

实验室介绍



冷冷博士, 北京协和医院临床医学研究所独立PI, 疑难重症及罕见病全国重点实验室独立PI, 兼任协和医学院准长聘教职。研究员/教授, 博士生导师。Cell Organoid 期刊副主编。实验室研究聚焦感染性和疑难罕见病领域的重大科学问题和临床需求。研究方向包括: (1) 基质蛋白与干细胞命运调控; (2) 复杂类器官构建及应用。已将实验室多项研究成果和专利开展转化和临床试验, 力求解决疑难重症与罕见性疾病临床治疗方面的瓶颈问题。

细胞外基质(ECM)与类器官在皮肤组织修复中的作用

王莹 冷冷*

(中国医学科学院北京协和医院, 北京 100730)

摘要 细胞外基质(extracellular matrix, ECM)对细胞功能具有调控作用, 基于细胞和基质的相互作用, 研究发现其组成成分和作用对皮肤组织修复的发生、发展具有积极意义。ECM的研究推动了类器官培养技术的发展。在皮肤类器官的微环境中, ECM的组成和结构对皮肤类器官的生长和分化起着关键作用。深入研究ECM在皮肤类器官再生和分化中的作用, 可以为组织工程和再生医学提供新的策略和技术手段。结合该实验室的相关研究内容, 该文将对ECM的组成成分、作用、组织修复机制, 及其对皮肤类器官生长和分化的调控作用, 以及ECM与类器官促进皮肤组织修复研究进行简要概述和总结。

关键词 细胞外基质; 类器官; 再生修复; 皮肤组织

The Role of the ECM (Extracellular Matrix) and Organoids in Skin Tissue Repair

WANG Ying, LENG Ling*

(Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China)

Abstract ECM (extracellular matrix) plays a regulatory role in cell function. Based on the interaction between cell and matrix, it is important to study its components and their effects on the initiation and progression of

收稿日期: 2024-11-21

接受日期: 2025-03-12

中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(批准号: 2023-I2M-QJ-001、2023-I2M-3-002)资助的课题

*通信作者。Tel: 010-69154658, E-mail: lengling@pumch.cn

Received: November 21, 2024

Accepted: March 12, 2025

This work was supported by the CAMS Innovation Fund for Medical Sciences (CIFMS) (Grant No.2023-I2M-QJ-001, 2023-I2M-3-002)

*Corresponding author. Tel: +86-10-69154658, E-mail: lengling@pumch.cn

skin tissue repair. The research of ECM has promoted the development of organoid culture technology. In the microenvironment of skin organoids, the composition and structure of ECM play a key role in the growth and differentiation of skin organoids. By further studying the role of ECM in organoid regeneration and differentiation, it can provide new strategies and technical means for tissue engineering and regenerative medicine. Combined with this laboratory's previous findings, this article will briefly review: (1) the composition/function, tissue repair mechanism of ECM, (2) its regulatory effects on the growth and differentiation of skin organoids; and (3) current research on how ECM and organoids collectively promote skin tissue repair.

Keywords extracellular matrix; organoids; regenerative repair; skin

细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 是一个复杂的三维(three-dimensional, 3D)微环境, 能够提供细胞功能必需的化学和生物物理信号, 并与细胞表面受体相互作用, 从而调节细胞的生长、分化和迁移。ECM是细胞产生的蛋白质和多糖的有组织的集合, 反过来形成细胞生存的物理环境。ECM是多细胞生物的基本特征物质, 为组织内的细胞提供结构支持和组织, 并赋予该组织正常功能所必需的特定机械特性^[1]。在皮肤组织中, ECM微环境为皮肤细胞提供了一个有弹性、黏弹性和缓冲的环境, 有利于细胞黏附、增殖和迁移^[2]。蛋白质是ECM的重要组成部分, 在生命体中发挥着至关重要的作用。例如, 真皮中通常含有丰富的ECM蛋白, 包括胶原蛋白(collagen, COL)、糖胺聚糖、透明质酸、纤维连接蛋白、弹性蛋白(elastin, ELN)、层粘连蛋白(laminin, LAM)和其他ECM蛋白^[3]。基底膜(basement membrane, BM)是位于表皮和真皮层之间的一层薄薄的特化ECM, 含有胶原蛋白IV(collagen IV, COLIV)、层粘连蛋白、胶原蛋白VII、生长因子和其他ECM蛋白, 它们通过基底膜聚糖和巢蛋白非共价连接^[4]。BM通过细胞-基质相互作用连接基底干细胞, 协调肌动蛋白和微管网络, 建立细胞极性, 使基底干细胞增殖并分化为正确的组织类型^[5]。除此之外, ECM在不同组织中存在差异性。例如, I型胶原是决定乳腺密度的细胞外基质(ECM)网络的主要组成部分^[6]。老年肺的细胞外基质(ECM)具有拉伸强度和弹性的变化, 这可能是成纤维细胞衰老的结果^[7]。心脏成纤维细胞是心脏中数量丰富且明确的细胞类型, 它表达一系列的细胞外基质(ECM)蛋白, 其中胶原蛋白I(collagen I, COLI)是胶原蛋白的原型^[8]。

关于ECM的研究极大地推动了人类对于组织器官的功能及再生修复的理解, 本文将聚焦ECM的组成成分和作用, 基于作者所在课题组的研究成果,

综述皮肤类器官与组织修复领域的研究。

1 ECM的组成成分、作用和组织修复机制

1.1 ECM的组成成分和作用

研究ECM的组成成分及作用对组织修复具有重要意义。ECM相关蛋白的基质蛋白可分为3组: 分泌因子、ECM相关蛋白和ECM调节因子^[9-10]。胶原蛋白是哺乳动物中普遍存在的一类蛋白质, 约占人体总蛋白质含量的30%^[11-12]。迄今为止, 胶原蛋白有29个成员, 在为生物体提供生物功能和物理支持方面发挥着至关重要的作用^[13]。胶原蛋白与各种蛋白质如蛋白聚糖、层粘连蛋白和纤维连接蛋白在细胞外表面聚集, 形成ECM的主要有机物^[13]。总的来说, 所有29种胶原亚型都是由3个 α -链胶原组成的同源或异源三聚体^[14-15]。糖蛋白如EMILIN1是一种同源三聚体黏附ECM糖蛋白, 通过其gC1q结构域与 $\alpha 4 \beta 1$ 整合素相互作用^[16]。SPARC是一种多功能糖蛋白, 属于蛋白质的基质细胞蛋白质组。它通过与结构基质蛋白(如胶原蛋白和玻连蛋白)结合, 并通过消除黏着斑来调节细胞与ECM的相互作用, 这些特征有助于对细胞产生反黏附作用^[17]。硫酸肝素蛋白聚糖(heparin sulfate proteoglycan, HSPG)是存在于细胞外基质中最主要的一类蛋白聚糖, 由核心蛋白与硫酸乙酰肝素糖链以共价键方式连接。硫酸乙酰肝素糖链上具有一些分子功能结合域, 能够结合多种功能性分子, 如生长因子、化学因子、趋化因子^[18]。

在哺乳动物中, 不同的皮肤细胞群形成以下基本层: 表皮、真皮和皮下组织或皮下脂肪^[19]。其中, 真皮结缔组织富含真皮成纤维细胞和内皮细胞, 这些细胞产生胶原蛋白、弹性蛋白和大多数其他类型的ECM蛋白和可溶性细胞因子^[20]。为了探究不同皮肤层中ECM的组成成分及其作用, 作者所在课题组基于皮肤结构, 对角质层(stratum corneum, SC)、棘

粒层(granulosum-spinosum, GS)、基底层(basal layer, BL)、基底膜(basement membrane, BM)、真皮浅层(superficial dermis, SD)、真皮深层(deep dermis, DD)等6层人体皮肤进行定量蛋白质组学鉴定^[21](图1), 将所得数据与解剖结构相结合, 构建了人类皮肤的空间蛋白质组图。在这项研究中我们发现, 基于蛋白组结果可以将6层皮肤分为3个部分, 分别为表皮部分(SC、GS和BL构成)、BM部分以及非BM的真皮部分(SD和DD构成)。胶原蛋白三聚体和控制皮肤机械性及弹性的弹性纤维等ECM成分主要富集在真皮中。核心ECM蛋白(胶原蛋白、糖蛋白和蛋白多糖)的表达水平从表皮部分到真皮部分的DD逐渐增加。这些蛋白参与衰老的各个方面, 如角质化、脂质代谢、蛋白水解、程序性细胞死亡和抵御外部刺激。富含蛋白质的GS位于SC附近, 能够发挥与SC相似的功能, 如在衰老、防御细菌感染和神经系统的发育等生理过程中发挥相似功能。在基底层富集的蛋白质参与表皮细胞分化和增殖, 表明BL主要负责表皮细胞发育。在表皮中, 除角蛋白外, DNA修复相关蛋白(H4C1和H2AC)和COL7A1分泌所需蛋白MIA3(MIA SH3 domain ER export factor 3)是表皮中的主要蛋白, 表明表皮对DNA修复至关重要。

为了实现ECM鉴定的智能化, 本课题组基于实验验证的ECM数据集, 通过蛋白质结构域特征和机器学习模型的集成, 开发了一个灵活的ECM蛋白质预测工具ECMPride。ECMPride在预测ECM蛋白方面取得了优异的成绩, 具有适当的准确性和灵敏度。通过将ECMPride应用于SwissProt数据库中的所有人类条目, 还建立了一个新的人类ECM成分理论数据集, 其中包含大量假定的ECM蛋白质以及丰富的

生物注释等蛋白信息。该数据集可作为ECM蛋白鉴定的有价值参考资源^[22]。

1.2 ECM的组织修复机制

ECM的组成和机械性能在组织中也会发生显著变化。例如在组织修复过程中, 肌成纤维细胞可活化成纤维细胞沉积ECM成分来重建受损组织。这种修复阶段之后是溶解阶段, 在这个阶段中, ECM沉积被抑制, ECM被重塑, 使组织恢复到功能状态。然而在特定情况下, 修复阶段持续, ECM沉积继续, 可能导致组织产生致密的纤维化, 使得僵硬的瘢痕组织取代正常的功能组织, 最终导致器官衰竭^[1]。

ECM蛋白在伤口愈合中也起着关键作用, 如血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等由血小板释放的因子可激活特定的信号通路, 刺激免疫细胞应答、血管生成和胶原生成等^[23]。除此之外, 纤维蛋白和玻璃体连接蛋白支持巨噬细胞、其他白细胞和中性粒细胞的迁移。炎症细胞因子如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-1和 β -成纤维细胞生长因子(β -fibroblast growth factor, β -FGF)也促进血管生成。在上述细胞因子的刺激下, 成纤维细胞可以产生ECM成分, 如糖胺聚糖、蛋白聚糖和胶原, 这些成分参与细胞增殖。最后, 伤口部位通过ECM完成重塑过程, 如胶原蛋白I、透明质酸、纤维连接蛋白、张力蛋白C(Tensin C, TNC)、装饰素和层粘连蛋白的生成。虽然大量的研究揭示了皮肤ECM在伤口愈合过程中的分子组成和调控功能, 但关于ECM对表皮干细胞的整体分

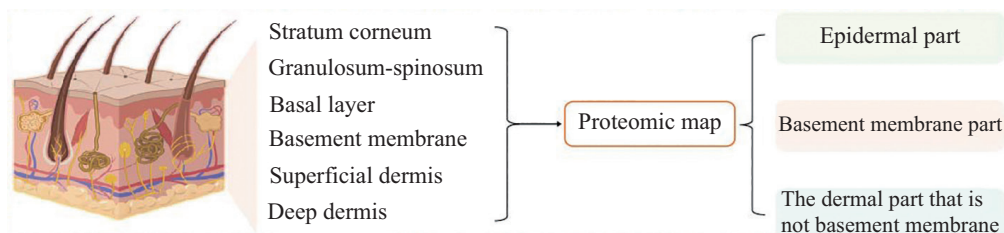


图1 基于皮肤结构, 对角质层(SC)、棘粒层(GS)、基底层(BL)、基底膜(BM)、真皮浅层(SD)、真皮深层(DD)等6层人体皮肤样品进行定量蛋白质组学分析的示意图(根据参考文献[21]修改)

Fig.1 Schematic of the quantitative proteomics of six layers of human skin samples based on the skin structure, including stratum corneum (SC), granulosum-spinosum (GS), basal layer (BL), basement membrane (BM), superficial dermis (SD), and deep dermis (DD) (modified from reference [21])

子组成和调控功能的信息仍然有限^[24]。

皮肤由表皮和真皮层组成,是人体最大的器官,它在保护身体免受外界干扰方面起着重要作用。皮肤损伤后,伤口愈合过程,包括炎症、增殖和重塑等迅速开始。虽然伤口愈合的理想结果是无瘢痕愈合,具有与正常皮肤相似的颜色和质地,但最好的结果是平坦、柔韧的瘢痕,略有变色。然而,不正常的伤口愈合可导致病理性瘢痕,如增生性瘢痕和瘢痕疙瘩^[25-27]。瘢痕疙瘩是一种纤维增生性肿瘤,与ECM成分的过度积累有关,特别是真皮和皮下组织中的胶原沉积,是对皮肤损伤的反应。研究表明,基底膜中的大多数ECM成分负责各种生物过程,特别是再上皮化阶段^[28](图2)。

激活En1(Engrailed-1)的表达可以开启细胞纤维化程序,通过抑制成纤维细胞中En1的激活,能够使皮肤中的毛囊、腺体、细胞外基质和机械强度恢复正常^[29]。补充伤口微环境丢失的ECM能够促进细胞增殖并重塑受损的组织环境^[30]。ECM结构损伤会诱导皮肤衰老。因此,调节ECM合成和降解的慢性失衡,可以为新形成的血管和血管相关的迁移细胞创造空间,促进新的血管生成和伤口修复^[31]。基于以上背景,寻找一种优异的生物材料促进ECM生成与血管化是当下生物学领域研究的热点^[32]。

研究正常和病理状态下的ECM特征是实现组织再生修复的基础,为了探究ECM与组织修复机制的关系,本课题组分析临床样本报告了新冠病毒(Corona Virus Disease 2019, COVID-19)感染相关肝损伤病理特征,首次在COVID-19患者的肝脏中发现了显著的蛋白质组学变化^[33]。为了实现优良的组织再生效果,我们开发了一种新的脱细胞方法来获得完整

的皮肤生物基质原位支架,并保留了ECM结构。在此基础上,我们系统分析了皮肤微环境中ECM蛋白与表皮细胞的相互作用,揭示了ECM通过半脂质体成分在决定表皮干细胞的命运中发挥的作用。这些概念不仅使我们对皮肤ECM生态位的作用有了新的认识,而且为加速组织再生提供了一种基于组织工程原理与皮肤生物基质支架材料的有吸引力的组合策略^[28]。

除了上述研究外,作者所在课题组还对多种疾病的蛋白质成分进行了分析,以期找到有利于组织修复的线索。例如,我们用液相色谱-串联质谱(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)对FATylated蛋白进行了蛋白质组级鉴定,确定了175个高可信度的FATylated候选蛋白,首次发现了13个修改位点^[34]。研究发现,FAT10与PCNA表达之间的关联仅在肿瘤组织中表现出来,因此FAT10可能参与DNA损伤反应,从而参与肿瘤发生的进展^[35]。本实验室应用定量蛋白质组学方法在蛋白质组水平上表征皮肤组织对特发性高嗜酸性粒细胞综合征(idiopathic hypereosinophilic syndrome, IHES)的细胞反应,确定了数百种皮肤组织蛋白在IHES患者和健康个体之间的差异表达。研究显示,基底表皮干细胞的异常增殖与表观遗传调控因子组蛋白去乙酰化酶2的高表达密切相关,这为IHES皮肤组织表皮异常增厚提供了机制见解^[36]。本课题组首次应用定量蛋白质组学方法来表征急性肝损伤期间抗生素诱导的肠道菌群紊乱小鼠HPV血清的分子病理学。肠道菌群紊乱小鼠的HPV中脂质代谢和伤口愈合的生物学过程丰富,而能量代谢、肝脏再生和细胞骨架过程则受到抑制。此外,我们在HPV血清中分别鉴定

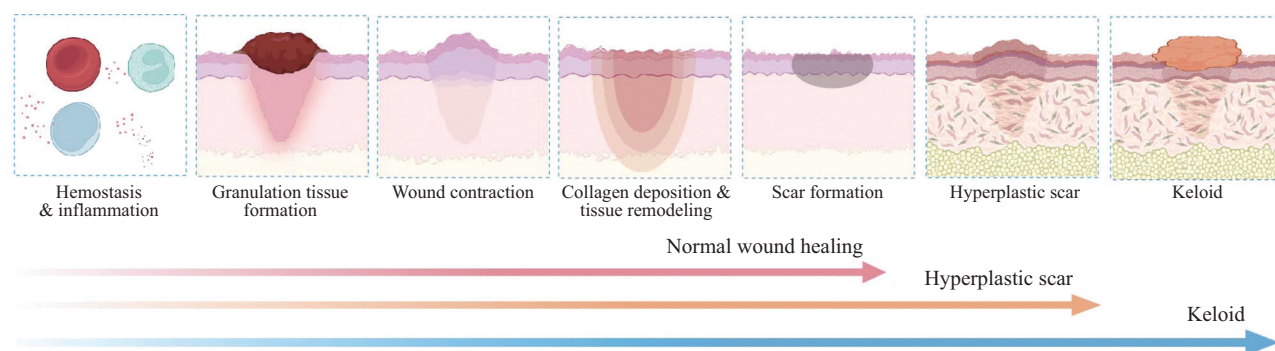


图2 组织修复过程

Fig.2 Organizational repair process

出95种和35种可能促进或抑制肝脏再生的蛋白质。我们的发现将对肝移植中的肝供者有益^[37]。之后,作者所在课题组对脱细胞瘢痕疙瘩生物基质支架进行了大规模定量蛋白质组学分析,鉴定了瘢痕疙瘩的皮肤ECM成分,并表征了形成瘢痕疙瘩的病理特征。我们确定了267个真皮核心ECM和ECM相关蛋白,这些蛋白在瘢痕疙瘩患者和健康对照组之间存在差异表达。皮肤力学特性和生物过程,包括蛋白酶活性、伤口愈合和黏连在瘢痕疙瘩中被扰乱^[27]。这些疾病状态下蛋白质组学的研究有利于我们了解组织修复机制,为组织再生修复提供思路。

2 ECM调控类器官的生长和分化

研究表明,组织刚度和黏弹性都能独立影响细胞的行为,包括细胞的增殖、迁移和分化^[38]。例如,在组织中,当T细胞与胶原等ECM接触时,T细胞会遇到刚度和黏弹性形式的机械阻力,这些ECM在癌症和纤维化疾病中会发生改变,导致了T细胞的行为改变^[39]。科学家认为,胎儿脑组织产生的ECM形成细胞周围的“支架”使得大脑组织能够生长形成人脑类器官,打破了只有多能干细胞衍生大脑类器官的局限^[40]。使用肾脏去细胞细胞外基质(decellularized extracellular matrix, dECM)水凝胶可以培养具有广泛血管网络和自身内皮细胞的肾脏类器官^[41]。合适的ECM促使乳腺类器官具有更高的稳定性和更完整性的功能^[42]。感觉上皮的发生和维持机制依赖ECM的力学梯度变化,研究解析了不同硬度引发内耳前体细胞扩增及分化的信号调控分子机制,使用ECM调控类器官揭示了机械应力调控内耳感觉上皮形成机制,为感音性耳聋的再生治疗提供了新线索^[43]。

黏弹性是ECM的普遍特征,黏弹性材料表现出瞬时弹性响应、时间相关的机械响应和能量耗散或损失^[38]。黏弹性水凝胶促进人脊髓类器官背侧标记物的表达,在人脊髓类器官和人血管类器官的共培养中,水凝胶的黏弹性效应更为显著。模仿自然ECM的黏弹性,可以调节类器官的成熟和功能^[44]。研究者通过改变ECM黏弹性调节上皮组织,使得肠道类器官在黏弹性基质天然海藻酸多糖形成的水凝胶内生长迅速,打破对称性局限并形成手指,驱动肠道类器官形态的发生^[45]。除此之外,在可降解水凝胶中嵌入ECM结合肽的功能化电纺丝

纤维,进而得到的复合水凝胶可改善小鼠卵母细胞和卵巢基质细胞的聚集和生长,并增加ECM的沉积,促进卵巢类器官重塑^[46]。作者所在实验室研究发现,在胶原蛋白I(COLI)和层粘连蛋白511(laminin 511, LAM511)的补充下,多功能干细胞衍生的皮肤类器官(pluripotent stem cell-derived skin organoids, PSOs)生长更快,但无法完全分化。使用3D生物打印的纺锤形水凝胶装置来约束类器官纵向生长,能够显著减少细胞坏死,并促进角质形成细胞的分化和毛囊的形成,帮助解析ECM控制PSOs皮肤分化的关键作用^[46]。研究揭示上皮源性基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)通过降解细胞外基质介导鼻上皮细胞正常分化,抑制MMPs可导致杯状细胞比例增加,提示MMPs在其对上皮分化方向的调控中起关键作用,成功建立了纤毛外翻型鼻上皮类器官。除此之外,我们利用ECM开发了具有表皮及附属器和真皮及神经系统的皮肤类器官,为新冠病毒感染和脱发后遗症之间的关联提供了证据^[47]。这些研究证明ECM可以为细胞生长和分化提供机械支持和生化微环境,进而调控类器官的生长和分化(图3)。

3 本课题组对于ECM的其他相关研究

为了拓展对ECM的探索,本实验室研究发现心肌内血管内皮细胞基底膜ECM及其酶系统的失调导致内皮细胞脱落和凝血系统功能障碍,此现象可作为心脏损伤的潜在无创诊断标志^[48]。调控性ECM作为刺激因子引发典型和非典型NF- κ B途径而导致COVID-19患者肺泡炎症因子风暴,为首篇基于临床样本的新冠病毒感染致病机制研究^[33]。单核细胞能够破坏血脑屏障细胞连接复合体和基底膜ECM表达而导致脑组织病变的致伤机理^[49],为医学干预策略和药物靶点选择提供科学依据。

本实验室创建了具有细胞发育极性的组织工程皮肤,并首次发现了基底膜ECM对基底干细胞生长具有调控作用^[24,27,50]。科研工作者通过构建空间基因组学研究体系,揭示一种基底膜ECM蛋白TGFBI通过激活Wnt通路促进基底干细胞的生长的机制^[21],该研究突破了ECM在组织稳态和疾病状态下基于空间信息和组织内部异质性研究瓶颈,阐明了基底膜ECM作为干细胞龛的重要性。

CD4⁺ T细胞通过旁分泌作用引发基底干细胞

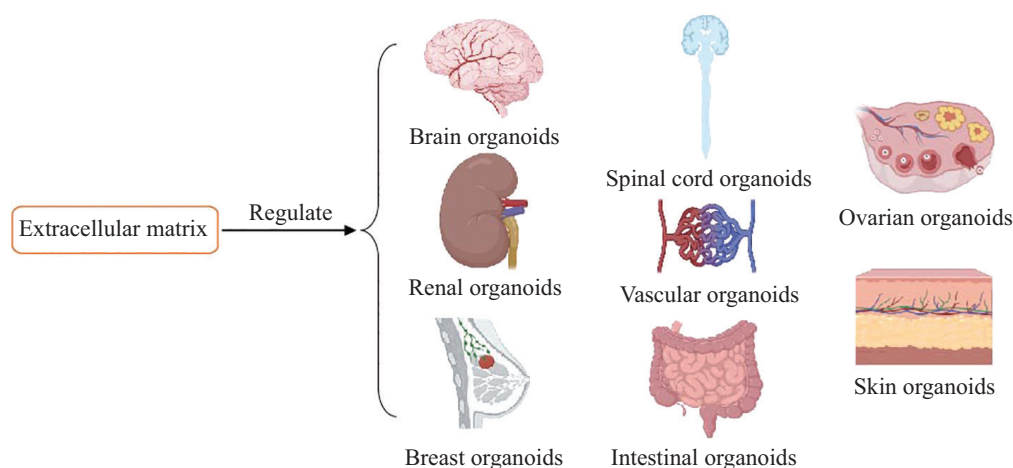


图3 ECM调控类器官的生长和分化

Fig.3 ECM regulates the growth and differentiation of organoids

分泌的异常趋化性ECM趋化T肿瘤细胞向基底膜区域驻留,引起严重皮肤损伤(skin lesions)^[51]。研究获得的早期MF型T细胞淋巴瘤ECM生物标记物,可对MF型T细胞淋巴瘤患者与湿疹或银屑病患者进行早期筛查和分流,从而提高患者生存率^[38]。将临床诊断的血液ECM标志物用于预测和评价COVID-19相关的器官损伤,为普通型感染者和无症状感染者的治疗效果和健康预测提供了科学依据^[52]。本实验室开创了基于人工智能(artificial intelligence, AI)的蛋白质组学数据打分策略,首次揭示了ECM可作为神经梅毒(neurosyphilis, NS)潜在的诊断标志物,为可疑神经梅毒的诊断难、误诊率高的卡脖子问题提供了新的策略^[53]。

本实验室采用人源性多能干细胞(human induced pluripotent stem cells, hiPSCs)诱导心肌细胞构建急性呼吸综合征冠状病毒2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)感染体外模型,研究SARS-CoV-2感染后心肌细胞的动态变化。这证明SARS-CoV-2主要影响感染早期心肌细胞的脂质和能量代谢,以及感染后期心肌细胞的DNA修复能力。通过分析不同感染时间点发生的蛋白质组变化,我们能够观察到模拟疾病COVID-19病程发展迅速,并且每个研究时间点都具有不同的蛋白质表达模式^[54]。

使用蛋白质组学和机器学习模型技术表征223个脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)样本,确定神经梅毒(NS)的3种生物标志物[SEMA7A(semaphorin 7A)、SERPINA3(serpin family A member 3)、ITIH4(inter-

alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4)],有利于NS的辅助诊断和药物靶点的筛选^[55]。我们利用激光捕获显微解剖(laser capture microdissection, LCM)分离不同皮肤层,构建了包含蛋白质空间分布的人类皮肤分层发育谱系蛋白质组图,并对ECM在干细胞调控中的作用有了新的认识^[21]。

我们通过整合scRNA-seq和大量RNA测序数据,构建了肢端黑色素瘤(acrofacial melanoma, AM)免疫微环境的综合图谱^[56]。从组成、发育分化、功能和细胞通讯等方面对AM免疫微环境进行了表征,建立并验证了单细胞水平的预后回归模型,强调了CD8⁺ T细胞在AM中的关键作用。此外,我们认为AM的治疗靶点可以通过与CD8⁺ T细胞相关基因相关的途径来开发。AM患者可能受益于进一步筛选对高和低CD8⁺ T细胞相关基因敏感性的抗癌药物^[56]。

4 类器官促进组织修复

类器官在组织修复方面具有优良的效果(图4)。研究表明,由hiPSC衍生的肝脏类器官具有促进肝脏功能修复的潜力,而表达CD163的M2巨噬细胞则有助于缓解肝纤维化,在肝脏表面移植后,形成包含肝细胞、血管和胆管的复杂结构,从而展现出优越的肝功能^[57]。肾脏类器官可以模拟从内源性修复到不完全修复的转变,验证肾小管修复过程中HDR基因的上调^[58]。科学家利用骨膜细胞外基质(extracellular matrix from the periosteum, pECM)建立了仿生有机微环境,开发出了可注射的骨类器官,这

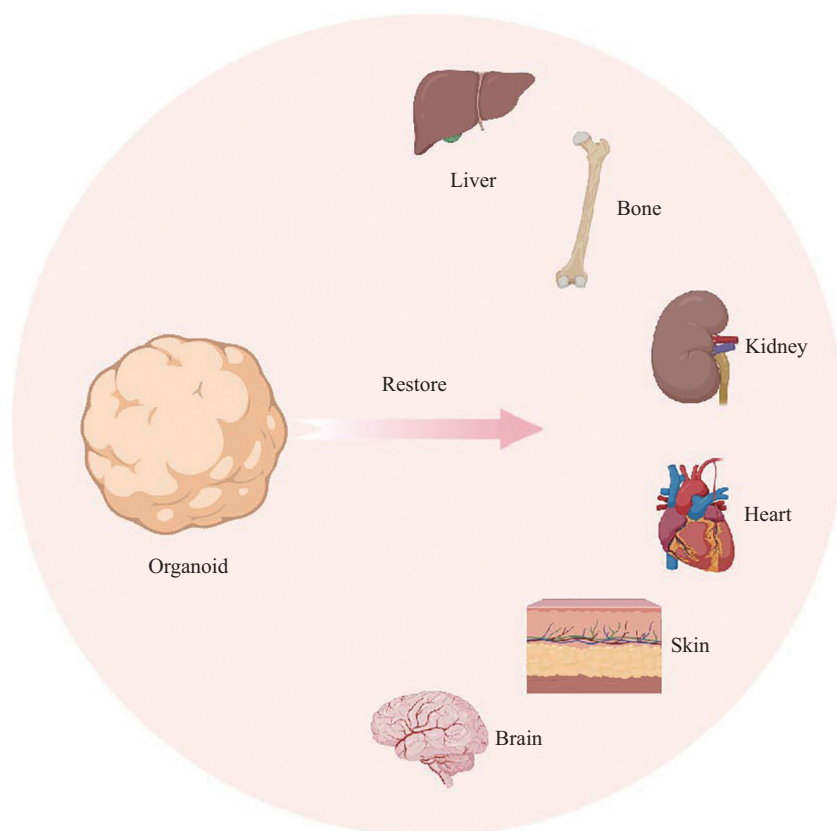


图4 类器官促进组织修复

Fig.4 Organoids promote tissue repair

种骨类器官可主动调控骨化, 促进成骨, 用于快速骨再生^[59]。人类心脏类器官在心血管疾病建模和人类多能干细胞衍生心肌细胞(human pluripotent stem cell-derived cardiomyocyte, hPSC-CM)移植方面具有巨大的潜力, 研究者用导电硅纳米线 e-SiNWs 工程化的心脏类器官显著增强了 hPSC-CMs 治疗梗死心脏的疗效, 揭示了导电纳米材料和人类心脏类器官之间的治疗协同作用, 以实现有效的心脏修复^[60]。在临床环境中, 大面积皮肤缺损的愈合仍然是一个重大挑战。缺乏表皮来源, 如自体皮肤移植, 这限制了全层皮肤缺损的修复, 并导致了过度瘢痕形成。研究者使用人角质形成细胞、成纤维细胞和内皮细胞创建皮肤类器官, 其基质核心被表面角质形成细胞包围, 创新性地将生物打印技术与双光源交联技术相结合, 定制皮肤类器官, 加速原位伤口愈合^[61]。

作者所在课题组利用皮肤类器官在研究皮肤相关疾病、微生物感染和药物开发方面的独特优势, 发现了皮肤类器官移植能够通过旁分泌 ECM 抑制难愈性损伤的炎症细胞浸润, 促进基底干细胞、血管重塑和毛囊再生, 从而显示类组织器官在组织无

瘢痕修复中的巨大潜力^[47,62]。本课题组构建了全层皮肤冻伤的裸鼠模型, 并应用单细胞转录组学结合病理染色构建了皮肤冻伤愈合过程中各种细胞比例和种类变化图谱^[62]。这些结果表明, 在冻伤后组织修复的初始阶段, 单核细胞和巨噬细胞在促进免疫反应中发挥了重要作用。本研究团队利用 hiPSCs 培养出具有表皮细胞(KRT14⁺、KRT5⁺和 KRT10⁺)、毛囊(KRT17⁺、KRT75⁺和 KRT10⁺)和感觉神经元(TUJ1、NEFH 和 PRPH)的高阶皮肤类器官, 经水凝胶包被后用于裸鼠冻伤皮肤治疗。结果显示, 皮肤类器官移植加快了冻伤皮肤伤口愈合, 通过调节整合素 $\alpha 5 \beta 1$ -FAK 通路, 抑制了成纤维细胞向肌成纤维细胞的转化, 重塑了细胞外基质, 有效抑制了异常瘢痕的形成。这项研究展示了皮肤类器官在促进冻伤相关损伤愈合和恢复皮肤功能方面的巨大潜力, 为冻伤导致的皮肤损伤患者提供了全新的治疗选择。通过人成纤维细胞重编程的 hiPSCs 分化培养出的脑类器官具有神经三维结构的同时具有人源性, 能够更好地模拟人神经系统进行筛药。缺氧作为成熟的细胞损伤模型, 在脑类器官的培养过程中也易实现, 用缺氧

脑类器官模拟缺血性脑卒中是一个可靠的临床前研究方案。本课题组发现, 利用hiPSC衍生的脑类器官模拟缺血性脑卒中, 并结合多组学分析, 能够深入探究脑卒中损伤机制, 并筛选出具有治疗潜力的传统中药配方——灯盏生脉胶囊, 为脑卒中的临床治疗提供新的研究方向和药物候选^[63]。

5 总结和展望

了解正常或疾病组织ECM的成分和变化对再生修复领域具有潜在的研究价值, 利用蛋白组学工具研究疾病状态ECM的分子差异和发育特征, 可为皮肤再生组织工程发现新的线索^[64]。关于ECM相关机制的研究促进了其他领域的发展。人们使用生物材料模仿ECM成分和机械强度, 制造促进组织修复的水凝胶, 保留组织特异性生物活性成分, 模拟生理类似的细胞外微环境, 不仅能够促进细胞生长发育, 还能诱导干细胞分化, 从细胞2D培养技术转向3D培养方法, 更准确地模拟体内环境, 为类器官的培养和功能维持提供更加天然的且具有生物活性和机械结构的微环境。

研究ECM在类器官培养和分化中前景广阔, 使用具有确定成分和可调控的新兴生物材料模拟ECM成分, 可控性地引导类器官的形态发生和成熟, 有利于构建更接近人体真实状态的类器官, 以用于疾病模型构建和药物筛选。本实验室利用生物信息学技术, 从探索ECM成分和作用机制出发, 研究疾病状态组织微环境的ECM差异, 找出作用靶点和成分变化, 结合生物医学材料和类器官培养技术, 寻求具有实际应用价值和能够临床转化的再生修复技术, 为解决临床上遇见的罕见性疾病带来希望。然而, 目前使用类器官进行皮肤疾病的治疗还缺乏深入研究, 基于对ECM成分和作用机制的了解, 利用ECM培养更加成熟、具有仿生性的皮肤类器官, 并将其应用于不同皮肤疾病的治疗将是一项有前景的挑战。

参考文献 (References)

- [1] MEIZLISH M L, KIMURA Y, POPE S D, et al. Mechanosensing regulates tissue repair program in macrophages [J]. *Sci Adv*, 2024, 10(11): eadk6906.
- [2] CHERMNYKH E, KALABUSHEVA E, VOROTELYAK E. Extracellular matrix as a regulator of epidermal stem cell fate [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(4): 1003.
- [3] NYSTRÖM A, BRUCKNER-TUDERMAN L. Matrix molecules and skin biology [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2019, 89: 136-46.
- [4] BREITKREUTZ D, KOXHOLT I, THIEMANN K, et al. Skin basement membrane: the foundation of epidermal integrity: BM functions and diverse roles of bridging molecules nidogen and perlecan [J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 179784.
- [5] JONES P H, WATT F M. Separation of human epidermal stem cells from transit amplifying cells on the basis of differences in integrin function and expression [J]. *Cell*, 1993, 73(4): 713-24.
- [6] INSUA-RODRÍGUEZ J, OSKARSSON T. The extracellular matrix in breast cancer [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 97: 41-55.
- [7] ANGELIDIS I, SIMON L M, FERNANDEZ I E, et al. An atlas of the aging lung mapped by single cell transcriptomics and deep tissue proteomics [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 963.
- [8] TALLQUIST M D, MOKKENTIN J D. Redefining the identity of cardiac fibroblasts [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2017, 14(8): 484-91.
- [9] NABA A, CLAUSER K R, HOERSCH S, et al. The matrisome: in silico definition and *in vivo* characterization by proteomics of normal and tumor extracellular matrices [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2012, 11(4): M111.014647.
- [10] BURGESS J K, WECKMANN M. Matrikines and the lungs [J]. *Pharmacol Ther*, 2012, 134(3): 317-37.
- [11] SORUSHANOVA A, DELGADO L M, WU Z, et al. The collagen suprafamily: from biosynthesis to advanced biomaterial development [J]. *Adv Mater*, 2019, 31(1): e1801651.
- [12] RICARD-BLUM S. The collagen family [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2011, 3(1): a004978.
- [13] WALKER C, MOJARES E, DEL RÍO HERNÁNDEZ A. Role of extracellular matrix in development and cancer progression [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(10): 3028.
- [14] KADLER K E, HOLMES D F, TROTTER J A, et al. Collagen fibril formation [J]. *Biochem J*, 1996, 316 (Pt 1): 1-11.
- [15] MYLLYHARJU J, KIVIRIKKO K I. Collagens, modifying enzymes and their mutations in humans, flies and worms [J]. *Trends Genet*, 2004, 20(1): 33-43.
- [16] CAPUANO A, FOGOLARI F, BUCCIOTTI F, et al. The $\alpha 4 \beta 1$ /EMILIN1 interaction discloses a novel and unique integrin-ligand type of engagement [J]. *Matrix Biol*, 2018, 66: 50-66.
- [17] BREKKEN R A, SAGE E H. SPARC, a matricellular protein: at the crossroads of cell-matrix communication [J]. *Matrix Biol*, 2001, 19(8): 816-27.
- [18] ZHAI Y, YANG L, ZHENG W, et al. A precise design strategy for a cell-derived extracellular matrix based on CRISPR/Cas9 for regulating neural stem cell function [J]. *Biomater Sci*, 2023, 11(19): 6537-44.
- [19] MCLAFFERTY E, HENDRY C, ALISTAIR F. The integumentary system: anatomy, physiology and function of skin [J]. *Nurs Stand*, 2012, 27(3): 35-42.
- [20] STRONG A L, NEUMEISTER M W, LEVI B. Stem cells and tissue engineering: regeneration of the skin and its contents [J]. *Clin Plast Surg*, 2017, 44(3): 635-50.
- [21] LI J, MA J, ZHANG Q, et al. Spatially resolved proteomic map shows that extracellular matrix regulates epidermal growth [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 4012.
- [22] LIU B, LENG L, SUN X, et al. ECMPrize: prediction of human extracellular matrix proteins based on the ideal dataset using hybrid features with domain evidence [J]. *PeerJ*, 2020, 8: e9066.

- [23] QING C. The molecular biology in wound healing & non-healing wound [J]. *Chin J Traumatol*, 2017, 20(4): 189-93.
- [24] LIU B, ZHANG S, WANG W, et al. Matrisome provides a supportive microenvironment for skin functions of diverse species [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2020, 6(10): 5720-33.
- [25] TREDGET E E, LEVI B, DONELAN M B. Biology and principles of scar management and burn reconstruction [J]. *Surg Clin North Am*, 2014, 94(4): 793-815.
- [26] XUE M, JACKSON C J. Extracellular matrix reorganization during wound healing and its impact on abnormal scarring [J]. *Adv Wound Care*, 2015, 4(3): 119-36.
- [27] ZHANG S, LIU B, WANG W, et al. The “Matrisome” reveals the characterization of skin keloid microenvironment [J]. *FASEB J*, 2021, 35(4): e21237.
- [28] LENG L, MA J, SUN X, et al. Comprehensive proteomic atlas of skin biomatrix scaffolds reveals a supportive microenvironment for epidermal development [J]. *J Tissue Eng*, 2020, 11: 2041731420972310.
- [29] MASCHARAK S, DESJARDINS-PARK H E, DAVITT M F, et al. Preventing Engrailed-1 activation in fibroblasts yields wound regeneration without scarring [J]. *Science*, 2021, 372(6540): eaba2374.
- [30] LIU W, GAO R, YANG C, et al. ECM-mimetic immunomodulatory hydrogel for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-infected chronic skin wound healing [J]. *Sci Adv*, 2022, 8(27): eabn7006.
- [31] LIM C H, ITO M. Niche stiffness regulates stem cell aging [J]. *Nat Aging*, 2022, 2(7): 568-69.
- [32] PATIL P, RUSSO K A, MCCUNE J T, et al. Reactive oxygen species-degradable polythioketal urethane foam dressings to promote porcine skin wound repair [J]. *Sci Transl Med*, 2022, 14(641): eabm6586.
- [33] LENG L, CAO R, MA J, et al. Pathological features of COVID-19-associated liver injury: a preliminary proteomics report based on clinical samples [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 9.
- [34] LENG L, XU C, WEI C, et al. A proteomics strategy for the identification of FAT10-modified sites by mass spectrometry [J]. *J Proteome Res*, 2014, 13(1): 268-76.
- [35] CHEN Z, ZHANG W, YUN Z, et al. Ubiquitin-like protein FAT10 regulates DNA damage repair via modification of proliferating cell nuclear antigen [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(6): 7487-96.
- [36] WANG W, MA J, SUN X, et al. A systems biology approach for defining the potential molecular framework of idiopathic hypereosinophilic syndrome with cutaneous involvement [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 524(3): 567-74.
- [37] LENG L, MA J, LÜ L, et al. Serum proteome profiling provides a deep understanding of the ‘gut-liver axis’ in relation to liver injury and regeneration [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2021, 53(3): 372-80.
- [38] CHAUDHURI O, COOPER-WHITE J, JANMEY P A, et al. Effects of extracellular matrix viscoelasticity on cellular behaviour [J]. *Nature*, 2020, 584(7822): 535-46.
- [39] ADU-BERCHIE K, LIU Y, ZHANG D K Y, et al. Generation of functionally distinct T-cell populations by altering the viscoelasticity of their extracellular matrix [J]. *Nat Biomed Eng*, 2023, 7(11): 1374-91.
- [40] HENDRIKS D, PAGLIARO A, ANDREATTA F, et al. Human fetal brain self-organizes into long-term expanding organoids [J]. *Cell*, 2024, 187(3): 712-32, e38.
- [41] KIM J W, NAM S A, YI J, et al. Kidney decellularized extracellular matrix enhanced the vascularization and maturation of human kidney organoids [J]. *Adv Sci*, 2022, 9(15): e2103526.
- [42] YUAN L, XIE S, BAI H, et al. Reconstruction of dynamic mammary mini gland *in vitro* for normal physiology and oncogenesis [J]. *Nat Methods*, 2023, 20(12): 2021-33.
- [43] XIA M, WU M, LI Y, et al. Varying mechanical forces drive sensory epithelium formation [J]. *Sci Adv*, 2023, 9(44): eadf2664.
- [44] CHEN X, LIU C, MCDANIEL G, et al. Viscoelasticity of hyaluronic acid hydrogels regulates human pluripotent stem cell-derived spinal cord organoid patterning and vascularization [J]. *Adv Healthc Mater*, 2024, 23(32): e2402199.
- [45] ELOSEGUI-ARTOLA A, GUPTA A, NAJIBI A J, et al. Matrix viscoelasticity controls spatiotemporal tissue organization [J]. *Nat Mater*, 2023, 22(1): 117-27.
- [46] NASON-TOMASZEWSKI C E, THOMAS E E, MATERA D L, et al. Extracellular matrix-templating fibrous hydrogels promote ovarian tissue remodeling and oocyte growth [J]. *Bioact Mater*, 2024, 32: 292-303.
- [47] MA J, LI W, CAO R, et al. Application of an iPSC-derived organoid model for localized scleroderma therapy [J]. *Adv Sci*, 2022, 9(16): e2106075.
- [48] LENG L, MA J, ZHANG P P, et al. Spatial region-resolved proteome map reveals mechanism of COVID-19-associated heart injury [J]. *Cell Rep*, 2022, 39(11): 110955.
- [49] ZHANG P P, HE Z C, YAO X H, et al. COVID-19-associated monocytic encephalitis (CAME): histological and proteomic evidence from autopsy [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 24.
- [50] LENG L, MA J, LÜ L, et al. Both Wnt signaling and epidermal stem cell-derived extracellular vesicles are involved in epidermal cell growth [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 415.
- [51] LENG L, LIU Z, MA J, et al. Proteomic identification of new diagnostic biomarkers of early-stage cutaneous mycosis fungoides [J]. *Cancer Commun*, 2022, 42(6): 558-62.
- [52] LENG L, LI M, LI W, et al. Sera proteomic features of active and recovered COVID-19 patients: potential diagnostic and prognostic biomarkers [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 216.
- [53] MA J, LIU J, GAO D, et al. Establishment of human pluripotent stem cell-derived skin organoids enabled pathophysiological model of SARS-CoV-2 infection [J]. *Adv Sci*, 2022, 9(7): e2104192.
- [54] LI X, HU H, LIU W, et al. SARS-CoV-2-infected hiPSC-derived cardiomyocytes reveal dynamic changes in the COVID-19 hearts [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2023, 14(1): 361.
- [55] LI J, MA J, LIU M, et al. Large-scale proteome profiling identifies biomarkers associated with suspected neurosyphilis diagnosis [J]. *Adv Sci*, 2024, 11(16): e2307744.
- [56] WANG W, LIU P, MA J, et al. Establishment of a CD8⁺ T cells-related prognostic risk model for acral melanoma based on single-cell and bulk RNA sequencing [J]. *Skin Res Technol*, 2024, 30(8): e13900.
- [57] TADOKORO T, MURATA S, KATO M, et al. Human iPSC-liver organoid transplantation reduces fibrosis through immunomodulation [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2023, 14(1): 361.

- lation [J]. *Sci Transl Med*, 2024, 16(757): eadg0338.
- [58] GUPTA N, MATSUMOTO T, HIRATSUKA K, et al. Modeling injury and repair in kidney organoids reveals that homologous recombination governs tubular intrinsic repair [J]. *Sci Transl Med*, 2022, 14(634): eabj4772.
- [59] ZHENG R, ZHANG N, MAO S, et al. Fast bone regeneration using injectable fully biomimetic organoids with biomineralized and organic microenvironments [J]. *Biomater Sci*, 2025, 13(2): 486-95.
- [60] TAN Y, COYLE R C, BARRS R W, et al. Nanowired human cardiac organoid transplantation enables highly efficient and effective recovery of infarcted hearts [J]. *Sci Adv*, 2023, 9(31): eadf2898.
- [61] ZHANG T, SHENG S, CAI W, et al. 3-D bioprinted human-derived skin organoids accelerate full-thickness skin defects repair [J]. *Bioact Mater*, 2024, 42: 257-69.
- [62] WANG W, LIU P, ZHU W, et al. Skin organoid transplantation promotes tissue repair with scarless in frostbite [J]. *Protein Cell*, 2025, 16(4): 240-59.
- [63] ZHU W, WU Y, LI X, et al. A stroke organoids-multiomics platform to study injury mechanism and drug response [J]. *Bioact Mater*, 2025, 44: 68-81.
- [64] LI M, LI X, LIU B, et al. Time-resolved extracellular matrix atlas of the developing human skin dermis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 783456.