

干细胞来源外泌体在烧伤创面修复中的研究进展

符雪 李俊亮 徐洋 曹胜军 王凌峰

【摘要】 外泌体通过与目标细胞融合,调控目标细胞的增殖、迁移和凋亡。其来源丰富,易于获取和储存,移植后不易诱发免疫排斥反应,在烧伤创面修复领域存在良好的应用前景。本文通过阐述外泌体生物特征、干细胞来源外泌体修复烧伤创面的机制及在创面修复领域的研究进展,以期为烧伤创面修复提供新思路。

【关键词】 干细胞; 外泌体; 烧伤; 伤口愈合

Research of stem cell-derived exosome in burn wound repair Fu Xue, Li Junliang, Xu Yang, Cao Shengjun, Wang Lingfeng. Experiment Center, Department of Burns, Third Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Baotou 014010, China

Corresponding author: Wang Lingfeng, Email: wlf7413@vip.sina.com

【Abstract】 Exosomes are able to regulate proliferation, migration, and apoptosis of target cells by fusing with them. Exosomes are abundant in source, easy to be acquired and stored, and not easy to induce immune rejection after transplantation. Therefore, exosomes have a good application prospect in the field of burn wound repair. In this paper, the biological characteristics of exosomes, the mechanism of stem cell derived-exosomes repairing burn wounds and the research progress in the field of wound repair are described, in order to provide new ideas for burns wound repair.

【Key words】 Stem cells; Exosomes; Burns; Wound healing

外泌体是一种从细胞内部分泌出的微小膜泡,直径为40~150 nm,结构上包含脂质双分子膜,由活体细胞的多囊体与细胞膜融合,通过细胞吐出的方式进入细胞外环境中,是生物微环境的重要组成部分^[1-2]。近年来,外泌体被发现本身含有特异性蛋白分子和核酸成分,它们可以发挥母细胞的功能,在基因表达、细胞通讯和蛋白质调控方面发挥重要作用。由于干细胞来源外泌体来源丰富,易于获取和储存,移植后不易诱发免疫排斥反应,在烧伤创面修复领域有良好的应用前景。本文就外泌体的生物学特征及干细胞来源外泌体在烧伤创面修复中的研究进展作一综述。

一、外泌体

(一)外泌体的结构特征和来源

外泌体广泛存在于肿瘤、神经、干细胞等多种类型的细胞中及血浆、唾液、乳汁、尿液、羊水、腹水等多种体液中^[3]。研究证实,在受体细胞基因表达和蛋白调控中,外泌体中所含有的 mRNA、miRNA、蛋白质等复合物起着重要作用^[4-5]。来自不同种类细胞的外泌体中所含有的生物分子也不相同,具有与来源细胞相符合的细胞种属特异性。如抗原呈递细胞分泌的外泌体,组织相容性复合体的数量较多,外泌体通路内不包含线粒体和内质网的蛋白。来源于不同组织细胞

的外泌体中共含有4 563种蛋白,194种脂质体,1 639种 mRNA 和 764种 miRNA^[6-7]。已经发现超过4 000种蛋白质与外泌体有关联^[8-9]。miRNA是一种非转录 RNA 的小片段,其尺寸为23~25个核苷酸,它可以与 mRNA 的不可编译区联合并干扰 RNA 编译,从而达到抑制或降解 mRNA 的作用。

外泌体有膜结构,含有丰富的脂质,如胆固醇、甘油二酯、鞘磷脂和神经酰胺、磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇和聚甘油等^[10-11]。外泌体中含有胆固醇、外源化丝氨酸、神经节苷脂和鞘磷脂,它们参与囊泡运输特定蛋白质。

(二)外泌体的主要功能

人们起初认为外泌体的主要功能是将残余的物质输送到细胞之外,特别是溶酶体数量少或者活性差的细胞。最新的研究显示,外泌体可作为细胞质与跨膜蛋白选择性的胞外分泌途径,其功能是作为细胞之间信号交流的目标因子^[12-13]。外泌体的内含物可以从一定程度上反映来源细胞的生理和病理变化^[14-15]。外泌体中包含多种的内含物,可以用作疾病初期确诊和生物标记,并且这种特性可以用于分子靶向治疗^[16]。外泌体的重要作用还体现在细胞通讯方面。目前,外泌体的细胞通讯作用主要体现在以下几个方面:(1)作为一种特殊的信号复合物,可以直接刺激受体细胞;(2)能够在细胞间完成受体的转移;(3)通过 mRNA、miRNA 或转录因子等传递遗传信息至受体细胞^[17-18]。

DOI:10.3877/cma.j.issn.1673-9450.2020.06.015

基金项目:国家自然科学基金项目(81360293)

作者单位:014010 包头,内蒙古医科大学第三附属医院实验中心,烧伤科

通信作者:王凌峰, Email: wlf7413@vip.sina.com

二、干细胞来源外泌体修复烧伤创面的机制

(一) 烧伤创面特征

一般烧伤创面均要经历炎症反应、组织增生和瘢痕形成3个阶段。早期炎症反应很大程度上决定了后期瘢痕的发展结果。对于人体而言,最大的器官就是皮肤,创伤后正常愈合的创面不会影响功能,只有较为严重的创伤或炎症反应异常时,组织过度修复,进而产生瘢痕组织,影响美观,甚至会引发癌变^[19-20]。干细胞来源外泌体能够将 mRNA、miRNA 和各种特异性蛋白、脂质等信号分子转运给靶细胞,在创面愈合过程中的不同阶段分别参与炎症反应、细胞增殖、血管生成与基质重建,从而抑制瘢痕形成,促进烧伤创面的愈合^[21-23]。

(二) 干细胞来源外泌体在烧伤创面修复过程中的作用机制

在烧伤创面修复过程中干细胞来源外泌体的作用机制如下。(1)在局部微环境中,可以促进血管内皮细胞、纤维细胞和角质细胞的的形成和分化,这些都是伤口修复所必须的。(2)部分外泌体通过分泌作用,可以产生细胞生长因子,对于细胞迁移、增殖和血管形成起到促进作用。(3)具有免疫调节、免疫抑制和抗炎作用,能够调控烧伤创面局部的炎症反应,从而促进创面愈合^[24-25],实验证实,移植后的干细胞存活数量随时间的推移急剧下降,极少量存活的干细胞并不能从根本上影响到新生组织的再生构建,更有可能的方式是通过局部微环境的改变而产生作用^[26],细胞的微环境对细胞的黏附、营养、代谢、增殖、分化和迁移发生产生直接影响,细胞因子对细胞的调控作用,都是通过微环境而实现的^[27]。

烧伤创面愈合的过程非常复杂,既需要生长因子、细胞因子对创面修复的细胞周期进行调控,也需要不同类型的细胞如上皮细胞、成纤维细胞等在创面的特定部位发挥功能^[28]。具体如下:干细胞来源外泌体一方面可以直接作用于受损创面,提升细胞因子的表达水平,另一方面可以间接作用于内皮细胞,增强内皮细胞增殖修复的能力,进一步促进生成新的血管,从而为新生组织提供营养,在促进血管生成的同时,还能够保持细胞高增殖、低分化的自我更新能力,具体来说就是在伤口愈合的不同阶段调节胶原蛋白合成的产量。在伤口愈合的开始阶段通过增加 I 型和 III 型胶原蛋白的产量,能够加快创面的愈合;反之在愈合的末期抑制相关胶原蛋白的合成,能够减少瘢痕的形成^[29]。

三、干细胞来源外泌体在烧伤创面修复中的应用进展

(一) 干细胞来源外泌体在烧伤创面修复中的应用

近年来,研究人员尝试将干细胞来源外泌体用于修复烧伤创面,这不仅解决了皮肤供应紧张的问题,还能有效修复皮肤结构受损,完成功能重建,同时避免炎症反应和过度组织增生导致的瘢痕^[30-31]。文献报道,脂肪干细胞来源外泌体能够促进创伤表面的修复和皮层重生^[32-33]。转化生长因子(transforming growth factor- β , TGF- β)是一种在创面愈合和组织修复中对细胞的增殖、分化、代谢起调节作用的关键细胞因子,TGF- β 过高水平的表达是非常有害的,不但直接影响伤口部位的瘢痕形成,还会产生过度纤维化^[34-35]。根据临床观察,干细胞来源外泌体不仅能促进伤口愈合,还能

抑制 TGF- β 诱导,从而避免伤口愈合过程中 TGF- β 失调而引发的组织纤维化^[36-37]。Zhao 等^[38]在缺损皮肤创面周围局部注射来自人羊膜上皮的干细胞来源外泌体,结果显示,在伤后 14 d, 50、100 $\mu\text{g/mL}$ 的干细胞来源外泌体能有效地促进大鼠全层皮肤创面的愈合。Geiger 等^[39]的研究表明,来源于人成纤维细胞的外泌体中含有不同生物活性的蛋白质和 miRNA,这些外泌体可以通过调控细胞分裂,加速创伤表面的恢复。外泌体可以包裹 miRNA 保持其完整性,并且在细胞之间安全地传递,然后一直传递到受体细胞内部后释放 miRNA 并发挥作用。

干细胞来源外泌体在烧伤创面修复领域的研究不断取得新的成果,这使得越来越多的研究人员将精力投入其中。最初的研究方向是细胞归巢效应,认为间充质干细胞可以通过归巢至受损的烧伤创面组织,分化替代受损细胞,从而起到创面修复的作用。随着研究的深入,人们发现在烧伤创面植入的间充质干细胞存活的时间非常短暂,与此同时创面愈合的效果却是非常明确的,最终发现起作用的并非干细胞,而是干细胞来源外泌体。通过正确的基因表达,干细胞来源外泌体能够将细胞外环境的信号传至细胞内,从而减少成纤维细胞的生成,减少瘢痕组织增生,同时刺激细胞外基质的产生,参与免疫调控和新生血管的生成等重要环节,通过一系列综合的作用发挥其在烧伤创面修复中优越的效果。

(二) 干细胞来源外泌体的临床应用前景

另外相关研究显示,干细胞来源外泌体有潜力变成一种合适的药物载体^[40-41]。具体方法是通过电穿孔或脂质体转染,把药物或编码基因直接转入干细胞,利用干细胞来源外泌体天然生物相容性和细胞靶向定位治疗疾病。临床上可以将干细胞来源外泌体作为免疫抑制剂,利用其免疫调节抑制作用,生产含有外泌体成分的人造脂质囊泡,可防止细胞内容物的降解,以增加其稳定性和吸收性。干细胞来源外泌体具有许多优势,如可定量使用的高精准性、可长期储存、高稳定性、可向损伤区集中的高驱动性以及可对愈合后进行检测判断的可控性等,更重要的是还能避免免疫排斥反应、致瘤致畸、舆论伦理等问题,有着良好的应用和发展前景。

四、总结

干细胞来源外泌体中包含特异性蛋白分子和核酸成分,尤其是所含有的 miRNA 能够作用于细胞微环境,阻断信号传导通路,抑制细胞诱导分化为成纤维细胞,防止组织损伤后细胞的过度积累,减少胶原蛋白沉积,增强细胞外基质的分解,避免成纤维细胞过度转化,为治疗瘢痕挛缩提供新的理论依据。干细胞来源外泌体能够与目标细胞融合,通过局部微环境的改变调控目标细胞的增殖、迁移和凋亡,从而促进烧伤创面愈合。由于其来源丰富,易于获取和储存,以及移植后不易诱发免疫排斥反应的优良特性,外泌体在烧伤创面修复领域存在良好的应用前景。相信随着外泌体作用机制的进一步研究,制备方法和应用效率的不断提升,干细胞来源外泌体将在将来成为烧伤创面修复的一种重要治疗手段。

参 考 文 献

- [1] Nilsson J, Skog J, Nordstrand A, et al. Prostate cancer-derived urine Exosomes: a novel approach to biomarkers for prostate

- cancer[J]. *Br J Cancer*, 2009, 100(10): 1603-1607.
- [2] Pant S, Hilton H, Burczynski ME. The multifaceted Exosome: biogenesis, role in normal and aberrant cellular function, and frontiers for pharmacological and biomarker opportunities [J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 83(11): 1484-1494.
- [3] Pfeffer SR. Two Rabs for Exosome release[J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(1): 3-4.
- [4] Rana S, Zöller M. Exosome target cell selection and the importance of exosomal tetraspanins; a hypothesis [J]. *Biochem Soc Trans*, 2011, 39(2): 559-562.
- [5] Vlassov AV, Magdaleno S, Setterquist R, et al. Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1820(7): 940-948.
- [6] Simpson RJ, Jensen SS, Lim JW. Proteomic profiling of Exosomes: current perspectives [J]. *Proteomics*, 2008, 8(19): 4083-4099.
- [7] Kim HS, Choi DY, Yun SJ, et al. Proteomic analysis of microvesicles derived from human mesenchymal stem cells [J]. *J Proteome Res*, 2012, 11(2): 839-849.
- [8] Pan BT, Johnstone RM. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: Selective externalization of the receptor [J]. *Cell*, 1983, 33(3): 967-978.
- [9] Wolfers J, Lozier A, Raposo G, et al. Tumor-derived exosomes are a source of shared tumor rejection antigens for CTL cross-priming [J]. *Nat Med*, 2001, 7(3): 297-303.
- [10] Lee TH, D'Asti E, Magnus N, et al. Microvesicles as mediators of intercellular communication in cancer-the emerging science of cellular 'debris' [J]. *Semin Immunopathol*, 2011, 33(5): 455-467.
- [11] Feng DQ, Huang B, Li J, et al. Selective miRNA expression profile in chronic myeloid leukemia K562 cell-derived exosomes [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(12): 7501-7508.
- [12] Bang C, Thum T. Exosomes: New players in cell-cell communication [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44(11): 2060-2064.
- [13] Camussi G, Deregibus MC, Bruno S, et al. Exosomes/microvesicles as a mechanism of cell-to-cell communication [J]. *Kidney Int*, 2010, 78(9): 838-848.
- [14] Ong SG, Lee WH, Huang M, et al. Cross talk of combined gene and cell therapy in ischemic heart disease: role of exosomal microRNA transfer [J]. *Circulation*, 2014, 130(11 Suppl 1): S60-S69.
- [15] Pironti G, Strachan RT, Abraham D, et al. Circulating Exosomes Induced by Cardiac Pressure Overload Contain Functional Angiotensin II Type 1 Receptors [J]. *Circulation*, 2015, 131(24): 2120-2130.
- [16] Ibrahim AG, Cheng K, Marb n E. Exosomes as critical agents of cardiac regeneration triggered by cell therapy [J]. *Stem Cell Reports*, 2014, 2(5): 606-619.
- [17] Khan M, Nickoloff E, Abramova T, et al. Embryonic stem cell-derived exosomes promote endogenous repair mechanisms and enhance cardiac function following myocardial infarction [J]. *Circ Res*, 2015, 117(1): 52-64.
- [18] Vicencio JM, Yellon DM, Sivaraman V, et al. Plasma exosomes protect the myocardium from ischemia-reperfusion injury [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 65(15): 1525-1536.
- [19] Bruno S, Grange C, Collino F, et al. Microvesicles derived from mesenchymal stem cells enhance survival in a lethal model of acute kidney injury [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33115.
- [20] Gatti S, Bruno S, Deregibus MC, et al. Microvesicles derived from human adult mesenchymal stem cells protect against ischaemia-reperfusion-induced acute and chronic kidney injury [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(5): 1474-1483.
- [21] Singla DK. Stem cells and exosomes in cardiac repair [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2016, 27(5): 19-23.
- [22] 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): 956.
- [23] Bruno S, Grange C, Deregibus MC, et al. Mesenchymal stem cell-derived microvesicles protect against acute tubular injury [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(5): 1053-1067.
- [24] Tetta C, Bruno S, Fonsato V, et al. The role of microvesicles in tissue repair [J]. *Organogenesis*, 2011, 7(2): 105-115.
- [25] Kosaka N, Izumi H, Sekine K, et al. MicroRNA as a new immune-regulatory agent in breast milk [J]. *Silence*, 2010, 1(1): 7.
- [26] Keller S, Rupp C, Stoeck A, et al. CD24 is a marker of Exosomes secreted into urine and amniotic fluid [J]. *Kidney Int*, 2007, 72(9): 1095-1102.
- [27] Lee C, Mitsialis SA, Aslam M, et al. Exosomes mediate the cytoprotective action of mesenchymal stromal cells on hypoxia-induced pulmonary hypertension [J]. *Circulation*, 2012, 126(22): 2601-2611.
- [28] Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing [J]. *N Engl J Med*, 1999, 341(10): 738-746.
- [29] 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): 24-25.
- [30] Kapustin AN, Chatrou ML, Drozdov I, et al. Vascular smooth muscle cell calcification is mediated by regulated exosome secretion [J]. *Circ Res*, 2015, 116(8): 1312-1323.
- [31] Haney MJ, Klyachko NL, Zhao Y, et al. Exosomes as drug delivery vehicles for Parkinson's disease therapy [J]. *J Control Release*, 2015, 207: 18-30.
- [32] Ho DH, Yi S, Seo H, et al. Increased DJ-1 in urine exosome of Korean males with Parkinson's disease [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 704678.
- [33] Yuyama K, Sun H, Mitsutake S, et al. Sphingolipid-modulated exosome secretion promotes clearance of amyloid- β by microglia [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(14): 10977-10989.
- [34] Dinkins MB, Dasgupta S, Wang G, et al. Exosome reduction in vivo is associated with lower amyloid plaque load in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Aging*, 2014, 35(8): 1792-1800.
- [35] Zhang Y, Chopp M, Meng Y, et al. Effect of exosomes derived from multipotential mesenchymal stromal cells on functional recovery and neurovascular plasticity in rats after traumatic brain

- injury[J]. J Neurosurg, 2015, 122(4): 856-867.
- [36] Zhu YG, Feng XM, Abbott J, et al. Human mesenchymal stem cell microvesicles for treatment of Escherichia coli endotoxin-induced acute lung injury in mice[J]. Stem Cells, 2014, 32(1): 116-125.
- [37] Tan CY, Lai RC, Wong W, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote hepatic regeneration in drug-induced liver injury models[J]. Stem Cell Res Ther, 2014, 5(3): 76.
- [38] Zhao 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.
- [39] Geiger A, Walker A, Nissen E. Human fibrocyte-derived exosomes accelerate wound healing in genetically diabetic mice[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 467(2): 303-309.
- [40] Zhi Wu, Dan He, Haiyan Li. Bioglass enhances the production of exosomes and improves their capability of promoting vascularization[J]. Bioactive Materials, 2020, 6(3): 823-835.
- [41] 王江文, 易阳艳, 朱元正. MSCs 来源外泌体在创面修复中的研究进展[J]. 中国修复重建外科杂志, 2019, 33(5): 634-639.
- (收稿日期:2020-10-08)
(本文编辑:谷俊朝)

符雪, 李俊亮, 徐洋, 等. 干细胞来源外泌体在烧伤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(6): 502-505.

