

骨髓间充质干细胞移植改善慢性哮喘气道炎症

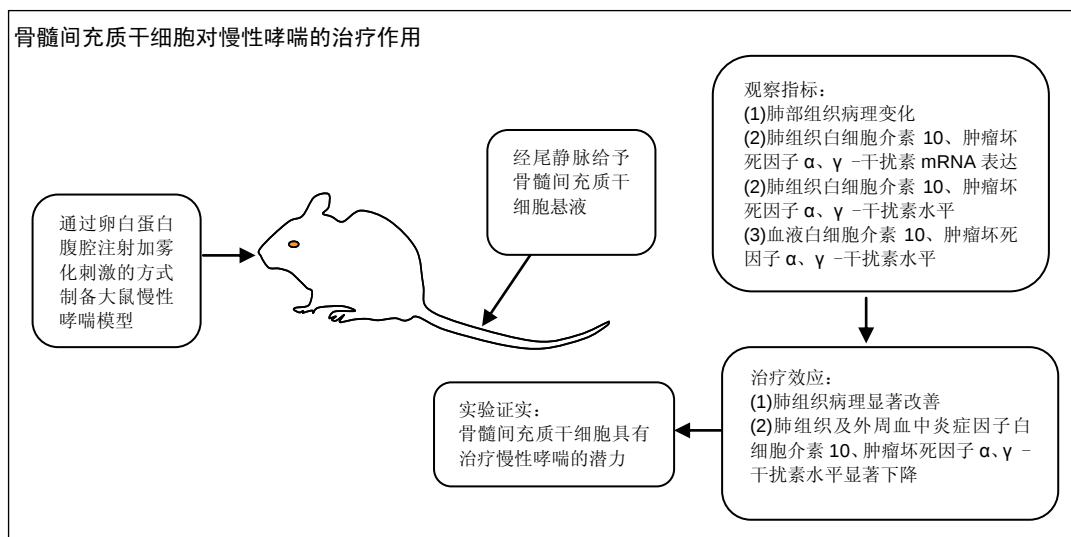
张 起, 郭蕊蕊, 胡江平(郑州大学附属郑州中心医院呼吸内科, 河南省郑州市 450000)

引用本文: 张起, 郭蕊蕊, 胡江平. 骨髓间充质干细胞移植改善慢性哮喘气道炎症[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(10):1494-1500.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.10.018

ORCID: 0000-0001-9802-4411 (张起)

文章快速阅读:



张起, 男, 1981 年生, 河南省郑州市人, 汉族, 2005 年郑州大学医学院毕业, 主治医师, 主要从事慢性阻塞性肺疾病, 呼吸衰竭, 重症肺炎, 发热待查等方面研究。

中图分类号:R394.2

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2016)10-01494-07

稿件接受: 2016-01-18

<http://www.crter.org>

文题释义:

气道变应性炎症: 过去大多数学者将哮喘的气道炎症笼统归为非特异性炎症范畴, 近年来根据哮喘病气道炎症的发病机制, 更多的作者倾向认为炎症的性质属于变态反应, 因而进一步提出了气道变应性炎症的概念, 该概念已经得到了越来越多学者的认可。现已证实哮喘病的变应性气道炎症比气道平滑肌痉挛更为重要, 变应性气道炎症既是引起气道高反应性从而导致气道平滑肌敏感和痉挛的主要原因, 也可直接导致气道通气障碍和气道重塑, 因此消除气道过敏性炎症应该是哮喘治疗的主要措施。

骨髓间充质干细胞免疫调节作用: 大量研究证实, 骨髓间充质干细胞可以通过旁分泌机制以及骨髓间充质干细胞与免疫细胞间的相互作用, 介导调节免疫反应平衡, 最终促使局部炎症反应下调, 减轻组织炎症损伤。骨髓间充质干细胞对炎症免疫反应的调节主要包括对先天免疫和获得性免疫反应的调节。

摘要

背景: 以往研究提示骨髓间充质干细胞移植能够通过减轻炎症程度来改善病情。

目的: 探讨骨髓间充质干细胞对慢性哮喘大鼠的治疗效果。

方法: 通过卵白蛋白腹腔注射加雾化刺激的方式制备大鼠慢性哮喘模型, 待模型稳定后, 尾静脉注射 4×10^5 及 8×10^5 个骨髓间充质干细胞。治疗 30 d 后, 苏木精-伊红染色观察肺组织病理变化, RT-qPCR、ELISA 法检测肺组织和外周血中白细胞介素 10、肿瘤坏死因子 α 、 γ -干扰素水平。

结果与结论: ①卵白蛋白腹腔注射配合雾化刺激的方法可以制备稳定的慢性哮喘模型。②治疗后 30 d, 肺组织病理显著改善, 肺组织及外周血中炎症因子白细胞介素 10、肿瘤坏死因子 α 、 γ -干扰素水平显著下降, 两治疗组之间的数据差异无显著性意义。③实验结果表明骨髓间充质干细胞具有治疗慢性哮喘的潜力。

关键词:

干细胞; 移植; 慢性哮喘; 骨髓间充质干细胞; 气道重塑; 免疫平衡; 干细胞移植; 支气管炎

主题词:

哮喘; 骨髓; 间质干细胞移植; 气道重塑; 组织工程

基金资助:

2014 年度河北省医学科学研究重点课题计划(ZD20140271)

Zhang Qi, Attending physician, Department of Respiratory Medicine, Zhengzhou Central Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, Henan Province, China

Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation improves airway inflammation due to chronic asthma

Zhang Qi, Guo Rui-rui, Hu Jiang-ping (Department of Respiratory Medicine, Zhengzhou Central Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, Henan Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Studies have shown that bone marrow mesenchymal stem cell transplantation can improve disease conditions by reducing inflammation.

OBJECTIVE: To explore the therapeutic efficacy of bone marrow mesenchymal stem cells on chronic asthma rats.

METHODS: A rat model of chronic asthma was established by intraperitoneally injected and aerosolized ovalbumin. After modeling, rats were given 4×10^5 and 8×10^5 bone marrow mesenchymal stem cells via the tail vein, respectively. Thirty days later, the lung tissues were observed pathologically using hematoxylin-eosin staining; RT-qPCR and ELISA methods were employed to test the changes in interleukin-10, tumor necrosis factor- α and interferon- γ levels in lung tissue and peripheral blood, respectively.

RESULTS AND CONCLUSION: Rat models of chronic asthma were successfully established after intraperitoneal injection of ovalbumin combined with aerosolized ovalbumin. After 30 days of cell treatment, the structure of lung tissues were obviously recovered, and the levels of interleukin-10, tumor necrosis factor- α and interferon- γ showed some improvement in lung tissue and peripheral blood, but there were no differences between the two groups. In conclusion, bone marrow mesenchymal stem cells show some potential role in the treatment of chronic asthma.

Subject headings: Asthma; Bone Marrow; Mesenchymal Stem Cell Transplantation; Airway Remodeling; Tissue Engineering

Funding: the Medical Science Research Project of Hebei Province in 2014, No. ZD20140271

Cite this article: Zhang Q, Guo RR, Hu JP. Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation improves airway inflammation due to chronic asthma. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016; 20(10):1494-1500.

0 引言 Introduction

慢性哮喘是一种临床常见的呼吸道系统疾病,与气道高压反应和黏液分泌紊乱有关^[1-3]。各地流行病学报道表明呼吸道系统疾病的发病呈现上升趋势^[4-11]。在全世界范围内,有将近3亿左右的慢性哮喘患者,而且其发病率有上升趋势。临床常用治疗哮喘的药物包括糖皮质激素类、 β_2 受体激动剂类、茶碱类、抗胆碱类、抗白三烯类、抗过敏类及中药等,目前认为糖皮质激素是治疗哮喘最有效的药物,具有抗变态反应炎症的作用^[12-15],但是长期大量应用会引起较多不良反应,如骨质疏松、皮质功能亢进综合征等^[16-18]。因此,研发新的可持续性治疗或者根除哮喘类病变药物就显得尤为重要。

间充质干细胞是存在于人体多种组织中的一类多能干细胞,与胚胎干细胞不同,多能干细胞不存在伦理问题^[19],其中骨髓间充质干细胞使用较广泛。骨髓间充质干细胞是一类具有多向分化潜能和低免疫原性的成体干细胞,具有促进血管形成、保护神经的治疗作用,还具有免疫调节功能^[20-22],改善哮喘气道炎症反应^[23-24]。

实验采用经典的卵白蛋白致敏建立大鼠慢性哮喘模型,经尾静脉注射移植骨髓间充质干细胞,通过炎症指标白细胞介素10、肿瘤坏死因子 α 、 γ -干扰素水平变化以及病理组织结构改变,探究骨髓间充质干细胞的治疗作用。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于2014年9月至2015年9月在郑州大学附属郑州中心医院呼吸内科实验室完成。

1.3 材料 雄性Wistar大鼠5只,SPF级,体质量100-120 g,用于制备骨髓间充质干细胞;Wistar大鼠46只,雌雄各半,SPF级,体质量180-220 g,用于动物实验。所有大鼠购自河南省实验动物中心,光照和黑暗各12 h交替环境中标准饲养,实验过程中对动物处置符合动物伦理学标准。

1.4 实验方法

1.4.1 骨髓间充质干细胞分离培养及鉴定 取100-120 g Wistar大鼠,处死后用体积分数为75%乙醇浸泡消毒,

骨髓间充质干细胞移植改善慢性哮喘气道炎症实验所用试剂:

试剂	来源
卵白蛋白	Sigma
氢氧化铝	广州化学试剂厂
多聚甲醛	广东永津生物技术有限公司
胰蛋白酶	Sigma
胎牛血清、DMEM低糖培养基	Gibco
PBS	博士德生物技术有限公司
青霉素、链霉素	Toku-E
小鼠抗大鼠CD29单克隆抗体、小鼠抗大鼠CD44单克隆抗体、小鼠抗大鼠CD34单克隆抗体	美国ebioscience公司
白细胞介素10、肿瘤坏死因子 α 、 γ -干扰素ELISA试剂盒	武汉俊泰生物科技有限公司
二甲基亚砜、抗坏血酸	Sigma
Trizol Life	Technology
反转录试剂盒、荧光定量PCR试剂盒	北京天根生物化学试剂有限公司

骨髓间充质干细胞移植改善慢性哮喘气道炎症实验所用仪器:

仪器	来源
超净工作台、超低温冰箱、酶联免疫检测仪、37℃恒温CO ₂ 孵箱	Thermo Scientific
纯水仪	美国Miiner公司
电子天平	Mettler Toledo公司
荧光显微镜	Zeiss公司
普通光学显微镜	Olympus公司
电热恒温水槽	上海精宏公司
微量加样器、高速冷冻离心机	德国Eppendorf 公司
电热干燥箱	上海齐欣实验仪器有限公司
石蜡切片机	德国莱卡公司
低速常温离心机	湖南湘仪仪器设备有限公司
pH计	美国Thermo Fisher公司
Leica EG1140石蜡包埋机、组织切片机	德国 Leica 公司
冻存管、培养瓶、培养板	美国 Corning 公司
血球计数板	浙江玉环县求精医用仪器厂
磁力搅拌器	常州国华
流式细胞仪	BD公司

取出后置于超净工作台内,用无菌剪刀剪开大鼠皮肤,分离大鼠胫骨,仔细剔除胫骨周边的筋膜,用无菌生理

盐水冲洗数次。剪开胫骨两端,用注射器抽取低糖DMEM培养基从胫骨一端冲向另一端,反复冲洗直至胫骨发白。收集骨髓腔内的细胞混悬液于无菌离心管中,1 000 r/min离心5 min,弃上清,用含体积分数为10%胎牛血清的低糖培养液重悬细胞,接种于培养瓶内,置于37℃,体积分数为5%CO₂培养箱内培养,两三天后首次换液,以后每3 d换液1次,待细胞达80%~90%融合时传代,用0.25%胰酶消化1.0~2.0 min,DMEM培养液终止消化,离心去掉胰酶,置于新的培养瓶内进行培养。

取第3代贴壁细胞,倒置显微镜下观察细胞形态,并拍照记录。

取第3代贴壁细胞,PBS清洗,用不含EDTA的胰酶消化制备细胞悬液,加入适量的小鼠抗大鼠CD29,CD44,CD34单克隆抗体孵育,使用流式细胞仪上机检测。

1.4.2 动物分组与慢性哮喘模型建立 取40只Wistar大鼠随机分为4组:正常对照组、模型组、 4×10^5 骨髓充间质干细胞组及 8×10^5 骨髓充间质干细胞组,每组10只。剩余5只大鼠采取和模型组相同的方法造模,用于检验模型是否成功。

采用经典的卵白蛋白注射配合雾化卵白蛋白刺激法造模。除正常对照组外,其他各组大鼠于第1天和第7天腹腔注射含10%卵白蛋白的生理盐水注射液,诱发机体产生免疫反应。1周后机体稳定,将大鼠置于雾化刺激箱内,使用超声波雾化器雾化1%卵白蛋白溶液,每天刺激1 h,共8周,观察大鼠行为学变化,包括喷嚏和抓鼻子等动作。取5只造模大鼠,观察肺部病理切片,并检测炎症相关指标变化,以便判断模型是否成功。

1.4.3 骨髓间充质干细胞移植 造模第8周,取第3代骨髓间充质干细胞使用生理盐水重悬之后调整细胞浓度为 $1.2\times 10^9\text{ L}^{-1}$,按照实验要求经尾静脉分别注射 4×10^5 及 8×10^5 个细胞。实验操作需要快速进行,以保证细胞活力具有较小的组间差异。正常对照组与模型对照组注射等量的生理盐水。

1.4.4 大鼠肺组织病理学变化 治疗30 d结束后,水合氯醛过量麻醉处死大鼠,取部分肺组织置于40 g/L多聚甲醛内浸泡过夜,使用冰冻切片机切片,厚度为4 μm ,于70℃烘箱内烤片半个小时后取出使用二甲苯脱蜡,再分别使用无水乙醇、体积分数为95%乙醇、体积分数为80%乙醇、体积分数为70%乙醇及蒸馏水浸泡,最后

用苏木精-伊红染色法染色, 常规脱水, 使用中性树脂封固, 光镜下观察。

1.4.5 PCR法检测大鼠肺组织炎症指标变化 治疗30 d结束后, 水合氯醛过量麻醉处死大鼠, 取约100 mg肺组织置于Trizol内, 液氮急冻后置于超低温冰箱保存。检测时, 常温解冻样品, 使用匀浆器于冰上研磨样品成粉末状, 加入RNAiso Plus, 将匀浆液转移至离心管中, 离心后小心吸取上清液, 移入新的离心管中, 加入氯仿沉淀蛋白, 离心取上清加入异丙醇沉淀RNA, 离心弃去上清, 沿管壁加入体积分数为75%乙醇, 离心后小心弃去乙醇, 室温干燥沉淀, 加入适量的Rnase-free水溶解沉淀后使用超纯水溶解。测定提取出的RNA浓度与纯度, 确保 A_{260}/A_{280} 值在1.8-2.0之间。使用Kit反转录合成第一链cDNA, 对合成产物进行PCR扩增, PCR扩增产物于2%琼脂糖凝胶上电泳, 用凝胶成像软件分析白细胞介素10、肿瘤坏死因子 α 、 γ -干扰素基因表达变化。

1.4.6 ELISA法检测大鼠肺组织炎症指标变化 治疗30 d结束后, 水合氯醛过量麻醉处死大鼠, 取约100 mg的肺组织置于EP管内, 液氮急冻后超低温冰箱保存。检测时, 常温解冻样品, 使用组织裂解液研磨组织提取总蛋白, 加入一定量的PMSF抑制蛋白酶活性。按照ELISA试剂盒说明书检测白细胞介素10、肿瘤坏死因子 α 、 γ -干扰素水平。

1.4.7 ELISA法检测大鼠血液中炎症指标变化 治疗30 d结束后, 水合氯醛麻醉大鼠, 腹主动脉取血, 室温静止2 h后, 3 000 r/min离心10 min取上清, 在超低温冰箱中保存。检测时, 常温解冻血清, 按照ELISA试剂盒说明书检测白细胞介素10、肿瘤坏死因子 α 、 γ -干扰素水平。

1.5 主要观察指标 ①大鼠肺部组织病理变化。②大鼠肺组织、血液白细胞介素10、肿瘤坏死因子 α 、 γ -干扰素水平。

1.6 统计学分析 所有数据输入SPSS 21.0软件进行处理, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间数据用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 骨髓间充质干细胞的培养与鉴定

骨髓间充质干细胞的形态: 一般细胞生长周期为两三天, 接种浓度按照1瓶分为2瓶的比例进行, 10 h内所有细胞都会贴壁。

骨髓间充质干细胞的生长和繁殖能力较强, 贴壁

后的细胞多为多角形、梭形(图1), 一般传代对细胞影响不大。实验使用第3代细胞, 以保证实验的准确性与稳定性。

骨髓间充质干细胞的鉴定: 使用流式细胞仪对细胞进行鉴定, 分离培养的细胞表面标记CD29和CD44均为阳性表达($> 99\%$), CD34则为阴性表达。该实验结果表明, 分离培养的细胞为骨髓间充质干细胞, 适合进行接下来的实验操作。

2.2 动物体内实验研究结果

2.2.1 大鼠的一般行为学 Wistar大鼠适应性饲养1周后开始造模。第1天和第7天腹腔注射卵白蛋白后, 大鼠未见任何行为学上的异常, 饮食饮水如前。使用雾化卵白蛋白刺激大鼠产生慢性哮喘, 从第6周开始, 造模大鼠开始逐渐出现咳嗽, 挠鼻子等异常行为。造模第8周开始, 大鼠的异常行为较为明显, 因此选择第8周开始进行治疗。骨髓间充质干细胞治疗组大鼠异常行为逐渐减少, 模型组大鼠异常行为虽然也有一定的减少, 但减少的程度远远不及治疗组。

在实验过程中, 每周进行2次体质量测定, 均未见体质量及体质量增长率上有较大的差异。模型组毛色在后期逐渐变得发黄, 饮食饮水量稍微有所下降但下降并不明显。

2.2.2 大鼠肺组织炎症指标变化

大鼠肺组织白细胞介素10 mRNA表达量的变化: 对照组、模型组、 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组大鼠肺组织白细胞介素10 mRNA的相对表达量分别为 1.00 ± 0.01 , 1.64 ± 0.07 , 1.47 ± 0.02 , 1.33 ± 0.10 。与对照组相比, 模型组白细胞介素10 mRNA的相对表达量显著性提高($P < 0.05$); 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组的白细胞介素10 mRNA表达量与模型组相比显著下降($P < 0.05$)。两治疗组之间的数据差异无显著性意义。

大鼠肺组织肿瘤坏死因子 α mRNA表达量的变化: 对照组、模型组、 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组大鼠肺组织肿瘤坏死因子 α mRNA的相对表达量分别为 1.00 ± 0.01 , 1.52 ± 0.06 , 1.41 ± 0.08 , 1.22 ± 0.03 。与对照组相比, 模型组肿瘤坏死因子 α mRNA的相对表达量显著性提高($P < 0.05$); 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组的肿瘤坏死因子 α mRNA表达量与模型组相比显著下降($P < 0.05$)。两治疗组之间的数据比较差异无显著性意义。

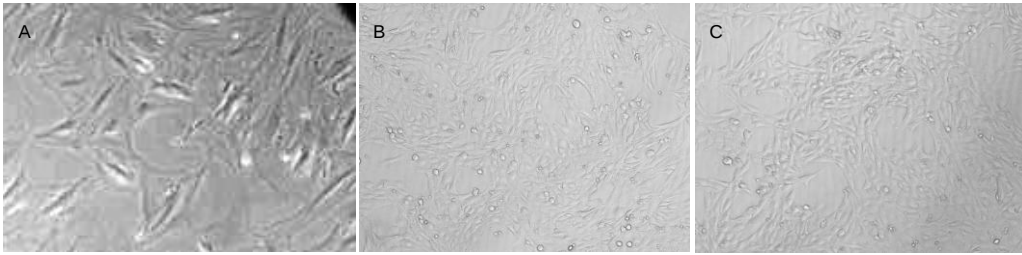


图1 骨髓间充质干细胞的形态

Figure 1 The morphology of bone marrow mesenchymal stem cells

图注: 骨髓间充质干细胞的生长和繁殖能力较强, 贴壁后的细胞多为多角形、梭形(A: $\times 400$; B, C: $\times 200$)

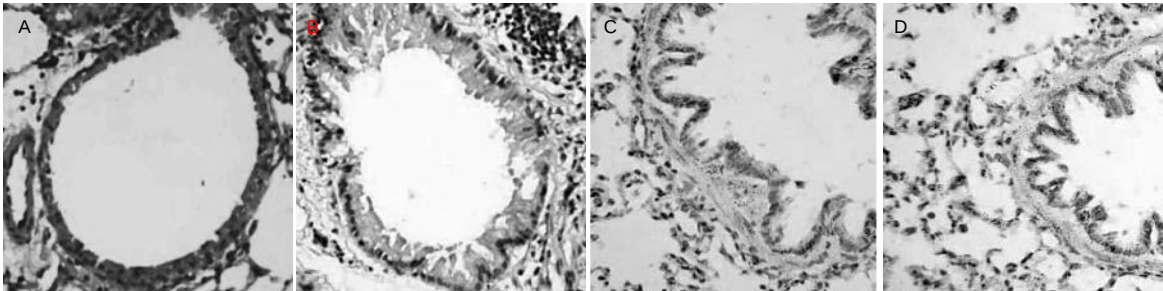


图2 大鼠肺组织形态结构变化(苏木精-伊红染色, $\times 200$)

Figure 2 Structure changes of the rat lung tissue (hematoxylin-eosin staining, $\times 200$)

图注: 图中 A 为正常对照组, 可见肺泡周围均匀无损伤, 肺泡壁光滑; B 为模型对照组, 可见肺泡壁褶皱, 有明显脱落; C 为 4×10^5 骨髓间充质干细胞组, 可见一定程度肺泡壁修复; D 为 8×10^5 骨髓间充质干细胞组, 可见肺泡壁明显改善。

大鼠肺组织 γ -干扰素mRNA表达量的变化: 对照组、模型组、 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组大鼠肺组织 γ -干扰素mRNA的相对表达量分别为 1.00 ± 0.00 , 1.74 ± 0.21 , 1.47 ± 0.11 , 1.44 ± 0.10 。与对照组相比, 模型组 γ -干扰素mRNA的相对表达量显著性提高($P < 0.05$); 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组的 γ -干扰素 mRNA表达量与模型组相比显著下降($P < 0.05$)。两治疗组之间的数据差异无显著性意义。

大鼠肺组织白细胞介素10水平的变化: 对照组、模型组、 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组大鼠肺组织白细胞介素10水平分别为(41.28 ± 3.73) ng/L, (57.92 ± 4.94) ng/L, (48.65 ± 3.74) ng/L, (44.64 ± 1.84) ng/L。与对照组相比, 模型组白细胞介素10水平显著性提高($P < 0.05$); 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组白细胞介素10水平与模型组相比显著性下降($P < 0.05$)。两治疗组之间的数据差异无显著性意义。

大鼠肺组织肿瘤坏死因子 α 水平变化: 对照组、模型组、 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组大鼠肺组织肿瘤坏死因子 α 水平分别为(96.56 ± 7.87) ng/L, (127.54 ± 7.83) ng/L, (121.21 ± 6.47) ng/L,

(110.20 ± 8.95) ng/L。与对照组相比, 模型组肿瘤坏死因子 α 水平显著性提高($P < 0.05$); 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组肿瘤坏死因子 α 水平与模型组相比显著性下降($P < 0.05$)。两治疗组之间的数据差异无显著性意义。

大鼠肺组织 γ -干扰素水平变化: 对照组、模型组、 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组大鼠肺组织 γ -干扰素水平分别为(88.09 ± 8.28) ng/L, (136.38 ± 17.65) ng/L, (126.56 ± 10.98) ng/L, (117.90 ± 12.86) ng/L。与对照组相比, 模型组 γ -干扰素水平显著性提高($P < 0.05$); 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组 γ -干扰素水平与模型组相比显著性下降($P < 0.05$)。两治疗组之间的数据差异无显著性意义。

2.2.3 大鼠血清中炎症指标变化

大鼠血清中白细胞介素10水平变化: 对照组、模型组、 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组大鼠血清白细胞介素10水平分别为(87.41 ± 11.95) ng/L, (156.34 ± 21.37) ng/L, (147.53 ± 11.73) ng/L, (120.85 ± 16.85) ng/L。与对照组相比, 模型组白细胞介素10水平显著性提高($P < 0.05$); 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组白细胞介素10水平与

模型组相比显著性下降($P < 0.05$)。两治疗组之间的数据差异无显著性意义。

大鼠血清中肿瘤坏死因子 α 水平变化: 对照组、模型组、 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组大鼠血清肿瘤坏死因子 α 水平分别为(167.67 ± 26.95) ng/L, (643.85 ± 34.98) ng/L, (475.85 ± 87.76) ng/L, (435.86 ± 57.37) ng/L。与对照组相比, 模型组肿瘤坏死因子 α 水平显著提高($P < 0.05$); 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组肿瘤坏死因子 α 水平与模型组相比显著性下降($P < 0.05$)。两治疗组之间的数据差异无显著性意义。

大鼠血清中 γ -干扰素水平变化: 对照组、模型组、 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组大鼠血清 γ -干扰素水平分别为(99.67 ± 8.50) ng/L, (122.76 ± 5.88) ng/L, (113.87 ± 5.09) ng/L, (109.76 ± 2.00) ng/L。与对照组相比, 模型组 γ -干扰素水平显著提高($P < 0.05$); 4×10^5 骨髓间充质干细胞组及 8×10^5 骨髓间充质干细胞组 γ -干扰素水平与模型组相比显著性下降($P < 0.05$)。两治疗组之间的数据差异无显著性意义。

2.2.4 大鼠肺组织形态结构变化 苏木精-伊红染色结果可见, 正常组大鼠肺泡周围均匀无损伤, 肺泡壁光滑。模型组大鼠肺泡壁褶皱, 有明显脱落, 可以看到中性粒细胞浸润等炎症反应, 周围组织亦有不同程度破坏。骨髓间充质干细胞治疗组在一定程度上有所改善, 肺泡壁修复, 见图2。

3 讨论 Discussion

由于空气质量逐年下降, 呼吸道疾病的患病率逐年上升^[25], 慢性哮喘的发病率亦有逐年升高趋势^[26]。慢性哮喘主要表现为肺部炎症反应以及肺部组织结构破坏等, 对其治疗主要以糖皮质激素和支气管舒张类药物为主, 能及时快速缓解患者痛苦, 但长期应用糖皮质激素会给身体造成极大不良反应。

干细胞移植作为一种新兴的治疗手段, 其重要意义不言而喻^[27]。多能干细胞具备分化成多种细胞的能力, 自体移植干细胞不会引起身体的免疫反应, 是一种较为完美的治疗手段^[28]。干细胞在注入体内后, 定植于肺部, 通过定向分化为肺部细胞, 可以起到修复损伤的作用^[29-30]。实验已经证明骨髓间充质干细胞移植能够减轻高压氧、内毒素等多种体内外原因导致的急性肺损伤, 其机制与干细胞入驻肺部更新细胞有关^[31]。也有许

多实验证实了多能干细胞能够参与多种疾病的治疗^[32]。尽管自体移植不会诱发免疫反应, 但也有研究认为多能干细胞并不一定安全^[33]。多能干细胞能够发育为多种细胞, 也就意味着骨髓间充质干细胞具有发育成肿瘤细胞的潜能^[34-35], 更多的临床和实验研究能很好的说明这一点。药物能够定向诱导分化也是目前研究的重点^[36-38]。

从各种炎症因子变化入手, 探究骨髓间充质干细胞改善慢性哮喘性炎症的作用, 结合病理切片对干细胞修复效果加以证实。实验表明, 骨髓间充质干细胞治疗大鼠肺部的炎症因子表达量及含量降低, 肺部病理组织也有明显改善, 说明骨髓间充质干细胞具备改善慢性哮喘炎症的作用, 促进气道损伤修复。实验尚不能排除骨髓间充质干细胞注射后在修复前即影响了炎症细胞因子的表达, 另外实验采用同种异体移植方案, 不能排除免疫排斥反应对骨髓间充质干细胞移植的影响, 这些需要更多的实验加以阐述。

作者贡献: 实验设计为张起, 实验实施为张起、郭蕊蕊, 实验评估为张起、胡江平, 资料收集为张起、郭蕊蕊。

利益冲突: 所有作者共同认可文章内容不涉及相关利益冲突。

伦理问题: 实验过程中对动物的处置符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 本刊实行双盲外审制度, 文章经国内小同行外审专家审核, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 文章第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] 关杉. 支气管哮喘慢性持续期及临床缓解期中医证素分布和证候学特点的临床研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [2] 洪建国. 咳嗽变异性哮喘与儿童慢性咳嗽[J]. 临床儿科杂志, 2007, 06: 431-434.
- [3] 徐立然. “补益肺肾、祛风化痰法”治疗支气管哮喘慢性持续期的临床研究和机理探讨[D]. 南京: 南京中医药大学, 2011.

- [4] 王得翔. 济南市哮喘流行病学调查和Th17细胞在不同亚型哮喘中的状态及其意义[D]. 济南: 山东大学, 2013.
- [5] 冯晓凯. 我国支气管哮喘患病情况及相关危险因素流行病学调查[D]. 北京: 北京协和医学院, 2014.
- [6] 孙伟. 石家庄市0-14岁儿童哮喘流行病学分析[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2013.
- [7] 刘传合, 陈育智. 儿童哮喘流行病学及防治现状分析[J]. 中国实用儿科杂志, 2013, 28(11): 809-811.
- [8] 丁燕霞. 安庆市0-14岁儿童哮喘流行病学调查及危险因素研究[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2012.
- [9] 张晓岩, 林江涛. 支气管哮喘的流行病学及发病危险因素[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2007, 30(7): 538-541.
- [10] 蔡晓红, 李昌崇, 罗运春, 等. 儿童呼吸道疾病流行病学调查分析[J]. 临床儿科杂志, 2003, 21(6): 341-343.
- [11] 宁立华, 张亚京, 王鑫, 等. 2010年包头市城区儿童哮喘流行病学调查研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2014, 16(2): 165-169.
- [12] 邓伟吾. 糖皮质激素治疗支气管哮喘[J]. 世界临床药物, 2009, 30(1): 1-6.
- [13] 潘频华, 陈清兰, 吴鄂生, 等. 早期糖皮质激素应用对豚鼠哮喘模型气道重塑影响的病理学研究[J]. 中国现代医学杂志, 2005, 15(21): 3219-3222.
- [14] 谢柯楠. 吸入糖皮质激素对哮喘小鼠T-bet及GATA-3蛋白表达的影响[D]. 长沙: 中南大学, 2009.
- [15] 糜涛, 刘健, 刘晓晴. 吸入性糖皮质激素在治疗慢性哮喘中的应用[J]. 医药导报, 2002, 21(8): 494-496.
- [16] 张冉, 田庆秀, 余丽君. 支气管哮喘患者吸入糖皮质激素治疗依从性的研究[J]. 中华护理杂志, 2015, 50(1): 42-47.
- [17] 赵箫陶, 黄慈波. 糖皮质激素的合理使用[J]. 临床药物治疗杂志, 2010, 8(1): 23-28.
- [18] 杨秋敏. 浅谈糖皮质激素的合理使用[J]. 实用医技杂志, 2007, 14(22): 2995-2997.
- [19] 陈楠楠, 黄世林. 间质干细胞与免疫调节[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(33): 6670-6675.
- [20] 曾宪升. 人骨髓间充质干细胞对间质性肺纤维化的抗损伤治疗机制及黄酮化合物的协同效应[D]. 广州: 广州医学院, 2011.
- [21] 时彦玲, 邓林红. 细颗粒物(PM_{2.5})对气道的病理作用及其与哮喘病理机制的关系[J]. 医用生物力学, 2013, 28(2): 127-134.
- [22] 梁瑛, 姚天樵, 张蔚, 等. 哮喘与慢性支气管炎气道炎症的临床病理对比性研究[J]. 中华结核和呼吸杂志, 1998, 21(11): 668-671.
- [23] 高伟良, 邱晨, 袁庆莉, 等. 哮喘大鼠模型气道重构的病理形态学改变[J]. 广东医学, 2006, 27(2): 176-178.
- [24] 潘频华, 陈清兰, 吴鄂生, 等. 早期糖皮质激素应用对豚鼠哮喘模型气道重塑影响的病理学研究[J]. 中国现代医学杂志, 2005, 15(21): 3219-3222.
- [25] 翟广宇, 王式功, 董继元, 等. 兰州市上呼吸道疾病与气象条件和空气质量的关联规则分析[J]. 兰州大学学报: 自然科学版, 2014, 50(1): 66-70.
- [26] 胡晓光, 金义, 金江兵, 等. 空气污染物与儿童呼吸道疾病的相关性调查[J]. 教育生物学杂志, 2015, 1: 26-30.
- [27] 王方, 云升皓, 寇俊峰, 等. 两种类型的干细胞经门静脉注入治疗失代偿期肝硬化患者近期疗效观察[J]. 中国肝脏病杂志: 电子版, 2014, 4(3): 31-34.
- [28] 沈德良. 心脏干细胞和生物材料在心肌梗死动物模型中的应用及机制研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2012.
- [29] 姚金萍. 自体骨髓间充质干细胞定向移植治疗2型糖尿病安全性及有效性的临床研究[D]. 重庆: 第三军医大学, 2012.
- [30] 曾宪升. 人骨髓间充质干细胞对间质性肺纤维化的抗损伤治疗机制及黄酮化合物的协同效应[D]. 广州: 广州医学院, 2011.
- [31] 赵文勇. 间充质祖细胞源性神经元样细胞体内移植延缓骨骼肌萎缩的实验研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2013.
- [32] 刘璐. 自体骨髓干细胞移植治疗肝硬化的疗效分析[D]. 大连: 大连医科大学, 2014.
- [33] 秦鼎新. 肿瘤细胞来源的诱导多能干细胞研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2010.
- [34] 张高川. 诱导多能干细胞和肿瘤干细胞中致癌基因的生物信息学分析[D]. 苏州: 苏州大学, 2014.
- [35] 殷欣. 诱导多能干细胞转录因子在肝细胞癌复发及转移的作用研究[D]. 上海: 复旦大学, 2011.
- [36] 田寿福. 诱导多能干细胞向肾脏前体细胞定向分化及修复肾损伤的作用与机制[D]. 苏州: 苏州大学, 2013.
- [37] 成德, 雷蕾, 卢智娟, 等. 诱导多能干细胞(iPS)的诱导培养与鉴定[J]. 生物工程学报, 2010, 26(4): 421-430.
- [38] 付常皓. 人胚胎多能干细胞的分离鉴定和向软骨细胞分化诱导的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2015.