

间充质干细胞治疗皮肤创伤的研究进展

朱明 肖南 黄宏* 徐祥*

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所, 创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室, 重庆 400042)

摘要 间充质干细胞因具有易于分离培养获得、低免疫源性、多向分化潜能及旁分泌功能等特征, 而被越来越多地用于组织再生与创伤修复研究, 并显现了广阔的应用前景。间充质干细胞治疗皮肤创伤的研究已开展了十余年, 无论动物模型或是临床病人, 均显示了不错的疗效。然而, 该治疗仍面临很多问题和挑战, 离转化为临床常规治疗手段尚有距离。该文拟对间充质干细胞在皮肤创伤修复中的作用及其机制和提高疗效的手段等方面作一综述, 并探讨面临的问题和未来的研究方向。

关键词 间充质干细胞; 皮肤创伤; 创伤修复

Advances in Mesenchymal Stem Cell Therapy for Cutaneous Wounds

Zhu Ming, Xiao Nan, Huang Hong*, Xu Xiang*

(State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract Mesenchymal stem cells (MSCs), also termed multipotent marrow stromal cells or mesenchymal stromal cells, are a heterogeneous population of plastic-adherent, fibroblast-like cells that can be easily obtained. MSC has low immunogenicity, high paracrine activity and multi-directional differentiation potential, showing great application potential in the field of tissue regeneration and wound healing. MSC-based therapy for cutaneous wounds have been proposed over ten years. Preliminary studies showed surprisingly good efficiency of MSC therapy both in animal models of skin injury and patients with skin damage. However, a lot of problems remain to be solved, and it is still a long way to apply this new therapy in clinical routine. This paper reviewed the role of MSC in cutaneous wound healing and current strategies to improve its efficacy, and proposed issues that should be addressed in future studies.

Keywords mesenchymal stem cell; cutaneous wounds; wound healing

干细胞治疗的出现促进了多种与炎症、组织损伤及再生修复相关疾病的治疗手段和策略的革新。近年来, 随着对间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)表面标志及其生物学特性研究的深入, 表明其可能成为组织损伤修复中最有应用潜力的细

胞; 基础及临床研究也证实了MSC可以有效促进皮肤创伤的愈合。虽然如此, 要将这一新的治疗手段很好地应用于临床, 还有很长的一段路要走。因此, 对现有的研究报道加以综述分析, 为进一步的研究提供依据, 显得尤为必要。

收稿日期: 2014-12-01 接受日期: 2015-03-24

国家自然科学基金面上项目(批准号: 81372059、81372027、81372060)、重庆市应用开发重点项目(批准号: cstc2014yykfB1006)和重庆市基础与前沿研究计划院士专项项目(批准号: cstc2014jcyjys003)资助的课题

*通讯作者。Tel: 023-68757410, E-mail: huanghongcq@163.com; Tel: 023-68757412, E-mail: xiangxu@ymail.com

Received: December 1, 2014 Accepted: March 24, 2015

This work was supported by the General Program of the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81372059, 81372027, 81372060), the Key Application Development Project of Chongqing (Grant No.cstc2014yykfB1006) and the Foundational and Cutting-edge Research Plan of Chongqing: Special Projects for Academicians (Grant No.cstc2014jcyjys003)

*Corresponding authors. Tel: +86-23-68757410, E-mail: huanghongcq@163.com; Tel: +86-23-68757412, E-mail: xiangxu@ymail.com

网络出版时间: 2015-06-01 16:25

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150601.1625.011.html>

1 间充质干细胞

MSC由Friedenstein于1968年首次从骨髓中发现并报道^[1], 因具有自我更新和多向分化潜能而被称为干细胞; 此后的研究者们逐渐从机体多种组织器官中分离培养获得该细胞类型。现有研究证实, MSC在不同的诱导条件下不仅能够分化形成骨、软骨、脂肪、肌肉、肌腱等中胚层的细胞, 还能跨胚层分化形成外胚层的神经元、神经胶质细胞、皮肤细胞以及内胚层的血管内皮细胞、肝脏、肾脏等多种组织细胞, 在组织工程领域的应用前景十分广阔^[2-3]。除具有多向分化潜能外, MSC还可分泌多种细胞因子等产物, 在再生修复、炎症调控、免疫调节等多个方面发挥强大的功能。MSC的免疫原性较低, 异体移植后不会引发宿主免疫反应而更加安全有效^[4]。此外, 外源目的基因较易转染入MSC内并稳定表达, 加上其低免疫原性的特征, 使得MSC成为较为理想的基因治疗载体^[5]。

如何定义间充质干细胞仍是一个学术界争论的焦点, 目前公认的MSC鉴定标准为^[6]: (1)形态为纺锤形, 具有易于贴附塑料生长的特性; (2)阳性表达CD105、CD73、CD90、CD29、CD44等表面标志物, 并且阴性表达CD34、CD45、CD14、CD11b等表面分子; (3)经定向诱导后, 可分化为成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞等。

2 MSC在皮肤创伤修复与愈合过程中的意义

皮肤创面愈合的本质是修复皮肤缺损, 完全或部分恢复皮肤的完整性、抗拉伸强度及屏障功能^[7]。创面愈合是一个复杂而有序的生物学过程, 涉及细胞的运动、黏附、通讯、增殖、迁移和分化等细胞学行为, 同时也包含细胞内外物质的代谢、基因的启动和调控等一系列生物化学和分子生物学反应; 概括起来可分为止血、炎症反应、肉芽组织增生、创面再上皮化、瘢痕形成及创面愈合后的改建等过程^[8]; 这些过程呈现高度的有序性、整体性和网络性, 任何一个环节的协调不良或者功能障碍均可导致创面愈合不良。

2.1 炎症反应期

由于创伤局部有不同程度的组织坏死和血管断裂出血, 创伤后数小时内即出现炎症反应。在血小板和肥大细胞释放的血小板源性生长因子

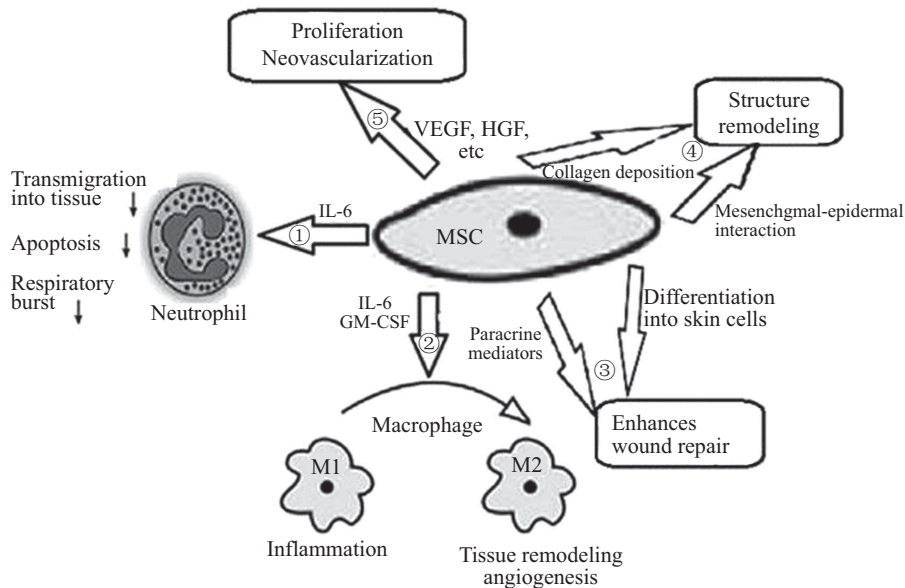
(platelet derived growth factor, PDGF)、肿瘤坏死生长因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等因子作用下^[9-10], 将粒细胞趋化至创伤部位, 清除微生物和细胞碎片, 表现为充血、浆液渗出及白细胞浸润, 局部红肿。早期白细胞浸润以嗜中性粒细胞为主, 约3 d后转为巨噬细胞为主。MSC在炎性微环境中被刺激活化后, 可分泌多种抗炎介质; 同时, MSC还能与创伤局部的多种免疫细胞发挥直接相互作用, 重编程这些免疫细胞而改变其细胞因子分泌谱^[11]。因此, MSC在皮肤创伤愈合过程中可抑制过度炎症反应, 减轻炎症反应对组织细胞的损伤。

2.2 细胞增生期

创伤发生后24 h内, 伤口边缘的基底细胞即开始增生, 并在凝块下面向伤口中心迁移, 当这些细胞彼此相遇时则停止迁移, 并增生、分化成为鳞状上皮, 单层覆盖于肉芽组织表面。新生的毛细血管以每日0.1~0.6 mm的速度延伸, 其方向大都垂直于创面, 并呈袢状弯曲, 它们除了为新生组织输送氧气、能量及带走代谢废物外, 还为损伤部位带来多种免疫细胞^[12], 促进损伤修复。伤后数天, 从伤口底部及边缘长出肉芽组织填平伤口, 为表皮细胞再生提供临时支架及营养支持; 如果肉芽组织长时间不能将伤口填平并形成瘢痕, 则上皮再生将延缓; 相反, 若有异物及感染等刺激使得肉芽组织过度生长而高出于皮肤表面, 也会阻止表皮再生。此期涉及基底细胞、成纤维细胞、内皮细胞、角蛋白细胞、上皮细胞等多种细胞的增殖, MSC一方面可分化成为相应的细胞, 另一方面可以通过分泌多种生长因子和调节蛋白而严密调控这些细胞的增生。

2.3 瘢痕形成及结构重塑期

伤后第5~6 d起, 纤维母细胞开始产生大量胶原纤维, 随着胶原纤维等细胞外基质的沉积以及大多数的内皮细胞、巨噬细胞和成肌纤维细胞逐渐凋亡或从创伤部位游走, 留下以I型胶原等细胞外基质为主而仅含少量细胞的结构, 即瘢痕组织, 使得创缘比较牢固地结合。MSC一方面可以促进胶原的沉积而加速创面修复^[13-14], 另一方面又可以抑制瘢痕组织的过度生成, 避免形成瘢痕疙瘩^[15]。在创口完全关闭后(伤后2~3周), 表皮下组织继续发生结构重塑, 可持续一年甚至更长的时间^[16]。MSC具有间质细胞特性, 间质-上皮间相互作用可持续性调节皮肤的完整性和稳态, 在创伤修复与重塑中起着重要的作用^[17]。



①MSC活化后旁分泌白介素-6(interleukin-6, IL-6)等抗炎因子, 这些抗炎因子可抑制中性粒细胞从血管中向损伤局部游走, 以减轻炎症反应; 同时, 这些抗炎因子可抑制中性粒细胞凋亡, 从而减少致炎介质的生成, 弱化炎症放大效应; 另外, 这些抗炎因子可降低中性粒细胞的呼吸爆发, 从而减轻对组织细胞的氧化损伤。②MSC通过分泌的IL-6、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)等介质重编程巨噬细胞, 使巨噬细胞的表型由促炎型(M1型)向抗炎型(M2型)转化, 减轻炎症反应; 同时, M2型巨噬细胞参与了血管生成及结构重塑。③MSC一方面分化成为相应的组织细胞, 另一方面分泌多种生长因子和调节蛋白等介质而严密调控组织细胞的增生, 促进创伤修复。④MSC通过调节创面局部胶原等细胞外基质的沉积, 以及与上皮细胞之间的相互作用, 参与创伤修复及结构重塑。⑤MSC旁分泌的血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、胰岛素生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)等生长因子能促进新生血管的形成及组织增生, 加速创面修复愈合。

① activated MSC secretes anti-inflammatory factors, such as IL-6, which can inhibit the apoptosis of neutrophils and migration of neutrophils from blood vessels to the injury site. Thus, the generation of inflammatory mediators are reduced and the inflammation reaction is alleviated. In addition, these anti-inflammatory factors can lower the respiratory burst of neutrophils, so as to reduce oxidative damage to cells. ② MSC can reprogramme classically activated macrophage (M1) to become like alternatively activated macrophage (M2) through its paracrine factors, such as IL-6 and GM-CSF. This phenotype transformation of macrophage alleviates the inflammation reaction and promotes the angiogenesis and remodeling. ③ MSC can differentiate into multiple constituent cells and secrete a variety of growth factors and regulatory proteins to tightly regulate the proliferation of constituent cells, promoting wound healing. ④ MSC participates in wound repair and remodeling by regulating its interaction with epithelial cells and the deposition of extracellular matrix at wound site. ⑤ MSC promotes the neovascularization and cell proliferation via secreting VEGF, HGF, IGF-1 and other growth factors, thereby accelerating wound healing. IL-6: interleukin-6; GM-CSF: granulocyte macrophage colony stimulating factor; VEGF: vascular endothelial growth factor; HGF: hepatocyte growth factor; IGF-1: insulin-like growth factor 1.

图1 MSC在皮肤创伤愈合中的作用

Fig.1 The role of MSC in wound healing

创面愈合过程中, 若持续存在某些病理因素, 如过度炎症反应、感染、毒性物质、营养不良、应激等, 常引起细胞外基质的改变、修复细胞活力低下且过度凋亡、生长因子与靶细胞受体间信号转导“失偶联”以及多种细胞因子间网络调节“失控”等, 导致创面修复障碍而愈合不良。目前, 促进创面愈合的手段主要集中于改善局部血氧供应、调节内源性生长因子的表达、应用外源性生长因子、促进创周细胞增殖及胶原形成等。然而, 创面愈合过程具有整体性和网络性, 这些手段只能部分纠正调控网络的紊乱, 对创面局部微环境稳态的改善是有限的。MSC作为一种具有强大旁分泌效应的多潜能细胞, 不仅可以为创伤局部提供修复细胞, 还能改善细胞

因子间网络失衡, 促进修复细胞增殖并抑制其凋亡, 参与了创伤局部的炎症调节、血管新生、组织修复、结构重塑等多个过程(图1), 从整体水平上实现调控效应, 促进创面愈合, 具有无可比拟的优势。

3 MSC在皮肤创伤治疗中的应用

将MSC应用于皮肤创伤治疗的尝试始于本世纪初。Krause等^[18]首次将雄性小鼠MSC注射入免疫缺陷的雌性小鼠体内, 5~12个月后, 在受体的皮肤中找到了含Y染色体的细胞, 提示MSC参与了皮肤的形成及稳态维持。Shumakov等^[19]将间充质干细胞移植应用于成体大鼠皮肤创伤的治疗, 他们发现, 自体移植和异体移植都减少了创伤部位炎性细胞的浸润, 促

进了新生血管及肉芽组织形成,尤其在自体移植间充质干细胞组更为显著。此后多项研究证实, MSC可以分化形成皮肤组织,全身或创面局部应用MSC治疗均可促进损伤皮肤的修复并提高愈合质量^[20-21]。

Rasulov等^[22]首先将这一治疗策略应用于临床,他们对1例大面积皮肤热灼伤(致伤面积达40%)的女性患者行异体骨髓MSC移植治疗,并于细胞移植后第4 d实施自体皮肤移植术,结果发现, MSC治疗可以起到很好的辅助治疗效果,促进创面愈合过程中血管的生成,缩短患者的康复时间。不仅如此, MSC对慢性难愈性伤口或迁延不愈的伤口也有很好的疗效^[23-24]。除了直接将MSC以不同途径输注进行治疗外,将MSC培养于一些支架材料上后移植到创伤部位,也具有较好的疗效。Nakagawa等^[25]对裸鼠造成1.5 cm×1.5 cm的全层皮肤及软组织缺损后,用MSC和碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)浸湿的猪皮替代物覆盖创面进行治疗。结果发现,与对照组相比,创面面积显著减小、伤口挛缩面小、创面上有更多上皮形成,表明MSC移植可以明显加速缺损伤口的愈合。此外,根据现有研究报道,不仅骨髓来源的MSC具有促进皮肤创伤愈合的作用^[26],其他来源的MSC,如脐带间充质干细胞^[27]、脐带血间充质干细胞^[28]、脂肪间充质干细胞^[29]、真皮干细胞^[30]、胎盘间充质干细胞^[31]、羊水间充质干细胞^[32]等也具有较好的治疗作用,且在不同个体甚至不同物种间移植时没有明显的限制。至于何种来源的MSC对皮肤创伤的疗效最佳,尚未见研究报道。

4 MSC促进皮肤创面愈合的主要作用机制

4.1 MSC分化形成多种组织细胞,参与组织再生与创面修复

皮肤组织损伤后,局部释放的PDGF活化成纤维细胞,后者表达趋化因子配体5(CXC chemokine ligand 5, CXCL5)和bFGF等趋化因子,将MSC趋化至创伤部位^[33];到达创伤部位的MSC在Wnt/ β -catenin途径的引导下,分化形成成纤维细胞^[34],从而促进胶原等细胞外基质的沉积,参与创伤的愈合过程。

血管内皮细胞和表皮细胞是皮肤创伤愈合过程中非常关键的细胞,而MSC作为多能干细胞,可在特定条件下定向分化为血管内皮细胞^[35]和表皮细

胞^[36],促进新生毛细血管的形成和创面的再上皮化。同时, MSC在移植后可以分化形成包括皮肤附件在内的多种皮肤组织结构^[36-37],从而直接参与创伤组织修复。此外,间质-上皮转分化也是组织再生和创伤修复中非常重要的机制之一^[38]。

4.2 MSC通过旁分泌机制发挥局部及全身效应

MSC在损伤局部微环境中被刺激活化后可分泌细胞因子、炎性介质、抗菌蛋白等活性成分,从而在局部或全身发挥相应的效应。这些旁分泌介质可大致分为以下几类^[39-40]: (1)抑制炎症及调节免疫的细胞因子: IL-6、IL-10、TSG-6(tumor necrosis factor alpha stimulated gene-6)、吲哚胺2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)、前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)、NO、转化生长因子- β (transforming growth factor-beta, TGF- β); (2)促进血管生成的生长因子: VEGF、促血管生成素-1(angiotensin-1, Ang-1)、bFGF; (3)促进组织细胞生物合成及能量代谢的生长因子: IGF-1、Wnt1/3A/5A、bFGF、HGF、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)、促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)、TGF- β ; (4)趋化因子: 基质细胞衍生因子-1(stromal-derived factor-1, SDF-1)、巨噬细胞炎性蛋白-1(macrophage inflammatory protein-1, MIP-1); (5)抗菌肽: LL-37。有研究指出, MSC这一旁分泌特性在促进皮肤创伤愈合中所起的作用比其分化和增殖能力更重要^[41]。一方面,这些旁分泌介质在MSC的趋化、迁移、分化以及减轻炎症及氧化损伤、抑制凋亡、促进创伤部位新生血管的形成等生理过程中起着重要的作用^[42];另一方面, MSC分泌的某些介质可以将巨噬细胞等免疫细胞以及内皮系细胞募集至损伤部位,调节创伤部位的炎症,促进血管新生及组织再生和创伤愈合^[43]。其次, MSC分泌的某些介质可以与内源性MSC表面相应受体结合,将这些内源性MSC动员至损伤部位发挥效应^[37,44]。

4.3 MSC通过释放外分泌小体(微泡)发挥治疗作用

Timmers等^[45]发现,在MSC条件培养液的各种组分中,仅有>1 000 kDa(100~220 nm)的组分具有细胞保护效应,提示MSC的抗凋亡等效应是通过该外分泌组分得以实现;通过超速离心法获取该组分后,利用电子显微镜证实该组分为MSC源性外分泌小体(MSC exosome, MSC-Ex)^[46]。利用蛋白组学、

转录组学、miRNA阵列及其他高通量技术手段对微泡的组分进行分析后发现, MSC-Ex含有大量的功能性蛋白分子和调节性RNAs, 这些复杂的生物活性物质包含于磷脂膜结构中而更易运输和被靶细胞利用^[42]。

研究发现, MSC-Ex通过与靶细胞特异性相互作用起着信号调控的作用; 同时, MSC-Ex可以运输miRNA等基因产物, 调节蛋白质的翻译, 在组织修复中发挥重要作用^[47-48]。Ranganath等^[49]也指出, MSC外分泌的微泡等间质成分是促进再生的主要机制。Bin等^[50]发现, MSC-Ex可促进皮肤细胞的增殖, 并能有效抑制热应激导致的皮肤细胞凋亡; 在体实验也证实, MSC-Ex可以显著加速创面的再上皮化进程, 促进创面的修复。

4.4 MSC通过线粒体转移的方式参与组织修复

Islam等^[51]发现, 将MSC输注入急性肺损伤动物模型体内后, MSC与肺泡细胞通过缝隙连接通道进行细胞间物质交换; 其中, MSC的线粒体通过该方式被转移至宿主细胞内, 通过增加ATP的生成促进受损细胞的生物合成, 从而参与受损细胞和组织的修复。我们推测, 该机制在MSC促进创面修复中起着一定作用。

4.5 激活损伤部位驻留干细胞参与组织修复

Grenier等^[52]从小鼠真皮组织中分离出一种多能细胞, 该细胞在体外可分化形成内皮样细胞, 且在移植试验中可形成功能性血管并构成毛细血管网, 提示驻留干细胞在创伤的修复中起着重要的作用。Huntsman等^[53]的研究证实, MSC移植到损伤的肢体后, 可以促进驻留卫星细胞的增殖及新生纤维的合成, 提示MSC对驻留干/祖细胞的活化效应。此外, 在皮肤创伤部位还存在皮肤间质干细胞、上皮神经鞘干细胞、皮肤祖细胞等驻留干细胞, 移植的MSC可能通过激活这些驻留干细胞发挥功能。

5 改善MSC治疗皮肤创伤疗效的途径

MSC治疗皮肤创伤的有效性已被充分确证, 如何进一步提高MSC的疗效就成为了研究者们关注的焦点。根据现有研究报道, 主要有以下4种提高MSC疗效的方式:

(1)促进MSC的动员、迁移和归巢至损伤部位。局部应用生长因子或趋化因子(如VEGF)不仅可以上调一些促进创伤修复的生长因子的局部表达, 而

且可以募集MSC至创伤部位, 促进血管重建, 从而加速伤口的愈合^[54]。

(2)体外预处理MSC, 提高其促修复的功能。研究表明, MSC经体外特定的预处理后, 其表型会发生改变而发挥更强及修复功能^[55-56]。Lee等^[57]制备了小鼠皮肤损伤模型后分别给予naïve MSC、活化的MSC及PBS治疗, 结果发现, 预先活化的MSC的疗效要优于naïve MSC和PBS。体外实验发现, MSC被干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)活化后, 会分泌更多的促再生性细胞因子和生长因子等。

(3)基因修饰MSC, 提高其功能。考虑到MSC易被转染入目的基因的特性, 对MSC进行基因修饰后再用于再生医学领域, 可能是一种较好的优化策略。通过基因修饰, 我们可以增强干细胞的功能和活力, 比如, 促进MSC的存活、改善MSC的代谢和分泌、提高MSC的收缩性及增殖和分化潜能等^[58]。此外, 经过基因修饰后的MSC可作为基因治疗的载体, 合成和释放一些基因产物来发挥促愈疗效。

(4)改进MSC移植方式, 促进其功能的发挥。MSC移植治疗中, 应当尽量延长MSC在损伤部位的滞留和存活时间以延长其发挥功能的时间。基于此, 有研究者采用一种不含细胞的皮肤基质, 将MSC种植于其上, 然后覆盖于皮肤创伤局部, 并显示了较好的疗效^[59]。相较于注射的方式, 这一移植方式可以有效抑制MSC移植后的全身性分布, 而更加靶向分布于创伤局部, 可能是一种更有效的移植方式。

6 总结与展望

虽然MSC具有广阔的应用前景, 但仍有许多争论性的问题有待解决, 要将这一治疗策略真正应用于临床仍需慎重。有研究表明, 年龄和性别一致的不同供体来源的MSC, 其分泌的有效生物活性分子相差10倍以上; 不同物种甚至不同实验室来源的MSC, 其特性及细胞生物学功能都不尽相同^[60]。因此, 从这一点看来, MSC的潜能就存在很大的不确定性。MSC差异性较大的具体机制是什么? 如何对临床应用型MSC进行标准化, 从而分离及培养扩增出纯度高、稳定性好、效能强的MSC? 尽管MSC具有强大的再生修复功能, 目前用MSC治疗皮肤创伤也取得了不错的疗效, 但远不能达到受损组织结构 and 功能的完全恢复, 其制约因素又是什么? 此外, MSC移植治疗皮肤创伤的治疗时机、移植细胞量(数

量、次数)、移植方式、疗效评价指标、副作用及应对等问题也需要进一步研究探讨。

在利用MSC治疗创伤病人时,需要慎重考虑,首先得明确病人是否适合MSC治疗。研究发现, MSC分泌的VEGF与过度瘢痕形成相关^[61];另外, 瘢痕疙瘩中的成纤维细胞对MSC有趋化性,且在两者共培养时, MSC出现成纤维细胞的表型,提示MSC参与了创伤后瘢痕疙瘩的形成^[62];因此,我们不建议对瘢痕体质的皮肤创伤患者行MSC治疗。其次,患者及供者的年龄等因素在干细胞移植治疗创伤中也起一定作用,在MSC供体及治疗对象的选择上要慎重。在一项利用MSC治疗糖尿病小鼠皮肤创伤的研究中发现,老龄小鼠来源的MSC不仅不能促进创伤愈合,反而会使愈合进程延缓^[63]。

此外,需要进一步评估MSC移植治疗的风险。虽然目前普遍认为MSC的免疫原性较低,因缺乏MHC-II而被认为是“免疫豁免”的^[4],但并不能完全排除免疫反应的发生。最近的一项研究显示, MSC在炎性环境中会上调表达MHC-II,从而被宿主免疫系统识别^[64]。另外, MSC的可塑性强,存在一些不确定的风险,比如可控性差、有恶变风险等。因此,异体移植时的交叉反应性和长期效应仍值得进一步研究。

参考文献 (References)

- Friedenstein AJ, Petrakova KV, Kurolesova AI, Frolova GP. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues. *Transplantation* 1968; 6(2): 230-47.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, *et al.* Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284(5411): 143-7.
- Mackenzie TC, Flake AW. Multilineage differentiation of human MSC after in utero transplantation. *Cytotherapy* 2001; 3(5): 403-5.
- Patel SA, Sherman L, Munoz J, Rameshwar P. Immunological properties of mesenchymal stem cells and clinical implications. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2008; 56(1): 1-8.
- Lee K, Majumdar MK, Buyaner D, Hendricks JK, Pittenger MF, Mosca JD. Human mesenchymal stem cells maintain transgene expression during expansion and differentiation. *Mol Ther* 2001; 3(6): 857-66.
- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, *et al.* Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The international society for cellular therapy position statement. *Cytotherapy* 2006; 8(4): 315-7.
- Singer AJ, Thode HC Jr, McClain SA. Development of a histomorphologic scale to quantify cutaneous scars after burns. *Acad Emerg Med* 2000; 7(10): 1083-8.
- Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003; 83(3): 835-70.
- Szpaderska AM, Egozi EI, Gamelli RL, DiPietro LA. The effect of thrombocytopenia on dermal wound healing. *J Invest Dermatol* 2003; 120(6): 1130-7.
- Malaviya R, Ikeda T, Ross E, Abraham SN. Mast cell modulation of neutrophil influx and bacterial clearance at sites of infection through TNF-alpha. *Nature* 1996; 381(6577): 77-80.
- Wannemuehler TJ, Manukyan MC, Brewster BD, Rouch J, Poynter JA, Wang Y, *et al.* Advances in mesenchymal stem cell research in sepsis. *J Surg Res* 2012; 173(1): 113-26.
- Li WW, Talcott KE, Zhai AW, Kruger EA, Li VW. The role of therapeutic angiogenesis in tissue repair and regeneration. *Adv Skin Wound Care* 2005; 18(9): 491-500; quiz 501-2.
- Fathke C, Wilson L, Hutter J, Kapoor V, Smith A, Hocking A, *et al.* Contribution of bone marrow-derived cells to skin: Collagen deposition and wound repair. *Stem Cells* 2004; 22(5): 812-22.
- Casado JG, Blazquez R, Jorge I, Alvarez V, Gomez-Mauricio G, Ortega-Munoz M, *et al.* Mesenchymal stem cell-coated sutures enhance collagen depositions in sutured tissues. *Wound Repair Regen* 2014; 22(2): 256-64.
- Liu YL, Liu WH, Sun J, Hou TJ, Liu YM, Liu HR, *et al.* Mesenchymal stem cell-mediated suppression of hypertrophic scarring is p53 dependent in a rabbit ear model. *Stem Cell Res Ther* 2014; 5(6): 136.
- Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature* 2008; 453(7193): 314-21.
- Szabowski A, Maas-Szabowski N, Andrecht S, Kolbus A, Schorpp-Kistner M, Fusenig NE, *et al.* c-Jun and JunB antagonistically control cytokine-regulated mesenchymal-epidermal interaction in skin. *Cell* 2000; 103(5): 745-55.
- Krause DS, Theise ND, Collector ML, Henegariu O, Hwang S, Gardner R, *et al.* Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001; 105(3): 369-77.
- Shumakov VI, Onishchenko NA, Rasulov MF, Krashennnikov ME, Zaidenov VA. Mesenchymal bone marrow stem cells more effectively stimulate regeneration of deep burn wounds than embryonic fibroblasts. *Bull Exp Biol Med* 2003; 136(2): 192-5.
- Kataoka K, Medina RJ, Kageyama T, Miyazaki M, Yoshino T, Makino T, *et al.* Participation of adult mouse bone marrow cells in reconstitution of skin. *Am J Pathol* 2003; 163(4): 1227-31.
- Satoh H, Kishi K, Tanaka T, Kubota Y, Nakajima T, Akasaka Y, *et al.* Transplanted mesenchymal stem cells are effective for skin regeneration in acute cutaneous wounds. *Cell Transplant* 2004; 13(4): 405-12.
- Rasulov MF, Vasilchenkov AV, Onishchenko NA, Krashennnikov ME, Kravchenko VI, Gorshenin TL, *et al.* First experience of the use bone marrow mesenchymal stem cells for the treatment of a patient with deep skin burns. *Bull Exp Biol Med* 2005; 139(1): 141-4.
- Dabiri G, Heiner D, Falanga V. The emerging use of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of human chronic wounds. *Expert Opin Emerg Drugs* 2013; 18(4): 405-19.
- Kwon DS, Gao X, Liu YB, Dulchavsky DS, Danyluk AL, Bansal

- M, *et al.* Treatment with bone marrow-derived stromal cells accelerates wound healing in diabetic rats. *Int Wound J* 2008; 5(3): 453-63.
- 25 Nakagawa H, Akita S, Fukui M, Fujii T, Akino K. Human mesenchymal stem cells successfully improve skin-substitute wound healing. *Br J Dermatol* 2005; 153(1): 29-36.
- 26 Hanson SE, Bentz ML, Hematti P. Mesenchymal stem cell therapy for nonhealing cutaneous wounds. *Plast Reconstr Surg* 2010; 125(2): 510-6.
- 27 Liu L, Yu Y, Hou Y, Chai J, Duan H, Chu W, *et al.* Human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation promotes cutaneous wound healing of severe burned rats. *PLoS One* 2014; 9(2): e88348.
- 28 Luo G, Cheng W, He W, Wang X, Tan J, Fitzgerald M, *et al.* Promotion of cutaneous wound healing by local application of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord blood. *Wound Repair Regen* 2010; 18(5): 506-13.
- 29 Maharlooei MK, Bagheri M, Solhjou Z, Jahromi BM, Akrami M, Rohani L, *et al.* Adipose tissue derived mesenchymal stem cell (AD-MSC) promotes skin wound healing in diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract* 2011; 93(2): 228-34.
- 30 Lorenz K, Sicker M, Schmelzer E, Rupf T, Salvetter J, Schulz-Siegmund M, *et al.* Multilineage differentiation potential of human dermal skin-derived fibroblasts. *Exp Dermatol* 2008; 17(11): 925-32.
- 31 Kong P, Xie X, Li F, Liu Y, Lu Y. Placenta mesenchymal stem cell accelerates wound healing by enhancing angiogenesis in diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 438(2): 410-9.
- 32 Jun EK, Zhang Q, Yoon BS, Moon JH, Lee G, Park G, *et al.* Hypoxic conditioned medium from human amniotic fluid-derived mesenchymal stem cells accelerates skin wound healing through TGF-beta/SMAD2 and PI3K/Akt pathways. *Int J Mol Sci* 2014; 15(1): 605-28.
- 33 Nedeau AE, Bauer RJ, Gallagher K, Chen H, Liu ZJ, Velazquez OC. A CXCL5- and bFGF-dependent effect of PDGF-B-activated fibroblasts in promoting trafficking and differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res* 2008; 314(11/12): 2176-86.
- 34 Cheon SS, Wei Q, Gurung A, Youn A, Bright T, Poon R, *et al.* Beta-catenin regulates wound size and mediates the effect of TGF-beta in cutaneous healing. *FASEB J* 2006; 20(6): 692-701.
- 35 Silva GV, Litovsky S, Assad JA, Sousa AL, Martin BJ, Vela D, *et al.* Mesenchymal stem cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a canine chronic ischemia model. *Circulation* 2005; 111(2): 150-6.
- 36 Sasaki M, Abe R, Fujita Y, Ando S, Inokuma D, Shimizu H. Mesenchymal stem cells are recruited into wounded skin and contribute to wound repair by transdifferentiation into multiple skin cell type. *J Immunol* 2008; 180(4): 2581-7.
- 37 Wu Y, Chen L, Scott PG, Tredget EE. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis. *Stem Cells* 2007; 25(10): 2648-59.
- 38 Lau K, Paus R, Tiede S, Day P, Bayat A. Exploring the role of stem cells in cutaneous wound healing. *Exp Dermatol* 2009; 18(11): 921-33.
- 39 Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2008; 8(9): 726-36.
- 40 Wannemuehler TJ, Manukyan MC, Brewster BD, Rouch J, Poynter JA, Wang Y, *et al.* Advances in mesenchymal stem cell research in sepsis. *J Surg Res* 2012; 173(1): 113-6.
- 41 Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, Epstein SE. Bone-marrow-derived cells for enhancing collateral development: Mechanisms, animal data, and initial clinical experiences. *Circ Res* 2004; 95(4): 354-63.
- 42 Liang X, Ding Y, Zhang Y, Tse HF, Lian Q. Paracrine mechanisms of mesenchymal stem cell-based therapy: Current status and perspectives. *Cell Transplant* 2014; 23(9): 1045-59.
- 43 Chen L, Tredget EE, Wu PY, Wu Y. Paracrine factors of mesenchymal stem cells recruit macrophages and endothelial lineage cells and enhance wound healing. *PLoS One* 2008; 3(4): e1886.
- 44 Neuss S, Becher E, Woltje M, Tietze L, Jahnen-Dechent W. Functional expression of HGF and HGF receptor/c-met in adult human mesenchymal stem cells suggests a role in cell mobilization, tissue repair, and wound healing. *Stem Cells* 2004; 22(3): 405-14.
- 45 Timmers L, Lim SK, Arslan F, Armstrong JS, Hofer IE, Doevendans PA, *et al.* Reduction of myocardial infarct size by human mesenchymal stem cell conditioned medium. *Stem Cell Res* 2007; 1(2): 129-37.
- 46 Lai RC, Arslan F, Lee MM, Sze NS, Choo A, Chen TS, *et al.* Exosome secreted by MSC reduces myocardial ischemia/reperfusion injury. *Stem Cell Res* 2010; 4(3): 214-22.
- 47 Tetta C, Consiglio AL, Bruno S, Tetta E, Gatti E, Dobrova M, *et al.* The role of microvesicles derived from mesenchymal stem cells in tissue regeneration; A dream for tendon repair? *Muscles Ligaments Tendons J* 2012; 2(3): 212-21.
- 48 Bruno S, Camussi G. Role of mesenchymal stem cell-derived microvesicles in tissue repair. *Pediatr Nephrol* 2013; 28(12): 2249-54.
- 49 Ranganath SH, Levy O, Inamdar MS, Karp JM. Harnessing the mesenchymal stem cell secretome for the treatment of cardiovascular disease. *Cell Stem Cell* 2012; 10(3): 244-58.
- 50 Zhang B, Wang M, Gong A, Zhang X, Wu X, Zhu Y, *et al.* HucMSC-exosome mediated-Wnt4 signaling is required for cutaneous wound healing. *Stem Cells* 2014; doi: 10.1002/stem.1771.
- 51 Islam MN, Das SR, Emin MT, Wei M, Sun L, Westphalen K, *et al.* Mitochondrial transfer from bone-marrow-derived stromal cells to pulmonary alveoli protects against acute lung injury. *Nat Med* 2012; 18(5): 759-65.
- 52 Grenier G, Scime A, Le Grand F, Asakura A, Perez-Iratxeta C, Andrade-Navarro MA, *et al.* Resident endothelial precursors in muscle, adipose, and dermis contribute to postnatal vasculogenesis. *Stem Cells* 2007; 25(12): 3101-10.
- 53 Huntsman HD, Zachwieja N, Zou K, Ripchik P, Valero MC, De Lisio M, *et al.* Mesenchymal stem cells contribute to vascular growth in skeletal muscle in response to eccentric exercise. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2013; 304(1): H72-81.
- 54 Galiano RD, Tepper OM, Pelo CR, Bhatt KA, Callaghan M, Bastidas N, *et al.* Topical vascular endothelial growth factor accelerates diabetic wound healing through increased

- angiogenesis and by mobilizing and recruiting bone marrow-derived cells. *Am J Pathol* 2004; 164(6): 1935-47.
- 55 Alfaro MP, Pagni M, Vincent A, Atkinson J, Hill MF, Cates J, *et al.* The Wnt modulator sFRP2 enhances mesenchymal stem cell engraftment, granulation tissue formation and myocardial repair. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(47): 18366-71.
- 56 Ahmad Z, Wardale J, Brooks R, Henson F, Noorani A, Rushton N. Exploring the application of stem cells in tendon repair and regeneration. *Arthroscopy* 2012; 28(7): 1018-29.
- 57 Lee S, Szilagyi E, Chen L, Premanand K, Dipietro LA, Ennis W, *et al.* Activated mesenchymal stem cells increase wound tensile strength in aged mouse model via macrophages. *J Surg Res* 2013; 181(1): 20-4.
- 58 Peng LH, Tsang SY, Tabata Y, Gao JQ. Genetically-manipulated adult stem cells as therapeutic agents and gene delivery vehicle for wound repair and regeneration. *J Control Release* 2012; 157(3): 321-30.
- 59 Altman AM, Matthias N, Yan Y, Song YH, Bai X, Chiu ES, *et al.* Dermal matrix as a carrier for *in vivo* delivery of human adipose-derived stem cells. *Biomaterials* 2008; 29(10): 1431-42.
- 60 Dimarino AM, Caplan AI, Bonfield TL. Mesenchymal stem cells in tissue repair. *Front Immunol* 2013; 4: 201.
- 61 Wilgus TA, Ferreira AM, Oberyszyn TM, Bergdall VK, Dipietro LA. Regulation of scar formation by vascular endothelial growth factor. *Lab Invest* 2008; 88(6): 579-90.
- 62 Akino K, Akita S, Yakabe A, Minoda T, Hayashi T, Hirano A. Human mesenchymal stem cells may be involved in keloid pathogenesis. *Int J Dermatol* 2008; 47(11): 1112-7.
- 63 Schatteman GC, Ma N. Old bone marrow cells inhibit skin wound vascularization. *Stem Cells* 2006; 24(3): 717-21.
- 64 Matthay MA. Advances and challenges in translating stem cell therapies for clinical diseases. *Transl Res* 2010; 156(3): 107-11.

中国细胞生物学