DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2026.05.006

·基础研究·

间充质基质细胞外囊泡通过调控巨噬细胞炎症小体改善免疫检查点抑制剂相关肺炎

肖淑妍[1,2],薛丰沅[1],季殷敏[3],吕雅晖[1],董怡[1,2],胡毅[2,3](1.中国人民解放军医学院 临床医学系,北京 100853;2.中国人民解放军总医院第一医学中心 肿瘤内科,北京 100853;3.中国人民解放军总医院第五医学中心肿瘤医学部,北京 100039)

[摘 要] **目的**:探讨间充质基质细胞来源细胞外囊泡(MSC-EV)对小鼠免疫检查点抑制剂相关肺炎(CIP)模型的改善作用及分子机制。**方法**:选取Foxp3^{DTR}小鼠,皮下接种MC38小鼠结肠癌细胞,待肿瘤生长至可触及后,随机分为3组(每组$n=6$):①对照组;②CIP模型组[接种MC38细胞后腹腔注射白喉毒素(DT)及anti-PD-1抗体,构建Treg细胞耗竭联合anti-PD-1抗体诱导的小鼠CIP模型];③MSC-EV干预组(CIP模型基础上,经鼻滴注MSC-EV干预,剂量10^9个/只,每3天1次,共2次)。体内实验采用H-E染色观察肺组织病理损伤,测定肺干湿比评估肺水肿程度,ELISA检测支气管肺泡灌洗液(BALF)中IL-1β、IL-6及TNF-α水平,流式细胞术检测BALF中Ly6G$^+$粒细胞浸润比例,监测肿瘤体积评价抗肿瘤疗效。体外实验采用DiO荧光标记观察细胞外囊泡(EV)被骨髓来源巨噬细胞摄取的情况,WB法检测NOD样受体家族含Pyrin域蛋白3(NLRP3)炎症小体关键蛋白(剪切型GSDMD、成熟型IL-1β)的表达水平。结合GEO数据库miRNA测序数据(GSE69909)、Dicer敲低及miR-21/miR-125抑制剂干预揭示潜在机制。**结果**:MSC-EV经鼻滴注可减轻CIP模型小鼠肺部炎症损伤,降低BALF中IL-1β、IL-6、TNF-α水平及Ly6G$^+$粒细胞浸润比例($P<0.05$),且不削弱anti-PD-1抗体的抗肿瘤疗效。体外DiO标记示踪显示MSC-EV可被巨噬细胞摄取,WB法检测结果显示,MSC-EV可降低NLRP3炎症小体关键活化蛋白(剪切型GSDMD、成熟型IL-1β)水平($P<0.05$)。体外实验中,Dicer敲低后制备的MSC-EV对巨噬细胞IL-1β的下调作用减弱($P<0.05$)。miRNA测序显示miR-21、miR-125在MSC-EV中高表达,抑制miR-21或miR-125后,相应MSC-EV对巨噬细胞IL-1β剪切的抑制作用降低($P<0.05$)。**结论**:MSC-EV通过其携带的miR-21和miR-125等miRNA发挥抗炎效应,其机制可能与抑制巨噬细胞NLRP3炎症小体活化有关,可有效改善CIP且不影响免疫检查点抑制剂的抗肿瘤疗效。

[关键词] 细胞外囊泡;间充质基质细胞;免疫检查点抑制剂相关肺炎;巨噬细胞;NLRP3炎症小体
[中图分类号] R730.51;R563.1 [文献标识码] A [文章编号] 1007-385x(2026) 05-0521-08

Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles alleviate immune checkpoint inhibitor-related pneumonitis by regulating macrophage inflammasome activation

XIAO Shuyan[1,2], XUE Fengyuan[1], JI Yinmin[3], LYU Yahui[1], DONG Yi[1,2], HU Yi[2,3](1. Department of Clinical Medicine, Medical School of Chinese People's Liberation Army, Beijing 100853, China; 2. Department of Medical Oncology, The First Medical Center of Chinese People's Liberation Army General Hospital, Beijing 100853, China; 3. Department of Oncology, The Fifth Medical Center of Chinese People's Liberation Army General Hospital, Beijing 100039, China)

[Abstract] Objective: To investigate the therapeutic effect and molecular mechanism of mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles (MSC-EV) on immune checkpoint inhibitor-related pneumonitis (CIP) in a mouse model. **Methods:** Foxp3^{DTR} mice were inoculated with MC38 mouse colon cancer cells and randomly divided into 3 groups (n = 6 per group): ① control group (MC38 inoculation only); ② CIP model group (inoculated with MC38 cells, intraperitoneally injected with diphtheria toxin [DT] and anti-PD-1 antibody); ③ MSC-EV intervention group (based on the CIP model, intranasally administered with MSC-EV [dose 10^9 particles/mouse, every 3 days, 2 times in total]). A mouse CIP model induced by Treg depletion combined with anti-PD-1 antibody was established. *In vivo*, H-E staining was used to observe lung pathological injury, lung wet/dry ratio was measured to assess pulmonary edema, ELISA was used to detect IL-1β, IL-6, and TNF-α levels in bronchoalveolar lavage fluid (BALF), and flow

[作者简介] 肖淑妍,女,硕士生
[通信作者] 胡毅(扫码获取作者通信方式)

cytometry was used to detect the proportion of Ly6G$^+$ granulocyte infiltration in BALF. Tumor volume was monitored to evaluate antitumor efficacy. *In vitro*, DiO fluorescent labeling was used to observe the uptake of extracellular vesicles (EVs) by bone marrow-derived macrophages, and WB assay was used to detect the expression levels of key NLRP3 inflammasome proteins (cleaved GSDMD and mature IL-1β). Potential mechanisms were explored using GEO database miRNA sequencing data (GSE69909), Dicer knockdown, and miR-21/miR-125 inhibitor intervention. **Results:** Intranasal administration of MSC-EV alleviated lung inflammatory injury in CIP model mice, reduced IL-1β, IL-6, and TNF-α levels and the proportion of Ly6G$^+$ granulocyte infiltration in BALF ($P < 0.05$), without compromising the antitumor efficacy of anti-PD-1 antibody therapy. *In vitro* DiO labeling tracing showed that MSC-EV could be taken up by macrophages. WB assay showed that MSC-EV decreased the levels of key activated proteins (cleaved GSDMD and mature IL-1β) of the NLRP3 inflammasome ($P < 0.05$). *In vitro*, after Dicer knockdown, the MSC-EV showed a weakened downregulation effect on IL-1β in macrophages ($P < 0.05$). miRNA sequencing (GEO database, GSE69909) showed high expression of miR-21 and miR-125 in MSC-EV, and inhibition of miR-21 or miR-125 reduced the inhibitory effect of the corresponding MSC-EV on IL-1β cleavage in macrophages ($P < 0.05$). **Conclusion:** MSC-EV exert anti-inflammatory effects through their carried miRNAs such as miR-21 and miR-125, and the mechanism may be related to inhibition of NLRP3 inflammasome activation in macrophages, thereby effectively alleviating CIP without compromising the antitumor efficacy of immune checkpoint inhibitor.

[Key words] extracellular vesicle (EV); mesenchymal stromal cell (MSC); immune checkpoint inhibitor-related pneumonitis (CIP); macrophage; NLRP3 inflammasome

[Chin J Cancer Biother, 2026, 33(5): 521-527. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2026.05.006]

免疫检查点抑制剂（immune checkpoint inhibitor, ICI）已成为肿瘤治疗的重要手段[1-3]，但免疫检查点抑制剂相关肺炎（immune checkpoint inhibitor-related pneumonitis, CIP）作为严重免疫相关不良事件[4-5]，因临床缺乏安全有效的干预手段，已成为限制ICI应用的关键问题。炎症小体活化参与多种炎症发生发展，研究最多的是NOD样受体家族含Pyrin域蛋白3（NOD-like receptor family pyrin domain containing protein 3, NLRP3）炎症小体[6-7]。已有研究[8-10]表明，NLRP3炎症小体在ICI诱导的心肌炎中发挥核心调控作用。NLRP3炎症小体可能同样参与CIP的发病。间充质基质细胞来源细胞外囊泡（mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicle, MSC-EV）具有低免疫原性、高生物相容性，可作为生物活性载体递送miRNA，并有效调控巨噬细胞等免疫细胞功能[11-13]。MSC-EV可靶向定位于肺部巨噬细胞，通过调控巨噬细胞功能发挥抗炎效应[14-15]。基于此，MSC-EV可能通过携带功能性miRNA靶向肺部巨噬细胞，抑制NLRP3炎症小体活化，进而缓解CIP肺部炎症损伤。本研究通过构建小鼠CIP模型并给予MSC-EV经鼻干预，结合体内、体外实验与分子机制验证，明确MSC-EV改善CIP的效应及关键分子机制，为临床CIP治疗提供新策略。

1　材料与方法

1.1　实验动物

Foxp3^{DTR}小鼠及SPF级C57BL/6小鼠（6～8周龄，雄性，体质量20～22 g）购自上海南方模式实验动物技术有限公司，实验动物生产许可证号：SCXK（沪）2024-0007。所有小鼠饲养于中国人民解放军总医院实验动物中心SPF级环境中，温度22～26 ℃，相对湿度50%～60%，昼夜节律12 h/12 h，自由摄食饮水。本研究所有动物实验方案均经中国人民解放军总医院实验动物伦理委员会审核批准（2023-X19-105），严格遵循《实验动物福利伦理审查指南》执行。

1.2　细胞系与主要试剂

人胚肾293T细胞（HEK293T细胞）和MC38小鼠结肠癌细胞购自美国ATCC，人脐带MSC获自国家干细胞转化资源库，anti-PD-1抗体购自美国Bio X Cell公司，脂多糖（lipopolysaccharide, LPS）、细胞外囊泡（extracellular vesicle, EV）分离试剂盒、脂质体转染试剂iMAX均购自美国Invitrogen公司，透射电镜样品制备试剂盒购自美国Thermo公司，3, 3'-双十八烷基氧代羰花青高氯酸盐（3, 3'-dioctadecyloxacarbocyanine perchlorate, DiO）荧光标记试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒、红细胞裂解液、白喉毒素均购自上海碧云天生物技术股份有限公司，兔抗小鼠CD63、CD81、肿瘤易感基因101（tumor susceptibility gene 101, TSG101）、钙连蛋白（calnexin）、ALG-2相互作用蛋白X（ALG-2 interacting protein X，Alix）、NLRP3、IL-1β抗体均购自美国Abcam公司，RNA提取试剂盒、逆转录试剂盒、SYBR Green qPCR试剂盒均购自日本TaKaRa公司，miR-21抑制剂、miR-125抑制剂及其阴性对照均购自广州锐博生物科技有限公司，炎症因子检测ELISA试剂盒购自美国R&D Systems公司。切向流超滤系统（EXODUS H300型）购自深圳汇芯生物医疗科技有限公司，纳米颗粒追踪分析仪（ZetaView PMX-230型）购自德国PMX公司，透射电子显微镜（Talos L120C型）购自美国Thermo公司。

1.3 MSC-EV的分离、纯化与表征

收集人脐带MSC无血清培养上清液，顺次差速离心去除细胞及细胞碎片；处理后上清作为切向流超滤物料，采用300 kDa截留分子量膜包超滤，收集浓缩液；将浓缩液以100 000 × *g*离心60 min，沉淀重悬分装后置于－80℃保存以供鉴定和后续实验。透射电子显微镜拍照观察EV形态，纳米颗粒追踪分析仪进行纳米颗粒大小分析，WB法验证相关标志物表达。MSC-EV采用亲脂性荧光染料DiO进行膜荧光标记。将纯化外泌体与终浓度5 μmol/mL的DiO染液充分混匀，37 ℃避光反应20 min，经100 kDa超滤离心管洗涤去除未结合染料后，避光保存备用。

1.4 动物模型构建

采用先前报道的方法[16-17]，通过将Treg细胞耗竭与ICI治疗相结合，在Foxp3^{DTR}小鼠中，通过白喉毒素（diphtheria toxin, DT）给药和抗PD-1单克隆抗体治疗，建立具有CIP临床和病理表现的小鼠模型，通过肺组织H-E染色显示病理损伤判断建模成功。于小鼠背部皮下接种MC38细胞（1 × 10^6个/只），将MC38接种后第10天（肿瘤可触及）的Foxp3^{DTR}小鼠分为3组（每组6只）：①对照组，予等体积的PBS及同型对照IgG处理；②CIP模型组，腹腔注射DT（25 μg/kg），每3天1次，共3次，DT末次注射1天后开始腹腔注射anti-PD-1抗体（200 μg/只），每3天1次，共4次；③MSC-EV干预组，在CIP模型基础上，经鼻滴注MSC-EV干预，10^9个/只，20 μL，于第3、4次注射anti-PD-1抗体当天滴注。最后一次anti-PD-1抗体给药3 d后，小鼠经异氟烷麻醉后颈椎脱臼处死，收集肺肿瘤组织及BALF样本。

1.5 肺组织病理学观察及肺干湿比测定

每组取3只小鼠，处死后，取右侧肺组织置于4%多聚甲醛溶液中，室温固定24 h，常规脱水、石蜡包埋、切片（厚度5 μm）；脱蜡入水，苏木精染细胞核，水洗分化返蓝，伊红染细胞质，梯度乙醇脱水，二甲苯透明，中性树胶封片。取左侧肺组织，用滤纸吸干表面水分后，电子天平称取湿质量（*W*）；随后将肺组织置于60 ℃烘箱中烘干48 h，称取干质量（*D*），计算肺湿/干比（*W*/*D*）。

1.6 支气管肺泡灌洗液（bronchoalveolar lavage fluid, BALF）相关检测

每组取3只小鼠，处死后，暴露气管，插入静脉留置针，用1 mL PBS缓慢灌洗肺部，重复3次，收集BALF，于4℃、1 500 × *g*离心10 min，分离上清液及细胞沉淀。采用BCA蛋白定量试剂盒检测上清液总蛋白浓度；采用ELISA试剂盒检测BALF上清液中IL-1β、IL-6、TNF-α水平；将沉淀用PBS重悬，加入荧光标记的抗小鼠CD45、CD11b和抗淋巴细胞抗原6复合体G6位点（lymphocyte antigen 6 complex locus G6, Ly6G）抗体，4 ℃避光作用30 min，PBS洗涤2次后，流式细胞术检测Ly6G$^+$粒细胞比例。

1.7 骨髓来源巨噬细胞（bone marrow-derived macrophage, BMDM）的获取

取6～8周龄SPF级C57BL/6J小鼠，颈椎脱臼处死，75%乙醇浸泡消毒5 min。无菌条件下分离双侧股骨和胫骨，剔除附着的肌肉和结缔组织，PBS冲洗后，用1 mL注射器吸取PBS冲洗骨髓腔，收集骨髓细胞悬液。将细胞悬液轻轻吹打混匀，经70 μm孔径的细胞筛过滤去除骨碎片和组织残渣，采用红细胞裂解液重悬后作用5 min，离心后用含10% FBS、100 U/mL青霉素、100 μg/mL链霉素及20 ng/mL重组小鼠粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子（granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF）和10 ng/mL IL-4的RPMI 1640培养基重悬细胞，接种于细胞培养皿中，置于37 ℃、CO_2体积分数为5%的培养箱中培养至第3天，半量更换新鲜培养基，第6天全量更换培养基，培养至第7天，获得成熟的BMDM，用于后续实验。

1.8 NLRP3炎症小体激活

将培养成熟的BMDM分为3组：对照组、激活组和MSC-EV干预组。对照组不处理，激活组先加入终浓度为100 ng/mL LPS预处理6 h，随后弃去含LPS的培养基，加入含5 mmol/L ATP的无血清培养基刺激30 min，诱导NLRP3炎症小体激活。MSC-EV干预组在ATP处理前2 h加入MSC-EV至1×10^8个/mL，其余LPS预处理及ATP刺激步骤同激活组。

1.9 Dicer敲低（knockdown, KD）MSC构建

将合成的Dicer短发夹RNA（short hairpin RNA, shRNA）序列克隆至pLVX-shRNA-GFP慢病毒表达载体（含GFP报告基因）。随后将重组shRNA表达载体与慢病毒包装辅助质粒（pMD2.G、psPAX2）共转染至HEK293T细胞，获得慢病毒颗粒。将MSC接种于6孔板，培养至汇合度50%～60%时，加入慢病毒颗粒感染（MOI = 5），3 d后采用流式细胞术分选GFP阳性细胞。分别通过qPCR、WB法验证Dicer蛋白敲低效率，转染阴性对照shRNA的MSC作为对照细胞株。

1.10 miRNA抑制剂的转染与MSC-EV的制备

MSC接种并培养至汇合度约70%～80%时，采用脂质体转染试剂进行miRNA抑制剂转染。分为以下各组：miR-21抑制剂组、miR-125抑制剂组、联合抑制剂组（miR-21抑制剂与miR-125抑制剂按物质的量比1∶1混合）以及阴性对照组（转染阴性对照抑制

剂）。转染体系中，各组抑制剂的终浓度均设为100 nmol/L（联合抑制剂组为两者总浓度100 nmol/L）。转染操作严格按照试剂说明书进行，转染后继续常规培养48 h。

转染后，收集各组细胞上清液，采用超速离心法分离纯化EV，分别获得miR-21抑制型EV（miR-21 inh-EV）、miR-125抑制型EV（miR-125 inh-EV）、联合抑制型EV（联合inh-EV）、阴性对照EV（NC-EV）。

1.11　miRNA靶基因预测

采用TargetScan数据库（https://www.targetscan.org/vert_80/）预测潜在靶基因，分析跨物种保守性靶基因，结合预测结果与文献分析筛选炎症小体通路相关靶基因。

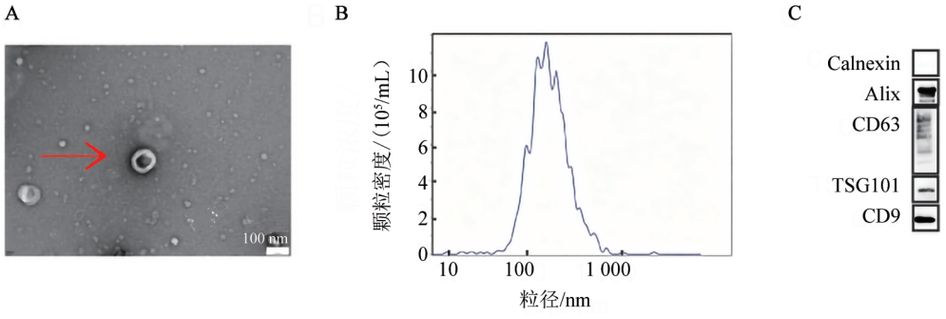
1.12　统计学处理

所有实验数据均采用GraphPad Prism 9.0软件进行统计分析，计量资料以$\bar{x} \pm s$表示。多组间比较采用单因素方差分析（one-way ANOVA），组间比较采用Tukey事后多重比较（Tukey's post hoc test）。以$P < 0.05$或$P < 0.01$表示差异具有统计学意义。

2　结　果

2.1　MSC-EV的分离与表征

对分离自MSC的EV进行了系统表征。透射电镜观察结果（图1A）显示，分离的EV呈典型的杯状或茶托状形态，符合EV的典型形态学特征；纳米颗粒追踪分析曲线图表明，EV的粒径主要集中在30～150 nm范围内（图1B），与EV的粒径分布范围一致；WB法检测结果（图1C）显示，该EV表达特征性标志物（如CD63、CD9、Alix、TSG101），而不表达细胞内蛋白标志物（如Calnexin），证实成功分离获得高纯度的MSC-EV，其中外泌体可能为主要囊泡类型。



A：透射电镜观察MSC-EV的形态，红色箭头指示典型杯状/茶托状EV结构；B：纳米颗粒追踪分析检测MSC-EV的粒径分布，曲线图显示粒径；C：WB法检测EV特征性标志物及细胞内杂质标志物。

图1　MSC-EV的分离与表征

2.2　MSC-EV经鼻滴注可显著改善CIP且不影响肿瘤治疗效果

构建CIP动物模型并进行经鼻滴注MSC-EV干预（图2A），评估MSC-EV对肿瘤治疗效果的影响，肿瘤生长曲线（图2B）显示，与CIP模型组相比，MSC-EV干预组小鼠的肿瘤生长速率无显著差异（$P > 0.05$）。

肺组织病理切片H-E染色结果（图2C）显示，CIP模型组小鼠肺组织较对照组存在明显的炎症浸润、肺泡结构破坏等损伤表现，MSC-EV治疗后，肺组织损伤程度减轻。肺湿/干比检测结果显示，MSC-EV干预组小鼠肺组织湿/干比显著低于模型组（图2D，$P < 0.05$）。

BALF相关检测结果（图2E、F）显示，MSC-EV干预组BALF中总蛋白浓度及炎症因子IL-1β、IL-6、TNF-α水平均显著低于CIP模型组（$P < 0.05$），其中IL-1β水平降低幅度最大。流式细胞术分析结果（图2G）显示，MSC-EV干预可显著降低BALF中粒细胞的比例，减少炎症细胞在肺部的浸润（$P < 0.05$）。

2.3　MSC-EV通过靶向巨噬细胞并抑制CIP炎症活化发挥治疗作用

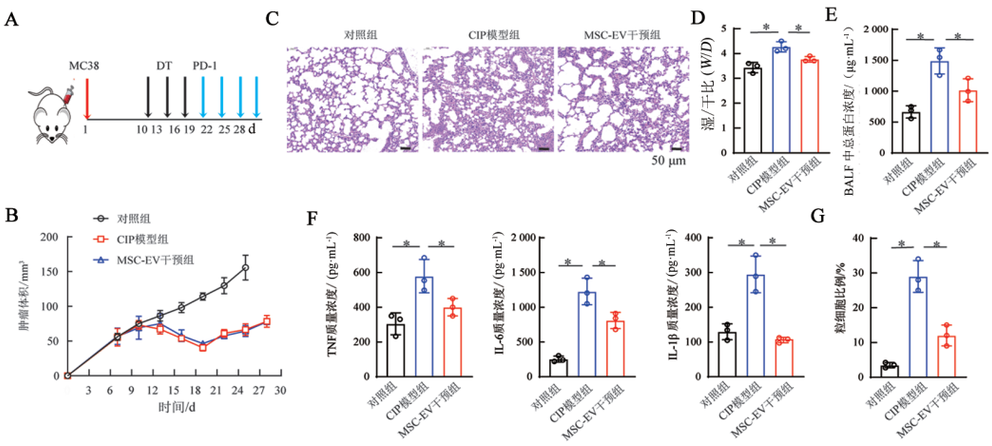
体外细胞实验结果显示，DiO标记的MSC-EV可被巨噬细胞有效摄取（图3A）。鉴于MSC-EV显著降低BALF中IL-1β水平，本研究进一步探讨其对巨噬细胞NLRP3炎症小体的调控作用。WB法检测结果（图3B、C）显示，与激活组相比，MSC-EV干预组巨噬细胞中炎症小体关键分子剪切型GSDMD和剪切型IL-1β（成熟体）的蛋白表达水平显著降低（$P < 0.05$）。

2.4　MSC-EV中的miRNA是其抑制巨噬细胞炎症反应的关键

为探究miRNA是否参与MSC-EV发挥抗CIP效应机制，利用Dicer敲低的MSC制备EV（KD-EV）。与野生型MSC来源的EV（WT-EV）相比，KD-EV的形态、粒径分布及特征性标志物表达均无显著差异

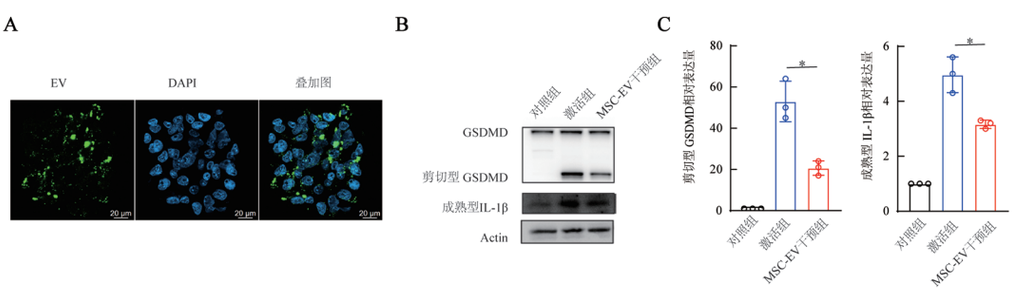
（图4A~C），提示Dicer基因敲低不影响MSC的EV产生及基本生物学特性。

体外巨噬细胞共培养实验结果显示，与WT-EV组相比，KD-EV组巨噬细胞中IL-1β剪切水平降低幅度显著减弱（图4D，$P < 0.05$），提示Dicer KD-EV的抗炎效应减弱。



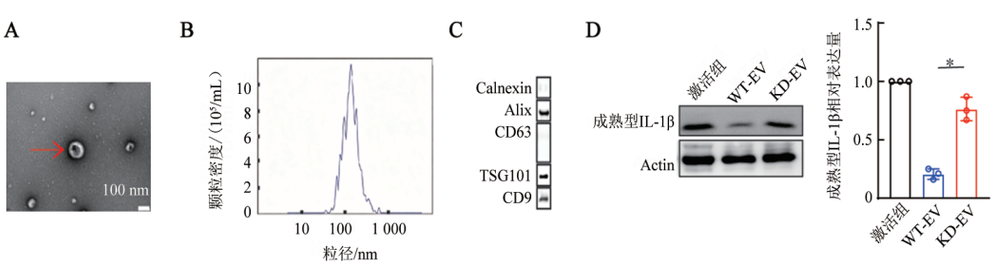
A：实验设计流程图；B：肿瘤生长曲线；C：肺组织H-E染色切片；D：肺湿/干比检测；E：BALF中总蛋白浓度；F：BALF中炎症因子IL-1β、IL-6、TNF-α水平检测；G：流式细胞术分析BALF中粒细胞（Ly6G⁺）的比例。*$P < 0.05$。

图2　MSC-EV经鼻滴注可改善CIP且不影响肿瘤免疫治疗效果



A：体外EV摄取实验，DiO标记的MSC-EV（绿色）与巨噬细胞共培养后，荧光显微镜观察巨噬细胞对EV的摄取情况；B、C：体外构建LPS＋ATP诱导的巨噬细胞炎症小体激活模型，WB检测炎症小体下游关键分子GSDMD及IL-1β成熟体的剪切水平。*$P < 0.05$。

图3　MSC-EV靶向巨噬细胞并抑制其炎症小体活化



A：透射电镜观察Dicer KD-EV形态；B：纳米颗粒追踪分析检测粒径分布；C：WB法检测特征性标志物表达；D：WB法检测WT-EV与Dicer KD-EV处理后巨噬细胞中IL-1β成熟体的剪切水平。*$P < 0.05$。

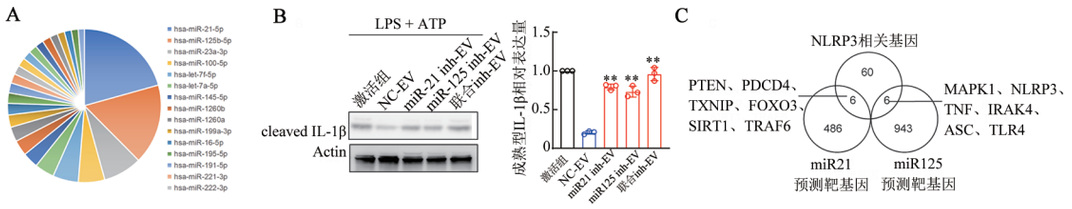
图4　MSC-EV中的miRNA是其抑制巨噬细胞炎症反应的关键

2.5　MSC-EV中高表达的miR-21和miR-125介导其抗炎效应并靶向炎症相关基因

为明确MSC-EV中发挥抗炎作用的具体miRNA，对WT-EV中的miRNA进行分析（GEO数据库，编号：GSE69909）。结果（图5A）显示，miR-21和miR-125等在MSC-EV中呈高表达。进一步利用miR-21抑制剂（miR-21 inh-EV组）、miR-125抑制剂（miR-125 inh-EV组）及两者联合抑制剂（联合inh-EV组）处理的MSC，并制备相应的EV，在体外分别与巨噬细胞共培养。结果显示，与NC-EV相比，上述miRNA抑制剂处理后的

MSC-EV（miR-21 inh-EV组和miR-125 inh-EV组）对巨噬细胞促炎因子IL-1β剪切的抑制作用均显著减弱，且联合inh-EV组的减弱效果最显著（图5B，$P < 0.01$）。

通过生物信息学预测分析（图5C），miR-21的潜在炎症相关靶基因包括PTEN、PDCD4等，miR-125的潜在炎症相关靶基因包括TNF-α、NLRP3等。



A：MSC-EV中miRNA高通量测序显示miRNA组成比例的饼图，其中miR-21和miR-125占比较高；B：WB法检测各组巨噬细胞中IL-1β成熟（剪切型）水平，与NC-EV相比，$^{**}P < 0.01$；C：生物信息学预测miR-21和miR-125的炎症相关潜在靶基因。

图5　MSC-EV中高表达的miR-21和miR-125介导其抗炎效应并靶向炎症相关基因

3　讨　论

CIP作为肿瘤免疫治疗中致命性的免疫相关不良事件，其治疗困境主要源于现有干预手段的局限性。临床常规采用糖皮质激素抑制全身炎症反应，但部分患者对激素不敏感，且长期使用会削弱ICI的抗肿瘤疗效，增加感染风险[18]。靶向炎症通路的抑制剂虽在动物实验中展现出抗炎潜力，但存在特异性不足、脱靶效应等问题，限制其临床转化。本研究发现，MSC-EV经鼻滴注可显著改善CIP小鼠的肺部炎症浸润和水肿症状，降低BALF中炎症因子水平及粒细胞浸润比例，且未影响ICI的抗肿瘤效果。本研究聚焦CIP这一特殊类型肺炎，探讨了MSC-EV在肿瘤免疫治疗背景下的改善作用及潜在适用性。

肺部炎症的调控核心在于免疫细胞的平衡稳态，巨噬细胞作为肺部主要的固有免疫细胞，其极化与炎症活化在CIP的发病中扮演关键角色[19-20]。已有研究证实，CIP患者肺组织中巨噬细胞大量浸润，且高表达IL-1β等炎症分子，加剧肺部损伤。本研究进一步证实，MSC-EV可特异性靶向肺部巨噬细胞，通过抑制NLRP3炎症小体的活化，抑制巨噬细胞的促炎反应。这与ZHANG等[21]在急性呼吸窘迫综合征（acute respiratory distress syndrome, ARDS）中的研究结论一致，即MSC-EV通过调控巨噬细胞功能发挥抗炎作用，本研究进一步将MSC-EV的抗炎作用与NLRP3炎症小体通路关联，并明确了其在CIP中的特异性作用，深化了对MSC-EV抗炎机制的理解。既往也有报道MSC-EV在急性肺损伤和ARDS中的应用[22]，且在肺纤维化中也展现出治疗潜力[23]，但CIP的发病机制有别于以上肺相关疾病，MSC-EV是否具有治疗效应以及起效机制仍然未有报道。本研究揭示了MSC-EV在CIP中的效应及相关机制，为临床CIP的治疗提供了新策略。

EV作为细胞间通信的载体，其功能依赖于携带的生物活性分子，其中miRNA因其靶向调控基因表达的特性，被认为是介导抗炎效应的核心成分[12]。本研究通过Dicer敲低实验证实，MSC-EV中的miRNA是其抑制巨噬细胞炎症反应的必需成分，敲低Dicer后，EV的抗炎活性显著减弱。高通量测序及抑制剂干预实验进一步筛选出miR-21和miR-125为关键功能分子，两者同时抑制可逆转MSC-EV的抗炎效应。miR-125可直接靶向NLRP3的3'UTR区域，抑制NLRP3基因表达，进而阻断炎症小体组装及Caspase-1活化，减少IL-1β、IL-18等促炎因子分泌[24]。此外，miR-125还可以靶向TNF-α等炎症因子的mRNA，抑制其表达与分泌[25]。miR-21也可以抑制NLRP3炎症小体活化[26]，但其机制并非直接靶向NLRP3的mRNA，可能是靶向PTEN、PDCD4，间接调控NLRP3炎症小体[27]。

本研究结果提示，MSC-EV经鼻滴注可通过富集miR-21和miR-125靶向调控肺部巨噬细胞NLRP3炎症小体活化，显著改善CIP的肺部炎症损伤，且不影响ICI的抗肿瘤疗效。这一研究不仅揭示了MSC-EV治疗CIP的全新分子机制，也为CIP的临床治疗提供了一种安全、有效的无细胞疗法，具有一定的理论意义和潜在的临床转化价值。

利益冲突声明：本研究不存在任何可能被解释为潜在利益冲突的商业或财务关系。

[参 考 文 献]

[1] SAMAN H, MAKNI-MAALEJ K, EL-ELLA D M A, et al. Immune checkpoint blockade in cancer: current insights and future horizons[J]. Discov Oncol, 2026, 17(1): 209. DOI:10.1007/s12672-025-04361-7.

[2] PAUKEN K E, ALHALABI O, GOSWAMI S, et al. Neoadjuvant immune checkpoint therapy: enabling insights into fundamental human immunology and clinical benefit[J]. Cancer Cell, 2025, 43

(4): 623-640. DOI:10.1016/j.ccell.2025.03.005.

[3] SUN Q, HONG Z Y, ZHANG C, et al. Immune checkpoint therapy for solid tumours: clinical dilemmas and future trends[J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8: 320. DOI: 10.1038/s41392-023--01522-4.

[4] BLUM S M, ROUHANI S J, SULLIVAN R J. Effects of immune-related adverse events (irAEs) and their treatment on antitumor immune responses[J]. Immunol Rev, 2023, 318(1): 167-178. DOI: 10.1111/imr.13262.

[5] ATCHLEY W T, ALVAREZ C, SAXENA-BEEM S, et al. Immune checkpoint inhibitor-related pneumonitis in lung cancer: real-world incidence, risk factors, and management practices across six health care centers in North Carolina[J]. Chest, 2021, 160(2): 731-742. DOI: 10.1016/j.chest.2021.02.032.

[6] FU J N, WU H. Structural mechanisms of NLRP3 inflammasome assembly and activation[J]. Annu Rev Immunol, 2023, 41: 301-316. DOI:10.1146/annurev-immunol-081022-021207.

[7] CHEN Y, YE X Y, ESCAMES G, et al. The NLRP3 inflammasome: contributions to inflammation-related diseases[J]. Cell Mol Biol Lett, 2023, 28(1): 51. DOI:10.1186/s11658-023-00462-9.

[8] QUAGLIARIELLO V, PASSARIELLO M, DI MAURO A, et al. Immune checkpoint inhibitor therapy increases systemic SDF-1, cardiac DAMPs Fibronectin-EDA, S100/Calgranulin, Galectine-3 and NLRP3-MyD88-chemokine pathways[J]. J Clin Oncol, 2022, 40(16_suppl): e14516. DOI:10.1200/jco.2022.40.16_suppl.e14516.

[9] ZHANG H, LIN J Y, SHEN Y H, et al. Protective effect of crocin on immune checkpoint inhibitors-related myocarditis through inhibiting NLRP3 mediated pyroptosis in cardiomyocytes via NF-κB pathway[J]. J Inflamm Res, 2022, 15: 1653-1666. DOI:10.2147/jir.s348464.

[10] CHEN Y X, LUO Y X, LIU Y W, et al. Mediation of macrophage M1 polarization dynamics change by ubiquitin-autophagy-pathway regulated NLRP3 inflammasomes in PD-1 inhibitor-related myocardial inflammatory injury[J]. Inflamm Res, 2025, 74(1): 56. DOI:10.1007/s00011-024-01979-1.

[11] GIEBEL B, LIM S K. Overcoming challenges in MSC-sEV therapeutics: insights and advances after a decade of research[J]. Cytotherapy, 2025, 27(7): 843-848. DOI:10.1016/j.jcyt.2025.03.505.

[12] DOS SANTOS C C, LOPES-PACHECO M, ENGLISH K, et al. The MSC-EV-microRNAome: a perspective on therapeutic mechanisms of action in sepsis and ARDS[J]. Cells, 2024, 13(2): 122. DOI:10.3390/cells13020122.

[13] WANG J M, XIA J, HUANG R Q, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles alter disease outcomes via endorsement of macrophage polarization[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 424. DOI:10.1186/s13287-020-01937-8.

[14] WANG X Y, LIU D Y, ZHANG X H, et al. Exosomes from adipose-derived mesenchymal stem cells alleviate sepsis-induced lung injury in mice by inhibiting the secretion of IL-27 in macrophages[J]. Cell Death Discov, 2022, 8: 18. DOI:10.1038/s41420-021-00785-6.

[15] FANG S B, ZHANG H Y, MENG X C, et al. Small extracellular vesicles derived from human MSCs prevent allergic airway inflammation via immunomodulation on pulmonary macrophages[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(6): 409. DOI:10.1038/s41419-020-2606-x.

[16] LIU J, BLAKE S J, HARJUNPÄÄ H, et al. Assessing immune-related adverse events of efficacious combination immunotherapies in preclinical models of cancer[J]. Cancer Res, 2016, 76(18): 5288-5301. DOI:10.1158/0008-5472.can-16-0194.

[17] FERREIRA C A, HEIDARI P, ATAEINIA B, et al. Non-invasive detection of immunotherapy-induced adverse events[J]. Clin Cancer Res, 2021, 27(19): 5353-5364. DOI:10.1158/1078-0432.ccr-20-4641.

[18] SCHNEIDER B J, NAIDOO J, SANTOMASSO B D, et al. Management of immune-related adverse events in patients treated with immune checkpoint inhibitor therapy: ASCO guideline update [J]. J Clin Oncol, 2021, 39(36): 4073-4126. DOI: 10.1200/jco.21.01440.

[19] GHANBAR M I, VILLABONA-RUEDA A, PHILIP N, et al. Macrophage CCL18 promotes lung inflammation in checkpoint inhibitor pneumonitis[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2026, 74(4): 454-465. DOI:10.1165/rcmb.2025-0405oc.

[20] LIN X Q, DENG J X, DENG H Y, et al. Comprehensive analysis of the immune microenvironment in checkpoint inhibitor pneumonitis[J]. Front Immunol, 2022, 12: 818492. DOI:10.3389/fimmu.2021.818492.

[21] LIU P P, YANG S N, SHAO X C, et al. Mesenchymal stem cells-derived exosomes alleviate acute lung injury by inhibiting alveolar macrophage pyroptosis[J]. Stem Cells Transl Med, 2024, 13(4): 371-386. DOI:10.1093/stcltm/szad094.

[22] GU Z Y, XUE W J, MAO G C, et al. Native and engineered extracellular vesicles for the treatment of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome[J]. Small Sci, 2025, 5(6): 2400606. DOI:10.1002/smsc.202400606.

[23] CHEN Y X, LI M X, YANG J T, et al. Engineerable mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles as promising therapeutic strategies for pulmonary fibrosis[J]. Stem Cell Res Ther, 2025, 16 (1): 367. DOI:10.1186/s13287-025-04490-4.

[24] 王赫, 陈凤收, 马虹. 鞘内注射miR-125b mimic抑制小胶质细胞NLRP3炎症体激活减轻缺血再灌注损伤后的炎症反应[J]. 中国医师杂志, 2021, 23(4): 553-557. DOI:10.3760/cma.j.cn431274-2020-0410-00432

[25] HUANG H C, YU H R, HUANG L T, et al. miRNA-125b regulates TNF- α production in $CD14^{+}$ neonatal monocytes *via* post-transcriptional regulation[J]. J Leukoc Biol, 2012, 92(1): 171-182. DOI:10.1189/jlb.1211593.

[26] CHENG H Y, HSIEH C H, LIN P H, et al. Snail-regulated exosomal microRNA-21 suppresses NLRP3 inflammasome activity to enhance cisplatin resistance[J]. J Immunother Cancer, 2022, 10(8): e004832. DOI:10.1136/jitc-2022-004832.

[27] 林琴琴, 张伟超, 王湘怡, 等. 间歇运动激活miR-21-PTEN-Akt通路抑制NLRP3炎症小体表达保护心梗心功能[J]. 中国体育科技, 2022, 58(2): 82-88. DOI:10.16470/j.csst.2019163.

［收稿日期］ 2025-12-07 ［修回日期］ 2026-04-25
［本文编辑］ 苏念