

陈千晴, 别亚男, 陈柏羽, 等. 人脐带间充质干细胞治疗小鼠急性肺损伤的安全性及有效性研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(5): 77-84.

Chen QQ, Bie YN, Chen BY, et al. Study on the safety and effectiveness of human umbilical cord mesenchymal stem cells in the treatment of acute lung injury in mice [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(5): 77-84.

doi: 10. 3969/j.issn.1671-7856. 2022. 05. 011

人脐带间充质干细胞治疗小鼠急性肺损伤的安全性及有效性研究

陈千晴¹, 别亚男², 陈柏羽¹, 许佳欢¹, 欧宝芳¹, 谢水林^{3*}, 吴少瑜^{1*}

(1. 南方医科大学药学院, 广州 510515; 2. 广东药科大学生命科学与生物制药学院, 广州 511436;
3. 华南理工大学生物科学与工程学院, 广州 510006)

【摘要】 目的 探讨人脐带间充质干细胞(HUC-MSCs)治疗脂多糖(LPS)诱导的急性肺损伤小鼠模型的安全性及有效性。**方法** 通过致瘤性实验、体外溶血实验、急性毒性实验评价 HUC-MSCs 安全性。以 6~8 周龄 C57BL/6 雄性小鼠为实验对象, 使用 LPS 滴鼻或腹腔注射构建急性肺损伤模型。造模后 6 h 给予 HUC-MSCs 治疗, 将治疗组分为: 尾静脉注射组(5×10^7 cells/kg)、雾化组(HUC-MSCs 条件培养基)。造模后 96 h 观察各组小鼠肺组织病理结果, 瑞氏-姬姆萨染色法观察小鼠肺泡灌洗液(BALF)炎性细胞计数和分类。**结果** HUC-MSCs 无致瘤性、无明显溶血反应, 无急性毒性。与对照组相比, 两种造模方法均出现一定程度的肺损伤, 肺组织病理切片 McGuigan 评分结果显示腹腔注射 LPS 引起的肺损伤较滴鼻组严重。与模型组相比, 治疗组肺组织损伤程度明显减轻, 其中尾静脉注射组治疗效果优于雾化组, BALF 中巨噬细胞数明显升高($P < 0.001$)。**结论** LPS 腹腔注射诱导的小鼠急性肺损伤模型优于滴鼻给药。尾静脉注射人脐带间充质干细胞可有效治疗小鼠急性肺损伤, 使用 HUC-MSCs 条件培养基雾化给药可缓解小鼠肺部炎症。

【关键词】 急性肺损伤; 人脐带间充质干细胞; 安全性

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 05-0077-08

Study on the safety and effectiveness of human umbilical cord mesenchymal stem cells in the treatment of acute lung injury in mice

CHEN Qianqing¹, BIE Yanan², CHEN Boyu¹, XU Jiahuan¹, OU Baofang¹, XIE Shuilin^{3*}, WU Shaoyu^{1*}

(1. School of Pharmacy, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China. 2. School of Life Science and Biopharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 511436. 3. School of Biological Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006)

【Abstract】 Objective To investigate the safety and efficacy of human umbilical cord mesenchymal stem cells (HUC-MSCs) in treating lipopolysaccharide (LPS) induced acute lung injury in a mouse model. **Methods** The safety of HUC-MSCs was evaluated through tumorigenicity experiments, *in vitro* hemolysis experiments, and acute toxicity

[基金项目] 广东省企业科技特派员项目(GDKTP2020041900); 广东省医学科学技术研究基金项目(A2020449)。

[作者简介] 陈千晴(1996—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 干细胞与转化医学。E-mail: qian_qingchen@163.com

[通信作者] 吴少瑜(1980—), 女, 副教授, 硕士导师, 研究方向: 具有抗肿瘤作用的新化合物筛选和机制研究。

E-mail: wushaoyu1980@126.com

谢水林(1980—), 男, 实验师, 研究方向: 实验动物学。E-mail: xsl@scut.edu.cn

* 共同通信作者

experiments. A model of acute lung injury was constructed by nasal or intraperitoneal injection of LPS in mice aged 6 to 8 weeks. HUC-MSCs treatment was given 6 h after modeling, and the treatment groups were divided into tail vein injection group (5×10^7 cells/kg) and nebulized group (HUC-MSCs conditioned medium). The histopathological result of mice lungs in each group were observed 96 h after modeling, and the inflammatory cell count and classification of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were observed by Richter-Kimsa staining. **Results** There was the absence of potentially tumorigenicity and acute toxicity in the animals after administration of the stem cells. HUC-MSCs had no hemolytic effect on rabbit blood. Compared with the control group, both modeling method showed some degree of lung injury, and the McGuigan score of lung histopathological sections showed that the lung injury caused by intraperitoneal injection of LPS was more severe than that of the nasal drip group. Compared with the model group, the degree of lung injury was significantly reduced in the treatment group, in which the tail vein injection group had a better treatment effect than the atomization group, and the macrophage count in BALF was significantly higher ($P < 0.001$). **Conclusions** The mouse model of acute lung injury induced by LPS intraperitoneal injection was superior to nasal drip administration. Caudal vein injection of HUC-MSCs can effectively treat acute lung injury in mice. HUC-MSCs conditioned medium atomization can alleviate lung inflammation in mice.

【Keywords】 acute lung injury; human umbilical cord mesenchymal stem cells; security

新型冠状病毒 (COVID-19) 感染引起的全球疫情使急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 再次受到大众的关注^[1]。ALI 发病急骤、病死率高, 死亡率在 34.9%~46.1% 之间^[2]。多种原因可引起急性肺损伤, 如吸入性肺炎^[3]、肺挫伤、多次输血、脓毒血症等^[4]。脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 可诱导炎症反应, 模拟脓毒血症引起的 ALI^[5]。ALI 发病机制较为复杂, 免疫调节反应是最为关键的因素^[6]。

间充质干细胞是一种具有自我更新、多向分化、免疫调控等特点的多潜能组织干细胞^[7], 可通过强大的抗炎^[8]和免疫调节^[9]功能减少肺部炎症细胞浸润^[10], 抑制炎症因子分泌, 从而减轻肺损伤。干细胞主要通过旁分泌功能 (包括细胞因子、生长因子以及外泌体等) 与巨噬细胞、T 细胞、NK 细胞等接触发挥免疫调控作用。研究表明, 干细胞条件培养基雾化给药可治疗小鼠肺炎^[11], 为 ALI 提供了新的治疗选择。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

清洁级成年健康新西兰兔 1 只, 雄性, 6 月龄, 体重 2.5~2.7 kg, 由南方医科大学实验动物中心提供 [SCXK (粤) 2021-0041]。SPF 级 C57BL/6 雄性小鼠 82 只, 6~8 周龄, 体重 18~22 g。SPF 级 BALB/c-nu 雌性小鼠 27 只, 15~21 d, 体重 18~20 g。均购自珠海百试通生物科技有限公司 [SCXK (粤) 2020-0051]。实验动物均饲养于广州华腾生物医药科技有限公司 [SYXK (粤) 2020-0237], 小

鼠饲养条件符合 SPF 级要求。环境温度维持在 20℃~24℃, 湿度维持在 40%~70%, 明暗比为 12 h/12 h, 动物可自由饮水及摄食。实验及研究过程给予动物人道主义关怀, 遵循“3R 原则”, 研究方案经广州华腾生物医药科技有限公司实验动物伦理委员会 (HTSW210211、HTSW210516) 审查通过。

1.1.2 细胞

人脐带间充质干细胞购自广州塞莱拉干细胞科技股份有限公司, 编号为 Y2023QD01141; Hela 细胞购自广州辉园苑医药科技有限公司。

1.2 主要试剂与仪器

脂多糖 (L861706, 麦克林); DMEM/F-12 (Gibco, C11330500BT); EDTA (Gibco, 25200-056); 氯化钠注射液 (辰欣药业股份有限公司); 苏木素 (美国 Sigma 公司); 伊红染液 (天津光复精细化工有限公司); 瑞氏-姬姆萨复合染液 (索莱宝, G1020)。生物显微镜 (舜宇光学科技 (集团) 有限公司); 组织切片机 (RM2245, 德国徕卡 Leica 公司); 雾化仪 (鱼跃, M104 网式雾化器); 电子精密天平 (倍尔 BEL)。

1.3 实验方法

1.3.1 HUC-MSCs 的准备

HUC-MSCs 培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM/F-12 培养基中, 隔天换液, 2~3 d 传代 1 次。待细胞传代至 P6 代, 培养 48 h 后收集贴壁细胞上清液, 在 4℃ 条件下以 3000 r/min 离心 15 min 去除细胞碎片。收集离心后上清用于雾化治疗组。使用 0.05% 含 EDTA 胰酶消化收集细胞, 用于尾静脉注射治疗组。

1.3.2 HUC-MSCs 致瘤性实验

27 只 BALB/c-nu 雌性小鼠随机分成 3 组:阴性对照组(等体积生理盐水)、阳性对照组(1×10^6 个 Hela 细胞)、HUC-MSCs 组(1×10^7 个 HUC-MSCs 细胞^[12]),每组 9 只,各组均采用皮下注射给药。每周观察 2 次体重、瘤体大小、是否成瘤,持续观察 1 个月。按照公式 $V = \pi \times ab^2 / 6$ (V : 体积, a : 肿瘤长径, b : 肿瘤短径) 计算肿瘤体积。

1.3.3 体外溶血实验

将实验分为 3 组:阴性对照组、阳性对照组、HUC-MSCs 组,每组设置 3 个平行对照。取新鲜兔血脱纤处理,分别加入 2.5 mL 生理盐水、纯净水、HUC-MSCs (1×10^6 cells)。混匀每组血液样本后静置于 37℃ 水浴锅中,3 h 后观察血样样本是否有溶血和凝集现象。

1.3.4 HUC-MSCs 的急性毒性实验

(1) 40 只 C57BL/6 雄性小鼠随机分为 4 组:3 个不同剂量的受试细胞组、对照组,每组 10 只小鼠。(2) 给药方案:受试细胞组分别尾静脉注射 4×10^5 、 8×10^5 、 1×10^6 个人脐带间充质干细胞,对照组尾静脉注射灭菌生理盐水,各组给药总体积 0.2 mL。(3) 观察:注射后 4 h 观察小鼠毒性反应,包括小鼠摄食量、体重变化等指标,记录小鼠死亡情况,此后连续观察记录 28 d。

1.3.5 急性肺损伤(ALI)模型构建及评分

12 只 C57BL/6 雄性小鼠随机分为 3 组:对照组、滴鼻组、腹腔注射组,每组 4 只,分别使用 LPS (10 mg/kg) 缓慢滴鼻或腹腔注射构建模型。

各组肺组织 HE 染色后采用 McGuigan 评分法^[13]判定急性肺损伤程度,评分根据:(1) 肺泡壁增厚或透明膜形成;(2) 肺泡充血;(3) 血管壁或肺泡腔炎性细胞浸润;(4) 出血。每组随机抽取 5 个视野对以上 4 个评分根据进行急性肺损伤半定量检测评分分析。

1.3.6 HUC-MSCs 治疗小鼠急性肺损伤

30 只 C57BL/6 雄性小鼠随机分为 5 组:对照组、模型组、尾静脉注射治疗组、雾化对照组、雾化治疗组,每组 6 只。小鼠选用 LPS (10 mg/kg) 腹腔注射造模,6 h 后给予 HUC-MSCs 尾静脉注射治疗 (MSCs-IOCV, 5×10^7 cells/kg)。实验收集 HUC-MSCs 条件培养基用于雾化治疗组 (CM-atomization, 2 mL) 给药,雾化对照组小鼠使用同剂量空白培养基雾化给药。

1.3.7 BALF 炎症细胞分类计数

LPS 造模后 96 h,分离暴露支气管,注射器吸取 1 mL PBS 插入右主支气管灌洗肺部,重复 3 次,回收率 80% 以上。将肺泡灌洗液在 4℃ 条件下以 1500 r/min 离心 10 min,去除上清,加入 100 μ L PBS 重悬。取 10 μ L 重悬液于载玻片上涂抹展开,风干 5~10 min,固定 15 min,使用瑞氏-姬姆萨染色法染色。镜下选取 3 个视野进行炎症细胞分类计数。

1.4 统计学方法

应用 IBM SPSS 25.0 进行实验数据分析,使用 GraphPad Prism 9 软件作图。计量资料用平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,使用重复测量方差分析、单因素方差分析进行组间差异分析,组间多重比较采用 LSD- t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种给药方式导致的急性肺损伤程度比较

肺组织 HE 染色显示滴鼻组小鼠肺泡壁厚度均匀,肺泡未见炎性渗出物,血管附近有少量炎性细胞浸润。腹腔注射组小鼠肺泡壁增厚,伴炎性细胞浸润,多处支气管及血管周围淋巴细胞灶性浸润,并见淋巴小结形成,偶见支气管内出血(图 1A)。

McGuigan 评分结果显示,腹腔注射组评分与对照组相比显著升高 ($P < 0.01$),肺损伤程度对比滴鼻组明显加重 ($P < 0.05$) (图 1B)。

2.2 人脐带间充质干细胞致瘤性实验

小鼠皮下注射 HUC-MSCs 后持续观察 28 d,注射部位未见肿瘤形成,与阴性对照组结果一致,无致瘤性(图 2A)。阳性对照组小鼠皮下注射 Hela 细胞后 10 d 观察到肿瘤形成,并逐渐增大(图 2B),成瘤率 100%,小鼠肿瘤平均直径不超过 20 mm,生长不超过原体重 10%。

2.3 致瘤性实验小鼠组织病理切片

观察期结束后,解剖各组小鼠脏器并进行 HE 染色(图 3A)。HUC-MSCs 组、阴性对照组各脏器病理学检查均未发现异常。阳性对照组小鼠脾白髓数量减少,淋巴细胞减少,红髓大量髓外造血细胞增生,伴有多量中性粒细胞浸润;肺泡壁增厚,伴有较多中性粒细胞浸润。肿瘤细胞密集排列,胞核异型性低,核质比大,胞浆呈嗜碱性,多见核分裂像(图 3B)。

2.4 人脐带间充质干细胞的急性毒性实验

各组小鼠尾静脉注射给药后均未出现死亡,记

录给药后 28 d 小鼠体重及摄食。各组小鼠体重均正常增长(图 4A),摄食正常(图 4B),差异无统计学意义。

对各组小鼠的心、肝、脾、肺、肾进行病理学检查,HE 染色结果显示各脏器组织未见坏死或炎症反应(图 4C)。以上结果显示,尾静脉注射人脐带间充质干细胞($4\times 10^5\sim 1\times 10^6$ cells)不会引起急性毒性反应。

2.5 人脐带间充质干细胞的体外溶血实验

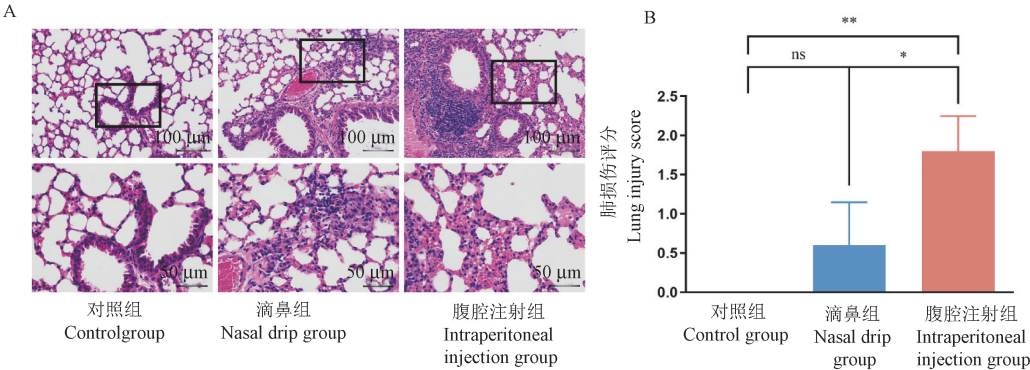
在 3 h 内阳性对照组有明显溶血现象,HUC-MSCs 组、阴性对照组上层澄清透明,下层细胞沉淀较多,无溶血现象发生(图 5A)。各组血液样本重悬后于显微镜下观察,阳性对照组红细胞破裂,红细胞数明显减少,HUC-MSCs 组、阴性对照组无溶血

和致红细胞凝集作用(图 5B)。

2.6 人脐带间充质干细胞治疗急性肺损伤的有效性评价

各治疗组肺组织 HE 染色结果显示,HUC-MSCs 尾静脉注射治疗后可见炎症缓解,肺泡壁无增厚(图 6A),肺损伤评分明显下降(图 6C)。HUC-MSCs 条件培养基雾化治疗后小鼠肺泡壁仍可见少量炎性细胞散在浸润,肺泡壁未见明显增厚,损伤评分介于模型组和尾静脉注射治疗组(MSCs-IOCV 组)之间(图 6C)。雾化对照组肺组织可见弥漫性肺间质增厚,肺泡腔缩小。

采用瑞氏-姬姆萨染色法观察各组 BALF(图 6B)的炎性细胞总数和分类计数,尾静脉注射治疗组巨噬细胞数明显高于模型组(图 6D),雾化治疗组巨噬细胞数介于两组之间。

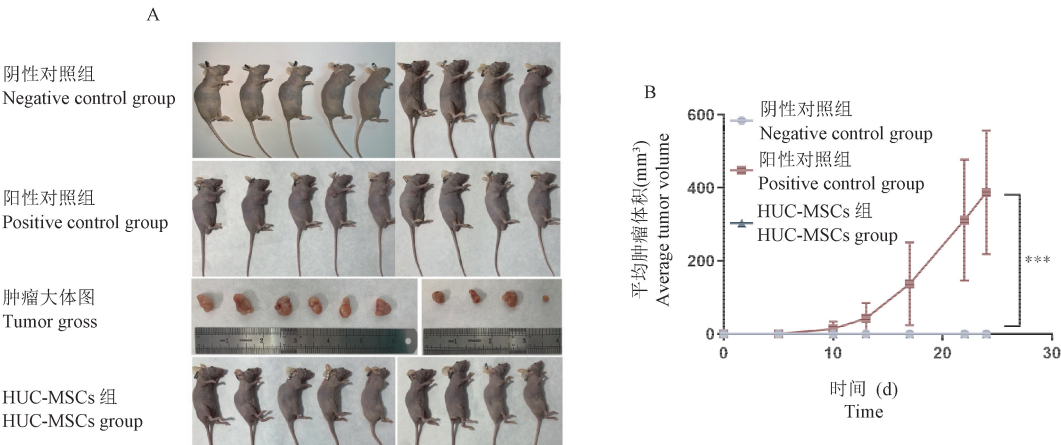


注:A:肺组织 HE 染色;B:肺损伤 McGuigan 评分。与同期相应组别比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, $^{ns}P>0.05$ 。

图 1 脂多糖诱导的肺病理改变及 McGuigan 评分结果($n=5$)

Note. A, HE staining of lung tissue. B, McGuigan score for lung injury. Compared with corresponding groups in the same period, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, $^{ns}P>0.05$.

Figure 1 Lipopolysaccharide induced lung pathological changes and McGuigan score results

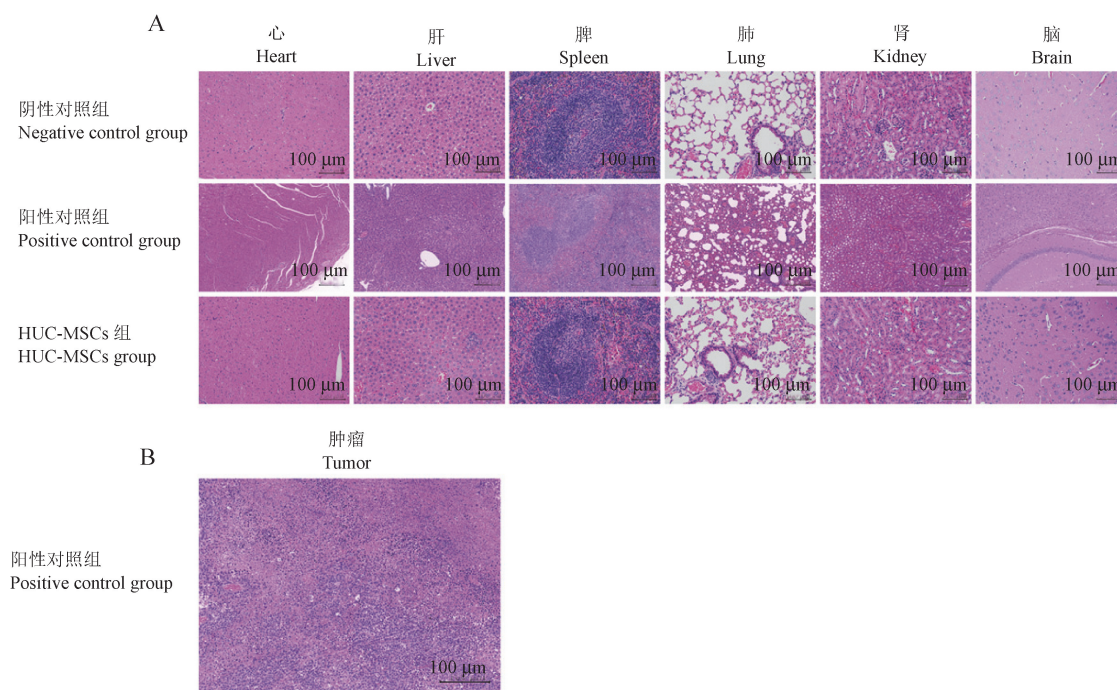


注:A:接种 28 d 后肿瘤的大体图;B:平均肿瘤体积。与同期相应组别比, *** $P<0.001$ 。

图 2 人脐带间充质干细胞体内致瘤性研究

Note. A, Macroscopic images of tumor 28 days post-inoculation. B, Average tumor volume. Compared with corresponding groups in the same period, *** $P<0.001$.

Figure 2 Tumorigenicity of human umbilical cord mesenchymal stem cells *in vivo*

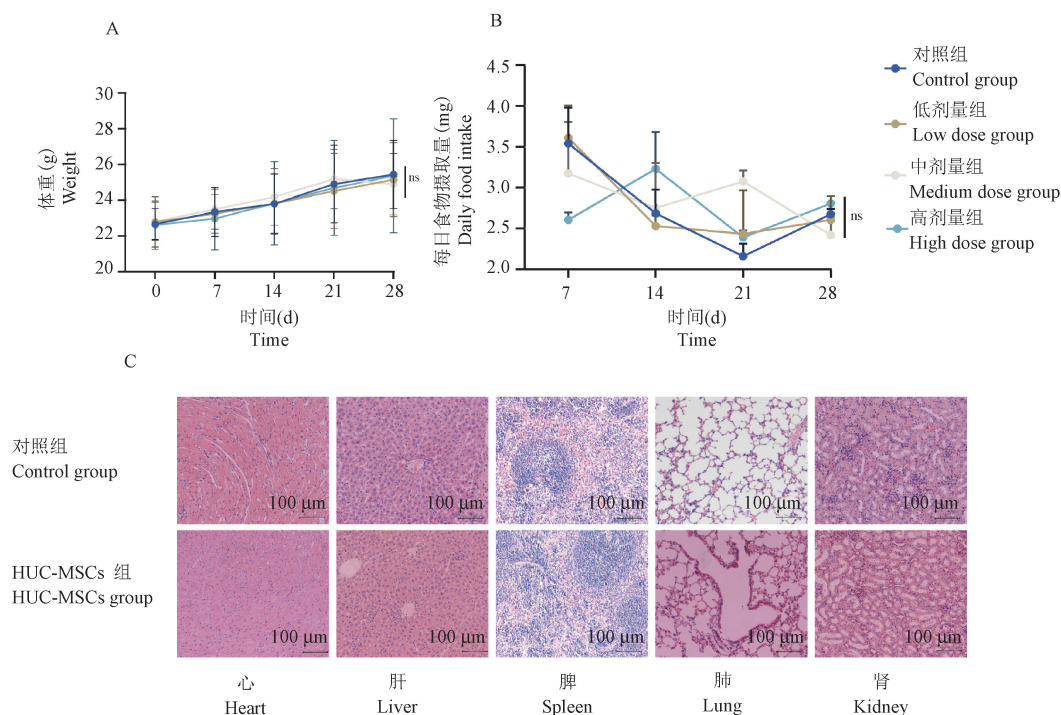


注:A:致瘤性实验小鼠各脏器 HE 染色;B:阳性对照组小鼠肿瘤 HE 染色。

图3 致瘤性实验小鼠组织 HE 染色

Note. A, HE staining of organs in tumorigenic experimental mice. B, HE staining of tumors in mice in the positive control group.

Figure 3 HE staining of tumorigenic experimental mouse tissues



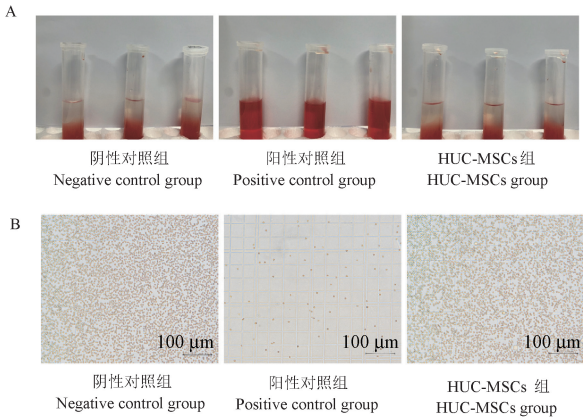
注:A:小鼠体重-时间曲线;B:小鼠摄食-时间曲线;C:小鼠各脏器 HE 染色。与同期相应组别比, $^{ns}P>0.05$ 。

图4 人脐带间充质干细胞尾静脉注射的急性毒性实验

Note. A, Body weight of mice were measured once per week. B, Total amount of food intake were measured once per week.

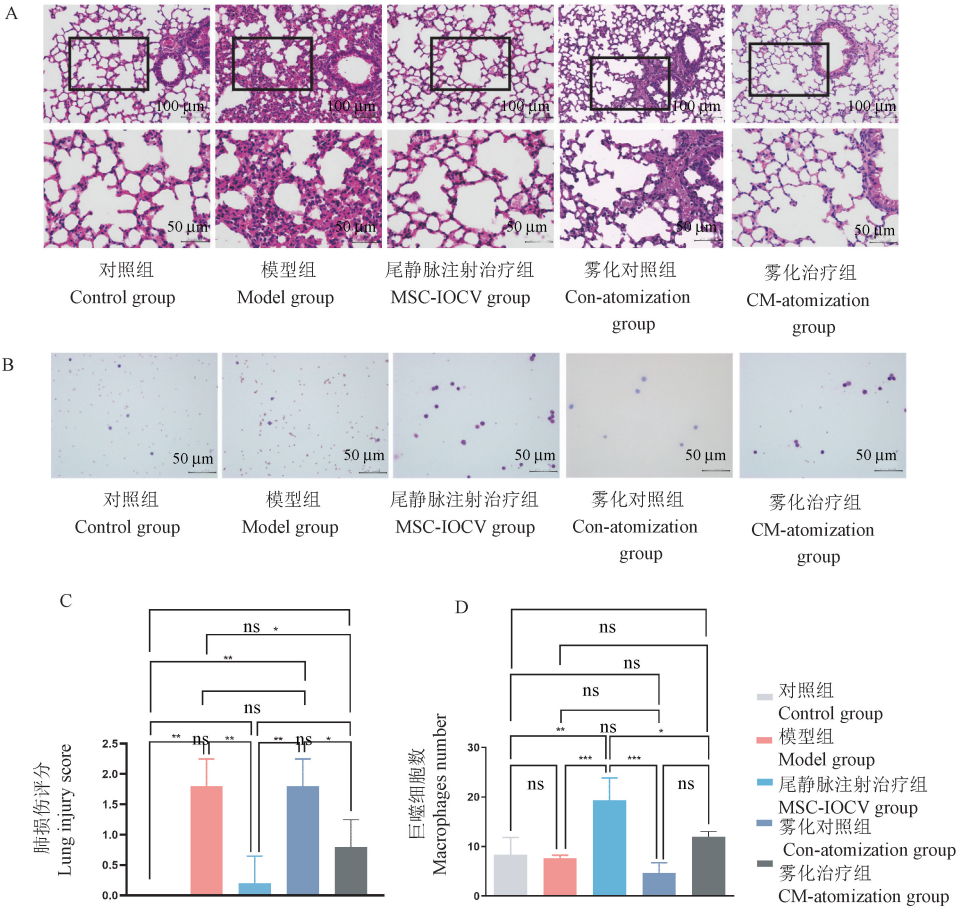
C, HE staining of various organs in mice. Compared with corresponding groups in the same period, $^{ns}P>0.05$.

Figure 4 Acute toxicity of HUC-MSCs injected into tail vein of mice



注:A:体外溶血实验肉眼观察;B:体外溶血实验光镜观察结果。
图5 人脐带间充质干细胞体外溶血实验
Note. A, Visualizing of hemolysis experiment *in vitro*. B, Observation results of hemolysis test *in vitro* under light microscope.

Figure 5 Hemolysis experiment of human umbilical cord mesenchymal stem cells *in vitro*



注:A:肺组织 HE 染色;B:BALF 瑞氏-姬姆萨染色;C:肺损伤 McGuigan 评分 ($n=5$);D: BALF 巨噬细胞数 ($n=3$)。与同期相应组别比, $*P<0.05$, $**P<0.01$, $***P<0.001$, $^{ns}P>0.05$ 。

图6 人脐带间充质干细胞治疗急性肺损伤的有效性评价

Note. A, HE staining of lung tissue. B, BALF Wright-Giemsa staining. C, McGuigan score for lung injury ($n=5$). D, Number of BALF macrophages ($n=3$). Compared with corresponding groups in the same period, $*P<0.05$, $**P<0.01$, $***P<0.001$, $^{ns}P>0.05$.

Figure 6 Efficacy of human umbilical cord mesenchymal stem cells in the treatment of acute lung injury

3 讨论

急性肺损伤(ALI)是呼吸系统常见的危重症之一^[14],其发展与炎症相关,关键因素是抗炎因子/促炎因子水平失衡,伴随着促炎因子的大量释放^[15],进一步发展可引发急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress, ARDS)甚至死亡^[16]。临床上可选择的治疗方法较为局限,仍停留在支持治疗的层面。

本研究采用滴鼻^[17]或腹腔注射 LPS^[18]给药法构建急性肺损伤模型,通过肺组织病理 McGuigan 评分对比两种造模方式的优劣。病理结果显示,两种造模方法均出现一定程度的肺损伤,滴鼻给药模型损伤部位主要集中在主支气管,肺内分布不均,组内差异较大,重复性较差。且造成的肺损伤程度较轻,偶见血管周围少量炎细胞浸润;腹腔注射给药实验结果与 Nie 等^[19]一致,LPS 均匀分布于小鼠肺部,肺泡壁明显增厚,伴大量炎细胞浸润,肺损伤程度更严重,重复性好。

随后我们评估 HUC-MSCs 治疗 ALI 的安全性^[20]及有效性^[21]。安全性实验结果显示:HUC-MSCs 对兔红细胞无溶血反应;裸鼠皮下注射 HUC-MSCs 无致瘤性;临床安全剂量下^[22]($4 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ cells/kg)尾静脉注射 HUC-MSCs 28 d 后不会引起急性毒性反应,无动物死亡;且病理结果显示 HUC-MSCs 静脉注射后多脏器未见明显异常。这提示通过标准化的质检评估,本批次获得的 HUC-MSCs 应用于动物治疗有较高的安全性。有效性结果显示:尾静脉单次注射 5×10^7 cells/kg HUC-MSCs 后 ALI 小鼠的肺泡损伤减轻,McGuigan 评分降低,肺组织炎细胞明显减少。这表明间充质干细胞是 ALI 的一种有效的治疗方法。研究表明,间充质干细胞可通过外泌体诱导肺泡 II 型细胞再生^[23]、防止肺毛细血管内皮细胞凋亡、抑制免疫细胞的浸润^[24],促进空气-肺泡屏障修复、抑制细菌生长,从而降低 ARDS 的严重程度,避免发展成 ARDS^[25]。

为了进一步评估 HUC-MSCs 旁分泌功能^[26]在 ALI 中的治疗作用,本研究采用 HUC-MSCs 条件培养基雾化给药^[27]方式替代干细胞治疗。结果表明:使用 HUC-MSCs 条件培养基单次雾化治疗 ALI 小鼠能缓解小鼠肺部炎症反应。但由于 HUC-MSCs 条件培养基中外泌体含量较少,雾化治疗组 McGuigan 评分介于模型组与尾静脉注射治疗组之间。进一

步分析各组肺泡灌洗液炎症细胞群,发现两个治疗组中巨噬细胞数明显增加,这表明巨噬细胞在 MSCs 治疗急性肺损伤的进程中发挥关键作用。

综上,腹腔注射 LPS 构建的急性肺损伤模型操作简单稳定,重复性高,造成的肺损伤效果较好。两种治疗方式均能缓解小鼠肺部炎症,其中尾静脉注射组效果明显优于雾化治疗组,可有效降低急性肺损伤小鼠 McGuigan 评分。

参考文献:

- [1] 薛磊. 急性肺损伤治疗策略的现状与未来 [J]. 上海医学, 2021, 44(8): 571-575.
- [2] 冯倩桐, 李爱民. 急性呼吸窘迫综合征表型的研究进展 [J]. 临床肺科杂志, 2021, 26(9): 1439-1443.
- [3] 王东梅, 穆云婧, 周茜, 等. 吸入性肺损伤动物模型构建研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(10): 126-130.
- [4] Zhan Z, Cai H, Cai H, et al. Effects of 45° prone position ventilation in the treatment of acute respiratory distress syndrome [J]. Medicine, 2021, 100(19): e25897.
- [5] 田艳艳, 程功梅, 李宁. miRNA-494 对脓毒症合并急性呼吸窘迫综合征大鼠急性肺损伤及 Nr2 信号途径的影响 [J]. 临床和实验医学杂志, 2021, 20(14): 1457-1460.
- [6] 王锦秀, 富学林. 急性呼吸窘迫综合征的发病机制及其与免疫调节机制关系的研究进展 [J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2021, 5(16): 137-140.
- [7] 姜芝峰, 张琳, 申捷. 间充质干细胞在急性肺损伤治疗中的研究进展 [J]. 中国临床医学, 2019, 26(6): 936-941.
- [8] Al-Khawaga S, Abdelalim EM. Potential application of mesenchymal stem cells and their exosomes in lung injury: an emerging therapeutic option for COVID-19 patients [J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 437.
- [9] Shu L, Niu C, Li R, et al. Treatment of severe COVID-19 with human umbilical cord mesenchymal stem cells [J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 361.
- [10] Meng F, Xu R, Wang S, et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell therapy in patients with COVID-19: a phase I clinical trial [J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 172.
- [11] 雷琰, 刘长卿. 骨髓间充质干细胞培养上清液治疗支气管哮喘及对肺部炎症的影响 [J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(36): 5764-5768.
- [12] 田义超, 周端鹏, 崔艳君, 等. 人脐带间充质干细胞的安全性毒理学评价 [J]. 中国新药杂志, 2019, 28(2): 159-163.
- [13] Li Y, Cao Y, Xiao J, et al. Inhibitor of apoptosis-stimulating protein of p53 inhibits ferroptosis and alleviates intestinal ischemia/reperfusion-induced acute lung injury [J]. Cell Death Differ, 2020, 27(9): 2635-2650.
- [14] 王清兵, 路超, 于刚. 基于 TLR4 通路依托咪酯对感染性休克大鼠急性肺损伤的保护作用研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(11): 1-8.

- [15] 李长力, 郑喜胜, 贾明雅. 黄芩苷通过调节 miR-223-3p/NLRP3 通路对脓毒症急性肺损伤大鼠的保护作用 [J]. 中成药, 2021, 43(8): 2047-2052.
- [16] 付静怡, 汪雷, 杨昇. 急性肺损伤动物模型建立的研究进展 [J]. 上海交通大学学报(医学版), 2021, 41(5): 690-694.
- [17] 丁秀秀, 黄琳惠, 黄奕江. microRNA-1247 通过靶向 CCR16 抑制脂多糖诱导的小鼠急性肺炎的机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(5): 98-103.
- [18] 王婷, 梁华平, 柴鉴深, 等. 三种大鼠急性肺损伤模型的比较 [J]. 成都医学院学报, 2016, 11(1): 5-9.
- [19] Nie Y, Wang Z, Chai G, et al. Dehydrocostus lactone suppresses LPS-induced acute lung injury and macrophage activation through NF- κ B signaling pathway mediated by p38 MAPK and Akt [J]. *Molecules*, 2019, 24(8): 1510.
- [20] 曾贵荣, 杨柳, 罗桂芳, 等. 间充质干细胞治疗的生物安全研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(11): 140-145.
- [21] 杨玮杰, 李佳璽, 陈良键, 等. 人脐带间充质干细胞外泌体的分离鉴定及其溶血性能研究 [J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2019, 39(2): 165-170.
- [22] 曲海洪, 李晓昊, 张军. 不同剂量脐带间充质干细胞在针刀镜下定植治疗强直性脊柱炎患者病变髋关节的临床观察 [J]. 国际感染病学(电子版), 2019, 8(2): 67-69.
- [23] Shi MM, Yang QY, Monsel A, et al. Preclinical efficacy and clinical safety of clinical-grade nebulized allogenic adipose mesenchymal stromal cells-derived extracellular vesicles [J]. *J Extracell Vesicles*, 2021, 10(10): e12134.
- [24] Fujiwara N, Kobayashi K. Macrophages in inflammation [J]. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 2005, 4(3): 281-286.
- [25] Khoury M, Cuenca J, Cruz FF, et al. Current status of cell-based therapies for respiratory virus infections: applicability to COVID-19 [J]. *Eur Respir J*, 2020, 55(6): 2000858.
- [26] 孙理华, 王娟, 张岳, 等. 间充质干细胞来源的外泌体通过 microRNA-21-5p 调节心脏自噬并影响心肌缺血大鼠的心脏功能 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(5): 88-96.
- [27] Shi MM, Yang QY, Monsel A, et al. Preclinical efficacy and clinical safety of clinical-grade nebulized allogenic adipose mesenchymal stromal cells-derived extracellular vesicles [J]. *J Extracell Vesicles*, 2021, 10(10): e12134.

[收稿日期]2021-10-27

(上接第 66 页)

- [16] Taniguchi CM, Ueki K, Kahn CR. Complementary roles of IRS-1 and IRS-2 in the hepatic regulation of metabolism [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(3): 718-727.
- [17] Stanirowski PJ, Szukiewicz D, Pyzlak M, et al. Impact of pre-gestational and gestational diabetes mellitus on the expression of glucose transporters GLUT-1, GLUT-4 and GLUT-9 in human term placenta [J]. *Endocrine*, 2017, 55(3): 799-808.
- [18] Miao C, Zhang G, Xie Z, et al. MicroRNAs in the pathogenesis of type 2 diabetes: new research progress and future direction [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2018, 96(2): 103-112.
- [19] Kurtz CL, Peck BC, Fannin EE, et al. MicroRNA-29 fine-tunes the expression of key FOXA2-activated lipid metabolism genes and is dysregulated in animal models of insulin resistance and diabetes [J]. *Diabetes*, 2014, 63(9): 3141-3148.
- [20] Dooley J, Garcia-Perez JE, Sreenivasan J, et al. The microRNA-29 family dictates the balance between homeostatic and pathological glucose handling in diabetes and obesity [J]. *Diabetes*, 2016, 65(1): 53-61.
- [21] Yang WM, Jeong HJ, Park SY, et al. Induction of miR-29a by saturated fatty acids impairs insulin signaling and glucose uptake through translational repression of IRS-1 in myocytes [J]. *FEBS Lett*, 2014, 588(13): 2170-2176.
- [22] Zhu Y, Zheng G, Wang H, et al. Downregulated miR-29a/b/c during, contact inhibition stage promote 3T3-L1 adipogenesis by targeting DNMT3A [J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0170636.

[收稿日期]2021-06-02