

· 综述 ·

## 危重烧伤相关性肾上腺皮质功能不全研究进展

沈拓<sup>1</sup> 常菲<sup>2</sup> 朱峰<sup>1</sup>

<sup>1</sup>海军军医大学第一附属医院烧伤外科,全军烧伤研究所,上海 200433;<sup>2</sup>张家港市第一人民医院(苏州大学附属张家港医院)烧伤整形科 215600

通信作者:朱峰,Email:alexzhujunchi@163.com



**【摘要】** 尽管危重症相关性肾上腺皮质功能不全(CIRCI)在诊疗方面已取得较大进步,但肾上腺皮质功能不全在危重烧伤患者中是否普遍存在,其临床诊治和研究进展如何尚不清楚。危重烧伤是一个累及全身多器官损害的全身性疾病,病程较长,往往存在持续炎症反应、免疫抑制和分解代谢。本文在 CIRCI 研究基础上,对危重烧伤相关性肾上腺皮质功能不全(SBRCI)的流行病学证据、可能作用机制、可疑临床表现、诊断、治疗等进行简单综述,以期对 SBRCI 的临床诊治有所帮助。

**【关键词】** 烧伤; 危重症相关性肾上腺皮质功能不全; 危重烧伤相关性肾上腺皮质功能不全; 下丘脑-垂体-肾上腺轴; 持续炎症反应-免疫抑制-分解代谢增强综合征

基金项目:全军后勤科研计划重大专项(AWS14C001)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.12.011

### Advances in the research of severe burn-related corticosteroid insufficiency

Shen Tuo<sup>1</sup>, Chang Fei<sup>2</sup>, Zhu Feng<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Burn Institute of PLA, Department of Burn Surgery, the First Affiliated Hospital, Naval Medical University, Shanghai 200433, China; <sup>2</sup>Department of Burns and Plastic Surgery, Zhangjiagang First People's Hospital (Zhangjiagang Hospital Affiliated to Soochow University), Zhangjiagang 215600, China

Corresponding author: Zhu Feng, Email: alexzhujunchi@163.com

**【Abstract】** Despite considerable advances in diagnosis and treatment of the critical illness-related corticosteroid insufficiency (CIRCI), it is still not clear that whether it is common in severe burn patients or not, and how clinical diagnosis, treatment, and research progress. Severe burn is a systemic disease involving the damage of multiple organs of the whole body. The course of the disease is relatively long, and there often exists persistent inflammation, immunosuppression, and catabolism. On the basis of CIRCI study, the epidemiological evidence, possible mechanism, suspicious clinical manifestations, diagnosis and treatment of severe burn-related corticosteroid insufficiency (SBRCI) were briefly reviewed in this article in order to help clinical diagnosis and treatment of SBRCI.

**【Key words】** Burns; Critical illness-related corticosteroid insufficiency; Severe burn-related corticosteroid insufficiency; Hypothalamic-pituitary-adrenal axis; Persistent inflammation, immunosuppression and catabolism syndrome

**Fund program:** Major Special Program for Science and

Technology of the General Logistics Department (AWS14C001)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.12.011

危重症相关性肾上腺皮质功能不全(critical illness-related corticosteroid insufficiency, CIRCI)是指在危重状态下,下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴出现功能障碍和/或糖皮质激素抵抗,导致皮质类固醇激素绝对或相对数量和/或活性不足,进而导致机体抗炎效应和维持循环稳态等适应应激能力减弱<sup>[1]</sup>。CIRCI在危重症患者中的发病率和导致的病死率较高,分别为44%和39.3%<sup>[2]</sup>,在脓毒症患者中尤其高,一旦继发该疾病即提示预后不良。

危重烧伤患者经历休克、感染、手术等打击,病程长、消耗大,呈现持续炎症反应-免疫抑制-分解代谢增强状态<sup>[3]</sup>,在不存在HPA轴结构性缺陷的情况下,容易发生危重烧伤相关性肾上腺皮质功能不全(severe burn-related corticosteroid insufficiency, SBRCI),影响预后。

### 1 SBRCI 流行病学资料

有限的临床调研显示,脓毒症、烧创伤等的 CIRCI 发生率差异较高,为0.66%~76.50%<sup>[4]</sup>。这可能与临床医护人员漏诊、误诊或者对 CIRCI 理解不深有关。有研究者指出, CIRCI 发病率随年龄增长呈增高趋势,与预后显著相关<sup>[5-7]</sup>。

关于 SBRCI,近期一项回顾性单中心的描述性研究显示,在急性危重烧伤患者中,吸入性损伤和升高的 Charlson 合并症指数是 SBRCI 的高危因素,虽然数据有限,但 SBRCI 与危重烧伤患者的病死率、住院时间以及机械通气时间存在潜在关系<sup>[8]</sup>。Mosier 等<sup>[9]</sup>的综述中提及烧伤患者并发 SBRCI 的风险极高,尤其是大面积烧伤或者合并吸入性损伤的老年患者。部分研究指出,一种常用于临床烧伤患者快速诱导插管的麻醉用药——依托咪酯,与 SBRCI 的发生密切相关,并将依托咪酯所致 SBRCI 称作依托咪酯相关性皮质醇功能不足。11 $\beta$ -羟化酶可促进 11 $\beta$ -脱氧可的松在肾上腺内的转化,依托咪酯通过抑制 11 $\beta$ -羟化酶的活性从而阻断皮质醇的合成<sup>[10-11]</sup>。因此,依托咪酯在烧伤或合并脓毒症、吸入性损伤等患者中的使用存在争议。然而,有关依托咪酯相关性皮质醇功能不足和 SBRCI 与危重烧伤预后关系的研究缺乏相应的数据和分析。

### 2 SBRCI 可能的作用机制

目前的研究提示, CIRCI 可能存在以下几点机制<sup>[12-17]</sup>: (1)皮质醇生成不足。①危重烧伤急性(肾前性、肾性)肾衰、低凝状态、弥散性血管内凝血(DIC)、容量不足以及酪氨

酸酶抑制剂等导致的肾上腺出血和坏死。②因膜联蛋白 A1-甲酰基肽受体调控的皮质醇储存耗竭和清道夫受体 B1 下调导致的酯化胆固醇的利用率降低。③免疫细胞、Toll 样受体、细胞因子、某些药物(如镇静剂、皮质类固醇等)以及某些促肾上腺皮质激素( ACTH )样分子诱导的类固醇生成受抑。(2) ACTH 释放素/ACTH 合成改变。① DIC、容量不足以及血管活性药物治疗导致的下丘脑、垂体以及肾上腺的出血或者坏死。② 胶质细胞/一氧化氮介导的神经元凋亡、非 ACTH 依赖性皮质醇合成上调增加循环皮质醇的负反馈、某些药物(如镇静剂、抗炎药物、精神类药物等)、不适当终止糖皮质激素治疗等直接抑制 ACTH 合成。(3) 皮质醇代谢改变。① 肝脏合成皮质醇结合球蛋白和白蛋白所导致的皮质醇转运下降。② 因胆汁酸作用使肝内糖皮质激素-5-还原酶和肾内羟化类固醇脱氢酶的表达降低和失活所导致的皮质醇分解降低。(4) 皮质醇组织抵抗。因糖皮质激素受体  $\alpha$  (GR- $\alpha$ ) 密度和转录降低以及核因子  $\kappa$ B 过度活化导致的 GR- $\alpha$  活性不足。

目前没有关于 SBRCI 机制的研究和报道,上述机制很多在危重烧伤的不同阶段中发生,因此都可能是导致 SBRCI 的重要机制。大部分烧伤救治工作者认为,随着烧伤面积的增加,容量恢复变得越来越困难和复杂,导致以乳酸水平升高为特征的器官末端灌注不足。在烧伤液体复苏过程中,由于心排血量的重新分布,一些组织器官血管床出现了相对的灌注不良、缺血和可能的坏死,其中包括肾脏、胃肠系统和肾上腺。部分或隐匿性肾上腺缺血和/或坏死可导致烧伤患者病情危急期的即刻或延迟性 SBRCI<sup>[18]</sup>。同时,危重烧伤早期猛烈的 SIRS 以及脓毒症都将影响皮质醇生成、合成、代谢等各个环节,造成皮质醇功能不足<sup>[19]</sup>。

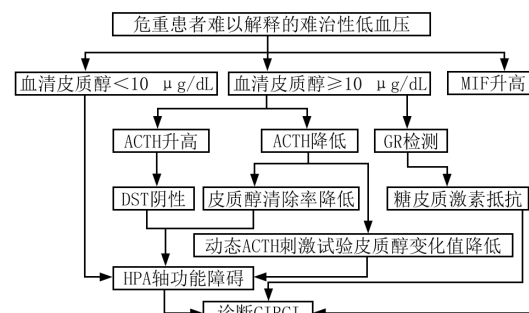
### 3 SBRCI 的可疑临床表现

危重烧伤涉及的脏器损害较多,应激较强,SBRCI 的临床表现缺乏特异性,容易被原发性器官损害的表现所掩盖。与 CIRCI 相似,若烧伤患者临床出现以下表现之一时,应警惕 SBRCI 的发生并尽快诊治<sup>[13]</sup>:(1) 顽固性低钠血症,且常规补钠治疗效果不佳。(2) 不能被补液和血管升压药治疗所逆转的低血压。(3) 不明原因的低血糖。(4) 出现恶心、呕吐、心动过速、四肢厥冷、脱水、体质量减轻及不明原因腹痛或腰背部疼痛。(5) 不明原因高热或低体温,抗菌药物治疗无效。(6) 难以解释的意识改变,包括精神萎靡、淡漠、抑郁甚至昏迷。(7) 较长时间的或者不能解释的白细胞计数减少、贫血、营养代谢低下、甲状腺功能减退等。

### 4 SBRCI 的诊断

根据早前的指南和共识,CIRCI 诊断主要依靠标准 ACTH 刺激试验,但是该诊断标准存在较多争议。近来有专家提出用地塞米松抑制试验、皮质醇代谢检测、动态 ACTH 刺激试验以及糖皮质激素受体检测和巨噬细胞移动抑制因子检测等新方法重新评估 CIRCI。然而,部分方法或者属于小样本研究或者临床开展尚未成熟,大部分难以实施。2017 年,美国重症医学会和欧洲危重病医学会更新了 2008 年 CIRCI 的诊断标准<sup>[1]</sup>:(1) 建议使用 250  $\mu$ g 的高剂量

而非 1  $\mu$ g 的低剂量 ACTH 刺激试验诊断 CIRCI;建议使用 250  $\mu$ g 的 ACTH 刺激试验而非使用 50 ~ 300 mg 的氢化可的松后的血流动力学反应诊断 CIRCI(低证据建议)。(2) 不再使用随机血清皮质醇水平、游离皮质醇水平、唾液皮质醇水平以及 ACTH 水平来诊断 CIRCI。国内学者根据最新指南和临床经验,也绘制了一个 CIRCI 诊断流程图<sup>[20]</sup>(图 1),对于 SBRCI 的诊断具有一定参考价值。



注:该图引自参考文献[20];ACTH 为促肾上腺皮质激素,DST 为地塞米松抑制试验,HPA 为下丘脑-垂体-肾上腺,CIRCI 为危重症相关性肾上腺皮质功能不全,GR 为糖皮质激素受体,MIF 为巨噬细胞移动抑制因子;10  $\mu$ g/dL = 100  $\mu$ g/L

图 1 CIRCI 诊断流程图

早期有一些文献描述了危重烧伤后体内皮质醇的变化,结果不一。有的提示皮质醇和 ACTH 水平都是升高的,也有部分认为危重烧伤体内肾上腺皮质激素是严重不足的<sup>[21-24]</sup>。目前,只有通过仔细观察危重烧伤患者的临床表现,并结合血清皮质醇水平(总皮质醇水平或游离皮质醇水平或清晨唾液皮质醇水平)以及标准 ACTH 刺激试验结果综合明确诊断 SBRCI。

### 5 SBRCI 的治疗

基于目前的研究和数据,CIRCI 的总体治疗方案多为静脉滴注氢化可的松。第 1 天首次使用剂量为 100 mg,之后根据患者个体情况,每 6 小时使用 50 ~ 100 mg;第 2 天使用剂量为每次 50 mg,共 4 次;第 3 天使用剂量为每次 25 mg,共 4 次;之后逐渐减量至适合的维持剂量,直至逐渐撤药<sup>[25]</sup>。其中脓毒症相关 CIRCI 的治疗:指南推荐,只有经充分补液复苏和中高剂量血管活性药物治疗后仍无法维持血压的感染性休克患者需要加用糖皮质激素治疗,推荐静脉滴注氢化可的松  $\leq$  400 mg/d,连用  $\geq$  3 d;停用血管活性药物后糖皮质激素应逐渐减量,不能突然停用;无休克症状的脓毒症患者不应使用糖皮质激素治疗;200 mg/d 氢化可的松应持续静脉滴注而非分次给药,以降低并发症发生率;在糖皮质激素减量过程中如果患者出现休克症状复发,则恢复减量前的治疗方案<sup>[26]</sup>。ARDS 相关 CIRCI 的治疗:PaO<sub>2</sub>/吸氧浓度分数  $<$  200 且在起病 14 d 以内的中重度 ARDS 建议使用糖皮质激素(低证据建议)<sup>[27]</sup>。重症创伤相关 CIRCI 的治疗:不建议重症创伤全身使用糖皮质激素(低证据建议)<sup>[28]</sup>。

目前没有太多有关氢化可的松应用于危重烧伤治疗及其结局的报道,也没有关于危重烧伤时氢化可的松用法用量

的研究。总体而言,SBRCI 的治疗原则和氢化可的松具体用法用量与一般 CIRCI 患者相同。临床治疗中,有以下情况之一者,应高度怀疑 SBRCI 并开始治疗:(1)早期顽固性休克。(2)出现难以纠正的低蛋白血症。(3)危重烧伤早期即出现降钙素原、IL-1、IL-6 以及 TNF- $\alpha$  显著升高。(4)诊断性使用氢化可的松后,危重烧伤患者对液体反应性、儿茶酚胺类药物的依赖以及脏器功能得到显著改善。

## 6 总结与展望

SBRCI 可简单描述为各类烧伤应激因子使正常的负反馈圈失衡。迄今为止,尚无 SBRCI 统一诊断和治疗标准,目前仍以 CIRCI 的诊治标准为主要依据,业界亟须出台 SBRCI 的诊治共识。寻找准确可行的评价方法,选择适当的治疗时机及匹配的治疗方案是当下迫切需要解决的关键问题,还应尽早开展 SBRCI 相关研究。同时必须提醒广大烧伤专科医师的是,危重烧伤的救治是综合性的,早期积极合理的复苏、全身组织氧合的满足和保障、尽早封闭创面、防治感染、早期肠内营养、早期活动等综合措施是防治 SBRCI 的关键。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] Marik PE, Pastores SM, Annane D, et al. Recommendations for the diagnosis and management of corticosteroid insufficiency in critically ill adult patients: consensus statements from an international task force by the American College of Critical Care Medicine [J]. *Crit Care Med*, 2008, 36(6): 1937-1949. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31817603ba.
- [2] Yang Y, Liu L, Jiang D, et al. Critical illness-related corticosteroid insufficiency after multiple traumas: a multicenter, prospective cohort study [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2014, 76(6): 1390-1396. DOI: 10.1097/TA.0000000000000221.
- [3] Rosenthal MD, Moore FA. Persistent inflammation, immunosuppression, and catabolism: evolution of multiple organ dysfunction [J]. *Surg Infect (Larchmt)*, 2016, 17(2): 167-172. DOI: 10.1089/sur.2015.184.
- [4] Annane D, Sébille V, Charpentier C, et al. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock [J]. *JAMA*, 2002, 288(7): 862-871. DOI: 10.1001/jama.288.7.862.
- [5] Pene F, Hyvernat H, Mallet V, et al. Prognostic value of relative adrenal insufficiency after out-of-hospital cardiac arrest [J]. *Intensive Care Med*, 2005, 31(5): 627-633. DOI: 10.1007/s00134-005-2603-7.
- [6] Salluh JJ, Verdeal JC, Mello GW, et al. Cortisol levels in patients with severe community-acquired pneumonia [J]. *Intensive Care Med*, 2006, 32(4): 595-598. DOI: 10.1007/s00134-005-0046-9.
- [7] Zaloga GP, Marik P. Hypothalamic-pituitary-adrenal insufficiency [J]. *Crit Care Clin*, 2001, 17(1): 25-41. DOI: 10.1016/S0749-0704(05)70150-0.
- [8] Graves KK, Faraklas I, Cochran A. Identification of risk factors associated with critical illness related corticosteroid insufficiency in burn patients [J]. *J Burn Care Res*, 2012, 33(3): 330-335. DOI: 10.1097/BCR.0b013e318239cc3d.
- [9] Mosier MJ, Lasinski AM, Gamelli RL. Suspected adrenal insufficiency in critically ill burned patients: etomidate-induced or critical illness-related corticosteroid insufficiency? -A review of the literature [J]. *J Burn Care Res*, 2015, 36(2): 272-278. DOI: 10.1097/BCR.0000000000000099.
- [10] Albert SG, Ariyan S, Rather A. The effect of etomidate on adrenal function in critical illness: a systematic review [J]. *Intensive Care Med*, 2011, 37(6): 901-910. DOI: 10.1007/s00134-011-2160-1.
- [11] Molenaar N, Bijkerk RM, Beishuizen A, et al. Steroidogenesis in the adrenal dysfunction of critical illness: impact of etomidate [J]. *Crit Care*, 2012, 16(4): R121. DOI: 10.1186/cc11415.
- [12] Annane D, Pastores SM, Arlt W, et al. Critical illness-related corticosteroid insufficiency (CIRCI): a narrative review from a multispecialty task force of the Society of Critical Care Medicine (SCCM) and the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) [J]. *Crit Care Med*, 2017, 45(12): 2089-2098. DOI: 10.1097/CCM.0000000000002724.
- [13] 马婧, 张伟. 危重症相关性肾上腺皮质功能不全的研究进展 [J/CD]. *中华重症医学电子杂志*, 2017, 3(3): 220-225. DOI: 10.3877/j.issn.2096-1537.2017.03.013.
- [14] Marik PE. Critical illness-related corticosteroid insufficiency [J]. *Chest*, 2009, 135(1): 181-193. DOI: 10.1378/chest.08-1149.
- [15] Lamberts SW, Bruining HA, de Jong FH. Corticosteroid therapy in severe illness [J]. *N Engl J Med*, 1997, 337(18): 1285-1292. DOI: 10.1056/NEJM199710303371807.
- [16] Shenker Y, Skatrud JB. Adrenal insufficiency in critically ill patients [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 163(7): 1520-1523. DOI: 10.1164/ajrcem.163.7.2012022.
- [17] Boonen E, Vervenne H, Meersseman P, et al. Reduced cortisol metabolism during critical illness [J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(16): 1477-1488. DOI: 10.1056/NEJMoa1214969.
- [18] Fuchs PCh, Bozkurt A, Johnen D, et al. Beneficial effect of corticosteroids in catecholamine-dependent septic burn patients [J]. *Burns*, 2007, 33(3): 306-311. DOI: 10.1016/j.burns.2006.07.026.
- [19] Winter W, Kamolz L, Donner A, et al. Hydrocortisone improved haemodynamics and fluid requirement in surviving but not non-surviving of severely burned patients [J]. *Burns*, 2003, 29(7): 717-720. DOI: 10.1016/S0305-4179(03)00148-7.
- [20] 胡文庆, 宋红转, 顾娟仙, 等. 危重病相关皮质类固醇激素不足诊断争议和进展 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2017, 26(10): 1200-1204. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2017.10.023.
- [21] Fuchs PCh, Groger A, Bozkurt A, et al. Cortisol in severely burned patients: investigations on disturbance of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis [J]. *Shock*, 2007, 28(6): 662-667. DOI: 10.1097/shk.0b0318123e53b.
- [22] Goverman J, Garcia-Toca M, Sheridan RL, et al. Relative adrenal insufficiency in the adult burn intensive care unit: a report of four cases [J]. *Burns*, 2008, 34(3): 421-424. DOI: 10.1016/j.burns.2007.01.013.
- [23] Năcul FE, Jardim A, MacCord F, et al. Hemodynamic instability secondary to adrenal insufficiency in a major burn patient [J]. *Burns*, 2002, 28(3): 270-272. DOI: 10.1016/S0305-4179(01)00081-x.
- [24] Palmieri TL, Levine S, Schonfeld-Warden N, et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to sustained stress after major burn injury in children [J]. *J Burn Care Res*, 2006, 27(5): 742-748. DOI: 10.1097/01.BCR.0000238098.43888.07.
- [25] Pastores SM, Annane D, Rochweg B, et al. Guidelines for the diagnosis and management of critical illness-related corticosteroid insufficiency (CIRCI) in critically ill patients (Part II): Society of Critical Care Medicine (SCCM) and European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) 2017 [J]. *Intensive Care Med*, 2018, 44(4): 474-477. DOI: 10.1007/s00134-017-4951-5.

- [26] Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign; international guidelines for management of sepsis and septic shock; 2016[J]. Intensive Care Med, 2017, 43(3): 304-377. DOI: 10.1007/s00134-017-4683-6.
- [27] Del Sorbo L, Goligher EC, McAuley DF, et al. Mechanical ventilation in adults with acute respiratory distress syndrome. Summary of the experimental evidence for the clinical practice guideline[J]. Ann Am Thorac Soc, 2017, 14(Suppl 4): S261-270. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201704-345OT.
- [28] Spahn DR, Bouillon B, Cerny V, et al. Management of bleeding and coagulopathy following major trauma; an updated European

guideline[J]. Crit Care, 2013, 17(2): R76. DOI: 10.1186/cc12685.

(收稿日期:2018-09-25)

#### 本文引用格式

沈拓,常非,朱峰. 危重烧伤相关性肾上腺皮质功能不全研究进展[J]. 中华烧伤杂志, 2019, 35(12): 884-887. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.12.011.

Shen T, Chang F, Zhu F. Advances in the research of severe burn-related corticosteroid insufficiency [J]. Chin J Burns, 2019, 35(12): 884-887. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.12.011.

## 牙源性干细胞在神经组织工程中的应用研究进展

王鹏 肖妍 张红艳

南昌大学第一附属医院烧伤科 330006

通信作者:张红艳, Email: zhycn2008@163.com

**【摘要】** 牙源性干细胞(DSC)是一类从牙体或牙周组织中分离得到的干细胞,包括恒牙牙髓干细胞、脱落乳牙牙髓干细胞、根尖乳头干细胞、牙周膜干细胞、牙囊前体干细胞等,DSC作为种子细胞为神经组织工程研究提供安全有效的细胞来源。本文就这些DSC促进神经修复再生的特点以及其在临床中的应用进行综述。

**【关键词】** 组织工程; 牙源性干细胞; 神经

**基金项目:** 2018年江西省研究生创新专项(YC2018-S119);上海吴孟超医学科技基金(JJHXM-2018030)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.12.012

### Advances in the research of application of dental stem cells in neural tissue engineering

Wang Peng, Xiao Yan, Zhang Hongyan

Department of Burns, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China

Corresponding author: Zhang Hongyan, Email: zhycn2008@163.com

**【Abstract】** Dental stem cell is a kind of stem cell isolated from dental hard tissue or periodontal tissue, including dental pulp stem cell, stem cell from human exfoliated deciduous teeth, stem cell from root apical papilla, periodontal ligament stem cell, dental follicle progenitor cell, and so on. As seed cell, dental stem cell provides safe and efficient cell source for nerve tissue engineering research. The review aims to introduce the characteristics of these dental stem cells in promoting the regeneration and preparation of nerve and the clinical application.

**【Key words】** Tissue engineering; Dental stem cells; Nerves

**Fund program:** Innovation Project for Postgraduates of Jiangxi Province in 2018 (YC2018-S119); Shanghai Wu Mengchao Medical Science Foundation (JJHXM-2018030)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.12.012

创伤、医源性损伤、神经退行性疾病可导致神经轴索变性、出现炎症反应,神经元坏死,中枢神经系统和周围神经系

统细胞结构改变。由于发育成熟的神经系统缺乏产生神经元和胶质细胞的前体细胞,因此,临床常规治疗中能够恢复的受损神经的生理功能非常有限<sup>[1]</sup>。生理状态下,机体可以通过多种DNA修复的途径维持基因组稳态,但是当DNA复制、转录、氧化代谢失调时就会影响神经细胞迁移、增殖、分化功能,最终影响突触连接形成新的神经系统<sup>[2]</sup>。不可逆转的神经元细胞损伤、丢失、坏死引起的神经系统疾病的治疗是一个世界性的难题<sup>[3]</sup>,近年来采用间充质干细胞替换、再生已发生神经退行性病和神经紊乱的细胞、组织,恢复其正常的生理功能,为解决这一难题提供了一条崭新的途径<sup>[4]</sup>。间充质干细胞存在于骨髓、脐带、胎盘、脂肪、牙齿、口腔黏膜、羊水、大脑等许多组织中,具有神经分化潜能<sup>[5]</sup>。如有研究者运用过表达胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)的脂肪源性间充质干细胞修复大鼠电损伤的坐骨神经<sup>[6]</sup>,有学者联合使用P物质与表皮干细胞治疗糖尿病大鼠周围神经病变<sup>[7]</sup>等,均取得了一定治疗效果。但是,与其他组织来源间充质干细胞相比,近年发现的牙源性干细胞(DSC)具有更好的生物性能。本文从5种DSC的生物学特性、临床应用前景及问题展望等3方面进行阐述,比较它们诱导神经修复再生能力及探讨其临床应用前景。

### 1 DSC 特性

DSC来源于颅神经嵴,容易获取,具有较高的可塑性和多向分化潜能,与其他来源的间充质干细胞相比,DSC具有更强的增殖、自我更新、分化能力和神经干细胞性能,可分化为软骨细胞、脂肪细胞、神经细胞、成骨细胞和肌细胞<sup>[8]</sup>。根据国际细胞治疗协会标准规定,DSC表达间充质干细胞表面标志物CD105、CD73、CD90,几乎不表达CD11b、CD14、CD19、CD34、CD79 $\alpha$ 、单核细胞人白细胞抗原DR(HLA-DR)<sup>[9]</sup>。DSC可分化为神经样细胞并表达重要的神经性标志物基质细胞抗原1(STRO-1)、巢蛋白、早期反应基因蛋白、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)、 $\beta$ 微管蛋白III<sup>[10]</sup>。口腔、颌面部区域拥有丰富的DSC,从脱落牙髓、恒牙牙髓、根尖乳头、牙周膜、牙



囊可以分离培养出相应的脱落乳牙髓干细胞 (SHED)、恒牙髓干细胞 (DPSC)、根尖乳头干细胞 (SCAP)、牙周膜干细胞 (PDLSC)、牙囊前体干细胞 (DFPC)<sup>[11]</sup>。

### 1.1 SHED 神经特性

SHED 来源于幼儿脱落乳牙的牙髓,具有大容量、无伦理纠纷、低成本等优点。SHED 高表达间充质干细胞表面标志物 CD90、CD73、八聚体结合转录因子 (OCT),也可表达神经元性细胞、胶质细胞表面标志物,如  $\beta$  微管蛋白 III、GFAP、巢蛋白、神经元特异性烯醇化酶、磷酸二酯酶<sup>[12]</sup>。有研究表明,口面部区域的干细胞表达功能性标志物程序性死亡受体 1 (PD-1)。其中,SHED 明显表达 PD-1 以维持干细胞增殖性能,PD-1/蛋白酪氨酸磷酸酶 2/胞外信号调节激酶 (ERK) 通过 Notch 信号通路调控 SHED 增殖,通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路抑制 SHED 分化<sup>[13]</sup>,可通过旁分泌方式分泌神经生长因子 (NGF)、脑源性神经营养因子 (BDNF)、神经营养因子 3 (NT3)、GDNF、睫状 NT、内皮生长因子、干细胞生长因子等多种 NT。体外实验表明,SHED 能分泌多种细胞因子,上调神经细胞、ECM、血管生成相关基因的表达;增强神经细胞的增殖、迁移能力;促进轴突、髓鞘修复、再生;刺激背根神经节神经突的生成,提高细胞活力<sup>[14]</sup>。SHED 具有良好的生物学特性,组织来源易得且无创伤,被认为是神经再生医学比较理想的种子细胞。

### 1.2 DPSC 神经特性

DPSC 是一类来源于牙髓的 DSC,以酶切法分离人阻生第三磨牙牙髓组织获得,表现为典型的 Fb 形态<sup>[15]</sup>,目前 DPSC 没有特异性表面标志物,其表达间充质干细胞、骨髓干细胞表面标志物 STRO-1、干细胞因子受体、CD34、CD146,胚胎干细胞表面标志物 OCT4,也可表达神经嵴标志物神经巢蛋白、CD271、SRY-盒包含蛋白 10<sup>[16-18]</sup>。DPSC 具有显著的神经分化潜能,可以表达多种 NT,如 BDNF、NGF、GDNF,诱导神经元和轴突再生,对黑质运动神经元、多巴胺能神经元等中枢神经系统的神经元有重要作用,也可表达免疫调节因子刺激血管形成、受损神经修复再生<sup>[1,19]</sup>。另有研究表明 DPSC 影响神经干细胞内源性招募产生神经球<sup>[20]</sup>。体外实验表明,碱性 FGF 和 NGF 可以通过激活 ERK、蛋白激酶 B、环磷酸腺苷、蛋白激酶 C 信号通路诱导 DPSC 分化为神经样细胞<sup>[21]</sup>。因此,DPSC 的特性使得其成为神经系统疾病细胞疗法的种子细胞之一<sup>[22]</sup>。

### 1.3 SCAP 神经特性

SCAP 来源于人未成熟恒牙根尖乳头的间充质干细胞,共表达间充质干细胞标志物 CD73、CD90、CD105<sup>[22]</sup>,表达神经性标志物酪氨酸羟化酶 1、神经源性分化因子、神经黏附分子、 $\beta$  微管蛋白 III,介导神经突、轴突增生,生物信息学分析显示 TGF- $\beta$ 、Wnt、MAPK 信号通路可以调控 SCAP 分化潜能,重组人骨形态发生蛋白 6 可以增强该细胞增殖、神经分化、血管生成的潜能<sup>[23]</sup>。体内外实验表明,SCAP 依赖 BDNF 机制驱使轴突靶向再生的化学信号,可以分泌 BDNF、GDNF 促进神经元轴突生长<sup>[24]</sup>。

### 1.4 PDLSC 神经特性

PDLSC 是从成人第三磨牙牙周膜提取的,表现为 Fb 形态,有良好的克隆性能,其增殖速率高于 DPSC,表达 CD29、

CD44、CD73、CD90、CD105、胚胎的阶段特异性细胞表面抗原 4、STRO-1、CD146、OCT4 等间充质干细胞表面标志物,不表达 CD45、CD34、CD14、HLA-DR<sup>[25]</sup>。研究指出,PDLSC 表达神经性标志物巢蛋白和性别决定区 Y 框蛋白 2,并且 EGF、FGF 可以促进 PDLSC 的神经标志物表达<sup>[26]</sup>。研究表明,PDLSC 通过分泌 NT 如 BDNF、NT3 和免疫抑制因子 IL-10、TGF- $\beta$ ,修复、再生受损神经<sup>[27]</sup>。近来有研究表明,辣木碱处理 PDLSC 后,巢蛋白、BDNF、生长相关蛋白 43、p45 基因表达上调<sup>[28]</sup>。PDLSC 的主要功能是修复牙周膜组织,在神经组织工程中的应用并不广泛。

### 1.5 DFPC 神经特性

DFPC 也叫牙囊干细胞,首次提取自人阻生第三磨牙的牙囊,有人牙囊 1、人牙囊 2、人牙囊 3 这 3 种形态,其中,人牙囊 2 表现为梭形,另外 2 种表现为多边形。DFPC 表达间充质干细胞表面标志物 OCT-4、ATP 结合匣式转运子 G2,也表达神经前体细胞标志物巢蛋白、Notch-1;DFPC 可以分化为神经细胞,分化后表现为小神经突样细胞形态<sup>[29-30]</sup>,TGF- $\beta$  信号通路诱导 DFPC 分化为胶质样细胞<sup>[31]</sup>。虽然 DFPC 具有良好的生物性能,但分离、神经分化机制、临床应用还有待进一步研究。

## 2 临床应用前景

SHED、DPSC、SCAP、PDLSC、DFPC 均可表达神经性标志物,分泌神经相关的细胞因子,具有分化为神经细胞的潜能。在中枢神经系统疾病脊髓神经损伤模型中,SHED、DPSC、DFPC、SCAP 可以抑制 IL-1 $\beta$  表达以控制炎症反应;抑制 ras 同源家族基因表达促进神经突再生;抑制磺酰脲类受体 1 减少出血性坏死;促进脊髓神经结构恢复,修复、再生脊髓神经损伤,其中,在神经修复再生方面,SHED、DPSC 应用较多<sup>[32-33]</sup>。在周围神经系统疾病糖尿病周围神经病变模型中,SHED、DPSC 可以分化为胰岛素样细胞,分泌胰岛素,刺激巨噬细胞向抗炎性 M2 表型极化,表现为对糖尿病多发性神经病变的免疫抑制,并且 SHED 的胰岛素样性能要强于 DPSC<sup>[34]</sup>。

综上,以上几种 DSC 形态、细胞表面标志物及多向分化潜能相似,虽已证实有多向分化潜能,但细胞表型还有待于进一步证实。SHED、DPSC 这 2 种 DSC 良好的神经分化潜能使其成为神经组织再生工程中有前景的种子细胞。但是,与 DPSC 相比,SHED 有更强的增殖能力,增殖速度是 DPSC 的 2 倍,更易获取,提取过程简单、无痛、方便、对身体无侵害性,减少了伦理纠纷,并且自身组织来源的干细胞不发生移植后免疫排斥反应,也消除了疾病交叉感染的风险<sup>[12]</sup>。体内研究表明,SHED 在定向分化神经潜能方面比 DPSC 更有优势;体外研究显示,SHED 比 DPSC 表达更多的神经元标志物,分泌更多的 NT,具有更强的神经样细胞分化能力<sup>[35]</sup>。因此,笔者认为低龄乳牙来源的 SHED 具有较高的生物活性,是治疗中枢神经系统疾病及周围神经系统疾病最具有临床前景的 DSC。周围神经病变是电烧伤最常见的致残性神经肌肉并发症,可能是由血管阻塞、炎症、神经毒素的产生导致细胞凋亡或者直接破坏神经而引起的,目前临床治疗效果不佳。因此,笔者认为 SHED 也可以应用于改善烧伤后周围



神经病变。

### 3 问题与展望

目前 DSC 因具有良好的生物学特性,引起了国内外学者的广泛注意。在中枢神经系统和周围神经系统疾病中,神经系统自我修复能力有限,DSC 可以诱导轴突、髓鞘修复、再生,促进神经元生成。在体外实验中,通过基因操作、多种细胞因子、化学试剂可以诱导 DSC 分化为神经样细胞<sup>[11]</sup>。但是,DSC 真正应用于临床还有许多难题需要解决,比如 DSC 在储存方面尚无统一的规范,由于 DSC 的生物特殊性,其存储技术有一定要求。目前 DSC 仅应用于动物实验和临床前研究,在临床应用中,移植时间、移植细胞数量、细胞因子选择等各种问题亟待各个领域的学者钻研、探索!

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] Luo L, He Y, Wang X, et al. Potential roles of dental pulp stem cells in neural regeneration and repair [J]. *Stem Cells Int*, 2018, 2018: 1731289. DOI: 10.1155/2018/1731289.
- [2] McKinnon PJ. Genome integrity and disease prevention in the nervous system [J]. *Genes Dev*, 2017, 31(12): 1180-1194. DOI: 10.1101/gad.301325.117.
- [3] Liu Q, Cheng G, Wang Z, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells differentiate into nerve-like cells in vitro after transfection with brain-derived neurotrophic factor gene [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2015, 51(3): 319-327. DOI: 10.1007/s11626-015-9875-1.
- [4] Fortino VR, Chen RS, Pelaez D, et al. Neurogenesis of neural crest-derived periodontal ligament stem cells by EGF and bFGF [J]. *J Cell Physiol*, 2014, 229(4): 479-488. DOI: 10.1002/jcp.24468.
- [5] Cao Y, Gang X, Sun C, et al. Mesenchymal stem cells improve healing of diabetic foot ulcer [J]. *J Diabetes Res*, 2017, 2017: 9328347. DOI: 10.1155/2017/9328347.
- [6] 杨晨, 胡大海, 郑朝, 等. 过表达胶质细胞源性神经营养因子的脂肪源性间充质干细胞对大鼠电损伤坐骨神经的作用 [J]. *中华烧伤杂志*, 2015, 31(3): 199-204. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2015.03.010.
- [7] 朱飞滨, 刘德伍, 张红艳, 等. P 物质与表皮干细胞联用对糖尿病大鼠创面愈合与神经再生的影响 [J]. *中华烧伤杂志*, 2012, 28(1): 25-31. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2012.01.007.
- [8] Chalisserry EP, Nam SY, Park SH, et al. Therapeutic potential of dental stem cells [J]. *J Tissue Eng*, 2017, 8: 2041731417702531. DOI: 10.1177/2041731417702531.
- [9] Cui D, Li H, Wan M, et al. The origin and identification of mesenchymal stem cells in teeth: from odontogenic to non-odontogenic [J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2018, 13(1): 39-45. DOI: 10.2174/1574888x12666170913150403.
- [10] Zhu Y, Zhang P, Gu RL, et al. Origin and clinical applications of neural crest-derived dental stem cells [J]. *Chin J Dent Res*, 2018, 21(2): 89-100. DOI: 10.3290/j.cjdr.a40435.
- [11] Martens W, Bronckaers A, Politis C, et al. Dental stem cells and their promising role in neural regeneration: an update [J]. *Clin Oral Investig*, 2013, 17(9): 1969-1983. DOI: 10.1007/s00784-013-1030-3.
- [12] Su WT, Shih YA, Ko CS. Effect of chitosan conduit under a dynamic culture on the proliferation and neural differentiation of human exfoliated deciduous teeth stem cells [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2016, 10(6): 507-517. DOI: 10.1002/term.1783.
- [13] Liu Y, Jing H, Kou X, et al. PD-1 is required to maintain stem cell properties in human dental pulp stem cells [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(7): 1350-1360. DOI: 10.1038/s41418-018-0077-8.
- [14] Sugimura-Wakayama Y, Katagiri W, Osugi M, et al. Peripheral Nerve regeneration by secretomes of stem cells from human exfoliated deciduous teeth [J]. *Stem Cells Dev*, 2015, 24(22): 2687-2699. DOI: 10.1089/scd.2015.0104.
- [15] d'Aquino R, Graziano A, Sampaolese M, et al. Human postnatal dental pulp cells co-differentiate into osteoblasts and endothelial cells: a pivotal synergy leading to adult bone tissue formation [J]. *Cell Death Differ*, 2007, 14(6): 1162-1171. DOI: 10.1038/sj.cdd.4402121.
- [16] Eubanks EJ, Tarle SA, Kaigler D. Tooth storage, dental pulp stem cell isolation, and clinical scale expansion without animal serum [J]. *J Endod*, 2014, 40(5): 652-657. DOI: 10.1016/j.joen.2014.01.005.
- [17] Pisciotto A, Bertoni L, Riccio M, et al. Use of a 3D floating sphere culture system to maintain the neural crest-related properties of human dental pulp stem cells [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 547. DOI: 10.3389/fphys.2018.00547.
- [18] Kawashima N. Characterisation of dental pulp stem cells: a new horizon for tissue regeneration? [J]. *Arch Oral Biol*, 2012, 57(11): 1439-1458. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2012.08.010.
- [19] Makino E, Nakamura N, Miyabe M, et al. Conditioned media from dental pulp stem cells improved diabetic polyneuropathy through anti-inflammatory, neuroprotective and angiogenic actions: cell-free regenerative medicine for diabetic polyneuropathy [J]. *J Diabetes Investig*, 2019, 10(5): 1199-1208. DOI: 10.1111/jdi.13045.
- [20] 葛芳, 杜立群. 牙髓干细胞多向分化潜能的研究及应用进展 [J]. *生物医学工程学杂志*, 2019, 36(1): 172-176. DOI: 10.7507/1001-5515.201804045.
- [21] Zhang J, Lian M, Cao P, et al. Effects of nerve growth factor and basic fibroblast growth factor promote human dental pulp stem cells to neural differentiation [J]. *Neurochem Res*, 2017, 42(4): 1015-1025. DOI: 10.1007/s11064-016-2134-3.
- [22] Chrepa V, Pitcher B, Henry MA, et al. Survival of the apical papilla and its resident stem cells in a case of advanced pulpal necrosis and apical periodontitis [J]. *J Endod*, 2017, 43(4): 561-567. DOI: 10.1016/j.joen.2016.09.024.
- [23] Diao S, Lin X, Wang L, et al. Analysis of gene expression profiles between apical papilla tissues, stem cells from apical papilla and cell sheet to identify the key modulators in MSCs niche [J]. *Cell Prolif*, 2017, 50(3). DOI: 10.1111/cpr.12337.
- [24] de Almeida JF, Chen P, Henry MA, et al. Stem cells of the apical papilla regulate trigeminal neurite outgrowth and targeting through a BDNF-dependent mechanism [J]. *Tissue Eng Part A*, 2014, 20(23/24): 3089-3100. DOI: 10.1089/ten.TEA.2013.0347.
- [25] Trubiani O, Pizzicannella J, Caputi S, et al. Periodontal ligament stem cells: current knowledge and future perspectives [J]. *Stem Cells Dev*, 2019, 28(15): 995-1003. DOI: 10.1089/scd.2019.0025.
- [26] Widera D, Grimm WD, Moebius JM, et al. Highly efficient neural differentiation of human somatic stem cells, isolated by minimally invasive periodontal surgery [J]. *Stem Cells Dev*, 2007, 16(3): 447-460. DOI: 10.1089/scd.2006.0068.
- [27] Giacoppo S, Thangavelu SR, Diomedea F, et al. Anti-inflammatory effects of hypoxia-preconditioned human periodontal ligament cell secretome in an experimental model of multiple sclerosis: a

- key role of IL-37[J]. *FASEB J*, 2017, 31(12): 5592-5608. DOI: 10.1096/fj.201700524R.
- [28] Romeo L, Diomedea F, Gugliandolo A, et al. Moringin induces neural differentiation in the stem cell of the human periodontal ligament[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 9153. DOI: 10.1038/s41598-018-27492-0.
- [29] Bojic S, Volarevic V, Ljubic B, et al. Dental stem cells--characteristics and potential[J]. *Histol Histopathol*, 2014, 29(6): 699-706. DOI: 10.14670/HH-29.699.
- [30] Morszeck C, Völlner F, Saugspier M, et al. Comparison of human dental follicle cells (DFCs) and stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) after neural differentiation in vitro[J]. *Clin Oral Investig*, 2010, 14(4): 433-440. DOI: 10.1007/s00784-009-0310-4.
- [31] Felthaus O, Ernst W, Driemel O, et al. TGF-beta stimulates glial-like differentiation in murine dental follicle precursor cells (mDFPCs)[J]. *Neurosci Lett*, 2010, 471(3): 179-184. DOI: 10.1016/j.neulet.2010.01.037.
- [32] Matsubara K, Matsushita Y, Sakai K, et al. Secreted ectodomain of sialic acid-binding Ig-like lectin-9 and monocyte chemoattractant protein-1 promote recovery after rat spinal cord injury by altering macrophage polarity[J]. *J Neurosci*, 2015, 35(6): 2452-2464. DOI: 10.1523/jneurosci.4088-14.2015.
- [33] Yang C, Li X, Sun L, et al. Potential of human dental stem cells in repairing the complete transection of rat spinal cord[J]. *J Neural Eng*, 2017, 14(2): 026005. DOI: 10.1088/1741-2552/aa596b.
- [34] Botelho J, Cavacas MA, Machado V, et al. Dental stem cells: recent progresses in tissue engineering and regenerative medicine[J]. *Ann Med*, 2017, 49(8): 644-651. DOI: 10.1080/07853890.2017.1347705.
- [35] 李晓霞, 方滕皎子, 余湜, 等. 人乳牙牙髓干细胞在干细胞治疗中的应用[J]. *华西口腔医学杂志*, 2017, 35(5): 533-537.

(收稿日期:2018-11-21)

**本文引用格式**

王鹏,肖妍,张红艳. 牙源性干细胞在神经组织工程中的应用研究进展[J]. *中华烧伤杂志*, 2019, 35(12): 887-890. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.12.012.

Wang P, Xiao Y, Zhang HY. Advances in the research of application of dental stem cells in neural tissue engineering[J]. *Chin J Burns*, 2019, 35(12): 887-890. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.12.012.

## 纳米氧化锌抗菌性能及复合材料的研究进展

吴宝林 刘毅

解放军联勤保障部队第九四〇医院烧伤整形科, 兰州 730050  
通信作者: 刘毅, Email: liuyi196402@163.com



rial mechanism; Composite material  
DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.12.013

**【摘要】** 因具有优良的抗菌性能、生物相容性、抗肿瘤等特性, 纳米氧化锌已成为目前组织工程材料研究的新热点。本文对现有纳米氧化锌抗菌性相关研究成果进行了总结、归纳和分析, 深入探讨了纳米氧化锌的抗菌机制, 并介绍了当前最新研制出的纳米氧化锌复合材料的抗菌特性及其优点, 进一步对纳米氧化锌的未来应用进行了展望。

**【关键词】** 氧化锌; 纳米粒; 抗菌机制; 复合材料

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.12.013

### Advances in the research of antibacterial properties and composite materials of nanometer zinc oxide

Wu Baolin, Liu Yi

Department of Burns and Plastic Surgery, the People's Liberation Army Joint Service Support Unit 940 Hospital, Lanzhou 730050, China

Corresponding author: Liu Yi, Email: liuyi196402@163.com

**【Abstract】** Nanometer zinc oxide has become a new hotspot in the research of tissue engineering materials due to its excellent antibacterial properties, biocompatibility, and anti-tumor properties. In this paper, the existing research results were summarized, generalized, and analyzed. The antibacterial mechanism of nanometer zinc oxide was discussed in depth. The antibacterial properties and advantages of the latest nanometer zinc oxide composite materials were introduced in detail. In this review, we made prospect of the future application of nanometer zinc oxide.

**【Key words】** Zinc oxide; Nanoparticles; Antibacte-

近年来, 由于人们对抗生素的滥用, 使得耐药菌快速产生, 对常用抗生素具天然抗性多药耐药病原体的持续出现已经成为一个亟待解决的问题。无机抗菌材料具有成本低、耐高温、化学性稳定、安全性好及其广谱抗菌性、杀菌作用时间持久等优点, 已成为了研究的重点; 而纳米氧化锌是一种最早用于抗菌的金属氧化物, 具有良好的安全性和稳定性, 被美国食品药品监督管理局认为是 5 种安全的锌化合物之一<sup>[1]</sup>, 且氧化锌系列抗菌材料成本低廉, 已被广泛应用在药物、食品、化工、建筑等行业<sup>[2-3]</sup>。与传统使用的化合物相比, 纳米氧化锌在极端条件下更稳定, 在低浓度下具有很好的抗菌活性<sup>[4-5]</sup>。但单一的纳米氧化锌应用于创面, 因其纳米材料的特殊性, 应用比较局限, 纳米氧化锌复合材料的合成有望弥补这些不足, 同时也可作为纳米氧化锌的临床应用提供选择。本文通过对相关研究报道进行总结和分析, 阐述纳米氧化锌的抗菌作用机制, 介绍几种新型纳米氧化锌复合抗菌材料的抗菌特性, 为今后进行深入科学研究和临床应用纳米氧化锌提供参考依据。

### 1 纳米氧化锌抗菌性能及其机制

#### 1.1 锌离子的游离

锌离子对生物体内蛋白质代谢起着重要调节作用, 如参与辅酶、酶、DNA 结合蛋白等的构成, 但高浓度的锌离子会破坏菌体的内环境, 继而破坏细菌结构。氧化锌在水介质中

电解能释放出锌离子,游离的锌离子吸附到细菌细胞壁表面,使细菌细胞壁受损,破坏细胞的固有形态<sup>[6]</sup>;此外纳米氧化锌颗粒亦可通过直接与细胞膜的磷脂双分子层接触而导致细胞死亡,破坏细胞膜的完整性,增加纳米粒子进入的可能性,并且最终导致细胞死亡而达到抗菌的作用,另外氧化锌抗菌的特色在于杀灭细菌后,锌离子可以从细胞中游离出来,不断重复上述过程<sup>[7]</sup>。

### 1.2 氧化锌粒子与细菌的相互作用力

当粒子达到纳米级时,粒子的物理性质发生改变,具有很高的表面活性和较大的比表面积,与细菌表面作用力增强,容易与细菌表面发生相互作用,且纳米粒子直径越小则相互作用越强,纳米氧化锌的抗菌性也可能归因于纳米氧化锌粒子与细菌表面的相互作用<sup>[8-9]</sup>。有学者观察到,具有小微晶尺寸的氧化锌纳米颗粒对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌活性强于大微晶尺寸氧化锌颗粒,同时还观测到小微晶尺寸的氧化锌纳米颗粒释放的锌离子量远高于大微晶尺寸氧化锌颗粒,因而氧化锌纳米颗粒具有更强的杀菌能力。此外由于金属氧化物在水中带正电荷可与细菌表面带负电荷的基团结合,静电作用加强了金属氧化物与细菌之间的相互作用力<sup>[10]</sup>。

### 1.3 氧化锌产生的活性氧

纳米氧化锌的另一种抗菌机制可能与活性氧相关,活性氧可破坏细菌细胞的完整性,从而抑制细菌的生长<sup>[11-12]</sup>。氧化锌是一种宽禁带半导体氧化物,当照射光的光子能量等于或大于氧化锌禁带宽度能量时,处于价带上的电子就会激发跃迁到导带上,它能导致形成正电价带(空穴)和带负电的自由电子带。在氧化锌纳米颗粒的表面上,空穴与羟基反应并吸收水以产生羟基自由基;在氧气存在下,导带中的孤电子产生超氧离子、羟基自由基,而这些超氧离子和羟基自由基即为活性氧<sup>[13-14]</sup>。活性氧及其衍生物会破坏细菌细胞,产生溶菌作用或促进纳米粒子在菌体内聚集并最终导致细菌死亡<sup>[15]</sup>。有学者添加自由基清除剂甘露醇、维生素 E、谷胱甘肽,阻断了氧化锌纳米颗粒的杀菌作用,揭示了活性氧的产生在氧化锌纳米颗粒的抗菌性能中可能发挥了必要作用<sup>[10]</sup>。

## 2 纳米氧化锌复合材料

### 2.1 氧化锌/羧化氧化石墨烯纳米复合材料

石墨烯是碳的同素异形体,也是一种应用于生物医学的优质纳米材料,因具有优良的机械性能和电化学性能<sup>[16-17]</sup>被广泛用于骨组织工程中,作为植入物的表面改性涂层或支架材料中的关键掺杂剂,以增强生物相容性材料的生物惰性,提高支架的机械阻力<sup>[18]</sup>。除了上述应用,石墨烯由于具有巨大的比表面积和非定域化的  $\pi$  电子,还可以结合药物分子,因此有潜力成为药物运输载体,改善小分子药物的体内动力学。此外,石墨烯片可以作为纳米金属的基材颗粒和溶解金属离子的储存位点,从而防止金属颗粒聚集,降低其金属颗粒的毒性使其能持续释放<sup>[19]</sup>。氧化锌/羧化氧化石墨烯纳米复合材料基于这些特性被成功研发。氧化锌/羧化氧化石墨烯对抗变形链球菌有显著作用,细菌在上述复合材料上播种后,经历了明显的形态学变化,呈现球状并出现膜

的分解。与对照组羧化氧化石墨烯相比,氧化锌/羧化氧化石墨烯纳米复合材料样品周围明显可见形成抑制区<sup>[20]</sup>。羧化氧化石墨烯纳米复合材料抗菌效果可能与氧化石墨烯纳米颗粒和氧化锌纳米颗粒的协同作用有关。锌是人体微量元素,适当浓度的锌离子可以促进细胞增殖和分化,高浓度锌离子可以引起细胞毒性反应,氧化锌/羧化氧化石墨烯纳米复合物以一种缓慢而持续的方式释放锌离子,而不像纳米氧化锌独自存在的情况下产生爆炸样释放效应,从而使氧化锌/羧化氧化石墨烯纳米复合材料在较长时间内缓慢释放锌离子达到一个合适的浓度,复合物中释放的适当的局部高浓度的锌离子有利于细菌死亡<sup>[20]</sup>。

### 2.2 氧化锌/聚乙烯醇纳米复合材料

聚乙烯醇因具有良好的生物相容性、生物活性、机械性能和超强的吸水能力被广泛应用于生物组织工程领域,例如药物载体、仿生软骨和人工皮肤、伤口敷料以及组织细胞的培养等<sup>[21-22]</sup>。静电纺丝技术是让带电的高分子溶液或熔体在静电场中流动变形,经溶剂蒸发或熔体冷却固化而得到纤维状物质的一种技术<sup>[23-24]</sup>。有学者通过静电纺丝技术制备氧化锌/聚乙烯醇纳米纤维,从而将氧化锌纳米颗粒和聚乙烯醇纳米纤维有效结合起来,它综合了纳米氧化锌抗菌作用较强、安全等特点和聚乙烯醇纳米纤维生物相容性好、生物作用安全等优点,为创面治疗提供了有利条件。抑菌实验表明,氧化锌/聚乙烯醇纳米纤维可明显抑制细胞的黏附作用,对金黄色葡萄球菌有明显的抑菌效果<sup>[25]</sup>。此外研究显示氧化锌/聚乙烯醇纳米复合膜对革兰阳性菌金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的抑菌效果都明显优于革兰阴性菌大肠杆菌,这可能与前 2 类微生物细胞表面的静电荷有关;同时该研究者还观察到纳米纤维组有明显促进创面组织胶原纤维、毛囊结构和表皮形成的作用,与聚乙烯醇纳米纤维组、创可贴组、纱布组相比,氧化锌/聚乙烯醇纳米复合膜组大鼠的伤口愈合时间明显缩短<sup>[25]</sup>。

### 2.3 纳米氧化锌/细菌纤维素复合膜

细菌纤维素是由微生物发酵合成的多孔性网状纳米级生物高分子聚合物,因其由细菌合成而命名为细菌纤维素。细菌纤维素为三维网状结构,其结构中具有多微孔道,并且分子内存在大量的亲水基团<sup>[26]</sup>,因此具有良好的透气、透水性和持水性能,但因缺乏抗菌活性限制了其在生物医学领域的应用。罗争辉等<sup>[27]</sup>通过对细菌纤维素膜分子侧链上引入羧基进行化学修饰改性,以改性后的细菌纤维素膜为反应模板原位合成纳米氧化锌,制备纳米氧化锌/细菌纤维素复合膜。该复合膜具有良好的结合稳定性、孔隙率、水蒸气透过率和物理力学性能,因具有的三维空间结构也有利于细菌与纳米氧化锌的充分接触,从而对常见的革兰阳性菌金黄色葡萄球菌和革兰阴性菌大肠杆菌有较好的抗菌活性。研究者将细菌纤维素-氧化锌纳米复合材料用于烧伤小鼠模型中,观察到细菌纤维素-氧化锌纳米复合材料对大肠杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌和弗氏柠檬酸杆菌的抑菌率分别为 90%、87.4%、94.3%、90.9%<sup>[28]</sup>。细菌纤维素/氧化锌纳米复合材料处理的烧伤小鼠创面显示出明显的愈合能力,组织学分析显示复合材料研究组的细胞组织再生明显。这些研究结果表明细菌纤维素/氧化锌纳米复合材料可能成为一种



新型烧伤敷料,用于创面的抗感染、保湿,以促进创面愈合。

#### 2.4 壳聚糖-银/氧化锌纳米复合敷料

壳聚糖是一种由氨基葡萄糖和 N-乙酰氨基葡萄糖组成的生物共聚物,是甲壳素的碱性脱乙酰产物,它无毒且具有生物相容性和生物可降解性等特点。由于这些优良的性能,壳聚糖是近年来用于伤口管理的重要生物材料之一<sup>[29]</sup>。但壳聚糖在中性酸碱度条件下不具有抗菌活性,限制了其在感染创面处理中的应用。Lu 等<sup>[30]</sup>用沉淀法合成了纳米银/氧化锌负载壳聚糖复合敷料,观察到它对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌有明显的抗菌作用,随着银/氧化锌浓度的增加,可产生明显的杀菌效果;凝血实验显示纳米银/氧化锌负载壳聚糖复合敷料比普通纱布的凝血能力提高了 22%。这可能是由于阳离子壳聚糖能吸收带负电荷的红细胞、血纤维蛋白原和血浆蛋白,同时使用银/氧化锌可以使抗凝蛋白变性,影响凝血的内在途径,加快凝血。此外他们在同样创面大小的小鼠实验中证实,与纯壳聚糖敷料和氧化锌软膏纱布相比,纳米银/氧化锌负载壳聚糖复合敷料组的胶原分泌明显加快,沉积性能更强,纤维组织更加致密,能促进创面的再上皮化,有利于肉芽组织生长,从而加快创面的愈合进程,明显缩短创面愈合时间。

#### 2.5 氧化锌-姜黄素纳米复合材料

姜黄素是从姜科植物根茎中提取出来的一种黄色色素,是具有多种生物学活性的多酚类化合物。研究证实,姜黄素及其衍生物对细菌的生长繁殖有明显抑制作用并且有抗炎作用,它能通过与体内不同分子靶标相互作用从而在细菌介导的感染性疾病中发挥重要作用,目前已被广泛用作抗癌剂、抗炎剂、抗菌剂和抗衰老剂。但姜黄素水溶性差,组织生物利用度低,限制了其在临床的应用<sup>[31]</sup>。近年来通过在基本结构上改变部分侧链合成衍生物,再与纳米粒子结合制成纳米颗粒,或通过不同给药方式可克服这些缺陷,同时增强其抗菌抗炎活性<sup>[32]</sup>。有学者用超声水浴仪在甲醛溶液中合成了氧化锌-姜黄素纳米复合材料,观察到氧化锌-姜黄素纳米复合材料的生物利用度、稳定性、溶解度得到了明显提升。通过抗菌实验测得氧化锌-姜黄素纳米复合材料对临床分离的 3 种抗甲氧西林凝固酶阴性球菌表皮葡萄球菌、溶血葡萄球菌、腐生葡萄球菌 MIC 分别为 195、195、390  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,并观察到 3 种球菌的细胞膜均几乎全部遭到破坏,细菌细胞缺乏聚集,可能是因为疏水的姜黄素与细胞膜强烈结合,能为纳米氧化锌提供更有效活性平台使其释放锌离子和产生活性氧物质从而破坏细菌细胞的完整性,抗菌效果的发挥是氧化锌和姜黄素的协同作用<sup>[33]</sup>。另有研究者测得单一姜黄素对表皮葡萄球菌的 MIC 为 16 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ <sup>[34]</sup>,氧化锌-姜黄素纳米复合材料的抗菌效果明显高于姜黄素。另有研究者将姜黄素-纳米氧化锌复合材料导入胶原敷料中,复合材料通过氢键和电荷相互作用紧密嵌入胶原敷料,具有更好的促伤口愈合作用和抗微生物特性。结合胶原敷料优良的生物降解性、相容性、弱抗原性及易于重塑性,使这种加载纳米复合材料的胶原敷料成为烧伤和溃疡的理想伤口敷料<sup>[33]</sup>。

### 3 展望

纳米氧化锌基于其出色的抗菌性而在生物医学领域展

示出巨大应用潜力。由于氧化锌纳米颗粒的固有毒性,它们通过诱导细胞内活性氧的产生和激活凋亡信号通路,对肿瘤细胞和细菌具有很强的抑制作用,使氧化锌纳米颗粒成为抗癌和抗菌敷料的潜在候选者。但是氧化锌纳米颗粒的一些关键问题仍有待进一步探索,如缺乏与其他金属纳米粒子生物学优势的比较分析,对生物体系的毒性限制仍然在最近研究中存在争议,缺乏基于循证学依据的探讨抗癌性、抗菌性的治疗作用的随机对照研究。相信针对上述问题的研究可以进一步阐明和理解氧化锌纳米颗粒在创面治疗领域中的潜在用途。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] He QZ, Yang J, Min H, et al. Studies on the spectra and antibacterial properties of rare earth dinuclear complexes with l-phenylalanine and phenanthroline [J]. Mater Lett, 2006, 60 (3): 317-320. DOI:10.1016/j.matlet.2005.08.051.
- [2] Sun Q, Li J, Le T. Zinc oxide nanoparticle as a novel class of antifungal agents: current advances and future perspective [J]. J Agric Food Chem, 2018, 66 (43): 11209-11220. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b03210.
- [3] Laurenti M, Cauda V. ZnO nanostructures for tissue engineering applications [J]. Nanomaterials (Basel), 2017, 7 (11): e374. DOI: 10.3390/nano7110374.
- [4] Samiei M, Torab A, Hosseini O, et al. Antibacterial effect of two nano zinc oxide gel preparations compared to calcium hydroxide and chlorhexidine mixture [J]. Iran Endod J, 2018, 13 (3): 305-311. DOI: 10.22037/iej.v13i3.19866.
- [5] Petrochenko PE, Zhang Q, Bayati R, et al. Cytotoxic evaluation of nanostructured zinc oxide (ZnO) thin films and leachates [J]. Toxicol In Vitro, 2014, 28 (6): 1144-1152. DOI: 10.1016/j.tiv.2014.05.004.
- [6] Pasquet J, Chevalier Y, Couval E, et al. Antimicrobial activity of zinc oxide particles on five micro-organisms of the Challenge Tests related to their physicochemical properties [J]. Int J Pharm, 2014, 460 (1/2): 92-100. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2013.10.031.
- [7] Jiang Y, Zhang L, Wen D, et al. Role of physical and chemical interactions in the antibacterial behavior of ZnO nanoparticles against E. coli [J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2016, 69: 1361-1366. DOI: 10.1016/j.msec.2016.08.044.
- [8] Li M, Lin D, Zhu L. Effects of water chemistry on the dissolution of ZnO nanoparticles and their toxicity to Escherichia coli [J]. Environ Pollut, 2013, 173: 97-102. DOI: 10.1016/j.envpol.2012.10.026.
- [9] Zhang S, Gao H, Bao G. Physical principles of nanoparticle cellular endocytosis [J]. ACS Nano, 2015, 9 (9): 8655-8671. DOI: 10.1021/acsnano.5b03184.
- [10] Ohira T, Yamamoto O. Correlation between antibacterial activity and crystallite size on ceramics [J]. Chem Eng Sci, 2012, 68 (1): 355-361. DOI:10.1016/j.ces.2011.09.043.
- [11] Khan HA, Shanker R. Toxicity of nanomaterials [J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 521014. DOI: 10.1155/2015/521014.
- [12] Applerot G, Lipovsky A, Dror R, et al. Enhanced antibacterial activity of nanocrystalline ZnO due to increased ROS-mediated cell injury [J]. Adv Funct Mater, 2009, 19 (6): 842-852. DOI: 10.1002/adfm.200801081.
- [13] Liu J, Feng X, Wei L, et al. The toxicology of ion-shedding zinc oxide nanoparticles [J]. Crit Rev Toxicol, 2016, 46 (4): 348-384. DOI:10.3109/10408444.2015.1137864.

- [14] Aude-Garcia C, Dalzon B, Ravanat JL, et al. A combined proteomic and targeted analysis unravels new toxic mechanisms for zinc oxide nanoparticles in macrophages[J]. *J Proteomics*, 2016, 134:174-185. DOI: 10.1016/j.jprot.2015.12.013.
- [15] Motshckga SC, Ray SS, Onyango MS, et al. Microwave-assisted synthesis, characterization and antibacterial activity of Ag/ZnO nanoparticles supported bentonite clay[J]. *J Hazard Mater*, 2013, 262:439-446. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2013.08.074.
- [16] Wong BS, Yoong SL, Jagusiak A, et al. Carbon nanotubes for delivery of small molecule drugs[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013, 65(15):1964-2015. DOI: 10.1016/j.addr.2013.08.005.
- [17] Yang X, Ebrahimi A, Li J, et al. Fullerene-biomolecule conjugates and their biomedical applications[J]. *Int J Nanomedicine*, 2014, 9:77-92. DOI: 10.2147/IJN.S52829.
- [18] Guo L, Von Dem Bussche A, Buechner M, et al. Adsorption of essential micronutrients by carbon nanotubes and the implications for nanotoxicity testing[J]. *Small*, 2008, 4(6):721-727. DOI: 10.1002/sml.200700754.
- [19] Novoselov KS, Fal'ko VI, Colombo L, et al. A roadmap for graphene[J]. *Nature*, 2012, 490(7419):192-200. DOI: 10.1038/nature11458.
- [20] Chen J, Zhang X, Cai H, et al. Osteogenic activity and antibacterial effect of zinc oxide/carboxylated graphene oxide nanocomposites: preparation and in vitro evaluation[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2016, 147:397-407. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2016.08.023.
- [21] Xu X, Tian M, Qu L, et al. Graphene oxide/chitosan/polyvinyl-alcohol composite sponge as effective adsorbent for dyes[J]. *Water Environ Res*, 2017, 89(6):555-563. DOI: 10.2175/106143016X14609975746127.
- [22] Li C, Fu R, Yu C, et al. Silver nanoparticle/chitosan oligosaccharide/poly(vinyl alcohol) nanofibers as wound dressings: a preclinical study[J]. *Int J Nanomedicine*, 2013, 8:4131-4145. DOI:10.2147/IJN.S51679.
- [23] Krogstad EA, Woodrow KA. Manufacturing scale-up of electrospun poly(vinyl alcohol) fibers containing tenofovir for vaginal drug delivery[J]. *Int J Pharm*, 2014, 475(1/2):282-291. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.08.039.
- [24] Ahmed R, Tariq M, Ali I, et al. Novel electrospun chitosan/polyvinyl alcohol/zinc oxide nanofibrous mats with antibacterial and antioxidant properties for diabetic wound healing[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 120(Pt A):385-393. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.08.057.
- [25] 胡敏,李沉纹,明月,等. 氧化锌/聚乙烯醇纳米纤维的制备及对创伤的治疗作用[J]. *第三军医大学学报*, 2016, 38(23):2499-2506. DOI:10.16016/j.1000-5404.201606081.
- [26] 李喆,王华平,陈仕艳. 一种潜在的组织工程支架材料--细菌纤维素[J]. *组织工程与重建外科杂志*, 2009, 5(2):111-113. DOI:10.3969/j.issn.1673-0364.2009.04.017.
- [27] 罗争辉,林海,尹美芳. 新型纳米氧化锌/细菌纤维素复合膜的制备与性能评价[J]. *第三军医大学学报*, 2017, 39(23):2250-2254. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201707193.
- [28] Khalid A, Khan R, Ul-Islam M, et al. Bacterial cellulose-zinc oxide nanocomposites as a novel dressing system for burn wounds[J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 164:214-221. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.01.061.
- [29] Baldrick P. The safety of chitosan as a pharmaceutical excipient[J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2010, 56(3):290-299. DOI: 10.1016/j.yrtph.2009.09.015.
- [30] Lu Z, Gao J, He Q, et al. Enhanced antibacterial and wound healing activities of microporous chitosan-Ag/ZnO composite dressing[J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 156:460-469. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.09.051.
- [31] Peng JR, Qin ZY. Drug delivery systems for overcoming the bio-availability of curcumin: not only the nanoparticle matters[J]. *Nanomedicine(Lond)*, 2014, 9(6):747-750. DOI: 10.2217/nnm.14.21.
- [32] Liang Z, Ni R, Zhou J, et al. Recent advances in controlled pulmonary drug delivery[J]. *Drug Discov Today*, 2015, 20(3):380-389. DOI: 10.1016/j.drudis.2014.09.020.
- [33] Soumya KR, Snigdha S, Sugathan S, et al. Zinc oxide-curcumin nanocomposite loaded collagen membrane as an effective material against methicillin-resistant coagulase-negative Staphylococci[J]. *Biotech*, 2017, 7(4):238. DOI: 10.1007/s13205-017-0861-z.
- [34] Niamsa N, Sittiwet C. Antimicrobial activity of curcuma longa aqueous extract[J]. *J Pharmacol Toxicol*, 2009, 4(4):173-177. DOI: 10.3923/jpt.2009.173.177.

(收稿日期:2018-11-22)

**本文引用格式**

吴宝林,刘毅. 纳米氧化锌抗菌性能及复合材料的研究进展[J]. *中华烧伤杂志*, 2019, 35(12):890-893. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.12.013.

Wu BL, Liu Y. Advances in the research of antibacterial properties and composite materials of nanometer zinc oxide[J]. *Chin J Burns*, 2019, 35(12):890-893. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.12.013.