

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.03.012  
文章编号: 1005-8982 (2021) 03-0065-05

呼吸系统疾病专题·综述

## 内皮祖细胞在急性肺损伤中应用的研究进展\*

郭桢楠, 马雪, 丁文刚

(哈尔滨医科大学附属第二医院 麻醉科, 黑龙江 哈尔滨 150001)

**摘要:** 急性肺损伤是由各种肺内外因素导致的进行性呼吸困难和难治性低氧血症, 其病理特征包括炎症反应及肺泡-毛细血管屏障功能破坏, 微循环血管内皮损伤是主要标志。内皮祖细胞可以从骨髓动员迁移到损伤部位, 分化为成熟内皮细胞发挥直接修复作用, 并通过间接免疫调节作用改善微环境。此外内皮祖细胞还可以分泌细胞因子以自分泌或旁分泌方式促进新生血管生成从而减少器官功能障碍。文章旨在综述内皮祖细胞在急性肺损伤中的应用, 从而为治疗急性肺损伤提供新思路。

**关键词:** 急性肺损伤; 内皮祖细胞; 内皮修复

**中图分类号:** R563

**文献标识码:** A

## Research progress on application of endothelial progenitor cells in acute lung injury\*

Zhen-nan Guo, Xue Ma, Wen-gang Ding

(Department of Anesthesiology, The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150000, China)

**Abstract:** ALI (Acute lung injury, ALI) is an acute progressive dyspnea and refractory hypoxemia caused by a variety of internal and external pulmonary factors. Inflammation and destruction of alveolar-capillary barrier are the main pathological characters of ALI, in which endothelial injury of microcirculation is the hallmark. Mobilizing from bone marrow, EPC (endothelial progenitor cell, EPC) can migrate towards the sites of vascular injuries and differentiate into mature endothelium to play a direct repair role and improve microenvironment through indirect immunomodulation. In addition, EPC also secrete cytokines that promote angiogenesis in an autocrine or paracrine manner. Thereby, alleviating organ dysfunction. This article is dedicated to describe the application of EPC in ALI to provide new insight for treatment of ALI.

**Keywords:** acute lung injury; endothelial progenitor cells; endothelial repair

急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 是各种非心源性因素所致的肺毛细血管内皮和肺泡上皮损伤, 血管通透性升高的炎症反应综合征<sup>[1]</sup>。内皮损伤在 ALI 起始的数分钟至数小时内导致内皮细胞间出现间隙, 从而使得液体、中性粒细胞及细胞因子渗透到间质, 当渗出的液体超过间质淋巴管的引流量,

就会出现肺泡水肿, 而渗透到间质的中性粒细胞释放炎症因子 (TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ ) 则会继续破坏微循环内皮和肺泡上皮的完整性<sup>[2]</sup>。过去几十年来, 许多研究致力于探讨其发病机制和治疗方法, 但进展不大, 有效性有限。目前主要的治疗手段包括: 小潮气量肺保护通气策略、呼气末正压通气、限制液体

收稿日期: 2020-08-09

\* 基金项目: 黑龙江省博士后科研启动金 (No: LBH-Q14112)

[通信作者] 丁文刚, E-mail: dingwg999@163.com; Tel: 13936563265

等, 但均缺乏特异性<sup>[3]</sup>。体外膜氧合器 (extra-corporeal membrane oxygenator, ECMO), 又称体外膜肺, 是一种高级的呼吸循环支持系统, 由于其治疗费用昂贵且只限于特定的医疗机构, 目前还没有作为 ALI 的主要治疗手段<sup>[4]</sup>。内皮祖细胞作为成熟内皮细胞的前体细胞在维持内皮完整、促进新生血管生成、保护器官功能中发挥重要作用, 在血管相关疾病领域受到广泛关注。有研究报道小量内皮祖细胞被移植在冠状动脉微栓塞模型中发挥促血管生成、抗纤维化、抗坏死作用<sup>[5]</sup>。冠状动脉输注内皮祖细胞可以增加毛细血管密度, 改善肺动脉高压模型中的右心功能<sup>[6]</sup>。研究发现, 在大鼠 ALI 模型复制 8 周后, 作为内皮细胞主要来源的骨髓源性内皮祖细胞的内皮细胞增长 121 倍, 显著高于损伤部位内皮细胞增长的 22 倍<sup>[7]</sup>。越来越多研究表明内皮祖细胞可以修复内皮损伤、减轻炎症反应, 在 ALI 治疗中展现出潜在的应用前景<sup>[8-9]</sup>。本文对近年来内皮祖细胞在 ALI 中的应用进行综述, 旨在为治疗 ALI 提供研究思路。

## 1 内皮祖细胞概述

出生后骨髓含有一种祖细胞亚型, 可以迁移到外周循环并分化为成熟内皮细胞, 有助于再内皮化和新生血管形成, 这种祖细胞亚型被认为是内皮祖细胞, 其起源于造血干细胞<sup>[10]</sup>。骨髓早期内皮祖细胞表达 CD133、CD34、VEGFR-2 (人为 KDR、鼠为 flk-1), 在分化过程中, 失去 CD133, 开始不同程度表达内皮系标志物, 包括 CD31、VE-cadherin、v-WF、e-NOS<sup>[11]</sup>。这些标志物与许多细胞系如造血干细胞、单核细胞、内皮细胞有重叠, 缺乏特异性, 仅靠细胞表面标记来鉴别内皮祖细胞还有很大争议。正常情况下, 内皮祖细胞主要存在于骨髓中, 循环内皮祖细胞数量很少, 组织损伤或缺血缺氧可使基质细胞衍生因子 1 (SDF-1) 表达上调, 从而将表达 CXCR-4 的内皮祖细胞动员到外周循环并归巢到内皮损伤部位分化为成熟内皮细胞来进行修复<sup>[12-13]</sup>。内皮祖细胞还可以释放促血管生成因子 VEGF 以自分泌或旁分泌的方式促进血管生成<sup>[14]</sup>。

## 2 内皮祖细胞在 ALI 中的应用

### 2.1 内皮祖细胞对损伤局部的修复

内皮祖细胞作为内皮细胞的前体细胞, 具有

极强的增殖潜能, 可以分化为内皮细胞以维持内皮屏障完整性, 并可促进损伤组织新生血管形成从而改善器官功能<sup>[15]</sup>。内皮祖细胞移植在心肌梗死、肢体缺血、脑损伤等众多疾病中展现出强大的治疗潜能<sup>[16-18]</sup>。肺中内皮细胞占肺实质细胞的 50%, 内皮屏障的完整性是控制血管通透性和白细胞聚集的关键因素, 内皮屏障破坏则会引起肺组织水肿、白细胞浸润、激活促凝途径和释放炎症因子, 从而加重肺损伤<sup>[19]</sup>。因此减少内皮损伤, 维持内皮屏障完整性成为治疗 ALI 的研究热点。有研究在大鼠通气诱导肺损伤模型中, 将部分移植的外源性内皮祖细胞定植于肺内, 有助于维持内皮屏障完整性, 降低肺泡-毛细血管通透性, 进而减轻肺水肿, 降低支气管肺泡灌洗液中总蛋白含量, 提高氧合指数<sup>[20]</sup>。内皮祖细胞的抗炎抗凋亡作用也是减轻 ALI 的重要机制, 在大鼠肺移植后缺血再灌注肺损伤模型中, 内皮祖细胞移植降低血浆促炎因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8 的水平, 同时提高抗炎因子 IL-10 的表达, Bax/Bcl-2 和 Cleaved Caspase-3 水平的降低表明内皮祖细胞移植减少移植肺内皮细胞的凋亡<sup>[21]</sup>。中性粒细胞是引起炎症反应的重要细胞, 其分泌的炎症细胞因子在 ALI 进展中有重要作用, MAO 等<sup>[22]</sup>研究发现, 内皮祖细胞移植下调中性粒细胞炎症介质包括 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、中性粒细胞弹性蛋白酶 (NE)、髓过氧化物酶 (MPO)、金属基质蛋白酶 9 (MMP-9), 从而有助于改善 ALI。内皮祖细胞在炎症氧化应激环境下数量、功能均有所下降, 有研究将基因治疗和细胞移植结合起来, 结果表明转染了骨形态发生蛋白 (BMP2) 基因的内皮祖细胞移植能更有效地减轻 ALI<sup>[23]</sup>。YANG 等<sup>[24]</sup>研究表明, 高密度脂蛋白 Reverse-D-4F 可以增加循环内皮祖细胞数量, 促进内皮祖细胞分化, 通过 PI3K/Akt/eNOS 途径逆转 ALI 模型中内皮祖细胞的功能障碍, 从而起到血管保护作用, 一定程度延缓 ALI 进展。

### 2.2 内皮祖细胞的旁分泌作用

内皮祖细胞移植可以一定程度定植到毛细血管促进血管新生, 然而研究中极少量的定植细胞似乎不能证明其强大的治疗效果<sup>[25]</sup>。内皮祖细胞诱导的新生血管生成不仅仅是细胞整合, 还可能受到旁分泌释放促血管生成因子的影响。内皮祖细胞的旁分泌作用正在成为刺激再生的重要机制。内皮祖细胞

可以分泌血管内皮生长因子(VEGF)<sup>[26]</sup>。胸腺肽 $\beta 4$ (Thymosin  $\beta 4$ )可以改善内皮祖细胞的旁分泌作用促进VEGF表达,内皮祖细胞条件培养基在体外可以促进人脐静脉内皮细胞的血管生成,并通过Thymosin  $\beta 4$ 预处理进一步增强,而Thymosin  $\beta 4$ 的这种增强作用可被VEGF抗体中和,表明内皮祖细胞旁分泌VEGF在促进血管生成中发挥重要作用<sup>[27]</sup>。SONG等<sup>[28]</sup>用脂多糖(LPS)诱导复制ALI模型,发现VEGF可增加肺血管数量,减少肺组织湿干比和中性粒细胞浸润,降低肺细胞的凋亡,还大大增加循环内皮祖细胞数量,这说明内皮祖细胞旁分泌对ALI的治疗效果不仅仅是促进新生血管生成,同时还具有抗炎抗凋亡作用,并可招募内皮祖细胞进一步修复内皮从而形成一个良好的正性循环。有研究将VEGF基因转染和内皮祖细胞移植结合应用于治疗ALI,相较于单纯移植内皮祖细胞,转染VEGF165基因的内皮祖细胞移植能进一步改善氧合,减轻肺水肿,并降低肺组织诱导一氧化氮合酶(iNOS)、内皮素-1(ET-1)的表达,对肺组织的修复作用更优<sup>[29]</sup>。

### 2.3 内皮祖细胞外泌体对ALI的修复

干祖细胞具有组织修复再生的潜能,广泛应用于移植医学领域,然而干祖细胞分泌的微囊泡通常被认为是细胞碎片或残骸,多年来其生物学作用一直被忽视<sup>[30]</sup>。有研究报道,在猪肺移植缺血再灌注损伤模型中,并没有在肺内检测到荧光标记的内皮祖细胞的定植<sup>[31]</sup>。有研究表明干祖细胞移植发挥有利作用主要是依靠旁分泌机制,而非其在损伤部位的定植和分化,细胞释放胞外囊泡在细胞间交流和组织修复中扮演重要角色<sup>[32]</sup>。胞外囊泡主要分为:外泌体、微囊泡和凋亡体<sup>[33]</sup>。近年来,内皮祖细胞的外泌体在许多疾病模型中展现出良好的内皮修复功能,如ALI<sup>[34]</sup>、糖尿病皮肤伤口愈合等<sup>[35]</sup>。有研究报道高氧应激损害肺微循环内皮细胞的增殖、迁移、血管生成能力,内皮祖细胞外泌体可以在氧化应激情况下增加促血管生成相关蛋白VEGF、VEGFR-2、eNOS的表达,提高肺微循环内皮细胞的生物活性<sup>[36]</sup>。WU等<sup>[37]</sup>研究发现,内皮祖细胞的外泌体可通过转移miR-126下调SPRED1基因激活RAF/ERK信号通路,从而促进内皮细胞功能的发挥,减轻LPS诱导的ALI。在脓毒症小鼠模型中,静脉给予

的内皮祖细胞外泌体主要集聚在肺部,增加miR-126-5p和miR-126-3p的表达,减少肺组织高迁移组盒1(HMGB1)的表达,进而减轻肺血管的渗透性,减少肺水含量,实验还证实内皮祖细胞富含的miR126-5p和miR-126-3p分别抑制LPS诱导的人微循环内皮细胞中HMGB1和血管内皮黏附分子1(VCAM1)的增加<sup>[38]</sup>。ALI以肺泡-毛细血管屏障功能破坏为特征,内皮祖细胞外泌体除了发挥内皮保护作用,在LPS诱导的ALI模型中气管内应用内皮祖细胞的外泌体,还可以改善肺泡上皮功能,其机制为外泌体将miR-126传递给上皮细胞进而上调紧密连接蛋白的表达,下调PI3KR2、VEGF $\alpha$ 和HMGB1<sup>[39]</sup>。

### 3 结语

ALI是一种十分复杂、进展迅速的炎症综合征,目前还没有特别有效的治疗方法。许多动物实验表明内皮祖细胞在修复内皮屏障、促进新生血管生成、延缓ALI病理过程中表现出巨大的潜能,然而由于内皮祖细胞移植的免疫原性、促肿瘤生成及体外扩增困难、移植时机难以确定等因素限制了其在临床中的应用。近年来内皮祖细胞条件培养基中的外泌体具有与内皮祖细胞相似的功能甚至优于细胞本身,在ALI中展现出极好的应用前景,而且基于其免疫原性很低,相应的并发症少,内皮祖细胞的无细胞治疗或可以成为减轻ALI新的研究方向。

### 参 考 文 献 :

- [1] RANIERI V M, RUBENFELD G D, THOMPSON B T, et al. Acute respiratory distress syndrome: the berlin definition[J]. JAMA, 2012, 307(23): 2526-2533.
- [2] GONZALES J N, LUCAS R, VERIN A D. The acute respiratory distress syndrome: mechanisms and perspective therapeutic approaches[J]. Austin J Vasc Med, 2015, 2(1): 1009
- [3] RAWAL G, YADAV S, KUMAR R. Acute respiratory distress syndrome: an update and review[J]. J Transl Int Med, 2018, 6(2): 74-77.
- [4] RAMANATHAN K, ANTOGNINI D, COMBES A, et al. Planning and provision of ECMO services for severe ARDS during the COVID-19 pandemic and other outbreaks of emerging infectious diseases[J]. The Lancet Respiratory Medicine, 2020, 8(5): 518-526.
- [5] XUE Y J, ZHOU B D, WU J, et al. Transplantation of endothelial progenitor cells in the treatment of coronary artery microembo-



- lism in rats[J]. *Cell Transplant*, 2020, 29, DOI: 10.1177/0963689720912688.
- [6] LOISEL F, PROVOST B, GUIHAIRRE J, et al. Autologous endothelial progenitor cell therapy improves right ventricular function in a model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension[J]. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2019, 157(2): 655-666.
- [7] MAO S Z, YE X B, LIU G, et al. Resident endothelial cells and endothelial progenitor cells restore endothelial barrier function after inflammatory lung injury[J]. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2015, 35(7): 1635-1644.
- [8] KAWASAKI T, NISHIWAKI T, SEKINE A, et al. Vascular repair by tissue-resident endothelial progenitor cells in endotoxin-induced lung injury[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2015, 53(4): 500-512.
- [9] JIN Y, YANG C, SUI X T, et al. Endothelial progenitor cell transplantation attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via regulating miR-10a/b-5p[J]. *Lipids Health Dis*, 2019, 18(1): 136.
- [10] HRISTOV M, WEBER C. Endothelial progenitor cells: characterization, pathophysiology, and possible clinical relevance[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2004, 8(4): 498-508.
- [11] HRISTOV M, ERL W, WEBER P C. Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing[J]. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 2003, 23(7): 1185-1189.
- [12] CERADINI D J, GURTNER G C. Homing to hypoxia: HIF-1 as a mediator of progenitor cell recruitment to injured tissue[J]. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 2005, 15(2): 57-63.
- [13] REAGAN J, FOO T, TRACY W J, et al. Distinct phenotypes and regenerative potentials of early endothelial progenitor cells and outgrowth endothelial progenitor cells derived from umbilical cord blood[J]. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 2011, 5(8): 620-628.
- [14] YOON C H, HUR J, PARK K W, et al. Synergistic neovascularization by mixed transplantation of early endothelial progenitor cells and late outgrowth endothelial cells: the role of angiogenic cytokines and matrix metalloproteinases[J]. *Circulation*, 2005, 112(11): 1618-1627.
- [15] JU Y N, GONG J, WANG X T, et al. Endothelial colony-forming cells attenuate ventilator-induced lung injury in rats with acute respiratory distress syndrome[J]. *Arch Med Res*, 2018, 49(3): 172-181.
- [16] POH K K, LEE P S S, DJOHAN A H, et al. Transplantation of endothelial progenitor cells in obese diabetic rats following myocardial infarction: role of thymosin beta-4[J]. *Cells*, 2020, 9(4): 949.
- [17] WANG S, CHEN Z, TANG X B, et al. Transplantation of vascular endothelial growth factor 165-transfected endothelial progenitor cells for the treatment of limb ischemia [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2015, 12(4): 4967-4974.
- [18] GUO X B, DENG X, WEI Y. Homing of cultured endothelial progenitor cells and their effect on traumatic brain injury in rat model[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 4164.
- [19] CHENG K T, XIONG S Q, YE Z M, et al. Caspase-11-mediated endothelial pyroptosis underlies endotoxemia-induced lung injury[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(11): 4124-4135.
- [20] JU Y N, GENG Y J, WANG X T, et al. Endothelial progenitor cells attenuate ventilator-induced lung injury with large-volume ventilation[J]. *Cell Transplant*, 2019, 28(12): 1674-1685.
- [21] GAO W, JIANG T, LIU Y H, et al. Endothelial progenitor cells attenuate the lung ischemia/reperfusion injury following lung transplantation via the endothelial nitric oxide synthase pathway[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2019, 157(2): 803-814.
- [22] MAO M, HAO L, WANG Y, et al. Transplantation of endothelial progenitor cells attenuates lipopolysaccharide-induced lung injury via inhibiting the inflammatory secretion of neutrophils in rats[J]. *Am J Med Sci*, 2019, 357(1): 49-56.
- [23] YIN X R, LIANG Z D, YUN Y, et al. Intravenous transplantation of BMP2-transduced endothelial progenitor cells attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats[J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2015, 35(6): 2149-2158.
- [24] YANG N N, TIAN H, ZHAN E X, et al. Reverse-D-4F improves endothelial progenitor cell function and attenuates LPS-induced acute lung injury[J]. *Respir Res*, 2019, 20(1): 131.
- [25] RAFAT N, TONSHOFF B, BIERHAUS A, et al. Endothelial progenitor cells in regeneration after acute lung injury: do they play a role[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 48(4): 399-405.
- [26] KANZLER I, TUCHSCHEERER N, STEFFENS G, et al. Differential roles of angiogenic chemokines in endothelial progenitor cell-induced angiogenesis[J]. *Basic Res Cardiol*, 2013, 108(1): 310.
- [27] ZHAO Y K, SONG J L, BI X K, et al. Thymosin beta4 promotes endothelial progenitor cell angiogenesis via a vascular endothelial growth factor-dependent mechanism[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(2): 2314-2320.
- [28] SONG J F, LU H, ZHENG X Y, et al. Effects of vascular endothelial growth factor in recovery phase of acute lung injury in mice[J]. *Lung*, 2015, 193(6): 1029-1036.
- [29] 何招辉, 贺慧为, 卢院华, 等. 慢病毒介导 VEGF165 转染的内皮祖细胞移植可减轻大鼠 ALI[J]. *中华危重病急救医学*, 2017, 29(11): 1015-1020.
- [30] RATAJCZAK M Z, KUCIA M, JADCZYK T, et al. Pivotal role of paracrine effects in stem cell therapies in regenerative medicine: can we translate stem cell-secreted paracrine factors and microvesicles into better therapeutic strategies[J]. *Leukemia*, 2012, 26(6): 1166-1173.
- [31] YEN Y T, ROAN J N, FANG S Y, et al. Autologous endothelial

- progenitor cells improve allograft survival in porcine lung transplantation with prolonged ischemia[J]. *Ann Transl Med*, 2016, 4(15): 277.
- [32] CHEN B, LI Q, ZHAO B Z, et al. Stem Cell-derived extracellular vesicles as a novel potential therapeutic tool for tissue repair[J]. *Stem Cells Translational Medicine*, 2017, 6(9): 1753-1758.
- [33] CRUZ F F, ROCCO P R M. Stem-cell extracellular vesicles and lung repair[J]. *Stem Cell Investig*, 2017, 4: 78.
- [34] BURGER D, VINAS J L, AKBARI S, et al. Human endothelial colony-forming cells protect against acute kidney injury: role of exosomes[J]. *Am J Pathol*, 2015, 185(8): 2309-2323.
- [35] LI X C, JIANG C Y, ZHAO J G. Human endothelial progenitor cells-derived exosomes accelerate cutaneous wound healing in diabetic rats by promoting endothelial function[J]. *J Diabetes Complications*, 2016, 30(6): 986-992.
- [36] ZHANG X M, LU A Z, LI Z, et al. Exosomes secreted by endothelial progenitor cells improve the bioactivity of pulmonary microvascular endothelial cells exposed to hyperoxia in vitro[J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(12): 254.
- [37] WU X, LIU Z L, HU L J, et al. Exosomes derived from endothelial progenitor cells ameliorate acute lung injury by transferring miR-126[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 370(1): 13-23.
- [38] ZHOU Y, LI P F, GOODWIN A J, et al. Exosomes from endothelial progenitor cells improve the outcome of a murine model of sepsis[J]. *Molecular Therapy*, 2018, 26(5): 1375-1384.
- [39] ZHOU Y, LI P, GOODWIN A J, et al. Exosomes from endothelial progenitor cells improve outcomes of the lipopolysaccharide-induced acute lung injury[J]. *Crit Care*, 2019, 23(1): 44.

(张蕾 编辑)

**本文引用格式:** 郭桢楠, 马雪, 丁文刚. 内皮祖细胞在急性肺损伤中应用的研究进展[J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(3): 65-69.

**Cite this article as:** GUO Z N, MA X, DING W G. Research progress on application of endothelial progenitor cells in acute lung injury[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2021, 31(3): 65-69.