

间充质干细胞治疗盆底功能障碍性疾病的作用机制及临床进展

张舒飞 汤剑明 洪莉

摘要 盆底功能障碍性疾病是中老年女性的常见疾病,它严重影响我国女性的生活质量。由于传统治疗方式受到并发症等因素的限制,使得临床上迫切需要一个安全有效的新型治疗方式。间充质干细胞因其良好的增殖分化特性受到广泛关注,研究证实它还可通过归巢效应、旁分泌、免疫调节、调节细胞外基质等机制影响盆底的损伤修复和组织再生,这使得它成为治疗盆底功能障碍性疾病的良好选择。本综述根据间充质干细胞在盆底功能障碍领域的相关研究,探讨了间充质干细胞治疗的相关机制及临床应用现状,同时展望了其应用前景。

关键词 盆底功能障碍性疾病 间充质干细胞 水凝胶

中图分类号 R71 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2023.01.037

盆底功能障碍性疾病 (pelvic floor dysfunction, PFD) 是由于盆底支持结构损伤或神经肌肉功能障碍而导致的常见病,主要包括尿失禁、大便失禁和盆腔器官脱垂,其主要危险因素为妊娠分娩,但也与超重、肥胖和人口老龄化密切相关^[1]。流行病学调查显示,接近 25% 的美国女性罹患 PFD,而我国女性尿失禁的患病率为 30.9%,这对我国医疗卫生系统造成了沉重的负担^[1,2]。PFD 的常规治疗方式包括凯格尔运动、网片修补术和阴道无张力尿道中段悬吊带术等,这些传统治疗方法在 PFD 治疗领域占据着重要地位,但手术并发症大大影响着患者的生活质量与满意度,例如:不可吸收的网片可能会导致内脏器官的粘连、硬化、纤维化和感染,从而造成慢性疼痛、植入部位侵蚀等不良反应,阴道无张力尿道中段悬吊带术虽然有着不错的效果,但也会出现阴道疼痛等并发症,所以临床上迫切需要一种有效性高且并发症较少的新型治疗方式^[3,4]。

间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 是一组来源于中胚层的具有多向分化能力的特殊细胞。最初在骨髓中分离,目前已经能够通过脐带血、脂肪组织、子宫内膜等多种途径获取 MSC^[5]。作为热点

研究对象,MSC 已经被用于克罗恩病、海绵体神经损伤等疾病治疗的研究^[6,7]。因此,本文总结近年来 MSC 在 PFD 领域的相关研究,探索 MSC 治疗 PFD 的相关机制,讨论 MSC 临床应用的现状并提出未来的发展方向。

一、间充质干细胞治疗 PFD 的作用机制

1. 归巢效应:目前已经被证实,MSC 可以通过血液循环归巢于损伤和炎症部位,以促进损伤修复和组织再生,因此认为归巢效应是 MSC 治疗的基础^[8]。Dissaranan 等^[9]使用阴道扩张大鼠模型来研究 MSC 的归巢效应,结果发现,在接受阴道扩张后,MSC 优先定位于尿道、阴道和脾脏,也就是损伤部位,这暗示了损伤部位可能产生某种因子促使 MSC 向损伤部位归巢。

Jiang 等^[10]综合考虑 PFD 形成过程中的损伤因素,使用阴道扩张和阴部神经挤压组成的双重损伤,得到确切的压力性尿失禁大鼠模型后,静脉输注过表达趋化因子受体 1 (C-C motif chemokine receptor 1, CCR1) 的 MSC,同时联合局部注射趋化因子配体 7 (C-C motif chemokine ligand 7, CCL7) 治疗其压力性尿失禁。结果表明,实验组的 MSC 植入率和存活率显著升高,且 MSC 主要分布在尿道中部和尿道与阴道之间的组织中,促进了尿道结构和功能的恢复,这表明尿道 CCL7 的注射显著促进了 CCR1 过表达的 MSC 归巢于损伤的尿道与阴道组织,验证了 MSC 的归巢效应;同时该实验还检测了大鼠模型 CCL7 的量,研究者发现它在 0.5 天、1 天、1 周 3 个时间点均明显升

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFC2002204);国家自然科学基金资助项目(81971364,82001527);湖北省第二届医学领军人才工程第二层次基金资助项目{[2019]47号};武汉大学青年教师资助项目(2042020k0066)

作者单位:430060 武汉大学人民医院妇产科

通信作者:洪莉,电子邮箱:drhongli@gmail.com

高,由于考虑到 CCL7 理论上已经被机体代谢,其后续升高可能是由于 MSC 归巢后调节了损伤部位的微环境,促进了 CCL7 的释放,从而进一步验证了 MSC 归巢效应的存在,且推断趋化因子-趋化因子受体轴在 MSC 的归巢中起重要作用。

有研究证明,白细胞介素-1 β 通过 p38 MAPK 信号通路诱导 MSC 趋化因子受体 3 的表达,同时增强了人脐静脉内皮细胞中趋化因子配体 9 的分泌,从而促进了 MSC 的跨内皮迁移^[8]。由此可以推测,PFU 患者的损伤或炎症部位产生多种细胞因子并通过趋化因子-趋化因子受体轴促进了 MSC 的跨内皮迁移,最终聚集于损伤或炎症部位,增强了 MSC 的归巢作用。此外,归巢后的 MSC 可以调节损伤部位的微环境,促进内皮细胞分泌更多趋化因子,正向促进 MSC 在局部聚集,进而通过多向分化等途径促进损伤部位的修复。

2. 旁分泌:旁分泌是 MSC 治疗的重要机制之一,有研究显示,MSC 可以旁分泌生成多种与血管生成、神经发生、抗凋亡、抗氧化应激反应有关的细胞因子(血管内皮生长因子、胰岛素样生长因子-1、神经生长因子等)来促进组织再生^[7]。Zhang 等^[11]研究发现,MSC 移植组的阴道组织固有层中的血管内皮生长因子表达水平与对照组比较明显上调;组织学分析也显示,MSC 移植组的微血管密度显著增加。因此推断,MSC 通过促进血管内皮生长因子的上调诱导新生血管形成,从而改善损伤部位的血运,加速损伤部位的修复。

Dissaranan 等^[9]研究发现,注射 MSC 挽救了模拟产伤大鼠尿道组织学分级的降低与漏尿点压的降低且阴道扩张后静脉注射的 MSC 优先定位于阴道、尿道的平滑肌层,这也进一步说明了 MSC 优先归巢于损伤部位组织并促进平滑肌的恢复。Zhang 等^[11]的研究也证实了这一点,向恒河猴双侧卵巢切除模型中的阴道壁移植 MSC 或注射 0.9% 氯化钠溶液,MSC 组非血管肌层平滑肌的比例为 36.26%,阴道平滑肌束排列规律且体积饱满;对照组的非血管肌层平滑肌的比例为 25.95% 且阴道平滑肌束排列紊乱且体积较小。

上述研究均证实了 MSC 通过促进损伤部位的血管及平滑肌的形成,从而改善尿道或阴道功能,但却并没有得出 MSC 的修复机制,难以确定这种效应是得益于 MSC 的定向分化作用还是旁分泌效应,抑或是两者的共同效应。因此,Mao 等^[12]研究发现,MSC

输注组大鼠阴道壁的血管内皮生长因子表达水平在不同时间点均明显高于对照组;在输注 MSC 14 天后,几乎所有的 MSC 已经被机体清除,且没有分化为成纤维细胞或成熟的平滑肌细胞。因此可以推测,MSC 通过旁分泌效应促进组织再生使得去卵巢大鼠阴道的纤维肌肉结构正常化,而不是直接发挥其分化作用,但这种现象的产生也可能是由于 MSC 的注射方式及来源导致 MSC 过早被大鼠清除,并没有获得分化条件,还需要更加严谨的实验来进行验证,但不可否认的是,这种旁分泌效应在阴道壁修复中发挥了重要作用。

3. 抗炎及免疫调节:有研究利用聚丙烯网孔材料搭载脂肪源性 MSC,结果显示,脂肪源性 MSC 的存在可显著降低体外刺激条件下的 T 淋巴细胞增殖率,且与 MSC 共培养的 CD8⁺ T 细胞的胞内 IFN- γ 水平较低,这证实了 MSC 的抗炎作用,而将载脂肪源性 MSC 材料与巨噬细胞样细胞系(U937)体外共培养发现脂肪源性 MSC 可阻止巨噬细胞向 M1 亚型分化并增加 M2 亚型巨噬细胞的比例,巨噬细胞的 M1 亚型为促炎症表型而 M2 亚型为促再生表型,后者表达和分泌多种细胞因子,刺激干细胞的肌源性分化,有利于损伤的愈合^[3,13]。不仅如此,MSC 在促进了巨噬细胞亚型转换的同时,还可能促进了 M0 亚型巨噬细胞的活化^[14]。上述研究证明,MSC 具有抗炎及免疫调节作用,可能参与巨噬细胞的表型转换及活化,有益于调节损伤修复过程中的微环境,加速 PFU 损伤的修复。

4. 调节细胞外基质:胶原是细胞外基质的主要成分,占结缔组织的 80%,而阴道细胞外基质的主要胶原类型为 I 型胶原和 III 型胶原,其中 I 型胶原提供抗张强度和硬度,III 型胶原影响组织的延展性和弹性^[11,15]。另外,胶原降解与基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)有关,而 MMP 组织抑制物(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)可以特异性地抑制这一过程,在盆腔器官脱垂组织中,细胞外基质的 MMP2 和 MMP9 表达上调,而 TIMP 的表达下调^[15]。

目前,盆腔器官脱垂患者阴道组织中胶原亚型的变化还存在争议:Vetuschi 等^[16]研究发现,盆腔器官脱垂组的阴道前壁 I 型胶原明显低于对照组,而 III 型胶原明显高于对照组;但 Gong 等^[15]的研究却发现,盆腔器官脱垂标本的两种胶原表达量均明显低于对照组。同时,Li 等^[17]研究也发现,盆腔器官脱垂患者子宫韧带成纤维细胞的两种胶原表达水平也明显降

低。上述变化可能是由于研究地点、研究方法的不同导致的,但改善盆底组织的胶原水平,或许是治疗 PFD 的理想方法。

Zhang 等^[11]在阴道壁注入 MSC 12 周后, MSC 组的固有层 I 型胶原明显增加, III 型胶原明显减少, I/III 型胶原比例明显高于对照组(注入 0.9% 氯化钠溶液),同时 MMP2、MMP9 和 MMP13 的表达显著下调,推测 MSC 组可能通过减少其降解来增加胶原和弹性蛋白的含量。而在另一项研究中, MSC 的植入却在第 4 周和第 12 周时上调了 III 型胶原的表达,下调了 I 型胶原的表达,使得 I/III 型胶原比例低于非 MSC 植入组^[12]。

上述几项研究的矛盾使得无法确定盆腔器官脱垂时阴道壁胶原亚型的变化,也无法确定 MSC 对阴道壁细胞外基质胶原亚型的具体调节方向。因此推测:MSC 对细胞外基质胶原亚型的调节是动态的,在盆底修复的不同时间点有着不同的胶原比例,但是这种调节是正向的,均促进了 PFD 的恢复,还需要更加大量和长期的研究来确定 MSC 对细胞外基质的具体调节作用。

二、间充质干细胞在 PFD 领域的临床应用

MSC 的多种修复机制使得 MSC 植入成为治疗 PFD 的一种理想方式,但是由于 MSC 治疗的临床应用存在许多困难,目前关于 MSC 应用于 PFD 患者的临床试验报道较少。MSC 通常在体外经过多代扩增,以产生植入前所需的细胞数量,而细胞过度扩增可能会导致植入后细胞的存活率低,旁分泌效应弱,归巢和分化能力差等情况^[18]。

MSC 复合富血小板血浆的盆底肌多点注射在治疗 1 年后显著改善了 PFD 患者的盆底健康状况,盆膈裂孔面积显著减小;盆底 I、II 类肌纤维肌力,阴道收缩压显著增加,且患者满意度高^[19]。这项研究说明, MSC 治疗是有效且并发症少的,但是由于样本量仅 10 例,还需要更多大样本量临床研究支持。

一项将自体脂肪干细胞应用于女性压力性尿失禁的临床试验的结果显示,患者的压力性尿失禁状况在注射后的第 2、6、24 周与治疗前比较都有显著改善,但第 6 周的改善程度较第 2 周有所降低,这可能是由于注射物质在膨胀效应后体积逐渐减小导致的,不仅如此,还有 1 例患者出现了轻度排尿困难^[20]。这项研究提示,即使短期治疗获得了不错的治疗效果,其 MSC 注射的长期治疗效果及安全性是无法保证的,因此需要一种可以长期、最大程度地保持 MSC

功能的安全植入方式。

杨德宇等^[21]以脱细胞羊膜为外壳、聚己内酯为载体搭载 MSC 种子细胞,构建新型盆底修复材料,具有良好的生物相容性及抗形变性能,是一种理想的 PFD 组织工程材料。不仅是有机合成材料,水凝胶材料因其良好的生物相容性和其三维支架结构在肿瘤、心血管、脊髓损伤等领域被广泛研究,其结构有益于 MSC 存活和干细胞特性的维持^[18,22-25]。不仅如此,水凝胶材料还可以搭载多种细胞因子,从而促进组织再生和 MSC 的分化,为干细胞治疗提供了一种安全、有效的方法。

三、展 望

PFD 已经严重影响我国女性的生活质量,但传统治疗方式的多种并发症令人难以接受,临床上迫切需要一种安全性高、治疗效果确切的新型治疗方式。因此, MSC 进入人们的视野,骨髓、脂肪、子宫内层等组织来源的多种 MSC 通过归巢效应、旁分泌、免疫调节等机制促进 PFD 的损伤修复和组织再生。但目前 MSC 治疗 PFD 的临床应用较少且受到多种因素的限制,水凝胶等具有良好搭载性能的组织工程材料有可能成为 MSC 治疗 PFD 的良好载体,相信随着组织工程和再生工程的进步, MSC 将会在 PFD 治疗领域发挥其重要作用。

参考文献

- 1 朱兰, 姜文佳. 中国女性盆底康复现状[J]. 中国计划生育和妇产科, 2020, 12(10): 3-4
- 2 Wu JM, Vaughan CP, Goode PS, et al. Prevalence and trends of symptomatic pelvic floor disorders in U. S. women[J]. *Obstet Gynecol*, 2014, 123(1): 141-148
- 3 Marinario F, Sánchez - Margallo FM, Álvarez V, et al. Meshes in a mess: mesenchymal stem cell - based therapies for soft tissue reinforcement[J]. *Acta Biomater*, 2019, 85: 60-74
- 4 Taithongchai A, Pandeva I, Sultan AH, et al. Association between 3D endovaginal and 2D perineal pelvic floor ultrasound findings and symptoms in women presenting with mid - urethral sling complications [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2021, 57(4): 639-646
- 5 Callewaert G, Da Cunha MMCM, Sindhwani N, et al. Cell - based secondary prevention of childbirth - induced pelvic floor trauma[J]. *Nat Rev Urol*, 2017, 14(6): 373-385
- 6 Cheng F, Huang Z, Li Z. Mesenchymal stem - cell therapy for perianal fistulas in Crohn's disease: a systematic review and Meta - analysis[J]. *Tech Coloproctol*, 2019, 23(7): 613-623
- 7 Chen Z, Han X, Ouyang X, et al. Transplantation of induced pluripotent stem cell - derived mesenchymal stem cells improved erectile dysfunction induced by cavernous nerve injury [J]. *Theranostics*, 2019, 9(22): 6354-6368

(下转第 178 页)

- 研究[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(4): 255 - 258
- 17 王平东. 解毒洗剂及溃疡洗剂联合常规西药治疗糖尿病足临床研究[J]. 新中医, 2021, 53(7): 85 - 88
 - 18 刘可, 刘之川. 温针灸联合 NPWT 技术对糖尿病足患者血清 VEGF、IGF-1、IL-6、CRP 影响观察[J]. 吉林医学, 2019, 40(1): 24 - 27
 - 19 张建平, 王学永, 宋亮. 针刺配合甲钴胺肌肉注射治疗糖尿病足的疗效观察[J]. 上海针灸杂志, 2020, 39(7): 831 - 835
 - 20 赵亚芝, 戎士玲, 徐梦园, 等. 中医外治法治疗糖尿病周围神经病变研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(6): 213 - 216
 - 21 滕惠兰, 黄文锋, 林红坤. 黄氏外用油纱联合血必净穴位注射治疗糖尿病足溃疡的临床观察[J]. 北方药学, 2016, 13(6): 71 - 72
 - 22 雷芳芳. 中药足浴联合穴位按摩辅助糖尿病足临床观察[J]. 实用中医药杂志, 2018, 34(5): 547 - 548
 - 23 王岩. 桃红四物汤联合足底穴位按摩对糖尿病足的治疗效果探究[J]. 中国医药指南, 2020, 18(3): 179
 - 24 柳松. 中医综合外治方案在糖尿病足溃疡期的临床疗效研究[J]. 糖尿病新世界, 2017, 20(2): 171 - 172
- (上接第 174 页)
- 8 Guo YC, Chiu YH, Chen CP, *et al.* Interleukin - 1 β induces CXCR3 - mediated chemotaxis to promote umbilical cord mesenchymal stem cell transendothelial migration[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 281
 - 9 Dissaranan C, Cruz MA, Kiedrowski MJ, *et al.* Rat mesenchymal stem cell secretome promotes elastogenesis and facilitates recovery from simulated childbirth injury [J]. *Cell Transplant*, 2014, 23(11): 1395 - 1406
 - 10 Jiang HH, Ji LX, Li HY, *et al.* Combined treatment with CCR1 - overexpressing mesenchymal stem cells and CCL7 enhances engraftment and promotes the recovery of simulated birth injury - induced stress urinary incontinence in rats[J]. *Front Surg*, 2020, 7: 40
 - 11 Zhang Y, Ma Y, Chen J, *et al.* Mesenchymal stem cell transplantation for vaginal repair in an ovariectomized rhesus macaque model[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 406
 - 12 Mao M, Li Y, Zhang Y, *et al.* Human umbilical cord mesenchymal stem cells reconstruct the vaginal wall of ovariectomized Sprague - Dawley rats; implications for pelvic floor reconstruction[J]. *Cell Tissue Res*, 2021, 386(3): 571 - 583
 - 13 Ibáñez - Fonseca A, Santiago Maniega S, Gorbenko Del Blanco D, *et al.* Elastin - like recombinamer hydrogels for improved skeletal muscle healing through modulation of macrophage polarization[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, 8: 413
 - 14 Paul K, Darzi S, McPhee G, Del Borgo MP, *et al.* 3D bioprinted endometrial stem cells on melt electrospun poly ϵ - caprolactone mesh for pelvic floor application promote anti - inflammatory responses in mice [J]. *Acta Biomater*, 2019, 97: 162 - 176
 - 15 Gong R, Ji Y, Zhao Y, *et al.* Changes in β - catenin expression in the anterior vaginal wall tissues of women with pelvic organ prolapse: a potential pathophysiological mechanism[J]. *Female Pelvic Med Reconstr Surg*, 2020, 26(11): e54 - e61
 - 16 Vetuschi A, Pompili S, Gallone A, *et al.* Immunolocalization of advanced glycation end products, mitogen activated protein kinases, and transforming growth factor - β /smads in pelvic organ prolapse[J]. *J Histochem Cytochem*, 2018, 66(9): 673 - 686
 - 17 Li Y, Hong L, Liu C, *et al.* Effect of puerarin on collagen metabolism of fibroblasts in pelvic tissue of women with pelvic organ prolapse [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 17(2): 2705 - 2711
 - 18 Liu G, Wu R, Yang B, *et al.* A cocktail of growth factors released from a heparin hyaluronic - acid hydrogel promotes the myogenic potential of human urine - derived stem cells in vivo [J]. *Acta Biomater*, 2020, 107: 50 - 64
 - 19 杜心洁, 刘冬梅, 张峰, 等. 脐带间充质干细胞治疗产后盆底功能缺陷的初步临床研究[J]. 现代妇产科进展, 2020, 29(8): 580 - 583
 - 20 Arjmand B, Safavi M, Heidari R, *et al.* Concomitant transurethral and transvaginal - periurethral injection of autologous adipose derived stem cells for treatment of female stress urinary incontinence: a phase one clinical trial[J]. *Acta Med Iran*, 2017, 55(6): 368 - 374
 - 21 杨德宇, 束红梅, 刘克海. 脂肪间充质干细胞植入脱细胞羊膜/聚己内酯组织工程材料的构建与评价[J]. 中国细胞生物学学报, 2021, 43(10): 1991 - 2000
 - 22 Ren X, Wang N, Zhou Y, *et al.* An injectable hydrogel using an immunomodulating gelator for amplified tumor immunotherapy by blocking the arginase pathway[J]. *Acta Biomater*, 2021, 124: 179 - 190
 - 23 Ma N, Cheung DY, Butcher JT. Incorporating nanocrystalline cellulose into a multifunctional hydrogel for heart valve tissue engineering applications[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2021, 110(1): 76 - 91
 - 24 Xu Y, Zhou J, Liu C, *et al.* Understanding the role of tissue - specific decellularized spinal cord matrix hydrogel for neural stem/progenitor cell microenvironment reconstruction and spinal cord injury[J]. *Biomaterials*, 2021, 268: 120596
 - 25 Sordi MB, Cruz A, Fredel MC, *et al.* Three - dimensional bioactive hydrogel - based scaffolds for bone regeneration in implant dentistry [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2021, 124: 112055
- (收稿日期: 2022 - 04 - 03)
(修回日期: 2020 - 04 - 11)
- (收稿日期: 2022 - 03 - 16)
(修回日期: 2022 - 03 - 21)