

Toll 样受体 7 活化调节脐带间充质干细胞 免疫原性的实验研究

杨海青¹, 张 盛², 况小串¹, 杨银忠³, 邱发麒^{1△}

1. 四川省医学科学院·四川省人民医院城东病区 内一科(成都 610041); 2. 四川省医学科学院·四川省人民医院城东病区
质管科(成都 610041); 3. 四川省医学科学院·四川省人民医院城东病区 检验科(成都 610041)

【摘要】 目的 研究脐带间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cell, UCMSC)的 Toll 样受体 7(toll like receptor 7, TLR7)通路活化后,是否会增加 UCMSC 的免疫原性。**方法** 用 TLR7 的激动剂 CL264 刺激 UCMSC 后,用流式细胞术检测 UCMSC 表面共刺激抗原[人白细胞抗原-E(HLA-E),CD80,CD86]和干细胞标志物(CD29,CD59,CD90)的表达变化;定量 PCR 检测 CL264 刺激 UCMSC 后多个免疫相关因子的表达变化;细胞分化实验检测 TLR7 活化后对 UCMSC 分化能力的影响;分离健康人外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)并与 UCMSC 共培养,用细胞杀伤实验检测免疫细胞对 UCMSC 的免疫杀伤效应。**结果** CL264 活化 TLR7 通路后,可明显刺激 UCMSC 表面共刺激分子 CD86 和 HLA-E 的表达;定量 PCR 结果表明 CL264 诱导多个促炎症相关因子[白细胞介素(IL)-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, 干扰素(IFN)- β , IFN- γ , 核因子- κ B (NF- κ B), 转化生长因子- β (TGF- β)]表达,并抑制多个干细胞标志物[Kruppel 样因子 4(Klf4), 巢蛋白(Nestin), 胚胎干细胞关键蛋白质(Sox2), RNA 结合蛋白质(Lin28)]表达;TLR7 通路活化不影响 UCMSC 的分化潜能;CL264 活化 TLR7 通路后增加免疫细胞对 UCMSC 的免疫攻击。**结论** TLR7 激动剂 CL264 可增加 UCMSC 的免疫原性。

【关键词】 脐带间充质干细胞 Toll 样受体 7 CL264 免疫原性

The Study of Increased Immunogenicity of UCMSC Stimulated by TLR7 Agonist CL264 YANG Hai-qing¹, ZHANG Sheng², KUANG Xiao-chuan¹, YANG Yin-zhong³, QIU Fa-qi^{1△}. 1. Department of Hematology, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610041, China; 2. Department of Quality Control, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610041, China; 3. Department of Clinical Laboratories, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: qiufaqi88@yahoo.com

【Abstract】 Objective To study the change of immune status of umbilical cord mesenchymal stem cells (UCMSC) stimulated by toll like receptor 7 (TLR7) agonist CL264. **Methods** TLR7 specific ligand CL264 was used to stimulate the UCMSC. Flow cytometry was conducted to assay the expression of co-stimulators [human leukocyte antigen (HLA)-E, CD80 and CD86] and surface markers of stem cells (CD29, CD59 and CD90). Quantitative PCR was applied to measure the expression variation of immune-related molecules and stem cell markers. Cell differentiation experiment was used to study the change of differentiation ability of UCMSC upon CL264 stimulation. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated from healthy human and then co-cultured with UCMSC in the presence of CL264. Cytotoxicity assay was used to measure the attack of PBMC to UCMSC. **Results** Expression of co-stimulatory molecules CD86 and HLA-E were enhanced in UCMSC upon CL264 stimulation. Real-time PCR indicated that many pro-inflammatory molecules [interleukin (IL) -1 β , IL-6, IL-8, IL-10, interferon (IFN) - β , IFN- γ , nuclear factor- κ B (NF- κ B), transforming growth factor- β (TGF- β)] were induced in the presence of CL264 while the expression of stem cells markers were inhibited [Kruppel-like factor-4 (Klf4), Nestin, SRY-related high-mobility-group-box protein-2 (Sox2), Lin28]. Activation of TLR7 also increased the immune attack of PBMC on UCMSC. Our study also indicated that the treatment of CL264 did not influence the differentiation ability of UCMSC. **Conclusion** TLR7 agonist CL264 could increase the immunogenicity of UCMSC.

【Key words】 Umbilical cord mesenchymal stem cells Toll like receptor 7 CL264 Immunogenicity

间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)
是源自中胚层的一类具有高度自我更新能力和多向

分化潜能的干细胞。MSC 以其多向分化潜能、低免疫原性和免疫抑制效应等特性,从而在细胞治疗中起着越来越重要的作用^[1]。MSC 在治疗移植物抗宿主病(GVHD)^[2]、糖尿病^[3]和神经疾病中^[4]已初见成效。但近年研究表明, MSC 在临床治疗中的主要障碍是 MSC 的治疗效果不具有长期效应^[5],研究表明 MSC 在体内可启动记忆 T 细胞反应^[6],诱导 NK 细胞的杀伤作用^[7],分化后上调共刺激分子从而增加免疫系统对 MSC 的杀伤和排斥^[8]以及刺激宿主补体系统的杀伤作用^[9]。

Toll 样受体(Toll like receptor, TLR)是体内重要的一种模式识别受体,通过识别外源性病原体的特定成分并引发特定免疫反应,对机体起保护作用。人 TLR 家族有 10 个成员, TLR1、TLR2、TLR4、TLR5、TLR6、TLR11 和 TLR10 在细胞表面表达,并可识别多种微生物来源的配体分子。细胞内的 TLR,包括 TLR3、TLR7、TLR8 和 TLR9,主要识别病毒核酸^[10]。MSC 的 TLR3 和 TLR4 活化后可增加其骨分化潜能; TLR8 和 TLR9 活化增加 MSC 的迁移能力; TLR3 可延长 MSC 在体内的生存时间并增加其神经修复功能^[11]。在慢性粒细胞白血病病研究中,发现 TLR7 通路活化后可增加白血病细胞的免疫原性,从而增加机体对白血病细胞的免疫杀伤效应^[12]。因此我们推测 TLR7 在改变细胞免疫原性方面有一定的作用。

本实验选取脐带来源 MSC (UCMSC),用 TLR7 特异激动剂 CL264 刺激 UCMSC,并用流式细胞术、定量 PCR、细胞杀伤实验及 UCMSC 分化实验,研究 TLR7 通路活化后对 UCMSC 免疫原性

的影响,同时研究 TLR7 活化是否影响 UCMSC 的分化潜能。

1 材料及方法

1.1 UCMSC 培养及 TLR7 活化

UCMSC 由四川省脐血干细胞库提供,用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基在 6 孔板中培养(1×10^5 /孔),培养体积为 2 mL,隔 1 d 换一次培养液。TLR7 激动剂 CL264 购自 Invivogen (tlrl-c264e),按说明书要求溶于超纯水中,并加入培养中的 UCMSC 中,使其终浓度为 5 μ g/mL。

1.2 流式检测 UCMSC 表面共刺激分子和干细胞标志物

CL264 处理(CL264 终浓度为 5 μ g/mL)及未处理的 UCMSC 在培养后 72 h 收集细胞,用 PBS 洗两次后,加入 2 μ L 单克隆抗体,室温避光孵育 30 min后离心(1 200 r/min)5 min,弃上清后用 PBS 洗两次。采用 Beckman 公司的 FACScan 流式细胞仪检测 UCMSC 表面共刺激分子:CD80(单抗, 11-0809)、CD86(单抗, 12-0869)、人白细胞抗原-E (HLA-E,单抗, 17-9953)和干细胞标志物:CD90(单抗, 45-0909)、CD59(单抗, 11-0596)、CD29(单抗, 17-0299)。

1.3 定量 PCR 检测促炎症反应因子

PCR 扩增引物见表 1。CL264 刺激后 4 h、12 h、24 h、72 h 和 120 h,使用 QIAgen 公司的 RNA easy mini 试剂盒,按照说明书提取 UCMSC 的 RNA。cDNA 合成采用北京天根公司 RT 试剂盒(FSQ-101),逆转录条件为:65 $^{\circ}$ C 5 min,37 $^{\circ}$ C

表 1 定量 PCR 引物

Table 1 List of oligonucleotides used for real-time PCR analysis

Gene	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	GenBank number
<i>IL-1β</i>	ACGAATCTCCGACCACCACT	CCATGGCCACAACAACCTGAC	M15330
<i>IL-6</i>	GACCCAACCACAAATGCCA	GTCATGTCTGCAGCCACTG	M14584
<i>IL-8</i>	CTGGCCGTGGCTCTCTTG	CCTTGGCCAAAACCTGCACCTT	NM_000584
<i>IL-10</i>	GGTGATGCCCAAGCTGA	TCCCCCAGGGAGTTCACA	U16720
<i>IFN-β</i>	CAGCAATTTTCAGTGTCAGAA	TCATCCTGTCTTGAGGCAGT	M28622
<i>IFN-γ</i>	CCAACGCAAAGCAATACATGA	CGCTTCCCTGTTTTAGCTGC	J00219
<i>TGF-β</i>	TATCGACATGGAGCTGGTGAAG	CAGCTTGGACAGGATCTGGC	X 02812
<i>NF-κB</i>	AGAGTGCTGGAGTTCAGGATA	AAGGTGGATGATTGCTAAGTGT	AJ271718
<i>Klf4</i>	GTCATCAGCGTCAGCAAAGG	CCCTGCTGCTCAGCACTT	NM_004235
<i>Sox2</i>	CCCCTTTATTTTCCGTAGTTGT	GATTCTCGGCAGACTGATTC	NM_003106
<i>Lin28</i>	GGCCTGGATAGGGAAGTTGTT	AGGTCTGCAGCTGTTCCCCCAA	NM_024674
<i>Nestin</i>	GGTTTCCTCTCCCTCTCCAC	AATTTGAATTTTACGTCGTCTG	NM_002448
<i>GAPDH</i>	GAAGGTGAAGGTCGGAGTC	GAAGATGGTGATGGGATTTTC	J04038

IL-1 β : Interleukin-1 β ; *IL-6*: Interleukin-6; *IL-8*: Interleukin-8; *IL-10*: Interleukin-10; *IFN- β* : Interferon- β ; *IFN- γ* : Interferon- γ ; *TGF- β* : Transforming growth factor- β ; *NF- κ B*: Nuclear factor- κ B; *Klf4*: Kruppel-like factor-4; *Sox2*: SRY-related high-mobility-group-box protein-2; *GAPDH*: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

15 min, 98 ℃ 5 min, -20 ℃ 保存样品。定量 PCR 检测采用北京天根公司 RealMaster Mix (SYBR Green) (FP202)。定量 PCR 在 Beckman 公司 iCycler iQ™ Optical Module 完成, 采用如下程序: 95 ℃ 30 s; 95 ℃ 30 s, 58 ℃ 30 s, 70 ℃ 30 s, 共 40 个循环; 55~95 ℃ 收集熔解曲线信号。以 GAPDH 作为内参, 未处理的 UCMSC 作为阴性对照。所有检测均进行 3 次。定量 PCR 结果采用 Bio-Rad iQ5 软件进行分析, 按照文献采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行相对定量分析^[13]。

1.4 白细胞介导的细胞杀伤实验

抽取健康体检人外周血 5 mL, 外周血单个核细胞(PBMCs)采用淋巴细胞分离液, 用梯度离心法分离。用无血清 DMEM 培养基洗 3 次后计数, 并与 UCMSC 共培养。实验分为 CL264 处理组 (CL264 终浓度为 5 μg/mL) 和未处理组, 共培养 24 h、48 h 和 72 h 后收集上清, 用 Promega 公司的乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 检测试剂盒 (G1789) 检测上清中 LDH 水平 (细胞培养上清中 LDH 水平可反映细胞受损情况), 细胞杀伤比例 = $100 \times (E - M) / (T - M)$, 其中 E 表示实验组的 LDH 释放量 [在波长 450 nm 处的吸光度 (A) 值], M 是用作对照的培养基的 A₄₅₀ 值, T 为细胞裂解后的最大 LDH 释放量 (A₄₅₀ 值)。

1.5 UCMSC 分化实验

UCMSC 的分化实验采用条件培养基, 进行成软骨 (GIBCO, A10071-01)、成骨 (GIBCO, A10072-01) 和成脂 (GIBCO, A10070-01) 诱导。UCMSC 接种于 6 孔板中 (1.5×10^5 / 孔), 并加入 2 mL 条件培养基, 37 ℃、5% CO₂ 条件下培养, 每 3 d 更换 1 次。CL264 处理 (CL264 终浓度为 5 μg/mL) 及未处理的 UCMSC 在诱导后 7 d、14 d 和 21 d 分别进行染色并用倒置显微镜 (Olympus, 1X71) 采图, 其中油红用于成脂细胞, 茜素红用于成骨细胞, 番红用于成软骨细胞, 观察 UCMSC 的分化情况。

1.6 统计学方法

计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CL264 刺激对 UCMSC 表面共刺激分子和干细胞标志物表达的影响

结果见表 2。共刺激分子检测结果表明, CD80 的表达在 CL264 处理组和未处理组中差异无统计学

意义, 而 CD86 和 HLA-E 的表达在 CL264 处理组中均升高 (*P* < 0.05); 干细胞标志物检测结果表明, CL264 活化 UCMSC 的 TLR7 通路后, 与 CL264 未处理组相比, CD29 和 CD59 的表达水平均未受到影响 (*P* > 0.05), CD90 的表达有轻微降低 (*P* > 0.05)。表明 CL264 刺激可明显增加 UCMSC 表面共刺激分子表达, 但不影响干细胞标志物的水平。

表 2 CL264 刺激后 UCMSC 表面共刺激分子和干细胞标志物 (%)
Table 2 Detection of expression of co-stimulatory factors and the stem cell surface markers (%)

	Negative control (n=3)	UCMSC+CL264 (n=3)
Co-stimulatory factors		
CD80	0.4 ± 2.0	3.5 ± 2.5
CD86	4.1 ± 3.1	22.8 ± 3.0 *
HLA-E	0.5 ± 1.0	23.0 ± 2.0 *
Stem cell surface markers		
CD29	92.8 ± 3.2	99.8 ± 2.5
CD59	94.8 ± 4.1	95.2 ± 2.7
CD90	91.9 ± 5.0	86.1 ± 1.9

* *P* < 0.05, vs. negative control

2.2 CL264 刺激对 UCMSC 中促炎症反应因子和干细胞标志物基因表达的影响

促炎症反应因子: 在白介类 (interleukins, ILs) 因子检测中 (图 1A), 发现 IL-1β、IL-6、IL-8 和 IL-10 在 CL264 刺激后不同时间段 (4 h、12 h、24 h、72 h 和 120 h), 均高于 CL264 未处理组 (*P* < 0.05), 但在刺激后第 5 d (120 h), 其表达水平均有所下降, 表明 CL264 对这几类因子的诱导表达效应不具有持续作用。同时, IFN-β、IFN-γ、NF-κB 和 TGF-β 等重要的细胞因子的表达水平在 CL264 刺激后, 亦高于 CL264 未处理组 (*P* < 0.05), 其中 IFN-β 和 IFN-γ 在 CL264 处理后出现持续下降趋势 (24 h、72 h 和 120 h), NF-κB 仅在第 5 d (120 h) 下降, TGF-β 则在 CL264 处理后呈持续上升趋势 (图 1B)。

干细胞基因检测结果表明 (图 1C), 多个干细胞标志物表达被不同程度抑制, 其中 Klf4 和 Nestin 在 CL264 处理后 4 h 即明显下降 (*P* < 0.05), 而 Sox2 和 Lin28 分别在 CL264 处理后 24 h 和 12 h, 才明显被抑制 (*P* < 0.05)。

2.3 CL264 刺激后 PBMC 对 UCMSC 杀伤作用的变化

细胞杀伤实验结果表明 (图 2), 共培养 24 h 后, CL264 处理组和未处理组间细胞杀伤比例差异无统计学意义; 48 h 后, CL264 处理组细胞杀伤比例较未处理组升高 (*P* < 0.05); 72 h 后, CL264 处理组

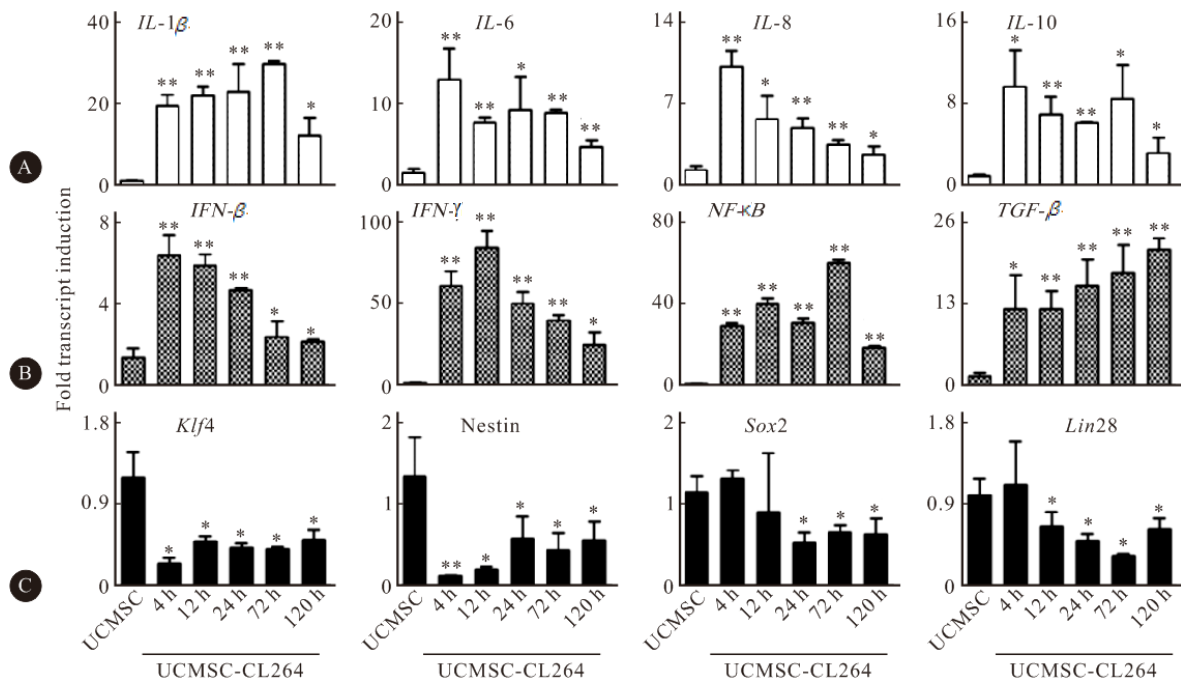


图 1 UCMSC 中促炎症反应因子和干细胞标志物基因表达

Fig 1 Assay for pro-inflammatory molecules and stem cell markers of UCMSC upon CL264 stimulation

A: Interleukins; B: Cytokines; C: Stem cell markers. * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, vs. UCMSC group

细胞杀伤比例进一步升高($P < 0.001$)。表明 TLR7 通路活化后可增加 PBMC 对 UCMSC 的免疫攻击。

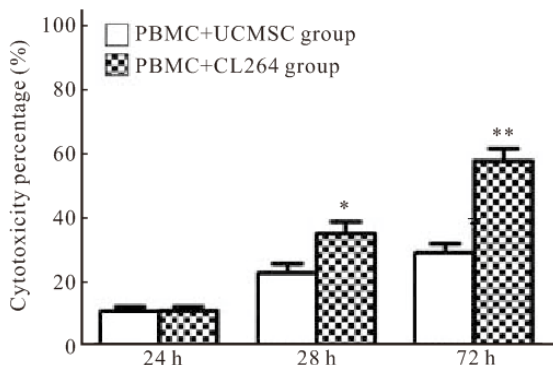


图 2 细胞杀伤实验

Fig 2 Cytotoxicity detection for co-culture cells

* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, vs. PBMC+UCMSC group

2.4 CL264 刺激对 UCMSC 细胞分化功能的影响

茜素红对成骨细胞进行染色,发现在处理后不同时间点,CL264 对 UCMSC 的成骨能力无影响(图 3A)。用番红对成软骨细胞进行染色,CL264 处理组与阴性对照组相比,成软骨细胞的数量无明显差异(图 3B)。油红对成脂细胞进行染色,发现与阴性对照组相比,CL264 处理组的成脂细胞染色无明显差异(图 3C)。表明 CL264 活化 TLR7 通路后,对 UCMSC 的分化能力无影响。

3 讨论

MSC 的主要生物学特点有:①多向分化潜能:可通过分化为多类型组织细胞实现组织修复及再生功能^[14];②低免疫原性:MSC 不表达 CD80/CD86/CD40 等共刺激分子,因此使 MSC 在体内不易诱导免疫反应从而避免被体内排斥^[15];③免疫抑制作用:MSC 可通过多种机制抑制 NK 细胞^[16]、DC 细胞^[17]、T 细胞^[18]和 B 细胞^[19]功能。研究表明 MSC 可表达 TLR1~10,缺氧环境可明显增加 TLR1、2、5、9、10 mRNA 水平,在 MSC 中的生物学功能主要影响 MSC 生存(TLR4);影响 MSC 分化(TLR2、TLR3、TLR4 和 TLR9);影响 MSC 增殖及迁移(TLR2 和 TLR4);影响 MSC 免疫状态(TLR3、TLR4 和 TLR9)^[11]。

既往有研究证实 TLR7 活化可增加急性髓性白血病细胞的免疫原性,从而增加免疫系统对白血病细胞的杀伤效应^[12]。动物模型及临床研究表明 TLR7 配体可增加抗肿瘤免疫反应^[20]。因此本研究选择 TLR7 受体,研究 TLR7 通路活化后对 UCMSC 免疫学特性的影响。结果表明 TLR7 激动剂 CL264 可增加 UCMSC 表面共刺激分子 CD86 和 HLA-E 的表达,定量 PCR 结果显示多个促炎症反应因子可被 CL264 明显诱导(*IL-1 β* 、*IL-6*、*IL-8*、

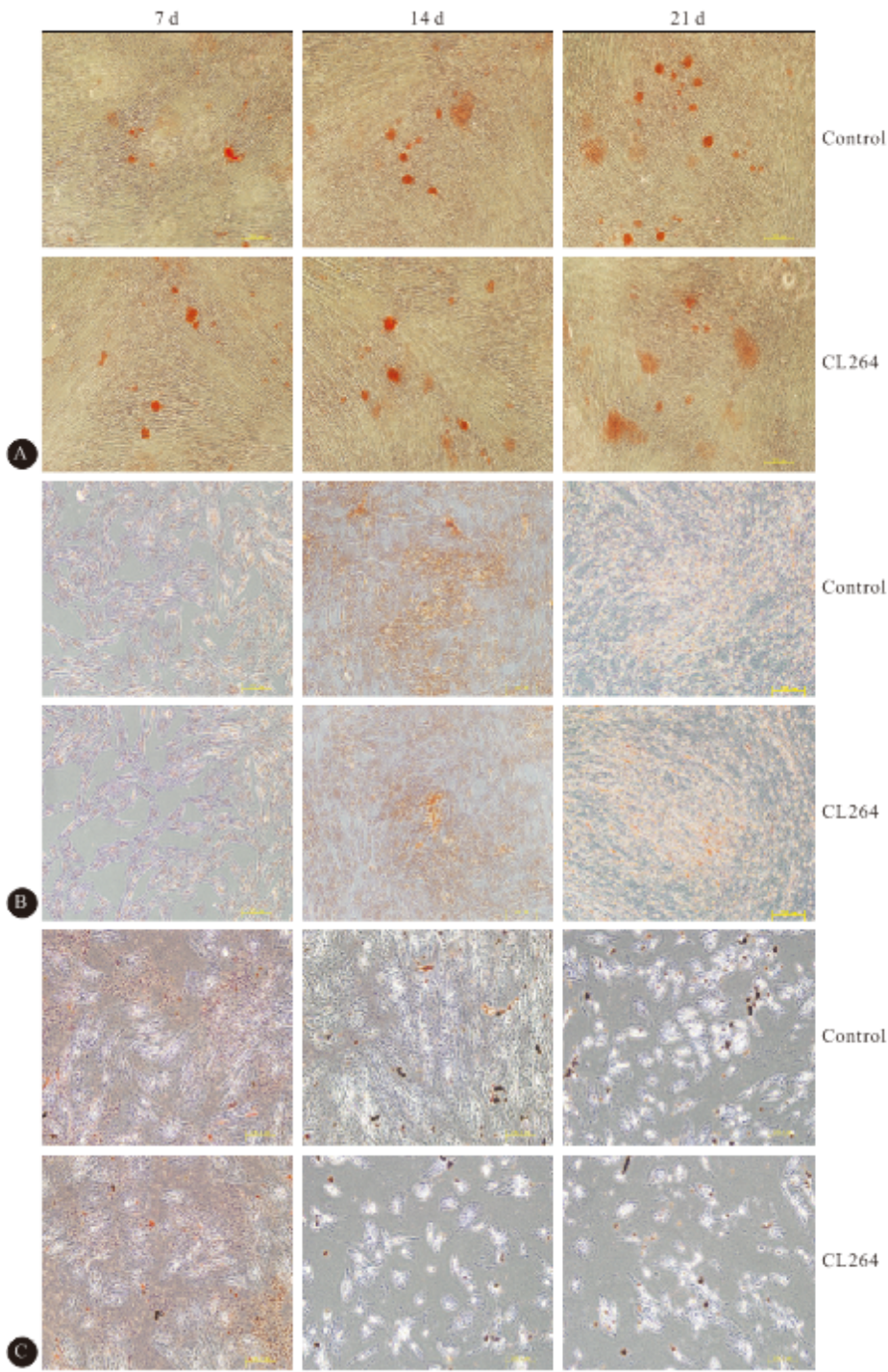


图 3 细胞分化实验。×200

Fig 3 Cell differentiation detection. ×200

A: Osteoblasts; B: Chondrocyte; C: Adipocyte

IL-10、*IFN-β*、*IFN-γ*、*NF-κB* 和 *TGF-β*), 同时 UCMSC 的干细胞标志物表达被明显抑制(*Klf4*、*Nestin*、*Sox2* 和 *Lin28*), 表明 CL264 明显增加 UCMSC 的免疫原性。MSC 分化过程中, 其低免疫状态会发生改变, 有研究报道 MSC 分化为心肌细胞过程中其免疫原性明显增加, 并诱导产生免疫反

应。因此本研究检测 TLR7 活化后是否增加 MSC 的分化特性, 结果表明在 UCMSC 分化为成脂细胞、成骨细胞及成软骨细胞中, TLR7 激动剂 CL264 对其无影响。表明 TLR7 通路活化与细胞分化能力无关。本研究未对 CL264 增加 UCMSC 免疫原性的机制进行相应研究, 我们推测其机制是通过上

调 UCMSC 促炎症相关因子(*IL-1*、*IL-6*、*IL-8*、*IL-10* 等)表达,增加免疫细胞的体内识别导致免疫反应产生,但仍需深入研究。

本研究在检测干细胞标志物中,发现细胞表面标志物 CD29、CD59 和 CD90 无变化,但定量 PCR 检测时发现其他干细胞标志物如 *Klf4*、*Nestin*、*Lin28* 和 *Sox2* 的表达均被明显抑制,推测其原因在于 CL264 活化 TLR7 通路后,仅影响 UCMSC 中部分基因的表达。本研究不足之处在于共刺激分子的表达检测仅选用一个时间点,未进行多时段的动态监测,同时在后续研究中,还应该研究共刺激分子表达与促炎症反应因子表达的相关性。

本研究表明 TLR7 通路活化会增加 UCMSC 在体内被免疫排斥的风险,因此在临床应用中,可考虑通过基因敲除手段沉默 *TLR7* 基因的表达,降低 UCMSC 在体内受免疫攻击的风险,提高 UCMSC 体内的存活时间和组织修复功能,对临床实际应用有较强的指导意义。

参 考 文 献

- Phinney DG, Prockop DJ. Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair-current views. *Stem Cells*, 2007; 25(11):2896-2902.
- Bordignon C, Carlo-Stella C, Colombo MP, *et al.* Cell therapy: achievements and perspectives. *Haematologica*, 1999; 84(12):1110-1149.
- Vojtassak J, Danisovic L, Kubes M, *et al.* Autologous biograft and mesenchymal stem cells in treatment of the diabetic foot. *Neuro Endocrinol Lett*, 2006; 27 Suppl 2: 134-137.
- Guiducci S, Porta F, Saccardi R, *et al.* Autologous mesenchymal stem cells foster revascularization of ischemic limbs in systemic sclerosis: a case report. *Ann Intern Med*, 2010; 153(10):650-654.
- Allison M. Genzyme backs Osiris, despite prochymal flop. *Nat Biotechnol*, 2009; 27(11):966-967.
- 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.
- Spaggiari GM, Capobianco A, Becchetti S, *et al.* Mesenchymal stem cell-natural killer cell interactions: evidence that activated NK cells are capable of killing MSCs, whereas MSCs can inhibit IL-2-induced NK-cell proliferation. *Blood*, 2006; 107(4):1484-1490.
- Huang XP, Sun Z, Miyagi Y, *et al.* Differentiation of allogeneic mesenchymal stem cells induces immunogenicity and limits their long-term benefits for myocardial repair. *Circulation*, 2010; 122(23):2419-2429.
- Li Y, Lin F. Mesenchymal stem cells are injured by complement after their contact with serum. *Blood*, 2012; 120(17):3436-3443.
- Blasius AL, Beutler B. Intracellular toll-like receptors. *Immunity*, 2010; 32(3):305-315.
- DelaRosa O, Lombardo E. Modulation of adult mesenchymal stem cells activity by toll-like receptors: implications on therapeutic potential. *Mediators Inflamm*, 2010; 10(2): 865-601.
- Smits EL, Cools N, Lion E, *et al.* The toll-like receptor 7/8 agonist resiquimod greatly increases the immunostimulatory capacity of human acute myeloid leukemia cells. *Cancer Immunol Immunother*, 2010; 59(1):35-46.
- Alaina BS, Chen BY, Marc LN, *et al.* Validation of the 2⁻ calculation as alternate method of data analysis for quantitative PCR of BCR-ABL P210 transcripts. *Diag Mol Path*, 2006; 15(1):56-61.
- Si YL, Zhao YL, Hao HJ, *et al.* Biological characteristics, clinical applications and their outstanding concerns. *Age Res Rev*, 2011; 19(1):93-103.
- Tolar J, LeBlanc K, Keating A, *et al.* Concise review: hitting the right spot with mesenchymal stromal cells. *Stem Cells*, 2011; 28(8):1446-1455.
- Sotiropoulou PA, Perez SA, Gritzapis AD, *et al.* Interactions between human mesenchymal stem cells and natural killer cells. *Stem Cells*, 2006; 24(10):74-85.
- Nauta A, Kruisselbrink AB, Lurvink E, *et al.* Mesenchymal stem cells inhibit generation and function of both CD34⁺-derived and monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol*, 2006; 177(4):2080-2087.
- Bassi E, Aita CA, Camara NO. Immune regulatory properties of multipotent mesenchymal stromal cells: where do we stand? *World J Stem Cells*, 2011; 3(1):1-8.
- Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, *et al.* Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood*, 2006; 107(1):367-372.
- Schon MP, Schon M. TLR7 and TLR8 as targets in cancer therapy. *Oncogene*, 2008; 27(2):190-199.

(2014-11-12 收稿, 2015-01-14 修回)

编辑 余琳