

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.16.035

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220324.0856.002.html>(2022-03-24)

干细胞及其来源外泌体促进面神经损伤修复的作用及潜力*

荆午阳 综述, 罗 岚, 骆文龙[△] 审校

(重庆医科大学附属第二医院耳鼻咽喉头颈外科 400010)

[摘要] 面神经损伤是临床诊疗中常见的疾病, 现有的治疗方式存在一定的局限性。近年来有研究表明, 干细胞及其来源外泌体对面神经损伤后的修复起到促进作用, 成为近些年的研究热点。本文主要综述干细胞及其来源外泌体促进面神经损伤修复的研究进展, 为临床治疗面神经损伤提供一定的启示。

[关键词] 脂肪干细胞; 神经干细胞; 骨髓间充质干细胞; 面神经损伤; 外泌体

[中图分类号] R762.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)16-2874-04

Role and potential of stem cells and their source exosomes in promoting repair of facial nerve injury*

JING Wuyang, LUO Lan, LUO Wenlong[△]

(Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Second Affiliated Hospital of
Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

[Abstract] Facial nerve injury is a common disorder in clinical practice and there are limitations in the existing treatment modalities. In recent years, the studies have shown that stem cells and their source exosomes can play a promoting role in repair after facial nerve injury. Therefore, the therapy of stem cells and their source exosomes in facial nerve injury has become a hot topic of research in recent years. This article mainly reviews the research progress of stem cells and their source exosomes in promoting repair of facial nerve injury to provides some enlightenment for clinical treatment of facial nerve injury

[Key words] adipose stem cells; neural stem cells; bone marrow mesenchymal stem cells; facial nerve injury; exosomes

面部运动是由面神经及其分支控制面部肌肉完成的。可协助非语言沟通, 是人类情感传达和交流的重要部分^[1]。面瘫指各种原因导致的面部肌肉部分或完全性瘫痪, 它是由支配面部肌肉的面神经受到损伤而引起的, 这种病变会严重损害患者的社会功能和心理健康, 降低生活质量。此外, 面瘫还会使面部的许多基本功能如眨眼、角膜保护、鼻腔呼吸、唇部功能和言语以及微笑受到严重损害^[2]。在导致面瘫的种种因素中, 面部运动皮质到面部肌肉的神经肌肉通路中断是其共同点。面瘫可以根据病变所在部位分为中枢性与周围性面瘫^[3]。其中周围性面瘫在临床上更为常见, 成人周围性面瘫发病率约每年 17/100 000~35/100 000^[4], 而成年人在被诊断为面瘫后的抑郁率达到 6.1%^[5], 给个人和社会都带来了心理及经济上的负担。但目前对周围性面瘫的处理仍存在争议, 面瘫修复治疗主要目的为恢复面部功能, 以改善患者静态面容及面部肌肉活动为主。常见修复方式包括: 外科治疗、药物治疗、物理疗法以及种子细

胞与导管支架的应用等, 虽然具有一定效果, 但是修复后功能的恢复仍然不够理想。因此, 对于修复面神经的损伤, 探索新的治疗方法, 提供新的治疗方向成为未来研究的重点。

1 干细胞来源

干细胞在外周神经损伤的自身修复中发挥着很大的作用, 近年来, 许多学者尝试用不同来源干细胞修复周围神经。主要的干细胞来源包括: 神经干细胞、骨髓间充质干细胞、牙源性干细胞和脂肪干细胞等。干细胞使神经再生的关键因素在于其可在特定的条件下诱导分化为许旺细胞, 而许旺细胞作为修复受损神经的关键细胞可以产生多种细胞因子和趋化因子并分泌多种神经营养因子, 以此促进轴突生长^[6-7]。神经干细胞是一种可塑性强、迁移率高、免疫原性低的干细胞, GUO 等^[8]用神经干细胞的壳聚糖导管移植治疗家兔面神经缺损, 结果发现与自体神经移植组效果相似, 修复效果显著, 证实了神经干细胞可以促进面神经损伤的修复。但神经干细胞因其需要

* 基金项目: 重庆市科技局基金项目(cstc2018-jscx-mszdX0040; cstc2018jscx-msybX0361)。 作者简介: 荆午阳(1996-), 在读硕士研究生, 主要从事头颈部疾病的基础及临床研究。 [△] 通信作者, E-mail: louwenlong163@163.com。

在哺乳动物的大脑内取材,过程困难,临床应用价值一般;相较于神经干细胞,骨髓间充质干细胞取材更易获取,移植后反应小,干细胞的特性稳定^[9]。且研究发现,具有许旺表型的骨髓间充质干细胞可加速受损轴突再生,增加轴突数量和动作电位振幅^[10-11]。然而骨髓间充质干细胞取材的过程往往会给供者造成侵入性伤害,同时供者年龄会影响其细胞的增殖能力;来源于牙周组织的牙源性干细胞,取材则较为容易,同时有还具有高度自我更新和多向分化的特点。SASAKI 等^[12]将联合聚乳酸管的牙髓干细胞移植到大鼠面神经损伤模型中,发现在聚乳酸管中,轴突再生,而随着时间的推移,大量轴突出现在再生的神经中,证实了牙髓干细胞可促进神经再生;脂肪间充质干细胞相对于其他干细胞而言,有许多优点,分布广泛、体内含量多,取材损伤程度小、免疫原性低、遗传稳定性好、分离培养和扩增方法简单等。TOMITO 等^[13]在体外成功把人脂肪间充质干细胞诱导形成许旺细胞,而被诱导形成的许旺细胞可分泌大量脑源性神经营养因子、胶质细胞源性生长因子,还证实脂肪间充质干细胞可以产生髓鞘蛋白(S-100),具有提高周围受损神经功能恢复的能力。有研究发现,脂肪间充质干细胞可通过分泌脑源性神经营养因子、胶质细胞源性生长因子和血管内皮生长因子(VEGF)的旁分泌途径作用于受损的神经从而促进其修复^[14-15]。除此之外,相关研究认为,脂肪间充质干细胞的另一个促进神经修复的方式在于其可通过分泌细胞因子和调节外周血单核细胞的作用从而降低炎性反应的发生^[16]。越来越多的研究证实干细胞在神经修复和再生方面应用前景广阔,但目前对于干细胞在修复损伤神经中所发挥具体作用和机制还尚不明了,同时,干细胞移植存在一定的争议,如干细胞移植是否有最佳剂量以及其是否存在无可挽回的风险等问题,都尚待未来研究的进一步探索^[17]。

2 干细胞来源外泌体

近年来的研究发现,干细胞的旁分泌效应为干细胞治疗效果发挥主要作用^[18-19]。间充质干细胞的旁分泌效应在大约 20 年前首次被描述,有研究者发现间充质干细胞合成和分泌广泛的生长因子、趋化因子和 11 种细胞因子,可对其周围细胞产生显著影响。后来,人们发现细胞外小泡可能至少在一定程度上促进了旁分泌作用,而不是对其分化潜能的影响^[20-21]。这种细胞间通讯的新机制依赖于细胞外小泡介导的生物活性脂质、蛋白质和核酸向受体细胞的转移^[22-23]。细胞外小泡是一种多种细胞释放到细胞外空间的膜泡,主要包括凋亡小体、微泡和外泌体三类。由于外泌体最具有细胞外小泡特征而成为许多研究者关注的焦点^[24-25]。外泌体的功能主要是作为细胞物质从分泌细胞到受体细胞的单向传送带,以调节受体细胞的活动。而外泌体内携带的各种复杂物质,比如核酸、蛋白质、脂质等,使得外泌体具有诱发多种细

胞反应和与多种细胞类型相互作用的潜力^[26]。BAULCH 等^[27]首先将囊泡植入动物颅骨后,照射 1 个月后发现皮质和海马缺损完全消除,实验数据表明微囊泡治疗可以减轻神经炎症和保存宿主神经元形态。一些研究发现,间充质干细胞来源外泌体可促进脑内神经轴突的生长^[28-29]。此外,SHENG 等^[30]发现髓间充质干细胞来源外泌体可以促进巨噬细胞体外吞噬髓鞘碎片的能力,并为轴突再生创造一个良好的微环境来促进脊髓的修复。但目前大部分研究都以小鼠作为模型,这类啮齿类动物的研究结果可能不会直接转化到人类身上。所以为使实验数据更具有参考价值,未来研究可选择非人灵长类动物作为研究的动物模型。

3 外泌体的转导及干细胞生物支架

已经有大量的实验说明,干细胞来源的外泌体多对于神经具有修复作用,且外泌体可规避体内的网状内皮系统对其的清除作用从而发挥作用,但仍有一些对外泌体渗透和内吞速率较低的组织^[31]。因此选择适当的转导方式来增加外泌体到达有效部位的效率显得十分关键。近年来的研究发现,超声靶向微泡技术作为一种低侵袭性、高转移率、高器官特异性和高稳定性的基因或药物载体可显著提高其表达效用^[32-33],已有研究观察了超声微泡介导不同目的基因对面神经损伤修复的影响,结果发现:通过超声微泡携带肝细胞生长因子、成纤维细胞生长因子、促红细胞生成素基因转染面神经损伤的大鼠,证实超声微泡提高了目的基因转染的效率,从而证实超声微泡能够作为一种有效的载体,为其应用于修复面神经损伤提供了实验依据^[34-36]。但将其同干细胞来源外泌体联合应用还鲜有研究,为面神经修复提供一种新策略。

干细胞移植的过程也存在着细胞的存活率低的特点,因此可利用体内存在的细胞进行修复再生,在缺损的组织原位植入生物材料以此不仅可招募干细胞还可以促进组织再生。生物材料支架可以诱导轴突再生,目前使用圆柱形管道或多孔结构以承载种子细胞作为替代材料来代替神经组织,其功能有利于诱导再生^[37]。近期,WANG 等^[38]研究显示,导电石墨烯纳米纤维支架可以引导细胞迁移,促进周围神经再生。而对于面神经节段性缺损,目前重建面神经节段性缺损的所谓“金标准”是自体神经移植,但其自身存在限制,特别是当神经残端之间有很大的间隙时,常常不能达到满意的效果。在过去的几十年里,人们做了大量的工作来开发各种合成的和自然的神经引导装置,以改善小间隙缺损,然而,这些方法的总体临床结果仍然令人失望,因为目前还没有找到合适的自体移植替代物。近年来,人们越来越热衷于将干细胞疗法与组织工程相结合,特别是先进的 3D 生物打印技术用于周围神经再生^[39]。尽管还处于起步阶段,一些研究也证明了利用干细胞负载支架作为“生物墨水”制造 3D 神经组织的可行性^[40-41]。

4 展 望

综上所述,干细胞及其来源外泌体种类繁多,来源丰富,干细胞可分泌神经营养因子同时可以分化为许旺细胞,促进神经髓鞘的再生^[42-43],十分适合于面神经损伤的修复。其来源外泌体也可对神经组织起到促进修复的作用,研究前景广阔,但各种功能及作用机制尚未完全明了,依然处于研究的初级阶段。因此,对于干细胞及其来源外泌体对面神经损伤修复的治疗效果及治疗过程仍需大量基础研究来探索。

参考文献

- [1] ISHII L, GODOY A, ENCARNACION C O, et al. Not just another face in the crowd: society's perceptions of facial paralysis [J]. *Laryngoscope*, 2012, 122(3): 533-538.
- [2] LEVINE E, DEGUTIS L, PRUZINSKY T, et al. Quality of Life and facial trauma: psychological and body image effects [J]. *Ann Plast Surg*, 2005, 54(5): 502-510.
- [3] SCULLY C, FELIX D H. Oral medicine—update for the dental practitioner. Disorders of orofacial sensation and movement [J]. *Br Dent J*, 2005, 199(11): 703-709.
- [4] SPENCER C R, IRVING R M. Causes and management of facial nerve palsy [J]. *Br J Hosp Med (Lond)*, 2016, 77(12): 686-691.
- [5] BOGART K R. Socioemotional functioning with facial paralysis: Is there a congenital or acquired advantage? [J]. *Health Psychol*, 2020, 39(4): 345-354.
- [6] KO K R, LEE J, LEE D, et al. Hepatocyte growth factor (HGF) promotes peripheral nerve regeneration by activating repair schwann cells [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 8316.
- [7] HE Y, ZHANG P Z, SUN D, et al. Wnt1 from cochlear schwann cells enhances neuronal differentiation of transplanted neural stem cells in a rat spiral ganglion neuron degeneration model [J]. *Cell Transplant*, 2014, 23(6): 747-760.
- [8] GUO B F, DONG M M. Application of neural stem cells in tissue-engineered artificial nerve [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2009, 140(2): 159-164.
- [9] LOTFY A, SALAMA M, ZAHRAN F, et al. Characterization of mesenchymal stem cells derived from rat bone marrow and adipose tissue: a comparative study [J]. *Int J Stem Cells*, 2014, 7(2): 135-142.
- [10] WANG X, LUO E, LI Y, et al. Schwann-like mesenchymal stem cells within vein graft facilitate facial nerve regeneration and remyelination [J]. *Brain Res*, 2011, 1383: 71-80.
- [11] COSTA H J, BENTO R F, SALOMONE R, et al. Mesenchymal bone marrow stem cells within polyglycolic acid tube observed in vivo after six weeks enhance facial nerve regeneration [J]. *Brain Res*, 2013, 1510: 10-21.
- [12] SASAKI R, AOKI S, YAMATO M, et al. PL-GA artificial nerve conduits with dental pulp cells promote facial nerve regeneration [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2011, 5(10): 823-830.
- [13] TOMITA K, MADURA T, SAKAI Y, et al. Glial differentiation of human adipose-derived stem cells: implications for cell-based transplantation therapy [J]. *Neuroscience*, 2013, 236: 55-65.
- [14] LIU G, CHENG Y, GUO S, et al. Transplantation of adipose-derived stem cells for peripheral nerve repair [J]. *Int J Mol Med*, 2011, 28(4): 565-572.
- [15] KOLAR M K, KINGHAM P J. Regenerative effects of adipose-tissue-derived stem cells for treatment of peripheral nerve injuries [J]. *Biochem Soc Trans*, 2014, 42(3): 697-701.
- [16] GJ W, AN G, SHI Z W, et al. Suppression of MicroRNA-383 enhances therapeutic potential of human Bone-Marrow-Derived mesenchymal stem cells in treating spinal cord injury via GDNF [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(4): 1435-1444.
- [17] JEONG J O, HAN J W, KIM J M, et al. Malignant tumor formation after transplantation of short-term cultured bone marrow mesenchymal stem cells in experimental myocardial infarction and diabetic neuropathy [J]. *Circ Res*, 2011, 108(11): 1340-1347.
- [18] HAN C, SUN X, LIU L, et al. Exosomes and their therapeutic potentials of stem cells [J]. *Stem Cells Int*, 2016, 2016: 7653489.
- [19] LAI R C, YEO R W, LIM S K. Mesenchymal stem cell exosomes [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2015, 40: 82-88.
- [20] TIMMERS L, LIM S K, HOEFER I E, et al. Human mesenchymal stem cell-conditioned medium improves cardiac function following myocardial infarction [J]. *Stem Cell Res*, 2011, 6(3): 206-214.
- [21] PAREKKADAN B, VAN POLL D, SUGANUMA K, et al. Mesenchymal stem cell-derived

- molecules reverse fulminant hepatic failure[J]. *PLoS One*, 2007, 2(9):e941.
- [22] ZHANG J, GUAN J, NIU X, et al. Exosomes released from human induced pluripotent stem cells-derived MSCs facilitate cutaneous wound healing by promoting collagen synthesis and angiogenesis[J]. *J Transl Med*, 2015, 13:49.
- [23] LI X, CHEN C, WEI L, et al. Exosomes derived from endothelial progenitor cells attenuate vascular repair and accelerate reendothelialization by enhancing endothelial function[J]. *Cytherapy*, 2016, 18(2):253-262.
- [24] RAPOSO G, STOORVOGEL W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends [J]. *J Cell Biol*, 2013, 200(4):373-383.
- [25] COONEY D S, WIMMERS E G, IBRAHIM Z, et al. Mesenchymal stem cells enhance nerve regeneration in a rat sciatic nerve repair and hindlimb transplant model [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6:31306.
- [26] CHEN T S, LAI R C, LEE M M, et al. Mesenchymal stem cell secretes microparticles enriched in pre-microRNAs [J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(1):215-224.
- [27] BAULCH J E, ACHARYA M M, ALLEN B D, et al. Cranial grafting of stem cell-derived microvesicles improves cognition and reduces neuropathology in the irradiated brain [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(17):4836-4841.
- [28] ZHANG Y, CHOPP M, LIU X S, et al. Exosomes derived from mesenchymal stromal cells promote axonal growth of cortical neurons[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(4):2659-2673.
- [29] HUANG J H, YIN X M, XU Y, et al. Systemic administration of exosomes released from mesenchymal stromal cells attenuates apoptosis, inflammation, and promotes angiogenesis after spinal cord injury in rats[J]. *J Neurotrauma*, 2017, 34(24):3388-3396.
- [30] SHENG X, ZHAO J, LI M, et al. Bone marrow mesenchymal stem Cell-Derived exosomes accelerate functional recovery after spinal cord injury by promoting the phagocytosis of macrophages to clean myelin debris [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:772205.
- [31] EL ANDALOUSSI S, LAKHAL S, MAEGER I, et al. Exosomes for targeted siRNA delivery across biological barriers [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013, 65(3):391-397.
- [32] QIAN L J, THAPA B, HONG J, et al. The present and future role of ultrasound targeted microbubble destruction in preclinical studies of cardiac gene therapy [J]. *J Thorac Dis*, 2018, 10(2):1099-1111.
- [33] 叶枝依. 超声微泡携基因治疗面神经损伤研究进展[J]. *重庆医学*, 2012, 41(14):1427-1429.
- [34] 郝亚宁, 骆文龙. 超声辐照微泡对肝细胞生长因子转染大鼠损伤面神经的促进作用[J]. *基础医学与临床*, 2012, 32(11):1332-1336.
- [35] 苏俊波, 骆文龙, 郝亚宁, 等. 超声微泡对碱性成纤维生长因子转染大鼠损伤面神经的修复作用研究[J]. *重庆医学*, 2017, 46(13):1747-1749.
- [36] 苏俊波, 骆文龙, 郝亚宁, 等. 促红细胞生成素经超声微泡介导治疗大鼠损伤面神经的研究[J]. *中国药业*, 2018, 27(11):5-7.
- [37] BORRELLI M R, HU M S, LONGAKER M T, et al. Tissue engineering and regenerative medicine in craniofacial Reconstruction and facial aesthetics [J]. *J Craniofac Surg*, 2020, 31(1):15-27.
- [38] WANG J, CHENG Y, CHEN L, et al. In vitro and in vivo studies of electroactive reduced graphene oxide-modified nanofiber scaffolds for peripheral nerve regeneration [J]. *Acta Biomater*, 2019, 84:98-113.
- [39] EULER D E, GUZEN F P, LOPES D R, et al. Experimental considerations concerning the use of stem cells and tissue engineering for facial nerve regeneration: a systematic review [J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2014, 72(5):1001-1012.
- [40] MURPHY S V, ATALA A. 3D bioprinting of tissues and organs [J]. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(8):773-785.
- [41] MANDRYCKY C, WANG Z, KIM K, et al. 3D bioprinting for engineering complex tissues [J]. *Biotechnol Adv*, 2016, 34(4):422-434.
- [42] SOWA Y, IMURA T, NUMAJIRI T, et al. Adipose-derived stem cells produce factors enhancing peripheral nerve regeneration; influence of age and anatomic site of origin [J]. *Stem Cells Dev*, 2012, 21(11):1852-1862.
- [43] WALSH S, MIDHA R. Practical considerations concerning the use of stem cells for peripheral nerve repair [J]. *Neurosurg Focus*, 2009, 26(2):E2.