

· 综述 ·

间充质干细胞源性外泌体在创面修复中的研究进展

王宏宇^{1,3} 刘玲英² 巴特³

【摘要】 外泌体是由细胞通过旁分泌途径产生的一种直径在 30 ~ 100 nm 的囊泡结构。作为活细胞分泌的一种亚细胞成分,外泌体广泛参与细胞间的信息交流。多项研究表明,间充质干细胞源性外泌体调控创面修复的多个过程。它可以通过抑制创面过度炎症反应,促进创面血管新生,促进成纤维细胞增殖、迁移,以及抑制创面瘢痕形成来促进创面的修复与再生。本文就间充质干细胞源性外泌体在创面修复中的作用及相关机制进行综述,为外泌体在临床中的应用提供依据。

【关键词】 外泌体; 干细胞; 伤口愈合; 炎症; 瘢痕; 血管新生

Research progress of mesenchymal stem cell-derived exosomes in wound repair Wang Hongyu^{1,3}, Liu Lingying², Ba Te³. ¹Inner Mongolia Medical University, Huhhot 010059, China; ²Department of Burns and Plastic Surgery, Fourth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100048, China; ³Department of Burns, Third Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Baotou 014010, China
Corresponding author: Ba Te, Email: bgybate@126.com

【Abstract】 Exosomes are a vesicle structure with a diameter of about 30 to 100 nm produced by cells through the paracrine pathway. As a subcellular component secreted by living cells, exosomes are widely involved in the communication of information between cells. A number of studies have shown that exosomes derived from mesenchymal stem cells regulate multiple processes of wound repair. It can promote the repair and regeneration of wounds by inhibiting the excessive inflammation response of the wound, promoting the angiogenesis of the wound, promoting the proliferation and migration of fibroblasts, and inhibiting the formation of wound scars. This article reviews the role of mesenchymal stem cell-derived exosomes in wound repair and related mechanisms, and provides a basis for clinical application of exosomes.

【Key words】 Exosomes; Stem cells; Wound healing; Inflammation; Cicatrix; Angiogenesis

皮肤是人体最大的器官,位于人体结构的最外面。其主要功能是发挥免疫屏障作用,保护人体免受外界有害物质、病原体等入侵,还具有调节机体新陈代谢、感觉等功能。然而,皮肤经常因各种内在病理及外界机械因素而受损,这些急、慢性的皮肤缺损给患者及社会带来了沉重的负担^[1]。如何加速创面的愈合,促进创面的修复显得尤为重要。

在创面修复领域,间充质干细胞疗法取得了可喜的治疗效果。起初研究认为间充质干细胞发挥创面修复作用主要与其多向分化潜能有关,如:间充质干细胞可分化为上皮细胞、脂肪细胞、成骨细胞等^[2]。近年来研究发现,间充质干细胞在组织修复中发挥其功能主要是通过旁分泌及自分泌途径实现的^[3],而其自身向损伤部位的迁移、趋化较低^[4]。此

外,间充质干细胞在修复创面的同时还存在免疫排斥、致畸致瘤等并发症的风险^[5]。因此,开发一种既具有干细胞的疗效又能规避其风险的治疗方法是十分必要的。外泌体作为间充质干细胞旁分泌的一种亚细胞成分,其特殊的双分子层结构保护其内容物相对稳定且免受破坏,通过转运多种生物活性成分(蛋白质、脂质、核酸等)使其实现对受体细胞的多途径调节,在组织修复与再生^[6-8]、揭示发病机制^[9]、参与免疫调节^[10]等方面都发挥了重要的作用,使无细胞治疗成为了可能^[11-12]。目前研究发现,外泌体作为干细胞旁分泌的载体,可以向受体细胞投递蛋白质、脂质、核酸等信号,从而影响其中的多个环节、多种细胞而促进皮肤的修复与再生^[13]。

一、间充质干细胞源性外泌体在皮肤创面修复中的作用及相关机制

(一)调控创面过度炎症反应的作用及机制

局部皮肤受损后,单核巨噬细胞、淋巴细胞等炎性细胞趋化,炎性因子如:肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-1 β 释放增加,启动炎症反应过程。适度的炎症反应能够对抗感染,是机体对抗有害刺激的自我防御反应,是促进创面愈合的基础^[14],但过度的炎症反应可导致全身多器官功能障碍甚至导致患者死亡^[15]。研究表明,外泌体中富含的微小 RNA (miRNA, miR)能够调控炎症反应,降低炎性损伤,提高组织

DOI:10.3877/cma.j.issn.1673-9450.2020.01.012

基金项目:国家自然科学基金青年项目(81701900);解放军总医院科技创新苗圃基金项目(17KMM28);解放军总医院扶持基金项目(2017FC-304M-CXY-01);解放军总医院转化医学项目(2017TM-029);内蒙古自治区自然科学基金项目(2015MS0815);内蒙古医科大学科技百万工程(联合)项目[YKD2016KJBW(LH)041]

作者单位:010059 呼和浩特,内蒙古医科大学¹;100048 北京,解放军总医院第四医学中心烧伤整形科²;014010 包头,内蒙古医科大学第三附属医院烧伤科³

通信作者:巴特,Email: bgybate@126.com

耐受性,保护受损组织,在炎症反应过程中起着重要的调控作用^[16]。

小鼠动物模型研究中发现,间充质干细胞源性外泌体可调控免疫细胞,抑制促炎因子白细胞介素-6、白细胞介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 的表达,促进抗炎因子转化生长因子- β 、白细胞介素-10的表达,从而使移植于小鼠背部的外源性皮肤存活率提高^[17-18]。大鼠实验中发现,间充质干细胞源性外泌体可减轻热刺激引起的炎症反应,进一步研究发现外泌体中所含的 miR-181c 在此过程中起重要的作用,富含 miR-181c 的外泌体可抑制 TLR-4、NF- κ B/p65 信号通路的激活,从而减轻热刺激引起的皮肤炎症反应^[19]。

(二) 促创面血管新生的作用及机制

血管新生是创面愈合及组织修复的基础,新生血管可以为创面愈合提供充足的营养物质和氧气,并带走相关代谢产物,从而促进创面相关细胞增殖,促进组织修复。研究表明,间充质干细胞源性外泌体参与了血管形成中的多个通路,促进血管的新生及成熟^[20]。

张静等^[21]研究发现脂肪干细胞源性外泌体可促进人脐静脉血管内皮细胞增殖、迁移及管样结构形成,促进血管新生。研究者在体内、外实验中发现血管内皮细胞可摄取脂肪干细胞源性外泌体,从而促进血管的生成;进一步研究发现 miR-125a 在血管形成中具有重要的作用,而将 miR-125a 含量降低后,该外泌体成管活性降低^[22]。Li 等^[23]研究发现,内皮细胞来源的外泌体可促进促血管因子,如:血管内皮生长因子、缺氧诱导因子-1 α 等表达,促进血管的形成,又将内皮细胞来源的外泌体应用于正常及糖尿病大鼠创面上,发现同样可以促进创面血管的新生,加速创面的愈合。另外有研究表明,外泌体能转运促血管形成的 miR-30b、miR-30c 等,调节内皮细胞迁移进入细胞外基质,促进血管的生成^[24]。

(三) 促创面细胞增殖、迁移的作用及机制

皮肤受损后第3天开始,创面修复进入增生期。此期成纤维细胞、上皮细胞、内皮细胞等开始增殖、迁移,加速创面的愈合。细胞增殖是组织细胞再生修复的关键^[25]。研究表明,外泌体可通过调节相关生长因子的表达,促进成纤维细胞、表皮细胞等的增殖与迁移,加速创面的愈合^[26]。

尹刚等^[27]研究发现脂肪干细胞源性外泌体对周围神经损伤后再生有一定促进作用,其机制可能与减少坐骨神经雪旺细胞凋亡、抑制其自噬、减轻神经瓦勒式变性有关。对大鼠皮肤创伤模型的研究发现,外泌体可抑制促凋亡因子 Bax 的表达,激活 AKT 通路,促进成纤维细胞的增殖,加速创面的愈合^[28-29]。该课题组进一步研究其机制时发现,所提取的外泌体中富含 wnt4 蛋白,激活 wnt/ β -catenin 通路,促进增殖细胞核抗原、细胞周期蛋白 D3、N 钙黏素的表达,抑制 E 钙黏素的表达,促进创面皮肤的修复。另外有研究表明,骨髓间充质干细胞源性外泌体能促进神经生长因子、基质细胞衍生因子-1 等生长因子的表达,从而促进损伤组织的修复^[30]。同样在糖尿病大鼠模型中发现,富含血小板血浆的外泌体可激活 YAP 蛋白,促进成纤维细胞的增殖,从而促进创面皮肤上皮化愈合^[31]。

(四) 抑制创面瘢痕形成的作用及机制

皮肤创面愈合的第4个阶段是组织改建、重塑期,慢性创

面或大面积深度烧伤常常会导致瘢痕形成,这是成纤维细胞聚集及细胞外基质沉积的结果。严重的瘢痕不仅影响患者的功能活动、外观面貌,而且给患者带来巨大的精神负担^[32]。

外泌体在抑制瘢痕形成过程中发挥一定的作用。在对小鼠皮肤缺损模型的研究中发现,脂肪干细胞源性外泌体能抑制成纤维细胞向肌成纤维细胞分化,提高胶原蛋白 III/胶原蛋白 I、基质金属蛋白酶-3/基质金属蛋白酶抑制剂-1、转化生长因子- β 3/转化生长因子- β 1 的比值,从而减少瘢痕形成^[33]。Fang 等^[34]研究发现间充质干细胞来源的外泌体内包含的一些 miR 如 miR-21、miR-23A、miR-125B 和 miR-145,能阻断转化生长因子- β /细胞信号传导分子 2 通路,抑制肌成纤维细胞过度纤维化,从而减少瘢痕形成。此外,实验证明,脂肪干细胞来源外泌体在晚期可以抑制胶原的合成而减轻瘢痕^[35]。

二、总结与展望

通过总结外泌体促进创面修复的相关文献,笔者团队认为间充质干细胞源性外泌体可以促进创面愈合,加速损伤组织的修复,在皮肤创面修复与再生领域具有巨大的临床应用前景。外泌体有望成为疾病诊断的标志物,提高疾病诊断的灵敏度及特异性;此外,外泌体作为药物载体已经在再生医学、靶向治疗及疫苗制备等方面展开研究。但目前仍存在许多问题尚待解决,如:外泌体修复创面的具体机制、生物效应持久性和有效剂量等问题有待进一步探索;如何提高外泌体的功效也是临床研究热门领域(用特定药物预处理外泌体源性细胞有可能改变外泌体的表达特征,从而调节其治疗特性);目前外泌体的提取、分离、纯化过程仍相对复杂,尚不能快速、大量得到具有积极作用的外泌体。总之,将外泌体真正应用于临床还需进一步探索研究。

参 考 文 献

- [1] Arya AK, Tripathi R, Kumar S, et al. Recent advances on the association of apoptosis in chronic non healing diabetic wound [J]. World J Diabetes, 2014, 5(6): 756-762.
- [2] Strong AL, Neumeister MW, Levi B. Stem Cells and Tissue Engineering: Regeneration of the Skin and Its Contents [J]. Clin Plast Surg, 2017, 44(3): 635-650.
- [3] Taverna S, Pucci M, Alessandro R. Extracellular vesicles: small bricks for tissue repair/regeneration [J]. Ann Transl Med, 2017, 5(4): 83.
- [4] Ghosh D, McGrail DJ, Dawson MR. TGF- β 1 Pretreatment Improves the Function of Mesenchymal Stem Cells in the Wound Bed [J]. Front Cell Dev Biol, 2017, 5: 28.
- [5] Swaminathan M, Stafford-Smith M, Chertow GM, et al. Allogeneic mesenchymal stem cells for treatment of AKI after cardiac surgery [J]. J Am Soc Nephrol, 2018, 29(1): 260-267.
- [6] Zhu F, Chong Lee Shin OLS, Pei G, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells employed exosomes to attenuate AKI-CKD transition through tubular epithelial cell dependent Sox9 activation [J]. Oncotarget, 2017, 8(41): 70707-70726.
- [7] Hao ZC, Lu J, Wang SZ, et al. Stem cell-derived exosomes: A promising strategy for fracture healing [J]. Cell Prolif, 2017, 50(5).

- [8] Xu JY, Chen GH, Yang YJ. Exosomes: A Rising Star in Falling Hearts[J]. *Front Physiol*, 2017, 8: 494.
- [9] Zhang G, Liu Z, Ding H, et al. Tumor induces muscle wasting in mice through releasing extracellular Hsp70 and Hsp90[J]. 2017, 8(1): 589.
- [10] Chen W, Jiang J, Xia W, et al. Tumor-Related Exosomes Contribute to Tumor-Promoting Microenvironment: An Immunological Perspective[J]. *J Immunol Res*, 2017, 2017: 1073947.
- [11] Rani S, Ryan AE, Griffin MD, et al. Mesenchymal Stem Cell-derived Extracellular Vesicles: Toward Cell-free Therapeutic Applications[J]. *Mol Ther*, 2015, 23(5): 812-823.
- [12] Katsuda T, Kosaka N, Takeshita F, et al. The therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles[J]. *Proteomics*, 2013, 13(10-11): 1637-1653.
- [13] Than UTT, Guanzon D, Leavesley D, et al. Association of extracellular membrane vesicles with cutaneous wound healing[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(5): pii: 956.
- [14] Sugimoto MA, Sousa LP, Pinho V, et al. Resolution of inflammation: what controls its onset? [J]. *Front Immunol*, 2016, 7: 160.
- [15] Jónsdóttir B, Jaworowski A, San Miguel C, et al. IL-8 predicts early mortality in patients with acute hypercapnic respiratory failure treated with noninvasive positive pressure ventilation[J]. *BMC Pulm Med*, 2017, 17(1): 35.
- [16] Wang X, Gu H, Qin D, et al. Exosomal miR-223 contributes to mesenchymal stem cell-elicited cardioprotection in polymicrobial sepsis[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 13721.
- [17] Zhang B, Yin Y, Lai RC, et al. Mesenchymal stem cells secrete immunologically active exosomes[J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23(11): 1233-1244.
- [18] Huang JH, Yin XM, Xu Y et al. Systemic Administration of Exosomes Released from Mesenchymal Stromal Cells Attenuates Apoptosis, Inflammation, and Promotes Angiogenesis after Spinal Cord Injury in Rats[J]. *J Neurotrauma*, 2017, 34(24): 3388-3396.
- [19] Li X, Liu L, Yang J, et al. Exosome Derived From Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell Mediates MIR-181c Attenuating Burn-induced Excessive Inflammation[J]. *EBioMedicine*, 2016, 8: 72-82.
- [20] Todorova D, Simoncini S, Lacroix R, et al. Extracellular Vesicles in Angiogenesis[J]. *Circ Res*, 2017, 120(10): 1658-1673.
- [21] 张静, 易阳艳, 阳水发, 等. 脂肪干细胞来源外泌体对人脐静脉血管内皮细胞增殖、迁移及管样分化的影响[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2018, 32(10): 1351-1357.
- [22] Liang X, Zhang L, Wang S, et al. Exosomes secreted by mesenchymal stem cells promote endothelial cell angiogenesis by transferring miR-125a[J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(11): 2182-2189.
- [23] Li X, Chen C, Wei L, et al. Exosomes derived from endothelial progenitor cells attenuate vascular repair and accelerate reendothelialization by enhancing endothelial function [J]. *Cytotherapy*, 2016, 18(2): 253-262.
- [24] Gong M, Yu B, Wang J, et al. Mesenchymal stem cells release exosomes that transfer miRNAs to endothelial cells and promote angiogenesis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(28): 45200-45212.
- [25] Martin P. Wound healing--aiming for perfect skin regeneration [J]. *Science*, 1997, 276(5309): 75-81.
- [26] Kim YJ, Yoo SM, Park HH, et al. Exosomes derived from human umbilical cord blood mesenchymal stem cells stimulates rejuvenation of human skin[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 493(2): 1102-1108.
- [27] 尹刚, 刘蔡钺, 林耀发, 等. 脂肪干细胞来源外泌体对周围神经损伤后再生作用的实验研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2018, 32(12): 1592-1596.
- [28] Zhang B, Wang M, Gong A, et al. HucMSC-Exosome Mediated-Wnt4 Signaling Is Required for Cutaneous Wound Healing[J]. *Stem Cells*, 2015, 33(7): 2158-2168.
- [29] Zhang B, Wu X, Zhang X, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell exosomes enhance angiogenesis through the Wnt4/beta-catenin pathway [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4(5): 513-522.
- [30] Ding J, Wang X, Chen B, et al. Exosomes Derived from Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Stimulated by Deferoxamine Accelerate Cutaneous Wound Healing by Promoting Angiogenesis[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 9742765.
- [31] Guo SC, Tao SC, Yin WJ, et al. Exosomes derived from platelet rich plasma promote the re-epithelization of chronic cutaneous wounds via activation of YAP in a diabetic rat model [J]. *Theranostics*, 2017, 7(1): 81-96.
- [32] Heng MC. Wound healing in adult skin: aiming for perfect regeneration[J]. *Int J Dermatol*, 2011, 50(9): 1058-1066.
- [33] Wang L, Hu L, Zhou X, et al. Exosomes secreted by human adipose mesenchymal stem cells promote scarless cutaneous repair by regulating extracellular matrix remodelling [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 13321.
- [34] Fang S, Xu C, Zhang Y, et al. Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomal MicroRNAs Suppress Myofibroblast Differentiation by Inhibiting the Transforming Growth Factor- β /SMAD2 Pathway During Wound Healing[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5(10): 1425-1439.
- [35] Kou X, Xu X, Chen C, et al. The Fas/Fap-1/Cav-1 complex regulates IL-1RA secretion in mesenchymal stem cells to accelerate wound healing[J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(432): pii: eaai8524.

(收稿日期:2019-12-31)

(本文编辑:杨立妍)

王宏宇, 刘玲英, 巴特. 间充质干细胞源性外泌体在创面修复中的研究进展[J/CD]. *中华损伤与修复杂志(电子版)*, 2020, 15(1): 67-69.