

间充质干细胞治疗糖尿病足的研究进展

韦喜, 韦华^①

(右江民族医学院, 广西 百色 533000 E-mail: 191798113@qq.com)

摘 要: 间充质干细胞(MSCs)广泛分布于人体组织中,是一种具有多向分化潜能和“无限”增殖能力的多能干细胞。其在组织损伤的修复、血液系统肿瘤、自身免疫性疾病的治疗等多方面广泛应用,且取得令人鼓舞的成果。本文就 MSCs 治疗糖尿病足相关机制研究进展方面进行综述。

关键词: 间充质干细胞;糖尿病足;血管内皮生长因子

中图分类号: R587.29

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2016)05-0524-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2016.05.024

糖尿病足(diabetic foot, DF)是糖尿病最严重和治疗费用最昂贵的慢性并发症之一,也是致残,致死的主要原因之一,糖尿病患者截肢的风险是非糖尿病患者的 40 倍^[1]。因此,积极预防与早期规范治疗对 DF 患者至关重要,不仅可明显降低截肢率,在后期生活质量的提高及治疗费用的减少方面也起到积极作用。但因 DF 患者年纪相对较大,免疫力相对低下,合并较多基础疾病等因素,传统治疗药物和血管重建治疗方案存在着一定的局限^[2]。近年来,间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)研究的深入为 DF 治疗带来了新的希望^[3]。MSCs 在组织损伤修复、抑制免疫、减轻炎症反应发挥着不可替代的作用,逐渐成为治疗 DF 治疗的新策略。本文就 MSCs 治疗 DF 相关机制研究进展进行综述。

1 MSCs 的来源、特性及其与 DF 的关系

1.1 MSCs 的来源及生物学特性 MSCs 是干细胞家族的重要成员,可来源于骨髓、脂肪、脐带和胎盘等组织,具有多向分化潜能,可分化成不同类型的细胞,可作为理想的种子细胞用于衰老、组织器官损伤修复等。同时, MSCs 具有良好的生物学特性:①增殖能力强,并可多向分化;②具有免疫调节功能,免疫原性低;③来源广,易于分离培养及传代^[4]。

1.2 MSCs 与 DF 的关系 DF 的发病机制目前认为是长期高血糖引起血管病变,最终导致肢体远端缺血和周围神经病变而感觉丧失且并发感染。主要病理基础是神经病变、缺血感染、免疫,其中缺血性感染及缺血性神经病变占大多数,因此 DF 治疗的关键是改善患肢血供。但传统的临床治疗并未在此领域上获得满意的疗效,而 MSCs 作为一种理想的“万能细胞”,在缺血损伤、创面修复方面的应用对 DF 的治疗具有全新的优势,其可在体内分化成血管内皮细胞、平滑肌细

胞^[5],同时分泌促血管生成因子,促进血管新生,从而改善缺血组织血供,促进创面愈合^[6]。同时能降低免疫原性,调节免疫反应,使移植治疗成为可行的办法。且已成功从动物研究及临床应用方面证实其可行性,同时对肝肾等脏器功能并无损害,无明显不良反应发生。因此, MSCs 可成为治疗 DF 可行的方法^[7]。

2 MSCs 治疗糖尿病足溃疡的作用机制

2.1 组织损伤修复作用 糖尿病足溃疡(DFU)是 DF 发展的常见后果,不及时治疗可引起截肢甚至死亡,溃疡创面中血管内皮生长因子和编码血管 VEGF 的 mRNA 减少,血管生成受阻,是其难以愈合的重要因素,因而可通过提高这两种物质水平促进创面愈合。蔡黔等^[8]研究发现, DFU 大鼠局部经过移植异体骨髓间充质干细胞治疗后,外周血 VEGF 表达水平升高,溃疡创面愈合加快,表皮覆盖明显。临床试验中^[9],自体骨髓间充质干细胞移植后, DFU 创面较常规治疗组提前 3~4 周愈合,疼痛等相关症状减轻,在随访观察期间未发现任何与移植相关的并发症及不良反应。证实了 MSCs 治疗溃疡创面的应用价值,并可作为一种简便、有效、安全的 DFU 治疗新手段。

目前, MSCs 促进血管新生的机制尚未完全阐明,大多学者认为与其移植部位的微环境有关,在应激条件下, MSCs 可向其所处环境需要的细胞或组织分化,可能的机制有:① MSCs 移植到受损组织后,整合到受损血管中,定向分化成血管的内皮细胞、平滑肌细胞,促进血管新生;② MSCs 分泌多种可诱导血管的生成的因子如 VEGF、FGF、HIF-1 α 、IL-8 等,从而促进血管新生^[10]。DF 主要治疗方法是改善患肢血供,因而可通过利用 MSCs 这一特性达到促进血管新生,从而改善组织血供,促进创伤修复。

2.2 免疫调节作用 MSCs 主要表达不同水平 MHC

^① 通讯作者

—I 类分子,不表达 MHC—II 类分子及 T 细胞活化所需的共刺激因子,具有低免疫原性,从而保护 MSCs 免受受者机体免疫细胞的杀伤,使其可在宿主内存活并通过与免疫细胞间的相互作用调节机体免疫功能。研究发现,将供者来源的 MSCs 同时输注给接受 MSCs 移植治疗血液系统肿瘤的患者,可使移植宿主病(GVHD)发生率明显降低^[11]。证明了 MSCs 具有抑制免疫反应功能,使 MSCs 移植治疗成为可能。

2.2.1 MSCs 可以通过抑制 T 细胞增殖发挥免疫调节作用 将 MSCs 与体外活化的 T 细胞一起培养时,T 细胞分裂、增殖受到抑制,停滞在细胞周期的 G₀/G₁。同时抑制 INF- γ 、IL-2 等促炎症细胞因子的产生,从而促使辅助性 T 细胞向 Th1 型转化,发挥负细胞免疫调节作用^[12]。

2.2.2 MSCs 对 Treg 细胞的调节作用 MSCs 可调节 Treg 细胞和 Th17 细胞的增殖和分化,从而抑制免疫炎症反应^[13]。输注骨髓间充质干细胞到小鼠体内后,发现 Th17 细胞分泌的 IL-17 和 IL-22 明显被抑制,但却促进 Th17 细胞向 IL-10Fox⁺P3⁺Treg 细胞分化^[14]。由于 T2DM 发病机制在本质上一种免疫相关的慢性炎症性反应过程的疾病,Treg 细胞水平低下可能是 T2DM 发病的起始因素之一。低水平的 Treg 细胞无法保护正常胰岛细胞免受免疫攻击,当然外部因素和自身免疫低下等因素也参与其发病;另一方面,MSCs 可抑制特异性细胞因子分泌,进而调节 Treg 细胞及促炎细胞的比例,调节胰岛细胞和周围免疫系统的免疫功能。

2.2.3 MSCs 分泌的外泌体参与的免疫调节能力 最近研究发现,MSCs 分泌的外泌体通过表达不同的淋巴细胞表型参与细胞识别及信号传递发挥免疫调节作用。学者刘明等^[15]研究发现,人脐带间充质干细胞(hUC-MSCs)分泌的外泌体高表达 CD9、CD81,可明显抑制 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞的增殖,升高 CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺Treg 细胞比例,同时升高 PBMC 分泌的与上调 Treg 细胞分化的关键细胞因子 TGF- β 1 水平,降低促炎细胞因子 IFN- γ 、IL-6、TNF- α 的水平。提示 MSCs 分泌的外泌体具有免疫调节功能,可应用到与免疫相关疾病的诊疗中。

2.3 减轻炎症反应 MSCs 趋向性主要表现在组织炎症发生时,MSCs 能及时准确到达损伤部位并及时对其进行修复。在 DF 患者局部炎症反应失控,导致足溃疡难以愈合,MSCs 主要从以下两种途径对炎症反应进行调节,促进炎症消退。

2.3.1 调节促炎因子—抗炎因子平衡 在糖尿病小鼠创面中,存在大量的凋亡细胞,凋亡细胞分泌的 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等促炎因子增加,而抗炎因子

(IL-10)减少^[16]。而 TNF- α 的增多之后通过正反馈作用能使自身及 IL-6 的产生,形成恶性循环,同时金属蛋白酶分泌增加及促使成纤维细胞凋亡,使胶原沉积减少,最终导致伤口愈合延迟或不愈合。UC-MSCs 治疗 CIA 大鼠后 IL-1、IL-6、IL-18、TNF- α 、VCAM-1 和中性粒细胞表面 CD11b 的表达水平下降^[17]。提示 MSCs 能通过调节促炎因子—抗炎因子平衡,减轻或抑制炎症反应,促进创面愈合。

2.3.2 调节促炎型和修复型巨噬细胞比例 在组织创伤愈合中,巨噬细胞发挥着关键的作用:一方面,作为炎症阶段的主要吞噬细胞,通过吞噬损伤组织中凋亡的炎症细胞及坏死碎片,促进炎症反应消退;另一方面又能分泌多种细胞因子和生长因子,诱导血管再生、胶原沉积、肉芽生成,从而促进伤口愈合。DFU 创面巨噬细胞数量未见减少,但促炎型和修复型比例失调,导致其功能异常。Mirza 和 Koh 等^[18]研究发现在糖尿病小鼠,损伤后促炎型巨噬细胞延迟消失,而修复型较少,促炎细胞因子产生增多,组织处于促炎环境。将巨噬细胞与 MSCs 一起培养时,可促使巨噬细胞向修复型分化,调整促炎型和修复型比例,提高 Th2 细胞的活性,使抗炎细胞因子如 IL-10 的合成分泌增加,从而减轻创面炎症反应^[19-20],促进组织损伤修复。

2.4 基因治疗载体 MSCs 不仅具有多向分化潜能,还易于外源基因的转染、长期、高效表达,因而可作为一种基因治疗载体而广泛应用于各种系统疾病。随着基因转染等新技术开展,基因载体治疗方式已成为目前治疗血管性疾病的主要方式之一。将可定向分化的血管生成因子基因转载到 UC-MSCs 后输送到缺血组织,从而促进组织血管新生,改善组织供血,加速创面组织修复^[21],为 DF 的治疗又提供一个新的治疗策略。

随着对 MSCs 研究的深入,目前对其生物学特性及作用机制有了较为深入的了解,但仍然存在一些问题需要得到进一步的解决:①目前对于 DF 治疗没有统一的干细胞治疗方案,如移植治疗前准备、移植细胞数、移植过程中有没有必要同时使用其他免疫药物或细胞因子等;②移植的 MSCs 在体内的免疫调节维持的时间以及其免疫维持时间之后对宿主免疫系统的影响如何;③移植微环境对 MSCs 的影响及其机制尚未完全阐明;④治疗安全性,必须正确评估使用 MSCs 治疗人类相关疾病的安全性。尽管普遍认为 MSCs 在体外培养并没有恶性转化的风险^[22]。但也有相关研究显示:在一些实验性模型中,MSCs 移植可以促进肿瘤的生长^[23]。因此,此疗法的安全性及可能的长期副作用需要得到进一步和研究探讨。

随着生物医学技术,MSCs 展示出诱人的临床应

用前景,必定在不久的将来给我们一个惊喜。随着干细胞科学及医学技术的发展,MSCs 在将来的应用将会进一步扩大,这一新的细胞治疗方式将会给人类解除重大疾病带来新的希望。

参考文献:

- [1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2013 版)[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2014, 30(10): 893—942.
- [2] 朱丹彪, 龙昕, 伍毅华, 等. 120 例糖尿病足的临床分析[J]. 右江民族医学院学报, 2012, 34(3): 297—299.
- [3] Lobo R, Kiernan TJ, Jaff MR. Medical therapy for critical limb ischemia and the diabetic foot: an update[J]. J Cardiovasc Surg (Torino), 2013, 54(6): 671—678.
- [4] 赵文婧, 刘玲珑, 吴丽情, 等. 骨髓间充质干细胞的二维及三维培养实验研究[J]. 右江民族医学院学报, 2014, 36(3): 355—356.
- [5] 武开宏, 莫绪明, 孙剑, 等. 脐带间充质干细胞分化为内皮细胞促进血管新生[J]. 中华胸心血管外科杂志, 2011, 27(9): 553—555.
- [6] Chang HK, Kim PH, Cho HM, et al. Inducible HGF—secreting Human Umbilical Cord Blood—derived MSCs Produced via TALEN—mediated Genome Editing Promoted Angiogenesis[J]. Mol Ther, 2016, 24(9): 1644—1654.
- [7] Lee HC, An SG, Lee HW, et al. Safety and effect of adipose tissue—derived stem cell implantation in patients with critical limb ischemia: a pilot study[J]. Circ J, 2012, 76(7): 1750—1760.
- [8] 蔡黔, 董方, 刘毅. 异体骨髓间充质干细胞治疗大鼠糖尿病足溃疡及血管内皮生长因子的表达[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(36): 6733—6737.
- [9] 王广宇, 朱旅云, 马利成, 等. 干细胞移植治疗糖尿病足[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(1): 173—180.
- [10] Shen WC, Liang CJ, Wu VC, et al. Endothelial progenitor cells derived from Wharton's jelly of the umbilical cord reduces ischemia—induced hind limb injury in diabetic mice by inducing HIF—1 α /IL—8 expression[J]. Stem Cells Dev, 2013, 22(9): 1408—1418.
- [11] Bernardo ME, Ball LM, Cometa AM, et al. Co—infusion of ex vivo—expanded, parental MSCs prevents life—threatening acute GVHD, but does not reduce the risk of graft failure in pediatric patients undergoing allogeneic umbilical cord blood transplantation[J]. Bone Marrow Transplant, 2011, 46(2): 200—207.
- [12] 孙昭, 韩钦, 赵春华. 骨髓和脂肪来源的间充质干细胞免疫调节作用的比较[J]. 基础医学与临床, 2012, 32(2): 128—132.
- [13] Li L, Liu S, Xu Y, et al. Human umbilical cord—derived mesenchymal stem cells downregulate inflammatory responses by shifting the Treg/Th17 profile in experimental colitis[J]. Pharmacology, 2013, 92(5—6): 257—264.
- [14] Luz—Crawford P, Kurte M, Bravo—Alegria J, et al. Mesenchymal stem cells generate a CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T cell population during the differentiation process of Th1 and Th17 cells[J]. Stem Cell Res Ther, 2013, 4(3): 65.
- [15] 刘明, 汪劲松, 刘沐芸, 等. 人脐带间充质干细胞分泌体免疫调节功能的研究[J]. 中华医学杂志, 2015, 95(32): 2630—2633.
- [16] Khanna S, Biswas S, Shang Y, et al. Macrophage dysfunction impairs resolution of inflammation in the wounds of diabetic mice[J]. PLoS One, 2010, 5(3): e9539.
- [17] 李慧, 顾健, 林传明, 等. 脐带间充质干细胞对 CIA 大鼠炎症因子的干预[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(36): 6701—6704.
- [18] Mirza R, Koh TJ. Dysregulation of monocyte/macrophage phenotype in wounds of diabetic mice[J]. Cytokine, 2011, 56(2): 256—264.
- [19] Dayan V, Yannarelli G, Billia F, et al. Mesenchymal stromal cells mediate a switch to alternatively activated monocytes/macrophages after acute myocardial infarction[J]. Basic Res Cardiol, 2011, 106(6): 1299—1310.
- [20] 遆冬冬, 李军峰, 郝好杰, 等. 炎症激活间充质干细胞源微泡对糖尿病慢性创面愈合的促进作用观察[J]. 解放军医学杂志, 2016, 41(7): 528—533.
- [21] 孙天骏, 韩焱福, 柴家科, 等. 腺病毒介导血管内皮细胞生长因子基因体外转染人脐带间充质干细胞[J]. 中华损伤与修复杂志: 电子版, 2010, 5(2): 161—169.
- [22] Bernardo ME, Zaffaroni N, Novara F, et al. Human bone marrow derived mesenchymal stem cells do not undergo transformation after long—term in vitro culture and do not exhibit telomere maintenance mechanisms[J]. Cancer Res, 2007, 67(19): 9142—9149.
- [23] Zhu W, Huang L, Li Y, et al. Mesenchymal stem cell—secreted soluble signaling molecules potentiate tumor growth[J]. Cell Cycle, 2011, 10(18): 3198—3207.

收稿日期: 2016—08—20; 修回日期: 2016—09—28