

内分泌腺疾病及代谢病文献综述

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001838

间充质干细胞治疗糖尿病足的研究进展

刘 群¹, 王志文², 吕泉锐², 朱凌燕¹

(1. 南昌大学第一附属医院内分泌科, 南昌 330006; 2. 南昌大学第一临床医学院, 南昌 330006)

【摘要】糖尿病足(diabetic foot, DF)是糖尿病常见的慢性并发症之一,其继发感染是非外伤性截肢的主要原因。DF严重影响糖尿病患者的生活质量,并且给家庭及社会带来严重的经济负担。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)能有效促进新血管生成,促进创面愈合,是治疗糖尿病足的新方法。本文对 MSCs 治疗 DF 的研究进展进行综述,从而为临床治疗糖尿病足提供理论依据。

【关键词】糖尿病足;间充质干细胞;研究进展

【中图分类号】R587.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-06-12

Research advances in mesenchymal stem cells in treatment of diabetic foot

Liu Qun¹, Wang Zhiwen², Lü Xiaorui², Zhu Lingyan¹

(1. Department of Endocrinology, The First Affiliated Medical College of Nanchang University;

2. The First Clinical College, Nanchang University)

【Abstract】Diabetic foot(DF) is one of the most common chronic complications of diabetes and its secondary infection is the major cause of non-traumatic amputation, which greatly affects the quality of life of diabetic patients and brings serious economic burdens to families and the society. Mesenchymal stem cell(MSCs) treatment can effectively promote angiogenesis and wound healing and is thus a new method for the treatment of DF. This article reviews the research advances in MSCs in the treatment of DF, in order to provide a theoretical basis for the clinical treatment of DF.

【Key words】diabetic foot; mesenchymal stem cells; research advances

随着人们生活、饮食方式的转变,糖尿病的发病率越来越高。国际糖尿病联盟(International Diabetes Federation, IDF) 2017 年公布的数据显示,目前全球有 4.25 亿糖尿病患者。预计到 2045 年,全球将会有近 7 亿糖尿病患者。目前我国成年糖尿病患者人数达 1.14 亿,是全球糖尿病患者人数最多的国家。糖尿病诱发各种并发症,糖尿病足(diabetic foot, DF)是常见的慢性并发症。DF 继发感染是非外伤性截肢的主要原因^[1]。资料显示,糖尿病足溃疡(diabetic foot ulcer, DFU)的全球患病率为 6.3%^[2]。我国糖尿病患者 1 年内新发溃疡发生率为 8.1%^[3]。2015 年,中国的 2 型糖尿病足截肢率为 19.03%^[4]。这严重影响糖尿病患者的生活质量,并给家庭及社会带来严重的经济负担。

作者简介:刘 群, Email: 1102556716@qq.com,

研究方向:间充质干细胞分泌 miRNA 治疗糖尿病足。

通信作者:朱凌燕, Email: zly982387@126.com。

基金项目:江西省自然科学基金面上资助项目(编号:2016ZRSB1355)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180930.1112.012.html>

(2018-10-09)

糖尿病足是指糖尿病患者下肢远端神经异常和周围血管不同程度病变相关的足部溃疡、感染和(或)深层组织破坏。目前常规内科治疗和外科治疗都只能延缓患者病情进展或缓解症状,不能修复已受损的血管及神经。越来越多的研究表明,间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)能有效促进新血管生成,促进创面愈合,是治疗糖尿病足的新方法。

MSCs 是属于中胚层的一类多能干细胞,存在于骨髓、脐带、胎盘、脂肪组织、牙龈、羊水等中。MSCs 具有高度自我更新能力、多向分化潜能和免疫调节能力。在适当的条件下, MSCs 可以分化成硬骨、软骨、脂肪、肌肉细胞、神经细胞、心肌细胞等。此外,它还可以在体外分离和扩增。有研究表明, MSCs 可以在人类淋巴细胞抗原(human lymphocyte antigen, HLA)不相容个体之间移植,不会引起免疫排斥和免疫抑制反应,这一特性依赖于其具有免疫惰性或潜在致耐受性,使得其具有更广阔的应用空间,是多种疾病潜在的理想治疗方法^[5-7]。先前的一些研究报道, MSCs 对移植抗宿主病^[8]、急性心肌梗死^[9]、系统性红斑狼疮^[10-11]、克罗恩病^[12]、压力性溃疡^[13]、烧伤^[14]、肢体缺血^[15]等的治疗有效。本文主要对 MSCs 治疗 DF

的可能机制及研究进展进行介绍,并对未来的研究进行展望。

1 MSCs 治疗 DF 的可能机制

目前研究表明, MSCs 通过多种机制治疗 DF, 具体可能机制如下。

1.1 参与免疫调节,减轻炎症反应,减少组织损伤

研究发现, MSCs 能通过多种方式参与免疫调节,从而减轻炎症反应,减少组织损伤。①可通过抑制 T 细胞激活发挥免疫调节作用。在皮肤损伤后, T 细胞分泌多种致炎因子,导致伤口愈合缓慢。研究还发现, MSCs 可分泌 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 α (interleukin-1 α , IL-1 α) 或白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)等细胞因子,抑制 T 细胞激活^[16]。还有研究表明, MSCs 可通过改变抗原呈递细胞成熟从而诱导 T 细胞无应答而发挥免疫调节作用^[17]。②MSCs 可通过抑制促炎性 T 细胞,主要是辅助性 T 细胞 17 (T helper cell 17, Th17 细胞), 增加 T 调节性细胞(regulatory cells, Treg 细胞)发挥免疫调节作用。研究发现,使用自身骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)注射脑脊髓炎自身免疫疾病小鼠模型后,促炎性 T 细胞 Th17 细胞被抑制, CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg 细胞和白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)分泌的百分比增加^[18]。另外,有研究显示人脐带 MSCs 分泌的外泌体明显抑制 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞增殖,上调 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg 细胞比例^[19]。此外,有报道称 MSCs 可影响不同 T 细胞亚群分泌细胞因子,减少促炎细胞因子如 IFN- γ 、TNF- α 的分泌,增加抗炎细胞因子如白细胞介素 4(interleukin 4, IL-4) 和 IL-10 的分泌,并且使 Treg 细胞比例增加^[20]。③MSCs 可通过减少经典活化 M1 型巨噬细胞(促炎型)和增加选择性活化 M2 型巨噬细胞(抗炎型)而发挥免疫调节作用。有研究显示,将 MSCs 与巨噬细胞共培养时,总体巨噬细胞/单核细胞水平降低,其中包括促炎性 M1 型巨噬细胞水平降低,而交替活化的 M2 型巨噬细胞比例显著增加^[21]。另外,报道称 MSCs 可引起巨噬细胞的 M2 极化而发挥免疫调节作用,从而增强伤口修复^[22]。④MSCs 可通过减少活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)的产生发挥免疫调节作用。组织损伤时,机体中的吞噬细胞会将细菌、凋亡的炎症细胞或细胞碎片等吞噬,从而将病原体杀灭。然而,吞噬作用后长期存在的中性粒细胞会产生大量的 ROS,引起呼吸爆发,对组织造成损伤。研究发现, MSCs 可以在保护中性粒细胞吞噬能力不受影响的情况下,防止中性粒细胞过度或不适当的氧化代谢激活,并抑制其凋亡,从而减少 ROS 产生,限制呼吸爆发的强度炎症刺激^[23]。总之, MSCs 通过免疫调节作用,减轻炎症反应,减少组织损伤,促进伤口愈合。

1.2 旁分泌多种生长因子促进血管新生,改善病灶组织血流

在以往的研究中,研究人员提出 MSCs 是通过归巢效应后直接分化为伤口组织而促进伤口愈合。近年研究发现, MSCs 在糖尿病足的治疗中除了归巢效应之外,还有其他的机制,即 MSCs 可以通过自分泌和旁分泌多种生长因子促进血管新生,改善病灶组织血流,从而促进伤口愈合。研究显示, MSCs 可以分泌多种细胞因子,包括血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、胎盘生长因子(placental growth factor, PlGF)、胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1)、血管生成素-1 (angiopoietin-1, Ang-1)、基质衍生因子-1 (stromal cell-derived factor-1, SDF-1)、促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、表皮细胞生长因子(epidermal growth factor, EGF)、角质形成细胞生长因子(keratinocyte growth factor 2, KGF-2)等,这些因子可促进血管生成,增强微血流动力学,促进伤口愈合^[24-26]。其中,在调控血管新生和修复的一系列因子中, VEGF 是最强且最有效的一个^[27]。有研究表明, MSCs 可增加 VEGF 的分泌,促使血管生成,对糖尿病大鼠创面愈合有积极作用^[28]。同时有研究显示, MSCs 可通过旁分泌 VEGF 等血管活性因子,改善血管内皮细胞的激活而诱导血管生成,进而加速糖尿病小鼠的伤口愈合^[29]。此外,除了直接促进血管生成外, VEGF 还能激活转录因子调节内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPCs),募集骨髓中的 EPCs,并且抑制 EPCs 凋亡来促进伤口愈合^[30]。还有研究显示, MSCs 可分泌 SDF-1, SDF-1 是 VEGF 在活化的血管周围肌纤维母细胞中诱导的趋化因子, VEGF 可募集骨髓 EPCs, SDF-1 也可募集骨髓 EPCs 并使其在血管周围滞留,进而促成血管形成^[31]。另外,研究表明在糖尿病小鼠模型中, MSCs 显著促进 IGF-1、EGF 和 IL-8 等细胞因子分泌,从而促进血管生成,加速伤口闭合^[32]。还有研究表明 MSCs 能增加局部生长因子分泌,如 EGF、转化生长因子- β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)、VEGF 和 SDF-1,促进新生血管形成,增强伤口细胞募集和改善伤口收缩^[33]。Kwon 的研究表明, BMSCs 能显著增加促进受损组织修复和再生的关键生长因子分泌,包括转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、EGF、VEGF、血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF) 和 KGF-2,并且能增加胶原蛋白(I-V 型)水平,改善糖尿病大鼠筋膜创伤的伤口断裂强度(wound breaking strength, WBS)^[34]。总之, MSCs 能够通过旁分泌多种生长因子,直接或间接地促进损伤部位的血管新生,改善血流情况,最终促进伤口的愈合。

1.3 具有多向分化潜能,分化为内皮细胞和角化细胞,参与损伤修复

MSCs 具有多向分化潜能,可分化为内皮细胞和角化细

胞,参与损伤修复。有研究显示,在糖尿病小鼠伤口模型中, MSCs 移植后血管生成因子 IGF-1、EGF 和 IL-8 分泌增加,并在伤口区域表达角质形成细胞特异性蛋白和细胞角蛋白,显著促进伤口部位表皮组织上皮细胞、角质细胞等多种细胞生长,促进血管形成,促进上皮细胞再生,加快伤口愈合^[32]。另有研究表明,在糖尿病足溃疡大鼠模型中, MSCs 可特异性定位于目标溃疡组织,促进细胞角蛋白 19 的分泌,刺激角质形成细胞和细胞外基质形成,促使溃疡组织的上皮细胞再生^[35]。Kato 等^[36]用 BMSCs 处理糖尿病小鼠及对照大鼠的伤口,发现在具有高葡萄糖的 BMSCs 条件培养基中培养人角质形成细胞,磷酸化的黏着斑激酶(phosphorylated focal adhesion kinase, pFAK)水平降低,基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP2)、EGF 和 IGF-1 水平增加,表明 BMSCs 可通过改善角质形成细胞功能来促进糖尿病大鼠的伤口愈合。Wu 等^[37]的研究使用糖尿病小鼠伤口模型,发现 BMSCs 处理的伤口中 VEGF 和 Ang-1 以及角质形成细胞特异性蛋白角蛋白更多, BMSCs 显著促进伤口部位角质细胞的生长,促进新生血管形成,促进伤口部位上皮细胞再生,加快伤口愈合。值得注意的是,此研究还发现是由伤口中的 BMSCs,而不是伤口中的骨髓 CD34⁺细胞促进角质形成细胞特异性蛋白角蛋白的表达并形成腺体结构,表明 BMSCs 对伤口部位上皮细胞再生的直接贡献。Chen 等^[38]的研究发现, BMSCs 处理的伤口促进角质形成细胞和内皮细胞的增殖,促进巨噬细胞、角质形成细胞和内皮细胞迁移到伤口,从而促进伤口愈合。虽然,大量研究证实 MSCs 可以分化为角化细胞和内皮细胞,但其移植效果却存在争议,有学者认为 MSCs 并不移植整合到新生血管^[39]。

综上所述, MSCs 通过多种机制治疗 DF。目前,间充质干细胞治疗 DF 在临床实验中取得了一定的疗效。Dash 等^[40]的试验表明,糖尿病足溃疡患者 BMSCs 的自体移植加速了愈合过程,无痛步行距离和溃疡尺寸减小方面显著改善,并且干预后生化指标无明显变化,肝、肾功能正常。Lu 等^[41]的临床试验对 41 例 2 型糖尿病双侧危重肢体缺血(critical limb ischemia, CLI)和糖尿病足溃疡患者的四肢肌内注射 BMSCs,注射后 6 周溃疡愈合率明显升高,随访 24 周后,无痛行走时间、踝臂指数、经皮氧分压和磁共振血管造影显示明显改善,并且没有注射相关的严重不良事件,表明 BMSCs 治疗对增加患有 CLI 的糖尿病患者的下肢灌注和促进足部溃疡愈合有效。总体来说,在动物实验和人体研究中, BMSCs 移植在治疗 DF 方面取得了积极的成果。MSCs 移植可能是一种可用于治疗糖尿病足的新方法。

2 外泌体在糖尿病皮肤创伤愈合中的作用

研究发现,多种细胞在生理或病理状态下分泌一种 40~

100 nm 的同质性囊泡,囊泡由与细胞质膜相同的脂质双分子层包囊,这种囊泡即为外泌体^[42]。在已知产生外泌体的细胞类型中, MSCs 被认为是产生外泌体能力最强的细胞^[43]。外泌体内含有蛋白质、脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)和核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)等生物活性物质, RNA 包括信使核糖核酸(messenger RNA, mRNA)、微小核糖核酸(microRNA, miRNA)等。

目前,关于 miRNA 的研究比较热门。miRNA 是一类由内源基因编码的非编码单链 RNA。miRNA 通过与靶基因 3'-非翻译区(three prime untranslated region, 3'-UTR)的碱基互补配对结合,降解或抑制靶 mRNA 翻译,进而影响生物信息在细胞内的传递^[44]。miRNA 参与调节生理和病理生理状态的许多关键生物学功能,包括维持细胞信号传导和调节整个途径。miRNA 参与糖尿病大血管及微血管相关并发症,如糖尿病性心肌病、动脉粥样硬化、糖尿病性视网膜病变、糖尿病肾病、糖尿病神经病变、糖尿病创面愈合障碍等,特别在糖尿病皮肤创面愈合的不同阶段发挥作用。

正常的伤口愈合需要经历 4 个相关的阶段,包括止血期、炎症期、增殖期和重塑期^[45]。在炎症期, miRNA 调控几种重要细胞因子和趋化因子,如 IL-1 β 、IL-6、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)、单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)、IL-8 及对先天免疫细胞募集很重要的黏附分子如血清补体 C3, 细胞间黏附分子-1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)和血管细胞黏附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)等^[46]。miRNA 也直接或间接控制炎症。在糖尿病小鼠伤口模型中, miR-146a 表达显著降低,从而增加促炎靶基因 IRAK1、泛素连接酶 TRAF6、转录因子 NF- κ B 及 IL-6 和巨噬细胞炎症蛋白-2 (macrophage inflammatory protein-2, MIP-2)的表达^[47]。在增殖期, miRNA 参与调控成纤维细胞迁移、新生血管形式、角质形成细胞增殖和迁移,进而影响肉芽组织的形成。Madhyastha 等^[48]研究表明, miR-21 在糖尿病伤口愈合期间表达减少,从而降低成纤维细胞迁移作用。Wang 等^[49]研究显示, miR-126 增强 VEGF 和成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)的促血管生成作用,并可抑制作为细胞内血管生成信号传导抑制剂的 Spred-1 基因的表达来促进血管形成。另有研究表明, miR-203 的下调可调控负责角质形成细胞增殖和迁移的靶蛋白表达,在损伤皮肤伤口的上皮细胞再生和表皮稳态重建中发挥特定作用从而促进伤口愈合^[50]。在重塑期, miRNA 参与调控 III 型、I 型胶原水平及比例,进而影响瘢痕组织替代肉芽组织。研究表明, miR-196a 的过表达或降低分别导致分泌型 I/III 胶原的水平降低或升高^[51]。miR-29B 在小鼠创伤中的体内应用可改善胶原 III/I 型比例,并产生更高的 MMP8 活性,改善损伤后细胞外基质重

塑的潜力^[52]。

外泌体中还包含 mRNA、蛋白质等生物活性物质。目前关于 mRNA、蛋白质对糖尿病伤口愈合的研究较少,有待进一步研究。

另外,miRNA 可在循环中发现,可作为监测疾病发生和进展的生物标志物。有研究表明,循环中的 miR-126 可能是早期鉴定易感个体至 2 型糖尿病的潜在生物标志物^[53],但是目前还没有明确的 miRNA 被鉴定为可行的生物标志物。循环的 miRNA 是组织中 miRNA 的反映,作为诊断和预后指标具有巨大的潜力,并且是治疗多种疾病可能的治疗靶点^[54]。如对 miRNA 进行基因敲除、基因修饰,可促进糖尿病伤口的愈合。研究表明,miR-155 基因敲除小鼠显示出改善的皮肤创伤愈合^[55]。对 MSCs 中的 miR-205-5p 进行修饰即反义表达增加时,可促进 VEGF 介导的血管形成,增强其对糖尿病足的治疗效果^[56]。此外,研究表明外泌体可作为一种良好的运输载体,可能是理想的药物和基因输送介质,可以在组织修复过程中发挥重要作用^[57]。总之,外泌体在疾病治疗、诊断、监测进展、预后方面有较大前景。

3 展 望

MSCs 在治疗 DF 中具有广阔的应用前景,目前干细胞移植治疗糖尿病足已经在临床试验中取得了一定的成功。但还需进行以下优化。①进一步研究 DFU 患者自体 and 异体 MSCs 治疗的可行性。确定影响糖尿病患者自体 and 异体干细胞移植效率的因素。②MSCs 质量检测方法及评定标准必须统一。③使用 MSCs 的最佳治疗效果尚待确定。④提高 MSCs 移植效率和治疗效果。如体外培养扩增、体外修饰、miRNAs 修饰 MSCs^[58]、低氧预适应、生长因子刺激^[59-60]、细胞自噬的促进等,提高了细胞移植效率和治疗效果。有研究表明,局部照射^[61]、血红素加氧酶-1 与胶原复合物^[62]可以提高干细胞活力和耐受性。这些方法需进一步完善和确定。⑤优化干细胞输送系统的选择。完美的干细胞输送系统为干细胞的黏附、增殖和分化提供了良好的支持。目前有许多支持 MSCs 的支架可供选择,纤维蛋白喷雾系统可以安全有效地将自体骨髓衍生的 MSCs 递送至伤口^[63]。使用自体皮肤成纤维细胞在可生物降解的胶原膜上结合自体 MSCs 组成的自体移植植物可促进糖尿病溃疡的愈合^[64]。⑥需要确定移植后 MSCs 的存活率、有效性和远期疗效的方法。除此之外,还需要确定细胞移植的时间、移植细胞的数量等。对于这些因素的综合考量是优化 MSCs 移植疗法的基础。

4 防范 MSCs 的可能风险

最后,需要注意的是 MSCs 与肿瘤的关系。将 BMSCs 移

植入糖尿病小鼠后,观察到肿瘤反应^[65]。有研究显示,间充质干细胞能特异地归巢到肿瘤组织,并促进肿瘤血管生成,帮助癌细胞逃避免疫攻击,参与肿瘤细胞入侵和转移的许多关键步骤,甚至对化疗药物和其他抗癌药物有对抗作用^[66]。目前有研究发现,基因修饰的 MSCs 能够逆转 MSCs 的肿瘤促进作用^[67]。并且 MSCs 具有向肿瘤部位趋向的特性,故以 MSCs 为细胞载体治疗肿瘤具有广阔的前景。由此可见,如何安全有效地应用 MSCs 移植治疗 DF 仍需要更深入、彻底的研究。

参 考 文 献

- [1] Noor S,Zubair M,Ahmad J. Diabetic foot ulcer—a review on pathophysiology,classification and microbial etiology[J]. Diabetes Metab Syndr,2015,9(3):192-199.
- [2] Zhang P,Lu J,Jing Y,et al. Global epidemiology of diabetic foot ulceration:a systematic review and meta-analysis[J]. Ann Med,2017,49(2):106-116.
- [3] Jiang Y,Wang X,Xia L,et al. A cohort study of diabetic patients and diabetic foot ulceration patients in China[J]. Wound Repair Regen,2015,23(2):222-230.
- [4] Jiang Y,Ran X,Jia L,et al. Epidemiology of type 2 diabetic foot problems and predictive factors for amputation in China[J]. Int J Low Extrem Wounds,2015,14(1):19-27.
- [5] Le BK,Tammik C,Rosendahl K,et al. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells[J]. Exp Hematol,2003,31(10):890-896.
- [6] Majumdar MK,Keane-Moore M,Buyaner D,et al. Characterization and functionality of cell surface molecules on human mesenchymal stem cells[J]. J Biomed Sci,2003,10(2):228-241.
- [7] Klyushnenkova E,Mosca JD,Zernetkina V,et al. T cell responses to allogeneic human mesenchymal stem cells:immunogenicity,tolerance,and suppression[J]. J Biomed Sci,2005,12(1):47-57.
- [8] Ringdén O,Uzunel M,Rasmusson I,et al. Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease[J]. Biol Blood Marrow Transplant,2006,12(2):2.
- [9] Chen SL,Fang WW,Ye F,et al. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction[J]. Am J Cardiol,2004,94(1):92-95.
- [10] Wang D,Feng X,Lu L,et al. A CD8 T cell/indoleamine 2,3-dioxygenase axis is required for mesenchymal stem cell suppression of human systemic lupus erythematosus[J]. Arthritis Rheumatol,2014,66(8):2234-2245.
- [11] Wang D,Li J,Zhang Y,et al. Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in active and refractory systemic lupus erythematosus: a multicenter clinical study[J]. Arthritis Res Ther,2014,16(2):2467-2475.

- [12] Ciccocioppo R, Cangemi GC, Kruzliak P, et al. *Ex vivo* immunosuppressive effects of mesenchymal stem cells on Crohn's disease mucosal T cells are largely dependent on indoleamine 2,3-dioxygenase activity and cell-cell contact[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6(1):137.
- [13] As GR, Knaänshazer S, van Bekkum DW. Pressure ulcers; description of a new model and use of mesenchymal stem cells for repair[J]. *Dermatology*, 2011, 223(3):266–284.
- [14] Liu L, Yu Y, Hou Y, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation promotes cutaneous wound healing of severe burned rats[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2):e88348.
- [15] Bura A, Planatbenard V, Bourin P, et al. Phase I trial: the use of autologous cultured adipose-derived stroma/stem cells to treat patients with non-revascularizable critical limb ischemia[J]. *Cytotherapy*, 2014, 16(2):245–257.
- [16] Ren G, Zhang L, Zhao X, et al. Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide[J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 2(2):141–150.
- [17] Beyth S, Borovsky Z, Mevorach D, et al. Human mesenchymal stem cells alter antigen-presenting cell maturation and induce T-cell unresponsiveness[J]. *Blood*, 2005, 105(5):2214–2219.
- [18] Patricia LC, Monica K, Javiera BA, 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.
- [19] Liu M, Wang J, Liu M, et al. Study of immunomodulatory function of exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells[J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2015, 95(32):2630–2633.
- [20] Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses[J]. *Blood*, 2005, 105(4):1815.
- [21] 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.
- [22] Zhang QZ, Su WR, Shi SH, et al. Human gingiva-derived mesenchymal stem cells elicit polarization of M2 macrophages and enhance cutaneous wound healing[J]. *Stem Cells*, 2010, 28(10):1856.
- [23] Lizzia RPD, Bianchi G, Bertolotto M, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit neutrophil apoptosis: a model for neutrophil preservation in the bone marrow niche[J]. *Stem Cells*, 2008, 26(1):151–162.
- [24] Schlosser S, Dennler C, Schweizer R, et al. Paracrine effects of mesenchymal stem cells enhance vascular regeneration in ischemic murine skin[J]. *Microvasc Res*, 2012, 83(3):267–275.
- [25] Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, et al. Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms[J]. *Circulation*, 2004, 109(12):1543–1549.
- [26] Chen L, Tredget EE, Wu PYG, et al. Paracrine factors of mesenchymal stem cells recruit macrophages and endothelial lineage cells and enhance wound healing[J]. *PLoS One*, 2008, 3(4):e1886.
- [27] Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis[J]. *Nature*, 2011, 473(7347):298–307.
- [28] Wan J, Xia L, Liang W, et al. Transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells promotes delayed wound healing in diabetic rats[J]. *J Diabetes Res*, 2013, 2013(9):647107.
- [29] Shen L, Zeng W, Wu YX, et al. Neurotrophin-3 accelerates wound healing in diabetic mice by promoting a paracrine response in mesenchymal stem cells[J]. *Cell Transplant*, 2013, 22(6):1011–1021.
- [30] Diao Y, Lian L, Guo L, et al. A vascular endothelial growth factor activating transcription factor increases the endothelial progenitor cells population and induces therapeutic angiogenesis in a type 1 diabetic mouse with hindlimb ischemia[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2014, 127(20):3623–3629.
- [31] Grunewald M, Avraham I, Dor Y, et al. VEGF-induced adult neovascularization: recruitment, retention, and role of accessory cells[J]. *Cell*, 2006, 126(4):175–189.
- [32] Kim SW, Zhang HZ, Guo L, et al. Amniotic mesenchymal stem cells enhance wound healing in diabetic NOD/SCID mice through high angiogenic and engraftment capabilities[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10):e41105.
- [33] Badillo AT, Redden RA, Zhang L, et al. Treatment of diabetic wounds with fetal murine mesenchymal stromal cells enhances wound closure[J]. *Cell Tissue Res*, 2007, 329(2):301–311.
- [34] Kwon DS, Gao X, Liu YB, et al. Treatment with bone marrow-derived stromal cells accelerates wound healing in diabetic rats[J]. *Int Wound J*, 2010, 5(3):453–463.
- [35] Zhao QS, Xia N, Zhao N, et al. Localization of human mesenchymal stem cells from umbilical cord blood and their role in repair of diabetic foot ulcers in rats[J]. *Int J Biol Sci*, 2014, 10(1):80–89.
- [36] Kato J, Kamiya H, Himeno T, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate impaired wound healing through enhancing keratinocyte functions in diabetic foot ulcerations on the plantar skin of rats[J]. *J Diabetes Complications*, 2014, 28(5):588–595.
- [37] Wu Y, Chen L, Scott PG, et al. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis[J]. *Stem Cells*, 2007, 25(10):2648–2659.
- [38] Chen L, Tredget EE, Wu PY, et al. Paracrine factors of mesenchymal stem cells recruit macrophages and endothelial lineage cells and enhance wound healing[J]. *PLoS One*, 2008, 3(4):e1886.
- [39] Ziegelhoeffer T, Fernandez B, Kostin S, et al. Bone marrow-derived cells do not incorporate into the adult growing vasculature[J]. *Circ Res*, 2004, 94(2):230–238.
- [40] Dash NR, Dash SN, Routray P, et al. Targeting nonhealing ulcers of lower extremity in human through autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *Rejuvenation Res*, 2009, 12(5):359.
- [41] 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.
- [42] Lai RC, Tan SS, Bao JT, et al. Proteolytic potential of the MSC exosome proteome; implications for an exosome-mediated delivery of therapeutic proteasome[J]. *Int J Proteomics*, 2012, 2012(8):971907.
- [43] Yeo RW, Lai RC, Zhang B, et al. Mesenchymal stem cell: an efficient mass producer of exosomes for drug delivery[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013, 65(3):336–341.
- [44] Bartel DP. MicroRNA target recognition and regulatory functions[J]. *Cell*, 2009, 136(2):215–233.
- [45] Harding KG. Science, medicine and the future: healing chronic wounds[J]. *BMJ*, 2002, 324(7330):160–163.
- [46] Zhai Y, Zhong Z, Chen CY, et al. Coordinated changes in mRNA turnover, translation, and RNA processing bodies in bronchial epithelial cells following inflammatory stimulation[J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(24):7414.
- [47] Xu J, Wu W, Zhang L, et al. The role of microRNA-146a in the pathogenesis of the diabetic wound-healing impairment; correction with mesenchymal stem cell treatment[J]. *Diabetes*, 2012, 61(11):2906–2912.
- [48] Madhyastha R, Madhyastha H, Nakajima Y, et al. MicroRNA signature in diabetic wound healing; promotive role of miR-21 in fibroblast migration[J]. *Int Wound J*, 2012, 9(4):355–361.
- [49] Wang S, Aurora AB, Johnson BA, et al. An endothelial-specific microRNA governs vascular integrity and angiogenesis[J]. *Dev Cell*, 2008, 15(2):261–271.
- [50] Viticchiè G, Lena AM, Cianfarani F, et al. MicroRNA-203 contributes to skin re-epithelialization[J]. *Cell Death Dis*, 2012, 3(11):e435.
- [51] Kashiyama K, Mitsutake N, Matsuse M, et al. miR-196a downregulation increases the expression of type I and III collagens in keloid fibroblasts[J]. *J Invest Dermatol*, 2012, 132(6):1597–1604.
- [52] Monaghan M, Browne S, Schenkelayland K, et al. A collagen-based scaffold delivering exogenous microRNA-29b to modulate extracellular matrix remodeling[J]. *Mol Ther*, 2014, 22(4):786–796.
- [53] Zhang T, Lv C, Li L, et al. Plasma miR-126 is a potential biomarker for early prediction of type 2 diabetes mellitus in susceptible individuals[J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013(4):761617.
- [54] Maqbool R, Hussain MU. MicroRNAs and human diseases; diagnostic and therapeutic potential[J]. *Cell Tissue Res*, 2014, 358(1):1–15.
- [55] Coen VS, Elisa A, Aranzazu CJ, et al. Improved repair of dermal wounds in mice lacking microRNA-155[J]. *J Cell Mol Med*, 2014, 18(6):1104–1112.
- [56] Zhu L, Wang G, Fischbach S, et al. Suppression of microRNA-205-5p in human mesenchymal stem cells improves their therapeutic potential in treating diabetic foot disease[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(32):52294–52303.
- [57] Wu Q, Chen B, Liang Z. Mesenchymal stem cells as a prospective therapy for the diabetic foot[J]. *Stem Cells Int*, 2016, 2016:4612167.
- [58] Almeida MI, Silva AM, Vasconcelos DM, et al. miR-195 in human primary mesenchymal stromal/stem cells regulates proliferation, osteogenesis and paracrine effect on angiogenesis[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(1):7–22.
- [59] Shen L, Zeng W, Wu YX, et al. Neurotrophin-3 accelerates wound healing in diabetic mice by promoting a paracrine response in mesenchymal stem cells[J]. *Cell Transplant*, 2013, 22(6):1011–1021.
- [60] Lu H, Wu X, Wang Z, et al. Erythropoietin-activated mesenchymal stem cells promote healing ulcers by improving microenvironment[J]. *J Surgical Res*, 2016, 205(2):464–473.
- [61] François S, Bensidhoum M, Mouiseddine M, et al. Local irradiation not only induces homing of human mesenchymal stem cells at exposed sites but promotes their widespread engraftment to multiple organs; a study of their quantitative distribution after irradiation damage[J]. *Stem Cells*, 2006, 24(4):1020–1029.
- [62] Hou C, Shen L, Huang Q, et al. The effect of heme oxygenase-1 complexed with collagen on MSC performance in the treatment of diabetic ischemic ulcer[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(1):112–120.
- [63] 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.
- [64] Vojtassák J, Danisovic L, Kubes M, et al. Autologous biograft and mesenchymal stem cells in treatment of the diabetic foot[J]. *Neuro Endocrinol Lett*, 2006, 27(S2):134.
- [65] Jeong JO, Han JW, Kim JM, et al. Malignant tumor formation after transplantation of short-term cultured bone marrow mesenchymal stem cells in experimental myocardial infarction and diabetic neuropathy[J]. *Circ Res*, 2011, 108(11):1340.
- [66] Chang AI, Schwertschko AH, Nolta JA, et al. Involvement of mesenchymal stem cells in cancer progression and metastases[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2015, 15(2):88–98.
- [67] Hu YL, Miao PH, Huang B, et al. Reversal of tumor growth by gene modification of mesenchymal stem cells using spermine-pullulan/DNA nanoparticles[J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2014, 10(10):299–308.

(责任编辑:唐秋姗)