

- [19] Zhao ZY, Liu JT, Wang CL, et al. MicroRNA-25 regulates small cell lung cancer cell development and cell cycle through cyclin E2[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(11): 7726-7734.
- [20] Wang ZY, Wang N, Liu PX, et al. MicroRNA-25 regulates chemoresistance-associated autophagy in breast cancer cells, a process modulated by the natural autophagy inducer isoliquiritigenin[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(16): 7013-7026.
- [21] Mei ZD, Chen SM, Chen C, et al. Interleukin-23 facilitates thyroid cancer cell migration and invasion by inhibiting SOCS4 expression via MicroRNA-25 [J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0139456.
- [22] Li M, Song Q, Li H, et al. Correction; circulating miR-25-3p and miR-451a may be potential biomarkers for the diagnosis of papillary thyroid carcinoma [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0135549.
- [23] Komatsu S, Ichikawa D, Hirajima S, et al. Plasma microRNA profiles; identification of miR-25 as a novel diagnostic and monitoring biomarker in oesophageal squamous cell carcinoma[J]. *Br J Cancer*, 2014, 111(8): 1614-1624.
- [24] Xu FX, Su YL, Zhang H, et al. Prognostic implications for high expression of MiR-25 in lung adenocarcinomas of female non-smokers[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(3): 1197-1203.
- [25] Shi SB, Wang M, Tian J, et al. MicroRNA 25, microRNA 145, and microRNA 210 as biomarkers for predicting the efficacy of maintenance treatment with pemetrexed in lung adenocarcinoma patients who are negative for epidermal growth factor receptor mutations or anaplastic lymphoma kinase translocations [J]. *Transl Res*, 2016, 170(1): 1-7.
- [26] Balci S, Ayaz L, Gorur A, et al. microRNA profiling for early detection of nonmelanoma skin cancer[J]. *Clin Exp Dermatol*, 2016, 41(4): 346-351.
- [27] Wang X, Meng X, Li H, et al. MicroRNA-25 expression level is an independent prognostic factor in epithelial ovarian cancer[J]. *Clin Transl Oncol*, 2014, 16(11): 954-958.
- [28] He ZW, Liu Y, Xiao B, et al. miR-25 modulates NSCLC cell radio-sensitivity through directly inhibiting BTG2 expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 457(3): 235-241.
- [29] Zhou J, Zhou J, Wang W, et al. The polymorphism in miR-25 attenuated the oncogenic function in gastric cancer [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(4): 5515-5520.

(收稿日期: 2016-09-28 修回日期: 2016-10-29)

• 综述 • doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2017.04.043

## 尿源性干细胞移植在糖尿病肾病治疗中的研究进展\*

黄英姿 综述, 张克勤<sup>△</sup> 审校

(第三军医大学西南医院肾科, 重庆 400038)

[关键词] 尿源性干细胞; 细胞治疗; 干细胞移植; 糖尿病肾病

[中图分类号] R692

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)04-0548-04

近年来随着细胞治疗技术的快速发展, 对于干细胞在慢性肾脏病中的研究与应用已成为肾脏病领域的研究热点。干细胞是机体的起源细胞, 存在于胚胎及成体中, 是一种具有自我更新能力及在特定条件下可以分化为多种终末细胞的特殊细胞。依据来源不同, 干细胞可分为胚胎干细胞、成体干细胞、诱导性多能干细胞。目前, 干细胞移植已经广泛应用于慢性肾脏病的治疗。胚胎干细胞因其来源困难, 存在伦理问题, 且本身具备致瘤性而临床鲜有应用。诱导性多能干细胞是将成熟体细胞经“插入式”基因操作诱导方法或“无插入式”诱导方法, 获得诱导性多能干细胞, 其具有与胚胎干细胞相同的多能性, 但同样存在致瘤性, 且移植后形成的局部诱导微环境也有可能引起移植部位宿主细胞的“癌性转化”, 遗传安全性无法稳定控制。

成体干细胞来源于成熟个体各种组织和器官, 主要包括造血干细胞、骨髓间充质干细胞、尿源性干细胞 (urine-derived stem cells, USCs)、神经干细胞等。与胚胎干细胞和诱导性多能干细胞相比, 成体干细胞来源广, 获取相对容易, 致瘤风险

低, 所受伦理争议少, 且同样具有多向分化潜能, 因此广泛应用于临床。其中, USCs 作为一种新型的干细胞来源, 具有良好的多向分化潜能, 制备过程简便、无创、成本低, 且具备高度的自我更新能力, 成为了细胞替代治疗中更为理想的种子细胞来源。本文就 USCs 的生物学特性及其在糖尿病肾病治疗中的研究进展作一综述。

### 1 USCs 的生物学特性

2008 年, Wake Forest 大学再生医学实验室的 Zhang 等<sup>[1]</sup>首次报道从清洁尿液中分离得到一种贴壁生长的细胞, 这类细胞具有高度的增殖能力, 且能分化表达泌尿道上皮、平滑肌组织、内皮细胞、间质细胞标志物, 因此称之为 USCs。

1.1 USCs 的形态 目前所已知的 USCs 形态主要有两种, 一种是 Zhang 等<sup>[1]</sup>所培养的克隆边缘较规则、细胞排列紧密、细胞体积较小和形如米粒的 USCs, 一种是 Guan 等<sup>[2]</sup>培养的克隆边缘不规则、细胞排列松散、细胞体形呈“纺锤形”的 USCs。而引起 USCs 不同形态的差异现象尚不清楚, 但比较 Zhang 等与 Guan 等的培养体系可发现, Zhang 等采用的是富含表皮生长

因子(epidermal growth factor, EGF)的角质细胞无血清培养基和胚胎纤维母细胞培养基的等比例混合液,而 Guan 等采用的则是自制的包含碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、转化生长因子(transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )和 EGF 等生长因子的 LMM101 培养基<sup>[3]</sup>,因此可推测,所用培养基不同可能会造成 USCs 形态不同,但两种培养基所培养出的 USCs 在分化潜能上并无明显差异。

**1.2 USCs 的表面分子标志物** USCs 属于成体干细胞的一种,除高表达 c-kit、SSEA4、TRA1-60、Sox-2、Oct3/4 等干细胞标志物外<sup>[4]</sup>,还具有间充质干细胞的特性,稳定表达 CD73、CD90、CD105 等间充质干细胞特异表面分子,不表达 CD31、CD34、CD45 等造血细胞表面抗原<sup>[5]</sup>,因此现多把 USCs 看做间充质干细胞的一种。

在 Kang 等<sup>[6]</sup>比较 USCs 与脂肪源性干细胞在细胞增殖、免疫调控及多向分化能力中的一项研究中<sup>[6]</sup>,他们所分离培养出的 USCs 形态呈“鹅卵石样、褶皱”,类似于以前报道的尿路上皮细胞形态,而 Zhang 等<sup>[1]</sup>最初研究 USCs 时曾发现 USCs 表达尿路上皮特异性分子 uroplakin I a 和细胞角蛋白 7(cytokeratin 7, CK7)等,但进一步研究移植了男性供者肾脏的女性患者的尿液发现,其尿液中分离培养得到的 USCs 含有 Y 染色体,且高表达肾系标志物及肾脏脏层上皮细胞和壁层上皮细胞标志物,不表达肾小管上皮细胞、输尿管上皮细胞和尿道上皮细胞标志物,提示相比尿路上皮细胞,USCs 更可能来源于肾脏<sup>[7]</sup>。

**1.3 USCs 的分化潜能** 既往多项研究表明,在不同的培养基条件下,USCs 可定向分化为三胚层各类细胞。在 Guan 等<sup>[2]</sup>的研究中,USCs 在含胰岛素-转铁蛋白-亚硝酸盐、EGF、bFGF 等成分的 DMEM/F12 培养基中,可被诱导分化为神经细胞,诱导后细胞表达神经细胞特异性蛋白巢蛋白、神经组织蛋白质 s(S100)、神经丝蛋白(NF200)和胶质纤维酸性蛋白(GFAP),将用绿色荧光蛋白标记的诱导后细胞植入大鼠脑内后,发现绿色荧光阳性的细胞能迁移、分散到病变部位,细胞形态也由植入前的长梭形变成类似于星形胶质细胞的形态。

类似于间充质干细胞,USCs 也具有好的成骨、成脂分化能力。骨形成蛋白(BMP)被公认为具有诱导干细胞成骨的能力,高浓度 BMP 时 USCs 趋向于向成脂细胞分化,低浓度 BMP 时则更倾向于向成骨细胞及软骨细胞分化<sup>[2]</sup>。Bharadwaj 等<sup>[5]</sup>通过 BMP9 诱导 USCs 向成骨细胞、软骨细胞及脂肪细胞分化,并将诱导后细胞接种于裸鼠皮下,4 周后可见骨样包块形成,病理切片证实为骨组织,Guan 等<sup>[2]</sup>用 BMP2 诱导也得出了一致的结果。

Zhang 等<sup>[1]</sup>最初研究 USCs 时曾认为 USCs 来自尿路上皮细胞,而 Bharadwaj 等<sup>[4]</sup>在富含血清及 EGF 的 KSFm/EFM 混合培养基中培养 USCs,发现可将 USCs 定向诱导为尿路上皮细胞,诱导后细胞形态与尿路上皮细胞类似,绝大部分表达 uroplakin III、uroplakin I a 及 CK7、AE1/AE3,经向尿路平滑肌诱导的 USCs 则可表达平滑肌分化特异性抗原 smoothelin<sup>[5]</sup>,表明 USCs 可被诱导向尿路上皮细胞和尿路平滑肌细胞特异性分化。

有研究表明,采用含有血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的内皮细胞基础培养基培养 USCs<sup>[5]</sup>或者经病毒转染使 USCs 过表达 VEGF<sup>[8]</sup>,均可诱导 USCs 向血管内皮细胞分化,将诱导后细胞接种于 Matrigel 上离体培养,可发现细胞间形成管道状结构,且高表达 CD31、vWF、KDR、FLT1、eNOS 等内皮细胞特异性蛋白标志物<sup>[9]</sup>。

在体内试验中,将含有诱导后细胞的 I 型胶原凝胶植入裸鼠皮下,可发现诱导组广泛血管化并且大量表达内皮细胞特异性抗原<sup>[9]</sup>,证明 USCs 可被特异性诱导向内皮细胞分化,且可形成功能性结构。

## 2 USCs 的永生化

在体外培养的人体正常细胞,在经过一段时间的分裂后,就会进入一种生长抑制状态,即衰老期(M1 期),经过转化的细胞可越过衰老期进入另一种增殖抑制状态,即危机期(M2 期),细胞开始逐渐出现退化并死亡,外源基因的稳定表达也会随着时间及细胞传代分化而被沉默或显著降低<sup>[11]</sup>,极大地限制了干细胞的来源。USCs 也同样面临这样的问题。但在近期的研究中,温晟<sup>[12]</sup>通过运用 hEFH 启动猿猴病毒 40 大 T 抗原(SV40Tag)基因在 USCs 中表达,筛选获得的阳性细胞克隆扩大培养,得到永生化尿源性干细胞(iUSC)。USCs 通常在传至 8 代左右开始萎缩死亡,而 iUSC 传代至 50 代仍生长旺盛。iUSC 可在体外逃离 M2 期,获得无限增殖传代的能力,从而有助于外源基因在 USCs 稳定的高水平表达。实验证明,iUSC 依旧表达 CD73、CD44、CD106、SSEA4 等干细胞表明标志物,具有成脂、成骨、成软骨分化特性,保持了干细胞分化潜能,且在裸鼠皮下注射 4 周内无肿瘤形成,初步证明无成瘤性。USCs 永生化的成功为 USCs 在细胞移植治疗及组织工程学应用方面提供了新的稳定的细胞来源。

## 3 USCs 移植与糖尿病肾病

大量研究证实,干细胞移植能在一定程度上有利于慢性肾脏病患者恢复肾功能<sup>[10]</sup>,其可能的机制主要有 4 种:(1)干细胞与肾脏细胞或结构的融合;(2)干细胞分泌的生长因子、细胞因子等活性物质有利于肾功能的恢复;(3)干细胞的免疫调节作用;(4)干细胞在肾脏环境内分化成为肾脏细胞<sup>[13]</sup>。

张超等<sup>[14]</sup>通过将 USCs 直接注射到慢性肾病模型大鼠肾脏皮质,在肾组织苏木素-伊红(HE)、Masson 染色中发现,USCs 组肾脏结构病理变化较安慰剂组轻,较健康对照组重,在胶原沉积方面,虽然 USCs 组仍高于对照组,但明显少于安慰剂组,肾脏间质炎性细胞浸润也得出同样结果。在术后的监测中,可发现术后 2 周时大鼠血肌酐开始出现明显下降,在第 4 周时达到一个稳定水平,同时肾小球滤过率(GFR)也在术后 4 周明显改善。术后 12 周追踪时发现有个别 HLA 染色阳性细胞(即 USCs)与 Bowman's 细胞融合,部分细胞分散在肾脏间质中,位于肾小管之间,提示 USCs 与肾脏组织结构的融合可能对肾功能恢复有一定作用。但同时不可忽视的是,在有关间充质干细胞移植的研究中,研究者们发现,不管是何种移植方式或移植手段,只有很少的移植间充质干细胞可以归巢到肾脏,而这也代表可能干细胞对肾脏的修复作用主要是靠旁分泌或者内分泌途径来实现的<sup>[15]</sup>。

糖尿病肾病是引起终末期肾病的常见原因之一,糖尿病肾病中蛋白尿的进展和足细胞凋亡密切相关,而既往研究表明,高糖可促进足细胞凋亡,减少足细胞骨架蛋白 Synaptopodin 的表达,从而促进糖尿病肾病的发生发展<sup>[17-18]</sup>。姜珍珠等<sup>[19]</sup>的体外试验证实,USCs 主要依赖旁分泌作用发挥肾脏保护作用,不同剂量 USCs 的条件培养基能够减轻 Synaptopodin 的下调、抑制足细胞的早期凋亡。而进一步研究发现,USCs 条件培养基中的外泌体可能是 USCs 在高糖环境中对足细胞起保护作用的重要物质。USCs 来源的外泌体能减少体内高糖导致的足细胞的凋亡与损伤<sup>[20]</sup>,同时能改善 1 型糖尿病大鼠尿微量清蛋白/肌酐,减少肾小球系膜增生,减少组织细胞凋亡,延缓糖尿病肾病的发生和进展。外泌体是一类介导细胞间

遗传信息、蛋白质和脂质转移的微泡物质,不同细胞来源的外泌体膜上有特定的蛋白和脂质,通过特异性的受体配体结合作用,向细胞转移表面受体、蛋白和生物活性脂类,同时传递特定的 mRNA 和 microRNA,从而通过旁分泌/内分泌途径实现对机体的调控。大量研究表明,外泌体能促进血管生成及抑制细胞凋亡<sup>[21-22]</sup>。在经过 USC 来源的外泌体干预过的 1 型糖尿病大鼠肾组织中,TUNEL 染色阳性细胞较单纯 1 型糖尿病组明显减少,且凋亡蛋白 Bax 和活性 Caspase-3 较单纯 1 型糖尿病组少,抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达上调<sup>[16]</sup>,且通过酶联免疫吸附试验(ELISA)检测到,在 USC 的条件培养基和 USC 来源的外泌体中,BMP-7、VEGF、TGF- $\beta$ 1 和血管生成素水平都较正常对照组显著升高<sup>[16]</sup>,而以上几种细胞因子均参与血管的生成。因此可推测,USC 来源的外泌体可能通过抑制 Caspase-3 的过表达及通过细胞因子如 BMP-7、VEGF、TGF- $\beta$ 1 等促进血管再生和细胞存活来减少细胞的凋亡<sup>[16]</sup>,从而实现在糖尿病中保护肾脏的作用。

干细胞的免疫调节作用及在肾脏环境中可分化为肾脏细胞的能力已在大量的研究中得到证实<sup>[23-24]</sup>,间充质干细胞能通过抑制 T 细胞增殖、抑制 B 细胞的增殖和终末分化,以及影响树突状细胞的成熟和功能,同时联合参与其他免疫细胞的调节,从而改善糖尿病肾病的肾脏功能<sup>[20]</sup>。USC 与间充质干细胞有着类似的生物学共性,但目前大部分关于 USC 的研究仍集中于其在组织工程学中的应用,USC 是否也具有免疫调节作用及在肾内能否分化为肾细胞,这些都有待进一步的研究来揭示。

#### 4 问题与展望

USC 由于其来源无创、方便,且有类似于间充质干细胞的生物学特性,有望成为糖尿病肾病等慢性肾脏疾病治疗中的新希望。现有研究结果也基本肯定了 USC 在保护肾功能方面有明确效果,但目前研究多停留在初期阶段,主要研究对象是动物模型,还存在许多问题有待探究和解决:(1)USC 修复肾功能的机制仍不十分明确,是否参与了受损组织或器官的免疫应答,是否能在肾脏环境中分化为肾细胞?(2)USC 的移植方式、移植时机的选择对改善病情的影响尚不明确;(3)USC 联合多种干细胞移植是否会更好?(4)USC 移植的远期效果及安全性等问题亟待进一步的研究来验证。USC 在慢性肾脏病中的研究刚刚起步,随着对 USC 研究的深入,相信 USC 一定能在细胞治疗中发挥其巨大的作用。

#### 参考文献

- [1] Zhang Y, McNeill E, Tian H, et al. Urine derived cells are a potential source for urological tissue reconstruction[J]. J Urol, 2008, 180(5): 2226-2233.
- [2] Guan JJ, Niu X, Gong FX, et al. Biological characteristics of human-urine-derived stem cells; potential for cell-based therapy in neurology[J]. Tissue Eng Part A, 2014, 20(13/14): 1794-1806.
- [3] 汪洪, 关俊杰, 邓志锋, 等. 尿液间充质干细胞的提取及扩增培养方法和应用[P]. 中国, CN201210470118. 1. 2013-02-13.
- [4] Bharadwaj S, Wu S, Rohozinski J, et al. Multipotential differentiation of human urine-derived stem cells[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2009, 6: S293.
- [5] Bharadwaj S, Liu G, Shi Y, et al. Multipotential differentiation of human urine-derived stem cells; potential for ther-

- apeutic applications in urology[J]. Stem Cells, 2013, 31(9): 1840-1856.
- [6] Kang HS, Choi SH, Kim BS, et al. Advanced properties of urine derived stem cells compared to adipose tissue derived stem cells in terms of cell proliferation, immune modulation and multi differentiation[J]. J Korean Med Sci, 2015, 30(12): 1764-1776.
- [7] Chun SY, Kim HT, Lee JS, et al. Characterization of urine-derived cells from upper urinary tract in patients with bladder cancer[J]. Urology, 2012, 79(5): e1-8.
- [8] Wu S, Wang Z, Bharadwaj S, et al. Implantation of autologous urine derived stem cells expressing vascular endothelial growth factor for potential use in genitourinary reconstruction[J]. J Urol, 2011, 186(2): 640-647.
- [9] Liu G, Wang X, Sun X, et al. The effect of urine-derived stem cells expressing VEGF loaded in collagen hydrogels on myogenesis and innervation following after subcutaneous implantation in nude mice[J]. Biomaterials, 2013, 34(34): 8617-8629.
- [10] Villanueva S, Carreño JE, Salazar L, et al. Human mesenchymal stem cells derived from adipose tissue reduce functional and tissue damage in a rat model of chronic renal failure[J]. Clin Sci (Lond), 2013, 125(4): 199-210.
- [11] Hotta A, Ellis J. Retroviral vector silencing during iPSC cell induction; an epigenetic beacon that signals distinct pluripotent states[J]. J Cell Biochem, 2008, 105(4): 940-948.
- [12] 温晟. 人尿源性干细胞的永生生化及其诱导分化研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2014.
- [13] Bagul A, Frost JH, Drage M. Stem cells and their role in renal ischaemia reperfusion injury[J]. Am J Nephrol, 2013, 37(1): 16-29.
- [14] 张超. 尿源干细胞在治疗慢性肾病大鼠模型中的应用[D]. 上海: 第二军医大学, 2014.
- [15] Yi T, Song SU. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their therapeutic applications[J]. Arch Pharm Res, 2012, 35(2): 213-221.
- [16] Sakoda M, Itoh H, Ichihara A. Podocytes as a target of prorenin in diabetes[J]. Curr Diabetes Rev, 2011, 7(1): 17-21.
- [17] Eid AA, Gorin Y, Fagg BM, et al. Mechanisms of podocyte injury in diabetes; role of cytochrome P450 and NADPH oxidases[J]. Diabetes, 2009, 58(5): 1201-1211.
- [18] Lee SC, Han SH, Li JJ, et al. Induction of heme oxygenase-1 protects against podocyte apoptosis under diabetic conditions[J]. Kidney Int, 2009, 76(8): 838-848.
- [19] 姜珍珍, 汪年松, 汪洪, 等. 人尿源性干细胞条件培养基对高糖诱导足细胞凋亡的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2014, 15(10): 861-864.
- [20] Jiang ZZ, Liu YM, Niu X, et al. Exosomes secreted by human urine-derived stem cells could prevent kidney complications from type I diabetes in rats[J]. Stem Cell Res Ther, 2016, 7: 24.
- [21] Hu GW, Li Q, Niu X, et al. Exosomes secreted by human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem

cells attenuate limb ischemia by promoting angiogenesis in mice[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6:10.

[22] Garcia NA, Ontoria-Oviedo I, González-King H, et al. Glucose starvation in cardiomyocytes enhances exosome secretion and promotes angiogenesis in endothelial cells[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9):e0138849.

[23] Morigi M, Benigni A. Mesenchymal stem cells and kidney repair[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2013, 28(4): 788-

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.04.044

793.

[24] Tögel F, Hu Z, Weiss K, et al. Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanisms[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2005, 289(1): F31-42.

(收稿日期:2016-09-02 修回日期:2016-10-12)

## 脂肪干细胞在难愈性创面治疗中的应用研究进展\*

江 澜, 曾元临 综述, 辛国华<sup>△</sup> 审校

(南昌大学第一附属医院烧伤研究中心 330006)

[关键词] 慢性难愈性创面; 脂肪干细胞; 伤口愈合; 组织工程

[中图分类号] R644

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)04-0551-02

难愈性创面是长久以来一直困扰临床医师的一个难题, 难愈性创面形成机制复杂, 受多种因素影响, 病程长, 常伴有严重功能障碍, 对患者及患者家庭的正常生活造成严重干扰。目前难愈性创面的治疗往往是综合性的, 包括创面的保守换药治疗、全身营养状态的调整 and 基础疾病的治疗等。近年来临床治疗中不断引进新技术如超声清创机、负压封闭引流技术等联合外科手术治疗难愈性创面, 虽然优于传统方法但最终治疗效果仍称不上理想。近年来, 脂肪细胞来源的干细胞(Adipose-derived stem cells ADSCs)的体外培养及诱导分化技术愈发成熟, 结合组织工程技术治疗难愈性创面也成为研究的热点。本文就 ADSCs 在难愈性创面治疗中的应用研究的进展作一综述。

### 1 难愈性创面

**1.1 难愈性创面的定义** 难愈性创面, 亦称为慢性难愈性创面, 严格地说目前医学界对难愈性创面并没有标准统一的定义, 一般认为持续在 8 周以上, 经过正规治疗无法通过有序及时的修复过程使组织恢复解剖和功能完整性的创面称为慢性难愈性创面<sup>[1-2]</sup>。常见的难愈性创面包括: 大面积烧伤晚期残余创面, 糖尿病足, 压疮, 下肢静脉溃疡及放射性皮肤溃烂等。

**1.2 难愈性创面的形成** 创面的愈合是一个复杂有序的过程, 大致可分为 3 个阶段, 即炎症期、增殖期、重塑期。凡是影响创面修复的因素均可中断或打乱以上任一阶段, 导致创面延迟愈合甚至不能愈合, 形成慢性难愈性创面<sup>[3]</sup>。究其原因主要可分为以下 4 种。

**1.2.1 组织缺血缺氧** 氧气在创面愈合各个过程中作用明显, 缺氧可导致活性氧簇(ROS)减少, 延长创面愈合过程。陈欣欣等<sup>[4]</sup>通过对 30 例慢性不愈创面患者进行临床随机对照试验证明氧疗能够降低创面炎症反应, 加速愈合过程。同时, 创面愈合的过程有大量生长因子[如血小板源性生长因子、转化生长因子和血管内皮生长因子(VEGF)等]参与调控<sup>[5]</sup>; Kim 等<sup>[6]</sup>报道称, 在低氧微环境下慢性创面的修复、细胞增生及生长因子转录水平表达低下, 各种生长因子呈低活性, 从而导致创面纤维细胞、表皮细胞的增殖和迁移, 并最终形成难愈性创面。

**1.2.2 感染、细菌滋生及坏死物质残留** 不论何种原因造成的难愈性创面, 细菌滋生及创面感染均伴随着创面治疗的全过程。难愈性创面中的致病菌能够释放多种蛋白酶类和毒素降解生长因子, 侵蚀正常组织, 形成阻止创面修复、细胞增殖移动和上皮再生的物理屏障, 即形成细菌生物膜。细菌生物膜通过抵御抗菌药物、对抗机体的免疫防御机制及释放大炎症因子等方式, 使创面处于长期炎症反应阶段, 而肉芽组织与表皮组织无法形成, 最终致难愈性创面的形成<sup>[7]</sup>。

**1.2.3 糖尿病** 2 型糖尿病患者的疾病进展过程中常伴有微血管损害, 有学者<sup>[8]</sup>研究证实 2 型糖尿病伴有微血管并发症的患者出现糖尿病足的风险显著增高。有研究报道高血糖水平患者创面的缺氧诱导因子 1 $\alpha$ (hypoxia-inducible factors-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )蛋白水平和转录活性明显下降, HIF-1 $\alpha$ 可促进血管重塑为成熟的功能性血管, HIF-1 $\alpha$ 缺乏可导致糖尿病患者创面的不愈合<sup>[9]</sup>。

**1.2.4 细胞衰老及全身营养不良** 慢性难愈性创面一般在老年群体高发, 患者年龄大、各脏器功能低下、组织供血减少、细胞修复能力降低、合并基础病均易导致难愈性创面的形成。

### 2 ADSCs 的培养及生物学特性

ADSCs 是存在于脂肪中, 类似骨髓基质细胞的间充质干细胞, 具备自我更新能力与多向分化潜能, 遗传背景相当稳定, 体内植入后免疫排斥少。

**2.1 ADSCs 的来源与培养** 2001 年, Zuk 等首次从人脂肪抽吸物中采用胶原酶消化的方法分离出 ADSCs。Storck 等<sup>[10]</sup>通过实验研究发现在内皮细胞生长培养基中培养 ADSCs 不仅可以加速诱导分化前的生长速度, 而且可以明显缩短 ADSCs 的诱导分化时间。

**2.2 ADSCs 的生物学特性** ADSCs 具有多向系分化的潜能。ADSCs 不仅可诱导分化为间充质来源的脂肪、骨、软骨及骨骼肌, 还可以分化为具有功能性的血管内皮细胞<sup>[11-12]</sup>。孙楠等<sup>[13]</sup>证实 ADSCs 在表皮细胞抽提物的诱导作用下能表达表皮细胞表型, 这一结果提示 ADSCs 具有参与皮肤创面修复的潜能。

### 3 ADSCs 应用于难愈性创面的治疗及相应机制

\* 基金项目: 江西省卫生和计划生育委员会科技计划项目(20151048)。 作者简介: 江澜(1991-), 硕士, 主要从事烧伤外科学及慢性创面治疗研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail: xinghuoh@126.com。