

## • 综述 •

## 骨髓间充质干细胞在急性肺损伤中抗炎作用的研究进展

朱峰(综述) 王红梅 郭光华 詹剑华(审校)

【关键词】 骨髓间充质干细胞; 肺损伤, 急性; 抗炎作用; 免疫调节

各种原因引起的急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征(ALI/ARDS)是临床常见的急危重症。随着广谱抗生素的应用、机械通气模式的改进及大量生物制剂的使用,ALI/ARDS 患者的治愈率有所改善,但病死率仍高达 35%~40%<sup>[1]</sup>。现今的研究理论认为,ALI/ARDS 的实质是一种炎症反应和毛细血管通透性增加的综合征,充斥着大量促炎、抗炎以及免疫调节反应<sup>[2]</sup>;也有人认为 ALI/ARDS 是全身炎症反应在肺部的表现<sup>[3]</sup>。如何调节和平衡 ALI/ARDS 时体内免疫系统紊乱和肺部激烈的炎症反应,是防治 ALI/ARDS 的重要措施之一。

广泛的自我更新和多向分化成为多种组织细胞的潜能是骨髓间充质干细胞(BMDMSCs)的两个重要特征,使其在创伤修复、组织功能重建等研究领域中有极为广阔的应用前景<sup>[4-5]</sup>。随着对 BMDMSCs 研究的不断深入,它的抗炎作用和免疫调节作用已引起广泛关注,其抗炎和免疫调节功能也已经在心肌损伤、肾缺血/再灌注损伤、肝衰竭、自身免疫性脑脊髓膜炎及烧伤等动物损伤模型中得到证实<sup>[6-10]</sup>。说明 BMDMSCs 对 ALI/ARDS 的生物学作用是多方面的,包括肺内“归巢”、肺内分化、肺内抗炎及免疫调节等作用。现就 BMDMSCs 在 ALI 中的抗炎和免疫调节作用研究进展进行综述。

## 1 BMDMSCs 的生物学特性

间充质干细胞广泛存在于全身结缔组织和器官间质中,也可从胎儿脐带血中分离得到,此外还存在于胎盘、羊水、

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.

2009.11.025

基金项目:国家科技支撑计划资助项目(2008BA168B06);江西省教育厅青年科学基金资助项目(GJJ09432)

作者单位:330006 江西,南昌大学第一附属医院重症医学科(朱峰),烧伤科(郭光华、詹剑华);南昌大学医学院病理生理学教研室(王红梅)

Email:zhujunchi@tom.com

脐静脉内皮下层、外周血及肝脏、脂肪、肌肉、皮肤等多种组织中,但是以骨髓组织中含量为最丰富<sup>[11]</sup>。BMDMSCs 具有高度增殖、自我更新和多向分化潜能的作用<sup>[5]</sup>。早在 19 世纪中叶就有人发现,骨髓具有成骨能力。随着研究的深入,发现在不同诱导条件下,骨髓可分化为肌细胞、软骨细胞、骨细胞、髓细胞、脂肪细胞等中胚层细胞,同时还可以越过胚层界限向外胚层的神经细胞、神经胶质细胞和内胚层的肝卵圆形细胞分化<sup>[5,12]</sup>。

BMDMSCs 不仅具有专一的“归巢”至损伤组织,在目标组织中抑制免疫及炎症反应,向多种组织细胞分化而不涉及伦理道德方面问题的特征,而且具有易于分离、体外培养扩增,易于外源基因导入和表达,免疫原性低(天然无免疫原性),免疫耐受,排斥反应小,体外长期培养过程中始终保持多向分化的潜能,遗传背景稳定等特点<sup>[13-14]</sup>。BMDMSCs 对各种免疫细胞如 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、抗原呈递细胞、自然杀伤(NK)细胞等均具有免疫调节作用<sup>[15]</sup>,而且体外扩增培养的 BMDMSCs 在体内也可发挥免疫调节作用。更为可贵的是 BMDMSCs 的免疫抑制作用并不随着分化而消失,已诱导分化为骨细胞和脂肪细胞的 BMDMSCs 仍有免疫抑制作用<sup>[16]</sup>。最新研究认为, $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )与致炎细胞因子中肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1(IL-1 $\alpha$ 或 IL-1 $\beta$ )中的任何一种联合使用,都会诱导趋化因子和一氧化氮(NO)的协同作用以促进 BMDMSCs 免疫抑制<sup>[17]</sup>。正是由于上述独特的优势,近年来 BMDMSCs 被大量应用于创伤、炎症损伤修复以及抗炎和免疫调节的实验研究,这里面也包括病理生理过程非常复杂的 ALI。

## 2 BMDMSCs 在 ALI 中的抗炎作用

加快受损肺组织的修复过程和减少炎症反应被认为是改善肺损伤预后的两个重要方面<sup>[18]</sup>,而 BMDMSCs 与这两个方面都密切相关。BMDMSCs 在肺损伤动物模型中的研究有引人瞩目的优势。

Rojas 等<sup>[19]</sup>证实,BMDMSCs 能减轻肺组织对脂多糖(LPS)诱导的炎症反应并保护肺免受损伤。研究显示,在 LPS 攻击后 6~48 h 内,BMDMSCs 能防止肺水肿产生,减轻中性粒细胞在肺内的浸润,明显降低血浆前炎症因子如 IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、巨噬细胞炎症蛋白-1 $\alpha$ (MIP-1 $\alpha$ )水平,保持抗炎因子 IL-10 和粒细胞集落刺激因子(G-CSF)水平的稳定,促使 G-CSF 急剧升高。深入研究还证实了受损肺细胞能诱导 BMDMSCs 的迁移,而 BMDMSCs 能在受损肺细胞内调节炎症信号过程<sup>[6]</sup>。同时,通过评价受损肺组织的 20 201 个基因之间相互关系并绘制其相关图谱,也证实了在內毒素血症期间 BMDMSCs 调节的可能信号途径和基因网络<sup>[20]</sup>。

Gupta 等<sup>[21]</sup>研究表明,肺内给予內毒素致 ALI 后 4 h 再给予 BMDMSCs,能改善实验大鼠 48 h 存活率,减少肺水和支气管肺泡灌洗液中的蛋白含量,并认为这是由于 BMDMSCs 能下调內毒素所致的前炎症反应(降低支气管肺泡灌洗液、血浆中的 TNF- $\alpha$ )和 MIP-2,升高抗炎因子 IL-10。因此,肺内给予 BMDMSCs 能显著降低內毒素诱导 ALI 的严重程度,改善其预后。Lam 等<sup>[22]</sup>认为,静脉输入自体内皮祖细胞(EPCs)后能抑制 ALI 模型兔体内的诱生型一氧化氮合酶(iNOS)表达。蔡存良等<sup>[23]</sup>将 BMDMSCs 经静脉移植到內毒素攻击致 ALI 的大鼠体内发现,BMDMSCs 移植能降低內毒素性肺损伤大鼠血浆 TNF- $\alpha$  及 IL-6 水平,降低肺湿/干重比值、髓过氧化物酶活性,减轻肺炎炎症损伤,表明 BMDMSCs 移植对 ALI 大鼠有保护作用。

还有一些研究者开展了 BMDMSCs 对博莱霉素引起肺损伤的保护作用研究。结果显示,肺内注入 BMDMSCs 对博莱霉素诱导的肺损伤具有明显的保护作用 and 促进修复作用,其中辅助性 T 淋巴细胞 1(Th1)、IL-2、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$  的 mRNA 表达水平均明显降低,IL-14 表

达上调,外周循环血中 G-CSF 和粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)水平升高<sup>[24-25]</sup>。这意味着人们已把眼光从 ALI 扩展至亚急性或者慢性肺损伤。

### 3 BMDMSCs 在 ALI 中抗炎及免疫调节作用的可能机制

BMDMSCs 在 ALI 中的抗炎及免疫调节作用机制目前尚不完全清楚,研究者们做了大量的工作,提出了一些可能的机制。

BMDMSCs 表面表达大量受体分子的膜受体,包括 CD 分子、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、血管内皮细胞黏附分子-1(VCAM-1)、IL-6 等多种黏附分子以及多种整合素亚单位,还可分泌细胞外基质蛋白、层粘连蛋白、波形蛋白、骨连接素等。ALI 时,BMDMSCs 能直接或间接吸附及中和机体释放的大量炎症因子,降低或改善炎症反应<sup>[26]</sup>。

BMDMSCs 通过产生可溶性的细胞因子如 IL-1ra 等,以及诱导 Th2 对毒素的促炎和抗炎反应,改变炎症因子对 LPS 的反应方式,使 Th1 反应降低,而能维持 Th2 炎症因子水平<sup>[21]</sup>,因此可以下调 LPS 的促炎因子,产生或者上调抗炎因子。

BMDMSCs 可能释放某些活性分子,如 IL-6、IL-7、IL-8、IL-11、IL-12、IL-14、IL-15、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、白血病抑制因子(LIF)、转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )、肝细胞生长因子(HGF)、血管内皮生长因子(VEGF)等<sup>[27-28]</sup>,通过抑制 TNF- $\alpha$  等阻断炎症信号的“瀑布效应”,从而为肺内功能细胞的修复和再生创造环境。

有很多研究者认为,BMDMSCs 抑制免疫细胞(T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、NK 细胞等)的增殖、活化分泌及诱导 T 淋巴细胞的凋亡是通过 BMDMSCs 分泌的抑制性因子来实现,因为在使用 Transwell(一种共培养器或共培养系统)把 BMDMSCs 和免疫细胞分割开后,免疫调节作用仍然存在<sup>[29-30]</sup>。

研究显示,BMDMSCs 的抗炎与免疫调节作用是不依靠降低粒细胞在肺损伤肺内的聚集,并与内毒素的清除或降低无关<sup>[20]</sup>。在博来霉素所致的肺损伤早期,CD44 分子的两种受体在肺内的表达上调,促进成纤维细胞迁移、吸附和增殖,最终导致肺纤维化。而 BMDMSCs 表达 CD44 分子,可清除释放过多的两

种受体,从而阻断纤维化的发生<sup>[24]</sup>。

### 4 ALI 中 BMDMSCs 抗炎作用应用前景和急需解决的问题

ALI 被认为是全身炎症反应在肺部的表现,并伴随着大量且复杂的炎症反应及细胞损伤。打断或阻止肺部的炎症反应、级联效应,以及调节肺损伤时的免疫功能,是治疗 ALI 的重要举措。针对这些,研究人员采取了一系列的方法,如内毒素拮抗剂、细胞因子拮抗剂、血液滤过等,均取得了一定的效果,但留下更多的是遗憾和不足。由于 BMDMSCs 独特的“归巢”、免疫调节及抗炎作用,使 BMDMSCs 移植对炎症性肺疾病具有潜在的治疗作用,包括各种原因引起的 ALI、慢性阻塞性肺疾病、肺动脉高压、哮喘、吸入性肺损伤等。用 BMDMSCs 作为载体,引入外源性的基因,特异性抑制或减轻炎症反应,修复受损的肺组织,可能将是未来治疗 ALI/ARDS 的重要举措<sup>[31]</sup>。已有研究者将血管生长因子-1(ANGPT-1)基因转染到 BMDMSCs 中,然后将其移植到内毒素诱导的 ALI 动物体内进行治疗,结果显示,携带 ANGPT-1 基因的 BMDMSCs 能明显促进肺血管生成以及肺血管内皮细胞成熟,改善血管通透性,减轻肺水肿,抑制促炎介质,减轻肺内炎症反应<sup>[32-33]</sup>。应该说,BMDMSCs 在 ALI 中的应用前景十分广阔,值得进一步探索。

但是,肺是一个解剖非常复杂的三维结构,其损伤的病理生理过程也十分复杂,BMDMSCs 在 ALI 中的抗炎及免疫调节作用尚有许多问题需要解决,如 BMDMSCs 在 ALI 中的抗炎及免疫调节作用效果是否取决于 BMDMSCs 给予途径的不同以及造成 ALI 病因的不同;BMDMSCs 在肺损伤体内微环境下抗炎及免疫调节的具体机制或者信号途径等。而且,BMDMSCs 在 ALI 中抗炎及免疫调节作用的研究大部分仅限于动物实验,临床实践尚未大规模开展。因此,更为深入的研究需要在临床应用之前完成。

### 参考文献

- [1] Bernard GR. Acute respiratory distress syndrome: a historical perspective. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 172(7): 798-806.
- [2] 蔡华荣,向小勇. 炎性反应与急性肺损伤的关系研究进展. *中国体外循环杂志*, 2006, 4(2): 125-127, 102.

- [3] 钱桂生. 全身炎症反应综合征、急性肺损伤与急性呼吸窘迫综合征. *中国医师进修杂志*, 2005, 28(3): 9-11.
- [4] Garcia-Castro J, Trigueros C, Madrenas J, et al. Mesenchymal stem cells and their use as cell replacement therapy and disease modelling tool. *J Cell Mol Med*, 2008, 12(6B): 2552-2565.
- [5] 常颖,齐欣,卜丽莎,等. 成人骨髓间充质干细胞体外多向分化潜能特性的研究. *中国危重病急救医学*, 2005, 17(2): 95-97.
- [6] Ohnishi S, Yanagawa B, Tanaka K, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells attenuates myocardial injury and dysfunction in a rat model of acute myocarditis. *J Mol Cell Cardiol*, 2007, 42(1): 88-97.
- [7] Semedo P, Wang PM, Andreucci TH, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate tissue damages triggered by renal ischemia and reperfusion injury. *Transplant Proc*, 2007, 39(2): 421-423.
- [8] Parekkadan B, van Poll D, Suganuma K, et al. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. *PLoS One*, 2007, 2(9): e941.
- [9] Gerdoni E, Gallo B, Casazza S, et al. Mesenchymal stem cells effectively modulate pathogenic immune response in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Ann Neurol*, 2007, 61(3): 219-227.
- [10] Rasulov MF, Vasilenko VT, Zaidenov VA, et al. Cell transplantation inhibits inflammatory reaction and stimulates repair processes in burn wound. *Bull Exp Biol Med*, 2006, 142(1): 112-115.
- [11] 都义日,付小兵,李存保. 骨髓间充质干细胞的研究进展. *中国危重病急救医学*, 2004, 16(8): 499-501.
- [12] 白晓东,付小兵. 骨髓间充质干细胞诱导增殖分化信号的研究进展. *中国危重病急救医学*, 2004, 16(5): 318-320.
- [13] Patel SA, Sherman L, Munoz J, et al. Immunological properties of mesenchymal stem cells and clinical implications. *Arch Immunol Ther Exp*, 2008, 56(1): 1-8.
- [14] 朱舜明,郭卫平,田琼. 骨髓间充质干细胞的研究进展. *实用医学杂志*, 2007, 23(19): 3116-3118.
- [15] Le Blanc K, Ringden O. Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. *J Intern Med*, 2007, 262(5): 509-525.
- [16] Le Blanc K, Tammik C, Rosendahl K, et al. HLA expression and immunologic

- properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Exp Haematol*, 2003, 31(10):890-896.
- [17] 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(2):141-150.
- [18] Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*, 2000, 342(18):1334-1349.
- [19] Rojas M, Xu J, Woods CR, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in repair of the injured lung. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2005, 33(2):145-152.
- [20] Iyer SS, Rojas M. Anti-inflammatory effects of mesenchymal stem cells: novel concept for future therapies. *Expert Opin Biol Ther*, 2008, 8(5):569-581.
- [21] Gupta N, Su X, Popov B, et al. Intrapulmonary delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves survival and attenuates endotoxin-induced acute lung injury in mice. *J Immunol*, 2007, 179(3):1855-1863.
- [22] Lam CF, Liu YC, Hsu JK, et al. Autologous transplantation of endothelial progenitor cells attenuates acute lung injury in rabbits. *Anesthesiology*, 2008, 108(3):392-401.
- [23] 蔡存良, 文仲光, 周岗, 等. 骨髓间充质干细胞移植对急性肺损伤大鼠血浆 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平的影响. 感染、炎症、修复, 2006, 7(2):98-101.
- [24] Ortiz LA, Gambelli F, McBride C, et al. Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(14):8407-8411.
- [25] Ortiz LA, Dutreil M, Fattman C, et al. Interleukin 1 receptor antagonist mediates the anti-inflammatory and antifibrotic effect of mesenchymal stem cells during lung injury. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(26):11002-11007.
- [26] Krause DS, Theise ND, Collector MI, et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell*, 2001, 105(3):369-377.
- [27] 陈楠楠, 黄世林. 间质干细胞与免疫调节. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(33):6670-6675.
- [28] Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. *Blood*, 2005, 106(5):1755-1761.
- [29] Klyushnchenkova E, Mosca JD, Zernitkina V, et al. T cell responses to allogeneic human mesenchymal stem cells: immunogenicity, tolerance, and suppression. *J Biomed Sci*, 2005, 12(1):47-57.
- [30] Majumdar MK, Keane-Moore M, Buyaner D, et al. Characterization and functionality of cell surface molecules on human mesenchymal stem cells. *J Biomed Sci*, 2003, 10(2):228-241.
- [31] 胡占升. 稳定表达血管生成素 1 的骨髓间充质干细胞对内毒素诱导急性肺损伤干预作用的研究进展. *中国危重病急救医学*, 2008, 20(10):627-629.
- [32] McCarter SD, Mei SH, Lai PF, et al. Cell-based angiopoietin-1 gene therapy for acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 175(10):1014-1026.
- [33] Xu J, Qu J, Cao L, et al. Mesenchymal stem cell-based angiopoietin-1 gene therapy for acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice. *J Pathol*, 2008, 214(4):472-481.

(收稿日期:2009-08-14)

(本文编辑:李银平)

## • 科研新闻速递 •

### 单核细胞人白细胞 DR 抗原表达结果可以预测继发感染的发生

法国学者通过持续检测循环系统中人白细胞 DR 抗原(mHLA-DR)的表达结果,发现了 mHLA-DR 与重症患者后期继发感染之间的关系。研究者选取 16 个月内医院重症监护病房(ICU)283 例重症患者,应用流式细胞仪检测患者体内 mHLA-DR 表达,每周检测 2 次,直至患者死亡或 mHLA-DR 恢复正常。以 logistic 回归分析进而推断 mHLA-DR 的表达变化和继发感染发生率的关系。结果显示,所有重症患者早期 mHLA-DR 表达均降低,尤以脓毒症患者更为明显( $P < 0.0001$ ),患者中较低的 mHLA-DR 水平与病死率关系密切( $P = 0.003$ )。在 ICU 治疗超过 7 d 的患者(70 例)中, mHLA-DR 水平恢复速度越慢,继发感染的几率就越大( $P = 0.04$ )。因此研究者认为,患者体内 mHLA-DR 水平虽然不足以判断脓毒症病情的严重性,但 mHLA-DR 恢复较慢与继发感染发生率增加有密切联系,说明通过检测体内 mHLA-DR 水平掌握患者的免疫功能可有效预防继发感染的发生。

杨明星,编译自《Crit Care Med》,2009-08-24(电子版);胡森,审核

### 失血性休克患者输注新鲜冰冻血浆可增加发生并发症的危险性

严重创伤大量失血后,输注含有不同成分的高血浆液体对患者的预后和发生多器官功能衰竭(MOF)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)及院内感染究竟有何影响,是临床医师比较关注的问题。最近,美国研究人员随机选取了 1 175 例创伤导致失血性休克的成人患者,对这一问题进行了研究。研究者在伤后的 24 h 内,分别对 65%、41%和 28%的患者输注含有新鲜冰冻血浆(FFP)、血小板(PLTS)和冷沉淀物(CRYO)的高血浆成分液体,并用 Cox 比例风险回归模型推测患者输注各种高血浆成分液体的危险性。结果发现,每输 1 U 的 FFP 可使 MOF 和 ARDS 的发生率分别升高 2.1%和 2.5%,输注 PLTS 则不会发生这些情况。在早期死亡(48 h 内)方面,每输 1 U 的 FFP 可使死亡危险降低 2.9%。3 种高血浆成分液体对院内感染无明显影响。研究人员认为,严重创伤致失血性休克后,输注 FFP 虽然降低了患者的病死率,却增加了患者发生 MOF 和 ARDS 等并发症的风险,需要引起临床医师的高度注意。

杨明星,编译自《J Trauma》,2009,67(2):221-227;胡森,审核