

·综述·

## 脂肪间充质干细胞外囊泡促进创面血管生成机制的研究进展

居裔昆 方柏荣

中南大学湘雅二医院整形美容(烧伤)外科,长沙 410011

通信作者:方柏荣,Email:fbrfbr2004@csu.edu.cn

**【摘要】** 创面愈合涉及复杂的病理生理学机制,其中血管生成被认为是创面愈合的关键步骤之一,促进创面血管生成可以加速创面愈合。近年来,间充质干细胞来源的细胞外囊泡被证明可产生与干细胞疗法相当的促创面愈合效果,且具有低抗原性、更好的生物相容性等优点。关于细胞外囊泡促创面愈合的具体机制目前仍不完全清楚,被认为涉及创面愈合的各个阶段。该文主要针对脂肪间充质干细胞外囊泡在促进创面血管生成中的可能机制进行阐述,为进一步研究细胞外囊泡促进创面愈合的机制提供思路。

**【关键词】** 间质干细胞; 新生血管化,生理性; 伤口愈合; 细胞外囊泡

**基金项目:**湖南省自然科学基金(2021JJ30928)

### Research advances on the mechanism of extracellular vesicles of adipose-derived mesenchymal stem cells in promoting wound angiogenesis

Ju Yikun, Fang Bairong

Department of Plastic and Aesthetic (Burn) Surgery, the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China

Corresponding author: Fang Bairong, Email: fbrfbr2004@csu.edu.cn

**【Abstract】** Wound healing involves complex pathophysiological mechanism, among which angiogenesis is considered as one of the key steps in wound healing, and promoting wound angiogenesis can accelerate wound healing. In recent years, mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles have been proven to produce equivalent effects of wound healing promotion comparable to stem cell therapy, with the advantages of low antigenicity and high biocompatibility. The specific mechanism by which extracellular vesicles facilitate wound healing is still not fully understood and is thought

to involve all stages of wound healing. This article focuses on the possible mechanism of extracellular vesicles of adipose-derived mesenchymal stem cells in promoting wound angiogenesis, so as to provide ideas for further study on the mechanism of extracellular vesicles to promote wound healing.

**【Key words】** Mesenchymal stem cells; Neovascularization, physiologic; Wound healing; Extracellular vesicles

**Fund program:** Natural Science Foundation of Hunan Provincial of China (2021JJ30928)

慢性难治性创面是临床医师面临的一个难题,给患者和社会带来了沉重的经济负担。随着我国社会老龄化的不断进展,各种慢性疾病发病率逐年升高,各种原因导致的创面愈合困难问题愈发常见<sup>[1]</sup>。近年来研究显示,脂肪间充质干细胞(ADSC)来源的细胞外囊泡(ADSC-EV)可以通过影响创面愈合的多个方面促进创面愈合<sup>[2-3]</sup>,本文就ADSC-EV促进创面血管生成的相关机制进行综述,以期为促进创面愈合及血管生成方面的研究及临床应用提供思路。

### 1 创面愈合过程中血管生成机制

创面愈合是一个重要而复杂的过程,指由于致伤因子的作用造成组织缺失后,局部组织通过再生、修复、重建,对缺损进行修补的一系列病理生理过程。创面愈合大致可分为3个相互独立又相互联系阶段:局部炎症反应阶段、细胞增殖分化阶段、组织塑型重建阶段<sup>[4]</sup>。细胞增殖分化阶段发生于创伤后的第2~10天,该阶段中有不同类型细胞的增殖及迁移以修复缺损部位,创伤所激活的愈合程序绝大多数发生在此阶段,是关乎创面能否愈合良好的关键阶段<sup>[5]</sup>。而血管生成是细胞增殖分化阶段的一个重要而关键的因素,创面中新生毛细血管的形成,增加了创面有效的血

DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20220322-00080

本文引用格式:居裔昆,方柏荣.脂肪间充质干细胞外囊泡促进创面血管生成机制的研究进展[J].中华烧伤与创面修复杂志,2023,39(1):85-90. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20220322-00080.

Ju YK, Fang BR. Research advances on the mechanism of extracellular vesicles of adipose-derived mesenchymal stem cells in promoting wound angiogenesis[J]. Chin J Burns Wounds, 2023, 39(1): 85-90. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20220322-00080.



液灌注,为周围组织细胞提供了生长所需的营养物质,同时带走了细胞代谢产物,为创面愈合提供了基础的保障<sup>[6]</sup>。

血管生成可分为促血管生成阶段和抗血管生成阶段<sup>[7]</sup>。在促血管生成阶段,创面附近的血管扩张、基底膜溶解、内皮细胞开始迁移和增殖、新形成的微血管相互连接,周细胞和平滑肌细胞逐渐包裹在血管外围,大量的新生血管生长到创面部位。在抗血管生成阶段,选择性凋亡机制激活,防止血管过度增殖<sup>[8]</sup>。血管生成受到基因程序的精确调控,同时也受到多种生物化学因子的影响,这些因子通过激活相关的信号通路发挥作用。创面血管新生的始发步骤是生长因子与已有血管的内皮细胞受体结合,激活细胞内信号级联,进而促使血管生成。血管生成的主要调节因子是 VEGF 家族,VEGF 是最重要的促血管生成因子,通过作用于血管内皮细胞上的 VEGF 受体(VEGFR)刺激内皮细胞增殖、迁移和分化,从而促进新生血管形成<sup>[9]</sup>。VEGF/VEGFR 通路是刺激内皮细胞增殖和迁移以及增加血管通透性的最重要途径。一些通路通过调节下游信号,如 MAPK 信号通路(促进内皮细胞增殖和迁移)、磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)信号通路(促进内皮细胞存活)和 Src 激酶/内皮型 NOS(eNOS)信号通路(增加血管通透性)发挥促血管生成作用<sup>[9-10]</sup>。此外,血管生成过程还受到其他生长因子,如血管生成素(Ang)、碱性 FGF(bFGF)、IL-8、血小板衍生生长因子、缺氧诱导因子 1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )等的刺激<sup>[11-13]</sup>,其中 Ang 与受体 Tie2(在周细胞上表达)结合在调节血管生成和血管网络中发挥复杂作用<sup>[14]</sup>。此外,8 样蛋白-4(DLL4)/Notch 信号通路在血管生成中也发挥了重要作用<sup>[15]</sup>。

## 2 ADSC-EV 的概念

随着再生医学的发展,干细胞在创面治疗方面展现出巨大潜力,可以显著促进各类创面的愈合,但是干细胞具有较高的免疫原性、潜在的致癌性、分化的不确定性等弊端<sup>[16]</sup>。随着对干细胞的进一步了解,旁分泌作用被认为是其发挥生物学功能的原因,故干细胞分泌的细胞外囊泡(EV)是近年来的研究热点<sup>[17]</sup>。EV 是各类细胞外颗粒的统称,包括微泡、外泌体、凋亡小体等<sup>[18]</sup>。根据 2018 年国际细胞外囊泡协会发布的研究指南(MISEV2018),目前尚未就 EV 亚型的特异性标志物达成共识,包括目前被广泛研究的外泌体<sup>[19]</sup>。将 EV 按照特定的生物生成途径进行分型仍然非常困难,除非通过实时成像技术捕捉到 EV 的释放过程,否则根据 EV 的物理或生物化学特征来进行定义更为合适<sup>[18-19]</sup>。

ADSC 是一种很有前景的间充质干细胞,脂肪组织作为吸脂术后的附带产物,可以被大量获取用于细胞提取,且不易受伦理问题制约<sup>[20]</sup>。同时,ADSC-EV 与其他间充质干细胞来源的 EV 相比,可能具有更高的促创面血管生成活性。有研究特别评估了 ADSC-EV 与骨髓间充质干细胞来源的 EV(BMSC-EV)的差异性:从多组学层面分析并进行了体外

实验验证,显示 ADSC-EV 比 BMSC-EV 含有更多的与血管生成高度相关的蛋白质及微小 RNA(miR),促血管生成能力更强,具有更好的促创面愈合能力<sup>[21]</sup>。作为细胞亚结构,ADSC-EV 还具备低免疫原性、高稳定性、相对可控、易于保存等优势,提示 ADSC-EV 在实现创面的无细胞治疗方面具有巨大潜力<sup>[3,20]</sup>。

## 3 ADSC-EV 促血管生成相关机制

ADSC-EV 发挥促血管生成作用的机制主要可分为 3 个大类:(1)ADSC-EV 内存在的促血管生成因子直接作用于靶细胞发挥作用;(2)ADSC-EV 内存在的核酸成分通过作用于靶细胞,上调或下调某些基因,进而发挥相应功能;(3)ADSC-EV 结构本身的跨膜蛋白、脂质成分直接与靶细胞接触发挥作用。有研究团队观察到,ADSC-EV 中包含 591 种蛋白质和 604 种 miR,确定其中发挥主要促血管生成作用的物质,是将来实现创面无细胞治疗的关键和基础<sup>[22]</sup>。

### 3.1 促血管生成相关因子

Gangadaran 等<sup>[23]</sup>通过实验证实了 ADSC-EV 在体内和体外均具有显著的促血管生成作用,并对其中的生物活性物质进行了鉴定。该研究显示 ADSC-EV 中存在多种促血管生成因子,其中 IL-8 含量最高,认为 IL-8 在促血管生成中发挥主要作用;此外,趋化因子配体 2(CCL2)和 VEGF-D 也在 ADSC-EV 中富集。IL-8、CCL2 可以通过直接调节内皮细胞的存活、增殖和迁移来诱导血管生成<sup>[12-13]</sup>;而 VEGF-D 是 VEGF 家族中的重要因子,通过 VEGF/VEGFR 通路发挥作用<sup>[24]</sup>。

Eirin 等<sup>[25]</sup>观察到 ADSC-EV 中富含 VEGF,并包含几种影响血管生成的重要蛋白质:Ang 相关蛋白 4、血小板衍生生长因子 C 以及 Wnt 家族成员 7B。Figliolini 等<sup>[26]</sup>在 ADSC-EV 中检测到 237 种蛋白质,其中神经调节蛋白 1(NRG1)富集程度最高,NRG1 可以通过趋化内皮细胞增殖来促进血管生成。Pu 等<sup>[27]</sup>观察到 IL-6 在 ADSC-EV 中富集,并发挥促血管生成作用。Liu 等<sup>[28]</sup>证实 ADSC-EV 可以通过激活 PI3K/Akt 信号通路促进人脐静脉内皮细胞(HUVEC)中 HIF-1 $\alpha$  和 VEGF 的表达,促进 HUVEC 的增殖、迁移和成管。此外,ADSC-EV 可以通过激活内皮细胞中的 Akt 和 MAPK 信号通路,促进血管生成并加速小鼠创面愈合<sup>[29]</sup>。Akt/eNOS 信号通路的激活已被证明可以刺激血管生成的几个关键过程,包括内皮细胞存活、迁移和成管<sup>[30]</sup>。VEGF 是影响血管生成的重要因子,可能是 ADSC-EV 发挥促血管生成作用的关键;IL-8、CCL2、IL-6、NRG1 等也是 ADSC-EV 中与血管生成相关的重要因子。

### 3.2 促血管生成相关 RNA

研究报道,在 ADSC-EV 中含有大量 RNA,包括 miR、mRNA、环状 RNA(circRNA)以及长链非编码 RNA(lncRNA)等<sup>[31]</sup>。已有许多研究证实,ADSC-EV 中存在的 miR 是其产生生物效应的主要原因,一些 miR 被认为参与了血管生成各个方面的调控,包括增殖、迁移、内皮细胞的形态发

生等<sup>[32-34]</sup>。

**3.2.1 促血管生成相关 miR** Huang 等<sup>[33]</sup>观察到, ADSC-EV 中富含与血管生成相关的 miR, 其中 miR let-7i-5 和 let-7f-5p 可通过增强 HUVEC 的迁移和侵袭来促进血管生成。Zhu 等<sup>[35]</sup>的进一步研究显示, ADSC-EV 中的 miR let-7 通过 let-7/AGO1/VEGF 信号通路促进血管生成。Liang 等<sup>[32]</sup>研究显示, miR-125a 通过抑制靶点 DLL4 的表达, 促进内皮尖端细胞的形成, 进而促进血管生成。Pi 等<sup>[36]</sup>验证了 ADSC-EV 中的 miR-125a 可以通过直接抑制人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的基因(*PTEN*), 或作用于 DLL4 间接抑制 *PTEN* 发挥促血管生成作用。ADSC-EV 中存在的促血管生成 miR 有 miR-30b、miR-30c 等, 这些 miR 也被证实通过靶向作用于内皮细胞中的 DLL4, 通过 DLL4/Notch 通路发挥促进血管生成作用<sup>[32]</sup>。

Kang 等<sup>[37]</sup>研究显示, ADSC-EV 中的 miR-31 有助于 HUVEC 的迁移和成管, 并证明 HIF-1 的抑制因子是 miR-31 的靶点, 通过增强 HIF-1 的表达, 进而上调 VEGF/VEGFR 通路发挥促血管生成作用。在缺氧或内皮分化培养基预处理条件下, ADSC-EV 中 miR-31 的水平会显著增高。在 Xu 等<sup>[38]</sup>的研究中, miR-423-5p 通过靶向作用于肿瘤抑制因子丝氨酸/苏氨酸激酶 Fused 抑制物(Sufu), 下调 Sufu 的表达来增强 HUVEC 的迁移和成管能力。Sufu 是细胞生物学功能的负调节因子, Sufu 的下调可以增加细胞的增殖和迁移能力<sup>[39]</sup>。卢颖洁<sup>[40]</sup>观察到 miR-486-5p 可以通过抑制靶基因 *Sp5* 的表达, 促进人皮肤 Fb(HSF) 的迁移和增殖以及增强人微血管内皮细胞血管生成的作用。Heo 和 Kim<sup>[41]</sup>证实了 ADSC-EV 中的 miR-132 及 miR-146a 通过抑制抗血管生成基因的血小板反应素 1 和血管抑制蛋白 1 发挥促血管生成作用。Huang 等<sup>[42]</sup>观察到 miR-21-5p 通过上调 VEGFR 以及激活 Akt 和 MAPK 通路促进血管生成。此外, miR-199-3p 也被证实通过靶向作用于信号素 3A 促进内皮尖端细胞的增殖和迁移, 促进血管生成<sup>[43]</sup>。VEGF/VEGFR 通路和 DLL4/Notch 通路都是血管生成相关的重要通路, ADSC-EV 中的 miR 主要通过直接或间接影响上述通路发挥作用, 此外一些具有促血管生成效应的下游靶点也被逐渐证实。

**3.2.2 促血管生成相关其他类型 RNA** 其他类型的 RNA, 如 lncRNA、circRNA 和 mRNA 等也被认为可能参与 ADSC-EV 介导的促创面血管生成的作用。Qiu 等<sup>[44]</sup>研究显示, LINC00511(一种 lncRNA)过表达的 ADSC-EV 通过抑制的孕激素和脂联素分子受体 3 诱导的 Twist1 降解, 促进创面血管生成, 从而促进糖尿病大鼠全层皮肤缺损创面愈合。Shi 等<sup>[45]</sup>观察到高表达 mmu\_circ\_0000250(一种 circRNA)的 ADSC-EV, 相比普通 ADSC-EV 拥有更强的促进糖尿病小鼠全层皮肤缺损创面愈合能力, 其可能的机制为 ADSC-EV 激活自噬通路、增强血管生成和抑制细胞凋亡。Li 等<sup>[46]</sup>观察到, 核转录因子红系 2 相关因子 2 过表达的 ADSC-EV 可以显著减少糖尿病大鼠溃疡面积, 且溃疡中的炎症和氧化应

激相关蛋白水平降低。Figliolini 等<sup>[26]</sup>使用 RT-PCR 分析了 ADSC-EV 中 mRNA 含量, 以检测血管生成相关基因, 结果显示纤维连接蛋白 1、基质金属蛋白酶 2、Ang、bFGF、VEGFA 和 fms 样酪氨酸激酶 1 的 mRNA 在 ADSC-EV 中富集。既往学者认为, lncRNA、circRNA 等不具有编码能力, 因而不具备生物学活性, 但是随着对 RNA 的进一步了解, 此类 RNA 的作用逐渐被重视, 可能成为后续研究 ADSC-EV 作用机制的突破口。

### 3.3 EV 的结构组分

目前, ADSC-EV 的生物活性通常归因于它们的蛋白质和核酸成分, 而脂质成分的功能则研究甚少。Hettich 等<sup>[47]</sup>的工作特别评估了 EV 的结构组分中的脂质体和跨膜酶 CD73 在促进小鼠皮肤创面愈合过程中的作用。CD73 和 EV 的组成脂质包括磷脂酰丝氨酸、磷脂酰乙醇胺和鞘磷脂, 被证明直接参与促进血管生成作用, 表明 EV 中的脂质成分具有生物活性。

## 4 提升 ADSC-EV 促血管活性的方法

### 4.1 基因过表达技术

基因过表达是指通过慢病毒、电转等细胞转染方式, 在细胞内提高特定基因的表达水平, 从而实现特定基因功能增强的技术。利用基因过表达技术可构建具有更高生物学活性的 ADSC-EV, 显示出巨大的应用及研究前景。Zhang 等<sup>[48]</sup>通过慢病毒转染建立了过表达乙二醛酶 1 的 ADSC(G-ADSC), 分离并鉴定其外泌体(G-ADSC-Exo), 证实 G-ADSC-Exo 通过激活 eNOS/Akt/胞外信号调节激酶(ERK)/p38 信号通路, 增加 VEGF、胰岛素样生长因子 1 和 FGF 的分泌, 促进血管生成。有学者通过将 miR-378 转染到 ADSC-EV 中, 观察到 miR-378 可以靶向抑制 Sufu 表达和激活 Shh(Sonic Hedgehog)信号通路, 促进血管生成<sup>[49]</sup>。An 等<sup>[50]</sup>观察到, 过表达 miR-21 的 ADSC-EV 通过激活 Akt 和 ERK 信号通路, 增强 HIF-1 $\alpha$  和 VEGF 的表达来诱导血管生成, 将肿瘤 miR 与 ADSC-EV 相结合可能会成为未来无细胞治疗策略的新途径。Tao 等<sup>[51]</sup>将基因过度表达技术与生物敷料结合, 构建了一种可持续释放过表达 miR-126-3p 的含 ADSC-EV 的壳聚糖创面敷料, 该敷料可显著促进糖尿病大鼠全层皮肤缺损创面愈合及血管生成。

### 4.2 物理化学等因素预处理

通过某些物理、化学和生物因子等因素, 包括缺氧<sup>[52]</sup>、LPS<sup>[53]</sup>、过氧化氢<sup>[54]</sup>、吡格列酮<sup>[55]</sup>、阿托伐他汀<sup>[30]</sup>等预先处理 ADSC 后可以刺激 ADSC-EV 的分泌, 或使其具有更高的促血管生成活性, 其可能的机制是这些因子激活了某些信号通路, 或使得某些特定基因表达被上调。缺氧处理的 ADSC-EV 具有更高的促血管生成活性: 含有更多 VEGF、VEGFR、EGF、FGF 等物质, 且 miR-31、let-7 表达被上调, 内皮细胞的蛋白激酶 A 信号通路被激活, 从而诱导内源性 VEGF 及 VEGFR 的表达, 通过上调 VEGF/VEGFR 通路以协同促进血管生成<sup>[37, 52, 56]</sup>。

### 4.3 构建 ADSC-EV 载药系统

既往研究大多关注 ADSC-EV 内容物的作用,而忽略了 ADSC-EV 结构本身可能具有的生物学活性,正如上文提到的 ADSC-EV 的脂质成分本身即具备促创面血管生成作用。通过电穿孔或其他载药方式,将已知具有促血管生成作用的药物装载到 ADSC-EV 中,可以发挥药物与 ADSC-EV 的协同作用<sup>[57]</sup>。EV 载药在肿瘤靶向给药等内科领域已有较多研究,近几年在创面修复领域也逐渐出现了相关研究报道,苏梦等<sup>[58]</sup>将姜黄素装载于间充质干细胞 EV,观察到 EV 和姜黄素的协同作用,该复合物促进了糖尿病小鼠全层皮肤缺损的愈合。

## 5 总结及展望

ADSC-EV 未来可能会成为一种理想的创面治疗方式,但目前仍面临很多问题,如许多研究未能遵守 MISEV2018 指南规范;ADSC-EV 获取难度较大,产量较低;对促创面血管生成作用的过分关注,忽视了其潜在的负面影响。近年来,关于 ADSC-EV 的研究呈井喷式增长,但是许多研究并未遵从相应研究规范,包括缺乏必要的描述以及术语混乱等问题。有研究统计了近 10 年(2011—2021 年)EV 相关的 173 篇文献,结果显示只有 56.90% 的研究报道了 EV 的粒径分布,半数以上文章缺乏必要的研究信息<sup>[59]</sup>。ADSC-EV 受到多种因素的影响,任何条件的变化都有可能影响最终的实验结果,为了提升研究的科学性和可复现性,规范的研究记录和缜密的实验设计是十分必要的。

此外,现阶段的技术难以大量获取 EV,一定程度上限制了 ADSC-EV 的研究和应用。不同的细胞培养条件、细胞状态、细胞密度都会影响所获得的 EV 质量,这是难以实现工厂化生产的一大原因<sup>[60]</sup>。探索更高效的 EV 获取方法对于推动 ADSC-EV 的研究和临床转化至关重要,目前的研究基本上采用的都是传统的单层细胞培养以获取 EV,而组织工程形式的三维细胞培养模式可以将 EV 的产量提升 5~10 倍<sup>[61]</sup>。此外,有研究报道了一种制备间充质干细胞人工纳米囊泡的方法:将间充质干细胞通过连续多孔膜的挤压,得到粒径均一的纳米囊泡,与自然分泌的 EV 相比产量提升了 250 倍,同时还具备生物活性,具有重要研究前景<sup>[62]</sup>。打造具备 ADSC-EV 各项特性的组织工程化纳米囊泡也是当下探索的热点,已有学者利用脂质纳米粒及促血管生成 miR 构建了一种仿生的“人工 EV”,并取得成功<sup>[63]</sup>。探索更优的 ADSC-EV 获取流程或打造工程化 EV 的技术,将为早日实现创面的无细胞治疗技术打下坚实基础。

需要注意的是,现有的研究基本上都只专注于促进创面血管生成的研究,而忽视了抗血管生成的作用。新生血管为创面带来了必要的营养物质,在创面愈合后期,多余的新生血管往往通过凋亡机制消退<sup>[8]</sup>。而 ADSC-EV 所促进的创面新生血管,在创面愈合后期是否也会通过凋亡机制消退,过量的 ADSC-EV 是否会导致创面血管过度生成而形成瘢痕,也是研究者们需要考虑的问题。

综上,ADSC-EV 在促创面愈合及血管生成方向具有重要研究意义及应用前景,是当下研究的热点。已有大量研究证实 ADSC-EV 中存在大量的种类丰富的促血管生成物质及相关的 miR,通过介导各种信号通路发挥促血管生成作用,其中 VEGF/VEGFR 通路和 DLL4/Notch 通路可能是其介导的主要信号通路,此前关注较少的脂质组分也被证实具有促血管生成的生物学活性。lncRNA、circRNA 以及 mRNA 也被认为参与了 ADSC-EV 介导的促创面血管生成的作用,但目前相关研究还较少,可能会成为未来研究的新方向。将促血管生成因子、药物装载到 ADSC-EV,或者打造组织工程化 ADSC-EV 显示出巨大的研究及应用前景。同时,ADSC-EV 研究流程还需进一步规范,对机制的探索还应更加严谨和全面。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**志谢** 感谢刘湘君在本文返修过程中提供的协助

## 参考文献

- [1] Fu X. Wound healing center establishment and new technology application in improving the wound healing quality in China[J/OL]. Burns Trauma, 2020, 8: tkaa038[2022-03-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33134399/>.DOI:10.1093/burnst/tkaa038.
- [2] Nagelkerke A,Ojansivu M,van der Koog L,et al.Extracellular vesicles for tissue repair and regeneration: evidence, challenges and opportunities[J]. Adv Drug Deliv Rev,2021, 175:113775.DOI:10.1016/j.addr.2021.04.013.
- [3] Wang Y, Cheng L, Zhao H, et al. The therapeutic role of ADSC-EVs in skin regeneration[J]. Front Med (Lausanne), 2022,9:858824.DOI:10.3389/fmed.2022.858824.
- [4] Lindley LE, Stojadinovic O, Pastar I, et al. Biology and biomarkers for wound healing[J]. Plast Reconstr Surg,2016, 138(3 Suppl): 18S-28S. DOI: 10.1097/PRS.0000000000002682.
- [5] Gurtner GC,Werner S,Barrandon Y,et al.Wound repair and regeneration[J]. Nature, 2008, 453(7193): 314-321. DOI: 10.1038/nature07039.
- [6] Broughton G, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview[J]. Plast Reconstr Surg, 2006, 117(7 Suppl): 1e-S-32e-S. DOI:10.1097/01.prs.0000222562.60260.f9.
- [7] Sorg H, Tilkorn DJ, Mirastschijski U, et al. Panta Rhei: neovascularization, angiogenesis and nutritive perfusion in wound healing[J]. Eur Surg Res,2018,59(3/4):232-241.DOI: 10.1159/000492410.
- [8] DiPietro LA.Angiogenesis and wound repair: when enough is enough[J]. J Leukoc Biol, 2016, 100(5): 979-984. DOI: 10.1189/jlb.4MR0316-102R.
- [9] Koch S, Claesson-Welsh L. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012, 2(7): a006502. DOI: 10.1101/cshperspect.a006502.
- [10] Moens S,Goveia J,Stapor PC,et al.The multifaceted activity of VEGF in angiogenesis-Implications for therapy responses[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2014, 25(4): 473-482.DOI:10.1016/j.cytogfr.2014.07.009.
- [11] Guerra A,Belinha J,Jorge RN.Modelling skin wound healing angiogenesis: a review[J]. J Theor Biol,2018,459:1-17.DOI: 10.1016/j.jtbi.2018.09.020.

- [12] Li A, Dubej S, Varney ML, et al. IL-8 directly enhanced endothelial cell survival, proliferation, and matrix metalloproteinases production and regulated angiogenesis [J]. *J Immunol*, 2003, 170(6): 3369-3376. DOI: 10.4049/jimmunol.170.6.3369.
- [13] Ma J, Wang Q, Fei T, et al. MCP-1 mediates TGF-beta-induced angiogenesis by stimulating vascular smooth muscle cell migration [J]. *Blood*, 2007, 109(3): 987-994. DOI: 10.1182/blood-2006-07-036400.
- [14] Teichert M, Milde L, Holm A, et al. Pericyte-expressed Tie2 controls angiogenesis and vessel maturation [J]. *Nat Commun*, 2017, 8:16106. DOI:10.1038/ncomms16106.
- [15] Pitulescu ME, Schmidt I, Giaimo BD, et al. Dll4 and Notch signalling couples sprouting angiogenesis and artery formation [J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(8): 915-927. DOI: 10.1038/ncb3555.
- [16] Jing H, He X, Zheng J. Exosomes and regenerative medicine: state of the art and perspectives [J]. *Transl Res*, 2018, 196: 1-16. DOI:10.1016/j.trsl.2018.01.005.
- [17] Cao Y, Gang X, Sun C, et al. Mesenchymal stem cells improve healing of diabetic foot ulcer [J]. *J Diabetes Res*, 2017, 2017: 9328347. DOI:10.1155/2017/9328347.
- [18] Wong DE, Banyard DA, Santos P, et al. Adipose-derived stem cell extracellular vesicles: a systematic review\* [J]. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2019, 72(7): 1207-1218. DOI: 10.1016/j.bjps.2019.03.008.
- [19] Théry C, Witwer KW, Aikawa E, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines [J]. *J Extracell Vesicles*, 2018, 7(1): 1535750. DOI: 10.1080/20013078.2018.1535750.
- [20] Hade MD, Suire CN, Mossell J, et al. Extracellular vesicles: emerging frontiers in wound healing [J]. *Med Res Rev*, 2022, 42(6): 2102-2125. DOI:10.1002/med.21918.
- [21] Pomatto M, Gai C, Negro F, et al. Differential therapeutic effect of extracellular vesicles derived by bone marrow and adipose mesenchymal sStem cells on wound healing of diabetic ulcers and correlation to their cargoes [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(8) :3851. DOI:10.3390/ijms22083851.
- [22] Alonso-Alonso ML, García-Posadas L, Diebold Y. Extracellular vesicles from human adipose-derived mesenchymal stem cells: a review of common cargoes [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2022, 18(3): 854-901. DOI: 10.1007/s12015-021-10155-5.
- [23] Gangadaran P, Rajendran RL, Oh JM, et al. Identification of angiogenic cargo in extracellular vesicles secreted from human adipose tissue-derived stem cells and induction of angiogenesis in vitro and in vivo [J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(4):495. DOI:10.3390/pharmaceutics13040495.
- [24] Lamalice L, Le Boeuf F, Huot J. Endothelial cell migration during angiogenesis [J]. *Circ Res*, 2007, 100(6): 782-794. DOI: 10.1161/01.RES.0000259593.07661.1e.
- [25] Eirin A, Zhu XY, Puranik AS, et al. Comparative proteomic analysis of extracellular vesicles isolated from porcine adipose tissue-derived mesenchymal stem/stromal cells [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:36120. DOI:10.1038/srep36120.
- [26] Figliolini F, Raghino A, Grange C, et al. Extracellular vesicles from adipose stem cells prevent muscle damage and inflammation in a mouse model of hind limb ischemia: role of neuregulin-1 [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(1):239-254. DOI:10.1161/ATVBAHA.119.313506.
- [27] Pu CM, Liu CW, Liang CJ, et al. Adipose-derived stem cells protect skin flaps against ischemia/reperfusion injury via IL-6 expression [J]. *J Invest Dermatol*, 2017, 137(6): 1353-1362. DOI:10.1016/j.jid.2016.12.030.
- [28] Liu W, Yuan Y, Liu D. Extracellular vesicles from adipose-derived stem cells promote diabetic wound healing via the PI3K-AKT-mTOR-HIF-1 $\alpha$  signaling pathway [J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2021, 18(6): 1035-1044. DOI: 10.1007/s13770-021-00383-8.
- [29] Ren S, Chen J, Duscher D, et al. Microvesicles from human adipose stem cells promote wound healing by optimizing cellular functions via AKT and ERK signaling pathways [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1):47. DOI:10.1186/s13287-019-1152-x.
- [30] Yu M, Liu W, Li J, et al. Exosomes derived from atorvastatin-pretreated MSC accelerate diabetic wound repair by enhancing angiogenesis via AKT/eNOS pathway [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 350. DOI: 10.1186/s13287-020-01824-2.
- [31] Capomaccio S, Cappelli K, Bazzucchi C, et al. Equine adipose-derived mesenchymal stromal cells release extracellular vesicles enclosing different subsets of small RNAs [J]. *Stem Cells Int*, 2019, 2019:4957806. DOI:10.1155/2019/4957806.
- [32] Liang X, Zhang L, Wang S, et al. Exosomes secreted by mesenchymal stem cells promote endothelial cell angiogenesis by transferring miR-125a [J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(11):2182-2189. DOI:10.1242/jcs.170373.
- [33] Huang B, Huang LF, Zhao L, et al. Microvesicles (MIVs) secreted from adipose-derived stem cells (ADSCs) contain multiple microRNAs and promote the migration and invasion of endothelial cells [J]. *Genes Dis*, 2020, 7(2): 225-234. DOI:10.1016/j.gendis.2019.04.005.
- [34] Welten SM, Goossens EA, Quax PH, et al. The multifactorial nature of microRNAs in vascular remodelling [J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 110(1):6-22. DOI:10.1093/cvr/cvw039.
- [35] Zhu Y, Zhang J, Hu X, et al. Extracellular vesicles derived from human adipose-derived stem cells promote the exogenous angiogenesis of fat grafts via the let-7/AGO1/VEGF signalling pathway [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 5313. DOI: 10.1038/s41598-020-62140-6.
- [36] Pi L, Yang L, Fang BR, et al. Exosomal microRNA-125a-3p from human adipose-derived mesenchymal stem cells promotes angiogenesis of wound healing through inhibiting PTEN [J]. *Mol Cell Biochem*, 2022, 477(1):115-127. DOI:10.1007/s11010-021-04251-w.
- [37] Kang T, Jones TM, Naddell C, et al. Adipose-derived stem cells induce angiogenesis via microvesicle transport of miRNA-31 [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5(4): 440-450. DOI:10.5966/sctm.2015-0177.
- [38] Xu F, Xiang Q, Huang J, et al. Exosomal miR-423-5p mediates the proangiogenic activity of human adipose-derived stem cells by targeting Sufu [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 106. DOI:10.1186/s13287-019-1196-y.
- [39] Lee DY, Deng Z, Wang CH, et al. MicroRNA-378 promotes cell survival, tumor growth, and angiogenesis by targeting SuFu and Fus-1 expression [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(51): 20350-20355. DOI: 10.1073/pnas.0706901104.
- [40] 卢颖洁. 人脂肪干细胞来源的外泌体通过 miR-486-5p 介导

- 促进皮肤创面愈合的机制研究[D].南昌:南昌大学, 2020.
- [41] Heo JS, Kim S. Human adipose mesenchymal stem cells modulate inflammation and angiogenesis through exosomes[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 2776. DOI: 10.1038/s41598-022-06824-1.
- [42] Huang C, Luo W, Wang Q, et al. Human mesenchymal stem cells promote ischemic repairment and angiogenesis of diabetic foot through exosome miRNA-21-5p[J]. *Stem Cell Res*, 2021, 52:102235. DOI:10.1016/j.scr.2021.102235.
- [43] Du L, Li G, Yang Y, et al. Exosomes from microRNA-199-3p-modified adipose-derived stem cells promote proliferation and migration of endothelial tip cells by downregulation of semaphorin 3A[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2018, 11(10):4879-4888.
- [44] Qiu J, Shu C, Li X, et al. Exosomes from linc 00511-overexpressing ADSCs accelerates angiogenesis in diabetic foot ulcers healing by suppressing PAQR3-induced Twist1 degradation[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2021, 180: 109032. DOI:10.1016/j.diabres.2021.109032.
- [45] Shi R, Jin Y, Hu W, et al. Exosomes derived from mmu\_circ\_0000250-modified adipose-derived mesenchymal stem cells promote wound healing in diabetic mice by inducing miR-128-3p/SIRT1-mediated autophagy[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2020, 318(5): C848-C856. DOI: 10.1152/ajpcell.00041.2020.
- [46] Li X, Xie X, Lian W, et al. Exosomes from adipose-derived stem cells overexpressing Nrf2 accelerate cutaneous wound healing by promoting vascularization in a diabetic foot ulcer rat model[J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(4):1-14. DOI: 10.1038/s12276-018-0058-5.
- [47] Hettich BF, Ben-Yehuda Greenwald M, Werner S, et al. Exosomes for wound healing: purification optimization and identification of bioactive components[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2020, 7(23): 2002596. DOI: 10.1002/advs. 20200 2596.
- [48] Zhang X, Jiang Y, Huang Q, et al. Exosomes derived from adipose-derived stem cells overexpressing glyoxalase-1 protect endothelial cells and enhance angiogenesis in type 2 diabetic mice with limb ischemia[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1):403. DOI:10.1186/s13287-021-02475-7.
- [49] Nan K, Zhang Y, Zhang X, et al. Exosomes from miRNA-378-modified adipose-derived stem cells prevent glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head by enhancing angiogenesis and osteogenesis via targeting miR-378 negatively regulated suppressor of fused (Sufu)[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 331. DOI: 10.1186/s13287-021-02390-x.
- [50] An Y, Zhao J, Nie F, et al. Exosomes from adipose-derived stem cells (ADSCs) overexpressing miR-21 promote vascularization of endothelial cells[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 12861. DOI:10.1038/s41598-019-49339-y.
- [51] Tao SC, Guo SC, Li M, et al. Chitosan wound dressings incorporating exosomes derived from microRNA-126-overexpressing synovium mesenchymal stem cells provide sustained release of exosomes and heal full-thickness skin defects in a diabetic rat model[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(3): 736-747. DOI: 10.5966/sctm.2016-0275.
- [52] Han Y, Ren J, Bai Y, et al. Exosomes from hypoxia-treated human adipose-derived mesenchymal stem cells enhance angiogenesis through VEGF/VEGF-R[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2019, 109:59-68. DOI:10.1016/j.biocel.2019.01.017.
- [53] Wu SC, Kuo PJ, Rau CS, et al. Increased angiogenesis by exosomes secreted by adipose-derived stem cells upon lipopolysaccharide stimulation[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(16):8877. DOI:10.3390/ijms22168877.
- [54] Bai Y, Han YD, Yan XL, et al. Adipose mesenchymal stem cell-derived exosomes stimulated by hydrogen peroxide enhanced skin flap recovery in ischemia-reperfusion injury [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 500(2): 310-317. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.04.065.
- [55] Hu Y, Tao R, Chen L, et al. Exosomes derived from pioglitazone-pretreated MSCs accelerate diabetic wound healing through enhancing angiogenesis[J]. *J Nanobiotechnology*, 2021, 19(1):150. DOI: 10.1186/s12951-021-00894-5.
- [56] Xue C, Shen Y, Li X, et al. Exosomes derived from hypoxia-treated human adipose mesenchymal stem cells enhance angiogenesis through the PKA signaling pathway [J]. *Stem Cells Dev*, 2018, 27(7): 456-465. DOI: 10.1089/scd.2017.0296.
- [57] Rezaie J, Nejadi V, Mahmoodi M, et al. Mesenchymal stem cells derived extracellular vesicles: a promising nanomedicine for drug delivery system[J]. *Biochem Pharmacol*, 2022, 203: 115167. DOI:10.1016/j.bcp.2022.115167.
- [58] 苏梦, 王昕, 张津, 等. 纳米细胞囊泡负载姜黄素促进糖尿病小鼠创面的愈合 [J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(12): 1877-1883.
- [59] Chen J, Liu R, Huang T, et al. Adipose stem cells-released extracellular vesicles as a next-generation cargo delivery vehicles: a survey of minimal information implementation, mass production and functional modification[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 182. DOI: 10.1186/s13287-022-0284 9-5.
- [60] Patel DB, Gray KM, Santharam Y, et al. Impact of cell culture parameters on production and vascularization bioactivity of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles[J]. *Bioeng Transl Med*, 2017, 2(2): 170-179. DOI: 10.1002/btm2.10065.
- [61] Debbi L, Guo S, Safina D, et al. Boosting extracellular vesicle secretion[J]. *Biotechnol Adv*, 2022, 59:107983. DOI:10.1016/j.biotechadv.2022.107983.
- [62] Ma W, Zhang X, Liu Y, et al. Polydopamine decorated microneedles with Fe-MSC-derived nanovesicles encapsulation for wound healing[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2022, 9(13):e2103317. DOI:10.1002/advs.202103317.
- [63] Aday S, Hazan-Halevy I, Chamorro-Jorganes A, et al. Bioinspired artificial exosomes based on lipid nanoparticles carrying let-7b-5p promote angiogenesis in vitro and in vivo[J]. *Mol Ther*, 2021, 29(7): 2239-2252. DOI: 10.1016/j.yymthe.2021.03.015.

(收稿日期: 2022-03-22)