

胸腺素 $\beta 4$ 促进创面愈合的研究进展

高仪轩¹ 王凌峰¹ 巴特¹ 曹胜军¹ 李俊亮² 李芳² 周彪¹

¹内蒙古医科大学第三附属医院烧伤科, 包头 014010; ²内蒙古自治区烧伤医学研究所, 包头 014010

通信作者: 王凌峰, Email: wlf7413@vip.sina.com

【摘要】 随着人口老龄化和社会经济的发展, 慢性创面发病率日益增高, 同时烧创伤发病率仍处于较高水平, 使得创面修复成为临床日益关注的领域。胸腺素 $\beta 4$ 是一种体内天然存在的小分子蛋白, 其广泛分布于多种体液和细胞内, 尤其是血小板中。胸腺素 $\beta 4$ 具有促进血管生成、抗炎、抗凋亡及抗纤维化的生物活性, 在创面修复方面有许多重要的功能。目前已经在烧伤、糖尿病溃疡、压疮等多种创面中观察到胸腺素 $\beta 4$ 具有促进愈合的作用。该文将从胸腺素 $\beta 4$ 的分子结构、促创面愈合作用机制、药代动力学及临床应用方面进行综述, 旨在介绍该因子在创面治疗中的潜力和当前研究的不足之处。

【关键词】 伤口愈合; 胸腺素; 作用机制; 临床应用

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目 (81660318); 包头市科技计划 (2019P3038)

Research advances on thymosin $\beta 4$ in promoting wound healing

Gao Yixuan¹, Wang Lingfeng¹, Ba Te¹, Cao Shengjun¹, Li Junliang², Li Fang², Zhou Biao¹

¹Department of Burns, the Third Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Baotou 014010, China; ²Burn Medical Institute of Inner Mongolia Autonomous Region, Baotou 014010, China

Corresponding author: Wang Lingfeng, Email: wlf7413@vip.sina.com

【Abstract】 With the aging of population and the development of social economy, the incidence of chronic wounds is increasing day by day, while the incidence of burns and trauma remains at a high level, making wound repair an increasingly concerned area in clinical practice. Thymosin $\beta 4$ is a naturally occurring small molecule protein in vivo, which is widely distributed in a variety of body fluids and cells, especially in platelets. Thymosin $\beta 4$ has biological activities of promoting angiogenesis, anti-inflammation, anti-apoptosis, and

anti-fibrosis, and has many important functions in wound repair. Thymosin $\beta 4$ has been observed to promote the healing of various wounds, such as burns, diabetic ulcers, pressure ulcers. This paper will review the molecular structure, mechanism of wound healing promotion, pharmacokinetics, and clinical application of thymosin $\beta 4$, aiming to introduce its potential in wound treatment and the shortcomings of current researches.

【Key words】 Wound healing; Thymosin; Mechanism of action; Clinical application

Fund program: Regional Science Foundation Project of National Natural Science Foundation of China (81660318); Science and Technology Plan of Baotou City (2019P3038)

我国分别在 1998、2008 和 2018 年针对住院患者慢性创面展开大规模流行病学调查, 结果显示, 我国 20 年间创面治疗水平显著提高, 住院患者慢性创面发病率已由 1998 年的 1.5%~3.0% 下降至 2008 年的 1.7% 和 2018 年的 2.1%; 然而随着人口老龄化和慢性疾病发病率的升高, 慢性创面的主要发病因素已由创伤转变为糖尿病、感染和压疮^[1-3]。慢性创面不但严重影响患者的身心健康, 还给学生家庭和社会造成沉重的经济负担。2018 年的全国流行病学调查显示, 我国慢性创面患者单次住院的平均治疗费用高达 55 270.25 元^[3]。与此同时, 烧创伤的发病率仍处于较高水平。Haagsma 等^[4]估计, 2013 年全球约有 9.73 亿人因烧创伤就医, 约 480 万人因此而死亡, 烧创伤造成的疾病负担约占全部疾病的 10.1%。因此, 如何安全、有效、经济地促进创面愈合, 已经成为全球医药卫生领域从业人员共同关注的内容。胸腺素 $\beta 4$ 是一种体内广泛存在的再生活性因子, 近来已被证实创面愈合、毛囊再生、心肌损伤修复、神经发育等方面具有促进作用。本文将从胸腺素 $\beta 4$ 的分子结构及活性位点、促创面愈合作用机制、药代动力学及该因子在创面治疗中的临床应用方面进行综述, 旨在介绍胸腺素 $\beta 4$ 在创面愈合领域的研究进展和当前研究的不足。

DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20210221-00059

本文引用格式: 高仪轩, 王凌峰, 巴特, 等. 胸腺素 $\beta 4$ 促进创面愈合的研究进展[J]. 中华烧伤与创面修复杂志, 2022, 38(4): 378-384. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20210221-00059.

Gao YX, Wang LF, Ba T, et al. Research advances on thymosin $\beta 4$ in promoting wound healing[J]. Chin J Burns Wounds, 2022, 38(4): 378-384. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20210221-00059.

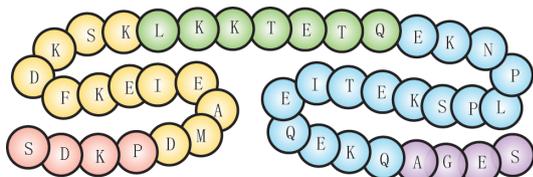


1 胸腺素 $\beta 4$ 概述

胸腺素是一类具有激素样作用的水溶性生物活性分子,在 1966 年首次被国外学者于小牛胸腺提取物中发现。胸腺素包括一系列氨基酸排序和功能上不同的多肽,根据等电点不同被分为 α 、 β 、 γ 3 个超家族。其中等电点 <5 者被称为 α 族胸腺素,等电点位于 $5\sim 7$ 之间者被称为 β 族胸腺素,等电点 >7 者被称为 γ 族胸腺素^[5]。 β 族胸腺素由 40~44 个氨基酸残基构成,能与 G 肌动蛋白特异性结合从而促进细胞迁移,因此备受研究者关注。目前,人体内发现的 β 族胸腺素共有 3 种,即胸腺素 $\beta 4$ 、胸腺素 $\beta 10$ 和胸腺素 $\beta 15$,三者具有显著的氨基酸序列同源性。其中胸腺素 $\beta 4$ 是在 1981 年经联合柱色谱法和凝胶过滤法从牛胸腺提取物中分离出来的短肽,仅由 44 个氨基酸构成,是 β 族胸腺素中数量最多的成员,占 β 族胸腺素总量的 70%~80%。胸腺素 $\beta 4$ 分子结构高度保守,由 X 染色体上的 *TMSB4X* 基因编码,该分子普遍存在于除成熟红细胞外的各种细胞中,在血小板、淋巴细胞、中性粒细胞、巨噬细胞中高表达,在眼泪、唾液、创面渗液等多种体液及渗出液中也有分布,具有多种生物学功能^[6]。

1.1 胸腺素 $\beta 4$ 的生物活性位点及其功能

胸腺素 $\beta 4$ 是一种多功能蛋白,至少存在 4 个生物活性位点(图 1),在损伤修复、抗纤维化及肿瘤转移中具有多种功能。



注:图中 S、D、K、P 等小球分别代表丝氨酸、天冬氨酸、赖氨酸、脯氨酸等氨基酸;从最左 S 开始,已知的胸腺素 $\beta 4$ 的 4 个生物活性位点位于第 1~4 位氨基酸、第 1~15 位氨基酸、第 17~23 位氨基酸、最末 4 位氨基酸

图 1 胸腺素 $\beta 4$ 的氨基酸序列示意图

1.1.1 第 1~4 位氨基酸 胸腺素 $\beta 4$ 的前 4 个氨基酸可以由脯氨酰寡肽酶或 N-天冬氨酰内肽酶降解为四肽 N-乙酰基-丝氨酸-天门冬氨酸-赖氨酸-脯氨酸(Ac-SDKP)。研究人员起初观察到 Ac-SDKP 可以促进 BALB/c 小鼠血管内皮细胞增殖,随后在注射 Ac-SDKP 的大鼠肿瘤球模型、大鼠角膜和心肌中均观察到血管密度增加,证实 Ac-SDKP 可促进血管新生^[7]。Ac-SDKP 还具有抗炎活性,其减轻炎症反应的机制包括抑制骨髓干细胞向巨噬细胞的分化、抑制巨噬细胞的活化和迁移、减少 TNF- α 释放和抑制淋巴细胞增殖^[8]。Ac-SDKP 在多种器官中均具有抗纤维化活性,能够阻断 Ras 相关的 C3 肉毒素底物 1 信号,进而抑制 TGF- β /Smad 途径分泌 TGF- β_1 ,抑制 Fb 增殖并减少胶原蛋白沉积,从而减少病理性瘢痕的发生^[9]。使用 Ac-SDKP 处理从大鼠矽肺模型中分离的肌 Fb 后,细胞内的 α 平滑肌肌动蛋白、I 型胶原蛋白、纤维连接蛋白、血管紧张素 II-1 型(AT1)较使用生理盐水处

理的肌 Fb 下调,证明 Ac-SDKP 可以通过肾素-血管紧张素系统中的血管紧张素转化酶/血管紧张素 II/AT1 通路抑制肌 Fb 分化和 ECM 生成来抗纤维化^[10]。然而,研究显示,Ac-SDKP 在完整的胸腺素 $\beta 4$ 分子中无法发挥其生理作用,只有当胸腺素 $\beta 4$ 裂解后才表现出其活性,这可能是由于该位点在胸腺素 $\beta 4$ 的结构中较为隐蔽所致。

1.1.2 第 1~15 位氨基酸 由第 1~15 位氨基酸形成的肽段中具有抗凋亡和保护细胞活性位点。氯己定具有较强的广谱杀菌活性,但其也有一定的细胞毒性,当其溶液质量分数达 0.002% 时,可引起小鼠 Fb L929 细胞凋亡;当其溶液质量分数达 0.016% 时,可引起 L929 细胞坏死^[8]。该研究显示,胸腺素 $\beta 4$ 的第 1~15 位氨基酸通过改变人 Fb 的完整性,可以阻断质量分数为 0.002% 和 0.005% 氯己定溶液对细胞的毒性作用,但是不能阻断质量分数为 0.01% 氯己定溶液对细胞的毒性;同样,此肽段也使细胞具有一定的抗过氧化氢、氯化苄铵、苯扎溴铵能力。

1.1.3 第 17~23 位氨基酸 肌动蛋白是细胞骨架的主要成分之一,存在于几乎所有真核细胞中,有游离的球状肌动蛋白和多聚的纤维状肌动蛋白(微丝)2 种形式。球状肌动蛋白与微丝不停地发生聚合和解聚,参与细胞凋亡、增殖、迁移、吞噬、免疫调节、肿瘤免疫逃逸等多种重要细胞活动^[11]。胸腺素 $\beta 4$ 是主要的球状肌动蛋白结合分子,而其肌动蛋白结合序列为第 17~23 位氨基酸形成的肽段,该肽段可与球状肌动蛋白结合,抑制微丝解聚,进而发挥修复真皮损伤以及诱导肥大细胞胞吐、血管新生等生理作用^[8]。

1.1.4 羧基末端肽 胸腺素 $\beta 4$ 的羧基末端肽在不同的胸腺素中是保守的。该肽段能通过蛋白激酶 B(Akt) 信号通路改善心肌细胞活性、促进血管生长、减轻炎症反应^[12],在皮肤创面愈合中的作用有待进一步研究。

1.2 胸腺素 $\beta 4$ 与生长因子的差异

尽管胸腺素 $\beta 4$ 具有促进细胞增殖的生物学功能,但是其本质上并非生长因子。胸腺素 $\beta 4$ 不能直接促进细胞增殖,其主要通过激活炎症细胞,促进其他生长因子释放,间接促进创面修复^[13]。另外,FGF、VEGF、TGF- β 、EGF 等生长因子常与 ECM 中广泛存在的肝素及硫酸肝素结合,当 ECM 被降解时,大量结合的生长因子被释放,进而发挥其生理作用。例如肝素硫酸糖蛋白(HSPG)可与 FGF 结合,阻碍 FGF 与其受体结合,当 HSPG 被降解后,大量 FGF 被释放,进而发挥其促生长、分化、迁移等功能。而胸腺素 $\beta 4$ 的分子量为 4.9×10^3 ,远小于生长因子中血小板衍生生长因子 B 的 27×10^3 、VEGFA 的 23×10^3 、FGF2 的 22×10^3 、EGF 前体的 160×10^3 、成熟 EGF 的 6×10^3 ,且不与 ECM 结合,因此,外源性的胸腺素 $\beta 4$ 可以在组织中更好地发挥促进血管生成、细胞迁移和减轻炎症等作用。

2 胸腺素 $\beta 4$ 在创面愈合中的作用机制

如上所述,胸腺素 $\beta 4$ 是一种作用广泛的内源性修复因子,研究表明胸腺素 $\beta 4$ 在皮肤创面愈合的所有阶段都具有

活性。以下按照创面愈合的4个阶段阐述胸腺素β4在创面愈合中的作用机制,见图2、3。

2.1 凝血阶段

皮肤损伤后,暴露的血管内皮细胞和组织因子会刺激大量血小板聚集到创面局部,而血小板中富含的高浓度的胸腺素β4随着血小板的破坏也被释放到创面中,在谷氨酰胺转移酶的催化下选择性地与肌动蛋白、胶原蛋白和纤维蛋白交联,促进凝血块形成^[14]。

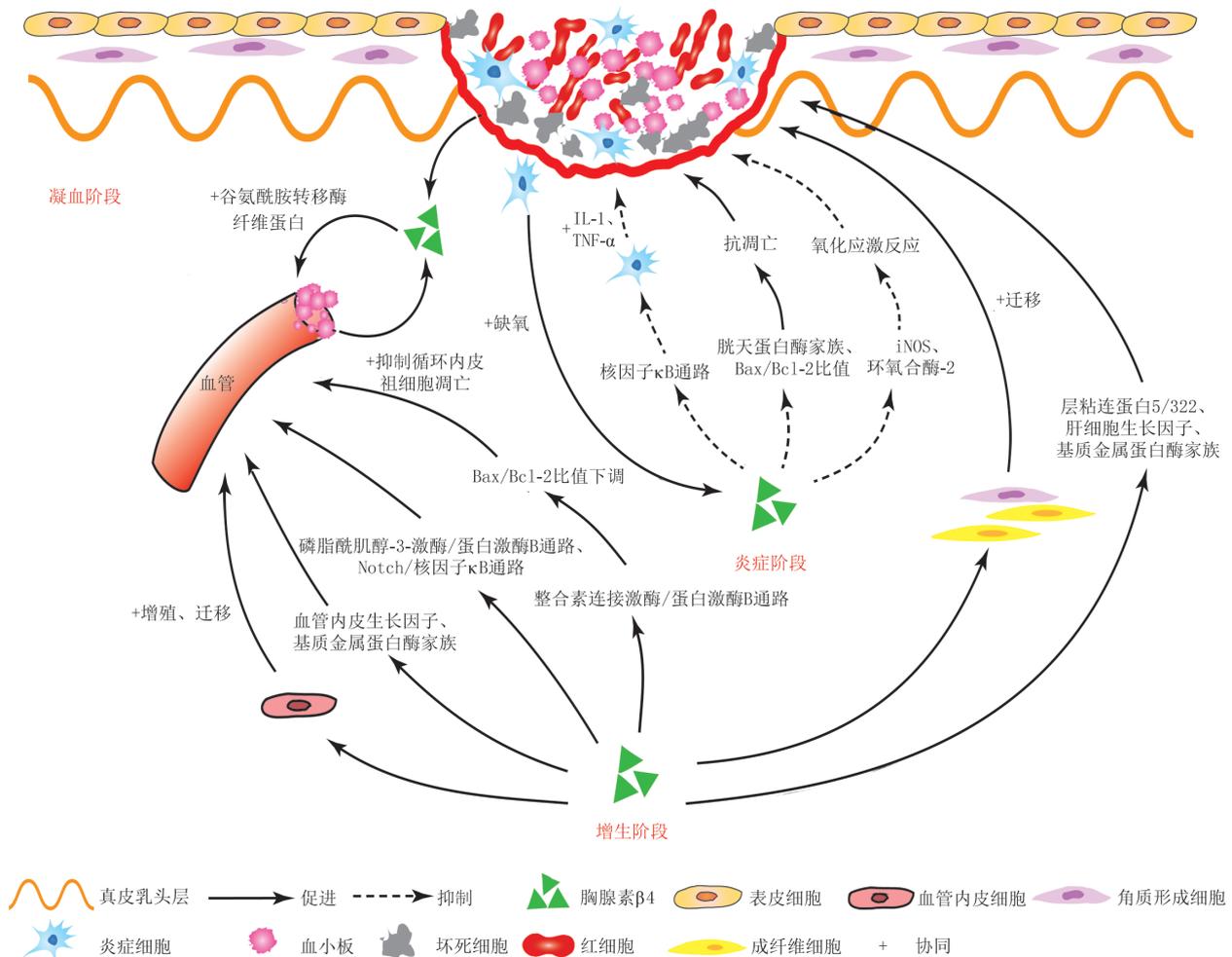
2.2 炎症阶段

胸腺素β4可以通过抗炎、抗凋亡、减少氧自由基这三种机制保护受损组织。胸腺素β4通过抑制核因子κB通路激活而减轻炎症反应,减少炎症细胞释放IL-1、TNF-α等炎症因子。胸腺素β4通过下调凋亡蛋白胱天蛋白酶3表达、降低B淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)相关X蛋白(Bax)与Bcl-2的比值来抗细胞凋亡,有利于创面的细胞及组织存活^[15]。创面缺氧也会增加胸腺素β4的表达,胸腺素β4则通过抑制诱导型NOS和环氧合酶-2,导致活性氧减少、一氧化氮分泌减少、前列腺素2α减少,从而减轻氧化应激,加速创面愈合^[16]。胸腺素β4的抗炎和抗凋亡作用,可以保护受损组织,使其免受坏

死细胞释放的细胞碎片造成的进一步损伤。

2.3 增生阶段

血管新生对于创面愈合而言是至关重要的,因为血液不仅可以为创面修复提供必要的营养,还可以清除坏死细胞碎片,从而改善创面微环境。胸腺素β4可以通过以下机制促进血管新生:(1)与球状肌动蛋白结合,促进血管内皮细胞增殖和迁移,形成新生毛细血管。(2)上调VEGF表达,间接促进血管新生。(3)激活促血管再生通路,如磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)/Akt通路、Notch/核因子κB通路。胸腺素β4可诱导心肌梗死大鼠磷酸化Akt蛋白的表达,激活下游因子,促进血管再生;并通过上调Notch/核因子κB信号通路,促进肢体缺血小鼠模型毛细血管新生^[17]。(4)促进循环内皮祖细胞(EPC)迁移、抑制EPC凋亡,从而促进血管新生。EPC是造血干细胞的一种亚型,可分化为内皮细胞。胸腺素β4可促进健康志愿者外周血中分离的EPC迁移,并剂量依赖性地上调Akt和内皮型NOS(eNOS)信号通路的磷酸化,从而抑制EPC凋亡,其机制可能是胸腺素β4上调了Bcl-2/Bax比值,稳定了线粒体膜跨膜电位,减少了EPC对细胞色素C的释放。然而,高糖环境会减少EPC的数量并损害其功能。目前研究



注:IL-1为白细胞介素1,TNF-α为肿瘤坏死因子α,Bcl-2为B淋巴细胞瘤-2,Bax为Bcl-2相关X蛋白,iNOS为诱导型一氧化氮合酶

图2 胸腺素β4在创面凝血、炎症、增生阶段的作用机制

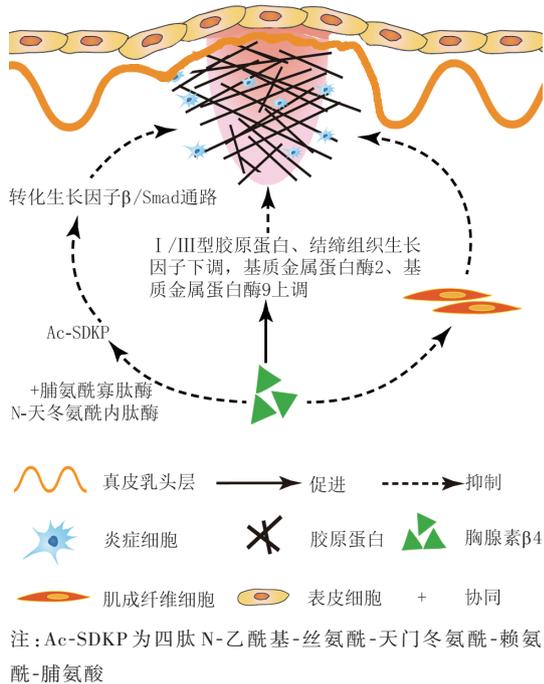


图3 胸腺素 β 4在创面重塑阶段的作用机制

表明胸腺素 β 4可通过Akt/eNOS信号通路改善被高糖抑制的EPC的功能,恢复其一氧化氮的合成能力,这可能有助于糖尿病溃疡的治疗^[18]。

2.4 重塑阶段

在创面愈合早期,胸腺素 β 4促进层粘连蛋白5(LN-5)、LN-322、肝细胞生长因子、基质金属蛋白酶(MMP)等与创面修复相关的蛋白质合成,加速创面封闭^[19]。而在创面愈合后,胸腺素 β 4及其降解成分Ac-SDKP不仅能减少纤维化/瘢痕形成,甚至还能逆转这一过程^[20]。翟晓梅等^[21]对比了人瘢痕疙瘩、增生性瘢痕、包皮组织、除包皮以外的正常皮肤组织中胸腺素 β 4的表达量,结果显示这4种组织按胸腺素 β 4含量排列由低到高依次为瘢痕疙瘩、增生性瘢痕、除包皮以外的正常皮肤组织、包皮组织,证实胸腺素 β 4浓度与瘢痕形成可能存在量效关系,局部高浓度胸腺素 β 4对瘢痕形成具有抑制作用,而胸腺素 β 4浓度降低可能导致瘢痕增生。在人增生性瘢痕Fb中加入胸腺素 β 4后,I、III型胶原蛋白及结缔组织生长因子的表达量较未加入胸腺素 β 4培养的人增生性瘢痕Fb降低,MMP-2、MMP-9的表达量增高,而MMP-2及MMP-9是可以分解多种胶原蛋白、弹性蛋白及纤维连接蛋白的明胶酶,这进一步证实了胸腺素 β 4对瘢痕的减轻作用^[22-23]。另外,胸腺素 β 4可以减少肌Fb的形成,这可能解释了其减少纤维化/瘢痕形成的原因。

3 胸腺素 β 4制备工艺和药代动力学研究

早期,研究者采用硫酸铵沉淀法、离子交换层析法直接从小牛胸腺中提取胸腺素 β 4。然而,这种方法存在难以纯化、产率低的不足。随后,美国公司采用固相合成的方法制备胸腺素 β 4,得到了高纯度的胸腺素 β 4,但也没有解决产率

低的问题^[24]。随着基因工程的快速进展,已有多项研究成功使用基因重组法制备胸腺素 β 4并将其投入生产^[25]。

作为一种多肽类药物,胸腺素 β 4必须要有一定的稳定性才可被真正应用于临床治疗。虽然目前未见关于胸腺素 β 4制剂的体外稳定性研究,但是从一些关于胸腺素的稳定性实验中可以了解到,胸腺素注射用灭菌粉末在4~8℃的条件下可储存30个月且外观、生物活性、纯度、pH值等参数均无明显变化^[26]。体内消除速率方面,国外一项I期临床试验研究显示,随着给药剂量的增大,胸腺素 β 4的末端消除半衰期($t_{1/2}$)也逐渐延长,当给药1260mg时, $t_{1/2}$ 可达2.1h^[27]。对于创面治疗来说,如此短的半衰期与换药周期不相匹配,因此Fink等^[28]将十二氢十二硼酸阴离子(一种化学性质稳定的人造无机化合物,可用于肽链修饰以减缓药物代谢从而提高药物生物活性)与胸腺素 β 4偶联,制备出性质更加稳定的胸腺素 β 4-十二氢十二硼酸阴离子偶合物,其半衰期可达3~836h(具体时长取决于十二氢十二硼酸阴离子结合到胸腺素 β 4的哪个氨基酸残基上),且不影响胸腺素 β 4本身活性。而Ti等^[29]则使用胶原-壳聚糖海绵支架增强了胸腺素 β 4的缓释效果和药物包埋量,该支架中胸腺素 β 4的缓释效果可持续12d;他们在大鼠糖尿病全层皮肤缺损创面模型中观察到,相比仅使用纱布覆盖创面、仅使用胶原-壳聚糖海绵支架覆盖创面,负载胸腺素 β 4的胶原-壳聚糖海绵支架可使创面上皮化更快、真皮重建更好、创面血管化程度更高。药物的渗透性也直接影响其作用效果。Fu等^[30]为了提高胸腺素 β 4的渗透性,将其包装到醇质体凝胶中,在小鼠深II度烧伤创面模型中观察到,使用醇质体凝胶包装胸腺素 β 4组的透皮率优于游离药组,且创面愈合时间显著缩短。

药物必须达到足够的浓度才能发挥其生理功能。目前研究证实,质量分数为0.02%~0.03%的胸腺素 β 4凝胶可以促进多种创面的愈合^[31]。然而,胸腺素 β 4的生物学作用符合钟形曲线,即在一定浓度范围内胸腺素 β 4的生物学效应随浓度增高而增强,而超过某一浓度后,其生物学效应反而减弱。Morris等^[32]用3种剂量的胸腺素 β 4治疗急性脑卒中大鼠,结果显示,2mg/kg剂量组和12mg/kg剂量组大鼠神经功能得以改善,18mg/kg剂量组大鼠神经功能没有改善,他们进一步使用数学模型计算出胸腺素 β 4的最佳剂量为3.75mg/kg。有研究者在压疮和大疱性表皮松懈症患者中也观察到相似的剂量效应曲线,而在3种不同的剂量中,中等剂量胸腺素 β 4表现出最强的生物活性^[31]。

4 胸腺素 β 4的临床前研究及临床试验

4.1 烧伤

胸腺素 β 4在皮肤修复中具有多种活性,是治疗皮肤烧伤的极佳候选药物。一些研究者在动物模型上验证了胸腺素 β 4促进烧伤创面愈合的疗效。有研究者观察到,胸腺素 β 4可促进大鼠深II度烫伤创面愈合,而联合应用胸腺素 β 4与碱性FGF较单独应用胸腺素 β 4或碱性FGF效果好^[33-34]。国外一项深II度烧伤小鼠模型研究显示,每周2次

皮下注射剂量为 30 mg/kg 的胸腺素 β 4 溶液,平均在伤后第 10 天时可使创面完全愈合,而未给予胸腺素 β 4 的对照小鼠创面在伤后第 14 天时仍没有愈合,该研究团队分析认为胸腺素 β 4 通过诱导 PI3K/Akt 信号通路的热休克蛋白 70 表达,从而加速烧伤创面的愈合^[35]。

4.2 糖尿病性创面

在 26 个月龄的 II 型糖尿病老年小鼠全层皮肤缺损创面模型中,研究者观察到使用胸腺素 β 4 治疗的小鼠较使用 PBS 治疗的小鼠创面挛缩和胶原沉积显著增加, KC 迁移增快^[36]。于虎等^[37]在糖尿病小鼠全层皮肤损伤模型上给予质量分数为 0.01%、0.03% 的外源性胸腺素 β 4 后观察到,与使用 PBS 的小鼠比较,应用胸腺素 β 4 小鼠的创面愈合率、表皮迁移率增高, VEGF 及新生血管增多,炎症细胞减少。上述实验提示胸腺素 β 4 可能是治疗糖尿病性慢性创面的潜在药物。

4.3 压疮

压疮是皮肤及皮下软组织在长期或剧烈的压力或剪切力下发生灌注不足导致的局部损伤,其中 III、IV 期的压疮深达皮肤全层以上,治疗难度较大。采用胸腺素 β 4 治疗压疮的 II 期多中心随机安慰剂对照试验已经完成。该研究将纳入的 72 例 III、IV 期压疮患者分为安慰剂组和质量分数 0.01% 胸腺素 β 4 凝胶组、质量分数 0.02% 胸腺素 β 4 凝胶组、质量分数 0.1% 胸腺素 β 4 凝胶组,每组 18 例,每天给药 4 次,持续 84 d。结果显示,所有患者均未发生不良反应,治疗的耐受性较好;质量分数 0.02% 胸腺素 β 4 凝胶组的患者在第 4~9 周时较其他组创面愈合更快,但这一差异并无统计学意义 ($P > 0.05$)^[38]。未来还需更多大样本试验探究胸腺素 β 4 治疗压疮的效果。

4.4 静脉性溃疡

静脉性溃疡的发病率随着年龄的增长而逐渐增加,而迁延不愈、创面疼痛和高复发率是影响静脉性溃疡患者生存质量的主要原因^[39]。欧洲一项关于胸腺素 β 4 治疗静脉性溃疡的多中心、随机、对照、双盲的 II 期临床试验纳入了 72 例静脉性溃疡患者,对患者随机给予安慰剂或质量分数 0.01%、0.03%、0.1% 胸腺素 β 4 凝胶,连续观察 12 周。治疗期间所有患者均能耐受,未见严重不良反应。应用质量分数 0.03% 胸腺素 β 4 凝胶的患者试验终点时创面愈合率为 33.3% (6/18),与应用安慰剂患者的 17.6% (3/17)、应用质量分数 0.01% 胸腺素 β 4 凝胶患者的 15.8% (3/19)、应用质量分数 0.1% 胸腺素 β 4 凝胶患者的 16.7% (3/18) 相比,有明显差异^[38]。可见,适宜浓度的胸腺素 β 4 可以有效促进静脉性溃疡的愈合。

4.5 遗传性大疱性表皮松解症(HEB)

大疱性表皮松解症包括 HEB 和获得性大疱性表皮松解症这 2 类^[40]。HEB 是一种罕见的遗传疾病,此类疾病患者的皮肤不能很好地附着在皮下组织上,因此轻度创伤就会导致不同程度的表皮剥脱,而且 HEB 有转变为鳞状细胞癌的可能^[41]。目前针对 HEB 患者主要还是依靠包扎换药进行治疗,这导致 HEB 患者的生活质量大大降低^[42]。胸腺素 β 4 可

以减轻炎症,促进 KC 迁移黏附至创面,以及上调 LN-322 的合成,是一种治疗 HEB 的潜在药物^[13]。一项临床试验 (NCT00311766) 研究了质量分数为 0.01%、0.03% 和 0.10% 的胸腺素 β 4 对 30 例 HEB 患者(仅纳入交界性和营养不良性 HEB 这 2 种 HEB 亚型)的治疗效果,结果显示在第 14 天时,3 种质量分数的胸腺素 β 4 均显示出比安慰剂更好的疗效趋势(由于 HEB 患者个体差异大且样本量小,结果没有统计学差异)^[43]。然而,对于其他类型的 HEB,胸腺素 β 4 是否具有疗效还需要进一步探究。

5 胸腺素 β 4 的药物安全性试验

虽然在动物实验中没有观察到如体重减轻、肿瘤和行为迟钝等不良反应,但一些动物实验显示胸腺素 β 4 可促进创周毛发生长^[44]。值得注意的是,目前已有基础研究显示,胸腺素 β 4 可促进乳腺癌、结肠癌等肿瘤的生长与转移^[45]。但是,一项针对 40 名健康志愿者(排除有癌症家族史及癌症危险因素暴露史者)的 2 个阶段、为期 6 个月的 I 期安全性试验已于 2010 年完成。在该试验的第 1 阶段中,志愿者分别被单次静脉注射安慰剂或 42、140、420、1 260 mg 的胸腺素 β 4,仅有 3 名志愿者出现药物相关不良反应(2 名为应用安慰剂者、1 名为应用 140 mg 胸腺素 β 4 者)。在第 2 阶段中,对志愿者每日静脉注射安慰剂或 42、140、420、1 260 mg 的胸腺素 β 4,连续给药 14 d,并进行 6 个月的随访,共 7 名志愿者发生药物相关不良反应(5 例为应用安慰剂者、1 例为应用 140 mg 胸腺素 β 4 者、1 例为应用 1 260 mg 胸腺素 β 4 者),这些不良反应均非严重不良反应,而且随访期间志愿者均未检出癌症^[27]。此外,在胸腺素 β 4 治疗大疱性表皮松解症的临床试验中,这些易患肿瘤的患者并没有发生癌症^[16]。可见在健康的实验动物和人群中,胸腺素 β 4 的安全性都比较好,但是携带肿瘤的患者能否应用胸腺素 β 4 还有待进一步研究。

6 小结和展望

创面愈合过程中,多种细胞、因子及 ECM 的相互作用形成复杂的调控网络,共同构成了创面微环境^[46],选择一个既能促进创面修复又安全的因子是研究者和临床医师的共同追求。综上所述,胸腺素 β 4 的分子结构和生物活性都已基本研究透彻,且该蛋白安全性较好,目前在基础研究和临床试验中没有观察到局部或静脉注射胸腺素 β 4 的不良反应,也没有检测到有自身抗体产生。在促进创面愈合的研究中确定了胸腺素 β 4 大致的最佳浓度范围为质量分数 0.02%~0.03%。胸腺素 β 4 是一种天然分子,可以通过基因重组的方式以相对低的成本合成,这为其临床应用提供了可能。

然而目前胸腺素 β 4 的作用受体及信号通路尚不完全清楚,其在创面愈合中的详细作用机制还有待进一步研究。另外,目前在动物创面模型上进行的胸腺素 β 4 研究已经较多,而采用胸腺素 β 4 治疗各类型创面的临床试验较少,缺乏对不同病因、严重程度的创面的最佳剂量和给药方案的研究。本研究团队认为后续研究可主要聚焦以下几点:(1)探究胸

腺素 $\beta 4$ 的作用受体、与其他生长因子及细胞因子的相互作用,以便更好地为临床应用提供理论基础。(2)需要更多手段延长胸腺素 $\beta 4$ 在创面的作用时间。例如,静电纺丝技术目前已基本成熟,已有很多研究者将促进创面愈合的生物活性分子包埋入静电纺丝敷料进行研究^[47],或许可将胸腺素 $\beta 4$ 纺入静电纺丝中,既控制药物缓释,又保护创面微环境,一举两得。(3)仍需大量临床试验确定胸腺素 $\beta 4$ 对各种类型创面的最佳给药剂量、剂型、间隔,以及该药物与其他促进创面愈合的药物联合应用的方案。(4)目前的安全性试验均是针对不携带肿瘤的动物或人群的,然而临床也常见肿瘤所致的难愈性创面,需要更多的安全性试验和更长的随访时间,以探究给予外源性的胸腺素 $\beta 4$ 是否可以治疗该类型创面。相信随着研究的不断深化,胸腺素 $\beta 4$ 将同生长因子一样被广泛应用于创面治疗中,并为创面修复提供新的思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Fu X, Sheng Z, Cherry GW, et al. Epidemiological study of chronic dermal ulcers in China[J]. *Wound Repair Regen*, 1998, 6(1): 21-27. DOI: 10.1046/j.1524-475x.1998.60105.x.
- [2] Jiang Y, Huang S, Fu X, et al. Epidemiology of chronic cutaneous wounds in China[J]. *Wound Repair Regen*, 2011, 19(2): 181-188. DOI: 10.1111/j.1524-475x.2010.00666.x.
- [3] Cheng B, Jiang Y, Fu X, et al. Epidemiological characteristics and clinical analyses of chronic cutaneous wounds of inpatients in China: prevention and control[J]. *Wound Repair Regen*, 2020, 28(5): 623-630. DOI: 10.1111/wrr.12825.
- [4] Haagsma JA, Graetz N, Bolliger I, et al. The global burden of injury: incidence, mortality, disability-adjusted life years and time trends from the Global Burden of Disease study 2013[J]. *Inj Prev*, 2016, 22(1): 3-18. DOI: 10.1136/injuryprev-2015-041616.
- [5] 张忠胜, 刘双凤, 黄四春. 胸腺素 $\beta 4$ 对大鼠皮质神经细胞氧糖剥夺-复氧损伤的保护作用研究[J]. *中国脑血管病杂志*, 2019, 16(6): 296-302. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5921.2019.06.003.
- [6] Vasilopoulou E, Riley PR, Long DA. Thymosin- $\beta 4$: a key modifier of renal disease[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2018, 18 (Suppl 1): S185-192. DOI: 10.1080/14712598.2018.1473371.
- [7] Poh KK, Lee PSS, Djohan AH, et al. Transplantation of endothelial progenitor cells in obese diabetic rats following myocardial infarction: role of thymosin beta-4[J]. *Cells*, 2020, 9(4): 949. DOI: 10.3390/cells9040949.
- [8] Sosne G, Qiu P, Goldstein AL, et al. Biological activities of thymosin beta4 defined by active sites in short peptide sequences [J]. *FASEB J*, 2010, 24(7): 2144-2151. DOI: 10.1096/fj.09-142307.
- [9] 王姗, 张巧丹, 李世峰, 等. Ac-SDKP 调节 Rac1 信号抑制皮肤肌成纤维细胞的转化和迁移[J]. *福建医科大学学报*, 2019, 53(1): 9-12, 22.
- [10] Zhang Y, Yang F, Liu Y, et al. Influence of the interaction between Ac-SDKP and Ang II on the pathogenesis and development of silicotic fibrosis[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(6): 7467-7476. DOI: 10.3892/mmr.2018.8824.
- [11] 刘瑞姣, Amer AAA, 高兴华, 等. 肌动蛋白结构与生物学功能的研究进展[J]. *中国细胞生物学学报*, 2020, 42(10): 1870-1875. DOI: 10.11844/cjcb.2020.10.0019.
- [12] Hinkel R, Klett K, Bähr A, et al. Thymosin $\beta 4$ -mediated protective effects in the heart[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2018, 18 (Suppl 1): S121-129. DOI: 10.1080/14712598.2018.1490409.
- [13] Goldstein AL, Kleinman HK. Advances in the basic and clinical applications of thymosin $\beta 4$ [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2015, 15 Suppl 1: S139-145. DOI: 10.1517/14712598.2015.1011617.
- [14] Jing J, Sun X, Zhou C, et al. Cloning, expression and effects of P. americana thymosin on wound healing[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(19): 4932. DOI: 10.3390/ijms20194932.
- [15] Yang WS, Kang S, Sung J, et al. Thymosin $\beta 4$: potential to treat epidermolysis bullosa and other severe dermal injuries[J]. *Eur J Dermatol*, 2019, 29(5): 459-467. DOI: 10.1684/ejd.2019.3642.
- [16] Roy P, Rajfur Z, Jones D, et al. Local photorelease of caged thymosin beta4 in locomoting keratocytes causes cell turning[J]. *J Cell Biol*, 2001, 153(5): 1035-1048. DOI: 10.1083/jcb.153.5.1035.
- [17] Lv S, Cai H, Xu Y, et al. Thymosin- $\beta 4$ induces angiogenesis in critical limb ischemia mice via regulating Notch/NF- κB pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2020, 46(4): 1347-1358. DOI: 10.3892/ijmm.2020.4701.
- [18] Qiu F, Song J, Bi X, et al. Thymosin $\beta 4$ promotes glucose-impaired endothelial progenitor cell function via Akt/endothelial nitric oxide synthesis signaling pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(4): 3439-3444. DOI: 10.3892/etm.2018.6593.
- [19] Kleinman HK, Sosne G. Thymosin $\beta 4$ promotes dermal healing[J]. *Vitam Horm*, 2016, 102: 251-275. DOI: 10.1016/bs.vh.2016.04.005.
- [20] Kassem KM, Vaid S, Peng H, et al. T $\beta 4$ -Ac-SDKP pathway: any relevance for the cardiovascular system? [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2019, 97(7): 589-599. DOI: 10.1139/cjpp-2018-0570.
- [21] 翟晓梅, 聂兴举, 秦泽莲, 等. 胸腺素 $\beta 4$ 基因片断 mRNA 在人瘢痕及皮肤组织中的表达定位[J]. *中国微创外科杂志*, 2007, 7(12): 1217-1220. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6604.2007.12.040.
- [22] 曲亚平, 穆大力, 栾杰. 胸腺素 $\beta 4$ 的机制研究及应用进展[J]. *中国美容整形外科杂志*, 2017, 28(7): 444-445, 后插 1. DOI: 10.3969/j.issn.1673-7040.2017.07.022.
- [23] 杨尚青, 杨东亮, 刘嘉. 基质金属蛋白酶 2/9 在慢性肝脏疾病发生发展中的作用[J]. *临床肝胆病杂志*, 2020, 36(10): 2364-2369. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2020.10.045.
- [24] Crockford D, Turjman N, Allan C, et al. Thymosin beta4: structure, function, and biological properties supporting current and future clinical applications[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1194: 179-189. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2010.05492.x.
- [25] 马素永. 重组甘氨酸-胸腺素 $\beta 4$ 生产工艺研究[D]. 天津: 天津大学, 2011. DOI: 10.7666/d.y2081115.
- [26] 潘锋君, 林丽君. 胸腺素注射用灭菌粉末的稳定性实验[J]. *医药导报*, 2007, 26(6): 674-675. DOI: 10.3870/j.issn.1004-0781.2007.06.045.
- [27] Ruff D, Crockford D, Girardi G, et al. A randomized, placebo-controlled, single and multiple dose study of intravenous thymosin beta4 in healthy volunteers[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1194: 223-229. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2010.05474.x.
- [28] Fink K, Kobak K, Kasztura M, et al. Synthesis and biological activity of thymosin $\beta 4$ -anionic boron cluster conjugates[J]. *Bioconjug Chem*, 2018, 29(11): 3509-3515. DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.8b00646.
- [29] Ti D, Hao H, Xia L, et al. Controlled release of thymosin beta 4 using a collagen-chitosan sponge scaffold augments cutaneous wound healing and increases angiogenesis in diabetic rats with hindlimb ischemia[J]. *Tissue Eng Part A*, 2015, 21(3/4): 541-549. DOI: 10.1089/ten.TEA.2013.0750.
- [30] Fu X, Shi Y, Wang H, et al. Ethosomal gel for improving transdermal delivery of thymosin $\beta 4$ [J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 9275-9284. DOI: 10.2147/IJN.S228863.
- [31] Treadwell T, Kleinman HK, Crockford D, et al. The regenerative

peptide thymosin β 4 accelerates the rate of dermal healing in preclinical animal models and in patients[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2012,1270:37-44.DOI:10.1111/j.1749-6632.2012.06717.x.

[32] Morris DC, Cui Y, Cheung WL, et al. A dose-response study of thymosin β 4 for the treatment of acute stroke[J]. *J Neurol Sci*, 2014,345(1/2):61-67.DOI:10.1016/j.jns.2014.07.006.

[33] 李树松,马滢,吴晓明,等. 胸腺素 β 4 联合外源性 bFGF 对深 II 度烫伤大鼠创面愈合的影响及机制研究[J]. *西部医学*, 2020, 32(2):203-209.DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2020.02.010.

[34] 李树松,马滢,吴晓明,等. 胸腺素 β 4 对深 II^o 烫伤创面愈合的影响及机制研究[J]. *解放军预防医学杂志*, 2018, 36(11): 1409-1411,1453.

[35] Kim S, Kwon J. Thymosin β 4 has a major role in dermal burn wound healing that involves actin cytoskeletal remodelling via heat-shock protein 70[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2017, 11(4): 1262-1273.DOI:10.1002/term.2028.

[36] Philp D, Badamchian M, Scheremeta B, et al. Thymosin beta 4 and a synthetic peptide containing its actin-binding domain promote dermal wound repair in db/db diabetic mice and in aged mice[J]. *Wound Repair Regen*, 2003, 11(1):19-24.DOI:10.1046/j.1524-475x.2003.11105.x.

[37] 于虎,马瑞珏,张朔杨,等. 胸腺素 β 4 调节血管内皮生长因子、层粘连蛋白 5 表达,促进糖尿病大鼠皮肤损伤愈合[J]. *中国糖尿病杂志*, 2011, 19(1):60-63.DOI:10.3969/j.issn.1006-6187.2011.01.016.

[38] Guarnera G, DeRosa A, Camerini R, et al. The effect of thymosin treatment of venous ulcers[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1194: 207-212.DOI:10.1111/j.1749-6632.2010.05490.x.

[39] 杨敏烈,周小金,朱宇刚,等. 不同模式持续负压伤口疗法对下肢静脉性溃疡创面的临床疗效及其影响因素前瞻性随机对照研究[J]. *中华烧伤杂志*, 2020, 36(12):1149-1158.DOI:10.3760/cma.j.cn501120-20200316-00173.

[40] 于灵,冯素英. 先天性大疱性表皮松解症诊断及治疗进展[J]. *中华皮肤科杂志*, 2016, 49(7): 516-519. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4030.2016.07.019.

[41] 于越乾,暴芳芳,刘红. 遗传性大疱性表皮松解症致病基因研究进展[J]. *中国麻风皮肤病杂志*, 2019, 35(6):380-384.

[42] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 遗传性大疱性表皮松解症诊治指南[J]. *中国实用乡村医生杂志*, 2019, 26(5):16-18. DOI:10.3969/j.issn.1672-7185.2019.05.007.

[43] RegeneRx Biopharmaceuticals, Inc. A phase 2 study on effect of thymosin beta 4 on wound healing in patients with epidermolysis bullosa[DB/OL]. [S. l.]: [s. n.]. 2006(2014-05-12) [2021-02-21]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00311766>.

[44] 李鹏宇,贾克荣. T β 4 关于促进毛发生长的研究进展[J/CD]. *临床医药文献电子杂志*, 2017, 4(22):4351. DOI: 10.3877/j.issn.2095-8242.2017.22.154.

[45] 马丽,石荣珍,邓九零,等. 胸腺素 β 4 和 β 10 表达促进小鼠乳腺癌细胞转移[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2018, 32(7): 565-572.DOI:10.3867/j.issn.1000-3002.2018.07.008.

[46] 程飏,付小兵. 微环境控制是实现创面完美修复的必由之路[J]. *中华烧伤杂志*, 2020, 36(11):1003-1008. DOI:10.3760/cma.j.cn501120-20201009-00429.

[47] Dwivedi C, Pandey H, Pandey AC, et al. In vivo biocompatibility of electrospun biodegradable dual carrier (antibiotic + growth factor) in a mouse model-implications for rapid wound healing [J]. *Pharmaceutics*, 2019, 11(4):180. DOI:10.3390/pharmaceutics 11040180.

(收稿日期:2021-02-21)

广告目次

深圳市源兴医药股份有限公司	插页 1
上海铠唏尔医疗器械贸易有限公司	插页 2
南海朗肽制药有限公司	对中文目次 1
深圳海卓科赛医疗有限公司	对中文目次 2
上海腾瑞制药股份有限公司	对英文目次 1
江西省科星生物工程有限公司	插页 3
保赫曼(上海)贸易有限公司	插页 4
浙江医学科技开发有限公司	插页 5
苏州汇涵医用科技发展有限公司	插页 6
苏州爱得科技发展股份有限公司	对正文
珠海亿胜生物制药有限公司	封三
武汉维斯第医用科技股份有限公司	封底