

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00713

肺外成体干细胞移植治疗急性肺损伤研究进展

朱 峰¹, 胡贞贞², 郭光华^{3*}

1. 南昌大学第一附属医院 ICU, 南昌 330006
2. 南昌大学医学院病理生理学教研室, 南昌 330006
3. 南昌大学第一附属医院烧伤研究所, 南昌 330006

[摘要] 肺外成体干细胞移植治疗急性肺损伤具有巨大的应用前景。移植入体内的肺外成体干细胞首先在损伤肺组织细胞释放的一系列信号因子的引导下归巢到肺损伤和炎症部位, 分化为肺组织细胞(肺上皮细胞、血管内皮细胞等)并发挥相应功能。干细胞移植后不仅具有分化能力, 还具有抗炎效应和免疫调节功能, 成为目前新的研究热点。

[关键词] 成体干细胞; 干细胞移植; 急性肺损伤; 生物学作用

[中图分类号] R 563 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)06-0713-04

Ex-pulmonary adult stem cell engraftment in treatment of acute lung injury: recent progress

ZHU Feng¹, HU Zhen-zhen², GUO Guang-hua^{3*}

1. Intensive Care Unit, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China
2. Department of Pathophysiology, Medical College of Nanchang University, Nanchang 330006
3. Burn Institute, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006

[ABSTRACT] Engraftment with ex-pulmonary adult stem cells has great potential for treatment of acute lung injury (ALI). The engrafted adult ex-pulmonary stem cells can migrate to the injured lung tissue guided by a series of signal factors released by injured pulmonary tissue cells. Stem cells localized in the injured lung tissue and inflammatory area can differentiate into lung tissue cells (including lung epithelial cells and pulmonary vascular endothelial cells) and exert their functions. The engrafted ex-pulmonary adult stem cells are not only capable of differentiation, but also have anti-inflammatory effect and immunomodulatory effect, making the related area a focus of study.

[KEY WORDS] adult stem cell; stem cell transplantation; acute lung injuries; biological effect

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(6): 713-716]

随着干细胞生物学的深入, 对与肺相关干细胞/祖细胞在肺损伤修复中作用的认识也在不断加深。加快受损肺组织的修复过程和减少炎症反应是改善急性肺损伤(acute lung injury, ALI)和急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)预后的两个重要方面^[1]。适当地控制肺实质的干细胞(通过外源性生长因子或细胞因子促进上皮增殖或再上皮化)和肺外干细胞移植治疗是 ALI 和 ARDS 很有前景的两种新治疗方法^[2]。肺实质的干细胞即自身干细胞在损伤后立即在局部补充损伤细胞, 但是其增殖潜能低, 修复效果十分有限; 而随后, 肺外干细胞进入肺组织, 修复损伤肺, 并且被保留用于修复较严重的损伤, 成为目

前 ALI、ARDS 干细胞治疗研究和应用的重点。

目前研究较多的肺外成体干细胞主要包括骨髓间充质干细胞(marrow-derived mesenchymal stem cells, MSCs)、骨髓造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)以及多潜能成体祖细胞(multipotential adult progenitor cells, MAPCs)等。其中, MSCs 具有: 高度的扩增能力, 体外多次传代后基因稳定性良好; 多分化潜能, 具备潜在的修复各种组织器官的能力; 能与各种病毒载体结合, 并可进行各种基因的转染, 既能保持本身的基因稳定性, 又能高效地表达所转染基因; 能通过各种不同途径输入体内, 不易引起免疫排斥反应; 取材方便, 容易分离培养, 同时不涉及道德伦理方面的问题等

[收稿日期] 2008-10-28 **[接受日期]** 2009-04-23

[基金项目] 江西省教育厅青年科学基金(GJJ09432). Supported by Youth Scientist Fund Project of Education Department of Jiangxi Province (GJJ09432).

[作者简介] 朱 峰, 博士生, 讲师、主治医师. E-mail: zhujunchi@tom.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 0791-8160720, E-mail: guogh2000@hotmail.com

独特的优势^[3-5]。近几年来,其被主要应用于ALI和ARDS的基础及临床研究。

1 肺外成体干细胞体外对损伤肺细胞的作用

ALI时,肺外成体干细胞向肺上皮细胞和肺血管内皮细胞等细胞分化的体外实验相对较少,这可能与ALI时病理生理改变较为复杂、缺乏ALI时特异的诱导条件和体外培养环境有关。Spees等^[6]曾将人MSCs与热休克处理的人小气道上皮细胞共培养,发现MSCs的一个亚群迅速分化为上皮样细胞并表达多种正常小气道上皮细胞的基因,部分MSCs直接分化为上皮细胞。

2 肺外成体干细胞在体移植修复ALI损伤肺组织

2.1 肺外成体干细胞的归巢(homing) 移植入体内的肺外成体干细胞能够归巢到肺损伤和炎症部位。Rojas等^[7]将MSCs移植到博莱霉素诱导的肺损伤小鼠体内,发现输入体内的MSCs能定向迁移到肺损伤区域并分化为特定的肺细胞表型。Kähler等^[8]通过静脉注射骨髓来源的内皮祖细胞(EPCs)观察其在受损肺内“归巢”情况,结果发现EPCs定植在受损的左侧肺组织,而在未受损的右侧肺组织及其他组织器官未检测到或极少量检测到EPCs。

目前对肺外成体干细胞“归巢”的研究已不仅停留在对其现象的观察,而且转向对其机制和调节的研究。肺损伤后,坏死肺组织细胞可能通过释放出一系列信号因子,引导表达特异性受体的干细胞移动并黏附于损伤处。损伤环境中引起干细胞动员和归巢的信号可能主要包括:基质细胞衍生因子1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)及其受体CXCR4、干细胞因子(stem cell factor, SCF)及其受体c-kit、集落刺激因子(clone-stimulating factor, CSF)、血管内皮生长因子和整合素等。其中SDF-1的相关研究较多。此外,大量细胞因子(如IL-3、IL-7、IL-12等)、蛋白水解酶(如蛋白酶3、4、8等)、黏附分子(如VCAM-1等)可能也参与了此过程。

损伤的肺组织释放的SDF-1与存在于干细胞上的特异受体CXCR4的相互作用在干细胞归巢中发挥重要作用。Xu等^[9]认为SDF-1通过其受体CXCR4参与了骨髓来源干细胞的迁移活动;Liebler等^[10]发现小鼠受损的肺内能检测出人骨髓来源干细胞,虽然水平很低,但是适当处理SDF-1/CXCR4轴可能会增强其检测水平;CXCR4抗体孵育后的干细胞无法实现归巢,而特异表达CXCR4分子的干细胞能沿着SDF-1浓度实现迁移归巢。

供体HSCs上CD26的表达被发现对细胞的归巢和迁移具有负作用,抑制CD26表达可以明显优化移植效果^[11]。而MSCs表面表达的CD44是肺内某些降解产物清除所必需的,也有利于MSCs的定位归巢^[12]。

2.2 肺外成体干细胞的体内分化 归巢的肺外干细胞必须在体内分化为肺组织细胞(肺上皮细胞和肺血管内皮细胞等)才能发挥其相应的功能。Neuringer等^[13]指出移植的干

细胞可以修复肺泡上皮细胞,增加表面活性物质分泌,并借此可治疗新生儿或成人ARDS。Grove等^[14]采用全骨髓移植法得到了肺泡Ⅱ型细胞、肺泡Ⅰ型细胞和成纤维细胞。Kotton等^[15]行小鼠MSCs移植研究发现,在博莱霉素损伤的肺组织内,MSCs表现出Ⅰ型肺泡上皮细胞的形态,并表达Ⅰ型肺泡上皮细胞的细胞标志Tl α 蛋白(一种膜糖蛋白)和水通道蛋白-5。Ortiz等^[16]将来源于博莱霉素抵抗的雄性小鼠MSCs注入对博莱霉素敏感的雌性小鼠体内,PCR分析发现雌性小鼠DNA约占雌性小鼠全部肺组织DNA的2.21/100万,由此获得的肺泡细胞全部为Ⅱ型细胞,同时发现MSCs减弱了博莱霉素引起的炎症反应和胶原沉积;移植6h后,包括IFN- γ 、IL-2、IL-1 β 、IL-4在内的细胞因子表达趋向正常。其对局部炎症反应的抑制可能提供了一个更适合正常修复过程的微环境。Jiang等^[17]把单个标记了的MSCs注入早期胚胎并植入未经放射线照射的大鼠体内,4周后在受体肺部发现了由供体干细胞分化而来的上皮细胞。Rojas等^[7]发现MSCs对博莱霉素所致的肺损伤具有保护作用,同时伴有循环中G-CSF和GM-CSF(两者被认为可以促进内源性干细胞的动员和迁移)的升高及炎症因子的降低,这种保护作用可能与MSCs分化为Ⅰ型和Ⅱ型肺泡上皮细胞有关。Yamada等^[18]的研究也认为骨髓来源的祖细胞对于LPS造成的ALI的修复十分重要;国内赵峰等^[19]研究发现,MSCs在博莱霉素诱导的大鼠受损肺内分化为肺泡上皮细胞和支气管上皮细胞;Lam等^[20]对兔ALI的研究也同样显示,自体移植EPCs能明显减轻油酸所致肺损伤,包括减少肺含水量和白细胞的肺内浸润,减轻肺出血,减少透明膜的形成。Surratt等^[21]的临床研究发现,女性异体HSCs移植后约2.5%~8%的肺上皮细胞和37.5%~42.3%的肺内皮细胞为男性供体来源。Zander等^[22]对HSCs移植53d后的患者进行肺组织活检,供体来源的Ⅱ型肺泡细胞约占总Ⅱ型肺泡细胞群的1.75%。

3 MSCs移植治疗中的抗炎效应和免疫调节功能

MSCs移植后在肺损伤动物模型中的抗炎效应和免疫调节功能是目前相关研究新的热点。陈莉娜等^[23]研究发现,MSCs具有免疫调节作用,包括抑制T细胞增殖、调节移植体与宿主的免疫反应等。这种作用一方面通过与免疫细胞直接作用,另一方面通过分泌调节分子或因子得以实现。MSCs的免疫调节功能已经在心肌损伤、肾缺血再灌注损伤、肝衰竭、自身免疫性脑脊髓炎以及烧伤等大量的动物损伤模型中得到证实^[24-28]。这种免疫调节效应也同样给予肺损伤重要保护作用。Rojas等^[7]研究发现,MSCs减轻肺组织对LPS的炎症反应并保护肺免受损伤,LPS攻击后的6~48h, MSCs能防止肺水肿,减轻中性粒细胞在肺内的浸润,明显降低血浆促炎因子IL-1 β 、IFN- γ 、MIP-1 α 水平,保持抗炎因子IL-10水平的稳定,促使G-CSF急性升高;进一步的深入研究^[29]发现,受损肺细胞能诱导MSCs的迁移, MSCs能在

受损肺细胞内调节炎症信号过程,并绘制了内毒素血症期间MSCs调节的可能信号途径和基因网络。

Gupta等^[30]在肺内给予内毒素造成ALI后4h向肺内直接给予MSCs,结果显示肺内给予MSCs能改善实验鼠48h生存率,减少肺水和支气管肺泡灌洗液的蛋白含量,推测这可能与MSCs下调对内毒素的前炎反应(降低支气管肺泡灌洗液和血浆中的TNF- α 和MIP-2)升高抗炎因子IL-10有关,认为肺内给予MSCs能显著降低内毒素诱导急性肺损伤的严重程度,改善预后。Lam等^[20]研究也发现自体EPCs静脉输入能抑制ALI兔诱导型一氧化氮合酶(iNOS)的表达;国内蔡存良等^[31]将MSCs经过静脉移植给内毒素攻击造成ALI的大鼠体内发现,MSCs移植能降低内毒素肺损伤大鼠血浆TNF- α 及IL-6水平,降低肺湿/干重比值,髓过氧化物酶活性,减轻肺泡炎症损伤,表明MSCs移植对ALI大鼠具有保护作用。

4 应用展望及存在问题

具有主动归巢与调控、分化功能的肺外成体干细胞移植治疗ALI具有巨大的应用前景,为ALI及其他肺损伤提供了3种潜在应用于临床的治疗手段。(1)药物学治疗。许多生长因子和细胞因子影响干细胞的迁移、分化、凋亡等。利用药物或细胞因子刺激内源的干细胞或募集外源的干细胞以使组织再生和修复,调节其增殖分化,比单一药物治疗显得更有效。比如一种药物可以用来阻断炎症过程,同时另一种药物用来刺激干细胞动员和促进再生^[32-33]。(2)细胞学治疗。利用干细胞分化潜能修复受损的肺组织,改善肺损伤的预后。(3)基因学治疗。利用干细胞作为载体,引入外源性基因,特异性修复受损的肺组织。已有研究^[34-36]将血管生长因子-1基因转染MSCs,将其移植入内毒素诱导的ALI动物体内进行治疗,结果显示携带血管生长因子-1基因的MSCs能明显促进肺血管生成和肺血管内皮细胞成熟,改善ALI肺血管通透性,减轻肺水肿,减轻肺内炎症反应,其结果令人鼓舞。

但是肺是一个解剖非常复杂的三维结构,而导致ALI的病因也较多,不同病因的ALI有着不同且复杂的病理生理学改变,因此干细胞移植治疗ALI仍有着许多问题尚需解决,如干细胞在ALI体内微环境下的治疗机制、体外培养的干细胞回输入体内的安全性等。这极大地限制了肺外成体干细胞移植修复治疗肺损伤的临床应用,更多深入的研究仍需在临床应用之前完成。

[参考文献]

[1] Ware L B, Matthay M A. The acute respiratory distress syndrome[J]. *N Engl J Med*, 2000, 342: 1334-1349.
 [2] Yen C C, Yang S H, Lin C Y, Chen C M. Stem cells in the lung parenchyma and prospects for lung injury therapy[J]. *Eur J Clin Invest*, 2006, 36: 310-319.
 [3] 王 彤, 黄子通. 骨髓间充质干细胞和心血管疾病[J]. *中国急*

救医学, 2008, 28: 645-648.

[4] 樊建玲, 来晓瑜, 黄 黎, 王 艳, 曹军丽, 黄 河. 人骨髓间充质干细胞脑内移植对大鼠缺氧缺血性脑损伤的保护作用[J]. *第二军医大学学报*, 2008, 29: 1009-1014.
 Fan J L, Lai X Y, Huang L, Wang Y, Cao J L, Huang H. Protective effect of intracerebral transplantation of human mesenchymal stem cells on hypoxic-ischemic brain damage in rats [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2008, 29: 1009-1014.
 [5] 刘凡凤, 邱慧颖, 解琳娜, 章卫平, 郑晓丽, 高 磊. 骨髓间充质干细胞移植重建极重度放射损伤小鼠造血功能[J]. *第二军医大学学报*, 2008, 29: 1015-1019.
 Liu F F, Qiu H Y, Xie L N, Zhang W P, Zheng X L, Gao L. Effect of bone marrow mesenchymal stem cells transplantation in reconstructing hematopoiesis function of mice with critical irradiation injury[J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2008, 29: 1015-1019.
 [6] Spees J L, Olson S D, Ylostalo J, Lynch P J, Smith J, Perry A, et al. Differentiation, cell fusion, and nuclear fusion during ex vivo repair of epithelium by human adult stem cells from bone marrow stroma[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 2397-2402.
 [7] Rojas M, Xu J, Woods C R, Mora A L, Spears W, Roman J, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in repair of the injured lung[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2005, 33: 145-152.
 [8] Kähler C M, Wechselberger J, Hilbe W, Gschwendtner A, Colleselli D, Niederegger H, et al. Peripheral infusion of rat bone marrow derived endothelial progenitor cells leads to homing in acute lung injury[J]. *Respir Res*, 2007, 8: 50.
 [9] Xu J, Mora A, Shim H, Stecenko A, Brigham K L, Rojas M. Role of the SDF-1/CXCR4 axis in the pathogenesis of lung injury and fibrosis[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 37: 291-299.
 [10] Liebler J M, Lutzko C, Banfalvi A, Senadheera D, Aghamohammadi N, Crandall E D, et al. Retention of human bone marrow-derived cells in murine lungs following bleomycin-induced lung injury[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 295: L285-L292.
 [11] Christopherson K W 2nd, Hangoc G, Mantel C R, Broxmeyer H E. Modulation of hematopoietic stem cell homing and engraftment by CD26[J]. *Science*, 2004, 305: 1000-1003.
 [12] Weber G F, Ashkar S, Glimcher M J, Cantor H. Receptor-ligand interaction between CD44 and osteopontin (Eta-1)[J]. *Science*, 1996, 271: 509-512.
 [13] Neuringer I P, Randell S H. Stem cells and repair of lung injuries[J]. *Respir Res*, 2004, 5: 6.
 [14] Grove J E, Lutzko C, Priller J, Henegariu O, Theise N D, Kohn D B, et al. Marrow-derived cells as vehicles for delivery of gene therapy to pulmonary epithelium[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2002, 27: 645-651.
 [15] Kotton D N, Ma B Y, Cardoso W V, Sanderson E A, Summer R S, Williams M C, et al. Bone marrow-derived cells as progenitors of lung alveolar epithelium[J]. *Development*, 2001, 128: 5181-5188.

- [16] Ortiz L A, Gambelli F, McBride C, Gaupp D, Baddoo M, Kaminiski N, et al. Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100: 8407-8411.
- [17] Jiang Y, Jahagirdar B N, Reinhardt R L, Schwartz R E, Keene C D, Ortiz-Gonzalez X R, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow[J]. Nature, 2002, 418: 41-49.
- [18] Yamada M, Kubo H, Kobayashi S, Ishizawa K, Numasaki M, Ueda S, et al. Bone marrow-derived progenitor cells are important for lung repair after lipopolysaccharide-induced lung injury[J]. J Immunol, 2004, 172: 1266-1272.
- [19] 赵峰, 李圣青, 张宇飞, 陈卫强, 侯志峰, 吴昌归, 等. 骨髓间充质干细胞在肺损伤大鼠肺组织的分化[J]. 解放军医学杂志, 2007, 32: 131-133.
- [20] Lam C F, Liu Y C, Hsu J K, Yeh P A, Su T Y, Huang C C, et al. Autologous transplantation of endothelial progenitor cells attenuates acute lung injury in rabbits[J]. Anesthesiology, 2008, 108: 392-401.
- [21] Suratt B T, Cool C D, Serls A E, Chen L, Varella-Garcia M, Shpall E J, et al. Human pulmonary chimerism after hematopoietic stem cell transplantation[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2003, 168: 318-322.
- [22] Zander D S, Baz M A, Cogle C R, Visner G A, Theise N D, Crawford J M. Bone marrow-derived stem-cell repopulation contributes minimally to the Type II pneumocyte pool in transplanted human lungs[J]. Transplantation, 2005, 80: 206-212.
- [23] 陈莉娜, 王颖, 张艳艳, 关伟军. 间充质干细胞的免疫调节作用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11: 5626-5629.
- [24] Ohnishi S, Yanagawa B, Tanaka K, Miyahara Y, Obata H, Kataoka M, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells attenuates myocardial injury and dysfunction in a rat model of acute myocarditis[J]. J Mol Cell Cardiol, 2007, 42: 88-97.
- [25] Semedo P, Wang P M, Andreucci T H, Cenedeze M A, Teixeira V P, Reis M A, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate tissue damages triggered by renal ischemia and reperfusion injury[J]. Transplant Proc, 2007, 39: 421-423.
- [26] Parekkadan B, van Poll D, Suganuma K, Carter E A, Berthiaume F, Tilles A W, et al. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure[J]. PLoS ONE, 2007, 2: e941.
- [27] Gerdoni E, Gallo B, Casazza S, Musio S, Bonanni I, Pedemonte E, et al. Mesenchymal stem cells effectively modulate pathogenic immune response in experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. Ann Neurol, 2007, 61: 219-227.
- [28] Rasulov M F, Vasilenko V T, Zaidenov V A, Onishchenko N A. Cell transplantation inhibits inflammatory reaction and stimulates repair processes in burn wound[J]. Bull Exp Biol Med, 2006, 142: 112-115.
- [29] Iyer S S, Rojas M. Anti-inflammatory effects of mesenchymal stem cells: novel concept for future therapies [J]. Expert Opin Biol Ther, 2008, 8: 569-581.
- [30] Gupta N, Su X, Popov B, Lee J W, Serikov V, Matthay M A. Intrapulmonary delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves survival and attenuates endotoxin-induced acute lung injury in mice[J]. J Immunol, 2007, 179: 1855-1863.
- [31] 蔡存良, 文仲光, 周岗, 李海红, 孙同柱, 付小兵. 骨髓间充质干细胞移植对急性肺损伤大鼠血清 TNF- α 、IL-6 水平的影响[J]. 感染、炎症、修复, 2006, 7: 98-101.
- [32] Jorgensen C, Noel D, Apparailly F, Sany J. Stem cells for repair of cartilage and bone: the next challenge in osteoarthritis and rheumatoid arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2001, 60: 305-309.
- [33] Okabe S, Forsberg-Nilsson K, Spiro A C, Segal M, McKay R D. Development of neuronal precursor cells and functional postmitotic neurons from embryonic stem cells *in vitro* [J]. Mech Dev, 1996, 59: 89-102.
- [34] McCarter S D, Mei S H, Lai P F, Zhang Q W, Parker C H, Suen R S, et al. Cell-based angiopoietin-1 gene therapy for acute lung injury[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2007, 175: 1014-1026.
- [35] Mei S H, McCarter S D, Deng Y, Parker C H, Liles W C, Stewart D J. Prevention of LPS-induced acute lung injury in mice by mesenchymal stem cells overexpressing angiopoietin 1 [J]. PLoS Med, 2007, 4: e269.
- [36] Xu J, Qu J, Cao L, Sai Y, Chen C, He L, et al. Mesenchymal stem cell-based angiopoietin-1 gene therapy for acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice[J]. J Pathol, 2008, 214: 472-481.

[本文编辑] 贾泽军

欢迎订阅

《第二军医大学学报》

ISSN 0258-879X
CN 31-1001/R

JOURNAL OF MEDICAL COLLEGES OF PLA

ISSN 1000-1948
CN 31-1002/R

上海市翔殷路 800 号(邮编:200433) 邮发代号:4-373

上海市翔殷路 800 号(邮编:200433) 邮发代号:4-725