

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.20.003

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20230824.1114.002\(2023-08-25\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20230824.1114.002(2023-08-25))UO126 干预 MSCs 修复肺上皮细胞损伤的作用研究^{*}冯 静,吴友良,陈 霞[△],杨 艳,向 萍,刘富春

(陆军第九五八医院儿科,重庆 400020)

[摘要] **目的** 探讨 MEK1/2 特异性抑制剂 UO126 对间充质干细胞(MSCs)修复急性肺损伤(ALI)细胞模型作用的影响。**方法** 脂多糖(LPS)刺激肺上皮细胞(AEC)后与 MSCs 共培养,继而加入 UO126 分为 AEC 组、AEC+LPS 组、AEC+LPS+MSCs 组、AEC+LPS+MSCs+UO126 组。流式细胞术分离共培养细胞,测定 AEC 线粒体膜电位、腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)、细胞凋亡、caspase-1 活性及培养液中线粒体相关功能蛋白[融合蛋白 1(MFN1)、线粒体 RhoGTP 酶 1(Miro1)、核转录因子(NRF1)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子-1 α (PGC-1 α)、线粒体转录因子 A(TFAM)]水平。**结果** AEC+LPS 组细胞凋亡指数、caspase-1 活性较 AEC 组升高,而细胞活力、线粒体膜电位、ATP 值和 MFN1、Miro1、NRF1、PGC-1 α 、TFAM 水平较 AEC 组降低;AEC+LPS+MSCs 组细胞凋亡指数、caspase-1 活性较 AEC+LPS 组降低,而细胞活力、线粒体膜电位、ATP 值和 MFN1、Miro1、NRF1、PGC-1 α 、TFAM 水平较 AEC+LPS 组升高;AEC+LPS+MSCs+UO126 组细胞凋亡指数、caspase-1 活性较 AEC+LPS+MSCs 组降低,而细胞活力、线粒体膜电位、ATP 值和 Miro1、TFAM 水平较 AEC+LPS+MSCs 组升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** UO126 可增强 MSCs 对 LPS 诱导下 AEC 损伤的修复功效,此功能可能与调节 AEC 线粒体功能有关。

[关键词] UO126;间充质干细胞;肺上皮细胞;脂多糖;细胞凋亡**[中图分类号]** R563**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2023)20-3055-06Effect of UO126 intervention on MSCs in repairing lung epithelial cell damage^{*}FENG Jing, WU Youliang, CHEN Xia[△], YANG Yan, XIANG Ping, LIU Fuchun

(Department of Pediatrics, the 958th Hospital of PLA Army, Chongqing 400020, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of MEK1/2 specific inhibitor UO126 on mesenchymal stem cells (MSCs) repairing acute lung injury (ALI) cell model. **Methods** Alveolar epithelial cell (AEC) were stimulated by lipopolysaccharide (LPS) and co-cultured with MSCs. Flow cytometry was used to isolate the co-cultured cells, and the mitochondrial membrane potential, adenine nucleoside triphosphate (ATP), cell apoptosis, caspase-1 activity, and the levels of mitochondria-related functional proteins in the culture medium (MFN1, Miro1, NRF1, PGC-1 α , and TFAM) were measured. **Results** Apoptotic index and caspase-1 activity in the AEC+LPS group were higher than those in the AEC group, while cell viability, mitochondrial membrane potential, ATP value and MFN1, Miro1, NRF1, PGC-1 α and TFAM levels were lower than those in the AEC group. Apoptotic index and caspase-1 activity of the AEC+LPS+MSCs group were decreased compared with the AEC+LPS group, while cell viability, mitochondrial membrane potential, ATP value and MFN1, Miro1, NRF1, PGC-1 α and TFAM levels were increased compared with the AEC+LPS group. Apoptosis index and caspase-1 activity of the AEC+LPS+MSCs+UO126 group were lower than those of the AEC+LPS+MSCs group, while cell viability, mitochondrial membrane potential, ATP value, Miro1 and TFAM levels were higher than those of the AEC+LPS+MSCs group, with statistical significance ($P<0.05$). **Conclusion** UO126 can enhance the repair effect of MSCs on AEC damage induced by LPS, which may be related to the regulation of AEC mitochondrial function.

[Key words] UO126; mesenchymal stem cell; alveolar epithelial cell; lipopolysaccharide; apoptosis

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)/急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome,

^{*} 基金项目:重庆市科卫联合医学科研项目(2022MSX029);陆军军医大学科技创新能力提升专项项目(2022XJS18)。 作者简介:冯静(1981—),主治医师,学士,主要从事难治性呼吸道疾病诊治研究。 [△] 通信作者, E-mail:06chenxia@163.com。

ARDS)是一种死亡率高达 40%~70%的肺部炎症性疾病,现有临床治疗措施有限且疗效较差。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)因具备组织损伤修复、免疫调控等功能,在 ALI/ARDS 治疗方面表现出强大的治疗潜力^[1],但部分临床研究也发现单独 MSCs 移植效果尚未达到临床治愈标准,在减少肺上皮细胞氧化应激损伤及凋亡等方面存在不足^[2]。如何提高 MSCs 修复功能将成为促进其未来临床推广应用的关键。本课题组前期证实了 MSCs 可修复脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的 ALI 细胞模型中肺上皮细胞(alveolar epithelial cells, AEC)损伤。最新研究已发现,机体出现 ALI 的关键机制之一在于体内的活性氧产生增加,从而导致细胞凋亡加速,而 MEK1/2 特异性抑制剂(UO126)能有效抑制细胞氧化损伤^[3]。因此本研究首先采用 LPS 诱导 AEC 损伤,然后将 UO126 加入 AEC 和 MSCs 共培养液中,探索 UO126 在 MSCs 干预 LPS 诱导 ALI 细胞模型中的作用,为提高 MSCs 移植疗效提供新举措,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞

人正常肺上皮细胞株和骨髓 MSCs 购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

1.1.2 主要试剂

线粒体膜电位测定试剂盒、CCK-8 检测试剂盒购自东仁化学科技(上海)有限公司,细胞腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)测定试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司, TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒、caspase-1 活性检测试剂盒购自大连美仑生物技术有限公司,特级胎牛血清购自美国 Clark Bioscience 公司, UO126 购自北京百奥莱博科技有限公司,融合蛋白 1 (Mitofusin 1, MFN1)、线粒体 RhoG-TP 酶 1 (mitochondrial Rho-GTPase 1, Miro1)、核转录因子(nuclear respiratory factor, NRF1)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α , PGC-1 α)、线粒体转录因子 A (mitochondrial transcription factor A, TFAM) ELISA 检测试剂盒购自武汉菲恩生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 实验分组

实验分成 AEC 组、AEC+LPS 组、AEC+LPS+MSCs 组、AEC+LPS+MSCs+UO126 (配制浓度为 0.3 nmol/L) 组。UO126 配制浓度根据前期实验及 RAHMAN 等^[4]研究。

1.2.2 LPS 诱导肺上皮细胞损伤模型的建立

取 AEC 5×10^6 /mL 接种于 6 孔板 DEME 培养

液中,根据既往课题组研究加入 10 μ g/mL 的 LPS 继续培养,建立 ALI 细胞模型。

1.2.3 AEC 和 MSCs 共培养

AEC 培养液中加入 10 μ g/mL LPS, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO_2 培养箱中培养 72 h。取 MSCs 悬液 500 μ L, 细胞密度 5×10^6 /mL 直接加入 AEC 培养瓶中, 5% CO_2 培养箱中培养 48~72 h。

1.2.4 流式细胞分选术

无菌条件下采用流式细胞分选术,将混合共培养 AEC 和 MSCs 相互分离。利用增强绿色荧光蛋白 (enhanced green fluorescent protein, EGFP) 的标记将其中阴性表达的上皮细胞群进一步分选,将分选出的细胞接种于 96 孔板内激光共聚焦显微镜下观察,证实分选出的细胞为 EGFP 阴性,且呈现出内皮细胞特征性的大小均一的短梭形状。分选出的用于后续的细胞凋亡、细胞活性分析等实验。

1.2.5 CCK-8 测定

检测加入 UO126 48 h 后对 AEC 及共培养细胞活力的影响。在 96 孔板中接种细胞悬液 (100 μ L/孔), 将培养板放在培养箱预培养 (在 37 $^{\circ}$ C, 5% CO_2 的条件下), 向每孔加入 10 μ L 的 CCK-8 溶液, 继续将培养板在培养箱内培养 1~4 h。用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度(A)值。

1.2.6 线粒体膜电位的测定

把配制好的 JC-1 染色工作液用 JC-1 染色缓冲液稀释 5 倍, 加入 0.2 mL 总蛋白量为 100 μ g 纯化的线粒体, 用荧光分光光度计检测。

1.2.7 细胞 ATP 测定

加 100 μ L ATP 检测工作液到检测孔或检测管内。在检测孔或检测管内加上 20 μ L 样品或标准品, 迅速用枪(微量移液器)混匀, 至少间隔 2 s 后, 用光度计或液闪仪测定相对光单位 (relative light unit, RLU) 值。根据标准曲线计算出样品中 ATP 的浓度。

1.2.8 TUNEL 检测细胞凋亡

免疫染色固定液 (P0098) 固定细胞 30 min, 再加入免疫染色强力通透液 (P0097) 室温孵育 5 min。荧光显微镜下观察细胞并计算凋亡率。

1.2.9 caspase-1 活性检测

用按照每 200 万细胞加入 100 μ L 裂解液的比例加入裂解液, 重悬沉淀, 冰浴裂解 15 min。把上清液转移到冰上预冷的离心管中, 立即测定 caspase-1 的酶活性或 -70 $^{\circ}$ C 保存样品。

1.2.10 线粒体相关蛋白水平测定

采用生物素耦联抗体作为检测抗体, 依次将标准品、待测样品和生物素耦联检测抗体加入孔中, 用洗涤液洗去未结合的成分。加入辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP)-链霉亲和素, 用洗涤液洗去未结合的偶联物。再将四甲基联苯胺 (trime-

thylbenzene, TMB)底物溶液添加到每个孔中进行显色。通过添加硫酸溶液终止酶-底物反应,并通过分光光度法在 450 nm 的波长处测定 A 值,通过曲线软件方程计算蛋白水平。

1.3 统计学处理

采用 SPSS20.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内比较采用 SNK-*q* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

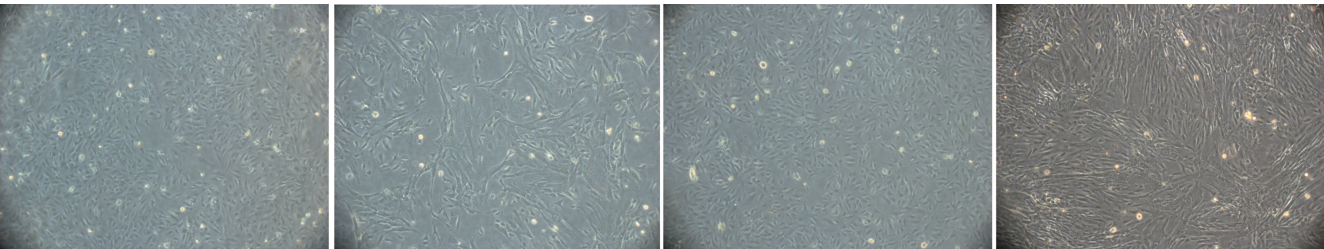


图 1 各组细胞形态及数量比较(100×)

2.2 各组细胞活力比较

AEC + LPS 组细胞活力较 AEC 组降低,而 AEC+LPS+MSCs 组细胞活力较 AEC+LPS 组升高,AEC+LPS+MSCs+UO126 组较 AEC+LPS+MSCs 组升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 2。

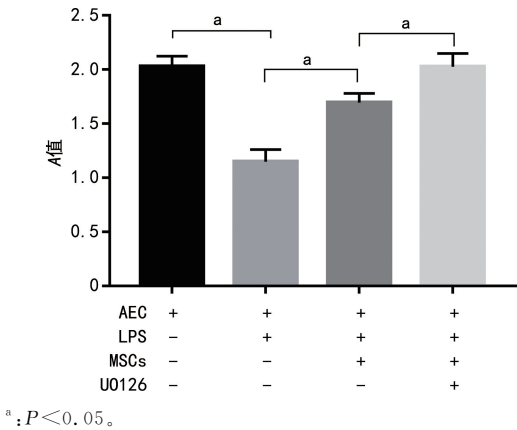


图 2 各组细胞活力比较

2.3 各组线粒体膜电位比较

AEC+LPS 组线粒体膜电位较 AEC 组降低,而 AEC+LPS+MSCs 组线粒体膜电位较 AEC+LPS 组升高,AEC+LPS+MSCs+UO126 组较 AEC+LPS+MSCs 组升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 3。

2.4 各组 ATP 值比较

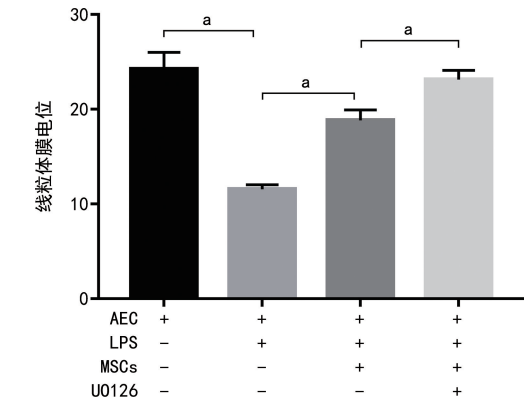
AEC + LPS 组 ATP 值较 AEC 组降低,而 AEC+LPS+MSCs 组 ATP 值较 AEC+LPS 组升高,AEC+LPS+MSCs+UO126 组较 AEC+LPS+MSCs 组升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见

2 结 果

2.1 各组细胞形态及数量比较

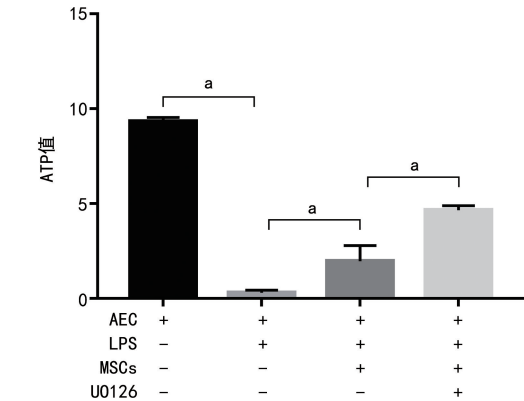
镜下可见 AEC 组细胞贴壁生长,呈梭形、扁平立方形、多角形等多种形态生长,以梭形最为常见,AEC+LPS 组细胞数量减少。AEC+LPS+MSCs 组可见呈短梭形、三角形或多边形生长的 MSCs,AEC+LPS+MSCs+UO126 组两种细胞均可见,数量较 AEC+LPS+MSCs 组增加,见图 1。

图 4。



^a: $P < 0.05$ 。

图 3 各组线粒体膜电位比较



^a: $P < 0.05$ 。

图 4 各组 AEC 细胞 ATP 值比较

2.5 各组细胞凋亡指数比较

AEC+LPS 组细胞凋亡指数较 AEC 组升高,而 AEC+LPS+MSCs 组细胞凋亡指数较 AEC+LPS 组降低,AEC+LPS+MSCs+UO126 组较 AEC+

LPS+MSCs 组降低,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 5。

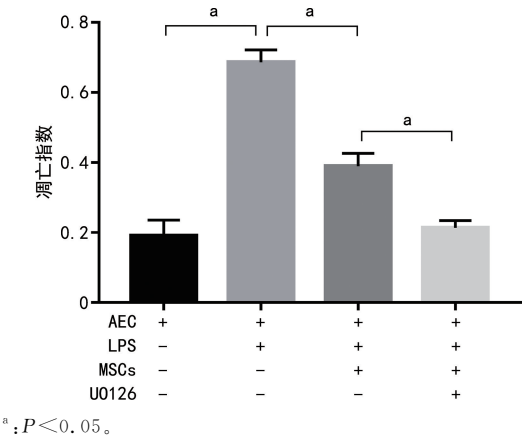


图 5 各组细胞凋亡指数比较

2.6 各组 caspase-1 活性比较

AEC+LPS 组 caspase-1 活性较 AEC 组升高,而 AEC+LPS+MSCs 组 caspase-1 活性较 AEC+LPS 组降低,AEC+LPS+MSCs+UO126 组较 AEC+LPS+MSCs 组降低,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 6。

2.7 各组细胞培养液线粒体蛋白水平比较

AEC+LPS 组 MFN1、Miro1、NRF1、PGC-1 α 、TFAM 水平较 AEC 组降低,而 AEC+LPS+MSCs 组 MFN1、Miro1、NRF1、PGC-1 α 、TFAM 水平较 AEC+LPS 组升高,AEC+LPS+MSCs+UO126 组 Miro1、TFAM 水平较 AEC+LPS+MSCs 组升高,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 7。

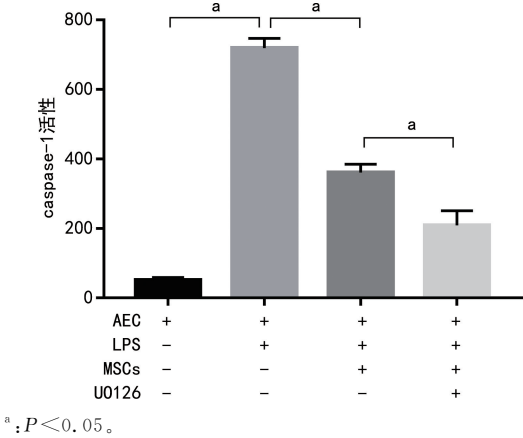
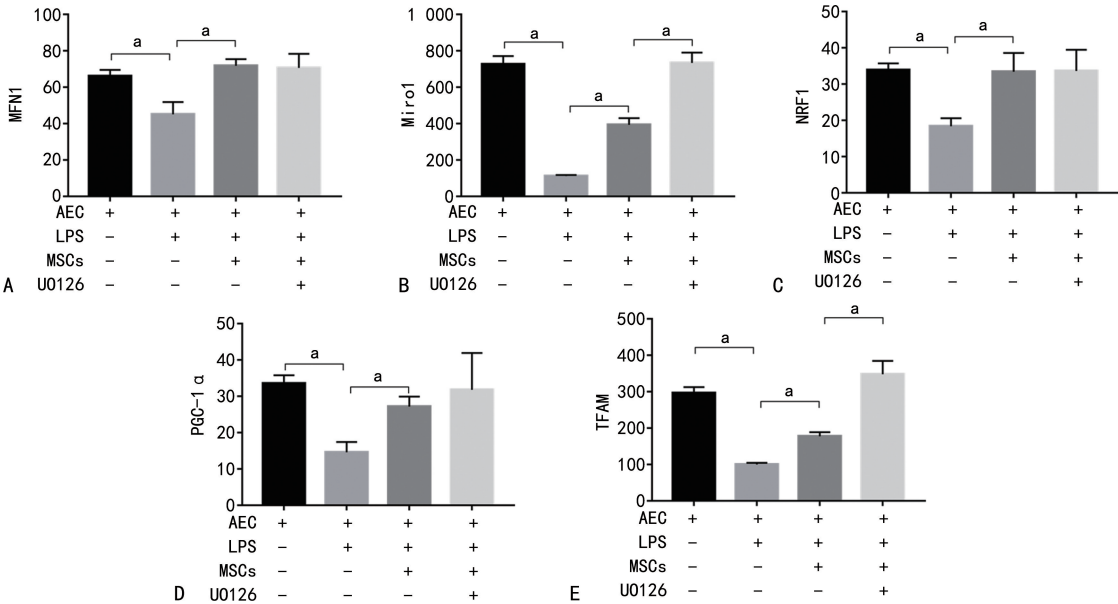


图 6 各组 caspase-1 活性比较



A:MFN1 蛋白水平比较;B:Miro1 蛋白水平比较;C:NRF1 蛋白水平比较;D:PGC-1 α 蛋白水平比较;E:TFAM 蛋白水平比较;^a: $P<0.05$ 。

图 7 各组细胞培养液线粒体蛋白水平比较

3 讨 论

ALI 常见病理表现为弥漫性 AEC 损伤,导致 AEC 的过度炎症和凋亡,肺部持续性和重复性损伤可导致肺纤维化,形成不可逆的、严重呼吸功能损伤^[5]。由于现有治疗药物的药代动力学研究不足、个体差异性等多种因素,目前仍缺乏有效的 ALI 治疗药物。国内外学者为探求 ALI 新治疗措施,开展大量动物或细胞模型研究,其中 LPS 作为重要的炎症诱导物被广泛应用^[6]。近年来开展的有关 ALI 临床创新研究中, MSCs 移植已被证实是一种极具有潜力的治疗手段。

MSCs 不仅有免疫及替代作用,且分泌的外泌体可介导 miR-23a-3p 和 miR-182-5p 通过抑制 B 细胞 κ 轻链基因增强子抑制因子激酶 ϵ (Inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells kinase epsilon, Ikbkb) 和破坏 kappa B 抑制因子激酶 (inhibitor of kappa B kinase, IKK) β 来抑制核因子- κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 和 hedgehog 通路,逆转 LPS 诱导的肺损伤和纤维化的进展^[7]。但越来越多的研究者发现单独 MSCs 移植疗效不稳定,对受损的 AEC 修复效果尚不足,分化细胞的活力及线粒体功能等不

能取代受损组织,而免疫调节作用可能为 MSCs 治疗 ALI 的关键作用机制之一。因此临床上需要反复多次输注细胞,这就导致 ALI 恢复时间延长、临床推广困难等问题,因此探讨提高 MSCs 移植疗效加强保护功能的新措施逐渐成为近年关注热点之一^[8]。

研究证实细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)信号级联参与了肺损伤的炎症反应。ERK 上游激酶 MEK1/2 的特异性抑制剂——UO126 在体内和体外均能抑制 ERK 的磷酸化。多种动物疾病模型已明确, UO126 可以部分通过调节白细胞反应来减少有害的炎症反应^[9]。两种肺损伤小鼠模型包括 LPS 诱导和铜绿假单胞菌感染的细菌性肺炎模型均证实, 通过药物抑制 MEK1/2 信号途径可以增强体内白细胞介素(interleukin, IL)-4/IL-13 应答基因表达, 24~72 h 后小鼠活力增加, 更快恢复体重, 肺中性粒细胞减少, 巨噬细胞 M2 极化增强。进一步体外研究发现 LPS 刺激新鲜分离的人外周血单个核细胞, UO126 可剂量依赖性地阻断 IL-2 和肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor- α , TNF- α)的释放^[10]。早期研究发现 LPS 诱导急性肺损伤小鼠模型中, 支气管肺泡灌洗液可见大量的中性粒细胞和促炎细胞因子^[11]。如果使用 UO126 预处理小鼠可明显减少肺泡中性粒细胞水平, 降低支气管肺泡液中 TNF- α 、趋化性的巨噬细胞炎症蛋白-2 和 KC 水平^[12]。UO126 还可以降低支气管肺泡灌洗液中的血管渗漏的标志——白蛋白水平^[13], 减少机体游离脂肪酸诱导的中性粒细胞及其胞外诱捕网产生^[3]。肺组织学检查显示, 使用 UO126 通过抑制 MEK1/2, 可有效减弱 LPS 诱导的肺部炎症反应。这些研究均表明 UO126 可能成为提高 MSCs 移植疗效的措施之一。

本研究首先根据前期研究结果及 RAHMAN 等^[4]研究, 发现 LPS 对 AEC 细胞活力、ATP 值、线粒体蛋白水平均有明显影响, 而 MSCs 可明显降低 LPS 诱导的 AEC 细胞凋亡指数、caspase-1 活性, 提高线粒体膜电位、ATP 值。随之将 UO126 加入 LPS 刺激下的 AEC 与 MSCs 共培养板中, 发现 UO126 可进一步降低共培养组 AEC 的 caspase-1 活性及细胞凋亡指数, 提高线粒体膜电位、ATP 值。因此, UO126 可以明显提高 MSC 对 LPS 诱导下 AEC 损伤的保护作用, 但其可能的作用途径尚不清楚, 需进一步的探索。

近年研究表明, UO126 可以影响线粒体生物能学^[14-15]。在一项代谢分析测量中发现 UO126 可以影响还原型辅酶 I [nicotinamide adenine dinucleotide, NAD(H)]的实时氧化状态、电子传递链的血红素和完整的活细胞内的氧消耗, 即使结构不同的 MEK1/2 抑制剂对线粒体代谢有直接的、剂量依赖的影响^[16]。UO126 引起 NAD(H)还原、血红素氧化和耗氧量降低, 具有复合物 I 抑制特性^[17-18]。另有研究证实 UO126 作用是与代谢密切相关, 而对代谢的影响是随着线粒体调控而不是 MEK1/2 的抑制而发生的^[19-20]。

因此, UO126 提高 MSCs 治疗疗效可能与调控细胞线粒体功能有关, 故本研究主要测定了各组细胞培养液中维持线粒体的运动、形态、能量代谢都具有重要意义的 MFN1、Miro1、NRF1、PGC-1 α 、TFAM 水平。MFN1 线粒体融合必需的分子, 介导线粒体外膜融合^[21]。Miro1 作为线粒体外膜的 GTPase 家族成员, 是线粒体移动相关的重要蛋白, 与线粒体的运动功能密切相关^[22]。NRF1、TFAM 是调控线粒体基因复制、转录表达的因子^[23]。PGC-1 α 作为线粒体生物合成路径中的关键环节, 影响能量代谢和线粒体生物发生等诸多方面^[24-25]。从实验中可以看出 LPS 可明显抑制 AEC 线粒体融合、合成、呼吸、移动等功能, 而 MSCs 可有效减弱这种抑制作用。UO126 可能通过抑制 MEK1/2 活性, 干预 LPS 诱导下共培养中细胞线粒体的 Miro1 及 TFAM 水平, 尤其对 Miro1 水平影响更为明显($P < 0.05$)。由此可见, UO126 可能通过提高 LPS 刺激下细胞线粒体移动功能增强 MSCs 的修复作用, 但对细胞线粒体融合、合成功能作用较弱。

综上所述, UO126 可有效增强 MSCs 保护功能减少 LPS 诱导下 AEC 损伤, 降低 AEC 凋亡, 提高细胞活力及线粒体合成 ATP, 此作用可能与调控 MSCs 与 AEC 间线粒体功能有关。本研究为临床提高 MSCs 移植治疗肺损伤疗效, 减少氧化损伤, 减轻细胞凋亡提供了新策略, 且提出调节 MSCs 线粒体功能尤其是线粒体移动功能可能是治疗 ALI 的关键, 今后本课题组也将对 UO126 干预 MSCs 线粒体功能的机制进行深入探索。

参考文献

- [1] XIAO K, HE W, GUAN W, et al. Mesenchymal stem cells reverse EMT process through blocking the activation of NF- κ B and Hedgehog pathways in LPS-induced acute lung injury[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(10):863.
- [2] DOS SANTOS C C, AMATULLAH H, VASWANI C M, et al. Mesenchymal stromal (stem) cell therapy modulates miR-193b-5p expression to attenuate sepsis-induced acute lung injury[J]. Eur Respir J, 2022, 59(1):2004216.
- [3] CHEN W, CHEN H, YANG Z T, et al. Free fatty acids-induced neutrophil extracellular traps lead to dendritic cells activation and T cell differentiation in acute lung injury[J]. Aging (Albany NY), 2021, 13(24):26148-26160.
- [4] RAHMAN M M, SARKER M T, ALAM TUMPA M A, et al. Exploring the recent trends in perturbing the cellular signaling pathways in cancer by natural products[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 950109.

- [5] LIU A,ZHANG X,HE H,et al. Therapeutic potential of mesenchymal stem/stromal cell-derived secretome and vesicles for lung injury and disease[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2020, 20(2):125-140.
- [6] QIAO Q,LIU X,YANG T,et al. Nanomedicine for acute respiratory distress syndrome: The latest application, targeting strategy, and rational design[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(10):3060-3091.
- [7] BOGATCHEVA N V,COLEMAN M E. Conditioned medium of mesenchymal stromal cells:a new class of therapeutics[J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2019, 84(11):1375-1389.
- [8] KASPI H,SEMO J,ABRAMOV N,et al. MSC-NTF (NurOwn[®]) exosomes;a novel therapeutic modality in the mouse LPS-induced ARDS model[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1):72.
- [9] JONAS A M,RAJ R. Vaping-related acute parenchymal lung injury;a systematic review[J]. *Chest*, 2020, 158(4):1555-1565.
- [10] MOKRÁ D. Acute lung injury-from pathophysiology to treatment[J]. *Physiol Res*, 2020, 69(Suppl. 3):353-366.
- [11] WU D,ZHANG H,WU Q,et al. Sestrin 2 protects against LPS-induced acute lung injury by inducing mitophagy in alveolar macrophages[J]. *Life Sci*, 2021, 267:118941.
- [12] HUIDOBRO C,MARTÍN-VICENTE P,LÓPEZ-MARTÍNEZ C,et al. Cellular and molecular features of senescence in acute lung injury[J]. *Mech Ageing Dev*, 2021, 193:111410.
- [13] LONG M E,GONG K Q,EDDY W E,et al. MEK1 regulates pulmonary macrophage inflammatory responses and resolution of acute lung injury[J]. *JCI Insight*, 2019, 4(23):e132377.
- [14] MURALEVA N A,KOLOSOVA N G,STEFANOVA N A. MEK1/2-ERK pathway alterations as a therapeutic target in sporadic Alzheimer's disease;a study in senescence-accelerated OXYS rats[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(7):1058.
- [15] DUTRA SILVA J,SU Y,CALFEE C S,et al. Mesenchymal stromal cell extracellular vesicles rescue mitochondrial dysfunction and improve barrier integrity in clinically relevant models of ARDS[J]. *Eur Respir J*, 2021, 58(1):2002978.
- [16] SU Y,GUO H,LIU Q. Effects of mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles in acute respiratory distress syndrome (ARDS): current understanding and future perspectives[J]. *J Leukoc Biol*, 2021, 110(1):27-38.
- [17] HOUSTON R,SEKINE Y,LARSEN M B,et al. Discovery of bactericides as an acute mitochondrial membrane damage inducer[J]. *Mol Biol Cell*, 2021, 32(21):ar32.
- [18] POPOV L D. Mitochondrial biogenesis;an update[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(9):4892-4899.
- [19] LIU W,LI Y,BO L,et al. Positive regulation of TFEB and mitophagy by PGC-1 α to alleviate LPS-induced acute lung injury in rats[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 577:1-5.
- [20] LAI X,HUANG S,LIN S,et al. Mesenchymal stromal cells attenuate alveolar type 2 cells senescence through regulating NAMPT-mediated NAD metabolism[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1):12.
- [21] MOUSAWI F,PENG H,LI J,et al. Chemical activation of the Piezo1 channel drives mesenchymal stem cell migration via inducing ATP release and activation of P2 receptor purinergic signaling[J]. *Stem Cells*, 2020, 38(3):410-421.
- [22] CASSANDRAS M,WANG C,KATHIRIYA J,et al. Gli1⁺ mesenchymal stromal cells form a pathological niche to promote airway progenitor metaplasia in the fibrotic lung[J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(11):1295-1306.
- [23] KUROGOUSHI R,HASEGAWA T,AKAZAWA Y,et al. Fibroblast growth factor 2 suppresses the expression of C-C motif chemokine 11 through the c-Jun N-terminal kinase pathway in human dental pulp-derived mesenchymal stem cells[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(6):1356.
- [24] LEVOUX J,PROLA A,LAFUSTE P,et al. Platelets facilitate the wound-healing capability of mesenchymal stem cells by mitochondrial transfer and metabolic reprogramming[J]. *Cell Metab*, 2021, 33(2):283-299.
- [25] KORPERSHOEK J V,RIKKERS M,WALLIS F S A,et al. Mitochondrial transport from mesenchymal stromal cells to chondrocytes increases dna content and proteoglycan deposition in vitro in 3D cultures[J]. *Cartilage*, 2022, 13(4):133-147.