

DOI: 10.13276/j.issn.2097-1656.2023.03.003

• 军事预防医学专题 •

脐带间充质干细胞对放射性肺损伤的防治作用

荆云涛¹, 安广洲¹, 来盼盼¹, 郭玲¹, 秦佟洲¹, 王星¹, 张兆文¹, 徐惠², 丁桂荣¹ (¹空军军医大学军事预防医学系辐射防护医学教研室, 陕西 西安 710032; ²山东第一医科大学放射学院影像技术教研室, 山东 泰安 271016)

[摘要] **目的** 探讨人脐带间充质干细胞(hUC-MSCs)对小鼠放射性肺损伤(RILI)的防治作用。**方法** 将40只健康成年雄性C57BL/6小鼠随机分为假照射组、照射组、干细胞干预组和生理盐水干预组,每组10只。对照照射组、干细胞干预组和生理盐水干预组共进行4 d X射线胸部照射,每日1次,每次5 Gy,总剂量为20 Gy。假照射组与照射组小鼠实验条件相同但不接受X线照射。干细胞干预组小鼠在X射线照射结束后24 h尾静脉注射hUC-MSCs生理盐水悬液,生理盐水干预组小鼠通过静脉注射与干细胞干预组小鼠相同体积的生理盐水。X射线照射后3周,各组小鼠进行胸部CT检查,然后麻醉小鼠,取肺组织进行HE染色和Masson染色观察肺部结构及胶原纤维沉积情况。巨噬细胞免疫荧光染色观察肺部巨噬细胞数量变化,免疫蛋白印迹检测肺组织炎症因子水平。**结果** 胸部CT检查结果显示,与假照射组相比,照射组小鼠肺纹理明显增粗,光镜下可见照射组肺组织形态结构紊乱,肺泡壁增厚,肺间质胶原纤维有较多沉积,免疫荧光结果显示肺组织内巨噬细胞数量明显增多,且免疫蛋白印迹显示肺组织TGF- β 1和TNF- α 表达水平显著上调($P < 0.01$)。干细胞干预组小鼠肺组织的上述变化较生理盐水干预组和照射组均明显减轻,生理盐水干预组小鼠与照射组小鼠相比,各检测指标无明显变化。**结论** hUC-MSCs对小鼠RILI具有明显的防治作用,其机制可能与hUC-MSCs抑制X射线诱导的肺部巨噬细胞增加及炎症反应有关。

[关键词] 巨噬细胞;放射性肺损伤;脐带间充质干细胞;X射线

[中图分类号] R818.8 **[文献标志码]** A

Prevention and treatment effects of human umbilical cord mesenchymal stem cells on radiation-induced lung injury

JING Yuntao¹, AN Guangzhou¹, LAI Panpan¹, GUO Ling¹, QIN Tongzhou¹, WANG Xing¹, ZHANG Zhaowen¹, XU Hui², DING Guirong¹

¹Department of Radiation Medical Protection, School of Military Preventive Medicine, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China; ²Department of Imaging Technology, School of Radiology, Shandong First Medical University, Tai'an 271016, China

[Abstract] **Objective** To investigate the prevention and treatment effects of human umbilical cord mesenchymal stem cells (hUC-MSCs) on radiation-induced lung injury (RILI) in mice. **Methods** Forty healthy adult male C57BL/6 mice were randomly divided into sham group, irradiation group, stem cell intervention group and saline intervention group, with 10 mice in each group. The irradiation group, stem cell intervention group and saline intervention group were subjected to chest X-ray irradiation for 4 d, once a day, 5 Gy each time, with a total dose of 20 Gy. The experimental conditions of mice in the sham group were the same as those in the irradiation group but they did not receive X-ray irradiation. Mice in the stem cell intervention group were injected with hUC-MSCs saline suspension 24 h after X-ray irradiation, and mice in the saline intervention group were injected with the same volume of normal saline as those in the stem cell intervention group

基金项目: 国家自然科学基金(31770905); 山东省自然科学基金(ZR2020MH328)

作者简介: 荆云涛, 硕士研究生, 从事放射医学防护基础理论研究, Tel:15645775561, E-mail:jingyuntao925@163.com

通信作者: 丁桂荣, Tel:13649274058, E-mail:dingzhao@fmmu.edu.cn

网络首发: <https://kns.cnki.net/kcms/detail//61.1526.R.20230215.1734.008.html> (2023-02-16)

intravenously. Three weeks after X-ray irradiation, the mice in each group underwent chest CT examination, and then they were anesthetized and lung tissues were taken to observe the lung structure and collagen fiber deposition by HE staining and Masson staining. Macrophage immunofluorescence staining was used to observe the changes in the number of lung macrophages, and Western blotting was used to detect the levels of inflammatory factors in lung tissues. **Results** The results of chest CT examination showed that compared with the sham group, the lung texture of mice in irradiation group was significantly thickened. Under the light microscope, the morphological structure of the lung tissues was irregular, the alveolar walls were thickened, and the collagen fibers deposited severely in lung interstitial. The immunofluorescence results showed that the number of macrophages was significantly increased in the lung tissues. Western blotting results showed that the expression levels of TGF- β 1 and TNF- α in lung tissues were up-regulated significantly ($P < 0.01$). The above-mentioned changes in the lung tissue of mice in the stem cell intervention group were significantly reduced compared with those in the irradiation and saline intervention group. In addition, compared with the mice in the irradiation group, the mice in the saline intervention group had no significant changes in each detection index. **Conclusion** hUC-MSCs have obvious prevention and treatment effects on RILI in mice, and the mechanism may be related to the inhibition of X-ray-induced lung macrophage proliferation and inflammatory response.

[**Key words**] macrophages; radiation-induced lung injury; human umbilical cord mesenchymal stem cells; X-ray

放射治疗是当今胸部肿瘤治疗的主要手段之一,但放射性肺损伤(radiation-induced lung injury, RILI)作为胸部放疗的主要并发症至今仍无法避免。RILI是一个复杂的病理过程,胸部放射治疗后发生RILI的比例高达30%^[1],晚期可发展为肺纤维化,严重威胁患者生命,致死率可达15%^[2]。研究表明,放射治疗后肺损伤和肺纤维化可能与细胞活性氧(reactive oxygen species, ROS)导致的氧化损伤、细胞因子异常分泌、免疫系统异常和组织损伤非正常愈合等有关^[3-5]。

RILI早期阶段的病理特征是细胞组成改变和细胞外基质过度累积,最终导致肺功能降低。损伤的上皮细胞可分泌各种趋化因子,使炎性细胞聚集到损伤部位,浸润性巨噬细胞和组织的损伤以及纤维化的程度密切相关。巨噬细胞作为体内的天然免疫细胞,在RILI整个病理进程中都发挥了十分重要的促进作用。研究表明,浸润性巨噬细胞可根据细胞因子微环境信号不同而向M1或M2型巨噬细胞极化^[6-7]。

作为多功能干细胞,人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cells, hUC-MSCs)可分化为多种细胞和组织,具有多向分化并修复受损组织器官的潜力^[8-9]。研究发现,hUC-MSCs可调节炎症反应,抑制免疫反应,并促进组织修复和再生,但hUC-MSCs对RILI的防治效果和作用机制至今仍不清楚^[10-11]。本研究将探讨hUC-MSCs对RILI的作用效果及其机制,为临床转化治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康成年雄性C57BL/6小鼠40只,

体质量18~20 g,购于成都达硕实验动物有限公司[许可证号:SCXK(川)2020-030]。

1.1.2 主要试剂 舒泰50(Virbac,法国);氯化钠(上海生工,中国);PBS缓冲液(武汉赛维尔,中国);40 g/L多聚甲醛(武汉赛维尔,中国);载玻片、盖玻片(江苏世泰,中国);苏木素-伊红染液(贝索,中国);生物透明剂(中南化工,中国);中性树胶(北京索莱宝,中国);石蜡(徕卡,德国);Masson染色试剂盒(北京索莱宝,中国);间充质干细胞无血清培养基(北京友康,中国);TNF- α (AF7014, Affinity, 美国);TGF- β 1(AF1027, Affinity, 美国);GAPDH(AF7021, Affinity, 美国);PE-CD105(166707, Biolegend, 美国)、FITC-CD90(Thy-1A1, Biolegend, 美国)、PE-CD44(2F10, Biolegend, 美国)、PE-CD29(P5D2, Biolegend, 美国)、FITC-CD45(2D1, Biolegend, 美国)、FITC-CD34(QBEnd10, Biolegend, 美国)、FITC-IgG(97924, Biolegend, 美国)和PE-IgG(400111, Biolegend, 美国)、anti-CD86 Rabbit mAb(GB13585, 武汉赛维尔,中国)、anti-Mannose Receptor/CD206 Rabbit pAb(GB113497, 武汉赛维尔,中国)、Alexa Flour 488标记的山羊抗兔IgG(GB25303, 武汉赛维尔,中国)

1.2 方法

1.2.1 hUC-MSCs培养 在医院手术室无菌条件下,取健康足月新生儿脐带组织,装入有PBS(含 10^5 U/L的青链霉素)溶液的无菌瓶内。随后在超净台内取出脐带,于10 cm培养皿中使用750 mL/L乙醇浸泡3~5 min后再用PBS洗2次,清除残留凝血。将脐带剪成2 cm左右小段,然后沿纵轴剪开,剥去内膜及血

管,缓慢剥离华通氏胶。将胶体剪成 $1\text{ mm} \times 1\text{ mm} \times 2\text{ mm}$ 大小后均匀平铺于 25 cm^2 培养瓶中,加入适量间充质干细胞无血清培养基,移入细胞孵箱,之后每 3 d 换液一次,观察细胞生长情况。待细胞爬出组织并生长至一定密度后,消化并过滤提纯细胞,继续传代培养备用。本研究通过空军军医大学西京医院伦理委员会审批(许可证号:KY20202097-F-2)。

1.2.2 hUC-MSCs 鉴定 采用流式细胞仪对 hUC-MSCs 表面特异性抗原进行检测。取 5×10^6 个第 3 代 hUC-MSCs (P3),加入 $5\text{ }\mu\text{L}$ 的 FITC-IgG 和 $5\text{ }\mu\text{L}$ 的 PE-IgG,制备同型对照管。另取三管 5×10^6 个第 3 代 hUC-MSCs (P3),分别加入 CD105-PE 和 CD34-FITC、CD44-PE 和 CD45-FITC、CD29-PE 和 CD90-FITC,制备实验管。随后 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 30 min, $1\text{ }000\text{ r/min}$ 离心洗涤 5 min,弃上清。每管中加入 $300\text{ }\mu\text{L}$ PBS 重悬细胞,用流式细胞仪(Coulter-XL MCL,贝克曼,美国)检测 hUC-MSCs 表面特异性抗原 CD105、CD90、CD44、CD29、CD45、CD34 表达水平。

1.2.3 实验分组与 RILI 动物模型建立 40 只健康成年雄性 C57BL/6 小鼠饲养于室温 (22 ± 2) $^\circ\text{C}$ 、12 h 光照条件下,自由进食、饮水,适应性饲养一周后随机分为假照射组、照射组、干细胞干预组和生理盐水干预组,每组 10 只。

采用 X 射线胸部局部照射小鼠建立 RILI 模型。小鼠称质量后,用舒泰 50 (15 mg/kg) 进行肌肉注射麻醉。麻醉后将小鼠置于 X 射线生物辐照仪(RS 2000, Radcal Source, 美国)内,调整装置顶部铅板,仅暴露小鼠胸部为照射野。对照射组、干细胞干预组和生理盐水干预组进行总剂量为 20 Gy 的 X 射线照射, 5 Gy/次 ,剂量率为 2.33 Gy/min ,每日辐照一次,连续照射 4 d。假照射组采取与其余三组相同的处理方法,但放入 X 射线仪器后并不进行照射。根据文献[12]报道和预实验结果,本研究在照射结束后 24 h,给干细胞干预组小鼠尾静脉注射 $100\text{ }\mu\text{L}$ hUC-MSCs 生理盐水悬液(P3~6, $1 \times 10^{10}/\text{L}$),生理盐水干预组小鼠尾静脉注射 $100\text{ }\mu\text{L}$ 生理盐水。

1.2.4 小动物肺部 CT 成像 小鼠 RILI 模型建立后 3 周,使用乙醚面罩吸入方式对小鼠行全身麻醉,将麻醉后的小鼠仰卧位置固定于小动物 CT 设备中,调整好小鼠位置并固定其前肢,保持乙醚持续吸入及小鼠呼吸通畅,随后通过 Micro CT 成像系统(SkyScan1276, Bruker BioSpin, 德国)进行小鼠肺部 CT 扫描(平扫),扫描时间为 14 min。

1.2.5 石蜡切片制作 小鼠 CT 成像后,使用舒泰 50

(15 mg/kg) 进行肌肉注射麻醉。开胸后进行心脏取血,随后取出肺脏,左侧肺叶用于 Western blotting 实验,右侧肺叶浸泡于 40 g/L 多聚甲醛溶液中固定 48 h。右侧肺叶固定结束后,经自来水冲洗固定液、乙醇浓度梯度脱水(700 、 800 mL/L 乙醇 1 次、 950 mL/L 乙醇 2 次、无水乙醇 2 次)后,利用 TO 生物透明剂对组织进行透明,浸蜡后包埋。包埋后的组织修片至理想位置后进行切片,切片厚度为 $5\text{ }\mu\text{m}$,经 $55\text{ }^\circ\text{C}$ 烘片 90 min 后待用。

1.2.6 苏木素-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色 石蜡切片脱蜡至水,苏木素染液染色 1~2 min,自来水洗涤。 10 mL/L 盐酸乙醇溶液分色 2~3 s,自来水清洗。 2.5 mL/L 氨水溶液返蓝, 750 mL/L 乙醇溶液冲洗。 10 mL/L 水溶性伊红醇溶液染色 2~3 min,自来水清洗。将切片放入 950 mL/L 乙醇溶液 5 min,无水乙醇 5 min、TO 生物透明剂 10 min 后,使用中性树脂封片干燥 24 h,光学显微镜(DMI4000B,徕卡,德国)下拍照观察肺组织结构形态。

1.2.7 Masson 染色 Masson 染色按照试剂盒说明进行操作。石蜡切片脱蜡至水,苏木素染液染色 5~10 min,流水冲洗后, 10 mL/L 盐酸分化。流水冲洗数分钟后,Masson 复合染色液染色 5~10 min,蒸馏水稍冲洗。 10 mL/L 磷钨酸液处理约 5 min,直接用亮绿染色液复染 5 min。 10 mL/L 冰醋酸处理 1 min 后用 950 mL/L 乙醇脱水多次。无水乙醇再次脱水,二甲苯透明,中性树脂封片干燥 24 h,显微镜下拍照观察肺组织胶原蛋白沉积情况。

1.2.8 巨噬细胞免疫荧光 石蜡切片脱蜡至水,组织切片置于 EDTA 抗原修复缓冲液,使用组织笔画圈并双氧水封闭,加血清封闭 30 min 后 PBS 清洗,甩干后加入抗 CD86 ($1:100$)、抗 CD206 ($1:100$) 抗体置于湿盒中 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育过夜。次日使用 PBS 洗涤 3 次, 5 min/次 ,甩干后加入相应种属 HRP 标记二抗孵育 50 min,再次 PBS 洗涤 3 次, 5 min/次 。随后将切片置于 EDTA 抗原修复液中使用微波炉加热。切片稍甩干后滴加 DAPI 染液室温避光孵育 5 min, PBS 晃动洗涤 3 次,甩干后滴加自发荧光淬灭剂等待 5 min,流水冲洗 10 min,稍甩干切片后封片。在激光共聚焦显微镜(Eclipse Ti, 尼康, 日本)下观察巨噬细胞数量变化情况。

1.2.9 免疫蛋白印迹 每只小鼠左侧肺叶于预冷的 9 g/L 生理盐水中洗去残留血液,滤纸吸干水分后称质量。按 $1\text{ g}:10\text{ mL}$ 加入含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的组织裂解液,匀浆后通过低温高速离心机(ST 16R,

赛默飞, 美国) 离心并收集上清液。通过 BCA 法测定蛋白浓度后按照 4:1 体积加入 5 × 上样缓冲液, 充分混合后 100 °C 金属浴 10 min, 冷却备用。制备聚丙烯酰胺凝胶后按 30 μg/孔等质量上样, 使用浓缩胶 80 V、分离胶 120 V 电压进行电泳, 300 mA 电流将蛋白转移至 PVDF 膜 (甲醇浸泡 2 ~ 3 min), 随后使用 50 g/L 脱脂奶粉室温封闭 2 h 后, 分别按如下稀释比加入一抗: TNF-α (1:2 000)、TGF-β1 (1:1 000)、GAPDH (1:1 000), 4 °C 冰箱孵育过夜。次日使用 1 × TBST 溶液洗涤 3 次, 10 min/次, 室温条件下加入二抗孵育 2 h, 再次使用 TBST 洗涤 3 次, 10 min/次, 使用全自动发光仪化学发光法发光并拍照, Quantity One 分析条带灰度值。

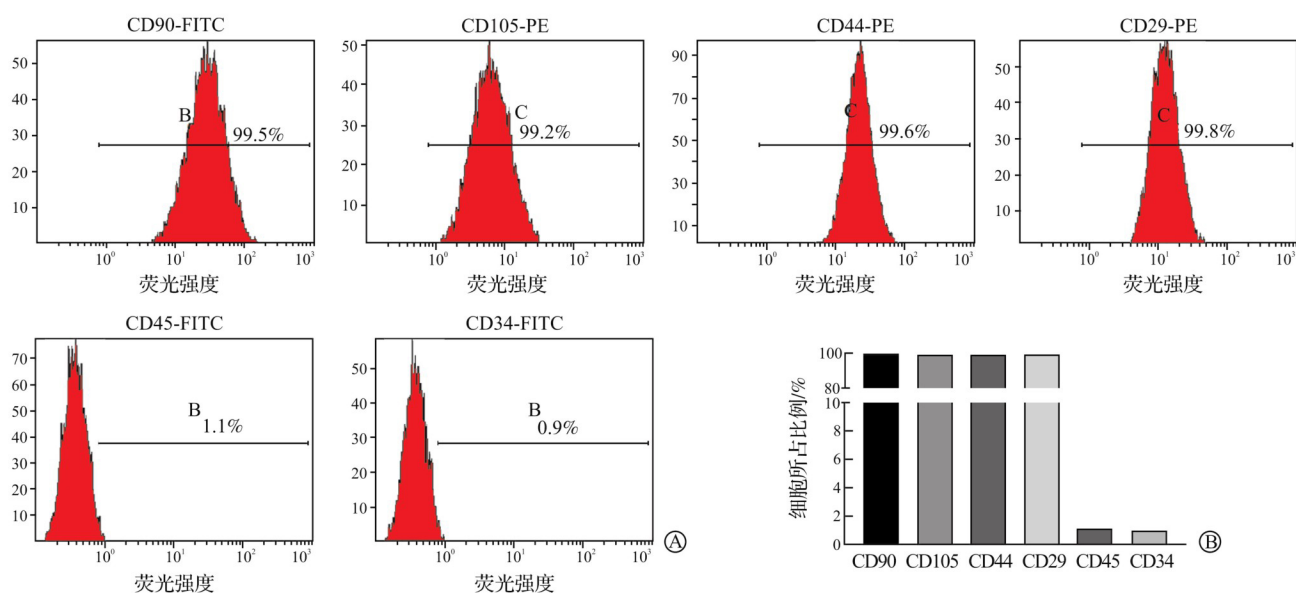
1.2.10 统计学分析 通过 GraphPad Prism 8 对数据

进行绘图并进行统计分析, 实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 通过 ANOVA 分析进行多组数据间比较, 并采用 Tukey 进行多重比较。P < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 hUC-MSCs 培养和鉴定结果

培养第 7 日, 华通氏胶组织块周围有零星细胞分布, 18 d 左右细胞融合度已达 80% 以上, 过滤传代后细胞形态稳定, 呈梭形, 放射状生长, 具有 hUC-MSCs 外观特点。同时流式检测结果显示该细胞表面抗原 CD29、CD44、CD90、CD105 表达阳性率均大于 90%, 表面抗原 CD34、CD45 表达阳性率低于 2%, 证明培养获得的细胞为 hUC-MSCs (图 1)。



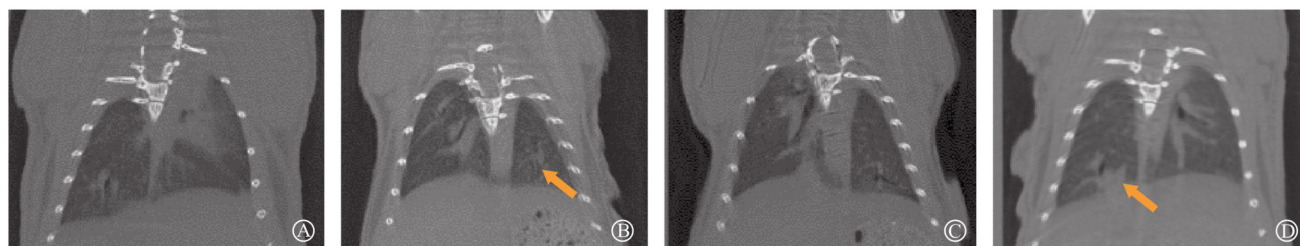
A: CD90、CD105、CD44、CD29、CD45、CD34 流式细胞术鉴定结果; B: 流式细胞术结果统计图。

图 1 hUC-MSCs 表面抗原鉴定结果

2.2 肺部 CT 成像结果

观察对比各组小鼠肺部 CT 影像, 结果显示, 照射组、干细胞干预组、生理盐水干预组小鼠较假照射组双肺纹理增多, 表现为密度轻度增高的云雾状淡薄

影。其中干细胞干预组小鼠肺纹理变化少于照射组与生理盐水干预组, 照射组和生理盐水干预组相比无明显差异 (图 2)。



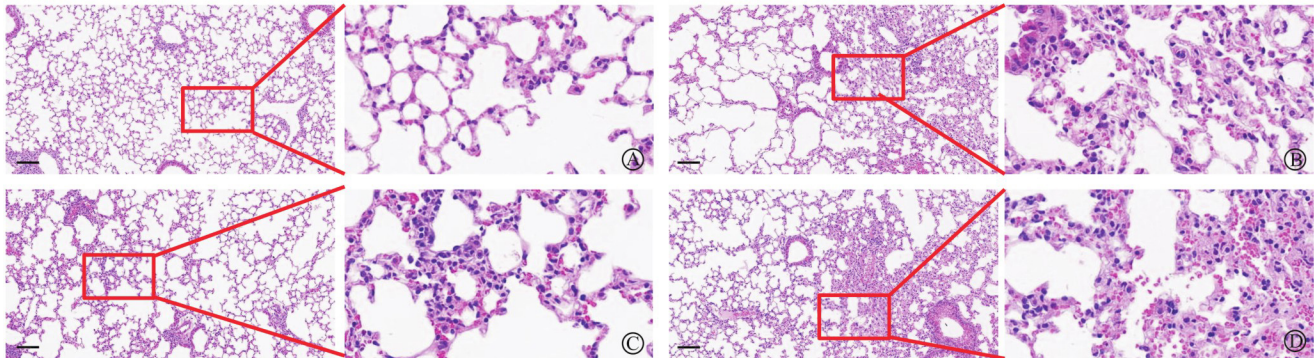
A: 假照射组; B: 照射组; C: 干细胞干预组; D: 生理盐水干预组。

图 2 小鼠胸部 CT 平扫结果

2.3 肺部形态结构变化情况

HE 染色结果显示,假照射组小鼠肺组织结构正常,照射组、干细胞干预组、生理盐水干预组均有肺

间质增厚,炎性细胞浸润,部分肺泡结构完全破坏。其中干细胞干预组病理改变明显轻于照射组和生理盐水干预组(图3)。



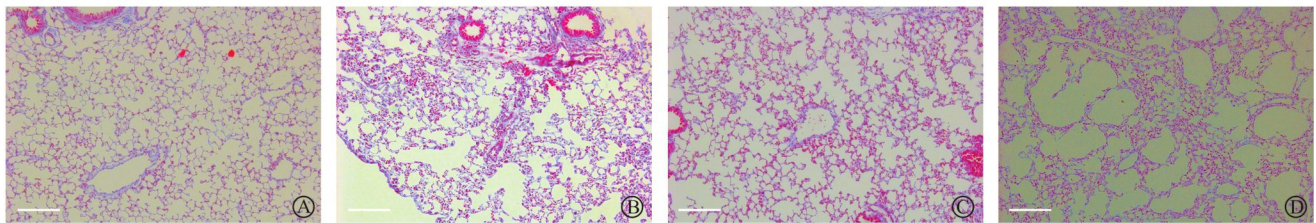
A: 假照射组; B: 照射组; C: 干细胞干预组; D: 生理盐水干预组。标尺为 100 μm 。

图3 肺损伤小鼠模型建立后3周肺组织病理改变

2.4 肺部胶原纤维沉积变化情况

Masson 染色结果显示,照射组胶原纤维沉积所占比例较假照射组明显提高(蓝色面积),干细胞干预

组和生理盐水干预组也出现不同程度的提高,但均低于照射组,干细胞干预组胶原纤维沉积少于生理盐水干预组(图4)。



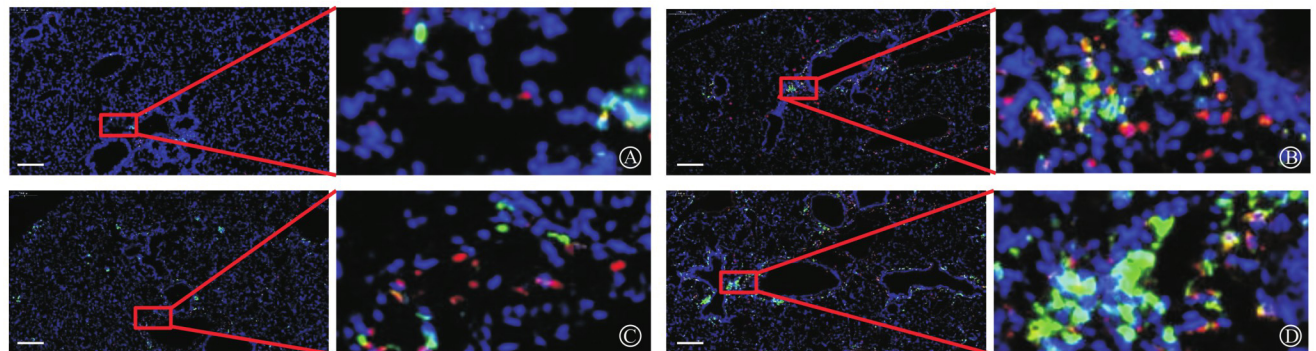
A: 假照射组; B: 照射组; C: 干细胞干预组; D: 生理盐水干预组。标尺为 200 μm 。

图4 肺损伤小鼠模型建立后3周肺组织胶原蛋白沉积水平

2.5 肺部巨噬细胞数量情况

通过免疫荧光观察各组小鼠肺部巨噬细胞数量变化情况(绿色荧光:M1型巨噬细胞;红色荧光:M2型巨噬细胞),结果显示,照射组M1、M2型巨噬细

胞较假照射组明显增多,干细胞干预组M1、M2型巨噬细胞稍有增加,但较照射组显著减少,生理盐水干预组与照射组相比无明显差异(图5)。



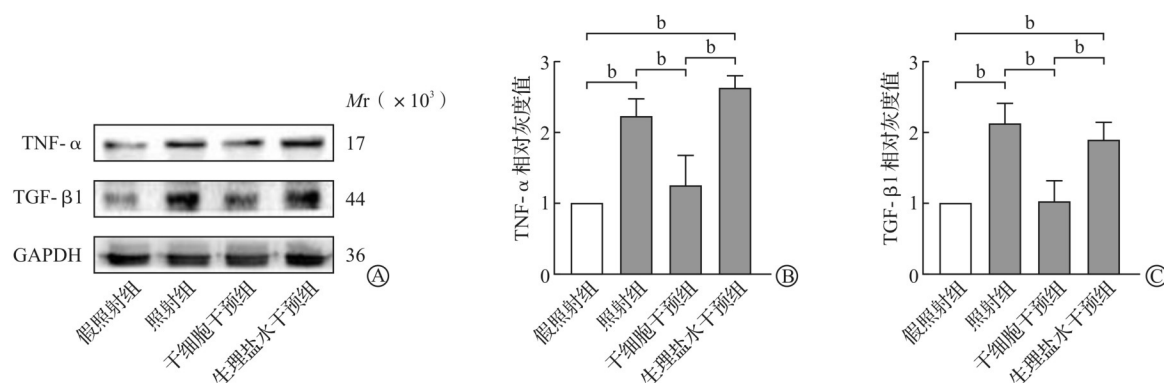
A: 假照射组; B: 照射组; C: 干细胞干预组; D: 生理盐水干预组。标尺为 200 μm 。

图5 肺损伤小鼠模型建立后3周肺组织巨噬细胞数量情况

2.6 炎症因子变化情况

免疫印迹蛋白结果显示, 照射组和生理盐水干预组的 TNF- α 、TGF- β 1 蛋白水平较假照射组显著升高

($P < 0.01$)。与照射组和生理盐水干预组相比, 干细胞干预组 TNF- α 、TGF- β 1 蛋白水平显著降低 ($P < 0.01$, 图 6)。



A: TNF- α 、TGF- β 1 蛋白免疫印迹检测图; B~C: TNF- α 和 TGF- β 1 蛋白免疫印迹检测统计图 ($^b P < 0.01$)。

图 6 肺损伤小鼠模型建立后 3 周肺组织炎症因子变化情况

3 讨论

放射性肺炎和肺纤维化已成为晚期肺癌患者局部放射治疗后最常见的并发症, 是胸部恶性肿瘤放射治疗能否持续进行的限制性因素, 严重影响了患者的预后和生活质量。不同于其他类型的肺损伤, RILI 通常始于辐射诱导的能量沉积和 ROS 产生, 随后导致一系列生物反应, 包括炎症反应、血管生成、程序性细胞死亡、细胞外基质产生等, 最终导致肺纤维化和呼吸衰竭^[13-14]。其中炎症反应的发生在 RILI 过程中起到了至关重要的作用。在这个过程中, 各种细胞因子不断释放, 包括促炎细胞因子如 IL-1 α , IL-1 β 以及 IL-6 等^[15-16]。这些促炎细胞因子招募中性粒细胞、巨噬细胞和淋巴细胞等炎性细胞聚集到损伤部位, 导致放射性肺炎的发生。在本研究中, 我们采用 CT 胸部平扫的方法观察了 20 Gy X 射线胸部照射后 3 周小鼠的肺部情况, 结果发现, 照射组小鼠的肺纹理较假照射组明显增多。同时, HE 染色和免疫荧光结果显示, 在胸部接受电离辐射 3 周, 肺部炎性细胞浸润明显, 巨噬细胞数量增多, 均提示 20 Gy X 射线胸部照射可导致肺部发生严重的炎症反应。

KRISHNAMURTHY 等^[17]研究表明, 肺巨噬细胞早期发生 M1 型极化, 通过 p38 介导的磷酸化和蛋白酶体介导的降解引起 TNF- α 调节剂失活, 上调 TNF- α 的表达, 从而促进放射性肺炎的进程。而 ONO 等^[12]发现肺巨噬细胞中晚期向 M2 型极化, 分泌 TGF- β 1 通过 TGF- β /Smad 信号通路发挥促纤维化功能, 促进成纤维细胞转化为肌成纤维细胞以及完成上皮间质转

化, 缩短了放射性肺纤维化的时程。本研究结果显示, 胸部电离辐射诱导了动物肺形态结构损伤和显著的炎性细胞浸润和巨噬细胞增多, 后者可分泌 TNF- α 和 TGF- β 1, 进而促进 RILI 的进程。

近年来, 用于治疗 RILI 的药物不断增加, 类固醇、氨磷汀、番茄红素等治疗方式都有其各自的独到之处^[14,18-19]。然而, 包括肺移植在内的多种治疗方式, 都有明显的并发症和副作用, 难以广泛应用^[2]。据报道, hUC-MSCs 以其便于分离培养、低免疫原性和多向分化潜能被尝试用于 RILI 的治疗^[20]。张春阳等^[21]研究发现, hUC-MSCs 可抑制射线照射后小鼠肺组织内的 Wnt/ β -catenin 信号通路的活化, 进而减缓放射性肺损伤进程。骨髓间充质干细胞还可迁移至受损肺组织, 通过抑制炎症反应、抗氧化等促进其修复^[22-24]。本研究结果显示, 与照射组相比, 干细胞干预组小鼠肺纹理, 肺组织形态结构, 肺泡壁厚度及肺间质胶原纤维沉积均有改善, 提示 hUC-MSCs 对 RILI 具有较好的治疗效果。同时, 免疫荧光和蛋白免疫印迹结果显示, 干细胞干预组小鼠肺组织巨噬细胞数量较少, 炎性因子 TGF- β 1 和 TNF- α 表达水平降低, 提示 hUC-MSCs 可能通过抑制巨噬细胞在肺组织的募集、减少炎性因子的分泌等发挥其治疗作用。

综上所述, 本研究表明, hUC-MSCs 可能通过抑制电离辐射后巨噬细胞的在肺部的增加, 以及降低肺部炎性因子的水平, 减轻肺部炎症, 发挥防治 RILI 的作用。此外, hUC-MSCs 的功能并不是单一的, 它还可能通过抗氧化、免疫调节和分化补充受损的肺上皮细胞等共同发挥作用, 后者需要更深入的研究去验证。

【参考文献】

- [1] ZANONI M, CORTESI M, ZAMAGNI A, et al. The role of mesenchymal stem cells in radiation-induced lung fibrosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(16): 3876.
- [2] XU S G, LIU C, JI H L, et al. 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(4): 344–354.
- [3] KUCUKBAGRIACIK Y, DASTOURI M, OZGUR-BUYUKATALAY E, et al. Investigation of oxidative damage, antioxidant balance, DNA repair genes, and apoptosis due to radiofrequency-induced adaptive response in mice[J]. *Electromagn Biol Med*, 2022, 41(4): 389–401.
- [4] WANG J L, DING H R, ZHOU J C, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells attenuates acute liver failure in mice *via* an interleukin-4-dependent switch to the M2 macrophage anti-inflammatory phenotype[J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2022, 10(4): 669–679.
- [5] 王蕊, 魏威, 董卓, 等. Treg 分化对放射性肺损伤的影响[J]. *国际放射医学核医学杂志*, 2020, 44(5): 276–285.
- [6] MANTOVANI A, SICA A, SOZZANI S, et al. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization[J]. *Trends Immunol*, 2004, 25(12): 677–686.
- [7] GORDON S, MARTINEZ F O. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions[J]. *Immunity*, 2010, 32(5): 593–604.
- [8] HARRELL C R, SADIKOT R, PASCUAL J, et al. Mesenchymal stem cell-based therapy of inflammatory lung diseases: current understanding and future perspectives[J]. *Stem Cells Int*, 2019; 4236973.
- [9] 蒋杨, 陈博, 王贤君, 等. 人脐带间充质干细胞治疗肺部疾病的研究与应用进展[J]. *临床肺科杂志*, 2022, 27(1): 124–129.
- [10] CHEN Z, RUAN B, LONG G, et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells attenuate lung inflammation and fibrosis in the bleomycin-induced pulmonary fibrosis rat model *via* caveolin-1/NF- κ B signaling axis[J]. *Physiol Res*, 2022, 71(5): 657–666.
- [11] WANG Y, SUI Y T, NIU Y, et al. PBX1-SIRT1 positive feedback loop attenuates ROS-mediated HF-MSC senescence and apoptosis[J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2023, 19(2): 443–454.
- [12] ONO M, OHKOUCHI S, KANEHIRA M, et al. Mesenchymal stem cells correct inappropriate epithelial-mesenchyme relation in pulmonary fibrosis using stanniocalcin-1[J]. *Mol Ther*, 2015, 23(3): 549–560.
- [13] PARK H R, JO S K, JUNG U. Ionizing radiation promotes epithelial-to-mesenchymal transition in lung epithelial cells by TGF- β -producing M2 macrophages[J]. *In Vivo*, 2019, 33(6): 1773–1784.
- [14] RADHA R R, CHANDRASEKHARAN G. Pulmonary injury associated with radiation therapy-Assessment, complications and therapeutic targets[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89: 1092–1104.
- [15] DING N H, LI J J, SUN L Q. Molecular mechanisms and treatment of radiation-induced lung fibrosis[J]. *Curr Drug Targets*, 2013, 14(11): 1347–1356.
- [16] ZHAO W L, ROBBINS M E. Inflammation and chronic oxidative stress in radiation-induced late normal tissue injury: therapeutic implications[J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(2): 130–143.
- [17] KRISHNAMURTHY P M, SHUKLA S, RAY P, et al. Involvement of p38- β TrCP-Tristetraprolin-TNF α axis in radiation pneumonitis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(29): 47767–47779.
- [18] CASTELLINO R A, GLATSTEIN E, TURBOW M M, et al. Latent radiation injury of lungs or heart activated by steroid withdrawal[J]. *Ann Intern Med*, 1974, 80(5): 593–599.
- [19] GHAFORI P, MARKS L B, VUJASKOVIC Z, et al. Radiation-induced lung injury: assessment, management, and prevention[J]. *Oncology (Williston Park)*, 2008, 22(1): 37–47.
- [20] JOHNSTON C J, WILLIAMS J P, OKUNIEFF P, et al. Radiation-induced pulmonary fibrosis: examination of chemokine and chemokine receptor families[J]. *Radiat Res*, 2002, 157(3): 256–265.
- [21] 张春阳, 祝艳, 冯华松, 等. 间充质干细胞对放射性肺损伤小鼠肺组织中 Wnt/ β -catenin 通路的影响[J]. *国际呼吸杂志*, 2018, 38(14): 1061–1066.
- [22] 郑凯, 赵兴旺, 杨顺良, 等. 骨髓间充质干细胞移植治疗大鼠急性放射性肺损伤[J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(50): 8122–8129.
- [23] 陈超维, 谢小雪, 金和坤, 等. 骨髓间充质干细胞移植预防放射性肺损伤及相关机制[J]. *湖南师范大学学报(医学版)*, 2018, 15(3): 19–24.
- [24] LI X, XU G X, QIAO T K, et al. Effects of CpG Oligodeoxynucleotide 1826 on transforming growth factor-beta 1 and radiation-induced pulmonary fibrosis in mice[J]. *J Inflamm (Lond)*, 2016, 13: 16.
(2022-09-09 收稿; 2023-01-09 修回)
(编辑: 陈仕红)

(上接第 202 页)

【参考文献】

- [1] 李斌. 国务院关于传染病防治工作和传染病防治法实施情况的报告[J]. *首都公共卫生*, 2013, 7(5): 193–195.
- [2] ZHANG Q M, AHMED N, GAO G F, et al. Inception of the modern public health system in China and perspectives for effective control of emerging infectious diseases: in commemoration of the 140th anniversary of the birth of the plague fighter Dr. Wu Lien-Teh[J]. *Virol Sin*, 2020, 35(6): 868–874.
- [3] ZHANG Q M, ZHANG F M, YANG B F. Pneumonic plague epidemic in Northeast China in 1910-1911: Dr. Wu Lien-Teh's epidemic preventive system for plague control[J]. *Front Med*, 2018, 12(1): 113–115.
- [4] MA Z L, LI Y L. Dr. Wu Lien-Teh, plague fighter and father of the Chinese public health system[J]. *Protein Cell*, 2016, 7(3): 157–158.
- [5] WU L T. A further note on natural and experimental plague in tarbagans[J]. *J Hyg (Lond)*, 1924, 22(3): 329–334.
- [6] WU L T, EBERSON F. Transmission of pulmonary and septicaemic plague among marmots[J]. *J Hyg (Lond)*, 1917, 16(1): 1–11.
- [7] WU L T. First report of the North Manchurian plague prevention service[J]. *J Hyg (Lond)*, 1913, 13(3): 237–290, 221.
- [8] FLOHR C. The plague fighter: Wu Lien-Teh and the beginning of the Chinese public health system[J]. *Ann Sci*, 1996, 53(4): 361–380.
- [9] 毛艳梅, 吴俊, 潘海峰, 等. 博学载医, 赤心爱国[J]. *中华疾病控制杂志*, 2019, 23(8): 1021–1024.
- [10] 伍连德. 20 世纪中国科学口述史 鼠疫斗士——伍连德自述[M]. 长沙: 湖南教育出版社, 2011.
- [11] 马学博. 伍连德学术生涯中的开创性理论建树[J]. *自然辩证法通讯*, 2007, 169(3): 73–76.
- [12] 张砺. “国士无双”伍连德[J]. *岭南往事*, 2019, 11(15): 58–61.
- [13] 王哲. 国士无双伍连德[M]. 北京: 世界知识出版社, 2020.
- [14] BOLLYKY T J, MURRAY C J L, REINER R C. Epidemiology, not geopolitics, should guide COVID-19 vaccine donations[J]. *Lancet*, 2021, 398(10295): 97–99.
- [15] FERNANDES Q, INCHAKALODY V P, MERHI M, et al. Emerging COVID-19 variants and their impact on SARS-CoV-2 diagnosis, therapeutics and vaccines[J]. *Ann Med*, 2022, 54(1): 524–540.
- [16] MOHAMMAD D, MOHAMMAD R N, FATEMEH H. Comparison between SARS, MERS and COVID-19 in diagnostic criteria[J]. *Medical Theory and Hypothesis*, 2022, 5(3): 5–8.
- [17] PEIRIS M, PERLMAN S. Unresolved questions in the zoonotic transmission of MERS[J]. *Curr Opin Virol*, 2022, 52: 258–264.
- [18] JACOB S T, CROZIER I, FISCHER W A, et al. Ebola virus disease[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2020, 6(1): 13.
- [19] ALSHARIF W, QURASHI A. Effectiveness of COVID-19 diagnosis and management tools: a review[J]. *Radiography (Lond)*, 2021, 27(2): 682–687.
(2023-01-20 收稿; 2023-02-21 修回)
(编辑: 陈仕红)