· 综述 ·

# 表皮干细胞的研究近况

李建福　付小兵　盛志勇

目前临床上虽然基本解决了大面积深度烧伤后的创面覆盖问题，但仍存在局部皮肤薄弱、抗拉及磨擦能力差等不足，特别是无皮肤附件，严重影响患者的生活质量。近来研究表明，表皮干细胞是皮肤发生、修复、改建的关键性源泉[1]，了解表皮干细胞增殖分化及其调控机制，对于促进皮肤功能和结构的生理性修复意义重大。

一、表皮干细胞的定位

表皮干细胞为组织特异性干细胞，在胎儿期主要集中于初级表皮嵴，至成人时呈片状分布在表皮基底层。毛囊隆突部亦含有丰富的干细胞[1,2]，基于 Michael 等[3]对角膜表皮干细胞与短暂扩充细胞的研究，Taylor 等[4]以细胞双重标记滞留法，通过对鼠皮肤观察后认为，毛囊隆突部干细胞是皮肤干细胞的主要栖存地，不仅对毛囊的生长、改建和新陈代谢起关键作用，而且对表皮损伤后的修复同样重要。皮肤受创时，毛囊干细胞形成了缺乏增殖能力的短暂扩充细胞连续谱系集团（TA1，TA2，TA3 等），迁移至表皮参与修复。表皮干细胞主要由来源于毛囊的短暂扩充细胞和皮肤基底层本身存在的少量干细胞（约占基底层细胞的 1% ～10% ）组成。

Masashi 等[5]对人胚胎不同时期 β1 整合素表达阳性、E-钙粘连蛋白及 α、γ 连环蛋白表达阴性的所谓干细胞进行了观察，认为随胎龄增加，这些干细胞逐渐从毛胚芽的边缘迁移至毛桩外层，进入分化的胎毛囊并集中在毛囊外根鞘的外层及隆突部（图 1）。这种程序性的局限化，恰恰是 EGF 受体与 K19 表达阳性细胞所在地，经电镜观察证实此类细胞具有不分化的形态学特征，提出毛囊处的干细胞是表皮干细胞的“仓库”。

二、表皮干细胞的特征与鉴别

典型特征是：（1）慢周期性，表现为活体细胞标记滞留；（2）自我更新能力，表现为体外培养时细胞呈克隆状生长，可进行 140 次分裂，产生 $1 \times 10^{40}$ 个子代细胞[5,6]；（3）对皮肤基底膜的粘附，干细胞主要通过表达整合素实现对基底膜的粘附，是干细胞维持特征的基本条件。在正常表皮基底层主要有 3 种细胞亚群参与新陈代谢，分别是表皮干细胞、短暂扩充细胞（类似定向祖细胞）和有丝分裂后分化细胞。正常活体表皮基底层约 40% 的细胞为表皮干细胞与短暂扩充细胞，均可高水平的表达 β1 整合素 α2β1、α3β1 及 α6β4 。虽然表皮干细胞的表达强度为短暂扩充细胞的 2 倍，但在普通光镜下难以鉴别，需要依赖共聚焦显微境。α6 表达阳性、10G7 阴性时为干细胞，α6 和 10G7 双阳性时为短暂扩充细胞，α6 阴性、K10 呈阳性表达时为有丝分裂后的分化细胞[7,8]。端粒酶活性与细胞的增殖相关联，但不能作为表皮干细胞的标志[9]。角蛋白也可作为上述 3 种细胞的鉴别手段[10]（图 2）。有实验表明，K15 较之 K19 在鉴别毛囊隆突部表皮干细胞方面可能更有意义[11]。

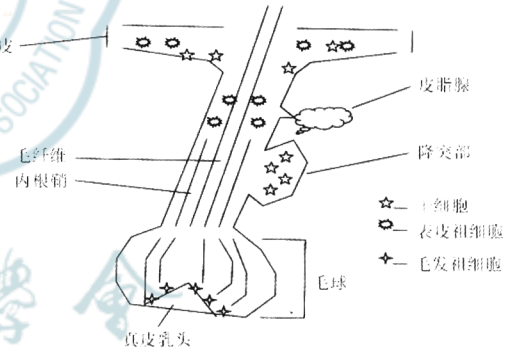


图 1　表皮干细胞位置示意图

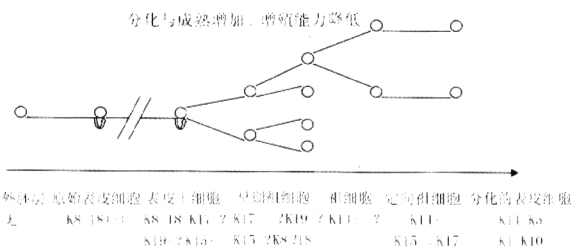


图 2　表皮发生细胞谱系及角蛋白表达示意图

三、表皮干细胞分化的调控机制

Jackie[12]成功地在体外分离、纯化、扩增了鼠的表皮干细胞，并运用器官培养条件，观察了表皮干细胞形成的表皮层状结构。这一研究成果使得运用表皮干细胞体外构建皮肤成为可能。在干细胞的壁龛中，众多的细胞因子以自分泌或（和）旁分泌调控着

作者单位：100037　北京，解放军第三 0 四医院全军创伤修复重点实验室

中华医学会杂志社 版权所有 Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?

干细胞的分裂、增殖，分化与迁移，经筛选对其中的FGF、EGF 家族进行了研究[13]。FGF1、FGF2、FGF3 包括 KGF 及其受体，在皮肤的层状结构发生上起重要作用。EGF 受体在表皮成层期方能检出，并随胚龄延展而表达增多，因此，EGF 是培养表皮干细胞必不可少的培养基添加物。

细胞间的粘附随干细胞分化而发生改变。Moles 等[14]认为：干细胞相对于其它基层细胞表达高水平的 γ-连环蛋白，而 E-钙粘连蛋白与 β-连环蛋白呈低水平表达，这些指标可做为区分干细胞的标志物，钙粘连蛋白与 β-整合素表达下调是细胞间脱粘附而向终末分化的特征[15]。β-连环蛋白在细胞的粘附上起着信号转导作用[16]，激活时可促进细胞的增殖，对体外培养的表皮形成细胞而言，增加 β-连环蛋白的表达，不影响细胞间粘附又可激发细胞的增殖能力[17]。在皮肤的形态发生上，可能是 Wnt 信号分子激活 β-连环蛋白，并与其它因素(FGF)共同作用完成。β-连环蛋白作为激活 Tcf/Lef 的转录因子，在表皮干细胞内较之短暂扩充细胞更丰富，它的超表达可增加干细胞在体外的比例，在体内可致角化细胞转分化进入多潜能状态；但转基因鼠肠上皮 β-连环蛋白的超表达，则刺激细胞同时发生增殖与凋亡[18]。

β-连环蛋白与 Tcf/Lef 间的相互作用同时发生，亦可引起 c-Myc 的表达。c-Myc 的功能是促进细胞增殖，下调 c-Myc 表达是细胞向终末分化的先决启动条件。Gandarillas 等[19]认为，c-Myc 能选择性地作用于表皮干细胞，使其朝短暂扩充细胞的方向发展，导致表皮生发层提早分化，表现为 c-Myc 诱导伴随表面整合素水平的下降，促使细胞对基底膜脱粘附。此外，P53 超表达可降低表皮形成细胞的增殖和对钙及 TPA 的反应，改变正常分化过程[20]；MDM2 仅在体外培养的表皮生长层表达，而在基底层几乎不表达，这对表皮形成细胞的分化起重要作用。以银屑病患者的表皮做对照，激活 c-Myc 信号通路导致 P53 表达下调的同时，正常干细胞丧失增殖潜能。而 MDM2 的表达，则导致细胞变型增加并直达终末分化。

细胞外基质成分的改变也影响着干细胞的分化，如透明质酸(HA)的失表达是细胞向终末分化的特征[21]。随着皮肤发生的成熟，明胶酶(Gel-A)的蛋白质与 mRNA 表达逐渐升高[22]。当干细胞微环境发生改变，胞外的信息可通过整合素 α5β1、αvβ5、αvβ6 传递给干细胞，以触发跨膜信号转导，调控细胞的基因表达。这一过程不仅可以改变干细胞的分裂方式，尚可激活干细胞的多潜能性，使干细胞产生一种或多种定向祖细胞以适应机体的需要。因此，整合素 α5β1、αvβ5、αvβ6 也被称为创伤愈合过程中的应急受体(emergency receptor)[23]。

高水平表达整合素是维持干细胞群落所必需的条件，Watt 等[24]的研究显示，转染成功的干细胞表面 β1 整合素水平及细胞与Ⅳ型胶原的粘附性明显降低，MAPK 活性减弱，细胞的克隆能力下降，增殖潜能丧失，表现出短暂扩充细胞的特征；而通过超表达野生型 β1 整合素或激活 MAPK，则可上调整合素的表达，恢复其粘附性及增殖潜能。整合素调控多种细胞的分化，表皮细胞与胞外基质的粘附能力的缺失是终止干细胞进行自我更新而进入终末分化的强刺激因素。将 β1 整合素缺失小鼠胚胎干细胞与表达野生型 β1 整合素细胞相比较，后者能分化出完整的表皮细胞谱系，而前者不能产生分化细胞。

## 四、展望

虽然表皮干细胞已有 20 年研究历史，但仍处于实验观察阶段，许多问题尚未解决。如在体外扩增获得足够量的干细胞以修复缺损皮肤的同时，如何保持自我特性；如何缩短干细胞体外扩增时间；如何控制干细胞定向分化为皮肤特有的生理结构等等。要回答这些问题，就必须先解决(1)表皮干细胞的复制；(2)隐匿于正常环境下尚未被发现的干细胞增殖与分化方向的开发；(3)通过缩短细胞周期以获得更多的短暂扩充细胞增殖。前人的努力已为临床应用开辟了新的途径，并奠定了一定的基础。

## 参 考 文 献


1 Cotsare lis G, Kaur P, Dhouailly D, et al. Epithelial stem cell in the skin: definition, markers, localization and funtion. Exp. Dermatol, 1999, 283: 80 - 88.

2 Bickenback JR, Chism E. Selection and extended growth of murine epidermal stem cell in culture. Exp. Cell. Res, 1998, 244: 184 - 195.

3 Gina Taylor, Michael S, Lehrer, et al. Involvement of follicular stem cells in forming not only the follicle but also the epidermis. Cell, 2000, 102: 451 - 461.

4 Michael S, Lehrer, Tung-Tien Sun, et al. Strategies of epithelial repair: modulation of stem cell and transit amplifying cell proliferation. J. Cell. Sci, 1998, 111: 2867 - 2875.

5 Masashi Akiuama, Lynne T, Swith, et al. Changing patterns of localization of putative stem cell in developing human hair follicles. J. Invest. Dermatol, 1999, 113: 321 - 327.

6 Lones PH. Isolation and charcterization of human epidermal stem cell. Clin. Sci, 1996, 91: 141 - 146.

7 Amy Li, Paul J, Simmons, et al. Indentification and isolation of candidate human keratinocyte stem cells based on cell surface phenotype. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1998, 95: 3902 - 3907.


中华医学会杂志社 版权所有 Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?

8 Kaur P, Li A. Adhesive properties of human basal epidermal: an analysis of keratinocyte stem cells, transit amplifying cells, and post-mitotic differentiation cells. J. Invest. Dermatol, 2000, 114: 413 - 420.
9 Ramirez RD, Wright WE, Shay JW, et al. Telomerase activity concentrates in the mitotically active segment of human hair follicles. J. Invest. Dermatol, 1997, 108: 113 - 117.
10 Michel M, L, Heureux N, Auger FA, et al. From newborn to adult: Phenotypic and functional properties of skin equivalent and human skin as a function of donor age. J Cell Physio, 1997, 171: 179 - 189.
11 Lyle S, Christofidou-Solomidou M, Liu YP, et al. The C8/144B monoclonal antibody recognizes cytokeratin 15 and defines the location of human hair 89follicle stem cells. J Cell Sci, 1998, 111: 3179 - 3188.
12 Jackei R, Bickenbach EC. Selection and extended growth of murine epidermal stem cells in culture. Exp. Cell Res, 1998, 244: 184 - 195.
13 Yang W, Musci TS, Mansour SL: Trapping genes expressed in the developing mouse inner ear. Hearing Res, 1997, 114: 53 - 61.
14 Moles TP, Watt FM. The epidermal stem cell comparment: Variation in expression levels of E-cadhein and catenins within the basal layer of human epidermis. J. Histochem. Cytochem, 1997, 45: 867 - 874.
15 Zhu AJ, Watt FM. Expression of a dominant negative cadherin mutant inhibits proliferation and stimulation terminal differeantiation of human epidermal keratinocytes. J Cell Sci, 1996, 139: 3013 - 3023.
16 Gumbiner BM. Signal transduction byβ-catenin. Curr. Opin Cell Biol, 1995, 7: 634 - 640.
17 Zhu AJ, Watt FM. β-Catenin signling modulates proliferative potential of human epidermal keratinocytes independently of intercellular adhesion. Development, 1999, 126: 2285 - 2298.
18 He TC, Sparks AB, Rago C, et al. Identification of c-Myc as a target of the APC pathway. Science, 1998, 281: 1509 - 1522.
19 Gandarillas A, Watt FM. C-Myc promotes differentiation of human epidermal stem cells. Genes & Development, 1997, 11: 2869 - 2882.
20 Dazrd JE, Piette J, Basset-Seguin N, et al. Switch from P53 to MDM-2 as differentiating human keratib nocytes lose their proliferative potential and increase in cellular size. Oncogene, 2000, 19: 3693 - 3705.
21 Agren UM, Tammi M, Ryynanen M, et al. Developmentally programmed expression of hyaluronan in human skin and its appendages. J Invest. Dermatol, 1997, 109: 219 - 224.
22 Karelina TV, Bannikov GA, Eisen AZ, et al. Basement membrane zone remodeling during appendageal development in human fetal skin. The absence of type Ⅶ collagen is associated with Gelatinase-A(MMP-2) activity. J Invest. Dermatol, 2000, 114: 371 - 375.
23 Pellegrini G, Bondanza S, Guerra L, et al. Cultivation of human keratinocyte stem cells: Current and future clinical applications. Med. Biol. Eng. Comput, 1998, 36: 778 - 790.
24 Zhu AJ, Haase I, Watt FW, et al. Signaling via β1 integrins and mitogen-activated protein kinase determines human epidermal stem cell fate in vitro. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2000, 96: 6728 - 6733.

（收稿日期：2001 - 02 - 01）
（本文编辑：王　旭）

· 病例报告 ·

# 烧伤瘢痕再烧伤十例观察

薛铁所　薛琨

生活中，烧伤瘢痕再烧伤并不常见，现将我院资料较完整的 10 份病历进行分析整理，报告如下。

10 份病历中，男 7 例，女 3 例；年龄最大 59 岁，最小 17 岁；两次烧伤间隔时间最长 43 年，最短 1 年半。首次烧伤后形成的瘢痕类型，按蔡景龙等[1]的分类方法，除瘢痕癌外，其余 6 类均有。但再次烧伤的只有扁平瘢痕、增生性瘢痕、萎缩性瘢痕和凹陷性瘢痕 4 类。再次烧伤后均采用常规保守治疗，未行手术。

1. 首次烧伤如为浅度，遗留的扁平瘢痕再烧伤后，从临床表现到愈合时间与正常皮肤无明显差别。

2. 首次烧伤如为深度且未经植皮自然愈合者，遗留的增生性瘢痕或萎缩性瘢痕，再烧伤后不形成水泡或起泡较晚、泡液稀薄、凝固较慢，去除腐皮见基底部发白、稍干。瘢痕组织是一种血液循环不良，结构异常，神经分布错乱的不健全组织[1]，因此起泡迟缓，渗出较慢。由于瘢痕表皮结构不全缺乏弹性，很可能不起水泡。渗出液中蛋白含量较少又导致泡液稀薄、凝固较慢。

3. 深度烧伤经植小块皮而愈合的创面，大部分遗留有凹陷性瘢痕，再次烧伤后创面渗出少，不起水泡，表皮不易撕脱。其原因与肉芽创面植皮时，刮除老化肉芽到纤维板层或切痂时切除皮下组织较多，皮片成活后缺乏丰满的皮下组织，血液循环较差有关。

4. 增生性、萎缩性和凹陷性瘢痕再烧伤后修复缓慢。本组 1 例浅Ⅱ度烧伤 40 d 尚未痊愈。究其原因，为局部血液循环较差，清除创面坏死组织时间偏长；创面基底系瘢痕组织无皮肤附件，而创缘上皮细胞又因血供不足增殖缓慢等因素所致。另外，P 物质(SP)在伤口愈合中起重要作用，而瘢痕组织中的 SP 低于正常皮肤($P < 0.01$)[2]。

5. 瘢痕再烧伤的深度判断。瘢痕组织结构异常，无法判断热损伤破坏到那一个层次。笔者的经验是，参照周围正常皮肤的烧伤深度来推断其间的瘢痕损伤深度，但此法不适合对创面的预后估计，曾有浅Ⅱ度创面 40 d 不愈合的先例。因此建议，在上述深度的基础上适当推延创面愈合时间。

## 参　考　文　献

1 蔡景龙，张宗学，主编. 现代瘢痕治疗学. 北京：人民卫生出版社，1998. 51 - 100.
2 丛林，李世荣，徐龙奇，等. 增生性瘢痕 P 物质含量的放射免疫. 中华整形烧伤外科杂志，1998，14：401 - 403.

（收稿日期：2000 - 09 - 12）
（本文编辑：王　旭）

作者单位：030008　太原，兴安医院烧伤整形科（薛铁所）；广州解放军第一五七医院（薛琨）

中华医学会杂志社 版权所有 Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?