

综述

内源性骨髓间充质干细胞在肺纤维化中的研究进展

李小红¹, 罗自强^{2,*}

¹中南大学湘雅二医院病理科, 长沙 410011; ²中南大学基础医学院生理学系, 长沙 410013

摘要: 肺纤维化是多种病因引起的累及肺间质、肺泡、细支气管的肺部慢性、弥漫性、间质性肺疾病, 尚无有效的治疗药物。目前, 外源性骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BM-MSCs)移植作为一种新的干细胞疗法在治疗肺纤维化中的作用备受关注。目前对肺纤维化过程中内源性BM-MSCs功能状态的关注较少。本文在阐述BM-MSCs抗肺纤维化作用及其机制的基础上, 进一步讨论了肺纤维化动物骨髓功能的异常变化, 以及谷氨酸NMDA受体过度激活在肺纤维化所致内源性BM-MSCs功能抑制中的介导作用, 为寻找肺纤维化的有效治疗方法提供潜在思路。

关键词: 肺纤维化; 骨髓间充质干细胞; NMDA受体

中图分类号: R332

Research progress of endogenous bone marrow-derived mesenchymal stem cells in pulmonary fibrosis

LI Xiao-Hong¹, LUO Zi-Qiang^{2,*}

¹Department of Pathology, The Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China; ²Department of Physiology, School of Basic Medical Science, Central South University, Changsha 410013, China

Abstract: Pulmonary fibrosis is a chronic, diffuse, interstitial lung disease involving the pulmonary interstitium, alveoli, and bronchioles caused by various causes. There is no effective treatment. Currently, exogenous bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BM-MSCs) transplantation has attracted much attention as a new stem cell therapy in the treatment of pulmonary fibrosis. Less attention has been paid to the functional status of endogenous BM-MSCs during pulmonary fibrosis. Based on summary on the anti-pulmonary fibrosis effect of BM-MSCs and its mechanism, this review further discusses the abnormal changes of bone marrow function in animals with pulmonary fibrosis and the role of glutamate NMDA receptor overactivation in mediating the functional inhibition of endogenous BM-MSCs induced by pulmonary fibrosis. This will provide potential ideas for finding effective treatments for pulmonary fibrosis.

Key words: pulmonary fibrosis; bone marrow-derived mesenchymal stem cells; NMDA receptor

肺纤维化是以成纤维细胞异常增殖和细胞外基质大量沉积并伴有弥漫性炎症、肺组织结构破坏为特征的一大类肺疾病的终末期改变。在疾病过程中, 正常的肺泡结构被严重破坏, 经过异常修复, 最终导致肺组织结构重塑。目前, 肺纤维化的发病率和死亡率逐渐升高, 患病人群也更加年轻化, 但

无行之有效的药物来预防该疾病的发生和发展。近年来, 外源性骨髓间充质干细胞 (bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BM-MSCs) 的异体移植作为一种新型的干细胞治疗方法, 在治疗肺纤维化中的作用已被广泛研究, 并应用于临床试验中^[1]。一直以来, 研究人员主要关注外源性 BM-MSCs 移

Received 2019-12-11 Accepted 2020-03-20

Research from the corresponding author's laboratory was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (No. 81870059, 81900070, 81570065, 81270121) and the Natural Science Foundation of Hunan Province, China (No. 2020JJ5813).

*Corresponding author. Tel: +86-731-82355051; Fax: +86-731-82355056; E-mail: luoziqiang@csu.edu.cn

植在肺纤维化治疗中的作用及其机制, 而有关肺纤维化过程中内源性 BM-MSCs 功能状态的研究甚少。研究报道, 内源性 BM-MSCs 可迁移到损伤部位, 从而促进骨折愈合^[2], 表明内源性 BM-MSCs 在组织细胞的损伤修复过程中同样具有重要意义。本文在阐述 BM-MSCs 抗肺纤维化作用及其机制的基础上, 进一步讨论了肺纤维化动物骨髓功能的异常变化, 以及谷氨酸 NMDA 受体过度激活在肺纤维化所致内源性 BM-MSCs 功能抑制中的介导作用, 为寻找肺纤维化的有效治疗方法提供潜在思路。

1 肺纤维化概述

肺纤维化严重影响人体的呼吸功能, 表现为干咳、进行性呼吸困难, 且随着病情和肺部损伤的加重, 呼吸功能不断恶化。绝大部分肺纤维化患者病因不明, 这组疾病称为特发性间质性肺炎 (idiopathic interstitial pneumonia, IIP), 是间质性肺病中一大类, 而 IIP 中最常见的以肺纤维化病变为主要表现形式的疾病是特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)^[3]。患者的健康肺组织被大量的细胞外基质取代, 导致肺顺应性下降, 气体交换中断, 最终导致患者呼吸衰竭和死亡。

肺泡上皮细胞 (alveolar epithelial cells, AECs) 尤其是 II 型 AECs 的慢性持续性损伤一直被认为是肺纤维化发生和发展的始动环节^[4]。活化的 AECs 分泌多种细胞因子和炎症介质, 如转化生长因子- β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1), 诱发异常的上皮-间质相互作用, 从而募集、活化成纤维细胞 (fibroblasts)^[5]。肺内成纤维细胞在 TGF- β 1 的作用下大量增殖和分化为肌成纤维细胞 (myofibroblasts)。肌成纤维细胞具有高度的增殖、收缩和合成能力, 大量表达间质蛋白, 如 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA) 和波形蛋白 (Vimentin), 是产生细胞外基质的主要效应细胞, 最终导致肺间质胶原沉积、肺泡结构破坏^[6]。在 TGF- β 1 的作用下, AECs 亦可发生上皮-间质转化 (epithelial-to-mesenchymal transition, EMT), 使上皮标志物 E-钙黏蛋白 (E-cadherin)、角蛋白 (Keratin) 等的表达持续降低, 而间质标志物 N-钙黏蛋白 (N-cadherin)、Vimentin、 α -SMA、纤维连结蛋白 (fibronectin) 等的表达不断增加^[7]。(肌)成纤维细胞病灶的形成是 IPF 重要的病理形态学特征, 其病变程度与患者的预后密切相关^[8]。因此, 肺内固有

成纤维细胞的增殖和分化以及 AECs 发生 EMT 是肺纤维化病灶中成纤维细胞的主要来源。

2 骨髓来源的细胞在肺纤维化中的作用

2.1 骨髓产生的纤维细胞是肺内成纤维细胞的来源之一

肺纤维化病灶中的成纤维细胞亦可来源于循环中的纤维细胞。外周血循环中的纤维细胞具有造血细胞的特异性标志 (如 CD45、CD34、CXCR4) 和间质细胞特异性标志 (如 collagen-I、collagen-III、fibronectin), 约占外周血白细胞总数的 0.5%^[9]。在肺纤维化过程中, 骨髓来源的纤维细胞可在肺内表达增高的趋化因子 (如 CXCL12) 的作用下募集归巢到肺组织的损伤部位, 并对纤维化病灶的形成发挥重要作用。临床资料显示, IPF 患者的外周血、支气管肺泡灌洗液和肺组织中纤维细胞增多, 而且与患者预后不良相关^[10]。动物实验也显示, 气管内注射博来霉素后第 2 天, 肺内纤维细胞开始增加, 第 8 天达到高峰, 直至第 20 天仍然明显高于对照组^[11]。骨髓产生的纤维细胞在肺内可分化为成纤维细胞, 约占肺内成纤维细胞的 20%^[12], 是肺纤维化病灶中成纤维细胞的来源之一。

2.2 BM-MSCs 具有抗肺纤维化的作用

骨髓不仅产生具有促肺纤维化作用的纤维细胞, 也可产生具有抗肺纤维化作用的间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs)。骨髓来源的 MSCs 被称为 BM-MSCs。1968 年 Friedenstein 等首次发现 BM-MSCs, 他们发现骨髓中的 MSCs 是一类具有自我增殖和多向分化潜能的多能干细胞^[13]。MSCs 还可来源于其它类型的组织, 例如脂肪组织和脐带血, 而 BM-MSCs 是干细胞治疗中重要的研究对象^[14]。分离、培养的 MSCs 必须具备三个标准^[15]: (1) 当培养于标准的组织细胞培养条件时, 呈贴壁生长, 具有成纤维细胞样的形态和克隆增生形成能力; (2) 在体外可分化为脂肪细胞、成骨细胞和软骨细胞; (3) 表达某些细胞表面标志分子, 如 CD29、CD73、CD90、CD105 等, 而不表达 CD45、CD34、CD14、CD11b、CD79a、CD19 和 HLA-DR 等表面标志分子。MSCs 缺乏免疫原性, 可在体外进行异体移植, 具有免疫调节和组织修复功能, 被广泛应用于多种疾病的基础研究和治疗。骨髓中的 MSCs 含量虽低, 仅占骨髓有核细胞总数的 0.001%~0.01%, 但移植前常可进行体外扩增, 再输入动物体内^[16]。

2003年, Ortiz等首次报道, 在气道内给予博来霉素造模后立即静脉输注小鼠BM-MSCs可显著减轻肺纤维化程度^[17]。随后, 外源性BM-MSCs移植在不同的肺纤维化模型中的保护作用均得到验证。MSCs已被批准试用于包括急性肺损伤(acute lung injury, ALI)、IPF、慢性阻塞性肺疾病、支气管肺泡发育不良等在内的多种肺部疾病的I期临床试验的细胞治疗^[18]。

在部分临床试验中, 外源性BM-MSCs移植已经获得了预期的效果, 并且在肺损伤动物模型中没有观察到移植相关的不良反应。然而, 由于动物和人之间的差异以及临床试验的样本量有限, 外源性BM-MSCs移植对于人类的安全性和有效性仍然受到质疑。同时, 在临床试验患者中观察到了与移植相关的不良反应。在一项临床研究中, 外源性BM-MSCs移植用于治疗成骨不全的患者, 在接受移植的6例重度成骨不全患儿中, 有1例患儿出现了临床意义上的细胞毒性^[19]。外源性BM-MSCs移植也可能由于免疫系统减弱和血管新生增强而引发其它的风险, 如发生肿瘤^[20]。

然而, 研究人员亦发现BM-MSCs可分化为具有促纤维化作用的成纤维细胞。在HCl诱导的肺损伤模型中, 经典Wnt/ β -catenin信号通路的激活可诱导BM-MSCs分化为成纤维细胞, MSCs移植并不能改善肺损伤和纤维化病变^[21]。在放射诱导的肺纤维化模型中, 在纤维化期进行移植的BM-MSCs可分化为成纤维细胞样的表型并加重纤维化病变^[22]。也有文献报道, BM-MSCs可诱导形成 α -SMA阳性的肌成纤维细胞^[23], 且来源于博来霉素肺纤维化小鼠的BM-MSCs在体外也更易分化为成纤维细胞^[24]。

2.3 BM-MSCs抗肺纤维化作用的机制

外源性BM-MSCs移植作为一种重要的干细胞疗法已经成为肺纤维化治疗中的热门话题, 与此同时, 有关BM-MSCs抗肺纤维化作用的机制研究也备受研究者的关注。目前的研究认为, BM-MSCs抗肺纤维化的作用机制主要表现为其归巢、分化和旁分泌功能。

2.3.1 归巢和分化功能

文献报道, BM-MSCs可归巢至受损的肺组织, 表现出上皮样的细胞表型, 并能减轻博来霉素肺纤维化动物模型的炎症反应和纤维化病变^[17]。Akram等人发现在3D直接接触损伤修复模型中, 当AECs损伤时, BM-MSCs显示出很强的迁移能力^[25]。趋

化因子信号轴SDF-1/CXCR4在介导BM-MSCs的迁移和归巢中发挥着重要作用^[26]。在体内、外实验中, 迁移或归巢到受损的肺上皮细胞或肺组织后, BM-MSCs可在Wnt信号途径的作用下分化为II型AECs并参与AECs的更新^[27, 28]。

2.3.2 旁分泌功能

虽然BM-MSCs可归巢到损伤的肺组织并具有分化潜能, 但这些作用并不明确。有研究者认为MSCs抗肺纤维化的机制主要取决于其旁分泌效应。BM-MSCs的条件培养基(conditioned medium, CM)在体内可对抗博来霉素诱导的肺损伤和肺纤维化, 发挥保护作用, 在体外可减轻博来霉素诱导的A549细胞(人非小细胞肺癌上皮细胞)凋亡^[29]。大量研究显示, BM-MSCs可分泌多种生物活性因子(图1): (1) 抑炎因子, 如肿瘤坏死因子诱导蛋白6(tumor necrosis factor-stimulated gene 6 protein, TSG-6)、前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)、白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)、白细胞介素-1受体拮抗剂(interleukin-1 receptor antagonist, IL-1ra)、可溶性肿瘤坏死因子受体-1(soluble TNF receptor-1, sTNFR1)等, 从而抑制炎症反应; (2) 生长因子和抗菌肽, 如促血管生成素-1(angiopoietin-1, Ang-1)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、角质形成细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等, 从而改善内皮或上皮细胞对损伤的应答; (3) 高浓度一氧化氮(nitric oxide, NO)和吲哚胺-2,3-双加氧酶(indoleamine-2,3-dioxygenase, IDO), 使周围的免疫细胞聚集, 从而抑制T细胞增殖, 调节免疫反应^[30]。

值得注意的是, BM-MSCs也可分泌促纤维化因子TGF- β , 这似乎与BM-MSCs的抗肺纤维化作用相矛盾。然而, 有文献报道, 从正常人体分离的BM-MSCs上清液中存在高水平的TGF- β 1, 而且相比分泌低水平TGF- β 1的脐带MSCs, 其降低死亡率、减轻炎症和肺纤维化的治疗效果更好^[31]。这项研究显示, BM-MSCs分泌的高水平TGF- β 1可激活IL-6/STAT3信号通路, 从而促进调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)的增殖和抗纤维化因子干扰素- γ 诱导蛋白10(IFN- γ -inducible protein-10, IP-10)的产生, 表明BM-MSCs分泌的TGF- β 1具有重要的免疫稳态调节功能。

近年来, BM-MSCs旁分泌包括外泌体(exosome)

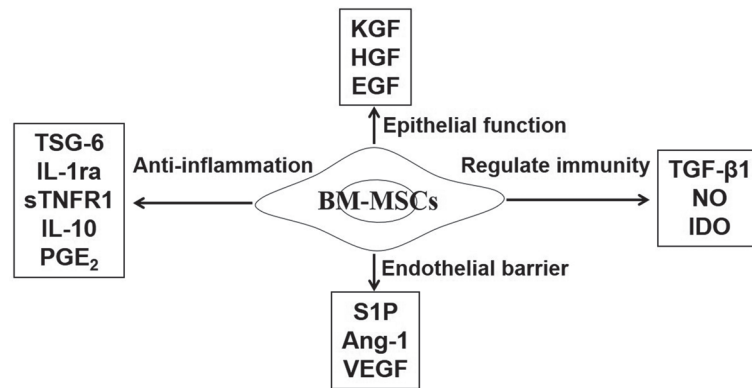


图 1. 骨髓间充质干细胞的旁分泌因子及功能

Fig. 1. Paracrine factors and functions of BM-MSCs. BM-MSCs can produce various growth factors (KGF, HGF, and EGF) to protect epithelial function and enhance endothelial barrier via S1P, Ang-1, and VEGF. Moreover, BM-MSCs can secrete anti-inflammatory factors, such as TSG-6, IL-1ra, and sTNFR1, and achieve immunomodulating function through some cytokines (TGF-β1, NO, and IDO). BM-MSCs: bone marrow-derived mesenchymal stem cells; KGF: keratinocyte growth factor; HGF: hepatocyte growth factor; EGF: epidermal growth factor; TGF-β1: transforming growth factor-β1; NO: nitric oxide; IDO: indoleamine-2,3-dioxygenase; S1P: sphingosine-1-phosphate; Ang-1: angiopoietin-1; VEGF: vascular endothelial growth factor; TSG-6: tumor necrosis factor-stimulated gene 6 protein; IL-1ra: interleukin-1 receptor antagonist; sTNFR1: soluble TNF receptor-1; IL-10: interleukin-10; PGE₂: prostaglandin E₂. This figure was adapted from Li *et al.* [30].

在内的细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 应用于肺部疾病治疗的研究也日益受到重视, 因为 EVs 可维持干细胞的功能表型, 又可避免干细胞治疗带来的医源性肿瘤形成的风险 [32]。研究显示, BM-MSCs 旁分泌的 EVs 可应用于 ALI 和其它炎症性肺疾病治疗, 从 BM-MSCs 条件培养基中分离的 EVs 可降低肺泡灌洗液中的总细胞计数和肺泡巨噬细胞比率, 并减轻肺部炎症和纤维化 [33]。因此, BM-MSCs 的旁分泌效应与受损肺内细胞直接或间接的相互作用成为 BM-MSCs 促进肺组织损伤修复的重要机制。

3 肺纤维化动物模型的骨髓功能状态异常变化

有研究显示, 气道内给予博来霉素造模后骨髓粒系和红系造血增生 (主要是粒细胞系), 纤维细胞增加, 而 BM-MSCs 减少 [34], 这表明在博来霉素肺纤维化的发生中骨髓的功能状态发生了异常变化, 但其变化的机制和生物学意义尚不清楚。目前有关骨髓起源的纤维细胞研究多集中在纤维细胞与肺纤维化发生的关系及其促纤维化的机制。对 BM-MSCs 与肺纤维化关系的研究主要集中在采用外源性 BM-MSCs 治疗肺纤维化及相关机制研究, 而对肺纤维化发生过程中产生纤维细胞和 BM-MSCs 的自身骨髓功能有何变化及变化的机制和意义研究甚少。

Silva 等报道, 来自 ALI 供体小鼠的骨髓细胞对受体小鼠实验性 ALI 的保护作用显著降低 [35]。Rojas 等报道, 在经气道滴注博来霉素复制肺纤维化小鼠模型前给予白消安抑制骨髓, 其肺纤维化加重, 即使进行外源性 BM-MSCs 移植, 虽能减轻肺纤维化, 但肺纤维化程度仍高于骨髓功能正常组 [36]。此外, 移植前采用抗氧化剂 *N*-乙酰半胱氨酸预处理胚胎 MSCs, 可显著增强胚胎 MSCs 的抗博来霉素所致肺纤维化能力 [37]。将抑瘤素 -M 体外预处理的 BM-MSCs 移植到博来霉素诱导的肺纤维化小鼠中, 可显著改善肺呼吸功能并下调肺组织中炎症因子和纤维化因子的表达 [38]。以上研究均提示, 正常的自身骨髓功能状态或设法改善 BM-MSCs 的功能状态有利于减轻博来霉素所致肺纤维化的程度。Gansner 等报道了一例家族性 IPF 患者存在骨髓衰竭, 表现为骨髓中度低细胞 (30% 细胞) [39]。因此, 肺纤维化时 BM-MSCs 的减少和功能障碍将导致机体自身抗纤维化保护作用的削弱, 是促进肺纤维化发展的重要因素, 而来自骨髓的自身内源性 BM-MSCs 的动员和活化可能是机体自身抗肺纤维化的重要生理性保护机制。但肺纤维化患者的骨髓功能有何变化目前仅见个案报道 [39]。

近年来, 骨髓中内源性干细胞动员应用于损伤组织修复的研究越来越受到人们的关注。骨髓作为

各种干细胞群体的储存库,当机体受到刺激后,骨髓中的干细胞会不同程度地被动员到外周血循环中。来自骨髓的内源性BM-MSCs也可以被动员从循环系统进入受损组织中,进而参与损伤组织的修复和再生^[40]。粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony stimulating factor, G-CSF)以促进内源性干细胞动员的能力而闻名。文献报道, G-CSF可动员内源性BM-MSCs到外周血中并归巢到损伤的脑组织中^[41]。G-CSF可通过SDF-1/CXCR4趋化信号轴动员BM-MSCs渗透至阿尔茨海默病小鼠大脑中,并补充神经谱系细胞^[42]。内源性BM-MSCs在趋化因子CXCL12/SDF-1的作用下迁移至损伤部位并改善药物诱导的视网膜变性后的视觉功能^[43]。因此,内源性BM-MSCs的动员可成为防治肺纤维化的重要途径。

4 谷氨酸*N*-甲基-*D*-天冬氨酸(*N*-methyl-*D*-aspartate, NMDA)受体的激活是引起肺纤维化骨髓功能变化的重要机制

4.1 谷氨酸是一种新的内源性肺损伤因子

谷氨酸是中枢神经系统中重要的兴奋性神经递质,但谷氨酸的大量释放过度激活其受体时具有兴奋性神经毒性,在多种急性慢性脑损伤的发生和发展中起重要的作用。NMDA受体是谷氨酸受体家族中的重要亚型,因其被NMDA特异性激活而得名。NMDA受体为化学门控性离子通道,对Ca²⁺有较高的通透性,在介导谷氨酸的兴奋性神经毒性的发生中起重要作用。细胞外高浓度的谷氨酸及其NMDA受体的异常激活参与多种疾病的发生和发展^[44]。据报道,肺组织同样存在NMDA受体的表达,高浓度的NMDA可引起离体大鼠肺组织损伤,这种损伤可被NMDA受体拮抗剂MK-801消除^[45,46]。本课题组研究显示,腹腔注射外源性谷氨酸可引起小鼠发生肺损伤^[47];在高氧或博来霉素诱导的肺损伤过程中,肺组织中存在大量内源性谷氨酸的释放^[48,49];NMDA受体阻断剂MK-801或美金刚胺可明显减轻高氧^[50]、博来霉素^[48]和内毒素^[51]所引起的ALI。以上研究均表明内源性谷氨酸的释放通过激活NMDA受体参与肺损伤的发生和发展,是一种新的内源性肺损伤因子。

4.2 NMDA受体的激活是引起内源性BM-MSCs功能抑制的重要机制

本课题组进一步研究显示,博来霉素诱导的肺纤维化过程中骨髓细胞释放大量内源性谷氨酸,且

与胱氨酸/谷氨酸转运体(系统x_c⁻)的表达上调相关。BM-MSCs也存在NMDA受体的功能表达,且移植NMDA预处理的BM-MSCs的抗博来霉素所致肺纤维化的作用减弱^[52]。本课题组新近的研究显示,BM-MSCs可减轻博来霉素引起的AECs损伤,而NMDA预处理可部分消除BM-MSCs的作用,这与NMDA通过抑制ERK信号通路降低BM-MSCs旁分泌因子HGF相关^[53]。若将G-CSF预处理的BM-MSCs移植至博来霉素所致肺纤维化小鼠体内,BM-MSCs归巢至肺组织的数量增加,且BM-MSCs抗肺纤维化的作用增强^[54]。以上研究表明NMDA受体的激活或G-CSF可分别抑制或促进BM-MSCs抗肺纤维化的保护作用。此外,在宫内缺氧引起的支气管肺发育不良的动物模型中,新生大鼠的骨髓中谷氨酸浓度升高,肺和骨髓中的MSCs不但数量减少,而且细胞增殖和周期活性均降低^[55]。以上研究表明,BM-MSCs也是谷氨酸调节的靶细胞,博来霉素诱导肺纤维化时,骨髓中内源性谷氨酸的大量释放导致NMDA受体过度激活,从而减弱内源性BM-MSCs的抗肺纤维化作用。因此,NMDA受体可能成为防治肺纤维化的新靶点。

5 结论与展望

综上所述,BM-MSCs可有效减轻博来霉素诱导的肺纤维化,其机制与BM-MSCs的归巢、分化和旁分泌等功能有关,而内源性BM-MSCs功能的异常可能是肺纤维化发生和发展的肺外机制。由于移植率低和不良反应等因素,外源性BM-MSCs移植应用于人类的安全性和有效性仍然受到质疑。因此,进一步研究如何动员和改善内源性BM-MSCs的功能将为肺纤维化防治研究提供新的思路。本课题组的研究表明NMDA受体过度激活是降低内源性BM-MSCs抗肺纤维化作用的重要机制,提示NMDA受体可能成为肺纤维化治疗的潜在靶点。

参考文献

- 1 Glassberg MK, Minkiewicz J, Toonkel RL, Simonet ES, Rubio GA, DiFede D, Shafazand S, Khan A, Pujol MV, LaRussa VF, Lancaster LH, Rosen GD, Fishman J, Mageto YN, Mendizabal A, Hare JM. Allogeneic human mesenchymal stem cells in patients with idiopathic pulmonary fibrosis via intravenous delivery (AETHER): A phase I safety clinical trial. *Chest* 2017; 151(5): 971-981.
- 2 Park D, Spencer JA, Koh BI, Kobayashi T, Fujisaki J, Clemens

- TL, Lin CP, Kronenberg HM, Scadden DT. Endogenous bone marrow MSCs are dynamic, fate-restricted participants in bone maintenance and regeneration. *Cell Stem Cell* 2012; 10(3): 259–272.
- 3 Richeldi L, Collard HR, Jones MG. Idiopathic pulmonary fibrosis. *Lancet* 2017; 389(10082): 1941–1952.
 - 4 Loomis-King H, Flaherty KR, Moore BB. Pathogenesis, current treatments and future directions for idiopathic pulmonary fibrosis. *Curr Opin Pharmacol* 2013; 13(3): 377–385.
 - 5 Marmai C, Sutherland RE, Kim KK, Dolganov GM, Fang X, Kim SS, Jiang S, Golden JA, Hoopes CW, Matthay MA, Chapman HA, Wolters PJ. Alveolar epithelial cells express mesenchymal proteins in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2011; 301(1): L71–L78.
 - 6 Liu YM, Nepali K, Liou JP. Idiopathic pulmonary fibrosis: current status, recent progress, and emerging targets. *J Med Chem* 2017; 60(2): 527–553.
 - 7 Kim KK, Kugler MC, Wolters PJ, Robillard L, Galvez MG, Brumwell AN, Sheppard D, Chapman HA. Alveolar epithelial cell mesenchymal transition develops *in vivo* during pulmonary fibrosis and is regulated by the extracellular matrix. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(35): 13180–13185.
 - 8 Hung C, Linn G, Chow YH, Kobayashi A, Mittelsteadt K, Altemeier WA, Gharib SA, Schnapp LM, Duffield JS. Role of lung pericytes and resident fibroblasts in the pathogenesis of pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2013; 188(7): 820–830.
 - 9 Herzog E L, Bucala R. Fibrocytes in health and disease. *Exp Hematol* 2010; 38(7): 548–556.
 - 10 Borie R, Quesnel C, Phin S, Debray MP, Marchalsomme J, Tiev K, Bonay M, Fabre A, Soler P, Dehoux M. Detection of alveolar fibrocytes in idiopathic pulmonary fibrosis and systemic sclerosis. *PLoS One* 2013; 8(1): e53736.
 - 11 Phillips RJ, Burdick MD, Hong K, Lutz MA, Murray LA, Xue YY, Belperio JA, Keane MP, Strieter RM. Circulating fibrocytes traffic to the lungs in response to CXCL12 and mediate fibrosis. *J Clin Invest* 2004; 114(3): 438–446.
 - 12 Maharaj S, Shimbori C, Kolb M. Fibrocytes in pulmonary fibrosis: a brief synopsis. *Eur Respir Rev* 2013; 22(130): 552–557.
 - 13 Friedenstein AJ, Petrakova KV, Kurolesova AI, Frolova GP. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues. *Transplantation* 1968; 6(2): 230–247.
 - 14 Chamberlain G, Fox J, Ashton B, Middleton J. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. *Stem Cells* 2007; 25(11): 2739–2749.
 - 15 Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, Deans R, Keating A, Prockop D, Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006; 8(4): 315–317.
 - 16 Bernardo ME, Cometa AM, Pagliara D, Vinti L, Rossi F, Crisantielli R, Palumbo G, Locatelli F. *Ex vivo* expansion of mesenchymal stromal cells. *Best Pract Res Clin Haematol* 2011; 24(1): 73–81.
 - 17 Ortiz LA, Gambelli F, McBride C, Gaupp D, Baddoo M, Kaminski N, Phinney DG. Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(14): 8407–8411.
 - 18 Antunes MA, Laffey JG, Pelosi P, Rocco PR. Mesenchymal stem cell trials for pulmonary diseases. *J Cell Biochem* 2014; 115(6): 1023–1032.
 - 19 Horwitz EM, Gordon PL, Koo WK, Marx JC, Neel MD, Mcnall RY, Muul L, Hofmann T. Isolated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal cells engraft and stimulate growth in children with osteogenesis imperfecta: Implications for cell therapy of bone. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99(13): 8932–8937.
 - 20 Sherman L S, Shaker M, Mariotti V, Rameshwar P. Mesenchymal stromal/stem cells in drug therapy: New perspective. *Cytotherapy* 2017; 19(1): 19.
 - 21 Sun Z, Yang Z, Nie S. Inhibition of Wnt/ β -catenin signaling promotes engraftment of mesenchymal stem cells to repair lung injury. *J Cell Physiol* 2014; 229(2): 213–224.
 - 22 Mora AL, Rojas M. Aging and lung injury repair: A role for bone marrow derived mesenchymal stem cells. *J Cell Biochem* 2008; 105(3): 641–647.
 - 23 Tang N, Zhao Y, Feng R, Liu Y, Wang S, Wei W, Ding Q, An MS, Wen J, Li L. Lysophosphatidic acid accelerates lung fibrosis by inducing differentiation of mesenchymal stem cells into myofibroblasts. *J Cell Mol Med* 2014; 18(1): 156–169.
 - 24 Skurikhin EG, Khmelevskaya ES, Pershina OV, Ermakova NN, Krupin VA, Reztsova AM, Ermolaeva LA, Yakushina VD, Stepanova IE, Reztsova VM. Differentiation of mesenchymal multipotent stromal cells of the lungs in pneumofibrosis. *Bull Exp Biol Med* 2013; 154(4): 537–543.
 - 25 Akram KM, Samad S, Spiteri MA, Forsyth NR. Mesenchymal stem cells promote alveolar epithelial cell wound repair *in vitro* through distinct migratory and paracrine mechanisms. *Respir Res* 2013; 14: 9.
 - 26 Marquez-Curtis LA, Janowska-Wieczorek A. Enhancing the

- migration ability of mesenchymal stromal cells by targeting the SDF-1/CXCR4 axis. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 561098.
- 27 Liu AR, Liu L, Chen S, Yang Y, Zhao HJ, Liu L, Guo FM, Lu XM, Qiu HB. Activation of canonical wnt pathway promotes differentiation of mouse bone marrow-derived MSCs into type II alveolar epithelial cells, confers resistance to oxidative stress, and promotes their migration to injured lung tissue *in vitro*. *J Cell Physiol* 2013; 228(6): 1270–1283.
- 28 Cai SX, Liu AR, Chen S, He HL, Chen QH, Xu JY, Pan C, Yang Y, Guo FM, Huang YZ, Liu L, Qiu HB. Activation of Wnt/beta-catenin signalling promotes mesenchymal stem cells to repair injured alveolar epithelium induced by lipopolysaccharide in mice. *Stem Cell Res Ther* 2015; 6: 65.
- 29 Shen Q, Chen B, Xiao Z, Zhao L, Xu X, Wan X, Jin M, Dai J, Dai H. Paracrine factors from mesenchymal stem cells attenuate epithelial injury and lung fibrosis. *Mol Med Rep* 2015; 11(4): 2831–2837.
- 30 Li X, Yue S, Luo Z. Mesenchymal stem cells in idiopathic pulmonary fibrosis. *Oncotarget* 2017; 8(60): 102600–102616.
- 31 Liu M, Zeng X, Wang J, Fu Z, Wang J, Liu M, Ren D, Yu B, Zheng L, Hu X, Shi W, Xu J. Immunomodulation by mesenchymal stem cells in treating human autoimmune disease-associated lung fibrosis. *Stem Cell Res Ther* 2016; 7(1): 63.
- 32 Fujita Y, Kadota T, Araya J, Ochiya T, Kuwano K. Clinical application of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicle-based therapeutics for inflammatory lung diseases. *J Clin Med* 2018; 7(10): 355.
- 33 Monsel A, Zhu Y, Gudapati V, Lim H, Lee JW. Mesenchymal stem cell derived secretome and extracellular vesicles for acute lung injury and other inflammatory lung diseases. *Expert Opin Biol Ther* 2016; 16(7): 859–871.
- 34 Dygai AM, Skurikhin EG, Andreeva TV, Ermolaeva LA, Khmelevskaya ES, Pershina OV, Krupin VA, Reztsova AM, Stepanova IE, Goldberg VE. Reactions of the blood system and stem cells in bleomycin-induced model of lung fibrosis. *Bull Exp Biol Med* 2011; 152(2): 173–176.
- 35 Silva JD, Paredes BD, Araujo IM, Lopes-Pacheco M, Oliveira MV, Suhett GD, Faccioli LA, Assis E, Castro-Faria-Neto HC, Goldenberg RC, Capelozzi VL, Morales MM, Pelosi P, Xisto DG, Rocco PR. Effects of bone marrow-derived mononuclear cells from healthy or acute respiratory distress syndrome donors on recipient lung-injured mice. *Crit Care Med* 2014; 42(7): e510–e524.
- 36 Rojas M, Xu J, Woods CR, Mora AL, Spears W, Roman J, Brigham KL. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in repair of the injured lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005; 33(2): 145–152.
- 37 Wang Q, Zhu H, Zhou WG, Guo XC, Wu MJ, Xu ZY, Jiang JF, Shen C, Liu HQ. N-acetylcysteine-pretreated human embryonic mesenchymal stem cell administration protects against bleomycin-induced lung injury. *Am J Med Sci* 2013; 346(2): 113–122.
- 38 Lan YW, Theng SM, Huang TT, Choo KB, Chen CM, Kuo HP, Chong KY. Oncostatin M-preconditioned mesenchymal stem cells alleviate bleomycin-induced pulmonary fibrosis through paracrine effects of the hepatocyte growth factor. *Stem Cells Transl Med* 2017; 6(3): 1006–1017.
- 39 Gansner JM, Rosas IO, Ebert BL. Pulmonary fibrosis, bone marrow failure, and telomerase mutation. *N Engl J Med* 2012; 366(16): 1551–1553.
- 40 Frenette PS, Pinho S, Lucas D, Scheiermann C. Mesenchymal stem cell: keystone of the hematopoietic stem cell niche and a stepping-stone for regenerative medicine. *Annu Rev Immunol* 2013; 31: 285–316.
- 41 Deng J, Zou ZM, Zhou TL, Su YP, Ai GP, Wang JP, Xu H, Dong SW. Bone marrow mesenchymal stem cells can be mobilized into peripheral blood by G-CSF *in vivo* and integrate into traumatically injured cerebral tissue. *Neurosci* 2011; 32(4): 641–651.
- 42 Wu CC, Wang IF, Chiang PM, Wang LC, Shen CKJ, Tsai KJ. G-CSF-mobilized bone marrow mesenchymal stem cells replenish neural lineages in Alzheimer's disease mice via CXCR4/SDF-1 chemotaxis. *Mol Neurobiol* 2016; 54(8): 1–15.
- 43 Enzmann V, Lecaude S, Kruschinski A, Vater A. CXCL12/SDF-1-dependent retinal migration of endogenous bone marrow-derived stem cells improves visual function after pharmacologically induced retinal degeneration. *Stem Cell Rev Rep* 2017; 13(2): 278–286.
- 44 Paoletti P, Bellone C, Zhou Q. NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nat Rev Neurosci* 2013; 14(6): 383–400.
- 45 Said S I, Berisha HI, Pakbaz H. Excitotoxicity in the lung: N-methyl-D-aspartate-induced, nitric oxide-dependent, pulmonary edema is attenuated by vasoactive intestinal peptide and by inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93(10): 4688–4692.
- 46 Said SI, Dickman K, Dey RD, Bandyopadhyay A, De Stefanis P, Raza S, Pakbaz H, Berisha HI. Glutamate toxicity in the lung and neuronal cells: prevention or attenuation by VIP and PACAP. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 865: 226–237.
- 47 Shen L, Han JZ, Li C, Yue SJ, Liu Y, Qin XQ, Liu HJ, Luo ZQ. Protective effect of ginsenoside Rg1 on glutamate-induced lung injury. *Acta Pharmacol Sin* 2007; 28(3): 392–397.
- 48 Li Y, Liu Y, Peng X, Liu W, Zhao F, Feng D, Han J, Huang Y,

- Luo S, Li L, Yue SJ, Cheng Q, Huang X, Luo Z. NMDA receptor antagonist attenuates bleomycin-induced acute lung injury. *PLoS One* 2015; 10(5): e125873.
- 49 Tang F, Yue S, Luo Z, Feng D, Wang M, Qian C, Zhen X, Duan Y. Role of N-methyl-D-aspartate receptor in hyperoxia-induced lung injury. *Pediatr Pulmonol* 2005; 40(5): 437–444.
- 50 Wang M, Luo Z, Liu S, Li L, Deng X, Huang F, Shang L, Jian C, Yue S. Glutamate mediates hyperoxia-induced newborn rat lung injury through N-methyl-D-aspartate receptors. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2009; 40(3): 260–267.
- 51 Ma L (马玲), Liu W, Feng DD, Han JZ, Li Y, Cheng QM, Yue SJ, Luo ZQ. Protective effect of NMDA receptor antagonist memantine on acute lung injury in mice. *J Cent South Univ (Med Sci)* (中南大学学报医学版) 2014; 39(1): 12–16 (in Chinese with English abstract).
- 52 Li X, Li C, Tang Y, Huang Y, Cheng Q, Huang X, Zhao F, Hao C, Feng D, Xu J, Han J, Tang S, Liu W, Yue S, Luo Z. NMDA receptor activation inhibits the antifibrotic effect of BM-MSCs on bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2018; 315(3): L404–L421.
- 53 Peng X, Li X, Li C, Yue S, Huang Y, Huang P, Cheng H, Zhou Y, Tang Y, Liu W, Feng D, Luo Z. NMDA receptor activation inhibits the protective effect of BM-MSCs on bleomycin induced lung epithelial cell damage by inhibiting ERK signaling and the paracrine factor HGF. *Int J Mol Med* 2019; 44(1): 227–239.
- 54 Zhao F, Liu W, Yue S, Yang L, Hua Q, Zhou Y, Cheng H, Luo Z, Tang S. Pretreatment with G-CSF could enhance the antifibrotic effect of BM-MSCs on pulmonary fibrosis. *Stem Cells Int* 2019; 2019: 1726743.
- 55 Yue Y, Luo Z, Liao Z, Zhang L, Liu S, Wang M, Zhao F, Cao C, Ding Y, Yue S. Excessive activation of NMDA receptor inhibits the protective effect of endogenous bone marrow mesenchymal stem cells on promoting alveolarization in bronchopulmonary dysplasia. *Am J Physiol Cell Physiol* 2019; 316(6): C815–C827.