

·综述·

细胞外囊泡调节免疫微环境促进糖尿病创面愈合的研究进展

周子悦 徐广超 王达利

遵义医科大学附属医院烧伤整形外科, 遵义 563003

通信作者: 王达利, Email: daliwangzy@sina.com

【摘要】 糖尿病患者长期高血糖引发的周围神经病变和血液循环不良, 常常导致足部创面、溃疡、坏疽, 并伴随着创面免疫微环境失调。细胞外囊泡(EV)治疗是一种新兴生物治疗手段, EV具有良好的生物相容性、高效能、低免疫原性和低组织毒性等优点, 通过调节微环境中的免疫反应和细胞功能, 可以降低创面的炎症水平, 在糖尿病创面治疗中显示出巨大潜力。该文综述了EV通过对糖尿病创面的微环境中的多种炎症细胞和非炎症细胞的调控参与调节创面愈合的机制, 并讨论了EV临床转化的多种手段的优势与不足, 提出EV治疗与疾病微环境相结合的概念, 为进一步推动EV的临床应用的研究提供新思路。

【关键词】 胞外囊泡; 糖尿病; 免疫调节; 组织微环境; 创面愈合; 临床转化

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82072195、82472567); 省部共建协同创新中心项目(教科科技厅函[2020]39号)

Research advances on extracellular vesicles in promoting diabetic wound healing through the regulation of immune microenvironment

Zhou Ziyue, Xu Guangchao, Wang Dali

Department of Burns and Plastic Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563003, China

Corresponding author: Wang Dali, Email: daliwangzy@sina.com

【Abstract】 Peripheral neuropathy and poor blood circulation caused by long-term hyperglycemia in patients with diabetes often leads to foot wounds, ulcers, and gangrene, which accompanied by an imbalance in the wound immune microenvironment. Extracellular vesicle (EV) therapy is an emerging biologic treatment method.

EV possesses advantages such as good biocompatibility, high efficacy, low immunogenicity, and low tissue toxicity. By modulating the immune responses and cellular functions in the microenvironment, EV can reduce inflammation levels in wounds, showing great potential in accelerating diabetic wound healing. This review summarizes the mechanism by which EV participates in regulating wound healing through the modulation of various inflammatory and non-inflammatory cells in the microenvironment of diabetic wounds, discusses the advantages and limitations of various approaches of the clinical translation of EV, proposes the concept of combining EV therapy with the disease microenvironment, thereby providing new insights for further researches on the clinical application of EV.

【Key words】 Extracellular vesicles; Diabetes mellitus; Immunomodulation; Tissue microenvironment; Wound healing; Clinical translation

Fund program: General Program of National Natural Science Foundation of China (82072195, 82472567); Collaborative Innovation Center of Chinese Ministry of Education and Guizhou Province (No. 2020-39)

创面愈合是一个复杂而有序的过程, 大致可分为炎症期、增殖期和重塑期3个阶段^[1]。正常的创面愈合过程中, 炎症细胞、巨噬细胞、淋巴细胞、Fb以及内皮细胞之间相互协调, 并分泌细胞因子与ECM相互作用, 完成创面愈合。然而, 糖尿病患者的创面愈合通常因免疫失调而长时间停留在炎症阶段, 导致创面愈合延迟^[2]。研究表明, 间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)在促进创面愈合方面有极大的前景, MSC通过促进血管生成、刺激再上皮化过程、加速肉芽组织形成, 从而促进小鼠创面愈合^[3]。近年来, 大量研究表明, MSC来源的细胞外囊泡(mesenchymal stem

DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20231215-00243

本文引用格式: 周子悦, 徐广超, 王达利. 细胞外囊泡调节免疫微环境促进糖尿病创面愈合的研究进展[J]. 中华烧伤与创面修复杂志, 2024, 40(12): 1193-1198. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20231215-00243.

Zhou ZY, Xu GC, Wang DL. Research advances on extracellular vesicles in promoting diabetic wound healing through the regulation of immune microenvironment[J]. Chin J Burns Wounds, 2024, 40(12): 1193-1198. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20231215-00243.



cell-derived extracellular vesicle, MSC-EV) 具有几乎与 MSC 同样的生物学效应, 且与 MSC 比较, MSC-EV 具有作用效率高、能够长期稳定保存且便于运输、使用剂量与时间容易控制、无肿瘤及血栓形成风险等优点^[4-5]。尽管不同来源细胞外囊泡(extracellular vesicle, EV)的生物学效应不尽相同, 但它们总体上均能调节体内免疫系统的功能, 诱导细胞增殖和组织修复^[6]。EV 可通过调节巨噬细胞向 M2 型极化, 改善 T 淋巴细胞的免疫功能^[7], 促进 Fb 迁移、增殖及新生血管形成, 从而促进糖尿病创面愈合^[8]。本文将围绕 EV 通过调节糖尿病创面免疫微环境, 促进糖尿病创面愈合的机制进行综述。

1 糖尿病创面研究现状

1.1 糖尿病免疫失调的表现

糖尿病是一种以糖代谢受损为特征的慢性疾病, 包括 1 型糖尿病(type 1 diabetes, T1D)和 2 型糖尿病。糖尿病本质上是一种自身免疫性疾病, 其特点是胰腺中产生胰岛素的 β 细胞被自身免疫系统所识别而受到攻击和破坏, 自体反应性 T 细胞被认为是主要的攻击者; 同时调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)不能有效维持胰岛 β 细胞的耐受性, 导致胰岛素相对缺乏^[9]。巨噬细胞也在 T1D 早期浸润胰岛并诱导炎症反应, 引发炎症, 加剧胰岛 β 细胞损伤^[10]。当人体长期处于高血糖状态时, 易导致免疫系统功能失调, 其中巨噬细胞和 T 淋巴细胞的失调最为显著^[11]。高血糖条件促使巨噬细胞优先向 M1 型极化, 从而引起微血管和大血管的并发症, 包括糖尿病心肌病、糖尿病肾病、糖尿病足等。

1.2 糖尿病创面的特征

炎症期是创面愈合的初始阶段, 受损的组织碎片和病原体在这一时期被清除, 创面愈合过程中炎症介质也在这一时期释放, 从而影响后续细胞增殖和再上皮化进程^[12]。正常情况下, 各种生长因子和炎症因子的相互协作使创面能够顺利地炎症期过渡至增殖期。而糖尿病患者因为能量代谢异常而导致免疫细胞功能和信号转导异常, 创面免疫微环境的平衡被破坏, 愈合过程无法进入下一阶段, 形成慢性难愈合创面^[2]。此外, 糖尿病创面还会出现缺氧、血管化异常、神经损伤、表皮神经数量减少等表现。总之, 这些因素通过使创面长期处于炎症阶段而导致糖尿病患者创面延迟愈合。

1.3 糖尿病创面的治疗方法

近年来, 临床上糖尿病创面的治疗方法主要包括创面有效清创、患肢压力卸载、敷料和骨水泥的使用^[13-14]、创面负压吸引治疗等^[15]。MSC 的应用是一种极具潜力的新型治疗方法, MSC 通过分泌免疫细胞因子形成再生微环境, 调控创面中免疫细胞的功能^[16]。目前普遍认为 MSC 旁分泌产物 EV 是发挥这一生物学效应的关键物质。EV 作为细胞间重要的通信媒介, 通过负载脂质、代谢产物、DNA、蛋白质和 RNA(如 mRNA、转运 RNA 等)等发挥生物学效应^[17]。

2 EV 的定义及免疫调节作用

2.1 EV 的定义

国际细胞外囊泡研究协会 2018 年发布的指南将 EV 定义为从细胞中自然释放的颗粒, 由脂质双层包裹, 不包含功能性细胞核, 不具备独立复制功能^[18]。EV 主要由外泌体、大囊泡、微囊泡、微粒、凋亡小体等组成。然而, 由于外泌体和微囊泡之间缺乏特异性差异标志物, 研究者尚未能在实验系统中建立可靠的亚细胞来源标志物, 故外泌体和微囊泡这两个术语一直被交替使用。国际细胞外囊泡研究协会 2018 年的指南建议使用 EV 为前缀的术语, 例如根据其尺寸、密度、组成成分或细胞来源等进行命名, 用来取代外泌体和微囊泡这些在历史上有矛盾或者生物发生不准确的术语^[18]。目前, EV 已作为疾病预后和诊断的生物标志物、药物递送载体、细胞治疗替代品和癌症疫苗等被应用于临床。其中 MSC-EV 和树突状细胞(dendritic cell, DC)来源的 EV 被普遍用于炎症性疾病的治疗, 并被用作药物递送载体^[19]。此外, EV 的膜性结构使其内容物更稳定, 内部的脂质和蛋白质组成可被最大限度地保留, 并保持较高的药代动力学特性, 进而扩大其效能, 故而即使 EV 递送药物的量较小, 也能发挥与常规药物治疗法相同甚至更优的疗效, 从而降低组织毒性, 减少不良反应^[20]。

2.2 EV 的免疫调节作用

不同细胞、组织或器官来源的 EV 具有异质性。研究表明, 各种来源的 EV, 如 MSC-EV、体液循环来源 EV 以及皮肤细胞(KC、Fb)来源 EV, 在多种自身免疫性疾病(包括银屑病、炎症性肠病、多发性硬化症、类风湿关节炎和 T1D)^[21-25]的治疗中展现出了潜力。在 T1D 中, 骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC)来源的 EV(BMSC-EV)主要通过诱导 Treg 和 DC 表现出免疫调节作用, 从而延缓 T1D 患者的血糖升高速率^[26]。在 T1D 小鼠模型中, MSC-EV 显示出抑制抗原提呈细胞、Th1、Th17 的增殖和激活, 延缓 T1D 小鼠的血糖升高时间; 同时反应性 CD4⁺T 细胞分泌的 γ 干扰素、IL-12、TNF- α 、IL-6 和 IL-17 等炎症细胞因子的表达下降^[27], 从而减轻 T1D 小鼠体内的炎症免疫反应^[28]。研究表明, 在包括 T1D 在内的许多自身免疫性疾病中, Treg 能介导免疫调节缺陷^[29], 通过加强 Treg 的功能, 可以提高其对自体效应 T 细胞的调节作用, 减少促炎反应, 以及维持免疫系统的平衡状态^[30]。研究表明, 即使部分 T1D 患者中 Treg 的数量或功能处于正常区间, 但增强其功能或活性仍有助于改善免疫失衡, 延缓 T1D 的发展^[9]。另有研究表明, 从 T1D 患者外周血液分离的 DC 经 MSC-EV 预处理后, 在体外胰岛抗原刺激的 T 细胞群中诱导了更高比例的叉头翼状螺旋转录因子 p3⁺ Treg, 揭示了 EV 可能通过诱导 Treg 的表达来调节免疫微环境平衡^[31]。

3 EV 调节糖尿病创面免疫微环境

3.1 糖尿病创面的免疫微环境

炎症细胞、非炎症细胞和 ECM 共同构成了创面的免疫

微环境,它们之间的相互作用是调节创面愈合的关键^[32]。当皮肤受到内部或外部的损害时,人体适应性免疫系统的炎症细胞(主要包括巨噬细胞、肥大细胞、DC和T细胞等)可被自身产生的抗原或外界来源的抗原激活^[1,33]。此外,ECM和非炎症细胞的功能也不可忽视。ECM与免疫细胞的黏附和迁移过程密切相关。而一些非炎症细胞亚群,如KC、Fb和血管内皮细胞,也可以通过分泌细胞因子、趋化因子等生物活性物质,参与病原体清除和免疫调节^[34]。其中,KC作为表皮中数量最多的细胞,除了在皮肤表层提供物理防御,还作为皮肤中的固有免疫细胞通过表达模式识别受体、Toll样受体以及分泌细胞因子等参与皮肤免疫调节^[35]。Fb具有激活免疫反应和调节损伤相关分子模式的作用,被证明是关键免疫前哨细胞,在小鼠糖尿病创面愈合中发挥重要作用^[36]。因此,非炎症细胞的应用是潜在的慢性创面治疗方法。正是这一系列正确而协调的免疫微环境调控,确保了创面的正常愈合。然而,当这个过程受到干扰时,皮肤创面不能正常愈合,最终演变成慢性创面。

3.2 EV调节炎症细胞

研究表明,在糖尿病创面愈合过程中,EV可通过与创面微环境中失调的免疫细胞相互作用,参与调控糖尿病创面的炎症反应,促进糖尿病大鼠创面愈合^[37]。其中,微小RNA(microRNA, miRNA)是EV发挥相应作用的主要物质。MSC-EV中的miRNA-223能够通过靶向*PHN0X1*基因,调节巨噬细胞向M2型极化,发挥抗炎作用,从而促进小鼠创面愈合^[7]。Ti等^[38]研究显示,与未经处理的MSC相比,经过LPS预处理的MSC表现出增强的EV旁分泌作用,miRNA-let-7b在LPS预处理MSC-EV中的表达水平升高,并通过Toll样受体4/核因子 κ B/信号转导和转录激活因子3/MAPK信号通路调节巨噬细胞的极化,从而参与人糖尿病创面愈合。此外,对T细胞及其相关亚群的调控也是EV发挥主要作用的方式。脂肪干细胞来源EV(adipose-derived stem cell extracellular vesicle, ADSC-EV)通过提高脾抗炎细胞因子TGF- β 、IL-4和IL-10的表达,以及降低促炎性细胞因子IL-17和 γ 干扰素的表达,从而导致脾CD25⁺FOXP3⁺Treg数量增加,进而抑制链脲佐菌素诱导的T1D模型小鼠的自身免疫反应,从而促进糖尿病创面愈合^[39-40]。Wen等^[41]研究表明,人BMSC-EV和外周血单个核细胞来源的EV可以通过放大小鼠体内Treg的功能,加强对自身免疫反应的调控,从而促进创面愈合。另有研究者用MSC-EV预处理T1D患者来源的DC,并使用这些DC在体外刺激胰岛抗原T细胞群,结果显示更高比例的T细胞群被诱导向FOXP3⁺Treg分化,同时这类被刺激的T细胞群分泌的抗炎细胞因子IL-10、TGF- β 增多,从而延缓T1D的病程进展^[31]。由于EV本身的膜性结构,其在作为载体时内容物稳定性高,进而扩大其效能。源自髓鞘碱性蛋白的改变肽配体(altered peptide ligand, APL)可通过调控CD4⁺T细胞亚群来降低机体炎症水平,但由于APL稳定性较差,使得其在包括糖尿病创面在内的多种炎症性疾病中的实验研究受限。研

究表明,使用DC来源的EV作为载体,可提高APL的稳定性,诱导CD4⁺T细胞(包括Th2和Treg)的激活,并使它们能够有效地迁移至糖尿病创面,通过诱导M2型巨噬细胞的激活、抑制炎症细胞因子的表达以及增加神经营养因子的释放,从而促进正常创面微环境的建立^[42]。

3.3 EV调节非炎症细胞

MSC-EV在糖尿病创面形成中除了作为通信工具与炎症细胞交流发挥抗炎作用,还能与KC、Fb、血管内皮细胞相互作用,促进ECM重构和血管生成,从而促进糖尿病创面愈合^[43]。但不同类型干细胞来源的EV在功能和内部成分上存在细微差异。比如ADSC-EV更倾向于在血管形成方面发挥作用^[44],而BMSC-EV则优先参与细胞增殖的调控^[45]。除干细胞来源EV,KC、Fb来源的EV对驻留皮肤的免疫细胞、非免疫细胞的调控也是促进糖尿病创面愈合的关键因素。从小鼠创面边缘提取的KC来源的EV,被认为是参与调节巨噬细胞的招募以及皮肤屏障损伤后发挥作用的关键因子^[46]。而从糖尿病患者的创面组织微环境提取的Fb来源的EV通过负载上调的中长链非编码RNA,从而提高KC中基质金属蛋白酶-9的表达并延迟糖尿病创面愈合^[47]。血管内皮细胞来源的EV可以通过促进Yes相关蛋白核易位和激活磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/雷帕霉素通路来预防糖尿病小鼠Fb衰老和加速糖尿病小鼠创面愈合^[48]。

目前关于EV直接调控糖尿病创面微环境非炎症细胞的研究尚不够充分,于是研究者将目光聚集于EV与皮肤屏障稳态相关的疾病上,去探究EV如何影响糖尿病创面微环境的主要非炎症细胞Fb和KC。研究证实ADSC-EV通过装载miRNA-146a,调节热休克蛋白47和磷酸化的MAPK的水平,促进Fb的迁移和增殖,并加速新生血管的形成,从而加速小鼠创面愈合^[49]。除此之外,ADSC-EV还被证实可通过显著诱导神经酰胺的从头合成,并调节多基因表达程序(包括KC的分化、脂质代谢、细胞周期和免疫反应)来维持皮肤屏障稳定^[50]。而BMSC-EV在小鼠皮肤缺损模型中展现出减少瘢痕形成和肌Fb积累的能力,这可能是由于BMSC-EV中富集了一些特定的miRNA(包括miRNA-21、miRNA-23a、miRNA-125b和miRNA-145),这些miRNA通过抑制TGF- β /Smad2通路,在抑制肌Fb形成中发挥了关键作用,使得创面胶原沉积和瘢痕形成减少^[51]。人羊膜MSC-EV也能通过富集miRNA-135a,促进Fb的增殖和迁移^[52]。Fb由于具有高度异质性和可塑性,可在机械张力和TGF- β 等细胞因子的调控下,被引导至创面,并分化为肌Fb,参与创面的牵缩过程。Zhang等^[53]利用全层皮肤损伤大鼠模型证实人羊水干细胞来源的外泌体在创面愈合过程中的积极作用,该外泌体通过下调TGF- β ₁及miRNA-21-5p、miRNA-22-3p、miRNA-27a-3p的表达,抑制肌Fb的生成,有利于无瘢痕创面愈合。

3.4 EV的临床转化及应用前景

生物工程方法是目前EV临床转化的主要方法,比如使

用生物材料水凝胶作为 EV 载体以及利用细胞基因工程对 EV 进行修饰,以负载 EV 及扩大 EV 效能。水凝胶因具有良好的生物相容性和一定的机械强度,在创面敷料等多种软组织替代品中被广泛研究应用,被认为是最有前途的材料。水凝胶作为 EV 的载体有助于减少 EV 降解、维持 EV 活性、提高 EV 在治疗过程中的稳定性和药物递送效率而被广泛用于糖尿病创面的治疗。最近,一种基于糖尿病创面全程修复策略的新型水凝胶敷料通过装载镁离子协同工程化 EV 在创面愈合过程中发挥作用。在炎症阶段可将 BMSC 招募到创面,刺激 BMSC 的神经源性分化;在增殖阶段,新分化的神经细胞和水凝胶释放的镁离子的协同作用能有效促进血管生成,使创面发生再生神经生成-血管生成循环^[54],为水凝胶参与创面的全程修复提供可能。此外,光固化邻苯二酚接枝可注射黏附性水凝胶与 EV 的结合,可充分发挥缓释 EV 的效应,也为 EV 应用于临床创面治疗提供新方法^[55]。然而,水凝胶在降解方面的不足仍然是需要解决的问题,未来的研究应该聚焦于克服这些问题,以提升水凝胶作为 EV 载体的性能和可控性。

另外,最近的研究报道将有潜力的蛋白质与具有高 EV 分选能力的支架蛋白基因(*TSPAN2* 和 *TSPAN3*)结合,能让 EV 更高效地转运药物等,这是一种极具潜力的 EV 装载应用策略^[56]。此外,利用细胞基因工程生产 EV 也逐渐成为研究热点,这种 EV 可在细胞之间自然传递并转移蛋白质及核酸,无须进行化学修饰,即可将生物制剂精准地靶向递送至细胞。基于以上方法,EV 临床应用的可行性有了更多探讨的空间。

4 总结与展望

糖尿病创面的微环境相较于急性创面更为复杂。糖尿病患者除了存在免疫功能失调外,创面还存在缺血、缺氧、末梢神经营养不足、异常炎症状态等。其中,晚期糖基化终末产物的积累,与创面中浸润的巨噬细胞上的糖基化终末产物受体结合,激活核因子 κ B 通路,引起促炎性细胞因子如 TNF- α 的产生,导致巨噬细胞被滞留于 M1 型状态,使创面持续处于过度炎症状态,影响组织的修复进程^[57-58]。而 EV 的应用作为一种新兴的生物治疗手段,通过调节创面微环境中的免疫反应和细胞功能,展现出加速糖尿病创面愈合的巨大潜力。大量研究显示,EV 能够通过调控多种炎症细胞和非炎症细胞,参与创面愈合,尤其是干细胞来源的 EV 在促进创面愈合方面显示出重要作用。

尽管细胞来源 EV 展示出极具潜力的促进创面愈合的能力,但 EV 在大规模生产和临床应用中,仍面临着巨大的挑战,如传统动物组织及其分离细胞来源的 EV 存在培养困难、培养周期长、产量低及易污染等不足,使得临床转化难度大。针对这些不足,越来越多的研究者将目光转移至细菌和植物组织来源的 EV。细菌具有增殖快速、基因编辑方法丰富、培养技术成熟等优势^[59]。创面微生物环境的平衡对于促进创面愈合至关重要,而尽管糖尿病创面微环境中

微生物的数量保持相对稳定,但其种类的多样性却有所减少。本研究团队推测,通过移植急性创面优势菌群来源的 EV,也许有益于糖尿病创面的愈合。此外,植物来源的 EV 也因安全性高、来源广泛、易于获得,且大多植物具有抗氧化、抗炎等优点^[60],在糖尿病创面治疗中具有较大的潜力。随着新技术的发展,来源于三维培养类器官的 EV 逐渐走进人们的视野^[61],由于类器官的微环境更加接近人体,因此源于类器官的 EV 与传统人体或动物来源的组织及细胞来源的 EV 相比,具有产量高及内容物丰富的优势。相信随着相关技术的不断完善,EV 将在未来成为糖尿病创面治疗的重要工具,为患者带来更好的治疗效果。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, et al. Wound healing: a cellular perspective[J]. *Physiol Rev*, 2019, 99(1): 665-706. DOI:10.1152/physrev.00067.2017.
- [2] Patel S, Srivastava S, Singh MR, et al. Mechanistic insight into diabetic wounds: pathogenesis, molecular targets and treatment strategies to pace wound healing[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112: 108615. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.108615.
- [3] Aryan A, Bayat M, Bonakdar S, et al. Human bone marrow mesenchymal stem cell conditioned medium promotes wound healing in deep second-degree burns in male rats[J]. *Cells Tissues Organs*, 2018, 206(6): 317-329. DOI: 10.1159/000501651.
- [4] Hu P, Yang Q, Wang Q, et al. Mesenchymal stromal cells-exosomes: a promising cell-free therapeutic tool for wound healing and cutaneous regeneration[J/OL]. *Burns Trauma*, 2019, 7: 38[2023-12-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31890717/>. DOI:10.1186/s41038-019-0178-8.
- [5] Bian D, Wu Y, Song G, et al. The application of mesenchymal stromal cells (MSCs) and their derivative exosome in skin wound healing: a comprehensive review[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 24. DOI: 10.1186/s13287-021-02697-9.
- [6] Gesmundo I, Pardini B, Gargantini E, et al. Adipocyte-derived extracellular vesicles regulate survival and function of pancreatic β cells[J]. *JCI Insight*, 2021, 6(5): e141962. DOI: 10.1172/jci.insight.141962.
- [7] He X, Dong Z, Cao Y, et al. MSC-derived exosome promotes M2 polarization and enhances cutaneous wound healing[J]. *Stem Cells Int*, 2019, 2019: 7132708. DOI: 10.1155/2019/7132708.
- [8] Yan C, Chen J, Wang C, et al. Milk exosomes-mediated miR-31-5p delivery accelerates diabetic wound healing through promoting angiogenesis[J]. *Drug Deliv*, 2022, 29(1): 214-228. DOI:10.1080/10717544.2021.2023699.
- [9] Hull CM, Peakman M, Tree TIM. Regulatory T cell dysfunction in type 1 diabetes: what's broken and how can we fix it? [J]. *Diabetologia*, 2017, 60(10): 1839-1850. DOI: 10.1007/s00125-017-4377-1.
- [10] Zhang J, Xiao Y, Hu J, et al. Lipid metabolism in type 1 diabetes mellitus: pathogenetic and therapeutic implications[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 999108. DOI: 10.3389/fimmu.2022.999108.
- [11] Zhang Q, Wang J, Yadav DK, et al. Glucose metabolism: the metabolic signature of tumor associated macrophage[J].

- Front Immunol,2021,12:702580.DOI:10.3389/fimmu.2021.702580.
- [12] Raziyeva K, Kim Y, Zharkinbekov Z, et al. Immunology of acute and chronic wound healing[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(5):700.DOI:10.3390/biom11050700.
- [13] Dai J, Zhou Y, Mei S, et al. Application of antibiotic bone cement in the treatment of infected diabetic foot ulcers in type 2 diabetes[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2023, 24(1): 135.DOI:10.1186/s12891-023-06244-w.
- [14] Armstrong DG, Tan TW, Boulton AJM, et al. Diabetic foot ulcers: a review[J]. *JAMA*, 2023, 330(1):62-75. DOI:10.1001/jama.2023.10578.
- [15] Ji S, Liu X, Huang J, et al. Consensus on the application of negative pressure wound therapy of diabetic foot wounds [J/OL]. *Burns Trauma*, 2021, 9: tkab018[2023-12-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34212064/>. DOI: 10.1093/burnst/tkab018.
- [16] Che Z, Ye Z, Zhang X, et al. Mesenchymal stem/stromal cells in the pathogenesis and regenerative therapy of inflammatory bowel diseases[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 952071.DOI:10.3389/fimmu.2022.952071.
- [17] Fujii S, Miura Y. Immunomodulatory and regenerative effects of MSC-derived extracellular vesicles to treat acute GVHD[J]. *Stem Cells*, 2022, 40(11): 977-990. DOI: 10.1093/stmcls/sxac057.
- [18] 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.
- [19] Rezaie J, Feghhi M, Etemadi T. A review on exosomes application in clinical trials: perspective, questions, and challenges[J]. *Cell Commun Signal*, 2022, 20(1): 145. DOI: 10.1186/s12964-022-00959-4.
- [20] Zhou Y, Du T, Yang CL, et al. Extracellular vesicles encapsulated with caspase-1 inhibitor ameliorate experimental autoimmune myasthenia gravis through targeting macrophages[J]. *J Control Release*, 2023, 364: 458-472.DOI:10.1016/j.jconrel.2023.11.006.
- [21] Ando Y, Mazzurana L, Forkel M, et al. Downregulation of microRNA-21 in colonic CD3⁺ T cells in UC remission[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2016, 22(12):2788-2793. DOI:10.1097/MIB.0000000000000969.
- [22] Wang L, Wang C, Jia X, et al. Circulating exosomal miR-17 inhibits the induction of regulatory T cells via suppressing TGFBR II expression in rheumatoid arthritis[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 50(5):1754-1763. DOI:10.1159/000494793.
- [23] Ebrahimkhani S, Vafaei F, Young PE, et al. Exosomal microRNA signatures in multiple sclerosis reflect disease status[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 14293. DOI: 10.1038/s41598-017-14301-3.
- [24] Lakhter AJ, Pratt RE, Moore RE, et al. Beta cell extracellular vesicle miR-21-5p cargo is increased in response to inflammatory cytokines and serves as a biomarker of type 1 diabetes[J]. *Diabetologia*, 2018, 61(5): 1124-1134. DOI: 10.1007/s00125-018-4559-5.
- [25] Jiang M, Fang H, Shao S, et al. Keratinocyte exosomes activate neutrophils and enhance skin inflammation in psoriasis[J]. *FASEB J*, 2019, 33(12):13241-13253. DOI:10.1096/fj.201900642R.
- [26] Vasanthan J, Gurusamy N, Rajasingh S, et al. Role of human mesenchymal stem cells in regenerative therapy[J]. *Cells*, 2020, 10(1):54. DOI:10.3390/cells10010054.
- [27] 纪鸥洋, 方均燕, 宋阿会, 等. 间充质干细胞外泌体对腹膜间皮细胞高糖损伤的作用研究[J]. *组织工程与重建外科杂志*, 2022, 18(4): 294-299. DOI: 10.3969/j.issn.1673-0364.2022.04.002.
- [28] Shigemoto-Kuroda T, Oh JY, Kim DK, et al. MSC-derived extracellular vesicles attenuate immune responses in two autoimmune murine models: type 1 diabetes and uveoretinitis[J]. *Stem Cell Reports*, 2017, 8(5): 1214-1225. DOI:10.1016/j.stemcr.2017.04.008.
- [29] Dominguez-Villar M, Hafler DA. Regulatory T cells in autoimmune disease[J]. *Nat Immunol*, 2018, 19(7):665-673. DOI:10.1038/s41590-018-0120-4.
- [30] McClymont SA, Putnam AL, Lee MR, et al. Plasticity of human regulatory T cells in healthy subjects and patients with type 1 diabetes[J]. *J Immunol*, 2011, 186(7):3918-3926. DOI: 10.4049/jimmunol.1003099.
- [31] Favaro E, Carpanetto A, Caorsi C, et al. Human mesenchymal stem cells and derived extracellular vesicles induce regulatory dendritic cells in type 1 diabetic patients[J]. *Diabetologia*, 2016, 59(2): 325-333. DOI: 10.1007/s00125-015-3808-0.
- [32] Boniakowski AE, Kimball AS, Jacobs BN, et al. Macrophage-mediated inflammation in normal and diabetic wound healing[J]. *J Immunol*, 2017, 199(1): 17-24. DOI:10.4049/jimmunol.1700223.
- [33] Komi DEA, Khomtchouk K, Santa Maria PL. A review of the contribution of mast cells in wound healing: involved molecular and cellular mechanisms[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2020, 58(3): 298-312. DOI: 10.1007/s12016-019-08729-w.
- [34] Portou MJ, Baker D, Abraham D, et al. The innate immune system, toll-like receptors and dermal wound healing: a review[J]. *Vascul Pharmacol*, 2015, 71:31-36. DOI:10.1016/j.vph.2015.02.007.
- [35] Dainichi T, Kitoh A, Otsuka A, et al. The epithelial immune microenvironment (EIME) in atopic dermatitis and psoriasis[J]. *Nat Immunol*, 2018, 19(12): 1286-1298. DOI: 10.1038/s41590-018-0256-2.
- [36] Liu Y, Liu Y, He W, et al. Fibroblasts: immunomodulatory factors in refractory diabetic wound healing[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 918223. DOI: 10.3389/fimmu.2022.918223.
- [37] 孙锦, 史宸硕, 王达利. 间充质干细胞外泌体在创面愈合和增生性瘢痕防治方面的研究进展[J]. *中华烧伤杂志*, 2021, 37(5): 495-500. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20200410-00220.
- [38] Ti D, Hao H, Tong C, et al. LPS-preconditioned mesenchymal stromal cells modify macrophage polarization for resolution of chronic inflammation via exosome-shuttled let-7b[J]. *J Transl Med*, 2015, 13:308. DOI: 10.1186/s12967-015-0642-6.
- [39] Nojehdehi S, Soudi S, Hesampour A, et al. Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cell-derived exosomes on experimental type-1 autoimmune diabetes[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(11): 9433-9443. DOI:10.1002/jcb.27260.
- [40] 唐黎璐, 张筱薇, 金俊俊, 等. 脂肪源性间充质干细胞外泌体在慢性创面治疗中作用机制的研究进展[J]. *中华烧伤杂志*,

- 2021,37(2):191-195.DOI:10.3760/cma.j.cn501120-20200220-00076.
- [41] Wen D, Peng Y, Liu D, et al. Mesenchymal stem cell and derived exosome as small RNA carrier and immunomodulator to improve islet transplantation[J]. *J Control Release*, 2016, 238: 166-175. DOI: 10.1016/j.jconrel.2016.07.044.
- [42] Wang S, Li G, Liang X, et al. Small extracellular vesicles derived from altered peptide ligand-loaded dendritic cell act as a therapeutic vaccine for spinal cord injury through eliciting CD4⁺ T cell-mediated neuroprotective immunity[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2024, 11(3): e2304648. DOI: 10.1002/adv.202304648.
- [43] Zhou C, Zhang B, Yang Y, et al. Stem cell-derived exosomes: emerging therapeutic opportunities for wound healing[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2023, 14(1): 107. DOI: 10.1186/s13287-023-03345-0.
- [44] 付文, 王向臣, 王延桂, 等. 脂肪源性间充质干细胞外泌体在大鼠全层皮肤缺损创面愈合中的机制研究[J]. *组织工程与重建外科杂志*, 2023, 19(4): 342-351, 379. DOI: 10.3969/j.issn.1673-0364.2023.04.003.
- [45] Pomatto M, Gai C, Negro F, et al. Differential therapeutic effect of extracellular vesicles derived by bone marrow and adipose mesenchymal stem 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.
- [46] Zhou X, Brown BA, Siegel AP, et al. Exosome-mediated crosstalk between keratinocytes and macrophages in cutaneous wound healing[J]. *ACS Nano*, 2020, 14(10): 12732-12748. DOI: 10.1021/acsnano.0c03064.
- [47] Wu Y, Wu X, Wang J, et al. Fibroblast-derived extracellular vesicle-packaged long noncoding RNA upregulated in diabetic skin enhances keratinocyte MMP-9 expression and delays diabetic wound healing[J]. *Lab Invest*, 2023, 103(3): 100019. DOI: 10.1016/j.labinv.2022.100019.
- [48] Wei F, Wang A, Wang Q, et al. Plasma endothelial cells-derived extracellular vesicles promote wound healing in diabetes through YAP and the PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(12): 12002-12018. DOI: 10.18632/aging.103366.
- [49] Chen Md G, Wu Md Y, Zou Md L, et al. Effect of microRNA-146a modified adipose-derived stem cell exosomes on rat back wound healing[J]. *Int J Low Extrem Wounds*, 2023, 22(4): 704-712. DOI: 10.1177/15347346211038092.
- [50] Shin KO, Ha DH, Kim JO, et al. Exosomes from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells promote epidermal barrier repair by inducing de novo synthesis of ceramides in atopic dermatitis[J]. *Cells*, 2020, 9(3): 680. DOI: 10.3390/cells9030680.
- [51] Zhang Y, Pan Y, Liu Y, et al. Exosomes derived from human umbilical cord blood mesenchymal stem cells stimulate regenerative wound healing via transforming growth factor- β receptor inhibition[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 434. DOI: 10.1186/s13287-021-02517-0.
- [52] 陈涛, 高绍莹, 郝艺, 等. 人羊膜间充质干细胞外泌体通过微小RNA-135a 促进成纤维细胞迁移实验研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2020, 34(2): 234-239. DOI: 10.7507/1002-1892.201907136.
- [53] Zhang Y, Yan J, Liu Y, et al. Human amniotic fluid stem cell-derived exosomes as a novel cell-free therapy for cutaneous regeneration[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 685873. DOI: 10.3389/fcell.2021.685873.
- [54] Xiong Y, Lin Z, Bu P, et al. A whole-course-repair system based on neurogenesis-angiogenesis crosstalk and macrophage reprogramming promotes diabetic wound healing[J]. *Adv Mater*, 2023, 35(19): e2212300. DOI: 10.1002/adma.202212300.
- [55] Gu C, Li Y, Liu J, et al. Neural stem cell-derived exosomes-loaded adhesive hydrogel controlled-release promotes cerebral angiogenesis and neurological function in ischemic stroke[J]. *Exp Neurol*, 2023, 370: 114547. DOI: 10.1016/j.expneurol.2023.114547.
- [56] Zheng W, Rädler J, Sork H, et al. Identification of scaffold proteins for improved endogenous engineering of extracellular vesicles[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 4734. DOI: 10.1038/s41467-023-40453-0.
- [57] Ko KW, Yoo YI, Kim JY, et al. Attenuation of tumor necrosis factor- α induced inflammation by umbilical cord-mesenchymal stem cell derived exosome-mimetic nanovesicles in endothelial cells[J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2020, 17(2): 155-163. DOI: 10.1007/s13770-019-00234-7.
- [58] Zhang S, Jiang L, Hu H, et al. Pretreatment of exosomes derived from hUCMSCs with TNF- α ameliorates acute liver failure by inhibiting the activation of NLRP3 in macrophage [J]. *Life Sci*, 2020, 246: 117401. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117401.
- [59] Liu H, Wang Y, Hou Y, et al. Fitness of chassis cells and metabolic pathways for l-cysteine overproduction in *Escherichia coli*[J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(50): 14928-14937. DOI: 10.1021/acs.jafc.0c06134.
- [60] Han R, Wu Y, Han Y, et al. Engineered plant extracellular vesicles for autoimmune diseases therapy[J]. *Nano Research*, 2023, 17(4): 2857-2873. DOI: 10.1007/s12274-023-6112-1.
- [61] Liu H, Sun J, Wang M, et al. Intestinal organoids and organoids extracellular vesicles for inflammatory bowel disease treatment[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 465: 142842. DOI: 10.1016/j.cej.2023.142842.

(收稿日期: 2023-12-15)