

间充质干细胞移植治疗新生儿支气管肺发育不良：机遇与挑战

包蕾 史源

(重庆医科大学附属儿童医院新生儿科 / 儿童发育疾病研究教育部重点实验室 /
儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地 / 重庆市干细胞治疗工程技术研究中心, 重庆 400014)

[摘要] 支气管肺发育不良(BPD)是新生儿尤其是早产儿最常见的慢性肺部疾病,是导致早产儿预后不良的重要原因,目前临床使用的治疗手段仍然难以很好改善其预后。近年来,实验及临床研究发现间充质干细胞移植对BPD有一定疗效,可能成为未来最有希望的治疗手段。该文就间充质干细胞的特点、间充质干细胞移植治疗BPD的可能机制及临床试验的安全性和可行性,以及进一步相关临床研究面临的挑战进行阐述。

[中国当代儿科杂志, 2019, 21(7): 619-623]

[关键词] 支气管肺发育不良; 间充质干细胞; 新生儿

Mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of bronchopulmonary dysplasia: opportunities and challenges

BAO Lei, SHI Yuan. Department of Neonatology, Children's Hospital of Chongqing Medical University/Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders/China International Science and Technology Cooperation Base of Child Development and Critical Disorders/Chongqing Engineering Research Center of Stem Cell Therapy, Chongqing 400014, China (Shi Y, Email: petshi530@vip.163.com)

Abstract: Bronchopulmonary dysplasia (BPD) is one of the most common chronic lung diseases in neonates especially in preterm infants. It is also the main reason leading to a poor prognosis. The prognosis of the neonates with BPD is unsatisfactory with current treatment strategies. Recent clinical trials have found that mesenchymal stem cell (MSC) transplantation might be effective and promising for treatment of BPD in neonates. This article outlines the characteristics of MSC and the potential mechanisms of MSC transplantation for BPD *in vivo*, and the safety and feasibility of MSC transplantation in BPD neonates, as well as the challenges in clinical trials on MSC transplantation for treatment of BPD.

[Chin J Contemp Pediatr, 2019, 21(7): 619-623]

Key words: Bronchopulmonary dysplasia; Mesenchymal stem cell; Neonate

随着现代医学的不断进步,危重病、疑难病的救治成功率不断提高。然而,目前医学领域还存在着相当的局限性,现有的临床干预和治疗手段还不能很好地改善某些疾病的预后,干细胞治疗技术应运而生,成为了当今医学领域最热门、最前沿的研究之一,成为未来最有希望的治疗手段。目前干细胞移植技术在临床诸多疾病均有研究^[1-2],包括神经系统疾病、血液系统疾病、呼吸

系统疾病、心血管系统疾病、消化系统疾病、内分泌系统疾病、免疫系统疾病、泌尿生殖系统疾病、运动系统疾病、皮肤病、重度下肢缺血、慢性腰背痛等。

近年来干细胞治疗新生儿疾病的相关研究也取得了诸多进展^[3-4],研究较多的是支气管肺发育不良(bronchopulmonary dysplasia, BPD)、缺氧缺血性脑病(hypoxic-ischemic encephalopathy,

[收稿日期] 2019-01-08; [接受日期] 2019-05-06

[基金项目] 国家重点研发计划(2018YFC0114405)。

[作者简介] 包蕾,女,硕士,教授。

[通信作者] 史源,男,教授。Email: petshi530@vip.163.com。

HIE)、坏死性小肠结肠炎(necrotizing enterocolitis, NEC)、早产儿视网膜病(retinopathy of prematurity, ROP),在动物实验证实干细胞治疗上述疾病有效的基础上,干细胞治疗BPD、缺氧缺血性脑病、早产儿脑损伤已经进入临床研究阶段。

1 干细胞及间充质干细胞的基本特征

干细胞是一类具有自我复制和多向分化潜能的细胞的总称。根据干细胞所处的发育阶段可将其分为胚胎干细胞(embryonic stem cell)和成体干细胞(adult stem cell)。根据干细胞的分化潜能可将其分为全能干细胞(totipotent stem cell)、多能干细胞(pluripotent stem cell)和单能干细胞(unipotent stem cell)。间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)是多能干细胞中的一种,是一类低免疫原性多潜能干细胞。

MSC是继造血干细胞之后又一类在世界范围内广泛应用于临床研究的干细胞,具有以下基本特征^[5]:(1)在细胞表面表达CD73、CD90、CD105;(2)具有分化成脂肪、成骨、软骨细胞的能力。MSC存在于胚胎、围产期组织(如脐带、胎盘、羊膜、脐带血、绒毛膜)和成人体组织(如骨髓、脂肪、皮肤、牙髓、滑膜、肝脏)中^[6]。围产期MSC与骨髓MSC相比具有以下主要优势^[7-9]:

(1)易于获得、易于产业化;(2)成本低,如提取同样数量的干细胞,围产期MSC所需时间约为骨髓间充质干细胞的1/3;(3)更低的免疫原性;(4)具有更高的生物学活性。

2 MSC治疗在BPD动物模型的实验研究

BPD是新生儿尤其早产儿常见的慢性肺部疾病,在极/超低出生体重儿发病率高,且早期病死率高,存活的患儿常存在严重呼吸系统及神经系统后遗症,严重影响患儿的生存质量。虽然目前有多种预防和治疗BPD的方法,但均难以从根本上改善严重BPD的预后。MSC移植治疗成为新的治疗方法,但MSC治疗BPD的具体机制尚未完全明确。在动物实验研究中发现干细胞的旁分泌效应和良好的抑炎效应是其主要机制^[10]。多项动物实验研究显示, MSC可抑制炎症

反应、减轻肺部损伤及肺动脉高压,还可减轻肺纤维化^[11-13]。

干细胞治疗BPD的动物实验给予干细胞移植的主要途径包括气管内滴入、静脉内注射、腹腔内注射等。Sung等^[14]进行了一项脐带血来源的MSC治疗肺损伤的动物实验,发现气管内注射干细胞数量约为静脉内注射用量的1/5~1/4,且气管内注射组肺泡化受损指标TUNEL阳性细胞下降较静脉内注射组明显,由高氧诱导与炎症反应相关的基因调控(如巨噬细胞炎性蛋白1 α)、与细胞死亡相关基因(如P53)以及与纤维化相关的基因(如结缔组织生长因子)的表达等均较静脉内注射组明显下降,因此作者认为气管内注射比静脉内注射更加有效,但气管内注射有着剂量的限制,可能影响治疗剂量的应用。目前干细胞治疗BPD的最佳途径和剂量尚未明确,研究显示最佳剂量取决于损伤的部位和干细胞注射的途径^[15]。干细胞治疗BPD的最佳时间窗也未明确。Chang等^[15]的研究表明,在高氧诱导的肺损伤新生大鼠模型中,于生后第5天进行MSC移植治疗可明显减轻肺损伤。van Haaften等^[16]的研究显示,在BPD新生大鼠模型中,于生后第4天行MSC移植治疗可明显减轻肺损伤。对临床而言,越早识别BPD,越早进行干细胞移植治疗可能效果越好。在干细胞治疗BPD的安全性方面, Pierro等^[17]的研究发现,在BPD动物模型中,干细胞移植治疗后随访至6个月,实验动物的肺功能得以改善,同时并未发现明显的不良反应。

3 MSC治疗在新生儿BPD的研究

目前干细胞治疗BPD的临床研究主要集中在脐带血来源的MSC、脐带来源的MSC及骨髓MSC。在国际临床试验注册平台(https://www.who.int/ictrp/unambiguous_identification/utn/en/)进行注册的临床研究主要来自中国、韩国和美国,主要机构包括重庆医科大学附属儿童医院、厦门妇幼保健院、第三军医大学附属大坪医院、国立成功大学附属医院、中国医药大学附属医院、韩国首尔峨山医学中心、韩国首尔三星医疗中心、美国芝加哥拉什大学医疗中心。截止至2018年12月,韩国首尔已经完成所申请的3个相关干细胞临床

研究项目；芝加哥拉什大学医疗中心已经完成 BPD 临床研究见表 1。
所申请的 1 个项目。目前已经注册的干细胞治疗

表 1 已注册的 MSC 移植治疗新生儿 BPD 的临床研究

机构 / 地区	状态	干预	主要结局指标	编号
重庆医科大学附属儿童医院 (中国重庆)	招募中	人脐带 MSC	不良反应发生率	NCT03558334
厦门妇幼保健院 (中国福建)	尚未招募	人脐带 MSC	是否需要吸氧	NCT03645525
广东省妇幼保健院 (中国广东)	尚未招募	人脐带 MSC	是否需要吸氧	NCT03645525
第三军医大学附属大坪医院 (中国重庆)	暂停中	MSC	中 - 重度 BPD 发生率	NCT03683953
拉蒙医学院生物医学研究所 (西班牙马德里)	尚未招募	人脐带 MSC	病死率	NCT03378063
国立成功大学附属医院 (中国台湾)	尚未招募	人脐带 MSC	不良事件发生率	NCT03631420
中国医药大学附属医院 (中国台湾)	未知	人脐带 MSC	细胞因子浓度	NCT01207869
拉什大学医学中心 (美国芝加哥)	完成	人脐带血 MSC	不良反应发生率	NCT02381366
三星医疗中心 (韩国首尔)	完成	人脐带血 MSC	不良反应发生率	NCT01297205
三星医疗中心 (韩国首尔)	未知	人脐带血 MSC	不良反应发生率	NCT01632475
三星医疗中心 (韩国首尔)	完成	人脐带血 MSC	不良反应发生率	NCT02023788
峨山医学中心 (韩国首尔)	完成	人脐带血 MSC	中 - 重度 BPD 发生率或 病死率	NCT01828957
峨山医学中心 (韩国首尔)	招募中	人脐带血 MSC	呼吸系统转归	NCT01897987
峨山医学中心 (韩国首尔)	尚未招募	人脐带血 MSC	严重 BPD 发生率或病死率	NCT03392467

韩国首尔 Chang 等^[18]进行了一项单中心开放标签的临床 I 期试验 (NCT01297205)，并于 2014 年在 *Journal of Pediatrics* 杂志上发表了相关研究结果。该研究的试验组共纳入了 9 例具有 BPD 高危因素的早产儿，平均胎龄为 25 周，平均出生体重为 793 g，平均日龄为 10 d，采用人脐带血来源的 MSC 通过气管内途径给予试验组患儿干细胞治疗，其中 3 例接受低剂量干细胞 ($1 \times 10^7/\text{kg}$) 治疗，6 例接受高剂量干细胞 ($2 \times 10^7/\text{kg}$) 治疗。该研究显示，低剂量组、高剂量组、配对对照组胎龄、出生体重、Apgar 评分、呼吸严重度评分等基本资料的比较差异均无统计学意义。干细胞治疗后 7 d 患儿气道分泌物中的细胞因子水平较对照组显著降低；随访到 84 d 时试验组与对照组相比，

其严重不良反应及剂量限制性毒性差异无统计学意义。II 期临床试验 (NCT01632475) 的论著于 2017 年在 *Journal of Pediatrics* 杂志上发表^[19]，研究总结了随访至纠正年龄 2 岁时试验组及对照组患儿的呼吸系统结局、生长情况及神经系统结局，试验组除 1 例患儿因败血症继发弥散性血管内凝血死亡外，其余 8 例患儿均未出现生长发育迟缓及神经系统并发症，纠正年龄 18~24 个月时试验组患儿的平均体重显著高于对照组。该研究中接受干细胞治疗的患儿出院后均未再接受氧疗，而对照组有 22% 的患儿出院后需家庭氧疗。

目前 MSC 移植治疗 BPD 仍处于临床研究阶段，MSC 移植治疗的安全性问题是目前科研工作者及临床医生最为关注的问题。Ahn 等^[19]的临床

试验表明气管内移植 MSC 是安全的,在随访至纠正年龄 2 岁时未发现患儿出现明显不良反应。由于干细胞具有再生及分化的潜能,最大的担忧是不能完全排除干细胞分化成肿瘤细胞的可能性。2010 年 de la Fuente 等^[20]在 *Cancer Research* 杂志上发表文章,提醒 MSC 可能自发转化为肿瘤细胞。该文章一经发表便引起极大关注,然而没有任何一项随后进行的重复性研究得到相同或是相似的结论。此后,该文章作者要求向 *Cancer Research* 杂志撤稿,理由是该文中自发肿瘤转化实验研究不能够被重复的原因可能是肿瘤细胞的交叉污染。此后,很多科研工作者进行了大量相关动物实验研究,目前主流的观点认为 MSC 不会自发恶性转化。MSC 注射作为个体化治疗技术已经在上述多种难治性疾病中开展了临床探索性试验,初步的结果表明了 MSC 移植治疗的安全性和可行性。

4 MSC 治疗目前面临的挑战

(1) MSC 的异质性问题。不同发育阶段的干细胞具有异质性,同一个体同一发育阶段的不同组织来源的干细胞也有异质性^[21]。干细胞的异质性主要体现在其增殖能力、生长特性、生物学特性如迁移能力、免疫调节能力以及分泌的细胞因子种类等方面的不同,故需要根据 MSC 的异质性的来选择其最佳的适应证。要建立标准化 MSC 的分离、培养和鉴定方法,研发新的鉴定表型标志和建立统一的 MSC 质控标准,为 MSC 的临床应用做好充分准备。

(2) MSC 生物学效力的检测方法。基于目前对 MSC 的研究, MSC 的生物学效力主要在于评价分泌的细胞因子的水平,这些生物学效力包括造血、促新生血管生成、免疫抑制、抗纤维化等。需要通过实验室来筛选出 MSC 相关的标志物,再进行验证实验及生物学活性定量测定,为 MSC 的应用及推广奠定基础。

(3) MSC 衍生物的问题。除了 MSC 本身能够治疗临床疾病之外, MSC 的衍生物如外泌体、microRNA、干细胞因子等也具有治疗作用,如果 MSC 的治疗效果与干细胞衍生物的治疗效果相似,是否也可以考虑用干细胞衍生物来替代干细胞治疗。

(4) MSC 移植治疗的伦理学问题。MSC 移植治疗新生儿 BPD 等,在进行临床试验之前需要进行伦理学审查与评估。

(5) MSC 移植治疗 BPD 的临床方案制定。虽然目前已有较多 MSC 移植治疗 BPD 的动物实验研究,但目前没有 MSC 移植治疗新生儿 BPD 统一的临床方案,其最佳适应证、最佳途径、最佳治疗时间窗、最佳剂量等尚需在未来的临床试验中不断探索及完善。

在我们看到挑战的同时也需要看到 MSC 移植治疗 BPD 带来的机遇,目前 MSC 已经进入临床研究阶段,初步的研究结果已表明了 MSC 移植治疗新生儿 BPD 的有效性和安全性,目前有多个新生儿医学中心申请了相关的临床试验,同时干细胞治疗新生儿其他疾病的临床研究也在逐渐开展中。

总之, MSC 治疗已运用于许多疾病的临床研究中,但仍有不少问题需要解决,需要开展更多相关的多中心、大规模、前瞻性临床研究。MSC 移植在严重 BPD 中的应用值得重视,通过不断努力, MSC 移植治疗技术有望成为包括 BPD 在内的新生儿危重疾病治疗领域的又一个里程碑。

[参 考 文 献]

- [1] 李明,詹成,代曦煜,等.间充质干细胞临床应用的研究进展[J].复旦学报(医学版),2016,43(4):469-474.
- [2] 张梦圆,王颖翠,何洁,等.脐带间充质干细胞治疗技术的临床研究策略[J].西南国防医药,2018,28(1):7-9.
- [3] Mitsialis SA, Kourembanas S. Stem cell-based therapies for the newborn lung and brain: possibilities and challenges[J]. Semin Perinatol, 2016, 40(3): 138-151.
- [4] Chang YS, Ahn SY, Sung S, et al. Stem cell therapy for neonatal disorders: prospects and challenges[J]. Yonsei Med J, 2017, 58(2): 266-271.
- [5] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement[J]. Cytotherapy, 2006, 8(4): 315-317.
- [6] Hass R, Kasper C, Böhm S, et al. Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): a comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC[J]. Cell Commun Signal, 2011, 9: 12.
- [7] Li T, Xia M, Gao Y, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells: an overview of their potential in cell-based therapy[J]. Expert Opin Biol Ther, 2015, 15(9): 1293-1306.
- [8] El Omar R, Beroud J, Stoltz JF, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cells: the new gold standard for mesenchymal stem cell-based therapies?[J]. Tissue Eng Part B

- Rev, 2014, 20(5): 523-544.
- [9] Amable PR, Teixeira MV, Carias RB, et al. Protein synthesis and secretion in human mesenchymal cells derived from bone marrow, adipose tissue and Wharton's jelly[J]. Stem Cell Res Ther, 2014, 5(2): 53.
- [10] Fung ME, Thébaud B. Stem cell-based therapy for neonatal lung disease: it is in the juice[J]. Pediatr Res, 2014, 75(1-1): 2-7.
- [11] Wecht S, Rojas M. Mesenchymal stem cells in the treatment of chronic lung disease[J]. Respirology, 2016, 21(8): 1366-1375.
- [12] Chang YS, Oh W, Choi SJ, et al. Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells attenuate hyperoxia-induced lung injury in neonatal rats[J]. Cell Transplant, 2009, 18(8): 869-886.
- [13] Moodley Y, Ilancheran S, Samuel C, et al. Human amnion epithelial cell transplantation abrogates lung fibrosis and augments repair[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2010, 182(5): 643-651.
- [14] Sung DK, Chang YS, Ahn SY, et al. Optimal route for human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cell transplantation to protect against neonatal hyperoxic lung injury: gene expression profiles and histopathology[J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0135574.
- [15] Chang YS, Choi SJ, Sung DK, et al. Intratracheal transplantation of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells dose-dependently attenuates hyperoxia-induced lung injury in neonatal rats[J]. Cell Transplant, 2011, 20(11-12): 1843-1854.
- [16] van Haaften T, Byrne R, Bonnet S, et al. Airway delivery of mesenchymal stem cells prevents arrested alveolar growth in neonatal lung injury in rats[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 180(11): 1131-1142.
- [17] Pierro M, Ionescu L, Montemurro T, et al. Short-term, long-term and paracrine effect of human umbilical cord-derived stem cells in lung injury prevention and repair in experimental bronchopulmonary dysplasia[J]. Thorax, 2013, 68(5): 475-484.
- [18] Chang YS, Ahn SY, Yoo HS, et al. Mesenchymal stem cells for bronchopulmonary dysplasia: phase 1 dose-escalation clinical trial[J]. J Pediatr, 2014, 164(5): 966-972.
- [19] Ahn SY, Chang YS, Kim JH, et al. Two-year follow-up outcomes of premature infants enrolled in the phase I trial of mesenchymal stem cells transplantation for bronchopulmonary dysplasia[J]. J Pediatr, 2017, 185: 49-54.e2.
- [20] de la Fuente R, Bernad A, Garcia-Castro J, et al. Retraction: spontaneous human adult stem cell transformation[J]. Cancer Res, 2010, 70(16): 6682.
- [21] Wagner W. Senescence is heterogeneous in mesenchymal stromal cells: kaleidoscopes for cellular aging[J]. Cell Cycle, 2010, 9(15): 2923-2924.
- (本文编辑: 邓芳明)

· 消息 ·

2019 年《中国当代儿科杂志》征稿征订启事

《中国当代儿科杂志》是由中华人民共和国教育部主管,中南大学主办的国家级儿科专业学术期刊。本刊为中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),中国科学引文数据库(CSCD)核心期刊,北京大学图书馆中文核心期刊和国际权威数据库美国MEDLINE/PubMed、美国《化学文摘》(CA)、美国EBSCO、荷兰《医学文摘》(EM)及世界卫生组织西太平洋地区医学索引(WPRIM)收录期刊,同时被中国学术期刊(光盘版)、中国科学院文献情报中心、中国社会科学院文献信息中心评定为《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊,并获评2016中国国际影响力优秀学术期刊。

本刊内容以儿科临床与基础研究并重,反映我国当代儿科领域的最新进展与最新动态。辟有国内外儿科动态、论著(临床研究、疑难病研究、病例分析、儿童保健、流行病学调查和实验研究)、临床经验、病例报告、专家讲座、综述等栏目。读者对象主要为从事儿科及相关学科的临床、教学和科研工作者。

本刊为月刊,每月15日出版,向国内外公开发行人。欢迎全国各高等医学院校,各省、市、自治区、县医院和基层医疗单位,各级图书馆(室)、科技情报研究所及广大医务人员和医学科技人员订阅。每期定价20元,全年240元。邮发代号:国内42-188;国外3856(BM)。可通过全国各地邮局订阅或直接来函与本刊编辑部联系订阅。

向本刊投稿一律通过网上稿件处理系统(www.zgddk.com),免审稿费,审稿周期2~4周。欲详细了解本刊,请扫描下方二维码或微信公众平台二维码。网站提供免费全文下载。



杂志官方网址



微信公众平台

《中国当代儿科杂志》编辑部