

# 脂肪间充质干细胞治疗复杂性肛瘘的机制探讨

秦 菊 江 滨 周春根

**摘 要** 复杂性肛瘘是一种病因复杂、治疗难度大且复发率高的肛肠疾病,如何提高复杂性肛瘘治愈率一直是临床治疗的难点。间充质干细胞移植是近年来临床研究的热点之一,来源广、易获取,具有增殖分化潜能和调节免疫、抗炎、促进创面组织再生等功能,对于复杂性肛瘘患者的治疗凸显出其独特的治疗优势。本文对脂肪间充质干细胞的生物学特性及其治疗复杂性肛瘘的潜在作用机制做一综述,以期今后的研究和临床应用奠定基础。

**关键词** 脂肪间充质干细胞 复杂性肛瘘 增殖 分化 分泌

**中图分类号** R656

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.06.038

复杂性肛瘘是指术后易导致肛门失禁的肛瘘,包括瘘管穿越肛门外括约肌 30% 以上的肛瘘(高位括约肌间肛瘘、括约肌上肛瘘和括约肌外肛瘘)、女性前侧肛瘘以及复发性肛瘘或先前存在大便失禁的肛瘘,炎症性肠病或放射引起的肛瘘等<sup>[1]</sup>。手术干预是临床主要治疗方式,治疗关键在于消除内口及与内口相通的瘘管,最大可能减少对肛门括约肌损伤。但由于内口位置及瘘管走行与括约肌关系复杂,切开挂线等传统手术创面大、恢复慢,术后患者生活质量下降,肛门功能常易受影响,肛门失禁率发生较高。因此在尽可能减少创伤、保护肛门功能的前提下,提高复杂性肛瘘治愈率既是临床治疗复杂性肛瘘的难点。

脂肪间充质干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)是从脂肪组织中分离提取而得到的一种具有自我更新及多向分化潜能的间充质干细胞,具有组织再生与修复、抑制炎症反应及免疫调节等功能。与骨髓、脐带等其他来源的间充质干细胞比较,ADSCs 来源广泛、取材简便、可塑性强,免疫原性更低<sup>[2]</sup>。目前已广泛应用于退行性疾病、组织修复与重建、免疫系统等相关疾病的预防和治疗<sup>[3,4]</sup>。江滨等<sup>[5]</sup>将 ADSCs 用于复杂性肛瘘的治疗,其安全性和有效性均得到了证实。然而其作用机制仍不明确,因此,本文对 ADSCs 治疗复杂性肛瘘的机制进行探讨,详见图 1。

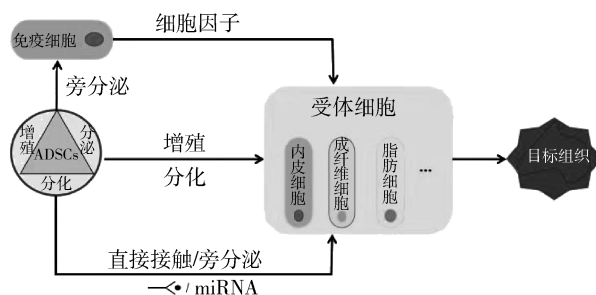


图 1 ADSCs 治疗复杂性肛瘘的可能机制

## 一、ADSCs 生物学特性

1. 增殖:ADSCs 是一种多能干细胞,具有很强的增殖能力。研究发现,ADSCs 在体外培养的 2~5 天增殖迅速,呈对数式增殖,且增殖速度较其他间充质干细胞更快,经 100 代增殖扩增后仍能保持正常的二倍体核型,性质仍能保持相对稳定<sup>[6]</sup>。与骨髓、脐带等其他来源间充质干细胞比较,ADSCs 能更长时间在体外维持其生物学特性。因此,增殖迅速、体外活性持久可能是 ADSCs 发挥治疗作用的前提和基础。

2. 分化:ADSCs 具有干细胞所共有的“干性”,能在不同的诱导条件下分化成多种细胞,如脂肪细胞、骨细胞、神经细胞、心肌细胞及成纤维细胞等。目前国内已广泛将其应用于免疫系统疾病及损伤、烧伤等创伤修复性疾病的治疗<sup>[7]</sup>。目前有研究认为,ADSCs 到达肛瘘创面后,在创面组织特定微环境诱导下,通过增殖分化发育为相应组织类型的功能细胞,而促进创面愈合,恢复肛门功能。但 ADSCs 能否直接分化替代受损细胞却存在争议,还需进一步研究探索。相关试验研究发现,ADSCs 移植治疗兔肛瘘模型,愈合后的肛门组织充满了脂肪细胞及新生毛囊腺<sup>[8]</sup>。

3. 分泌:ADSCs 具有自分泌、旁分泌和远程分泌

基金项目:江苏省卫生健康委员会医学科研重点项目(ZDB2020002)

作者单位:210022 南京中医药大学附属南京中医院

通信作者:江滨,教授,主任医师,博士生导师,电子信箱:fasy00234@

njucm.edu.cn

等分泌功能,能在不同的诱导条件下分泌不同的细胞因子<sup>[9]</sup>。其中,与促进创面愈合相关的因子主要包括:免疫调节因子(如 PEG、HGF、IDO),抗凋亡相关因子(如 VEGF、CSF、TGF),血管生成因子(如 VEGF、IGF、bFGF),细胞生长因子(如 IL-6、SCF、LIF、angiopoietin1)及趋化因子(如 CCL family chemokines、CXCL family chemokines)等<sup>[10]</sup>。

除分泌上述细胞因子外,ADSCs 亦能分泌脂肪干细胞外泌体(adipose-derived stem cells exosome, ADSCs-exos)。目前研究发现 ADSCs-exos 与其来源干细胞有类似的生理功能,更有研究认为干细胞移植的治疗作用更多是通过外泌体而发挥作用<sup>[11]</sup>。相关研究证明,体内和体外培养的 ADSCs 都能通过主动或被动的方式分泌外泌体,大小为 30~150nm,富含与修复再生功能相关的脂类、蛋白质、mRNA、miRNA 及多种生长因子<sup>[12,13]</sup>。现有研究认为 ADSCs 的分泌功能是其发挥治疗作用的主要机制之一,而 ADSCs-exos 可能是其发挥作用的主要介质。

## 二、ADSCs 治疗复杂性肛瘘的机制

1. 降低炎症反应:过度的创面炎症反应可延缓肛瘘创面的愈合,因此减轻炎症反应是促进复杂性肛瘘创面愈合的重要一环。目前相关研究已证实,ADSCs 能显著降低创面组织中 IL-1、IL-6、IL-8、IL-17、IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$  等促炎性细胞因子的水平,并能同时增加抗炎性细胞因子 IL-3、IL-4、IL-5、IL-10 等的表达,通过改变免疫细胞的细胞因子谱,调控免疫细胞的增殖活化从而减轻创面炎症反应,其机制可能与抑制 COX-2、PGE2、NF- $\kappa$ B 等多种信号通路的活化相关<sup>[14,15]</sup>。同时,ADSCs 通过分泌免疫相关因子,直接作用于免疫细胞而进一步调控免疫炎症反应。如:ADSCs 通过分泌 PGE2、IDO 和 sHLA-G5 等固有性免疫抑制因子可直接抑制 NK 细胞的活化;分泌肿瘤坏死因子 $\alpha$  刺激基因-6(TSG-6)可诱导巨噬细胞表型由 M1 型(促炎型)转变为 M2 型(抗炎型)。相关研究发现,M2 型巨噬细胞不仅可分泌 IL-10 下调炎症反应,同时亦可诱导 STAT3 或其他转录因子募集而调节血管生成及组织重塑<sup>[16]</sup>。

此外,ADSCs-exos 对降低炎症反应亦具有重要作用。研究发现,ADSCs-exos 可诱导巨噬细胞由 M1 型向 M2 型的转化,其具体作用机制可能是通过自身携带的 miRNA 影响巨噬细胞表面的 Toll 样受体 4 的合成而实现的<sup>[17]</sup>。另有研究发现,ADSCs-exos 可通过保护血管屏障的完整性,阻止炎症细胞与内皮

细胞结合,从而调节受损内皮细胞的炎症反应<sup>[18]</sup>。另外,ADSCs-exos 亦可通过高表达 Nr2 而降低 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  等炎性细胞因子水平,而降低创面的炎症反应<sup>[19]</sup>。

2. 免疫调节:ADSCs 及 ADSCs-exos 均具有免疫调节作用。ADSCs 通过受体-配体相互作用的方式,与 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞等特异性免疫细胞及巨噬细胞(M $\phi$ s)、NK 细胞、和树突状细胞(DC)等髓系细胞直接接触,如阻断 T 淋巴细胞周期、抑制 B 淋巴细胞的增殖和分化、影响 DC 细胞功能,而进一步影响免疫功能<sup>[20]</sup>。其主要机制可能与 Notch、ERK、MAPK 等相关信号转导通路的活化有关<sup>[21,22]</sup>。此外,ADSCs 通过分泌与免疫调节相关的细胞因子,如 IL-10、TGF- $\beta$ 、PGE2 和 NO 等,通过影响免疫细胞活化性受体的表达对免疫细胞进行调控<sup>[23]</sup>。如:ADSCs 分泌 TGF- $\beta$ 3 和 TSP1 可促进 M2M $\phi$ s 极化。同时,ADSCs-exos miR-223 又能够靶向 pknx1 调节 M $\phi$ s 极化,从而共同实现免疫调节<sup>[24]</sup>。故目前有研究认为,间充质干细胞的免疫调节功能主要是通过产生的可溶性因子及其对免疫细胞的旁分泌作用来实现。

3. 促进血管新生:创面局部充足的循环灌注是复杂性肛瘘愈合的必要条件,可促进细胞生长和肉芽组织形成,而充足的循环灌注受微血管数量及微血管功能影响。相关研究认为,ADSCs 可直接分化为血管内皮细胞(EC)或通过分泌血管源性生成因子(VEGF、HGF、bFGF、FGF2、TGF- $\beta$ 3)直接诱导 EC 增殖,促进创面肉芽组织生长和毛细血管网形成,而改善创面血供,促进肛瘘修复<sup>[25]</sup>;此外,ADSCs 通过分泌产生的各类信号因子,如 IL、IFN、TNF、CSF、细胞生长因子、趋化因子等调节和改善创面局部微环境,为创面组织和血管的增殖和生长创造适宜微环境<sup>[26]</sup>。

另外,ADSCs-exos 在血管形成过程中具有重要作用。相关研究发现,ADSCs-exos 所包含的相关蛋白或 RNA 可直接调控创面组织细胞基因的表达来诱导 EC 的增殖,如:ADSCs-exos 所携带的 miR-126、miR-130a 和 miR-132 等 miRNA 与血管的形成密切相关<sup>[13,27]</sup>。研究证实,ADSCs-exos 携带的 miR-125a 可靶向血管生成抑制因子 DLL4 的 3'非翻译区,或促进内皮间细胞形成,抑制 DLL4 表达,促进创面修复过程中的血管生成<sup>[28]</sup>。Li 等<sup>[29]</sup>研究发现,ADSCs-exos 可通过 lncRNA H19/miR-152-3p/PTEN 轴作用,使成纤维细胞中高表达 miR-152-3p,低表达 lncRNA H19 和 PTEN,并同时激活磷脂酰肌醇-

4,5-二磷酸三激酶(PI<sub>3</sub>K)/蛋白激酶 B(Akt1)信号通路,减少细胞凋亡,促进创面修复。Wang 等<sup>[30]</sup>研究发现 ADSCs-exos 可增加成纤维细胞基质金属蛋白酶-3(MMP3)的表达,调控 I/Ⅲ型胶原和弹性蛋白的形成比例,促进创面愈合,同时并可抑制创面瘢痕形成,其作用机制可能与 ERK/MAPK 通路的活化相关。促进复杂性肛瘘创面愈合的同时减少瘢痕组织的形成,是 ADSCs 治疗复杂性肛瘘的一大亮点和优势,而其具体作用机制仍待进一步研究明确。

### 三、展 望

近年来,ADSCs 的安全性和有效性在临床上均已被肯定,其具有干细胞强大的自我增殖更新、多向分化潜能及分泌功能,且来源广泛、储量丰富、易获得,具有广阔的临床应用前景。目前研究认为 ADSCs 治疗复杂性肛瘘可能是基于 ADSCs 的增殖、分化及分泌功能,从而进一步发挥抗炎、免疫调节和促进血管新生等相关作用,最终实现肛瘘创面的愈合。目前,ADSCs 的免疫调节作用是研究的热点,被认为是其发挥治疗作用的主要机制之一,同时 ADSCs 的分泌功能被认为是发挥治疗作用的主要功能基础,而干细胞治疗复杂性肛瘘尚处于研究发展阶段,ADSCs 治疗复杂性肛瘘的具体作用机制及成分尚不明确,有待于进一步研究和探索。

### 参考文献

- 1 Vogel JD, Johnson EK, Morris AM, *et al.* Clinical practice guideline for the management of anorectal abscess, fistula-in-ano, and rectovaginal fistula[J]. *Dis Colon Rectum*, 2016, 59(12): 1117-1133
- 2 黄平,张坤,李芳,等.脐带和脂肪源性间充质干细胞生物学特性比较[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2018, 56(3): 72-78
- 3 张卓君,李芳,李欣.间充质干细胞对类风湿关节炎适应性免疫细胞的调节作用[J]. *医学研究杂志*, 2021, 50(5): 20-23
- 4 Abderrahim, Naji, Masamitsu, *et al.* Biological functions of mesenchymal stem cells and clinical implications[J]. *Cellular & Molecular Life Sciences Cmls*, 2019, 76(17): 1-20
- 5 江滨,时宏珍,史央,等.自体脂肪干细胞移植治疗复杂性肛瘘的临床观察[J]. *中华结直肠疾病电子杂志*, 2019, 8(6): 566-573
- 6 彭运,陈凤,黄华鑫,等.比较两种不同来源间充质干细胞的生物学特性及多向分化潜能[J]. *中国细胞生物学学报*, 2020, 42(4): 566-572
- 7 曹胜军,王凌峰,巴特,等.脂肪源性间充质干细胞的基础与临床应用研究进展[J]. *中华烧伤杂志*, 2017, 33(3): 184-189
- 8 Qin X, Wang P, Huang Y, *et al.* Adipose-Derived Stem Cells Are an Efficient Treatment for Fistula-in-ano of Japanese Rabbit[J]. *Stem Cells International*, 2019, 2019(4): 1-10
- 9 Kim S, Kim TM. Generation of mesenchymal stem-like cells for

- producing extracellular vesicles[J]. *World J Stem Cells*, 2019, 11(5): 270-280
- 10 Bajek A, Gurtowska N, Olkowska J, *et al.* Adipose-derived stem cells as a tool in cell-based therapies[J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2016, 64(6): 443-454
- 11 郭春,叶小康.间充质干细胞胞外囊泡的研究及应用进展[J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(6): 79-84
- 12 Zhang W, Bai X, Zhao B, *et al.* Cell-free therapy based on adipose tissue stem cell-derived exosomes promotes wound healing via the PI<sub>3</sub>K/Akt signaling pathway[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 370(2): 333-342
- 13 郭嘉,丁琼桦,刘泽,等.间充质干细胞来源外泌体的生物学特性及免疫调控作用[J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26(7): 1093-1101
- 14 Weiss A, Dahlke MH. Immunomodulation by mesenchymal stem cells (MSCs): mechanisms of action of living, apoptotic, and dead MSCs[J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 1191-1195
- 15 Manning CN, Martel C, Sakiyama-Elbert SE, *et al.* Adipose-derived mesenchymal stromal cells modulate tendon fibroblast responses to macrophage-induced inflammation in vitro[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6(1): 74-85
- 16 Song WJ, Li Q, Ryu MO, *et al.* TSG-6 secreted by human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells ameliorates DSS-induced colitis by inducing M2 macrophage polarization in mice[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 5187-5193
- 17 Kim H, Wang SY, Kwak G, *et al.* Exosome-guided phenotypic switch of M1 to M2 macrophages for cutaneous wound healing[J]. *Adv Sci*, 2019, 6(20): 1900500-1900513
- 18 刘青武,陈佳,蒙玉娇,等.间充质干细胞源性外泌体及其在创面修复中的研究进展[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2019, 24(7): 826-832
- 19 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
- 20 Zhou Y, Yamamoto Y, Xiao Z, *et al.* The immunomodulatory functions of mesenchymal stromal/stem cells mediated via paracrine activity[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2019, 8(7): 1-15
- 21 李晓庆,王欣,马诗雨,等.间充质干细胞在促进烧伤创面修复中的免疫调控作用研究进展[J]. *山东医药*, 2018, 58(6): 111-114
- 22 Bruno S, Deregis MC, Camussi G. The secretome of mesenchymal stromal cells: role of extracellular vesicles in immunomodulation[J]. *Immunol Lett*, 2015, 168(2): 154-158
- 23 Zhang Yue, Ge Xiahui, Guo Xuejun, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the function of dendritic cells by secreting galectin-1[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017(1): 1-19
- 24 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(1): 1-16

(转第 167 页)

为免疫治疗晚期 NSCLC 较好的疗效判断标志物。但本研究依然存在着样本量较小、观察时间短、远期观察未达到 OS 等不足。因此仍需要开展大样本量、多中心的前瞻性研究来进一步证实。

# 参考文献

- Iwai Y, Hamanishi J, Chamoto K, *et al.* Cancer immunotherapies targeting the PD - 1 signaling pathway[J]. *Journal of Biomedical Science*, 2017, 24(1): 1 - 11
- Landre T, Des Guez G, Chouahnia K, *et al.* First - line PD - 1/PD - L1 inhibitor plus chemotherapy vs chemotherapy alone for negative or <1% PD - L1 - expressing metastatic non - small - cell lung cancers[J]. *Cancer Res Clin Oncol*, 2020, 146(2): 441 - 448
- 张潇宇, 谢晓冬. 肿瘤标志物在肺癌免疫治疗中的研究进展[J]. *中国癌症防治杂志*, 2020, 12(3): 280 - 284
- Voutsadakis IA. Prediction of immune checkpoint inhibitors benefit from routinely measurable peripheral blood parameters[J]. *Chin Clin Oncol*, 2020, 9(2): 19
- Tanizaki J, Haratani K, Hayashi H, *et al.* Peripheral blood biomarkers associated with clinical outcome in non - small cell lung cancer patients treated with nivolumab[J]. *J Thorac Oncol*, 2018, 13(1): 97 - 105
- Peng L, Wang Y, Liu F, *et al.* Peripheral blood markers predictive of outcome and immune - related adverse events in advanced non - small cell lung cancer treated with PD - 1 inhibitors[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2020, 69(9): 1813 - 1822
- Yang K, Li J, Bai C, *et al.* Efficacy of immune checkpoint inhibitors in non - small - cell lung cancer patients with different metastatic sites: a systematic review and Meta - analysis[J]. *Frontiers in Oncology*, 2020, 10: 1098
- Meirow Y, Baniyash M. Immune biomarkers for chronic inflammation related complications in non - cancerous and cancerous diseases[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2017, 66(8): 1089 - 1101
- Galon J, Pagès F, Marincola FM, *et al.* Cancer classification using the Immunoscore: a worldwide task force[J]. *Journal of Translational medicine*, 2012, 10(1): 1 - 10
- 易福梅, 顾阳春, 陈森, 等. 治疗前后 NLR 和 PLR 对进展期非

小细胞肺癌一线化疗疗效及预后的预测价值[J]. *中国肺癌杂志*, 2018, 21(6): 481 - 492

- Mattei F, Andreone S, Marone G, *et al.* Eosinophils in the tumor microenvironment[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1273: 1 - 28
- Reichman H, Itan M, Rozenberg P, *et al.* Activated eosinophils exert antitumorigenic activities in colorectal cancer[J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(3): 388 - 400
- Buder - Bakhaya K, Hassel JC. Biomarkers for clinical benefit of immune checkpoint inhibitor treatment—a review from the melanoma perspective and beyond[J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 1474
- Ding J, Karp JE, Emadi A. Elevated lactate dehydrogenase (LDH) can be a marker of immune suppression in cancer: interplay between hematologic and solid neoplastic clones and their microenvironments [J]. *Cancer Biomark*, 2017, 19(4): 353 - 363
- Jiang Z, Hsu JL, Li Y, *et al.* Cancer cell metabolism bolsters immunotherapy resistance by promoting an immunosuppressive tumor microenvironment[J]. *Frontiers in Oncology*, 2020, 10: 1197
- De Jong C, Deneer VHM, Kelder JC, *et al.* Association between serum biomarkers CEA and LDH and response in advanced non - small cell lung cancer patients treated with platinum - based chemotherapy [J]. *Thorac Cancer*, 2020, 11(7): 1790 - 1800
- 蔡耿喜, 刘情, 姚广裕, 等. 400 例早期乳腺癌化疗过程中贫血发生率及相关因素[J]. *实用医学杂志*, 2015, 31(23): 3898 - 3900
- Wu S, Wang L, Li W, *et al.* Comparison between the first - line and second - line immunotherapy drugs in the progression - free survival and overall survival in advanced non - small cell lung cancer: a systematic review and meta - analysis of randomized controlled trials[J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(2): 1717 - 1726
- Wang C, Qiao W, Jiang Y, *et al.* The landscape of immune checkpoint inhibitor plus chemotherapy versus immunotherapy for advanced non - small - cell lung cancer: a systematic review and Meta - analysis[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(5): 4913 - 4927

(收稿日期: 2021 - 10 - 19)

(修回日期: 2021 - 11 - 29)

(接第 183 页)

- Nie C, Yang D, Xu J, *et al.* Locally administered adipose - derived stem cells accelerate wound healing through differentiation and angiogenesis [J]. *Cell Transplant*, 2011, 20(2): 205 - 216
- Shabbir A, Cox A, Rodriguez - Menocal L, *et al.* Mesenchymal stem cell exosomes induce proliferation and migration of normal and chronic wound fibroblasts, and enhance angiogenesis in vitro[J]. *Stem Cells Dev*, 2015, 24(14): 1635 - 1647
- Roura S, Bayes - Genis A. Toward standardization of mesenchymal stromal cell - derived extracellular vesicles for therapeutic use: a call for action[J]. *Proteomics*, 2019, 19: 1 - 2
- Liang X, Zhang L, Wang S, *et al.* Exosomes secreted by mesenchy-

mal stem cells promote endothelial cell angiogenesis by transferring miR - 125a[J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(11): 2182 - 2189

- Li B, Luan S, Chen J, *et al.* The MSC - derived exosomal lncRNA H19 promotes wound healing in diabetic foot ulcers by upregulating PTEN via micro RNA - 152 - 3p[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 19: 814 - 826
- Wang L, Hu L, Zhou X, *et al.* Exosomes secreted by human adipose mesenchymal stem cells promote scarless cutaneous repair by regulating extracellular matrix remodelling [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 13309 - 13321

(收稿日期: 2021 - 12 - 22)

(修回日期: 2021 - 12 - 31)