

文章编号 1006-8147(2022)04-0343-05

论著

M2型巨噬细胞外泌体对皮肤创面愈合影响的探究

王敏¹, 邢逸¹, 徐海楠¹, 王子祎¹, 孙逊², 赵艳梅³, 赵艳红¹

(1.天津医科大学口腔医院正畸科, 天津 300070; 2.天津大学天津医院脊柱外科, 天津 300211; 3.天津大学应急医学研究院, 天津 300072)

摘要 目的:探究 M2 型巨噬细胞来源的外泌体(M2exos)对成纤维细胞增殖、迁移的影响。方法:极化 RAW264.7 细胞并收集 M2 型巨噬细胞上清,提取并鉴定 M2exos。通过免疫荧光观察 L929 真皮成纤维细胞对 M2exos 的摄取情况,设对照组和 M2exos 组,通过 CCK-8、细胞划痕实验分别观察在 0、24、48、72 h 对成纤维细胞的增殖和迁移作用。建立皮肤创口模型,随机将 12 只 C57BL/6J 小鼠分为 PBS 组和 M2exos 组。两组分别注射 200 μ L PBS、M2exos(500 μ g/mL),在第 1、4、7 天观察、拍摄记录,并取材进行 HE 染色。结果:成功极化得到 M2 型巨噬细胞,提取和鉴定了 M2exos。与对照组相比,M2exos 组在 48、72 h 对成纤维细胞具有促进增殖($t=26.73, P<0.000 1; t=6.648, P<0.01$)、迁移($t=5.196, P<0.05; t=22.00, P<0.000 1$)作用。对 C57BL/6J 小鼠的研究显示,与 PBS 组相比,在第 4、7 天时 M2exos 组创面显著缩小($t=32.80, 51.16$, 均 $P<0.000 1$)。结论:M2exos 通过促进成纤维细胞增殖和迁移,对小鼠创面愈合有显著的促进作用。

关键词 M2 型巨噬细胞;外泌体;L929 真皮成纤维细胞;创面愈合

中图分类号 R782.4

文献标志码 A

The effect of M2 macrophage-derived exosomes on skin wound healing

WANG Min¹, XING Yi¹, XU Hai-nan¹, WANG Zi-yi¹, SUN Xun², ZHAO Yan-mei³, ZHAO Yan-hong¹

(1.Department of Orthodontics, Stomatology Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2.Department of Spinal Surgery, Tianjin Hospital, Tianjin University, Tianjin 300211, China; 3.Academy of Emergency Medicine, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract **Objective:** To investigate the effect of M2 macrophage-derived exosomes (M2exos) on the proliferation and migration of fibroblasts. **Methods:** RAW264.7 cells were polarized and M2 macrophages supernatant was collected to extract and identify M2exos. The uptake of M2exos by L929 dermal fibroblasts was observed by immunofluorescence, and control group and M2exos group were set up, the proliferation and migration of fibroblasts were observed by CCK-8 assay and cell scratch assay at 0, 24, 48 and 72 h. The skin wound model was established. Twelve C57BL/6J mice were randomly divided into PBS group and M2exos group. The two groups were injected with 200 μ L PBS and M2exos (500 μ g/mL), respectively. The mice were observed and recorded on the 1st, 4th and 7th day, and samples were taken for HE staining. **Results:** M2 macrophages were successfully polarized, extracted and identified M2exos. CCK-8 assay showed that M2exos promoted the proliferation ($t=26.73, P<0.000 1; t=6.648, P<0.01$) and migration ($t=5.196, P<0.05; t=22.00, P<0.000 1$) of fibroblasts at 48 h and 72 h compared with PBS group. The study of C57BL/6J mice showed that, the wound surface of M2exos group was significantly smaller than those in PBS group on the 4th and 7th day ($t=32.80, 51.16$, all $P<0.000 1$). **Conclusion:** M2exos can promote wound healing in mice by promoting the proliferation and migration of fibroblasts.

Key words M2 macrophage; exosomes; L929 dermal fibroblasts; wound healing

皮肤创面愈合是一个复杂且涉及多种高度调节因素相互作用的过程,分为炎症、增殖和重塑 3 个阶段^[1-2]。在世界范围内,受创面愈合缺陷累及的人群超过 3 800 万,给医疗系统带来了巨大的经济负担^[3]。目前,对皮肤创面的治疗包括创面的清创、敷料的应用、组织工程皮肤移植物以及干细胞疗法等^[4]。尽管以上治疗方法在改善创面愈合方面发挥

了重要作用,但治疗效果仍然不理想,存在出血、疼痛、感染、排异、干细胞致瘤性等风险^[5]。因此,寻找一种具有免疫调节且促进组织再生的方法有望解决皮肤创面愈合问题。巨噬细胞是皮肤正常愈合过程中的重要细胞,在人体免疫调控、炎症和组织再生中发挥重要的主导作用^[6-8]。在受到外界因素影响时,巨噬细胞表型会发生改变。活化的巨噬细胞可分为经典活化型(M1)和交替活化型(M2)。其中 M2 型巨噬细胞主要是辅助性 T 细胞(Th)2 细胞因子如白细胞介素(IL)-4 或 IL-10,具有抗炎和修复损伤组织的能力^[9]。外泌体是由细胞通过胞外分泌方式释

基金项目 国家自然科学基金(81800931);天津市科技计划项目(20JCYBJC01440);天津自然科学基金(18JCJQJC47900)

作者简介 王敏(1996-),女,硕士在读,研究方向:口腔正畸学及口腔相关的骨、软骨组织再生;通信作者:赵艳红, E-mail: leafzh@126.com。

放的纳米级脂质体囊泡,内含多种丰富的生物分子,如蛋白质、核酸、脂质等,并通过输送这些关键生物分子对局部或远处细胞传递生物信号,在细胞通讯中发挥重要作用^[10-12]。最近,一些研究证实了巨噬细胞来源的外泌体在免疫调节和组织再生中的突出作用。其中,Yan 等^[13]通过将 M2 型巨噬细胞来源的外泌体(M2exos)与血管平滑肌细胞共培养,发现 M2exos 通过旁分泌方式有助于促进血管平滑肌细胞去分化,对血管组织修复有重要作用。目前,关于 M2exos 在皮肤创面愈合的研究较少。因此,本研究目的是提取并鉴定 M2exos,探究 M2exos 对 L929 真皮成纤维细胞增殖和迁移的作用,以及 M2exos 在小鼠体内对创面愈合的作用。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器 DMEM 培养基、青霉素-链霉素和胎牛血清购自美国 Gibco 公司;小鼠 IL-4 蛋白购自美国 R&D 公司,兔单克隆抗体 Liver Arginase,CD9、Alix、TSG101 和 HRP 标记的羊抗兔 IgG 购自英国 Abcam 公司;CCK-8 溶液购自北京索莱宝公司。电泳仪、电转仪购自美国 Bio-Rad 公司,高速离心机购自德国 Thermo 公司,高速冷冻离心机购自美国 Beckman Coulter 公司,酶标仪购自美国 Bio-Tek 公司,实时荧光定量 PCR 仪购自德国 Roche 公司,化学发光分析系统购自上海天能公司。

1.2 实验方法

1.2.1 M2 型巨噬细胞的极化及培养 将 RAW264.7 细胞(购自武汉普诺赛细胞生物公司)在含有 10% FBS 的 DMEM 培养基中培养,待其生长至细胞密度为 80%时,加入含 20 ng/mL IL-4 的培养基干预 48 h,然后用无血清培养基继续培养 48 h,收集上清。

1.2.2 Western 印迹 以 1×10^5 个/孔的密度将 RAW264.7 细胞接种于 6 孔板,设 M0 组、M2 组,M0 组不作处理,M2 组加入含 20 ng/mL 的 IL-4 的培养基干预 48 h。用预冷的 PBS 缓冲液小心清洗 3 次后,加 RIPA 裂解液于冰上裂解 1 h。在 4℃下,12 000 r/min 离心 15 min,小心吸取上清液。BCA 法测蛋白浓度后加入蛋白上样缓冲液,金属浴内煮沸 10 min。取 30 μ g 变性好的蛋白上样,用 8%~12% SDS-PAGE 进行电泳,于冰上 220 mA 转膜 120 min,室温封闭 1 h。用 1×TBST (含 0.1% Tween-20)缓冲液按 1:1 000 的比例稀释一抗 Arginase-1,PVDF 膜置于一抗中 4℃过夜孵育。然后用 1×TBST 缓冲液洗膜 3 次,继续在含山羊抗兔 IgG-HRP (1:50 000)的封闭溶液中室温孵育 1 h,滴加 ECL 发光液于 PVDF 膜上,通过化学发光凝胶成像系统成像拍照。

1.2.3 qRT-PCR 利用 TRIzol 提取试剂(Invitrogen,USA)提取 RAW264.7 细胞的总 RNA,然后用总 RNA 反转录合成 cDNA(cDNA synthesis kit,Takara)。采用 Hieff® qPCR SYBR® Green Master Mix 进行实时 PCR。PCR 循环步骤如下:95℃预变性 5 min,95℃变性 10 s,引物退火,60℃延伸 20 s,40 个循环,然后进行熔解曲线分析。GAPDH 基因作为管家基因,数据结果采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 分析。引物序列见表 1。

表 1 定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)引物序列分析

Tab 1 Primer sequence analysis of quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR)

基因名称	序列(5'→3')	产物大小(bp)
GADPH	Forward:AAATGGTGAAGCTCGGTCTGAAC	115
	Reverse:CAACAATCTCCACTTTGCCACTG	
Arginase-1	Forward:ATGTCCTAATGACAGCTCCT	150
	Reverse:GCTTCCAACAGCCAGACTGT	

1.2.4 M2 巨噬细胞外泌体的提取与鉴定 外泌体的提取方法参考经典的超速离心法^[10]。将已经极化好的 M2 巨噬细胞培养至细胞浓度为 80%时,继续在不血清条件下培养 2 d,收集上清。在 4℃下,依次进行 300 r/min 离心 10 min、2 000 r/min 离心 10 min、10 000 r/min 离心 30 min,以去除细胞碎片及大直径颗粒等,然后 120 000 r/min 离心 90 min,收集外泌体沉淀。最后用磷酸盐缓冲液(PBS)重悬颗粒并过 0.22 μ m 滤膜,于-80℃冰箱保存。取 20 μ L 外泌体悬液于直径 2 mm 的载样铜网上,室温静置 1 min,用滤纸沿铜网外侧吸干液体,在铜网上滴加 20 ng/mL 磷钨酸溶液(用双蒸水配置)约 20 μ L,用 1 mol/L 的氢氧化钠调 pH 值至 6 或 7 左右,室温复染 1 min。滤纸吸掉多余液体,在白炽灯下烘干,透射电镜下观察外泌体形态并采集照片。利用纳米颗粒示踪分析确定外泌体的颗粒大小,Western 印迹法检测 Alix(1:1 000)、TSG101(1:1 000)、CD9(1:1 000)3 种外泌体的标志性蛋白。

1.2.5 细胞免疫荧光实验 L929 真皮成纤维细胞(购自武汉普诺赛细胞生物公司)在含有 10%胎牛血清和 1%青霉素/链霉素的 DMEM 中培养,然后将 L929 真皮成纤维细胞以 1×10^5 个/孔的密度接种于 24 孔板中,与 PKH67 标记的 M2exos 共培养 24 h。吸净培养基并清洗孔板内细胞,然后用 4%的多聚甲醛进行固定,0.3%TritonX-100 对细胞通透化,加入含 DAPI 的防荧光淬灭封片剂,在倒置荧光显微镜下观察 L929 成纤维细胞对 M2exos 的摄取情况。

1.2.6 细胞增殖实验 L929 真皮成纤维细胞培养至细胞密度为 80%时,将细胞 5 000 个/孔接种于 96 孔

板。对照组不作处理,M2exos组为浓度 500 $\mu\text{g/mL}$ 的 M2exos,每组 6 个复孔。在 0、24、48、72 h 时每孔加入 10 μL CCK-8 溶液在培养箱孵育 2 h 后,于 450 nm 处测定其吸光值。

1.2.7 细胞划痕实验 将 L929 真皮成纤维细胞铺满 6 孔板后,用黄枪头将单层成纤维细胞划痕成直线,PBS 清洗细胞。对照组不作处理,M2exos 组为浓度 500 $\mu\text{g/mL}$ 的 M2exos,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 环境中继续培养。在 0、24、48、72 h 记录划痕创面的照片,使用 ImageJ 软件分析划痕面积,划痕闭合百分比(%)=(原始划痕面积-测定时间划痕面积)/原始划痕面积 $\times 100\%$ 。

1.2.8 动物实验 本次实验在天津市中国医学科学院放射医学研究所饲养 12 只 8 周的雄性 C57BL/6J 小鼠,所有动物实验均严格按照实验动物指南进行,并经院伦理委员会批准。将小鼠随机分为 PBS 组($n=6$)、M2exos 组。实验前,首先用异氟醚麻醉小鼠,并剔除其背部毛发。碘伏消毒表皮后,用直径为 8 mm 的活检穿孔机对其皮肤全层进行穿刺^[14]。在造模后当天分别进行两种分组处理,PBS 组注射 200 μL 的 PBS,M2exos 组注射等体积的 M2exos (500 $\mu\text{g/mL}$),在第 1、4、7 天对创面外观进行肉眼观察并拍照记录。利用 ImageJ 计算创面愈合率,愈合率=(原始创面面积-未闭合的创面面积)/创面原始面积 $\times 100\%$ 。

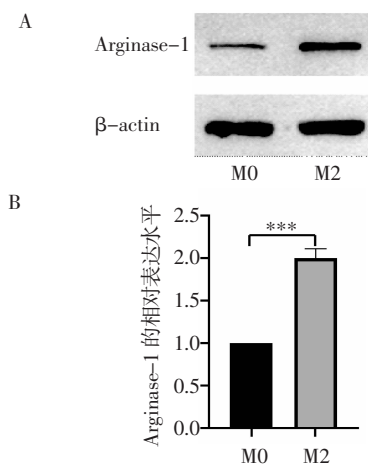
1.2.9 组织学分析 在第 7 天,分别取两组皮肤标本,用 4%多聚甲醛固定,常规进行脱水、包埋、切片,采用 HE 染色观察创口皮肤新生毛细血管、炎症细胞浸润情况。

1.3 统计学处理 所有数据结果采用 GraphPad Prism8.0 软件进行统计分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用独立样本 t 检验进行比较两组间的差异, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 M2 型巨噬细胞的鉴定 RAW264.7 细胞经

IL-4 处理 48 h 后,经 Western 印迹测定结果显示,M2 组 Arginase-1(M2 型巨噬细胞标志物)较 M0 组表达更显著(图 1A)。qRT-PCR 结果显示,与 M0 组相比,Arginase-1(图 1B)的 mRNA 水平在 M2 组中表达较高($P < 0.001$)。



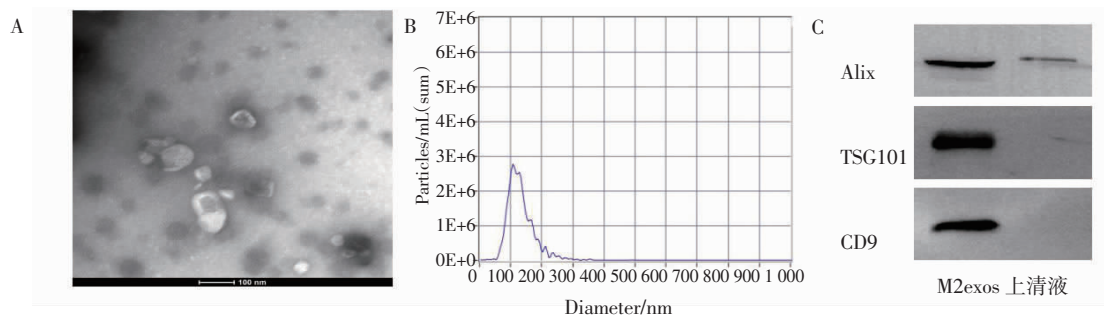
注:A:Western 印迹检测 Arginase-1 蛋白表达;B:qRT-PCR 检测 Arginase-1 mRNA 表达水平;M0 组:不作处理;M2 组:加入 20 ng/mL 的 IL-4;*** $P < 0.001$

图 1 RAW264.7 细胞经诱导发生 M2 型巨噬细胞的极化结果

Fig 1 Polarization of RAW264.7 cells were induced into M2 macrophages

2.2 M2 型巨噬细胞外泌体的表征及鉴定 用透射电镜观察 M2exos,如图 2A 所示,M2exos 呈双层膜囊泡结构,圆形或接近圆形,具有典型的外泌体特征。外泌体囊泡内无细胞器或凋亡小体等结构,可排除其为细胞碎片的可能;利用纳米粒径追踪分析测量 M2exos 的粒径,结果如图 2B 中所示,本实验所测得的 M2exos 平均粒径为 111.9 nm。Western 印迹结果表明 M2exos 阳性表达 3 种蛋白 Alix、TSG101、CD9 且表达量明显高于上清液(图 2C)。

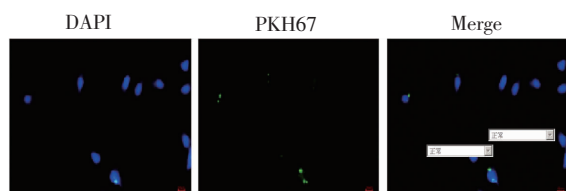
2.3 L929 真皮成纤维细胞摄取 M2exos 将 PKH67 标记的 M2exos 与 L929 成纤维细胞共培养 24 h 后,可见成纤维细胞的核周围呈现绿色荧光(图 3)。



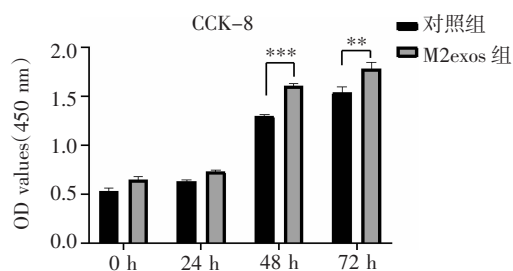
注:A:透射电镜鉴定外泌体形态;B:粒径分析外泌体直径范围;C:Western 印迹鉴定结果

图 2 M2 型巨噬细胞来源的外泌体的鉴定结果

Fig 2 Identification results of M2 macrophage-derived exosomes

图 3 L929 真皮成纤维细胞摄取 M2exos($n=3$)Fig 3 Uptake of M2exos by L929 dermal fibroblasts($n=3$)

2.4 M2exos 促进 L929 真皮成纤维细胞增殖和迁移 通过 CCK-8 法验证 M2exos 对成纤维细胞增殖的影响,如图 4 所示,在 48 h 和 72 h 时,与对照组相比,M2exos 组对成纤维细胞有显著的促进增殖作用(均 $P<0.01$)。利用划痕实验方法来评估 M2exos 对体外创面愈合的影响,如图 5 所示,M2exos 处理组在 48 h 和 72 h 时细胞迁移能力均显著高于对照组(均 $P<0.05$)。

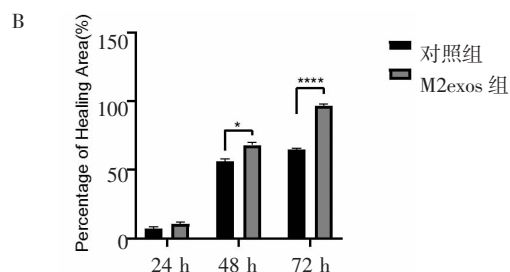
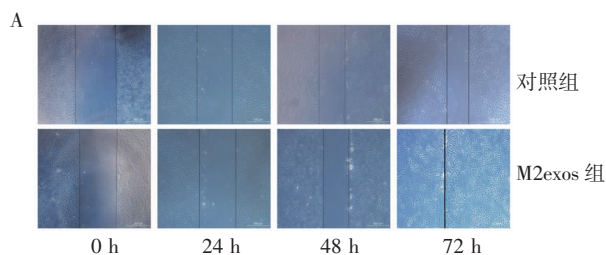


注:对照组:不作处理;M2exos 组:加入 500 $\mu\text{g/mL}$ 的 M2exos;

** $P<0.01$; *** $P<0.001$

图 4 M2exos 对 L929 真皮成纤维细胞增殖活性的影响

Fig 4 Effects of M2exos on the proliferation of L929 dermal fibroblasts



注:A:显微镜下观察两组细胞在划痕后 0、24、48、72 h 的划痕愈合情况;B:ImageJ 分析量化计算两组不同时间的平均愈合面积;对照组:不作处理;M2exos 组:加入 500 $\mu\text{g/mL}$ 的 M2exos; * $P<0.05$; **** $P<0.0001$

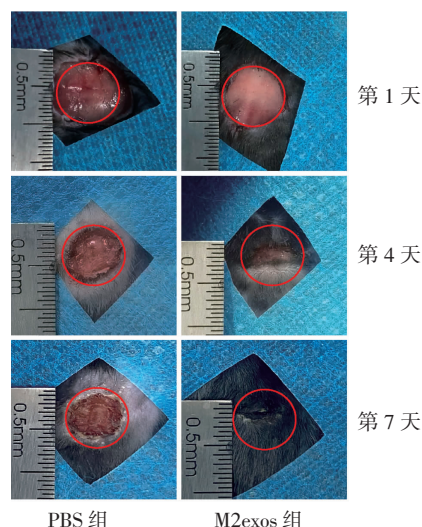
图 5 M2exos 对 L929 真皮成纤维细胞迁移能力的影响

Fig 5 Effects of M2exos on the migration of L929 dermal fibroblasts

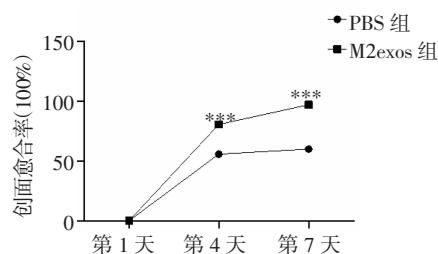
2.5 皮肤创面外观观察及 HE 染色结果 如图 6 所示,与 PBS 组相比,在第 4、7 天时 M2exos 组创面处无红肿、渗出,面积明显缩小(均 $P<0.0001$)。HE

染色结果可见,PBS 组创面皮下可见大量炎症细胞浸润,新生血管较少,而 M2exos 组没有炎症细胞浸润,并且新生血管较多。

A



B



注:A:两组小鼠创面愈合大体观;B:两组小鼠创面愈合率比较;PBS 组:注射 200 μL PBS;M2exos 组:注射等体积的 M2exos(500 $\mu\text{g/mL}$); **** $P<0.0001$

图 6 第 1、4、7 天,PBS 组和 M2exos 组小鼠创面闭合情况

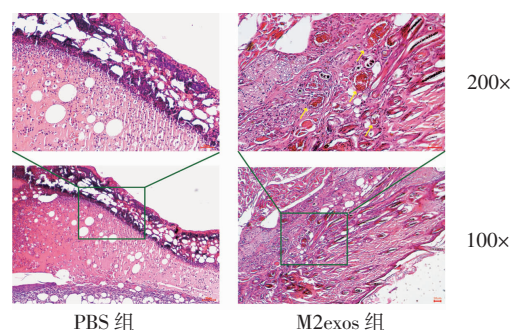
Fig 6 Wound closure of mice in PBS group and M2exos group on the 1st, 4th, 7th day

图 7 PBS 组和 M2exos 组在第 7 天时 HE 染色的比较结果

Fig 7 Comparison of HE staining between PBS group and M2exos group on the 7th day

3 讨论

皮肤创面的愈合是一个精确复杂的过程,涉及多种细胞的参与,其中巨噬细胞具有调节炎症、促进增殖及血管生成等作用^[15]。研究报道,巨噬细胞来源的外泌体可抑制促炎酶和细胞因子的产生,发挥抗炎作用,进而促进糖尿病伤口愈合^[16]。本研究提取并鉴定了 M2exos,通过体内外实验验证其对成纤维细

胞增殖和迁移的作用及对皮肤创面愈合的影响。

根据激活状态的不同,巨噬细胞可分为两种类型:经典激活或M1型巨噬细胞,交替激活或M2型巨噬细胞。在创面愈合早期,巨噬细胞通过清理创面碎片、病原体、凋亡细胞等发挥促炎作用,表现为M1型。在修复期,巨噬细胞以M2型为主,通过调节成纤维细胞、内皮细胞等的增殖、迁移,促进创面的愈合^[17]。M2型巨噬细胞可根据跨膜糖蛋白、酶、激素、细胞因子等M2标志物来鉴定,其中Arginase-1是常用的M2标志物^[18]。本研究利用IL-4极化RAW264.7细胞得到M2型巨噬细胞,Western印迹和qRT-PCR结果表明其高表达Arginase-1。又利用透射电镜、纳米粒径示踪分析和Western印迹证明了M2exos的存在。

细胞的黏附、迁移和增殖是影响创面愈合速度的关键因素,成纤维细胞可产生新的细胞外基质、胶原沉积,是创面收缩愈合的关键^[19-20]。研究表明,脂肪干细胞来源的外泌体通过促进成纤维细胞的增殖、迁移来促进小鼠皮肤创面的愈合^[21]。Li等^[16]发现M2exos促进大鼠糖尿病模型内皮细胞的增殖和迁移,改善糖尿病创面的血管化和再上皮化。因此,本研究通过CCK-8和细胞划痕实验观察到M2exos可以促进成纤维细胞的增殖、迁移及创面愈合,但具体机制不明。先前有研究报道,M2exos在皮肤创伤愈合中是通过将M1型巨噬细胞重编程为M2型巨噬细胞来发挥作用的,CCL22、CCL24和MFG-E8可能是参与M2exos引导细胞重编程的关键分子^[22]。与以往研究一致的是,本研究也证明了M2exos的创面愈合作用,但未涉及重编程以及具体机制尚未探究。为了进一步验证M2exos在体内对创面愈合的作用,笔者通过对皮肤创面外观观察,发现与PBS组相比,M2exos组创面明显缩小,创面无红肿、渗出液,能显著促进创面的愈合。HE染色结果可见,M2exos能明显减少炎症细胞浸润和增加毛细血管新生,促进小鼠创面的闭合。

综上所述,M2exos可以促进成纤维细胞增殖和迁移,通过直接在小鼠皮肤创面周围注射M2exos对创面愈合有显著的促进作用,然而,M2exos对成纤维细胞作用的具体靶点及作用机制尚不知,有待进一步探究。

参考文献:

- [1] WANG P H, HUANG B S, HORNG H C, et al. Wound healing [J]. J Chin Med Assoc, 2018, 81(2): 94-101.
- [2] HAN G, CEILLEY R. Chronic wound healing: a review of current management and treatments[J]. Adv Ther, 2017, 34(3): 599-610.
- [3] NOSRATI H, ARAMIDEH KHOUY R, NOSRATI A, et al. Nanocomposite scaffolds for accelerating chronic wound healing by enhancing angiogenesis[J]. J Nanobiotechnology, 2021, 19(1): 1.
- [4] HUANG Y Z, GOU M, DA L C, et al. Mesenchymal stem cells for chronic wound healing: current status of preclinical and clinical studies [J]. Tissue Eng Part B Rev, 2020, 26(6): 555-570.
- [5] NOURIAN DEHKORDI A, MIRAHMADI BABAHEYDARI F, CHEHELGERDI M, et al. Skin tissue engineering: wound healing based on stem-cell-based therapeutic strategies[J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 111.
- [6] WYNN T A, VANNELLA K M. Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis[J]. Immunity, 2016, 44(3): 450-462.
- [7] MAHDAVIAN DELAVARY B, VAN DER VEER W M, VAN EGMOND M, et al. Macrophages in skin injury and repair[J]. Immunobiology, 2011, 216(7): 753-762.
- [8] SNYDER R J, LANTIS J, KIRSNER R S, et al. Macrophages: a review of their role in wound healing and their therapeutic use [J]. Wound Repair Regen, 2016, 24(4): 613-629.
- [9] YUNNA C, MENGROU H, LEI W, et al. Macrophage M1/M2 polarization[J]. Eur J Pharmacol, 2020, 877: 173090.
- [10] LUDWIG N, WHITESIDE T L, REICHERT T E. Challenges in exosome isolation and analysis in health and disease[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(19): 4684.
- [11] TKACH M, THERY C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go[J]. Cell, 2016, 164(6): 1226-1232.
- [12] HE C, ZHENG S, LUO Y, et al. Exosome theranostics: biology and translational medicine[J]. Theranostics, 2018, 8(1): 237-255.
- [13] YAN W, LI T, YIN T, et al. M2 macrophage-derived exosomes promote the c-KIT phenotype of vascular smooth muscle cells during vascular tissue repair after intravascular stent implantation[J]. Theranostics, 2020, 10(23): 10712-10728.
- [14] DUNN L, PROSSER H C, TAN J T, et al. Murine model of wound healing [J]. J Vis Exp, 2013, (75): e50265.
- [15] WILKINSON H N, HARDMAN M J. Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes[J]. Open Biol, 2020, 10(9): 200223.
- [16] LI M, WANG T, TIAN H, et al. Macrophage-derived exosomes accelerate wound healing through their anti-inflammation effects in a diabetic rat model[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2019, 47(1): 3793-3803.
- [17] LIMA T P L, PASSOS M F. Skin wounds, the healing process, and hydrogel-based wound dressings: a short review[J]. J Biomater Sci Polym Ed, 2021, 32(14): 1910-1925.
- [18] ROSZER T. Understanding the mysterious M2 macrophage through activation markers and effector mechanisms[J]. Mediators Inflamm, 2015, 2015: 816460.
- [19] VIRADOR G M, DE MARCOS L, VIRADOR V M. Skin wound healing: refractory wounds and novel solutions[J]. Methods Mol Biol, 2019, 1879: 221-241.
- [20] CHOUHAN D, MANDAL B B. Silk biomaterials in wound healing and skin regeneration therapeutics: from bench to bedside[J]. Acta Biomater, 2020, 103: 24-51.
- [21] HE L, ZHU C, JIA J, et al. ADSC-Exos containing MALAT1 promotes wound healing by targeting miR-124 through activating Wnt/beta-catenin pathway[J]. Biosci Rep, 2020, 40(5): BSR20192549.
- [22] KIM H, WANG S Y, KWAK G, et al. Exosome-guided phenotypic switch of M1 to M2 macrophages for cutaneous wound healing[J]. Adv Sci (Weinh), 2019, 6(20): 1900513.

(2021-11-22 收稿)