

# 干细胞移植治疗难愈性创面的展望

吴军

Progress in the management of nonhealing wounds with stem cell transplantation WU Jun. Institute of Burn Research, Southwest Hospital, State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combine Injury, The Third Military Medical University, Chongqing 400038, P. R. China

**【Abstract】** Nonhealing wounds which significantly impair the quality of life for millions of people and impart an enormous burden on society are a challenge to clinical medicine. Therefore, the study of healing chronic wounds is vitally important. In the last two decades, extensive study on stem cells and the potential clinical applications have provided new perspectives in the management of chronic wounds. Increased reports state the notable effectiveness of stem cells transplantation. In this review, we summarize the main mechanisms of the long lasting restoration of the nonhealing wounds and address tremendous increase in the understanding of stem cell transplantation applied in the nonhealing chronic wounds.

**【Key words】** Stem cells; Transplantation; Nonhealing wounds

**【关键词】** 干细胞; 移植; 难愈性创面

在临床治疗过程中,常常会遇到一些难愈合的创面。由于存在原发性疾病或者初期处理不当以及其他原因,常造成创面的迁延不愈,给患者带来极大的痛苦和生活不便。自 20 世纪 60 年代以来,创面愈合的研究始终是创面修复领域的重点。近 20 年来,随着分子生物学技术的飞速发展,人们针对难愈性创面的发生机制和防治研究也进行了深入的探讨,在基础研究领域和临床应用方面均取得了长足的进步。

创面愈合是一个复杂而有序的生物学过程,主要包括炎症反应、细胞增殖/结缔组织形成、创面收缩与重塑几个阶段。组织损伤后,创面周围的修复细胞通过分泌生长因子调节修复细胞的分化与增殖,形成肉芽组织,促进创面收缩愈合;依据细胞凋亡机制,完成创面的重塑。在机体的调控下,炎症细胞、修复细胞、细胞外基质及细胞因子等多因素相互协调,共同参与创面愈合。这些过程呈现高度的有序性、整体性、网络性,任何一个环节的协调不良或功能障碍均可导致创面愈合“失控”。



## 1 创面迁延不愈的发生机制

创面愈合过程中,若持续存在某些因素,如物理场(辐射、电磁场、创伤等)、化学因素(炎症、毒性物质、重金属等)、生物因素(细胞老化、自由基、营养不良、细菌或病毒感染、应激等),常引起创面的迁延不愈。现已从分子生物学领域证明,创面修复障碍的机制有如下几种。

### 1.1 组织修复细胞的过度凋亡和增殖不足

慢性创面中,成纤维细胞、表皮细胞、血管内皮细胞等组织修复细胞会出现核固缩与核染色质边缘化等典型表现。成纤维细胞是肌体修复的主要细胞,它的增殖障碍将使细胞外基质特别是胶原的合成发生障碍,其结果是创面愈合延迟。

### 1.2 生长因子的表达异常

原癌基因(c-myc、c-fos、c-jun)及其抑制物 p53、Rb、APC 等基因的激活与表达失控,会影响生长因子基因在组织器官的定位表达与激活。原癌基因的低表达能下调成纤维细胞生长因子(FGF)基因的表达,导致成纤维细胞活性下降。FGF2、转化生长因子 $\beta$ (TGF- $\beta$ )和表皮生长因子(EGF)等的表达出现异常,会影响修复细胞如表皮细胞、成纤维细胞和内皮细胞的增殖及其向创面的迁移。研究证明,并非所有难愈性创面的生长因子都呈现“含量降低”状态,但是其受体的活性却呈下调状态,从而影响了生长因子与受体之间的相互作用和信号转导<sup>[1]</sup>。

### 1.3 修复细胞骨架改变和移行能力降低

研究表明, $\beta$  粘连蛋白、角质形成细胞、c-myc、角蛋白(K)6、K16 在难愈性创面的发生机制中有重要意义<sup>[2]</sup>。与正常皮肤相反,在难愈性创面的边缘, $\beta$  粘连蛋白的核表达和 c-myc 的表达都呈上升趋势。 $\beta$  粘连蛋白的表达增加通过阻断 EGF 受体的应答,抑制了角质形成细胞的移行,并且诱导 c-myc 及 K6、K16 的表达。K6、K16 是重要的细胞骨架成分,对细胞移行有重要作用。 $\beta$  粘连蛋白/c-myc 途径的激活,通过抑制角质形成细胞的移行和改变其细胞骨架的构成而影响创面愈合。

总的来说,组织修复细胞支架改变、修复细胞过度凋亡、生长因子与靶细胞受体间信号转导“失偶

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

联”以及多种因子间网络调节“失控”,均是体表难愈性创面的发生机制。

## 2 治疗难愈性创面的研究进展

传统的治疗手段如中西医结合治疗<sup>[3,4]</sup>、局部氧疗<sup>[5]</sup>、负压引流技术(VAC)<sup>[6]</sup>、低频超声治疗<sup>[7]</sup>、胰岛素以及基因工程药物生长因子的应用等等<sup>[8,9]</sup>,主要集中在通过促进创面周围的细胞增殖和胶原形成,改善局部血氧供应,以及调节内源性生长因子的表达和应用外源性生长因子来促进创面愈合等方面。从上述创面迁延不愈的机制来看,仅仅通过改善创周环境来促进肌体自身修复细胞修复创面是不够的,修复细胞的增殖受抑和移行能力降低、生长因子调控网络的紊乱造成了创面迁延不愈,而创面的长期存在又进一步损伤了修复细胞的活性。因此,通过移植补充新鲜的创周修复细胞更能从根本上解决创面迁延不愈的难题<sup>[10]</sup>。

近年广泛应用于临床的组织工程皮肤移植,也成为修复创面的重要手段。培养的表皮自体移植、异基因表皮移植、复合人工皮等组织工程皮肤,具有正常人皮肤的部分功能,能较好地修复创面,促进其愈合;但它缺乏正常人皮肤的毛囊、皮脂腺、汗腺、血管以及色素细胞等成分。因而,通过干细胞移植治疗难愈性创面,成为目前临床和基础研究的热点。干细胞移植不仅能从根本上解决创面修复细胞缺乏的问题,而且能通过体外培养、诱导分化以及基因转染等技术构建出结构、功能完整的皮肤,解决组织工程皮肤修复后部分皮肤功能缺乏的问题。目前,其研究主要集中在以下几个方面。

### 2.1 表皮干细胞(ESC)移植

主要来自毛囊和表皮基底层的 ESC 具有自我更新能力和较强的可塑性,能保留像胚胎细胞一样的多能性,是潜在的多能干细胞。在正常情况下,ESC 保证了皮肤的微环境和毛发再生,在组织损伤后参与其修复<sup>[11,12]</sup>。完全可以利用 ESC 构建出具有完整表皮、真皮、皮肤附属器的功能健全的人工皮肤,实现创面由暂时性解剖修复向解剖及功能永久性修复的转变<sup>[13]</sup>。目前关于 ESC 移植修复创面有两种模式。一是体外模式,在体外培养干细胞再生组织和器官后移植到人体。它可通过体外培养表皮细胞,利用 ESC 增殖分化扩增后形成的表皮膜片直接移植修复创面,或者利用干细胞进行组织修复的“万能”模式,即分离干细胞并在体外培育,使之定向分化,形成各种活组织和器官(包括皮肤)后再进

行移植修复。二是体内模式,即在人体原有结构上培养干细胞,使受损组织和器官原位修复。EGF 不但可以显著诱导残存在创面基底处的干细胞增殖分化,并且能使部分已分化的棘细胞与颗粒细胞向 ESC 分化,这也是生长因子应用于难愈性创面进行修复的原理之一。

### 2.2 骨髓间质干细胞(MSC)移植

骨髓 MSC 能分化为骨组织、软骨细胞、脂肪细胞、肌腱细胞、肌细胞和胃肠道的上皮细胞。2003 年第 1 次报道了将骨髓 MSC 直接移植于迁延不愈创面的案例后,应用人工皮覆盖治愈了 3 例患者<sup>[14]</sup>。组织活检证实上皮化组织来源于骨髓细胞,且其产生的胶原排列较规则,瘢痕形成较少。MSC 诱导分化为表皮细胞、血管内皮细胞和皮脂腺导管细胞已获初步成功。在不同的培养条件下,体外扩增纯化的 MSC 可以表达血管内皮细胞、表皮细胞的表型。体内移植实验表明,溴脱氧尿苷(BrdU)标记的 MSC 植入烧伤小鼠,7、14、28 d 后分别有 3.4%、3.5%、2.9% 的 MSC 表达血管内皮细胞表型,同时还分别表达皮脂腺导管细胞和表皮细胞的表型。提示移植的 MSC 能分化为上述 3 种细胞,且可经 EGF 提高其分化率<sup>[15]</sup>。MSC 的表型转化可能与细胞外信号调节激酶(ERK)途径,特别是磷酸化 ERK 密切相关。动物自体移植实验也表明,应用 MSC 治疗难愈性创面,表皮再生速度,再生表皮的表皮细胞厚度数量和数量,微血管、成纤维细胞及胶原的数量均显著提高;形态学观察显示胶原的排列更加规则<sup>[16]</sup>。说明局部应用 MSC 治疗皮肤全层损伤,能够提高创面愈合质量,减少瘢痕形成。

也有研究者报道,在两种不同鼠模型上移植骨髓衍生细胞(BDC),术后 6 个月在正常小鼠的骨髓、胸腺、脾脏、淋巴结内均存在 BDC,但是皮肤中却检测不到由骨髓细胞分化而来的角质形成细胞;在皮肤损伤的小鼠模型中,皮肤内只含有少量由骨髓分化而来的角质形成细胞,却富含由其分化而来的郎格汉斯细胞<sup>[17]</sup>。由此认为,BDC 在皮肤损伤后对于促进角质形成细胞的再生并无重要意义。

### 2.3 胚胎干细胞移植

人胚胎干细胞是一类在体外不分化的、具有无限增殖能力的全能干细胞。它来自于胚泡中的内细胞团,将之注入体内与完整胚胎形成嵌合体后,可以发育形成包括生殖细胞在内的一系列成体组织。离开胚泡的内细胞团细胞可以培养成人胚胎干细胞,这些细胞的培养条件与其在胚胎发育中是不同的,

