

干细胞与烧伤创面修复

付小兵 盛志勇

Stem cells and wound repair in burns FU Xiao-bing, SHENG Zhi-yong. *Wound Healing and Cell Biology Laboratory, Institute of Basic Medical Science, the First Affiliated Hospital to the PLA General Hospital, Beijing 100853, P. R. China*

【Abstract】 The use of stem cells to replace lost tissues is one of the very important treatment measures used in the field of burn management in recent years. Clinical results show that the use of stem cells therapies has brought new hope for accelerating wound healing with improvement in quality, inducing sweat gland regeneration, and constructing tissue engineering skin, etc.

【Key words】 Burns; Stem cells; Wound repair

【关键词】 烧伤; 干细胞; 创面修复

干细胞治疗作为生物治疗的重要方法之一,近 10 余年来在烧伤领域的应用已显示出诱人的前景。国内将干细胞治疗作为进一步提高烧伤创面修复质量的重要方法,已经在加快创面愈合速度和减少瘢痕发生率、促进汗腺与毛囊再生及组织工程皮肤构建等领域取得了重要进展。

1 应用干细胞加快创面愈合速度和提高愈合质量

干细胞特别是成体干细胞的重要生物学特性,是它的可塑性和可控性诱导分化潜能。已经有较多的研究阐明了表皮干细胞在皮肤发生、发育以及修复中所起的重要作用。研究表明,在小面积浅度烧伤创面愈合过程中,再上皮化过程主要依靠创缘残存的表皮干细胞向心性爬行来完成,但是这种观点不能解释为什么使用生长因子的烧伤创面,其愈合速度会明显加快^[1]。有学者观察到,在创面愈合过程中,存在已经分化的表皮细胞向表皮干细胞去分化的现象,并阐明这种去分化来源的表皮干细胞也参与了再上皮化的过程^[2]。这一现象使人们进一步思考,在创面愈合过程中,再上皮化过程可能是由正常表皮干细胞和去分化来源的表皮干细胞共同参与的一个立体的生物学过程。2007 年,日本和美国学者进一步将皮肤成纤维细胞诱导成为具有多向分化潜能的细胞,从另一个侧面进一步证实了国内学

者关于“在一定条件下创面已分化的成体细胞可以由去分化转变为干细胞”的原创性发现^[3,4]。进一步的研究还表明,不仅是表皮细胞和成纤维细胞以及血管内皮细胞等参与了创面愈合过程,存在于创面的真皮多能干细胞、脂肪干细胞以及远隔创面、骨髓来源的骨髓间充质干细胞(MSC)也参与了创面愈合过程。已经证实,脂肪干细胞或骨髓来源的 MSC 在创面微环境的作用下,其表型可以转变为表皮细胞或成纤维细胞等,从而补充了损伤创面修复细胞的不足,使整个创面愈合速度加快,修复的质量明显提高^[5-7]。研究表明,在放创复合伤创面上移植 MSC,其创面平均愈合时间较对照组提前 3~4 d,且肉芽组织中的毛细血管和成纤维细胞数量与羟脯氨酸含量较对照组明显增加,愈合效果显著提高^[8]。

2 干细胞与皮肤附件再生研究

目前我国烧伤救治的 LA50 已经达到 90% TBSA 以上,部分单位甚至高达 98% TBSA,处于国际领先行列。但令人遗憾的是严重烧伤后大部分救活的患者,其创面均为瘢痕愈合,不仅患者容貌发生损毁,且无排汗功能,其生活质量受到严重影响。因此,解决患者的排汗问题也是烧伤救治成功的另一重大技术难题。为了攻克这一难题,国内学者首先从了解汗腺的发生规律入手。观察到汗腺的发生实际上是一个以表皮干细胞为源泉,表皮生长因子为诱导因子,细胞外基质金属蛋白酶为开道因子的相互作用的生物学过程。在这一过程中,表皮干细胞向汗腺细胞表型转分化时所表达的癌胚抗原(CEA)、角蛋白 19、角蛋白 14 以及角蛋白 7 等可以作为整个汗腺细胞的表面标志,其中 CEA 在启动早期即为汗腺组织特异性表达标志,而角蛋白 18 和角蛋白 8 可以作为汗腺分泌部的标志。尽管表皮干细胞和脂肪干细胞均可以作为汗腺再生的种子细胞,但由于大面积深度烧伤使这 2 种干细胞均受到破坏,因而国内学者筛选出以 MSC 作为汗腺再生的种子细胞,并且进一步评价了其安全性。MSC 与汗腺细胞共培养, MSC 向汗腺细胞的转分化率为 37%,融合率和凋亡



基金项目:国家重点基础研究发展规划(2005CB522603)

作者单位:100853 北京,解放军总医院基础医学所,第一附属医院全军创伤修复重点实验室

率仅为 1.8% 和 1.2%, 与 MSC 和中胚层来源的细胞共培养所获得的结果相同。体外诱导分化实验证明, 在一定条件下 MSC 可以转变为汗腺细胞表型, 将其种植于裸鼠脚掌损伤创面, 能够参与损伤汗腺的修复。在体外诱导和动物实验取得成功的基础上, 将这些经过诱导的自体 MSC 移植于瘢痕切除创面, 观察到 MSC 参与了汗腺再生过程。2 例完整的临床试验结果表明, 术后 2 个月移植 MSC 的创面发汗试验阳性, 将所收集的汗液与正常皮肤汗液进行比较, 其电解质 (Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 、 Ca^{2+})、pH 值以及渗透压等相似。对移植创面进行活检, 从常规病理和组织学检查可见, 移植 MSC 的创面有类似汗腺样的结构生长。因此, 可以认为这些初步结果为解决严重烧伤患者后期排汗的难题找到了一条可行的途径^[9]。目前国内已经开展了 5 例相关研究, 评价工作正在进行中。

虽然毛囊再生的重要程度不及汗腺, 但由于毛囊特殊的解剖结构以及在美容等方面的重要功能, 因而也受到国内外学者的高度重视。毛囊干细胞 (FSC) 主要位于毛囊外根鞘中段隆突 (bulge) 部位, 具有分化为表皮、皮脂腺和汗腺等细胞的潜能。临床实践中观察到, 头皮深 II 度烧伤愈合速度快, 且作为供皮区反复取皮后并无瘢痕形成, 提示其可能与头皮存在丰富的 FSC 有关。初步研究证实, FSC 不仅可分化为毛囊内不同的细胞, 而且还可分化为表皮细胞、成纤维细胞和血管内皮细胞以及皮脂腺和汗腺上皮细胞, 参与修复过程^[10]。

3 干细胞与组织工程皮肤构建

组织工程皮肤是解决烧伤创面早期覆盖和后期整形的重要材料之一。干细胞作为种子细胞在构建组织工程皮肤中发挥重要作用。表皮干细胞作为组织工程皮肤的种子细胞是一个理想的选择。早在 20 世纪 70 年代, 就有学者利用表皮基底层细胞在体外培养出了表皮细胞膜片, 并成功应用于烧伤创面的覆盖。但大面积烧伤患者因其皮肤的广泛损毁, 使得这一选择非常困难。MSC 由于来源丰富、分离培养容易、增殖分化能力强, 在适宜培养条件下易分化为组织修复细胞, 加之在严重烧伤后由于 MSC 位于骨髓腔, 受到的直接破坏较小, 因而是组织工程皮肤理想的种子细胞。有研究观察到, 取 3~5 代的 MSC 与小牛皮的 I 型胶原混合, 再接种角质细胞进行复合培养, 所构建的组织工程人工皮肤移植于烫伤创面, 其大体愈合的时间较单纯胶原组和空

白对照组分别提前 3~7 d, 且皮肤颜色接近正常、瘢痕小、上皮增厚、角化明显。组织学检查显示, 组织工程皮肤真皮层细胞生长良好, 毛细血管大量增生^[11]。这些结果提示, MSC 作为组织工程皮肤的种子细胞具有良好的前景。此外, 脐带血干细胞和脐带组织中的干细胞作为种子细胞也是重要的选择。

4 展望

损伤组织的修复实际上是一个再发育的过程, 其中干细胞作为种子细胞起至关重要的作用。无论是损伤创面部位的干细胞还是远隔创面通过趋化而来的干细胞; 无论是上皮细胞系的干细胞还是其他胚系的干细胞, 其最终目标都是参与损伤皮肤的修复与再生。因此, 如何在创面构建一个有利于多种干细胞共同诱导分化的微环境, 如何控制这些干细胞向着不同修复细胞有序分化, 以及如何控制干细胞治疗时可能产生的不良反应等, 将是今后研究的重点。

参考文献

- [1] Fu XB, Shen ZY, Chen YL, et al. Randomized placebo-controlled trial of use of topical recombinant bovine basic fibroblast growth factor for second degree burns. *Lancet*, 1998, 352 (9141): 1661-1664.
- [2] Fu XB, Sun XQ, Li XK, et al. Dedifferentiation of epidermal cells to stem cells in vivo. *Lancet*, 2001, 358 (928): 1067-1068.
- [3] 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.
- [4] Yu JY, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*, 2007, 318 (5858): 1917-1920.
- [5] Li HH, Fu XB, Ouyang YS, et al. Adult bone marrow derived mesenchymal stem cells contribute to wound healing of skin appendages. *Cell Tissue Res*, 2006, 326 (3): 725-736.
- [6] Fu XB, Fang LJ, Li XK, et al. Enhanced wound healing quality with bone marrow mesenchymal stem cells autografting after skin injury. *Wound Rep Reg*, 2006, 14 (3): 325-335.
- [7] Fu XB, Qu ZL, Sheng ZY. Potentiality of mesenchymal stem cells in regeneration of sweat glands. *J Surg Res*, 2006, 136 (2): 204-208.
- [8] 艾国平, 粟永萍, 阎国和, 等. 骨髓间充质干细胞对放创复合伤创面的促愈作用. *中华放射医学与防护杂志*, 2002, 22 (3): 164-167.
- [9] 盛志勇, 付小兵, 蔡斌, 等. 汗腺的种植 (附 2 例报告). *解放军医学杂志*, 2008, 33 (4): 363-368.
- [10] 王洪涛, 陈璧, 胡大海. 毛囊干细胞参与创面修复及相关的信号转导通路. *中国修复重建外科杂志*, 2007, 21 (1): 90-93.
- [11] 刘鹏, 邓志宏, 温宁, 等. 复合骨髓间充质干细胞的组织工程皮肤修复烧伤创面的实验研究. *中国美容医学*, 2007, 16 (4): 437-439.

(收稿日期: 2008-05-06)

(本文编辑: 张红)