

水凝胶负载间充质干细胞应用于女性生殖系统疾病的研究进展

都君彦 杨超 麻莉

摘要 女性生殖系统器官及组织结构的完整和功能的正常对于女性健康至关重要。女性生殖系统疾病是由多种因素引起生殖器官结构受损、功能障碍,进而导致生殖能力减弱甚至丧失。近年来,干细胞与生物材料为女性生殖系统疾病的治疗带来新的希望。间充质干细胞具有高度增殖、自我更新能力和多向分化潜能,可通过多种机制修复受损生殖器官,改善生殖功能,恢复生育能力。水凝胶作为一种生物材料,可模拟组织修复和再生所需的环境,作为细胞移植载体能够负载间充质干细胞将其递送到受损组织,增强其生物学活性,修复受损组织,在生殖系统修复方面具有广阔的应用前景。本文就水凝胶负载间充质干细胞在女性生殖系统常见疾病应用中的相关研究进展做一综述。

关键词 水凝胶 间充质干细胞 女性生殖系统疾病

中图分类号 R71

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2023.07.039

女性生殖系统的完整性和功能的正常对于女性健康及繁衍至关重要。环境(辐射、毒物、污染等)、疾病(肿瘤、炎症、创伤等)及治疗方法(手术、放疗、化疗等)等因素可导致生殖系统结构受损或功能障碍,严重影响女性的生殖健康,甚至丧失生育能力。干细胞与生物材料作为再生医学与组织工程领域的研究热点,为女性生殖系统疾病的临床治疗开拓了新的思路。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是成体干细胞的一种,主要存在于骨髓、脐带、脂肪等组织中,其来源丰富、在体外容易分离获得并易于扩增,免疫原性低,不存在伦理争议等问题,是再生医学的理想种子细胞^[1-3]。MSCs可通过多种机制修复受损组织,改善生殖器官功能,恢复生育能力^[4,5]。水凝胶作为一种新兴的功能高分子生物材料,通过模拟天然细胞外基质作为结构模板,为细胞黏附、迁移、增殖分化以及生长维持提供三维环境,同时也可以作为细胞载体,为移植的细胞更好地发挥治疗作用提供保障^[6]。本文将水凝胶负载 MSCs 在几种常见女性生殖系统疾病应用中的研究进展做一综述。

一、水凝胶的种类

水凝胶是由凝胶单体通过化学或物理交联的方式形成的具有三维空间网状结构的亲水性聚合物。水凝胶具有类软组织结构、含水量高、生物可降解性及生物相容性等特性,被广泛用作细胞、生长因子等的传递载体。

根据材料来源不同,水凝胶分为天然高分子水凝胶和合成水凝胶。

1. 天然高分子水凝胶:天然高分子水凝胶主要由琼脂糖、壳聚糖、胶原蛋白、明胶、透明质酸、纤维蛋白等聚合物制得,具有生物组织相容性良好、可降解,易于细胞黏附和迁移,以及制备成本低等优势^[7,8]。这些聚合物已被证实可提供适宜的微环境,用于制备生物支架,在体内发挥重要的生物学功能。但由天然高分子材料制备的水凝胶也存在结构性能难以控制、机械强度相对较弱、潜在的免疫原性、外源性成分干扰细胞行为等缺点,因此其应用也受到了不同程度的限制^[9]。

2. 合成水凝胶:合成水凝胶主要由聚乙二醇、聚氧乙烯及聚丙烯酰胺等合成,制备过程中可以通过改变合成条件,如聚合物浓度、对嵌段结构、机械强度,以及生物降解性等进行调整使其适应应用环境^[10]。此外,合成水凝胶可以大批量生产,已成为制备支架材料的重要选择^[11]。但此类水凝胶存在可能使用有害的交联剂、缺乏适当的可降解性、降解产物对机体造成不良影响等问题,还需要进一步

基金项目:全军医学科技青年培育项目(17QN029)

作者单位:100088 北京,锦州医科大学火箭军特色医学中心研究
生培养基地(都君彦);100088 北京,中国人民解放军火箭军特色医学中心(杨超、麻莉)

通信作者:杨超,电子信箱:yangchao0120@126.com;麻莉,电子信箱:lmhmm521@yeah.net

研究来解决。

二、水凝胶负载 MSCs 在女性生殖系统疾病中的应用现状

MSCs 具有自我更新和高度增殖潜能,以及免疫调节、旁分泌等特性,可归巢至组织损伤部位,向多种组织细胞分化,近年来被广泛应用于组织修复和再生领域。水凝胶作为理想的细胞输送载体,通过模拟细胞微环境改善干细胞的治疗效果。水凝胶可作为生物活性支架、促进干细胞的体外培养和分化、为移植的干细胞提供微环境,进而提高 MSCs 对女性生殖系统损伤的修复效果。

1. 在子宫内膜损伤中的应用:子宫内膜是子宫腔表面的上皮层,通过分泌细胞因子和生长因子为胚胎植入提供最佳环境,在胚胎植入和妊娠维持中发挥着重要作用。炎症和机械损伤常导致子宫内膜再生中断、纤维瘢痕形成、纤维化,宫腔粘连(intrauterine adhesion, IUA),从而发生月经减少,盆腔疼痛,甚至不孕和妊娠异常。因此,子宫内膜的修复和再生对于子宫发挥正常功能至关重要。近年来,细胞疗法成为子宫内膜修复和再生的优先选择。Yang 等^[12]利用水凝胶负载骨髓基质细胞(bone marrow stromal cells, BMSCs)同时添加维生素 C 应用于 IUA 机械损伤模型大鼠,结果显示,维生素 C 联合 BMSCs 促进了受损子宫内膜腺体的再生、纤维化区域的减少。Liu 等^[13]利用透明质酸凝胶/MSC-Sec 治疗模式创造了一个持续释放系统,修复 IUA 模型大鼠的子宫内膜,恢复其生育力。负载人脐带 MSCs 的胶原支架(collagen scaffold/umbilical cord mesenchymal stem cells, CS/UC-MSCs),维持了正常的腔内结构,通过旁分泌作用促进子宫内膜细胞增殖和上皮细胞恢复,增强了雌激素受体 α 和孕酮受体的表达。结果表明,CS/UC-MSCs 促进子宫内膜结构重建和功能恢复。经宫颈粘连切除术后局部应用 CS/UC-MSCs 可防止粘连再次发生,促进子宫内膜再生,改善重度 IUA 患者的妊娠结局^[14]。Ji 等^[15]利用 3D 打印技术将人诱导多能干细胞衍生的 MSCs(human induced pluripotent stem cell derived mesenchymal stem cells, hiMSCs)与水凝胶支架结合后用于子宫内膜损伤模型的修复,结果显示,3D 打印的水凝胶支架为 hiMSCs 提供了一个体外生存环境,不仅促进了子宫内膜组织形态学的恢复,子宫内膜细胞和内皮细胞的再生,还在一定程度上恢复了受损子宫内膜胚胎着床和妊娠维持的功能。

2. 在卵巢早衰中的应用:卵巢早衰(premature o-

varian failure, POF)是目前造成女性患者不孕的重要因素之一,其主要特点是卵巢激素分泌功能失调、闭经,以及不能正常排卵。目前常规的临床治疗手段难以恢复卵巢的正常功能。

针对年轻女性生殖系统恶性肿瘤患者的化疗和放疗会对卵巢结构和功能造成不良影响,甚至导致不孕等问题,近年来卵巢组织自体移植被认为是维持存活患者生育能力最有前途的方法^[16]。然而,移植卵巢组织的缺血-再灌注损伤是卵巢移植的主要限制之一,由于卵巢组织移植后未能及时建立有效血运从而导致缺血缺氧,随后发生细胞凋亡和炎症反应,最终导致移植卵巢卵泡数量明显减少。因此,如何促进移植后有效血运的建立以及尽可能保留多的原始卵泡是卵巢移植成功的关键。对此科学家进行了多种尝试。Tavana 等^[17]利用透明质酸水凝胶封装小鼠卵巢组织进行自体移植,结果表明,透明质酸水凝胶用于卵巢移植可预防或减少缺血诱导的卵泡损失,并促进血管生成和激素水平恢复。Gao 等^[18]利用纤维蛋白水凝胶封装小鼠卵巢组织进行皮下异位移植,同时添加了成纤维细胞生长因子和血管内皮生长因子,结果表明,该方法对卵泡的生存、血管生成和发情周期的恢复均产生了有益影响。Mehdinia 等^[19]对比了纤维蛋白-胶原水凝胶负载两种不同来源 MSCs(小鼠骨髓和腹膜来源)对小鼠自体卵巢移植的影响,结果表明,两者均能促进移植后小鼠发情周期和内分泌功能的恢复,效果并无明显差异。对于无法进行自体卵巢移植的患者,研究者利用海藻酸盐水凝胶作为人工卵巢的基质,促进其封装的卵泡的发育和成熟,作为该患者未来生育力恢复的可供选择^[20]。

负载人脐带 MSCs 的胶原支架(CS/UC-MSCs)移植于 POF 小鼠,结果显示,CS/UC-MSCs 移植促进颗粒细胞增殖,促进卵巢血管生成,促进雌激素(E_2)和抗苗勒氏管激素水平增加、卵巢体积增大,卵泡发育明显改善,窦卵泡数量增加,保持了卵巢功能。这提示 CS/UC-MSCs 移植有可能成为一种治疗 POF 的新型有效策略^[21]。此外,CS/UC-MSCs 可以通过磷酸化 FOXO3a 和 FOXO1 在体外激活原始卵泡。POF 患者在移植 CS/UC-MSCs 或 UC-MSCs 后获得了成功的临床妊娠^[22]。

3. 在盆腔脏器脱垂中的应用:盆腔器官脱垂(pelvic organ prolapse, POP)是指由于年龄、怀孕、生产等因素造成子宫、肠管、膀胱等脱出于阴道内或阴道口外,造成行走不便,或尿失禁、排尿延迟、排便困

难,以及性交障碍等。目前,针对 POP 的治疗主要是使用网片加固盆底的支持力,而非修复盆底受损缺失的组织。然而网片的植入会导致移植物侵蚀、暴露和感染、阴道挛缩、异物反应、炎症、尿潴留、尿失禁等并发症,严重影响患者的生活质量。水凝胶在治疗中因其创伤小、感染轻、恢复快等优点,在盆底功能障碍性疾病的治疗中具有广泛前景^[23]。有研究发现,人子宫内 MSCs 与明胶包被的聚酰胺网片在大鼠皮肤创伤模型中发挥了抗炎反应、促进胶原的形成和重构以及新生组织形成,为 POP 的治疗提供了可能性。MSCs 可促进新的胶原蛋白合成,分化为平滑肌细胞,促进胶原蛋白的表达,修复受损的组织结构。有研究显示,经阴道插入未包被的针织聚酰胺网片,并应用明胶水凝胶负载自体 MSCs 到网片上,然后用蓝光交联,集成良好,很少折叠,且没有网片暴露,可促进脱垂阴道组织的强度恢复。通过细胞膜荧光探针(1, 1 - dioctadecyl - 3, 3, 3, 3 - tetramethylindotricarbocyanineiodide, DIR)染色可见 MSCs 散在分布于阴道壁的固有层及肌层。此外,有研究发现释放雌二醇的聚乳酸网状物可促进脂肪来源 MSCs 产生更多的 I 型胶原、III 型胶原及细胞外基质,用于修复女性盆底组织结构,并促进修复材料植入后的愈合。

三、水凝胶负载 MSCs 治疗生殖系统疾病的优势

水凝胶负载 MSCs 治疗在生殖系统疾病中取得了良好的效果,其优势主要有以下几个方面:(1)水凝胶具有高弹性、高透气性、无毒以及良好力学性能的优势,可作为理想的 MSCs 输送载体,负载 MSCs 到达受损组织,高效到达靶器官。(2)水凝胶为 MSCs 提供三维网络结构支持,有利于 MSCs 的迁移、增殖和分化。(3)水凝胶可缓慢释放 MSCs 分泌的多种生物活性因子,维持 MSCs 的活性及生物功能。(4)水凝胶负载间充质干细胞移植显著提高了 MSCs 的促血管生成能力。(5)外源性 MSCs 与内源性干细胞相互作用,联合修复受损组织功能。

四、展 望

尽管水凝胶和 MSCs 相结合在女性生殖系统的修复中取得了令人振奋的结果,但仍有以下问题亟待解决:(1)干细胞治疗的安全性问题:MSCs 可以促进受损组织的修复,但目前仍面临移植过程中细胞的损失,移植后的低保留率和存活率、MSCs 干性的维持和分化的调节,以及远期治疗效果的不确定性等。目前仍然没有明确传递途径、输注方法,以及用于产生功能的细胞数量的指南。(2)水凝胶相关问题:水凝胶

作为一种外源性物质,引入体内可能会引起异物反应,并对机体有一定毒性。有研究表明,水凝胶表面由于异物反应引起的纤维过度生长影响 MSCs 与周围微环境之间的氧、营养物质和代谢物的交换。水凝胶的性能还有待于进一步提升,研发新的聚合方法,使水凝胶的性能更加稳定,更好地应用于细胞的培养和移植。同时不断优化水凝胶的机械性能和生物相容性,使其促进细胞达到更好的治疗效果。此外,将两种或多种类型的水凝胶交联后使用可进行优势互补,能更好地应用于细胞移植。因此,生产安全稳定、低异物反应性和高生物相容性的环保型水凝胶至关重要。

综上所述,在未来组织工程的研究中,仍需不断优化生物支架材料和干细胞的治疗,实现其在体内的可监测性及可控性。同时,对于靶组织器官的结构、功能、损伤方式、损伤机制及损伤后分子水平的改变也有待于进行深入研究,以利于实现精准化和个性化治疗。

参考文献

- Kim M, Erickson IE, Huang AH, *et al.* Donor variation and optimization of human mesenchymal stem cell chondrogenesis in hyaluronic acid[J]. *Tissue Eng Part A*, 2018, 24(21 - 22): 1693 - 1703
- Fu XR, Liu G, Halim A, *et al.* Mesenchymal stem cell migration and tissue repair[J]. *Cells*, 2019, 8(8): 784 - 802
- Samsonraj RM, Raghunath M, Nurcombe V, *et al.* Concise review: multifaceted characterization of human mesenchymal stem cells for use in regenerative medicine[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(12): 2173 - 2185
- Zhu X, Péault B, Yan G, *et al.* Stem cells and endometrial regeneration: from basic research to clinical trial[J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2019, 14(4): 293 - 304
- Esfandiyari S, Chugh RM, Park HS, *et al.* Mesenchymal stem cells as a bio organ for treatment of female infertility [J]. *Cells*, 2020, 9(10): 2253 - 2272
- Pennarossa G, Arcuri S, De Iorio T, *et al.* Current advances in 3D tissue and organ reconstruction[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2): 830 - 855
- Kołodziejka M, Jankowska K, Klak M, *et al.* Chitosan as an under-rated polymer in modern tissue engineering[J]. *Nanomaterials (Basel)*, 2021, 11(11): 3019 - 3063
- Cowman MK. Hyaluronan and hyaluronan fragments[J]. *Adv Carbohydr Chem Biochem*, 2017, 74: 1 - 59
- Nguyen EH, Daly WT, Le NNT, *et al.* Versatile synthetic alternatives to matrigel for vascular toxicity screening and stem cell expansion [J]. *Nat Biomed Eng*, 2017, 1: 96
- Richbourg NR, Wancura M, Gilchrist AE, *et al.* Precise control of synthetic hydrogel network structure via linear, independent synthesis - swelling relationships[J]. *Sci Adv*, 2021, 7(7): eabe3245
- Villa - Diaz LG, Ross AM, Lahann J, *et al.* Concise review: the evolution of human pluripotent stem cell culture: from feeder cells to synthetic coatings[J]. *Stem Cells*, 2013, 31(1): 1 - 7
- Yang H, Wu S, Feng R, *et al.* Vitamin C plus hydrogel facilitates bone marrow stromal cell - mediated endometrium regeneration in rats [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 267 - 276

(转第 170 页)

瘤标志物水平对晚期非小细胞肺癌免疫治疗疗效有重要的预测价值。

参考文献

- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209–249
- Arbour KC, Riely GJ. Systemic therapy for locally advanced and metastatic non – small cell lung cancer: a review [J]. *JAMA*, 2019, 322(8): 764–774
- Shaverdian N, Lisberg AE, Bornazyan K, *et al.* Previous radiotherapy and the clinical activity and toxicity of pembrolizumab in the treatment of non – small – cell lung cancer: a secondary analysis of the KEYNOTE – 001 phase 1 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(7): 895–903
- Alex F, Alfredo A. Promising predictors of checkpoint inhibitor response in NSCLC [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2020, 20(11): 931–937
- Soyano AE, Dholaria B, Marin – Acevedo JA, *et al.* Peripheral blood biomarkers correlate with outcomes in advanced non – small cell lung cancer patients treated with anti – PD – 1 antibodies [J]. *J Immunother Cancer*, 2018, 6(1): 129
- Schneider T, Hoffmann H, Dienemann H, *et al.* Immune response after radiofrequency ablation and surgical resection in nonsmall cell lung cancer [J]. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*, 2016, 28(2): 585–592
- Pircher A, Gernerth G, Amann A, *et al.* Neoadjuvant chemo – immunotherapy modifies CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells (Treg) in non – small cell lung cancer (NSCLC) patients [J]. *Lung Cancer*, 2014, 85(1): 81–87
- Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, *et al.* New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European organization for research and treatment of cancer, national cancer institute of the united states, national cancer institute of Canada [J]. *J National Cancer Inst*, 2000, 92(3): 205–216
- Yan HJ, Tan Y, Gu W. Neuron specific enolase and prognosis of non – small cell lung cancer: a systematic review and Meta – analysis [J]. *J BUON*, 2014, 19(1): 153–156
- Gandhi L, Rodríguez – Abreu D, Gadgeel S, *et al.* Pembrolizumab

- plus chemotherapy in metastatic non – small – cell lung cancer [J]. *New Engl J Med*, 2018, 378(22): 2078–2092
- Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F, *et al.* Atezolizumab for first – line treatment of Metastatic nonsquamous NSCLC [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(24): 2288–2301
 - Langer CJ, Gadgeel SM, Borghaei H, *et al.* Carboplatin and pemetrexed with or without pembrolizumab for advanced, non – squamous non – small – cell lung cancer: a randomised, phase 2 cohort of the open – label KEYNOTE – 021 study [J]. *Lancet Oncol*, 2016, 17(11): 1497–1508
 - Kuss I, Hathaway B, Ferris RL, *et al.* Decreased absolute counts of T lymphocyte subsets and their relation to disease in squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(11): 3755–3762
 - Kagamu H, Kitano S, Yamaguchi O, *et al.* CD4⁺ T – cell immunity in the peripheral blood correlates with response to anti – PD – 1 therapy [J]. *Cancer Immunol Res*, 2020, 8(3): 334–344
 - 严健, 王永明, 张舒, 等. CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞亚群在肿瘤患者外周血中检测的临床意义 [J]. *检验医学*, 2013, 28(10): 901–903
 - Pera A, Campos C, López N, *et al.* Immunosenescence: implications for response to infection and vaccination in older people [J]. *Maturitas*, 2015, 82(1): 50–55
 - Kuss I, Hathaway B, Ferris RL, Gooding W, *et al.* Decreased absolute counts of T lymphocyte subsets and their relation to disease in squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(11): 3755–3762
 - 王忻妍, 朱建伟. 埃克替尼靶向治疗对老年非小细胞肺癌患者免疫功能及血清肿瘤标志物的影响 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2018, 28(10): 1223–1225
 - Pujol JL, Grenier J, Daurès JP, *et al.* Serum fragment of cytokeratin subunit 19 measured by CYFRA 21 – 1 immunoradiometric assay as a marker of lung cancer [J]. *Cancer Res*, 1993, 53(1): 61–66
 - 毛晓敏, 徐尚放, 赵中强. NSCLC 患者血清 TPS、CYFRA21 – 1、NSE 和 CEA 的水平及联检的临床价值 [J]. *放射免疫学杂志*, 2011, 24(4): 424–427

(收稿日期: 2022 – 05 – 25)

(修回日期: 2022 – 06 – 12)

(接第 193 页)

- Liu F, Hu S, Yang H, *et al.* Hyaluronic acid hydrogel integrated with mesenchymal stem cell – secretome to treat endometrial injury in a rat model of asherman’s syndrome [J]. *Adv Healthc Mater*, 2019, 8(14): 1–10
- Xin LB, Lin XN, Pan YB, *et al.* A collagen scaffold loaded with human umbilical cord – derived mesenchymal stem cells facilitates endometrial regeneration and restores fertility [J]. *Acta Biomater*, 2019, 92: 160–171
- Ji W, Hou B, Lin W, *et al.* 3D bioprinting a human iPSC – derived MSC – loaded scaffold for repair of the uterine endometrium [J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 116: 268–284
- Shojafar E, Soleimani Mehranjan M, Shariatzadeh SMA. Adipose – derived mesenchymal stromal cell transplantation at the graft site improves the structure and function of autografted mice ovaries: a stereological and biochemical analysis [J]. *Cytotherapy*, 2018, 20(11): 1324–1336
- Tavana S, Azarnia M, Valojerdi MR, *et al.* Hyaluronic acid – based hydrogel scaffold without angiogenic growth factors enhances ovarian tissue function after auto transplantation in rats [J]. *Biomed Mater*, 2016, 11(5): 55006

- Gao J, Huang Y, Li M, *et al.* Effect of local basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor on subcutaneously allotransplanted ovarian tissue in ovariectomized mice [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): 1–11
- Mehdinia Z, Ashrafi M, Fathi R, *et al.* Restoration of estrous cycles by co – transplantation of mouse ovarian tissue with MSCs [J]. *Cell Tissue Res*, 2020, 381(3): 509–525
- Vanacker J, Amorim CA. Alginate: a versatile biomaterial to encapsulate isolated ovarian follicles [J]. *Ann Biomed Eng*, 2017, 45(7): 1633–1649
- Yang YJ, Lei L, Wang SS, *et al.* Transplantation of umbilical cord – derived mesenchymal stem cells on a collagen scaffold improves ovarian function in a premature ovarian failure model of mice [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2019, 55(4): 302–311
- Ding L, Yan G, Wang B, *et al.* Transplantation of UC – MSCs on collagen scaffold activates follicles in dormant ovaries of POF patients with long history of infertility [J]. *Sci China Life Sci*, 2018, 61(12): 1554–1565
- 刘剑锋, 阳莲, 洪莉. 水凝胶治疗盆底功能障碍性疾病的研究进展 [J]. *医学研究杂志*, 2021, 50(10): 155–157

(收稿日期: 2022 – 07 – 01)

(修回日期: 2022 – 07 – 19)