

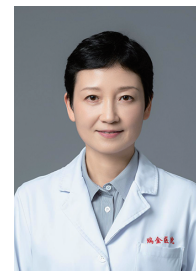
· 专家论坛 ·

本文亮点:

- (1) 重点关注创面修复中细胞治疗的新方法、新技术、新材料、新应用,跟进其从实验室到临床前研究的最新进展。
- (2) 解析现阶段将细胞治疗应用于临床创面修复的困境,探讨细胞制品制备与质量标准体系建设的重点与难点,期待实现细胞治疗的有效临床转化。

Highlights:

- (1) This article focused on new methods, technologies, materials, and applications of cell therapy in wound repair, and followed up the latest progress from laboratory to preclinical research.
- (2) It analyzed the current dilemma in applying cell therapy to wound repair at clinical settings, discussed the key points and difficulties in the preparation and quality standard system construction of cell products, and expected to realize the clinical translation of cell therapy.



细胞治疗与创面修复

刘琰 刘欣盈

上海交通大学医学院附属瑞金医院灼伤整形科,上海 200025

通信作者:刘琰,Email:rjliuyan@126.com

【摘要】 细胞治疗包括以活细胞为基础的治疗手段和以细胞外囊泡及生物活性分子为主的细胞衍生物治疗方法。细胞治疗作为近年研究热点,是解决难愈创面修复这一临床难题的潜在可行策略。材料科学和细胞生物学的快速发展拉开了细胞治疗的新序幕,同时也提出了如何进一步优化细胞治疗并将其应用于创面修复的新命题。该文回顾了用于创面治疗的细胞类型,总结了基于细胞治疗新技术的应用和探索,梳理了现有细胞治疗临床应用的困境,并展望了创面修复中细胞治疗的发展趋势,以期促进创新性细胞治疗体系的发展,进一步提高创面临床治疗效果。

【关键词】 细胞生物学; 胞外囊泡; 细胞治疗; 创面修复; 细胞递送

基金项目:国家自然科学基金面上项目(82072173、82172199、82272262);上海市生物医药领域定向项目(22DX1900600);上海市重中之重研究中心项目(2023ZZ02013);上海市临床重点专科项目(shslczdzk02302)

Cell therapy and wound repair

Liu Yan, Liu Hsinying

Department of Burn, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong

University School of Medicine, Shanghai 200025, China

Corresponding author: Liu Yan, Email: rjliuyan@126.com

【Abstract】 Cell therapy includes living cell-based therapy and cell-derivative therapy that is based on extracellular vesicles and bioactive molecules. As a research hotspot in recent years, cell therapy is a potential strategy to solve the clinical problem of refractory wound repair. The rapid development of material science and cell biology has opened a new prelude to cell therapy, and at the same time, puts forward a new proposition on how to further optimize and apply cell therapy to wound repair. This article reviewed the cell types used for wound treatment, summarized the application and exploration of cell therapy-based new technologies, sorted out the difficulties in the clinical application of existing cell therapies, and looked into the future development trend of cell therapy for wound repair, in order to promote the development of innovative cell therapy system and further improve the clinical wound treatment effect.

【Key words】 Cell biology; Extracellular vesicles; Cell therapy; Wound repair; Cell delivery

Fund program: General Program of National Natural Science Foundation of China (82072173, 82172199, 82272262); Shanghai Directed Projects of

DOI:10.3760/cma.j.cn501225-20240108-00009

本文引用格式:刘琰,刘欣盈.细胞治疗与创面修复[J].中华烧伤与创面修复杂志,2024,40(3):221-229. DOI:10.3760/cma.j.cn501225-20240108-00009.

Liu Y, Liu HY. Cell therapy and wound repair[J]. Chin J Burns Wounds, 2024, 40(3): 221-229. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20240108-00009.



Biopharmaceutical Field (22DX1900600); Shanghai Research Center for Burn and Wound Repair (2023ZZ02013); Shanghai Municipal Key Clinical Speciality of China (shslczdzk02302)

皮肤是人体最大的器官,由多种细胞和 ECM 构成,并通过细胞间以及细胞与 ECM 间的相互调控实现皮肤复杂的生理功能。烧创伤创面等急性创面可导致皮肤组织细胞群丢失、皮肤结构和功能的完整性破坏,糖尿病足溃疡、下肢静脉溃疡、压力性溃疡等慢性创面可致干/祖细胞、Fb 和 KC 等创面愈合中的关键细胞群生物学功能异常。细胞治疗指将具有某些特定功能的自体或同种异体细胞以及细胞活性成分递送到患者体内,利用其多种生物学功能修复和重建由外伤或疾病引起的组织和器官结构损害或缺损,从而恢复机体生理功能的治疗方式。1975 年 Rheinwald 和 Green^[1]成功从人皮肤组织中分离培养出 KC,而后有学者将培养的人 KC 膜片作为表皮替代物用于治疗严重烧伤患者创面,开创了创面修复领域细胞治疗的时代^[2-3]。近年来,细胞生物学、免疫学、材料科学等学科的迅速发展,为加速细胞治疗进入临床应用带来了机遇。

1 用于创面治疗的细胞类型

细胞治疗的本质是通过自体细胞增殖、迁移、分化等功能发挥“替代”受损细胞和组织作用,或是利用自体或同种异体细胞在机体内的“旁分泌”作用,即通过分泌的生长因子、炎症介质、ECM 等活性成分发挥调控作用。创面愈合过程中,中性粒细胞、巨噬细胞、淋巴细胞等免疫细胞通过改变创面微环境,发挥协助、启动创面愈合和调控后续修复过程的作用;KC 和 Fb 等创面修复细胞以及处于体液循环的干/祖细胞则是在组织形成阶段完成皮肤组织修复和功能重建。

1.1 KC

KC 约占表皮细胞总数的 80%。培养自体表皮移植(cultured epithelial autograft, CEA)膜片在 20 世纪 80 年代就已开始应用于临床。有研究者将 CEA 膜片用于大面积烧伤创面的治疗,结果显示膜片成活率可达 72.7%,从而使得患者生存率达 91%^[4]。该研究还显示,由于缺乏真皮成分和结构的支持,移植单纯 CEA 膜片后创面基底膜结构形成不良,并且创面易出现水泡、破溃等。以纤维蛋白作为培养表皮支架的方法可在一定程度上改善创面的愈合质量,但其效果远不如移植自体刃厚皮(网状)。

故移植 CEA 膜片时,需联合刃厚微小皮片、刃厚网状自体皮片等以满足愈合皮肤的生理功能需要。此外,较长的体外培养周期和高昂的培养成本亦限制了 CEA 膜片的临床应用^[5]。

为解决自体细胞体外培养周期长的问题,一项收集、处理和输送自体皮肤细胞用以创面治疗的技术——ReCell 技术,近年面世并被用于临床,现已用于烧伤创面、瘢痕、色素异常性皮肤病的治疗。ReCell 技术可在术中收集患者约 4 cm²大小正常皮肤,经过消化、分离获得以 KC 为主且同时含有 Fb、朗格汉斯细胞和黑色素细胞等的细胞悬液,用于约 320 cm²大小创面的治疗。ReCell 技术可单独用于烧伤创面,加速浅 II 度烧伤创面愈合^[6],也可以作为自体皮肤移植的辅助手段。一项评估 ReCell 技术联合网状自体皮片移植在创面治疗中的安全性和有效性的随机对照研究(临床试验注册号: NCT04091672)显示,该技术可明显改善创面愈合质量^[7]。基于前述研究结果,美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)已将 ReCell 技术的适用范围扩大到全层皮肤缺损创面的治疗。笔者在临床实践中观察到,利用 ReCell 技术结合网状自体皮片移植修复深 II 度烧伤创面后,皮肤的弹性、瘢痕增生程度等均优于单纯使用网状自体皮片移植。

相较于自体 KC,同种异体 KC 有较强的抗原性,移植后会引发排异反应^[8]。KC 移植后可分泌 VEGF、TGF、血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)等多种生长因子,诱导创面再上皮化、调节免疫应答,发挥促愈作用。近年来,有较多以自体或同种异体 KC 来修复创面的细胞制品问世,例如用自体毛囊外根鞘来源的 KC 制作的细胞膜片 EpiDex[®]已被美国 FDA 批准用于治疗静脉溃疡^[9],其促愈机制多为细胞制品通过旁分泌组分发挥作用。

1.2 Fb

Fb 可分泌 VEGF、PDGF、TGF- β_1 和 IL-8 等生长因子和炎症介质,参与调节细胞与细胞以及细胞与 ECM 间的相互作用。体外培养的真皮 Fb 经长期低温保存仍可保持相当高的细胞活性和产生多种细胞因子的能力,使其在细胞治疗中具有独特优势。培养的自体 Fb 已被用于治疗烧伤创面^[10]、大疱性表皮松解症^[11]以及整形外科创面^[12]等。自体 Fb 鲜有感染或免疫反应风险,但较长的培养期限制了其

临床应用。目前利用 Fb 或其衍生物促进创面愈合的细胞制品的来源多为同种异体冷冻细胞。同种异体真皮 Fb 和 KC 联合培养的细胞膜片 StrataGraft® 已被应用于临床研究。有研究显示,该膜片与自体皮片移植修复创面的效果相当,且前者用于创面后无明显免疫排斥反应^[13]。目前该膜片已获美国 FDA 批准,用于治疗成人深 II 度烧伤创面。鉴于创面微环境的复杂性,采用多种体细胞较单一细胞治疗创面无疑更符合细胞生物学的需求。

1.3 干/祖细胞

终末分化细胞的多向分化和自我更新能力有限,无法实现对神经、皮肤附属物和色素细胞等皮肤重要成分的修复,而干/祖细胞可弥补前述不足。

1.3.1 间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) MSC 来源于发育早期的中胚层,属于多能干细胞,可在特定条件下被诱导分化为脂肪细胞、血管内皮细胞 (vascular endothelial cell, VEC)、血管平滑肌细胞、Fb、KC 等。此外,MSC 不表达 II 类主要组织相容性复合体分子,因而同种异体 MSC 移植后发生免疫排斥的风险小;MSC 具有来源丰富、提取方便、体外扩增容易、可通过工程化手段进一步修饰其细胞功能等特点,这使其成为具有临床应用前景的创面修复种子细胞之一。目前,骨髓、脂肪、胎盘和脐带来源的 MSC 较多被应用于创面的细胞治疗。

移植后的 MSC 可通过 2 种机制发挥作用:(1) 直接或诱导分化为特定类型细胞。MSC 可促进毛囊、汗腺和其他皮肤附属物的形成,如将 MSC 移植至裸鼠创面中可显著促进受损汗腺的修复和再生^[14]。(2) 促愈合调控作用。即通过与其他细胞的直接接触,或通过分泌多种活性物质[细胞外囊泡 (extracellular vesicle, EV)、生长因子等活性因子],以旁分泌机制发挥促愈合调控作用。移植后的 MSC 可通过免疫调控^[15]、促血管新生^[16],加速再上皮化和表皮分化^[17],诱导多种祖细胞分化、释放促愈合生物活性因子,加速创面愈合,并参与调节 ECM 重塑^[18]。已有多项临床研究将 MSC 用于急性创面^[19]、烧伤创面^[20]、糖尿病足溃疡^[21]和放射性烧伤创面^[22]等的治疗。一项应用骨髓来源 MSC 治疗 3 例骶骨压疮患者创面(临床试验注册号: NCT00535548)的研究显示,治疗侧的创面较仅用生理盐水处理的对照侧创面愈合速率显著增快^[23]。

MSC 具有响应不同微环境并发生特异性分化的能力,如缺血、炎症微环境可直接影响植入 MSC 的存活、增殖能力并可能致细胞死亡,糖尿病、肥胖和衰老等“病态”创面微环境可致 MSC 分化不良^[24],定植细菌的创面^[25]、存在血流动力学障碍的创面等^[26]均可致 MSC 植入成活率下降,甚至失败。深入探索 MSC 向靶组织迁移的机制可能与了解其特定的分化条件同等重要,因此应对移植后的 MSC 进行长期监测以确保其发挥有益效应。但目前鲜有评估创面应用 MSC 后的“植入率”的相关研究。尤其需要重视的是,干细胞的多向分化能力,即其可塑性是一把双刃剑,不稳定的细胞表型可致组织结构和/或功能发生病理性改变,甚至成瘤。未来的研究应关注对细胞分子特征和表型的鉴定,以及对细胞分离和扩增过程的调控,从而实现对 MSC 增殖或分化方向的准确控制。

1.3.2 诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cell, iPSC) iPSC 是由 2 位日本科学家于 2006 年首次提出,他们使用反转录病毒重编程小鼠胚胎 Fb 基因,从而产生了 iPSC^[27]。有研究者通过基因手段将成人 Fb 诱导成 iPSC^[28]。至今,Fb、毛发 KC、脐带血细胞和成体干细胞等多种成人体细胞均已被诱导成 iPSC。iPSC 具有与胚胎干细胞相似的极大的分化潜能,理论上可以分化成机体所有细胞和组织,而目前已报道 iPSC 可被诱导成表皮干细胞、MSC、黑色素细胞以及构成毛囊的所有细胞谱系^[29]。2013 年,Itoh 等^[30]用来自人 Fb 的 iPSC 构建出同时含 Fb 和 KC 的三维皮肤,该皮肤含有由 Fb 分泌的 VII 型胶原,可用于治疗因 VII 型胶原基因缺陷导致的营养不良性大疱性表皮松解症。在多种临床前创面模型中,iPSC 被用于糖尿病创面^[31]、烧伤创面^[32]、急性全层皮肤缺损创面^[33]的治疗。由内皮祖细胞诱导的 iPSC 可明显加快链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠全层皮肤缺损创面的愈合^[34]。有研究显示,iPSC 衍生的 KC 可促进小鼠烧伤创面的再上皮化和无瘢痕愈合^[32]。值得注意的是,与正常组织内的 Fb 相比,由 iPSC 分化而来的 Fb 和 KC 具有更强的增殖能力和 ECM 形成能力^[35]。这可能与 iPSC 分化过程中细胞表观遗传特征发生改变有关。由于体内直接注射 iPSC 有诱导肿瘤发生的可能性,目前大多数研究侧重于诱导 iPSC 定向分化为明确的细胞谱系,用于创面修复。

iPSC 源于宿主体细胞,移植后一般不会引发免

疫反应,还可避免胚胎干细胞移植存在的伦理风险;iPSC的构建不受年龄和疾病的限制,多种成人细胞均可用于构建 iPSC。但由于诱导 iPSC 的过程需使用病毒载体,存在遗传不稳定性和潜在的免疫原性,故其安全性仍有待评估^[36]。此外,现有的细胞纯化方法尚不能彻底分离不同分化程度的 iPSC,故不能排除肿瘤形成风险,这也是 iPSC 临床应用中的伦理争议。

1.3.3 脂肪干细胞(adipose-derived stem cell, ADSC) ADSC 是一种具有多向分化潜能、较强增殖活性的 MSC,可条件性分化为脂肪细胞、内皮细胞和神经细胞等。ADSC 来源丰富、获取简单、易于分离,分离后的细胞具备培养条件简单、功能稳定、存活率高、免疫排斥少等优势,在皮肤修复领域具有很大的应用价值。目前已有 ADSC 应用于糖尿病足^[37]、皮肤年轻化^[38]和萎缩性痤疮瘢痕^[39]等的临床研究。

ADSC 同样可通过增殖、分化成皮肤细胞替代和修复受损、死亡的细胞,也可通过自分泌和旁分泌途径激活环境内其他细胞,从而发挥促愈功能。一方面,ADSC 可迅速募集至受伤部位并分化为真皮 Fb、VEC 和 KC,参与修复过程;另一方面,ADSC 衍生的 EV 和可溶性因子(细胞因子和生长因子)可调控巨噬细胞表型转化、促进血管新生、ECM 重塑,显著改善创面愈合过程。但体外扩增的 ADSC 寿命较短,限制了其临床应用。为了设计永生化的来源 ADSC 细胞系,有研究者将人类端粒酶基因转移至 ADSC 中,该研究显示高表达人类端粒酶的 ADSC 在体外传代 17 次后仍具有较强的增殖与多谱系分化能力^[40]。工程永生化的 ADSC 可维持亲本细胞的干性,作为种子细胞用于创面修复具有良好的应用前景。笔者在临床实践中观察到,应用富集 ADSC 的脂肪联合刃厚皮移植修复创面后,创面质地、色素改变、皮脂分泌程度都明显优于单纯应用刃厚皮。

1.3.4 表皮干细胞 表皮干细胞(epidermal stem cell, ESC)来源于外胚层,主要分布于表皮基底层、毛囊隆突部和皮脂腺开口处,属专能干细胞,可分化为 KC、毛囊和皮脂腺等,是创面修复细胞治疗中应用广泛的细胞种类之一。ESC 可分为毛囊干细胞、滤泡间表皮干细胞及皮脂腺干细胞等类型。其中毛囊隆突部的 ESC 可向上迁移、分化形成皮脂腺,并不断地为表皮基底层提供干细胞;向下

可为毛囊根部补充毛囊干细胞。这些隆突部的干细胞具有更缓慢的细胞周期以及较强的自我更新能力,在特定微环境下它们可表现出更强的干性,并被诱导分化成皮肤附属物^[41]。若 ESC 缺失则显著影响皮肤的正常新陈代谢过程和皮肤创面修复。多项临床前或临床研究尝试利用 ESC 诱导皮肤再生的潜能、提供各类皮肤缺损创面的替代选择。ESC 可分化为黑素细胞,用于人烧伤后皮肤色素脱失的治疗^[42]。基因修饰的 ESC 可用于单纯性大疱性表皮松解症等遗传性皮肤病的治疗^[43]。与空白对照相比,小鼠全层皮肤缺损创面局部注射同种异体 ESC 可显著促进再上皮化、毛发生长和血管新生^[44];与仅涂抹不含 ESC 的溶剂相比,移植 ESC 的患者腿部慢性溃疡创面愈合速度明显加快^[45];与无基因修饰的 ESC 相比,用 EGF 或 caveolin-1 基因修饰的 ESC 促再上皮化、Fb 增殖和创面修复的能力显著增强^[46]。ESC 的临床应用同样受到细胞存活率低、损耗率高、分化方向不确定等因素的限制;此外,缺乏真皮 ECM 支撑的 ESC 的功能及创面修复能力均不尽如人意。未来,有望借助细胞重编程、递送材料、生物医学工程等新兴技术解决上述问题。

2 基于细胞治疗的新技术应用

2.1 小分子诱导细胞重编程

细胞重编程,指在特定的条件下诱导细胞进一步分化或者转分化,使其具有全能或多能的状态。通过核移植、细胞融合、小分子诱导以及分子调控等方式均可实现细胞重编程。其中小分子诱导细胞重编程具有效率高、细胞膜穿透性强、非基因组整合、操作简单等诸多优势。单一或组合小分子可实现对多个靶点和信号通路的同时调控,调整小分子浓度和作用时间还可以实现有序的细胞重编程。体外研究中,利用小分子诱导已可实现对 KC^[47]、内皮细胞^[48]和多种干细胞^[49-50]的重编程,例如降血脂药物辛伐他汀可诱导毛囊干细胞分化为 KC,并通过抗氧化的双重作用加速创面愈合^[47]。联合 5-氮杂-2'-脱氧胞苷(DNA 甲基转移酶抑制剂)、曲古抑菌素 A(组蛋白脱乙酰酶抑制剂)和 tideglusib(β -连环蛋白磷酸化抑制剂)可诱导 Fb 去分化为功能性内皮祖细胞^[48]。这些研究提示了小分子诱导细胞重编程协助细胞治疗的可行性。但现有研究尚处于基础研究阶段,仍需探索更多可实现重编程的关

键信号通路和有效手段。

2.2 细胞递送方式

局部应用和静脉注射等传统的细胞治疗递送方式,存在细胞存活率低、损耗率高以及缺乏细胞与 ECM 间的附着等局限性。如何为移植的细胞提供稳定的微环境,如探索多种细胞递送材料以携带和/或递送细胞、细胞因子/生长因子以及 ECM 成分等至相应的创面来模拟皮肤环境以支持和发挥细胞功能是亟待解决的问题。通过对生物材料的孔隙比、刚度、形貌、抗机械性等物理化学性能的调整可实现调节细胞生物化学信号通路,促进细胞黏附、增殖、迁移和分化,加速创面愈合和皮肤再生。目前广泛使用的细胞递送材料包括凝胶、真皮支架、三维生物打印敷料等。

2.2.1 凝胶

凝胶由单一或混合的水合聚合物组成,通过共价或非共价交联可控制其膨胀能力并维持构象。凝胶可以在特定 pH 值和离子强度的水环境中可逆地膨胀或收缩,维持创面湿润环境、减轻创面疼痛。包裹于凝胶中的细胞可被稳定递送至创面,参与创面修复过程且避免递送过程中受外界机械力影响^[51]。有研究显示,注射负载有 MSC 和 VEC 的透明质酸凝胶可促进难治性糖尿病足溃疡愈合^[52]。还有研究显示,由 N-羧乙基壳聚糖、己二酸二酰肼与透明质酸醛合成的新型自修复凝胶,可通过刺激 MSC 分泌多种生长因子调节创面炎症,促进肉芽组织形成、胶原沉积和新生血管形成^[53]。

2.2.2 真皮支架

皮肤真皮结构破坏是导致创面增生性瘢痕形成、皮肤功能障碍的关键因素。正常的真皮成分和三维空间结构可为 VEC、Fb 等细胞发挥生物学功能提供适宜的微环境。因此,真皮支架的构建应尽可能真实地模拟人真皮成分和空间结构。真皮支架主要以天然生物材料(ADM、变性真皮基质和瘢痕真皮基质)、生物合成材料(如透明质酸、壳聚糖和藻酸盐)和有机高分子材料(如聚乳酸-乙醇酸、聚酸酐、聚乙二醇等)为原料。真皮支架已被证明可以通过促进移植细胞的生物活性增强,改善患者创面修复情况^[54]。此外,有研究显示由合成聚合物、基因工程肽或纳米纤维静电纺丝制成的多孔生物支架结构,具有高生物活性、生物相容性和生物降解性等特性^[55]。

人工合成真皮支架可为多种创面中修复细胞的黏附、迁移和增殖提供 ECM 成分和结构支持,允

许细胞借助支架成分和空间结构发生细胞与细胞、细胞与 ECM 间的相互作用,构建更接近天然皮肤特性的皮肤组织。人工合成真皮支架应具有一定的稳定性,目前临床应用商品化产品的在体稳定性一般在 3 周以上。此外,制备支架的材料应具有免疫相容性,不诱导明显的炎症和免疫反应;支架还应具有可以被生长因子、ECM 等修饰的功能。目前国内外商品化人工合成真皮支架产品包括 PELNAC[®]、Lando[®]、Biobrane[®]、Dermagraft[®]、Integra[®]、Apligraf[®]、Matriderm[®]、Orcel[®]、Hyalomatrix[®] 和 Renoskin[®] 等,其中进口产品 PELNAC[®]和国内产品 Lando[®]目前已在国内临床得到广泛应用。

2.2.3 三维生物打印敷料

三维生物打印是一种新兴技术,它通过精确逐层沉积由活细胞、生物材料、蛋白质、多肽、激素、ECM 分子和生长因子等生物活性成分组成的“生物墨水”至待修复组织部位,为制造高生物相容性的仿生皮肤提供新的策略。三维生物打印敷料用于创面修复的优势包括:(1)快速、高通量的自动化技术可实现对大面积创面的快速覆盖,减少时间和费用成本;(2)更灵活地将多种生物材料和细胞精确沉积在不同位置,利于创面,尤其是复杂创面的神经再生、色素沉着和血管形成,可针对不同类型的创面开发个性化治疗方法;(3)“生物墨水”的高生物相容性、生物降解性等使三维生物打印敷料具有良好的机械稳定性以及形状保持能力。现已开发了由皮肤 Fb 和 KC^[56]、MSC^[57]和微 VEC^[58]组成的多种三维生物打印敷料,用于治疗各种创面,如烧伤创面^[59]、全层皮肤缺损创面^[60]和糖尿病足溃疡^[61]等。

应用各种生物墨水和种子细胞的皮肤三维生物打印敷料层出不穷,最初仅实现真皮层三维生物打印,随后开发了双层(真皮层和表皮层)三维生物打印和三层(表皮层、真皮层和皮下组织层)三维生物打印。将人源异种 Fb 和 KC 混合后以水凝胶为载体构建的包含真皮层和表皮层的双层三维生物打印敷料应用至大鼠全层皮肤缺损创面后,该材料表现出良好的生物相容性,且可加速创面再上皮化、减轻创面收缩程度^[62]。有研究显示,混悬于 ADM 预凝胶“生物墨水”中的人源 ADSC 可显著增加裸鼠全层皮肤缺损创面微血管密度、毛细血管直径,缩短创面再上皮化时间^[63]。

限制三维生物打印技术临床应用的关键在于

目前对于皮肤组织的成分和三维结构、再生修复过程的调控机制等仍未完全了解。创面愈合的网络调控机制复杂,细胞与细胞、细胞与 ECM、细胞与所处微环境中的各种物理化学因素与生物信息间的作用机制复杂,如果不能对这些因素有全面、深入的了解就不可能构建出完全符合人体皮肤结构和功能的三维生物打印皮肤。同时,由于缺乏针对不同皮肤层优化的定制“生物墨水”,目前的三维生物打印皮肤模型在模拟皮肤组织的异质性和复杂性方面也受到限制。此外,如何保持“生物墨水”的活性、保证打印方式的持续稳定以及所提供的细胞和其他活性成分能在损伤部位完成功能性皮肤组织的“自组装”以恢复损伤靶组织的功能仍是有待解决的问题。

3 细胞衍生物治疗

近年来,研究者逐渐认识到细胞衍生物在细胞治疗损伤组织中发挥的重要作用。细胞衍生物包括多种生物活性因子,如蛋白质/活性肽(神经肽、趋化因子、生长因子和转录因子)、核酸(mRNA、微小 RNA 以及诸多非编码 RNA)和脂质等,它们由细胞直接释放到细胞外或以双层 EV 的形式运输。细胞衍生物可作为细胞间交流信号,影响其周围环境中其他细胞的增殖、迁移、分化^[64]、凋亡^[65]、自噬^[66]等功能,以调控免疫应答^[67]、ECM 重塑^[68]、血管新生^[69]以及微环境中氧化应激反应^[70]等。细胞衍生物也可随体液循环分布到全身各处,发挥细胞间通讯作用,改变周围细胞的功能和代谢状态,激活内源性修复潜能。

与直接移植细胞相比, EV 及细胞分泌的可溶性因子在临床应用方面具有更多优势:(1)它们体积较小、产量大、无免疫原性且不致瘤,具备更高的安全性。(2) EV 可以在 -80°C 下长期储存,一旦有临床需求可直接应用,无须较长细胞培养周期。有研究显示,将人源 ADSC-EV 局部应用于糖尿病小鼠创面可促使 M2 型巨噬细胞数量增加,下调组织促炎介质 IL-6、IL-1 β 、 γ 干扰素和 TNF- α 的表达^[71]。有研究显示,在裸鼠创面模型中应用人源 ADSC-EV 可促进 PDGF 和 VEGF 的表达,从而在创面中可见更多具正常结构、成熟的毛囊^[69]。还有研究显示,人源 ADSC-EV 亦可能通过调节创面中施万细胞的增殖活性来改善糖尿病周围神经病变情况^[72]。

局部应用细胞衍生物具有稳定性欠佳、影响治疗效果的不足,而利用水凝胶、聚合物颗粒、纳米颗粒等药物递送系统可实现细胞衍生物的有效递送。研究显示,装载细胞分泌因子的水凝胶可明显改善大鼠烧伤创面的血管新生情况^[73];装载 ADSC 外泌体的 pH 响应、热敏、抗菌多糖创面敷料可明显加速糖尿病小鼠创面的血管化和愈合^[74]。细胞衍生物治疗依然面临挑战,如各种细胞来源分泌物的组成和功能不确定,如何根据创面类型、大小和位置选择合适的递送策略,细胞衍生物的商品化生产标准、评价、监督流程等仍待研究完善。

4 细胞治疗的局限性与展望

细胞治疗在创面修复中的发展前景已被大量临床前和临床研究证实,很可能成为未来解决大面积创面覆盖、增生性瘢痕防治、皮肤附属器官再生和神经修复的重要手段。细胞疗法的出现推动了多种可调控创面炎症反应、组织损伤及再生修复过程的治疗手段和策略的革新,将成为最有应用潜力的难愈性创面的治疗策略。但细胞治疗在临床大规模推广应用前仍有诸多尚未解决的问题。

目前人们尚不能准确把握细胞在处理及递送过程中的活性、递送的组织特异性、组织微环境情况,以及细胞在体内的迁移、分布、代谢、活性状态及到达靶组织后的细胞命运等信息,因此很难对影响细胞治疗有效性的因素进行准确判断。细胞治疗的效果与局部创面对移植细胞的“接受率”有关。临床研究显示,细胞治疗在感染创面、部分慢性创面中的应用效果不佳^[25]。另外,糖尿病等慢性疾病所导致的微环境改变,使得患者自体细胞功能异常^[75],为自体细胞治疗带来困难。因此在应用细胞治疗前需对创面情况进行评估,确定适合患者移植的细胞类型以及适宜的细胞递送方法。细胞治疗在人体创面的有效性仍需更多的临床研究支持。

生物安全风险是细胞治疗,尤其是干细胞治疗需关注的问题。干/祖细胞在创面局部微环境信号的刺激下可分化为多种细胞与组织,故仍存在干细胞分化失控的风险。目前可用于鉴别各类细胞的最佳生物标志物仍不明确,进一步增加了早期、准确判断此类风险的难度。在临床应用中,亦需警惕 iPSC 的遗传不稳定性、潜在的免疫原性和保留亲代细胞的表现遗传记忆性。此外,细胞标准化检测、应用和管理规范以及伦理规范制订对于细胞治疗

的安全推广十分重要。对于细胞的采集、制备、保存、运输、供体跟踪,以及细胞的种类、数量、给药时间、给药方式、效果评估、不良反应监测等均应有明确的界定,以确保临床细胞治疗的安全、规范、有序进行。如何实现大规模生产和纯化、减少批次间差异以及检测分析的规范化需基于现有细胞研究成果,通过研究机构、生产企业和临床机构的协同合作,共同制订解决策略。降低生产成本也是细胞治疗推广应用的关键,通过移植细胞的规范化、工程化生产有望降低生产成本。

尽管仍有诸多困难,但细胞治疗的临床转化之路必会如旭日东升,为预料之中的事。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Rheinwald JG, Green H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells[J]. *Cell*, 1975, 6(3): 331-343. DOI: 10.1016/s0092-8674(75)80001-8.
- [2] Green H, Kehinde O, Thomas J. Growth of cultured human epidermal cells into multiple epithelia suitable for grafting [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1979, 76(11):5665-5668. DOI: 10.1073/pnas.76.11.5665.
- [3] Grafting of burns with cultured epithelium prepared from autologous epidermal cells[J]. *Lancet*, 1981, 1(8211):75-78.
- [4] Atiyeh BS, Costagliola M. Cultured epithelial autograft (CEA) in burn treatment: three decades later[J]. *Burns*, 2007, 33(4):405-413. DOI: 10.1016/j.burns.2006.11.002.
- [5] Allouni A, Papini R, Lewis D. Spray-on-skin cells in burns: a common practice with no agreed protocol[J]. *Burns*, 2013, 39(7):1391-1394. DOI: 10.1016/j.burns.2013.03.017.
- [6] Cooper-Jones B, Visintini S. A noncultured autologous skin cell spray graft for the treatment of burns [M]. Ottawa (ON): Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health, 2016:1-11.
- [7] Henry S, Mapula S, Grevious M, et al. Maximizing wound coverage in full-thickness skin defects: a randomized-controlled trial of autologous skin cell suspension and widely meshed autograft versus standard autografting[J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2024, 96(1): 85-93. DOI: 10.1097/TA.0000000000004120.
- [8] Lo CH, Chong E, Akbarzadeh S, et al. A systematic review: current trends and take rates of cultured epithelial autografts in the treatment of patients with burn injuries [J]. *Wound Repair Regen*, 2019, 27(6): 693-701. DOI: 10.1111/wrr.12748.
- [9] Ortega-Zilic N, Hunziker T, Lächli S, et al. EpiDex® Swiss field trial 2004-2008[J]. *Dermatology*, 2010, 221(4): 365-372. DOI: 10.1159/000321333.
- [10] Coulomb B, Friteau L, Baruch J, et al. Advantage of the presence of living dermal fibroblasts within in vitro reconstructed skin for grafting in humans[J]. *Plast Reconstr Surg*, 1998, 101(7): 1891-1903. DOI: 10.1097/00006534-199806000-00018.
- [11] Shams F, Rahimpour A, Vahidnezhad H, et al. The utility of dermal fibroblasts in treatment of skin disorders: a paradigm of recessive dystrophic epidermolysis bullosa[J]. *Dermatol Ther*, 2021, 34(4): e15028. DOI: 10.1111/dth.15028.
- [12] Lamme EN, Van Leeuwen RT, Brandsma K, et al. Higher numbers of autologous fibroblasts in an artificial dermal substitute improve tissue regeneration and modulate scar tissue formation[J]. *J Pathol*, 2000, 190(5): 595-603. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(200004)190:5<595::AID-PATH572>3.0.CO;2-V.
- [13] Steiglitiz BM, Maher RJ, Gratz KR, et al. The viable bioengineered allogeneic cellularized construct StrataGraft® synthesizes, deposits, and organizes human extracellular matrix proteins into tissue type-specific structures and secretes soluble factors associated with wound healing[J]. *Burns*, 2024, 50(2): 424-432. DOI: 10.1016/j.burns.2023.06.001.
- [14] Cai S, Pan Y, Han B, et al. Transplantation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells transfected with ectodysplasin for regeneration of sweat glands[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2011, 124(15):2260-2268.
- [15] Castro-Manrreza ME, Montesinos JJ. Immunoregulation by mesenchymal stem cells: biological aspects and clinical applications[J]. *J Immunol Res*, 2015, 2015: 394917. DOI: 10.1155/2015/394917.
- [16] Bronckaers A, Hilkens P, Martens W, et al. Mesenchymal stem/stromal cells as a pharmacological and therapeutic approach to accelerate angiogenesis[J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 143(2): 181-196. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2014.02.013.
- [17] Guillamat-Prats R. The role of MSC in wound healing, scarring and regeneration[J]. *Cells*, 2021, 10(7):1729. DOI: 10.3390/cells10071729.
- [18] Liubaviciute A, Ivaskiene T, Biziuleviciene G. Modulated mesenchymal stromal cells improve skin wound healing[J]. *Biologicals*, 2020, 67:1-8. DOI: 10.1016/j.biologicals.2020.08.003.
- [19] Falanga V, Iwamoto S, Chartier M, et al. Autologous bone marrow-derived cultured mesenchymal stem cells delivered in a fibrin spray accelerate healing in murine and human cutaneous wounds[J]. *Tissue Eng*, 2007, 13(6): 1299-1312. DOI: 10.1089/ten.2006.0278.
- [20] Clover AJ, Kumar AH, Isakson M, et al. Allogeneic mesenchymal stem cells, but not culture modified monocytes, improve burn wound healing[J]. *Burns*, 2015, 41(3):548-557. DOI: 10.1016/j.burns.2014.08.009.
- [21] Lu D, Chen B, Liang Z, et al. Comparison of bone marrow mesenchymal stem cells with bone marrow-derived mononuclear cells for treatment of diabetic critical limb ischemia and foot ulcer: a double-blind, randomized, controlled trial[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011, 92(1): 26-36. DOI: 10.1016/j.diabres.2010.12.010.
- [22] Lataillade JJ, Doucet C, Bey E, et al. New approach to radiation burn treatment by dosimetry-guided surgery combined with autologous mesenchymal stem cell therapy [J]. *Regen Med*, 2007, 2(5):785-794. DOI: 10.2217/1746075.1.2.5.785.
- [23] Wettstein R, Savic M, Pierer G, et al. Progenitor cell therapy for sacral pressure sore: a pilot study with a novel human chronic wound model[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2014, 5(1):18. DOI: 10.1186/scrt407.
- [24] Song Y, Zhao HY, Lyu ZS, et al. Dysfunctional bone marrow

- mesenchymal stem cells in patients with poor graft function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2018, 24(10):1981-1989. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.06.021.
- [25] Levy O, Kuai R, Siren E, et al. Shattering barriers toward clinically meaningful MSC therapies[J]. *Sci Adv*, 2020,6(30): eaba6884. DOI: 10.1126/sciadv.aba6884.
- [26] Fu X, Fang L, Li X, et al. Enhanced wound-healing quality with bone marrow mesenchymal stem cells autografting after skin injury[J]. *Wound Repair Regen*, 2006, 14(3): 325-335. DOI: 10.1111/j.1743-6109.2006.00128.x.
- [27] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors[J]. *Cell*, 2006, 126(4): 663-676. DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.024.
- [28] Tanabe K, Nakamura M, Narita M, et al. Maturation, not initiation, is the major roadblock during reprogramming toward pluripotency from human fibroblasts[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013,110(30):12172-12179. DOI: 10.1073/pnas.1310291110.
- [29] Bilousova G, Chen J, Roop DR. Differentiation of mouse induced pluripotent stem cells into a multipotent keratinocyte lineage[J]. *J Invest Dermatol*, 2011, 131(4): 857-864. DOI: 10.1038/jid.2010.364.
- [30] Itoh M, Umegaki-Arao N, Guo Z, et al. Generation of 3D skin equivalents fully reconstituted from human induced pluripotent stem cells (iPSCs) [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e77673. DOI: 10.1371/journal.pone.0077673.
- [31] Martin PE, O'Shaughnessy EM, Wright CS, et al. The potential of human induced pluripotent stem cells for modelling diabetic wound healing in vitro[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2018, 132(15): 1629-1643. DOI: 10.1042/CS20171483.
- [32] Wu R, Du D, Bo Y, et al. Hsp90 α promotes the migration of iPSCs-derived keratinocyte to accelerate deep second-degree burn wound healing in mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 520(1): 145-151. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.09.120.
- [33] Yan Y, Jiang J, Zhang M, et al. Effect of iPSCs-derived keratinocytes on healing of full-thickness skin wounds in mice[J]. *Exp Cell Res*, 2019,385(1):111627. DOI: 10.1016/j.yexcr.2019.111627.
- [34] Shen YI, Cho H, Papa AE, et al. Engineered human vascularized constructs accelerate diabetic wound healing [J]. *Biomaterials*, 2016, 102: 107-119. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2016.06.009.
- [35] Aguiar C, Therrien J, Lemire P, et al. Differentiation of equine induced pluripotent stem cells into a keratinocyte lineage[J]. *Equine Vet J*, 2016, 48(3): 338-345. DOI: 10.1111/evj.12438.
- [36] Tapia N, Schöler HR. Molecular obstacles to clinical translation of iPSCs[J]. *Cell Stem Cell*, 2016,19(3):298-309. DOI: 10.1016/j.stem.2016.06.017.
- [37] Álvaro-Afonso FJ, Sanz-Corbalán I, Lázaro-Martínez JL, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells in the treatment of diabetic foot ulcers: a review of preclinical and clinical studies[J]. *Angiology*, 2020, 71(9): 853-863. DOI: 10.1177/0003319720939467.
- [38] Surowiecka A, Strużyna J. Adipose-derived stem cells for facial rejuvenation[J]. *J Pers Med*, 2022, 12(1): 117. DOI: 10.3390/jpm12010117.
- [39] Abou Eitta RS, Ismail AA, Abdelmaksoud RA, et al. Evaluation of autologous adipose-derived stem cells vs. fractional carbon dioxide laser in the treatment of post acne scars: a split-face study[J]. *Int J Dermatol*, 2019, 58(10): 1212-1222. DOI: 10.1111/ijd.14567.
- [40] Iacomi DM, Rosca AM, Tutuianu R, et al. Generation of an immortalized human adipose-derived mesenchymal stromal cell line suitable for wound healing therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2022,23 (16):8925. DOI: 10.3390/ijms23168925.
- [41] Zhang CP, Fu XB. Therapeutic potential of stem cells in skin repair and regeneration[J]. *Chin J Traumatol*, 2008, 11(4): 209-221. DOI: 10.1016/s1008-1275(08)60045-0.
- [42] Schreder A, Pierard GE, Paquet P, et al. Facing towards epidermal stem cells (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2010, 26(2):171-174. DOI: 10.3892/ijmm.00000449.
- [43] Cattaneo C, Enzo E, De Rosa L, et al. Allele-specific CRISPR-Cas9 editing of dominant epidermolysis bullosa simplex in human epidermal stem cells[J]. *Mol Ther*, 2024, 32(2):372-383. DOI: 10.1016/j.ymthe.2023.11.027.
- [44] Yang GN, Strudwick XL, Bonder C, et al. Effect of flightless I expression on epidermal stem cell niche during wound repair[J]. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 2020, 9(4): 161-173. DOI: 10.1089/wound.2018.0884.
- [45] Limat A, Mauri D, Hunziker T. Successful treatment of chronic leg ulcers with epidermal equivalents generated from cultured autologous outer root sheath cells[J]. *J Invest Dermatol*, 1996,107(1):128-135. DOI: 10.1111/1523-1747.ep12298415.
- [46] Yang R, Wang J, Zhou Z, et al. Role of caveolin-1 in epidermal stem cells during burn wound healing in rats[J]. *Dev Biol*, 2019, 445(2): 271-279. DOI: 10.1016/j.ydbio.2018.11.015.
- [47] Babakhani A, Hashemi P, Mohajer Ansari J, et al. In vitro differentiation of hair follicle stem cell into keratinocyte by simvastatin[J]. *Iran Biomed J*, 2019, 23(6): 404-411. DOI: 10.29252/ibj.23.6.404.
- [48] Samiec M, Wiater J, Wartalski K, et al. The relative abundances of human leukocyte antigen-E, α -galactosidase a and α -gal antigenic determinants are biased by trichostatin a-dependent epigenetic transformation of triple-transgenic pig-derived dermal fibroblast cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (18): 10296. DOI: 10.3390/ijms231810296.
- [49] Hou P, Li Y, Zhang X, et al. Pluripotent stem cells induced from mouse somatic cells by small-molecule compounds [J]. *Science*, 2013, 341(6146): 651-654. DOI: 10.1126/science.1239278.
- [50] Guan J, Wang G, Wang J, et al. Chemical reprogramming of human somatic cells to pluripotent stem cells[J]. *Nature*, 2022, 605(7909): 325-331. DOI: 10.1038/s41586-022-04593-5.
- [51] Burmeister DM, Stone R, Wrice N, et al. Delivery of allogeneic adipose stem cells in polyethylene glycol-fibrin hydrogels as an adjunct to meshed autografts after sharp debridement of deep partial thickness burns[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2018, 7(4): 360-372. DOI: 10.1002/sctm.17-0160.
- [52] Chen J, Liu Y, Zhang J, et al. External application of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in hyaluronic acid gel repairs foot wounds of types I and II diabetic rats through paracrine action mode[J]. *Stem Cells*

- Transl Med, 2023, 12(10): 689-706. DOI: 10.1093/stcltm/szad050.
- [53] Bai H, Kyu-Cheol N, Wang Z, et al. Regulation of inflammatory microenvironment using a self-healing hydrogel loaded with BM-MSCs for advanced wound healing in rat diabetic foot ulcers[J]. J Tissue Eng, 2020, 11: 2041731420947242. DOI: 10.1177/2041731420947242.
- [54] Bello YM, Falabella AF, Eaglstein WH. Tissue-engineered skin. Current status in wound healing [J]. Am J Clin Dermatol, 2001, 2(5): 305-313.
- [55] Crawford L, Wyatt M, Bryers J, et al. Biocompatibility evolves: phenomenology to toxicology to regeneration[J]. Adv Healthc Mater, 2021, 10(11): e2002153. DOI: 10.1002/adhm.202002153.
- [56] Zhang J, Wehrle E, Rubert M, et al. 3D bioprinting of human tissues: biofabrication, bioinks, and bioreactors[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(8): 3971. DOI: 10.3390/ijms22083971.
- [57] Sawyer SW, Takeda K, Alayoubi A, et al. 3D bioprinting optimization of human mesenchymal stromal cell laden gelatin-alginate-collagen bioink[J]. Biomed Mater, 2022, 18(1). DOI: 10.1088/1748-605X/aca3e7.
- [58] Baltazar T, Jiang B, Moncayo A, et al. 3D bioprinting of an implantable xeno-free vascularized human skin graft[J]. Bioeng Transl Med, 2023, 8(1): e10324. DOI: 10.1002/btm2.10324.
- [59] Wu Y, Liang T, Hu Y, et al. 3D bioprinting of integral ADSCs-NO hydrogel scaffolds to promote severe burn wound healing[J]. Regen Biomater, 2021, 8(3): rbab014. DOI: 10.1093/rb/rbab014.
- [60] Hao L, Tao X, Feng M, et al. Stepwise multi-cross-linking bioink for 3D embedded bioprinting to promote full-thickness wound healing[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2023, 15(20): 24034-24046. DOI: 10.1021/acsami.3c00688.
- [61] Ferroni L, D'Amora U, Gardin C, et al. Stem cell-derived small extracellular vesicles embedded into methacrylated hyaluronic acid wound dressings accelerate wound repair in a pressure model of diabetic ulcer[J]. J Nanobiotechnology, 2023, 21(1): 469. DOI: 10.1186/s12951-023-02202-9.
- [62] Li M, Sun L, Liu Z, et al. 3D bioprinting of heterogeneous tissue-engineered skin containing human dermal fibroblasts and keratinocytes[J]. Biomater Sci, 2023, 11(7): 2461-2477. DOI: 10.1039/d2bm02092k.
- [63] Fu H, Zhang D, Zeng J, et al. Application of 3D-printed tissue-engineered skin substitute using innovative biomaterial loaded with human adipose-derived stem cells in wound healing[J]. Int J Bioprint, 2023, 9(2): 674. DOI: 10.18063/ijb.v9i2.674.
- [64] Xue K, Jiang Y, Zhang X, et al. Hypoxic ADSCs-derived EVs promote the proliferation and chondrogenic differentiation of cartilage stem/progenitor cells[J]. Adipocyte, 2021, 10(1): 322-337. DOI: 10.1080/21623945.2021.1945210.
- [65] Zhang J, Zhang J, Jiang X, et al. ASCs-EVs inhibit apoptosis and promote myocardial function in the infarcted heart via miR-221[J]. Discov Med, 2023, 35(179): 1077-1085. DOI: 10.24976/Discov.Med.202335179.104.
- [66] Jin J, Shi Y, Gong J, et al. Exosome secreted from adipose-derived stem cells attenuates diabetic nephropathy by promoting autophagy flux and inhibiting apoptosis in podocyte[J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 95. DOI: 10.1186/s13287-019-1177-1.
- [67] Drommelschmidt K, Serdar M, Bendix I, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles ameliorate inflammation-induced preterm brain injury[J]. Brain Behav Immun, 2017, 60: 220-232. DOI: 10.1016/j.bbi.2016.11.011.
- [68] Patel NJ, Ashraf A, Chung EJ. Extracellular vesicles as regulators of the extracellular matrix[J]. Bioengineering (Basel), 2023, 10(2): 136. DOI: 10.3390/bioengineering10020136.
- [69] Wolf M, Poupardin RW, Ebner-Peking P, et al. A functional corona around extracellular vesicles enhances angiogenesis, skin regeneration and immunomodulation [J]. J Extracell Vesicles, 2022, 11(4): e12207. DOI: 10.1002/jev2.12207.
- [70] Zhang W, Wang T, Xue Y, et al. Research progress of extracellular vesicles and exosomes derived from mesenchymal stem cells in the treatment of oxidative stress-related diseases[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1238789. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1238789.
- [71] Shi R, Jin Y, Zhao S, et al. Hypoxic ADSC-derived exosomes enhance wound healing in diabetic mice via delivery of circ-Snhg11 and induction of M2-like macrophage polarization[J]. Biomed Pharmacother, 2022, 153: 113463. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113463.
- [72] 曹涛, 郝彤, 肖丹, 等. 人脂肪干细胞外泌体对糖尿病周围神经病变的作用及其机制[J]. 中华烧伤与创面修复杂志, 2024, 40(3): 240-248. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20231207-00230.
- [73] Xiang Q, Xiao J, Zhang H, et al. Preparation and characterisation of bFGF-encapsulated liposomes and evaluation of wound-healing activities in the rat[J]. Burns, 2011, 37(5): 886-895. DOI: 10.1016/j.burns.2011.01.018.
- [74] Wang C, Wang M, Xu T, et al. Engineering bioactive self-healing antibacterial exosomes hydrogel for promoting chronic diabetic wound healing and complete skin regeneration[J]. Theranostics, 2019, 9(1): 65-76. DOI: 10.7150/thno.29766.
- [75] 何佳, 王婧霁, 甘文军, 等. 单细胞 RNA 测序解析普通小鼠和糖尿病小鼠全层皮肤缺损创面中 CD34⁺细胞的类型与功能 [J]. 中华烧伤与创面修复杂志, 2024, 40(3): 230-239. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20231130-00217.

(收稿日期: 2024-01-08)