

· 基础研究 ·

BMSC对内毒素诱导的肺泡上皮细胞氧化应激的影响

汪文婧,程储记,陈旭昕,韩志海

[摘要]目的 探讨骨髓间充质干细胞(bone marrow stromal cell, BMSCs)对内毒素(lipopolysaccharide, LPS)诱导的Ⅱ型肺泡上皮细胞(alveolar epithelial cell II, AEC II)氧化应激的影响。方法 选用A549细胞代替AEC II,将实验分为A549组、A549+LPS组、A549-BMSC+LPS组及A549-BMSC+PBS组,即单独培养A549细胞或将BMSC与A549细胞共培养于Transwell体系,培养过夜后予LPS或等体积的PBS刺激。收集各组A549细胞样本,通过流式细胞仪检测活性氧(reactive oxygen species, ROS)的表达水平,并利用化学检测试剂盒,通过分光光度计检测脂过氧化物(lipid peroxides, LPO)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)及谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH)表达水平。结果 A549细胞在LPS的干预下,细胞内ROS表达水平(658.40 ± 27.89)及其代谢产物LPO(1.46 ± 0.15)、MDA(36.85 ± 2.75)的水平明显升高($P < 0.001$),抗氧化因子SOD(13.44 ± 3.32)、GSH(346.56 ± 44.33)的活性明显降低($P < 0.001$);与A549+LPS组比较,A549-BMSC+LPS组ROS(544.61 ± 41.30)、LPO(1.05 ± 0.09)、MDA(10.63 ± 0.95)的水平明显降低($P = 0.001$ 、 $P = 0.006$ 、 $P < 0.001$),SOD(33.41 ± 3.59)、GSH(447.18 ± 45.56)的活性明显升高($P = 0.001$ 、 $P = 0.028$);而与A549组比较,A549-BMSC+PBS组ROS(108.97 ± 17.49)、LPO(0.12 ± 0.03)、MDA(1.23 ± 0.36)的表达水平呈下降趋势($P = 0.033$ 、 $P = 0.004$ 、 $P = 0.012$),SOD(68.33 ± 8.01)、GSH(793.89 ± 62.33)的活性进一步升高($P = 0.001$ 、 $P = 0.002$)。结论 BMSC能显著减轻LPS诱导的AEC II细胞的ROS生成,同时能正向调节其抗氧化的能力,可以一定程度上抑制LPS诱导的AEC II细胞的氧化应激反应。抑制肺泡上皮细胞氧化应激状态下ROS的产生、增强肺泡上皮细胞抗氧化的能力,或许可以成为治疗急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征的新策略之一。

[关键字] 肺泡上皮细胞;骨髓间充质干细胞;内毒素;急性呼吸窘迫综合征;氧化应激

[中图分类号] R563

[文献标志码] A

[文章编号] 2095-3097(2021)04-206-6

doi: 10.3969/j.issn.2095-3097.2021.04.002

Effects of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells on Lipopolysaccharide Induced Alveolar Epithelial Cells in Oxidative Stress

WANG Wenjing¹, CHENG Chuji¹, CHEN Xuxin², HAN Zhihai²

(1. Cardiothoracic Surgery ICU, Anqing Municipal Hospital, Anqing Anhui 246003, China; 2. Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, the Sixth Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100048, China)

[Abstract] Objective To investigate the effect of bone marrow mesenchymal stem cells (BMSC) on lipopolysaccharide (LPS) induced oxidative stress in alveolar epithelial cells (AECII). **Methods** A549 cell was used as AECII in our study, and four groups including A549, A549+LPS, A549-BMSC+LPS and A549-BMSC+PBS were set. A549-BMSC means A549 was co-cultured with BMSC in the Transwell system. After overnight culture, they were stimulated with LPS or an equal volume of PBS. Then A549 was collected from each group, and the activity of reactive oxygen species (ROS) was measured with flow cytometry. Using the chemical detection kit, the levels of lipid peroxide (LPO), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), and glutathione peroxidase (GSH) were measured with the spectrophotometer. **Results** Due to the intervention of LPS, compared to the A549 group, the levels of ROS (658.40 ± 27.89), LPO (1.46 ± 0.15), and MDA (36.85 ± 2.75) in the A549+LPS group were significantly increased ($P < 0.001$), while the levels of antioxidant factor SOD (13.44 ± 3.32) and GSH (346.56 ± 44.33) were significantly decreased ($P < 0.001$). Compared to the A549+LPS group, the levels of ROS (544.61 ± 41.30), LPO (1.05 ± 0.09), and MDA (10.63 ± 0.95) in the A549-BMSC+LPS group were significantly decreased ($P = 0.001$, $P = 0.006$, $P < 0.001$), and the levels of SOD (33.41 ± 3.59) and GSH (447.18 ± 45.56) were significantly increased ($P = 0.001$, $P = 0.028$). Compared to the A549 group, the levels of ROS

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81300050);中华国际医学交流基金会项目(Z-2017-24-2028-17)

[作者单位] 246003 安徽 安庆,安庆市立医院心胸外科ICU(汪文婧,程储记);100048 北京,中国人民解放军总医院第六医学中心呼吸与危重症医学科(陈旭昕,韩志海)

(108.97±17.49), LPO (0.12±0.03), and MDA (1.23±0.36) in the A549-BMSC+PBS group were also decreased ($P=0.033$, $P=0.004$, $P=0.012$), and levels of SOD (68.33±8.01), GSH (793.89±62.33) were increased ($P=0.001$, $P=0.002$).

Conclusion BMSC could significantly reduce the ROS level in the AECII induced by LPS, and improve its antioxidant capacity. BMSC could inhibit the oxidative stress response of AECII induced by LPS. It may be a new treatment strategy for ALI/ARDS via inhibiting the production of ROS and enhancing the antioxidant capacity in the AECII by BMSC.

[**Key words**] Alveolar epithelial cell; Bone marrow mesenchymal stem cell; Lipopolysaccharide; Acute respiratory distress syndrome; Oxidative stress

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)/急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)是由肺内外多种损伤因素引起的临床危重症,目前尚缺乏特异性有效治疗手段^[1]。大量的实验研究表明氧化应激与ALI/ARDS密切相关^[2-4],根据ARDS患者多项临床试验结果发现,肺泡上皮细胞处于氧化应激状态下,不断暴露于气态氧和有毒物质,清除过量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)及使用抗氧化剂并不能改善ARDS患者预后^[5],那抑制氧化应激的发生是否是治疗ARDS的一个思路?有研究涉及相关领域,如El-Agamy^[6]的研究表明,抑制及减少炎症因子及氧自由基的表达,可遏制ALI/ARDS的发生及发展;Ye等^[7]在急性胰腺炎-急性肺损伤(AP-ALI)研究中也发现,减少ROS重要氧化剂的产生对AP-ALI有保护作用;Meng等^[8]表示黄芩苷对LPS诱导的ALI的保护作用主要是维持了氧化和抗氧化应激的平衡。结合相关理论知识,本研究大胆的推测抑制肺泡上皮细胞氧化应激状态下ROS的产生可以成为治疗ALI/ARDS的新策略。为了验证这一想法,本研究选取了骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC)作为治疗手段。

BMSC^[9-10]因其具有高度的自我更新能力和多向分化潜能,取材方便、易于分离培养、免疫原性低等特点,直接使用由骨髓分离扩增的间质干细胞进行移植时,无免疫排斥的问题,因此成为目前较理想的基因工程种子细胞的来源,具有良好的临床应用前景。近年已有研究者^[11]将BMSC引入到肺损伤等肺部疾病的治疗中,BMSC在适当条件下可定向分化为肺泡上皮细胞(alveolar epithelial cell, AEC)和肺血管内皮细胞(pulmonary vascular endothelial cell, PVEC)等多种非造血组织细胞,多项研究^[12-13]提示BMSC在内毒素(lipopolysaccharide, LPS)所致的急性肺损伤修复过程中发挥重要作用,并且我们的前期研究^[14]中也已经从细胞周期阻滞角度明确了BMSC对PVEC的保护作用。

由于II型肺泡上皮细胞(alveolar epithelial cell II, AEC II)的体外培养难度较大,无法保证充足来源,本研究最终选择利用A549细胞代替AEC II,

A549细胞^[15]来源于肺腺癌患者的肺泡基底上皮细胞,保持了典型的AEC II的重要特征,由D. J. Giard^[16]于1972年从肺腺癌患者的组织中首次分离培养得到,A549细胞株作为AEC II的体外模型,已经广泛应用于ARDS和肺泡上皮细胞相关研究^[17-18]。本研究利用Transwell共培养体系,在体外通过LPS干预培养AEC II,模拟ALI时的炎症微环境,从氧化失衡角度观察BMSC对AEC II的影响,以期为BMSC在ALI/ARDS治疗中的应用提供更多实验室依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂 人源性A549细胞来源于美国ATCC公司;人源性BMSC细胞由广州赛业生物科技有限公司提供,且已完成干细胞免疫表型及多能分化潜能鉴定;本实验室对这些细胞分别进行传代及继续培养。DMEM/F12培养基和优质胎牛血清(FBS)购于GIBCO公司,Transwell系统购于美国Corning公司,LPS(Ecoil O55: B5)、细胞衰老检测试剂盒KGPAG001L购于美国Sigma公司,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)及脂过氧化物(lipid peroxides, LPO)试剂盒购于南京建成公司;CCK-8试剂盒、活性氧(reactive oxygen species, ROS)试剂盒购于上海碧云天生物技术公司。

1.2 细胞培养 BMSC及A549细胞培养基为完全培养基,由DMEM/F12培养基、FBS及双抗(青霉素、链霉素)配置而成,于4℃保存,现用现配,保存期30d。细胞培养条件均为:37℃、5%CO₂及95%湿度,每隔1d换液1次,2~3d传代1次,实验用细胞均处于对数生长期。

1.3 Transwell共培养体系 为了满足实验共培养的需要,选取0.4μm孔径、6well的聚碳酸酯膜Transwell共培养体系,将Transwell小室放入培养板中,小室内称上室,培养板内称下室,上室内盛装上层培养液,下室内盛装下层培养液,将BMSC细胞接种于上室,下室接种A549细胞。

1.4 预实验:A549细胞活性及通透性检测 ①将

A549 细胞接种于 6 孔培养板上,完全培养基于 37 °C 的 5% CO₂ 培养箱中培养过夜后,用 0、10、20、40、80、100、150 和 200 μg/mL LPS 干预培养 12 h 后,使用 CCK-8 试剂盒进行细胞活性测定。根据试剂说明书,每培养孔中加入 CCK-8 溶液 10 μL,37 °C 孵育 2 h 后,用酶标仪测量 450 nm 处的 OD 值。② 将 A549 细胞接种于 6 孔培养板上,完全培养基于 37 °C 的 5% CO₂ 培养箱中培养过夜后,用 100 μg/mL LPS 干预培养 0、2、4、6、12、24 h 后,使用 CCK-8 试剂盒测定不同时间点的 A549 细胞活性,使用细胞衰老检测试剂盒 KGPAG001L 检测 A549 细胞的衰老程度及通透性。

1.5 BMSC 与 A549 细胞共培养 以 A549 细胞为实验对象,单独培养或利用 Transwell 共培养体系让 1 × 10⁴ 的 BMSC 与 2 × 10³ 的 A549 细胞共培养,根据预实验结果,培养过夜后使用 100 ng/mL LPS 或等体积的 PBS 进行干预培养 6 h;具体分组及操作如下:① A549 组(A549 单独培养,PBS 干预);② A549+LPS 组(A549 单独培养,LPS 干预);③ A549-BMSC+LPS 组(A549 与 BMSC 共培养,LPS 干预);④ A549-BMSC+PBS 组(A549 与 BMSC 共培养,PBS 干预)。

1.6 ROS 水平检测 根据活性氧检测试剂盒说明书进行,收集各组的 A549 细胞样本,悬浮于稀释好的活性氧检测试剂盒中的 DCFH-DA 无血清培养液中,调节细胞浓度为 10⁶/mL,于 37 °C 细胞培养箱内孵育 20 min 后洗涤细胞样本,最后用流式细胞仪(Ex=488 nm;Em=530 nm)进行检测,根据 ROS 的荧光强弱判断 A549 细胞内 ROS 的表达高低。

1.7 LPO、MDA、SOD、GSH 水平检测 参照检测试剂盒说明书进行操作,收集各组 A549 细胞样本于离心管中,用完全培养基混匀获得细胞悬浮液;按各试剂盒说明书进行对应操作后测得各组 OD 值,根据 OD 值计算各组 LPO、MDA、SOD、GSH 水平。

1.8 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计软件进行分析。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间均数比较采用单因素方差分析,两两比较采用

LSD-t 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 A549 细胞活性及通透性 A549 细胞在 10~40 μg/mL LPS 干预 12 h 后,细胞增殖能力显著增强,且呈剂量依赖性($P < 0.05$);当 LPS 浓度 ≥ 100 μg/mL 时,A549 细胞存活率显著降低($P < 0.05$);其中,150 μg/mL LPS 对 A549 细胞具有明显的细胞毒性,使细胞活性下降到约 44%(表 1)。LPS 可诱导 A549 细胞的衰老,降低细胞活性,并以时间依赖性的方式增加细胞的通透性;LPS 刺激后第 6、12 和 24 h,A549 细胞的衰老程度及通透性均有显著性差异(表 2)。因此,本研究选择能显著降低细胞活性、增加细胞通透性的合适剂量(100 μg/mL)及最短 LPS 暴露时间(6 h)进行后续实验。

表 1 不同浓度 LPS 干预培养时 A549 的细胞活性

LPS 浓度(μg/mL)	A549 细胞活性	P 值
0	1	-
10	1.29±0.05	0.044
20	1.42±0.03	0.009
40	1.52±0.03	0.006
80	1.06±0.03	0.365
100	0.70±0.02	0.008
150	0.44±0.04	0.008
200	0.32±0.02	0.002

表 2 100 μg/mL LPS 干预培养不同时长时 A549 的细胞活性及通透性

LPS 干预时长(h)	A549 细胞活性/P 值	A549 细胞通透性/P 值
0	1/-	1/-
2	0.99±0.01/0.236	1.06±0.05/0.500
4	0.96±0.01/0.088	1.20±0.08/0.185
6	0.90±0.01/0.021	1.41±0.03/0.008
12	0.84±0.03/0.037	1.73±0.04/0.004
24	0.79±0.02/0.008	2.02±0.04/0.002

2.2 A549 细胞内 ROS 水平 结果显示,与 A549 对照组比较,A549+LPS 组细胞内 ROS 表达水平明显

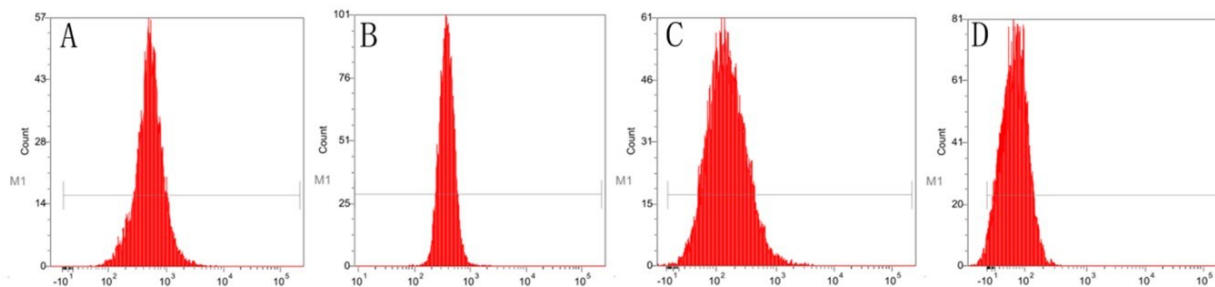


图 1 A549 细胞内 ROS 的流式细胞仪检测

A: A549+LPS 组细胞内 ROS 荧光表达; B: A549-BMSC+LPS 组细胞内 ROS 荧光表达; C: A549 组细胞内 ROS 荧光表达; D: A549-BMSC+PBS 组细胞内 ROS 荧光表达。

升高 ($P<0.001$); 与 A549+LPS 组比较, A549-BM-SC+LPS 组细胞内 ROS 表达水平明显降低 ($P=0.001$); A549-BMSC+PBS 组与 A549 对照组比较, 其 ROS 表达水平是减低的 ($P=0.033$); 图 1、表 3。

表 3 A549 细胞内 ROS 水平

组别	ROS 荧光强度
A549 组	168.22±19.73
A549+LPS 组	658.40±27.89*
A549-BMSC+LPS 组	544.61±41.30*#
A549-BMSC+PBS 组	108.97±17.49*#&

*表示与 A549 组比较, $P<0.05$; #表示与 A549 +LPS 组比较, $P<0.05$; &表示与 A549 -BMSC+LPS 组比较, $P<0.05$ 。

2.3 A549 细胞内氧化因子 LPO、MDA 的表达水平

结果显示, 与 A549 组比较, A549+LPS 组 LPO、MDA 表达水平明显升高 ($P<0.001$); 与 A549+LPS 组比较, A549-BMSC+LPS 组 LPO、MDA 表达水平明显降低 ($P=0.006$ 、 $P<0.001$); A549-BMSC+PBS 组与 A549 对照组比较, 其 LPO、MDA 表达水平是减低的 ($P=0.012$, 表 4)。

表 4 各组 A549 细胞中 LPO、MDA 水平

组别	LPO 水平	MDA 水平
A549 组	0.55±0.19	5.45±1.24
A549+LPS 组	1.46±0.15*	36.85±2.75*
A549-BMSC+LPS 组	1.05±0.09*#	10.63±0.95*#
A549-BMSC+PBS 组	0.12±0.03*#&	1.23±0.36*#&

*表示与 A549 组比较, $P<0.05$; #表示与 A549 +LPS 组比较, $P<0.05$; &表示与 A549 -BMSC+LPS 组比较, $P<0.05$ 。

2.4 A549 细胞内的抗氧化因子 SOD、GSH 活性检测 结果显示, 与 A549 对照组比较, A549+LPS 组 SOD、GSH 的活性明显降低 ($P<0.001$); 与 A549+LPS 组比较, A549-BMSC+LPS 组 SOD、GSH 的活性明显升高 ($P=0.001$ 、 $P=0.028$); 与 A549 对照组相比, A549-BMSC+PBS 组 SOD、GSH 的活性呈升高趋势 ($P=0.001$ 、 $P=0.002$, 表 5)。

表 5 各组 A549 细胞中 SOD、GSH 活性

组别	SOD 活性	GSH 活性
A549 组	48.57±3.53	621.15±22.56
A549+LPS 组	13.44±3.32*	346.56±44.33*
A549-BMSC+LPS 组	33.41±3.59*#	447.18±45.56*#
A549-BMSC+PBS 组	68.33±8.01*#&	793.89±62.33*#&

*表示与 A549 组比较, $P<0.05$; #表示与 A549 +LPS 组比较, $P<0.05$; &表示与 A549 -BMSC+LPS 组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

ARDS 在病理学上表现为失控的炎症反应引起弥漫性肺泡上皮的损伤^[19], 并且 AEC II 主动参与了 ARDS 的发生、发展与转归, 在 ARDS 发病机制中发挥着十分重要的作用^[20-22], 本实验利用 AEC

II 模拟肺的微环境, 通过 LPS 诱导在体外创建了 ARDS 的细胞模型, 首次试图从氧化应激角度探究 BMSC 对 AEC II 的保护作用, 拟为临床工作提供相关思路。

氧化应激是由于体内氧自由基的产生和抗氧化能力的不平衡而引起的^[23], 其中 ROS 是评估氧化应激的一个重要指标, 是需氧细胞在代谢过程中产生的活性氧簇, 主要包括 O_2^- 、 H_2O_2 、 $\cdot OH$ 等, 是氧的自由基状态, 具有较高的活性^[24]。ROS 可以攻击生物膜和亚细胞结构中不饱和脂肪酸, 使膜脂过氧化, 导致生物膜的结构和功能损伤, 大量的 ROS 还会损伤线粒体及 DNA, 当损伤 DNA 发生难以修复的断裂时, 将影响基因水平的转录和翻译过程, 严重者可以导致细胞的死亡^[25]。ROS 代谢过程中产生的 MDA、LPO 产物, 是氧化应激的指示剂, 可反映膜脂过氧化的程度及膜系统受损程度^[26-27]。本研究也再次论证了在 LPS 刺激下, A549 细胞内 ROS 的水平明显升高, ROS 代谢产物 MDA、LPO 含量也显著增高, 表明 LPS 所致的 A549 细胞损伤使其发生了强烈的氧化应激反应。

此次研究中利用 MDA、LPO、SOD、GSH 评价 ROS 的产生及清除状态, MDA、LPO 含量是反映体内氧化应激及脂质过氧化水平的客观指标, 而 SOD、GSH 活性则是反映机体清除氧自由基能力的客观指标。SOD、GSH-PX 是抗氧化系统的抗氧化酶, 是重要的抗氧化剂和自由基清除剂, 能起到强有力的保护作用, 也是清除 ROS 过程中的最重要的酶, 其高低活性标志着 ROS 的清除状态及机体的抗氧化水平^[28-29]。

本研究实验结果显示, 在 A549+LPS 组中, LPS 诱导后 A549 细胞内 ROS 的水平、MDA、LPO 含量均明显升高, 而 SOD、GSH-PX 的活性表现出明显的降低, 提示 LPS 刺激 A549 发生了强烈的氧化应激, 并明显削弱了 A549 细胞的抗氧化应激能力。在 A549-BMSC+LPS 组中, LPS 诱导后 A549 细胞内 ROS 的水平、MDA、LPO 含量较 A549 对照组明显升高, SOD、GSH-PX 的活性较 A549 对照组有所降低, 而对比 A549+LPS 组可以发现 A549-BMSC+LPS 组中 ROS 的水平、MDA、LPO 含量升高是明显减少的, SOD、GSH-PX 的活性的降低也是明显减少的, 提示在 A549 与 BMSC 共培养后, LPS 刺激的 A549 产生的 ROS 及其代谢产物 MDA、LPO 明显减少, 说明 BMSC 有所抑制 ROS 的产生, 并且同时增强了 A549 细胞的抗氧化应激能力, 提高了 SOD、GSH-PX 的活性。为了进一步验证这一结果, 将 A549-

BMSC+PBS组实验结果与A549对照组进行比较分析,发现A549-BMSC+PBS组ROS的水平、MDA及LPO含量较A549对照组表现下降趋势,而SOD、GSH-PX的活性表现出明显上升趋势,差异有统计学意义,提示BMSC对A549细胞就从氧化应激角度来说存在保护作用,能正向调节其抗氧化的能力,减弱氧化应激反应,从而在LPS诱导A549细胞发生氧化应激反应时可以一定程度上控制氧化与抗氧化的失衡。

本研究仅仅通过氧化及抗氧化因子,从氧化应激角度明确了BMSC对AEC II细胞的保护作用,存在一定的局限性,因ROS与炎症反应密切相关,是炎症反应的启动因素^[30],大量的研究证实,ROS诱导的氧化应激作为ALI/ARDS发病机制的参与者,可以刺激丝裂原激活蛋白激酶(MAPK)、核苷结合域样受体蛋白3(NLRP3)炎性小体、NF- κ B等多种炎性信号通路,引起细胞损伤^[4,31-33]。而炎症细胞也可诱导ROS的过度生成,炎症因子如IL-6、TNF- α 的爆发可激活中性粒细胞,引起一氧化氮合酶表达增加,导致生成大量一氧化氮,一氧化二氮和超氧自由基发生反应,产生ROS和过氧亚硝酸盐而发生细胞毒性作用,过度活化核修复酶PARP,导致ATP耗尽和细胞损伤,从而加速ALI/ARDS的发生及发展^[34-36]。那BMSC对AEC II细胞的保护作用是否与抑制炎症反应相关?并且BMSC抑制ROS生成、减轻氧化应激的分子机制是什么?与MAPK、NLRP3炎性小体、NF- κ B等多种炎性信号通路是否存在必然联系?这将是我们下一步的研究重点。

综上所述,本研究目前的研究明确BMSC能显著减轻LPS诱导的AEC II细胞的ROS生成,同时能正向调节其抗氧化的能力,可以一定程度上抑制LPS诱导的AEC II细胞的氧化应激反应。由此我们认为抑制肺泡上皮细胞氧化应激状态下ROS的产生、增强肺泡上皮细胞抗氧化的能力,或许可以成为治疗ALI/ARDS的新策略之一。

【参考文献】

- [1] Lee J W, Fang X, Gupta N, et al. Allogeneic human mesenchymal stem cells for treatment of E. coli endotoxin-induced acute lung injury in the ex vivo perfused human lung[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2009,106(38):16357-16362.
- [2] Tuerdi B, Zuo L, Ma Y, et al. Downregulation of miR-155 attenuates sepsis-induced acute lung injury by targeting SIRT1[J]. Int J Clin Exp Pathol,2018,11(9):4483-4492.
- [3] Zhu X, Wang B, Zhang X, et al. Alpha-linolenic acid protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury through anti-inflammatory and anti-oxidative pathways[J]. Microb Pathog, 2020,142:104077.
- [4] Lu Y, Yu T, Liu J, et al. Vitexin attenuates lipopolysaccharide-in-

- duced acute lung injury by controlling the Nrf2 pathway[J]. PLoS One,2018,13(4):e196405.
- [5] Li D, Cong Z, Yang C, et al. Inhibition of LPS-induced Nox2 activation by VAS2870 protects alveolar epithelial cells through eliminating ROS and restoring tight junctions[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2020, 524(3): 575-581.
- [6] El-Agamy DS. Nilotinib ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats[J]. Toxicol Appl Pharmacol,2011,253(2): 153-160.
- [7] Ye W, Zheng C, Yu D, et al. Lipoxin A4 Ameliorates Acute Pancreatitis-Associated Acute Lung Injury through the Antioxidative and Anti-Inflammatory Effects of the Nrf2 Pathway[J]. Oxid Med Cell Longev,2019,2019: 2197017.
- [8] Meng X, Hu L, Li W. Baicalin ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice by suppressing oxidative stress and inflammation via the activation of the Nrf2-mediated HO-1 signaling pathway[J]. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology,2019,392(11):1421-1433.
- [9] Carroll SH, Wigner NA, Kulkarni N, et al. A2B Adenosine Receptor Promotes Mesenchymal Stem Cell Differentiation to Osteoblasts and Bone Formation in Vivo[J]. J Biol Chem,2012,287(19):15718-15727.
- [10] 刘珍君,王波,肖梦媛,等. 骨髓间充质干细胞及其外泌体干预自发性高血压大鼠降低脑卒中风险研究[J]. 转化医学杂志, 2020,9(2):79-83.
- [11] Stripp BR, Shapiro SD. Stem cells in lung disease, repair, and the potential for therapeutic interventions: state-of-the-art and future challenges[J]. Am J Respir Cell Mol Biol,2006,34(5):517-518.
- [12] Feng Y, Xu Q, Yang Y, et al. The therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in the acute lung injury induced by sulfur mustard[J]. Stem Cell Res Ther,2019,10(1):90.
- [13] Wang J, Qin Y, Mi X. The protective effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cell (BMSC) on LPS-induced acute lung injury via TLR3-mediated IFNs, MAPK and NF- κ B signaling pathways[J]. Biomed Pharmacother,2016(79):176-187.
- [14] 陈旭昕,汪文婧,胥颀,等. 间充质干细胞对脂多糖刺激下肺微血管内皮细胞增殖及周期的影响[J]. 实用医学杂志,2019,35(10):1577-1580.
- [15] Okubo T, Suzuki T, Hosaka M, et al. Effects Induced by Organic Acids in a Human Lung Alveolar Carcinoma Cell Line A549[J]. Yakugaku zasshi,2016,136(10):1433-1438.
- [16] Giard DJ, Aaronson SA, Todaro GJ, et al. In vitro cultivation of human tumors establishment of cell lines derived from a series of solid tumors[J]. J Natl Cancer Inst,1973,51(5):1417-1423.
- [17] Gao N, Wang Y, Zheng CM, et al. β 2-Microglobulin participates in development of lung emphysema by inducing lung epithelial cells senescence[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol,2017, 312(5): L669-L677.
- [18] Kucukgul A, Erdogan S. Low concentration of oleic acid exacerbates LPS-induced cell death and inflammation in human alveolar epithelial cells[J]. Exp Lung Res,2017,43(1):1-7.
- [19] He HL, Liu L, Chen QH, et al. MSCs modified with ACE2 restore endothelial function following LPS challenge by inhibiting the activation of RAS [J]. J Cell Physiol,2015,230(3):691-701.
- [20] Zeng L, Yang XT, Li HS, et al. The cellular kinetics of lung alveolar epithelial cells and its relationship with lung tissue repair after acute lung injury[J]. Respir Res,2016,17(1):164.
- [21] Di A, Mehta D, Malik AB. ROS-activated calcium signaling mechanisms regulating endothelial barrier function[J]. Cell Calcium,2016,60(3):163-171.