

肺动脉高压的干细胞治疗研究进展

张 鼎, 杨 隽*

(中国医学科学院基础医学研究所, 细胞生物学系, 医学分子生物学国家重点实验室, 北京 100050)

摘要: 肺动脉高压是一种病程进展较快、死亡率高的心肺血管疾病, 患病率呈逐年上升趋势, 正日益受到人们的重视。目前, 肺动脉高压的治疗主要针对血管扩张靶向治疗, 而如何通过干细胞治疗改善血管重构至今尚未建立有效方案。10 余年来, 内皮祖细胞、间充质干细胞以及多能干细胞技术取得的长足进步为肺动脉高压患者带来了希望。本文介绍了国内外干细胞技术治疗肺动脉高压的最新研究进展, 并针对相关研究中存在的问题进行了讨论。

关键词: 肺动脉高压; 干/祖细胞; 细胞治疗; 血管重构

中图分类号: R966

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 11-1778-06

The current application of stem cell based therapy in pulmonary hypertension

ZHANG Ding, YANG Jun*

(Department of Cell Biology, State Key Laboratory of Medical Molecular Biology, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China)

Abstract: Pulmonary hypertension (PH) is a progressive cardiopulmonary disease with high mortality and increased prevalence. The target therapy of pulmonary hypertension is mainly dependent on vasodilation, but how to improve vascular remodeling with stem cell therapy has not been fully understood. Over the past ten years, the researches on endothelial progenitor cells, mesenchymal stem cells and pluripotent cells have brought the hope to patients with pulmonary hypertension. This article mainly introduces the latest progress of stem cell technology in the intervention of pulmonary hypertension, and discusses the problems in the application.

Key words: pulmonary hypertension; stem / progenitor cells; cell therapy; vascular remodeling

肺动脉高压 (pulmonary hypertension, PH) 是指肺动脉压力超过一定阈值的一种血流动力学异常状态。患者伴有体乏无力和呼吸困难等主要症状, 不经治疗病程发展较快, 往往发展为右心衰竭进而导致死亡。其特征包括肺血管重构, 血管阻塞引起肺血管阻力 (pulmonary vascular resistance, PVR)、肺动脉压

力增高和右心室肥厚^[1]。目前最有效的治疗方法是药物治疗, 包括前列环素、内皮素-1 受体拮抗剂、5 型磷酸二酯酶抑制剂等 3 大类药物。这些药物虽然可以改善病情, 但没有从根本上改善肺血管重构, 且总体而言价格较高, 不能满足长期治疗的需要^[2]。

近 10 余年来, 基因修饰的干细胞治疗显示出巨大潜力。内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPCs) 和间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 等细胞治疗在动物实验中取得了突破性的研究成果^[3-5]。越来越多的研究证明, 一些干/祖细胞治疗对于治疗肺动脉高压有一定的效果, 但也有相关研究显示, 特定的干/祖细胞分型会参与发病过程,

收稿日期: 2018-04-16; 修回日期: 2018-06-04.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81670054); 干细胞转化研究的国家重点研究发展项目 (2016YFA0102300); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (CIFMS2016-I2M-4-003).

*通讯作者 Tel: 86-10-69156976, E-mail: yangjunimb@hotmail.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0347

诱导肺动脉高压^[5]。本文将对当前正在进行的干细胞治疗方案进行介绍,并根据这些研究方案中存在的不足进行阐述和讨论。

1 EPCs

EPCs 主要分布在骨髓、脐带和外周血区域,细胞间尚未形成细胞层,表面不表达成熟内皮细胞特征标志物,可通过增殖和分化形成成熟的内皮细胞^[6]。目前定义 EPCs 主要有两种方法:第一种是检测单核细胞的特定表面标记物,最常用的标记物为 CD34⁺CD133⁺VEGFR2⁺。但是这种分类方法是否能够代表“真正”EPCs 仍存在争议^[7];第二种是根据外周血分离培养的不同阶段将其分为早期 EPCs 和晚期 EPCs^[8]。

最近的研究认为,EPCs 是一类肺循环系统中的固有细胞,可作为标记物鉴定血管的正常功能^[9]。由于分离培养方法以及表面标记物没有明确统一的标准,不同实验针对肺动脉高压患者中外周血 EPCs 细胞数量测定的结果有一定的差异^[10,11]。此外,游离的 EPCs 的迁徙和黏合功能可能受损,形成正常血管网络的功能有所下降^[12]。目前普遍认为 EPCs 治疗 PH 的机制主要存在于两个方面:① EPCs 可能参与肺血管重构。在 PH 大鼠和 PH 患者中,由于肺血管微环境的变化,游离 EPCs 的功能出现严重损伤,失去了形成血管的能力。注入正常的 EPCs 后可显著恢复肺血管的功能;② EPCs 可以通过释放旁分泌因子对肺功能起到保护作用。具有特定分子标志的 EPCs 能够分泌多种细胞因子,包括血管内皮生长因子、肝细胞生长因子、胎盘生长因子和粒细胞集落刺激因子等能抑制肺微血管内皮细胞异常增殖和凋亡^[13,14]。

通过移植 EPCs 修复内皮细胞损伤,对于预防及治疗 PH 都具有潜在的价值。近 10 年内,研究人员已成功建立了不同的 PH 动物模型。Long 等^[14,15]发现 EPCs 对野百合碱(monocrotaline, MCT)引起的 PH 大鼠具有显著的疗效。Zhao 等^[16]发现骨髓来源的 EPCs 治疗能够阻止右室收缩压的上升。外周血来源的 EPCs 也能改善和逆转 MCT 诱导的 PH。注射 EPCs 甚至能逆转脱氢野百合碱诱导的 PH 实验狗肺血管的损伤^[17]。近年来,移植基因改造 EPCs 是治疗 PH 的新方法。转导携带有肾上腺髓质素基因质粒的 EPCs 能够改善 MCT 引起的 PH 大鼠的心肺功能,且与单一的 EPCs 治疗相比,移植基因改造 EPCs 能提高患者的生存率^[18]。Sun 等^[19]报道采用西洛他唑、西地那非和自体 EPCs 移植共同治疗 PH 大鼠,其疗效远优于 EPCs 或西洛他唑/西地那非单一治疗的效果。总体

来说,临床前研究证明了基于 EPCs 的治疗是一种潜在的干预肺动脉高压进程的方法。

虽然 EPCs 的治疗在实验动物身上已经取得了巨大的成功,但是临床治疗的方案还有待完善。Wang 等^[20]进行了为期 12 周的临床预试验,随机抽取数名 PH 患者分组进行自体 EPCs 治疗及常规治疗。研究结果表明,EPCs 治疗与钙离子阻断剂治疗相比,患者运动能力和血流动力学均有较好的改善,但是还有一些心肺参数未达到常规治疗的效果。由于此试验未严格按照随机双盲标准设计,这一 EPCs 注射的治疗方法尚未得到领域内的认可。但是最近几年里,以加拿大渥太华医院 Stewart 教授为首的的科研团队一直在推进基因改造的 EPCs 临床研究的进程。Granton 等^[21]通过注射内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)基因转染的自体 EPCs 进行靶向治疗。I 期临床试验(Phacet 试验)确定了临床试验的安全细胞剂量,并针对血液动力学和严重不良反应进行检测,初步评价了这种基因改造的 EPCs 对 PH 患者治疗效果及安全性。II 期临床试验(Sapphoret 试验)招募了来自北美 7 个不同地区的 45 个患有严重 PH 的患者参与,该项目目前正在进行。采用随机双盲标准筛选患者,经一个疗程(6 个月周期,分 4 次注射 eNOS 基因改造自体早期 EPCs)治疗后,观察患者的 6 min 步行距离是否能显著提高,从而为临床 III 期提供研究基础。前不久的第 12 届国际肺血管研究会议上,Stewart 教授针对现有的数据分析了这种基因改造的 EPCs 相较于未改造的 EPCs 治疗的优势,并称该研究项目已得到 FDA 认证,具体的数据还未公开发表。将 EPCs 用于正式的临床治疗需经过更为严格的审核和试验,但是目前研究已经证明了基于 EPCs 治疗 PH 的可行性和潜在应用价值。

2 MSCs

在各种类型的干细胞中,MSCs 是一类研究最为广泛,最具有再生医学研究价值的干细胞。MSCs 在骨髓、脐带和脂肪组织等多种成熟组织中广泛存在^[22]。20 世纪 60 年代后期 Friedenstein 等^[23]首先提出了 MSCs 的存在。后来,其他一些学者进一步证明了 MSCs 具有增殖、自我更新和分化的潜能。MSCs 的优势总结为以下 5 个方面:① MSCs 可以通过多种组织获得;② MSCs 可以迁移到受损组织;③ MSCs 具有分化、增殖潜能;④ MSCs 免疫原性较低,可以避免移植时发生免疫排斥;⑤ MSCs 治疗伦理学的争议较少^[24,25]。

过去的 10 年内研究人员对 MSCs 的趋化性等生

理功能进行了深入的研究。MSCs 可以选择性地迁移到受损组织, 并分泌抗凋亡、抗炎和促血管生成因子, 如基质细胞衍生因子 1 (SDF-1)、TGF- β 1、血管内皮生长因子 (VEGF) 等。MSCs 刺激血管生成, 为宿主细胞的恢复建立了一个保护环境, 从而保护甚至挽救受损组织^[26, 27]。研究表明, MSCs 在心肌梗死、急性肺损伤、急性呼吸窘迫综合征和肝功能衰竭等多种临床疾病中都具有巨大的治疗潜力^[28, 29], 部分国家以及地区已经批准 MSCs 相关产品的上市^[30]。2012 年, 新西兰和加拿大首次批准 MSC 药物上市, 治疗儿童移植抗宿主病 (GVHD)^[31]。2015 年, Temcell HS 注射液成为日本第一个获批的同种异体 MSC 药物, 用于治疗急性 GVHD^[32]。这意味着 MSC 治疗具有较好的应用前景。

相对于其他疾病而言, 目前 MSCs 应用于治疗 PH 的研究仍停留在动物实验阶段。使用 MSCs 治疗 MCT 诱导的 PH 大鼠可改善血流动力学, 改善肺血管重构^[33]。与 EPCs 相似, 将 MSCs 移植与基因修饰相结合可以产生更好的治疗效果。Takemiya 等^[34]发现基因修饰的 MSCs 可通过分泌降钙素基因相关肽减轻 MCT 诱导的 PH 内皮功能失调。Guo 等^[35]也报道了移植 HGF 基因修饰的 MSCs 到 MCT 诱导的 PH 大鼠体内后心肺动力学指数得到显著改善, 优于 MSC 单一治疗。目前对于 MSCs 的研究取得了阶段性的结果, 但在治疗 PH 方面, 与 EPCs 相比其未知的干预机制成为限制 MSCs 临床应用的主要因素。

3 多能性干细胞

目前用于 PH 治疗的多能性干细胞主要分为两类——诱导多能性干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs) 和胚胎干细胞 (embryonic stem cells, ESCs)。

3.1 iPSCs iPSCs 是一类新发现的具备分化多能性的干细胞。2006 年日本研究者通过慢病毒转染的方式将 4 种转录因子 (Oct4、Sox2、Klf4 和 c-Myc) 导入小鼠成纤维细胞, 使体细胞重编程产生了性状类似于 ESCs 的 iPSCs^[36]。近 10 余年来, iPSCs 技术日渐成熟, 致畸率和稳定性都得到了很大的改善。iPSCs 的优势如下: ① iPSCs 可大量制备, 过程方便; ② 干性较高, 远超过 MSCs, 更易于分化得到内皮细胞, 便于后续操作; 2016 年, Hayashi 等^[37]首次成功地利用 iPSCs 培育出部分角膜、晶体和视网膜, 为后续的临床研究带来了福音。

目前 iPSCs 已广泛应用于 PH 发病机制的研究, 例如, 研究人员利用不同 PH 患者的 iPSCs 定向分化

形成内皮细胞去代替难以获取的内皮细胞进行信号通路研究^[38]。Gu 等^[39]首先得到了来源于 3 个不同家庭 (包括家族性肺动脉高压患者、*BMPR2* 基因突变未发病者以及性别相同的正常人) 的 iPSCs, 然后定向分化形成内皮细胞。与家族性肺动脉高压患者相比, *BMPR2* 基因突变的未发病者内皮细胞黏附性增强, 生存率大大提高。这一“恢复性”表型是由于 *BIRC3* 这个基因的表达上调, 而非 *BMPR2* 表达的恢复。这一发现也揭示了家族性肺动脉高压 *BMPR2* 信号促进剂的作用机制, 有利于针对性进行临床治疗。Kiskin 等^[40]完善了患者 iPSCs 定向分化形成平滑肌细胞的方法, 采用自体 iPSCs 引入突变的方法排除了不同 iPSCs 之间生物差异的因素, 可以更好地评估 *BMPR2* 突变对于线粒体膜超极化的影响, 完善对 PH 发病机制的现有认识。

目前 iPSCs 靶向治疗 PH 的相关研究仍处于初期阶段, Huang 等^[41]在 MCT 诱导的 PH 大鼠上注入 iPSCs 后, 减轻了炎症反应, 改善了血管与右心功能, 表明 iPSCs 具有治疗 PH 的潜力。不管是动物实验还是临床研究, 如何选择 iPSCs 的来源, 提高 iPSCs 的稳定性以及避免成瘤性是当前需要解决的 3 个核心问题^[42, 43]。

3.2 ESCs 与 iPSCs 相似, ESCs 也是一类具有完全多能性的干细胞, 可以分化为特定类型的细胞进行细胞治疗, 在再生医学中具有巨大的潜在价值。目前将 ESCs 应用于临床上依旧存在不同程度的伦理学争议, 但不同国家和地区已展开了人 ESCs 相关的临床治疗。2017 年 10 月, 美国干细胞公司 Asterias Biotherapeutics 研究显示, 6 名因脊髓损伤而瘫痪的患者接受 ESCs 移植治疗 1 年后, 其中 4 名患者手臂的移动和基本行为能力出现了改善。该实验目前已进行到临床 I 期, 并获得了 FDA 授予的再生医学先进疗法 (RMAT) 认定资格^[44]。2012 年, Schwartz 等^[45]将人 ESCs 分化而来的视网膜色素上皮细胞 (retinal pigment epithelium, RPE) 移植治疗年龄相关性黄斑变性患者取得了成功, 移植后右眼 RPE 细胞明显增多, 视力情况趋于稳定。2018 年, da Cruz 等^[46]同样将人 ESCs 转化成了 RPE 来治疗年龄相关性黄斑变性患者, 术后最佳矫正视力以及阅读速度逐渐提高, 视力明显改善。

相较于 ESCs 在其他疾病上的广泛应用, ESCs 用于 PH 治疗的相关研究及报告亟待深入。利用 ESCs 具有多能性的特征可以解决某些疾病动物模型的局限性。通过基因敲除相关技术改造人的 ESCs, 模拟

相关疾病模型,并用于新型药物发现^[47]。本课题组采用人胚胎干细胞系(携带荧光报告基因)分化得到的内皮细胞筛选出一种新型哌啶类化合物 BMP 上调剂 1 (BMP upregulator 1, BUR1),它能够有效地恢复突变细胞的 BMPR2 信号和功能(利用 CRISPR/Cas9 技术导致内皮细胞 BMPR2^{+R899X} 关键致病突变,同时通过患者来源的内皮细胞进行药效验证)^[48]。在动物实验研究上,该先导化合物能够平衡花生四烯酸向前列素内环氧化物合成酶 2 (prostaglandin endoperoxide synthase 2, PTGS2) 的代谢过程,从而驱动抗炎效果,有效预防和逆转 MCT 诱导、Sugen/缺氧诱导的肺动脉高压。小鼠和斑马鱼毒性实验均证明了口服用药的安全性,药代动力学实验也显示了其稳定性和实用性。这项研究为干细胞靶向治疗的药物研究提供了新思路。

4 总结

常规的药物治疗仅能缓解 PH 患者症状,而干细胞治疗能够修复或替换受损肺血管结构,改善心肺功能。目前国内外研究着重于利用 EPCs、MSCs、IPSCs、ESC 这几类干(祖)细胞进行 PH 干预性研究。

大量的动物实验和临床试验证明了 EPCs 治疗的可行性。一方面, EPCs 能够修复心肺组织区域凋亡的内皮细胞,重新构建血管;另一方面, EPCs 在体内定向分化为成熟的内皮细胞并释放具有保护功能的旁分泌因子,可以减缓 PH 进一步恶化。近年来, EPCs 结合基因改造以及 EPCs 与药物联合两种治疗方式已成为干细胞治疗领域一大突破。由于 PH 的致病机制复杂,未来研究需要进一步解决以下几点:①明确 EPCs 表面特征标志物。过去的研究并未准确地定义 EPCs,找到正确的表面标记物将有助于进一步的探索研究;② EPCs 移植体内的影响以及潜在的机制;③ EPCs 联合辅助治疗的优势;④ 基因改造的 EPCs 的安全性以及稳定性。

MSCs 在 PH 治疗相关研究目前还停留在动物实验研究阶段,仍有很多问题需要解决。相关研究已经初步证实 MSCs 能够缓解 MCT 诱导的大鼠 PH,但是治疗效果不如 EPCs 移植,心肺指标并未取得明显的改善。结合之前 MSCs 治疗慢性阻塞性肺疾病相关研究结果, MCT 大鼠治疗效果不理想可能是由于外源性骨髓间充质干细胞抗炎和免疫调节作用相对较低,不足以改善广泛受损的肺结构^[49]。未来的研究中将进一步探索 MSCs 潜在的治疗机制,通过选择合理的细胞状态、剂量、给药方法、给药频率为临床试验打下坚实的基础。

多能干细胞在 PH 的相关研究主要集中于以下几方面:利用患者 IPSCs 和基因修饰的 ESCs 定向分化成为内皮细胞,取代难以从机体获取的内皮细胞进行 PH 发病机制的研究。虽然 IPSCs、ESC 已经被证实对于很多疾病具有显著的疗效,但是 IPSCs 的不稳定性、致畸性以及 ESC 的伦理学争议直接限制了多能干细胞在 PH 的临床应用。在 PH 复杂的病理结构和体内环境下,目前研究需首要解决的问题是 IPSCs、ESC 如何通过定向分化形成特定细胞群,以阐明重构血管的具体机制。

随着基因修饰以及联合用药技术的日渐成熟,以干/祖细胞为载体的联合治疗将会为 PH 患者带来新的希望。

References

- [1] Morrell NW, Adnot S, Archer SL, et al. Cellular and molecular basis of pulmonary arterial hypertension [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54: S20-S31.
- [2] Hansmann G, Zamanian RT. PPARgamma activation: a potential treatment for pulmonary hypertension [J]. *Sci Transl Med*, 2009, 1: 12ps14.
- [3] Van der Laarse A, Cobbaert CM, Umar S. Stem and progenitor cell therapy for pulmonary arterial hypertension: effects on the right ventricle (2013 Grover Conference Series) [J]. *Pulm Circ*, 2015, 5: 73-80.
- [4] Chen H, Strappe P, Chen S, et al. Endothelial progenitor cells and pulmonary arterial hypertension [J]. *Heart Lung Circ*, 2014, 23: 595-601.
- [5] Heise RL, Link PA, Farkas L. From here to there, progenitor cells and stem cells are everywhere in lung vascular remodeling [J]. *Front Pediatr*, 2016, 4: 80.
- [6] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis [J]. *Science*, 1997, 275: 964-967.
- [7] Timmermans F, Van Hauwermeiren F, De Smedt M, et al. Endothelial outgrowth cells are not derived from CD133⁺ cells or CD45⁺ hematopoietic precursors [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27: 1572-1579.
- [8] Prater DN, Case J, Ingram DA, et al. Working hypothesis to redefine endothelial progenitor cells [J]. *Leukemia*, 2007, 21: 1141-1149.
- [9] Marsboom G, Janssens S. Endothelial progenitor cells: new perspectives and applications in cardiovascular therapies [J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2008, 6: 687-701.
- [10] Asosingh K, Aldred MA, Vasanthi A, et al. Circulating angiogenic precursors in idiopathic pulmonary arterial hypertension

- [J]. *Am J Pathol*, 2008, 172: 615–627.
- [11] Diller GP, van Eijl S, Okonko DO, et al. Circulating endothelial progenitor cells in patients with Eisenmenger syndrome and idiopathic pulmonary arterial hypertension [J]. *Circulation*, 2008, 117: 3020–3030.
- [12] Toshner M, Voswinckel R, Southwood M, et al. Evidence of dysfunction of endothelial progenitors in pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009, 180: 780–787.
- [13] Hur J, Yoon CH, Kim HS, et al. Characterization of two types of endothelial progenitor cells and their different contributions to neovasculogenesis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24: 288–293.
- [14] Long D, Gong T, Zhang Z, et al. Preparation and evaluation of a phospholipid-based injectable gel for the long term delivery of leuprolide acetate [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2016, 6: 329–335.
- [15] Yip HK, Chang LT, Sun CK, et al. Autologous transplantation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells attenuates monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats [J]. *Crit Care Med*, 2008, 36: 873–880.
- [16] Zhao YD, Courtman DW, Deng Y, et al. Rescue of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension using bone marrow-derived endothelial-like progenitor cells: efficacy of combined cell and eNOS gene therapy in established disease [J]. *Circ Res*, 2005, 96: 442–450.
- [17] Takahashi M, Nakamura T, Toba T, et al. Transplantation of endothelial progenitor cells into the lung to alleviate pulmonary hypertension in dogs [J]. *Tissue Eng*, 2004, 10: 771–779.
- [18] Nagaya N, Kangawa K, Kanda M, et al. Hybrid cell-gene therapy for pulmonary hypertension based on phagocytosing action of endothelial progenitor cells [J]. *Circulation*, 2003, 108: 889–895.
- [19] Sun CK, Lee FY, Sheu JJ, et al. Early combined treatment with cilostazol and bone marrow-derived endothelial progenitor cells markedly attenuates pulmonary arterial hypertension in rats [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2009, 330: 718–726.
- [20] Wang XX, Zhang FR, Shang YP, et al. Transplantation of autologous endothelial progenitor cells may be beneficial in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension: a pilot randomized controlled trial [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 49: 1566–1571.
- [21] Granton J, Langleben D, Kutryk MB, et al. Endothelial NO-synthase gene-enhanced progenitor cell therapy for pulmonary arterial hypertension: The PHACeT Trial [J]. *Circ Res*, 2015, 117: 645–654.
- [22] Chambers DC, Enever D, Lawrence S, et al. Mesenchymal stromal cell therapy for chronic lung allograft dysfunction: results of a first-in-man study [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6: 1152–1157.
- [23] Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells [J]. *Cell Tissue Kinet*, 1970, 3: 393–403.
- [24] Wang R, Zhu CZ, Qiao P, et al. Experimental treatment of radiation pneumonitis with human umbilical cord mesenchymal stem cells [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2014, 7: 262–266.
- [25] Williams AR, Hare JM. Mesenchymal stem cells: biology, pathophysiology, translational findings, and therapeutic implications for cardiac disease [J]. *Circ Res*, 2011, 109: 923–940.
- [26] Alimperti S, You H, George T, et al. Cadherin-11 regulates both mesenchymal stem cell differentiation into smooth muscle cells and the development of contractile function *in vivo* [J]. *J Cell Sci*, 2014, 127: 2627–2638.
- [27] Ulivi V, Tasso R, Cancedda R, et al. Mesenchymal stem cell paracrine activity is modulated by platelet lysate: induction of an inflammatory response and secretion of factors maintaining macrophages in a proinflammatory phenotype [J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23: 1858–1869.
- [28] Lee RH, Pulin AA, Seo MJ, et al. Intravenous hMSCs improve myocardial infarction in mice because cells embolized in lung are activated to secrete the anti-inflammatory protein TSG-6 [J]. *Cell Stem Cell*, 2009, 5: 54–63.
- [29] Parekkadan B, van Poll D, Suganuma K, et al. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure [J]. *PLoS One*, 2007, 2: e941.
- [30] Xu T, Zhang Y, Chang P, et al. Mesenchymal stem cell-based therapy for radiation-induced lung injury [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9: 18.
- [31] Vaes B, Van't Hof W, Deans R, et al. Application of multistem® allogeneic cells for immunomodulatory therapy: clinical progress and pre-clinical challenges in prophylaxis for graft versus host disease [J]. *Front Immunol*, 2012, 3: 345.
- [32] Konishi A, Sakushima K, Isobe S, et al. First approval of regenerative medical products under the PMDA act in Japan [J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 18: 434–435.
- [33] De Mendonca L, Felix NS, Blanco NG, et al. Mesenchymal stromal cell therapy reduces lung inflammation and vascular remodeling and improves hemodynamics in experimental pulmonary arterial hypertension [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8: 220.
- [34] Takemiya K, Kai H, Yasukawa H, et al. Mesenchymal stem cell-based prostacyclin synthase gene therapy for pulmonary

- hypertension rats [J]. *Basic Res Cardiol*, 2010, 105: 409–417.
- [35] Guo Y, Su L, Li Y, et al. The synergistic therapeutic effect of hepatocyte growth factor and granulocyte colony-stimulating factor on pulmonary hypertension in rats [J]. *Heart Vessels*, 2014, 29: 520–531.
- [36] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors [J]. *Cell*, 2006, 126: 663–676.
- [37] Hayashi R, Ishikawa Y, Katori R, et al. Coordinated generation of multiple ocular-like cell lineages and fabrication of functional corneal epithelial cell sheets from human iPSC cells [J]. *Nat Protoc*, 2017, 12: 683–696.
- [38] Chen X, Talati M, Fessel JP, et al. Estrogen metabolite 16 α -hydroxyestrone exacerbates bone morphogenetic protein receptor type II-associated pulmonary arterial hypertension through microRNA-29-mediated modulation of cellular metabolism [J]. *Circulation*, 2016, 133: 82–97.
- [39] Gu M, Shao NY, Sa S, et al. Patient-specific iPSC-derived endothelial cells uncover pathways that protect against pulmonary hypertension in BMPR2 mutation carriers [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20: 490–504.e5.
- [40] Kiskin FN, Chang CH, Huang CJZ, et al. Contributions of BMPR2 mutations and extrinsic factors to cellular phenotypes of pulmonary arterial hypertension revealed by iPSC modeling [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, 198: 271–275.
- [41] Huang WC, Ke MW, Cheng CC, et al. Therapeutic benefits of induced pluripotent stem cells in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension [J]. *PLoS One*, 2016, 11: e0142476.
- [42] Kimbrel EA, Lanza R. Current status of pluripotent stem cells: moving the first therapies to the clinic [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2015, 14: 681–692.
- [43] Shi Y, Inoue H, Wu JC, et al. Induced pluripotent stem cell technology: a decade of progress [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16: 115–130.
- [44] Priest CA, Manley NC, Denham J, et al. Preclinical safety of human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitors supporting clinical trials in spinal cord injury [J]. *Regen Med*, 2015, 10: 939–958.
- [45] Schwartz SD, Hubschman JP, Heilwell G, et al. Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report [J]. *Lancet*, 2012, 379: 713–720.
- [46] da Cruz L, Fynes K, Georgiadis O, et al. Phase I clinical study of an embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium patch in age-related macular degeneration [J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36: 328–337.
- [47] Avior Y, Sagi I, Benvenisty N. Pluripotent stem cells in disease modelling and drug discovery [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17: 170–182.
- [48] Xing Y, Zhao S, Wei Q, et al. A novel piperidine identified by stem cell based screening attenuates pulmonary arterial hypertension *via* regulating BMP2 and PTGS2 levels [J]. *Eur Respir J*, 2018. DOI: 10.1183/13993003.02229-2017.
- [49] Sun Z, Li F, Zhou X, et al. Stem cell therapies for chronic obstructive pulmonary disease: current status of pre-clinical studies and clinical trials [J]. *J Thorac Dis*, 2018, 10: 1084–1098.