

本文引用: 瞿海龙, 周英莲, 张新欣, 等. 间充质干细胞治疗 ARDS 的新观点[J]. 医学研究与教育, 2018, 35(5): 7-11. DOI: 10.3969/j.issn.1674-490X.2018.05.002.

## • 临床医学 •

# 间充质干细胞治疗 ARDS 的新观点

瞿海龙, 周英莲, 张新欣, 彭广军

(河北大学附属医院急诊科, 河北 保定 071000)

**摘要:** 急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 多由重症感染和肺损伤引起, 可导致呼吸衰竭, 病死率高, 目前尚无特效治疗。间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 是成体多潜能干细胞, 可调节机体免疫反应, 促进受损组织修复, 使其治疗 ARDS 成为可能。动物实验显示 MSCs 可减轻细菌性肺炎和缺血再灌注诱导的肺损伤, 促进呼吸机相关肺损伤的修复。MSCs 可抑制机体的炎性反应、增强机体对细菌感染的抵抗力。MSCs 通过多种机制发挥治疗效应, 如细胞间的相互作用、可溶性因子和外泌体的旁分泌功能等。促进 MSCs 高表达抗炎分子和促修复分子, 能增强其治疗效果。MSCs 治疗 ARDS 已进入临床试验, 其结果显示机体具有良好耐受性。尽管目前 MSCs 要实现大规模移植仍存在很多问题, 如细胞的大量培养、细胞的效价和批次的差异等, 但 MSCs 独特的生物学效应, 使其成为治疗 ARDS 最有希望的一类干细胞。

**关键词:** 急性呼吸窘迫综合征; 间充质干细胞; 免疫反应

DOI: 10.3969/j.issn.1674-490X.2018.05.002

中图分类号: R563.8

文献标志码: A

文章编号: 1674-490X(2018)05-0007-05

## New insights: mesenchymal stem cells therapy for acute respiratory distress syndrome

JU Hailong, ZHOU Yinglian, ZHANG Xinxin, PENG Guangjun

(Emergency Department, Affiliated Hospital of Hebei University, Baoding 071000, China)

**Abstract:** Acute respiratory distress syndrome (ARDS) causes respiratory failure, which is associated with severe inflammation and lung damage and has a high mortality and for which there is no therapy. Mesenchymal stem cells (MSCs) are adult multi-progenitor cells that can modulate the immune response and enhance repair of damaged tissue and thus may provide a therapeutic option for ARDS. MSCs demonstrate efficacy in diverse models of in vivo ARDS, decrease bacterial pneumonia and ischemia-reperfusion-induced injury while enhancing repair following ventilator-induced lung injury. MSCs reduce the pro-inflammatory response to injury while augmenting the host response to bacterial infection. MSCs appear to exert their effects via multiple mechanisms—some are cell interaction dependent whereas others are paracrine dependent resulting from both soluble secreted products and microvesicles derived from the cells. Strategies to further enhance the efficacy of MSCs, such as by overexpressing anti-inflammatory or pro-repair molecules, are also being investigated. Encouragingly, early

收稿日期: 2018-03-15

第一作者: 瞿海龙 (1976—), 男, 河北涞水人, 副主任医师, 硕士, 主要从事急救医学临床与科研。

E-mail: hailongju1976@sina.com

通信作者: 彭广军 (1965—), 男, 河北枣强人, 主任医师, 硕士, 主要从事急救医学临床与科研。

E-mail: pgj650625@sina.com

phase clinical trials of MSCs in patients with ARDS are under way, and experience with these cells in trials suggests that the cells are well tolerated. Although considerable translational challenges, such as concerns regarding cell manufacture scale-up and issues regarding cell potency and batch variability, must be overcome, MSCs constitute a highly promising potential therapy for ARDS.

**Key words:** acute respiratory distress syndrome; mesenchymal stem cells; immune response

急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 可致严重呼吸衰竭, 占 ICU 住院患者的 10%, 病死率达 40%。ARDS 可由多种疾患引起, 如肺炎、全身感染、重大手术、多发伤等。根据柏林定义, 按患者缺氧程度可分为轻度、中度、重度。其临床症状主要表现为严重的呼吸困难、胸痛、紫绀, 影像学检查可见双肺渗出性病变。感染是引起 ARDS 的重要机制, 当肺实质被病原菌侵袭时, 中性粒细胞进入肺泡内, 释放出多种促炎因子, 如 IL-6、IL-1 $\beta$ 、IL-8 和 TNF- $\alpha$ , 引起氧自由基的过量产生, 破坏肺的屏障功能, 肺泡上皮细胞和肺毛细血管内皮细胞损伤, 通透性增加, 导致肺水肿的发生。晚期阶段可出现肺纤维化<sup>[1]</sup>。目前针对 ARDS 尚无特效治疗, 保护性肺通气策略和限制性液体策略仅仅是支持治疗。间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 具有独特生物学效应, 在 ARDS 的治疗中有众多效益。

## 1 MSCs 治疗 ARDS 的理论基础

MSCs 是一种成体多潜能干细胞, 可从骨髓、脐带血、脂肪等多种组织中提取获得, 能够向骨、软骨、脂肪组织等方向分化<sup>[2-3]</sup>。MSCs 能够治疗 ARDS, 主要源于其在机体受到损伤或感染时, 可降低宿主的免疫反应, 促进组织修复功能。有研究<sup>[4]</sup>显示, 在大肠杆菌内毒素诱导的小鼠肺损伤模型中, MSCs 可显著改善小鼠的生存率, 减轻肺损伤程度。该研究显示, MSCs 可通过抑制 TNF- $\alpha$  的释放、促进抗炎因子 IL-10 的分泌, 调节小鼠的免疫反应。另一项研究<sup>[5]</sup>显示, 对 MSCs 进行基因修饰后, 使其高表达血管生成素 1, 能够促进新生血管形成和生长, 与未转染的 MSCs 相比, 其治疗肺损伤效果更明显。有学者<sup>[6]</sup>发现, 对脓毒症大鼠进行 MSCs 治疗, 可调节巨噬细胞功能, 自身分泌抗菌肽, 促进肺泡内液清除, 发挥抗感染作用, 而且对于呼吸机相关肺损伤 (ventilator-induced lung injury, VILI) 具有修复作用。

MSCs 的免疫功能目前阐述的已比较明确, 其可促进调节性 T 淋巴细胞增殖, 抑制效应 T 细胞功能, 使宿主免疫反应得到抑制。而且 MSCs 可对 T 细胞、树突细胞、自然杀伤细胞进行修饰, 抑制此类细胞促炎因子的释放, 增加抗炎分子分泌。MSCs 还能够加强可溶性抗炎调节剂的释放, 如吲哚 2, 3 双加氧酶 (indoleamine 2, 3-dioxygenase, IDO)、前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE 2)、IL-10 等<sup>[7]</sup>。MSCs 可促进组织修复, 分泌多种生长因子, 如表皮生长因子 (keratinocyte growth factor, KGF)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 等。对于急性炎症性疾病如 ARDS, MSCs 移植并不引起宿主的显著免疫反应, 能够实现同种异体间的移植。

## 2 MSCs 治疗 ARDS 的动物研究

众多动物实验表明, MSCs 治疗 ARDS 具有确切疗效, 包括肺炎、VILI、脓毒症。一项小鼠实验<sup>[8]</sup>表明, 对于由大肠杆菌诱导的 ARDS, 应用 MSCs 可抑制机体氧化应激反应, 提高小鼠存活率, 减轻肺损伤, 减少肺水肿发生。将人骨髓源性 MSCs 移植到大鼠 ARDS 模型中, 通过增加抗菌肽的分泌、增强

巨噬细胞的吞噬功能，进而减少肺组织内细菌负荷。而且 MSCs 还可降低肺泡内 IL-6 的浓度、提高抗炎因子 IL-10 和 KGF 含量。Asmussen 等<sup>[9]</sup>对大型动物进行研究，通过吸入烟雾和绿脓杆菌将绵羊制成 ARDS 模型，将临床治疗剂量的 MSCs 移植到模型体内，可明显减轻肺水肿的发生，且无任何不良反应。MSCs 能够清除肺水肿，其机制与增强巨噬细胞吞噬能力、KGF 的抗菌效应有关。

既往研究表明，MSCs 可促进 VILI 的肺修复。实施高容通气前，将 MSCs 注入宿主体内，可预防 VILI 的发生，减少肺水含量，提高肺组织评分。而且肺泡灌洗液内中性粒细胞计数、巨噬细胞炎性蛋白含量和 IL-1 $\beta$  显著降低<sup>[10]</sup>。Curley 等<sup>[11]</sup>将大鼠 MSCs 和 MSCs 分泌组蛋白通过气管途径与静脉途径分别植入体内，观察对高压通气 VILI 的影响。结果表明 MSCs 可改善肺组织的顺应性，促进肺结构修复，降低肺泡灌洗液内 IL-6 和 TNF- $\alpha$  浓度。

### 3 增强 MSCs 疗效策略

早期研究<sup>[12]</sup>显示，通过提高 MSCs 高表达，可增强 MSCs 治疗效应，尤其是血管生成素 1 的表达。近年实验<sup>[13]</sup>表明，MSCs 高表达血管紧张素转化酶 2 (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2) 能够促进内皮修复，减少炎性因子 TNF- $\alpha$  和 IL-6 分泌。ACE2 可减轻炎症反应，抑制血管紧张素 II 对内皮细胞的促凋亡作用。而且 ACE2 还具有减轻肺水肿、抑制肺纤维化的作用。在脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤模型中，高表达可溶 IL-1 受体样因子的 MSCs，在肺组织内能够发挥免疫调节作用，减轻炎症反应，肺泡灌洗液内中性粒细胞计数明显减少<sup>[14]</sup>。

### 4 MSCs 的条件培养基

MSCs 通过旁分泌机制发挥治疗效应。MSCs 的条件培养基 (MSC-CM) 可减轻肺损伤、促进肺组织结构修复、降低肺泡液内 IL-6 和巨噬细胞炎性蛋白 2 浓度。这些效应与核因子  $\kappa$ B p65 和磷酸  $\kappa$ B p65 在肺组织内的表达减少有关<sup>[15]</sup>。同时 MSC-CM 还可减少 Bcl-xL 和 Mcl-1 表达，诱导中性粒细胞凋亡。MSC-CM 通过提高胰岛素样生长因子 1 表达，活化 M2 型巨噬细胞，增强抗炎效果。MSC-CM 还可促进 VILI 修复，将培养基提取物通过气道移植到肺组织，可改善高压通气导致的肺损伤，提高氧合和肺顺应性。有研究<sup>[6]</sup>显示，在 VILI 早期阶段应用 MSCs 和 MSC-CM 混合物，可减轻肺水肿，显著改善血氧饱和度与呼吸系统顺应性。如单独应用 MSC-CM 治疗 VILI，并不能显著改善肺功能，表明 MSCs 的治疗效应并不全部来源于其旁分泌功能。

### 5 MSCs 的微泡和外泌体

MSCs 的部分功效源于其释放的微粒，尤其是携带基因物质的微泡与外泌体。对脂多糖诱导的肺损伤模型进行研究，骨髓源性 MSCs 分泌的微泡可显著减轻肺水肿，降低肺泡内蛋白含量和中性粒细胞数量，这些效应与其促进 KGF 的表达有关。Islam 等<sup>[16]</sup>研究表明，将 MSCs 移植到肺损伤的小鼠体内，含有线粒体的微泡可通过缝隙连接进入肺泡上皮细胞，参与肺组织修复，而对于缺乏线粒体或缝隙连接的 MSCs，其修复作用消失。另一项研究<sup>[17]</sup>应用大肠杆菌制作小鼠肺炎模型，将人 MSCs 源性微泡移植其体内，可提高小鼠存活率，减少肺组织细菌负荷，降低肺泡内蛋白及细胞因子含量。而且显著提高了单核细胞的吞噬能力。

## 6 MSCs 的临床应用

MSCs 治疗 ARDS 具有独特优势，为其临床应用奠定了理论基础。目前 MSCs 已进入早期临床实验阶段。START 实验纳入了 9 例患者，分别通过静脉途径接受每公斤体重  $1 \times 10^6$ 、 $5 \times 10^6$ 、 $10 \times 10^6$  人骨髓 MSCs，结果表明没有任何不良事件发生，该研究小组已进入 2 期临床实验阶段<sup>[18]</sup>。另一项 1 期临床研究<sup>[19]</sup>，将脂肪来源的异体 MSCs 移植到 12 例患者体内，采取的移植途径是静脉滴注法，移植的数量为每公斤体重 100 万干细胞。该实验同样证明 MSCs 是安全的，未发生毒副作用。而且在移植 5 d 时，表面活性蛋白 D 水平明显低于未移植组，但 IL-6、IL-8 的浓度与对照组相比无明显差异。该研究小组计划在随后的 2 期临床试验提高移植 MSCs 数量，进一步观察其临床效果。考虑到很多 ARDS 是由脓毒症所致，目前加拿大正在进行一项早期临床研究，应用 MSCs 治疗感染性休克患者（NCT02421484），如果能够取得较好疗效，无疑会显著降低 ARDS 的发生。

## 7 MSCs 治疗 ARDS 面临的挑战

尽管 MSCs 治疗 ARDS 在动物研究与临床早期实验取得了可喜成绩，但要广泛应用于临床仍有许多问题亟待解决。首先不同捐献者、不同批次的 MSCs 存在差异，致使这些干细胞在有效性、安全性方面不尽相同，目前尚无对 MSCs 质控存在统一标准。有研究<sup>[20]</sup> 显示，细胞能动性可预测 MSCs 的分化潜能，可用于评估 MSCs 治疗某些疾病的可行性。另一项研究<sup>[21]</sup> 显示，从年轻小鼠中提取的 MSCs 较老年小鼠 MSCs 更具有生物活性，可显著减轻肺纤维化。其次要想获取大量 MSCs 即需要很长时间进行培养，又需要很大经济投入。目前临床实验每个患者应用大约 10 亿个 MSCs，这个数量的干细胞在体内是否有效尚不明确。脂肪组织、脐带血及骨髓均可作为 MSCs 的来源，但不同组织来源的干细胞进入机体是否存在相同疗效，目前尚无定论。

总之，MSCs 的多向分化潜能和免疫调节功能，使其在修复肺泡上皮、促进肺水清除具有独特生物学效应，使其成为治疗 ARDS 最有希望的一类干细胞。

### 参考文献：

- [1] KHAN A, BENTHIN C, ZENO B, et al. A pilot clinical trial of recombinant human angiotensin-converting enzyme 2 in acute respiratory distress syndrome[J]. Crit Care, 2017, 21(1): 234. DOI: 10.1186/s13054-017-1823-x.
- [2] COSENZA S, RUIZ M, TOUPET K, et al. Mesenchymal stem cells derived exosomes and microparticles protect cartilage and bone from degradation in osteoarthritis[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 16214. DOI: 10.1038/s41598-017-15376-8.
- [3] 瞿海龙, 梁璐, 边剑飞, 等. 间充质干细胞在癌症治疗中的应用潜能[J]. 医学研究与教育, 2015, 32 (5): 93-97. DOI: 10.3969/j.issn.1674-490X.2015.05.023.
- [4] 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]. J Immunol, 2007, 179(3): 1855-1863.
- [5] MEI S H, MCCARTER S D, DENG Y, et al. Prevention of LPS-induced acute lung injury in mice by mesenchymal stem cells overexpressing angiopoietin 1[J]. PLoS Med, 2007, 4(9): e269.
- [6] HAYES M, CURLEY G F, MASTERTON C, et al. Mesenchymal stromal cells are more effective than the MSC secretome in diminishing injury and enhancing recovery following ventilator-induced lung injury[J]. Intensive Care Med Exp, 2015, 3(1): 29. DOI: 10.1186/s40635-015-0065-y.
- [7] KARIMINEKOO S, MOVASSAGHPOUR A, RAHIMZADEH A, et al. Implications of mesenchymal stem cells in regenera-

tive medicine[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2016, 44(3): 749-757. DOI: 10.3109/21691401.2015.1129620.

[8] SHALABY S M, EL-SHAL A S, ABD-ALLAH S H, et al. Mesenchymal stromal cell injection protects against oxidative stress in *Escherichia coli*-induced acute lung injury in mice[J]. *Cytotherapy*, 2014, 16(6): 764-775. DOI: 10.1016/j.jcyt.2013.12.006.

[9] ASMUSSEN S, ITO H, TRABER D L, et al. Human mesenchymal stem cells reduce the severity of acute lung injury in a sheep model of bacterial pneumonia[J]. *Thorax*, 2014, 69(9): 819-825. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2013-204980.

[10] CHANG Y S, CHOI S J, SUNG D K, et al. Intratracheal transplantation of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells dose-dependently attenuates hyperoxia-induced lung injury in neonatal rats[J]. *Cell Transpla*, 2011, 20(11/12): 1843-1854. DOI: 10.3727/096368911X565038.

[11] CURLEY G F, ANSARI B, HAYES M, et al. Effects of intratracheal mesenchymal stromal cell therapy during recovery and resolution after ventilator-induced lung injury[J]. *Anesthesiology*, 2013, 118(4): 924-932. DOI: 10.1097/ALN.0b013e318287ba08.

[12] 瞿海龙, 周英莲, 张新欣, 等. 间充质干细胞介导的肺损伤修复多重效应[J]. 医学研究与教育, 2017, 34(4): 46-51. DOI: 10.3969/j.issn.1674-490X.2017.04.010.

[13] HE H L, LIU L, CHEN Q H, et al. MSCs modified with ACE2 restore endothelial function following LPS challenge by inhibiting the activation of RAS[J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(3): 691-701. DOI: 10.1002/jcp. 24794.

[14] MARTINEZ-GONZALEZ I, ROCA O, MASCLANS J R, et al. Human mesenchymal stem cells overexpressing the IL-33 antagonist soluble IL-1 receptor-like-1 attenuate endotoxin-induced acute lung injury[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 49(4): 552-562. DOI: 10.1165/rccm.2012-0406OC.

[15] ANDERSON J D, JOHANSSON H J, GRAHAM C S, et al. Comprehensive proteomic analysis of mesenchymal stem cell exosomes reveals modulation of angiogenesis via nuclear factor- $\kappa$ B signaling[J]. *Stem Cells*, 2016, 34(3): 601-613. DOI: 10.1002/stem.2298.

[16] ISLAM M N, DAS S R, EMIN M T, et al. Mitochondrial transfer from bone-marrow-derived stromal cells to pulmonary alveoli protects against acute lung injury[J]. *Nat Med*, 2012, 18(5): 759-765. DOI: 10.1038/nm.2736.

[17] MONSEL A, ZHU Y G, GUDAPATI V, et al. Mesenchymal stem cell derived secretome and extracellular vesicles for acute lung injury and other inflammatory lung diseases[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2016, 16(7): 859-871. DOI: 10.1517/14712598.2016.1170804.

[18] WILSON J G, LIU K D, ZHUO H, et al. Mesenchymal stem (stromal) cells for treatment of ARDS: a phase 1 clinical trial[J]. *Lancet Respir Med*, 2015, 3(1): 24-32. DOI: 10.1016/S2213-2600(14)70291-7.

[19] ZHENG G, HUANG L, TONG H, et al. Treatment of acute respiratory distress syndrome with allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells: a randomized, placebo-controlled pilot study[J]. *Respir Res*, 2014, 15(1): 39. DOI: 10.1186/1465-9921-15-39.

[20] BERTOLO A, GEMPERLI A, GRUBER M, et al. In vitro cell motility as a potential mesenchymal stem cell marker for multipotency[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4(1): 84-90. DOI: 10.5966/sctm.2014-0156.

[21] TASHIRO J, ELLIOT S J, GERTH D J, et al. Therapeutic benefits of young, but not old, adipose-derived mesenchymal stem cells in a chronic mouse model of bleomycin-induced pulmonary fibrosis[J]. *Transl Res*, 2015, 166(6): 554-567. DOI: 10.1016/j.trsl.2015.09.004.

(责任编辑: 刘俊华)