

• 糖尿病治疗新技术 •

1 型糖尿病的新希望：Stem Cell Educator 治疗技术

赵勇

【摘要】 T1DM 是由 T 细胞介导的自身免疫反应,进而导致胰岛β细胞破坏和胰岛素缺乏。为治愈 T1DM,过去 25 年来,针对如何控制自身免疫,各国学者已对众多方案(如多种单抗阻断和疫苗)进行了探索和临床尝试,多数已失败告终。其根本原因是由于 T1DM 的自身免疫反应具有多克隆特性,且具有多重的免疫调节紊乱。近年来,基础和临床研究发现干细胞除了具有分化功能外,还具有重要的免疫调节作用,为 T1DM 和其他自身免疫病的治疗提供了新的手段。在此,将主要介绍我们实验室创建的 Stem Cell Educator 治疗技术在 T1DM 的应用。该技术通过脐血多能干细胞(CB-SC)的免疫调节,可控制自身免疫,再生胰岛β细胞,为 T1DM 的治疗开辟了崭新的途径。

【关键词】 糖尿病,1 型;Stem Cell Educator
doi:10.3969/j.issn.1006-6187.2014.03.001

New hope for type 1 diabetes mellitus; Stem Cell Educator therapy Yong Zhao M. D., Ph. D.
Department of Research, Hackensack University Medical Center, NJ USA

【Abstract】 The global prevalence of diabetes seriously challenges human health. Type 1 diabetes mellitus (T1DM) is a T cell-mediated autoimmune disease that causes the deficit of pancreatic islet β cells. While daily insulin injections offer some control over blood sugar levels, insulin therapy is not a cure. Due to the polyclonal nature and multiple immune dysfunctions in T1DM patients, a true cure has proven elusive despite intensive research pressure by using conventional approaches over the past 25 years. It is essential how to control the autoimmunity of T1DM. Recently, increasing evidence demonstrates that stem cells display the immune modulation in addition to the cellular differentiations. We identified a novel type of stem cells from human cord blood, and designated cord blood-derived multipotent stem cells (CB-SC). We also established an innovative technology: the Stem Cell Educator therapy. Animal studies and clinical trials have confirmed that treatment with the Stem Cell Educator (CB-SC) provides lasting reversal of autoimmunity that allows regeneration of islet β cells and improvement of metabolic control in long-standing T1DM subjects, and open up a new avenue to find a cure for T1DM.

【Key words】 Diabetes mellitus, type 1; Stem Cell Educator

糖尿病已成为世界范围内的一种流行病。糖尿病的发病率和增长速度令人震惊,其主要原因是因为西方生活方式的普及,特别是营养过剩和有限的运动^[1-2]。目前,印度的发病率为第一(高达 12.1%),中国为 9.7%,美国为 8.3%^[2-3]。在中国,糖尿病患者人数达 9200 万,数量达到世界第一。糖尿病不仅给个人和家庭带来了沉重的经济负担,还对国家的经济发展产生了严重影响。据国际糖尿病联合会统

计,目前全球糖尿病患者约有 2.85 亿,另有超过 3.44 亿人处于糖尿病前期,可能因为遗传、肥胖或不良的生活方式等因素,进而发展为糖尿病。T1DM 主要与胰岛β细胞的免疫损伤有关^[4], T2DM 主要与外周器官对胰岛素的敏感性下降有关^[1]。近年来,大量的基础和临床研究^[5-6]表明, T1DM 和 T2DM 在发病原因和发生机制方面,存在许多相似和交叉之处。常用的人工合成胰岛素只能“治标”,而不“治本”,也不能很好地预防糖尿病相关的并发症,如心脑血管病、神经病变、眼底视网膜和肾脏病

作者单位:美国 Hackensack 大学医学中心

变等。攻克糖尿病,已成为当前世界各国共同面对,并亟待解决的首要健康问题^[1,7]。在此,本文将主要介绍本实验室创建的 Stem Cell Educator 治疗技术在 T1DM 中的应用。动物实验和临床应用已充分证明:通过脐血多能干细胞(CB-SC)的免疫调节,可控制自身免疫,再生胰岛 β 细胞,为 T1DM 的治疗开辟了崭新的途径。

一、T1DM 与干细胞治疗概述

1. T1DM 的发病机制与面临的挑战:T1DM 是由 T 细胞介导的自身免疫反应,进而导致胰岛 β 细胞的缺乏。T1DM 患者须每天多次注射胰岛素以维持生命,但这不是根本疗法。在过去的 25 年内,为攻克 T1DM,世界各国已对众多方案进行了探索和临床尝试,多数已失败告终^[4,8-12]。其根本原因是由于 T1DM 的自身免疫反应具有多克隆特性,且具有多重的免疫调节紊乱。故此,针对某个单一环节,所采取的治疗措施是行不通的^[9]。有学者建议采用联合疗法进行免疫干预。但如何联合,这将非常复杂,且加重患者的治疗费用。

长期以来,大部分干细胞方面的研究工作,主要集中在调控它们的分化以替换特定的生理功能。干细胞在 T1DM 中的应用,多数工作主要集中在如何研究干细胞向胰岛 β 细胞定向分化,以纠正胰岛素产生细胞的缺乏^[13]。但是,如果不能很好地控制自身免疫反应,自身免疫细胞就会破坏那些进入体内的干细胞来源的胰岛素产生细胞,从而降低它们的疗效。因此,如何有效地控制自身免疫,是治疗 T1DM 亟待解决的关键问题^[12,14]。最近越来越多的证据^[1,12,14-16]表明,除上述分化特性外,干细胞还具有另外一个重要的生理功能——免疫调节作用。利用干细胞的免疫调节作用,纠正 T1DM 的自身免疫,作为一种新颖的疗法,已在临床应用,并取得了显著的疗效。干细胞的免疫调节作用可通过与干细胞共培养来实现。在共培养过程中,T1DM 患者来源的效应性 T 细胞和/或调节性 T 细胞(Treg)可在由脐血多能干细胞或间充质干细胞形成的微环境中,通过细胞与细胞间的直接接触或可溶性因子得到教育和调节^[12,16-17]。特别是脐血多能干细胞的应用,为攻克 T1DM,开辟了全新的治疗途径^[14]。

2. 临床治疗糖尿病的干细胞种类:干细胞的种类有多种。目前,几乎在人体的每个组织中,都发现有干细胞的存在。这些原位的组织干细胞在维持组

织细胞的再生和修复过程中,发挥了重要作用。然而,由于数量少,分离纯化困难,限制了它们在临床的推广应用。另外,大多数胚胎干细胞(ES)和诱导性多潜能干细胞(iPS)尚处于基础研究阶段,到实际应用尚有很远的距离,其主要限制因素是伦理和安全性等问题^[13]。因此,目前真正能够用于临床且证明对糖尿病有治疗价值的干细胞并不多,仅限于有限的几种,其中包括骨髓 CD34⁺造血干细胞(HSC)、骨髓或脐带间充质干细胞(MSC)和 CB-SC。3 类干细胞具有各自不同的生物学特性,临床应用功能和作用各不相同。Votavelli 等^[18]采用动员后 HSC 治疗新发的 T1DM 患者,取得了一定的疗效,作用机制尚不清楚;但由于应用化疗药物的不良反应,限制了其广泛推广应用,且约 60% 患者若干年后还要复发。

在生理条件下,间充质干细胞通常位于骨髓和结缔组织中,是非常稀少的细胞群。通过组织细胞分离培养,间充质干细胞可在体外生长扩增,表现为成纤维细胞样的梭形形态。它们表达 CD73、CD90 和 CD105 等分子标志,但白细胞共同抗原 CD45 呈阴性^[12]。虽然在体外培养过程中,形态相似,但间充质干细胞是一个高度异质的群体,不同代的细胞具有不同的表型。间充质干细胞和骨髓基质细胞与组织成纤维细胞有着很多共同点,形态特征非常类似,故此通过常规的体外细胞培养,很难得到纯化而单一的间充质干细胞。骨髓基质细胞、成纤维细胞和造血干细胞(尤其是在小鼠细胞培养过程中)的污染是间充质干细胞培养过程中非常常见的^[19]。实验^[19-20]显示,间充质干细胞可调节多种免疫细胞,包括 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、B 细胞、单核/巨噬细胞、DCs 和 NK 细胞的活性。在小鼠间充质干细胞的研究中,这些调节作用产生的分子机制能够很好的理解,但是人间充质干细胞的免疫调节机制是不一样的^[21-23]。值得重视的是,Waterman 等^[24]发现,间充质干细胞在不同的条件下,可变为功能截然相反的两个亚群,如果用 Toll 样受体 4 (TLR4)激活间充质干细胞,可形成 MSC1 亚群,主要释放促炎症因素和激活淋巴细胞;如果用 TLR3 激活间充质干细胞,可形成 MSC2 亚群,主要产生免疫抑制作用。

另外,间充质干细胞向胰岛 β 细胞分化的几率非常小,因此采用间充质干细胞治疗糖尿病,主要利用了它们能够分泌多种细胞因子所产生的支持作用,以

及向血管内皮细胞分化的作用^[13]。关于人间充质干细胞的免疫调节作用,目前尚无确切定论,因为间充质干细胞具有大量的异质性,不同的亚群具有不同的功能,有的亚群可以抑制免疫,有的亚群可激活免疫^[19]。在此主要介绍本实验室首次分离发现的 CB-SC。

3. CB-SC 的生物学特性:CB-SC 是人脐血中一群独特的干细胞类型,具有独特的生物学特性。CB-SC 的分子特征包括表达胚胎干细胞标志(如转录因子 OCT-4, Nanog, 和 Sox2 及细胞表面标志 SSEA-3 和 SSEA-4)和白细胞共同抗原 CD45, 但不表达如下血细胞标志, 如 CD1a, CD3, CD4, CD8, CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD19, CD20, CD34, CD41a, CD41b, CD83, CD90, CD105 和 CD133(均为阴性)。此外, CB-SC 表达非常低水平的 I 类和 II 类主要组织相容性复合体抗原(HLA- I 和 HLA- II); 同种异体淋巴细胞刺激增殖实验^[12, 17, 25]表明, CB-SC 具有非常低的免疫原性。在不同诱导条件下, 它们能够分化为 3 个胚层来源的细胞(图 1)^[12]。CB-SC 以大而圆的形态, 紧紧附着在培养皿上, 且抵抗常规的细胞消化处理方法(胰蛋白酶/EDTA 法), 这使得在共培养后很容易收集悬浮的淋巴细胞。

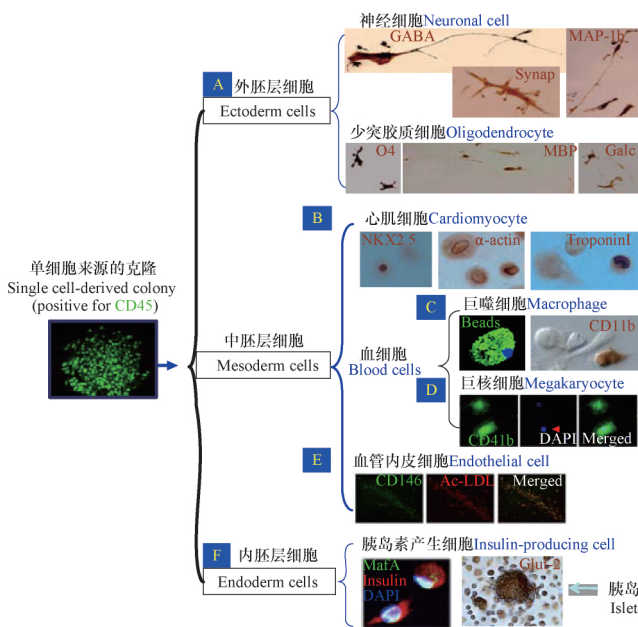


图 1 脐血多能干细胞的定向分化功能

Fig 1 The multiple differentiation of CB-SCs

二、Stem Cell Educator 技术治疗 T1DM 的临床研究进展

鉴于 T1DM 的复杂性和严重性, 根据 PubMed

文献检索资料, 目前针对 T1DM 真正具有临床治疗价值的干细胞, 仅限于有限的几种, 包括骨髓 CD34⁺ 造血干细胞(与骨髓动员和化疗联合应用), 间充质干细胞和 CB-SC。本节中, 将以 CB-SC 为例^[14], 介绍干细胞治疗 T1DM 的临床研究进展。

1. Stem Cell Educator 简介: CB-SC 可通过改变 Treg 和人胰岛β细胞特异的 T 细胞克隆来控制自身免疫反应^[12, 26]。基于这些科研依据, 我们在临床上创建了一种全新的干细胞免疫教育治疗技术(图 2)(Clinical Trial, gov; NCT01415726)^[14]。简要的说, 一个 16 号的针放置在左边(或右边)的肘正中静脉, 患者的血液会通过血细胞分离机以 35 ml/min 的速率, 循环 6~7 h, 分离患者的淋巴细胞。收集的淋巴细胞被转移至干细胞教育器与 CB-SC 接触, 而其他的血液成分自动返回到患者体内。该治疗是一个封闭而连续的循环系统, 通过血细胞分离机, 分离纯化患者的淋巴细胞, 在体外通过与 CB-SC 共培养, 经过教育处理后的淋巴细胞回输到患者体内。CB-SC 附着在器皿的表面, 保留在干细胞教育器内, 未进入患者体内, 因此无排异反应。CB-SC 通过细胞表面信号分子和释放的可溶性分子, 作用于淋巴细胞, 进而达到纠正和修复患者免疫紊乱的治疗目的。该治疗技术只需两个静脉穿刺, 感染的风险比典型输血更低。此外, CB-SC 的免疫原性非常低, 不需进行组织配型^[12, 17, 25]。因此, 该技术采用 CB-SC 介导的免疫调节, 可用于治疗多种自身免疫性和与炎症相关的疾病, 安全可靠。

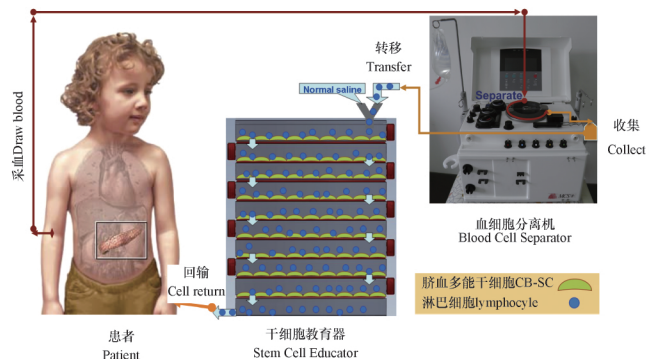


图 2 干细胞免疫教育治疗示意图

Fig 2 Scheme of Stem Cell Educator therapy in clinic

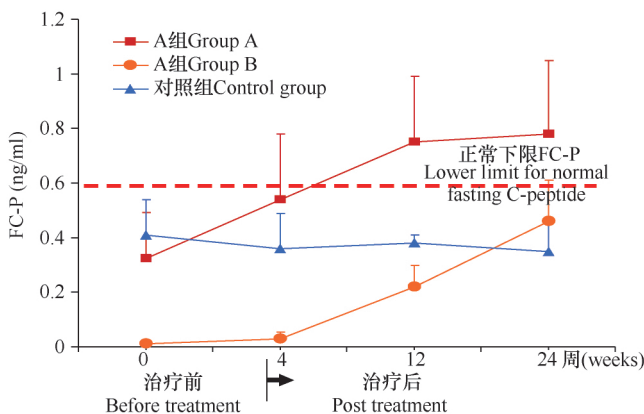
2. CB-SC 免疫教育技术临床治疗 T1DM: 患者的淋巴细胞在干细胞教育器中通过闭环系统进行循环, 从患者血液中分离出淋巴细胞与 CB-SC 在体外

进行共培养,然后回输到患者体内。整个治疗过程 8~9 h/次。

适应证和禁忌证:该技术具有广泛的适应证。但是此技术不适用于乙型肝炎、丙型肝炎、艾滋病、结核病等病毒和细菌感染患者,以及肿瘤患者。另外,过敏体质的患者、有出血机制异常、心肌梗死史的患者亦属禁忌。

安全性评价:适用于大多数糖尿病患者,创伤小,只有两个静脉穿刺的针眼,疼痛小,无不良反应。由于 CB-SC 具有非常低的免疫原性,临床应用不需进行 HLA 配型,无排斥反应。

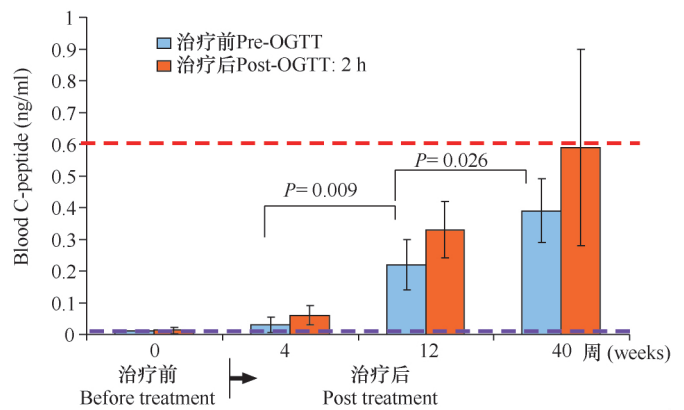
我们通过 I 期和 II 期临床实验观察,15 例典型的 T1DM 患者(年龄:15~41 岁;病程 1~21 年)接受了治疗,得到显著的临床疗效:(1)临床代谢指标的评价。能提高 C-P 水平(图 3)(包括 75 g OGTT),降低 HbA_{1c} 水平,刺激胰岛β细胞再生,降低胰岛素的用量(有部分胰岛β细胞功能残留的治疗组降低 38%和无胰岛β细胞功能残留的治疗组降低 25%)。该治疗在 40 周后,患者基础 C-P 和葡萄糖刺激的 C-P 水平稳步提高(图 4)。代谢控制方面持续改善。然而,对照组(有部分β细胞功能残留的中度 T1DM 患者)在接受治疗后(教育器内没有干细胞,只是采用空的教育器进行治疗)无显著变化^[14]。(2)临床免疫指标的评价。提高了共刺激分子的表达(尤其是 CD28 和 ICOS),增加了 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Tregs 的数量,且恢复了 Th1/Th2/Th3 细胞因子的平衡^[14]。



(引自:Zhao Y, Jiang Z, Zhao T, et al. Reversal of type 1 diabetes via islet β cell regeneration following immune modulation by cord blood-derived multipotent stem cells. BMC Medicine, 2012, 1; 3.)

图 3 T1DM 患者治疗后 FC-P 水平的变化

Fig 3 Fasting C-peptide levels of T1DM participants over 24 weeks



(引自:Zhao Y, Jiang Z, Zhao T, et al. Reversal of type 1 diabetes via islet β cell regeneration following immune modulation by cord blood-derived multipotent stem cells. BMC Medicine, 2012, 1; 3.)

图 4 B 组 T1DM 患者经过治疗 40 周后高糖刺激 C-P 水平的比较

Fig 4 Comparison of C-peptide levels at glucose challenge after 40-week follow up in group B T1D subjects

三、Stem Cell Educator 技术治疗 T1DM 的分子和细胞生物学机制

1. CB-SC 表达自身免疫调节因子(Aire); Aire 通常在胸腺髓质上皮细胞中表达,通过调控自身抗原的表达而删除自身反应性 T 细胞,在诱导免疫耐受方面发挥着关键作用^[27-28]。我们发现,CB-SC 表达 Aire 基因和蛋白。为明确 Aire 在 CB-SC 的免疫调节过程中的作用,我们采用 3 对人 Aire 特异的小分子干扰 RNAs (siRNA) 以阻断 CB-SC 中 Aire 的蛋白表达。Western blot 表明,Aire 蛋白表达下降 70%,进而导致有助于 CB-SC 免疫调节的程序性死亡配体-1(PD-L1)的表达水平显著下降^[29]。另外,Aire siRNA 试验进一步证明,敲除 CB-SC 中 Aire 后,也降低了共培养中调节性 T 细胞亚群的比例 ($P=0.028$)。这些数据表明,CB-SC 通过 Aire 的表达,在干细胞免疫教育治疗过程中,发挥了关键的免疫调节和诱导免疫耐受作用。

2. Treg 功能缺陷:Treg 是一特殊的 T 细胞亚群,通过抑制和调控效应 T 细胞,在维持动态免疫平衡和诱导自身耐受方面,发挥了关键作用^[30]。尽管效应 T 细胞和/或抗原提呈细胞在 T1DM 的发生发展中,具有重要作用;但在糖尿病患者和动物模型研究中,发现越来越多的证据^[31-32]显示,Treg 细胞存在数量和功能方面的异常,均与 T1DM 的启动和发展密切相关。纠正 Treg 细胞的异常,已成为预防和治疗 T1DM 新的靶点。通过自身免疫引起的非

肥胖型糖尿病小鼠模型(NOD 鼠),我们观察到,CB-SC 可纠正 CD4⁺ CD62L⁺ Treg 细胞的功能缺陷,进而能够预防糖尿病发生,且可逆转已发生的糖尿病^[7,26]。进一步的分子机制研究^[26]表明,采用 CB-SC 处理的 CD4⁺ CD62L⁺ Treg 细胞(mCD4CD62L Treg)治疗后的糖尿病小鼠,能够恢复血液中 Th1/Th2/Th3 细胞因子的平衡,拮抗胰岛局部的炎症,以及在胰岛周边,通过转化生长因子-β1(TGF-β1)的独特分布格局,形成保护性 TGF-β1 分子环(aTGF-β1 ring),可导致浸润的淋巴细胞的凋亡,对抗淋巴细胞的再攻击,保护新生的胰岛β细胞。

采用 CB-SC 免疫教育技术治疗糖尿病的临床试验中,也观察到类似的结果。治疗后,患者外周血中 Treg 细胞的数量增加,且能恢复血液中 Th1/Th2/Th3 细胞因子的平衡,特别是 TGF-β1 水平升高^[14]。Haller 等^[33]发现,自体脐血输血是安全的,且能延缓 T1DM 患儿内源性胰岛β细胞的破坏,其机制是因为脐血中存在功能强大的 Treg 细胞。

3. 直接抑制胰岛β细胞特异的 T 细胞克隆的增殖:在 T1DM 的发生发展过程中,针对胰岛β的不同抗原,形成了不同的 T 细胞克隆,因此说 T1DM 具有多克隆的特点,这也是该病自身免疫难以攻克的关键原因之一。这些针对胰岛β细胞特异的 T 细胞克隆,可存在于 T1DM 患者的外周血中,通过细胞克隆筛选的方法,可被分离出来,进行体外研究,为揭示 T1DM 发生和探讨新的治疗方案提供了重要的材料。CB-SC 能明显地抑制有丝分裂原植物凝血素刺激的淋巴细胞的增殖^[17]。为进一步探讨 CB-SC 对 T1DM 治疗机制,我们观察了 CB-SC 对 T1DM 患者产生的胰岛β细胞谷氨酸脱羧酶(GAD)特异的 T 细胞克隆的直接调节作用,结果显示,与对照组相比,CB-SC 能抑制,由不同比例的抗原提呈细胞刺激的 GAD 特异的 T 细胞克隆的增殖^[12]。因此,这些数据表明,CB-SC 可直接抑制胰岛β细胞特异的 T 细胞克隆,为临床应用 CB-SC 治疗 T1DM 提供了重要的理论依据。

四、小结

CB-SC 是脐血中新型而独特的一种多能干细胞,具有 ES 的特征和独特的分子表型。不同于传统的 HSC 和 MSC。CB-SC 具有多向分化的潜能,特别是可向胰岛素产生细胞分化;具有免疫调节的

功能,可纠正 Treg 数量和功能缺陷。Stem Cell Educator 技术临床治疗 T1DM:可同时纠正自身免疫和胰岛素缺乏的两个关键问题。目前,通过百余例患者的临床治疗和观察,证明了该技术安全可靠,疗效显著。另外,我在第 72 届美国糖尿病学会年会(费城 Philadelphia)上报告了采用该技术治疗 T2DM 的最新进展——可显著纠正胰岛素抵抗,改善糖代谢。因此,采用 Stem Cell Educator therapy 治疗糖尿病的新理念,填补了国际空白,为糖尿病的治疗带来革命性突破。同时,给糖尿病患者和其他免疫性疾病患者的治疗,带来了真正的福音,同时也造福社会,提高社会的整体健康水平。

参 考 文 献

- [1] Zhao Y, Jiang Z, Guo C. New hope for type 2 diabetics: Targeting insulin resistance through the immune modulation of stem cells. *Autoimmun Rev*, 2011, 11: 137-142.
- [2] Diamond J. Medicine; diabetes in India. *Nature*, 2011, 469: 478-479.
- [3] Yang W, Lu J, Weng J, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China. *N Engl J Med*, 2010, 362: 1090-1101.
- [4] Bluestone JA, Herold K, Eisenbarth G. Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes. *Nature*, 2010, 464: 1293-1300.
- [5] Brooks-Worrell B, Palmer JP. Is diabetes mellitus a continuous spectrum? *Clin Chem*, 2011, 57: 158-161.
- [6] Brooks-Worrell BM, Reichow JL, Goel A, et al. Identification of autoantibody-negative autoimmune type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, 2011, 34: 168-173.
- [7] Zhao Y, Lin B, Dingeldein M, et al. New type of human blood stem cell: a double-edged sword for the treatment of type 1 diabetes. *Transl Res*, 2010, 155: 211-216.
- [8] Bach JF. Anti-CD3 antibodies for type 1 diabetes: beyond expectations. *Lancet*, 2011, 378: 459-460.
- [9] Couzin-Frankel J. Trying to reset the clock on type 1 diabetes. *Science* 2011, 333: 819-821.
- [10] Mathieu C, Gillard P. Arresting type 1 diabetes after diagnosis; GAD is not enough. *Lancet*, 2011, 378: 291-292.
- [11] Wherrett DK, Bundy B, Becker DJ, et al. Antigen-based therapy with glutamic acid decarboxylase (GAD) vaccine in patients with recent-onset type 1 diabetes: a randomised double-blind trial. *Lancet*, 2011, 378: 319-327.
- [12] Zhao Y, Mazzone T. Human cord blood stem cells and the journey to a cure for type 1 diabetes. *Autoimmun Rev*, 2010, 10: 103-107.
- [13] Aguayo-Mazzucato C, Bonner-Weir S. Stem cell therapy for

- type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*, 2010, 6: 139-148.
- [14] Zhao Y, Jiang Z, Zhao T, et al. Reversal of type 1 diabetes via islet beta cell regeneration following immune modulation by cord blood-derived multipotent stem cells. *BMC Med*, 2012, 10: 3.
- [15] Abdi R, Fiorina P, Adra CN, et al. Immunomodulation by mesenchymal stem cells: a potential therapeutic strategy for type 1 diabetes. *Diabetes*, 2008, 57: 1759-1767.
- [16] Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8: 726-736.
- [17] Zhao Y, Huang Z, Qi M, et al. Immune regulation of T lymphocyte by a newly characterized human umbilical cord blood stem cell. *Immunol Lett*, 2007, 108: 78-87.
- [18] Voltarelli JC, Couri CE, Stracieri AB, et al. Autologous non-myceloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. *JAMA*, 2007, 297: 1568-1576.
- [19] English K, French A, Wood KJ. Mesenchymal stromal cells: facilitators of successful transplantation? *Cell Stem Cell*, 2010, 7: 431-442.
- [20] Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood*, 2007, 110: 3499-3506.
- [21] Beyth S, Borovsky Z, Mevorach D, et al. Human mesenchymal stem cells alter antigen-presenting cell maturation and induce T-cell unresponsiveness. *Blood*, 2005, 105: 2214-2219.
- [22] 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: 141-150.
- [23] Selmani Z, Naji A, Zidi I, et al. Human leukocyte antigen-G5 secretion by human mesenchymal stem cells is required to suppress T lymphocyte and natural killer function and to induce CD4 + CD25highFOXP3 + regulatory T cells. *Stem Cells*, 2008, 26: 212-222.
- [24] Waterman RS, Tomchuck SL, Henkle SL, et al. A new mesenchymal stem cell (MSC) paradigm: polarization into a pro-inflammatory MSC1 or an Immunosuppressive MSC2 phenotype. *PLoS One*, 2010, 5: e10088.
- [25] Zhao Y, Wang H, Mazzone T. Identification of stem cells from human umbilical cord blood with embryonic and hematopoietic characteristics. *Exp Cell Res*, 2006, 312: 2454-2464.
- [26] Zhao Y, Lin B, Darflinger R, et al. Human cord blood stem cell-modulated regulatory T lymphocytes reverse the autoimmune-caused type 1 diabetes in nonobese diabetic (NOD) mice. *PLoS One*, 2009, 4: e4226.
- [27] Mathis D, Benoist C. Aire. *Annu Rev Immunol*, 2009, 27: 287-312.
- [28] Metzger TC, Anderson MS. Control of central and peripheral tolerance by Aire. *Immunol Rev*, 2011, 241: 89-103.
- [29] Fife BT, Pauken KE, Eagar TN, et al. Interactions between PD-1 and PD-L1 promote tolerance by blocking the TCR-induced stop signal. *Nat Immunol*, 2009, 10: 1185-1192.
- [30] Bluestone JA, Tang Q, Sedwick CE. T Regulatory Cells in Autoimmune Diabetes: Past Challenges, Future Prospects. *J Clin Immunol*, 2008, 28: 677-684.
- [31] Brusko T, Atkinson M. Treg in type 1 diabetes. *Cell Biochem Biophys*, 2007, 48: 165-175.
- [32] Chatenoud L, Bach JF. Adaptive human regulatory T cells: myth or reality? *J Clin Invest*, 2006, 116: 2325-2327.
- [33] Haller MJ, Viener HL, Wasserfall C, et al. Autologous umbilical cord blood infusion for type 1 diabetes. *Exp Hematol*, 2008, 36: 710-715.

(收稿日期:2012-06-18)

(本文编辑:张婷婷)