

生长因子促进创面愈合研究进展

周俊峰 罗高兴 吴军

1 生长因子(GF)的临床应用进展

GF 是一类对靶细胞增殖和分化有调节作用的肽类,是体内重要信号分子,在调节生长发育、组织修复、肿瘤发生等多方面发挥重要作用。GF 种类繁多,通常按照 GF 的受体(靶细胞)及特性将其分为 EGF、Fb 生长因子(FGF)、神经生长因子(NGF)、血小板源性生长因子(PDGF)和 TGF 等。GF 自 20 世纪 80 年代开始应用于临床,其对创伤修复的促进作用逐渐明确。近年来,随着基因工程技术的成熟,商品化的重组 GF 产品开始广泛应用于烧伤、创伤、慢性皮肤溃疡等治疗,并取得了较好的疗效。

1.1 EGF

EGF 是最早发现的 GF,重组 EGF 产品目前已广泛应用于各种急慢性皮肤溃疡及皮肤烧伤、创伤的治疗,可显著加快创面愈合速度^[1]。在 EGF 凝胶剂治疗糖尿病足皮肤溃疡的上市药品监察研究中观察到,135 例使用 EGF 凝胶的患者,溃疡愈合时间平均为 4.8 周,经 10 周的治疗,溃疡愈合率达 92%;而在该产品前期进行的包含 60 例病例的Ⅲ期临床试验中,EGF 治疗组的愈合率为 69%,对照组仅为 21%^[2]。证实 EGF 对溃疡愈合具有促进作用。

糖尿病引起的血管炎性坏疽是导致糖尿病患者截肢的重要原因。对于严重糖尿病足有截肢危险者,有学者在皮肤溃疡创面皮内注射重组 EGF 制剂,其创面肉芽组织反应率达 100%,创面愈合率为 85%,愈合时间为(44 ± 9) d,且无病例达到截肢指征^[3]。而在另一项 EGF 剂量对比试验中,高剂量组(EGF 75 μg)在治疗第 8 周时创面肉芽组织反应率为 83%,低剂量组(EGF 25 μg)为 61%;而在第 20 周治疗终点及之后 1 年的远期观察结果显示,在最终愈合率、截肢率及愈合时间上,组间比较差异均无

统计学意义($P > 0.05$)^[4]。上述研究表明,EGF 可改善严重糖尿病足的预后,降低截肢率,高剂量 EGF 可加快创面愈合速度,但最终治疗结果无明显剂量-效应关系^[4]。

EGF 对于急性创面同样有良好的作用。王配合等^[5]报道的 EGF 用于Ⅱ度烧伤及刃厚皮供皮区创面的临床试验中,使用重组 EGF 溶液湿敷治疗的浅Ⅱ度烧伤创面及刃厚皮供皮区创面,愈合时间分别为(9.75 ± 1.98)、(10.48 ± 1.38) d,较重组 bFGF(贝复济,珠海亿胜生物制药有限公司)湿敷组[(12.40 ± 2.25)、(13.06 ± 2.25) d]和生理盐水对照组[(12.80 ± 2.15)、(13.76 ± 2.15) d]均缩短约 3 d($P < 0.01$),但 EGF 对深Ⅱ度烧伤创面愈合速度无显著影响。而在李晓芳等^[6]进行的外用重组人 EGF 喷剂(金因肽,深圳市华生元基因工程发展有限公司)治疗浅Ⅱ度与深Ⅱ度烧伤创面的研究中,EGF 治疗组 2 种深度创面愈合时间较安慰剂组分别提前 2.08、3.00 d($P < 0.01$)。

EGF 溶液皮内注射的不良反应用较为普遍,但多数患者反应轻微,不需特殊处理,常见反应包括创面局部感染(20.0%)、烧灼感及疼痛(17.1%)、震颤(14.6%)、寒战(12.2%)等,其发生率与 EGF 剂量呈正相关,极少数病例可出现胸痛、发热、肌肉震颤、眩晕、呕吐等严重不良反应^[3]。而 EGF 凝胶剂的安全性较好,未见明确不良反应报道。

1.2 PDGF

PDGF 是由 2 个糖肽亚基构成的复合体,具有促进间充质及胶质细胞生长的作用。多项临床试验共计超过 1000 例病例的观察已表明,重组 PDGF 凝胶剂在皮肤切口、糖尿病皮肤溃疡等急性创面治疗中疗效确切^[7-10]。

Bhansali 等^[11]比较了重组 PDGF 凝胶剂与传统的标准创面治疗对糖尿病足皮肤溃疡的疗效差异,结果 PDGF 治疗组患者溃疡创面愈合时间为(50 ± 23) d,而对照组为(86 ± 31) d, $P = 0.02$ 。组间的溃疡面积愈合率在 30 d(治疗组 60.05%,对照组 33.68%, $P = 0.01$)与 60 d 时(治疗组 83.15%,对照组 52.20%, $P < 0.05$)比较,差异有统计学意义。

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2010.02.029

基金项目:国家高技术研究发展计划(2006AA02A121);国家自然科学基金(30973116)

作者单位:400038 重庆,第三军医大学西南医院全军烧伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆市疾病蛋白组学重点实验室

通信作者:吴军,Email:junwupro@163.com,电话:023-68754006

证实 PDGF 对慢性创面的治疗效果优于标准创面。

Freedman 等^[12]应用重组 PDGF 凝胶剂湿敷治疗手指指尖创伤创面,取得了较传统外科清创、皮肤移植、修补等干预措施更好的疗效,在创面愈合时间及握力、关节活动度、寒冷耐受能力等手指功能评价上,差异均有统计学意义(P 值均小于 0.05)。表明 PDGF 对急性外科创面亦有较好的疗效。多项临床试验表明,PDGF 在短期内具有较好的安全性,但 PDGF 为癌基因 *sis* 产物,因此 PDGF 与肿瘤发生的关系一直是医学界关注的问题。2008 年美国食品和药物管理局(FDA)的一项回顾性研究指出,使用 3 管或以上 becaplermin 的患者,虽其癌症发病率未增加,但癌症的病死率却增加了 5 倍。FDA 警告,对于已诊断为恶性肿瘤的患者不推荐使用该药物。

1.3 FGF

FGF 是一个与皮肤及其附件的发生、形成、成熟以及再生和修复密切相关的 GF 家族,其成员主要包括酸性 FGF(aFGF)、bFGF、FGF7、FGF10 等^[13]。体外实验显示,FGF 具有促进 Fb、内皮细胞增殖和迁移,加快新生血管形成速度,抑制细菌生长等广泛作用;而 FGF7、bFGF 在增生性瘢痕组织中高表达,被认为与表皮层增厚、肉芽组织过度增生形成病理性瘢痕关系密切^[14]。研究表明,bFGF 对于烧伤、供皮区等急性创面肉芽组织的形成和创面再上皮化有促进作用^[15]。Akita 等^[16]将重组 bFGF 喷涂剂用于 II 度烧伤创面(bFGF 剂量 $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$),其创面愈合时间较对照组提前约 3 d($P < 0.01$),且 bFGF 治疗组创面增生性瘢痕形成率为 2.5%,而对照组为 11.5%。在创面愈合后 1 年,bFGF 治疗组创面瘢痕 Vancouver 评分及皮肤延展性、硬度、湿度和含水量等指标均显著优于对照组(P 值均小于 0.01),表明局部应用 bFGF 在加快创面愈合的同时并不会增加增生性瘢痕形成的概率。

另有学者报道,使用 aFGF 局部喷涂的烧伤创面(剂量 $100 \text{ U}/\text{cm}^2$)在治疗 12、15、21 d 时的创面愈合率均优于对照组(P 值均小于 0.001)。经 21 d 治疗,aFGF 治疗组创面愈合率为 71.79%,亦高于对照组的 53.85%。而供皮区创面也有类似结果,治疗组创面愈合率在第 9、12 天时均优于对照组(P 值均小于 0.001);aFGF 治疗组创面平均愈合时间较对照组明显提前($P < 0.001$)^[17]。

1.4 TGF- β_3

TGF- β_3 已被证实可促进表皮和间叶组织的迁移,ECM 的合成,在纤维化的过程中亦有重要的调

节作用。相关临床试验表明,局部应用 TGF- β_3 可促进皮肤慢性溃疡创面愈合^[18]。在重组 TGF- β_3 产品 Avotermin 的 3 项 I 期或 II 期临床试验中,对皮肤全厚线性切口皮内注射 Avotermin (TGF- β_3 剂量 $0.25 \sim 500.00 \mu\text{g}$)进行处理,视觉类比评分结果显示,伤后 6 个月和 12 个月瘢痕形成水平较对照组显著改善($P = 0.001, 0.023$),且存在明显的剂量-效应关系。使用 $50 \text{ ng TGF-}\beta_3$ 处理的创面,在伤后 6 个月组织学改变优于对照组创面。真皮内异常胶原纤维堆积的比例为 40%,亦显著低于对照组的 67%。除创面周围一过性红斑和水肿外,未见 Avotermin 治疗后显著不良反应。该研究结果展示了 TGF- β_3 抑制病理性瘢痕形成的作用,为治疗增生性瘢痕提示了新方向^[19]。

2 GF 的作用机制

GF 作为一类信号分子,主要通过特异的细胞膜受体介导其生物学效应。多数 GF 受体都具有胞外配体结合区域、跨膜区域及胞内酪氨酸蛋白激酶(TPK)结构域的共同结构特征,GF 和受体的结合引起受体分子胞外结构域构象的改变,并导致受体的寡聚化,使相邻的受体胞内结构域相互作用而激活 TPK 活性,进而通过胞内多种信号转导通路,包括 Ras-MAPK、磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)、Wnt 途径等,最终影响 mRNA 及蛋白质的生物合成,从而调节细胞的生物学行为。GF 一般不通过内分泌途径发挥作用,而主要通过自分泌或旁分泌机制参与细胞间近距离调控。各种 GF 作用的相互影响,在细胞之间的微环境中构成一个复杂的网络。

GF 参与了创面修复中的炎症反应、肉芽组织增生和再上皮化等多个过程。在创面形成之初,血小板来源的 EGF、PDGF 及 TGF- β 构成了重要的中性粒细胞及巨噬细胞趋化信号,与 IL-1、IL-6 等细胞因子一起构成了初始的炎症信号。随后,血管内皮生长因子(VEGF)、FGF 主要对 ECM 合成的调控,以及 FGF、TGF- β 对 Fb 浸润的促进作用,则对肉芽组织形成过程具有重要意义。在伤后数小时,EGF、TGF- α 、FGF 等 GF 作为促进表皮细胞增殖和迁移的信号分子,参与了表皮再生过程。在创伤修复这一复杂网络调节过程中,GF 对细胞-细胞间及细胞-基质间的交互影响中起着调节作用^[20-22]。

3 GF 的临床应用前景展望

创面的愈合过程是一个细胞、ECM、细胞因子等

多因素互相作用的过程。而 GF 及其受体在这一复杂的信号转导通路网中发挥的功能尚不完全明确,需进一步研究解释其生物学特性及对细胞增殖分化的调节机制。GF 作用具有一定的细胞特异性,因此对于创面修复的各种细胞增殖及 ECM 合成的调节作用亦有所差异。现已证实 EGF 主要作用于上皮细胞,而 FGF 对肉芽组织生长的促进作用更强,PDGF 则对间充质细胞、胶质细胞增殖具有显著的调节作用。临床研究也显示 EGF 对浅 II 度烧伤创面,FGF 对深 II 度创面修复有更好的促进作用^[5]。目前对于 GF 在不同类型创面、创面愈合的不同阶段的作用特点尚无系统研究。不同类型的 GF 在各类创面修复中疗效亦缺乏全面比较。因此,各种 GF 交互作用的网络关系及时空效应,应当作为下一阶段重点研究方向,以指导临床合理选择使用 GF 产品。

与 GF 功能相关的 Ras-MAPK、PI3K、Wnt 等信号途径与肉芽组织过度增生、肿瘤发生关系密切,因此 GF 产品对病理性瘢痕和对肿瘤的诱导作用仍是医学界应当关注的问题。虽然目前的研究结果显示,GF 在短期内安全性良好,与瘢痕过度增生亦无确切关系,但最长为 5 年的追踪调查期限不足以否定其对于癌症发生率的影响。因此对于 GF 的远期不良反应仍需谨慎。

参考文献

- [1] 付小兵,程飏,盛志勇. 生长因子应用于临床创伤修复——十年的主要进展与展望. 中国修复重建外科杂志, 2004, 18(6):508-512.
- [2] Mohan VK. Recombinant human epidermal growth factor (REGEN-D 150): effect on healing of diabetic foot ulcers. *Diabetes Res Clin Pract*, 2007, 78(3):405-411.
- [3] Fernández-Montequín JI, Betancourt BY, Leyva-Gonzalez G, et al. Intralesional administration of epidermal growth factor-based formulation (Heberprot-P) in chronic diabetic foot ulcer: treatment up to complete wound closure. *Int Wound J*, 2009, 6(1):67-72.
- [4] Fernández-Montequín JI, Infante-Cristiá E, Valenzuela-Silva C, et al. Intralesional injections of Citoprot-P (recombinant human epidermal growth factor) in advanced diabetic foot ulcers with risk of amputation. *Int Wound J*, 2007, 4(4):333-343.
- [5] 王配合,齐顺贞,彭毅志. 表皮细胞生长因子和碱性成纤维细胞生长因子促进烧伤创面愈合的疗效比较. 临床军医杂志, 2004, 32(2):35-37.
- [6] 李晓芳,赵柏程,钱利,等. 重组人表皮生长因子治疗烧伤创面的临床观察. 中国现代医学杂志, 2005, 15(17):2683-2685.
- [7] Cohen MA, Eaglstein WH. Recombinant human platelet-derived growth factor gel speeds healing of acute full-thickness punch biopsy wounds. *J Am Acad Dermatol*, 2001, 45(6):857-862.
- [8] Embil JM, Papp K, Sibbald G, et al. Recombinant human platelet-derived growth factor-BB (becaplermin) for healing chronic lower extremity diabetic ulcers: an open-label clinical evaluation of efficacy. *Wound Repair Regen*, 2000, 8(3):162-168.
- [9] Smiell JM, Wieman TJ, Steed DL, et al. Efficacy and safety of becaplermin (recombinant human platelet-derived growth factor-BB) in patients with nonhealing, lower extremity diabetic ulcers: a combined analysis of four randomized studies. *Wound Repair Regen*, 1999, 7(5):335-346.
- [10] Rees RS, Robson MC, Smiell JM, et al. Becaplermin gel in the treatment of pressure ulcers: a phase II randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Wound Repair Regen*, 1999, 7(3):141-147.
- [11] Bhansali A, Venkatesh S, Dutta P, et al. Which is the better option: recombinant human PDGF-BB 0.01% gel or standard wound care, in diabetic neuropathic large plantar ulcers off-loaded by a customized contact cast? *Diabetes Res Clin Pract*, 2009, 83(1):13-16.
- [12] Freedman BM, Oplinger EH, Freedman IS. Topical becaplermin improves outcomes in work related fingertip injuries. *J Trauma*, 2005, 59(4):965-968.
- [13] Pereira CT, Herndon DN, Rucker R, et al. Liposomal gene transfer of keratinocyte growth factor improves wound healing by altering growth factor and collagen expression. *J Surg Res*, 2007, 139(2):222-228.
- [14] 宗宪磊,蔡景龙,姜笃银,等. 成纤维细胞生长因子在皮肤创面组织修复中的应用. 中国医药生物技术, 2008, 3(1):54-57.
- [15] Fu X, Shen Z, Chen Y, et al. Randomised placebo-controlled trial of use of topical recombinant bovine basic fibroblast growth factor for second-degree burns. *Lancet*, 1998, 352(9141):1661-1664.
- [16] Akita S, Akino K, Imaizumi T, et al. Basic fibroblast growth factor accelerates and improves second-degree burn wound healing. *Wound Repair Regen*, 2008, 16(5):635-641.
- [17] Ma B, Cheng DS, Xia ZF, et al. Randomized, multicenter, double-blind, and placebo controlled trial using topical recombinant human acidic fibroblast growth factor for deep partial-thickness burns and skin graft donor site. *Wound Repair Regen*, 2007, 15(6):795-799.
- [18] Hirshberg J, Coleman J, Marchant B, et al. TGF-beta3 in the treatment of pressure ulcers: a preliminary report. *Adv Skin Wound Care*, 2001, 14(2):91-95.
- [19] Ferguson MW, Duncan J, Bond J, et al. Prophylactic administration of avotermin for improvement of skin scarring: three double-blind, placebo-controlled, phase I/II studies. *Lancet*, 2009, 373(9671):1264-1274.
- [20] Pastore S, Mascia F, Mariani V, et al. The epidermal growth factor receptor system in skin repair and inflammation. *J Invest Dermatol*, 2008, 128(6):1365-1374.
- [21] Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev*, 2003, 83(3):835-870.
- [22] Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, et al. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen*, 2008, 16(5):585-601.

(收稿日期:2009-09-21)

(本文编辑:张红)