

Wnt/ β -catenin 信号介导脐带间充质干细胞修复糖尿病创面的应用前景

邱虹¹ 韩焱福² 陶然³

【摘要】 糖尿病并发创面致病机制复杂,缺乏有效治疗措施。间充质干细胞(MSC)具有促进创面愈合的作用,与骨髓 MSC 比较,脐带来源的 MSC 生物学特性优势明显。Wnt 是干细胞转归和皮肤再生的强效调节信号分子,而糖尿病创面 Wnt 信号通路功能低下。Wnt/ β -catenin 信号介导脐带 MSC 修复糖尿病创面有潜在的临床应用前景,本文综述了这方面的研究现状及存在问题。

【关键词】 间质干细胞; 糖尿病; 伤口愈合; Wnt 信号通路

Application prospect of umbilical cord mesenchymal stem cells mediated by Wnt/ β -catenin signaling

for repair of diabetic wounds Qiu Hong¹, Han Yanfu², Tao Ran³. ¹Department of Stomatology, People's Liberation Army Navy Official Outpatient Clinic, Beijing 100036, China; ²Department of Plastic Surgery, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China; ³Department of Plastic and Repair Surgery, People's Liberation Army General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: Tao Ran, Email: lauruatr @ 163. com

【Abstract】 The pathogenesis of diabetes wounds is complicate, and there lacks effective treatment strategies. Mesenchymal stem cells can promote wound healing. Compared with bone marrow mesenchymal stem cells, umbilical cord mesenchymal stem cells have obvious advantages in biological property. Wnt is potent regulatory molecules for stem cell turnover and skin regeneration, while the function of Wnt signaling pathway in diabetic wound is low. Umbilical cord mesenchymal stem cells mediated by Wnt/ β -catenin signaling have some application potential in the repair of diabetic wounds. In this paper, the authors summarize the current situation and existing problems in this field.

【Key words】 Mesenchymal stem cells; Wnt signaling pathway; Diabetes mellitus; Wound healing

随着发展中国家社会经济的发展和生活水平的日益提高,导致疾病发生的主要因素也发生了明显的变化,其中急慢性创面患者的治疗问题越来越突出。2009 年完成的新一代流行病学研究表明,中国人的体表慢性创面形成的主要原因由创伤、烧伤转变为糖尿病等慢性疾病,糖尿病等慢性疾病引起的慢性创面占 36% 左右,由于其发病因素复杂,治疗困难,糖尿病等慢性疾病引起的创面治疗已开始被重视^[1]。据流行病学调查^[2],在我国国家由糖尿病慢性皮肤溃疡创面引起的截肢率达 19.03%。鉴于上述因素,我国已经有把主要针对慢性创面治疗的创面修复学作为一门独立学科的发展趋势。

糖尿病患者皮肤易受损伤,损伤后往往反复发作,迁延不愈,形成顽固难愈性溃疡,具有难治愈、易感染及高截肢率的特点,这不仅给患者造成了极大痛苦,也给社会和家庭增加了沉重负担。因此,如何促进糖尿病创面愈合已成为临床

亟需解决的重要课题。

一、Wnt 信号通路在糖尿病创面难愈中的作用机制

糖尿病等慢性疾病引起的创面通常称为难愈性创面,其发生机制复杂,通常可以理解为在各种内在或外界因素作用下创面不能通过正常的愈合进程达到愈合,从而导致创面经久难愈,糖尿病足溃疡治疗往往需要多学科团队协作^[3]。难以愈合的机制之一可能与创面炎症反应的异常、基质金属蛋白酶表达异常、肉芽组织成纤维细胞增殖不足及凋亡过度、表皮细胞增殖障碍、血管内皮生长因子表达水平低下等多种因素有关。最近的研究表明^[4],Wnt/ β -catenin 信号通路参与了糖尿病大鼠创面愈合的过程,抑制 Wnt 信号可影响糖尿病足伤口愈合。目前对糖尿病创面的治疗,主要是在控制糖尿病的基础上,多集中在防止创面感染和对创面进行保护,并外用细胞生长因子,从而为创面愈合创造条件,以期获得自然愈合。然而,至今仍无一种可完全符合糖尿病足溃疡治疗要求的敷料^[5],应用细胞生长因子包括促血管生成因子等也难以修复糖尿病创面^[6]。但随着对创面修复认识的深化,人们已从被动等待转向主动调控,从外科处置理念发展到再生与完美修复的观点,而干细胞被认为是组织再生的基础,目前许多干细胞研究集中在努力生产用于细胞替代所需的细胞类型^[7]。目前研究已初步显示^[8],成人或胎儿的干细胞或祖细胞治疗皮肤溃疡创面有一定的应用前景。间充质干细胞

DOI:10.3877/cma.j.issn.1673-9450.2016.02.014

基金项目:北京市科技新星计划项目(Z151100003150128)

作者单位:100036 北京,解放军海军机关门诊部口腔科¹;
100038 首都医科大学附属北京世纪坛医院整形外科²;100853
北京,解放军总医院整形修复外科³

通讯作者:陶然,Email: lauruatr @ 163. com

(mesenchymal stem cell, MSC)可促进皮肤缺损创面修复与再生,间充质干细胞被认为不仅是通过分泌生长因子,且可以分化为血管成分和非血管成分细胞,从而促进创面愈合^[9]。南文滨等^[10]通过实验研究,证实人脐带间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cell, UCMSC)移植可促进小鼠皮肤缺损创面愈合。在 MSC 治疗糖尿病创面方面,实验研究虽获得了促进创面愈合的明显效果,然而临床应用 MSC 治疗糖尿病创面报道较少,疗效不稳定,移植方式也有待改进。且有研究表明^[11],糖尿病创面微环境不利于干细胞移植成活与增殖分化,外源性骨髓 MSC 在糖尿病创面存活时间较短,可能与糖尿病大鼠创面愈合过程中 Wnt/ β -catenin 信号通路功能低下^[4]有关。Wnts 是干细胞转归和皮肤自稳及再生的强效调节蛋白^[12],可促进干细胞增殖分化。有研究显示^[13], Wnt 信号通路可通过调控表皮干细胞的增殖分化参与大鼠创面愈合过程。Wnt 信号传导途径分为经典和非经典的两条信号通路,而经典的 Wnt 信号通路是控制动物胚胎发育和组织器官形态发生的重要信号转导途径^[14]。目前已知的 Wnt 蛋白家族成员中,能激活经典通路的有 Wnt-1、Wnt-3a 和 Wnt-8。 β -catenin 是 Wnt 信号途径中的关键因子,细胞周期蛋白 D (Cyclin-D1)、原癌基因 c-myc 是 Wnt/ β -catenin 重要的靶基因。具体经典 Wnt 信号通路见图 1。

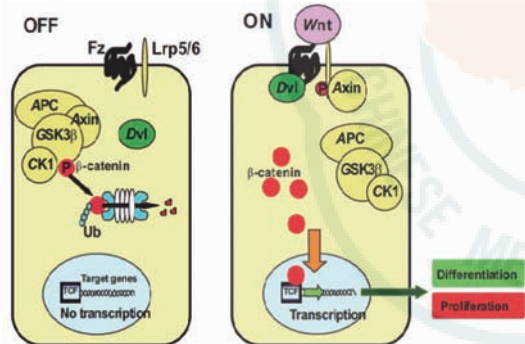


图1 Wnt/ β -catenin 信号通路阻断与激活示意图^[15]

二、脐带 MSC 促进创面愈合的优势

MSC 是一类具有多向分化潜能的组织干细胞,最早在骨髓中发现。在体外特定的诱导条件下, MSC 可分化为骨、软骨、脂肪、肌腱、肌肉、神经等多种细胞。目前研究认为骨髓 MSC 可分泌一些细胞因子,并侵入创面,分化成表皮细胞、血管内皮细胞或汗腺等皮肤附属结构,促进创面愈合^[16-17],但其具体分子机制仍不清楚。因 Wnt/ β -catenin 信号通路与 MSC 增殖分化密切相关^[18]。研究证实,人胎儿主动脉来源的 CD133⁺ 祖细胞通过激活 Wnt 信号促进糖尿病缺血创面愈合^[19]。故认为糖尿病皮肤缺损创面应用含 Wnt 信号激活的 MSC 移植修复后,创面愈合可加速。

脐带血与脐带组织是 MSC 的主要来源,但脐带组织中 MSC 含量更丰富。与骨髓 MSC 相比较, UCMSC 具有来源广泛、获取方便、抗原性低、能更好地避免生物伦理学问题等更多的优势,且 UCMSC 接近胚胎细胞,在促进创面愈合方面也优于成体细胞^[20]。脐带组织来源的 MSC 不仅自身免疫原性弱,而且可以抑制同种异体免疫反应,并通过分泌抗炎因子

减轻局部炎症反应^[21]。目前脐带组织 MSC 的分离培养及分化技术日渐成熟^[22],并优化出改良酶消化法^[23]。故 UCMSC 有望成为细胞治疗和组织工程种子细胞的新来源。已有研究证实 UCMSC 适用于异种移植^[24],且在目前的临床异体移植时不需要配型,受体无明显的排异反应,在干细胞临床应用上展现了良好的前景^[25]。

三、Wnt/ β -catenin 信号介导 UCMSC 促进糖尿病创面愈合

目前研究表明,通过静脉输注全身应用 MSC 存在安全性风险,直接局部外用 MSC 不能使细胞固定在创面局部,创周皮下注射或肌肉注射 MSC 后细胞很少迁移至创面,也不利于细胞的存活与功能发挥,因而合适的载体材料有助于维持细胞的活性和功能,提高 MSC 创面治疗效果^[26-27],已有临床研究证实骨髓 MSC 复合胶原海绵移植可促进慢性溃疡创面愈合^[28]。在生物支架材料方面,以脱细胞真皮基质为支架,进行表皮细胞培养构建皮肤替代物,但由于真皮基质在脱细胞处理过程中,表面的细胞锚点被破坏,影响了细胞与真皮基质的黏附。已有实验证实激光微孔脱细胞真皮基质是较好的三维细胞培养支架,有助于细胞种植生长及血管化^[29]。而胶原、壳聚糖已证实具有较好的生物相容性及细胞黏附性,故理论上,胶原、壳聚糖修饰微孔脱细胞真皮基质形成的复合膜是较理想的生物支架材料,该复合膜可作为构建含 MSC 组织工程皮肤的支架材料。

综上所述,脐带组织来源的 MSC 取材简便、来源丰富、相对纯净,无任何伦理问题,免疫原性低,具有多向分化潜能,可分泌生长因子和分化为皮肤创面修复细胞,且具有免疫调节作用及抗炎作用。而胶原-壳聚糖-激光微孔真皮复合膜是较理想的组织工程皮肤支架材料。Wnt 信号调控作用与 MSC 增殖分化及创面愈合密切相关。目前已证实 Wnt3a 是 Wnt 基因家族中激活 Wnt/ β -catenin 信号通路的一个关键蛋白分子,且是经典 Wnt 信号蛋白家族成员中的典型代表,外源性 Wnt3a 可在体内外激活 Wnt/ β -catenin 信号途径,在多种干细胞增殖分化过程中起重要调控作用^[30]。故认为预先激活 Wnt 信号通路的 UCMSC 复合支架材料可促进糖尿病创面愈合,调控 Wnt 信号有利于含干细胞组织工程皮肤修复糖尿病创面,加速创面愈合,改善创面愈合质量。

四、应用前景

随着人口老龄化和生活、饮食方式的转变,糖尿病等慢性疾病的日益增多,糖尿病患者一生中高达 25% 的概率发生糖尿病足溃疡^[31],随着糖尿病引起的慢性创面日益增多,给社会和家庭带来了巨大的经济负担。然而,临床治疗非常棘手,难以取得令人满意的疗效,目前糖尿病引起的慢性创面仍无较理想的治疗措施。临床上迫切需要找到创伤小、易接受、疗效好的新的治疗方法。有动物实验研究显示^[32],抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路有损糖尿病小鼠创面愈合。故认为,通过调控 Wnt 信号促进含 UCMSC 组织工程皮肤修复糖尿病皮肤缺损创面,将提供糖尿病创面等难愈性、慢性创面治疗的新思路与新策略,通过开展临床研究,有望提高创面愈合率,减少截肢率,缩短住院时间,降低住院费用,从而提高糖尿病创面患者生活质量,使患者生活可自理,并减轻患者的痛苦及家庭、社会的负担,有潜在的广阔临床应用前景,

必将产生显著的经济效益和社会效益。

参 考 文 献

- 付小兵, 陆树良, 蒋建新, 等. 创面治疗中心的建设势在必行 [J]. 中华创伤杂志, 2009, 25(9): 769-770.
- Jiang Y, Ran X, Jia L, et al. Epidemiology of type 2 diabetic foot problems and predictive factors for amputation in China [J]. Int J Low Extrem Wounds, 2015, 14(1): 19-27.
- Andrews KL, Houdek MT, Kiemle LJ. Wound management of chronic diabetic foot ulcers: from the basics to regenerative medicine [J]. Prosthet Orthot Int, 2015, 39(1): 29-39.
- Qi W, Yang C, Dai Z, et al. High levels of pigment epithelium-derived factor in diabetes impair wound healing through suppression of Wnt signaling [J]. Diabetes, 2015, 64(4): 1407-1419.
- Moura LI, Dias AM, Carvalho E, et al. Recent advances on the development of wound dressings for diabetic foot ulcer treatment--a review [J]. Acta Biomater, 2013, 9(7): 7093-7114.
- Loyd CM, Diaconu D, Fu W, et al. Transgenic overexpression of keratinocyte-specific VEGF and Ang1 in combination promotes wound healing under nondiabetic but not diabetic conditions [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2012, 5(1): 1-11.
- Wang Q, Stern JH, Temple S. Regenerative Medicine: Solution in Sight [J]. Adv Exp Med Biol, 2016, 854: 543-548.
- Teng M, Huang Y, Zhang H. Application of stems cells in wound healing--an update [J]. Wound Repair Regen, 2014, 22(2): 151-160.
- Li H, Fu X. Mechanisms of action of mesenchymal stem cells in cutaneous wound repair and regeneration [J]. Cell Tissue Res, 2012, 348(3): 371-377.
- 南文滨, 陈红丽, 刘瑞, 等. 胶原-纤维蛋白胶膜复合脐带间充质干细胞修复小鼠全层皮肤创面的实验研究 [J/CD]. 中华损伤与修复杂志: 电子版, 2015, 10(1): 50-55.
- Wu Y, Chen L, Scott PG, et al. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis [J]. Stem Cells, 2007, 25(10): 2648-2659.
- Ito M, Yang Z, Andl T, et al. Wnt-dependent de novo hair follicle regeneration in adult mouse skin after wounding [J]. Nature, 2007, 447(7142): 316-320.
- 施彦, 舒斌, 杨荣华, 等. Wnt 和 Notch 信号通路在大鼠创面愈合模型中的表达作用 [J/CD]. 中华损伤与修复杂志: 电子版, 2014, 9(2): 151-157.
- DasGupta R, Kaykas A, Moon RT, et al. Functional genomic analysis of the Wnt-wingless signaling pathway [J]. Science, 2005, 308(5723): 826-833.
- Chen BY, Wang X, Chen LW, et al. Molecular targeting regulation of proliferation and differentiation of the bone marrow-derived mesenchymal stem cells or mesenchymal stromal cells [J]. Curr Drug Targets, 2012, 13(4): 561-571.
- Stappenbeck TS, Miyoshi H. The role of stromal stem cells in tissue regeneration and wound repair [J]. Science, 2009, 324(5935): 1666-1669.
- Kirby GT, Mills SJ, Cowin AJ, et al. Stem Cells for Cutaneous Wound Healing [J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 285869.
- Ling L, Nurcombe V, Cool SM. Wnt signaling controls the fate of mesenchymal stem cells [J]. Gene, 2009, 433(1/2): 1-7.
- Barcelos LS, Duplaa C, Kränkel N, et al. Human CD133 + progenitor cells promote the healing of diabetic ischemic ulcers by paracrine stimulation of angiogenesis and activation of Wnt signaling [J]. Circ Res, 2009, 104(9): 1095-1102.
- Ramelet AA, Hirt-Burri N, Raffoul W, et al. Chronic wound healing by fetal cell therapy may be explained by differential gene profiling observed in fetal versus old skin cells [J]. Exp Gerontol, 2009, 44(3): 208-218.
- Salem HK, Thiemermann C. Mesenchymal stromal cells: current understanding and clinical status [J]. Stem Cells, 2010, 28(3): 585-596.
- Han Y, Chai J, Sun T, et al. Differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells into fibroblasts in vitro [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 413(4): 561-565.
- Han YF, Tao R, Sun TJ, et al. Optimization of human umbilical cord mesenchymal stem cell isolation and culture methods [J]. Cytotechnology, 2013, 65(5): 819-827.
- Han Y, Tao R, Han Y, et al. Microencapsulated VEGF gene-modified umbilical cord mesenchymal stromal cells promote the vascularization of tissue-engineered dermis: an experimental study [J]. Cytotherapy, 2014, 16(2): 160-169.
- Brower J, Blumberg S, Carroll E, et al. Mesenchymal stem cell therapy and delivery systems in nonhealing wounds [J]. Adv Skin Wound Care, 2011, 24(11): 524-532.
- O'Loughlin A1, Kulkarni M, Creane M, et al. Topical administration of allogeneic mesenchymal stromal cells seeded in a collagen scaffold augments wound healing and increases angiogenesis in the diabetic rabbit ulcer [J]. Diabetes, 2013, 62(7): 2588-2594.
- Jiang D, Qi Y, Walker NG, et al. The effect of adipose tissue derived MSCs delivered by a chemically defined carrier on full-thickness cutaneous wound healing [J]. Biomaterials, 2013, 34(10): 2501-2515.
- Yoshikawa T, Mitsuno H, Nonaka I, et al. Wound therapy by marrow mesenchymal cell transplantation [J]. Plast Reconstr Surg, 2008, 121(3): 860-877.
- Chai JK, Liang LM, Yang HM, et al. Preparation of laser micropore porcine acellular dermal matrix for skin graft: An experimental study [J]. Burns, 2007, 33(6): 719-725.
- Sun TJ, Tao R, Han YQ, et al. Wnt3a promotes human umbilical cord mesenchymal stem cells to differentiate into epidermal-like cells [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2015, 19(1): 86-91.
- Wang R, Feng Y, Di B. Comparisons of negative pressure wound therapy and ultrasonic debridement for diabetic foot ulcers: a network meta-analysis [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(8): 12548-12556.
- Qi W, Yang C, Dai Z, et al. High levels of pigment epithelium-derived factor in diabetes impair wound healing through suppression of Wnt signaling [J]. Diabetes, 2015, 64(4): 1407-1419.

(收稿日期:2015-11-25)

(本文编辑:甘丽)

邱虹, 韩焱福, 陶然. Wnt/ β -catenin 信号介导脐带间充质干细胞修复糖尿病创面的应用前景 [J/CD]. 中华损伤与修复杂志: 电子版, 2016, 11(2): 144-146.