

## 脐带间充质干细胞修复皮肤创伤的研究进展

吴文哲<sup>1</sup>, 孙建伟<sup>3</sup>, 付长秀<sup>1</sup>, 黄李晨露<sup>1</sup>, 郑永钦<sup>2</sup>, 贺军栋<sup>2\*</sup>

(1. 昆明理工大学 医学院, 云南 昆明 650000;

昆明理工大学附属医院 云南省第一人民医院 2. 内分泌代谢科; 3. 乳腺甲状腺外科, 云南 昆明 650000)

**摘要:**脐带间充质干细胞(UC-MSCs)是一种免疫原性低、易于获取和扩增的成体干细胞。UC-MSCs可以调节伤口炎症反应水平,促进血管形成、细胞增殖,抑制瘢痕形成,诱导皮肤附件形成。UC-MSCs联合其他药物作用于伤口可以促进 UC-MSCs 的黏附、存活、迁移和增殖等。

**关键词:**脐带间充质干细胞;炎症反应;增殖;黏附;迁移

中图分类号:R392.12 文献标志码:A

DOI:10.16352/j.issn.1001-6325.2022.11.1771

## Research progress of umbilical cord mesenchymal stem cells in repairing skin wounds

WU Wen-zhe<sup>1</sup>, SUN Jian-wei<sup>3</sup>, FU Chang-xiu<sup>1</sup>, HUANG Li-chen-lu<sup>1</sup>, ZHENG Yong-qin<sup>2</sup>, HE Jun-dong<sup>2\*</sup>

(1. Medical Faculty, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650000; 2. Department of Endocrinology and Metabolism;

3. Department of Breast and Thyroid Surgery, the First People's Hospital of Yunnan Province, the Affiliated Hospital of

Kunming University of Science and Technology, Kunming 650000, China)

**Abstract:** Umbilical cord mesenchymal stem cells (UC-MSCs) are a kind of adult stem cells with low immunogenicity, which are easy to collect and to expand *in vitro*. UC-MSCs can regulate wound inflammation, promote angiogenesis and cell proliferation, inhibit scar formation and induce the formation of skin appendages. UC-MSCs combined with other drugs can promote the adhesion, survival, migration and proliferation of UC-MSCs.

**Key words:** umbilical cord mesenchymal stem cells; inflammation response; proliferation; adhesion; migration

脐带间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cells, UC-MSCs)是来源于脐带组织的多能干细胞,相对于其他来源的干细胞,具有易获取、免疫原性低、易于体外扩增以及合乎伦理等优点<sup>[1]</sup>。UC-MSCs在许多疾病中都可起到一定的作用,比如

急性肺损伤、肝衰竭、骨关节炎、红斑狼疮、糖尿病以及皮肤损伤等疾病<sup>[2-6]</sup>。

由严重创伤、烧伤、辐射等因素导致的大面积、慢性难愈的皮肤创面,会造成机体的生理功能障碍,而且容易进一步感染,严重影响伤者的生活质量。

收稿日期:2021-06-03 修回日期:2021-11-25

基金项目:云南省中青年学术和技术带头人后备人才(2018HB050);云南省“万人计划”青年拔尖人才专项(YNWR-QNBJ-2018-070)

\* 通信作者(corresponding author): hejd1227@163.com

目前仍在探索安全且有效的临床治疗手段,UC-MSCs是创面愈合、组织再生的潜在治疗工具,这为修复受损皮肤提供了全新的途径。

## 1 UC-MSCs 的生理学特性

UC-MSCs 来源于脐带组织,与国际细胞治疗学会 (ISCT) 的标准所定义的骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs) 具有相似的共同特征,如贴壁增生,成纤维状,且具有多向分化潜能,在体外培养可分化为成骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞等<sup>[7]</sup>。但与 BM-MSCs 相比,UC-MSCs 可以在体外传代(直到第 10 代)中保持更稳定的细胞增殖能力、克隆形成能力以及衰老标志物持续低表达<sup>[8]</sup>,此外,UC-MSCs 可通过对供体无风险的快速、简单、无痛、非侵入式的取样,且潜在的培养成本低、研究应用无伦理问题<sup>[1]</sup>。UC-MSCs 一般缺乏造血细胞标志物 (CD45、CD34、CD14 和 CD11b)、血小板和内皮细胞黏附分子 (CD31) 和胚胎样干细胞标志物 (CD133),但表达不同程度的 CD29、CD105 (SH2)、CD73 (SH3/4)、CD44 和 CD90/Thy-1<sup>[9-10]</sup>。由于主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) I 类分子的低表达、MHC II 类分子的缺失以及 CD40、CD80 和 CD86 等共刺激配体的缺乏,使得 UC-MSCs 的免疫原性低<sup>[11]</sup>。总之,这些特性为 UC-MSCs 的研究应用提供了有利条件。

## 2 UC-MSCs 修复皮肤损伤的机制

UC-MSC 可通过调节皮肤伤口的炎性环境,促进血管生成、细胞增殖,抑制疤痕形成、诱导皮肤附件形成 3 个过程来修复皮肤损伤。

在伤口愈合的前期,UC-MSCs 可以改善伤口的炎性因子水平。UC-MSC 可使抑炎因子白细胞介素-4 (IL-4)、IL-10、IL-13 等浓度上升,而使促炎因子肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、 $\gamma$ -干扰素、IL-1、IL-6、IL-8、细胞间黏附分子-1 等浓度下降<sup>[6,12]</sup>。UC-MSCs 可诱导炎性部位 M2 巨噬细胞的出现,从而触发体内创面愈合的过程。UC-MSCs 可以通过调节免疫细胞 (T 细胞、B 细胞以及树突状细胞) 的功能特性起到抗菌作用<sup>[13]</sup>。UC-MSCs 可增加烧伤部位的肿瘤坏死因子  $\alpha$  诱导蛋白 6 (tumor necrosis factor  $\alpha$  stimulated gene 6, TSG-6),从而抑制 P38 和激活 JNK 信

号,减轻炎性反应(烧伤组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 以及 MPO 的水平明显降低)<sup>[14]</sup>。

在伤口愈合的中期,UC-MSCs 可以促进肉芽形成、血管形成以及细胞增殖。UC-MSCs 可以通过分泌生长因子如血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF)、碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF)、转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )、胰岛素样生长因子-1 (Insulin-like growth factor-1, IGF-1)、干细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 及其他细胞因子如低氧诱导因子 1 $\alpha$  等诱导血管新生、胶原堆积,调节内皮细胞、角质形成细胞和成纤维细胞的存活、增殖、迁移,增加创周组织的血液循环和血氧饱和度,从而促进创面再上皮化,加速创面愈合<sup>[6,15]</sup>。将 108 例致伤原因不同的慢性伤口患者随机分为两组,与安慰剂组相比,UC-MSCs 的局部皮下注射组 ( $n = 59$ ) 显示肉芽组织明显生长,血液微循环改善,伤口大小减小<sup>[16]</sup>。

在伤口愈合的后期,UC-MSCs 可调节细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 蛋白的合成、抑制瘢痕形成、诱导毛囊再生。病理性皮肤瘢痕,如增生性瘢痕、瘢痕疙瘩和萎缩性瘢痕,是由严重烧伤、钝器创伤、伤口感染或其他手术干预引起的异常纤维代谢疾病。当皮肤受到严重损伤时,会过度修复而产生瘢痕,其特征是炎性细胞的浸润、成纤维细胞的增殖和胶原的堆积<sup>[17]</sup>。UC-MSCs 可使创伤部位迅速度过炎性期,从而减少胶原的过度堆积以及瘢痕的形成<sup>[18]</sup>。成纤维细胞在皮肤的损伤修复中必不可少,其产生的 ECM 有促进瘢痕形成、诱导毛囊形成,UC-MSCs 可通过调节成纤维细胞以及其产生 ECM 的量来减少创面瘢痕形成;Wnt 蛋白是皮肤发育和皮肤附属物 (例如头发) 形成的关键,过表达 Wnt7a 的 UC-MSCs 的上清液作用于受损的小鼠皮肤时,通过增强 c-Myc 的表达促进了成纤维细胞的细胞 ECM 表达和细胞迁移,改变伤口微环境,加速伤口愈合并诱导毛囊再生<sup>[19]</sup>。此外,许多调节因子如角质形成细胞生长因子 (keratinocyte growth factor, KGF),参与了皮肤和皮肤附件的修复,含有 KGF 的特定培养基可诱导 UC-MSCs 分化为汗腺样细胞 (sweat gland cells, SGCs),SGCs 对破坏的汗腺

(sweat gland, SG)和损伤皮肤的再生具有潜在的治疗应用价值<sup>[20]</sup>。

### 3 UC-MSCs 联合药物共同作用促进创面愈合

UC-MSCs 可联合壳聚糖、海藻酸钠等水凝胶聚合物以及天然无机物、有机物共同作用于伤口,这些物质可使 UC-MSCs 在伤口部位停留更久,促进其迁移、增殖,调节其分化等,从而提高 UC-MSCs 修复皮肤伤口的作用。

#### 3.1 UC-MSCs 联合促进 UC-MSCs 黏附与增殖的水凝胶

修复严重外伤的关键是尽快覆盖伤口,考虑到创面愈合的内在复杂性,理想的创面敷料应该具有良好的组织相容性、湿润和闭塞的环境、低感染风险、易于使用和有效地清除渗出物,以及促进愈合等特点<sup>[21]</sup>。水凝胶具有良好的生物相容性和可降解性,可以维持水和体液,可以避免继发性感染,促进新生血管形成和皮肤再生的能力<sup>[22]</sup>。

水凝胶具有多孔的内部结构、合适的微环境,UC-MSCs 联合水凝胶作用于创伤时,有益于移植的 UC-MSCs 的黏附、存活和增殖<sup>[23]</sup>,促进 UC-MSCs 分泌相关因子,减少炎症因子 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  的分泌,抑制创面中心和周围的过度炎症反应<sup>[24]</sup>,促进 TGF- $\beta$ 1 和 bFGF 分泌,促进胶原沉积和角质形成细胞成熟标志物 K1 的表达<sup>[25]</sup>,促进微循环、创面闭合、组织重塑、再上皮化和毛囊再生,为创面愈合、疤痕抑制提供了一种潜在的治疗途径。

#### 3.2 UC-MSCs 联合促进 UC-MSCs 迁移的物质

细胞迁移是 UC-MSCs 促进伤口愈合过程中的重要生物学事件,促进 UC-MSCs 迁移的常用方法有生化混合物和基因修饰,但都存在潜在的副作用<sup>[26]</sup>,因此,安全有效的调节 UC-MSCs 迁移是伤口修复的研究重点。一些天然物质、激素均可促进 UC-MSCs 的迁移,并且这些物质本身也具有促进伤口愈合的功效,UC-MSCs 联合其他物质作用于创伤时,可显著提高 UC-MSCs 对伤口的修复作用。

关于 UC-MSCs 联合其他物质作用于伤口时的分子机制,也有相应的研究做了进一步的探讨。其

中  $H_2O_2$  在低剂量 ( $0.10 \sim 1 \mu\text{mol/L}$ ) 时通过激活 NF- $\kappa$ B 和糖原合成酶激酶-3 $\beta$ / $\beta$ -catenin, 增加 MMP12 依赖的 Col-5 和 FN 的降解,从而刺激 UC-MSCs 在伤口部位的迁移能力<sup>[27]</sup>。油酸(oleic acid, OA)依赖于 EphB2 的 F-肌动蛋白来促进 UC-MSCs 的迁移,该肌动蛋白涉及 PKC、 $\alpha$ /GSK3、 $\beta$ / $\beta$ -catenin 和 rac1 信号通路<sup>[28]</sup>。褪黑素(melatonin, MT)对伤口修复具有积极作用,将褪黑素预处理的 UC-MSCs 移植于小鼠皮肤创伤部位,发现 MT 信号通过褪黑激素受体 2(MT2)触发 FAK/paxillin 磷酸化,激活 cdc42/arp2/3,刺激肌动蛋白细胞骨架的重组,从而促进 UC-MSCs 的迁移<sup>[29]</sup>。花生四烯酸(arachidonic acid, AA)在皮肤损伤期间可被大量释放到伤口部位,用 AA 预处理的 UC-MSCs 移植于创伤小鼠模型中,AA 依赖于 GPR40 的 mTORC2 信号通路,通过 MT3-MMP 介导的纤维连接蛋白降解诱导 UC-MSCs 运动来促进皮肤创伤愈合<sup>[1]</sup>。姜黄素(curcumin, CN)负载的纳米球在皮肤创面愈合过程中刺激 c-Src 和蛋白激酶 C 的磷酸化,导致 MAPK 的激活,并且 CN 受到 NF- $\kappa$ B 磷酸化的调节显著诱导了  $\alpha$ -actinin-1, profilin-1 和丝状肌动蛋白的表达水平,从而促进 UC-MSCs 的迁移<sup>[26]</sup>。

### 4 问题与展望

UC-MSCs 修复创伤时,可抑制伤口部位的炎症因子,增加抗炎因子,也可以分泌细胞因子及生长因子促进血管再生、再上皮化、胶原合成、抑制瘢痕、毛囊再生、修复汗腺等。UC-MSCs 联合水凝胶或其联合其他物质(如激素类或者天然药物)共同作用可以使 UC-MSCs 黏附存活于创面更久、增强 UC-MSCs 的增殖、迁移能力以及调节其分化。迄今为止,已大量的基础研究和临床试验证明 UC-MSCs 修复皮肤损伤在临床应用中前景广阔,但是 UC-MSCs 真正应用到临床还需要做更多的工作;UC-MSCs 在治疗过程中存在的安全性(如致瘤性)需要更多的样本来验证,设计并验证用 UC-MSCs 治疗的最佳方案(最适注射量、治疗频率),还需要进一步探索 UC-MSCs 促进伤口修复的分子机制。随着研究的更加深入,相信 UC-MSCs 疗法将成为皮肤损伤患者的福音。

## 参考文献:

- [1] Oh SY, Lee SJ, Jung YH, *et al.* Arachidonic acid promotes skin wound healing through induction of human MSC migration by MT3-MMP-mediated fibronectin degradation[J]. *Cell death & disease*, 2015,6:e1750.doi: 10.1038/cddis.2015.114.
- [2] Lv H, Yuan X, Zhang J, *et al.* Heat shock preconditioning mesenchymal stem cells attenuate acute lung injury via reducing NLRP3 inflammasome activation in macrophages [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12:290. doi: 10.1186/s13287-021-02328-3.
- [3] Sungkar T, Putra A, Lindarto D, *et al.* Intravenous umbilical cord-derived mesenchymal stem cells transplantation regulates hyaluronic acid and interleukin-10 secretion producing low-grade liver fibrosis in experimental rat[J]. *Med Arch*, 2020, 74:177-182.
- [4] Zhang Q, Xiang E, Rao W, *et al.* Intra-articular injection of human umbilical cord mesenchymal stem cells ameliorates monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis in rats by inhibiting cartilage degradation and inflammation[J]. *Bone Joint Res*, 2021, 10:226-236.
- [5] Chun W, Tian J, Zhang Y. Transplantation of mesenchymal stem cells ameliorates systemic lupus erythematosus and upregulates B10 cells through TGF- $\beta$ 1[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12: 512. doi: 10.1186/s13287-021-02586-1.
- [6] Poren K, Xie XY, Fang L, *et al.* Placenta mesenchymal stem cell accelerates wound healing by enhancing angiogenesis in diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013,438:410-419.
- [7] 刘雨杰,赵锦,何志旭,等. 优化海藻酸钠-壳聚糖多孔复合支架用于人脐带来源间充质干细胞的体外扩增[J]. *基础医学与临床*, 2019,05:630-635.
- [8] Stiner R, Alexander M, Liu G, *et al.* Transplantation of stem cells from umbilical cord blood as therapy for type I diabetes[J]. *Cell Tissue Res*, 2019,378:155-162.
- [9] Fan D, Zeng M, Xia Q, *et al.* Efficacy and safety of umbilical cord mesenchymal stem cells in treatment of cesarean section skin scars: a randomized clinical trial [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020,11:244. doi: 10.1186/s13287-020-01695-7.
- [10] Tan K, Zheng K, Li D, *et al.* Impact of adipose tissue or umbilical cord derived mesenchymal stem cells on the immunogenicity of human cord blood derived endothelial progenitor cells[J]. *PLoS One*, 2017,12:e178624. doi: 10.1371/journal.pone.0178624.
- [11] Lin HD, Fong CY, Biswas A, *et al.* Allogeneic human umbilical cord Wharton's jelly stem cells increase several-fold the expansion of human cord blood CD34<sup>+</sup> cells both *in vitro* and *in vivo*[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11. doi: 10.1186/s13287-020-02048-0.
- [12] LU SH, GE M, You YH, *et al.* Comparison of the biological functions between human bone marrow derived CD106<sup>+</sup> mesenchymal stem cells and CD106<sup>-</sup> subgroup [J]. *Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 2019,414. doi: 10.3881/j.issn.1000-503X.10887.
- [13] Ghosh T, Nandi P, Ganguly N, *et al.* NLGP counterbalances the immunosuppressive effect of tumor-associated mesenchymal stem cells to restore effector T cell functions [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10:296. doi: 10.1186/s13287-019-1349-z.
- [14] Liu L, Song H, Duan H, *et al.* TSG-6 secreted by human umbilical cord-MSCs attenuates severe burn-induced excessive inflammation via inhibiting activations of P38 and JNK signaling [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 30121. doi: 10.1038/srep30121.
- [15] Du WJ, Chi Y, Yang ZX, *et al.* Heterogeneity of proangiogenic features in mesenchymal stem cells derived from bone marrow, adipose tissue, umbilical cord, and placenta[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2016,7:163. doi: 10.1186/s13287-016-0418-9.
- [16] Suzdaltseva Y, Zhidkih S, Kiselev SL, *et al.* Locally delivered umbilical cord mesenchymal stromal cells reduce chronic inflammation in long-term nonhealing wounds: a randomized study [J]. *Stem Cells Int*, 2020, 2020: 5308609. doi: 10.1155/2020/5308609.
- [17] Kwan PO, Tredget EE. Biological Principles of Scar and Contracture[J]. *Hand clinics*, 2017,33:277-292.
- [18] Berman B, Maderal A, Raphael B. Keloids and hypertrophic scars: pathophysiology, classification, and treatment[J]. *Dermatol Surg*, 2017;S3-S18.
- [19] Dong L, Hao H, Liu J, *et al.* A conditioned medium of umbilical cord mesenchymal stem cells overexpressing wnt7a promotes wound repair and regeneration of hair follicles in mice[J]. *Stem Cells Int*, 2017, 2017:3738071. doi: 10.1155/2017/3738071.
- [20] Chen Y, Li Q, Tan Z, *et al.* MicroRNA-mediated regula-



- tion of BM-MSCs differentiation into sweat gland-like cells: targeting NF- $\kappa$ B [J]. J Mol Histol, 2019, 50: 155-166.
- [21] Lv X, Liu Y, Song S, *et al.* Influence of chitosan oligosaccharide on the gelling and wound healing properties of injectable hydrogels based on carboxymethyl chitosan/alginate polyelectrolyte complexes [J]. Carbohydr Polym, 2019, 205: 312-321.
- [22] Wang S, Yang H, Tang Z, *et al.* Wound dressing model of human umbilical cord mesenchymal stem cells-alginate complex promotes skin wound healing by paracrine signaling[J]. Stem Cells Int, 2016, 2016: 3269267. doi: 10.1155/2016/3269267.
- [23] Lee C, Shim S, Jang H, *et al.* Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stromal cells and small intestinal submucosa hydrogel composite promotes combined radiation-wound healing of mice [J]. Cytotherapy, 2017, 19: 1048-1059.
- [24] Zhang X, Li J, Ye P, *et al.* Coculture of mesenchymal stem cells and endothelial cells enhances host tissue integration and epidermis maturation through AKT activation in gelatin methacryloyl hydrogel-based skin model [J]. Acta biomaterialia, 2017, 59: 317-326.
- [25] Zhou P, Li X, Zhang B, *et al.* A human umbilical cord mesenchymal stem cell-conditioned medium/chitosan/collagen/-glycerophosphate thermosensitive hydrogel promotes burn injury healing in mice [J]. Biomed Res Int, 2019, 2019: 5768285. doi: 10.1155/2019/5768285.
- [26] Kim DW, Choi CH, Park JP, *et al.* Nanospheres loaded with curcumin improve the bioactivity of umbilical cord blood-mesenchymal stem cells via c-src activation during the skin wound healing process [J]. Cells, 2020, 9. doi: 10.3390/cells9061467.
- [27] Yun SP, Lee SJ, Oh SY, *et al.* Reactive oxygen species induce MMP12-dependent degradation of collagen 5 and fibronectin to promote the motility of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells [J]. Br J Pharmacol, 2014, 171: 3283-3297.
- [28] Jung YH, Lee SJ, Oh SY, *et al.* Oleic acid enhances the motility of umbilical cord blood derived mesenchymal stem cells through EphB2-dependent F-actin formation [J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1853: 1905-1917.
- [29] Lee SJ, Jung YH, Oh SY, *et al.* Melatonin enhances the human mesenchymal stem cells motility via melatonin receptor 2 coupling with G $\alpha$ q in skin wound healing [J]. J Pineal Res, 2014, 57: 393-407.

## 本刊稿件格式要求(2)

**2.1 摘要:**一般以第三人称撰写,采用“结构式摘要”,包括目的(Objective)、方法(Methods)、结果(Results)和结论(Conclusion)4部分。摘要应具有独立性和自明性,宜300~400字。英文缩写摘要中首次出现时用“中文全称(英文缩写)”格式。关键词5个以内。在关键词下行标注中图分类号(按中国图书馆分类法第四版查阅)。中、英文摘要及关键词应一致。

**2.2 引言:**应引用近期参考文献,概述该领域的国内外研究现状及存在的主要问题,明确提出本研究的立题依据、目的及意义,一般400字以内。英文缩写摘要在正文中首次出现时用“中文全称(英文全称,英文缩写)”格式。

**2.3 方法:**新方法或有特殊程序者应写明白。常用方法或可引用参考文献者不必详述,写明“见参考文献[文献序号]”即可。

**2.4 结果:**只列实验结果,不重复方法,不对结果进行分析、评述。图、表均须有中、英文题目,题目应具有自明性,图表的标目需写完整,图表内的内容及注释只用英文(注:短篇综述和医学教育栏目的图表内容及注释只用中文)。表格使用“三线表”;计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,注明例数( $n$ );图的标准值线分别在横坐标的上侧及纵坐标的右侧;镜下图片应清晰易辨,标明放大倍数。

**2.5 讨论:**应紧扣实验结果进行讨论,不重复具体方法和结果,一般在800字以内。