·基础研究·

受者同系骨髓间充质干细胞对大鼠心脏移植急性排斥反应的影响

刘德忠[1,2]，刘奎利[1]，金建刚[1]，李海斌[1]，石炳毅[1*]，孙锁柱[3]，龙宪连[4]，张晓毅[2]，邹 练[2]

（[1] 中国人民解放军第 309 医院全军器官移植中心，北京 100091；第二炮兵总医院：[2] 泌尿外科，[3] 病理科，[4] 检验科，北京 100088）

【摘 要】目的 观察受者同系骨髓间充质干细胞（MSC）对大鼠心脏移植急性排斥反应的影响，并初步探讨其免疫调节机制。方法 成年雄性 Wistar 大鼠 20 只为受体，随机分为空白对照组和 MSC 处理组，每组 10 只，行 Lewis 大鼠→Wistar 大鼠颈部心脏移植。空白对照组手术后 24h，经尾静脉注射 3ml 0.9%氯化钠注射液；MSC 处理组手术后 24h，经尾静脉注射 MSC 2×10^6（悬浮在 3ml 0.9%氯化钠注射液中）。术后 1 周，每组随机取 4 只大鼠，进行组织学检查及下腔静脉血检测血清白介素（IL）-2 及 IL-10 水平。其余 6 只用以继续观察移植物存活时间。结果 （1）空白对照组大鼠移植心脏存活（7.2±1.3）d，MSC 处理组大鼠移植心脏存活（14.8±2.9）d，差异显著（$P<0.01$）。（2）血清 IL-2 空白对照组为（233.99±30.19）ng/L，MSC 处理组为（249.11±20.34）ng/L，两组无统计学差异（$P>0.05$）；血清 IL-10 空白对照组为（81.44±11.01）ng/L，MSC 处理组为（158.39±18.70）ng/L，差异显著（$P<0.01$）。（3）病理学分级，空白对照组 3B 级 1 例、4 级 3 例，MSC 处理组 2 级 1 例、3A 级 2 例、3B 级 1 例，MSC 处理组病理分级总体较空白对照组低。结论 静脉注射受者同系骨髓 MSC，可以延长大鼠颈部移植心脏的存活时间，减轻急性排斥反应的程度。

【关键词】间充质干细胞；心脏移植；大鼠；免疫抑制；移植物排斥

【中图分类号】 R392.4 【文献标识码】 A 【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2011.00065

Effects of bone marrow mesenchymal stem cells derived from recipients on acute rejection in rat cardiac transplantation models

LIU Dezhong[1,2], LIU Kuili[1], JIN Jian'gang[1], LI Haibin[1], SHI Bingyi[1*], SUN Suozhu[3], LONG Xianlian[4], ZHANG Xiaoyi[2], ZOU Lian[2]

([1]Organ Transplantation Center of PLA, Chinese PLA 309th Hospital, Beijing 100091, China; [2]Department of Urology, [3] Department of Pathology, [4]Clinical Laboratory, Second Artillery General Hospital, Beijing 100088, China)

【**Abstract**】 **Objective** To investigate the effects of mesenchymal stem cells(MSCs) derived from recipients' bone marrow on the acute rejection in rat models of cardiac transplantation and to study the possible underlying mechanisms. **Methods** Twenty Wistar rats bearing transplanted heart from Lewis rats were divided randomly into control group and MSCs treatment group, with 10 in each group. The rats in control group received 3ml 0.9%NaCl solution injection through tail vein at 24h after heart transplantation. The rats in treatment group received 2×10^6 MSCs suspended in 3ml 0.9%NaCl solution instead. One week after transplantation, 4 rats selected randomly from each group were sacrificed for detection of interleukin(IL)-2 and IL-10 levels in inferior canal vein by ELISA and immunohistolochemical examination. The left 6 rats in each group were used for determination of the grafts survival time. **Results** The survival time of allografts was (7.2±1.3)d in control group and (14.8±2.9)d in MSCs treatment group respectively($P<0.01$). Serum IL-2 concentration was (233.99±30.19)ng/L in control group and (249.11±20.34)ng/L in MSCs treatment group($P>0.1$). Serum IL-10 concentration was (81.44±11.01)ng/L in control group and (158.39±18.70)ng/L in MSCs treatment group($P<0.01$). In control group, there was 1 case with pathological grade 3B and 3 cases with grade 4. In MSCs group, there was 1 case with grade 2, 2 cases with grade 3A, and 1 case with grade 3B. MSCs treatment group had comparatively lower pathological grade than control group. **Conclusion** Intravenous infusion of MSCs derived from recipients could prolong the survival time of transplanted heart and reduce the acute rejection.

【**Key words**】 mesenchymal stem cells; cardiac transplantation; rats; immune suppression; acute rejection

近年来，对间充质干细胞（mesenchymal stem cells, MSC）的研究逐渐扩展到它独特的免疫学特性上。体外研究已经明确，MSC 能够抑制经典的混合淋巴细胞反应中，或丝裂原植物血凝素刺激引起的

收稿日期：2011-06-01；修回日期：2011-09-14

通讯作者：石炳毅，Tel: 010-66775188, E-mail: shibinyi@medmail.com.cn

T淋巴细胞增殖[1,2]，提示MSC在体外具有抑制免疫反应的作用。Bartholomew 等[3]观察到狒狒的骨髓MSC除了能够体外抑制混合淋巴细胞培养中T细胞增殖外，在皮肤移植的同时体内一次性静脉注射供者或第三者 MSC，可以延长移植皮片的存活时间。

已经证明，MSC 具有特殊的生物学特性，表达中度水平的主要组织相容性复合体（major histocompatibility complex, MHC）Ⅰ类分子，不表达MHC Ⅱ类分子和 Fas 配体，不表达 T 细胞共刺激分子 B7-1, B7-2, CD40, CD40L，所以MSC的免疫原性较弱，不易刺激机体产生免疫反应[4]，这就可以使其逃避受体的细胞毒性细胞和自然杀伤细胞的作用，供者的MSC便可以在宿主体内存活，从而发挥免疫抑制作用。因为这种免疫抑制作用不受 MHC 限制，所以无论来自供者、受者或第三方的 MSC 都应该具有相似的作用。不过，目前文献大都集中于供者 MSC 调节造血干细胞移植后免疫反应的研究，而关于受者自体MSC调节免疫的研究甚少，尤其缺乏对实体器官移植后免疫反应影响的研究。由于临床工作中，供者骨髓 MSC 的获取会受到一些限制，影响其应用，所以，研究受者自体 MSC 对实体器官移植急性排斥反应的影响将更有实际意义。我们选用大鼠颈部心脏移植模型，通过静脉注射受者同系大鼠骨髓 MSC，观察大鼠移植心脏存活时间及相关免疫学指标，探讨受者同系大鼠骨髓MSC对心脏移植急性排斥反应的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

清洁级雄性Lewis大鼠，体重（180±10）g，作为心脏移植供体；清洁级雄性Wistar大鼠20只，体重（240±10）g，作心脏移植受体；雄性Wistar大鼠8只，1月龄，作为骨髓间充质干细胞供体。动物均购自北京维通利华实验动物技术有限公司[许可证编号: SCXK（京）2007-0001]。

1.2 主要试剂

主要试剂有 DMEM 干粉培养基（美国 Invitrogen 公司）、胎牛血清（杭州四季青生物材料研究所）、淋巴细胞分离液（中国医学科学院生物工程研究所）、0.25%胰蛋白酶（华美公司进口分装）、FITC 标记抗大鼠 CD29、CD34、CD45、CD11B、CD90、CD106 单克隆抗体（英国 EB 公司）、大鼠 IL-2、IL-10 ELISA 试剂盒（武汉博士德生物技术有限公司）。

1.3 大鼠骨髓 MSC 的分离、培养与鉴定

1.3.1 MSC的分离 颈椎脱臼法处死供者Wistar大鼠，将之浸泡于75%乙醇溶液中消毒20 min，在超净台内无菌分离股骨和胫骨，将骨干骺端剪除，暴露骨髓腔，用10 ml含15%胎牛血清的DMEM细胞培养液正反方向反复冲洗骨髓腔，将冲洗液收集于培养皿中并反复抽吸吹打使成单细胞悬液。用注射器接4.5号针头回收细胞悬液于10ml离心管中，1000r/min离心10 min，将沉淀用含15%胎牛血清DMEM液重新悬浮。加入密度为1.073g/ml淋巴细胞分离液，2000r/min离心20 min，吸取液体中间的细胞层，再用PBS漂洗离心2次。用含15%胎牛血清DMEM细胞培养液重新悬浮沉淀的细胞，用血细胞计数板计数细胞，算出细胞悬液中细胞的密度。

1.3.2 MSC 的培养与传代 调整细胞浓度为 1×10^5/ml，接种于 25 cm^2 塑料培养瓶中。培养基为含有15%胎牛血清、青霉素 G（100U/ml）、链霉素（100U/ml）的 DMEM 培养液，于 5%CO_2、37℃、pH7.2、饱和湿度的 CO_2 孵箱内培养。3 d 后首次换液，轻轻摇晃培养瓶，弃去不贴壁细胞，以后每周换液 2 次，倒置显微镜下每日观察细胞形态，待细胞接近融合（大约 7～10 d）时传代培养。

弃去培养液，无血清 DMEM 液 5 ml 洗涤 1 次，0.25%胰蛋白酶 2 ml 消化 2～3 min，同时镜下观察以更好地控制消化过程。细胞消化分离后，再加入等量含 15%胎牛血清 DMEM 培养液终止消化，吸管轻轻吹打使细胞脱落，制成单细胞悬液，1000 r/min 离心 5 min，弃上清，用含 15%胎牛血清培养基悬浮细胞，按 1:2 的比例接种于培养瓶中，37℃、5%CO_2 继续培养，细胞为 P1 代，每日倒置显微镜下观察，2～3 d 换液一次，直至细胞融合铺满瓶底时再传代则为 P2 代，如此类推，反复传代扩增。

1.3.3 流式细胞术表型分析 P3 代细胞用胰蛋白酶消化 3 min，以等量含 15%胎牛血清培养液终止消化，轻轻吹打使所有细胞脱落，1000 r/min 离心 5 min，弃上清，用不含胎牛血清的 DMEM 培养基悬浮细胞，调整细胞浓度为 1×10^6/ml，取 100 μl，进行细胞标记：向收获的细胞中分别加 FITC 标记的抗大鼠 CD11B, CD29, CD34, CD45, CD90, CD106 单克隆抗体 2 μl，混匀，避光 4℃冰箱放置 10 min，1200 r/min 离心 5 min，弃去上清液，PBS 洗 2 次，加入多聚甲醛固定液 450 μl 固定，待上机检测。所有标本均在 6 h 内完成标定。以流式细胞仪的配套软件 Cell Quest（美国 B-D 公司产品，Ver3.0）分析样本中 1×10^4 个细胞的相应标记阳性表达率。每个样本均采用 FITC 和

PE 标记同型 IgG 作为相应的阴性对照。

1.4 大鼠颈部心脏移植模型的建立

Lewis大鼠作为心脏供体，Wistar大鼠作为受体，采用套管法成功构建大鼠颈部心脏移植模型，手术过程按文献[5]进行。

1.5 实验分组及实施方案

1.5.1 实验分组 受体大鼠20只，随机分为2组进行实验。MSC传至P4～P6时收集细胞，用血细胞计数板计数细胞，按2×10^6个细胞悬浮在3 ml 0.9%氯化钠注射液中，置于在37℃环境。空白对照组手术后24h，经尾静脉注射3 ml 0.9%氯化钠注射液；MSC处理组手术后24h，经尾静脉注射MSC 2×10^6。术后第7d（注射细胞后第6d），每组随机取4只大鼠，麻醉后，开腹取下腔静脉血、手术取移植物进行实验。其余6只继续观察移植物存活情况。

1.5.2 心脏移植大鼠的观察 每日观察大鼠精神状态，按时触诊移植心脏，注意移植物大小及肿胀情况、切口有无感染、移植物搏动幅度、搏动节律、每分钟搏动次数。停跳者移植物存活时间视为到停跳的前1日。

1.5.3 酶联免疫吸附（ELISA）法测定大鼠血清中IL-2及IL-10的表达 采用ELISA法检测血清IL-2及IL-10含量，操作方法按试剂说明书进行。每个标本重复检测3次，取平均值。

1.5.4 移植物病理检查 手术取下的移植物，纵行切为两半，取其中一半，立即投入4%甲醛溶液中浸泡固定24h，石蜡包埋，切片4μm厚，进行HE染色，光学显微镜观察心肌显微结构。按照国际心脏与肺移植协会制定的心脏移植急性排斥反应诊断标准对移植心脏进行组织病理学分级及评分[6]。

1.6 统计学处理

所有数据均采用用统计软件CHISS2004进行处理。移植心脏存活搏动天数组间比较采用生存分析时序检验；IL-2及IL-10含量采用两样本比较的秩和检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 鼠骨髓 MSC 培养结果

MSC 分离后于培养瓶中 24 h 即出现贴壁，第3～4 d 细胞生长明显，10～12 d 时培养瓶底细胞约70%相互融合。通过换液，漂浮的未贴壁细胞逐渐被清除，原代细胞生长逐渐出现向成纤维样细胞趋化的表现，3 代后即可得到较为纯化的 MSC（图 1），至少可以传代 10 代以上。MSC 在 25 cm 塑料培养瓶中生长至 100%融合时，细胞数量约为 5×10^5～6×10^5个。

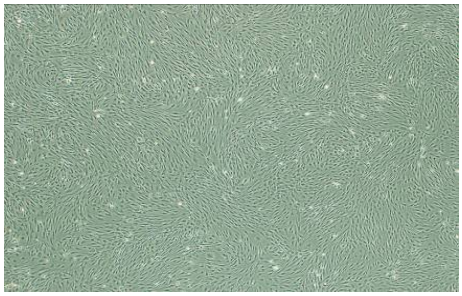


图 1 第 6 代 MSC 细胞(倒置相差显微镜, ×100)
细胞形态较均一、饱满，多呈梭性

2.2 大鼠骨髓 MSC 的表型分析

MSC 的抗原表达显示 CD11B（－）、CD29（＋）、CD34（－）、CD45（－）、CD90（＋）、CD106（＋）（表 1）。

表 1 MSC 的抗原表达

标记分子	阳性表达率(%)	结论
CD11B	4.54	–
CD29	98.56	＋
CD34	0.03	–
CD45	0.45	–
CD90	96.98	＋
CD106	81.34	＋

2.3 移植物触诊情况

各组移植物术后早期（1～10 d）均有不同程度的肿大，其中空白对照组移植物肿大变硬明显，搏动幅度下降，速率变慢，节律变乱，直到停跳前发展至极限，移植心脏停跳后受体可继续存活；MSC处理组移植物逐渐肿大，搏动速率逐渐减慢，节律也发生变化，出现二联律、三联律等，肿胀不能消退，直至停跳，过程同空白对照组，但发展相对较慢。

2.4 大鼠移植心脏的存活时间

经 MSC 处理后，移植物存活时间延长，应用生存分析时序检验，两组差异具有统计学意义[（7.2±1.3）*vs*（114.8±2.9）d; $P=0.0057$]。

2.5 大鼠血清中 IL-2 及 IL-10 的表达

大鼠血清中 IL-2 及 IL-10 的浓度见表 2。应用两样本间比较的秩和检验显示，血清 IL-2 两组之间差异不具有统计学意义（$P>0.05$），血清 IL-10 两

表 2 大鼠血清 IL-2, IL-10 浓度 (n=4, ng/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	IL-2	IL-10
对照组	233.99±30.19	81.44±11.01
MSC 处理组	249.11±20.34	158.39±18.70**

注：与对照组比较，**$P<0.01$

组之间差异显著（$P<0.01$），提示 MSC 的处理可使血清 IL-10 的浓度升高。

2.6 植心脏组织病理学检查

术后第 7 日各组分别随机采集移植心脏组织 4 例，石蜡切片，进行 HE 染色，光镜下观察结果。结果显示，空白对照组心肌组织内有大量淋巴细胞和单核细胞浸润，末梢小血管内血栓形成，有明显的心肌间质水肿和出血，不同程度的心肌细胞变性、黏液性坏死，呈急性排斥变化; MSC 处理组心肌组织内有中等数量的淋巴细胞浸润，伴有灶性心肌细胞损害，心肌间质也有轻度水肿和出血，炎性反应程度较空白对照组轻（图 2）。以上病理结果表明，MSC 处理使移植心脏的急性排斥反应受到一定程度的抑制。各组急性排斥反应病理学分级例数见表 3。

图 2 同种异基因大鼠移植心脏病理(HE 染色 ×100)
A: 空白对照组; B: MSC 处理组

表 3 各组急性排斥反应病理学分级比较 (n=4, n)

组别	0	1A	1B	2	3A	3B	4
对照组	0	0	0	0	0	1	3
MSC 处理组	0	0	0	1	2	1	0

3 讨 论

MSC 是存在于骨髓和多种组织器官如脂肪、脐带、胎肝、血液和肺中的一种多能干细胞[7,8]，在组织中的具体数量目前仍未清楚。MSC 属于单个核细胞，在新鲜骨髓内丰度较低，但由于从骨髓中获取比较方便，目前较多的研究都集中在骨髓 MSC。MSC 分离与培养方法包括密度梯度离心法、全骨髓贴壁培养筛选法、免疫磁珠分离法和流式细胞仪分选法等。后两者对细胞活性影响较大，操作复杂、价格昂贵，难以适应研究应用所需；离心法可以在 1.073 g/ml 密度界面上得到较为纯化的 MSC，结合 MSC 贴壁生长的特性，可简便易行地获取目的细胞。在培养过程中，贴壁细胞中可能混有巨噬细胞等，每次传代用 0.25%的胰蛋白酶消化，严格控制酶的量和消化时间，利用 MSC 较易脱落的特点，保证其在短时间内与培养瓶底分开，而巨噬细胞等因贴壁性强仍贴服于培养瓶底，从而使之得到纯化。本研究采用密度梯度离心法和反复贴壁法进行筛选分离大鼠 MSC，所获细胞形态均一，增殖速度快，生长性状稳定，且操作方便，成本低。

对于 MSC 的表型分析主要采用流式细胞术和分子生物学方法，但目前仍无法鉴定出 MSC 特异性的细胞表面标志，因此，尚无直接方法可鉴定得到 MSC。一般认为, MSC 对 SH2, SH3, SH4, CD29, CD44, CD54, CD58, CD73, CD90, CD105, CD106, CD166 等都呈阳性反应，对 CD11B, CD14, CD31, CD34, CD45, CD50 等则呈阴性反应[8-10]。因此，对于 MSC 表型分析多采用多种标志的组合进行综合分析，主要是排除 CD14, CD34 和 CD45（造血干细胞的特异性表面标志），CD11B（淋巴细胞表面标志）等的表达，从而推断出是否是 MSC。本研究所获取的细胞，经采用这种组合分析，完全符合 MSC 的特点。

大鼠异位心脏移植，作为研究器官移植免疫反应机理的模型具有非常强大的实用价值，不仅制作简单、成功率高，而且观察研究也较方便。我们为研究受者同系大鼠骨髓 MSC 对器官移植的影响及机制，采用了该模型，将体外扩增的受者同系 MSC 在建模 24 h，确定模型成功后经尾静脉注射入大鼠体内，观察 MSC 对急性排斥反应的影响。结果发现，MSC 的应用可以延长大鼠移植心脏的存活时间，注射 MSC 后 6 d，也是急性排斥反应最重的时间，病理检查显示，MSC 处理组排斥反应分级低于空白对照组，显示了 MSC 减轻急性排斥反应的作用，并且发现，MSC 应用后，其体内的一些免疫相关的细胞因子 IL-2 及 IL-10 发生了变化。

研究显示，供者来源的骨髓 MSC 在体外、体内都能对同种异体免疫反应发挥负性调节作用，并已经用于预防或减轻造血干细胞移植后移植物抗宿主病的临床研究[11]，但是其免疫调控的机理仍不太清楚。有研究表明，MSC 可通过改变抗原提呈细胞（antigen presenting cell, APC）的成熟而抑制 T 细胞活性，其机制为细胞与细胞间的接触抑制，MSC 通过接触、剂量依赖性地伴随释放大量 IL-10 和阻止 APC 成熟而间接抑制 T 细胞的活性[12]。因为器官移植急性排斥反应的发生主要是 T 淋巴细胞介导的迟发型变态反应，所以，本实验对受者骨髓 MSC 用于干预器官移植急性排斥反应的研究主要也从 T 细胞入手。

现代免疫学研究证明, $CD4^+$辅助性 T 细胞主要分为 Th1 和 Th2 细胞等亚群，细胞免疫或体液免疫实际上主要是通过 Th1 和 Th2 细胞分泌不同的细胞

因子所诱导的。Th1 细胞主要产生 IL-2、干扰素-γ 和肿瘤坏死因子等细胞因子；Th2 细胞主要产生 IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 等细胞因子，Th1/Th2 细胞因子的平衡可以造成移植后免疫排斥或免疫耐受状态[13]。一般认为，在移植免疫应答中，Th1 类细胞因子（促炎因子）参与介导排斥反应的发生，而 Th2 类细胞因子（抗炎因子）可拮抗 Th1 细胞并抑制细胞毒 T 淋巴细胞的功能，从而产生免疫抑制及诱导免疫耐受[14]。因此，阻断 Th1 细胞及其所分泌的细胞因子的效应，或增强 Th2 细胞及其所分泌细胞因子的效应，将有利于建立移植耐受。本研究显示，在注射 MSC 后 6 d，MSC 处理组大鼠血清中 IL-2 水平与空白对照组差异不明显，而 IL-10 水平高于空白对照组，Th1/Th2 细胞因子的比例下降，平衡向着免疫抑制的方向偏移，由此可以推测，分泌这两种细胞因子的 Th 细胞在大鼠心脏移植急性排斥反应中的平衡得到重新调整，它们所分泌的细胞因子水平也相应发生变化，从而下调了免疫反应，减弱了急性排斥反应的程度，延长了移植物的存活时间。

当然，MSC 对机体免疫的调节机制是很复杂的，我们的研究只是初步探索，还有许多值得深入研究之处，如使用 MSC 的量、时间、频次、途径、合适的传代次数、与共用药物的相互影响以及安全性等。我们采用的细胞剂量是按大鼠每千克体重注射 1×10^7 个细胞[15]，而不同的剂量和时机，如在术前或术后单次或多次给药都可能会有不同的效果；用药途径如动脉用药、局部用药等方式值得进一步探讨，所以尚需大量的研究工作。不过，受者同系骨髓 MSC 在大鼠心脏移植模型上显示出抑制急性排斥反应的作用将会为 MSC 在免疫调节方面的深入研究提供基础和平台，相信不久的将来，MSC 将会在器官移植上得到临床应用。

【参考文献】

[1] 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[J]. Blood, 2002, 99(10): 3838-3843.

[2] Glennie S, Soeiro I, Dyson PJ, *et al*. Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest energy of activated T cells[J]. Blood, 2005, 105(7): 2821-2827.

[3] Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, *et al*. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation *in vitro* and prolong skin graft survival *in vivo*[J]. Exp Hematol, 2002, 30(1): 42-48.

[4] Majumdar MK, Keane-Moore M, Buyaner D, *et al*. Characterization and functionality of cell surface molecules on human mesenchymal stem cells[J]. J Biomed Sci, 2003, 10(2): 228-241.

[5] 刘德忠, 刘奎利, 金建刚, 等. 套管法建立同系与异系大鼠颈部心移植模型的比较[J]. 解剖学杂志, 2010, 33(1): 107-110.

[6] Billingham ME, Cary NRB, Hammond ME, *et al*. A working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection[J]. J Heart Transplant, 1990, 9(6): 587-593.

[7] De Ugarte DA, Morizono K, Elbarbary A, *et al*. Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow[J]. Cells Tissues Organs, 2003, 174(3): 101-109.

[8] 刘奎利, 石炳毅, 刘德忠, 等. 大鼠脐带源间充质干细胞的分离及生物学性状[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(10): 1743-1748.

[9] Barry F, Boynton R, Murphy M, *et al*. The SH-3 and SH-4 antibodies recognized distinct epitopes on CD73 from human mesenchymal stem cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 289(2): 519-524.

[10] Gronthos S, Zannettino AC, Hay SJ, *et al*. Molecular and cellular characterization of highly purified stromal stem cells derived from human bone marrow[J]. J Cell Sci, 2003, 116(Pt9): 1827-1835.

[11] Lazarus HM, Koc ON, Devine SM, *et al*. Cotransplantation of HLA-identical sibling culture-expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2005, 11(5): 389-398.

[12] Beyth S, Borovsky Z, Mevorach D, *et al*. Human mesenchymal stem cells alter antigen-presenting cell maturation and induce T cell unresponsiveness[J]. Blood, 2005, 105(5): 2214-2219.

[13] Batten P, Sarathchandra P, Antoniw JW, *et al*. Human masenchymal stem cells induce T cell anergy and downregulate T cell allo-responses via the TH2 pathway: relevance to tissue engineering human heart valves[J]. Tissue Eng, 2006, 12(8): 2263-2273.

[14] Roncarolo MG, Gregori S, Battaglia M, *et al*. Interleukin-10-secreting type 1 regulatory T cells in rodents and humans[J]. Immunol Rev, 2006, 212(1): 28-50.

[15] Zhou HP, Yi DH, Yu SQ, *et al.* Administration of donor-derived mesenchymal stem cells can prolong the survival of rat cardiac allograft[J]. Transplant Proc, 2006, 38(9): 3046-3051.

（编辑：任开环）