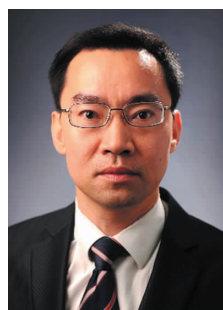


间充质干细胞对重症支气管哮喘治疗作用的研究进展

蔡亮鸣 王昭妮 陈壮桂



通讯作者简介: 陈壮桂, 中山大学附属第三医院儿科重症监护室主任, 主任医师, 医学博士, 博士生导师, 新加坡国立大学医学院访问学者。长期从事儿童呼吸与危重症医学的临床和研究工作, 擅长干细胞在儿童危重疾病的临床治疗与研究, 儿童支气管哮喘的诊断与治疗, 儿童过敏性鼻炎及相关疾病的诊断与治疗。有关成果以论著形式发表在国内外核心期刊, 获国家专利 3 项。目前承担国家自然科学基金面上项目、广东省自然科学基金面上项目、广东省科技计划项目、广州市产学研协同创新重大专项等多项课题。

【摘要】 支气管哮喘(哮喘)是一种常见的气道慢性疾病, 糖皮质激素、 β 受体激动剂和白三烯受体拮抗剂单独或联合使用是目前该病的一线治疗策略。然而, 即使给予了充分的治疗, 仍有部分患儿的临床症状不受控制, 最终形成重症哮喘。因此, 寻找新的治疗措施迫在眉睫。间充质干细胞(MSCs)是一种具有多向分化潜能的干细胞, 具有明显的抗炎、调节免疫作用, 是哮喘潜在的治疗措施。该文重点讨论近年来 MSCs 在哮喘治疗方面的研究成果及进展。

【关键词】 重症支气管哮喘; 间充质干细胞; 研究进展; 治疗

Research progress in therapeutic action of mesenchymal stem cell in severe bronchial asthma Cai Liangming, Wang Zhaoni, Chen Zhuanggui. Department of Pediatric Intensive Care Unit, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China

Corresponding author, Chen Zhuanggui, E-mail: chenzhuanggui@126.com

【Abstract】 Bronchial asthma is a common chronic airway disease. Single or combined use of glucocorticoid, β -adrenoceptor agonist and leukotriene receptor antagonist are currently the first-line treatment of bronchial asthma. However, even after comprehensive treatment, relevant clinical symptoms cannot be controlled and subsequently progress into severe bronchial asthma in certain affected children. Therefore, novel therapeutic interventions are to be urgently explored. Mesenchymal stem cells (MSCs), as multi-potential stem cells, have been proven to play an important role in anti-inflammation and immune regulation. MSCs serve as a novel treatment of bronchial asthma. This article focuses on recent achievement and research progress of application of MSCs in the treatment of bronchial asthma.

【Key words】 Severe bronchial asthma; Mesenchymal stem cell; Research progress; Treatment

支气管哮喘(哮喘)是一种由多种原因引起, 以慢性呼吸道炎症、气道高反应性和气道重塑为特征的呼吸道疾病, 典型的临床表现包括喘息、气促、胸闷、咳嗽在内的多种呼吸系统症状, 并常常在肺功能检查时表现为呼气性气流受

限。在不同的国家, 哮喘的患病人口占总人口的比例为 1%~18%^[1]。尽管目前糖皮质激素联合短效 β 受体激动剂已被推荐为治疗哮喘的一线方案, 但仍有部分哮喘患者在规范使用 3 种及以上的药物后仍无法获得缓解, 成为所谓的严重治

疗抵抗型哮喘 (STRA), 最终发展为重症哮喘/难治性哮喘。重症哮喘患者约占哮喘总体患病人群的 5%~10%, 但其医疗资源的消耗却是普通患者的 15 倍, 病死率则超过普通患者的 20 倍, 严重影响患者的生活质量, 造成巨大的社会负担^[2]。因此, 探究该部分患者的遗传特性、病理生理及临床特点, 寻找新的治疗措施, 对这类患者的长期治疗和管理有重要的临床实践意义。

间充质干细胞 (MSCs) 是一种在多种组织中出现的具有多向分化潜能的成体干细胞。近年来研究纷纷揭示 MSCs 与免疫系统的相互作用及其背后的机制, 明确 MSCs 具有明显的抗炎、调节免疫、促进组织修复的作用。已有许多研究证实了 MSCs 治疗免疫相关性疾病的可行性, 其中不乏 MSCs 与哮喘治疗的研究, 提示了 MSCs 作为治疗哮喘新手段的可能。本文就近年来关于重症哮喘的发病机制、MSCs 的种类、特点及其机制, 以及使用 MSCs 治疗哮喘和其他免疫相关性疾病的研究进展综述如下。

一、重症哮喘的发病机制

目前, 国内外仍未对重症哮喘作统一定义。2010 年中华医学会呼吸病学分会哮喘学组为重症哮喘的诊断制定了 3 条标准: ①按照我国哮喘防治指南中的哮喘诊断标准被确诊为哮喘; ②排除患者治疗依从性差和各种诱发加重或使哮喘难以控制的因素; ③根据我国哮喘防治指南, 采用第 4 级治疗方案 (使用 2 种以上控制性药物规范治疗) 超过 6 个月, 仍不能控制哮喘^[3]。而 2013 年美国胸科学会/欧洲呼吸学会则把重症哮喘的定义更新为: 被确诊为哮喘, 在过去 1 年里采用全球哮喘防治倡议 (GINA) 推荐的 4~5 级哮喘药物治疗方案并去除诱发因素后仍不能控制的哮喘; 或得到控制的哮喘在糖皮质激素减量后发生恶化^[4]。

与普通哮喘不同, 重症哮喘有着独特的发病机制, 主要表现为以中性粒细胞为主的炎症反应、气道上皮损伤、气道重塑以及糖皮质激素抵抗。

1. 免疫失衡

哮喘气道局部伴有气道炎症, 但在不同程度的哮喘患者气道中可以发现不同的气道炎症表型^[5]。Gibson 等^[6]对哮喘成年患者的诱导痰液进行检查分析, 根据气道内浸润的炎症细胞种类

将其细胞表型分为 3 种。在轻、中度哮喘患者中, 嗜酸性粒细胞增多型最常见, 约占全部哮喘患者的 50%。而中性粒细胞增多型则多见于重症哮喘患者。少炎症细胞型主要以气道平滑肌的增生肥大为主, 气道内炎症细胞数量不增多^[6]。但在重症哮喘儿童患者中, 浸润的炎症细胞却以嗜酸性粒细胞为主, 而且其炎症反应也并非以辅助性 T 淋巴细胞 2 (Th2) 型炎症反应为主, 该表现的原因还有待进一步研究证实^[7]。

炎症细胞表型的转换, 可能与 Th17 产生的 IL-17 有关。Zhao 等^[8]采用脂多糖对哮喘小鼠模型进行刺激, 使其气道炎症细胞表型从嗜酸性粒细胞型转变为中性粒细胞型, 该表型的小鼠脾与肺淋巴结中的 Th17 明显增加, 支气管肺泡灌洗液中 IL-17 的浓度也上升, 且气道黏液分泌减少, IL-4 与 IL-5 浓度下降。如果实验对象改为 IL-17A 基因敲除小鼠, 则其气道炎症细胞表型不发生转变, 上述现象也不出现。IL-17 的这种作用被认为与其参与炎症细胞的募集和调控细胞因子产生有关。在中性粒细胞表型的哮喘小鼠模型中可以发现 TNF- α 、趋化因子配体 1 (CXCL1)、CXCL2 和 CXCL5 升高, 同时还存在糖皮质激素抵抗。中和 Th17 信号通路能减少气道局部中性粒细胞数量以及减轻肺部炎症反应^[9]。这些研究均说明 IL-17 在与轻、中度哮喘有着不同炎症细胞表型的重症哮喘发病中具有重要作用。

持续的气道炎症难以控制, 被募集到局部的炎症细胞可以持续产生多种细胞因子, 从而参与气道的损伤修复过程, 这是重症哮喘难以控制的原因之一。

2. 气道结构改变

哮喘的一大特征是气道重塑。近年的研究显示, 各种外界刺激因素如吸入性变应原、微生物、工业粉尘等, 能诱发哮喘上皮细胞损伤, 引发机体的损伤修复过程。在长期慢性的气道炎症刺激下, 气道局部炎症因子释放, 气道上皮会发生病态的组织修复, 包括气道上皮细胞外基质 (ECM) 增多、平滑肌增生、上皮纤维化, 即形成气道重塑。重塑的气道发生狭窄, 这种气道结构的改变是不可逆的, 从而形成持续性气流受限, 这是重症哮喘的特征性改变^[10-12]。

在重症哮喘气道重塑的过程中, 成纤维细胞

起着关键作用。成纤维细胞是引起气道结构重塑最主要的细胞,与 ECM 的合成密切相关,还能在损伤区发生表型改变,转化为肌成纤维细胞,而后者也能够合成 ECM,并且转化为增生、肥大的气道平滑肌^[13]。2015 年的一项研究显示,将肺成纤维细胞株与哮喘患者气道上皮细胞共培养,其向肌成纤维细胞的分化潜能明显提升;相反,与健康对照组气道上皮细胞共培养的肺成纤维细胞株则无此改变,说明哮喘中成纤维细胞的转化可能与哮喘气道局部微环境有关^[14]。而另一研究团队则发现,哮喘患者成纤维细胞具有较大的细胞黏附斑及更多的弹力纤维等细胞骨架;相对健康人群,哮喘患者成纤维细胞的静态张力更强,更易于向肌成纤维细胞转化^[15]。成纤维细胞在重症哮喘气道重塑中的作用及其机制已成为哮喘气道重塑研究领域的一大热点。

3. 糖皮质激素抵抗

吸入性糖皮质激素 (ICS) 是哮喘患者的常用药物,严重者可口服或者静脉使用。但对重症哮喘患者来说,大剂量的糖皮质激素并不能改善其症状和肺功能,表明在这部分患者身上存在着糖皮质激素抵抗。

糖皮质激素是脂溶性分子,能透过细胞膜进入细胞内,与糖皮质激素受体 α (GR- α) 结合并进入细胞核内参与基因转录的调控,一方面促进抗炎细胞因子的转录,另一方面抑制炎症转录因子发挥作用,从而抑制炎症。在重症哮喘患者中可以检测到下气道局部丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 水平升高^[16]。其中 p38 MAPK 亚型被发现与重症哮喘的糖皮质激素抵抗有关。长期慢性的气道炎症导致局部 IL-4、IL-13 分泌增加,激活 p38 MAPK 通路,磷酸化 GR- α ,降低 GR- α 与糖皮质激素亲和力^[17]。有学者通过敲除 MAPK 内源性抑制剂——丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶-1 (MKP-1) 基因发现小鼠可出现与重症哮喘患者类似的糖皮质激素抵抗现象^[18]。国内也有学者提出,糖皮质激素能减少哮喘时气道局部的嗜酸性粒细胞、淋巴细胞浸润,对重症哮喘中最为多见的中性粒细胞浸润的影响不大^[19]。中性粒细胞浸润引起 Th17 聚集,IL-17 释放增加,IL-17 促进 GR- β 表达增加,竞争性抑制 GR- α 的抗炎作用,重症哮喘的糖皮质激素抵抗也可能与此有关^[20]。

二、MSCs 的种类及特点

MSCs 来源于发育早期的中胚层,是一种具有高度自我更新能力、多向分化潜能的多能干细胞。早在 1974 年, *Friedenstein* 等^[21] 就从骨髓中分离出贴壁细胞,这些细胞具有分化成骨和软骨细胞的能力,是位于骨髓中的 MSCs。MSCs 具有 3 个独特的生物学特性:①自我更新, MSCs 能高度增殖及自我更新;②多向分化, MSCs 具有多向分化潜能,可分化成骨细胞、心肌细胞、星型胶质细胞等;③低免疫原性,根据国际细胞治疗协会对 MSCs 细胞表面标志的规定, MSCs 高表达 CD73、CD90 和 CD105 (阳性率 $\geq 95\%$),低表达 CD45、CD34、CD11、CD14、CD19 和 I 类人类白细胞抗原 (HLA) (阳性率 $\leq 2\%$),不表达 II 类 HLA^[22-23]。MSCs 细胞表面抗原不能诱导免疫排斥反应,能逃避宿主免疫细胞攻击^[24]。目前已发现, MSCs 可来源于各种组织,如骨髓、肝脏、肌肉、肺脏、脂肪、脐带、牙髓等^[25-27]。

1. 骨髓间充质干细胞 (BM-MSCs)

BM-MSCs 在骨髓有核细胞中仅占 0.001% ~ 0.01%,但在适当情况下可以迅速增殖并向多种细胞表型分化,可分化为内胚层细胞如肝细胞,中胚层细胞如成骨细胞、脂肪细胞,外胚层细胞如神经细胞。BM-MSCs 具有来源丰富、易于体外扩增、易于保持细胞干性、异体移植排斥反应小等优点,是近年来干细胞研究的热点^[28]。

BM-MSCs 的快速增殖能力可能与其存在特殊的细胞亚群有关。周征等^[29]通过检测体外培养的成人 BM-MSCs 细胞周期,发现 2 个 BM-MSCs 亚群:呈梭形的成熟 BM-MSCs (mMSC) 和呈圆形的快速增殖 BM-MSCs (RS 细胞)。99% 的 RS 细胞处于 G0/G1 期,而 90% 的 mMSC 处于 G0/G1 期。RS 细胞的 CD90、CD105、CD166、CD29、CD44、CD49e、CD54、CD13 抗原表达阳性率低于 mMSC,而 CD117 和 KDR 抗原表达阳性率则高于 mMSC。与 mMSC 相比,RS 细胞具有更强的自我更新和多向分化潜能。

Abreu 等^[30]于卵蛋白致敏的小鼠模型的气道注入 BM-MSCs,小鼠气道高反应性和气道阻塞明显好转,IL-4、IL-5、IL-13、 γ 干扰素明显下降,小鼠哮喘症状获得有效改善。国内亦有学者将 BM-MSCs 与重症哮喘患儿外周血 Th17 和调节性 T 淋巴细胞 (Treg) 共同培养,结果显示

Th17 细胞分化与 IL-17 分泌受抑制,哮喘患儿的免疫失衡状态得到改善,提示 BM-MSCs 在重症哮喘治疗方面具有针对性^[31]。

2. 脐带间充质干细胞 (hUC-MSCs)

hUC-MSCs 是一种来源于脐带 (主要是华通胶) 的 MSCs。与传统骨髓来源的 MSCs 相比, hUC-MSCs 具有取材方便、易于采集、生物学特性稳定、容易免疫耐受、无排斥反应、无伦理问题等优点, 在应用 MSCs 治疗临床疾病的过程中已逐渐取代 BM-MSCs 成为干细胞治疗的主要来源。

hUC-MSCs 与 BM-MSCs 一样, 不表达 HLA 分子, 包括 HLA-DR、HLA-DP、HLA-DA, 也不表达细胞表面共刺激分子 CD80、CD86 和 CD40。但 hUC-MSCs 表面会表达免疫抑制因子 HLA-G 以及 IL-10、IL-6、转化生长因子- β (TGF- β) 和血管内皮生长因子 (VEGF), 能有效诱导免疫耐受, 使 hUC-MSCs 具有低免疫原性^[32]。

hUC-MSCs 具有良好的组织修复能力, 能在体外培养的条件下诱导分化为神经样细胞、胰岛素 β 细胞、生殖细胞等, 并在创伤修复、神经再生中发挥重要作用, 在临床具有良好的应用前景^[33]。目前, hUC-MSCs 对 SLE 这一自身免疫性疾病的治疗已进入临床研究阶段, 相关结果显示其具有良好的疗效与安全性^[34]。

3. 脂肪间充质干细胞 (ADSCs)

ADSCs 是来源于成体脂肪组织的一种 MSCs。与胚胎干细胞相比, ADSCs 不具有体外无限增殖特性, 虽然其在体外增长速度快, 且具有多向分化潜能, 但关于 ADSCs 的致瘤作用目前未见报道, 在安全性方面具有明显优势^[35]。同时, ADSCs 来源于个体脂肪组织, 不存在伦理学争议, 具有更好的临床应用前景。

与 BM-MSCs 一样, ADSCs 同样具有低免疫原性、多向分化潜能。BM-MSCs 主要通过骨髓穿刺获取, 而 ADSCs 则主要通过腹股沟皮下脂肪进行组织消化得到。和 BM-MSCs 相比, ADSCs 取材更易, 而且对患者侵害性小, 一次取材获取细胞数量多, 取材后经过处理能直接作用于细胞, 是干细胞治疗较好的细胞来源^[36]。但目前 ADSCs 依然存在提取培养技术不统一、缺乏临床实验等问题, 要在临床中真正应用 ADSCs, 尚需大量临床研究的支持。ADSCs 已在与

哮喘具有类似免疫异常的难治性克罗恩病患者身上获得良好成效^[37]。

4. 牙龈间充质干细胞 (GMSCs)

GMSCs 是近年来干细胞研究领域的热点。GMSCs 是存在于牙龈口腔黏膜的一种 MSCs。GMSCs 与其他 MSCs 一样具有多向分化、自我更新、低免疫原性的生物学特征。但与 BM-MSCs 相比, GMSCs 的自我更新增殖能力更强^[38]。由于其具有明显的免疫调节作用, 对 T 淋巴细胞、固有免疫细胞如巨噬细胞和自然杀伤细胞均有效应, 能有效发挥抗炎作用, 所以已有不少学者关注其在免疫相关疾病中的疗效。

目前 GMSCs 已能在组织再生修复、接触性皮炎、免疫排斥反应中发挥良好作用^[39]。但是需要注意的是, 当 GMSCs 被移植入免疫功能不全的小鼠皮下时, 可有两胚层细胞 (畸胎瘤样) 生成, 这有可能限制了其在免疫抑制患者中的应用^[40]。要将 GMSCs 真正应用于临床治疗, 还需要对 GMSCs 在不同条件下的免疫调节、组织再生作用及其机制作进一步研究。

三、MSCs 治疗哮喘的机制

MSCs 具有低免疫原性的生物学特性, 还具有一定的免疫调节作用。以往已有大量研究证实 MSCs 能有效改善疾病模型的病情, 但其具体机制尚未明确, 这限制了 MSCs 的临床应用。目前关于 MSCs 治疗哮喘, 主要有以下几种潜在机制。

1. MSCs 迁移、定植于局部并分化为组织细胞

组织发生病变后可以通过释放多种趋化因子, 引导血管中干细胞发生迁移并发生局部定植。外源性的 MSCs 可以在脉管系统中被捕获并通过血管内皮迁移进入靶组织, 即发生归巢^[41]。既往学者们认为, MSCs 在动物模型中只有少部分细胞发生定植与分化^[42]。有学者将绿色荧光蛋白标记的 BM-MSCs 注入小鼠体内, 发现定植至肺的干细胞并不能分化为 II 型肺泡上皮细胞^[43]。但近年来的研究却显示, MSCs 在体内可以分化成为 I 型和 II 型肺泡上皮细胞并参与组织再生修复^[44]。另一项关于急性肺损伤的研究也显示, 急性损伤的肺组织可以通过趋化因子促进 MSCs 向局部聚集并分化, 参与病变组织的修复^[45]。

2. MSCs 通过刺激内源性祖细胞增生促进气道局部修复

MSCs 在发生归巢定植到病变部位以后, 能通过改变局部细胞外微环境使内源性祖细胞发生趋化、定植、增生、分化, 修复损伤组织。Muñoz 等^[46]发现, 将 MSCs 局部移植至小鼠海马回区, 能促进内源性神经干细胞从外周向损伤的海马回区聚集并增生分化成为神经细胞。亦有研究显示, 循环中的肌成纤维细胞参与了损伤后的组织修复, 可以迁移至肺, 这种作用与 MSCs 有关^[47]。但 Saunders 等^[48]则认为, 循环中的 MSCs 分化为成纤维细胞, 这些分化后的细胞再迁移进入气道壁, 增加哮喘气道中的肌成纤维细胞。所以 MSCs 可能参与哮喘气道重塑和肌成纤维细胞的迁移, 但其具体机制以及与哮喘发生发展的关系仍有待进一步研究。

3. MSCs 通过免疫调节作用影响哮喘患者免疫反应

MSCs 能通过多种方式影响哮喘的病理生理过程, 调节失衡的免疫系统, 从而发挥改善病情、治疗疾病的作用。MSCs 的免疫调节作用可以通过多种免疫细胞、免疫因子来实现。MSCs 可以通过分泌免疫调节因子影响免疫细胞反应。Kavanagh 等^[49]发现, MSCs 可以通过产生大量 TGF- β 促进 Treg 向气道炎症局部聚集, 抑制 IL-4、IL-13 等 Th2 型细胞因子的产生。MSCs 还可以通过影响细胞分化, 增加 T 淋巴细胞分化过程中 CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ Treg 的比例、抑制 Th1 的产生, 从而发挥抗炎、抑制免疫的作用^[50]。

MSCs 除了通过免疫调节作用抑制哮喘气道炎症外, 还能改善哮喘气道高反应性。目前已有学者发现, MSCs 可通过抑制 TH17 信号通路, 改善中性粒细胞哮喘动物模型的气道高反应性^[51]。Mathias 等^[52]发现, MSCs 的这种作用可能与其直接作用于巨噬细胞并促进 IL-10 分泌有关。在巨噬细胞缺乏的环境下, MSCs 不能发挥抑制免疫、改善哮喘症状的作用。

MSCs 治疗哮喘的具体机制尚未明确, 目前关于 MSCs 通过免疫调节作用改善病情的假说被更多学者所接受。在临床运用 MSCs 治疗哮喘前, 仍需要作进一步研究以揭示 MSCs 治疗哮喘的具体分子机制。

四、MSCs 与哮喘治疗

GINA 推荐使用以糖皮质激素为首的抗炎药物, 联合长效 β_2 受体激动剂, 以迅速、持久地缓解哮喘症状, 达到控制病情、降低气道高反应性、减少发作的目的, 从而预防多次发作引起气道重塑的发生^[1]。但是临床实践表明重症哮喘患者是哮喘治疗的难点^[2]。因此需探索新的哮喘治疗方法。

1. MSCs 与哮喘炎症反应

既往认为哮喘是 Th2 型免疫反应为主导的气道慢性炎症。近年的研究逐渐证实, 哮喘的慢性炎症反应是由多种炎症细胞、炎症介质相互作用、共同主导的一种病理改变。目前在临床上主要采用吸入糖皮质激素来抑制哮喘的炎症反应, 但糖皮质激素并不能使所有患者达到完全缓解。

Ahmadi 等^[53]对致敏的哮喘小鼠实施 BM-MSCs 移植, 发现 MSCs 移植能明显降低哮喘小鼠的气道高反应性和气道嗜酸性粒细胞及中性粒细胞的水平; 对使用卵清蛋白致敏的过敏性鼻炎并哮喘小鼠模型进行 MSCs 移植, 则发现大量 MSCs 迁移进入气道炎症局部, 而支气管肺泡灌洗液中 IL-4、IL-5、IL-13 和一氧化氮的浓度明显下降^[54]。卵清蛋白致敏的哮喘小鼠模型接受 MSCs 移植后, 其气道局部 CD4⁺ CD25⁺ T 淋巴细胞的数量上调, 继而减轻气道炎症反应^[55]。上述研究说明, MSCs 能通过迁移作用聚集到哮喘气道局部, 并抑制局部气道的炎症反应。

2. MSCs 与哮喘气道重塑

长期慢性气道炎症引起的气道重塑也是哮喘的病理改变。气道平滑肌细胞的增生与肥大以及气道上皮下纤维化与哮喘气道重塑的过程密不可分。气道内移植 MSCs 可以明显降低支气管肺泡灌洗液中 IL-4 的水平, 同时明显升高 IL-12 水平, 使气道黏膜上皮内杯状细胞的增生和黏液分泌减少, 抑制气道上皮下纤维化^[56]。有学者将绿色荧光蛋白标记的 MSCs 注入卵清蛋白致敏的哮喘小鼠模型气道内, 发现 MSCs 聚集至气道局部, 减少了支气管平滑肌的增生与上皮细胞的增殖。更重要的是, 哮喘引起的神经激肽 1 和神经激肽 2 受体的上调可以被逆转, MSCs 能在干扰神经肽系统激活的同时有效改善哮喘小鼠模型的气道重塑与肺功能^[57]。

目前尚未有将 MSCs 用于治疗哮喘的临床研

究,但已有大量的关于 MSCs 用于治疗其他各种免疫相关疾病的临床研究,其安全性与有效性已在多项临床研究中得到证实。

2014 年一项关于 hUC-MSCs 在急性和难治性 SLE 中的作用的多中心临床研究显示,经 2 次间隔 7 d 静脉注射 hUC-MSCs 后的 6 个月,无患者出现不良反应,总体有效率达到 60%^[34]。而对于与哮喘有类似发病机制的炎症性肠病患者, MSCs 治疗同样具有良好效果。一项发表在《Lancet》杂志上的长达 3 年的三期临床试验结果显示,使用 MSCs 的治疗组与对照组相比,治疗相关的不良反应发生率更低,患者的意向性治疗得分 (ITT) 和调整意向性治疗得分 (M-ITT) 均更高,故提示使用 MSCs 对传统疗法和生物疗法无效的克罗恩病患者是有效且安全的^[37]。

五、展望

MSCs 在临床的应用是近年来的研究热点,与胚胎干细胞相比,其来源更加丰富,也规避了伦理学风险,是一种很好的干细胞治疗材料^[58]。

目前已有许多关于 MSCs 治疗哮喘的动物模型的研究,其对哮喘的治疗作用已经在动物模型上得到验证,其能对重症哮喘的免疫失衡、气道结构改变等特征性发病机制起作用,虽然尚未有将 MSCs 用于治疗重症哮喘患者的临床试验,但使用 MSCs 治疗的安全性及有效性已在其他免疫相关性疾病的临床试验中得到证实,因此可以预期, MSCs 在重症哮喘的治疗中有着广阔的应用前景。尽管如此, MSCs 用于治疗重症哮喘仍有不少问题有待解决,例如: MSCs 组织修复能力是否具有特异性?这种修复能力是否长期有效?哪一类 MSCs 的治疗效果更突出?这些问题有待我们进一步开展更多的基础与临床研究进行论证与解答。

参 考 文 献

- [1] Reddel HK, Bateman ED, Becker A, Boulet LP, Cruz AA, Drazen JM, Haahtela T, Hurd SS, Inoue H, de Jongste JC, Lemanske RJ, Levy ML, O'Byrne PM, Paggiaro P, Pedersen SE, Pizzichini E, Soto-Quiroz M, Szefer SJ, Wong GW, Fitzgerald JM. A summary of the new GINA strategy: a roadmap to asthma control. *Eur Respir J*, 2015, 46 (3): 622-639.
- [2] Gibeon D, Chung KF. The investigation of severe asthma to define phenotypes. *Clin Exp Allergy*, 2012, 42 (5): 678-692.
- [3] 林江涛. 难治性哮喘诊断与处理专家共识. *中华哮喘杂志*

- (电子版), 2011, 5 (1): 1-7.
- [4] Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, Bush A, Castro M, Sterk PJ, Adcock IM, Bateman ED, Bel EH, Bleecker ER, Boulet LP, Brightling C, Chaney P, Dahlen SE, Djukanovic R, Frey U, Gaga M, Gibson P, Hamid Q, Jajour NN, Mauad T, Sorkness RL, Teague WG. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. *Eur Respir J*, 2014, 43 (2): 343-373.
- [5] Porsbjerg CM, Gibson PG, Pretto JJ, Salome CM, Brown NJ, Berend N, King GG. Relationship between airway pathophysiology and airway inflammation in older asthmatics. *Respirology*, 2013, 18 (7): 1128-1134.
- [6] Gibson PG. Inflammatory phenotypes in adult asthma: clinical applications. *Clin Respir J*, 2009, 3 (4): 198-206.
- [7] Bossley CJ, Fleming L, Gupta A, Regamey N, Frith J, Oates T, Tsartsali L, Lloyd CM, Bush A, Saglani S. Pediatric severe asthma is characterized by eosinophilia and remodeling without T (H) 2 cytokines. *J Allergy Clin Immunol*, 2012, 129 (4): 974-982.
- [8] Zhao S, Jiang Y, Yang X, Guo D, Wang Y, Wang J, Wang R, Wang C. Lipopolysaccharides promote a shift from Th2-derived airway eosinophilic inflammation to Th17-driven neutrophilic inflammation in an ovalbumin-sensitized murine asthma model. *J Asthma*, 2016 Sep 2; 1-9. [Epub ahead of print].
- [9] Valladao AC, Frevert CW, Koch LK, Campbell DJ, Ziegler SF. STAT6 regulates the development of eosinophilic versus neutrophilic asthma in response to alternaria alternata. *J Immunol*, 2016, 197 (12): 4541-4551.
- [10] Sears MR. Trends in the prevalence of asthma. *Chest*, 2014, 145 (2): 219-225.
- [11] Hirota N, Martin JG. Mechanisms of airway remodeling. *Chest*, 2013, 144 (3): 1026-1032.
- [12] 陈奋华, 陈壮桂, 陈虹, 纪经智, 陈岩峰, 彭碧秀, 盐田清二. 哮喘患者气道网状基底膜厚度与气道壁重塑相关性探讨. *中华医学杂志*, 2006, 86 (7): 468-471.
- [13] Schmidt M, Mattoli S. A mouse model for evaluating the contribution of fibrocytes and myofibroblasts to airway remodeling in allergic asthma. *Methods Mol Biol*, 2013, 1032: 235-255.
- [14] Reeves SR, Kolstad T, Lien TY, Herrington-Shaner S, Debley JS. Fibroblast-myofibroblast transition is differentially regulated by bronchial epithelial cells from asthmatic children. *Respir Res*, 2015, 16: 21.
- [15] Sarna M, Wojcik KA, Hermanowicz P, Wnuk D, Burda K, Sanak M, Czyz J, Michalik M. Undifferentiated bronchial fibroblasts derived from asthmatic patients display higher elastic modulus than their non-asthmatic counterparts. *PLoS One*, 2015, 10 (2): e116840.
- [16] Liu Y, Ge J, Li Q, Guo X, Gu L, Ma ZG, Li X H, Zhu YP. Low-dose anisomycin sensitizes glucocorticoid-resistant T-acute lymphoblastic leukemia CEM-C1 cells to dexamethasone-induced apoptosis through activation of glucocorticoid receptor and p38-MAPK/JNK. *Leuk Lymphoma*, 2014, 55 (9): 2179-2188.

- [17] Liang L, Li F, Bao A, Zhang M, Chung KF, Zhou X. Activation of p38 mitogen-activated protein kinase in ovalbumin and ozone-induced mouse model of asthma. *Respirology*, 2013, 18 (Suppl 3): 20-29.
- [18] Kannan Y, Wilson MS. TEC and MAPK Kinase Signalling Pathways in T helper (TH) cell Development, TH2 Differentiation and Allergic Asthma. *J Clin Cell Immunol*, 2012, (Suppl 12): 11.
- [19] 文莎. 激素抵抗型哮喘小鼠动物模型建立的实验性研究. 福建医科大学, 2015.
- [20] Vazquez-Tello A, Halwani R, Hamid Q, Al-Muhsen S. Glucocorticoid receptor-beta up-regulation and steroid resistance induction by IL-17 and IL-23 cytokine stimulation in peripheral mononuclear cells. *J Clin Immunol*, 2013, 33 (2): 466-478.
- [21] Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Latsinik NV, Panasyuk AF, Keiliss-Borok IV. Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues. Cloning in vitro and retransplantation in vivo. *Transplantation*, 1974, 17 (4): 331-340.
- [22] Salem HK, Thiemermann C. Mesenchymal stromal cells: current understanding and clinical status. *Stem Cells*, 2010, 28 (3): 585-596.
- [23] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, Deans R, Keating A, Prockop D, Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 2006, 8 (4): 315-317.
- [24] Buhning HJ, Battula VL, Treml S, Schewe B, Kanz L, Vogel W. Novel markers for the prospective isolation of human MSC. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1106: 262-271.
- [25] Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, Alfonso ZC, Fraser JK, Benhaim P, Hedrick MH. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*, 2002, 13 (12): 4279-4295.
- [26] Demircan PC, Sariboyaci AE, Unal ZS, Gacar G, Subasi C, Karaöz E. Immunoregulatory effects of human dental pulp-derived stem cells on T cells: comparison of transwell co-culture and mixed lymphocyte reaction systems. *Cytotherapy*, 2011, 13 (10): 1205-1220.
- [27] Burr SP, Dazzi F, Garden OA. Mesenchymal stromal cells and regulatory T cells: the Yin and Yang of peripheral tolerance? *Immunol Cell Biol*, 2013, 91 (1): 12-18.
- [28] 孙涛, 夏世金, 张伟. 骨髓间充质干细胞治疗肺部疾病的展望. 成都医学院学报, 2013, 8 (1): 14-16.
- [29] 周征, 姜尔烈, 王玫, 刘庆国, 翟文静, 黄勇, 王荷花, 韩明哲. 成人骨髓间充质干细胞中各亚群的比较研究. 中国实验血液学杂志, 2005, 13 (1): 54-58.
- [30] Abreu SC, Antunes MA, Mendonca L, Branco VC, de Melo EB, Olsen PC, Diaz BL, Weiss DJ, Paredes BD, Xisto DG, Morales MM, Rocco PR. Effects of bone marrow mononuclear cells from healthy or ovalbumin-induced lung inflammation donors on recipient allergic asthma mice. *Stem Cell Res Ther*, 2014, 5 (5): 108.
- [31] 黄雪琼, 檀卫平, 吴葆菁, 蓝丹, 吴海飞, 麦贤弟. 骨髓间充质干细胞对重症哮喘患儿外周血 Th17/Treg 的免疫调节作用. 中国病理生理杂志, 2014, 30 (9): 1694-1697.
- [32] Weiss ML, Anderson C, Medicetty S, Seshareddy KB, Weiss RJ, Vanderwerff I, Troyer D, McIntosh KR. Immune properties of human umbilical cord Wharton's jelly-derived cells. *Stem Cells*, 2008, 26 (11): 2865-2874.
- [33] 张文宇, 巴特, 刘玲英. 人脐带间充质干细胞研究进展及应用. 中华损伤与修复杂志 (电子版), 2014, 9 (2): 203-205.
- [34] Wang D, Li J, Zhang Y, Zhang M, Chen J, Li X, Hu X, Jiang S, Shi S, Sun L. Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in active and refractory systemic lupus erythematosus: a multicenter clinical study. *Arthritis Res Ther*, 2014, 16 (2): R79.
- [35] 罗永慧, 刘漪沦. 脂肪间充质干细胞研究应用进展. 成都医学院学报, 2015, 10 (3): 360-362.
- [36] Thesleff T, Lehtimäki K, Niskakangas T, Mannerström B, Miettinen S, Suuronen R, Ohman J. Cranioplasty with adipose-derived stem cells and biomaterial: a novel method for cranial reconstruction. *Neurosurgery*, 2011, 68 (6): 1535-1540.
- [37] Panes J, Garcia-Olmo D, Van Assche G, Colombel JF, Reinisch W, Baumgart DC, Dignass A, Nachury M, Ferrante M, Kazemi-Shirazi L, Grimaud JC, de la Portilla F, Goldin E, Richard MP, Leselbaum A, Danese S. Expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells (Cx601) for complex perianal fistulas in Crohn's disease: a phase 3 randomised, double-blind controlled trial. *Lancet*, 2016, 388 (10051): 1281-1290.
- [38] Tang L, Li N, Xie H, Jin Y. Characterization of mesenchymal stem cells from human normal and hyperplastic gingiva. *J Cell Physiol*, 2011, 226 (3): 832-842.
- [39] 鲁莉英, 霍娜, 刘洪臣. 牙龈间充质干细胞的研究进展. 口腔颌面修复学杂志, 2016, 17 (4): 249-252.
- [40] Marynka-Kalmani K, Treves S, Yafee M, Rachima H, Gafni Y, Cohen MA, Pitaru S. The lamina propria of adult human oral mucosa harbors a novel stem cell population. *Stem Cells*, 2010, 28 (5): 984-995.
- [41] Haasters F, Prall WC, Anz D, Bourquin C, Pautke C, Endres S, Mutschler W, Docheva D, Schieker M. Morphological and immunocytochemical characteristics indicate the yield of early progenitors and represent a quality control for human mesenchymal stem cell culturing. *J Anat*, 2009, 214 (5): 759-767.
- [42] Gupta N, Su X, Popov B, Lee JW, Serikov V, Matthay MA. 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.
- [43] Chang JC, Summer R, Sun X, Fitzsimmons K, Fine A. Evidence that bone marrow cells do not contribute to the alveolar epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2005, 33 (4): 335-342.
- [44] Sueblinvong V, Loi R, Eisenhauer PL, Bernstein IM, Suratt

- BT, Spees JL, Weiss DJ. Derivation of lung epithelium from human cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 177 (7): 701-711.
- [45] Mac SR, Mcauley DF. Mesenchymal stem cell therapy in acute lung injury: is it time for a clinical trial? *Thorax*, 2012, 67 (6): 475-476.
- [46] Munoz JR, Stoutenger BR, Robinson AP, Spees JL, Prockop DJ. Human stem/progenitor cells from bone marrow promote neurogenesis of endogenous neural stem cells in the hippocampus of mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102 (50): 18171-18176.
- [47] Singh SR, Hall IP. Airway myofibroblasts and their relationship with airway myocytes and fibroblasts. *Proc Am Thorac Soc*, 2008, 5 (1): 127-132.
- [48] Saunders R, Siddiqui S, Kaur D, Doe C, Sutcliffe A, Hollins F, Bradding P, Wardlaw A, Brightling CE. Fibrocyte localization to the airway smooth muscle is a feature of asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 2009, 123 (2): 376-384.
- [49] Kavanagh H, Mahon BP. Allogeneic mesenchymal stem cells prevent allergic airway inflammation by inducing murine regulatory T cells. *Allergy*, 2011, 66 (4): 523-531.
- [50] Pianta S, Bonassi SP, Muradore I, Rodrigues MF, Rossi D, Sili ni A, Parolini O. Amniotic membrane mesenchymal cells-derived factors skew T cell polarization toward Treg and downregulate Th1 and Th17 cells subsets. *Stem Cell Rev*, 2015, 11 (3): 394-407.
- [51] Lathrop MJ, Brooks EM, Bonenfant NR, Sokocevic D, Borg ZD, Goodwin M, Loi R, Cruz F, Dunaway CW, Steele C, Weiss DJ. Mesenchymal stromal cells mediate Aspergillus hyphal extract-induced allergic airway inflammation by inhibition of the Th17 signaling pathway. *Stem Cells Transl Med*, 2014, 3 (2): 194-205.
- [52] Mathias LJ, Khong SM, Spyroglou L, Payne NL, Siatskas C, Thorburn AN, Boyd RL, Heng TS. Alveolar macrophages are critical for the inhibition of allergic asthma by mesenchymal stromal cells. *J Immunol*, 2013, 191 (12): 5914-5924.
- [53] Ahmadi M, Rahbarghazi R, Soltani S, Aslani MR, Keyhanmanesh R. Contributory anti-inflammatory effects of mesenchymal stem cells, not conditioned media, on ovalbumin-induced asthmatic changes in male rats. *Inflammation*, 2016, 39 (6): 1960-1971.
- [54] İşsik S, Karaman M, Adan A, Kiray M, Bağrıyanık HA, Sözmen ŞÇ, Kozanoğlu İ, Karaman Ö, Baran Y, Uzuner N. Intraperitoneal mesenchymal stem cell administration ameliorates allergic rhinitis in the murine model. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2017, 274 (1): 197-207.
- [55] Ge X, Bai C, Yang J, Lou G, Li Q, Chen R. Intratracheal transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells reduced airway inflammation and up-regulated CD4 (+) CD25 (+) regulatory T cells in asthmatic mouse. *Cell Biol Int*, 2013, 37 (7): 675-686.
- [56] 戈霞晖, 白冲, 陈若华, 胡珍丽, 朱天怡, 李强. 骨髓间充质干细胞对慢性哮喘小鼠血清白细胞介素 12 和白细胞介素 4 水平的影响. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15 (6): 1030-1034.
- [57] Urbanek K, De Angelis A, Spaziano G, Piegari E, Matteis M, Cappetta D, Esposito G, Russo R, Tartaglione G, De Palma R, Rossi F, D'Agostino B. Intratracheal administration of mesenchymal stem cells modulates tachykinin system, suppresses airway remodeling and reduces airway hyperresponsiveness in an animal model. *PLoS One*, 2016, 11 (7): e158746.
- [58] 咎慧, 钟英强. 间充质干细胞治疗炎性肠病的研究进展. *新医学*, 2011, 42 (4): 211-214.

(收稿日期: 2016-12-13)

(本文编辑: 洪悦民)