

- of tangentially excised burn eschars[J]. Can J Plast Surg, 2010,18(3):e33-e36.
- [22] Patry J, Blanchette V. Enzymatic debridement with collagenase in wounds and ulcers: a systematic review and meta-analysis[J]. Int Wound J, 2017,14(6):1055-1065.
- [23] Guan H, Zhang D, Ma X, et al. Efficacy and safety of CO₂ laser in the treatment of chronic wounds: A retrospective matched cohort trial[J]. Lasers Surg Med, 2022,54(4):490-501.
- [24] Vaderhobli R M, White J M, Le C, et al. In vitro study of the soft tissue effects of microsecond-pulsed CO₂ laser parameters during soft tissue incision and sulcular debridement[J]. Lasers Surg Med, 2010,42(3): 257-263.
- [25] Cercadillo-ibarguren I, Espana-tost A, Arnabat-dominguez J, et al. Histologic evaluation of thermal damage produced on soft tissues by CO₂, Er,Cr:YSGG and diode lasers[J]. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2010,15(6):e912-e918.
- [26] Phillips T J, Morton L M, Uebelhoefer N S, et al. Ablative fractional carbon dioxide laser in the treatment of chronic, posttraumatic, lower-extremity ulcers in elderly patients[J]. JAMA Dermatol, 2015,151(8):868-871.
- [27] Pang M, Zhao L, Liu S, et al. Eschar dermabrasion in deep dermal partial-thickness burn: a case report[J]. Adv Skin Wound Care, 2023,36(7):1-3.
- [28] 张勇, 闵振兴, 李际涛, 等. CO₂激光联合湿润烧伤膏对III度烧伤创面的溶痂效果观察[J]. 中国烧伤创疡杂志, 2019,31(1):34-36.
- [29] 周丽娜, 蒋红艳, 吴会萍, 等. 对存在难愈性创面的患者进行点阵激光治疗的效果探讨[J]. 当代医药论丛, 2019,17(22):65-66.
- [30] Chromey P A. The efficacy of carbon dioxide laser surgery for adjunct ulcer therapy[J]. Clin Podiatr Med Surg, 1992,9(3):709-719.
- [31] Reid A B, Stranc M F. Healing of infected wounds following iodine scrub or CO₂ laser treatment[J]. Lasers Surg Med, 1991,11(5):475-480.
- [32] Kojima T, Shimada K, Iwasaki H, et al. Inhibitory effects of a super pulsed carbon dioxide laser at low energy density on periodontopathic bacteria and lipopolysaccharide in vitro[J]. J Periodontol Res, 2005,40(6):469-473.
- [33] Juri H, Palma J A. CO₂ laser in decubitus ulcers: a comparative study[J]. Lasers Surg Med, 1987,7(4):296-299.
- [34] Monami M, Scatena A, Zannoni S, et al. A randomized, open-label, controlled trial to evaluate the antimicrobial and surgical effect of CO₂ laser treatment in diabetic infected foot ulcers: DULCIS (diabetic ulcer, CO₂ laser, and infections) study[J]. J Endocrinol Invest, 2017,40(9):985-989.
- [35] Monami M, Mirabella C, Scatena A, et al. CO₂ laser for the treatment of diabetic foot ulcers with exposed bone. A consecutive series of type 2 diabetic patients[J]. J Endocrinol Invest, 2017,40(8):819-822.

[收稿日期]2023-12-20

本文引用格式: 李文卓, 欧阳华伟. 超脉冲点阵CO₂激光在创面治疗中的应用进展[J]. 中国美容医学, 2025,34(9):182-185.

间充质干细胞条件培养基中细胞因子促进伤口愈合机制的研究进展

钱碧平¹ 唐嘉² 综述, 李鹏山¹ 齐念民³ 审校

(1.海南新生泉干细胞药物有限公司 海南 琼海 571400; 2.海南新生泉干细胞护肤品有限公司 海南 琼海 571400; 3.浙江泉生生物科技有限公司 上海 200120)

[摘要] 创面愈合是一个复杂的过程, 涉及到受损部位的再上皮化、肉芽组织增生、炎症反应、血管增生和创面的重塑等过程。研究显示, 间充质干细胞条件培养基对于创面的愈合起到积极的促进作用, 有学者推测可能与干细胞条件培养基中的细胞因子有关, 近年来, 已有诸多学者分别研究条件培养基中的各种细胞因子在创面愈合中的作用及其机制。本文就间充质干细胞条件培养基中细胞因子促进伤口愈合的作用机制展开综述。

[关键词] 间充质干细胞; 条件培养基; 伤口愈合; 细胞因子; 作用机制

[中图分类号] R686 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-6455 (2025) 09-0185-04

Research Progress in the Mechanism of Cytokine-promoted Wound Healing in Mesenchymal Stem Cell Conditioned Culture Medium

QIAN Biping¹, TANG Jia², LI Pengshan¹, QI Nianmin³

通信作者: 李鹏山, 研发总监; 研究方向为干细胞药物开发及再生医学研究。E-mail: lipengshan@xibaozhiliao.cn

共同通信作者: 齐念民, 首席科学家、教授; 研究方向为细胞治疗临床研究及药物申报。E-mail: drqi@163.com

第一作者: 钱碧平, 干细胞研究员; 研究方向为干细胞药物开发及再生医学研究; E-mail: qianbiping@xibaozhiliao.cn

[1.Hainan Xinsheng quan Stem Cell Medicine Co., Ltd., Qionghai 571400, Hainan, China; 2.Hainan Xinshengquan Stem Cell Skincare Co., Ltd., Qionghai 571400, Hainan, China; 3.Asia Cellular Therapeutics (Zhe jiang) Co., Ltd., Shanghai 200120, China]

Abstract: Wound healing is a complex process involving processes such as re-epithelialization of the damaged site, granulation tissue hyperplasia, inflammation, angiogenesis and wound remodeling. Studies have shown that mesenchymal stem cell conditioned medium plays a positive promoting effect in wound healing, for which scholars speculate that it may be related to the cytokines in stem cell conditioned medium. In recent years, many scholars have studied the role and mechanism in wound healing by various cytokines in conditioned medium. This review will provide a brief description of how cytokines in mesenchymal stem cell conditioned culture medium promote wound healing.

Key words: mesenchymal stem cell conditioned medium; wound healing; cytokines; mechanism

伤口愈合是通过机体自身的再生能力,恢复其体表连续性和完整性,保护机体免受病原微生物的侵害,进而维护机体内环境稳定所进行的一系列修复活动。该过程是一个复杂的生物分子过程,包括细胞迁移、增殖、血管生成以及细胞外基质重塑,机体自身的伤口自愈是一个十分缓慢的过程,且在自愈的过程中容易受到细菌等的侵袭,进而减缓伤口的愈合。目前,临床上的大部分伤口清洗液实际上并未能促进伤口的愈合,因此,找到能够促进伤口愈合的产品是十分有必要的^[1]。间充质干细胞(Mesenchymal stem cells, MSCs)是一类具有显著的自我更新和多向分化功能的细胞,其来源丰富,主要存在于骨髓、脐血、脐带、全身结缔组织和器官间质。诸多研究表明,间充质干细胞在再生医学中有非常积极的作用。而近几年的研究表明,再生医学中移植间充质干细胞进行治疗的效果有高达80%是通过旁分泌介导的作用^[2]。此外,直接使用间充质干细胞应用于再生医学的过程中还存在细胞冷链运输过程不稳定、运输后细胞的复苏有效率低等问题。而间充质干细胞培养过程中分泌的细胞因子则可以通过富集浓缩、提纯和冻干等方法进行收集生产,冻干后的细胞因子的包装、运输和复溶等过程也更加方便,且直接使用条件培养基(Conditional medium, CM)或者使用条件培养基中收集冻干的细胞因子产品都无需无菌条件,使用操作更加便利^[3]。与传统的基于细胞的治疗方法相比,CM将为再生医学提供一个方便和容易的途径。

间充质干细胞在培养过程中通过旁分泌的方式分泌的细胞因子有生长因子、趋化因子、血管生成因子等,这些细胞因子在功能上主要分为免疫调节、抗细胞凋亡、血管发生、支持干/祖细胞的增殖与分化、化学趋化、抗瘢痕六大类^[4]。它们能够通过改善机体局部的微环境,促进内源性干细胞的分化并向伤口部位迁移,挽救濒临凋亡的细胞,从而达到修复组织的目的。本文旨在综合描述间充质干细胞培养过程中通过旁分泌方式分泌的几种细胞因子在伤口愈合过程中的重要作用。

1 间充质干细胞条件培养基中相关因子在伤口愈合中的作用

伤口愈合需要复杂的生物分子过程,包括细胞迁移、增殖、血管生成以及细胞外基质重塑。间充质干细胞分泌的细胞因子主要参与伤口愈合的以下相关过程:如炎症反应(前列腺素2、干细胞生长因子、转化生长因子- β_1 等因子在该过程起作用)、血管发生(血管内皮生长因子、碱性成纤维细胞生长因子、白介素-6等因子在该过程起作用)、胞外基质重塑(碱性成纤维细胞生长因子、胰岛素样生长因子1、转化生长因子- β 、单核细胞趋化蛋白-1等因子在该过程起作用)、纤维组织形成(血小板源性生长因子、转化生长因子- β 、胰岛素样生长因子等因子在该过程起作用)和表皮细胞再生(白介素-6、白介素-8、转化生长因子- β 、表皮生长因子、碱性成纤维细胞生长因子等因子在该过程起作用)^[5]。近年来,已有研究结果表明间充质干细胞条件培养基在创面愈合过程中起重要的促进作用。间充质干细胞移植促进伤口愈合主要是因为间充质干细胞的植入促进内源性干细胞的归巢以及通过旁分泌方式分泌相关细胞因子来刺激体内相关因子的表达水平,因此直接应用富含旁分泌因子的间充质干细胞条件培养基(Mesenchymal stem cells conditional medium, MSC-CM)更加有助于维持旁分泌因子梯度,从而加快伤口愈合进程。Aryan A等^[6]的研究结果表明,人骨髓间充质干细胞条件培养基可以通过促进细胞增殖、调节胶原合成、诱导损伤部位血管生成等途径促进皮肤创面愈合。Xu YF等^[7]通过在糖尿病足溃疡模型大鼠的溃疡周围注射MSC-CM的实验研究,证实了MSC-CM注射到大鼠体内,可以通过加速伤口愈合、促进细胞增殖和血管生成、增强细胞自噬和减少溃疡细胞凋亡来促进伤口愈合过程。许其军^[8]应用人脂肪间充质干细胞上清对裸鼠皮肤创面愈合效果研究实验发现,人脂肪间充质干细胞条件培养基能促进创面中肉芽组织的增生、促进创面中新生血管的形成、促进创面的炎症反应、增加真皮组织的厚度和缩短创面愈合的时间。Peng Y等^[9]利用正常伤口愈合的大鼠模型在体内评估冻干大鼠骨髓间充质干细胞旁分泌因子的治疗效果,结果发现大鼠在

使用条件培养基后拥有更大的再生愈合能力,同时改善了皮肤结构,包括增强了上皮化,与未使用条件培养基处理的大鼠相比其密度更高,胶原沉积组织最好。Tam K等^[10]研究结果发现, MSCs的条件培养基可以作为一种趋化剂,招募巨噬细胞和内皮细胞以及局部的干/祖细胞,以促进伤口愈合。徐海环等^[11]利用脐带间充质干细胞上清冻干粉对大耳兔皮肤缺损的治疗作用研究发现, MSC上清冻干粉治疗后可有效减轻炎症反应,改善损伤区域血管重建,有益于缺损皮肤恢复。其中脐带MSCs培养上清冻干粉可有效抑制皮肤缺损动物TNF- α 的升高。

1.1 血管内皮生长因子在伤口愈合中的作用:血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)是血管内皮细胞特异性的肝素结合生长因子,可在体内诱导血管新生。刘培等^[12]利用脂肪间充质干细胞条件培养基制备的温敏凝胶外用治疗皮肤烫伤的研究结果显示,人脂肪间充质干细胞条件培养基水凝胶可有效促进烫伤皮肤伤口愈合,提高再生皮肤质量。研究者认为这可能得益于脂肪干细胞分泌物对炎症进程的抑制,从而保持组织紧凑并促进再上皮化过程,其中促血管生成因子能够促进富含血管的肉芽组织形成,减轻纤维化或抑制瘢痕组织的形成,从而提高创面愈合率,缩短了愈合时间并提高了愈合质量。Ong HT等^[13]的研究中也发现脂肪干细胞条件培养基包含许多已知的递质,从而影响创伤修复和微血管重建过程,其中包含促血管生成因子,包括血管内皮生长因子、基质细胞衍生因子1和肝细胞生长因子等。还有研究表明, VEGF可以诱导成纤维细胞的增殖,以及促进新生血管、再上皮化和胶原沉积,是血管生成(生理性和病理性)的重要调节因子^[14]。此外,徐海环等^[11]的研究结果证实脐带MSCs上清冻干粉治疗皮肤缺损大耳兔后可有效上调VEGF的表达。Lord MS等^[15]的研究表明, VEGF促进组织细胞修复和伤口愈合。综上所述,间充质干细胞条件培养基中的VEGF能够通过促进伤口处的血管生成及成纤维细胞和内皮细胞的增殖,进而促进伤口的愈合。

1.2 转化生长因子 β 在伤口愈合中的作用:目前,关于转化生长因子 β (Transforming growth factor β , TGF- β)超家族是调控组织修复的关键信号分子家族。每种TGF- β 亚型可能对伤口愈合产生不同的影响,这可能与环境有关。其中TGF- β_1 可能介导成人创面纤维化, TGF- β_3 可能促进胎儿无瘢痕愈合,减少成人瘢痕形成^[16],目前,已有许多研究结果表明间充质干细胞条件培养基中的TGF- β 在伤口愈合过程中具有积极的促进作用。Gaur M等^[17]的研究结果表明,人脂肪间充质干细胞分泌的转化生长因子 β_1 、碱性成纤维细胞生长因子、表皮生长因子、血小板源性生长因子、肝细胞生长因子和血管内皮生长因子T等在促进皮肤损伤修复、胶原蛋白和透明质酸合成中起重要作用。张伟等^[18]通过间充质干细胞培养上清对小鼠皮肤损伤修复的实验研究,证实了MSC培养上清具有促进皮肤损

伤的修复作用。其中,使用了MSC上清治疗的小鼠高表达了TGF- β ,且促进了表皮细胞生长因子、成纤维细胞生长因子和血管内皮生长因子的表达,由此得出结论:脐带来源的MSC上清具有提高创面愈合率,改善伤口愈合质量,加速胶原纤维的再生以及新生血管数目的作用。罗华^[19]通过脂肪干细胞旁分泌作用促进糖尿病皮肤创面愈合的实验研究,证明了脂肪干细胞条件培养基可以通过促进创面中TGF- β_1 的分泌以及促进成纤维细胞的增殖、迁移与分化,从而加速了糖尿病SD大鼠的创面愈合。由此可见,间充质干细胞条件培养基中的TGF- β 能够通过促进成纤维细胞的增殖、迁移与分化,进而促进伤口的愈合。

1.3 成纤维细胞生长因子在伤口愈合中的作用:成纤维细胞生长因子(Fibroblast growth factors, FGF)包括一个多肽生长因子家族,已被证明在组织修复和再生方面具有相当大的能力。研究发现它可诱导多种类型细胞的增殖和分化^[20]。张伟等^[18]的研究结果显示,使用了人脐带来源MSC的小鼠高表达FGF,进而促进小鼠皮肤损伤的修复作用。王晓宇等^[21]也发现,在脂肪间充质干细胞条件培养基促进伤口愈合的过程中,碱性成纤维细胞生长因子(Basic fibroblast growth factor, bFGF)在转录和蛋白水平的表达上有所上调。在另一项研究中,体外和体内实验结果表明,与不含bFGF的水凝胶相比,含bFGF的生物诱导水凝胶能显著促进细胞增殖、创面再上皮化、胶原沉积和收缩^[22]。此外,已有研究确定FGFs是损伤皮肤中角质形成细胞迁移的关键调节因子,因为角质形成细胞中成纤维细胞生长因子1型受体和成纤维细胞生长因子II型受体的缺失会导致伤口愈合缺陷^[23]。Liang X等^[24]研究发现,诱导多能干细胞间充质干细胞条件培养基可以促进伤口愈合,对角质形成细胞和成纤维细胞有积极影响。条件培养基外敷可抑制炎症反应并增加损伤组织的新生血管,研究过程中亦发现使用条件培养基小鼠的FGF₂表达升高。由此可见,间充质干细胞条件培养基中的FGF能够通过诱导伤口愈合相关的细胞的增殖与迁移,进而促进伤口的愈合。

1.4 血小板源性生长因子在伤口愈合中的作用:血小板源性生长因子(Platelet-derived growth factor, PDGF)是伤口愈合的重要生化介质,在伤口愈合过程的各个阶段促进细胞反应。PDGF是由间充质干细胞释放的多肽细胞因子之一,可调节多种细胞类型的激活、生长和分化,特别是成纤维细胞,加速伤口愈合过程。此外,PDGF还作为炎症细胞的趋化分子,启动伤口愈合的炎症过程、增殖活动和重塑过程^[25-27]。还有报道称PDGF可改善皮肤再生,促进局部蛋白质和胶原蛋白合成,并引起血管生成^[28]。Liang X等^[24]的研究中亦发现诱导多能干细胞间充质干细胞条件培养基促进伤口愈合的过程中PDGF-BB表达的升高。Putra A等^[29]的研究证实间充质干细胞条件培养基外用凝胶能够通过增加皮肤缺损动物模型中PDGF水平、伤口闭合百分比和成纤维细胞密度的出现,更有效地加速伤口闭合愈合。故

间充质干细胞条件培养基中PDGF在伤口愈合过程中亦能通过促进成纤维细胞的增殖、促进胶原蛋白合成和促进血管生成等来促进伤口的愈合。

1.5 表皮生长因子在伤口愈合中的作用：表皮生长因子（Epidermal growth factor, EGF）主要由血小板、巨噬细胞、成纤维细胞和角质形成细胞分泌，在真皮伤口愈合过程中存在，并促进皮肤再生。张伟等^[18,30]的研究证实人脐带来源MSC高表达EGF。Zhao J等^[27]研究结果表明脂肪间充质干细胞条件培养基中bFGF、EGF均可显著促进真皮成纤维细胞的增殖。SaheLi M等^[31]通过研究人骨髓间质干细胞CM对糖尿病大鼠皮肤伤口愈合的影响，发现一些改善主要是通过成纤维细胞功能发生的，其中接受MSC-CM治疗大鼠伤口的肉芽组织炎症反应不明显，组织重塑更好，血管化更多，基因表达分析表明，MSC-CM处理导致EGF和bFGF基因上调。可见EGF在伤口愈合过程中也能通过促进成纤维细胞的增殖和迁移来促进伤口愈合。

2 小结

间充质干细胞条件培养基中除了上述五种细胞因子能够促进伤口愈合，还含有其他多种能够促进伤口愈合的细胞因子，如胰岛素样生长因子1、血管生成素-1和基质细胞衍生因子-1等。除此之外，间充质干细胞条件培养基还能够抑制一些炎症相关因子的表达。如肿瘤坏死因子 α 、干扰素 γ 和白介素6等，进而抑制炎症反应。Yano F等^[32]利用小鼠模型研究脂肪干细胞条件培养基治疗对预防皮肤炎症的作用，结果显示条件培养基抑制了促炎因子，增强了再生和重塑因子。

综上所述，间充质干细胞条件培养基在伤口愈合过程中能够起到非常积极的促进作用，促进组织再生相关因子的表达，抑制促炎因子的表达。而且使用条件培养基不涉及伦理问题，易于实现规范化和产业化管理，且容易操控，潜力巨大。

[参考文献]

- [1]Wilkins R G, Unverdorben M. Wound cleaning and wound healing: a concise review[J]. *Adv Skin Wound Care*, 2013,26(4):160-163.
- [2]Greg Maguire. Stem cell therapy without the cells[J]. *Commun Integr Biol*, 2013,6:6,e26631.
- [3]Gunawardena T N A, Rahman M T, Abdullah B J J, et al. Conditioned media derived from mesenchymal stem cell cultures: the next generation for regenerative medicine[J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2019,13(4):569-586.
- [4]Singer N G, Caplan A I. Mesenchymal stem cells: mechanisms of inflammation[J]. *Annu Rev Pathol*, 2011,6:457-478.
- [5]孙亚如, 张美荣, 高宏. 干细胞分泌因子促进难愈性创面愈合的机制及应用前景[J]. *中国组织工程研究*, 2012,16(6):1125-1128.
- [6]Aryan A, Bayat M, Bonakdar S, et al. Human bone marrow mesenchymal stem cell conditioned medium promotes wound healing in deep second-degree burns in male rats[J]. *Cells Tissues Organs*, 2018,206(6):317-329.
- [7]Xu Y F, Wu Y X, Wang H M, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cell-conditioned medium ameliorates diabetic foot ulcers in rats[J]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2023,78:100181.
- [8]许其军. 人脂肪来源干细胞上清液对裸鼠皮肤创面愈合的影响[D]. 武汉: 华中科技大学, 2012.
- [9]Peng Y, Xuan M, Zou J, et al. Freeze-dried rat bone marrow mesenchymal stem cell paracrine factors: a simplified novel material for skin wound therapy[J]. *Tissue Eng Part A*, 2015,21(5):1036-1046.
- [10]Tam K, Suganya C, Venugopal J, et al. A Nanoscaffold impregnated with human Wharton's jelly stem cells or its secretions improves healing of wounds[J]. *J Cell Biochem*, 2014,115(4):794-803.
- [11]徐海环, 董化江, 赵明亮. 脐带间充质干细胞上清液对大耳兔皮肤缺损的治疗作用[J]. *新乡医学院学报*, 2016,33(12):1041-1043.
- [12]刘培, 胡振生, 马玲, 等. 脂肪间充质干细胞条件培养基制备温敏凝胶外用治疗皮肤烫伤[J]. *中国组织工程研究*, 2017,21(30):4852-4859.
- [13]Ong H T, Redmond S L, Marano R J, et al. Paracrine activity from adipose-derived stem cells on in vitro wound healing in human tympanic membrane keratinocytes[J]. *Stem Cells Dev*, 2017,26(6):405-418.
- [14]Shams F, Moravvej H, Hosseinzadeh S, et al. Overexpression of VEGF in dermal fibroblast cells accelerates the angiogenesis and wound healing function: in vitro and in vivo studies[J]. *Sci Rep*, 2022,12(1):18529.
- [15]Lord M S, Ellis A L, Farrugia B L, et al. Perlecan and vascular endothelial growth factor-encoding DNA-loaded chitosan scaffolds promote angiogenesis and wound healing[J]. *J Control Release*, 2017,250:48-61.
- [16]Lichtman M K, Otero-Vinas M, Falanga V. Transforming growth factor beta (TGF- β) isoforms in wound healing and fibrosis[J]. *Wound Repair Regen*, 2016,24(2):215-222.
- [17]Gaur M, Dobke M, Lunyak VV. Mesenchymal stem cells from adipose tissue in clinical applications for dermatological indications and skin aging[J]. *Int J Mol Sci*, 2017,18(1):208.
- [18]张伟, 刘伟江, 王鹏, 等. 间充质干细胞培养上清液对小鼠皮肤损伤修复的实验研究[J]. *军事医学*, 2018,42(3):176-181.
- [19]罗华. 脂肪干细胞旁分泌作用促进糖尿病皮肤创面愈合的实验研究[D]. 锦州: 锦州医科大学, 2019.
- [20]Maddaluno L, Urwyler C, Werner S. Fibroblast growth factors: key players in regeneration and tissue repair[J]. *Development*, 2017,144(22):4047-4060.
- [21]王晓宇, 郭家辰, 刘勇. 脂肪间充质干细胞上清液对小鼠皮肤创伤的作用及可能机制[J]. *解剖科学进展*, 2015,21(3):263-266.
- [22]Zhang X, Kang X, Jin L, et al. Stimulation of wound healing using bioinspired hydrogels with basic fibroblast growth factor (bFGF)[J]. *Int J Nanomedicine*, 2018,13:3897-3906.
- [23]Meyer M, Müller A k, Yang J, et al. FGF receptors 1 and 2 are key

