

· 文献综述 ·

间充质干细胞治疗糖尿病足溃疡的研究进展

陈小春 官诗芬 曾田雨 吕维名

【提要】 糖尿病足溃疡(DFU)是 DM 的严重并发症,4%~10% 的 DM 患者出现 DFU,其中 10%~20% 的 DFU 无法愈合。常规治疗、外科手术治疗无法从根本上解决 DFU,截肢率高达 25%,术后 5 年死亡率 39%~68%,生存率较低。间充质干细胞(MSCs)具有高度自我更新能力、多向分化潜能,可促进血管再生、伤口愈合,并改善血供。本文综述 MSCs 治疗 DFU 的研究进展。

【关键词】 间充质干细胞;糖尿病足溃疡;研究进展

doi:10.3969/j.issn.1006-6187.2024.12.014

Research progress of mesenchymal stem cells in treatment of diabetic foot ulcer CHEN Xiaochun, GUAN Shifen, ZENG Tianyu, et al. Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou 341000, China

Corresponding author: LYU Weiming, Email: lwm421@163.com

【Summary】 Diabetic foot ulcer (DFU) is a serious complication of diabetes mellitus. 4%~10% of DM patients have DFU, of which 10%~20% of ulcers fail to heal. Traditional treatment or surgical treatment is difficult to cure DFU fundamentally. The amputation rate of DFU patients is as high as 25%, and the 5-year mortality rate after surgery is as high as 39%~68%. Mesenchymal stem cells (MSCs) have high self-renewal ability and multi-directional differentiation potential, which can promote vascular regeneration, wound healing, and improve blood supply. This article reviews the research progress of MSCs in the treatment of DFU.

【Key words】 Mesenchymal stem cells; Diabetic foot ulcer; Research progress

DM 是危害性较大的慢性疾病,中国成年 DM 患者约为 1.139 亿,占全球 DM 患者的 24%^[1-2]。糖尿病足溃疡(DFU)是 DM 的严重并发症,是致残、致死的主要原因^[3]。4%~10% 的 DM 患者出现 DFU,其中 10%~20% 的 DFU 无法愈合。目前 DFU 常规治疗有局部坏死组织清创、减压、抗感染、高压氧疗、电刺激、血管重建及使用敷料等,无法从根本上解决问题,截肢率高达 25%,术后 5 年死亡率 39%~68%,生存率较低^[4]。间充质干细胞(MSCs)来源于早期中胚层,可向其他胚层分化,从人体脂肪、脐带血、骨髓、肝脏、胎盘等分离获取,具有低免疫原性和归巢等特性,在促进新生血管生成中起重要作用,可促进创面愈合^[5]。本文综述 MSCs 治疗 DFU 的研究进展。

一、MSCs 的生物学特性

MSCs 广泛用于治疗各种疾病,其特性及功能包括:(1)MSCs 通过调控 Wnt 信号级联途径促进细胞增殖^[6]。MSCs 具有向三胚层多种细胞类型分化的潜能,在条件培养基中向成骨、成脂、成角质细胞、成内皮细胞等方向分化^[7],用于组织工程、药物筛选及细胞治疗。(2)MSCs 免疫原性低,在异体或异种间移植时,不易引起免疫排斥反应^[8]。

MSCs 对 B 淋巴细胞、T 淋巴细胞有免疫抑制作用,对树突状细胞、单核细胞/巨噬细胞、自然杀伤细胞有免疫抑制作用。(3)归巢是 MSCs 阻滞在特定组织血管内,通过内皮细胞进入靶组织^[9]。不同移植途径的 MSCs 定向迁移至受损靶器官,起到治疗及修复作用,可能与黏附因子、趋化因子及降解 ECM 蛋白酶相关。

二、MSCs 治疗 DFU 的机制

MSCs 用于治疗急性心肌梗死、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、肝脏疾病、克罗恩病、肺纤维化等,治疗 DFU 的机制如下。

1. 免疫调节机制:MSCs 参与免疫调节,以减轻炎症反应,并减少组织炎症损伤,从而促进伤口愈合^[10]。(1)MSCs 通过抑制 T 淋巴细胞活化参与免疫调节作用。皮肤破损时,T 淋巴细胞分泌致炎因子,伤口愈合时间延长。MSCs 可改变抗原呈递细胞成熟状态,抑制 T 淋巴细胞^[11]。(2)MSCs 通过增加 M2 型巨噬细胞、减少 M1 型巨噬细胞以达到免疫调节作用。MSCs 与巨噬细胞共培养时,总体巨噬细胞/单核细胞降低,MSCs 促进 M1 型巨噬细胞向 M2 型转换,增强抗炎作用^[12]。(3)MSCs 通过减少产生活性氧簇(ROS)以达到免疫

调节作用。皮肤损伤时,吞噬炎症细胞或细胞碎片将病原体消灭,中性粒细胞产生大量 ROS,损伤组织^[13]。MSCs 在保护中性粒细胞吞噬功能的同时,ROS 产生减少。

2. 旁分泌作用:MSCs 在靶组织中,依靠旁分泌方式发挥改善器官功能及调节治疗的作用^[14-15]。MSCs 通过旁分泌 VEGF、促红细胞生成素、表皮细胞生长因子、IGF-1,血管生成素 1 等,改善损伤部位血流,促进血管再生和伤口愈合。MSCs 通过相关途径调节血管生成作用和抑制炎症反应募集和分化内皮祖细胞,促进伤口愈合^[16]。

3. 特异性归巢损伤部位:MSCs 归巢在促进伤口愈合中起重要作用,主要通过受损部位趋化因子和 MSCs 表

达的趋化因子受体相互作用实现,促炎刺激诱导的趋化因子 12 与 MSCs 表达的相应受体 4 相互作用后,趋化因子向炎症微环境迁移。MSCs 注射至动物模型伤口后,细胞归巢至炎症损伤部位,促进伤口愈合^[17]。组织受损时炎症因子介导 MSCs 迁移至 ECM, MSCs 动员后向损伤部位的归巢受到炎症信号影响^[18]。

三、不同来源 MSCs 在 DFU 治疗中的应用

MSCs 于 20 世纪 60 年代从骨髓中分离获取,还存在于脂肪、皮肤、骨髓、脐带、肌肉及羊水中。脐带间充质干细胞(UC-MSCs)、骨髓间充质干细胞(BM-MSCs)、脂肪间充质干细胞(AD-MSCs)特点如下。(表 1)

表 1 UC-MSCs、BM-MSCs 及 AD-MSCs 特点比较

MSCs	优点	缺点	参考文献
UC-MSCs	易获取,采集时创伤小;自我更新及增殖分化能力强,增殖效率高;免疫原性低;易体外扩增,适合异体移植;病毒感染及体细胞突变风险低	致瘤性问题还需验证;分离效率低,实用性存在争议	[19-20]
BM-MSCs	可塑性强;增殖和克隆能力强;易进行体外培养与扩增;成骨能力最强	细胞含量少;采集时创伤大;分离、纯化及培养较困难	[21-22]
AD-MSCs	来源广泛,含量丰富,易大量获取;分离纯化简便、安全可靠;体外扩增能力强,免疫排斥反应弱;致畸性和致瘤性低	移植后成活时间短;缺乏临床试验,可信度较低;无标准化分离和提取流程	[23-25]

1. UC-MSCs 治疗 DFU:脐带是 MSCs 主要来源,UC-MSCs 再生能力强,增殖效率高,病毒感染率低,供体广泛,采集时创伤小,常用于临床异体移植。STZ 注射大鼠足背皮肤全层伤口模拟 DFU,通过股静脉移植 UC-MSCs 显示,UC-MSCs 具有迁移和定位至伤口组织能力,促进伤口愈合^[26]。有研究^[27]将 T2DM 皮肤溃疡患者 50 例作为对照组行常规治疗,另外 50 例作为观察组行 UC-MSCs 移植,结果显示,对照组治愈率为 14%,总有效率 36%,观察组治愈率为 70%,总有效率 90%,证实 UC-MSCs 移植较常规治疗能更好地促进 T2DM 皮肤溃疡愈合。

2. BM-MSCs 治疗 DFU:BM-MSCs 是一类能从骨髓中分泌多种细胞因子的原始骨髓基质细胞,有基质细胞特性,具有高度增殖和自我更新的能力。BM-MSCs 在骨髓中含量少,从哺乳动物中分离提取较难。有研究^[28]通过比较新生猪骨髓来源的间充质干细胞(npBM-MSCs)和小鼠骨髓来源的间充质干细胞(mBM-MSCs)治疗 DM 小鼠创伤模型,以评估异种移植的可行性及疗效,结果显示,npBM-MSCs 组伤口闭合率、血管内皮生长因子 A/C 和 TGF- β 含量均高于

mBM-MSCs 组,提示 npBM-MSCs 异种移植通过促进血管和淋巴管生成,改善伤口愈合。

3. AD-MSCs 治疗 DFU:AD-MSCs 具有取材方便、易于大量获取、可大量复制等特点,是 MSCs 首要来源。AD-MSCs 通过脂肪样本切除及吸脂抽吸分离获取,常见分离方法为胶原酶消化^[29]。AD-MSCs 在治疗临床 DFU 慢性伤口方面疗效显著。有研究^[30]通过使用缺氧模拟剂去铁胺和条件培养基纯化对 AD-MSCs 进行预处理,转基因 DM 小鼠载体给药后 AD-MSCs 可促进伤口愈合。来自 DM 老年供体的 AD-MSCs 细胞衰老增加,促进内皮细胞血管生成和成纤维细胞迁移方面的能力降低^[31]。供体年龄可影响 AD-MSCs 增殖活性、旁分泌作用及分化潜力^[32]。因此,AD-MSC 有促进 DFU 伤口愈合的潜能,供体年龄可影响疗效。

四、MSCs 联合治疗促进 DFU 创口愈合

MSCs 较常规治疗方法的促愈合能力更强,但受相关因素影响,目前将 MSCs 联合其他方法用于治疗 DFU 创面,取得不错进展。(图 1)

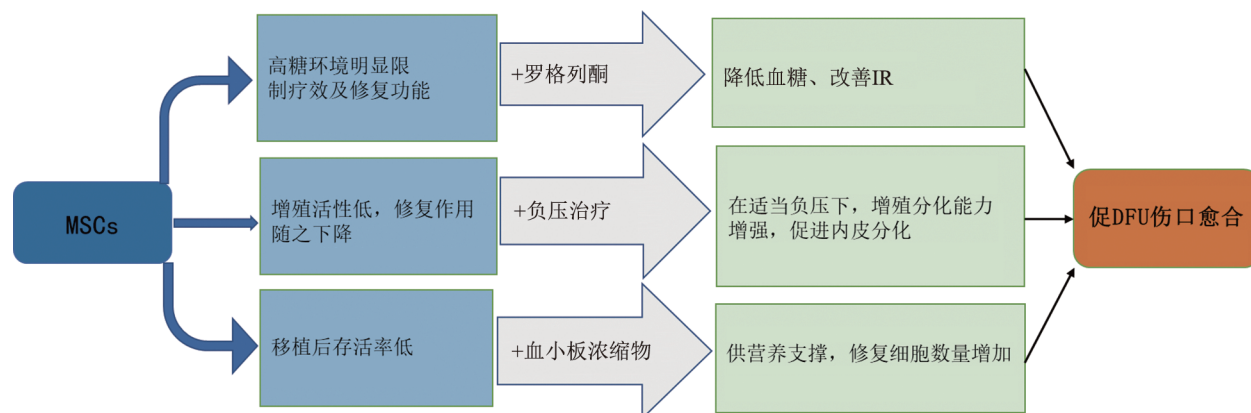


图 1 MSCs 联合治疗促进 DFU 伤口愈合的机制

1. MSCs 联合罗格列酮: 高糖环境限制 MSCs 疗效和修复功能, 控制血糖可能是 MSCs 有效治疗 DFU 创面的关键因素^[33]。罗格列酮是胰岛素增敏剂类药物, 临床用于降糖和改善 IR。罗格列酮能保护高糖环境下 MSCs 功能, 并促进分化^[34]。罗格列酮干预 BM-MSCs 培养基不仅保护其免受高糖刺激, 还提高旁分泌功能, 促进内皮细胞增殖和迁移, 修复作用更佳^[35]。

2. MSCs 联合负压治疗: MSCs 创面修复作用随着增殖活性减弱而降低。运用负压创面治疗原理发明真空辅助闭合装置治疗慢性难愈性创面后, 临床广泛应用负压吸引技术治疗慢性难愈创面, 疗效显著^[36]。负压作为物理因素, 可影响 MSCs 向内皮细胞分化。随着负压升高, BM-MSCs 增殖能力受到抑制, 表皮细胞分化逐渐增强^[37]。特定负压环境下 MSCs 增殖能力升高, 通过上调 VEGF 水平以达到增殖效果^[38]。

3. MSCs 联合血小板浓缩物: MSCs 在 DFU 患者体内单纯移植时存活率低, 为增加其存活率及局部作用, 临床常局部使用 MSCs 联合血小板浓缩物, 其中富血小板血浆富含细胞因子能有效促进伤口愈合。自体富血小板血浆凝胶材料可提供营养和物理支撑, 无过敏反应, 是较为理想的凝胶替代材料。富血小板血浆通过改善 MSCs 促血管生成、存活率和增殖潜力, 提高伤口愈合能力^[39]。有研究^[40]将 28 例 DFU 患者随机分组, A 组接受胎盘 MSCs 治疗, B 组接受富血小板血浆联合胎盘 MSCs 治疗, 结果显示, A 组溃疡伤口缩小 66%, B 组缩小 71%, 提示胎盘 MSCs 联合富血小板血浆可有效促进 DFU 愈合。

五、小结

MSCs 分化能力强, 长时间培养后, 基因突变及染色体异常变率升高, 移植后有致癌风险。目前分离方法存在不足, 无法获取高纯度、高存活、少干扰的 MSCs。MSCs 具有自我复制、多向分化能力, 今后需获取更多 MSCs, 提高其纯度, 避免分化潜能和数量下降, 并保证其修复能力最大化, 治疗后积极监测以提高其安全性和有效性。

参考文献

- [1] 李瑞华, 文银亭, 何霖, 等. ADOPT 问题解决模式在糖尿病足延续护理中的应用. 重庆医学, 2022, 51: 898-900.
- [2] Li YZ, Teng D, Shi XG, et al. Prevalence of diabetes recorded in mainland China using 2018 diagnostic criteria from the American Diabetes Association: national cross sectional study. BMJ, 2020, 369: m997.
- [3] Wang AP, Lv GZ, Cheng XB, et al. Guidelines on multidisciplinary approaches for the prevention and management of diabetic foot disease (2020 edition). Burns Trauma, 2020, 8: tkaa017.
- [4] Yarahmadi A, Saeed MM, Mostafavi PZ, et al. The effect of platelet-rich plasma-fibrin glue dressing in combination with oral vitamin E and C for treatment of non-healing diabetic foot ulcers: a randomized, double-blind, parallel-group, clinical trial. Expert Opin Biol Ther, 2021, 21: 687-696.
- [5] 刘群, 王志文, 吕泉锐, 等. 间充质干细胞治疗糖尿病足的研究进展. 重庆医科大学学报, 2020, 45: 306-311.
- [6] Obradovic H, Krstic J, Trivanovic D, et al. Improving stemness and functional features of mesenchymal stem cells from Wharton's jelly of a human umbilical cord by mimicking the native, low oxygen stem cell niche. Placenta, 2019, 82: 25-34.
- [7] 黄庆雷, 沈丽, 邓钺. 间充质干细胞作用机制的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 108-128.
- [8] Naji A, Eitoku M, Favier B, et al. Biological functions of mesenchymal stem cells and clinical implications. Cell Mol Life Sci, 2019, 76: 3323-3348.
- [9] Szydlak R. Mesenchymal stem cells' homing and cardiac tissue repair. Acta Biochim Pol, 2019, 66: 483-489.
- [10] 张弛, 张圳, 向秋玲. 间充质干细胞在炎症免疫调节中的作用. 生理科学进展, 2021, 52: 456-460.
- [11] Ayala CA, Kang JH, Jeung EB, et al. Roles of mesenchymal stem cells in tissue regeneration and immunomodulation. Biomol Ther (Seoul), 2019, 27: 25-33.
- [12] Li CY, Jin YT, Wei S, et al. Hippo signaling controls nlr family pyrin domain containing 3 activation and governs immunoregulation of mesenchymal stem cells in mouse liver injury. Hepatology,

- 2019, 70:1714-1731.
- [13] Yu XP, Liu P, Li Z, et al. Function and mechanism of mesenchymal stem cells in the healing of diabetic foot wounds. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14:1099310.
- [14] 熊佳超, 宋建星. 脂肪来源干细胞治疗难愈性创面的研究进展. *中国修复重建外科杂志*, 2018, 32:457-461.
- [15] Tang Y, Zhou Y, Li HJ. Advances in mesenchymal stem cell exosomes: a review. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12:71.
- [16] Chen L, Zheng Q, Liu YP, et al. Adipose-derived stem cells promote diabetic wound healing via the recruitment and differentiation of endothelial progenitor cells into endothelial cells mediated by the VEGF-PLC γ -ERK pathway. *Arch Biochem Biophys*, 2020, 692:108531.
- [17] Liao YL, Itoh M, Yang A, et al. Human cord blood-derived unrestricted somatic stem cells promote wound healing and have therapeutic potential for patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Cell Transplant*, 2014, 23:303-317.
- [18] Fu XR, Liu G, Halim A, et al. Mesenchymal stem cell migration and tissue repair. *Cells*, 2019, 8:784.
- [19] Um S, Ha J, Choi SJ, et al. Prospects for the therapeutic development of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. *World J Stem Cells*, 2020, 12:1511-1528.
- [20] Sriramulu S, Banerjee A, Di Liddo R, et al. Concise review on clinical applications of conditioned medium derived from human umbilical cord-mesenchymal stem cells. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*, 2018, 12:230-234.
- [21] Abdallah BM, Khattab HM. Recent approaches to isolating and culturing mouse bone marrow-derived mesenchymal stromal stem cells. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2021, 16:599-607.
- [22] Cai YT, Liu TS, Fang F, et al. Comparisons of mouse mesenchymal stem cells in primary adherent culture of compact bone fragments and whole bone marrow. *Stem Cells Int*, 2015, 2015:708906.
- [23] Sabol RA, Bowles AC, Côté A, et al. Therapeutic potential of adipose stem cells. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1341:15-25.
- [24] 魏兆明, 江文胜, 高艺, 等. 脂肪间充质干细胞的生物学特性及潜在临床应用. *中国临床药理学与治疗学*, 2019, 24:116-120.
- [25] 费杨厚雪, 张鸽, 张云, 等. 脂肪间充质干细胞治疗骨关节炎研究进展. *中国药业*, 2021, 30:116-120.
- [26] Shi RF, Lian WS, Jin YP, et al. Role and effect of vein-transplanted human umbilical cord mesenchymal stem cells in the repair of diabetic foot ulcers in rats. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2020, 52:620-630.
- [27] 何晏清. 脐带间充质干细胞治疗2型糖尿病皮肤溃疡的临床研究. *中国煤炭工业医学杂志*, 2014, 17:532-534.
- [28] Yamada H, Naito R, Nishimura M, et al. Xenotransplantation of neonatal porcine bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves diabetic wound healing by promoting angiogenesis and lymphangiogenesis. *Xenotransplantation*, 2022, 29:e12739.
- [29] Raghuram AC, Yu RP, Lo AY, et al. Role of stem cell therapies in treating chronic wounds: a systematic review. *World J Stem Cells*, 2020, 12:659-675.
- [30] De Gregorio C, Contador D, Diaz D, et al. Human adipose-derived mesenchymal stem cell-conditioned medium ameliorates polyneuropathy and foot ulceration in diabetic BKS db/db mice. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11:168.
- [31] Ren S, Xiong HW, Chen J, et al. The whole profiling and competing endogenous RNA network analyses of noncoding RNAs in adipose-derived stem cells from diabetic, old, and young patients. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12:313.
- [32] Park JS, Park G, Hong HS. Age affects the paracrine activity and differentiation potential of human adipose-derived stem cells. *Mol Med Rep*, 2021, 23:160.
- [33] Dong XX, Wang XY, Xing M, et al. Inhibition of the negative effect of high glucose on osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells by silicon ions from calcium silicate bioceramics. *Regen Biomater*, 2020, 7:9-17.
- [34] 田健健, 池颖, 宋宝全, 等. 不同成脂条件下人骨髓间充质干细胞的早期成脂特性. *中国组织工程研究*, 2016, 20:3366-3373.
- [35] 陶贵录, 楚同彬, 张雷. 骨髓间充质干细胞条件培养基加入罗格列酮后促进内皮祖细胞的增殖与迁移. *中国组织工程研究*, 2021, 25:56-60.
- [36] Argenta LC, Morykwas MJ. Vacuum-assisted closure: a new method for wound control and treatment: clinical experience. *Ann Plast Surg*, 1997, 38:563-576.
- [37] 赵伯文, 徐强, 葛权虎, 等. 负压条件下骨髓间充质干细胞向表皮细胞的诱导分化. *中国组织工程研究*, 2018, 22:101-106.
- [38] 杨雄峰, 姜慧娇, 王小义, 等. 体外负压培养对小鼠骨髓间充质干细胞增殖能力和血管内皮生长因子分泌水平的影响. *中国组织工程研究*, 2020, 24:33-39.
- [39] Hersant B, Sid AM, Braud L, et al. Platelet-rich plasma improves the wound healing potential of mesenchymal stem cells through paracrine and metabolism alterations. *Stem Cells Int*, 2019, 2019:1234263.
- [40] Meamar R, Ghasemi ML, Norouzi MR, et al. Improved wound healing of diabetic foot ulcers using human placenta-derived mesenchymal stem cells in gelatin electrospun nanofibrous scaffolds plus a platelet-rich plasma gel: a randomized clinical trial. *Int Immunopharmacol*, 2021, 101:108282.

(收稿日期:2023-05-18)

(本文编辑:董民)