

巨噬细胞在组织工程皮肤再生中的研究进展

杨亚冬 刘兴柱 李 平 张文元

摘 要 组织工程皮肤的出现为临床上大面积皮肤缺损的治疗提供了新方法,干细胞、生长因子以及生物材料的开发为皮肤再生医学的发展提供了巨大的前景,但它们在促进创面再生、减少或抑制瘢痕形成方面还有待于进一步的优化和研究。再生疗法的疗效很大程度上受宿主免疫系统的影响,而宿主免疫细胞尤其是巨噬细胞在组织修复和再生过程中起着重要的作用。因此,了解巨噬细胞如何影响组织愈合对开发有效的再生策略至关重要。本文就巨噬细胞极化在组织工程皮肤修复中的研究做一综述。

关键词 巨噬细胞极化 组织工程皮肤 瘢痕 皮肤再生

中图分类号 R322.99

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.01.004

目前已经有产品化的组织工程皮肤在临床上应用,但移植后瘢痕增生明显,造成修复不理想的情况几乎都难以避免,尤其是大面积的瘢痕会对患者的生理和心理造成极大的影响,所以对组织工程皮肤移植过程中如何减少瘢痕形成的研究越来越受到关注^[1,2]。研究人员期望通过不断深入了解伤口愈合的生物学特点及关键的调控因素,达到人为干预调控机体再生的某些关键基因或因子,触发机体再生的“开关”,使机体缺损的皮肤得到完美再生。越来越多研究证实,巨噬细胞在促进心脏、胰腺、肌肉、神经等多种组织再生中不可或缺,可见巨噬细胞与组织再生有着非常密切的联系^[3-6]。且已证实巨噬细胞是调节伤口愈合和组织修复的关键角色,它在细胞纤维化和瘢痕形成过程中发挥重要作用^[7]。这为组织器官再生的研究提供了新思路。本文就巨噬细胞在组织工程皮肤再生修复中发挥作用及其研究进展做一综述。

一、巨噬细胞极化

巨噬细胞是单核-吞噬系统的主要成员之一,广泛分布在全身组织中,通过直接参与病原体清除或在无菌炎症条件下修复组织,在维持生物体完整性方面发挥着高度多样化的作用。在不同刺激因子诱导下巨噬细胞会改变其表型,表现出多样化功能,此即为巨噬细胞极化。极化后主要可产生两种亚型:经典活

化巨噬细胞(type-1 macrophage, M1)和替代活化巨噬细胞(type-2 macrophage, M2),每个亚群都有自己的特点和功能^[8]。

M1型巨噬细胞是单核细胞表面的Toll样受体(TLR)与病原体或其产物结合后产生的信号或 γ 干扰素(IFN- γ)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)等细胞因子刺激诱导下分化而来的,并能通过分泌趋化因子[CC趋化因子配体2(CCL2)、CCL3、白细胞介素8(IL-8/CXCL8)等]和促炎性细胞因子[IL-1 β 、IL-6、IL-12、IL-18、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)等]介导产生炎症反应。M2型巨噬细胞是在IL-4、IL-13、集落刺激因子(CSF-1)等诱导下分化而成,可分泌IL-10、转化生长因子 β (TGF- β)、血小板衍生因子(PDGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)等,发挥炎症抑制作用,参与组织损伤的修复和纤维化^[9]。

在机体免疫功能正常情况下M1/M2型巨噬细胞极化保持着平衡,当感染或炎症严重时,巨噬细胞首先表现出M1表型,释放促炎性细胞因子以对抗刺激,通过氧依赖性以及氧非依赖性杀菌系统发挥清除病原体作用,前者包括反应性氧中间物(ROIs)和反应性氮中间物(RNIs),后者如溶菌酶、乳铁蛋白等杀伤系统。但是,如果M1型持续下去,就会造成组织损伤。因此M2型巨噬细胞分泌大量的抑炎性细胞因子抑制炎症,促进组织修复、重塑、血管新生,保持体内平衡。

二、组织再生修复与巨噬细胞关系

很多人都会有疑问:为何有些低等动物即使断尾、断肢都能再生出一个新的,而人类受伤后却形成

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(LY18H180010);浙江省医药卫生科技计划项目(2021KY645)

作者单位:310013 杭州医学院生物工程学院

通信作者:杨亚冬,副研究员,电子邮箱:yangyd76@163.com

瘢痕?目前对于这个疑问大家比较认可的观点是进化论。当哺乳动物进化出免疫系统后对损伤产生瘢痕反应,肉芽组织覆盖创面,达到快速愈合目的,使它们免受病原体等其他有害因素再次伤害,而这个代价就是失去了再生能力^[10]。那是否意味着哺乳动物体内仍然具有休眠的再生所需的分子和细胞通路?于是有人提出人类的再生可能“只需把开关打开”。有研究者对蠕虫的基因组进行研究,发现了早期生长反应(early growth response, EGR)这个主控基因,可以通过开启或关闭其他基因来调控再生等许多生理过程。但是该基因在人类即使能够开启,也不能促进再生,研究人员认为基因组间的调控是多层次的,且各物种间是不同的^[11]。

目前对于再生的“触动开关”的研究只是触及了皮毛,对于这个未知领域,各国研究人员开展了一系列研究,发现不同组织具有各自独特的再生能力,但巨噬细胞基本都参与了这一过程。有研究证实了巨噬细胞参与了新生小鼠心脏再生过程中的心肌细胞增殖^[3]。其修复机制是通过介导巨噬细胞极化和参与抗炎转化,激活巨噬细胞中 TGF- β /Smad 信号,调节梗死区心肌的修复和重构^[12]。有研究利用急性胰腺炎(AP)小鼠模型检测急性炎症到再生阶段的胰腺巨噬细胞的动态变化。研究结果显示,M1型巨噬细胞在AP的促炎期占优势,而M2型巨噬细胞在胰腺修复/再生期占优势。再生早期和晚期巨噬细胞的减少分别显著阻断了腺泡-导管上皮化生或延迟炎症消退。巨噬细胞的选择性激活部分依赖于IL-4RA信号,胰腺巨噬细胞中ECM/AKT的激活促进了组织再生过程中的炎症消退^[4]。

三、巨噬细胞参与皮肤损伤修复过程的研究

要研究消除瘢痕,就要先了解一下伤口修复过程中瘢痕是如何形成的。在皮肤损伤后,受损组织通过协调信号恢复,构成皮肤损伤反应。典型的皮肤损伤反应可分为4个阶段,即损害限制期、炎症期、增殖期和重塑成熟期^[13]。其实伤口修复是一个连续的过程,首先血小板、基质纤维连蛋白聚集形成血凝块,暂时抵御病原体入侵,接着单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、角质细胞等细胞聚集迁移,发挥清除病原体作用,同时在局部释放各种细胞因子介导炎症反应,此时的巨噬细胞以M1型为主。随后生长因子促进血管内皮细胞和成纤维细胞的增殖,形成“肉芽组织”,有大量渗出液及炎性细胞聚集,以M2型巨噬细胞为主,包括中性粒细胞及淋巴细胞,因此肉芽组织

具有抗感染功能。随着肉芽组织逐渐成熟重建为纤维结缔组织,即瘢痕组织,瘢痕组织会继续重建,恢复部分功能,但与正常皮肤组织比较,还是有很大差异。与典型的急性伤口愈合过程不同,慢性伤口中M1型和M2型巨噬细胞的转化是失调的,伤口边缘80%是M1型巨噬细胞,这是导致慢性伤口持续炎症并最终形成瘢痕的最大因素^[14]。

从上述创面修复过程可以看出:免疫过程贯穿于创伤愈合的整个过程。我们是否可以通过人为地给予相应的刺激因子,诱导巨噬细胞在伤口愈合早期就向促修复和抗炎的M2亚型分化,缩短炎性反应期,使机体的创面发生再生修复而减少瘢痕形成。这个想法在蝾螈断肢再生过程中得到印证。有研究通过对蝾螈断肢再生过程用单细胞测序法检测,发现蝾螈肢体再生早期就出现M2型巨噬细胞,说明M2亚型在断肢早期出现构成的特异免疫微环境很可能是蝾螈无瘢痕再生的关键所在^[15]。对免疫信号进行综合性分析发现,巨噬细胞浸润是蝾螈肢体再生所必需的。当全身巨噬细胞清除后断肢伤口发生愈合,但断肢无法再生,一旦巨噬细胞得到补充后,再截肢就能恢复残肢的完整再生能力^[16]。当然也不能绝对的将巨噬细胞向某个亚型极化,这样不仅不会触发再生,可能连最基本的创面愈合都困难了。有研究利用BALB/c重组激活基因(Rag)-2和白细胞介素2受体 γ (IL-2R γ)双敲除(KO)小鼠研究创面愈合情况,发现KO小鼠先天调节功能丧失时,M1型过度极化、血管生成不良和创面受损加重^[17]。所以现在较多创面愈合研究主要集中在调控有助于M2型巨噬细胞极化的因素,减少M1型巨噬细胞产生促炎性细胞因子或表达,使M1和M2两种亚型达到某种平衡,促进创面再生修复,减少瘢痕形成^[18]。

四、组织工程皮肤对巨噬细胞极化的影响研究

组织工程皮肤构建主要有三大要素:种子细胞、支架材料及细胞因子。细胞因子对巨噬细胞极化会产生直接的影响,其他两个因素是否会对巨噬细胞极化发生影响是研究的重点。

1. 种子细胞对巨噬细胞极化的影响研究:在组织工程皮肤中用得最多的种子细胞是间充质干细胞,如骨髓间充质干细胞(bone marrow stem cell, BMSC)、真皮间充质干细胞等,当然还有其他干细胞。间充质干细胞是一类具有多分化潜能的干细胞,还具有好的增殖能力及免疫调节作用,可通过影响巨噬细胞的极化,来影响局部组织的炎症反应过程。有研究者采

用脂多糖刺激体外培养的巨噬细胞分泌炎症细胞因子 IL-10 和 TNF- α , 然后在培养体系中加入 BMSCs, 结果发现加入 BMSCs 后减少了炎症细胞因子的分泌, 提示可能具有促进巨噬细胞向 M2 型分化的作用^[19]。也有报道从动物模型层面对这个现象进行验证, 郑远华等研究发现, 通过将 BMSC 经过尾静脉注射给脓毒症大鼠模型, 可抑制腹腔巨噬细胞向 M1 型极化, 从而减轻脓毒症大鼠的炎症反应^[20]。为了更好地修复皮肤创面, 研究人员开始致力于调控损伤皮肤局部环境, 使失衡的免疫应答重新达到平衡。Yang 等^[21]通过姜黄素影响 BMSCs 的增殖及分泌细胞外基质等功能来调节创面修复的微环境, 促进创面修复再生。

2. 支架材料对巨噬细胞极化的影响研究: 组织工程皮肤中采用的生物材料可能会对巨噬细胞的表型调控产生影响。越来越多的证据表明, 巨噬细胞的极化状态对生物材料的理化性质高度敏感, 随着生物材料研究的发展, 研究人员已经能很好地控制材料的表面性质, 以介导人体的免疫反应, 调节组织的炎症和修复再生^[22]。海藻酸钠、明胶及胶原已经被大量研究证实可用来治疗组织损伤, 较多研究采用将纤维蛋白胶与骨髓间充质干细胞复合, 制作活性敷料膜, 移植修复皮肤缺损动物模型, 获得较好疗效。大家认可的机制是生物材料可以募集 CXCR4⁺ 细胞, 包括巨噬细胞、造血干细胞和骨髓间充质干细胞并增加血管生成^[23]。据报道生物活性玻璃/海藻酸钠水凝胶可使巨噬细胞在体内外向 M2 表型极化, 上调抗炎基因的表达。M2 型极化后的巨噬细胞可进一步招募成纤维细胞和内皮细胞, 增强成纤维细胞的细胞外基质合成和内皮细胞的体内外血管化^[24]。根据生物材料理化性能用作细胞支架或药物递送系统对巨噬细胞表型进行调控, 也许能够成为一种促进组织再生的治疗策略。

五、展 望

综上所述, 皮肤替代品的出现极大缓解了临床上皮肤缺损治疗的难题, 加速了伤口愈合, 但它们在促进创面再生、减少或抑制瘢痕形成方面还有待于更进一步的优化和研究。干细胞、生长因子以及生物材料的开发为皮肤再生医学的发展提供了巨大的前景。再生疗法的疗效很大程度上受宿主免疫系统的影响, 而宿主免疫细胞尤其是巨噬细胞在组织修复和再生过程中起着重要的作用。因此, 了解巨噬细胞如何影响组织愈合对开发有效的再生策略至关重要。虽然

已经有研究通过诱导巨噬细胞向有利于再生的 M2 型极化以促进创面修复, 但是效果并没有达到预期, 所以在未来需要不断开展深入研究, 掌握调节巨噬细胞与其他免疫细胞的协同发挥作用的方法促进组织再生, 使组织工程皮肤移植治疗在临床上的应用更加广泛, 减少或消灭瘢痕的形成。

参考文献

- Namgoong S, Jung JE, Han SK, *et al.* Potential of tissue - engineered and artificial dermis grafts for fingertip reconstruction [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2020, 146 (5): 1082 - 1095
- Moon KC, Chung HY, Han SK, *et al.* Tissue - engineered dermis grafts using stromal vascular fraction cells on the nose: a retrospective case - control study [J]. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2020, 73 (5): 965 - 974
- Wang Z, Cui M, Shah AM, *et al.* Mechanistic basis of neonatal heart regeneration revealed by transcriptome and histone modification profiling [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(37): 18455 - 18465
- Wu J, Zhang L, Shi J, *et al.* Macrophage phenotypic switch orchestrates the inflammation and repair/regeneration following acute pancreatitis injury [J]. *Ebiomedicine*, 2020, 58: 102920
- Schiaffino S, Pereira MG, Cicilioti S, *et al.* Regulatory T cells and skeletal muscle regeneration [J]. *Febs J*, 2017, 284(4): 517 - 524
- Büttner R, Schulz A, Reuter M, *et al.* Inflammaging impairs peripheral nerve maintenance and regeneration [J]. *Aging Cell*, 2018, 17 (6): e12833
- Stone RC, Pastar I, Ojeh N, *et al.* Epithelial - mesenchymal transition in tissue repair and fibrosis [J]. *Cell Tissue Res*, 2016, 365 (3): 495 - 506
- Shapouri - Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, *et al.* Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(9): 6425 - 6440
- Yunna C, Mengru H, Lei W, *et al.* Macrophage M1/M2 polarization [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 877: 173090
- 张国锋, 马晋平. 动物模型: 开启你的再生潜力[J]. *世界科学*, 2017, 5(461): 22 - 24.
- Gehrke AR, Neverett E, Luo YJ, *et al.* Acoel genome reveals the regulatory landscape of whole - body regeneration [J]. *Science*, 2019, 363(6432): eaau6173
- Chen B, Huang S, Su Y, *et al.* Macrophage Smad3 protects the infarcted heart, stimulating phagocytosis and regulating inflammation [J]. *Circ Res*, 2019, 125(1): 55 - 70
- Lasocka I, Jastrzębska E, Szulc - Dąbrowska L, *et al.* The effects of graphene and mesenchymal stem cells in cutaneous wound healing and their putative action mechanism [J]. *Int J Nanomed*, 2019, 14: 2281 - 2299
- Oishi Y, Manabe I. Macrophages in inflammation, repair and regeneration [J]. *Int Immunol*, 2018, 30(11): 511 - 528
- Li H, Wei X, Zhou L, *et al.* Dynamic cell transition and immune response landscapes of axolotl limb regeneration revealed by single - cell analysis [J]. *Protein Cell*, 2021, 12(1): 57 - 66

- 16 Bolaños - Castro LA, Walters HE, García VR, *et al.* Immunity in salamander regeneration; where are we standing and where are we headed? [J]. *Dev Dyn*, 2021, 250(6): 753 - 767
- 17 Seraphim PM, Leal EC, Moura J, *et al.* Lack of lymphocytes impairs macrophage polarization and angiogenesis in diabetic wound healing [J]. *Life Sci*, 2020, 254: 117813
- 18 Louiselle AE, Niemiec SM, Zgheib C, *et al.* Macrophage polarization and diabetic wound healing [J]. *Transl Res*, 2021, 236: 109 - 116
- 19 王焕丽, 熊兵, 陈华德, 等. 骨髓间充质干细胞对巨噬细胞分泌炎症因子的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2014, 34(9): 1259 - 1264
- 20 郑远华, 熊兵, 邓医宇, 等. 同种异体骨髓间充质干细胞对脓毒症大鼠腹腔巨噬细胞极化改变的影响[J]. *中华烧伤杂志*, 2017, 33(4): 217 - 233
- 21 Yang Z, He C, He J, *et al.* Curcumin - mediated bone marrow mesenchymal stem cell sheets create a favorable immune microenvironment for adult full - thickness cutaneous wound healing[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 21
- 22 Lee J, Byun H, Madhurakkat PS, *et al.* Current advances in immunomodulatory biomaterials for bone regeneration [J]. *Adv Health Mater*, 2019, 8(4): e1801106
- 23 Motegi SI, Ishikawa O. Mesenchymal stem cells; the roles and functions in cutaneous wound healing and tumor growth [J]. *J Dermatol Sci*, 2017, 86(2): 83 - 89
- 24 Zhu Y, Ma Z, Kong L, *et al.* Modulation of macrophages by bioactive glass/sodium alginate hydrogel is crucial in skin regeneration enhancement [J]. *Biomaterials*, 2020, 256: 120216

(收稿日期: 2021 - 09 - 11)

(修回日期: 2021 - 09 - 13)

右美托咪定对脓毒症时巨噬细胞影响的研究进展

王滔 邱思遥 马兴龙 温建立

摘要 脓毒症(sepsis)是感染引起宿主反应失调,导致危及生命的器官功能损害的症候群,是一个高病死率的临床综合征,严重者可导致多器官功能障碍综合征,非特异性免疫功能障碍和免疫失衡是其重要的病理特征。巨噬细胞为重要的免疫细胞,是先天性免疫和适应性免疫重要成分之一,调控巨噬细胞的功能可能是治疗脓毒症的潜在方法。近年来研究发现,右美托咪定(dexmedetomidine, DEX)在脓毒症治疗中发挥了一定的作用,本文就右美托咪定对脓毒症时巨噬细胞抗炎作用的影响及作用机制进行综述。

关键词 右美托咪定 脓毒症 巨噬细胞 抗炎活性

中图分类号 R453.9

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.01.005

《第三版脓毒症与感染性休克定义的国际共识》将脓毒症定义为感染引起宿主反应失调,导致危及生命的器官功能损害的症候群,是一个高病死率的临床综合征^[1]。一项多中心研究显示,全球每年有高达3100万例脓毒症患者,其中包括1940万例严重脓毒症,约600万例死亡^[2]。脓毒症的发病机制未明,宿主在脓毒症发生后的免疫功能变化是影响预后的重要原因,无论在先天性免疫或适应性免疫过程中,巨噬细胞在机体受到感染时发挥至关重要的作用。右美托咪定(dexmedetomidine, DEX)为高选择性的 α_2 受体激动药物,除了镇静和镇痛作用外,还具有降低患者病死率、器官保护等作用,基础研究也表明 DEX

具有抗炎、抗凋亡、抑制氧化应激以及器官保护的作用。近期研究显示,DEX对炎症条件下的巨噬细胞功能产生了一定的影响,在脓毒症免疫机制中发挥重要作用。本文就 DEX对脓毒症时巨噬细胞抗炎作用的影响及作用机制进行综述。

一、脓毒症时巨噬细胞的变化

巨噬细胞是机体免疫细胞的重要组成部分,具有分泌炎症细胞因子、趋化、吞噬、调节炎症反应和杀灭微生物等作用。脓毒症发生时,巨噬细胞可以通过Toll样受体(toll-like receptors, TLR-4)识别,从而激活先天性免疫。与此同时T、B淋巴细胞通过细胞受体特异性识别抗原递呈细胞(APC)递呈的T、B淋巴细胞抗原表位,识别抗原后的T、B淋巴细胞在协同刺激分子参与下,发生活化、增殖、分化产生效应细胞,最后可由参与适应性免疫的巨噬细胞吞噬及清除。组织中巨噬细胞大多来自卵黄囊或胚胎造血干

基金项目:贵州省卫生健康委员会科学技术基金资助项目(zy-wjkj2019-1-070)

作者单位:563000 贵州,遵义医科大学第三附属医院重症医学科
通信作者:温建立,电子邮箱:zywenjianli@163.com