

cells attenuate limb ischemia by promoting angiogenesis in mice[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6:10.

[22] Garcia NA, Ontoria-Oviedo I, González-King H, et al. Glucose starvation in cardiomyocytes enhances exosome secretion and promotes angiogenesis in endothelial cells[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9):e0138849.

[23] Morigi M, Benigni A. Mesenchymal stem cells and kidney repair[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2013, 28(4): 788-

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.04.044

793.

[24] Tögel F, Hu Z, Weiss K, et al. Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanisms[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2005, 289(1): F31-42.

(收稿日期:2016-09-02 修回日期:2016-10-12)

## 脂肪干细胞在难愈性创面治疗中的应用研究进展\*

江 澜, 曾元临 综述, 辛国华<sup>△</sup> 审校

(南昌大学第一附属医院烧伤研究中心 330006)

[关键词] 慢性难愈性创面; 脂肪干细胞; 伤口愈合; 组织工程

[中图分类号] R644

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)04-0551-02

难愈性创面是长久以来一直困扰临床医师的一个难题, 难愈性创面形成机制复杂, 受多种因素影响, 病程长, 常伴有严重功能障碍, 对患者及患者家庭的正常生活造成严重干扰。目前难愈性创面的治疗往往是综合性的, 包括创面的保守换药治疗、全身营养状态的调整 and 基础疾病的治疗等。近年来临床治疗中不断引进新技术如超声清创机、负压封闭引流技术等联合外科手术手术治疗难愈性创面, 虽然优于传统方法但最终治疗效果仍称不上理想。近年来, 脂肪细胞来源的干细胞(Adipose-derived stem cells ADSCs)的体外培养及诱导分化技术愈发成熟, 结合组织工程技术治疗难愈性创面也成为研究的热点。本文就 ADSCs 在难愈性创面治疗中的应用研究的进展作一综述。

### 1 难愈性创面

**1.1 难愈性创面的定义** 难愈性创面, 亦称为慢性难愈性创面, 严格地说目前医学界对难愈性创面并没有标准统一的定义, 一般认为持续在 8 周以上, 经过正规治疗无法通过有序及时的修复过程使组织恢复解剖和功能完整性的创面称为慢性难愈性创面<sup>[1-2]</sup>。常见的难愈性创面包括: 大面积烧伤晚期残余创面, 糖尿病足, 压疮, 下肢静脉溃疡及放射性皮肤溃烂等。

**1.2 难愈性创面的形成** 创面的愈合是一个复杂有序的过程, 大致可分为 3 个阶段, 即炎症期、增殖期、重塑期。凡是影响创面修复的因素均可中断或打乱以上任一阶段, 导致创面延迟愈合甚至不能愈合, 形成慢性难愈性创面<sup>[3]</sup>。究其原因主要可分为以下 4 种。

**1.2.1 组织缺血缺氧** 氧气在创面愈合各个过程中作用明显, 缺氧可导致活性氧簇(ROS)减少, 延长创面愈合过程。陈欣欣等<sup>[4]</sup>通过对 30 例慢性不愈创面患者进行临床随机对照试验证明氧疗能够降低创面炎症反应, 加速愈合过程。同时, 创面愈合的过程有大量生长因子[如血小板源性生长因子、转化生长因子和血管内皮生长因子(VEGF)等]参与调控<sup>[5]</sup>; Kim 等<sup>[6]</sup>报道称, 在低氧微环境下慢性创面的修复、细胞增生及生长因子转录水平表达低下, 各种生长因子呈低活性, 从而导致创面纤维细胞、表皮细胞的增殖和迁移, 并最终形成难愈性创面。

**1.2.2 感染、细菌滋生及坏死物质残留** 不论何种原因造成的难愈性创面, 细菌滋生及创面感染均伴随着创面治疗的全过程。难愈性创面中的致病菌能够释放多种蛋白酶类和毒素降解生长因子, 侵蚀正常组织, 形成阻止创面修复、细胞增殖移动和上皮再生的物理屏障, 即形成细菌生物膜。细菌生物膜通过抵御抗菌药物、对抗机体的免疫防御机制及释放大炎症因子等方式, 使创面处于长期炎症反应阶段, 而肉芽组织与表皮组织无法形成, 最终致难愈性创面的形成<sup>[7]</sup>。

**1.2.3 糖尿病** 2 型糖尿病患者的疾病进展过程中常伴有微血管损害, 有学者<sup>[8]</sup>研究证实 2 型糖尿病伴有微血管并发症的患者出现糖尿病足的风险显著增高。有研究报道高血糖水平患者创面的缺氧诱导因子 1 $\alpha$ (hypoxia-inducible factors-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )蛋白水平和转录活性明显下降, HIF-1 $\alpha$ 可促进血管重塑为成熟的功能性血管, HIF-1 $\alpha$ 缺乏可导致糖尿病患者创面的不愈合<sup>[9]</sup>。

**1.2.4 细胞衰老及全身营养不良** 慢性难愈性创面一般在老年群体高发, 患者年龄大、各脏器功能低下、组织供血减少、细胞修复能力降低、合并基础病均易导致难愈性创面的形成。

### 2 ADSCs 的培养及生物学特性

ADSCs 是存在于脂肪中, 类似骨髓基质细胞的间充质干细胞, 具备自我更新能力与多向分化潜能, 遗传背景相当稳定, 体内植入后免疫排斥少。

**2.1 ADSCs 的来源与培养** 2001 年, Zuk 等首次从人脂肪抽吸物中采用胶原酶消化的方法分离出 ADSCs。Storck 等<sup>[10]</sup>通过实验研究发现在内皮细胞生长培养基中培养 ADSCs 不仅可以加速诱导分化前的生长速度, 而且可以明显缩短 ADSCs 的诱导分化时间。

**2.2 ADSCs 的生物学特性** ADSCs 具有多向系分化的潜能。ADSCs 不仅可诱导分化为间充质来源的脂肪、骨、软骨及骨骼肌, 还可以分化为具有功能性的血管内皮细胞<sup>[11-12]</sup>。孙楠等<sup>[13]</sup>证实 ADSCs 在表皮细胞抽提物的诱导作用下能表达表皮细胞表型, 这一结果提示 ADSCs 具有参与皮肤创面修复的潜能。

### 3 ADSCs 应用于难愈性创面的治疗及相应机制

\* 基金项目: 江西省卫生和计划生育委员会科技计划项目(20151048)。 作者简介: 江澜(1991-), 硕士, 主要从事烧伤外科学及慢性创面治疗研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail: xinghuoh@126.com。

ADSCs 经皮内注射或应用组织工程技术均可促进皮肤组织的修复。Vériter 等<sup>[14]</sup>也证实自体来源的 ADSCs 移植是一项安全可行的临床治疗手段。ADSCs 通过旁分泌机制激活成纤维细胞和角质形成细胞,从而促进伤口的愈合。刘晓玉等<sup>[15]</sup>将原代培养的人脂肪干细胞(hADSCs)传代至 3 代后,用磁纳米颗粒对 hADSCs 进行标记,将其经皮内注射的方式移植至小鼠背部皮肤损伤创面四周,发现实验组第 7 天创面愈合率显著高于对照组,初步证实了 ADSCs 能促进皮肤组织的修复,这为 ADSCs 治疗难愈性创面提供了临床依据。随着组织工程技术的不断发展,不少学者利用此技术开展了许多有益的研究。张琳等<sup>[16]</sup>的结果证实,以人 ADSCs 作为种子细胞,以富血小板血浆作为载体制备复合物,可促进裸鼠放射性皮肤缺损处的微血管新生,促进难愈性创面愈合。经文献回顾,ADSCs 促进难愈性创面愈合主要通过以下三个方面:(1)ADSCs 分泌大量生长因子促进难愈性创面愈合。实验证明 ADSCs 可以明显促进大鼠臀部放射性溃疡创面愈合,其机制可能与 VEGF 及一成纤维细胞生长因子(FGF)的代偿升高有关<sup>[17]</sup>。ADSCs 通过旁分泌机制可释放基质金属蛋白酶抑制剂-1(TIMP-1),TIMP-1 增强 FGF/转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )、肝细胞生长因子(HGF)、角质化细胞生长因子(KGF)、血小板衍生因子(PDGF)、VEGF 等的活性,减轻  $\beta$  细胞的凋亡,促进难愈性创面的愈合<sup>[18]</sup>。ADSCs 的旁分泌效应还可改善难愈性创面组织的缺血缺氧带来的变化,促进难愈性创面愈合。ADSCs 培养液在低氧条件下可收集到多种生长因子,包括 HGF、FGF、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、粒细胞-巨噬细胞击落刺激因子(GM-CSF)、白细胞介素 6(IL-6)、VEGF、TGF- $\beta$  及多种胶原蛋白,可促进蛋白、肉芽组织生长、上皮再生及基质形成和改变<sup>[19-20]</sup>;(2)ADSCs 可减轻难愈性创面的炎性反应。董瑶等<sup>[21]</sup>报道,局部注射了同种异体 ADSCs 后,实验小鼠组织中促炎因子 IL-1、IL-6 和 TCP-1 表达下降,抗炎因子 IL-10 表达上升,推测促进皮肤愈合机制可能与 ADSCs 降低了创面局部的炎性反应相关;(3)ADSCs 可促进难愈创面的再上皮化及血管重建。Collawn 等<sup>[22]</sup>通过实验证实 ADSCs 可通过促进创面皮肤的再上皮化从而加速伤口愈合及组织再生。徐永飞等<sup>[23]</sup>试验研究证明 ADSCs 复合透明质酸可加速裸鼠软组织血管化。而 Shen 等<sup>[24]</sup>的实验也证实以 ADSCs 为种子细胞治疗糖尿病创面效果显著,其明显地促进创面的血管新生。有文献报道,将 ADSCs 移植于局部创面,取愈合组织进行免疫荧光染色后发现,ADSCs 可表达血管内皮细胞标志物(CD31),提示 ADSCs 在体内可分化为内皮细胞和血管平滑肌细胞,参与创面的血管重建<sup>[25]</sup>。

从目前报道中可发现将 ADSCs 应用于临床治疗被整形外科医师所青睐。Sung 等<sup>[26]</sup>报道中称 2 例青年女性因局部注射透明质酸后出现鼻部皮肤坏死的患者,在治疗过程中仅用含有从自体腹部皮下脂肪组织中提取的 ADSCs 悬液注射至患部皮下及真皮层,6 个月后两位患者创面均痊愈,仅留有愈合良好的线性瘢痕。Salibian 等<sup>[27]</sup>的病例报告中用自体移植的 ADSCs 联合人工真皮及碱性 FGF 治疗 1 例难愈性骶尾部放射性溃疡的患者,在接受治疗 82 d 后该患者创面全部愈合。

#### 4 前景与展望

就目前总体来看,虽然有少数报道称 ADSCs 可用于临床治疗部分难愈性创面,但 ADSCs 应用于难愈性创面的治疗仍处于试验探索阶段<sup>[28]</sup>。未来伴随着干细胞研究的不断深入与组织工程技术的发展,ADSCs 对难愈性创面的治疗将更广泛地步入临床应用。如何在体外高效安全地培养 ADSCs 并定

向诱导分化将是未来实验需要突破的一个难点。目前的实验研究多数选择组织工程技术将 ADSCs 应用于难愈性创面的治疗,而选择一种最适合、最经济的载体才能为 ADSCs 在临床上打开更大的局面,这也需要未来更多的研究来证实。鉴于 ADSCs 拥有的生物特性上的优势并可针对难愈性创面的各个阶段发挥作用,未来其必能在治疗难愈性创面的临床应用上蓬勃发展。

#### 参考文献

- Baquerizo NK, Kirsner RS. Advanced wound care therapies in non-healing lower extremity ulcers: high expectations, low evidence[J]. *Evid Based Med*, 2014, 19(3): 91.
- 陈欣. 浅谈难愈性创面的外科治疗[J/CD]. *中华损伤与修复杂志(电子版)*, 2014, 9(1): 9-12.
- Kirby GTS, Mills SJ, Cowin AJ, et al. Stem cells for cutaneous wound healing[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 1-11.
- 陈欣欣, 周鑫, 高欣欣, 等. 局部氧疗促进慢性创面愈合的疗效观察[J/CD]. *中华损伤与修复杂志(电子版)*, 2013, 8(06): 52-55.
- Saito T, Izumi K, Shiomi A, et al. Zoledronic acid impairs re-epithelialization through down-regulation of integrin  $\alpha\beta 6$  and transforming growth factor beta signalling in a three-dimensional in vitro wound healing model[J]. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2014, 43(3): 373-380.
- Kim B, Kim HT, Park SH, et al. Fibroblasts from chronic wounds show altered TGF- $\beta$  signaling and decreased TGF- $\beta$  type II receptor expression[J]. *J Cell Physiol*, 2003, 195(3): 331-336.
- 王凌峰, 李俊亮. 难愈性创面与细菌的探讨[J/CD]. *中华损伤与修复杂志(电子版)*, 2012, 7(4): 341-345.
- Tomita M, Kabeya Y, Okisugi M, et al. Diabetic microangiopathy is an independent predictor of incident diabetic foot ulcer[J]. *J Diabetes Res*, 2016, 2016: 1-6.
- Nauta T, van Hinsbergh V, Koolwijk P. Hypoxic signaling during tissue repair and regenerative medicine[J]. *Int J Mol Scis*, 2014, 15(11): 19791-19815.
- Storek K, Ell J, Regn S, et al. Optimization of in vitro cultivation strategies for human adipocyte derived stem cells[J]. *Adipocyte*, 2014, 4(3): 181-187.
- Xiao HT, Wang L, Yu B. Superparamagnetic iron oxide promotes osteogenic differentiation of rat adipose-derived stem cells[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(1): 698-705.
- Zhang Y, Xu L, Wang S, et al. Concise review: differentiation of human adult stem cells into hepatocyte-like cells in vitro[J]. *Int J Stem Cells*, 2014, 7(2): 49-54.
- 孙楠, 张群. 表皮干细胞抽提物重编程脂肪干细胞表达表皮细胞表型的实验研究[J]. *组织工程与重建外科杂志*, 2013, 9(3): 129-132.
- Vériter S, André W, Aouassar N, et al. Human adipose-derived mesenchymal stem cells in cell therapy: safety and feasibility in different "hospital exemption" clinical applications[J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e139566.
- 刘晓玉, 王瑞, 张涛, 等. 人脂肪间充质干细胞对皮肤创伤修复的作用[J]. *基础医学与临床*, 2013, 33(11): 1377-1381.

卫生体制改革的不断深入和医疗业务的迅速拓展,卫生计生系统面临的各种经营风险不断增加。这就要求卫生计生系统培育风险管理文化,应对各种风险对单位的影响。首先各单位领导重视并通过岗前培训和宣讲等方式向全体员工传播单位的风险管理文化,培养全员严格防控风险、审慎处置风险的风险意识。加强单位上下对内部审计的认识,了解内部审计对于风险管理的重要性。在建立风险文化的基础上,卫生计生单位要建立健全全面的风险管理体系<sup>[5-6]</sup>,积极构建以风险管理策略、财务风险措施、风险管理组织职能体系及内部控制系统等为主要内容的风险管理体系。该体系的建立将会促使管理层更加积极地对单位面临的内外部风险进行事前防范、事中控制和事后监督,也更加重视风险导向内部审计在管理风险、完善内部控制制度中的作用,进而促使管理层更加支持内部审计工作并积极采纳审计建议,真正发挥审计的内部效能。

**4.2 加强内审队伍建设,提高审计人员素质** 风险导向审计能否有效实施,在很大程度上取决于审计人员的专业水平和职业道德修养。因此审计人员必须具有扎实的会计、审计知识,同时还需具备建设工程项目、法律法规、内部控制和风险管理等方面的知识<sup>[7-8]</sup>。除此之外,还要求内部审计人员具有较强的分析问题和处理问题的能力,保持廉洁自律、客观公正的职业素养。基于此,卫生计生系统应重视审计人员综合素质的培养。卫生计生系统要把好审计人员准入关,选拔业务全面、品质高、能力强的人员担任内部审计工作。开展多种形式的继续教育及培训活动,让内审人员及时掌握更新专业知识和技能,建立起一支具有专业胜任能力和职业道德水准的内部审计队伍。

**4.3 改进内部审计技术和方法** 政府相关部门应尽快出台专门针对卫生计生系统行业特点的风险导向审计工作制度和应

用指南,使我国各地区卫生计生单位在开展风险导向审计工作时有条不紊;加强卫生计生系统内部审计信息化建设的步伐,通过开发、使用审计软件加快信息处理速度,为风险识别和评估提供技术支持<sup>[9]</sup>,从而保证审计质量,使内部审计充分发挥风险管理职能。

## 参考文献

- [1] 林永玲. 风险导向审计在医疗机构内部审计中的应用[J]. 健康必读(下旬刊), 2012(11): 371.
- [2] 张彬彬, 陈灵巧, 严佳璐. 风险导向审计在医院内部审计中的应用[J]. 中医药管理杂志, 2015(17): 170-171.
- [3] 王芳. 医院风险导向内部审计应用初探[J]. 财会通讯, 2016(13): 126.
- [4] 王竞. 浅析医院内部审计的风险及其防范问题[J]. 财经界(学术版), 2013(4): 211-212.
- [5] 林凤兰. 风险导向内部审计在医院风险管理中的应用[J]. 财经界(学术), 2010(2): 211.
- [6] 李瑞实, 魏峰培. 浅析风险导向审计在医院内部控制中的应用[J]. 中国总会计师, 2012(5): 107-108.
- [7] 韩晔, 李三和, 刘颖, 等. 公立医院内部审计理念与工作思路调查分析[J]. 中国医院管理, 2014(10): 51-53.
- [8] 韩斌斌. 浅析 GE 经验对公立医院内部审计工作的启示[J]. 中国内部审计, 2016(5): 72-74.
- [9] 张新华. 现代风险导向审计模式下的事业单位内部审计问题研究[J]. 中国内部审计, 2015(9): 27-29.

(收稿日期: 2016-10-08 修回日期: 2016-11-09)

(上接第 552 页)

- [16] 张琳, 富泽龙, 冯锐. 人脂肪干细胞复合富血小板血浆治疗裸鼠放射性皮肤损伤的实验研究[J]. 医学研究杂志, 2015, 44(7): 57-61.
- [17] Ni X, Sun W, Sun S, et al. Therapeutic potential of adipose stem cells in tissue repair of irradiated skeletal muscle in a rabbit model[J]. Cell Reprogram, 2014, 16(2): 140-150.
- [18] Kono TM, Sims EK, Moss DR, et al. Human adipose-derived stromal/stem cells protect against STZ-induced hyperglycemia; analysis of hASC-derived paracrine effectors[J]. Stem Cells, 2014, 32(7): 1831-1842.
- [19] Moon KM, Park Y, Lee JS, et al. The Effect of secretory factors of adipose-derived stem cells on human keratinocytes[J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(12): 1239-1257.
- [20] Hu X, Wang H, Liu J, et al. The role of ERK and JNK signaling in connective tissue growth factor induced extracellular matrix protein production and scar formation[J]. Arch Dermatol Res, 2013, 305(5): 433-445.
- [21] 董瑶, 董飞君, 李幼华. 脂肪干细胞调节创面炎症反应并促进创面愈合[J]. 医学研究杂志, 2012, 41(3): 100-103.
- [22] Collawn SS, Banerjee NS, de la Torre J, et al. Adipose-derived stromal cells accelerate wound healing in an organotypic raft culture model[J]. Ann Plast Surg, 2012, 68(5):

501-504.

- [23] 徐永飞, 张建文, 刘林峰. ADSCs 复合 HA 促进裸鼠背部软组织血管化的实验研究[J]. 中国美容医学, 2013, 22(10): 1076-1078.
- [24] Shen T, Pan ZG, Zhou X, et al. Accelerated healing of diabetic wound using artificial dermis constructed with adipose stem cells and poly (L-glutamic acid)/chitosan scaffold[J]. Chin Med J (Engl), 2013, 126(8): 1498-1503.
- [25] Nie C, Yang D, Xu J, et al. Locally administered adipose-derived stem cells accelerate wound healing through differentiation and vasculogenesis[J]. Cell Transplant, 2011, 20(2): 205-216.
- [26] Sung HM, Suh IS, Lee HB, et al. Case reports of adipose-derived stem cell therapy for nasal skin necrosis after filler injection[J]. Arch Plast Surg, 2012, 39(1): 51-54.
- [27] Salibian AA, Widgerow AD, Abrouk M, et al. Stem cells in plastic surgery: a review of current clinical and translational applications[J]. Arch Plast Surg, 2013, 40(6): 666-675.
- [28] Sung HM, Suh IS, Lee HB, et al. Case reports of adipose-derived stem cell therapy for nasal skin necrosis after filler injection[J]. Arch Plast Surg, 2012, 39(1): 51-54.

(收稿日期: 2016-10-07 修回日期: 2016-11-08)