

加快创面处理领域的干细胞研究

胡大海

Expediting the study on the role of stem cells in wound treatment HU Da-hai. Burns Center of PLA, Department of Burns and Cutaneous Surgery, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

【Abstract】 The restoration of destroyed skin tissue in extensive deep burn injury has been perplexing burn surgeons for a long time due to impossibility of *de novo* formation of true skin in the process of burn wound healing with the current treatment methods. Stem cells possess the capacity to repair the damaged tissue through regeneration of the original structure and function, and it is considered as the expected ideal outcome of burn wound healing and also the final goal of multidisciplinary wound managements. In the skin tissue, the resident stem cells do exist, and they retain an autonomous self-renewal potential, and they respond to guiding signals to differentiate in repairing burn wound. Besides, the remote mesenchymal stem cells and the adjacent adipose-derived stem cells have been shown to be involved in burn wound healing. The basic studies demonstrated that the microenvironmental feature or extracellular regulators, the selective activation of intracellular signaling pathways, and the expression of specific genes have a significant influence on the proliferation, differentiation or function of stem cells in wound repair. Therefore, further investigation and manipulation of the molecular mechanisms by which stem cells could participate well in regenerating skin tissue would be a valuable and promising way in burn wound treatment. The recent discovery of reprogramming a mature body cell into a pluripotent stem cell, which can then be converted to any type of human body cell sheds a new light to regenerative medicine. Stem cell-based regeneration is offering the next coming frontier of medical therapy by yielding new treatment through delivery of pluripotent stem cells to achieve structural and functional repair in the damaged tissues or organs due to trauma or chronic diseases. Therefore, it is a pressing task for us to expedite the study on the role and utility of stem cells in burn wound treatment, especially aiming to explore the possibility in regenerating skin appendages or even the entire structure of the normal skin, and avoiding the formation of hypertrophic scar or chronic wound after burn.

【Key words】 Burns; Stem cells; Regenerative medicine; Wound repair

【关键词】 烧伤; 干细胞; 再生医学; 创面修复

干细胞基础研究的深入,为创面处理尤其是探索解决大面积深度烧伤创面修复的疑难问题,提供

了新的途径和契机。基于近年来干细胞基础研究获得的许多突破性进展,医学界各临床学科均加快了干细胞的应用研究。本文仅从与烧伤创面修复、愈合相关的几个方面,浅谈重视和加快创面处理领域干细胞研究的重要意义,供同道讨论。

1 重视创面修复中内源性干细胞的功能研究

人类对干细胞功能进行研究,目的之一是利用其多向分化潜能实现损伤组织的修复与再生。迄今为止,胚胎干细胞的应用仍面临难以克服的伦理学问题。随着研究的深入,人们了解到成体干细胞的功能远较早期获悉的丰富。不同深度皮肤烧伤,愈合结果迥异。造成这种差异的组织病理学损伤机制主要是,深度烧伤致真皮深层或全层损伤后,人类皮肤组织的自然修复尚不能达到使正常结构再生的程度,而是以瘢痕形成的方式愈合,故难以恢复原有的生理功能和外观特征。创面愈合过程涉及炎症反应,细胞增殖、迁移、分化及 ECM 合成等复杂环节^[1]。正常皮肤存在一定量的干细胞,它们参与创面修复并发挥重要作用^[2]。鉴于干细胞潜在的多向分化再生能力,人们已从多个方面探索深度烧伤后如何更好启动局部残余干细胞,以期获得更为理想的局部再生修复效果。这些探索涉及各种药物的应用,最大限度地保护局部含干细胞的残余皮肤及附件结构,利用各种多肽生长因子等,促进干细胞增殖、迁移、分化从而修复皮肤缺损。

除局部组织内的干细胞,近年来远隔部位骨髓间充质干细胞 (bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BMSC) 等作为内源性干细胞,参与皮肤局部损伤修复的重要意义也受到关注^[3-4]。BMSC 具有广泛的分化潜能,对深度烧伤创面的再生修复可能具有更为重要的作用。我国学者利用 BMSC 做种子细胞,在大面积深度烧伤患者瘢痕愈合且无汗腺区域重建了出汗功能,这是迄今为止人类利用干细胞突破“深度烧伤后汗腺不能再生”这一障碍的首次报道^[5]。Rea 等^[6]利用转基因动物模型证实,烧伤创面早期即有骨髓来源的炎性细胞渗入,在随后创面愈合过程中,大于 50% 的骨髓来源细胞呈现 Fb



DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2010.04.001

作者单位:710032 西安,第四军医大学西京医院全军烧伤中心、烧伤与皮肤外科

表型,且有较小比例呈现 KC 表型而持续存在于愈合部位。这些研究结果提示,在关注创面局部残余干细胞作用的同时,尚需重视借助全身治疗的方法和途径启动远隔部位内源性多能干细胞的相关研究,以期获得对创面局部干细胞缺失的内源性补充,从而使局部组织再生。例如烧伤后采用一定的干预骨髓反应措施促进干细胞释放,使其进入创面并参与创面愈合过程,可能对深度烧伤创面愈合,以及皮肤附件甚至全层皮肤再生具有重要意义。

2 重视局部微环境对启动干细胞再生和修复创面影响的研究

干细胞增殖或分化,受到所处微环境各种因素,包括维系干细胞龛(stem cell niche)的空间结构信号、生物化学信号、生物力学信号等的调控。例如 ECM、可溶性生长因子及机械力等的作用,均可明显引导间充质干细胞(MSC)的分化取向。要使干细胞按照需要分化为特定的细胞株,需有选择性地活化特定信号通路,使特定靶基因表达,并通过表观遗传机制维持相应的细胞表型状态^[7]。启动皮肤损伤处残存的原位干细胞、机体远位迁移归巢的内源性干细胞或外源性给予的干细胞等,按创面修复再生需求定向增殖分化,是非常值得探索的促进局部创面愈合的治疗途径。研究表明,Hh、Wnt、TGF- β 、成纤维细胞生长因子、Notch 等信号通路,对决定组织表现形式和再生具有关键作用,近年来有关调控这些信号通路的细胞间小分子调节因子(small-molecule regulator, SMR)的重要作用逐渐被揭示^[8-9]。以干细胞所处微环境内的 SMR 为靶点,研究其启动及调节决定干细胞增殖分化的信号通路和基因的效应与机制,将具有重要的科学意义。同时,相关研究结果易于转化为临床促进创面再生修复的有效治疗手段。相信该方面的深入研究,将有助于认识干细胞分化增殖的分子调控机制,以及开辟新的创面药物研发途径。

有关氧分子与干细胞分化增殖等生物特性间关系的研究,已向我们展示了创面微环境内 SMR 对干细胞的高效调节作用。氧分子系干细胞生存的组织微环境内的基本成员,组织氧分子浓度的改变,特别是低氧,为烧伤等组织损伤后最常见的病理生理反应,因此低氧也是创面内干细胞微环境常见状态之一。Lee 等^[10]在体外利用体积分数 2% O₂ 模拟体内组织低氧状态,证明可有效促进脂肪来源干细胞(adipose-derived stem cells, ADSC)的增殖,同时上调

ADSC 对血管内皮生长因子(VEGF)和 bFGF 的表达和分泌;在体试验中已观察到该效应可加快创面愈合速度。研究显示,适当的低氧状态作为一种刺激信号,可对干细胞的许多生物学特性包括增殖、多能性的维持、定向分化、合成并分泌特异性生长因子等进行有效调控^[11]。烧伤创面及其相邻组织存在炎症及氧化应激反应,这些均可造成局部微环境氧缺乏,进一步阐明这种特殊缺氧状态与局部或外来干细胞活化,及其参与创面再生间的关系,对探索有效利用干细胞治疗创面有重要意义。

3 诱导性多能干细胞带给创面处理的启示

由人体皮肤 Fb 转入有限的转录因子基因(Oct4、Sox2、Klf4、c-Myc 或 Oct4、Sox2、Nanog、Lin28)实现重编程获得诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells)的成功^[12-13],表明细胞特定基因的表达在确定细胞分化状态中的决定性作用,即干细胞内的基因调控表达主宰着细胞的分化取向和表现特征。此外,决定细胞分化状态的关键基因数量有限,提示其具有高效性和细胞潜在的易于重编程的可实现性。最近,Vierbuchen 等^[14]经过筛选利用 Ascl1、Brn2 (Pou3f2)、Myt1l 基因使成体 Fb 直接转化为诱导性神经元细胞(induced neuronal cells),证明了跨胚层成体细胞间转化的可实现性。上述具有里程碑意义的细胞生物学领域的突破,为创面处理特别是深度大面积烧伤创面治疗带来了新希望,启示我们参与创面修复的细胞,本质上具有潜在的、可调控的多能转化功能。深入揭示创面组织内干细胞相关基因表达调控机制,建立调控关键基因的技术路径,可能对于最终实现深度烧伤创面理想的再生修复至关重要,并且有助于阐明皮肤再生机制,意义重大。

4 重视创面病理性愈合中干细胞作用机制的研究

创面愈合后瘢痕增生和迁延不愈形成慢性创面,是创面组织修复反应过度和低下 2 种相反愈合状态,为目前临床创面处理过程中病理性愈合的两大疑难问题。针对上述异常组织修复反应机制,人们已从多个相关方面进行了大量探索研究,但尚未完全阐明其中复杂的细胞分子关系^[15-16]。从组织修复的关键环节分析,创面愈合以修复细胞的增殖及分化功能最为重要。近年来,随着干细胞多功能性的生物学作用逐渐被揭示,特别是转基因修饰标记干细胞技术的成熟,已证实伤后 MSC 不但可进入

皮肤创面损伤部位,并且能够分化或转分化(trans-differentiation)形成多种皮肤特异性细胞^[17]。基于干细胞本身的生物学特性及其在创面组织修复中的重要作用,可以推测:创面愈合的病理性失调与干细胞“非理想化增殖或分化”密切相关。例如,创面愈合后期形成增生性瘢痕的效应细胞(主要是 Fb)的增殖及代谢失调。利用骨髓嵌合体(bone marrow chimera)动物模型证实,绝大多数进入烧伤部位的 BMSC 在创面愈合后期呈现 Fb 表型;早期进入烧伤部位的 BMSC 则主要呈现炎症反应细胞表型,而在创面愈合早期炎症细胞的反应状态和程度与瘢痕形成直接相关^[6,15]。人们对干细胞与瘢痕形成间关系的研究刚刚开始,从细胞本身的功能与处于构成组织实体结构的核心作用分析,该方面的研究很可能为人类最终认识瘢痕形成的本质提供新的、极有价值的科学依据。同增生性瘢痕愈合反应过度相反,慢性难愈性创面的主要病理表现是局部组织内参与修复的细胞呈现不活泼的低反应性,体现在细胞增殖、迁移、分化等修复功能下降,因此导致创面局部血管新生、再上皮化等迟缓。这种创面修复功能低下涉及的始动因素极其复杂,但其最终效应与干细胞功能有着直接关系。

归纳起来,干细胞在创面愈合中的关键作用包括 2 个方面:一是直接参与损伤组织的重建,主要包括干细胞的增殖、迁移、归巢、分化等;二是以调节性功能细胞的方式,间接参与组织损伤的修复重建,主要涉及干细胞激活后以旁分泌形式分泌大量生物活性分子,促进其他修复细胞的功能。针对前者已有大量实验研究,对于后者的研究近来亦引起广泛关注。例如,折涛等^[18]曾观察到,在一定外源性激动剂作用下,ADSC 可借助旁分泌的肝细胞生长因子等,对 HaCaT 细胞产生明显促增殖和迁移作用。以一定程度的缺氧刺激作为活化 ADSC 的诱导条件,不仅能促进 ADSC 自身增殖,还可激活 ADSC 合成和分泌大量巨噬细胞刺激因子、VEGF、bFGF 等,ADSC 借助对上述生物活性因子的旁分泌机制促进毛发生长、刺激缺氧组织血管再生、加快创面愈合^[10-11,19]。有关 ADSC 上述机制的研究,对于探讨利用 ADSC 促进大面积深度烧伤后的创面愈合甚或再生可能非常重要,因为皮肤表皮和真皮组织结构与含有 ADSC 的皮下脂肪组织最为邻近。因 ADSC 具有耐受缺氧且被活化的特性,可能为其在逃避严重烧伤休克期因局部微循环障碍造成的细胞缺氧损伤,进而促进组织低氧状态改善,启动组织修复再生

等过程中发挥积极作用提供了保障。此外,ADSC 具有来源丰富、体外培养条件要求低、易于传代大量扩增等生物学特征,因此便于研究和临床应用^[20]。针对慢性难愈性创面,深入研究创面组织内 ADSC 的“病理状态”,探索促使其活化的干预方法,或给予外源性 ADSC,可有效改善该类创面血供并促进其愈合。

5 加速干细胞在创面处理中应用的基础研究

以干细胞为基础的再生医学,开辟了医学治疗的新纪元,因其可借助于来源不受限制的自体或异体的、自然或基因修饰的前体细胞,修复受损组织或器官的功能与结构^[21]。烧伤医学历经半个多世纪的快速发展,已跨入亟须实现大面积深度创面功能与结构理想修复的阶段。因此,加快干细胞在烧伤创面处理领域的研究,具有特殊科学意义和重要临床应用价值。我们有理由相信:结合烧伤创面的病理损伤特征,加速相关干细胞应用基础研究,必将为最终实现烧伤创面外观和功能的理想修复作出贡献。

参考文献

- [1] Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med*, 1999, 341(10):738-746.
- [2] Fuchs E. Finding one's niche in the skin. *Cell Stem Cell*, 2009, 4(6):499-502.
- [3] Borue X, Lee S, Grove J, et al. Bone marrow-derived cells contribute to epithelial engraftment during wound healing. *Am J Pathol*, 2004, 165(5):1767-1772.
- [4] Harris RG, Herzog EL, Bruscia EM, et al. Lack of a fusion requirement for development of bone marrow-derived epithelia. *Science*, 2004, 305(5680):90-93.
- [5] Sheng Z, Fu X, Cai S, et al. Regeneration of functional sweat gland-like structures by transplanted differentiated bone marrow mesenchymal stem cells. *Wound Repair Regen*, 2009, 17(3):427-435.
- [6] Rea S, Giles NL, Webb S, et al. Bone marrow-derived cells in the healing burn wound--more than just inflammation. *Burns*, 2009, 35(3):356-364.
- [7] Firestone AJ, Chen JK. Controlling destiny through chemistry: small-molecule regulators of cell fate. *ACS Chem Biol*, 2010, 5(1):15-34.
- [8] Xu Y, Shi Y, Ding S. A chemical approach to stem-cell biology and regenerative medicine. *Nature*, 2008, 453(7193):338-344.
- [9] Schugar RC, Robbins PD, Deasy BM. Small molecules in stem cell self-renewal and differentiation. *Gene Ther*, 2008, 15(2):126-135.
- [10] Lee EY, Xia Y, Kim WS, et al. Hypoxia-enhanced wound-healing function of adipose-derived stem cells: increase in stem cell proliferation and up-regulation of VEGF and bFGF. *Wound Repair Regen*, 2009, 17(4):540-547.
- [11] Abdollahi H, Harris LJ, Zhang P, et al. The role of hypoxia in stem cell differentiation and therapeutics. *J Surg Res*, 2009, E1 [2010-06-09]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20080246>. [published online ahead of print October 24, 2009].

[12] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 2007,131(5):861-872.

[13] Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*, 2007,318(5858):1917-1920.

[14] Vierbuchen T, Ostermeier A, Pang ZP, et al. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature*, 2010,463(7284):1035-1041.

[15] van der Veer WM, Bloemen MC, Ulrich MM, et al. Potential cellular and molecular causes of hypertrophic scar formation. *Burns*, 2009,35(1):15-29.

[16] Hanson SE, Bentz ML, Hematti P. Mesenchymal stem cell therapy for nonhealing cutaneous wounds. *Plast Reconstr Surg*, 2010, 125(2):510-516.

[17] Sasaki M, Abe R, Fujita Y, et al. Mesenchymal stem cells are recruited into wounded skin and contribute to wound repair by transdifferentiation into multiple skin cell type. *J Immunol*, 2008,180(4):2581-2587.

[18] 折涛,胡大海,张军,等. 胰岛素干预后脂肪来源干细胞分泌功能对 HaCaT 细胞生物学影响. *中国修复重建外科杂志*, 2009,23(6):727-731.

[19] Park BS, Kim WS, Choi JS, et al. Hair growth stimulated by conditioned medium of adipose-derived stem cells is enhanced by hypoxia; evidence of increased growth factor secretion. *Biomed Res*, 2010,31(1):27-34.

[20] 折涛,胡大海. 组织工程理想的种子细胞——脂肪来源基质细胞的研究进展. *中华创伤杂志*,2008, 24(6):476-478.

[21] Nelson TJ, Behfar A, Terzic A. Strategies for therapeutic repair: The "R³" regenerative medicine paradigm. *Clin Transl Sci*, 2008,1(2):168-171.

(收稿日期:2010-06-09)
(本文编辑:谢秋红)

· 消息 ·

本刊编辑部在中华医学会杂志社劳动技能大赛中展示风采

2010 年 7 月 12—13 日,中华医学会杂志社第四届劳动技能大赛在北京隆重举行。围绕“杂志,因我而美好”的主题,来自北京、天津、上海、重庆、广州 29 个编辑部和 2 个杂志社部门的 15 支代表队各显神通。

由本刊编辑部 5 名成员组成的“麻辣烫队”,怀着极大的热情积极备战参赛,编辑部王旭主任亲临现场助威,在“家”坚守工作的张红、罗勤老师通过信息传递鼓励与支持。大家抱着“重在参与、重在学习”的心态,在业务技能(龙景)、个人演讲(付佑梅、莫愚)、调研报告(谢秋红)、才艺展示(王坤)4 个竞赛环节中,充分凝聚团队智慧、充分发挥团队优势、充分展示团队风采,既历练个人能力、又开阔学习视野。付佑梅的演讲生动有趣、反响热烈,《编辑学报》总编、中国高校自然科学学报研究会名誉理事长陈浩元老师当场约稿,希望发表在杂志上让更多的读者分享;谢秋红在“调研报告”比赛中获优胜奖;“麻辣烫队”最终获得集体优胜奖。

比赛现场精彩纷呈,业务技能作品展示台前一幅幅别出心裁的页面设计、投影幕布上一组组精美的多媒体演示,演讲台上一句句或委婉或激越的陈词、报告厅中一声声慷慨激昂的“放眼世界、国门内外”,才艺展示台上各队灵动有趣的说学逗唱,都让大家切身感悟到“路漫漫其修远兮、吾将上下而求索”。

这次竞赛不仅给予我们年轻编辑展示自我、交流学习的机会,也加强了系列杂志编辑部之间的沟通联系。赛后利用这次难得的集体进京机会,“麻辣烫队”专程组织到杂志社参观学习,当面请教沟通“远程稿件管理系统”的使用操作。

真诚感谢在本次比赛“调研报告”环节中所有参与调查问卷信息反馈的朋友们!

本刊编辑部



图 1 “麻辣烫队”与大赛评委合影



图 2 “麻辣烫队”参赛作品之一:我爱我家

图 3 中华医学会杂志社游苏宁社长兼总编辑与“麻辣烫队”合影