

Smad 3 与瘢痕增生关系的研究进展

唐辉 徐永清 梁晚益 刘旭盛

瘢痕增生是创面修复过度、组织纤维化和胶原蛋白沉积的结果。近年来,关于其形成机制的研究取得了一些进展。现已知多种因子参与并调控瘢痕增生的发生,其中转化生长因子 β (TGF- β) 是诱导成纤维细胞胶原合成、促进瘢痕增生的主要细胞因子^[1], Smad 3 在其信号转导过程中起重要作用^[2]。本文就 Smad 3 的研究进展作一介绍。

1 Smad 3 基因的生物特点

Smad 3 基因是 Smad 基因家族的成员之一,其蛋白是 TGF- β 信号通路中的细胞质成分,具有 3 个功能域,即 MH 1 区、MH 2 区和 L 区(图 1)。

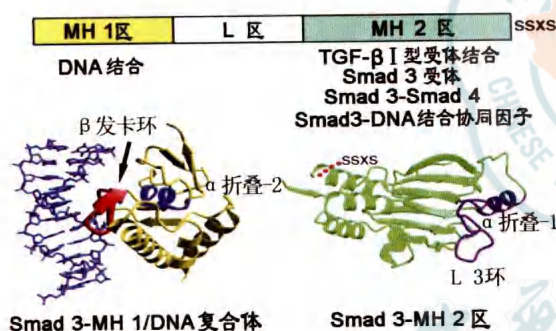


图 1 Smad 3 蛋白结构域及其功能示意图。SSXS 为 Ser-Ser-X-Ser, TGF- β 为转化生长因子 β

MH 1 区含有一个 β 发卡环,可特异性识别 Smad 结合元件(Smad binding elements, SBE)并与之结合。 α 折叠-2 协助参与这一连接。MH 1 区中还含有核定位信号(nuclear localization signal, NLS),与 Smad 3 核积聚密切相关。MH 2 区含有 L 3 环和 α 折叠-1,能与 TGF- β I 型受体特异性结合。一旦结合, MH 2 区特征性结构 SSXS 模体[即丝氨酸(Ser)-Ser-X-Ser]中的 Ser 残基将发生磷酸化^[3]。Smad 3 与 SBE 的结合需要该模体磷酸化。L 区位于 MH 1 区和 MH 2 区之间,起连接作用。该区与 Smad 3/Smad 4 形成有关。而且 L 区尚具有转录激活功能,该区缺失的 Smad 3 蛋白虽然可以被 TGF- β 激活,但不能介导 TGF- β 的转录激活功能^[4]。

作者单位:650032 昆明,成都军区昆明总医院骨科医院(唐辉、徐永清);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(梁晚益、刘旭盛)

2 Smad 3 与 TGF- β 信号传递

TGF- β 受体分为 I、II 型,具有 Ser-苏氨酸激酶活性^[5],可在 TGF- β 作用下相继活化。活化的 I 型受体与 Smad 3 蛋白 MH 2 区结合,使其 SSXS 模体磷酸化,并改变其空间构象,暴露 NLS 基序,后者与核转载体结合,使 Smad 3 蛋白发生核转移,识别并结合 SBE 序列^[6]。SBE 作为增强子存在于和瘢痕增生相关的基因上游,如纤溶酶原激活物抑制剂 1(PAI-1)、VII 型胶原等。靶基因转录后, Smad 3 从染色质释放,并从核内转至胞质,被 26S 蛋白酶或泛素蛋白酶降解^[7]。见图 2。

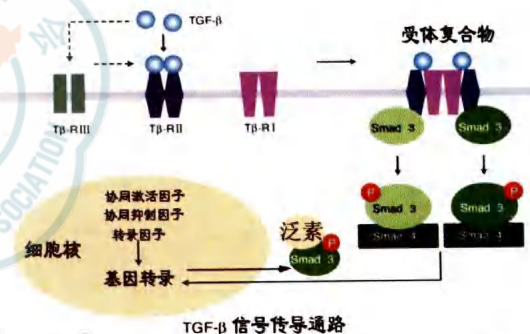


图 2 Smad 3 与转化生长因子 β (TGF- β) 信号传递示意图。T β -R 为 TGF- β 受体

3 Smad 3 与瘢痕增生

众所周知,肉芽组织形成并填补缺损、上皮细胞增殖并覆盖创面是创伤愈合的 2 个基本条件。但创面上皮化延迟或肉芽组织过度增生均可导致瘢痕增生。Smad 3 在瘢痕增生中的作用,一方面是作为 TGF- β 的信号分子促进成纤维细胞胶原合成;另一方面是抑制上皮细胞增殖,使创面上皮化延迟。

3.1 Smad 3 在 TGF- β 促进成纤维细胞胶原合成的信号转导中起重要作用

TGF- β 在瘢痕形成过程中具有重要作用^[8]。烧(创)伤后, TGF- β 可刺激伤口成纤维细胞合成多种基质蛋白,并通过调节蛋白酶的表达抑制基质降解。研究表明,皮下注射 TGF- β 可诱导局部肉芽组织形成和胶原沉积,外用 TGF- β 可增加兔耳溃疡胶原含量。外源性 TGF- β 甚至可以促进放射复合伤口的愈合^[9]。Sumiyoshi 等^[10]报道,携带 Smad 3 基因的

腺病毒可加速兔耳溃疡愈合。Gillian 等^[11]观察到, Smad 3 基因缺失小鼠胶原合成速率显著减缓,提示 Smad 3 在 TGF- β 促进胶原合成中起重要作用。实际上, TGF- β 主要通过激活成纤维细胞内 Smad 3, 启动胶原基因转录和表达, 促进胶原合成。Smad 3 相当于 TGF- β 上调成纤维细胞中 $\alpha 2$ I 型前胶原 (COL1A2) 基因转录的转录因子, 而 COL1A2 基因启动子内的 COL1A2 基序, 即“CAGACA”序列为其顺式作用元件^[12]。此外, Smad 3 激活可增强 PAI-1 转录, 后者抑制细胞外基质的降解, 加速基质沉积, 促进创面愈合^[13]。TGF- β 还可以通过 Smad 3 促进成纤维细胞产生结缔组织生长因子^[14], 该因子可以明显促进成纤维细胞的增殖、趋化以及加快胞外基质的沉积。TGF- β 通过 Smad 3 促进胶原形成, 抑制基质降解, 其本身有助于促进肉芽组织形成、修复创面缺损、促进创面愈合。但由于 TGF- β 对单核细胞、成纤维细胞和角质形成细胞具有趋化及诱导自分泌的作用, TGF- β 在伤口部位大量聚集而不能被有效清除, 胶原过度合成与沉积, 从而导致瘢痕增生。

3.2 Smad 3 抑制上皮化导致创面瘢痕增生

创面上皮化是创伤愈合的基本条件。临床观察显示, 网状植皮时移植的表皮下不出现瘢痕增生, 但网眼中瘢痕增生却十分明显, 提示及时有效的创面上皮化还具有抑制瘢痕增生的作用。前已述及, Smad 3 作为 TGF- β 的信号分子在成纤维细胞胶原合成和瘢痕增生中起重要作用。事实上, TGF- β 、Smad 3 还可以通过抑制伤口上皮化导致创面瘢痕增生^[15]。Smad 3 基因敲除小鼠创面愈合速度增快^[16]。离体实验表明, 破坏 Smad 3 可引起角质形成细胞增殖加快; 进一步实验证实, TGF- β 可以诱导 $\alpha 5$ 整合素的表达^[17]。Smad 3 基因缺失小鼠的角质形成细胞完全丧失了应答 TGF- β 表达 $\alpha 5$ 整合素的能力, 后者可抑制角质形成细胞的迁移和增殖, 说明 Smad 3 通过抑制上皮细胞增殖和迁移, 影响创面上皮化进程, 导致创面愈合延迟。创面延迟愈合将导致创面炎症反应持续发展, 肉芽组织过度增生, 胶原合成与沉积增加, 最终引起瘢痕增生。一方面, TGF- β 、Smad 3 通过抑制创面上皮化导致瘢痕增生; 另一方面, 外源性 TGF- β 可加速创面愈合。事实上, 二者并不矛盾。首先, 以往研究外源性 TGF- β 对创面的作用, 因剂量、动物模型不同, 结果存在差异。其次, 外源性与内源性 TGF- β 在创面产生的反应可能不同。此外, Smad 3 基因敲除小鼠体内所有细胞均缺失 Smad 3 基因, 某些细胞特性可能会因此

而发生改变, 其创面愈合加速的具体机制还有待进一步研究。

3.3 Smad 3 增强创面局部炎症反应导致创面瘢痕增生

Smad 3 基因敲除小鼠伤口早期明显缺乏中性粒细胞和单核细胞^[18]。体外实验表明, 其单核细胞对 TGF- β_1 的诱导缺乏应有的趋化及自分泌反应。由于单核细胞仍能表达黏附分子, 具有正常的黏附和跨血管迁移功能, 说明 Smad 3 缺失是导致单核细胞对 TGF- β_1 趋化信号缺乏反应的惟一原因^[19]。由于 TGF- β 对炎症细胞的趋化以及诱导自分泌 TGF- β 作用, 创面 TGF- β 浓度居高不下, 局部炎症反应加剧, 最终导致瘢痕增生。

4 结语

尽管瘢痕增生机制错综复杂, 但根据现有资料可以肯定, TGF- β 是促进成纤维细胞胶原合成和瘢痕增生的主要细胞因子。Smad 3 激活不但是 TGF- β 信号转导途径的关键步骤, 而且可通过抑制创面上皮化和增强伤口局部炎症反应, 促进创面瘢痕增生。由此推断, Smad 3 拮抗剂或许能有效抑制瘢痕增生, 这将成为今后研制相关药物的一个重要方向。

参考文献

- [1] Leask A, Abraham DJ. TGF- β signaling and the fibrotic response. *FASEB J*, 2004, 18(7):816-827.
- [2] Liu F. Receptor-regulated Smads in TGF- β signaling. *Front Biosci*, 2003, 8 Suppl:S1280-1303.
- [3] Imoto S, Sugiyama K, Sekine Y, et al. Roles for lysine residues of the MH2 domain of Smad 3 in transforming growth factor- β signaling. *FEBS Lett*, 2005, 579(13):2853-2862.
- [4] Wang G, Long J, Matsuura I, et al. The Smad 3 linker region contains a transcriptional activation domain. *Biochem J*, 2005, 386(Pt 1): 29-34.
- [5] Schiller M, Javelaud D, Mauviel A. TGF- β -induced SMAD signaling and gene regulation: consequences for extracellular matrix remodeling and wound healing. *J Dermatol Sci*, 2004, 35(2):83-92.
- [6] Coss D, Thackray VG, Deng CX, et al. Activin regulates luteinizing hormone beta-subunit gene expression through Smad-binding and homeobox elements. *Mol Endocrinol*, 2005, 19(10): 2610-2623.
- [7] Wang T. The 26S proteasome system in the signaling pathways of TGF- β superfamily. *Front Biosci*, 2003, 8:1109-1127.
- [8] 张选奋, 鲁开化, 柳大烈. 转化生长因子 β 在增生性瘢痕形成中的作用及其信号转导机制. *中华烧伤杂志*, 2004, 20(1): 59-62.
- [9] Tanigawa T, Pai R, Arakawa T, et al. TGF- β signaling pathway: its role in gastrointestinal pathophysiology and modulation of ulcer healing. *J Physiol Pharmacol*, 2005, 56(1):3-13.
- [10] Sumiyoshi K, Nakao A, Setoguchi Y, et al. Exogenous Smad 3 accelerates wound healing in a rabbit dermal ulcer model. *J*

- Invest Dermatol, 2004, 123(1): 229 - 236.
- [11] Gillian S, Ashcroft T, Anita B, et al. Loss of Smad 3 modulates wound healing. Cytokine Growth Factor Rev, 2000, 11(1/2): 125 - 131.
- [12] Liu X, Wen FQ, Kobayashi T, et al. Smad 3 mediates the TGF-beta-induced contraction of type I collagen gels by mouse embryo fibroblasts. Cell Motil Cytoskeleton, 2003, 54(3): 248 - 253.
- [13] Liu X, Wang W, Hu H, et al. Smad 3 specific inhibitor, naringenin, decreases the expression of extracellular matrix induced by TGF-beta1 in cultured rat hepatic stellate cells. Pharm Res, 2006, 23(1): 82 - 89.
- [14] Leivonen SK, Hakkinen L, Liu D, et al. Smad 3 and extracellular signal-regulated kinase 1/2 coordinately mediate transforming growth factor-beta-induced expression of connective tissue growth factor in human fibroblasts. J Invest Dermatol, 2005, 124(6): 1162 - 1169.
- [15] Roberts AB, Russo A, Felici A, et al. Smad 3: a key player in pathogenetic mechanisms dependent on TGF-beta. Ann N Y Acad Sci, 2003, 995: 1 - 10.
- [16] Falanga V, Schryer D, Cha J, et al. Full-thickness wounding of the mouse tail as a model for delayed wound healing: accelerated wound closure in Smad 3 knock-out mice. Wound Repair Regen, 2004, 12(3): 320 - 326.
- [17] Asano Y, Ihn H, Jinnin M, et al. Involvement of alphavbeta5 integrin in the establishment of autocrine TGF-beta signaling in dermal fibroblasts derived from localized scleroderma. J Invest Dermatol, 2006, 126(8): 1761 - 1769.
- [18] Ashcroft GS, Yang X, Glick AB, et al. Mice lacking Smad 3 show accelerated wound healing and an impaired local inflammatory response. Nat Cell Biol, 1999, 1(5): 260 - 266.
- [19] Ashcroft GS, Roberts AB. Loss of Smad 3 modulates wound healing. Cytokine Growth Factor Rev, 2000, 11(1/2): 125 - 131.

(收稿日期: 2007-04-19)
(本文编辑: 罗勤)

毛囊干细胞的研究及应用进展

杨鹏高 方勇

大面积深度烧伤后自体皮缺乏, 如何以有限的自体皮永久覆盖创面是临床上的难题。对于严重创伤和重度烧伤引起的皮肤缺损, 较常见和有效的方法是利用自体断层皮片移植, 但存在供皮量有限和造成额外损伤等问题。皮肤组织是重要的干细胞库, 其中毛囊干细胞不仅有巨大的增殖潜能, 而且能多向分化, 是皮肤组织修复细胞的重要来源。现就近年来毛囊干细胞的研究及其应用进展加以综述。

1 毛囊干细胞的基本特征

1.1 毛囊的结构

毛囊开口于皮肤表面, 由恒定的上部和周期性循环并产生毛发的球部组成。毛囊的上皮由表皮延伸而来, 主要分为外根鞘和内根鞘。外根鞘由数层不含色素的细胞组成, 与表皮基底层相连构成毛囊外层; 内根鞘由亨利层和赫胥黎层构成, 其内面形成毛发的管道。毛囊的球部由基质包绕毛乳头形成, 基质可产生快速分化基质细胞, 衍生内根鞘和毛干。

1.2 毛囊干细胞的概念和定位

干细胞是器官自体平衡和修复的细胞基础, 包括表皮和毛囊在内的自我更新组织的体内平衡依赖

于干细胞^[1]。运用组织学和同位素示踪法可观察到, 在毛囊外根鞘中段皮脂腺下方有一特殊结构, 名为隆突^[2]。毛囊干细胞以细胞团的形式存在于此结构中, 源源不断地为表皮基底层提供干细胞。

1.3 毛囊干细胞的特性

1.3.1 体内慢周期性和标记滞留细胞 毛囊干细胞通常是慢周期性细胞, 1981 年有学者首次用掺入实验证实这种细胞是一种标记滞留细胞。而后 Lyle 等^[3]通过溴脱氧尿苷掺入实验证实: 人毛囊隆突部的标记滞留细胞 4 个月后仍可被观测到。

1.3.2 体外培养时的高克隆形成能力 干细胞有很大的再生潜能, 单个细胞可分裂增殖为 1.7×10^{38} 个^[4]。毛囊干细胞体外培养时, 可产生 3 种不同的克隆, 即完全克隆、部分克隆和旁克隆^[3]。

1.3.3 毛囊干细胞的标志 (1) CD34: 研究表明, CD34 是鼠毛囊隆突部干细胞的特异性标志。但 Albert 等^[5]在鼠毛囊干细胞中未检测到 CD34, Trempus 等^[6]认为这是固定方法的差异所导致的。人类的毛囊干细胞不表达 CD34, 但表达 CD200。(2) 角蛋白 15 (K15): 免疫学方法检测结果显示, K15 在毛囊中呈阳性表达, 在表皮中呈阴性表达, 可见 K15 是隆突部毛囊干细胞的特异性标志。(3) K19: 1996 年 Michel 等^[7]报道, 鼠毛囊隆突部标记滞留细胞表达 K19。Lyle 等^[3]用免疫荧光和组织化学方法检测人的毛囊切片, 观察到 K19 阳性细胞扩

作者单位: 201900 上海交通大学医学院附属第三人民医院烧伤整形科

通讯作者: 方勇, Email: fang624@yahoo.com.cn, 电话: 021-56691101-6925