

肺常驻干细胞修复肺损伤的相关通路研究进展

李丹丹 刘虹 陈亚君 李福东 耿凡毅

摘要 肺损伤是由不同致伤因素导致的肺实质的损伤。越来越多的研究表明,在肺损伤后,肺常驻干细胞参与肺修复,对维持肺功能具有重要作用,并有望应用于治疗各种肺部疾病。近年来,肺常驻干细胞参与肺修复的动物实验和临床研究取得了很大的进展。肺损伤时,气管、支气管、细支气管和肺泡区域内的常驻干细胞迅速增殖并分化以促进损伤的修复及稳态的更新,多种信号通路动态参与修复过程,进一步改善肺功能。本文重点介绍了气管、细支气管、肺泡区域的常驻干细胞,以及其修复肺损伤时相关的 Wnt、Notch、Hippo 信号通路的研究进展。

关键词 肺干细胞 肺再生 信号通路

中图分类号 R563

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2024.01.036

肺是人体重要的呼吸器官,具有气体交换和防御等功能,在感染、有毒化学物质、放射等各种因素导致肺损伤后,肺组织中的各种常驻干细胞会迅速增殖分化为各种功能性肺组织细胞,从而改善肺功能^[1]。近年来,越来越多的研究表明,肺常驻干细胞在肺修复过程中发挥着重要的作用。肺在解剖结构上可细分为4个不同的区域:气管、支气管、细支气管和肺泡,在肺修复过程中,每个区域的稳态由区域特异性常驻干细胞保证,这些细胞及其分化的后代在稳态条件下表现出稳定的特性,但在损伤后可以显示出强大的修复潜能^[2]。研究者通过鉴定细胞标志物、体内谱系追踪分析及体外类器官培养等方式增加了对肺常驻干细胞的认识^[3]。多项研究表明,在肺常驻干细胞修复肺损伤的过程中,多种信号通路参与其中并发挥着重要作用。

一、不同区域的肺常驻干细胞

1. 近端气管常驻干细胞:气管由假复层柱状上皮组成,包括基底细胞(basal cell, BC)、分泌细胞和纤毛细胞等。气管功能包括感知环境、分泌、再生、排斥感染、处理毒素和清除碎片等。基底细胞和表达 Scgb1a1 的分泌细胞被认为是参与气管损伤修复的常驻干细胞群^[4]。

(1) 基底细胞:基底细胞是具有自我更新和多向

分化潜能的多能干细胞。作为气管的常驻干细胞,基底细胞在体内稳态时通常保持静止状态,当发生急性肺损伤时,基底细胞短时间内可迅速增殖,并分化为多种气管上皮细胞维持气管结构和功能^[5]。Zuo 等^[6]通过支气管镜刷取人支气管上皮细胞,从中分离出高度表达 SOX9 的基底细胞,将体外扩增的人 SOX9 BC 移植到博来霉素诱导肺损伤的小鼠肺中,可以观察到 BC 分化为肺泡细胞和细支气管上皮细胞,包括分泌细胞和纤毛细胞,有效地阻断了肺纤维化的进展,从而改善小鼠的肺功能,并且将人 SOX9 BC 移植到支气管扩张患者的肺中,可以极大地改善患者的症状,证明了基底细胞具有修复能力,为以后的干细胞疗法提供了治疗思路。

(2) 分泌细胞:表达 Scgb1a1 的分泌细胞分布在气管内,显示出有限的干细胞特性。当气管损伤时,分泌细胞以缓慢的速度自我更新并分化为纤毛细胞,但不能产生其他类型的细胞^[7]。分泌细胞在基底细胞选择性耗尽后表现出稳定地去分化为基底样细胞的潜能,这些基底样细胞是多能的,在二氧化硫或流感病毒感染引起的气道损伤后,这些细胞可以分化为基底细胞、分泌细胞和纤毛细胞来再生气管上皮^[4]。

2. 细支气管常驻干细胞:细支气管常驻干细胞包括神经内分泌细胞(pulmonary neuroendocrine cell, PNEC)、v-分泌细胞、支气管肺泡干细胞(bronchioalveolar stem cell, BASC)、远端气道干细胞(distal airway stem cell, DASC)等。

(1) 神经内分泌细胞:神经内分泌细胞被证明是体内基底细胞的后代,通常聚集在神经内分泌体(neuroendocrine bodies, NEBs)中,具有作为干细胞的

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(李丹丹、刘虹);030001 太原,山西医科大学第一临床医学院(陈亚君、李福东、耿凡毅)

通信作者:刘虹,电子邮箱:lh9098@aliyun.com

增殖和分化潜能。在茶诱导的严重肺损伤后, PNEC 增殖并分化为分泌细胞和纤毛细胞以促进上皮细胞修复^[8]。

(2) v-分泌细胞: v-分泌细胞是细支气管的常驻干细胞之一, 在大多数分泌细胞凋亡后促进细支气管的修复和再生。在茶诱导损伤的小鼠模型中可观察到大部分分泌细胞凋亡, 并且研究者通过谱系追踪研究确定了分泌细胞的亚群: v-分泌细胞^[7]。v-分泌细胞可以在两个区域观察到: 毗邻 NEBs 和小鼠的支气管肺泡连接处 (bronchioalveolar duct junction, BADJ)。与大部分分泌细胞比较, v-分泌细胞特征性地表达高水平的 Scgb3a2 和 Upka3, 而 Scgb1a1 表达水平很低^[7]。在稳态或轻度至中度损伤期间, v-分泌细胞对细支气管上皮再生的贡献很小。而在茶介导的严重肺损伤之后, 位于 NEBs 和 BADJ 附近的 v-分泌细胞显著地促进了细支气管上皮的修复和再生^[7]。这表明, 肺损伤的类型和严重程度可能有助于观察细胞来源和再生程度。

(3) 支气管肺泡干细胞: 支气管肺泡干细胞位于支气管肺泡导管连接处, 表达 Scgb1a1 和 SPC, 可以分化为多种上皮细胞^[7]。多项研究表明, BASC 在体外 3D 培养 21 天后可形成细支气管样和肺泡样结构^[9]。在细支气管或肺泡损伤的动物模型中, BASC 可以分别分化为分泌细胞和纤毛细胞或肺泡细胞来修复远端气道和肺泡^[10, 11]。

(4) 远端气道干细胞: 远端气道干细胞是分布在小鼠和人远端气道基底上皮中的表达 TP63 和 KRT5 的干细胞群, 可以自我更新并分化为肺泡和支气管上皮细胞来促进肺修复^[12]。DASC 已被证明在肺损伤后具有强大的再生能力, 在 H1N1 流感病毒感染后, DASC 激活并增殖, 沿远端气道迁移到肺泡区域并形成“豆荚”。这些“豆荚”可以密封损伤的肺泡屏障, 从而根据损伤程度向成熟上皮和组织的再生分化^[2]。将小鼠 DASC 移植到博来霉素诱导肺损伤的小鼠模型中, 可以观察到 DASC 增殖并分化成 1 型肺泡上皮细胞, 通过减弱胶原蛋白的沉积抑制肺纤维化, 极大地改善了肺纤维化小鼠的肺功能并降低了小鼠死亡率^[13]。

3. 肺泡常驻干细胞: 肺泡细胞由 1 型肺泡细胞 (alveolar type 1 cell, AT1) 和 2 型肺泡细胞 (alveolar type 2 cell, AT2) 组成。AT1 是薄而扁平的细胞, 覆盖 95% 的肺泡表面, 表达 AQP5、PDPN、和 HOPX 等标志物。AT2 细胞分泌肺表面活性剂, 以降低肺的表面张

力并维持肺泡稳态^[14]。SPC 是 AT2 的特异性标志物。

(1) 1 型肺泡细胞: AT1 通常被认为是一种终末分化并处于静止状态的细胞类型, 但有研究表明在肺损伤后, AT1 有再生肺泡的潜能。在 3D 类器官培养中, 单个 HOPX AT1 细胞能够产生包含 AT1 和 AT2 细胞的类器官^[4]。对 AT1 和 AT2 进行谱系追踪发现, 高氧或低氧诱导新生小鼠肺损伤后, AT2 再生能力有限, 而 AT1 表现出强大的再生能力, 可分化为 AT2 促进肺泡修复^[15]。

(2) 2 型肺泡细胞: AT2 在损伤期间充当肺泡上皮的干细胞, 通常保持静止状态, 在损伤后被激活并表现出显著的再生能力, 以恢复肺泡在稳态和再生状态下的结构和功能^[14]。在铜绿假单胞菌诱导的肺损伤后的修复阶段, Liu 等^[16]通过谱系追踪分析鉴定出表达干细胞抗原 Sca-1 的 AT2, 与 Sca-1 阴性的 AT2 比较, Sca-1 AT2 具有相对显著的增殖效率和分化成 AT1 的潜力。Nabhan 等^[17]通过观察 Wnt 靶基因 Axin2 在小鼠肺中的表达, 鉴定出罕见的 AT2 亚群: 表达 Axin2 的 AT2 细胞, Axin2 AT2 具有干细胞潜能, 在肺损伤后迅速扩增并产生 AT1 和 AT2 细胞再生肺泡。

二、相关通路研究进展

多项研究揭示了各种信号通路参与肺损伤后的修复过程, 如 Wnt、Notch、Hippo 等通路。

1. Wnt 通路: Wnt 通路在肺组织的干细胞增殖和分化中起着重要的作用。Wnt 通路可分为经典 Wnt 通路 (Wnt/ β -catenin 通路) 和非经典 Wnt 通路 (Wnt/ Ca^{2+} 通路、Wnt/PCP 通路)^[4]。成年小鼠气管损伤后, 基底细胞内激活经典 Wnt 通路促进肺修复, 而抑制 Wnt 信号转导降低了基底细胞的增殖速率并阻碍了肺气道上皮的再生^[18]。在茶诱导的肺损伤中, Wnt 配体 (Wnt3A、Wnt5A 和 Wnt7B) 在修复的早期阶段在分泌细胞中上调, 激活 Wnt 信号转导可导致 BASC 数量大幅增加^[4]。肺气肿患者或小鼠肺泡的 Wnt/ β -catenin 蛋白活性降低, 从肺气肿小鼠模型中分离的远端气道干细胞及肺泡类器官形成能力受损, 使用 Wnt 激动剂激活 Wnt/ β -catenin 信号转导, 远端气道干细胞的类器官形成能力显著提高, 同时, 肺泡类器官的数量增加^[18]。Axin2 AT2 通过 Wnt/ β -catenin 通路积极参与肺修复。Axin2 AT2 可促进离体肺类器官的形成, 激活 Wnt 信号通路会引起 Axin2 AT2 自我更新反应, 并增强肺类器官增殖, 而抑制 Wnt 信号

减慢了肺类器官形成及 Axin2 AT2 扩增,反而有利于 Axin2 AT2 向 AT1 分化^[17]。同时,Raslan 等^[19]在分泌细胞和 AT2 中检测到强烈的 R - spondin2 (Rspo2) 表达,Rspo2 是 Wnt 通路的激活因子。在离体 3D 类器官培养中,Rspo2 通过激活 Wnt 信号通路促进肺泡类器官形成和分化。茶诱导的小鼠气道损伤后,Rspo2 表达显著下降,同时他们观察到缺乏 Rspo2 基因的小鼠在茶诱导的肺损伤后表现出明显的气道再生缺陷。了解 Wnt 信号通路参与干细胞增殖与分化过程为利用肺常驻干细胞治疗肺部疾病提供了新的思路。

2. Notch 通路:Notch 通路对肺上皮的稳态和修复至关重要。这条通路由 4 个受体 (Notch1、Notch2、Notch3 和 Notch4)、5 个典型配体 (Jagged1 和 Jagged2) 以及 Delta 样配体 (Dll1、Dll3 和 Dll4) 组成^[20]。基底细胞是气道修复过程中的主要干细胞群,受到 Notch 信号转导的强烈影响。Notch 通路是基底细胞分化所必需的,激活 Notch 通路可促进基底细胞分化为分泌细胞,在肺损伤时维持气管上皮稳态^[21]。在肺修复阶段,Notch 通路促进 DASC 激活,但抑制了其分化为肺泡细胞。研究者用 γ 分泌酶抑制剂与 DASC 共培养,观察到抑制 Notch 信号转导可促进 DASC 向肺泡细胞分化^[22]。敲除小鼠 Notch 受体后,可观察到 PNEC 的数量和大小明显增加,表明 Notch 通路在正常稳态期间限制 PNEC 增殖或分化,而在茶诱导的肺损伤中,PNEC 中 Notch 信号转导水平升高,促进 PNEC 的增殖和转分化为分泌细胞和纤毛细胞^[23]。在铜绿假单胞菌诱导的急性肺损伤的小鼠中,可观察到 AT2 中的 Notch 信号在损伤后的增殖阶段被激活,但随着 AT2 分化为 AT1,Notch 信号转导水平下降,有助于 AT2 细胞数量恢复^[24],这种从高到低的开关对于 AT2 胞分化成 AT1 细胞至关重要。

3. Hippo 通路:Hippo 是肺上皮细胞增殖、分化的关键通路。YAP/TAZ 是 Hippo 信号转导中的核心因子,在器官发育、组织稳态和修复中非常重要。Yap 是基底细胞维持稳态所必需的。基底细胞在 YAP 缺失时经过其无节制的分化而丢失,导致气道假复层柱状上皮被简化为柱状上皮。相反,YAP 信号过表达会加快基底细胞的增殖速率并阻止其分化,导致上皮增生^[25]。在基底细胞耗竭后,分泌细胞可以去分化为基底样细胞促进肺修复,YAP 在分泌细胞中的过表达会促进这种分化,同时抑制分泌细胞增

殖,相反,抑制 Hippo/YAP 通路将阻止这种去分化^[26]。Hippo 通路在 AT2 向 AT1 的分化过程中起着至关重要的作用,在感染肺炎链球菌的小鼠中,YAP/TAZ 在 AT2 中表达显著增加,促进 AT2 增殖和分化为 AT1 来减轻肺部炎症和修复肺泡上皮,而将 AT2 细胞中的 YAP/TAZ 基因特异性敲除后,小鼠肺部炎症加重,导致肺部纤维化病变^[27]。

三、展 望

损伤后肺强大的修复能力反映了肺组织学的复杂性,不同解剖区域的肺常驻干细胞具有其独特的分化潜能。多种信号通路在肺常驻干细胞增殖和分化过程中起着关键的调节作用。除了上述介绍的 Wnt 通路、Notch 通路及 Hippo 通路,还有 BMP 通路、Hedgehog 通路、TGF - β 通路等通路在调节肺常驻干细胞修复阶段发挥着重要作用。目前,我们正处于实现肺再生医学前景的开始。关于肺常驻干细胞修复肺损伤的机制尚不十分明确,仍需要开展深入的研究予以进一步证实。

参考文献

- 1 Lin CR, Bahmed K, Kosmider B. Impaired alveolar re - epithelialization in pulmonary emphysema [J]. *Cells*, 2022, 11(13): 2055
- 2 Parekh KR, Nawroth J, Pai A, *et al.* Stem cells and lung regeneration [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2020, 319(4): C675 - C693
- 3 Basil MC, Katzen J, Engler AE, *et al.* The cellular and physiological basis for lung repair and regeneration: past, present, and future [J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 26(4): 482 - 502
- 4 Raslan AA, Yoon JK. Wnt signaling in lung repair and regeneration [J]. *Mol Cells*, 2020, 43(9): 774 - 783
- 5 Wu M, Zhang X, Lin Y, *et al.* Roles of airway basal stem cells in lung homeostasis and regenerative medicine [J]. *Respir Res*, 2022, 23(1): 122
- 6 Ma Q, Ma Y, Dai X, *et al.* Regeneration of functional alveoli by adult human SOX9(+) airway basal cell transplantation [J]. *Protein Cell*, 2018, 9(3): 267 - 282
- 7 Alysandratos KD, Herriges MJ, Kotton DN. Epithelial stem and progenitor cells in lung repair and regeneration [J]. *Annu Rev Physiol*, 2021, 83: 529 - 550
- 8 Ouadah Y, Rojas ER, Riordan DP, *et al.* Rare pulmonary neuroendocrine cells are stem cells regulated by rb, p53, and notch [J]. *Cell*, 2019, 179(2): 403 - 416, e423
- 9 Vazquez - Armendariz AI, Heiner M, El Agha E, *et al.* Multilineage murine stem cells generate complex organoids to model distal lung development and disease [J]. *Embo J*, 2020, 39(21): e103476
- 10 Salwig I, Spitznagel B, Vazquez - Armendariz AI, *et al.* Bronchioalveolar stem cells are a main source for regeneration of distal lung epithelia in vivo [J]. *Embo J*, 2019, 38(12): e102099
- 11 Liu K, Tang M, Liu Q, *et al.* Bi - directional differentiation of single bronchioalveolar stem cells during lung repair [J]. *Cell Discov*,

2020, 6: 1

12 Zuo W, Zhang T, Wu DZ, *et al.* p63(+)Krt5(+) distal airway stem cells are essential for lung regeneration [J]. *Nature*, 2015, 517(7536): 616-620

13 Shi Y, Dong M, Zhou Y, *et al.* Distal airway stem cells ameliorate bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 161

14 Chan M, Liu Y. Function of epithelial stem cell in the repair of alveolar injury [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 170

15 Penkala IJ, Liberti DC, Pankin J, *et al.* Age-dependent alveolar epithelial plasticity orchestrates lung homeostasis and regeneration [J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(10): 1775-1789, e1775

16 Liu Y, Kumar VS, Zhang W, *et al.* Activation of type II cells into regenerative stem cell antigen-1(+) cells during alveolar repair [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2015, 53(1): 113-124

17 Nabhan AN, Brownfield DG, Harbury PB, *et al.* Single-cell wnt signaling niches maintain stemness of alveolar type 2 cells [J]. *Science*, 2018, 359(6380): 1118-1123

18 Hu Y, Ng-Blichfeldt JP, Ota C, *et al.* Wnt/ β -catenin signaling is critical for regenerative potential of distal lung epithelial progenitor cells in homeostasis and emphysema [J]. *Stem Cells*, 2020, 38(11): 1467-1478

19 Raslan AA, Oh YJ, Jin YR, *et al.* R-spondin2, a positive canonical wnt signaling regulator, controls the expansion and differentiation of distal lung epithelial stem/progenitor cells in mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(6): 3089

20 黄旺业, 赵志梅. Notch 信号通路 with 急性肺损伤关系的研究进展

[J]. *吉林医学*, 2019, 40(1): 175-177

21 Giuranno L, Roig EM, Wansleeben C, *et al.* Notch inhibition promotes bronchial stem cell renewal and epithelial barrier integrity after irradiation [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2020, 9(7): 799-812

22 Kiyokawa H, Morimoto M. Notch signaling in the mammalian respiratory system, specifically the trachea and lungs, in development, homeostasis, regeneration, and disease [J]. *Dev Growth Differ*, 2020, 62(1): 67-79

23 Yao E, Lin C, Wu Q, *et al.* Notch signaling controls transdifferentiation of pulmonary neuroendocrine cells in response to lung injury [J]. *Stem Cells*, 2018, 36(3): 377-391

24 Finn J, Sottoriva K, Pajcini KV, *et al.* Dlk1-mediated temporal regulation of notch signaling is required for differentiation of alveolar type II to type I cells during repair [J]. *Cell Rep*, 2019, 26(11): 2942-2954, e2945

25 Isago H, Mitani A, Mikami Y, *et al.* Epithelial expression of YAP and TAZ is sequentially required in lung development [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2020, 62(2): 256-266

26 Zhao R, Fallon TR, Saladi SV, *et al.* YAP tunes airway epithelial size and architecture by regulating the identity, maintenance, and self-renewal of stem cells [J]. *Dev Cell*, 2014, 30(2): 151-165

27 LaCanna R, Liccardo D, Zhang P, *et al.* YAP/TAZ regulate alveolar regeneration and resolution of lung inflammation [J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(5): 2107-2122

(收稿日期: 2022-10-26)

(修回日期: 2022-11-04)

(上接第 40 页)

15 Tallarico M, Canullo L, Xhanari E, *et al.* Dental implants treatment outcomes in patient under active therapy with alendronate: 3-year follow-up results of a multicenter prospective observational study [J]. *Clin Oral Implants Res*, 2016, 27(8): 943-949

16 Yajima N, Munakata M, Fuchigami K, *et al.* Influence of bisphosphonates on implant failure rates and characteristics of postmenopausal woman mandibular jawbone [J]. *J Oral Implantol*, 2017, 43(5): 345-349

17 Pandey A, Verma S, Malhan S, *et al.* Evaluation of effect of bisphosphonates on dental implant therapy in postmenopausal women using cone beam computed tomography [J]. *J Contemp Dent Pract*, 2019, 20(1): 51-55

18 Siebert T, Jurkovic R, Stelova D, *et al.* Immediate implant placement in a patient with osteoporosis undergoing bisphosphonate therapy: 1-year preliminary prospective study [J]. *J Oral Implantol*, 2015, 41: 360-365

19 Matsuo A, Hamada H, Takahashi H, *et al.* Evaluation of dental implants as a risk factor for the development of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in breast cancer patients [J]. *Odontology*, 2016, 104: 363-371

20 Sakka S, Baroudi K, Nassani MZ. Factors associated with early and

late failure of dental implants [J]. *J Investig Clin Dent*, 2012, 3(4): 258-261

21 de-Freitas NR, Lima LB, de-Moura MB, *et al.* Bisphosphonate treatment and dental implants: a systematic review [J]. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2016, 21(5): e644-e651

22 Ruggiero SL, Dodson TB, Fantasia J, *et al.* American association of oral and maxillofacial surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw - 2014 update [J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2014, 72(10): 1938-1956

23 章惠娅, 林国芬, 管叶, 等. 种植体早期失败的相关因素分析 [J]. *口腔医学*, 2020, 40(6): 526-530

24 Chrcanovic BR, Kisch J, Albrektsson T, *et al.* Factors influencing early dental implant failures [J]. *J Dent Res*, 2016, 95(9): 995-1002

25 张智勇, 孟甜, 陈全, 等. 种植体早期失败病例回顾性分析 [J]. *北京大学学报: 医学版*, 2018, 50(6): 1088-1091

26 Ottesen C, Schiodt M, Gotfredsen K. Efficacy of a high-dose antiresorptive drug holiday to reduce the risk of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ): a systematic review [J]. *Heliyon*, 2020, 6(4): e03795

(收稿日期: 2022-07-23)

(修回日期: 2022-08-21)