

巨噬细胞在创伤修复中的作用

王 健^{1, 2, 3} 陆 芸^{2, 3} 杨 慧^{2*} 陈旭林^{1*} 刘光伟^{2, 3*}

(¹安徽医科大学第一附属医院烧伤科, 合肥 230011; ²复旦大学基础医学院免疫学系, 上海 200032;

³北京师范大学生命科学学院细胞生物研究所, 教育部细胞增殖和调控生物重点实验室, 北京 100875)

摘要 巨噬细胞在创伤修复中发挥着重要作用。当创伤发生后, 循环单核细胞迁移到创伤局部并分化为巨噬细胞。在创伤修复的不同阶段, 局部的巨噬细胞可以清除坏死细胞, 促进细胞增殖、血管生成、胶原沉积和组织重塑。此外, 巨噬细胞还会随着微环境的变化而发生表型和功能的改变, 并且与其他细胞(主要是中性粒细胞)发生相互作用, 最终完成组织修复。该文将对创伤修复中巨噬细胞的起源、极化及其与中性粒细胞的相互关系作一简要综述。

关键词 巨噬细胞; 极化; 创伤修复

Role of Macrophage during Wound Healing

Wang Jian^{1, 2, 3}, Lu Yun^{2, 3}, Yang Hui^{2*}, Chen Xulin^{1*}, Liu Guangwei^{2, 3*}

(¹Department of Burns, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230011, China; ²Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China; ³Key Laboratory of Cell Proliferation and Regulation Biology, Ministry of Education, Institute of Cell Biology, College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Abstract Macrophages are key components of wound healing. When trauma happens, circulating monocytes migrate to wound site and differentiate into macrophages. In different phases of wound healing the macrophages in wound site can promote debridement of the necrosis material, cell proliferation and angiogenesis, collagen deposition and tissue remodeling. Furthermore, macrophages exhibit transitions in phenotype and function as the change of microenvironment and they also interact with the other cells (mainly neutrophils) and ultimately achieve tissue repair. This review will address the origin and polarization of wound macrophages, and their interactions with neutrophils in the wound.

Keywords macrophages; polarization; wound healing

创伤修复是一个在时间和空间上高度协调、需要各种细胞参与的病理生理学过程。在损伤部位组织细胞和各种炎症细胞立即组装了一个在概念上可以称之为“创伤器官”的结构。这个短暂的新“器官”在创伤当时组装, 并不断发生变化, 当损伤修复完成

过后即拆卸, 最后留下纤维瘢痕作为创伤修复过程的一个证据^[1]。在这些炎症细胞中大家关注最多的是巨噬细胞, 并对其来源、表型和功能变化及其与中性粒细胞的相互关系进行了大量研究, 其中也存在不少争论。该文将对巨噬细胞在创伤修复中这几

收稿日期: 2015-09-30 接受日期: 2015-12-29

国家自然科学基金面上项目(批准号: 31171407、81273201)、国家自然科学基金青年基金项目(批准号: 81401740)和上海市科委基础研究重点项目(批准号: 12JC1400900)资助的课题

*通讯作者。Tel: 021-54237093, E-mail: huiyang@fudan.edu.cn; Tel: 0551-62922332, E-mail: chenxl@163.com; Tel: 010-58800026, E-mail: liugw@bnu.edu.cn

Received: September 30, 2015 Accepted: December 29, 2015

The work was supported by the National Natural Science Foundation for General Programs of China (Grant No.31171407, 81273201), National Natural Science Foundation for Young Programs of China (Grant No.81401740) and Key Basic Research Project of the Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (Grant No.12JC1400900)

*Corresponding authors. Tel: +86-21-54237093, E-mail: huiyang@fudan.edu.cn; Tel: +86-551-62922332, E-mail: chenxl@163.com; Tel: +86-10-58800026, E-mail: liugw@bnu.edu.cn

网络出版时间: 2016-03-09 17:12:59

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160309.1712.002.html>

方面的近期研究进展作一简要综述。

1 创伤局部单核/巨噬细胞的起源

当机体组织受到创伤后,浸润到受伤部位的巨噬细胞,称之为创伤巨噬细胞(wound macrophage)。大量研究证实,循环血液中的单核细胞是创伤巨噬细胞的主要来源。单核细胞从血液到达创伤部位很快获得某些巨噬细胞的表型,例如,甘露糖受体-1和F4/80等,同时仍保留Ly6C和Dectin-1等循环单核细胞的特征^[2]。

根据Ly6C、趋化因子受体2(C-C chemokine receptor type 2, CCR2)和趋化因子受体CX3CR1(CX3C chemokine receptor 1, CX3CR1)的表达水平,小鼠血液中的单核细胞分为两种主要亚群^[3-4]。以Ly6C^{hi}CCR2^{hi}CX3CR1^{low}为特点的炎症单核细胞首先迁移到炎症部位(包括创伤局部),分泌促炎因子(TNF- α 、IL-1 β 等)并分化为具有吞噬功能的巨噬细胞,参与创伤早期的炎症反应。而Ly6C^{low}CCR2^{low}CX3CR1^{hi}单核细胞亚群则随后进入创伤局部或其他炎症部位,发挥抗炎及组织修复的作用^[2,4]。

CCR2/CCL2和CX3CR1/CX3CL1在分别招募Ly6C^{hi}CCR2^{hi}CX3CR1^{low}和Ly6C^{low}CCR2^{low}CX3CR1^{hi}单核细胞到创伤局部和其他炎症病灶发挥着重要作用^[5-9]。CCR2是一种重要的趋化因子受体,其配体为CCL2,CCL2也称作单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemotactic protein 1, MCP1)。MCP1作为一种特异性的单核细胞趋化因子具有很强的趋化作用,当MCP1与血液中的单核细胞表面受体CCR2相结合后便可趋化单核细胞到达炎症部位,参与早期的炎症反应。研究者采用条件性敲除CCR2的小鼠制作皮肤创伤模型,发现CCR2的确对创伤早期招募大量Ly6C^{hi}CCR2^{hi}单核细胞发挥重要作用^[5]。CX3CR1是另一种趋化因子受体,也称为G蛋白偶联受体13(G protein coupled receptor 13, GPCR13),其在单核细胞表面表达并且对单核细胞的存活发挥重要作用,其配体为CX3CL1,它们参与白细胞的黏附和迁移。CX3CR1敲除的小鼠皮肤创口愈合明显延迟,创伤局部巨噬细胞和肌成纤维细胞数目较对照组显著减少^[9]。

国际免疫联合委员会(Committee of the International Union of Immunological Societies)根据单核

细胞表面CD14和CD16的表达水平将单核细胞分为三种亚群。(1)CD14⁺CD16⁻单核细胞,这是人类单核细胞主要的亚群,占90%左右,也称为经典型单核细胞。该群单核细胞CX3CR1表达水平很低,而在CCR2表达上与Ly6C^{hi}的小鼠单核细胞很类似。(2)CD14⁺CD16⁺单核细胞,至少由两个亚群组成,它们在脓毒血症的循环血液中频繁增加,但是功能还不清楚。(3)CD14^{dim}CD16⁺单核细胞,也称为非经典型单核细胞,参与循环单核细胞5%~10%的组成,高表达CX3CR1,可能与小鼠Ly6C^{low}单核细胞直接同源^[10-11]。人类单核细胞亚群迁移到创伤部位与小鼠对应的单核细胞亚群是否相类似以及是否在创伤局部发挥相同的作用,还有待研究。

2 创伤修复中巨噬细胞的极化及其功能

巨噬细胞是一类可塑性较强的细胞,在不同的微环境下巨噬细胞可以极化为促炎(type 1 macrophages, M1)和抗炎(type 2 macrophages, M2)两种不同的类型,分别在创伤修复的不同阶段发挥着核心作用^[11]。

巨噬细胞极化是基于Th1和Th2细胞分泌不同的细胞因子诱导的结果^[12]。在Th1细胞分泌的细胞因子[如IFN- γ (interferon- γ)和TNF- α (tumor necrosis factor- α)]刺激下,巨噬细胞激活为促炎型(M1, 又称经典活化的巨噬细胞, classically activated macrophages);而Th2细胞因子(如IL-4、IL-10和IL-13)则使巨噬细胞极化为抗炎型(M2, 又称选择性活化的巨噬细胞, alternatively activated macrophages)^[13]。一般来说M1型巨噬细胞具有IL-12^{hi}IL-23^{hi}IL-10^{low}的表型,产生效应分子(如活性氧和活性氮介质等)以及各种炎症因子(如IL-1 β 、TNF- α 和IL-6等)具有杀灭微生物的功能,在创伤早期发挥重要作用。而M2型巨噬细胞则以IL-12^{low}IL-23^{low}IL-10^{hi}为特征,高表达清道夫受体(scavenger receptor)、甘露糖受体(mannose receptor)和半乳糖型受体(galactose-type receptor)、分泌抗炎因子(如IL-10等),各种细胞外基质蛋白[如纤连蛋白、TGF- β IG-H3(transforming growth factor- β inducible gene-H3)等]以及多种促血管生成因子[如TGF- β 1、PDGF-B(platelet-derived growth factor subunit-B)、HGF(hepatocyte growth factor)和IGF-1(insulin-like growth factors-1)等],在促进细胞增殖、胶原沉积和血管生成方面起主导作

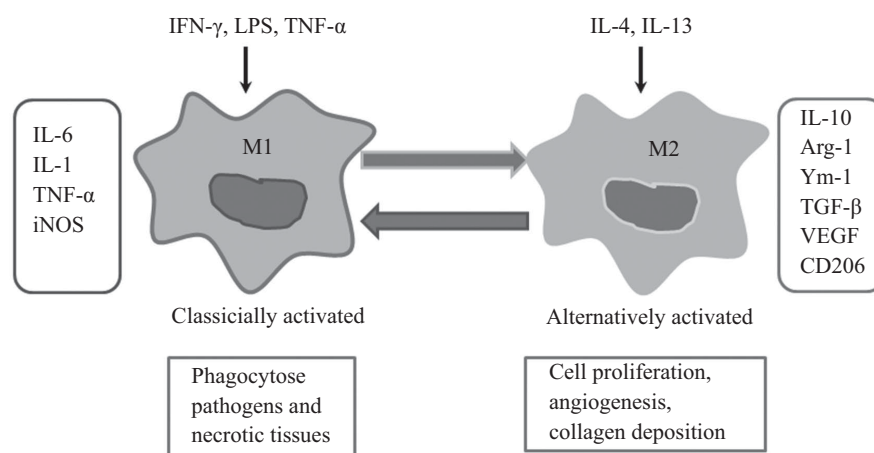


图1 创伤巨噬细胞的表型和功能

Fig.1 Phenotype and function of wound macrophages

用^[14-16](图1)。

M2型巨噬细胞在创伤修复中是一种不可缺少的巨噬细胞亚群,在不同的微环境刺激下还可以进一步分化为三个亚型:(1)M2a型,可由IL-4或IL-13刺激,具有促进纤维化的作用;(2)M2b型,Toll样受体(或IL-1受体)联合免疫复合物可以共同诱导该型;(3)M2c型,IL-10、TGF- β 或者糖皮质激素均可以刺激形成,M2c不仅具有免疫抑制功能还可以促进新血管的形成^[17]。

关于创伤局部M2型巨噬细胞的来源,研究人员提出了不同的推测。第一种观点认为,特异性的单核细胞亚群迁移分化为特异性的巨噬细胞亚型。例如,Ly6C^{hi}单核细胞分化为M1型巨噬细胞,Ly6C^{low}单核细胞分化为M2型巨噬细胞。但是有研究者观察到,Ly6C^{hi}单核细胞也可以分化为M2型巨噬细胞而Ly6C^{low}单核细胞可以转变为M1型巨噬细胞^[10],并且M1和M2型巨噬细胞可以相互转化^[18]。第二种观点认为,循环中同种单核细胞在不同时间迁移到创伤局部可以分化为不同的亚型,并认为这是不同炎症阶段的微环境决定的。第三种观点认为,创伤局部M2型巨噬细胞是在一定的微环境条件下由M1型巨噬细胞转化而来^[18]。有研究者已经成功地运用microRNA-21将促炎型巨噬细胞转化为抗炎型,并且认为这一成功转变是由于细胞内的非编码小分子RNA microRNA-21得到修饰或者是microRNA-21的靶蛋白抑癌基因同源性磷酸酶-张力蛋白(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, *PTEN*)和程序性细胞死亡因子4(programmed cell death 4, *PDCD4*)的水平发生改变

引起的^[19]。

巨噬细胞极化调节主要是通过细胞信号介质发挥作用的。cAMP反应元件结合蛋白(cAMP response element-binding protein, CREB)作为一种重要的核转录因子,其生物学效应表现在多方面,其中CREB可以通过上调IL-10和精氨酸酶-1(arginase-1, Arg-1)促进巨噬细胞向M2型极化。从*C/EBP β* 基因启动子中敲除两个cAMP反应元件结合位点,可以阻断下游与M2型巨噬细胞相关的抗炎基因^[20]。在骨骼肌损伤模型中,丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶-1(mitogen-activated protein kinase phosphatase-1, MKP-1)可以通过下调p38丝裂原活化蛋白激酶,促进M1型巨噬细胞向M2型转化。MKP-1缺失的小鼠,其损伤的骨骼肌修复能力明显减弱^[21]。创伤早期,炎症局部处于低氧状态,那么低氧是否也会影响巨噬细胞表型和功能的变化呢?研究表明,缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)确实对巨噬细胞极化起作用,HIF1 α 与M1型巨噬细胞极化有关,而HIF2 α 则促进M2型巨噬细胞极化^[22]。此外,信号转导通路中的关键分子Akt也与参与巨噬细胞的极化并且和亚型相关。*Akt1*敲除时,巨噬细胞向M1型极化,*Akt2*敲除则促进M2型巨噬细胞形成^[23]。信号转导分子的不同亚型影响巨噬细胞向不同类型极化的确切机制仍不清楚。

在创伤修复过程中,M1型和M2型巨噬细胞在发挥其不同的功能时,它们对葡萄糖、氨基酸以及铁代谢也有着明显的差异^[23-25]。M1型巨噬细胞往往与急性感染和早期的炎症有关,这时它们要快速地杀灭入侵的细菌并且维持组织局部低氧的环境,由

此, 必须通过糖酵解途径迅速获得能量。而M2型巨噬细胞参与的是创伤后期组织的修复和重构, 需要持续的能量供应, 因此, 在较长时间内, 糖的有氧氧化及脂肪酸氧化可以为M2型巨噬细胞提供充足的能量^[23]。氨基酸代谢与巨噬细胞在不同的极化状态下发挥不同的作用也密切相关。M1型巨噬细胞中诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)表达上调, 它可以将L-精氨酸催化生成一氧化氮(nitric oxide, NO), 而对于杀灭微生物NO是一个重要的效应分子^[24]。M2型巨噬细胞则高表达Arg-1, 可以催化多胺的形成从而促进细胞增殖和胶原沉积。近年来研究表明, 在铁代谢上, M1型和M2型巨噬细胞也显著不同^[25], 并且这种差异与它们的功能相适应。M1型巨噬细胞通过高表达铁蛋白(ferritin)和低表达运铁蛋白(transferrin)使细胞内的铁含量上升。M2型巨噬细胞正好相反, 高水平的运铁蛋白将铁从细胞内转运到细胞外。已知铁是促进生长不可或缺微量元素, 这使得M1型巨噬细胞在抵抗微生物、保护创面免受感染方面占主要优势, 而M2型巨噬细胞则更有利于细胞增殖和组织的修复。

3 创伤修复中巨噬细胞与中性粒细胞的相互关系

当创伤发生后最先到达炎症部位的有核细胞是中性粒细胞。在创伤早期, 中性粒细胞一方面清除坏死组织和细菌, 另一方面分泌多种趋化因子和炎症介质招募并激活巨噬细胞^[26]。随后, 中性粒细

胞的数目逐渐减少而巨噬细胞成为主要的参与组织修复的炎症细胞。

研究证实, 巨噬细胞可以识别和吞噬创伤局部凋亡的中性粒细胞^[27]。此外, 小鼠创伤巨噬细胞的活化还可以诱导中性粒细胞的凋亡^[28]。的确, 在正常创伤修复的生物学过程中, 早期浸润的中性粒细胞必须及时被清除, 为下一步的组织修复创造条件。如果巨噬细胞无法及时清除炎症局部已经凋亡的中性粒细胞或者炎症局部浸润的中性粒细胞过多而导致巨噬细胞无法有效地清除, 都将会导致局部持续的炎症, 组织损伤进一步加重, 创伤修复就会明显延迟甚至无法完成修复。这一病理学现象在糖尿病足、下肢静脉曲张等慢性难愈性创面局部均可观察到^[29]。

磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)正常情况下位于细胞膜的内侧, 当细胞发生凋亡时PS可以翻转到细胞膜的外侧。巨噬细胞可以通过其表面的胞葬受体[例如BAI-1(brain-specific angiogenesis inhibitor-1)、stabilin 1和stabilin 2等^[27]]直接识别凋亡中性粒细胞表面的PS, 或者通过巨噬细胞分泌的桥接分子[例如MFG-E8(milk fat globule-EGF factor 8 protein)^[30]、Gas6(growth arrest specific gene 6)^[31]等]将胞葬受体和PS连接起来, 间接识别并吞噬凋亡的中性粒细胞(图2)。最近, 在一项关于小鼠皮肤创伤修复的研究中发现, CCN1蛋白也可以作为一种桥接分子介导巨噬细胞识别并吞噬凋亡的中性粒细胞。作者发现, 不管是CCN1的缺失还是通过基因敲入技术让小鼠表达一种突变的CCN1蛋白, 都

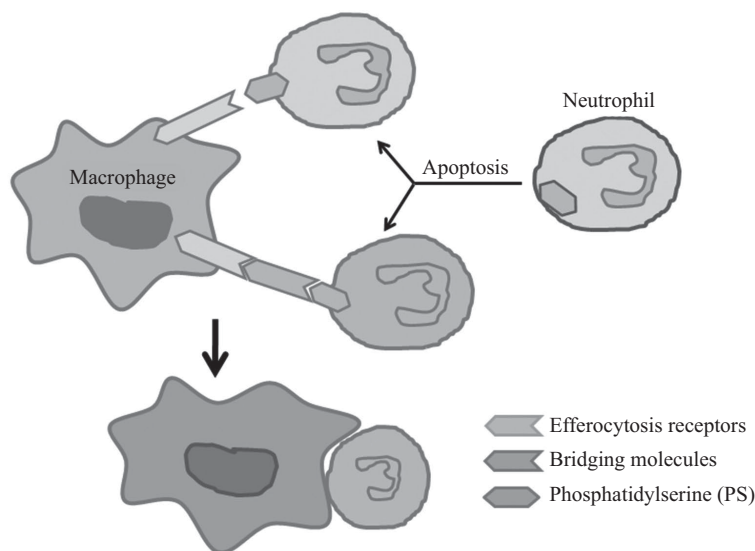


图2 巨噬细胞识别和吞噬凋亡的中性粒细胞

Fig.2 Macrophages recognize and phagocytose apoptotic neutrophils

会使创伤局部长期聚积大量的中性粒细胞, 创口愈合明显受到抑制^[32]。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ)是一种参与调控巨噬细胞功能相关的核内转录因子。最近有学者发现, 在创伤巨噬细胞中 PPAR γ 缺失可以导致其清除凋亡细胞(主要是中性粒细胞)的功能受损, 从而延缓皮肤创口的愈合^[33]。另有研究者也用CD18敲除小鼠进行了皮肤创伤修复研究, 研究结果显示, CD18基因缺失小鼠的皮肤创口中缺乏中性粒细胞的聚积而对巨噬细胞的招募没有影响。然而研究发现, 小鼠的创面不能愈合, 并且创伤局部炎症介质持续增加而TGF- β 1水平明显降低, 成纤维细胞严重缺失。根据这些现象作者提出, CD18敲除小鼠创伤局部中性粒细胞的数目减少导致了巨噬细胞的“食物”缺乏, 从而使调节创伤愈合的关键分子TGF- β 1的产生显著减少最终使创口不能愈合^[34]。

4 结语与展望

总之, 巨噬细胞在创伤修复的各个阶段都发挥着重要作用, 从循环血液到创伤局部, 从表型改变到功能变化以及与中性粒细胞的相互关系都受到机体严密的调控, 同时也决定了创伤修复的进程和结局。因此, 在加强巨噬细胞与创伤修复的机制研究基础上, 应深入探索巨噬细胞功能调节药物和单核/巨噬细胞生物治疗在创伤修复中的应用, 可为更好地促进创伤修复特别是慢性难愈性创面的愈合提供有效的临床方法。

参考文献 (References)

- Brancato SK, Albina JE. Wound macrophages as key regulators of repair: Origin, phenotype, and function. *Am J Pathol* 2011; 178(1): 19-25.
- Daley JM, Brancato SK, Thomay AA, Reichner JS, Albina JE *et al.* The phenotype of murine wound macrophages. *J Leukoc Biol* 2010; 87(1): 59-67.
- Cortez-Retamozo V, Etzrodt M, Pittet MJ. Regulation of macrophage and dendritic cell responses by their lineage precursor. *J Innate Immun* 2012; 4(5/6): 411-23.
- Nahrendorf M, Swirski FK, Aikawa E, Stangenberg L, Wurdinger T, Figueiredo JL, *et al.* The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions. *J Exp Med* 2007; 204(12): 3037-47.
- Willenborg S, Lucas T, van Loo G, Knipper JA, Krieg T, Haase I, *et al.* CCR2 recruits an inflammatory macrophage subpopulation critical for angiogenesis in tissue repair. *Blood* 2012; 120(3): 613-25.
- Lauvau G, Chorro L, Spaulding E, Soudja SM. Inflammatory monocyte effector mechanisms. *Cell Immunol* 2014; 291(1/2): 32-40.
- Chu HX, Arumugam TV, Gelderblom M, Magnus T, Drummond GR, Sobey CG. Role of CCR2 in inflammatory conditions of the central nervous system. *J Cereb Blood Flow Metab* 2014; 34(9): 1425-9.
- Dal-Secco D, Wang J, Zeng Z, Kolaczowska E, Wong CH, Petri B, *et al.* A dynamic spectrum of monocytes arising from the in situ reprogramming of CCR2⁺ monocytes at a site of sterile injury. *J Exp Med* 2015; 212(4): 447-56.
- Ishida Y, Gao JL, Murphy PM. Chemokine receptor CX3CR1 mediates skin wound healing by promoting macrophage and fibroblast accumulation and function. *J Immunol* 2008; 180(1): 569-79.
- Italiani P, Boraschi D. From monocytes to M1/M2 macrophages: Phenotypical vs. functional differentiation. *Front Immunol* 2014; 5(3): 514-9.
- Das A, Sinha M, Datta S, Abas M, Chaffee S, Sen CK, *et al.* Monocyte and macrophage plasticity in tissue repair and regeneration. *Am J Pathol* 2015; 23(6): 235-43.
- Biswas SK, Chittethath M, Shalova IN, Lim JY. Macrophage polarization and plasticity in health and disease. *Immunol Res* 2012; 53(1/2/3): 11-24.
- Stout RD, Suttles J. Functional plasticity of macrophages: Reversible adaptation to changing microenvironments. *J Leukoc Biol* 2004; 76(3): 509-13.
- Wang N, Liang H, Zen K. Molecular mechanisms that influence the macrophage m1-m2 polarization balance. *Front Immunol* 2014; 5(2): 614-23.
- Murray PJ, Allen JE, Biswas SK, Fisher EA, Gilroy DW, Goerdt S, *et al.* Macrophage activation and polarization: Nomenclature and experimental guidelines. *Immunity* 2014; 41(1): 14-20.
- Gensel JC, Zhang B. Macrophage activation and its role in repair and pathology after spinal cord injury. *Brain Res* 2015; 1619(23): 1-11.
- Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol* 2004; 25(12): 677-86.
- Tibrewal N, Wu Y, D'Mello V, Akakura R, George TC, Varnum B, *et al.* Autophosphorylation docking site Tyr-867 in Mer receptor tyrosine kinase allows for dissociation of multiple signaling pathways for phagocytosis of apoptotic cells and down-modulation of lipopolysaccharide-inducible NF- κ B transcriptional activation. *J Biol Chem* 2008; 283(6): 3618-27.
- Das A, Ganesh K, Khanna S, Sen CK, Roy S. Engulfment of apoptotic cells by macrophages: A role of microRNA-21 in the resolution of wound inflammation. *J Immunol* 2014; 192(3): 1120-9.
- Ruffell D, Mourkioti F, Gambardella A, Kirstetter P, Lopez RG, Rosenthal N, *et al.* A CREB-C/EBP β cascade induces M2 macrophage-specific gene expression and promotes muscle injury repair. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(41): 17475-80.
- Perdiguer E, Sousa-Victor P, Ruiz-Bonilla V, Jordi M, Caelles C, Serrano AL, *et al.* p38/MKP-1-regulated AKT coordinates

- macrophage transitions and resolution of inflammation during tissue repair. *J Cell Biol* 2011; 195(2): 307-22.
- 22 Hong WX, Hu MS, Esquivel M, Liang GY, Rennert RC, McArdle A, *et al.* The role of hypoxia-inducible factor in wound healing. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2014; 3(5): 390-9.
 - 23 Rodriguez-Prados JC, Traves PG, Cuenca J, Rico D, Aragoes J, Martin-Sanz P, *et al.* Substrate fate in activated macrophages: A comparison between innate, classic, and alternative activation. *J Immunol* 2010; 185(1): 605-14.
 - 24 MacMicking J, Xie QW, Nathan C. Nitric oxide and macrophage function. *Annu Rev Immunol* 1997; 15(3): 323-50.
 - 25 Recalcati S, Locati M, Marini A, Santambrogio P, Zaninotto F, De Pizzol M, *et al.* Differential regulation of iron homeostasis during human macrophage polarized activation. *Eur J Immunol* 2010; 40(3): 824-35.
 - 26 Segel GB, Halterman MW, Lichtman MA. The paradox of the neutrophil's role in tissue injury. *J Leukoc Biol* 2011; 89(3): 359-72.
 - 27 Poon IK, Lucas CD, Rossi AG, Ravichandran KS. Apoptotic cell clearance: Basic biology and therapeutic potential. *Nat Rev Immunol* 2014; 14(3): 166-80.
 - 28 Meszaros AJ, Reichner JS, Albina JE. Macrophage-induced neutrophil apoptosis. *J Immunol* 2000; 165(1): 435-41.
 - 29 Loots MA, Lamme EN, Zeegelaar J, Mekkes JR, Bos JD, Middelkoop E. Differences in cellular infiltrate and extracellular matrix of chronic diabetic and venous ulcers versus acute wounds. *J Invest Dermatol* 1998; 111(5): 850-7.
 - 30 Hanayama R, Tanaka M, Miwa K, Shinohara A, Iwamatsu A, Nagata S. Identification of a factor that links apoptotic cells to phagocytes. *Nature* 2002; 417(6885): 182-7.
 - 31 Karl MO, Kroeger W, Wimmers S, Milenkovic VM, Valtink M, Engelmann K, *et al.* Endogenous Gas6 and Ca²⁺-channel activation modulate phagocytosis by retinal pigment epithelium. *Cell Signal* 2008; 20(6): 1159-68.
 - 32 Jun JI, Kim KH, Lau LF. The matricellular protein CCN1 mediates neutrophil efferocytosis in cutaneous wound healing. *Nat Commun* 2015; 6(2): 7386-93.
 - 33 Chen H, Shi R, Luo B, Yang X, Qiu L, Xiong J, *et al.* Macrophage peroxisome proliferator-activated receptor gamma deficiency delays skin wound healing through impairing apoptotic cell clearance in mice. *Cell Death Dis* 2015; 6(3): e1597.
 - 34 Peters T, Sindrilaru A, Hinz B, Hinrichs R, Menke A, Al-Azzeh EA, *et al.* Wound-healing defect of CD18(-/-) mice due to a decrease in TGF-beta1 and myofibroblast differentiation. *EMBO J* 2005; 24(19): 3400-10.