

## 间充质干细胞外泌体治疗肺部疾病的研究进展

陈莉莉<sup>1</sup>, 孙永红<sup>2\*</sup>, 雷晓燕<sup>2</sup>, 王建军<sup>2</sup>, 陈星星<sup>2</sup>, 鲍柏辛<sup>1</sup>

1. 甘肃中医药大学第一临床医学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省人民医院 儿科, 甘肃 兰州 730000

**摘要:** 间充质干细胞来源的外泌体(MSC-EXOs)携带着脂质、蛋白、核酸等信号物质,在细胞间通讯、免疫调节、血管再生中发挥着重大作用。MSC-EXOs在肺动脉高压、肺纤维化等肺部疾病中通过调控不同的信号通路、减少细胞炎症反应、调节免疫细胞功能、改善线粒体功能、促进血管生成、减轻肺血管重构等途径改善肺组织的功能,治疗肺部疾病,从而为今后难治性肺部疾病的治疗提供新思路。

**关键词:** 间充质干细胞;外泌体;肺部疾病

中图分类号:R563 文献标志码:A

DOI:10.16352/j.issn.1001-6325.2023.01.0192

## Research advances in the treatment of lung diseases based on mesenchymal stem cell exosomes

CHEN Lili<sup>1</sup>, SUN Yonghong<sup>2\*</sup>, LEI Xiaoyan<sup>2</sup>, WANG Jianjun<sup>2</sup>, CHEN Xingxing<sup>2</sup>, BAO Baixin<sup>1</sup>

1. First College of Clinical Medicine, Gansu University Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000;

2. Department of Pediatrics, Gansu Provincial Peoples Hospital, Lanzhou 730000, China

**Abstract:** Exosomes secreted by mesenchymal stem cell(MSC-EXOs) carry lipids, proteins, nucleic acids and other signaling substances, which play an important role in intercellular communication, immune regulation and vascular regeneration. MSC-EXOs in pulmonary hypertension, pulmonary fibrosis and other lung diseases can improve the function of the lung tissue and treat lung diseases by regulating different signaling pathways, reducing cell inflammatory reaction, regulating immune function, improving the function of mitochondria, promoting angiogenesis, reducing pulmonary vascular remodeling and etc., which provides new ideas for the treatment of refractory lung diseases in the future.

**Key words:** mesenchymal stem cell; exosome; lung disease

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是干细胞中的一种,来源于脂肪组织、骨髓等多组织器官,具有自我更新、增殖及分化的潜能,在个体发育和疾病中发挥着重要作用。它可通过旁分泌机制产生外泌体(exosomes, EXOs)、微囊泡等,其中

EXOs具有MSCs相似的生物学功能。当肺组织受损时,外泌体可通过下调脂多糖诱导的炎症反应并减轻人肺泡上皮-毛细血管屏障的线粒体功能障碍保持肺泡结构的完整性<sup>[1]</sup>,可通过调节caspase-3、Bax/Bcl-2和MAPK信号通路减轻微血管内皮细胞

收稿日期:2022-04-02 修回日期:2022-09-29

基金项目:甘肃省国际科技合作专项(18YF1WA040);甘肃省自然科学基金(20JR10RA385);甘肃省人民医院院内科研基金(19SYPYB-24,18GSSY3-4)

\*通信作者(corresponding author): sunyonghong7615@126.com

损伤从而减弱急性肺损伤<sup>[2]</sup>,故在肺部疾病中有着很大的作用。本文重点从间充质干细胞来源的外泌体(MSC-EXOs)在肺动脉高压、特发性肺纤维化等肺部疾病的治疗作用及作用机制做一综述,为今后MSC-EXOs在难治性肺部疾病的应用提供新的治疗思路。

## 1 间充质干细胞源外泌体

EXOs是由脂质双分子层包裹的纳米级材料,直径30~120 nm,多种细胞在生理或病理情况下都能分泌外泌体,其拥有丰富的脂质、蛋白质及核酸,可作为细胞间重要信息交流工具,这些内容物在EXOs形成过程、EXOs被靶细胞摄取过程以及细胞间物质信息传递过程中发挥重要作用,在新型组织修复、疾病治疗与诊断领域有重要的前景。与MSCs治疗相比,间充质干细胞源外泌体(MSC-EXOs)具有与母细胞相似的生物学功能,EXOs以其易生产、易储存、可大量制备、低免疫原性且与MSCs拥有相同治疗效果等优点,被广泛应用于心血管疾病、骨关节炎、创伤修复等领域。综合EXOs的多种功能及优点,其在临床疾病的诊治方面有着巨大潜力,现已用于靶向药物传递和再生医学的基因载体<sup>[3-4]</sup>。

## 2 MSC-EXOs在治疗肺部疾病中的应用

### 2.1 肺动脉高压

肺动脉高压(pulmonary arterial hypertension, PAH)主要表现为进行性右心功能不全,临床上治疗以血管扩张型药物为主,这些药物可缓解症状,但不能很好地改善预后,需要研究新的治疗方法。目前关于MSC-EXOs对PAH的研究主要是在动物模型中进行。在野百合碱诱导的大鼠PAH模型中,通过给大鼠尾静脉注射人脐静脉内皮细胞外泌体,发现EXOs可通过上调肺动脉内皮细胞和肺动脉平滑肌细胞中Wnt5a的表达,调控BMP2信号通路,从而显著降低右心室收缩压和右心室肥厚指数,减轻肺血管重构和体内肺纤维化<sup>[5]</sup>;此外,不同剂量、不同给药方案的人MSC-EXOs可有效改善肺血管重构、右心室肥厚和周围肺动脉肌肉化,使大鼠右心室收缩压恢复到基线水平<sup>[6]</sup>;同时还发现MSC-EXOs可以减少巨噬细胞向肺部的聚集,促进替代巨噬细胞激活途径的生成从而增加血管的形成<sup>[6]</sup>。PAH

的发病机制也与线粒体功能障碍继发的胰岛素抵抗和葡萄糖不耐受等密切相关,证明PAH也是一种代谢性疾病<sup>[7-8]</sup>。骨髓间充质干细胞源外泌体(bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes, BM-MSC-EXOs)富含代谢蛋白和基因,其为研究EXOs在宿主细胞中的线粒体功能提供了动力。在低氧导致的PAH中肺动脉平滑肌细胞过度增殖,乳酸生成增加,代谢产物进入三羧酸循环减少,从而导致线粒体功能出现障碍,而EXOs可通过抑制SIRT4和PDK4信号通路,促进谷氨酰胺和丙酮酸进入三羧酸循环,提高三羧酸循环通路氧化磷酸化水平,改善细胞内线粒体功能,从而达到治疗PAH的作用<sup>[9]</sup>。

### 2.2 特发性肺纤维化

特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)主要表现为进行性加重的呼吸困难,患者诊断后的平均寿命为3~5年。随着对IPF发病机制的研究和发现,认为EXOs介导细胞间的通信在IPF中发挥着重要作用。有学者通过建立博来霉素诱导的肺纤维化模型从而研究人BM-MSC-EXOs在肺纤维中的作用,发现EXOs疗法可调节肺泡巨噬细胞和肺单核细胞的数量,有效预防和恢复肺纤维化的核心特征,改善肺形态,减弱胶原沉积,减少肺部炎症反应从而恢复肺结构<sup>[10]</sup>。同样在博来霉素诱导的肺纤维化过程中,人脐静脉内皮细胞EXOs通过抑制TGF- $\beta$ 1/Smad2/3信号通路,抑制肺上皮间质转化过程,缓解肺纤维化<sup>[11]</sup>。此外,线粒体活性氧异常也会诱导线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)损伤,导致组织损伤、肺纤维化<sup>[12]</sup>。在肺纤维化小鼠中,月经血源性干细胞的外泌体通过将miRNAlet-7转运到肺泡上皮细胞,降低线粒体活性氧水平、LOX1表达、mtDNA损伤和炎性小体NLRP3的激活,调节肺泡上皮细胞凋亡来改善肺纤维化<sup>[12]</sup>。在博来霉素诱导的肺损伤中,通过分离并评估人羊膜上皮细胞(human amnion epithelial cells, hAEC)的EXOs中蛋白质和microRNA(miRNA),检测hAEC-EXOs对免疫细胞功能(包括巨噬细胞极化、吞噬、中性粒细胞过氧化物酶活性、T细胞增殖和摄取)的直接影响,以及通过在幼龄和老年小鼠体内进行博来霉素诱导后,评估它们对免疫反应、组织学结果和细支气管肺泡干细胞反应的影响,发现hAEC-EXOs携带的蛋白富集于MAPK信号通路、凋亡和增殖生物学通

路,miRNA 富集于 PI3K、AKT、RAS、HIPPO 和 TGF $\beta$  等信号通路,使巨噬细胞吞噬功能极化,增强巨噬细胞的吞噬功能,降低中性粒细胞过氧化物酶水平,从而直接抑制 T 细胞增殖,发挥有效的抗纤维化、免疫调节和再生特性<sup>[13]</sup>。

### 2.3 新型冠状病毒肺炎

新型冠状病毒肺炎简称新冠肺炎(COVID-19),其相关的病毒毒株突变率高,侵袭性强,潜伏期长,所出现的临床症状多样化,给此病的防治带来困难,需要研究新的敏感诊断及治疗方法。MSC-EXOs 可以减少细胞因子风暴,减轻与 COVID-19 相关的宿主抗病毒防御的抑制,增强线粒体功能,修复肺损伤,且作为无细胞疗法,是一种新的干预手段。通过前瞻性研究对符合纳入标准的 COVID-19 入院患者给予 BM-MSC-EXOs 制剂干预后,发现经过 EXOs 干预的安全性高,不仅提高了患者的存活率,而且在 EXOs 干预后机体的 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞增加,急性期反应物减少,说明 EXOs 干预主要治疗机制是调节免疫功能障碍,下调细胞因子风暴,重建免疫力<sup>[14]</sup>。EXOs 不仅对 COVID-19 本身起着重要作用,还可对其所引发的并发症有着良好的治疗作用。在临床试验中,通过给 COVID-19 患者连续 5 d 吸入人脂肪来源的 MSC-EXOs 是可行的,且患者的耐受性良好,未出现不良事件或与剂量相关的毒性<sup>[15]</sup>。急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)是 COVID-19 最严重的并发症之一,通过将骨髓间充质干细胞诱导分化为分泌神经营养因子及免疫调节因子的 MSC 可达到干预目的。研究 BM-MSC-EXOs 对脂多糖介导的 ARDS 小鼠模型的治疗作用表明 BM-MSC-EXOs 可显著改善肺组织的功能,提高机体的血氧饱和度,减少炎症细胞因子和凝血病变相关标志物,这种治疗方式可能对 COVID-19 及其他原因造成的 ARDS 有着潜在疗效,是一种有前途的、创新的生物疗法<sup>[16]</sup>。

### 2.4 支气管肺发育不良

支气管肺发育不良(bronchopulmonary dysplasia, BPD)是中国早产儿的常见并发症之一,随着产前及产后药物的应用改善了患儿 BPD 的发生率及生存率,但仍没有有效的单一疗法来预防或治疗 BPD。干细胞外泌体在 BPD 的治疗中发挥着重要作用。通过高氧环境建立 BPD 模型,发现 MSC-EXOs 通过调解

肺巨噬细胞的表型,减弱肺部炎性及免疫反应,改善肺的形态、发育及血管重建,减少肺纤维化,从而挽救肺血管的损伤<sup>[17]</sup>;同样在高氧诱导的肺泡及血管损伤中,通过腹腔注射 MSC-EXOs,可增加肺血管密度,减少右心室肥大,这种保护作用机制与 EXOs 携带血管内皮生长因子并改善血管生成有关<sup>[18]</sup>。

### 2.5 哮喘

随着环境污染的严重,哮喘的患病率逐年增加。目前对于哮喘的治疗主要是以糖皮质激素减轻气道炎性反应为主,但对于重症患者或高气道阻力患者,疗效差,需要研究新的治疗方案。EXOs 携带细胞内因子,调节机体的免疫功能及不同的信号通路等,与哮喘的发病机制及治疗息息相关。在哮喘的发病机制中,巨噬细胞在调节气道炎性反应及重塑中发挥着重要作用。在严重激素抵抗型哮喘小鼠模型中,人脐带 MSC-EXOs 通过抑制 TRAF1 表达和促进巨噬细胞 M2 的极化来调节 NF- $\kappa$ B 和 PI3K/AKT 信号通路调节机体的免疫功能,影响巨噬细胞的极化和炎性反应的发展,改善小鼠肺部的炎性反应和气道高反应性<sup>[19]</sup>。在过敏性哮喘大鼠模型中,BM-MSC-EXOs 可通过抑制 Wnt/ $\beta$ -连环蛋白途径有效抑制慢性气道炎性反应,从而影响气道上皮间质的转化和平滑肌细胞的增殖<sup>[20]</sup>。MSC-EXOs 富含 miRNA、mRNA、蛋白质和脂质,人 BM-MSC-EXOs 中 miR-1470 通过诱导 P27KIP1 的表达,促进 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> FOXP3<sup>+</sup> Tregs 的分化,促进哮喘患者的调节性 T 细胞的免疫抑制<sup>[21]</sup>。

## 3 问题与展望

间充质干细胞外泌体可以调控信号通路的传导,调节巨噬细胞的激活途径,以及调节机体的免疫系统,促进血管的生成,在肺部损伤疾病中发挥着巨大的治疗作用,因此以外泌体作为突破口研究更精准的肺部疾病治疗方法是非常有必要的。但目前外泌体的应用大多数局限于体外实验,临床应用较少,缺乏丰富的临床实验数据,其在人体中详细的作用机制及具体疗效还需继续深入探索,而且外泌体自身的分离、纯化、标准化、安全性、保存及运输等问题也需要进一步继续研究。基于外泌体研究的无细胞疗法,凭借其低免疫原性及高效性等特征和强大的物质运输功能为肺部难治性疾病的诊疗带来的新的希望,未来还需要更多的临床实验进一步的证实。

## 参考文献:

- [1] Dutra SJ, Su Y, Calfee CS, *et al.* Mesenchymal stromal cell extracellular vesicles rescue mitochondrial dysfunction and improve barrier integrity in clinically relevant models of ARDS[J]. *Eur Respir J*, 2021, 58; 10.1183/13993003.02978-2020.
- [2] Xu J, Xu D, Yu Z, *et al.* Exosomal miR-150 partially attenuated acute lung injury by mediating microvascular endothelial cells and MAPK pathway[J]. *Biosci Rep*, 2022, 42. doi:10.1042/BSR20203363.
- [3] Cheng H, Ding J, Tang G, *et al.* Human mesenchymal stem cells derived exosomes inhibit the growth of acute myeloid leukemia cells via regulating miR-23b-5p/TRIM14 pathway[J]. *Mol Med*, 2021, 27; 128. doi:10.1186/s10020-021-00393-1.
- [4] Lou G, Chen L, Xia C, *et al.* miR-199a-modified exosomes from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve hepatocellular carcinoma chemosensitivity through mTOR pathway[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39; 4. doi:10.1186/s13046-019-1512-5.
- [5] Zhang Z, Ge L, Zhang S, *et al.* The protective effects of MSC-EXO against pulmonary hypertension through regulating Wnt5a/BMP signalling pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24; 13938-13948.
- [6] Klinger JR, Pereira M, Del TM, *et al.* Mesenchymal stem cell extracellular vesicles reverse sugen/hypoxia pulmonary hypertension in rats[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2020, 62; 577-587.
- [7] Hemnes AR, Luther JM, Rhodes CJ *et al.* Human PAH is characterized by a pattern of lipid-related insulin resistance[J]. *JCI Insight*, 2019, 4. doi:10.1172/jci.insight.123611.
- [8] Hemnes AR, Fessel JP, X, *et al.* BMPR2 dysfunction impairs insulin signaling and glucose homeostasis in cardiomyocytes[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2020, 318; L429-L441.
- [9] Hogan SE, Rodriguez SM, Cheadle J, *et al.* Mesenchymal stromal cell-derived exosomes improve mitochondrial health in pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2019, 316; L723-L737.
- [10] Mansouri N, Willis GR, Fernandez-Gonzalez A, *et al.* Mesenchymal stromal cell exosomes prevent and revert experimental pulmonary fibrosis through modulation of monocyte phenotypes[J]. *JCI Insight*, 2019, 4. doi:10.1172/jci.insight.128060.
- [11] Yang J, Hu H, Zhang S, *et al.* Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes alleviate pulmonary fibrosis in mice by inhibiting epithelial-mesenchymal transition[J]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2020, 40; 988-994.
- [12] Sun L, Zhu M, Feng W, *et al.* Exosomal miRNA Let-7 from menstrual blood-derived endometrial stem cells alleviates pulmonary fibrosis through regulating mitochondrial DNA damage[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019; 4506303. doi:10.1155/2019/4506303.
- [13] Tan JL, Lau SN, Leaw B, *et al.* Amnion epithelial cell-derived exosomes restrict lung injury and enhance endogenous lung repair[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2018, 7; 180-196.
- [14] Sengupta V, Sengupta S, Lazo A, *et al.* Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells as treatment for severe COVID-19[J]. *Stem Cells Dev*, 2020, 29; 747-754.
- [15] Zhu YG, Shi MM, Monsel A, *et al.* Nebulized exosomes derived from allogenic adipose tissue mesenchymal stromal cells in patients with severe COVID-19: a pilot study[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13; 220. doi:10.1186/s13287-022-02900-5.
- [16] Kaspi H, Semo J, Abramov N, *et al.* MSC-NTF (NurOwn®) exosomes: a novel therapeutic modality in the mouse LPS-induced ARDS model[J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2021, 12; 72. doi:10.1186/s13287-021-02143-w.
- [17] Willis GR, Fernandez-Gonzalez A, Anastas J, *et al.* Mesenchymal stromal cell exosomes ameliorate experimental bronchopulmonary dysplasia and restore lung function through macrophage immunomodulation[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, 197; 104-116.
- [18] Braun RK, Chetty C, Balasubramaniam V, *et al.* Intraperitoneal injection of MSC-derived exosomes prevent experimental bronchopulmonary dysplasia[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503; 2653-2658.
- [19] Dong B, Wang C, Zhang J, *et al.* Exosomes from human umbilical cord mesenchymal stem cells attenuate the inflammation of severe steroid-resistant asthma by reshaping macrophage polarization[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12; 204. doi:10.1186/s13287-021-02244-6.
- [20] Song J, Zhu XM, Wei QY. MSCs reduce airway remodeling in the lungs of asthmatic rats through the Wnt/beta-catenin signaling pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24; 11199-11211.
- [21] Zhuansun Y, Du Y, Huang F, *et al.* MSCs exosomal miR-1470 promotes the differentiation of CD4(+) CD25(+) FOXP3(+) Tregs in asthmatic patients by inducing the expression of P27KIP1[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 77; 105981. doi:10.1016/j.intimp.2019.105981.