

· 综述 ·

干细胞源性外泌体在创伤修复中免疫作用的研究进展

高雷 李芳 巴雅力嘎 李全 巴特

【摘要】 机体受到严重创伤后,免疫系统常表现为功能障碍,且创伤越重表现越明显,影响机体修复。干细胞源性外泌体是干细胞产生的一种细胞间的非脂溶性载体,其可通过抑制过度炎症反应和减少免疫细胞凋亡等功能来调节机体免疫异常。本文对干细胞源性外泌体在创伤修复中的免疫调节作用进行综述,旨在总结外泌体在免疫调节中的作用机制。

【关键词】 干细胞; 外泌体; 免疫

Progress of immune role of stem cell-derived exosomes in wound repair Gao Lei, Li Fang, Bayaliga, Li Quan, Ba Te. Department of Burn, the Third Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Burn Medical Institute of Inner Mongolia, Baotou 014010, China
Corresponding author: Li Quan, Email: bgyylq@126.com

【Abstract】 The immune system is often characterized by dysfunction after the body suffered from severe trauma, the body's repair was affected obviously from the heavy trauma performance. Stem cell-derived exosomes are non-fat-soluble intercellular vector produced by stem cells, which can regulate immune abnormalities by inhibiting excessive inflammatory response and reducing immune cell apoptosis. The immunomodulatory role of stem cell-derived exosomes in wound repair are systematically reviewed, and to summarize the mechanism of exosomes in immune regulation.

【Key words】 Stem cells; Exosomes; Immunity

广泛软组织损伤、长骨骨折、重要脏器损伤等中重度创伤后的免疫紊乱严重影响患者的修复过程。创伤后机体立即触发炎症反应以促进愈合,在严重创伤中,这种炎症反应广泛且不受控制,不仅无法促进创面愈合而且会导致分解代谢增加和延迟愈合,增加机体感染的风险^[1-3]。机体严重创伤后,组织细胞受到破坏,炎症因子释放使血管通透性增加,巨噬细胞和中性粒细胞为主的白细胞迅速向受损部位聚集,吞噬异物及细胞残骸的同时释放大量炎症因子促进炎症反应。干细胞的临床应用为创伤修复提供了更多选择,间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)具有增殖活性强、可多项分化、免疫活性弱等特点,在创面修复中具有广泛的应用前景^[4-5]。研究表明,干细胞在移植后仅有少数存活,却能发挥非常重要的治疗作用^[6]。MSCs在急性心肌梗死、烧伤、创伤性肝损伤和脑损伤的作用中,暂时性的旁分泌效应足以提供类似效力的器官内源性再生,通过分泌多种细胞因子来协调细胞的迁移、增殖和免疫调控^[7-9]。

由于干细胞体外扩增有限、体内归巢缺乏组织特异性、治疗效果不稳定等局限,同时存在储存和运输问题以及诱导肿瘤发生和畸形的风险,一定程度上限制了其在临床中的应

用。作为细胞旁分泌重要组成的外泌体是一种细胞间的非脂溶性载体,允许细胞间交换细胞成分,其本质是一类直径60~150 nm大小的双层脂质囊泡,携带母细胞的磷脂、DNA、mRNA、microRNA和蛋白质等^[10]。干细胞源性外泌体可通过与细胞膜表面分子的相互作用触发细胞内信号级联反应,以及与细胞膜融合释放内含物来抑制过度细胞炎症反应和减少免疫细胞凋亡,调节严重创伤后机体免疫异常^[7,11]。早期炎症反应与免疫反应有一定重叠,伴随炎症反应进行的固有免疫和之后的适应性免疫组成创伤后免疫全过程。本文对干细胞源性外泌体在严重创伤修复固有免疫、适应性免疫和免疫紊乱中的作用机制进行阐述。

一、干细胞源性外泌体在创伤修复固有免疫中的作用

固有免疫作为人体的天然免疫防御功能,早期会通过阻止外来病原体入侵参与创伤修复,关键的促炎因子同时会被封装于外泌体通过旁分泌释放到内环境中^[12-13]。干细胞参与创面修复过程中自身病生理信息也会随着外泌体形成过程中装载miRNA等物质显现,并在干细胞与受体细胞如免疫细胞间稳定传递。机体创伤是一个多种细胞及细胞因子参与的限制创伤范围、清除异物、启动修复的动态过程,机体创伤后1 h内,中性粒细胞会聚集于创伤部位,其具有趋化、吞噬和杀菌作用^[14]。间充质干细胞外泌体(mesenchymal stem cell exosomes, MSC-Exos)可通过抑制嗜中性粒细胞释放IL-17抑制补体活化,局限补体反应,影响机体血流动力学^[15];MSC-Exos还可提高中性粒细胞的吞噬能力和寿命,增强组织抗感染能力^[16-17]。机体创伤后24~48 h,巨噬细胞(macrophage, M ϕ)通过创伤部位组织释放的组胺以化学驱

DOI:10.3877/cma.j.issn.1673-9450.2023.04.017

基金项目:国家自然科学基金(82060348);内蒙古自治区自然科学基金(2021MS08066);重大疾病防治科技行动计划(2018-ZX-01S-001);内蒙古医科大学联合项目资助课题(YKD2021LH055)

作者单位:014010 包头,内蒙古医科大学第三附属医院烧伤外科 内蒙古烧伤医学研究所

通信作者:李全,Email: bgyylq@126.com

动方式到达创伤部位,长期发挥主要作用。MSC-Exos 通过参与免疫反应性巨噬细胞(M1)和免疫抑制性巨噬细胞(M2)的交替激活过程来调节免疫反应,达到一种微环境的稳态^[18]。Willis等^[19]研究证实,MSC-Exos以细胞非接触的方式诱导单核细胞向具有免疫调节和抗炎功能的M2表型分化,并抑制其向M1表型分化。机体创伤修复后期,MSC-Exos通过调节单核细胞/巨噬细胞比例抑制炎症反应及减轻组织纤维化^[20]。总体作用是调节过强的免疫效应,并通过抑制炎症反应来避免负性免疫调节引起免疫抑制。

自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)作为机体重要的免疫细胞,在创伤发生后随外周血到达创伤部位发挥作用。NK细胞的杀伤能力无主要组织相容性复合体限制,不依赖抗体,具有自然杀伤活性,可以直接杀伤靶细胞。NK细胞还可合成、分泌多种细胞因子发挥调节免疫和造血作用,可通过降低IL-2、IL-15、IFN- γ 水平和自然杀伤毒性来降低炎症反应和免疫反应^[21]。树突状细胞(dendritic cells, DC)是机体功能最强的专职抗原呈递细胞,能高效地摄取、加工处理和呈递抗原。未成熟DC具有较强的迁移能力;成熟DC处于初始T细胞启动、调控、维持免疫应答的中心环节,能有效激活初始T细胞^[22]。MSC-Exos可抑制DC细胞的分化和成熟而抑制淋巴细胞活动,同时使DC细胞上调TGF- β 水平,增加IL-10、减少IL-6分泌,调节炎症反应^[23]。

外泌体通过调控抑制机体早期固有免疫辅助机体创伤修复。严重创伤发生后,机体修复时间长、过程复杂,感染和免疫反应常处于僵持状态。病原体及免疫物质的持续释放,伴随组织器官损伤释放的大量内容物,通过模式识别受体途径诱导持续低程度炎症反应,启动负性免疫调节,诱导免疫抑制。研究发现,肝脏间充质干细胞及其外泌体能通过抑制NK细胞中CD56-dim和CD56-bright增殖损害NK细胞激活、增殖和分化,还可通过外泌体在NK细胞表面表达TGF- β 并诱导NK细胞TGF- β /Smad通路的激活,抑制NK细胞功能,减轻炎症反应程度^[24]。Harrell等^[25]在关于COVID-19的研究中发现,MSC-Exos衍生的多重同种异体蛋白旁分泌信号可显著减少肺浸润巨噬细胞、嗜中性粒细胞以及自然杀伤细胞和自然杀伤T细胞中炎症细胞因子的产生,并减轻肺浸润巨噬细胞和DC细胞的抗原呈递特性。在创伤早期通过抑制早期免疫反应降低过度炎症反应,减轻炎症因子对人体重要脏器的损害。

二、干细胞源性外泌体在创伤修复适应性免疫中的作用

适应性免疫应答是指体内抗原特异性T/B淋巴细胞接受抗原刺激后分化为效应细胞,防御外来病原体的生理活动^[13]。机体受到严重创伤后组织内的抗体进入血液诱导特异性免疫,抗原呈递细胞会识别、处理暴露的自身与外界抗原,将处理后的信息传递给B细胞和T细胞^[26]。对小鼠免疫系统调节的干预性研究发现,外泌体可抑制自身反应性淋巴细胞活化和增殖,并诱导淋巴细胞分泌抗炎因子,从而减轻过度炎症反应对机体的损害^[27]。

B细胞在抗原刺激下分化的浆细胞可合成和分泌免疫球蛋白,浆细胞执行机体的体液免疫。MSC衍生的细胞外囊泡通过依赖细胞接触和分泌因子双重作用机制活化和诱导调节B细胞, MSC对B细胞调节的部分功能由细胞外囊

泡以外的可溶性因子介导^[28]。Khare等^[29]研究表明, MSC-Exos可导致免疫球蛋白M水平下降,通过多种作用因子辅助调节B细胞表达,使其基因产物下降。外泌体通过上调抗细胞凋亡蛋白Bcl2水平发挥保护心肌细胞的作用^[30]。在创伤修复过程中,外泌体可有效避免免疫细胞过表达,减轻补体过度激活引起的机体损害。

在胸腺激素诱导下,成熟的T淋巴细胞经血流分布至外周免疫器官的胸腺依赖区,接受抗原呈递细胞呈递的抗原发挥细胞免疫功能。Riazifar等^[31]研究发现,外泌体可通过抑制病理性T细胞亚群的激活和诱导调节性T细胞(Treg)来改善脑脊髓炎。外泌体上的整合素和粘附分子及其脂质含量会促进T细胞与受体细胞质膜的附着和融合, MSC-Exos携带至抗原呈递细胞的抗原可用于激活抗原特异性T细胞应答,引起从免疫激活到免疫抑制的多种免疫调节作用^[32]。MSC-Exos还可以通过减少IL-1 β 驱动T细胞凋亡来降低严重创伤后期T细胞数量下降,维持机体免疫^[33]。

三、干细胞源性外泌体在创伤后免疫紊乱中的作用

免疫应答作为一种生理功能,无论是对自身成分的耐受,还是对非己抗原的排斥,均是在机体免疫调节机制控制下进行。作为机体的第一道防线,天然免疫系统通过模式识别受体或信号干扰器辨识病原体相关分子模式和内源性损伤相关分子模式。特异性Toll样受体(TLR)的刺激会影响人类多能间充质基质细胞(hMSCs)的免疫调节反应,使其极化为促炎性MSC1或免疫抑制MSC2表型^[34]。免疫平衡一旦被打破,人体抵抗外界病原体的功能就会降低,自身存在的机会致病菌也会大量繁殖,进一步加剧免疫异常^[35]。当免疫发生紊乱时,干细胞会根据内环境变化分泌可调节免疫和促进修复的外泌体参与创伤修复的整个过程。不同干细胞受到不同刺激分泌的外泌体数量和内容物均不相同,不同受体细胞摄取外泌体的机制也不同^[36]。体液循环中的外泌体主要来源于脂肪组织,其携带的miRNA可作为全身代谢合成的调节因子,对创伤修复起到重要作用,还可双向调节免疫细胞功能^[37]。机体受到严重外力后脂肪组织创伤,导致全身代谢和细胞翻译合成功能受损,引起机体修复能力和免疫能力下降^[38]。MSC-Exos可改善肾脏微循环,减轻机体创伤及缺血对肾单位的破坏,而肾功能在循环Lys型肽聚糖清除中具有关键作用,通过控制这些炎症触发因素维持全身免疫稳态^[39-40]。

免疫细胞死亡是免疫功能障碍的重要原因,其中最主要的死亡方式有铁死亡、细胞凋亡和焦亡^[41]。MSC-Exos可通过miR-23a-3p抑制二价金属离子转运蛋白1(DMT1)表达抑制铁死亡^[42]。创伤感染后NK细胞和自然杀伤性T细胞释放的细胞毒性颗粒是造成细胞凋亡的主要原因,且研究表明肠道屏障功能异常是导致肠道疾病的重要原因^[43]。严重创伤后免疫紊乱、营养失衡,导致肠道屏障受损,大量细菌或内毒素入血加重全身炎症反应^[44-45]。在感染和全身代谢应激时炎性小体中的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶1(Caspases-1)活化,引发促炎细胞死亡,即细胞焦亡。MSC-Exos可改善肾脏微循环,减少免疫细胞死亡;增强肠道屏障功能,避免大量细菌和内毒素入血;在烧创伤后抑制自身反应性淋巴细胞活化,并诱导淋巴细胞衍生抗炎因子分泌,减少免疫细胞的凋

亡和焦亡^[39]。

四、小结

随着对干细胞源性外泌体研究的深入,外泌体的功能逐渐被认可,其可通过抑制早期免疫反应减轻炎症反应、减少免疫细胞凋亡和改善全身代谢来减轻严重创伤后的免疫紊乱^[46]。免疫功能失调导致的感染严重影响创伤修复进程,干细胞源性外泌体通过减少病理性免疫细胞、增加调节性免疫细胞的生成以及延长免疫细胞寿命来发挥免疫调节作用。目前,体外实验所需干细胞外泌体的制取、分离、纯化等技术需要进一步简化和优化,且外泌体溯源受环境影响较大,其在创伤修复中的作用机制还需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Jeschke MG, Chinkes DL, Finnerty CC, et al. Pathophysiologic response to severe burn injury [J]. *Annals of Surgery*, 2008, 248(3): 387-401.
- [2] 李宇能, 葛宇峰, 高峰, 等. 严重创伤患者院内急救多学科团队的建立及临床效果[J]. *骨科临床与研究杂志*, 2022, 7(4): 226-229, 239.
- [3] Porter C, Tompkins RG, Finnerty CC, et al. The metabolic stress response to burn trauma: current understanding and therapies[J]. *Lancet (London, England)*, 2016, 388(10052): 1417-1426.
- [4] Bacakova L, Zarubova J, Travnickova M, et al. Stem cells: their source, potency and use in regenerative therapies with focus on adipose-derived stem cells-a review [J]. *Biotechnology Advances*, 2018, 36(4): 1111-1126.
- [5] 靳泽怡, 丁彩琳, 于睿, 等. 软骨细胞与间充质干细胞诱导成软骨肥大分化的调控机制及策略[J]. *骨科临床与研究杂志*, 2021, 6(5): 313-317.
- [6] Wu X, Li SH, Lou LM, et al. The effect of the microgravity rotating culture system on the chondrogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Molecular Biotechnology*, 2013, 54(2): 331-336.
- [7] Murphy C, Withrow J, Hunter M, et al. Emerging role of extracellular vesicles in musculoskeletal diseases[J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2018, 60: 123-128.
- [8] Kennedy TL, Russell AJ, Riley P. Experimental limitations of extracellular vesicle-based therapies for the treatment of myocardial infarction [J]. *Trends In Cardiovascular Medicine*, 2021, 31(7): 405-415.
- [9] Markov O, Oshchepkova A, Mironova N. Immunotherapy based on dendritic cell-targeted/-derived extracellular vesicles-a novel strategy for enhancement of the anti-tumor immune response[J]. *Frontiers In Pharmacology*, 2019, 10: 1152.
- [10] Doyle LM, Wang MZ. Overview of extracellular vesicles, their origin, composition, purpose, and methods for exosome isolation and analysis[J]. *Cells*, 2019, 8(7): 387-401.
- [11] An Y, Lin S, Tan X, et al. Exosomes from adipose-derived stem cells and application to skin wound healing [J]. *Cell Proliferation*, 2021, 54(3): e12993.
- [12] Walsh SA, Davis TA. Key early proinflammatory signaling molecules encapsulated within circulating exosomes following traumatic injury [J]. *Journal of Inflammation (London, England)*, 2022, 19(1): 6.
- [13] Netea MG, Schlitzer A, Placek K, et al. Innate and adaptive immune memory: an evolutionary continuum in the host's response to pathogens[J]. *Cell Host & Microbe*, 2019, 25(1): 13-26.
- [14] Liew PX, Kubes P. The neutrophil's role during health and disease[J]. *Physiological Reviews*, 2019, 99(2): 1223-1248.
- [15] Zhang B, Lai RC, Sim WK, et al. Topical application of mesenchymal stem cell exosomes alleviates the imiquimod induced psoriasis-like inflammation[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(2): 720.
- [16] Mahmoudi M, Taghavi-Farahabadi M, Namaki S, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells improved function and survival of neutrophils from severe congenital neutropenia patients in vitro[J]. *Hum Immunol*, 2019, 80(12): 990-998.
- [17] Taghavi-Farahabadi M, Mahmoudi M, Mahdavi SA, et al. Improving the function of neutrophils from chronic granulomatous disease patients using mesenchymal stem cells' exosomes [J]. *Human Immunology*, 2020, 81(10-11): 614-624.
- [18] Heo JS, Choi Y, Kim HO. Adipose-derived mesenchymal stem cells promote M2 macrophage phenotype through exosomes[J]. *Stem Cells Int*, 2019, 2019: 7921760.
- [19] Willis GR, Fernandez-Gonzalez A, Anastas J, et al. Mesenchymal stromal cell exosomes ameliorate experimental bronchopulmonary dysplasia and restore lung function through macrophage immunomodulation [J]. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2018, 197(1): 104-116.
- [20] Mansouri N, Willis GR, Fernandez-Gonzalez A, et al. Mesenchymal stromal cell exosomes prevent and revert experimental pulmonary fibrosis through modulation of monocyte phenotypes [J]. *JCI Insight*, 2019, 4(21): e128060.
- [21] Poznanski SM, Ashkar AA. What defines NK cell functional fate: phenotype or metabolism? [J]. *Frontiers In Immunology*, 2019, 10: 1414.
- [22] Grabowska J, Lopez-Venegas MA, Affandi AJ, et al. CD169 macrophages capture and dendritic cells instruct: the interplay of the gatekeeper and the general of the immune system [J]. *Frontiers In Immunology*, 2018, 9: 2472.
- [23] Shahir M, Mahmoud Hashemi S, Asadirad A, et al. Effect of mesenchymal stem cell-derived exosomes on the induction of mouse tolerogenic dendritic cells [J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2020, 235(10): 7043-7055.
- [24] Fan Y, Herr F, Vernochet A, et al. Human fetal liver mesenchymal stem cell-derived exosomes impair natural killer cell function[J]. *Stem Cells Dev*, 2019, 28(1): 44-55.
- [25] Harrell CR, Miloradovic D, Sadikot R, et al. Molecular and cellular mechanisms responsible for beneficial effects of mesenchymal stem cell-derived product "Exo-d-MAPPS" in attenuation of chronic airway inflammation[J]. *Anal Cell Pathol (Amst)*, 2020, 2020: 3153891.
- [26] Rojas M, Restrepo-Jiménez P, Monsalve DM, et al. Molecular mimicry and autoimmunity[J]. *Journal of Autoimmunity*, 2018, 95: 100-123.
- [27] Mekarizadeh A, Delirez N, Morshedi A, et al. Microvesicles derived from mesenchymal stem cells: potent organelles for

- induction of tolerogenic signaling [J]. Immunology Letters, 2012, 147(1-2): 47-54.
- [28] Carreras-Planella L, Monguió-Tortajada M, Borràs FE, et al. Immunomodulatory effect of MSC on B cells is independent of secreted extracellular vesicles [J]. Frontiers In Immunology, 2019, 10: 1288.
- [29] Khare D, Or R, Resnick I, et al. Mesenchymal stromal cell-derived exosomes affect mRNA expression and function of B-lymphocytes[J]. Front Immunol, 2018, 9: 3053.
- [30] Lee JY, Chung J, Byun Y, et al. Mesenchymal stem cell-derived small extracellular vesicles protect cardiomyocytes from doxorubicin-induced cardiomyopathy by upregulating survivin expression via the miR-199a-3p-Akt-Sp1/p53 signaling pathway [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(13): 7102.
- [31] Riazifar M, Mohammadi MR, Pone EJ, et al. Stem cell-derived exosomes as nanotherapeutics for autoimmune and neurodegenerative disorders[J]. ACS Nano, 2019, 13(6): 6670-6688.
- [32] 周春根, 江滨, 张睿, 等. 间充质干细胞来源外泌体对 T 细胞的免疫调控作用[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(21): 2602-2607.
- [33] Roth S, Cao J, Singh V, et al. Post-injury immunosuppression and secondary infections are caused by an AIM2 inflammasome-driven signaling cascade [J]. Immunity, 2021, 54(4): 648-659.
- [34] Waterman RS, Tomchuck SL, Henkle SL, et al. A new mesenchymal stem cell (MSC) paradigm: polarization into a pro-inflammatory MSC1 or an Immunosuppressive MSC2 phenotype [J]. PLoS One, 2010, 5(4): e10088.
- [35] Stevens EJ, Bates KA, King KC. Host microbiota can facilitate pathogen infection [J]. PLoS Pathogens, 2021, 17(5): e1009514.
- [36] Horibe S, Tanahashi T, Kawauchi S, et al. Mechanism of recipient cell-dependent differences in exosome uptake[J]. BMC Cancer, 2018, 18(1): 47.
- [37] Thomou T, Mori MA, Dreyfuss JM, et al. Adipose-derived circulating miRNAs regulate gene expression in other tissues[J]. Nature, 2017, 542(7642): 450-455.
- [38] Merrick D, Seale P. Skinny fat cells stimulate wound healing [J]. Cell Stem Cell, 2020, 26(6): 801-803.
- [39] Brückner K. Renal function: guardian of immune homeostasis [J]. Immunity, 2019, 51(4): 596-598.
- [40] Cao JY, Wang B, Tang TT, et al. Exosomal miR-125b-5p deriving from mesenchymal stem cells promotes tubular repair by suppression of p53 in ischemic acute kidney injury [J]. Theranostics, 2021, 11(11): 5248-5266.
- [41] Galluzzi L, Vitale I, Warren S, et al. Consensus guidelines for the definition, detection and interpretation of immunogenic cell death[J]. Journal For Immunotherapy of Cancer, 2020, 8(1): e000337.
- [42] Song Y, Wang B, Zhu X, et al. Human umbilical cord blood-derived MSCs exosome attenuate myocardial injury by inhibiting ferroptosis in acute myocardial infarction mice [J]. Cell Biol Toxicol, 2021, 37(1): 51-64.
- [43] Camilleri M, Madsen K, Spiller R, et al. Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease[J]. Neurogastroenterology and Motility, 2012, 24(6): 503-512.
- [44] 陈荣剑, 王占科, 张晓云, 等. 胰岛素和丙酮酸乙酯联合治疗拮抗严重烫伤后 MODS 大鼠炎症反应和氧化应激的实验研究[J]. 解放军医药杂志, 2015, 27(8): 45-50.
- [45] Beckmann N, Pugh AM, Caldwell CC. Burn injury alters the intestinal microbiome's taxonomic composition and functional gene expression[J]. PLoS One, 2018, 13(10): e0205307.
- [46] 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]. 中华损伤与修复杂志(电子版), 2020, 15(6): 502-505.

(收稿日期:2022-09-04)

(本文编辑:张朔)

高雷, 李芳, 巴雅力嘎, 等. 干细胞源性外泌体在创伤修复中免疫作用的研究进展[J/CD]. 中华损伤与修复杂志(电子版), 2023, 18(4): 364-367.