

完美与遗憾 梦想与现实

——组织工程在创面修复中的现状与未来

吴军 罗高兴 王锡华



曾听一位严重烧伤患者的母亲这样说道：“尊敬的大夫，我由衷地感谢您用高超的医术把我儿子从烧伤的死亡线上挽救回来。但我将诅咒你们一辈子，因为我儿子的严重瘢痕和畸形使他生不如死，为此我们母子将煎熬终生！”这段话是对我们医务工作者的赞美还是指责，是我们无力创造健康幸福还是在无意中制造痛苦？此时此刻，深感科学的肤浅与无奈。

随着研究的深入，今天人们已经初步认识到皮肤不仅仅是机体的机械屏障器官，更是一个重要而复杂的免疫器官、内分泌器官、神经器官甚至组织干细胞库。然而，迄今取得的这些进步并不足以让我们从根本上解决严重烧伤后的皮肤缺损问题。面对这些残酷的现实和艰难的探索，我们呼唤科学的奇迹。但奇迹在哪里，希望在何方？干细胞移植、异基因皮肤移植或许是未来创面修复的出路所在。

一、干细胞移植与创面修复

干细胞是一类具有无限或永生自我更新能力、高度分化为至少 1 种类型子细胞的细胞。简要回顾干细胞的分类，能够使我们了解在一个复杂的学科领域中，创面的生理性修复处于何种阶段，以及与其他组织修复可能的联系。按照发生学来源，干细胞可分为胚胎干细胞和成体干细胞。前者具有分化的全能性，从理论上讲可以诱导分化为机体所有种类的细胞，利用体外培养技术可以大量扩增、冻存和复苏而不丧失其原有特性。而成体干细胞指存在于一种已经分化组织中的未分化细胞，这种细胞能够自我更新并分化形成该类型组织的细胞。目前已发现的成体干细胞主要包括：造血干细胞、骨髓间充质干细胞、神经干细胞、肝干细胞、肌肉卫星细胞、皮肤表皮干细胞、肠上皮干细胞、视网膜干细胞、胰腺干细胞等。

按照分化潜能分类，干细胞可分为全能干细胞、多能干细胞和专能干细胞。全能干细胞主要指胚胎干细胞。多能干细胞具有产生多种类型细胞的能力，

但发育潜能受到一定限制，不能形成完整的个体，如造血

干细胞、骨髓间充质干细胞。专能干细胞是指只能朝单一方向分化、产生 1 种类型细胞的干细胞。

无论是胚胎干细胞还是成体干细胞，无论是全能干细胞还是专能干细胞，都与个体和组织的生长、细胞的正常更新紧密相关。它们能够修复缺损的体表组织吗？

1. 胚胎干细胞与体表创面修复：胚胎干细胞是最原始的祖细胞。有实验证明，鼠的胚胎干细胞能分化为外胚层，这些向外胚层定向分化的胚胎干细胞在体外培养条件下可形成具有完整分层的表皮和表皮下的真皮成分，在组织学上与皮肤结构相似^[1]。该实验还证明胚胎干细胞之间能互相诱导向外胚层和中胚层分化。

2. 表皮干细胞与体表创面修复：一般来说表皮干细胞可以定义为：(1) 在体内属于慢周期细胞；(2) 能自我更新并负责长期维持组织的存在；(3) 能在体外培养条件下或被创伤激活，进而分裂增殖形成再生组织；(4) 至少能分化为 3 种特定组织即表皮、毛囊和皮脂腺；(5) 有很强的增殖能力。该定义下的表皮干细胞位于何处？早期研究表明，表皮的基底层细胞具有分裂活性，可它们一旦离开基底膜并向皮肤表面移动，便失去了分裂能力。包围在真皮乳头的毛囊细胞也是具有活跃分裂能力的相对未分化细胞^[2]。但最重要的发现是用组织学和组织素示踪法观察到，毛囊外鞘中段、皮脂腺下方有一特殊结构，取名为隆凸 (bulge)，多能干细胞以细胞团的形式存在于此结构中^[3]。隆凸内的干细胞向上可形成皮脂腺，并源源不断地为表皮基底层提供干细胞；向下可至毛囊根部补充毛囊干细胞。这些隆凸内的干细胞具有比毛囊内表皮干细胞更缓慢的细胞周期以及更强的克隆形成能力^[4,5]。

然而，这些生物学特性方面的研究并未使我们在了解表皮干细胞特异性标志方面取得突破性进展。但人们观察到，表皮干细胞可表达整合素 β_1 、CD71、角蛋白 15 (keratin 15, K15)、 Δ Np63、 β 连环蛋白、CD24、III 型胶原等。上述这些分子对判定表

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

皮干细胞发生的不同阶段、不同分化潜能以及分离纯化的表皮干细胞等具有重要意义。有研究表明,细胞周期调节因子 c-Myc^[6,7]、β 连环蛋白^[8,9]、ΔNp63^[10]、Notch 家族分子^[11] 等等,都在维持表皮干细胞的非成熟状态方面起着至关重要的作用。

这些基础研究能否帮助我们在活体内或在体外制造、培养出大家期望的皮肤组织?早在 1975 年,Rheinwald 等^[12]就利用表皮基底层细胞在体外成功培养出膜状表皮细胞片,并广泛应用于烧伤创面覆盖。但这些培养的皮片在体内内外均不能形成皮肤附件结构和真皮成分,所以不能被称为严格意义上的皮肤。

日本学者将硅凝胶室固定在裸鼠的创面上,用 GFP 转基因小鼠的骨髓细胞与小鼠胚胎皮肤的表皮、真皮细胞相混合,然后注入硅凝胶小室内的创面上,结果不到 3 周的时间形成分化良好且有毛发生长的皮肤,在表皮层、毛囊、皮脂腺、真皮层内均有 GFP 阳性细胞表达^[13]。但是如果在此模型中单独使用骨髓细胞,则不能使创面上皮化。这一结果提示:(1)成年鼠骨髓干细胞(主要包括造血干细胞和间充质干细胞)能分化为角质形成细胞、皮脂腺细胞、毛囊上皮细胞、内皮细胞等;(2)真皮细胞和表皮细胞所营造的微环境十分重要。

3. 骨髓间充质干细胞与体表创面修复:间充质干细胞最早发现于骨髓。Friedenstein 等^[13]及其团队曾陆续报道了除造血干细胞以外,还有一种细胞能形成集落,这种成纤维细胞样的细胞可以在一定条件下分化为成骨细胞、成软骨细胞、脂肪细胞等。这类细胞被称为骨髓间充质干细胞。

但骨髓间充质干细胞能否分化为皮肤细胞曾是个谜,直到近 3 年才被证实,鼠和猪的骨髓间充质干细胞在一定条件下可以分化为表皮细胞^[14-16]。更重要的是,Nakagawa 等^[17]首次证实人的骨髓间充质干细胞能分化为表皮细胞,与成纤维细胞生长因子(FGF)2 等联合使用时,可显著促进创面愈合。

我们现在已经知道,间充质干细胞不仅存在于骨髓,更广泛存在于各类组织中。但这些不同组织的间充质干细胞有什么区别?俄罗斯学者从形态学和细胞表面分子标记的角度,研究了人的骨髓、脂肪组织、皮肤组织、胎盘和胸腺间充质干细胞,结果是不同组织来源的间充质干细胞之间无明显差异^[18],这为今后创面修复的相关研究提供了重要线索。

二、异基因皮肤移植与创面修复

异基因皮肤移植包括异种及异体皮肤移植。可

以设想,若异体或异种皮肤在覆盖创面后不发生免疫排斥,则无论烧伤还是皮肤肿瘤切除后,皮肤创面的修复问题都可以得到彻底解决。然而,如何控制免疫排斥反应并诱导终生免疫耐受,仍是目前不可逾越的障碍。移植耐受的研究进展主要涉及以下几个方面。

1. 胸腺移植与中枢免疫耐受。在动物体内已证实,胸腺移植可诱导皮肤移植物终生耐受^[19-21],且胸腺可有效“培训”异种淋巴细胞的发育和分化^[22],但距离临床应用尚有诸多困难没有解决。

2. 调节性 T 淋巴细胞与外周免疫耐受。调节性 T 淋巴细胞在机体的免疫系统稳定和免疫耐受方面起着至关重要的作用,但其生物学、免疫学特点尚不完全明了。单独向机体内注入调节性 T 淋巴细胞,虽然能够延长皮肤移植的成活期且具有抗原特异性,但所谓“延长”仍是相对的^[23]。

3. 共刺激信息通路 with 外周免疫耐受。已有大量的研究证实,CD28-B7、CD40-CD40L 等的刺激通路若被竞争性分子阻断,则 T 淋巴细胞的活化是不完全的,不完全的 T 淋巴细胞对相应抗原刺激呈低反应性。动物移植实验证明,阻断 1 个或 2 个刺激通路可显著延长异体或异种皮肤移植物的成活,但至今尚不能达到永久成活^[24,25]的目的。

综上所述,不论是用于干细胞构建皮肤还是用完整皮肤进行组织移植,都已在我们面前显示出诱人的前景,这些景象已逐渐在梦想中有了较为清晰的轮廓。如果我们能够回答并操纵下列问题,实现美梦中的目标将指日可待。

1. 干细胞向皮肤表皮干细胞、表皮细胞分化的调控。
2. 影响干细胞形成皮肤附件微环境的主要因素。
3. 免疫应答强度的控制开关。
4. 识别己和非己的分子调控机制。

参 考 文 献

- 1 Aberdam D, Gambaro K, Barthel R, et al. Embryonic stem cells and epidermal commitment. Bull Acad Natl Med, 2005, 189:645 - 653.
- 2 Jahoda CA, Horne KA, Oliver RF. Induction of hair growth by implantation of cultured dermal papilla cells. Nature, 1984, 311:560 - 562.
- 3 Alonso L, Fuchs E. Stem cells of the skin epithelium. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100 (Suppl):11830 - 11835.
- 4 Cotsarelis G, Sun TT, Lavker RM. Label-retaining cells reside in the bulge area of pilosebaceous unit: implications for follicular stem cells, hair cycle, and skin carcinogenesis. Cell, 1990, 61:1329 - 1337.

5 Roach A, Kobayashi K, Barrandon Y. Location of stem cells of human hair follicles by clonal analysis. *Cell*, 1994, 76:1063 - 1073.

6 Arnold I, Watt FM. c-Myc activation in transgenic mouse epidermis results in mobilization of stem cells and differentiation of their progeny. *Curr Biol*, 2001, 11: 558 - 568.

7 Waikel RL, Kawachi Y, Waikel PA, et al. Deregulated expression of c-Myc depletes epidermal stem cells. *Nat Genet*, 2001, 28:165 - 168.

8 Gat U, Dasgupta R, Degenstein L, et al. De Novo hair follicle morphogenesis and hair tumors in mice expressing a truncated beta-catenin in skin. *Cell*, 1998, 95:605 - 614.

9 Huelsken J, Vogel R, Erdmann B, et al. Beta-catenin controls hair follicle morphogenesis and stem cell differentiation in the skin. *Cell*, 2001, 105:533 - 545.

10 Koster MI, Kim S, Mills AA, et al. p63 is the molecular switch for initiation of an epithelial stratification program. *Genes Dev*, 2004, 18:126 - 131.

11 Bray S, Furiols M. Notch pathway: making sense of suppressor of hairless. *Curr Biol*, 2001, 11:217 - 221.

12 Rheinwald JG, Green H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes; the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell*, 1975, 6:331 - 343.

13 Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Krlagina NN. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic. *Exp Hematol*, 1976, 4: 267 - 274.

14 Kataoka K, Medina RJ, Kageyama T, et al. Participation of adult mouse bone marrow cells in reconstitution of skin. *Am J Pathol*, 2003, 163:1227 - 1231.

15 Badiavas EV, Abedi M, Butmarc J, et al. Participation of bone marrow derived cells in cutaneous wound healing. *J Cell Physiol*, 2003, 196:245 - 250.

16 付小兵, 方利君, 王玉新, 等. 骨髓间充质干细胞自体移植提高猪皮肤创面修复质量的初步研究. *中华医学杂志*, 2004, 84:920 - 924.

17 Nakagawa H, Akita S, Fukui M, et al. Human mesenchymal stem cells successfully improve skin-substitute wound healing. *Br J Dermatol*, 2005, 153:29 - 36.

18 Musina RA, Bekchanova ES, Sukhikh GT. Comparison of mesenchymal stem cells obtained from different human tissues. *Bull Exp Biol Med*, 2005, 139:504 - 509.

19 解志杰, 吴军, 郑峻松, 等. 混合胸腺移植诱导皮肤移植免疫耐受的实验研究. *第三军医大学学报*, 2004, 26:2117 - 2119.

20 解志杰, 吴军, 郑峻松, 等. 混合胸腺裸小鼠移植模型的建立及重建T细胞功能的体外研究. *第三军医大学学报*, 2004, 26:193 - 195.

21 王锡华, 吴军, 解志杰, 等. 混合胸腺移植诱导免疫耐受和防止发生自身免疫性疾病的实验研究. *医学研究生学报*, 2005, 18: 499 - 502.

22 Nikolic B, Gardner JP, Scadden DT, et al. Normal development in porcine thymus grafts and specific tolerance of human T cells to porcine donor MHC. *J Immunol*, 1999, 162: 3402 - 3407.

23 Feng NH, Wu HF, Wu J, et al. Transplantation tolerance mediated by regulatory T cells in mice. *Chin Med J (Engl)*, 2004, 117:1184 - 1189.

24 郑峻松, 吴军, 肖光夏. 树突状细胞与移植免疫耐受的研究. *中华烧伤杂志*, 2003, 19:382 - 384.

25 吴军. 移植免疫耐受研究进展. *中华烧伤杂志*, 2002, 18:12 - 14.

(收稿日期:2005-11-01)

(本文编辑:王旭)

读者 · 作者 · 编者

本刊编辑部工作人员联系方式

编辑部电话:023-68754670, 65460278, 65460398(传真)
 王旭; Email:zwangxu05@163.com
 张红; Email:cmashz@tmmu.mail.com.cn
 赵敏; Email:zmhmm0908@163.com

投稿及稿件查询; Email:cmashz@tmmu.mail.com.cn
 罗勤; Email:luoqinluoqin@163.com
 莫愚; Email:moyu48@163.com

欢迎用电子邮件形式投稿

为缩短作者投稿至刊出时间,本刊编辑部接受电子邮件(Email)形式投稿。单位介绍信、基金资助证明复印件请沿用信函方式邮寄,并在Email投稿的同时进行补充说明。对采用Email形式所投稿件,编辑部一律采用相同方式送审,编委亦通过此方式审回。编辑部Email地址:cmashz@tmmu.mail.com.cn或见每期杂志目次页左栏。

· 消息 ·

本刊获中国科学技术协会择优资助

接中国科学技术协会学术部通知,根据专家指导委员会的指导意见和专家评审委员会评审结果,《中华烧伤杂志》获2005年“择优支持基础性、高科技学术期刊经费资助”。据悉,全国5千种科技期刊中,获此资助项目的刊物不足百名,本刊为重庆市惟一获得者。同时,本刊获中国科学技术协会“设备经费资助”。在此,对一直以来关心、支持、帮助我们的专家、作者、读者表示真诚的感谢!