

# 干细胞与肺移植\*\*

毛文君，陈静瑜

## Stem cells and lung transplantation

Mao Wen-jun, Chen Jing-yu

### Abstract

Department of Lung Transplantation and Thoracic Surgery, Affiliated Wuxi People's Hospital of Nanjing Medical University, Wuxi 214023, Jiangsu Province, China

Mao Wen-jun★, Studying for master's degree, Department of Lung Transplantation and Thoracic Surgery, Affiliated Wuxi People's Hospital of Nanjing Medical University, Wuxi 214023, Jiangsu Province, China  
maowenjun1@126.com

Corresponding author: Chen Jing-yu, Professor, Master's supervisor, Department of Lung Transplantation and Thoracic Surgery, Affiliated Wuxi People's Hospital of Nanjing Medical University, Wuxi 214023, Jiangsu Province, China  
chenjingyu33@yahoo.com.cn

Supported by: the National "Eleventh Five-Year" Science and Technology Support Program in 2008, No. 2008BAI160B05\*

Received: 2011-11-10  
Accepted: 2011-12-07

**BACKGROUND:** Lung transplantation is the only therapeutic option for patients with various end-stage lung diseases; however, it has high risk for death during the perioperative period. Stem cells have a good application prospect in the basic and clinical research of lung repair after lung transplantation.

**OBJECTIVE:** To summarize the biological characteristics of stem cells and the interaction of immune system, and to introduce the application status of stem cells in lung transplantation experiment and clinical research.

**METHODS:** We searched the PubMed database, Springlink database, and Science Direct database from January 1990 to March 2011 with the key words of "lung, pulmonary, transplantation, stem cell" in English. An online search of CNKI database, Wanfang database, Chongqing VIP database from January 1990 to March 2011 was also conducted with the key words of "lung, pulmonary, transplantation, stem cell" in Chinese. A total of 156 literatures were screened out, and 50 documents were included in the review based on the inclusion and exclusion criteria.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Stem cells played an important role in tissue repair by replacing the damaged lung tissue. It could reduce cell apoptosis, inflammatory reaction and pulmonary fibrosis through paracrine effect. Mesenchymal stem cells could induce immune tolerance of organ transplantation due to its low immunogenicity, which reflected in two aspects, on one hand, mesenchymal stem cells could reduce the immunological rejection by regulating several cytokines, and on the other hand, it could reduce the immune response by inhibiting the activity of T-lymphocytes, B-lymphocytes, natural killer cells, dendritic cells, and neutrophilic granulocytes. Based on the unique biological characteristics, stem cells played an important role in the induction of immune gomphosis and reducing the chronic rejection after lung transplant, which facilitate cell and gene therapy mediated by stem cells.

Mao WJ, Chen JY. Stem cells and lung transplantation. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(23): 4316-4322.  
[<http://www.crter.cn> <http://en.zglckf.com>]

### 摘要

**背景：**肺移植是治疗多种终末期肺病的惟一有效方法，但围手术期风险大，干细胞在肺移植肺损伤修复的基础研究及临床工作中有较好的应用前景。

**目的：**总结干细胞的生物学特性及其与免疫系统的相互作用，介绍干细胞在肺移植实验和临床研究中的应用现状。

**方法：**以“lung, pulmonary, transplantation, stem cell”为检索词，检索 Pubmed 数据库、Springlink 数据库、ScienceDirect 数据库，检索年限为 1990-01/2011-03，限定语种为英文；以“移植、肺、干细胞”为检索词，检索 CNKI 数据库、万方数据库、维普数据库，检索年限为 1990-01/2011-03，限定语种为中文。共检索 156 篇文献，根据纳入排除标准，对其中 50 篇文献进行分析。

**结果与结论：**干细胞通过替代损伤的肺组织、旁分泌作用减少细胞凋亡参与组织修复，减轻炎症反应及肺组织纤维化。以间充质干细胞为例，由于免疫原性较弱，在诱导器官移植的免疫耐受中有较好的应用，一方面通过调节多种因子减轻免疫排斥反应，另一方面通过抑制 T 细胞、B 细胞、NK 细胞、树突状细胞、中性粒细胞的活性来减少免疫应答。基于干细胞独特的生物学特性，其在诱导免疫嵌合减少肺移植慢性排斥反应有一定作用，也为干细胞介导的细胞和基因治疗提供可能。

**关键词：**肺移植；干细胞；免疫；基因治疗；T 细胞；B 细胞

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.23.027

毛文君，陈静瑜. 干细胞与肺移植[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(23):4316-4322.  
[<http://www.crter.org> <http://cn.zglckf.com>]

## 0 引言

肺移植是治疗终末期肺病的惟一有效方法, 然而肺移植手术风险大, 移植后恢复过程复杂, 围手术期各个环节都可引起肺组织的损伤, 随着干细胞技术的发展, 干细胞在肺移植有较好的应用前景, 可用于肺组织损伤修复的细胞替代治疗, 利用诱导免疫嵌合使机体对移植植物免疫耐受, 也可用作基因靶向治疗的细胞载体, 本文对干细胞在肺移植中的应用现状作一综述。

## 1 资料和方法

**1.1 资料来源** 中文文献检索 CNKI 数据库、万方数据库、维普数据库, 英文文献检索 pubmed 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) , ScienceDirect 数据库 (<http://www.sciencedirect.com/>), Springer 数据库 (<http://www.springerlink.com>)。

检索人相关内容: 第一作者。

检索时间范围: 1990-01/2011-03。

检索词: 中文检索词为“移植、肺、干细胞”; 英文检索词为“lung, pulmonary, transplantation, stem cell”。

检索文献量: 共检索到文献 156 篇。

### 1.2 检索方法

纳入标准: ①文章内容与干细胞在器官移植(包括肺移植)中的临床或实验研究有关。②文章内容与干细胞的生物学特性和应用研究有关。③相关领域权威杂志的文章。

排除标准: ①内容不符合要求的文章。②内容陈旧或重复的文章。

质量评估: 文献筛选和质量评价由第一作者独立进行分析, 第二作者进行校对, 若有分歧则通过讨论解决。初步检索共得到文献 156 篇, 仔细阅读摘要或者全文进行筛选, 保留 50 篇文献进行归纳总结。

## 2 结果

### 2.1 肺移植现状 肺移植是治疗各种终末期

肺疾病的惟一有效措施, 根据国际心肺移植协会的最新统计<sup>[1]</sup>, 目前肺移植的主要适应症为慢性阻塞性肺病(COPD36%), 特发性肺间质纤维化(IPF 21%), 囊性纤维化(CF16%), α1-抗胰蛋白酶缺乏性肺气肿(7%), 至 2009 年底全世界共完成 3 456 例心肺移植, 32 652 例肺移植, 且每年以 2 700 例的数目增长, 随着移植技术的成熟, 患者存活也得到很大程度的改善, 移植后 3 个月, 1, 3, 5, 10 年的存活率分别为 88%, 79%, 63%, 52%, 29%。肺移植后的并发症主要包括肺缺血再灌注损伤, 原发性移植失功, 急、慢性排斥反应, 感染, 支气管并发症及全身并发症等, 这些并发症的出现会影响肺移植的预后。另外肺移植供体的短缺也是制约肺移植发展的关键因素之一, 虽然新的器官分配制度, 以及肺叶移植、无心跳供体、边缘供体的利用, 仍不能改变供体短缺的现状。如何改善肺移植后供肺功能状态是围手术期的难点, 目前干细胞技术在肺损伤修复及免疫功能方面有较好的应用。

### 2.2 干细胞

**2.2.1 干细胞与肺修复** 内源性和外源性干细胞在修复肺组织损伤并再生上皮结构中起着很重要的作用<sup>[2]</sup>, 内源性的干细胞有 Clala 细胞、神经内分泌细胞、肺泡 I 型、II 型上皮细胞、侧群细胞、外周气道平滑肌祖细胞、成血管细胞等, 但由于人类气道内源性干细胞的分离培养仍在研究中, 技术难度大, 外源性干细胞培养分离较容易, 故在实验研究和临床应用中取得了较好的效果。外源性的干细胞主要有胚胎干细胞、间充质干细胞、造血干细胞、人工多能干细胞等。胚胎干细胞的应用有较大的伦理问题并有致瘤性, 这限制了胚胎干细胞的应用, 间充质干细胞来源较广, 从骨髓、脂肪、羊膜液、脐带血均可分离获得间充质干细胞, 间充质干细胞在肺损伤修复中研究最多, 造血干细胞不仅可以重建造血系统, 也可用于修复肺组织, 但很少有研究报道。干细胞修复损伤肺组织的机制较复杂, 以间充质干细胞为例, 间充质干细胞其不仅通过替代损伤的肺组织参与组织修复, 还可借助旁分泌作用减少受

南京医科大学附属无锡市人民医院肺移植科、胸外科, 江苏省无锡市 214023

毛文君★, 男, 1987 年生, 江苏省常州市人, 汉族, 南京医科大学第一临床医学院在读硕士, 主要从事肺移植研究。  
maowenjun1@126.com

通讯作者: 陈静瑜, 教授, 硕士生导师, 南京医科大学附属无锡市人民医院肺移植科、胸外科, 江苏省无锡市 214023  
chenjingyu333@yahoo.com.cn

中图分类号:R318  
文献标识码:B  
文章编号:1673-8225(2012)23-04316-07

收稿日期: 2011-11-10  
修回日期: 2011-12-07  
(20110810015W · C)

损细胞的凋亡, 减轻组织炎症反应及肺组织纤维化。

### 2.2.2 肺干细胞标志物的研究进展

目前对干细胞的鉴定主要是通过其表达的蛋白、分子, 以及其表面标志物, 肺干细胞标志物缺乏特异性, 目前可能的肺干细胞标记物主要集中在: 干细胞抗原 1、ABCG2/Bcrp1、滞留细胞标记分子、细胞表分子面、细胞角蛋白和 Clara 细胞分泌蛋白<sup>[3]</sup>。间充质干细胞在干细胞肺损伤修复中应用最多, 据文献报道骨髓来源的间充质干细胞无特异性表面标志, 表达 CD29、CD44、CD71、CD106、CD124 等表型, 但不表达造血细胞表面标志, 如 CD14、CD34、CD45 等, 也不表达 HLA-DR<sup>[4]</sup>。这些标志物能否代表肺干细胞的表型, 目前尚无明确定论, 但随着研究的深入, 相信肺干细胞的表型及识别将会更加完善, 为肺干细胞在临床中的应用奠定较好的基础。

### 2.2.3 干细胞诱导分化为肺组织

肺含有多种干细胞, 肺组织损伤后, 肺自身保留一定再生更新能力, 主要通过内源性肺干细胞, 此外肺外的干细胞也能在肺损伤处聚集分化为肺功能细胞, 但干细胞如何分化为肺组织目前尚无明确的结论。Cortiella 等<sup>[5]</sup>将无细胞的肺组织作为培养媒介, 成功使胚胎干细胞定植并分化为上皮和内皮谱系, 利用此培养媒介, 胚胎干细胞可分化为三维结构, 并表达一系列肺细胞标记物, 例如未成熟的肺上皮标记物、II 型肺上皮细胞标记物、Clara 细胞蛋白 10 等, 气管内也有细胞角蛋白阳性细胞和 Clara 细胞的形成。肺损伤后干细胞移植的应用有一定的时间窗, Yan 等<sup>[6]</sup>将 Flk-1(+)间充质干细胞在肺损伤后立即注入损伤肺内, 可分化为功能性肺细胞, 而较晚注入的间充质干细胞则会导致肺纤维化。有研究显示 p38 alpha 促分裂原活化蛋白激酶 (MAP kinase) 在肺干细胞、祖细胞增生分化中起着重要作用<sup>[7]</sup>, 缺失 p38alpha MAP kinase 时会导致肺干细胞、祖细胞增生异常并分化不全。人类肺移植中, Suratt 等<sup>[8]</sup>在一组同龄女性异体造血干细胞移植中发现, 2.5%~8.0% 的肺上皮细胞和 37.5%~42.3% 的肺内皮细胞是男性供者来源的。另有研究发现在慢性损伤的移植肺中, 受者来源的细胞能整合入支气管上皮、肺泡 II 型上皮和邻近大支气管的浆液黏液腺, 在部分鳞状化的肺组织内可见显著增高的嵌合现象, 肺外来源的干细胞对肺组织再生是有一定作用的<sup>[9]</sup>。干细胞向肺组织分化的研究存在许多问题, 如分化机制不明, 如何分化出充足的干细胞修复肺组织, 以及分化出的肺细胞是否具有正常肺细胞的功能等, 这些

尚需在以后的研究中逐步解答。

## 2.3 干细胞与免疫

### 2.3.1 间充质干细胞弱免疫原性

在所用干细胞中, 间充质干细胞的弱免疫原性可使其免受宿主免疫系统的攻击, 因其表达低水平的主要组织相容性复合体 I 分子, 不表达主要组织相容性复合体 II 分子和共刺激分子, 使其不易被宿主 T 细胞识别而发生免疫应答。体外研究发现即使干细胞分化后, 仍只表达主要组织相容性复合体 I 分子, 而不表达主要组织相容性复合体 II 分子。在体外淋巴细胞混合培养实验中, 骨髓间充质干细胞不会刺激同种异体淋巴细胞增殖, 使用  $\gamma$  干扰素(IFN  $\gamma$ )诱导其表达主要组织相容性复合体 II 分子后, 间充质干细胞仍可以获得免疫耐受<sup>[10]</sup>。

### 2.3.2 免疫耐受与器官移植

在细胞或器官移植中, 免疫耐受是供体对移植物的特异性无应答, 但对第三方抗原具有正常应答功能。在临床移植中, 免疫抑制剂的使用可显著改善预后, 但这些药物会带来器官毒性, 增加感染和恶性肿瘤发生的危险, 也会引起慢性排斥反应, 影响长期生存, 因此通过免疫诱导获得免疫耐受, 可减少慢性排斥反应的发生。

器官移植供体历来短缺, 异种移植可缓解供体的严重短缺, 但是剧烈的排斥反应限制了其应用于临床。利用干细胞进行免疫诱导耐受可显著减少免疫抑制剂的用量和排斥反应的发生。动物模型中, 干细胞诱导的免疫耐受用于皮肤移植、胰岛移植, 以及富血管的心、肾、肝移植中均获得了较好的效果, 可改善移植器官的功能状态, 但是在临床肺移植中, 仍存在许多未解决的问题。

### 2.3.3 干细胞的免疫调节作用

干细胞具有免疫调节作用, 以间充质干细胞为例, 间充质干细胞诱导免疫耐受需要一系列分子的介导, 报道最多的是吲哚胺 2, 3-二氧化酶(IDO)<sup>[11]</sup>, 在 IFN  $\gamma$  的刺激下, 可清除色氨酸以及毒性分解产物, 减少对免疫细胞的刺激, 间充质干细胞通过 IDO 起重要的免疫调节作用, 人类间充质干细胞主要通过此途径<sup>[12]</sup>, 在鼠模型中, 主要通过一氧化氮合成酶抑制免疫细胞<sup>[13]</sup>。前列腺素 E2 对间充质干细胞的免疫调节也起重要作用, 能抑制免疫细胞有丝分裂。炎症因子如 TNF $\alpha$  或 IFN $\gamma$  可刺激间充质干细胞产生前列腺素 E2, 增强白细胞介素 10 对巨噬细胞产生抑制效应, 并通过单核细胞阻断它们分化为树突状细胞, 减少抗原递呈, 减轻对免疫细胞的刺激。其他因子例如转化生长因子  $\beta$ 1、肝细胞生长因子、白血病抑制因子、HLA-G5 等在间充

质干细胞的免疫调节中也起作用<sup>[14]</sup>。总的来说，单一因子的作用是无法阻断免疫细胞增生，间充质干细胞的免疫调节作用是多种因子共同作用的结果。

**2.3.4 干细胞与免疫细胞** 在免疫反应中，免疫细胞如T细胞、B细胞、自然杀伤细胞、树突状细胞、中性粒细胞等起着重要作用。以间充质干细胞为例，间充质干细胞通过抑制细胞周期使T细胞停止在G<sub>0</sub>~G<sub>1</sub>期，减少成熟T细胞的产生<sup>[15]</sup>，同时间充质干细胞也可减少干扰素γ、白细胞介素2和肿瘤坏死因子α的产生，增加白细胞介素4的分泌，从而改变T细胞功能<sup>[16]</sup>。最近一些研究显示间充质干细胞能分泌细胞因子影响Th1/Th2之间的平衡<sup>[17]</sup>，增加具有抗炎作用的Th2，减轻炎症反应。因此间充质干细胞能抑制T细胞增殖，降低T细胞毒性。

间充质干细胞也能抑制B细胞增生，在外源性干扰素γ作用下，间充质干细胞可抑制活化的B细胞，可能是通过诱导间充质干细胞产生IDO，间充质干细胞对B细胞的抑制作用类似于T细胞，通过分泌一些细胞因子，减少B细胞的增殖，使其停留在G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期<sup>[18]</sup>。有研究发现间充质干细胞能促进幼稚或者处于分化阶段的B细胞转化为免疫球蛋白分泌细胞，分泌免疫球蛋白抑制B细胞分化为浆细胞，减少免疫应答<sup>[19]</sup>。

树突状细胞是潜在的抗原递呈细胞，对免疫起重要作用，体外实验显示间充质干细胞可通过分泌白细胞介素6或前列腺素E2抑制单核细胞、CD34<sup>+</sup>造血干细胞分化为树突状细胞，减轻免疫反应<sup>[20-21]</sup>。也有研究发现间充质干细胞通过接触非依赖途径间接抑制T细胞功能<sup>[22]</sup>，影响抗原递呈细胞的分化成熟。抑制树突状细胞可减少免疫反应中抗原递呈细胞的来源，从而减轻排斥反应。

自然杀伤细胞对不表达HLA I类分子的细胞起细胞溶解作用，间充质干细胞通过细胞接触途径、释放可溶性分子(转化生长因子β1、前列腺素E2等)来抑制自然杀伤细胞增殖<sup>[23]</sup>，从而减轻免疫反应。

中性粒细胞对病原体起重要的杀伤作用，间充质干细胞可通过白细胞介素6减少活性氧的产生，延迟中性粒细胞凋亡，保持对感染快速有效的应答<sup>[24]</sup>。另外间充质干细胞在LPS、肿瘤坏死因子α作用下能分泌高水平前列腺素E2，进一步促进单核细胞、巨噬细胞分泌抗炎细胞因子白细胞介素10，减少中性粒细胞向损伤组织迁移、减轻炎症反应<sup>[25]</sup>。由此可见间充质干细胞在先天免疫、调节炎症免疫反应中也起重

要作用。

此外造血干细胞<sup>[26]</sup>、胚胎干细胞也可促进机体免疫耐受<sup>[27]</sup>，对免疫细胞有类似于间充质干细胞的作用，被应用于实验及临床治疗研究。

**2.3.5 免疫嵌合与免疫耐受** 免疫嵌合是指供、受体细胞在体内共处不发生排斥反应，一般移植物的免疫耐受需要混合型嵌合的诱导，而非完全型嵌合，混合型嵌合与完全性嵌合相比毒性较小，不需对宿主行骨髓根除，允许宿主造血功能的恢复。全身放疗和骨髓移植可诱导产生混合型免疫嵌合，抗T细胞抗体、免疫抑制药物的联合使用也有一定的诱导价值。微嵌合状态是指嵌合处在一个很低的水平，在PCR扩增后才能被检测到，微嵌合在实体器官移植中能长久存在，但其对免疫耐受的作用仍不清楚。有研究显示器官移植后，应用免疫抑制剂的同时对受者行供者骨髓灌注，可提高微嵌合水平，但不能降低免疫排斥反应的发生，也不能减少免疫抑制剂的用量。

骨髓移植定植后形成免疫嵌合可诱导对移植物免疫耐受，Nash等<sup>[28]</sup>利用犬建立造血干细胞混合嵌合模型后再行肺移植，发现嵌合具有免疫调节作用，能介导免疫耐受。干细胞或者骨髓移植后，在供体体内形成稳定的嵌合是移植物获得长期免疫耐受的基础。临床应用中，Scandling等<sup>[29]</sup>对1例患者先行造血干细胞移植进行免疫诱导，获得持久的免疫嵌合，再行肾脏移植，在停用免疫抑制剂28个月后，患者肾功能良好。另有一个研究显示对6例患者同时行骨髓和肾脏移植，其中4例患者术后不需使用免疫抑制剂，而另2例患者仅需低剂量免疫抑制剂防止移植物抗宿主反应的发生<sup>[30]</sup>。在人类肝脏移植中也有类似的报道<sup>[31]</sup>。

免疫嵌合对于异种移植也有一定意义，异种移植需要克服不同种属移植后的超急性排斥反应。在猪和人异种移植研究中，人血清中的自然抗体可诱发对富血管移植物产生超急性排斥反应，然而不同物种间的免疫嵌合可减少超急性排斥反应的发生，延迟抗体及免疫细胞介导的排斥。有研究显示异种嵌合能诱导供体移植物的特异性体液<sup>[32]</sup>、细胞免疫耐受，使富血管的移植物成功移植，甚至受者产生完整抗体也不影响免疫耐受。异体嵌合诱导免疫耐受后，嵌合水平会随时间逐渐下降，可能由于供者细胞逐渐被受者细胞取代<sup>[33]</sup>，因此如何使嵌合状态长久持续，对免疫耐受是很重要的。

**2.3.6 骨髓诱导免疫嵌合的使用途径** 骨髓干细胞

主要包括间充质干细胞和造血干细胞, 骨髓干细胞在体内具有转运和归巢特性, 在临幊上可用来治疗炎症反应, 通过多种炎症趋化因子及细胞因子的介导, 向炎症部位迁移。骨髓干细胞不仅能在损伤部位定植, 也能在宿主骨髓内定植, 从而发挥抗炎、修复、免疫嵌合等作用。骨髓干细胞移植后诱导免疫耐受, 但经何种途径定植率、免疫嵌合表达率高, 嵌合时间更持久, 这些都是需要解答的。一般通过静脉或者骨髓腔内(IBM)途径把骨髓植入供体。髓腔内注射骨髓可使供体细胞和供体衍生的基质细胞相互作用, 促进干细胞增殖、分化, 与传统的静脉内途径相比, 供者来源细胞在宿主体内定植更早, 能减少骨髓细胞在肺、肝内的滞留破坏, 促进机体表达嵌合体、获得免疫耐受。动物研究中 Inaba 等<sup>[34]</sup>对 30 例短尾猴进行实验, 证明骨髓腔内注射骨髓是安全的。在肺移植中, Kaneda 等<sup>[35]</sup>对大鼠行腔内骨髓移植并同期肺移植, 经骨髓免疫诱导后, 造血细胞显示混合型嵌合或者完全型嵌合, 没有出现移植排斥或移植物抗宿主疾病, 避免了免疫抑制剂的使用。在心脏移植中, Guo 等<sup>[36]</sup>研究显示心脏移植同时行髓腔内骨髓移植, 受者可长期存活, 不出现急、慢性排斥反应, 嵌合的表达在骨髓腔内骨髓移植组显著高于传统骨髓移植, 且嵌合持续时间更持久。国内郭可泉等<sup>[37]</sup>的研究也显示骨髓腔内骨髓移植能有效地建立嵌合体, 成功诱导心脏移植后供者特异性免疫耐受。在其他移植中骨髓腔内骨髓移植也有较好的应用, Esumi 等<sup>[38]</sup>的研究显示对大鼠预先使用骨髓腔内骨髓移植诱导免疫耐受, 使用氟达拉滨、低剂量放疗预处理后, 成功对大鼠进行了腿的移植, 避免了使用免疫抑制, 另外 Kushida 等<sup>[39]</sup>报道骨髓腔内注射骨髓, 能促进造血功能的早期恢复, 使供体细胞定植, 完全缓解自身免疫性疾病。

#### 2.4 干细胞介导的细胞和基因治疗

目前肺移植中基因治疗有较好的应用前景, 目的基因的导入可在各个环节减轻肺损伤, 促进肺组织的修复。目的基因的转染可通过血管、气管、肌肉等途径, 借助载体能有效的转染基因, 目前载体分为病毒载体和非病毒载体, 前者包括腺病毒载体、腺病毒相关载体、反转录病毒和慢病毒载体、仙台病毒载体等, 非病毒载体主要有质粒以及细胞作为载体。肺移植后最主要的损伤是缺血再灌注损伤(IRI), 一旦发生 IRI, 基因治疗则可作为传统的治疗的补充。有研究发现某些基因转染可减轻 IRI 及炎症反应, 诸如白细胞介素 10、转化生长因子  $\beta$ 、细胞凋亡蛋白酶(caspase-3)、吲哚胺 2, 3-二

氧化酶(IDO)、内皮细胞氮氧化物合酶、热休克蛋白 70 等, 另外一些基因编码促炎细胞因子, 通过转染沉默这些基因也可缓解 IRI 和炎症反应, 这些基因有核因子  $\kappa$ B、肿瘤坏死因子、白细胞介素 1 等<sup>[40]</sup>。其中研究最多的是白细胞介素 10, 白细胞介素 10 是一种抗炎细胞因子, 通过使抗原递呈细胞失活, 抑制促炎细胞因子分泌(肿瘤坏死因子, 白细胞介素 6, 白细胞介素 8, 白细胞介素 1, 白细胞介素  $\gamma$  等), 达到抑制炎症反应的效果。Kabay 等<sup>[41]</sup>发现白细胞介素 10 在 BALB/c 小鼠模型中能有效减轻 IRI 引起的肺损伤。在大鼠模型中, Oishi 等<sup>[42]</sup>通过建立大鼠肺移植模型, 利用白细胞介素 10 基因转染, 显著地减轻急性排斥引起的炎症反应。在临床肺移植中, 加拿大多伦多总院 Waddell 等使用腺病毒载体编码的人类白细胞介素 10(AdhIL-10)来修复受损的供肺, 获得了较好的临床效果<sup>[43]</sup>。

干细胞也可作为转染基因的载体, 干细胞和转染基因对肺损伤有双重修复作用, 间充质干细胞基因治疗被认为是较好的治疗策略<sup>[44]</sup>。间充质干细胞作为基因载体用于肺移植保护的研究很少, Manning 等<sup>[45]</sup>使用间充质干细胞作为载体对大鼠模型转染白细胞介素 10, 在防止缺血再灌注损伤中取得了较好的效果, 肺的毛细血管通透性、肺组织干湿比、细胞凋亡数目和气道中炎症细胞均显著低于对照组。使用间充质干细胞转染基因在其他疾病的治疗也有较好的效果, 有研究报道血管生成素 1(ANGPT-1)转染的间充质干细胞植入 LPS 介导的损伤肺, 能减轻血管的通透性和炎症反应, 甚至较单独使用间充质干细胞和 ANGPT-1 效果更好<sup>[46]</sup>。另有研究显示对动物接种肿瘤细胞之前输入携带白细胞介素 12 基因的间充质干细胞<sup>[47]</sup>, 能有效防止包括肺癌等肿瘤的产生。另外 Nagaya 等<sup>[48]</sup>使用胚胎干细胞作为载体, 对大鼠肺动脉高压模型转染肾上腺髓质素基因, 能有效的降低肺动脉压。在临床肺移植中, 干细胞作为载体对受者进行基因转染尚需要评估其安全性及有效性, 这种方法从实验过渡到临床应用还有许多问题有待解决。

#### 2.5 干细胞移植的并发症

干细胞在临幊上有较广的应用价值, 但其安全性仍是必须考虑的问题。干细胞移植后除了治疗作用外, 会带来一系列并发症, 肺功能也会受影响。Barisione 等<sup>[49]</sup>对 17 例患者行造血干细胞移植, 研究移植前和移植后 3 个月、1 年的肺功能改变, 发现移植后患者肺功能有不同程度的下降。干细胞移植后患者免疫功能下降, 会增加机会性感染

的发生<sup>[50]</sup>。国外研究报道了干细胞移植后出现的并发症,肺部并发症有嗜酸性粒细胞性肺炎、非感染性毛细支气管炎、闭塞性细支气管炎机化性肺炎、肺性高血压、肺细胞溶解性血栓等,其他肺外并发症包括病毒性脑炎、弓形虫感染、甲状腺功能亢进症、膜性肾小球肾病、肾病综合征、出血性膀胱炎、中性白细胞减少性发热、肝静脉闭塞性疾病、噬血细胞综合征、血栓性血小板减少性紫癜、横纹肌溶解等。这些并发症的出现会导致全身情况的恶化,如何避免并治疗这些并发症是提高干细胞移植成功的关键。

### 3 参考文献

- [1] Jason D,Christie, Leah B,et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Twenty-seventh official adult lung and heart-lung transplant report-2010. *J Heart Lung Transplant.*2010;29(10):1104-1118.
- [2] Chistiakov DA. Endogenous and exogenous stem cells: a role in lung repair and use in airway tissue engineering and transplantation. *Journal of Biomedical Science.*2010;17:92.
- [3] 姜亦瑶,杜振宗,王海永.肺干细胞及其标记物:来源定位与标记难度[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(27):5081-5084.
- [4] Gmnthos S,Zannettino AC,Hay SJ,et al.Molecular and cellular characterization of highly purified stromal stem cell derived from human bone marrow. *Cell Sci.*2003;116(9): 1287-1835.
- [5] Cortiella J, Niles J, Cantu A,et al. Influence of acellular natural lung matrix on murine embryonic stem cell differentiation and tissue formation. *Tissue Eng Part A.*2010;16(8):2565-2580.
- [6] Yan X,Liu Y,Han Q,et al.Injured microenvironment directly guides the differentiation of engrafted Flk-1(+) mesenchymal stem cell in lung. *Exp Hematol.*2007;35(9):1466-1475.
- [7] Ventura JJ,Tenbaum S,Perdigero E,et al.p38alpha MAP kinase is essential in lung stem and progenitor cell proliferation and differentiation. *Nat Genet.*2007;39(6):750-758.
- [8] Suratt BT,Cool CD,Serls AE,et al.Human pulmonary chimerism after hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Respir Crit Care Med.*2003;168:318-322.
- [9] Kleeberger W,Versmold A,Rothamel T,et al.Increased chimerism of bronchial and alveolar epithelium in human lung allografts undergoing chronic injury. *Am J Pathol.*2003; 162: 1487-1494.
- [10] Blank LK,Tammik C,Rosendahl K,et al.HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cell. *Exp Hematol.*2003;31(10):890-896.
- [11] Maby-EI Hajami H,Ame-Thomas P,Pangault C,et al. Functional alteration of the lymphoma stromal cell niche by the cytokine context:role of indoleamine-2,3 dioxygenase. *Cancer Res.*2009;69:3228-3237.
- [12] Ren G,Su J,Zhang L,et al.Species variation in the mechanisms of mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression. *Stem Cells.*2009;27:1954-1962.
- [13] Sato K,Ozaki K,Oh I,et al.Nitric oxide plays a critical role in suppression of T-cell proliferation by mesenchymal stem cells. *Blood.*2007;109:228-234.
- [14] Soufiane Ghannam,Carine Bouffi,Farida Djouad,et al. Immunosuppression by mesenchymal stem cells: mechanisms and clinical applications. *Stem Cell Res Therapy.* 2010;1:2.
- [15] Benvenuto F,Ferrari S,Gerdoni E,et al.Human mesenchymal stem cells promote survival of T cells in a quiescent state. *Stem Cells.*2007;25:1753-1760.
- [16] Aggarwal S,Pittenger MF.Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood.*2005;105: 1815-1822.
- [17] Zhou H,Jin Z,Liu J,et al.Mesenchymal stem cells might be used to induce tolerance in heart transplantation. *Med Hypotheses.*2008;70:785-787.
- [18] Asari S,Itakura S,Ferreri K,et al.Mesenchymal stem cells suppress B-cell terminal differentiation. *Exp Hematol.*2009; 37:604-615.
- [19] Traggiai E,Volpi S,Schena F,et al.Bone marrow-derived mesenchymal stem cells induce both polyclonal expansion and differentiation of B cells isolated from healthy donors and systemic lupus erythematosus patients. *Stem Cells.*2008;26: 562-569.
- [20] Djouad F,Charbonnier LM,Bouffi C,et al. Mesenchymal stem cells inhibit the differentiation of dendritic cells through an interleukin-6-dependent mechanism. *Stem Cells.*2007;25: 2025-2032.
- [21] Spaggiari GM,Abdelrazik H,Beccetti F,et al.MSCs inhibit monocyte derived DC maturation and function by selectively interfering with the generation of immature DCs:central role of MSC-derived prostaglandin E2. *Blood.*2009;113:6576-6583.
- [22] Shaul Beyth,Zipora Borovsky,Dror Mevorach,et al.Human mesenchymal stem cells alter antigen-presenting cell maturation and induce T-cell unresponsiveness. *Blood.*2005; 105:2214-2219.
- [23] Sotiropoulou PA,Perez SA,Gritzapis AD,et al.Interactions between human mesenchymal stem cells and natural killer cells. *Stem Cells.*2006;24:74-85.
- [24] Raffaghelli L,Bianchi G,Bertolotto M,et al. Human mesenchymal stem cells inhibit neutrophil apoptosis: a model for neutrophil preservation in the bone marrow niche. *Stem Cells.*2008;26:151-162.
- [25] Nemeth K,Leelahavanichkul A,Yuen PS,et al.Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E2-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nat Med.*2009; 15: 42-49.
- [26] Carrie Gibbons,Megan Sykes.Manipulating the immune system for anti-tumor responses and transplant tolerance via mixed hematopoietic chimerism. *Immunol Rev.*2008;223:334-360.
- [27] Robertson NJ, Brook FA, Gardner RL, et al. Embryonic stem cell-derived tissues are immunogenic but their inherent immune privilege promotes the induction of tolerance. *PNAS.* 2007;104(52):20920-209225.
- [28] Nash, RAYunsov,MK Abrams K. Immunomodulatory Effects of Mixed Hematopoietic Chimerism:Immune Tolerance in Canine Model of Lung Transplantation. *Am J Transplant.*2009; 9(5):1037-1047.
- [29] Scandling JD, Busque S, Dejbakhsh-Jones S, et al. Tolerance and Chimerism after Renal and Hematopoietic-Cell Transplantation. *N Engl J Med.*2008;358:362-368.

- [30] Kimikawa M,Sachs DH,Colvin RB,et al.Modifications of the conditioning regimen for achieving mixed chimerism and donor-specific tolerance in cynomolgus monkeys. *Transplantation*.1997;64:709-716.
- [31] Alexander SI, Smith N, Hu M, et al. Chimerism and Tolerance in a Recipient of a Deceased-Donor Liver Transplant. *N Engl J Med*.2008;358:369-374.
- [32] Colson YL, Xu H, Huang Y,et al. Mixed xenogeneic chimerism induces donor-specific humoral and cellular immune tolerance for cardiac xenografts. *J Immunol*.2004;173(9):5827-5834.
- [33] Gritsch HA,Sykes M.Host marrow has a competitive advantage which limits donor hematopoietic repopulation in mixed xenogeneic chimeras. *Xenotransplantation*. 1996;3: 312-320.
- [34] Inaba M, Adachi Y, Hisha H,et al. Extensive studies on perfusion method plus intra-bone marrow-bone marrow transplantation using cynomolgus monkeys. *Stem Cells*.2007; 25(8):2098-2103.
- [35] Kaneda H,Adachi Y,Saito Y,et al.Long-term observation after simultaneous lung and intra-bone marrow-bone marrow transplantation. *J Heart Lung Transplant*.2005;24(9):1415-1423.
- [36] Guo K, Inaba M, Li M,et al.Long-term donor-specific tolerance in rat cardiac allografts by intrabone marrow injection of donor bone marrow cells. *Transplantation*.2008;85(1):93-101.
- [37] 郭可泉,孟旭,余元龙,等.骨髓移植诱导临床心脏移植后供者特异性免疫耐受方案的探讨[J].中华器官移植杂志,2011,32(1):32-35.
- [38] Esumi T,Inaba M,Ichioka N,et al.Successful allogeneic leg transplantation in rats in conjunction with intra-bone marrow injection of donor bone marrow cells. *Transplantation*.2003; 76(11):1543-1548.
- [39] Kushida T,Inaba M,Hisha H,et al.Intra-bone marrow injection of allogeneic bone marrow cells: a powerful new strategy for treatment of intractable autoimmune diseases in MRL/lpr mice. *Blood*.2001;97(10):3292-3299.
- [40] 魏煜程,陈静瑜.基因治疗应用于肺移植的实验研究进展[J]. 国际移植与血液净化杂志,2008,6(5):21-25.
- [41] Kabay B,Aytekin FO,Aydin C,et al.Interleukin-10 gene therapy attenuates pulmonary tissue injury caused by mesenteric ischemia-reperfusion in a mouse model. *Tohoku J Exp Med*. 2005;207(2):133-142.
- [42] Oishi H,Okada Y,Kikuchi T,et al.Lipid-mediated transbronchial human interleukin-10 gene transfer decreases acute inflammation associated with allograft rejection in a rat model of lung transplantation. *Transplant Proc*.2007;39(1): 283-285.
- [43] Marcelo Cypel,Mingyao Liu, Matt Rubacha,et al. Functional Repair of Human Donor Lungs by IL-10 Gene Therapy. *Sci Transl Med*.2009;1(4):4ra9.
- [44] Prokopp DJ,Gregory CA,Spees JL.One strategy for cell and gene therapy; harnessing the power of adult stem cell to repair tissues. *Proc Natl Acad Sci USA*.2003;100: 11917-11923.
- [45] Manning E, Pham S, Li S,et al. Interleukin-10 delivery via mesenchymal stem cells:a novel gene therapy approach to prevent lung ischemia-reperfusion injury. *Hum Gene Ther*. 2010;21(6):713-727.
- [46] Mei SH,McCarter SD,Deng Y,et al.Prevention of LPS-induced acute lung injury in mice by mesenchymal stem cells overexpressing angiopoietin 1. *PLoS Med*.2007;4(9):e269.
- [47] Chen XC,Wang R,Zhao X,et al.Prophylaxis against carcinogenesis in three kinds of unestablished tumor models via ILI2-gene-engineered MSC. *Carcinogenesis*.2006;27: 2434-2441.
- [48] Nagaya N,Kangawa K,Kanda M,et al.Hybrid cell-gene therapy for pulmonary hypertension based on phagocytosing action of endothelial progenitor cells. *Circulation*.2003;108(7): 889-895.
- [49] Barisione G, Bacigalupo A, Crimi E, et al.Changes in lung volumes and airway responsiveness following haematopoietic stem cell transplantation. *Eur Respir J*.2008;32(6):1576-1582.
- [50] Gil L,Styczynski J,Komarnicki M.Infectious complication in 314 patients after high-dose therapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation: risk factors analysis and outcome. *Infection*.2007;35(6):421-427.

**基金声明:** 2008 国家十一五科技支撑计划(2008BAI160B05)。

**作者贡献:** 第一作者收集文章资料、分析设计，并完成本综述撰写，通讯作者审校论文，第一作者对本文负责。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理要求:** 无涉及伦理冲突的内容。

**此问题的已知信息:** 肺移植围手术期风险大，干细胞在肺移植中还有很好的应用潜能，有望在各个环节修复肺损伤，并且可诱导免疫耐受，减少免疫排斥反应。目前的研究中，对于干细胞如何诱导分化为肺组织，并如何与免疫系统相互作用需进一步研究。

**本综述增加的新信息:** 总结干细胞在肺移植实验及临床研究中的应用，干细胞通过免疫调节作用或抑制免疫细胞活性可减少移植后的排斥反应，也可诱导免疫耐受改善移植器官的长期存活状态，同时干细胞介导的细胞与基因治疗为器官的损伤修复提供了新思路。

**临床应用的意义:** 国外报道了干细胞移植后出现的并发症，这些并发症的出现会导致全身情况的恶化，如何避免并治疗这些并发症是提高干细胞移植成功的关键。