

# 进一步拓宽创伤修复与组织再生的研究思路

付小兵 程颢



近年来创伤修复与组织再生研究已取得了长足的进展,但总的来讲,其研究范围仍然局限在烧(创)伤医学本身。由于创伤修复与组织再生是一个涉及发育、遗传、细胞生物学、分子生物学、生物材料学和临床医学等多学科的综合课题,因此必须重视各学科的综合及交叉,以进一步开阔视野,拓宽研究思路与范围,这样整个学科才有可能获得进一步的发展。

## 一、重视从边缘与相关学科寻找研究思路

1. 遗传学与发育学是创伤修复与组织再生研究的基础。创伤修复与组织再生实质上是一个受创组织或器官的再发育过程。创伤修复与遗传有关的观点已为人们所接受。低等动物受损的组织可以完全再生,而人类则缺乏这种能力;动物损伤后一般无瘢痕愈合,而人类主要为瘢痕愈合。即使人类自身,不同种族之间发生瘢痕疙瘩的概率差别也很大,而胚胎期无瘢痕愈合的现象更提示遗传因素在修复结局中起重要作用<sup>[1]</sup>。“修复基因”的研究已呈现出良好开端,目前正在通过基因芯片技术研究皮肤损伤与修复前后基因表达的差异。可以肯定,决定修复结局的“修复基因”并非单一基因,可能是在内外环境作用下多基因共同参与的结果。充分利用人类基因组学的研究成果和基因技术,比较不同修复结局动物之间的差异基因,有可能为我们设想中的“修复基因”找到根据。

为什么胚胎发育的不同阶段以及一些重要器官组织修复与再生时,原癌基因或其蛋白呈现高表达却并不形成肿瘤,甚至这种高速增殖期的细胞能完成无瘢痕愈合?胚胎发育与出生后的组织修复既有相似的调控机制,又有明显的差别。同样,细胞衰老相关基因的分子控制不仅对延缓衰老、延长人类寿命具有重要意义,而且与组织修复和再生过程也密切相关<sup>[2,3]</sup>。因此,把发育、生长、修复以及衰老这些基本的生物学过程联系起来加以比较与分析,可

能人们的创伤修复与组织再生研究提供新思路<sup>[4]</sup>。

2. 肿瘤相关研究对组织修复与再生具有启迪作用。早在 1986 年有学者进行创面愈合与癌症的图像分析后认为,肿瘤就是不愈合的创面(tumours are wound that do not heal)<sup>[5]</sup>。肿瘤发生与创面愈合之间有密切的关系。2004 年 Kurtz 等<sup>[6]</sup>进行免疫缺陷鼠异体移植与成年人皮肤化学致癌和创面愈合之间的比较研究,观察到成纤维细胞生长因子分泌型结合型蛋白(FGF-BP)在人皮肤癌中表达水平很高。人皮肤中 p53 阳性的角质形成细胞在血管形成时明显增加,同时 FGF-BP 在蛋白、mRNA 的表达上也增加,且人皮肤创面愈合早期 FGF-BP 表达上调。于是推论 FGF-BP 在创面愈合与恶性转化过程中扮演重要角色。另一报道显示,乳腺癌中结缔组织的间质细胞(又称癌相关成纤维细胞,CAFs),可分泌间质细胞来源的生长因子(SDF)1,此蛋白募集新血管形成的内皮细胞,参与创面愈合的血管形成,同时也刺激肿瘤的生长<sup>[7]</sup>。这一结论说明间质细胞在肿瘤的生长及组织修复与再生中有重要作用,甚至认为这一发现具有划时代意义。从生物学过程来讲,创伤修复与肿瘤形成均是细胞增殖与分化以及血管生成的结果,只不过前者是可控的,后者是失控的。

肿瘤形成是由于一些基因发生了突变。但 Soto 等<sup>[8]</sup>提出了癌症发生的“组织结构场理论”,提示组织微结构的异常和(或)致癌物的存在干扰组织内细胞与其微环境的正常交流,是肿瘤产生的前提之一。它不同于以往的体细胞突变理论,使肿瘤形成过程与组织再生更相关。该理论强调组织微结构和细胞微环境的改变,细胞外间质成分和各种致癌因素首先作用的靶点,这一变化引发细胞与细胞、细胞与间质信号异常交流,为细胞失控性增殖的原因。尤其是“启动基因”控制发育的程序决定其正常或异常。而创伤修复与组织再生过程中的“壁龛”对干细胞的影响,也表明组织微结构和细胞微环境在启动与完成修复过程中具有重要性。

## 3. 皮肤药理学对创伤修复与组织再生的基础研

究和临床应用具有推动作用。伴随皮肤药理学的出现,传统的皮肤治疗观念已发生改变。如具有抗炎作用的肾上腺皮质激素类、秋水仙碱类、氨基磺、抗疟疾药均通过抑制炎症因子、减少细胞因子的刺激和释放、减少蛋白的合成、抑制伤口的收缩等途径影响创面愈合。视黄醇类通过上皮化和血管形成影响创面愈合。局部使用维甲酸可促进新血管的形成,刺激新胶原的合成,抑制基质金属蛋白酶的活性。口服维生素 A 能增加肉芽组织的形成,维持表皮功能。抗微生物药物,如抗菌剂和抗生素对感染的控制作用,可加快愈合过程。扩血管类药物,如抗凝剂、香豆素和肝素可避免静脉溃疡的产生。抗血小板药物,如阿司匹林、非类固醇性抗炎药能防止血小板栓塞的形成。血管扩张剂(己酮可可碱)能增加组织灌注,而血管收缩剂则影响创面的微循环。青霉胺可抑制赖氨酸氧化酶的活性,降低胶原的交联及沉积。苯妥英钠会降低胶原的产生而抑制伤口收缩<sup>[9]</sup>。总之,皮肤药理学的出现既在一定程度上改变了人们对创伤修复的认识,同时为创伤修复与组织再生的治疗也带来一定影响。

二、激素、神经-免疫调节对修复细胞与微环境的影响不可忽视

1. 激素与创面愈合。目前对老年患者皮肤愈合障碍的分子与细胞机制了解较少,其中对性激素所发挥的作用认识更少。性激素在维持性器官发育和再生、骨和脂质代谢方面发挥重要作用。雌激素受体(ER)利用表皮生长因子受体(EGFR)将信号迅速传递至各种激酶,影响细胞中雌激素的转录与非转录活性。EGFR 和 ER 这种双向调节作用有助于组织再生的生理和病理变化<sup>[10]</sup>。皮肤对雄激素同样敏感,雄激素受体(AR)不仅在正常皮肤中表达,而且在急性创面中表达,包括内皮细胞、毛囊、成纤维细胞、巨噬细胞等,可通过对炎症反应的影响来影响创面愈合。在培养的角质形成细胞中加入甲状腺激素(TH)后,角蛋白 6a(K6a)、角蛋白 16 基因的表达水平分别是对照组的 3.8、1.9 倍。因此,TH 有助于创面愈合。总之,雄激素、雌激素、盐皮质激素和糖皮质激素以及它们的信号转导在创面愈合中起着重要作用,有可能据此建立一些新的治疗举措<sup>[10,11]</sup>。

2. 神经-内分泌、应激与创面愈合。皮肤是人体最大同时又是极敏感的神经依赖性器官,在创伤修复过程中神经因素占有重要地位。特别是与内分泌、免疫相结合产生的神经-免疫、神经-内分泌调

节,在创面愈合中起着重要作用<sup>[12,13]</sup>。应激对免疫系统的影响已有定论。在创面愈合的炎症期,淋巴细胞与巨噬细胞的浸润以及促炎因子的释放均与应激有关,其引起的愈合障碍与细菌感染增加有关。研究显示,应激对神经-免疫系统的影响是通过下丘脑-垂体-肾上腺轴来完成<sup>[14]</sup>。另外,交感神经-肾上腺轴与细胞外基质金属蛋白酶的表达相关<sup>[15]</sup>。相对于应激对免疫系统的作用而言,社会环境因素的作用是多方面的。负面的社会因素抑制免疫功能,而有益的社会因素可促进免疫功能。因此,在研究体液因素(包括生长因子/细胞因子、激素等)对创面愈合影响的同时,注重神经、内分泌与免疫系统在整个信号网络中的调控作用十分重要。

三、重视利用各种新技术成果解决临床治疗的技术难题

1. 干细胞与组织修复和再生。研究成体干细胞产生皮肤更新的分子机制,包括信号通路、各种不同的分化形式以及细胞分化的环境(干细胞与“壁龛”之间的作用)等十分重要<sup>[16-18]</sup>。虽然干细胞研究取得了一些成绩,但目前仍处于初级阶段,不能盲目乐观。在干细胞应用于临床之前,有大量问题尚需解决,如寻找特异性标志;明确向特定组织分化的条件和机制;转分化的进一步确证;干细胞大循环的调控机制等等<sup>[19,20]</sup>。

2. 新的生长因子或生长因子新功能的发现。除对一些已知生长因子的功能继续深入研究外,发现一些新的生长因子或因子的新功能十分重要。例如,组织因子(TF)既可诱导形成纤维蛋白基质,也可促进新血管形成、增加血流量<sup>[21]</sup>。多功能的细胞因子 p43 作用于内皮细胞和免疫细胞,调控着血管形成和炎症反应,同样也促进成纤维细胞的增殖<sup>[22]</sup>。p53 蛋白家族中的成员 p63 在增殖的表皮中表达<sup>[23]</sup>。因子 XIII 是一种凝血酶激活的转谷氨酰胺酶原,它有助于纤维蛋白凝血块的稳定。目前重组人因子 XIII A(2)二聚体(rhFXIII)的安全性与药代动力学尚在研究中<sup>[24]</sup>。内脏损伤的主动修复同样受外源生长因子的影响,有几种自分泌型或旁分泌型生长因子能刺激受损胃、肠道、肝以及肾等组织的修复与再生,但其深入的机制还需要进一步研究<sup>[25-27]</sup>。

3. 转基因技术。皮肤是进行基因治疗良好的靶器官。目前该领域研究的焦点是构建理想的转移基因载体系统,完善治疗基因的导向性和在体内的表达调控;建立完善的缓释系统,使生长因子更有效地

作用于靶细胞;研究生长因子的特殊启动子和转录因子水平上的基因调节,通过对细胞特定分子序列的认识来设计靶基因。基因药物的传递系统要求能从生物材料和组织工程支架中传递信号到细胞内。很多新的药物传递系统是可逆的,无直接毒性。这种能改变自身结构和功能特点的材料被称为“智能(smart)”载体,它的开发将有助于创伤修复与组织再生<sup>[28,29]</sup>。

4. 生物材料。随着细胞生物学、基因工程学等学科的发展,对生物医用材料提出了更高、更新的要求。如虽然仍以诊断与治疗为目的,但是已从由生物材料制成的植入物,发展成活细胞与生物材料的复合物,用以替代、修复人体内组织或器官的缺损或坏死。对生物材料的要求不仅仅局限于无毒、安全、生物与血液相容性好,而且要求生物材料具有细胞外基质的作用,即生物材料在生理环境中应能与活体细胞产生相互作用,有特殊的细胞响应,从而诱导发展成为有生命力的新生组织或器官。21 世纪生物材料的研究,应从材料与细胞的相互作用入手,了解细胞与材料之间、细胞之间的信息传递,通过分子设计和结构模拟,合成和制备出有活性的生物医用材料。该材料的生物活性应该能满足细胞在化学和力学性质上的要求,以及组织的生理要求<sup>[30]</sup>。

5. 纳米技术。近年来,人们尝试应用仿生学原理和纳米自组装技术制备有(无)机纳米复合材料,并将多肽、生长因子和基因等特定分子识别信号固定在材料表面,对其进行分子设计和生物化处理,研制成新一代有特定结构和功能的仿生“智能”基质材料。这是当今组织工程和生物材料学研究领域的前沿课题。用纳米技术研制的纳米载药系统及非病毒基因转染载体在生长因子、免疫抑制剂等靶向性控制释放中具有重要作用。目前,已在临床应用的有免疫纳米粒、磁性纳米粒、磷脂纳米粒及光敏纳米粒等<sup>[31]</sup>。

#### 四、结语

创伤修复与组织再生内涵的扩大是其自身发展与多学科交叉融合的结果,是该学科创新和可持续发展的一个重要特征。它应将传统医学与现代医学有机结合,将深入的理论探讨与实际的临床应用结合,注重局部与全身、宏观与微观、主动与被动、过度与不足、新理念与旧观念之间的关系,以期从中找出新的研究点和攻关点。

#### 参 考 文 献

- 与展望. 中华创伤杂志, 2005, 21: 40 - 44.
- Boukamp P. Skin aging: a role for telomerase and telomere dynamics? *Curr Mol Med*, 2005, 5: 171 - 177.
- Flores I, Cayuela ML, Blasco MA. Effects of telomerase and telomere length on epidermal stem cell behavior. *Science*, 2005, 309: 1253 - 1256.
- Crooks A. How does ageing affect the wound healing process? *J Wound Care*, 2005, 14: 222 - 223.
- Martina H. Wound-healing genes promote cancer progression. *Lancet Oncol*, 2005, 5: 138.
- Kurtz A, Aigner A, Cabal-Manzano RH, et al. Differential regulation of a fibroblast growth factor-binding protein during skin carcinogenesis and wound healing. *Neoplasia*, 2004, 6: 595 - 602.
- Bryant F. Wound healing processes and tumour growth. *Lancet Oncol*, 2005, 6: 363.
- Soto AM, Sonnenschein C. Emergentism as a default: cancer as a problem of tissue organization. *J Biosci*, 2005, 30: 103 - 118.
- Karukonda SRK, Flynn TC, Boh EE, et al. The effects of drugs on wound healing-part II specific classes of drugs and their effect on healing wounds. *Int J Dermatol*, 2000, 39: 321 - 333.
- Kanda N, Watanabe S. Regulatory roles of sex hormones in cutaneous biology and immunology. *J Dermatol Sci*, 2005, 38: 1 - 7.
- Krzysiek-Maczka G. Skin cells as steroid target, the steroid action in some skin diseases and wound healing. *Przegl Lek*, 2005, 62: 181 - 187.
- Slominski A. Neuroendocrine system of the skin. *Dermatology*, 2005, 211: 199 - 208.
- 付小兵. 软组织创伤修复与再生研究的发展方向. 创伤外科杂志, 2004, 6: 237 - 239.
- Avitsur R, Stark JL, Dhabhar FS, et al. Social stress alters splenocyte phenotype and function. *J Neuroimmunol*, 2002, 132: 66 - 71.
- Yang EV, Bane CM, MacCallum RC, et al. Stress-related modulation of matrix metalloproteinase expression. *J Neuroimmunol*, 2002, 133: 144 - 150.
- Morasso MI, Tomic-Canic M. Epidermal stem cells: the cradle of epidermal determination, differentiation and wound healing. *Biol Cell*, 2005, 97: 173 - 183.
- Anolphe C, Wainwright B. Pathways to improving skin regeneration. *Expert Rev Mol Med*, 2005, 7: 1 - 14.
- 付小兵, 程颢. 成体干细胞研究及其可能的临床应用. 中华医学杂志, 2005, 85: 1878 - 1880.
- 付小兵. 自体干细胞移植在烧创伤研究领域的应用. 中华医学杂志, 2004, 84: 1332.
- 方利君, 付小兵, 孙同柱, 等. 骨髓间充质干细胞分化为血管内皮细胞的实验研究. 中华烧伤杂志, 2003, 19: 22 - 24.
- Chen J, Kasper M, Heck T, et al. Tissue factor as a link between wounding and tissue repair. *Diabetes*, 2005, 54: 2143 - 2154.
- Park SG, Shin H, Shin YK, et al. The novel cytokine p43 stimulates dermal fibroblast proliferation and wound repair. *Am J Pathol*, 2005, 166: 387 - 398.
- Bamberger C, Hafner A, Schmale H, et al. Expression of different p63 variants in healing skin wounds suggests a role of p63 in reepithelialization and muscle repair. *Wound Repair Regen*, 2005, 13: 41 - 50.
- Ponce RA, Visich JE, Heffernan JK, et al. Preclinical safety and pharmacokinetics of recombinant human factor XIII. *Toxicol Pathol*, 2005, 33: 495 - 506.
- Tetreault MP, Chailier P, Rivard N, et al. Differential growth factor induction and modulation of human gastric epithelial regeneration. *Exp Cell Res*, 2005, 306: 285 - 297.

- 26 Fu XB, Li XK, Wang T, et al. Enhanced anti-apoptosis and gut epithelium protection function of acidic fibroblast growth factor after cancelling of its mitogenic activity. *World J Gastroenterol*, 2004, 10:3590 - 3596.
- 27 Fu XB, Yang YH, Sun TZ, et al. Rapid mitogen-activated protein kinase by basic fibroblast growth factor in rat intestine after ischemia/reperfusion injury. *World J Gastroenterol*, 2003, 9:1312 - 1317.
- 28 Stayton PS, El-Sayed ME, Murthy N, et al. Smart delivery systems for biomolecular therapeutics. *Orthod Craniofac Res*, 2005, 8: 219 - 225.
- 29 Baum CL, Arpey CJ. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatol Surg*, 2005, 31: 674 - 686.
- 30 Tabata Y. Tissue regeneration based on tissue engineering technology. *Congenit Anom*, 2004, 44:111 - 124.
- 31 张阳德. 纳米技术与外科. *中华实验外科杂志*, 2004, 21:1159 - 1160.

(收稿日期:2005-12-31)

(本文编辑:莫愚)

## · 病例报告 ·

## 大面积烧伤治愈后期诱发急性肾功能衰竭一例

朱水法 王月玲 洪伟华

患者男, 35 岁。不慎被火焰烧伤全身, 伤后 5 h 收入笔者单位。入院前在当地医院输液 3 000 ml, 其中低分子右旋糖酐 1 000 ml。查体: 体温 36.5 °C, 脉搏 98 次/min, 呼吸 20 次/min, 血压 100/70 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa)。患者意识清楚、鼻毛烧焦、四肢冰冷。双肺呼吸音粗糙, 未闻及干湿性啰音。头颈部、躯干及四肢烧伤, 总面积 85% TBSA, 四肢、前躯创面苍白, 面积 45% TBSA。血常规、尿常规、肝功能及血生化检查结果: 白细胞  $10.38 \times 10^9/L$ 、中性粒细胞 0.92、红细胞  $3.39 \times 10^{12}/L$ 、血红蛋白 96 g/L。尿常规结果: 红细胞 (+ + +)、白细胞 (+ +)、蛋白 (+ +)。丙氨酸转氨酶 33 mmol/L、天冬氨酸转氨酶 37 mmol/L、总蛋白 47.9 g/L、白蛋白 29.1 g/L、血糖 6.10 mmol/L、血清尿素氮 6.45 mmol/L、血清肌酐 86 mmol/L、血清尿素氮: 血清肌酐 0.08、血钾 4.8 mmol/L、血钠 136 mmol/L、血氯 102 mmol/L、二氧化碳结合力 20.3 mmol/L。血气分析: pH 为 7.38、二氧化碳分压 37.7 mm Hg、氧分压 206.1 mm Hg、血氧饱和度 0.97、剩余碱 - 3 mmol/L。胃黏膜 pH 为 7.30。胸部 X 线片示心肺正常。诊断: (1) 火焰烧伤头颈部、躯干及四肢, 总面积 85%、Ⅲ度 45% TBSA。(2) 吸入性损伤。

患者入院后给予液体复苏, 胶体和电解质比例为 1:1, 尿量 50 ~ 80 ml/h。增大碳酸氢钠补充量。同时进行气管切开术、导尿术并予以吸氧。伤后第 5、9、15 天在全身麻醉下行切痂后微粒皮移植异体皮覆盖术及自体皮移植术。术后自体微粒皮及皮片生长良好, 每日鼻饲肠道营养制剂 (能全力, 荷兰纽迪希亚制药公司) 1 500 ~ 2 000 ml, 并配合肠外营养代谢支持疗法。合理使用有效抗生素磺苄西林、头孢孟多脂钠等治疗。伤后第 28 天患者出现少尿、嗜睡、乏力、呕吐等症状, 尿量为 550 ml/d、血清尿素氮 21.39 mmol/L、血清肌酐 431 mmol/L、血清尿素氮: 血清肌酐 0.05、血钠 150 mmol/L、血钾 6.1 mmol/L、二氧化碳结合力 17.0 mmol/L。诊断: 急性肾功能衰竭伴高钠、钾血症。此时得知患者因其他原因刻意隐瞒了慢性肾病史。给予呋塞米 200 mg、多巴胺 20 mg、100 g/L 葡萄糖酸钙 10 ~ 20 ml/d。次日进行血液透析, 1 次/3 d。伤后第 33 天, 尿量为 950 ml/d、血清尿素氮 20.80 mmol/L、血清肌酐 410 mmol/L、血钠 143 mmol/L、血钾 5.1 mmol/L、

二氧化碳结合力 18.2 mmol/L。伤后 35 d 患者创面基本愈合。伤后第 38 天, 患者尿量为 1 400 ml/d、血清尿素氮 19.86 mmol/L、血清肌酐 212 mmol/L, 血钠、钾离子浓度均正常, 二氧化碳结合力为 20.2 mmol/L。伤后第 40 天, 尿量为 1 550 ml/d、血清尿素氮 19.76 mmol/L、血清肌酐 162 mmol/L、二氧化碳结合力为 21.2 mmol/L。血液透析 6 次后, 尿量增至 2 000 ml/d 以上, 血清尿素氮 9.61 mmol/L, 血清肌酐、血钠、血钾、二氧化碳结合力均在正常范围内。伤后第 50 天, 生化检查及电解质报告结果显示患者肝、肾功能均恢复正常。

讨论 本病例入院后给予液体复苏, 根据患者个体化的终极目标随时调整给药方案<sup>[1]</sup>, 早期加强了对脏器的保护。伤后 28 d 患者出现急性肾功能衰竭伴高钠、钾血症, 可能有以下 2 点原因: (1) 隐瞒伤前肾病史。医师对患者是否有原发病史应给予高度重视。对入院患者的健康情况、家庭情况、个人嗜好、生活习惯、工作性质、经济状况及社会关系等进行综合分析, 结合病情, 作出判断及诊断。同时, 要将原发病与烧伤并发症相区别, 防止概念上的混淆, 警惕发生其他并发症。(2) 机体被烧伤加上液体再灌注损伤, 以及毒素吸收、手术打击及头孢类药物等因素的影响, 均加重了内脏损害, 导致患者发生肾功能衰竭。头孢孟多脂钠属于第二代头孢类抗生素, 在肾功能中重度减退患者血液中的消除半衰期分别延长至 3 h 和 10 h 以上, 使用时应减少其剂量。本例患者伤后第 20 天已停止使用该药, 但不能排除前期药物蓄积对肾脏的损害可能导致急性肾功能衰竭。及时、有效的血液透析对控制高钠、钾血症及氮质血症有明显效果, 能有效清除毒素、控制感染、促进创面愈合。

因此笔者认为, 重视原发病史、注重休克复苏与创面早期处理<sup>[2]</sup>、早期加强对脏器功能的扶持, 从整体、脏器、细胞、细胞器及信号转导等多层面进行综合治疗, 可明显提高治愈率。

## 参 考 文 献

- 1 杨宗城. 改善早期补液方式减轻烧伤后早期内脏损害. *中华烧伤杂志*, 2005, 21: 162 - 164.
- 2 葛绳德. 烧伤休克与早期处理. *中华烧伤杂志*, 2001, 17: 261 - 262.

(收稿日期:2005-09-26)

(本文编辑:赵敏)