

• 专家论坛 •



白冲 临床医学博士, 主任医师、教授, 博士生导师。现任海军军医大学(第二军医大学)第一附属医院呼吸与危重症医学科荣誉主任、学术带头人, 上海市呼吸病研究所呼吸疾病与干细胞研究室主任; 兼任中国医师协会内镜医师分会副会长(兼呼吸内镜专委会主任委员)、上海市医学会呼吸病学专科分会副主任委员(兼肺癌学组组长)、上海市抗癌协会理事(兼肿瘤呼吸内镜专委会主任委员)。擅长介入呼吸病学及胸部肿瘤诊疗, 研究方向为干细胞与呼吸系疾病。作为第一负责人主持国家自然科学基金项目5项, 承担国家卫生和计划生育委员会卫生行业科研专项基金、上海市科学技术委员会重点科研基金等多项科研项目。主编、主译、副主编专著9部。作为通信作者撰写并发表中国呼吸领域专家共识3部, 参与制定指南和共识14部。作为第一作者或通信作者发表论文150篇, 其中54篇发表于SCI收录期刊。获国家发明专利和新型实用专利授权17项。获教育部科技进步奖一等奖(第一完成人)、军队科技进步奖一等奖(第一完成人)各1项。获评“中国医师奖”“中国优秀呼吸医师”“国之名医”。荣立二等功1次、三等功3次。

DOI:10.16781/j.CN31-2187/R.20220260

间充质干细胞在支气管哮喘治疗中的应用: 挑战与策略

屈玉兰¹, 戈霞晖², 白冲^{1*}

1. 海军军医大学(第二军医大学)第一附属医院呼吸与危重症医学科, 上海 200433
2. 上海中医药大学上海市第七人民医院呼吸内科, 上海 200137

[摘要] 支气管哮喘(简称哮喘)缺乏特别有效的治疗手段。间充质干细胞(MSC)因具有抑制炎症、改善气道重塑的作用及可经呼吸道给药等优势, 在哮喘治疗领域被广泛研究。虽然近年来对MSC治疗哮喘的应用性探索不断涌现, 但其治疗哮喘的临床试验结果并不理想。不同类型的干细胞、不同哮喘患者的病理生理特征的差异给MSC的临床应用带来了严峻的挑战。本文就目前MSC治疗哮喘的作用机制研究及临床应用挑战进行回顾分析, 以更好地了解MSC治疗哮喘的潜力及临床应用的可行性。

[关键词] 哮喘; 间充质干细胞; 免疫调节; 临床应用

[中图分类号] R 562.25 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-1338(2022)06-0589-08

Mesenchymal stem cells in the treatment of bronchial asthma: challenges and strategies

QU Yu-lan¹, GE Xia-hui², BAI Chong^{1*}

1. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, The First Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China
2. Department of Respiratory Medicine, Shanghai Seventh People's Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200137, China

[Abstract] Bronchial asthma (abbreviated as asthma) lacks a particularly effective treatment. Mesenchymal stem cells (MSCs) have been widely studied in the field of asthma treatment for their roles in inhibiting inflammation and improving airway remodeling, as well as their advantages in respiratory tract administration. In recent years, although the exploration of MSCs on the treatment of asthma has been surging, the results of the clinical trials are not satisfactory. The differences in types of stem cells and pathophysiological characteristics of asthma patients have posed serious challenges to the clinical

[收稿日期] 2022-03-30 **[接受日期]** 2022-05-31

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81873405), 上海市青年科技英才扬帆计划(21YF1459000)。Supported by General Program of National Natural Science Foundation of China (81873405) and Yangfan Plan of Young Science and Technology Talent of Shanghai (21YF1459000)。

[作者简介] 屈玉兰, 博士, 住院医师。E-mail: quyulan657857441@163.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-31161312, E-mail: bc7878@sohu.com

application of MSCs. This article reviews the current studies on the mechanism and clinical application challenges of MSCs in the treatment of asthma, so as to better understand the therapeutic potential and clinical feasibility of MSCs.

[Key words] asthma; mesenchymal stem cells; immunomodulation; clinical application

[Acad J Naval Med Univ, 2022, 43(6): 589-596]

支气管哮喘(简称哮喘)是一种与环境和基因相关的异质性疾病,以嗜酸性粒细胞、肥大细胞、嗜碱性粒细胞等多种细胞参与及炎症因子分泌异常为特点^[1]。哮喘影响全球约1%~18%的人群,而我国更有多达4 570多万例哮喘患者^[2]。目前哮喘的治疗主要以吸入糖皮质激素和扩张支气管等对症处理为主,但仍有至少15.5%的哮喘患者发作时需急诊就诊,7.2%的患者需要住院进一步治疗^[2]。吸入糖皮质激素能有效控制大多数嗜酸性粒细胞型哮喘患者的症状,但中性粒细胞型类固醇抵抗性哮喘仍然是目前哮喘治疗的重大挑战。探索新的有效治疗方法来“根治”哮喘,更好地管理糖皮质激素反应不良或无反应哮喘患者是当务之急。近年来,以间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)为基础的治疗已经被提出,并且在哮喘治疗领域被广泛研究。本文对MSC治疗哮喘的可能机制及临床应用的研究进展进行回顾分析,以更好地了解MSC治疗哮喘的潜力及临床应用的可行性,为哮喘治疗方案的选择提供参考。

1 MSC在治疗哮喘等肺部疾病中具有优势

MSC又被称为多功能间质细胞,可来源于脂肪、骨髓、脐带血、羊水、牙髓等多种组织,早在1990年就被研究人员认识并逐渐被熟知^[3]。尽管不同组织来源的MSC在表型和功能特性上有所不同,但根据国际细胞治疗学会(International Society of Cell Therapy, ISCT)定义的最低标准, MSC表达CD29、CD90、CD73、CD105、CD71、CD271,而不表达CD14、CD34、CD45和人类白细胞抗原DR(human leukocyte antigen DR, HLA-DR),具有黏附性,并具有分化成脂肪细胞、成骨细胞等中胚层细胞系的能力^[4]。

哮喘是一种异质性疾病,其发病机制并不明确,传统的治疗药物主要致力于改善胸闷、气急、咳嗽等症状,并不能从根本上控制哮喘。相比于传统治疗药物, MSC不仅能在趋化因子或炎症因子等作用下“归巢”富集至病损部位定向分化并促进

组织修复或再生,而且具有强大的免疫调节功能,有望从根本上控制哮喘发生。肺由于组织结构及生理作用的特殊性,还能通过“首过效应”使大多数经静脉注射的干细胞首先被“困”在肺部发挥作用。研究显示,静脉输注MSC后24 h,在肺部驻留的MSC超过其总量的50%^[5],肺也是各组织脏器中驻留MSC最多的脏器^[6];48 h后,在肺部可检测到的MSC依然可达到其总量的1/3^[5]。

气管内局部给药是治疗肺部疾病的重要方式之一,其可在增强药物局部作用的同时减轻全身不良反应。同济大学左为团队通过气管镜下刷检的方式获得支气管扩张患者肺上皮性别决定区Y框蛋白9(sex-determining region Y box 9, SOX9)阳性基底细胞后在体外扩增,再通过支气管镜将这些细胞局部回输给患者并观察其修复作用,结果显示细胞移植后3~12个月患者的肺组织结构修复,肺功能明显增强^[7]。有研究表明雾化吸入骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cell, BM-MSC)也能明显缓解肺部疾病,且吸入BM-MSC相比于静脉注射能减少血管瓣膜剪切力对细胞的损伤,消除肺泡内到达靶细胞的屏障,防止肺血管血栓形成,为患者提供了非侵入性和重复给药的优势^[8]。

2 MSC在哮喘治疗中的可能机制

2.1 哮喘的表型 哮喘性气道炎症被认为是肺驻留细胞、免疫细胞、生长因子、酶、细胞因子、趋化因子、代谢物和miRNA之间相互作用的复杂网络。根据哮喘潜在的病理生理机制,哮喘表型可分为过敏性哮喘(主要为高嗜酸性粒细胞型)和非过敏性哮喘(中性粒细胞为主型或代谢性)。过敏性哮喘以辅助性T细胞(T helper cell, Th)2相关的细胞因子如IL-4、IL-5、IL-13为特征,而非过敏性哮喘机制则更为复杂,目前尚未发现明确的生物标志物。

过敏性哮喘又称为高Th2型哮喘。上皮细胞接触尘螨等过敏原后,细胞间紧密连接被破坏,同时分泌IL-33、IL-25、胸腺基质淋巴细胞生成素

(thymic stromal lymphopoietin, TSLP) 等细胞因子, 树突状细胞在这些细胞因子作用下向肺组织募集, 诱导Th0向Th2分化, 后者分泌IL-4、IL-5、IL-13等细胞因子; IL-4诱导B细胞分泌IgE, IgE与肥大细胞表面的IgE高亲和力受体——免疫球蛋白E Fc段受体 I (Fc ϵ receptor I, Fc ϵ R I) 交联, 诱导肥大细胞脱颗粒, 分泌组胺、白三烯、前列腺素E2 (prostaglandin E2, PGE2) 等炎性介质促进哮喘发生^[1]。近年来, 越来越多的研究发现天然淋巴样细胞2 (innate lymphoid cell 2, ILC2) 也可作为Th2型细胞因子的主要来源, 促进哮喘发生^[9]。

非过敏性哮喘常表现为低Th2或非Th2型, 哮喘患者外周血及痰中往往缺失Th2型细胞因子和嗜酸性粒细胞, 这类患者发病年龄较大, 常与使用高剂量皮质类固醇药物或肥胖有关, 往往对糖皮质激素反应较差^[10]。低Th2型哮喘的发生常与IL-1 β 通路或中性粒细胞浸润相关^[11]。

研究发现, 中重度非Th2型哮喘患者肺泡灌洗液中IL-17A、IL-17F、IL-22水平增高并与疾病严重程度相关, 但部分高Th17特征的哮喘患者也存在组织中嗜酸性粒细胞增高的情况, 提示Th17中性粒细胞与高Th2型哮喘之间的关系错综复杂^[12]。因此, 针对不同的哮喘类型, 有效修复上皮细胞紧密连接, 抑制Th2/Th17反应, 可能有助于缓解哮喘反应。MSC由于不表达MHC II类分子且低表达MHC I类分子, 不仅可成功逃避免疫监视, 还可通过细胞间接触及旁分泌细胞因子或外泌体等多种机制抑制Th2/Th17反应, 最终改善哮喘炎症反应及气道重塑^[13]。

2.2 MSC对过敏性哮喘的治疗作用 过敏性哮喘包括急性哮喘和慢性哮喘, 急性哮喘主要表现为气道炎症和气道高反应性, 慢性哮喘常伴有气道重塑。单纯卵清蛋白和屋尘螨诱导的哮喘多表现为Th2型反应。MSC可通过细胞间直接作用或旁分泌小分子蛋白、细胞因子、细胞外囊泡等信使媒介改善过敏性哮喘, 如MSC可分泌PGE2、巨噬细胞集落刺激因子、IL-6、IL-10等抑制树突状细胞活化或成熟^[14], 分泌肿瘤坏死因子 α 刺激基因6 (tumor necrosis factor α stimulated gene 6, TSG-6)、TGF- β 、吲哚胺2,3-双加氧酶 (indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO) 等促进巨噬细胞向M2型转化^[15], 还可抑制B细胞活化改善哮喘。本课题组

前期研究发现经气管内给予BM-MSC可通过分泌IL-10改善哮喘小鼠的气道炎症及肺功能^[16], 且BM-MSC可抑制慢性哮喘小鼠的气道重构^[17]。常琴等^[18]发现MSC可通过分泌TGF- β 1抑制上皮间充质转化, 从而减轻哮喘小鼠的气道重塑。

2.3 MSC对非过敏性哮喘的治疗作用 除了有效改善过敏性哮喘外, MSC还能明显缓解非过敏性哮喘的气道炎症反应。有研究显示MSC可通过分泌细胞外超氧化物歧化酶抑制中性粒细胞活化^[19], 这可能有助于改善哮喘。在卵清蛋白和聚肌苷酸-聚胞苷酸诱导的哮喘小鼠模型中, 人脐带血来源的MSC能降低支气管肺泡灌洗液中的中性粒细胞和巨噬细胞数量^[20]。MSC还可通过分泌携带mRNA、脂肪酸、小分子蛋白或细胞因子的细胞外囊泡抑制曲霉菌丝提取物诱导的中性粒细胞性哮喘, 改善Th2/Th17反应及气道高反应性^[21]。气管内给予人脐带血来源MSC的外泌体可通过分泌肿瘤坏死因子受体相关因子1 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 1, TRAF1) 促进巨噬细胞向M2型极化, 从而逆转严重糖皮质激素抵抗型哮喘小鼠的气道高反应、组织病理学改变和气道炎症^[22]。这些细胞外囊泡的作用与MSC本身的作用相当。

2.4 炎症微环境或基因修饰后的MSC对哮喘的治疗作用 必要的炎症微环境有助于MSC获得“许可”, 使MSC获得相应的特性以响应特定的微环境成分和条件。一些研究表明缺氧、Toll样受体激动剂及包括细胞因子在内的炎性介质是增强MSC的免疫调节功能和再生能力的关键刺激因素^[23-24]。在哮喘模型中, 全身及气管内给予BM-MSC后, 肺组织微环境中的 γ 干扰素能够促进BM-MSC分泌大量的IDO或PGE2, 从而抑制Th2和Th17反应^[25]。本课题组前期发现缺乏免疫球蛋白G Fc段受体 II B (Fc γ receptor II B, Fc γ R II B) 的BM-MSC对树突状细胞成熟和活化的抑制作用明显减弱^[26]。同时, 有研究证实, 在MSC中过表达线粒体Rho GTP酶1 (mitochondrial Rho GTPase 1, Miro1) 可促使线粒体向上皮细胞转移, 促进上皮细胞修复, 从而改善气道高反应和结构重塑^[27]。

3 不同来源MSC的差异化治疗潜能

不同来源的MSC具有不同的分化能力、增殖

效能、免疫调节功能和再生特性。有研究显示,相比于BM-MSc和脂肪间充质干细胞(adipose-derived mesenchymal stem cell, AD-MSc),胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)和Wharton's jelly来源的MSc具有更高的增殖潜能^[28]。有部分报道还显示AD-MSc具有与BM-MSc相似甚至更强的免疫调节功能^[29]。也有研究表明,在哮喘模型中,虽然气管内给予BM-MSc、AD-MSc和肺组织定居性间充质干细胞(lung-resident mesenchymal stem cell, LR-MSc)均可不同程度地减少气道炎症反应、改善肺功能,但BM-MSc在改变肺动力学及气道重塑方面效果更好,且各种类型MSc的作用效果均受到体内微环境的影响^[30]。迄今为止,因尚缺乏相同实验条件下不同来源MSc的功能特性的全面比较,哪种来源的MSc功能最强仍是备受争议的科学问题。但就目前而言,综合医学伦理及来源是否广泛等因素,BM-MSc和AD-MSc是研究最为广泛且最有应用前景的MSc。

近年来,LR-MSc逐渐进入研究视野,并已通过单细胞转录组测序被证实^[31]。LR-MSc与BM-MSc具有一定的表型相似性,但其功能更加多样,并可由局部微环境刺激物诱导呈现动态分化。在生理状态下,LR-MSc可分泌多种生长因子,参与维持肺稳态。而在病理状态下,LR-MSc可分泌调节因子抑制Th17反应或增强调节性T细胞活性^[32]。LR-MSc还可通过Wnt/ β -联蛋白(β -catenin)通路向肌成纤维细胞分化,参与肺重构^[33]。但LR-MSc是否在哮喘气道重塑中起作用至今仍不清楚。

此外,利用生物学编辑技术可将体细胞基因重组,使其转化为诱导多功能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC),并建立iPSC来源的MSc。iPSC-MSc可通过连接蛋白43与肺上皮细胞形成纳米管隧道来介导线粒体转移,从而减轻上皮细胞线粒体功能障碍,抑制Th2型细胞因子,改善哮喘小鼠炎症反应^[34]。iPSC-MSc还能减少上皮细胞分泌的“报警”因子IL-33和TSLP,抑制高Th2和非Th2型的气道炎症^[35]。遗憾的是,尽管iPSC-MSc具有较高的治疗潜能且不存在传统MSc的组织来源不足、增殖有限及标准化困难等问题,但由于基因编辑过程可能导致癌基因激活等风险,

目前仅有2项以iPSC-MSc为基础的治疗研究在美国临床试验数据库(<http://clinicaltrials.gov>)登记,这2项研究分别针对移植物抗宿主病和新型冠状病毒肺炎病程中的急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)。iPSC-MSc在哮喘炎症调节中的应用尚未见报道,仍需进一步确定其疗效的长期稳定性和安全性。

4 MSC 的临床研究现状

随着对干细胞生物学认识的逐渐深入及体细胞多能性诱导技术的发展,以干细胞为基础的治疗成为难治性哮喘的新途径和新希望。据不完全统计,目前已经完成的MSc治疗临床试验超过300项,由于ESC存在的医学伦理限制及iPSC存在的长期稳定性和安全隐患问题,已知的临床试验中主要以BM-MSc(35%)、AD-MSc(23%)和脐带血来源的MSc(23%)为主。总的来说,BM-MSc在一些疾病的治疗中显示出了可耐受的安全性和有希望的治疗效益,并且在部分国家得到监管批准^[36]。遗憾的是,目前为止,只有2种干细胞疗法获得了美国FDA和欧洲药品管理局的批准,包括造血干细胞移植和用于恢复视力的角膜干细胞移植。其他所有以干细胞为基础的治疗方法均处于临床试验或科学研究探索中。

已有动物实验证实从哮喘模型中获得的骨髓单核细胞(bone marrow-derived mononuclear cell, BMMC)治疗哮喘的效果与从健康供体获得的MSc相同,在此基础上,Aguilar等^[37]通过临床试验评估BMMC(静脉注射, 1×10^7 个)对严重糖皮质激素抵抗性哮喘患者的治疗效果。该研究的部分结果显示3例接受治疗的患者均没有发生任何BMMC移植相关的不良反应事件,肺功能保持稳定、住院次数减少,并且在细胞治疗12个月以后,3例患者中至少2例患者的呼吸症状和生活质量明显改善,使用的常规药物(吸入糖皮质激素和IgE抑制剂)剂量减少了50%。需要指出的是该项研究结果仅为单次注射细胞后1年的评估结果,并且该研究中只涉及3例患者,未设置随机对照,其长期安全性及大样本有效性均需进一步确认。一项由Glassberg发起的非随机对照研究(NCT03137199)则旨在比较静脉注射不同剂量BM-MSc(2×10^7 和 10×10^7 个)治疗轻度哮喘的安全性、耐受性和疗

效, 该研究已于2020年5月终止, 其最后的终点评价结果仍有待公布。另一项由美国转化生物医学中心发起的旨在评估鼻内注射来源于人脐带组织间充质干细胞的异基因间充质营养因子对哮喘患者肺功能和生活质量的安全性及有效性评价的临床试验(NCT02192736)在招募患者前被提前终止。因此, MSC治疗哮喘在真实世界的有效性及安全性仍需进一步评价和明确。

5 MSC临床应用的挑战及策略

尽管在美国国立卫生研究院注册的关于探索MSC治疗疾病的临床试验超过1 000个, 一些公司甚至已经或正在将以MSC为基础的疗法商业化, 但事实上大多数临床期MSC的治疗结果并未如期达到主要疗效终点。同样地, 虽然MSC治疗哮喘的有效性已通过临床前研究得到证实, 但其治疗哮喘的临床试验仍存在局限性: 不同来源的MSC的质量控制、免疫相容性、稳定性、异质性、分化和迁移能力均有所不同, 且MSC的给药剂量、给药途径及在病程中如何规范给药时间和频率都会影响最终的治疗效果。

虽然MSC的低免疫原性有利于免疫逃逸并发挥免疫调节作用, 但MSC并非具有完全的“免疫特权”。大多数MSC由供体获得的少量细胞扩增而来, 不可避免地会增加由于不适当工艺或培养条件而引入的相关免疫原性, 输注同种异体MSC后同样可能引起全身炎症反应并产生相应的抗体^[38], 甚至可激活补体途径, 诱导血栓形成。因此, 虽然来源于体外实验的MSC的初级免疫原性可能很小, 但在体内诱导的二次免疫原性可能导致临床有效性下降。此外, 为给临床试验提供充足的MSC, 往往需要大规模扩增MSC, 而MSC的长期体外培养会导致其干性下降, 增殖分化能力下降, 甚至寿命缩短。尽管有部分研究显示抑制衰老相关蛋白p53、p21等可促进MSC的功能恢复^[39], 但是仍然难以控制MSC在复杂的体内环境中的衰减速率。另一个值得关注的问题是, 有研究显示MSC移植后, 小鼠形成肉瘤的风险可能增加^[40]。虽然截至目前尚未见人类移植MSC后发生肿瘤的报道, 但仍需进行谨慎的长期随访研究确定其安全性。

目前大多数MSC临床试验的失败可能源于难以预测MSC在人体中的免疫调节和再生能力,

而这种不可预测性可能源于对MSC本身的定义。ISCT对于MSC的定义主要基于其形态、表面标志物及向中胚层细胞分化的“干性”, 对其免疫调节和再生效应并未明确限定。尽管2019年ISCT就MSC组织来源和相关功能分析对MSC的标准进行了重新定义^[4], 但仍不能保证MSC在体内的自然状态。因此, 除了对MSC进行严格标准化流程的表面标志物鉴定、纯度和分化能力等评估外, 增加MSC的体外效能标准(如抑制T细胞增殖或表达IL-10水平等)可能有助于提升MSC治疗哮喘的临床效果^[41]。

此外, 生成足够数量的均质化的MSC在大规模临床试验中至关重要。目前大量制备MSC的方法主要是在体外扩增细胞后低温保存, 在需要时进行床边解冻并输送给患者^[42]。不同的干细胞来源、解冻方法及移植处理之间的差异往往对移植后的治疗效果产生重大影响, 超低温保存引起的细胞损伤不仅可能改变MSC输注后的生物分布、定植和清除动力学, 也会抑制MSC的免疫调节能力^[43]。例如, 一项对MSC治疗ARDS的临床试验结果显示, 尽管在I期临床研究中获得了良好的治疗和安全性分析结果^[44], 但在II期临床研究中却未观察到显著的临床改善效果。进一步对该试验进行回顾性分析发现, 新鲜解冻和洗涤后的MSC存活率为36%~85%, 而与安慰剂相比, 只有存活率最高的MSC(70%~85%)可以改善患者的氧合指数^[45]。此前有研究者发现延长MSC移植前的复苏时间可有效地逆转超低温冻融引起的细胞损伤, 提高MSC的治疗作用^[46]。此外, 还可以借助生物工程技术增加MSC的稳定性。其中单细胞测序技术的不断进展使得明确单个MSC的基因组信息成为可能, 而这一过程无疑可量化并提高MSC的均质性。有研究显示, 在软聚乙二醇水凝胶基质上扩增MSC能够逆转连续传代后MSC表面标志物或细胞因子表达的减少^[47]。MSC的三维培养也有助于MSC在扩增过程中保持早期表型^[48]。利用成簇的规律间隔的短回文重复序列及其相关蛋白9 [clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR)/CRISPR-associated protein 9, CRISPR/Cas9]等基因技术不仅可增加MSC的调节效能^[49], 还有望将MSC编辑成不受冷冻保存、传代、供体来源等影响的细胞系, 从而有效解决传代

和扩增引起的细胞表型变化,最终促进MSC在疾病治疗中的稳定性和可持续性。

近年来,随着细胞外囊泡的发现, MSC的“去细胞化”治疗越来越受到关注^[50]。细胞外囊泡具有脂质体样结构,在体内比其他外来颗粒更稳定^[51],而且可以较为容易地进行修饰,以改善其表面性质、增强治疗潜力或将其作为药物传递系统^[52]。因此,应用MSC来源的细胞外囊泡治疗哮喘也是值得期待的方向之一。

6 结 语

在过去的几十年中,基于MSC疗法的探索取得了巨大进步。虽然目前基于MSC的治疗并不是有效的哮喘一线治疗方案,但随着MSC效应机制的逐渐清晰和新技术的不断更新,以及临床试验前细胞标准化和监管评估的不断完善, MSC疗法的有效性和安全性将进一步提高,有望为难治性哮喘在内的多种疾病的治疗提供一种新的选择。

[参考文献]

- [1] HAMMAD H, LAMBRECHT B N. The basic immunology of asthma[J]. *Cell*, 2021, 184: 1469-1485.
- [2] HUANG K W, YANG T, XU J Y, YANG L, ZHAO J P, ZHANG X Y, et al. Prevalence, risk factors, and management of asthma in China: a national cross-sectional study[J]. *Lancet*, 2019, 394: 407-418.
- [3] CAPLAN A I. Mesenchymal stem cells[J]. *J Orthop Res*, 1991, 9: 641-650.
- [4] VISWANATHAN S, SHI Y, GALIPEAU J, KRAMPERA M, LEBLANC K, MARTIN I, et al. Mesenchymal stem versus stromal cells: International Society for Cell & Gene Therapy (ISCT[®]) Mesenchymal Stromal Cell committee position statement on nomenclature[J]. *Cytotherapy*, 2019, 21: 1019-1024.
- [5] RIZZO S, PADELLI F, RINALDI E, GIOENI D, AQUINO D, BRIZZOLA S, et al. 7-T MRI tracking of mesenchymal stromal cells after lung injection in a rat model[J/OL]. *Eur Radiol Exp*, 2020, 4: 54. DOI: 10.1186/s41747-020-00183-0.
- [6] FISCHER U M, HARTING M T, JIMENEZ F, MONZON-POSADAS W O, XUE H S, SAVITZ S I, et al. Pulmonary passage is a major obstacle for intravenous stem cell delivery: the pulmonary first-pass effect[J]. *Stem Cells Dev*, 2009, 18: 683-692.
- [7] MA Q W, MA Y, DAI X T, REN T, FU Y J, LIU W B, et al. Regeneration of functional alveoli by adult human SOX9⁺ airway basal cell transplantation[J]. *Protein Cell*, 2018, 9: 267-282.
- [8] FRÖHLICH E. Therapeutic potential of mesenchymal stem cells and their products in lung diseases—intravenous administration versus inhalation[J/OL]. *Pharmaceutics*, 2021, 13: 232. DOI: 10.3390/pharmaceutics13020232.
- [9] TOKI S, GOLENIIEWSKA K, ZHANG J, ZHOU W S, NEWCOMB D C, ZHOU B H, et al. TSLP and IL-33 reciprocally promote each other's lung protein expression and ILC2 receptor expression to enhance innate type-2 airway inflammation[J]. *Allergy*, 2020, 75: 1606-1617.
- [10] RADERMECKER C, LOUIS R, BUREAU F, MARICHAL T. Role of neutrophils in allergic asthma[J]. *Curr Opin Immunol*, 2018, 54: 28-34.
- [11] LI X N, HASTIE A T, PETERS M C, HAWKINS G A, PHIPATANAKUL W, LI H S, et al. Investigation of the relationship between IL-6 and type 2 biomarkers in patients with severe asthma[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2020, 145: 430-433.
- [12] RAMAKRISHNAN R K, AL HEIALLY S, HAMID Q. Role of IL-17 in asthma pathogenesis and its implications for the clinic[J]. *Expert Rev Respir Med*, 2019, 13: 1057-1068.
- [13] TYNECKA M, MONIUSZKO M, ELJASZEWICZ A. Old friends with unexploited perspectives: current advances in mesenchymal stem cell-based therapies in asthma[J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2021, 17: 1323-1342.
- [14] LI H, TIAN Y Z, XIE L H, LIU X X, HUANG Z H, SU W R. Mesenchymal stem cells in allergic diseases: current status[J]. *Allergol Int*, 2020, 69: 35-45.
- [15] SONG X L, XIE S S, LU K, WANG C H. Mesenchymal stem cells alleviate experimental asthma by inducing polarization of alveolar macrophages[J]. *Inflammation*, 2015, 38: 485-492.
- [16] GE X H, BAI C, YANG J M, LOU G L, LI Q, CHEN R H. Intratracheal transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells reduced airway inflammation and up-regulated CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in asthmatic mouse[J]. *Cell Biol Int*, 2013, 37: 675-686.
- [17] GE X H, BAI C, YANG J M, LOU G L, LI Q, CHEN R H. Effect of mesenchymal stem cells on inhibiting airway remodeling and airway inflammation in chronic asthma[J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114: 1595-1605.
- [18] 常琴,田新利,霍如婕,刘岱,陈俊艳,王旭,等. 人脐带间充质干细胞对支气管哮喘大鼠气道重塑的治疗作用及可能机制[J]. *中华医学杂志*, 2018, 98: 2258-2263.
- [19] JIANG D S, MUSCHHAMMER J, QI Y, KÜGLER A, DE VRIES J C, SAFFARZADEH M, et al. Suppression of neutrophil-mediated tissue damage—a novel skill of mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cells*, 2016, 34: 2393-

- 2406.
- [20] HONG G H, KWON H S, LEE K Y, HA E H, MOON K A, KIM S W, et al. hMSCs suppress neutrophil-dominant airway inflammation in a murine model of asthma[J/OL]. *Exp Mol Med*, 2017, 49: e288. DOI: 10.1038/emm.2016.135.
- [21] CRUZ F F, BORG Z D, GOODWIN M, SOKOCEVIC D, WAGNER D E, COFFEY A, et al. Systemic administration of human bone marrow-derived mesenchymal stromal cell extracellular vesicles ameliorates *Aspergillus* hyphal extract-induced allergic airway inflammation in immunocompetent mice[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4: 1302-1316.
- [22] DONG B, WANG C, ZHANG J, ZHANG J R, GU Y N, GUO X P, et al. Exosomes from human umbilical cord mesenchymal stem cells attenuate the inflammation of severe steroid-resistant asthma by reshaping macrophage polarization[J/OL]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12: 204. DOI: 10.1186/s13287-021-02244-6.
- [23] DONG L Y, WANG Y, ZHENG T T, PU Y N, MA Y B, QI X, et al. Hypoxic hUCMSC-derived extracellular vesicles attenuate allergic airway inflammation and airway remodeling in chronic asthma mice[J/OL]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12: 4. DOI: 10.1186/s13287-020-02072-0.
- [24] LEE S C, JEONG H J, LEE S K, KIM S J. Lipopolysaccharide preconditioning of adipose-derived stem cells improves liver-regenerating activity of the secretome[J/OL]. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6: 75. DOI: 10.1186/s13287-015-0072-7.
- [25] CHINNADURAI R, COPLAND I B, PATEL S R, GALIPEAU J. IDO-independent suppression of T cell effector function by IFN- γ -licensed human mesenchymal stromal cells[J]. *J Immunol*, 2014, 192: 1491-1501.
- [26] ZHU T Y, CHEN R H, LI Z, TIAN J, DENG C W, ZHANG X X, et al. Functional role of Fc γ RIIB in the regulation of mesenchymal stem cell function[J]. *Int J Med Sci*, 2016, 13: 154-160.
- [27] AHMAD T, MUKHERJEE S, PATNAIK B, KUMAR M, SINGH S, KUMAR M, et al. Miro1 regulates intercellular mitochondrial transport & enhances mesenchymal stem cell rescue efficacy[J]. *EMBO J*, 2014, 33: 994-1010.
- [28] JIN H J, BAE Y K, KIM M, KWON S J, JEON H B, CHOI S J, et al. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood as sources of cell therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14: 17986-18001.
- [29] IVANOVA-TODOROVA E, BOCHEV I, MOURDJEVA M, DIMITROV R, BUKAREV D, KYURKCHIEV S, et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells are more potent suppressors of dendritic cells differentiation compared to bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *Immunol Lett*, 2009, 126: 37-42.
- [30] ABREU S C, ANTUNES M A, XISTO D G, CRUZ F F, BRANCO V C, BANDEIRA E, et al. Bone marrow, adipose, and lung tissue-derived murine mesenchymal stromal cells release different mediators and differentially affect airway and lung parenchyma in experimental asthma[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6: 1557-1567.
- [31] ADAMS T S, SCHUPP J C, POLI S, AYAUB E A, NEUMARK N, AHANGARI F, et al. Single-cell RNA-seq reveals ectopic and aberrant lung-resident cell populations in idiopathic pulmonary fibrosis[J/OL]. *Sci Adv*, 2020, 6: eaba1983. DOI: 10.1126/sciadv.aba1983.
- [32] WANG L L, SHI M, TONG L, WANG J, JI S M, BI J, et al. Lung-resident mesenchymal stem cells promote repair of LPS-induced acute lung injury via regulating the balance of regulatory T cells and Th17 cells[J]. *Inflammation*, 2019, 42: 199-210.
- [33] CHEN X, SHI C W, CAO H H, CHEN L, HOU J W, XIANG Z, et al. The hedgehog and Wnt/ β -catenin system machinery mediate myofibroblast differentiation of LR-MSCs in pulmonary fibrogenesis[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2018, 9: 639. DOI: 10.1038/s41419-018-0692-9.
- [34] YAO Y, FAN X L, JIANG D, ZHANG Y L, LI X, XU Z B, et al. Connexin 43-mediated mitochondrial transfer of iPSC-MSCs alleviates asthma inflammation[J]. *Stem Cell Reports*, 2018, 11: 1120-1135.
- [35] SUN Y Q, DENG M X, HE J, ZENG Q X, WEN W P, WONG D S H, et al. Human pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells prevent allergic airway inflammation in mice[J]. *Stem Cells*, 2012, 30: 2692-2699.
- [36] PARK Y B, HA C W, LEE C H, YOON Y C, PARK Y G. Cartilage regeneration in osteoarthritic patients by a composite of allogeneic umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells and hyaluronate hydrogel: results from a clinical trial for safety and proof-of-concept with 7 years of extended follow-up[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6: 613-621.
- [37] AGUIAR F S, MELO A S, ARAÚJO A M S, CARDOSO A P, DE SOUZA S A L, LOPES-PACHECO M, et al. Autologous bone marrow-derived mononuclear cell therapy in three patients with severe asthma[J/OL]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11: 167. DOI: 10.1186/s13287-020-01675-x.
- [38] BARRACHINA L, REMACHA A R, ROMERO A, VÁZQUEZ F J, ALBAREDA J, PRADES M, et al. Priming equine bone marrow-derived mesenchymal stem cells with proinflammatory cytokines: implications in immunomodulation-immunogenicity balance, cell

- viability, and differentiation potential[J]. *Stem Cells Dev*, 2017, 26: 15-24.
- [39] KIM J H, SHIN S H, LI T Z, SUH H. Influence of *in vitro* biomimicked stem cell 'niche' for regulation of proliferation and differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells to myocardial phenotypes: serum starvation without aid of chemical agents and prevention of spontaneous stem cell transformation enhanced by the matrix environment[J/OL]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2016, 10: E1-E13. DOI: 10.1002/term.1754.
- [40] LEVY O, KUAI R, SIREN E M J, BHERE D, MILTON Y, NISSAR N, et al. Shattering barriers toward clinically meaningful MSC therapies[J/OL]. *Sci Adv*, 2020, 6: eaba6884. DOI: 10.1126/sciadv.aba6884.
- [41] ZHOU T, YUAN Z N, WENG J Y, PEI D Q, DU X, HE C, et al. Challenges and advances in clinical applications of mesenchymal stromal cells[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14: 24. DOI: 10.1186/s13045-021-01037-x.
- [42] YIN J Q, ZHU J, ANKRUM J A. Manufacturing of primed mesenchymal stromal cells for therapy[J]. *Nat Biomed Eng*, 2019, 3: 90-104.
- [43] FRANÇOIS M, COPLAND I B, YUAN S L, ROMIEU-MOUREZ R, WALLER E K, GALIPEAU J. Cryopreserved mesenchymal stromal cells display impaired immunosuppressive properties as a result of heat-shock response and impaired interferon- γ licensing[J]. *Cytotherapy*, 2012, 14: 147-152.
- [44] WILSON J G, LIU K D, ZHUO H J, CABALLERO L, MCMILLAN M, FANG X H, et al. Mesenchymal stem (stromal) cells for treatment of ARDS: a phase 1 clinical trial[J]. *Lancet Respir Med*, 2015, 3: 24-32.
- [45] MATTHAY M A, CALFEE C S, ZHUO H J, THOMPSON B T, WILSON J G, LEVITT J E, et al. Treatment with allogeneic mesenchymal stromal cells for moderate to severe acute respiratory distress syndrome (START study): a randomised phase 2a safety trial[J]. *Lancet Respir Med*, 2019, 7: 154-162.
- [46] PANÉS J, GARCÍA-OLMO D, VAN ASSCHE G, COLOMBEL J F, REINISCH W, BAUMGART D C, et al. Expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells (Cx601) for complex perianal fistulas in Crohn's disease: a phase 3 randomised, double-blind controlled trial[J]. *Lancet*, 2016, 388: 1281-1290.
- [47] RAO V V, VU M K, MA H, KILLAARS A R, ANSETH K S. Rescuing mesenchymal stem cell regenerative properties on hydrogel substrates post serial expansion[J]. *Bioeng Transl Med*, 2018, 4: 51-60.
- [48] BUNPETCH V, ZHANG Z Y, ZHANG X A, HAN S, PAN Z Y, WU H Y, et al. Strategies for MSC expansion and MSC-based microtissue for bone regeneration[J]. *Biomaterials*, 2019, 196: 67-79.
- [49] HALM D, LEIBIG N, MARTENS J, STARK G B, GROß T, ZIMMERMANN S, et al. Direct comparison of the immunogenicity of major histocompatibility complex- I and - II deficient mesenchymal stem cells *in vivo*[J]. *Biol Chem*, 2021, 402: 693-702.
- [50] FANG S B, ZHANG H Y, WANG C, HE B X, LIU X Q, MENG X C, et al. Small extracellular vesicles derived from human mesenchymal stromal cells prevent group 2 innate lymphoid cell-dominant allergic airway inflammation through delivery of miR-146a-5p[J/OL]. *J Extracell Vesicles*, 2020, 9: 1723260. DOI: 10.1080/20013078.2020.1723260.
- [51] PLUCHINO S, SMITH J A. Explicating exosomes: reclassifying the rising stars of intercellular communication[J]. *Cell*, 2019, 177: 225-227.
- [52] YIN K, WANG S H, ZHAO R C. Exosomes from mesenchymal stem/stromal cells: a new therapeutic paradigm[J/OL]. *Biomark Res*, 2019, 7: 8. DOI: 10.1186/s40364-019-0159-x.

[本文编辑] 孙岩