

# 肺干细胞向肺泡上皮分化在急性呼吸窘迫综合征中的研究进展

李福东 刘虹 陈亚君 李丹丹

**摘要** 急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 是临床常见的危重症, 目前对它的治疗仍局限于器官支持治疗, 并无更理想的治疗方法。部分 ARDS 幸存者肺功能可恢复至接近正常水平, 这表明人体拥有较强的肺再生系统。肺再生主要依赖于区域性分布的肺干细胞重新进入细胞周期、增殖并分化, 因此内源性肺干细胞可用于肺损伤的治疗。研究发现, 肺干细胞对肺泡上皮完整性的修复有助于恢复肺泡的正常功能, 也可能从根本上延缓或逆转 ARDS 的病理进程。且有研究发现, 远端气道干细胞 (distal airway stem cells, DASCs) 能够进行体外大规模扩增, 并分化出修复受损肺泡功能的肺泡上皮细胞。近年来研究认为, 肺干细胞表达肿瘤蛋白-63 (p63) 和角蛋白 5 (Krt5) 的基因 (p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup>) 对于肺再生是必需的, p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup> 远端气道干细胞 (p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup> DASCs) 能够迁移、增殖并分化为肺泡上皮 1 型 (AT1) 和 2 型 (AT2) 细胞来修复损伤的肺泡上皮细胞。本文阐述了近年来 DASCs 在治疗肺损伤中的作用, 以期对 ARDS 的临床治疗提供有益的启示。

**关键词** 急性呼吸窘迫综合征 肺干细胞 p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup> 远端气道干细胞 肺泡上皮细胞 修复

**中图分类号** R563

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.06.006

急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 是一种快速进展的非心源性肺水肿, 病理特征主要是弥漫性肺泡损伤, 表现为炎症、肺水肿、出血、肺泡透明膜形成和肺泡上皮细胞损伤, 临床症状最初表现为呼吸困难、呼吸急促和低氧血症, 然后迅速演变为急性呼吸衰竭<sup>[1]</sup>。致使 ARDS 发生相关的病因除了最常见的细菌性和病毒性肺炎以外, 还与非肺源性脓毒症、严重创伤、胰腺炎和胃内容物吸入等相关。ARDS 的诊断标准几经变化, 目前常根据柏林定义来诊断, 其临床特征主要是胸部影像学上的双侧肺浸润影和难以纠正的严重低氧血症<sup>[2]</sup>。随着 ARDS 患者重症监护管理方法的不断进步, 特别是低潮气量机械通气和体外膜肺氧合技术的应用, 使得 ARDS 患者的病死率有所下降<sup>[3,4]</sup>。但全球每年新增的 ARDS 患者仍然将近 300 万, 住院病死率高达 43%, 并且重症监护病房 (ICU) 中患有 ARDS 的患者占 10%<sup>[5,6]</sup>。虽然近十余年在 ARDS 患者的治疗方面取得了进展, 但大多局限于对症和支持性治疗, 如机械通气、预防应激性溃疡和静脉血栓栓塞以及营养

支持并解决潜在的病因等, 目前还没有更理想的治疗方法。因此, 迫切需要有一种新的方法来治疗 ARDS。近年来研究发现, 肺干细胞移植可以治疗多种疾病引起的肺损伤。随着干细胞技术的发展 (例如损伤模型、克隆分析、谱系追踪和单细胞基因表达) 以及模拟人类肺技术的提升, 促进了上皮细胞和间充质细胞修复肺细胞的研究, 也提高了人们对肺再生能力的理解和通过内源性肺干细胞治疗肺部疾病的能力, 这为治疗 ARDS 提供了新的思路<sup>[7]</sup>。

## 一、ARDS 病理生理机制及治疗新思路

ARDS 的病理生理特征主要包括失调的炎症反应, 肺泡内皮细胞和上皮细胞通透性增加。ARDS 患者的急性肺损伤由失调的炎症引起, 肺损伤过程中, 凝血酶、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、血管内皮生长因子的浓度的增加会破坏血管内皮钙黏蛋白 (VE-cadherin) 的稳定性, 导致内皮通透性增加和肺泡内液体积聚。除了内皮通透性增加外, 肺泡上皮细胞通透性增加也是 ARDS 发病的重要因素。在病理条件下, 中性粒细胞迁移会破坏肺泡上皮细胞间的连接, 引起肺泡上皮细胞凋亡和剥蚀, 最终导致肺泡上皮通透性增加和肺水肿等<sup>[8]</sup>。因此修复肺泡上皮完整性对于改善 ARDS 患者的预后至关重要。

过去人类的肺被认为是高度静止的, 在稳态条件下细胞更新频率极低。现有研究发现存活的 ARDS

基金项目: 山西省自然科学基金资助项目 (面上项目) (201901D111360)

作者单位: 030001 太原, 山西医科大学第一医院重症医学科

通信作者: 刘虹, 主任医师, 硕士生导师, 电子信箱: lh9098@aliyun.com

患者的肺功能通常在 6 个月内基本可恢复至正常水平<sup>[9]</sup>。同时另一项临床研究发现,患者在接受右侧肺切除术后的 15 年里,肺活量有所增加且将其归因于肺泡数量的增加,而不是现有肺泡的扩大,这有力地证明了人类的肺具有再生的能力<sup>[10]</sup>。肺是一个对外开放的脏器,大多数肺上皮细胞直接暴露于包括吸入颗粒和病原体在内的环境刺激下,这些刺激使得上皮细胞的某些亚型:例如肺干细胞,可以快速增殖和(或)分化以维持肺的正常结构和功能<sup>[11]</sup>。肺损伤以后肺干细胞的再生表明它具有内在的增殖和自我更新潜力<sup>[12]</sup>。这些研究都提示内源性肺干细胞在上皮细胞的损伤修复中发挥重要作用,可用于肺损伤的治疗。因此,通过移植肺干细胞进行细胞治疗可以为各种肺部疾病提供重要的治疗途径;通过促进肺泡上皮细胞的修复也可能从根本上延缓或逆转 ARDS 的病理进程。但是我们仍需要加深对肺干细胞生物学基础方面的理解,才能找到利用内源性肺干细胞潜力进行再生的医学方法,同时避免病理重塑。

## 二、肺泡上皮细胞的组成及修复

1. 肺泡上皮细胞的组成:人的肺是一种特殊的器官,由 40 多种不同的细胞谱系组成,具有高度复杂的结构和惊人的功能。肺泡除了由上皮、内皮和间充质常驻细胞类型组成外,还存在几种免疫细胞谱系,包括肺泡巨噬细胞、间质巨噬细胞和树突状细胞。肺泡上皮细胞有两个谱系,分别为肺泡上皮 1 型(AT1)和 2 型(AT2)细胞,其中 AT1 细胞覆盖肺泡表面的 95%,并与毛细血管丛紧密并列;AT2 细胞负责在肺表面产生可以降低肺泡表面张力的活性物质<sup>[13]</sup>。在未受损伤的肺中,大多数细胞都更新得相对缓慢,但是几乎所有类型的细胞都可以重新进入细胞周期,并表现出一定程度的运动性,以促进屏障重建。据报道,小鼠的肺损伤后,有许多不同种类的干细胞可以再生肺泡上皮细胞以修复肺泡的结构和功能,这种对肺损伤的应答既包括自我更新的激活,也包括分化成更成熟的细胞系<sup>[14]</sup>。Liu 等<sup>[15]</sup>研究发现,在受损的肺实质中,残留的 AT2 细胞和来自远端气道的干细胞都对肺泡修复有重要作用。

2. 远端气道干细胞对肺泡的修复作用:ARDS 患者肺损伤后,可以激活特定的上皮干细胞来再生上皮细胞,根据肺损伤程度的不同,会引起剩余的 AT2 细胞和远端气道的干细胞的增殖、迁移并分化为 AT1 或 AT2 细胞覆盖在裸露的肺泡表面以恢复正常上皮屏障功能。通常内源性的 AT2 细胞是各种肺泡损伤

后的主要再生应答者,肺泡轻度损伤后,AT2 细胞可再生出大量新的 AT1 或 AT2 细胞。但有证据表明,肺泡重度损伤后,远端气道的干细胞的激活是肺泡上皮细胞的主要替代来源<sup>[16, 17]</sup>。在肺远端气道中有一种具有再生潜力的远端气道干细胞群也称远端气道干细胞(DASCs),它具有克隆性、可扩展性和精确移植的特性<sup>[18]</sup>。Zhou 等<sup>[19]</sup>研究证实了人体的 DASCs 在药物条件下进行体外扩增时仍能够维持干细胞/祖细胞的特性,并且大规模体外培养增殖技术和肺移植技术的可行性使 DASCs 成为细胞治疗的理想候选者,同时也发现这些 DASCs 均表达肿瘤蛋白-63(p63)和角蛋白 5(Krt5)的基因(p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup>)。这些研究也发现 p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup> DASCs 可通过气管内迁移、克隆、扩增和选择性地栖息在肺损伤区域,之后逐渐分化形成可表达典型肺泡相关标志物的 AT1 细胞和 AT2 细胞组成的肺泡。因此 p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup> DASCs 在肺干细胞治疗肺泡损伤的修复中具有很大的潜力。

## 三、远端气道干细胞修复肺损伤研究进展

随着对肺干细胞的深入研究,越来越多的研究者开始关注 p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup> DASCs。Vaughan 等<sup>[20]</sup>研究发现,流感或博来霉素引起小鼠肺损伤后,DASCs 通过 Notch 信号激活 p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup>后,可迅速重新进入细胞周期,增殖并迁移至肺严重损伤的区域,且具有分化为成熟的支气管和肺泡上皮细胞的潜力,最终会促进肺组织再生。Zuo 等<sup>[21]</sup>将 p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup> DASCs 与被 H1N1 流感病毒感染的小鼠肺再生过程联系起来,发现内源性的 p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup> DASCs 在流感诱导的肺损伤小鼠肺部增殖,并在肺炎部位聚集分化成新生肺泡。他们还证明了单个 p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup> DASC 经过扩增并移植入受感染的肺后,能够整合到受损肺泡的区域,分化为 AT1 和 AT2 细胞以及细支气管分泌细胞,可促进肺再生。Wang 等<sup>[22]</sup>研究发现,从小鼠和人体中分离出的 DASCs 能够在体外无限扩增,并进一步分化为成熟的肺泡结构,也证实将 DASCs 移植入小鼠的肺中可阻止肺部炎症进展、改善小鼠的肺损伤和呼吸功能,如提高氧饱和度和降低 CO<sub>2</sub> 分压。

## 四、p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup> 的作用

肺干细胞对于肺再生的作用离不开激活 p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup>,Kumar 等<sup>[23]</sup>通过对被 H1N1 流感病毒感染后小鼠的肺再生研究证实了这一观点。且通过对 p63<sup>+</sup>的研究发现,它在多种上皮组织的基底细胞中均高度表达,也被证明在上皮细胞正常发育、维持和稳态中发挥了重要的作用。p63<sup>+</sup>还能够使得这些细胞具备

干细胞特性,如增殖能力和分化能力<sup>[24, 25]</sup>。同时 p63<sup>+</sup>除了在帮助干细胞维持自我更新的潜能中发挥作用以外,还在抑制各种上皮细胞凋亡方面发挥着至关重要的作用。多项研究证实,在 ARDS 小鼠的肺再生中 p63<sup>+</sup>发挥了重要的作用<sup>[21, 25, 26]</sup>。因此, p63<sup>+</sup>对于肺干细胞的自我更新、再生以及分化都是必不可少的。

根据多项研究发现,除了 p63<sup>+</sup>以外, Krt5<sup>+</sup>细胞也具有肺干/祖细胞特征,此类细胞来源于近端或远端气道中的各种原始祖细胞,一旦被各种类型的肺组织损伤激活后, Krt5<sup>+</sup>肺干细胞就可以迁移至发炎受损的肺实质区域,形成“Krt5 茎”,并能够在肺实质中分化为肺泡上皮细胞<sup>[20, 21, 27]</sup>。近年来研究证实,扩增的 Krt5<sup>+</sup>肺干细胞可以产生新的肺上皮细胞,并认为其在修复上皮屏障功能中发挥重要的作用,可以使肺组织免受进一步损伤<sup>[27, 28]</sup>。Krt5<sup>+</sup>肺干细胞的这些功能对于受损肺组织的修复相当重要,因为恢复正常气体交换需要重建肺泡上皮的屏障功能<sup>[29]</sup>。大量的研究已经发现,肺干细胞高度表达 p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup>,其功能与维持肺干细胞特性和抑制上皮细胞细胞凋亡有关,同时也发现肺泡上皮屏障可通过 p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup>肺干细胞逐渐分化建立。

因此利用 p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup> DASCs 分化生成肺泡上皮细胞成为修复 ARDS 患者肺泡的一种潜在的治疗方法。但目前大多试验仍局限于动物实验,所以仍需通过大量的临床研究以评估 p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup> DASCs 用于治疗 ARDS 患者的潜力,以便更全面地评估 p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup> DASCs 在肺泡损伤后修复和再生肺泡的能力,开发出真正修复肺泡的治疗方法,从而改善 ARDS 患者的临床结局。

## 五、展 望

ARDS 的高发生率和高病死率给患者带来巨大的创伤,也给患者家庭和社会带来了很大的经济负担。尽管支持性治疗取得了实质性的进展,但仍然没有针对 ARDS 的更好的治疗方法。随着对 ARDS 病理生理机制的逐步认识,发现其病理特征主要是弥漫性肺泡损伤。因此修复损伤的肺泡是治疗 ARDS 的一种新思路。近年来研究发现,通过移植肺干细胞可修复损伤的肺泡。随着肺干细胞治疗技术的发展以及对肺组织再生潜力的进一步认识,发现 p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup>的功能与维持肺干细胞特性、抑制上皮细胞细胞凋亡和促进恢复肺泡上皮屏障有关; p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup> DASCs 在肺组织的修复中发挥重要的作用,它们具有

分化为肺泡上皮细胞的能力,进而重新填充在裸露的肺泡表面完成再生肺泡结构。因此通过利用 p63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup> DASCs 修复 ARDS 患者的肺泡上皮完整性或许是一种新的治疗思路,这可能延缓或逆转 ARDS 的病理进程并改善患者的临床结局。

## 参考文献

- Nuala JM, Luciano G, Carolyn S. Acute respiratory distress syndrome [J]. Seminar, 2021, 398(14): 622-637
- Saguil A, Fargo MV. Acute respiratory distress syndrome: diagnosis and management [J]. Am Fam Physician, 2020, 101(12): 730-738
- 哈力旦·阿布都, 刘子泉, 刘燕青, 等. 急性呼吸窘迫综合症的体外膜肺氧合治疗研究新进展 [J]. 中华灾害救援医学, 2021, 9(8): 1180-1183
- 高胜浩, 李轩轩, 马利军, 等. 早期无创正压通气联合俯卧位在急性呼吸窘迫综合症治疗中的临床研究 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2020, S01: 4-7
- Moss M, Huang DT, Brower RG, et al. Early neuromuscular blockade in the acute respiratory distress syndrome [J]. N Engl J Med, 2019, 380(21): 1997-2008
- Bellani G, Laffey JG, T Pham T, et al. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries [J]. JAMA, 2016, 315(8): 788-800
- Gilpin SE, Wagner DE. Acellular human lung scaffolds to model lung disease and tissue regeneration [J]. Eur Respir Rev, 2018, 27(148): 180021
- Kaku S, Nguyen CD, Htet NN, et al. Acute respiratory distress syndrome: etiology, pathogenesis, and summary on management [J]. J Intensive Care Med, 2020, 35(8): 723-737
- Wilcox ME, Patsios D, Murphy G, et al. Radiologic outcomes at 5 years after severe ARDS [J]. Chest, 2013, 143(4): 920-926
- Butler JP, Loring SH, Patz S, et al. Evidence for adult lung growth in humans [J]. N Engl J Med, 2012, 367(3): 244-247
- Beers MF, Morrisey EE. The three R's of lung health and disease: repair, remodeling, and regeneration [J]. J Clin Invest, 2011, 121(6): 2065-2073
- 刘付蓉, 陈会文. 肺干细胞疗法: 可能修复受损的肺组织 [J]. 国际儿科学杂志, 2017, 44(9): 587-591
- 朱召浩, 朱嘉玲, 戚薇岩, 等. 肺泡上皮细胞的研究进展 [J]. 药物生物技术, 2017, 24(2): 159-162
- Chen YW, Huang SX, Ho SH, et al. A three-dimensional model of human lung development and disease from pluripotent stem cells [J]. Nat Cell Biol, 2017, 19(5): 542-549
- Liu Q, Liu K, Cui G, et al. Lung regeneration by multipotent stem cells residing at the bronchioalveolar-duct junction [J]. Nat Genet, 2019, 51(4): 728-738
- Wu A, Song H. Regulation of alveolar type 2 stem/progenitor cells in lung injury and regeneration [J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2020, 52(7): 716-722

- 17 Xi Y, Kim T, Brumwell AN, *et al.* Local lung hypoxia determines epithelial fate decisions during alveolar regeneration[J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(8): 904–914
- 18 Xian W, Duleba M, Yamamoto Y, *et al.* Biobanking organoids or ground – state stem cells? [J]. *J Clin Med*, 2018, 7(12): 555
- 19 Zhou Y, Wang Y, Li D, *et al.* Stable long – term culture of human distal airway stem cells for transplantation[J]. *Stem Cells Int*, 2021, 2021: 9974635
- 20 Vaughan AE, Brumwell AN, Xi Y, *et al.* Lineage – negative progenitors mobilize to regenerate lung epithelium after major injury[J]. *Nature*, 2015, 517(7536): 621–625
- 21 Zuo W, Zhang T, Wu DZ, *et al.* p63<sup>+</sup> Krt5<sup>+</sup> distal airway stem cells are essential for lung regeneration[J]. *Nature*, 2015, 517(7536): 616–620
- 22 Wang X, Zhao Y, Li D, *et al.* Intrapulmonary distal airway stem cell transplantation repairs lung injury in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Cell Prolif*, 2021, 54(6): e13046
- 23 Kumar PA, Hu Y, Yamamoto Y, *et al.* Distal airway stem cells yield alveoli in vitro and during lung regeneration following H1N1 influenza infection[J]. *Cell*, 2011, 147(3): 525–538
- 24 Melino G, Memmi EM, Pelicci PG, *et al.* Maintaining epithelial stemness with p63[J]. *Sci Signal*, 2015, 8(387): re9
- 25 Senoo M, Pinto F, Crum CP, *et al.* p63 Is essential for the proliferative potential of stem cells in stratified epithelia[J]. *Cell*, 2007, 129(3): 523–536
- 26 Rock JR, Onaitis MW, Rawlins EL, *et al.* Basal cells as stem cells of the mouse trachea and human airway epithelium[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(31): 12771–12775
- 27 Kathiriya JJ, Brumwell AN, Jackson JR, *et al.* Distinct airway epithelial stem cells hide among club cells but mobilize to promote alveolar regeneration[J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 26(3): 346–358
- 28 Zacharias WJ, Frank DB, Zepp JA, *et al.* Regeneration of the lung alveolus by an evolutionarily conserved epithelial progenitor[J]. *Nature*, 2018, 555(7695): 251–255
- 29 Yanagi S, Tsubouchi H, Miura A, *et al.* Breakdown of epithelial barrier integrity and overdrive activation of alveolar epithelial cells in the pathogenesis of acute respiratory distress syndrome and lung fibrosis [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 573210

(收稿日期: 2022-01-18)

(修回日期: 2022-02-21)

## 局限性的肺部感染性疾病的微创治疗进展

杨家强 刘鑫 杨昕宇 颜地敏 李旭

**摘要** 肺部感染性疾病(inflammatory lung disease,ILD)是呼吸系统中的一类高发性疾病,局限性的ILD主要是感染灶位于单个肺段或肺叶之内,其发生率也较高,需与恶性肿瘤鉴别。外科治疗局限性的ILD以切除患肺为主,传统的手术方式为开胸手术,随着微创技术的发展,电视辅助胸腔镜(video-assisted thoracoscopic surgery,VATS)治疗肺部感染性疾病的优势也逐渐显现出来,与开胸手术比较,VATS的优势是术后疼痛程度轻、并发症少,但是ILD胸腔内病变较为复杂,应根据病情及胸腔内情况选择合适的手术方式。本文通过对局限性的ILD的微创治疗的适应证、术中处理、治疗进展等方面进行综述,以对后续的临床治疗提供参考和建议。

**关键词** 肺 感染 电视辅助外科手术

**中图分类号** R655.3

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.06.007

肺部感染性疾病(inflammatory lung disease,ILD)是指终末气道、肺泡以及肺间质的炎症,是呼吸系统疾病中最常见的一类,但由于其发病人群多为老年人、儿童和免疫力低下的患者,故该疾病的进展程度及病死率一直居高不下,其中的下呼吸道感染目前已位于全球前10位死亡原因的第4位。导致ILD的原

因有很多,包括病原微生物感染、免疫缺陷和药物损伤、理化因素等,而最常见的原因是病原微生物的感染。

ILD的治疗分为内科治疗和外科治疗,内科以抗生素和抗真菌药物治疗为主,往往不需要手术干预,而外科则是以手术治疗为主,即切除患肺、祛除感染灶。如果感染突破了肺组织和脏层胸膜进入胸膜腔,并且形成了慢性脓胸,就需要剥离纤维板,清理脓腔。局限性的ILD是感染灶主要存在于单个肺叶或者肺段之内,没有破溃侵入胸膜腔形成脓胸,例如肺结核球、肺曲霉菌病、肺脓肿等,此时可以根据病灶的位置

基金项目:云南省卫生健康委员会医学后备人才培养计划项目(H-2018027)

作者单位:650101 昆明医科大学第二附属医院胸外科

通信作者:李旭,主任医师,硕士生导师,电子信箱:lixu981024@

163.com