

间充质干细胞治疗肺纤维化的研究进展

陈民佳, 汪晓月, 陈客宏, 陆红祥*

(陆军军医大学大坪医院 消化内科, 重庆 400042)

摘要:肺纤维化(PF)尚无有效的治疗药物和干预方法。间充质干细胞(MSCs)治疗特发性肺纤维化(IPF)、放射性肺纤维化(RPF)等类型PF的机制有多种,包括通过旁分泌作用,释放白细胞介素-1受体拮抗剂、抑制白细胞介素-1和肿瘤坏死因子- α 的表达、抵抗组织炎症反应、增加肝细胞生长因子(HGF)信号传导、抑制PI3K/AKT/mTOR活化、降低肺泡II上皮细胞(ATII)的上皮细胞间充质转化(EMT)、减轻肺组织细胞凋亡和纤维化等等。此外,还有促进组织抗感染、抗纤维化等功能、延缓器官纤维化。通过本文所述能够为MSCs治疗器官纤维化提供一些可行的研究思路。

关键词:间充质干细胞(MSCs);治疗;肺纤维化(PF);Wnt信号通路;肝细胞生长因子(HGF)

中图分类号:R45 文献标志码:A

Research progress of mesenchymal stem cells in the treatment of pulmonary fibrosis

CHEN Min-jia, WANG Xiao-yue, CHEN Ke-hong, LU Hong-xiang*

(Department of Gastroenterology, Daping Hospital, the Army Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: There is no effective therapeutic drug and intervention method for pulmonary fibrosis(PF). There are many mechanisms of using mesenchymal stem cell in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis(IPF), radiation pulmonary fibrosis(RPF) and other types of PF as follows: paracrine impact, release of leukocyte mediator-1 receptor antagonist, inhibition of the expression of interleukin-1 and tumor necrosis factor- α , and resistant to tissue inflammation, increase of signal transduction for hepatocyte growth factor(HGF), inhibition of PI3K/AKT/mTOR activation and epithelial mesenchymal transformation(EMT) in alveolar II epithelial cells(ATII), lung tissue apoptosis and fibrosis, promotion of tissue anti-inflammatory and anti-fibrosis, and to delay organ fibrosis. This review may function as a potential orientation for the treatment of organ fibrosis with MSCs.

Key words: mesenchymal stem cells(MSCs);therapy;pulmonary fibrosis(PF);Wnt signaling pathway;hepatocyte growth factor(HGF)

肺纤维化(pulmonary fibrosis, PF)是以成纤维细胞增殖及大量细胞外基质聚集,并伴有炎症反应、组织结构破坏为特征的一大类肺部疾病,是正常的肺泡组织损伤后经过异常修复而导致的结构异常(瘢痕形成)。近年来,随着对PF发病机制的深入研究,集中在探索一些抗纤维化的新药。目前临床上常用的药物如免疫抑制剂,吡非尼酮等都只能在

疾病早期进行干预治疗。PF终末期除了长期氧疗和肺移植外,尚无较好的治疗手段。

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一种具备多向分化潜能、趋化特性、免疫调节作用及旁分泌功能的多能干细胞,能通过分泌多种细胞因子和可溶性因子,促进组织再生,具有抗感染和抗纤维化的特性^[1-2]。在以往的研究中,将MSCs用于肺

组织修复和再生的研究取得了系列进展。MSCs 不仅降低炎性因子水平,减少活化的成纤维细胞和胶原的沉积,还能促进上皮修复,表明 MSCs 可能是 PF 疾病的一种新型治疗选择^[3]。然而,将 MSCs 用于 PF 治疗也存在以下问题,如:动物和人类之间的差异、临床试验的样本量较小、出现不良反应和伴随肿瘤形成等^[4]。因此,将 MSCs 用于 PF 的临床治疗仍需进一步的研究。本文拟对 MSCs 在治疗特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)、放射性肺纤维化(radiation PF, RPF)和硅肺性 PF 等中的有效性、安全性及异源性进行探讨,为后续开展 MSCs 治疗 PF 的临床试验提供参考。

1 间充质干细胞的基本特性及应用前景

MSCs 是一种多能干细胞,它具有干细胞的所有共性,即自我更新和多向分化能力。MSCs 可以从不同类型的组织中获得,如骨髓、脂肪组织和脐带血等。其中骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs)是干细胞治疗的主要来源^[5]。根据国际细胞治疗学会的指导方针,可以通过特定的细胞表面标志物(CD105⁺、CD73⁺、CD90⁺、CD34⁻、CD14⁻或 CD11b⁻、CD79⁻或 CD19⁻、HLA-DR⁻)来鉴定 MSCs。此外,多向成骨、成脂和成软骨的分化潜能是 MSCs 定义的主要标准。根据组织来源及分离和培养过程的不同, MSCs 可能具有不同的生物学特性,它们的多能性、迁移能力和免疫保护状态使其在多种疾病中的治疗作用得到了广泛的应用,这些疾病主要包括(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)、严重的慢性哮喘^[6]、糖尿病^[7]和脓毒症^[8]等。这些研究证据表明, MSCs 在人类疾病的治疗过程中具有良好前景。

2 间充质干细胞在肺纤维化(PF)治疗中的应用

2.1 间充质干细胞在特发性肺纤维化(IPF)治疗中的应用

特发性肺纤维化(IPF)是一种进行性不可逆转的致死性纤维化性肺部疾病,是间质性肺病(interstitial lung disease, ILD)的最常见形式。目前对 IPF 发病机制的认识尚不清楚,尚无有效的治疗方案, IPF 已成为一种最具生命威胁的疾病。

在博莱霉素诱导的肺纤维化动物模型的初期和

早期给予骨髓间充质干细胞(BM-BMSCs)治疗后,可降低肺组织的炎性因子水平、减少活化的成纤维细胞和胶原的沉积、促进上皮细胞修复等。然而,将 BMSCs 用于治疗肺纤维化晚期时,未观察到明显的治疗作用^[3]。同时,为探讨脂肪间充质干细胞(adipose-derived mesenchymal stem cells, AD-MSCs)的治疗效果,治疗组在小鼠气管内注射博莱霉素后的第 3、6 和 9 天分别通过尾静脉注射 MSCs,对照组则从第 3 天起以 100 mg/kg 口服吡非尼酮,每日 3 次。AD-MSCs 能明显提高小鼠的存活率,减轻肺脏质量,减少胶原沉积,其治疗效果优于吡非尼酮组。同时,组织学分析和 HRCT 同样证实 AD-MSCs 对博莱霉素诱导的肺纤维化有保护作用^[9]。一项 I 期临床试验表明在给 IPF 患者静脉单次注射同种异源体数量为 2×10^8 个 BMSCs 后,受试者随访 6 个月期间内没有观察到用力肺活量(forced vital capacity, FVC)、一氧化碳弥散性肺活量(diffusion capacity for carbon monoxide of the lung, DLCO)、6 min 步行试验(6MWT)或 CT 纤维化评分的下降,表明干细胞治疗具有良好安全性^[10]。

MSCs 防治 IPF 的作用机制尚不明确。目前的研究认为 AD-MSCs 和 BM-MSCs 的条件培养液可通过调节细胞外基质(extracellular matrix, ECM)诱导的白介素 17(interleukin 17, IL-17)介导的免疫反应来减轻博莱霉素诱导的大鼠肺纤维化^[11]。BM-BMSCs 减轻肺纤维化的保护作用主要归因于 BM-BMSCs 释放白细胞介素-1 受体拮抗剂,导致 IL-1 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的表达和/或活性降低^[12]。通过检测肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)及其参与的 PI3K/AKT/mTOR 通路蛋白的表达,得出源自人脐带沃顿间充质干细胞的外泌体可以通过增加 HGF 信号转导来抑制博莱霉素诱导的肺组织凋亡和纤维化及 PI3K/AKT/mTOR 活化,而 HGF mRNA 缺陷型细胞微泡(microvesicles, MVs)可逆转这一作用^[13]。

2.2 间充质干细胞在放射性肺纤维化(RPF)治疗中的应用

RPF 是在胸部肿瘤如乳腺癌、食管癌、肺癌和其他恶性肿瘤进行放射治疗后,导致肺结构的破坏和纤维组织的堆积,从而使机体的气体交换功能发生改变,导致呼吸困难和间质液体堆积,最终引发呼吸衰竭和死亡^[14]。RPF 的患者的生活质量降低,并

伴有进行性和不可逆转的器官功能障碍。

BM-MSCs 能产生抗氧化酶如超氧化物歧化酶 1 (superoxide dismutase1, SOD1)、超氧化物歧化酶 3 (SOD3) 和锰超氧化物歧化酶 (MnSOD) 来降低氧化应激和活性氧水平, 保护肺组织免受辐射导致的内皮损伤^[15]。与未修饰的 MSCs 相比, 携带 SOD3 或 MnSOD 基因的 MSCs 在照射后的肺中显示出更强的抗纤维化作用^[16]。一项临床研究中, 11 例乳腺癌或淋巴瘤肉芽肿病患者接受了自体 BM-MSCs 结合标准疗法的治疗后, 患者对放射的反应稳定, 在炎症反应和免疫状态方面没有不良变化^[17]。用脐带间充质干细胞 (umbilical cord mesenchymal stem cells, UC-MSC) 治疗放射性肺纤维化 (radiation pulmonary fibrosis, RPF) 无严重的不良反应, 且能够降低 CT 肺密度和改善临床症状首次证实了 UC-MSC 治疗 RPF 是相对安全和有效的^[18]。尽管体外和体内证据表明, 基于 MSCs 的治疗放射性肺纤维化是有效的, 但仍需要更大样本量的临床试验加以证实。

对于 MSC 治疗 RPF 的机制有许多。有研究发现 UC-MSC 是通过减少生长转化因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 抑制纤维化的形成^[18]。MSCs 通过 Wnt 信号通路直接影响辐射后肌成纤维细胞的聚集, 并减少肌成纤维细胞的分化^[19]。MSCs 分泌的 HGF 通过肝细胞生长因子受体降低肺泡 II 型上皮细胞 (alveolar type II epithelial cell, AT-II) 的上皮细胞间充质转化 (epithelial- mesenchymal transition, EMT), 从而以基质金属蛋白酶 (matrix metallo-protein, MMP) 依赖的方式诱导肌成纤维细胞凋亡^[20]。经修饰后过表达肝细胞因子的 BM-MSCs 能够减少辐射诱导的肺纤维化^[21]。然而对于 MSCs 治疗 RPF 过程中是否会导致细胞内蛋白修饰的改变, 是否会影响细胞间通讯的变化, 等等, 从而发挥治疗的作用, 尚需要进一步的研究。

2.3 间充质干细胞在矽肺性肺纤维化 (PF) 治疗中的应用

矽肺是由吸入结晶性二氧化硅粉尘引起的一种不可逆性、慢性、纤维增生性肺病。这是一种世界性

的职业病, 一旦发病很难扭转, 目前的治疗大都是采用延缓 PF 药物和肺灌洗, 但治疗效果不理想。

研究发现 BM-MSCs 在注入二氧化硅建立的矽肺模型的小鼠体内后, 细胞迁移到肺损伤区域, 减轻了 PF^[22]。与硅胶组相比, BM-MSCs 治疗组大鼠肺泡间质增厚减轻, 细胞结节减少, 胶原沉积减少, 证明了 BM-MSCs 抑制 PF, 并保护受损的上皮细胞^[23]。BM-MSCs 还通过减少内质网压力和抑制内皮细胞的自噬来抑制内皮细胞间充质细胞转化 (endothelial-mesenchymal transition, End-MT)^[24]。通过对已经成早期 (尘染 4 周) PF 的矽肺小鼠进行连续输注 BM-MSCs 能有效改善矽肺小鼠的肺纤维化, 并认为其结果可能是通过调节辅助性 T 细胞 17 (T helper cell 17, Th17)/调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 失衡来缓解矽肺小鼠肺纤维化进程^[25]。BM-MSCs 移植可以减轻二氧化硅处理动物肺的病理改变, 恢复上皮特征, 减少特定蛋白表达所显示的间质特征。研究认为 Wnt/ β -catenin 信号通路的减弱可能是 BM-MSCs 抗纤维化作用的机制之一^[26]。BM-MSCs 很难分化为上皮细胞, 所以 BM-MSCs 的抗纤维化作用主要是通过旁分泌方式发挥的, 而不是通过其分化能力发挥作用^[22]。这些结果提供了有关二氧化硅诱导的 PF 的新信息, 并确定了未来治疗的潜在和可能的靶点。

3 问题与展望

基于 MSCs 的免疫调节和组织修复功能, 目前在多种 PF 动物模型已证实 MSCs 可有效改善 PF。在多项 MSCs 治疗 PF 的临床研究中发现, MSCs 在缓解肝脏、肾脏纤维化方面有不错的进展, 且并无严重不良反应。但是, 目前还存在最佳给药途径和时间, 确切的剂量方案和重复治疗的必要性, 以及同种异体或自体 MSCs 的使用和 MSCs 的最佳来源等问题, 还需进行大样本队列研究来证明。从动物实验到临床仍然还有很长距离, 随着细胞生物技术的发展应用, 相信对于干细胞治疗 PF 的机制会有更深入和全面的认识, 更多的潜在治疗靶点将会被发现。

参考文献:

[1] Harrell CR, Jankovic MG, Fellabaum C, *et al.* Molecular mechanisms responsible for anti-inflammatory and immunosuppressive effects of mesenchymal stem cell-derived

factors[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1084:187-206.

[2] Nagubothu SR, Sugars RV, Tudzarovski N, *et al.* Mesenchymal stromal cells modulate tissue repair responses

- within the injured vocal fold [J]. *Laryngoscope*, 2020, 130:E21-E29.
- [3] Cahill EF, Kennelly H, Carty F, *et al.* Hepatocyte growth factor is required for mesenchymal stromal cell protection against bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5:1307-1318.
- [4] Sherman LS, Shaker M, Mariotti V, *et al.* Mesenchymal stromal/stem cells in drug therapy: new perspective [J]. *Cytotherapy*, 2017, 19:19-27.
- [5] Friedenstein AJ, Petrakova KV, Kurolesova AI, *et al.* Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues [J]. *Transplantation*, 1968, 6:230-247.
- [6] Cheng SL, Lin CH, Yao CL. Mesenchymal stem cell Administration in patients with chronic obstructive pulmonary disease: state of the science [J]. *Stem Cells Int*, 2017, 2017:8916570. doi: 10.1155/2017/8916570.
- [7] Luna GLF, Russo TL, Sabadine MA, *et al.* Effects of mesenchymal stromal cells on motor function and collagen in the skeletal muscles of rats with type I diabetes [J]. *Int J Exp Pathol*, 2019, 100:359-368.
- [8] Weiss ARR, Lee O, Eggenhofer E, *et al.* Differential effects of heat-inactivated, secretome-deficient MSC and metabolically active MSC in sepsis and allogeneic heart transplantation [J]. *Stem Cells*, 2020, 38:797-807.
- [9] Reddy M, Fonseca L, Gowda S, *et al.* Human adipose-derived mesenchymal stem cells attenuate early stage of bleomycin induced pulmonary fibrosis: comparison with pirfenidone [J]. *Int J Stem Cells*, 2016, 9:192-206.
- [10] Glassberg MK, Minkiewicz J, Toonkel RL, *et al.* Allogeneic human mesenchymal stem cells in patients with idiopathic pulmonary fibrosis via intravenous delivery (AETHER): a phase I safety clinical trial [J]. *Chest*, 2017, 151:971-981.
- [11] Felix RG, Bovolato ALC, Cotrim OS, *et al.* Adipose-derived stem cells and adipose-derived stem cell-conditioned medium modulate in situ imbalance between collagen I- and collagen V-mediated IL-17 immune response recovering bleomycin pulmonary fibrosis [J]. *Histol Histopathol*, 2020, 35:289-301.
- [12] Zhao MM, Cui JZ, Cui Y, *et al.* Therapeutic effect of exogenous bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation on silicosis via paracrine mechanisms in rats [J]. *Mol Med Rep*, 2013, 8:741-746.
- [13] Chen W, Wang S, Xiang H, *et al.* Microvesicles derived from human Wharton's Jelly mesenchymal stem cells ameliorate acute lung injury partly mediated by hepatocyte growth factor [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2019, 112: 114-122.
- [14] Chen Z, Wu Z, Ning W. Advances in molecular mechanisms and treatment of radiation-induced pulmonary fibrosis [J]. *Transl Oncol*, 2019, 12:162-169.
- [15] Klein D, Steens J, Wiesemann A, *et al.* Mesenchymal stem cell therapy protects lungs from radiation-induced endothelial cell loss by restoring superoxide dismutase 1 expression [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2017, 26:563-582.
- [16] Chen HX, Xiang H, Xu WH, *et al.* Manganese superoxide dismutase gene-modified mesenchymal stem cells attenuate acute radiation-induced lung injury [J]. *Hum Gene Ther*, 2017, 28:523-532.
- [17] Kursova LV, Konoplyannikov AG, Pasov VV, *et al.* Possibilities for the use of autologous mesenchymal stem cells in the therapy of radiation-induced lung injuries [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2009, 147:542-546.
- [18] 谯智慧, 张丹, 熊玮. 8例临床级脐带间充质干细胞治疗放射性肺纤维化的观察 [J]. *第三军医大学学报*, 2017, 39:1017-1018.
- [19] Xu S, Liu C, Ji HL. Concise Review: Therapeutic potential of the mesenchymal stem cell derived secretome and extracellular vesicles for radiation-induced lung injury: progress and hypotheses [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2019, 8:344-354.
- [20] Mizuno S, Matsumoto K, Li MY, *et al.* HGF reduces advancing lung fibrosis in mice: a potential role for MMP-dependent myofibroblast apoptosis [J]. *FASEB J*, 2005, 19:580-582.
- [21] Wang H, Yang YF, Zhao L, *et al.* Hepatocyte growth factor gene-modified mesenchymal stem cells reduce radiation-induced lung injury [J]. *Hum Gene Ther*, 2013, 24: 343-353.
- [22] Li X, An G, Wang Y, *et al.* Targeted migration of bone marrow mesenchymal stem cells inhibits silica-induced pulmonary fibrosis in rats [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9:335. doi: 10.1186/s13287-018-1083-y.
- [23] Li X, Wang Y, An G, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cells attenuate silica-induced pulmonary fibrosis via paracrine mechanisms [J]. *Toxicol Lett*, 2017, 270: 96-107.
- [24] Jiang R, Liao Y, Yang F, *et al.* SPIO nanoparticle-labeled bone marrow mesenchymal stem cells inhibit pulmonary endoMT induced by SiO₂ [J]. *Exp Cell Res*, 2019, 383:111492. doi: 10.1016/j.yexcr.2019.07.005.
- [25] 赵娜, 吴洁, 宋向荣, 等. 骨髓间充质干细胞治疗矽肺小鼠肺纤维化效果 [J]. *中国职业医学*, 2017, 044: 657-663.
- [26] Zhang E, Yang Y, Chen S, *et al.* Bone marrow mesenchymal stromal cells attenuate silica-induced pulmonary fibrosis potentially by attenuating Wnt/beta-catenin signaling in rats [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9:311. doi: 10.1186/s13287-018-1045-4.