DOI：10.12287/j.issn.2096-8965.20210107

成体肺组织再生及其临床转化

单姗，任涛 *

（上海交通大学附属第六人民医院呼吸与危重症医学科，上海 200233）

【摘要】在 COVID–19 疫情的冲击下，肺病高负担国家面临更大的压力，迫切需要形成肺病治疗的新思路。近来，具有自我更新和修复能力的成体肺干细胞家族成员不断增加，且许多肺干细胞介入慢性肺病的发生发展过程，围绕肺组织干细胞的功能调控研究将有助于形成慢性肺病的诊疗新手段。

【关键词】组织干细胞；再生；肺疾病

中图分类号：R563，R363　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：2096-8965（2021）01-0050-05

Adult lung regeneration and its clinical application

Shan Shan, Ren Tao*

(Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, Shanghai 6th Peoples Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai, 200233, China)

【**Abstract**】Under the impact of the COVID-19 global pandemic, countries with a high burden of lung disease are facing greater strength and urgently need to form new ideas for lung disease treatment. Recently, members of the adult lung stem cell family with self-renewal and repair capabilities are increasing, and many lung stem cells are involved in the occurrence and development of chronic lung diseases. The functional regulation of lung tissue stem cells will help to form a new method of diagnosis and treatment of chronic lung diseases.

【**Keywords**】Tissue stem cells; Regeneration; Lung disease

全球死亡人数的六分之一归因于肺疾病[1]。2020 年初爆发的 COVID-19 疫情进一步增加了全球呼吸疾病负担，也必将会对呼吸疾病的防控提出更多的需求。因此，借助新技术系统和全面地解析人肺组织中所有细胞类型以及细胞功能改变与肺部疾病的关系等，有助于把握肺部疾病的发病机理、诊断设计和个性化治疗。我们将围绕成体肺组织发育、成体肺干细胞类型、肺组织再生研究潜在临床转化等方面作简要综述。

1　肺的发育

根据形态不同，人们习惯把肺的发生划分为假腺期（24 天至 16 周）、小管期（17 周至 26 周）、终末囊泡期（26 周至出生）和肺泡期（胎儿期的后期至 8 周岁），前三期在胚胎中完成，肺泡期在出生后完成[2]。人胚 24 天时，从内胚层消化管的腹侧发出肺芽，与食管分开，分出左右肺囊，此后分成 5 个肺叶，并在此基础上逐渐分成 10 个肺段的芽泡，类似于腺体的发生，肺芽的上皮为立方上

基金项目：国家自然科学基金委员会重点项目与面上项目（81930001；81870055）；上海交通大学医工交叉重点项目（ZH2018ZDA21；YG2020YQ18）；上海申康医院发展中心促进市级医院临床技能与临床创新三年行动计划重大临床研究项目（SHDC2020CR3063B）

通讯作者：任　涛（1971-），男，山东人，博士生导师，主要从事肺组织再生及肺癌诊治研究。E-mail：rentao305@163.com

皮，结构类似于腺细胞，含有糖原，故称之为假腺期。进入小管期，糖原开始消失，上皮细胞中含有少许与合成肺泡表面活性物质有关的嗜高渗包涵体，形成肺泡上皮前体细胞，随后呼吸性细支气管末端开始形成薄壁的终末囊泡。进入终末囊泡期，终末囊泡大量增多，囊泡壁较厚，周围间质内毛细血管网快速增生。进入肺泡期，终末囊泡表面上皮变薄，形成 1 型肺泡上皮细胞，终末囊泡发生分支，其边缘呈锯齿状，有些锯齿缘加深和延长，原来的终末囊泡形成肺泡管，肺泡管再生出许多的肺泡囊，肺不断增长。成熟的肺泡是出生后才形成的。出生时，近肺门处的未成熟肺泡先行充气，并逐渐深入到肺中央，进行呼吸数小时后空气才到达远端肺泡，出生后未成熟的肺泡仍能继续增生。最近的研究表明，上述不同发育阶段存在重叠，并有相似的分子事件，如细胞特化与定向分化等 [3]。

2 肺组织干细胞类型

根据功能不同，肺组织可以人为划分为气体传导部（气道）和功能部（肺泡区）两个区域，不同的区域分布不同的细胞类型，执行各自的功能。人肺组织干细胞的分布具有区域特异性。

2.1 气道上皮干细胞

近端气道最先受到环境因素的影响，当属肺部免疫和防御毒素的首道防线。基底细胞（Basal Cells，BCs）是近端气道上皮实施自我更新的主要干细胞亚群。小鼠的 BCs 分布于气管和主支气管，而人的 BCs 则延续分布于近端气道至远端小气道；小鼠肺内气道上皮不呈假复层，不包含 BCs，因此，小鼠肺内气道不适合用作研究人类气道的模型系统 [3]。

人假复层气道上皮在生理状态下 1 个月到 4 个月进行缓慢更新。BCs 是人类气道最主要的干细胞亚群，可分化为分泌细胞、杯状细胞和多纤毛细胞等多种气道上皮细胞类型 [4]，这对于严重损伤后气道上皮的功能维持和细胞再生至关重要，该过程主要受 Notch 信号控制 [5]。基底细胞并非均质性，它包含不同的细胞亚群，谱系追踪研究表明近端气道中的基底细胞至少存在两个细胞亚群，一个亚群作为自更新干细胞，另一个亚群则致力于腔内上皮细胞分化，上述功能分别取决于 Notch2 信号或 c-myb 表达 [6-8]。小鼠气道内广泛存在的 club 细胞可由 BCs 分化形成，在气道损伤时作为祖细胞可分化为纤毛细胞、杯状细胞等气道上皮细胞类型 [2]。

多项研究使用谱系追踪分析结合单细胞转录组学的方法证实，Krt5+ BCs 能够产生气道内所有细胞类型，包括新近鉴定的富含 CFTR 的离子细胞以及其他罕见的 Tuft 细胞等上皮细胞亚群 [9,10]。此外，Tuft 细胞也被称为孤立的化学感受细胞，正常状态下小鼠上皮中几乎不见，但在小鼠流感损伤后会异位出现，可能在参与肺损伤后的异常气道重塑 [11]。

近年来，气道内少量具有干细胞功能的细胞亚群不断被鉴定。支气管肺泡干细胞（Bronchoalvelar Stem Cells，BASCs）、谱系阴性上皮祖细胞（Lineagenegative Epithelial Progenitor，LNEPs）等细胞可在气道损伤后充当修复性上皮细胞 [2]；Scgb1a1+ 分泌细胞亚群的增殖有助于维持棒状细胞以及正常气道上皮中纤毛细胞的数量 [12]。已证明在小鼠气道上皮中 Upk3a+ 分泌细胞亚群（变异型棒状细胞）多位于气道神经内分泌小体附近，可生成分泌细胞和纤毛细胞 [13, 14]。此外，神经内分泌（Neuroendocrine，NE）细胞在气道损伤后还可以作为兼职祖细胞，在增殖过程中与免疫系统相互作用，促进神经内分泌小体中祖细胞亚群的功能 [15]。

在特殊条件下，成熟的 Scgb1a1+ 分泌细胞在气道 BCs 缺失情况下可去分化为 BCs，有助于维持 BCs 干细胞池 [16]。近来，两个研究小组同时发现小鼠气道损伤后，黏膜下腺来源的腺上皮肌上皮细胞是补充 BCs 数量的新途径，并可分化为多种成熟气道上皮细胞类型 [17, 18]。

2.2 肺泡上皮干细胞

肺泡由多种上皮细胞、内皮细胞和间充质细胞组成。肺泡区域还包含多种免疫细胞，如肺泡巨噬细胞、间质巨噬细胞和树突状细胞。未受损伤的肺泡腔保持生理静止状态，多数细胞更新缓慢。肺泡损伤后，多种细胞可被有效激活、自我更新并分化为成熟的细胞，进而修复受损的肺泡结构。近来研究发现有越来越多的细胞类型参与肺上皮自我更新和分化的调节，如上皮细胞、间充质细胞、气道平滑肌细胞、神经元和神经内分泌细胞、内皮细胞和免疫细胞等 [3, 4]。

2.2.1 肺泡上皮对损伤的反应

肺泡上皮主要由 1 型肺泡上皮细胞（Lung Alveolar Type 1 Cells，AT1）和 2 型肺泡上皮细胞（Lung Alveolar Type 2 Cells，AT2）构成，AT1 细胞覆

盖了 95% 的肺泡表面积，并与毛细血管丛紧密耦联。AT2 生成肺表面活性物质，降低肺泡表面张力以防止呼吸周期中的肺泡萎陷。肺发育早期阶段，AT1 和 AT2 细胞的功能就被固定下来。2013 年 Barkauskas 等 [19] 在成年小鼠肺组织中发现 AT2 细胞具有自我更新能力，并可再生出 AT1 细胞。2018 年 Nabhan[20] 和 Zacharias[21] 同时发现 Axin2+ AT2 细胞发挥受损肺泡修复的关键作用，该类细胞被命名为肺泡上皮祖细胞（Alveolar Epithelial Progenitor，AEPs）。当肺泡受损后，AEPs 优先重新启动细胞周期、细胞自我更新、生成成熟的 AT1 与 AT2 细胞。AEP 具有做好随时进入细胞周期的准备并对 FGF7 信号有强烈应答。人肺组织中也包含 AEPs，已在人肺泡类器官模型上证明 AEPs 生成绝大部分的 AT2 细胞 [21]。与 AT2 和 AEPs 不同，AT1 细胞对肺泡上皮再生贡献非常有限。但在小鼠模型中，少量的 Hopx+ AT1 细胞也表现出增殖能力以及生成 Sftpc+ AT2 细胞的能力 [22]。

3 成体肺组织再生

组织再生，顾名思义是一种借助细胞生长和更新恢复因自然退化、受伤或疾病导致的组织结构破坏和功能恢复的过程。不同的成体组织包含的干细胞数量与类型各异，因此也展现出独特的损伤后修复能力。肠道和造血系统具有较高的细胞更新率和完备的干细胞层级结构，有利于体内稳态的快速恢复；心脏则几乎没有功能明确的干细胞群，再生能力缺乏，组织修复不力，通常导致疤痕形成和功能丧失。肺组织介于两者之间，生理状态下，细胞更新相对较慢，但具有显著的损伤响应能力，组织干细胞的再生能力可快速启动 [3]。

2012 年《新英格兰医学杂志》发表了一个极具启发性的案例 [23]，一名 35 岁的成年女性，因右肺腺癌行右肺全切术，在 15 年的随访期间进行了连续 CT 扫描检查和肺功能检查，发现患者的左肺叶体积增大，因手术而丢失的肺功能部分恢复，肺组织密度也相应增加，3Helium MRI 对腺泡气道尺寸的分析表明，组织密度的增加与新肺泡形成相一致，而不是有肺泡腔的单纯体积增大（过度膨胀）。该研究提示成人肺组织的细胞再生、结构修复和重塑能力远远超过我们目前的认知。

2018 年 Taylor 等 [24] 报告了一名 27 岁男性和 35 岁女性 ARDS 患者，均表现为发烧和快速恶化的低氧血症并接受社区获得性肺炎的经验性治疗，达到严重 ARDS 的柏林诊断标准。男性患者在 ECMO 治疗 101 天后接受了双侧肺移植术，现已康复并恢复工作。女性患者 ECMO 支持治疗 85 天，有创机械通气支持 47 天，病情慢慢恢复，合并出现肺纤维化，拔管后 13 个月持续存在限制性通气功能障碍。由于病情恶化迅速，分别在气管插管后 2 天和 4 天行肺活检并获得楔形活检肺组织标本。2 名患者的活检标本均显示弥漫性肺泡损伤，并伴有罕见的透明膜形成和弥漫性肺泡剥脱（肺气体交换区域表面上皮几尽丢乏、没有 1 型肺泡上皮细胞和再生性 2 型肺泡上皮细胞，取而代之的是巨噬细胞），伴轻度间质水肿和肺纤维化。2 例患者的肺组织病理均出现 BCs 增生的现象，被作者定义为细支气管周围基底细胞包囊（Peribronchiolar Basaloid Pods，PBPs），PBPs 由多层的极化上皮构成，外层细胞的增殖活性明显高于内层细胞。超过 90% 的 PBPs 毗邻细支气管，局限于细支气管间质，有时 PBPs 与纤毛细支气管上皮邻接。男性患者肺移植术后的肺组织病理显示弥漫性间质纤维化，广泛增生的 2 型肺泡上皮细胞 PBPs 消失，取而代之的是显著的细支气管化（细支气管纤毛上皮化生伴周围平滑肌缺如）。女性患者肺活检标本与男性患者的情况相似，弥漫性肺泡剥脱以及支气管周围 p63+Krt5/6+ BCs 增生。PBPs 在重度流感肺损伤小鼠模型中被证实是源自气道 BCs 的修复性细胞结构，可能参与损伤肺泡上皮组织的修复 [25, 26]。上述结果提示，即使处于严重受损的状态，肺组织也会动员固有的组织干细胞参与肺损伤后修复。

2015 年 12 月课题组借助支气管镜刷检技术获取成人气道上皮细胞，利用含滋养层细胞培养体系可以选择培养出具有克隆形成能力的 BCs，经体外扩增 2–3 周，可以达到治疗数量级（千万细胞数量级）。临床前研究证实 BCs 具有多向分化潜能和非成瘤性。2016 年 5 月，应用自体 BCs 经支气管镜气道移植治疗间质性肺病（Interstitial Lung Disease，ILD）（NCT02796781），植入的 BCs 具有损伤区域趋化聚集的特点，有患者短期内出现氧合能力改善、活动能力增加以及肺部磨玻璃影明显吸收，也有患者表现为渐进性的肺弥散功能恢复以及较小蜂窝肺愈合等肺结构变化 [27]。

4 肺再生的临床转化前景

成体肺具有内源性再生能力，在发育阶段保留下来的具有自我更新和损伤后修复能力的组织干细胞理应是再生的第一驱动力。那么，不同病理状态下组织干细胞的功能特点就成为肺再生临床转化的首要问题。

特发性肺纤维化（Idiopathic Pulmonary Fibrosis, IPF）是成人 ILD 中的最常见类型，以普通型间质性肺炎为典型病理类型，以胸膜下区、肺基底分布为主的纤维瘢痕、蜂窝状改变或细支气管扩张等为临床表现。IPF 的发病始于肺泡上皮的“微损伤”，其中 AT2 细胞发挥关键性作用。研究发现当应激与衰老途径激活、端粒功能丧失、机械张力增加时，AT2 细胞稳态被破坏，驱动形成肺纤维化[3]。最近的研究发现[28] IPF 在病程早期就存在终末细支气管明显减少的现象，并伴随中等气道的管壁增厚、结构扭曲等病理改变。慢性阻塞性肺疾病（Choronic Obstructive Pulmoriary Disease，COPD）的全球发病率持续走高，是中国第 4 位的致死病因，临床表现为慢性进行性不可逆气流受限，病理表现为支气管周围的慢性炎症、小气道丢失、肺实质破坏和肺泡丢失。近来，Ghosh 等[29]从吸烟者中选择有 COPD 和肺癌风险的受试者，经支气管活检获取气道 BCs，评估 BCs 计数、自我更新和多向分化潜能（分化为基底细胞、黏液和纤毛细胞的能力），并评价 BCs 计数与受试者肺功能的关系。结果发现与非 COPD 受试者相比，COPD 患者 BCs 计数、自我更新和分化能力均减低。可见，慢性肺脏疾病大多存在组织干细胞数量不足或功能缺陷等问题，当有害环境或生物因素侵犯时，呼吸上皮的生理稳态无法维持或快速恢复，进而引发相应的病理生理改变。

针对组织干细胞的相对缺失，可以考虑采取自体干细胞体外扩增和原位移植的方式进行补偿，进而促进受损结构修复，如多个课题组相继开展的自体气道上皮干细胞原位移植治疗 COPD、ILD 或支气管扩张的临床研究。但自体干细胞的体外培养经常面临扩增能力低下或再生能力不足等问题，限制其临床推广。替代的方法则是借助胚胎干细胞或诱导性多能干细胞获得不同类型的组织干细胞。

细胞、组织或器官移植往往是不可逆器官衰竭的最后的治疗举措。内源性组织再生或将成为充满吸引力的治疗领域[30]。与器官移植相比，内源性再生的侵入性较小且具更佳的成本效益。近期可以预见的是当我们掌握成体干细胞可塑性及其微环境的构成时，利用成体干细胞实现受损组织内源性修复将有助于受损器官功能的原位维持或机能恢复。

参 考 文 献

[1] SCHILLER H B, MONTORO D T, SIMON L M, et al. The human lung cell atlas: a high-resolution reference map of the human lung in health and disease[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2019, 61(1): 31-41.

[2] WHITSETT J A, KALIN T V, XU Y, et al. Building and regenerating the lung cell by cell[J]. Physiol Rev, 2019, 99(1): 513-554.

[3] BASIL M C, KATZEN J, ENGLER A E, 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] ROCK J R, ONAITIS M W, RAWLINS E L, et al. Basal cells as stem cells of the mouse trachea and human airway epithelium[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(31): 12771-12775.

[5] ROCK J R, GAO X, XUE Y,et al. Notch-dependent differentiation of adult airway basal stem cells[J]. Cell Stem Cell, 2011, 8(6): 639-648.

[6] YANG Y, RICCIO P, SCHOTSAERT M, et al. Spatial-temporal lineage restrictions of embryonic p63+ progenitors establish distinct stem cell pools in adult airways[J]. Dev Cell, 2018, 44(6): 752-761.e4.

[7] WATSON J K, RULANDS S, WILKINSON A C, et al. Clonal dynamics reveal two distinct populations of basal cells in slow-turnover airway epithelium[J]. Cell Rep, 2015, 12(1): 90-101.

[8] PARDO-SAGANTA A, LAW B M, TATA P R, et al. Injury induces direct lineage segregation of functionally distinct airway basal stem/progenitor cell subpopulations[J]. Cell Stem Cell, 2015, 16(2): 184-197.

[9] MONTORO D T, HABER A L, BITON M, et al. A revised airway epithelial hierarchy includes CFTR-expressing ionocytes[J]. Nature, 2018, 560(7718): 319-324.

[10] PLASSCHAERT L W, ŽILIONIS R, CHOO-WING R, et al. A single-cell atlas of the airway epithelium reveals the CFTR-rich pulmonary ionocyte[J]. Nature, 2018,

560(7718): 377-381.

[11] RANE C K, JACKSON S R, PASTORE C F, et al. Development of solitary chemosensory cells in the distal lung after severe influenza injury[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2019, 316(6): L1141-L1149.

[12] VAN KEYMEULEN A, BLANPAIN C. Tracing epithelial stem cells during development, homeostasis, and repair[J]. J Cell Biol, 2012, 197(5): 575-584.

[13] GUHA A, VASCONCELOS M, CAI Y, et al. Neuroepithelial body microenvironment is a niche for a distinct subset of Clara-like precursors in the developing airways[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109(31): 12592-12597.

[14] GUHA A, DESHPANDE A, JAIN A, et al. Uroplakin 3a+ cells are a distinctive population of epithelial progenitors that contribute to airway maintenance and post-injury repair[J]. Cell Rep, 2017, 19(2): 246-254.

[15] OUADAH Y, ROJAS E R, RIORDAN D P, et al. Rare pulmonary neuroendocrine cells are stem cells regulated by rb, p53, and notch[J]. Cell, 2019, 179(2): 403-416.

[16] TATA P R, MOU H, PARDO-SAGANTA A, et al. Dedifferentiation of committed epithelial cells into stem cells in vivo[J]. Nature, 2013, 503(7475): 218-223.

[17] LYNCH T J, ANDERSON P J, ROTTI P G, et al. Submucosal gland myoepithelial cells are reserve stem cells that can regenerate mouse tracheal epithelium[J]. Cell Stem Cell, 2018, 22(5): 653-667.e5.

[18] TATA A, KOBAYASHI Y, CHOW R D, et al. Myoepithelial cells of submucosal glands can function as reserve stem cells to regenerate airways after injury[J]. Cell Stem Cell, 2018, 22(5): 668-683.

[19] BARKAUSKAS C E, CRONCE M J, RACKLEY C R, et al. Type 2 alveolar cells are stem cells in adult lung[J]. J Clin Invest, 2013, 123(7): 3025-3036.

[20] NABHAN A N, BROWNFIELD D G, HARBURY P B, et al. Single-cell Wnt signaling niches maintain stemness of alveolar type 2 cells[J]. Science, 2018, 359(6380): 1118-1123.

[21] ZACHARIAS W J, FRANK D B, ZEPP J A, et al. Regeneration of the lung alveolus by an evolutionarily conserved epithelial progenitor[J]. Nature, 2018, 555(7695): 251-255.

[22] JAIN R, BARKAUSKAS C E, TAKEDA N, et al. Plasticity of hopx(+) type I alveolar cells to regenerate type Ⅱ cells in the lung[J]. Nat Commun, 2015, 6(1): 6727.

[23] BUTLER J P, LORING S H, PATZ S, et al. Evidence for adult lung growth in humans[J]. N Engl J Med, 2012, 367(3): 244-247.

[24] TAYLOR M S, CHIVUKULA R R, MYERS L C, et al. A conserved distal lung regenerative pathway in acute lung injury[J]. Am J Pathol, 2018, 188(5): 1149-1160.

[25] KUMAR P A, 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.

[26] ZUO W, ZHANG T, WU D Z, et al. p63(+)Krt5(+) distal airway stem cells are essential for lung regeneration[J]. Nature, 2015, 517(7536): 616-620.

[27] 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.

[28] VERLEDEN S E, TANABE N, MCDONOUGH J E, et al. Small airways pathology in idiopathic pulmonary fibrosis: a retrospective cohort study[J]. Lancet Respir Med, 2020, 8(6): 573-584.

[29] GHOSH M, MILLER Y E, NAKACHI I, et al. Exhaustion of airway basal progenitor cells in early and established chronic obstructive pulmonary disease[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2018, 197(7): 885-896.

[30] WELLS J M, WATT F M. Diverse mechanisms for endogenous regeneration and repair in mammalian organs[J]. Nature, 2018, 557(7705): 322-328.

[收稿日期] 2020-11-29