

· 创面修复的基础与临床研究 ·

间充质干细胞在创面愈合中的作用研究进展

刘玲英 柴家科 郁永辉 侯玉森



Advances in the research of the role of mesenchymal stem cell in wound healing Liu Lingying, Chai Jiako, Yu Yonghui, Hou Yusen. Burn Institute, the First Hospital Affiliated to the PLA General Hospital, Beijing 100048, China

Corresponding author: Chai Jiako, Email: cjk304@126.com, Tel: 010-66867972

【Abstract】 Wound healing is a dynamic and complicated process, which generally takes three overlapping phases: inflammation, proliferation, and remodeling. If wounds complicated by severe trauma, diabetes, vascular dysfunction disease, or a massive burn injury failed to pass through the three normal phases of healing, they might end up as chronic and refractory wounds. Mesenchymal stem cells (MSCs) play different important roles in the regulation of all the phases of wound healing. MSCs can be recruited into wound and differentiated into wound repair cells, as well as promote wound healing by exerting functions like anti-inflammation, anti-apoptosis, and neovascularization. This review focuses on the role and mechanism of MSCs in each phase of the wound healing process.

【Key words】 Wound healing; Mesenchymal stem cells; Cell proliferation; Cell differentiation; Paracrine

【关键词】 伤口愈合; 间质干细胞; 细胞增殖; 细胞分化; 旁分泌

严重创伤、糖尿病、血管功能不全性疾病以及大面积烧伤等引起的创面长期存在,极大地影响患者的生活质量,甚至会增加患者病死率。近年来对间充质干细胞(MSC)的深入研究证实,MSC可以加速慢性难愈性创面和放射性烧伤创面的愈合,并且在创面愈合的3个时期发挥不同的调控作用^[1-5]。本文就MSC在创面愈合的各个阶段发挥的调控作用和调控机制进行综述。

1 MSC的生物学特性

研究表明,可从骨髓、脐带、脐带血、胎盘、脂肪、羊水等多种组织器官中分离出MSC^[6]。作为一类具有自我复制、自我更新和生物学性能稳定的多能

干细胞,MSC高表达间质细胞

系的表面标志物CD73、CD90、CD105、人类白细胞抗原I类分子,不表达造血细胞系的表面标志物CD14、CD28、CD33、CD34、CD45、CD117或内皮细胞系的表面标志物CD31、人类白细胞抗原II类分子。在体内外特定的诱导条件下,MSC可分化为神经、汗腺、骨、软骨、脂肪、肝脏、胰腺等多种组织细胞^[7]。同时,MSC具有低免疫原性和负性免疫调节功能,可抑制同种异体免疫反应,降低移植物抗宿主病反应^[8]。MSC还可旁分泌一些生物活性分子,包括抗炎蛋白、抗凋亡因子和细胞因子等,从而影响创面微环境中细胞的存活、迁移、增殖和分化等^[9]。这些生物学特性使得MSC能够促进放射性烧伤创面和由糖尿病、动脉闭塞性脉管炎、压疮等疾病引起的慢性难愈性创面的快速愈合^[10]。

2 MSC对创面愈合的调控作用

创面愈合是一个非常复杂的病理生理过程,大致分为炎症期、增殖期和重塑期^[10]。损伤严重时,组织持续缺氧、坏死、重度感染等因素使得创面愈合的3个时期被显著延长,愈合困难。深入研究表明,MSC可以不同程度地影响创面愈合的各个阶段,从而加速创面愈合^[11]。体内研究表明在炎症期,损伤组织和炎性细胞释放的炎症因子和趋化因子可促进MSC迁移归巢到创面,MSC通过分化为创面修复细胞和旁分泌机制发挥抗炎和抗凋亡作用^[12-13]。在增殖期,MSC也可通过旁分泌机制发挥抗菌和促进创面血管形成等作用而加速创面愈合^[14]。在重塑期,MSC则通过调控创面中I、III型胶原比例实现创面的塑形改造^[15]。

3 MSC对创面愈合的调控机制

3.1 MSC的迁移归巢机制

研究表明,创伤后创面局部的趋化因子CCL5、CCL20、CXCL1、CXCL3、CXCL5、CXCL6、CXCL10、CXCL11、CX3CL1和炎症因子IL-1 α 、IL-1 β 、IL-3、IL-6、TNF- α 、 γ 干扰素等骤然增加,从而使内、外源

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2014.02.008

基金项目:解放军总医院第一附属医院院管课题(QN201207)

作者单位:100048 北京,解放军总医院第一附属医院全军烧伤研究所

通信作者:柴家科,Email:cjk304@126.com,电话:010-66867972

性 MSC 表面趋化因子和炎症因子相关受体的表达上调,最终促使 MSC 迁移归巢到创面^[16]。MSC 的迁移归巢机制与白细胞的迁移、黏附和跨越血管内皮细胞层到达损伤组织的机制类似。在众多的趋化因子中,CXCL12/CXC 趋化因子受体 4 和 CCL21/趋化因子受体 7 是诱导 MSC 迁移归巢至创面的重要因子^[17-18]。体外研究也证实,使用与创面愈合相关的炎症因子和细胞因子能够促进 MSC 上调血管内皮细胞黏附分子 1 的表达^[19],从而诱导 MSC 的迁移。也有研究者将人 MSC 移植入小鼠皮肤缺损模型,结果显示 MSC 可以迁移至创面,参与调控创面愈合的各个阶段,进而加速创面愈合^[20]。

3.2 MSC 的分化机制

研究表明,将 MSC 移植于急性皮肤缺损的动物模型体内,其迁移进入创面后,可被不同程度诱导分化为表达广谱细胞角蛋白的表皮干细胞和毛囊干细胞(0.14%)、内皮细胞(13.20%)和外周血管壁细胞(33.0%)^[20]。体外实验证实,在不同的诱导条件下,MSC 可分别表达内皮细胞、Fb、外周血管壁细胞和汗腺细胞等创面修复细胞的特异性标志物^[21-22]。MSC 也可被诱导分化为汗腺腺上皮细胞,将诱导后的汗腺腺上皮细胞移植入皮肤缺损的小鼠模型体内,可形成类似汗腺结构的组织,并具有一定的排汗功能^[23]。但目前一些研究认为,在促进创面愈合的过程中,MSC 的分化贡献有限,其旁分泌的生物活性因子贡献更大^[24]。

3.3 MSC 的旁分泌机制

在创面愈合的不同时期,MSC 可通过旁分泌不同的细胞因子发挥不同的作用。在炎症期,其可通过旁分泌抗炎蛋白抗炎和通过旁分泌抗凋亡因子抗细胞凋亡^[25-26]。在增殖期,MSC 可通过旁分泌血管内皮生长因子(VEGF)、bFGF 和血小板源性生长因子等促进创面血管生成和刺激创周干细胞和创面修复细胞增殖、分化、迁移和分泌胶原蛋白而加快创面上皮化,还可通过旁分泌抗菌肽和免疫调节因子抗菌等^[27]。在重塑期,MSC 可以通过旁分泌抗瘢痕蛋白和促凋亡因子等实现创面的塑形改造^[5]。

3.3.1 抗炎机制 促炎因子 IL-1 β 、 γ 干扰素和 TNF- α 通过激活 MSC 内部信号通路,促进其旁分泌前列腺素 E₂、TNF- α 刺激基因 6 等重要的抗炎蛋白,进而抑制中性粒细胞、巨噬细胞等免疫细胞的迁移趋化,抑制树突状细胞的成熟活化,减少自然杀伤细胞、B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞的增殖活化等;同时 MSC 也可通过上调抗炎因子 IL-4、IL-10、IL-13 的表

达和下调促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、 γ 干扰素、NOS 等的表达进行抗炎^[28-29]。也有研究显示,激活 MSC 有利于形成调节性 T 淋巴细胞和减少细胞毒性 T 淋巴细胞的细胞毒效应,从而减轻创面炎症反应^[29]。MSC 还可与巨噬细胞相互作用,改变巨噬细胞的内部程序,使其从促炎的 I 型巨噬细胞表型转变到抗炎的 II 型巨噬细胞表型,并且高表达活化 II 型巨噬细胞的表面标志物 CD206 和精氨酸酶 1^[30]。

3.3.2 抗凋亡机制 创面微环境中 IL-1、IL-6 和 TNF- α 等炎症因子易活化细胞凋亡蛋白酶信号通路,造成创周组织细胞广泛凋亡,从而导致创面加深甚至不愈合。而 MSC 具有很强的抗凋亡能力。有研究者将 MSC 直接注射入心肌梗死/再灌注损伤的区域,结果显示 MSC 促进了心肌梗死区域边缘危险细胞的存活并且修复了心肌功能^[26]。也有报道称 MSC 可通过活化蛋白激酶 B 信号通路促进 DNA 修复,通过抑制线粒体死亡通路的活化而增加细胞的抗氧化活性,以及通过改变抗凋亡因子 Bcl-xL 和促凋亡因子 Bax 的比例而抑制细胞凋亡,进而促进创面愈合^[31]。Yagi 等^[32]研究证实,MSC 能明显减少急性肺损伤和急性肾损伤大鼠模型肺脏和肾脏组织中凋亡细胞的数目。类似研究也证实,MSC 移植入盲肠结扎和穿孔的小鼠后,能够明显减少肺、肝、肾等重要脏器组织中凋亡细胞的数量,进而提高存活率^[13]。

3.3.3 抗菌机制 MSC 具有很强的抗菌活性,能够清除创面感染的病原菌。研究表明,MSC 通过旁分泌抗菌肽 LL-37 破坏细菌的细胞膜发挥直接的杀菌作用^[3]或者通过旁分泌免疫调节因子增强免疫细胞的杀菌活性和吞噬作用而发挥间接的抗菌作用^[13]。将 MSC 移植于各类炎症动物模型体内,其能通过抗菌作用明显改善动物体内的重度感染;但在体外,MSC 仍缺乏直接杀死细菌的能力,说明 MSC 的抗菌作用还受体内外微环境的影响^[33]。

3.3.4 促血管生成的机制 虽然 MSC 促进血管生成的机制尚未阐明,但已有研究证实,MSC 能够表达和旁分泌 VEGF、色素上皮衍生因子、肝细胞生长因子(HGF)和血管生成素 1 等促血管生成的细胞因子,进而促进创面血管新生^[27,34]。Yoshikawa 等^[14]的研究也表明,MSC 通过旁分泌 bFGF、VEGF 和基质细胞衍生因子 1,促进血管内皮细胞出芽形成。因此,MSC 能够通过丰富创面血运而促进创面愈合。另有研究采集了 20 例慢性创面患者的骨髓间充质干细胞,体外扩增后移植回患者体内,创面组

织学分析显示骨髓间充质干细胞通过促进血管生成和肉芽组织形成加速了创面上皮化^[4]。

3.3.5 促创面修复细胞活化的机制 MSC 旁分泌的众多生长因子不仅可以促进创面血管生成,而且可以动员创面和创周的干细胞、真皮 Fb、内皮细胞以及表皮干细胞等创面修复细胞活化、迁移、增殖和分泌胶原蛋白,进而促进创面愈合^[35]。

3.3.6 抗瘢痕的机制 创面愈合的最后阶段是重塑期, MSC 通过旁分泌 TGF- β_3 、 α_2 干扰素以及 HGF 等抗瘢痕蛋白,通过调控创面中 I、III 型胶原的比例,以及通过旁分泌促细胞凋亡的因子等促进瘢痕组织中过度增殖的 Fb 发生凋亡而实现创面瘢痕的塑形改造^[5,15],进而使创面达到完全愈合。

参考文献

- [1] Leclerc T, Thepenier C, Jault P, et al. Cell therapy of burns[J]. Cell Prolif, 2011, 44(1):48-54.
- [2] Singer NG, Caplan AI. Mesenchymal stem cells: mechanisms of inflammation[J]. Annu Rev Pathol, 2011, 6:457-478.
- [3] Krasnodembskaya A, Song Y, Fang X, et al. Antibacterial effect of human mesenchymal stem cells is mediated in part from secretion of the antimicrobial peptide LL-37[J]. Stem Cells, 2010, 28(12):2229-2238.
- [4] Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, et al. Wound repair and regeneration[J]. Nature, 2008, 453(7193):314-321.
- [5] Lau K, Paus R, Tiede S, et al. Exploring the role of stem cells in cutaneous wound healing[J]. Exp Dermatol, 2009, 18(11):921-933.
- [6] Ivanova-Todorova E, Bochev I, Mourdjeva M, et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells are more potent suppressors of dendritic cells differentiation compared to bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. Immunol Lett, 2009, 126(1/2):37-42.
- [7] Wu KH, Mo XM, Zhou B, et al. Cardiac potential of stem cells from whole human umbilical cord tissue[J]. J Cell Biochem, 2009, 107(5):926-932.
- [8] Cho PS, Messina DJ, Hirsh EL, et al. Immunogenicity of umbilical cord tissue derived cells[J]. Blood, 2008, 111(1):430-438.
- [9] Gnecci M, Zhang Z, Ni A, et al. Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy[J]. Circ Res, 2008, 103(11):1204-1219.
- [10] Maxson S, Lopez EA, Yoo D, et al. Concise review: role of mesenchymal stem cells in wound repair[J]. Stem Cells Transl Med, 2012, 1(2):142-149.
- [11] Velnar T, Bailey T, Smrkoli V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms[J]. J Int Med Res, 2009, 37(5):1528-1542.
- [12] Newman RE, Yoo D, LeRoux MA, et al. Treatment of inflammatory diseases with mesenchymal stem cells[J]. Inflamm Allergy Drug Targets, 2009, 8(2):110-123.
- [13] Mei SH, Haitma JJ, Dos Santos CC, et al. Mesenchymal stem cells reduce inflammation while enhancing bacterial clearance and improving survival in sepsis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2010, 182(8):1047-1057.
- [14] Yoshikawa T, Mitsuno H, Nonaka I, et al. Wound therapy by marrow mesenchymal cell transplantation[J]. Plast Reconstr Surg, 2008, 121(3):860-877.
- [15] Cha J, Falanga V. Stem cells in cutaneous wound healing[J]. Clin Dermatol, 2007, 25(1):73-78.
- [16] Ringe J, Strassburg S, Neumann K, et al. Towards in situ tissue repair: human mesenchymal stem cells express chemokine receptors CXCR1, CXCR2 and CCR2, and migrate upon stimulation with CXCL8 but not CCL2[J]. J Cell Biochem, 2007, 101(1):135-146.
- [17] Hu C, Yong X, Li C, et al. CXCL12/CXCR4 axis promotes mesenchymal stem cell mobilization to burn wounds and contributes to wound repair[J]. J Surg Res, 2013, 183(1):427-434.
- [18] Sasaki M, Abe R, Fujita Y, et al. Mesenchymal stem cells are recruited into wounded skin and contribute to wound repair by transdifferentiation into multiple skin cell type[J]. J Immunol, 2008, 180(4):2581-2587.
- [19] Segers VF, Van Riet I, Andries LJ, et al. Mesenchymal stem cell adhesion to cardiac microvascular endothelium: activators and mechanisms[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006, 290(4):H1370-1377.
- [20] Ries C, Egea V, Karow M, et al. MMP-2, MT1-MMP, and TIMP-2 are essential for the invasive capacity of human mesenchymal stem cells: differential regulation by inflammatory cytokines[J]. Blood, 2007, 109(9):4055-4063.
- [21] Han Y, Chai J, Sun T, et al. Differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells into dermal fibroblasts in vitro[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 413(4):561-565.
- [22] Tao R, Han Y, Chai J, et al. Isolation, culture, and verification of human sweat gland epithelial cells[J]. Cytotechnology, 2010, 62(6):489-495.
- [23] Zhang Y, Hao H, Liu J, et al. Repair and regeneration of skin injury by transplanting microparticles mixed with Wharton's jelly and MSCs from the human umbilical cord[J]. Int J Low Extrem Wounds, 2012, 11(4):264-270.
- [24] Crisostomo PR, Markel TA, Wang Y, et al. Surgically relevant aspects of stem cell paracrine effects[J]. Surgery, 2008, 143(5):577-581.
- [25] Choi H, Lee RH, Bazhanov N, et al. Anti-inflammatory protein TSG-6 secreted by activated MSCs attenuates zymosan induced mouse peritonitis by decreasing TLR2/NF- κ B signaling in resident macrophages[J]. Blood, 2011, 118(2):330-338.
- [26] Hu X, Yu SP, Fraser JL, et al. Transplantation of hypoxia preconditioned mesenchymal stem cells improves infarcted heart function via enhanced survival of implanted cells and angiogenesis[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2008, 135(4):799-808.
- [27] Wang M, Crisostomo PR, Herring C, et al. Human progenitor cells from bone marrow or adipose tissue produce VEGF, HGF, and IGF-I in response to TNF by a p38 MAPK-dependent mechanism[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2006, 291(4):R880-884.
- [28] Weil BR, Manukyan MC, Herrmann JL, et al. Mesenchymal stem cells attenuate myocardial functional depression and reduce systemic and myocardial inflammation during endotoxemia[J]. Surgery, 2010, 148(2):444-452.
- [29] English K, Ryan JM, Tobin L, et al. Cell contact, prostaglandin E (2) and transforming growth factorb 1 play non-redundant roles in human mesenchymal stem cell induction of CD4 + CD25 (High) forkhead box P3 + regulatory T cells[J]. Clin Exp Immunol, 2009, 156(1):149-160.
- [30] Maggini J, Mirkin G, Bognanni I, et al. Mouse bone marrow-derived mesenchymal stromal cells turn activated macrophages into a regulatory-like profile[J]. PLoS One, 2010, 5(2):e9252.
- [31] Poynter JA, Herrmann JL, Manukyan MC, et al. Intracoronary mesenchymal stem cells promote postischemic myocardial functional recovery, decrease inflammation, and reduce apoptosis via

a signal transducer and activator of transcription 3 mechanism [J]. J Am Coll Surg, 2011, 213(2):253-260.

[32] Yagi H, Soto-Gutierrez A, Kitagawa Y, et al. Bone marrow mesenchymal stromal cells attenuate organ injury induced by LPS and burn[J]. Cell Transplant, 2010, 19(6):823-830.

[33] Wannemuehler TJ, Manukyan MC, Brewster BD, et al. Advances in mesenchymal stem cell research in sepsis[J]. J Surg Res, 2012, 173(1):113-126.

[34] Fan W, Crawford R, Xiao Y. The ratio of VEGF/PEDF expres-

sion in bone marrow mesenchymal stem cells regulates neovascularization[J]. Differentiation, 2011, 81(3):181-191.

[35] Smith AN, Willis E, Chan VT, et al. Mesenchymal stem cells induce dermal fibroblast responses to injury[J]. Exp Cell Res, 2010, 316(1):48-54.

(收稿日期:2013-04-26)
(本文编辑:贾津津)

烧伤并发脓毒症后免疫与凝血功能及营养代谢变化对创面愈合的影响研究进展

罗慧 李孝建 曹雯娟

Advances in the research of effects of changes in immune function, coagulation function, and metabolism due to burn sepsis on wound healing Luo Hui, Li Xiaojian, Cao Wenjuan. Department of Burns, Guangzhou Red Cross Hospital, Ji'nan University, Guangzhou 510220, China
Corresponding author: Li Xiaojian, Email: lixj64@163.com, Tel: 020-34403954

【Abstract】 Sepsis is considered as an uncontrolled inflammatory response, while wound healing is a process involving the joint participation of many elements, including inflammatory cells, repair cells, inflammatory mediators, growth factors, and extracellular matrix. This review summarizes the effects of changes in immune function, coagulation function, and metabolism after sepsis as a complication of burn on wound healing, and looks into the prospect of prevention and treatment of burn complicated by sepsis, hoping to accelerate wound healing by reducing the incidence of sepsis.

【Key words】 Burns; Sepsis; Immunity; Metabolism; Wound healing; Coagulation

【关键词】 烧伤; 脓毒症; 免疫; 代谢; 伤口愈合; 凝血

创面愈合是一个复杂的生物学过程,需要有活力的各种细胞、细胞因子、生长因子及胶原蛋白等的相互作用^[1]。大面积烧伤患者往往因为创面感染导致机体发生脓毒症和 MODS 等严重并发症,不仅影响机体各器官的功能,也影响了创面愈合的过程。有关烧伤并发脓毒症后对心、肺等脏器功能的影响已有较多研究,但对创面愈合影响的研究甚少。本

文就烧伤并发脓毒症后,机体免疫系统、凝血系统和营养代谢等改变对创面愈合的影响进行综述。



1 烧伤并发脓毒症后免疫功能异常对创面愈合的影响

烧伤并发脓毒症后机体的免疫系统处于以大量免疫细胞凋亡和广泛免疫麻痹为特征的免疫紊乱状态^[2],其中免疫细胞凋亡异常是导致免疫麻痹和 MOF 的重要原因^[3]。脓毒症时免疫紊乱主要表现在中性粒细胞清除及趋化障碍,巨噬细胞免疫应答能力下降,以及抗原特异性 T、B 淋巴细胞的清除或失活及增殖能力异常等方面。

1.1 中性粒细胞的清除和趋化障碍

中性粒细胞的清除方式包括坏死和凋亡 2 种,其凋亡后被巨噬细胞识别并吞噬,阻止有害内容物直接进入组织。中性粒细胞凋亡有内源性和外源性 2 种途径,后者需线粒体的放大作用。烧/创伤后,免疫细胞中的中性粒细胞最先到达创面,发挥吞噬病原微生物的作用,同时释放一些生物活性物质以增强机体清除病原微生物的能力。但 Fotouhi-Ardakani 等^[4]研究表明,脓症患者骨髓样细胞核分化抗原能促进抗凋亡蛋白髓样细胞白血病 1 的降解,从而加速线粒体跨膜电位的破坏,以致中性粒细胞的凋亡增加。但严重脓毒症时,髓样细胞核分化抗原减少,致使中性粒细胞凋亡延迟。研究表明, Bcl-2 家族中的与 Bcl-2 相互作用的细胞死亡介导因子 (Bcl-2 interacting mediator of cell death) 表达减少时,可以使中性粒细胞的凋亡大大减少^[5]。Iwata

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2014.02.009

作者单位:510220 广州,暨南大学附属广州市红十字会医院烧伤整形科(罗慧、李孝建),创伤研究所(曹雯娟)

通信作者:李孝建,Email:lixj64@163.com,电话:020-34403954