

· 论著 ·

文章编号: 1007-8738(2013)02-0132-05

## 表达 PD-L1/PD-L2 的人胎盘间充质干细胞对外周血 T 细胞分泌 IL-17 的拮抗作用

王国艳<sup>1,2</sup>, 王斐斐<sup>1</sup>, 李恒<sup>1</sup>, 张丽霞<sup>1</sup>, 栾希英<sup>1\*</sup>( <sup>1</sup>滨州医学院免疫教研室, 山东烟台 264003; <sup>2</sup>滨州医学院烟台附属医院检验科, 山东烟台 264100)

**[摘要]** 目的 探讨程序性死亡因子配体 1(PD-L1)和 PD-L2 在人胎盘源性间充质干细胞(hPMSCs)上表达对外周血 T 细胞分泌 IL-17 的影响。方法 应用酶消化法分离人胎盘间充质干细胞(hPMSCs), 并进行表型及分化鉴定; RT-PCR、激光扫描共聚焦显微镜技术(LSCM)及流式细胞术(FCM)检测 hPMSCs 上 PD-L1 及 PD-L2 的表达; 应用化学合成的 PD-L1 siRNA、PD-L2 siRNA 沉默 hPMSCs 上 PD-L1 及 PD-L2 表达; 密度梯度离心法分离纯化人外周血 T 细胞; 细胞内因子染色法分析沉默 PD-L1 或 PD-L2 后 hPMSCs 对 PMA 活化的 T 细胞分泌 IL-17 的影响。结果 除 PD-L1 外, hPMSCs 高表达 PD-L2; siRNA 能够有效阻断 PD-L1 和 PD-L2 在 hPMSCs 上的表达; 胞内染色结果显示, hPMSCs 能够上调 T 细胞 IL-17 的分泌, 阻断 PD-L1 或 PD-L2 后, T 细胞 IL-17 的分泌被进一步上调, 且 PD-L1 和 PD-L2 具有叠加作用。结论 PD-L1 和 PD-L2 在 hPMSCs 上表达, 可拮抗 hPMSCs 刺激外周血 T 细胞分泌 IL-17 的作用。

**[关键词]** 人胎盘源性间充质干细胞; PD-L1; PD-L2; T 细胞; IL-17

**[中图分类号]** R394.2 **[文献标志码]** A

## PD-L1/PD-L2 on human placenta-derived mesenchymal stem cells inhibits the IL-17 secretion of peripheral blood T cells

WANG Guoyan<sup>1,2</sup>, WANG Feifei<sup>1</sup>, LI Heng<sup>1</sup>, ZHANG Lixia<sup>1</sup>, LUAN Xiyang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Immunology, Binzhou Medical University, Yantai 264003; <sup>2</sup>Department of Clinical Laboratory, Affiliated Yantai Hospital, Binzhou Medical University, Yantai 264100, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the expressions of programmed death ligand 1 (PD-L1) and PD-L2 in human placenta-derived mesenchymal stem cells (hPMSCs) and their mediated immunoregulation on the secretion of IL-17 of peripheral blood T cells. **Methods** hPMSCs were isolated from mature human placenta by the method of enzyme digestion. The cells were cultured and expanded *in vitro*, and after the third passage, they were used in phenotyping and differentiation experiments. The expressions of PD-L1 and PD-L2 were detected by RT-PCR, laser-scanning confocal microscopy (LSCM) and flow cytometry. Specific siRNAs were transfected into hPMSCs via cathodyte liposome transfection method to silence the expressions of PD-L1 and PD-L2. T cells were sorted from healthy peripheral blood by gradient centrifugation. IL-17 secretion of T cells activated by PMA was detected by intracellular staining after the expressions of PD-L1 and PD-L2 were silenced. **Results** Besides PD-L1, hPMSCs also highly expressed PD-L2, which could be silenced effectively by specific siRNA. Intracellular staining showed that hPMSCs up-regulated the secretion of IL-17, which was further up-regulated after PD-L1 or/and PD-L2 had been silenced and there were overlapping roles of PD-L1 and PD-L2 in inhibiting IL-17 secretion by T cells. **Conclusion** PD-L1 and PD-L2 expressed on hPMSCs could inhibit the hPMSCs-mediated up-regulation on the expression of IL-17 secreted by peripheral blood T cells.

**[Key words]** hPMSCs; PD-L1; PD-L2; T cells; IL-17

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是来源于中胚层的成体干细胞, 体外具有自我更新及多向分化能力, 在特定诱导条件下可分化为成骨细

胞、脂肪细胞和神经元样细胞等, 是一种较为理想的组织工程的种子细胞。MSCs 还具有抑制同种异体免疫反应和降低移植物抗宿主病(graft versus host disease)

收稿日期: 2012-09-07; 接受日期: 2012-10-11

基金项目: 山东省科技发展计划资助(2011GGH21818); 山东省医药卫生发展计划资助(2007HZ039); 滨州医学院科研启动基金(BY2007KYQD09)

作者简介: 王国艳(1986-), 女, 山东烟台人, 初级技师, 硕士

Tel: 13583569041; E-mail: wgy1201@163.com

\*Corresponding author, 栾希英, E-mail: xiyinguan@yahoo.com.cn



ase, GVHD)的作用。但其免疫调节机制目前尚未完全清楚。目前已成功从骨髓<sup>[1]</sup>、脐带<sup>[2]</sup>、脐血<sup>[3]</sup>、肌肉<sup>[4]</sup>、胎盘<sup>[5]</sup>等多种组织中分离出 MSCs。人胎盘作为产后组织含有丰富的 MSCs,且人胎盘源 MSCs(human placenta derived mesenchymal stem cells, hPMSCs)有着与骨髓 MSCs 相似的细胞表型和分化能力<sup>[6]</sup>,且其对 T 细胞的负性免疫调节作用强于骨髓 MSCs<sup>[5]</sup>。我们前期研究显示, hPMSCs 体外能够抑制 T 细胞的活化和增殖,并且能够抑制 PHA 活化的 T 细胞 IL-2 和 IFN- $\gamma$  的分泌<sup>[7-8]</sup>。hPMSCs 是否能够调节外周血 T 细胞 IL-17 的分泌,尚未见相关文献报道。负性共刺激分子在 MSCs 的负性免疫调节作用中发挥了重要的作用,且负性共刺激分子 PD-L1 在 hPMSCs 表面高表达。我们前期研究发现 PD-L1 在 hPMSCs 抑制 T 细胞增殖中发挥重要的作用<sup>[9]</sup>,并且 hPMSCs 同样高表达 PD-L2。那么 PD-L1 和 PD-L2 是否参与了 hPMSCs 对外周血 T 细胞分泌 IL-17 的免疫调节作用,尚未见相关文献报道。鉴于此,本实验采用化学合成 siRNA 阻断 PD-L1 和 PD-L2 在 hPMSCs 上的表达,探讨两者在 hPMSCs 调节外周血 T 细胞分泌 IL-17 中的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 低糖 DMEM 培养基(DMEM-LG)、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)为 Hyclone 公司产品, IV 型胶原酶为美国 Gibco 公司产品, PE 或 FITC 标记的小鼠抗人 CD34、CD45、CD44、CD105、CD166、CD14、CD29、CD273、CD274、CD3、CD4、CD8、IL-17 单克隆抗体(mAb)均购自 BD 公司; PMA、离子霉素 C、布雷非德菌素 A (Brefeldin A, 一种转运蛋白抑制剂)、流式细胞术细胞内染色固定缓冲液、10 $\times$ 破膜缓冲液均购自 Sigma 公司, 淋巴细胞分离液购自天津灏洋生物制品科技有限责任公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 hPMSCs 分离、培养和鉴定** 人胎盘组织来自健康足月产妇(烟台莱山区第一人民医院), 供者知情同意。参考相关文献<sup>[5]</sup>进行 hPMSCs 分离培养, 将胎盘去除绒毛膜、羊膜和蜕膜组织, PBS 缓冲液反复冲洗, 洗净残留血液。将胎盘组织剪碎后加入 1 g/L IV 胶原酶, 37 $^{\circ}$ C 消化 30 min, 100 目筛网研磨, 收集细胞, 1 500 r/min 离心 5 min, PBS 缓冲液洗涤 2 次, 加入 DMEM-LG 重悬细胞, 细胞计数后, 接种于 6 孔板, 于 37 $^{\circ}$ C、50 mL/L CO<sub>2</sub> 条件下培养。3 d 半量换液, 去除未贴壁的悬浮细胞。之后每 3~4 d 更换培养基, 7~8 d 传代 1 次。3 代以后的细胞用于实验, 根据细胞形态、细胞表面抗原 CD34、CD45、CD14、CD29、CD44、CD105 和 CD166 的表达和定向诱导其向成骨细胞、脂肪细胞和神经样细胞分化进行鉴定。

**1.2.2 hPMSCs 对 PD-L1 和 PD-L2 的表达** 收集 hPMSCs, 采用 TRIzol 一步法抽提细胞总 RNA, 加入引物和逆转录酶, 利用常规方法合成 cDNA。引物根据 Primer Express Software

(Primer 5.0)进行设计。引物序列:  $\beta$ -actin: 上游引物 5'-GGCACCCAGCACAATGAA-3', 下游引物 5'-GGAAGGTGGA-CACCGAGG-3'; PD-L1: 上游引物 5'-ATCCAGTCACCTCTGAA-CATGAAC-3', 下游引物 5'-GGAAGATGAATGTGACAGCTA-CAC-3'。PD-L2: 上游引物 5'-GTTCCACATACCTCAAGTCC-CAAGT-3', 下游引物 5'-TCCCTCACGTGAGTATTCAGAAC-3'。按 2 $\times$  Taq PCR Master Mix 试剂盒说明书操作, 取等量 cDNA 进行 PCR 反应, PCR 产物经 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳分析。另收集 hPMSCs, 调整细胞密度为 1 $\times$ 10<sup>6</sup>/mL 加入 FITC 标记的鼠抗人 PD-L1 的 mAb、PE 标记的小鼠抗人 PD-L2 的 mAb, 4 $^{\circ}$ C 孵育 30 min, PBS 洗涤 2 遍后, LSCM 及 FCM 分析。

**1.2.3 siRNA 转染** 收集 hPMSCs 调整合适浓度, 接种于 6 孔细胞培养板, 每孔 4 $\times$ 10<sup>5</sup> 个, 于 37 $^{\circ}$ C、50 mL/L CO<sub>2</sub> 条件下培养 24 h。按脂质体转染试剂 Lipofectamine<sup>TM</sup> 2000 说明书操作, 将 siRNA 转染入细胞, siRNA 的终浓度为 40 pmol/mL。转染后 48 h RT-PCR 及 FCM 检测 PD-L1 和 PD-L2 的表达。

**1.2.4 人外周血 T 细胞分离纯化** 取人健康外周血(烟台市中心血站提供), 用淋巴细胞分离液常规分离单个核细胞, D-Hank's 洗涤细胞 2 次, RPMI1640 培养基(含 100 mL/L FCS)重悬细胞, 接种到培养瓶中, 贴壁 2 h 后, 吸出富集的 T 细胞, 再经 E 花环法进行纯化。经 FCM 分析 CD3 阳性率大于 90.00% 以上用于实验。

**1.2.5 转染 siRNA 对 hPMSCs 凋亡的影响** 收集 hPMSCs 调整细胞密度为 2 $\times$ 10<sup>5</sup>/mL, 接种于 6 孔细胞培养板, 于 37 $^{\circ}$ C、50 mL/L CO<sub>2</sub> 条件下培养。接种 24 h 后去除培养基, 对 hPMSCs 进行 siRNA 转染并分组为: 正常培养 hPMSCs 组; PD-L1 siRNA 转染组; PD-L2 siRNA 转染组; PDLs siRNA 转染组; NC siRNA 转染组, 转染后于 37 $^{\circ}$ C、50 mL/L CO<sub>2</sub> 条件下培养。转染 hPMSCs 48 h 后, 收集各组 hPMSCs, 1 200 r/min 离心 5 min, 弃上清, 加入 PBS 洗涤第 2 遍, 弃上清。吸取 250  $\mu$ L 2 $\times$ 结合缓冲液、250  $\mu$ L 灭菌去离子水, 轻轻混匀。用上述 500  $\mu$ L 1 $\times$ 结合缓冲液, 轻轻悬起细胞后, 加入 1  $\mu$ L annexin V-FITC, 混匀后加入 5  $\mu$ L PI, 再次混匀, 室温避光孵育 5 min 后 FCM 分析。

**1.2.6 阻断 PD-L1 或 PD-L2 对活化外周血 T 细胞分泌 IL-17 的影响** 收集 hPMSCs 调整细胞密度至 1 $\times$ 10<sup>5</sup>/mL 接种于 24 孔细胞培养板, 接种 24 h 后去除培养基, 对 hPMSCs 进行 PD-L1 siRNA 和 PD-L2 siRNA 转染。siRNA 转染 hPMSCs 48 h 后, 将 T 细胞接种于以上的 24 孔板中, 每孔 1 $\times$ 10<sup>6</sup> 个细胞, 同时加入 PMA (50 ng/mL)、离子霉素 C (1  $\mu$ g/mL) 和 Brefeldin A (10  $\mu$ g/mL)。实验分组为 T、T+PMA、T+PMA+hPMSCs、T+PMA+hPMSCs+NC siRNA、T+PMA+hPMSCs+PD-L1 siRNA、T+PMA+hPMSCs+PD-L2 siRNA、T+PMA+hPMSCs+PDLs siRNA 5 组。37 $^{\circ}$ C、50 mL/L CO<sub>2</sub> 培养 5 h, 收集细胞, PBS 缓冲液洗涤 2 次, 弃上清后加入 100  $\mu$ L PBS, 振荡混匀; 加入 FITC 标记的鼠抗人 CD8 mAb 和 PE-CY5 标记的抗 CD4 mAb, 振荡混匀, 4 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min; PBS 洗涤 2 遍, 弃上清, 加入 100  $\mu$ L 流式细胞术细胞内染色固定缓冲液混匀, 室温避光孵育 20 min, 加入 1 mL 1 $\times$ 破膜缓冲液, 300~400 g, 4 $^{\circ}$ C 离心 5 min; 弃上清, 加入 100  $\mu$ L 1 $\times$ 破膜缓冲液重悬细胞, 细胞计数后, 加入 IL-17 mAb, 室温孵育 20 min; 加入 1



mL 1×破膜缓冲液, 振荡混匀, 300 g, 4℃离心 5 min; 弃上清, 加入 500 μL 固定液, FCM 分析。

1.2.7 统计学分析 所有数据均采用 SPSS 13.0 统计软件分析, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 根据方差齐性与否, 齐性资料采用两独立样本 *t* 检验, 非齐性资料采用 *t'* 检验; 以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

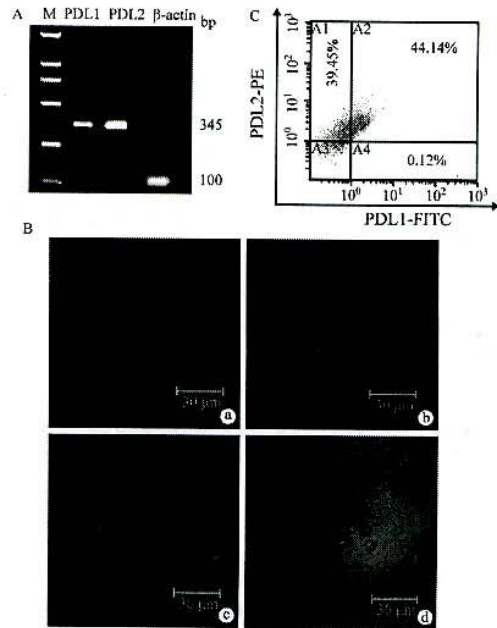
2 结果

2.1 hPMSCs 的分离培养及鉴定结果 原代培养 3 d 首次半量换液后, 出现长梭形的贴壁细胞, 呈单个散在分布, 培养 1 周后梭形贴壁细胞明显增多, 并可见鹅卵石状细胞克隆, 培养 3 周左右细胞大量增殖呈漩涡状铺满板底。培养 3 代后的细胞, 经 FCM 检测表面抗原表达的结果为 CD44<sup>+</sup>、CD105<sup>+</sup>、CD166<sup>+</sup>、CD29<sup>+</sup>、CD14<sup>-</sup>、CD34<sup>-</sup> 和 CD45<sup>-</sup>; 向成骨诱导分化过程中, 经 von Kossa 染色, 明显可见骨结节的形成; 向脂肪细胞分化过程中, 经油红 O 染色阳性; 向神经样细胞分化过程中, 神经元样蛋白 Nestin 表达阳性与文献[5-6]报道一致。

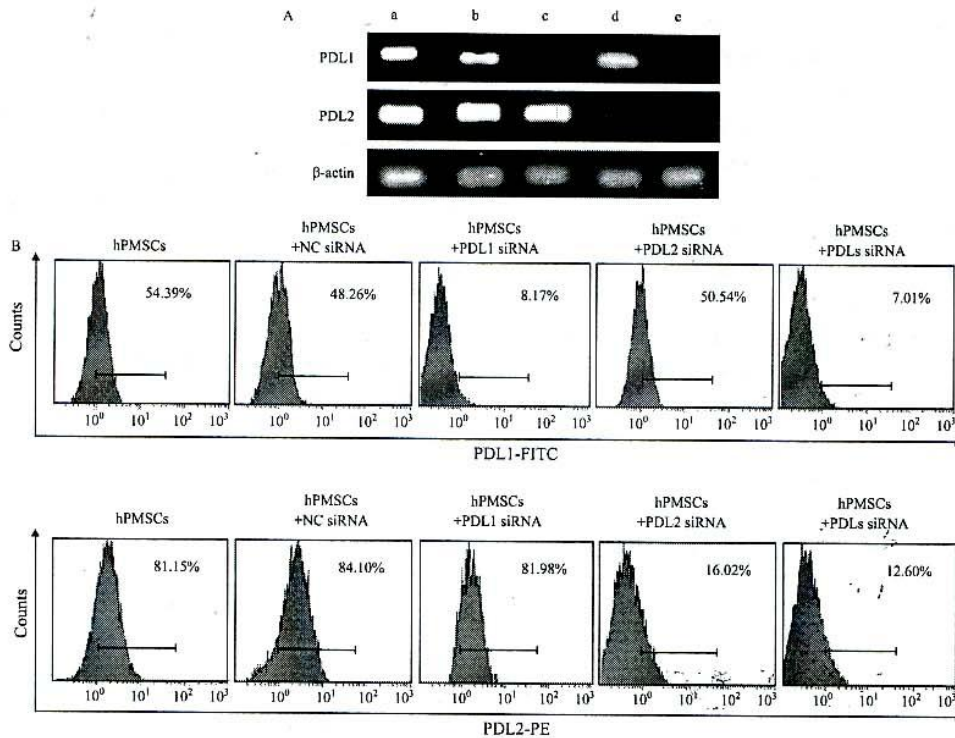
2.2 hPMSCs 对 PD-L1 和 PD-L2 的表达 RT-PCR (图 1A)、LSCM (图 1B) 及 FCM (图 1C) 结果均显示, hPMSCs 高表达 PD-L1 和 PD-L2, 且 PD-L2 的表达水平高于 PD-L1。

2.3 siRNA 转染结果 siRNA 转染后 48 h, RT-PCR

(图 2A) 及 FCM (图 2B) 检测结果均显示, siRNA 能有效阻断 PD-L1 和 PD-L2 在 hPMSCs 上的表达。



A: RT-PCR 检测 PD-L1 和 PD-L2 mRNA 在 hPMSCs 中的表达; B: LSCM 检测 PD-L1 和 PD-L2 在 hPMSCs 上的表达。a: PD-L1 的表达; b: PD-L2 的表达; c: PD-L1 和 PD-L2 共表达; d: 明场下 hPMSCs (标尺=30 μm); C: FCM 检测 PD-L1 和 PD-L2 在 hPMSCs 上的表达。  
图 1 hPMSCs 对 PD-L1 和 PD-L2 的表达



A: 转染 48 h 后 RT-PCR 检测 PD-L1 和 PD-L2 siRNA 在 hPMSCs 中的表达。a: 正常对照组; b: 转染 NC siRNA 组; c: 转染 PD-L1 siRNA 组; d: 转染 PD-L2 siRNA 组; e: PD-L1 siRNA 和 PD-L2 siRNA 共转组; B: 转染 48 h 后 FCM 检测 PD-L1 和 PD-L2 在 hPMSCs 上的表达。  
图 2 siRNA 转染 48 h 后 PD-L1、PD-L2 在 hPMSCs 上的表达



**2.4 转染 siRNA 对 hPMSCs 凋亡的影响** 经脂质体途径将 siRNA 转染入 hPMSCs 后,观察 hPMSCs 的凋亡情况,FCM 分析结果显示,转染 48 h 之后 hPMSCs 并未发生明显的凋亡(图 3),表明 siRNA 的转染对细胞的凋亡无明显影响。

**2.5 阻断 PD-L1 或 PD-L2 对 hPMSCs 调节外周血 T 细胞分泌 IL-17 的影响** 实验采用胞内细胞因子检测方法观察 PD-L1 或 PD-L2 阻断前后 hPMSCs 对 T 细胞分泌 IL-17 调节作用的变化。FCM 分析结果显示(图 4),PMA 作用 5 h 后,与未刺激组以及单独 PMA 刺激组相比, hPMSCs 与 T 细胞共培养组中 CD4<sup>+</sup>T 以及 CD8<sup>+</sup>T 细胞对 IL-17 的分泌均被明显上调( $P < 0.01$ ),表明 hPMSCs 能够上调 PMA 活化的 CD4<sup>+</sup>T 细胞以及 CD8<sup>+</sup>T 细胞分泌 IL-17 的水平;阻断 PD-L1 或 PD-L2 在 hPMSCs 上的表达后,外周血 CD4<sup>+</sup>T 细胞以及 CD8<sup>+</sup>T 细胞对 IL-17 的分泌被进一

步上调( $P < 0.01$ ),且 PD-L1 和 PD-L2 具有协同作用( $P < 0.01$ )。以上结果提示 PD-L1 或 PD-L2 在 hPMSCs 上的表达,能够抑制 hPMSCs 对外周血 CD4<sup>+</sup>T 细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞分泌 IL-17 的上调作用。

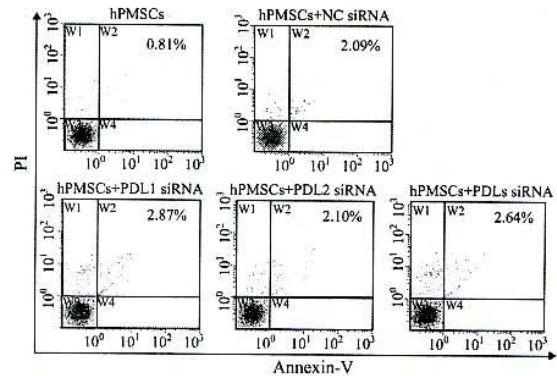
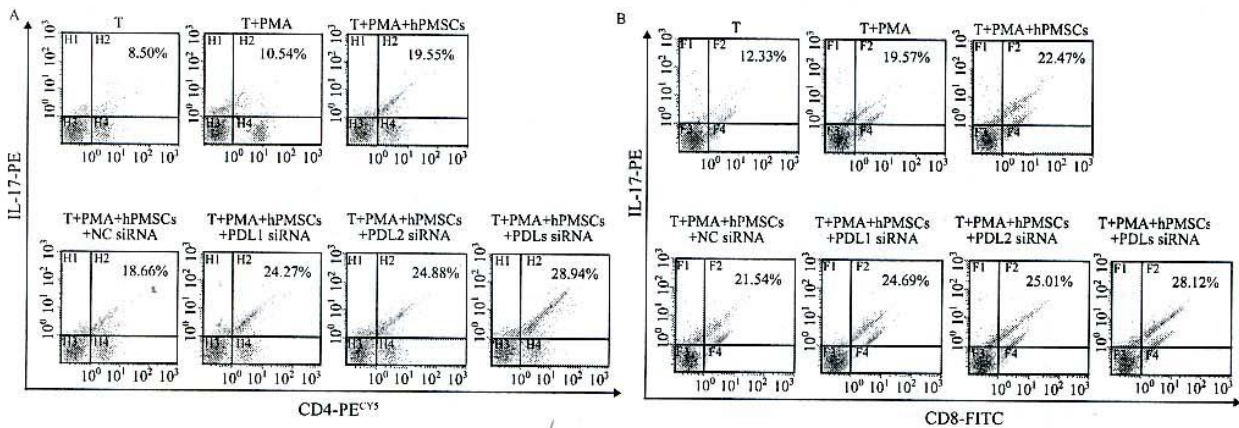


图 3 siRNA 转染 48 h 后 hPMSCs 的凋亡检测



A: FCM 检测 CD4<sup>+</sup>T 细胞对 IL-17 的分泌; B: FCM 检测 CD8<sup>+</sup>T 细胞对 IL-17 的分泌。

图 4 阻断 PD-L1 和 PD-L2 对 hPMSCs 调节外周血 T 分泌 IL-17 的影响

### 3 讨论

目前关于 MSCs 相对成熟的研究主要集中于骨髓,但研究资料显示人体骨髓中每  $10^5 \sim 10^6$  的单个核细胞中约含 1 个 MSCs,且随着供者年龄的增殖,其数量、增殖和分化能力急剧下降。现已表明,人胎盘组织中有丰富的 MSCs,且胎盘作为产后组织来源丰富,并且 hPMSCs 因胎盘在人类胚胎发育过程中的特殊地位和作用还可能具有其他潜在的优势。该实验中利用酶消化法分离的细胞,体外扩增培养 3 代后,经表型及分化鉴定为 hPMSCs。

IL-17 是一种主要由活化的 T 细胞产生的促炎细胞因子,具有多种活性,可以促进 T 细胞的激活和刺激上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞产生多种细胞因子如 IL-6、IL-8、G-CSF 和化学增殖素及细胞间

黏附分子(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1),从而导致炎症的产生<sup>[10]</sup>。患者接受移植发生 GVHD 后,体内 IL-17 分泌明显高于正常人或未发生 GVHD 的受者,提示,IL-17 可能在 GVHD 发生过程中发挥重要的作用<sup>[11]</sup>。研究显示,小鼠 BMSCs 能够上调 Th17 细胞的数量,而且其分泌的 IL-17 在骨髓 MSCs 与 PBMCs 共培养体系中有较高水平的表达<sup>[12]</sup>。实验中采用胞内细胞因子染色法对 T 细胞胞内 IL-17 的检测发现,PMA 刺激外周血 T 细胞活化后,IL-17 的表达水平显著升高,在有 hPMSCs 存在时,IL-17 的表达量进一步增加。提示,hPMSCs 能够上调外周血 CD4<sup>+</sup>T 细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞对 IL-17 的分泌。

为进一步观察 hPMSCs 表面 PD-L1 和 PD-L2 的



表达在 hPMSCs 调节外周血 T 细胞分泌 IL-17 中的作用, 我们采用化学合成的 siRNA 阻断 PD-L1 和 PD-L2 的表达。siRNA 干扰技术是一种高效、特异的基因沉默手段。siRNA 片段与目的基因 mRNA 的同源序列互补结合, 降解 mRNA, 从而不能翻译成蛋白质<sup>[13-14]</sup>。本研究采用化学合成的 PD-L1 siRNA 和 PD-L2 siRNA 片段, 由脂质体介导转入 hPMSCs, 通过 RT-PCR 及 FCM 分析沉默效果。实验结果证明, 化学合成的 siRNA 能够高效转入 hPMSCs, 并能有效沉默 PD-L1 和 PD-L2 的表达。且沉默 PD-L2 的表达后, hPMSCs 的生长能力并未发生明显的变化。结果显示, 阻断 PD-L1 或 PD-L2 后, PMA 活化的外周血 CD4<sup>+</sup>T 细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞 IL-17 的分泌明显高于未阻断组 T 细胞 IL-17 的分泌 ( $P < 0.05$ ); 当 PD-L1 和 PD-L2 同时被阻断后, 外周血 T 细胞对 IL-17 的分泌被进一步上调。提示, PD-L1 或 PD-L2 的表达本身能够拮抗 hPMSCs 对外周血 T 细胞分泌 IL-17 的上调作用, 且 PD-L1 和 PD-L2 具有叠加作用。

综上所述, siRNA 能够有效沉默 PD-L1 和 PD-L2 在 hPMSCs 上的表达, 且阻断 PD-L1 或 PD-L2 后 hPMSCs 的生长能力未发生明显的改变。阻断 PD-L1 或 PD-L2 后, 能够协同 hPMSCs 对外周血 T 细胞分泌 IL-17 的上调作用, 且 PD-L1 和 PD-L2 具有协同作用。

#### 参考文献:

- [1] Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs[J]. *Exp Hematol*, 1976, 4(5): 267-274.
- [2] Li G, Zhang XA, Wang H, et al. Comparative proteomic analysis of mesenchymal stem cells derived from human bone marrow, umbilical cord, and placenta; implication in the migration[J]. *Proteomics*, 2009, 9(1): 20-30.
- [3] Li J, Li D, Liu X, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells reduce systemic inflammation and attenuate LPS-induced acute lung injury in rats[J/OA]. *J Inflamm (Lond)*, 2012(1): 33.
- [4] Kisiel AH, McDuffee LA, Masaoud E, et al. Isolation, characterization, and *in vitro* proliferation of canine mesenchymal stem cells derived from bone marrow, adipose tissue, muscle, and periosteum[J]. *Am J Vet Res*, 2012, 73(8): 1305-1317.
- [5] Chang CJ, Yen M, Chen YC, et al. Placenta-derived multipotent cells exhibit immunosuppressive properties that are enhanced in the presence of interferon- $\gamma$  [J]. *Stem Cells*, 2006, 24(11): 2466-2477.
- [6] 古彦铮, 薛群, 王泳, 等. 人胎盘源与人骨髓源间充质干细胞的生物学特性的比较及负性协同刺激分子 PD-L1 的表达[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2009, 5(25): 387-401.
- [7] 栾希英, 刘同慎, 曹奇志. 人胎盘源间充质干细胞对 T 细胞周期及其活化的抑制作用研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2008, 18(21): 3142-3151.
- [8] 王国艳, 张思英, 李广云, 等. 人胎盘源间充质干细胞对脐血 CD8<sup>+</sup>T 细胞活化及周期和 IL-17 分泌的影响[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2012, 28(1): 17-20.
- [9] 王国艳, 李广云, 王斐斐, 等. PD-L1 在人胎盘源间充质干细胞对脐血 CD8<sup>+</sup>T 细胞免疫调节中的作用[J]. *中国免疫学杂志*, 2012, 28(3): 221-225.
- [10] Komiyama Y, Nakae S, Matsuki T, et al. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *J Immunol*, 2006, 177(1): 566-573.
- [11] 王静, 王兴兵, 汪健, 等. GVHD 患者外周血 Th17/Treg 细胞相关的细胞因子检测与临床意义[J]. *中国实验血液学杂志*, 2011, 19(2): 422-426.
- [12] Guo Z, Zheng C, Chen Z, et al. Fetal BM-derived mesenchymal stem cells promote the expansion of human Th17 cells, but inhibit the production of Th1 cells[J]. *Eur J Immunol*, 2009, 39(10): 2840-2849.
- [13] Zhou HJ, Tsai SY, Tsai MJ. RNAi technology and its use in studying the function of nuclear receptors and coregulators[J/OA]. *Nucl Recept Signal*, 2003, 1: e008.
- [14] Charafe-Jauffret E, Monville F, Bertucci F, et al. Moesin expression is a marker of basal breast carcinomas[J]. *Int J Cancer*, 2007, 121(8): 1779-1785.