), with the presence of obvious damage to synovial membrane and inflammatory cell infiltration. Mass concentration of each serum cell factor was similar. The claw pad was significantly thickened ($P < 0.01$), mean clinical score reached 3.35 points, with severe damage to synovial membrane, proliferation of blood capillary in the cell transplantation group following booster immunization. Interleukin-6 levels were greatly increased at day 28 following initial immunity ($P < 0.1$), but decreased at day 35 following initial immunity ($P < 0.1$). Results indicated that in the collagen-induced arthritis mouse models, Flk-1⁺ BMSC transplantation did not obtain prospective therapeutic efficacy, but aggravation of arthritis was observed in the cell transplantation group following booster immunization. Upregulation of interleukin-6 concentration could aggravate the behavior symptom of rheumatoid arthritis mice.

Chen B, Huang S, Hu JL, Sun Z, Han Q, Song ZX, Zhao CH. Flk-1⁺ bone marrow mesenchymal stem cell transplantation upregulates interleukin-6 level: Whether it simultaneously aggravates collagen-induced arthritis in mice? Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(6): 1058-1063. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 间充质干细胞的免疫调节作用是被大家普遍认可的, 在以往实验中也对 Flk-1⁺骨髓间充质干细胞体外抑制 T/B 淋巴细胞增殖的能力进行了确认。

目的: 验证 Flk-1⁺骨髓间充质干细胞对胶原诱导性关节炎小鼠的治疗作用。

方法: 健康 10 周龄雄性 DBA-1(H-2K^q)小鼠 18 只, 随机分为 3 组: 初次免疫后细胞移植组、加强免疫后细胞移植组、模型对照组, 3 组小鼠均通过尾皮下注射牛 II 型胶原进行初次免疫, 21 d 后同法进行加强免疫, 建立胶原诱导性关节炎模型。密度梯度离心法和贴壁筛选法体外分离 DBA-1(H-2K^q)小鼠 Flk-1⁺骨髓间充质干细胞, 初次免疫后细胞移植组小鼠在初次免疫后立即经尾静脉输注 Flk-1⁺骨髓间充质干细胞(1~2)×10⁶ 个/只, 加强免疫后细胞移植组小鼠在加强免疫时同法输注等量 Flk-1⁺骨髓间充质干细胞, 模型对照组小鼠于初次免疫后 0 或 21 d 尾静脉输注等量生理盐水。观察初次免疫后和加强免疫后各组小鼠的爪垫增厚情况、临床评分, 检测小鼠关节病理学变化及血清因子质量浓度的动态变化。

结果与结论: 与模型对照组比较, 初次免疫后细胞移植组爪垫增厚程度及平均临床疾病得分均无明显差异($P > 0.05$), 均可见明显的滑膜组织损伤和炎症细胞浸润, 各血清细胞因子质量浓度基本相似; 而加强免疫后细胞移植组爪垫明显增厚($P < 0.01$), 平均临床疾病得分高达 3.35 分, 滑膜损伤严重, 毛细血管增生, 在初次免疫后 28 d 白细胞介素 6 血清浓度急剧上升($P < 0.1$), 初次免疫后 35 d 白细胞介素 6 血清浓度又明显下降($P < 0.1$)。提示在胶原诱导性关节炎小鼠模型中, Flk-1⁺骨髓间充质干细胞移植不但未取得预期的治疗效果, 还在加强免疫后细胞移植组观察到显著地关节炎症状恶化现象, 其可能通过上调白细胞介素 6 血清浓度加重类风湿关节炎小鼠的行为症状。

关键词: 免疫调节; 胶原诱导性关节炎; 白细胞介素 6; Flk-1⁺骨髓间充质干细胞; 干细胞

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.06.022

陈斌, 黄姗, 胡建立, 孙昭, 韩钦, 宋增璇, 赵春华. Flk-1⁺骨髓间充质干细胞移植上调白细胞介素 6 水平: 是否同时加重了胶原诱导性关节炎小鼠的症状? [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(6):1058-1063.

[http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

间充质干细胞具有多系分化能力和免疫调节作用, 实验室首先从成体骨髓中分离出一种表型特征为Flk-1⁺的间充质干细胞群体, 发现其不仅具有向三胚层细胞分化的潜能^[1-4], 而且具有明显的免疫调节能力^[5-7]。前期工作表明, 成体骨髓间充质干细胞可以抑制T细胞增殖, 使更多的T细胞被抑制在G₀/G₁期, 也可以抑制T细胞活化, 在共培养时还可以改变T细胞亚群的比例。

小鼠胶原诱导性关节炎模型使用特定遗传背景的DBA-1小鼠和牛II型胶原诱导产生关节炎, 是研究类风湿性关节炎以及对治疗药物开展临床前评价的良好模型^[8]。为深化对Flk-1⁺骨髓间充质干细胞群体的生物学特性及应用前景的认识, 实验开展了Flk-1⁺骨髓间充质干细胞移植治疗胶原诱导性关节炎模型的相关研究。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 于2007/2009在北京协和医学院基础学院组织工程中心完成。

材料: 健康10周龄雄性DBA-1(H-2K^q)小鼠18只, 随机分为3组: 初次免疫后细胞移植组、加强免疫后细胞移植组、模型对照组, 6只/组。另取4~6周龄DBA-1(H-2K^q)小鼠20只用于骨髓间充质干细胞的分离培养。动物均购于中国医学科学院实验动物研究所, 饲养于中国医学科学院基础医学研究所SPF级动物房, 所有动物实验均按照中国医学科学院动物管理条例执行。

实验用试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
MCDB、DMEM/F12	Gibco BRL 公司
直标/间标抗体、CBA mouse Th1/Th2 cytokine kit	BD 公司
FITC 标记的荧光二抗	北京中杉公司
牛II型胶原、ConA、LPS、完全/不完全弗氏佐剂	Sigma 公司
³ H-TdR	上海原子能研究所
流式细胞仪	Beckton-Dickinson 公司
液闪计数器	Wallac 公司
倒置光学显微镜、免疫荧光显微镜	Nikon 公司
正置显微镜及照相系统	Olympus 公司

实验方法:

骨髓间充质干细胞的分离培养: 20只小鼠断颈处死, 分离股骨和胫骨, 用培养基冲取骨髓; 用D-Hank's液洗涤2次后, 以 $8 \times 10^7/\text{cm}^2$ 密度接种于25 cm²培养瓶中, 加入含40% MCDB-201、体积分数为2%的胎牛血清、20 μg/L EGF、100 U/mL链霉素和100 U/mL青霉素的58% DMEM/F12培养基, 在37 °C、体积分数为5%的CO₂饱和湿度培养箱中培养间充质干细胞。24 h后去除悬浮细胞, 补充培养基, 细胞每隔3 d换液1次, 待细胞长至70%~80%融合时, 用0.5 g/L胰蛋白酶-0.1 g/L EDTA消化传代。

Flk-1⁺骨髓间充质干细胞免疫表型的检测: 细胞经胰酶消化后, 洗涤2次, 再用洗液(含0.5牛血清白蛋白的PBS)洗涤1次, 加入一抗4 °C孵育30 min(一抗包括FITC标记抗小鼠CD29, CD31, CD33, CD34, CD44, CD45, CD105, CD106, CD117, MHC-1, MHC-2, 同物种同IgG亚类FITC标记抗体做同型对照)。需要破膜的抗体FLK-1则在胰酶消化后, 先用40 g/L多聚甲醛4 °C固定15 min, 然后用0.1%皂素破膜室温1 h, 再加一抗Flk-1, 4 °C孵育30 min。用洗液洗涤2次。选用同种同型非相关IgG抗体作为阴性对照。用洗液洗涤后, 加入FITC标记的羊抗小鼠二抗, 4 °C孵育30 min。孵育结束后, 洗涤细胞3次, 并悬浮在500 μL的PBS中, 置于冰上待流式细胞仪检测。

Flk-1⁺骨髓间充质干细胞对T/B淋巴细胞增殖反应的影响: 调整骨髓间充质干细胞浓度分别为 $1 \times 10^{11} \text{ L}^{-1}$, $1 \times 10^{10} \text{ L}^{-1}$, $1 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$, 加入到U型底96孔板中, 每组设6个复孔, 在37 °C、体积分数为5%的CO₂饱和湿度培养箱中培养2 h以上。细胞贴壁后照射30 Gy, 去除上清, 加入H-2K^q小鼠脾细胞作为效应细胞, 100 μL/孔。刺激孔添加相应的丝裂原, 即ConA(小鼠T细胞刺激物)5 mg/L、LPS(小鼠B细胞刺激物)25 mg/L, 在37 °C、体积分数为5%的CO₂饱和湿度培养箱中培养3 d。在反应结束前18 h, 加 $3.7 \times 10^4 \text{ Bq/孔}$ [³H]-TdR, 继续在37 °C、体积分数为5%的CO₂饱和湿度培养箱中培养, 18 h后中止。液闪仪检测, 结果用CPM表示。

小鼠胶原诱导性关节炎模型的建立: 3组小鼠均建立胶原诱导性关节炎模型。将牛II型胶原溶解于0.1 mol/L乙酸配成牛II型胶原溶液, 与等体积弗氏佐剂混合形成乳化液, 从鼠尾皮下注射含牛

北京协和医学院基础学院组织工程中心, 北京市100005

陈斌^{*}, 男, 1984年生, 江西省南昌市人, 汉族, 2009年清华大学医学部北京协和医学院毕业, 博士, 主要从事免疫方面的研究。cb84@163.com

通讯作者: 赵春华, 博士, 教授, 北京协和医学院基础学院组织工程中心, 北京市100005 chunhuaz@public.tpt.tj.cn

中图分类号: R394.2
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2010)06-01058-06

收稿日期: 2009-11-17
修回日期: 2009-12-20
(20091117016/
ZS-Q)

II型胶原100 μg的乳化液100 μL。初次免疫后21 d实施加强免疫, 即将牛II型胶原溶液与等体积不完全弗氏佐剂混合形成乳化液, 从鼠尾皮下注射含牛II型胶原100 μg的乳化液100 μL。

Flk-1⁺骨髓间充质干细胞移植治疗小鼠胶原诱导性关节炎: 初次免疫后细胞移植组小鼠在初次免疫后立即经尾静脉输注Flk-1⁺骨髓间充质干细胞(1.0~2.0)×10⁶个/只; 加强免疫后细胞移植组小鼠在加强免疫时同法输注等量Flk-1⁺骨髓间充质干细胞; 模型对照组小鼠于初次免疫后0或21 d尾静脉输注等量生理盐水。

Flk-1⁺骨髓间充质干细胞移植治疗胶原诱导性关节炎的效果评测: ①胶原诱导性关节炎模型小鼠的临床评估指标测定: 加强免疫后, 观测者用独立双盲法观察小鼠的病程发展并进行评分, 2次/周。②胶原诱导性关节炎模型小鼠爪垫厚度测量: 观测者在小鼠后肢爪垫处, 用游标卡尺双盲独立测量3次, 取其均值作为小鼠爪垫的厚度, 2次/周。

胶原诱导性关节炎类风湿小鼠关节病理组织学检测: 初次免疫45~49 d后将小鼠处死, 取下关节标本, 固定于体积分数为10%的甲醛中, 脱钙处理后石蜡包埋, 连续石蜡切片, 随后进行苏木精-伊红染色, 显微镜下观察并拍照。

胶原诱导性关节炎类风湿小鼠的血清细胞因子的动态监测: 取干净EP管, 分别收集初次免疫后第7, 20, 28, 35, 42, 49 d的小鼠内眦静脉全血约100 μL, 室温凝固30 min后, 1 000 g离心15 min, 收集血清样品, 用于CBA血清因子的检测。样品委托Gene公司代为检测。

胶原诱导性关节炎模型小鼠的临床评估指标: 0分: 无任何关节病变; 1分: 出现红斑或轻度肿胀; 2分: 关节明显肿胀; 3分: 关节严重肿胀; 4分: 关节严重肿胀变形而无法负重。最小评分单位为0.5分, 最高评分4.5分, 最低评分为0分。

主要观察指标: ①初次免疫后各组小鼠的爪垫增厚情况。②小鼠关节病理学检查结果。③小鼠血清因子浓度的动态检测。

设计、实施、评估者: 实验设计与实施为第一、二作者, 评估为第三、四作者, 均经过系统培训。

统计学分析: 由第二作者采用SPSS 12.0进行统计处理, 使用单尾t检验对数据进行分析比对, P < 0.01为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 Flk-1⁺骨髓间充质干细胞的形态观察、免疫表型与亚群鉴定 小鼠Flk-1⁺骨髓间充质干细胞在光镜下呈成纤维样或多角形贴壁生长, 见图1。

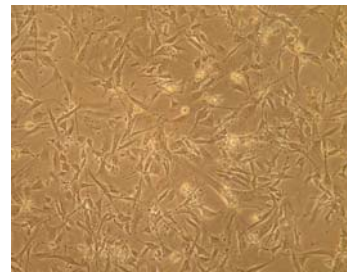


Figure 1 Typical morphology of Flk-1⁺ bone marrow mesenchymal stem cells (×100)
图1 Flk-1⁺骨髓间充质干细胞的形态观察(×100)

流式细胞仪检测细胞免疫表型, 高表达原始干细胞特异分子Flk-1和黏附分子CD29, CD44, CD105, 不表达成熟细胞的标志CD34, CD45, CD31, CD33, CD106, CD117, 低表达MHC-I类分子, 不表达MHC-II类分子, 见图2。

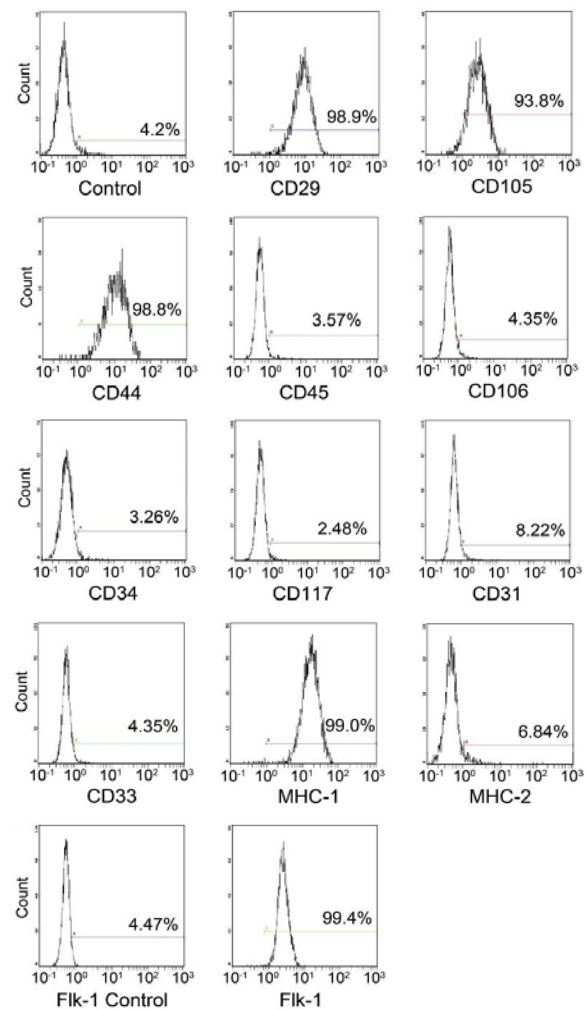
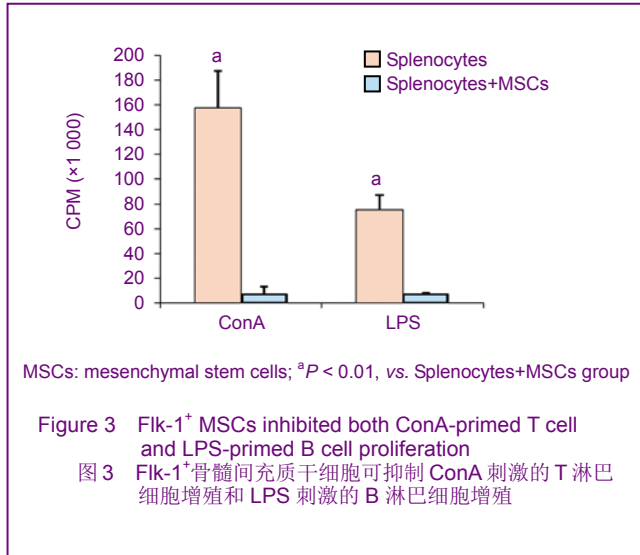


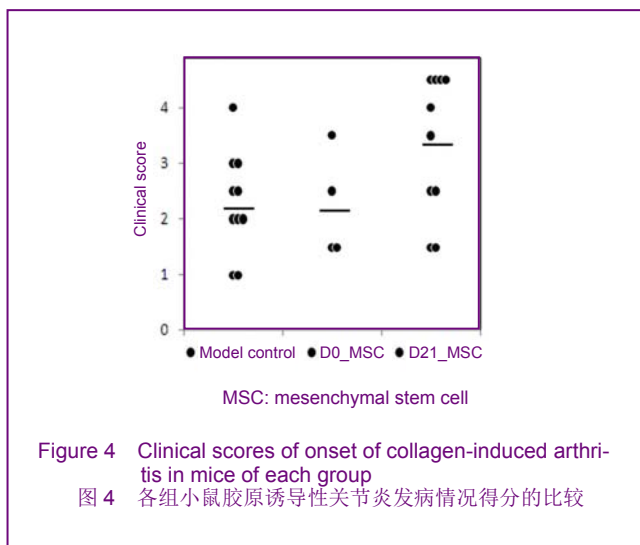
Figure 2 Immunophenotype of Flk-1⁺ bone marrow mesenchymal stem cells
图2 Flk-1⁺骨髓间充质干细胞的免疫表型鉴定

2.2 Flk-1⁺骨髓间充质干细胞体外共培养抑制T/B淋巴细胞的能力 小鼠Flk-1⁺骨髓间充质干细胞在体外共培养体系中, 可以显著抑制Con A活化的T淋巴细胞增殖, 以及LPS活化的B淋巴细胞增殖, 见图3。



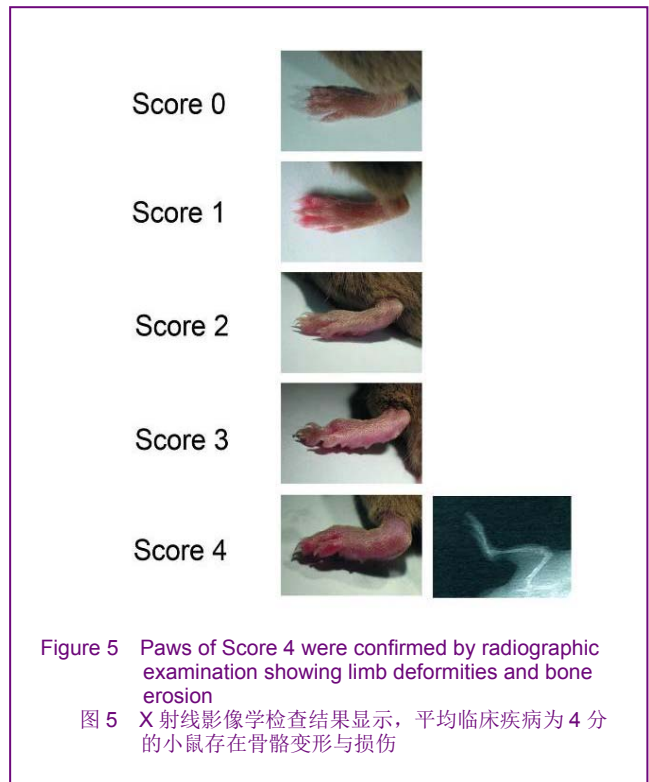
2.3 Flk-1⁺骨髓间充质干细胞移植治疗胶原诱导性关节炎小鼠的效果 胶原诱导性关节炎模型小鼠在初次免疫后, 尾根皮内注射部位出现多处小溃疡或结节, 7~10 d后结痂自愈。21 d加强免疫后, 小鼠后腿爪垫逐渐开始肿胀, 皮毛黯淡无光泽, 轻度脱毛, 部分小鼠爬行困难。初次免疫后32~49 d小鼠爪垫的肿胀程度达到最大值。

对各组小鼠胶原诱导性关节炎的发病情况进行评估, 模型对照组和初次免疫后细胞移植组小鼠的平均临床疾病得分为2.25分和2.30分, 加强免疫后细胞移植组小鼠的平均临床疾病得分高达3.35分, 见图4。

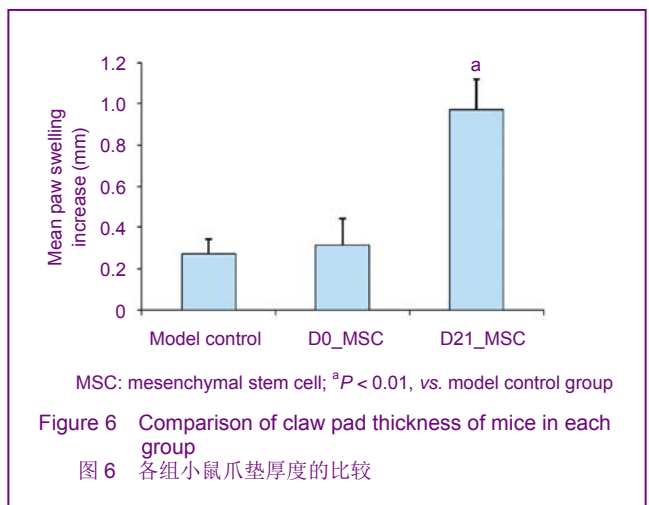


利用X射线摄片对小鼠关节病变进行影像学检查, 确认平均临床疾病为4分的小鼠确实存在骨骼变形与损伤, 见图5。

伤, 见图5。

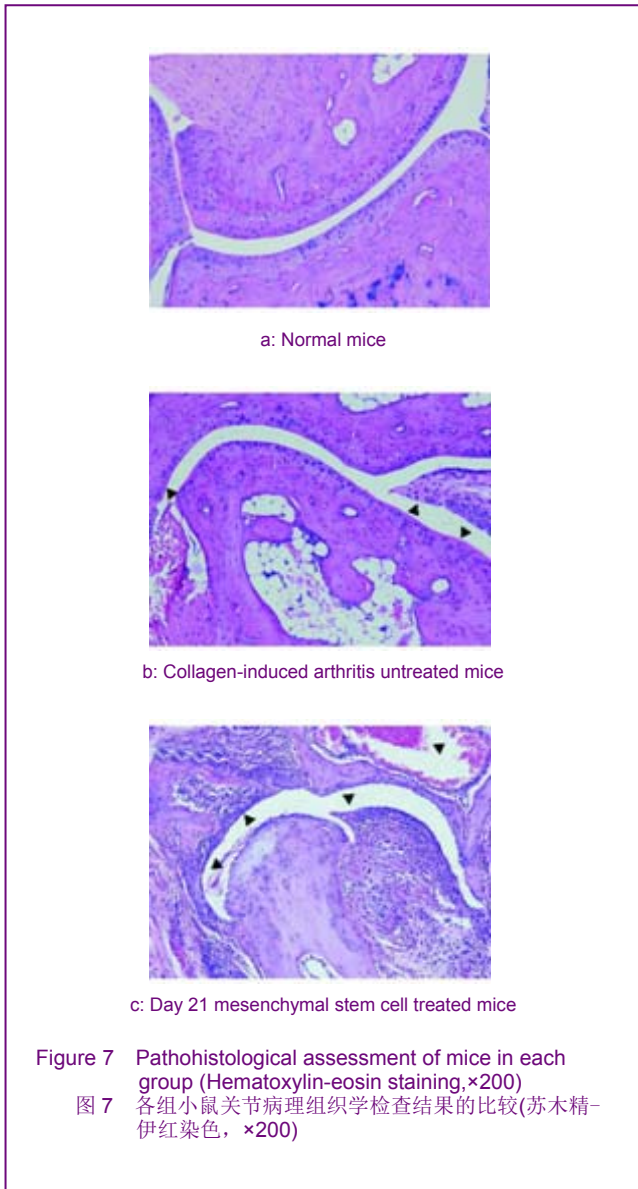


将初次免疫后32~49 d各组小鼠爪垫平均增厚情况进行统计, 结果显示模型对照组、初次免疫后细胞移植组、加强免疫后细胞移植组的爪垫分别增厚(0.27±0.07)mm, (0.31±0.13)mm, (0.97±0.15)mm。与模型对照组比较, 初次免疫后细胞移植组爪垫增厚程度差异无显著性意义 (P > 0.05); 加强免疫后细胞移植组爪垫增厚程度明显增加(P < 0.01), 见图6。



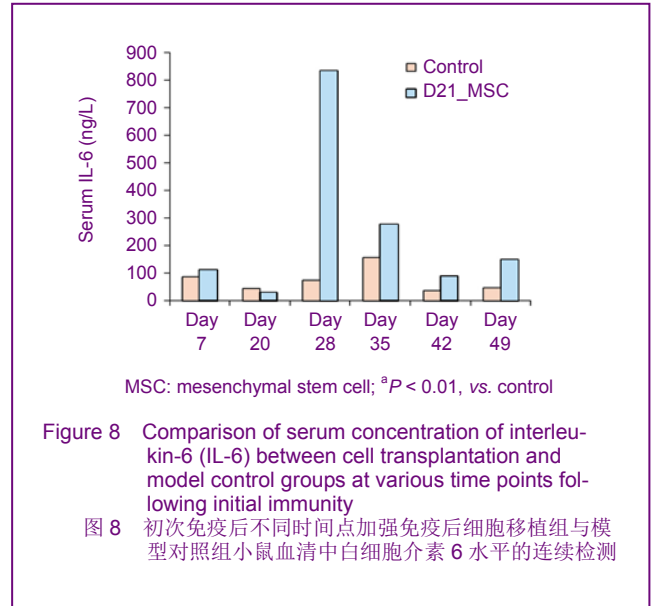
2.4 胶原诱导性关节炎小鼠关节的病理学检查结果 初次免疫后50 d病理组织学检查发现, 正常小鼠滑膜组织细胞排列规则整齐, 关节软骨表现光滑, 见图7a; 模型对照组、初次免疫后细胞移植组小鼠均可见明显的滑

膜组织损伤和炎症细胞浸润, 增生的滑膜组织形成绒毛状, 见图7b; 加强免疫后细胞移植组小鼠滑膜损伤严重, 增生的滑膜组织形成绒毛状, 毛细血管增生, 血管翳形成, 滑膜细胞纤维化, 纤维素渗出, 胶原纤维沉着, 见图7c。

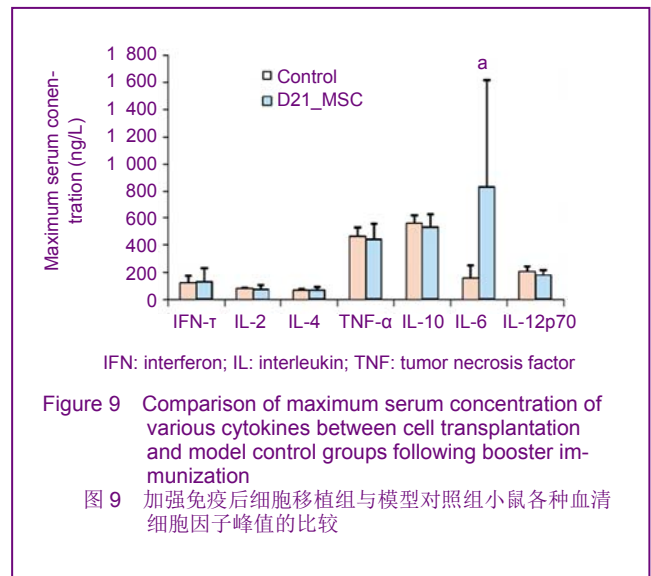


2.5 胶原诱导性关节炎小鼠血清细胞因子连续观察结果 在胶原诱导性关节炎小鼠发病全过程中, 与模型对照组比较, 加强免疫后细胞移植组白细胞介素2、白细胞介素4、白细胞介素10、白细胞介素12、干扰素 γ 、肿瘤坏死因子 α 的血清浓度无明显差异。

加强免疫后细胞移植组小鼠在初次免疫后28 d白细胞介素6血清质量浓度急剧上升, 而模型对照组小鼠白细胞介素6血清质量浓度仅出现一个温和的上升。加强免疫后细胞移植组小鼠在初次免疫后35 d白细胞介素6血清质量浓度明显下降, 而模型对照组小鼠白细胞介素6血清质量浓度则稳步上升。见图8。



为剔除上述两组小鼠在整个病程当中因血清各因子质量浓度的峰值发生错位而对比较带来的影响, 实验重新统计数据。结果显示与模型对照组比较, 加强免疫后细胞移植组小鼠白细胞介素2、白细胞介素4、白细胞介素10、白细胞介素12、干扰素 γ 、肿瘤坏死因子 α 的血清峰值水平差异均无显著性意义($P > 0.05$), 但白细胞介素6血清峰值质量浓度则显著升高($P < 0.1$), 见图9。



3 讨论

间充质干细胞是中胚层来源的具有自我更新和多向分化潜能的多能干细胞, 最初是由 Friedenstein等^[9]从小鼠骨髓中发现的, 并被证明在体外具有多系分化的能力^[10-11]。此外, 间充质干细胞还具有低免疫原性和免疫调节的能力^[12], 低免疫原性使这种细胞的同种异体移植成为可能, 使之成为组织工程较为理想的种子细胞;

而免疫调节能力, 则为免疫性疾病的治疗带来新的希望。已有研究者报道体外培养扩增的间充质干细胞不仅对各种免疫细胞均具有免疫调节作用^[13-18], 而且体外扩增培养的间充质干细胞在体内也可以发挥免疫调节作用, 如可以延长转基因皮肤移植存活的时间^[19], 而间充质干细胞治疗移植抗宿主病不仅在动物实验中得到了证实, 而且已经应用于临床^[20-22]。

胶原诱导性关节炎模型是研究人类风湿关节炎的常用动物模型, 此模型使用牛Ⅱ型胶原免疫具有特殊遗传易感性的H-2K^d小鼠, 模拟人类类风湿关节炎遗传易感性加上环境诱因导致自身免疫耐受的丧失和慢性关节炎发生的过程。

实验使用Flk-1⁺间充质干细胞对胶原诱导性关节炎小鼠进行实验。结果表明初次免疫后细胞移植组小鼠与模型对照组小鼠在临床评分、爪垫关节肿胀程度等方面无显著差异; 但加强免疫后细胞移植组小鼠临床症状显著加重。影像学检视和组织病理切片检测也确认了加强免疫后细胞移植组病情的严重加重。此外, 在实验中观察到加强免疫后细胞移植组小鼠白细胞介素6出现显著升高, 而模型对照组白细胞介素6血清质量浓度值直到35 d才被观察到。提示Flk-1⁺间充质干细胞静脉注射后, 可能通过调节白细胞介素6导致胶原诱导性关节炎疾病的全面恶化。

间充质干细胞的免疫调节作用是被大家普遍认可的, 在实验中也对Flk-1⁺间充质干细胞体外抑制T/B淋巴细胞增殖的能力进行了确认。但感到意外的是在胶原诱导性的关节炎模型中, Flk-1⁺间充质干细胞治疗不但未取得预期的治疗效果, 还在加强免疫后细胞移植组观察到显著关节炎症状的恶化。Djouad等^[23]曾使用小鼠间充质干细胞系C3H10T1/2治疗小鼠胶原诱导性关节炎模型, 希望能够利用间充质干细胞的免疫调节达到治疗效果, 其使用了与本实验相似的造模方法, 结果显示C3间充质干细胞静脉注射治疗后, 小鼠爪垫肿胀程度等关节炎症状并无明显改善, 并在第21天治疗组也发现了小鼠爪垫肿胀加剧等关节炎症状恶化的情况。

虽然间充质干细胞加重胶原诱导性关节炎模型小鼠症状的机制有待进一步分析, 但此实验结果以及其他研究小组对于胶原诱导性关节炎动物模型治疗的研究结果提醒必须审慎地看待间充质干细胞的免疫调节作用, 及其在自身免疫疾病治疗方面的应用。

4 参考文献

- [1] Fang B, Shi M, Liao L, et al. Multiorgan engraftment and multilineage differentiation by human fetal bone marrow Flk1+/CD31-/CD34- Progenitors. J Hematother Stem Cell Res. 2003; 12(6):603-613.
- [2] Guo H, Fang B, Liao L, et al. Hemangioblastic characteristics of fetal bone marrow-derived Flk1(+)/CD31(-)/CD34(-) cells. Exp Hematol. 2003; 31(7):650-658.
- [3] Fang B, Shi M, Liao L, et al. Systemic infusion of FLK1(+) mesenchymal stem cells ameliorate carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice. Transplantation. 2004; 78(1):83-88.

- [4] Fang B, Liao L, Shi M, et al. Multipotency of Flk1CD34 progenitors derived from human fetal bone marrow. J Lab Clin Med. 2004; 143(4):230-240.
- [5] Deng W, Han Q, Liao L, et al. Allogeneic bone marrow-derived flk-1+ Sca-1- mesenchymal stem cells leads to stable mixed chimerism and donor-specific tolerance. Exp Hematol. 2004; 32(9): 861-867.
- [6] Deng W, Han Q, Liao L, et al. Engrafted bone marrow-derived flk-(1+) mesenchymal stem cells regenerate skin tissue. Tissue Eng. 2005; 11(1-2):110-119.
- [7] Zhang W, Ge W, Li C, et al. Effects of mesenchymal stem cells on differentiation, maturation, and function of human monocyte-derived dendritic cells. Stem Cells Dev. 2004; 13(3): 263-271.
- [8] Robbins PD, Evans CH, Chernajovsky Y. Gene therapy for arthritis. Gene Ther. 2003; 423(6937):356-361.
- [9] Fridenshtein A. Stromal bone marrow cells and the hematopoietic microenvironment. Arkh Patol. 1982; 44(10):3-11.
- [10] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science. 1999; 284(5411): 143-147.
- [11] Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, et al. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. Circulation. 2002; 105(1):93-98.
- [12] Le Blanc K, Ringden O. Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. J Intern Med. 2007; 262(5): 509-525.
- [13] Sudres M, Norol F, Trenado A, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro but fail to prevent graft-versus-host disease in mice. J Immunol. 2006; 176(12):7761-7767.
- [14] Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. Blood. 2006; 107(1): 367-372.
- [15] Sotiropoulou PA, Perez SA, Gritzapis AD, et al. Interactions between human mesenchymal stem cells and natural killer cells. Stem Cells. 2006; 24(1):74-85.
- [16] Jiang XX, Zhang Y, Liu B, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. Blood. 2005; 105(10): 4120-4126.
- [17] Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. Blood. 2005; 105(4): 1815-1822.
- [18] Beyth S, Borvenuto F, Ferretti E, et al. Human mesenchymal stem cells alter antigen-presenting cell maturation and induce T-cell unresponsiveness. Blood. 2005; 105(5):2214-2219.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] Fang B, Song YP, Liao LM, et al. Treatment of severe therapy-resistant acute graft-versus-host disease with human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. Bone Marrow Transplant. 2006; 38(5):389-390.
- [22] Ringden 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] 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.

来自本文课题的更多信息--

基金资助: 863 计划重大专项 (2006AA02A109 , 2006AA02A115), 课题名称为干细胞新药“骨髓原始间充质干细胞”II期临床试验研究。

利益冲突: 无其他利益冲突。

课题的意义: 实验深化了对 Flk-1⁺间充质干细胞细胞群体的生物学特性, 及其临床应用前景和局限性的认识。

课题评估的“金标准”: 胶原诱导的关节炎小鼠模型是评价类风湿关节炎的金标准, 试验中已采用。

课题的偏倚与不足: 小鼠模型不能完全代表人体, 间充质干细胞输注对人体进行治疗, 可能会出现不一样的结果。

提供临床借鉴的价值: 间充质干细胞输注可能会强化免疫反应并加重炎症, 因此在临床实验中应适度谨慎。