

·综述·

表皮干细胞的研究近况

王权胜, 唐乾利

近来研究表明, 皮肤组织特异性干细胞——表皮干细胞是皮肤及其附属器发生、修复、改建的关键性源泉。皮肤组织工程学概念的引入, 使得创面由解剖修复到功能修复成为可能^[1], 激发了人们的研究兴趣。1999 年 12 月, 干细胞研究进展被美国《科学》杂志评为年度世界十大科学之首, 并认为干细胞的研究将成为疾病治疗的突破口; 目前利用干细胞进行组织重建和转基因研究成为生物学领域的重要方向^[2]。表皮干细胞在创面愈合过程中扮演着重要角色, 研究表皮干细胞增殖、分化及调控机制, 对于促进皮肤结构和功能的生理性修复具有重义。

一、表皮干细胞的生物学特征

1. 概念: 干细胞 (stem cell) 是具有多种分化潜能, 自我更新能力和高度增殖能力的细胞^[3]。按分化水平, 干细胞分为全能干细胞、多能干细胞和专能干细胞^[4]。干细胞按其发育学上分化程度分: 胚胎干细胞、成年干细胞。在更新组织中, 普遍存在着未分化的干细胞群, 在皮肤组织中也存在对皮肤再生、损伤修复起决定作用的干细胞群, 其中研究较为清楚的是表皮干细胞和毛囊干细胞。Kolodka 等^[5]报道在人和鼠的皮肤中, 大约有 10% 的基底层细胞为表皮干细胞, Bickenbach 等^[6]研究结果显示, 在 10% 的基底细胞中仅有 40% 能形成大的克隆 (clone), 表明基底细胞中只有 4% 为表皮干细胞。

2. 定位与特性: 表皮干细胞为组织特异性干细胞, 在胎儿时期主要集中于初级表皮嵴, 成人时分布在表皮基底层。Taylor 等^[7]以细胞双重标记滞

留法, 通过对鼠皮肤观察后认为, 毛囊隆突部是皮肤干细胞的栖存地。通过不对称分裂, 表皮干细胞可产生一个干细胞和一个定向祖细胞 (即短暂扩充细胞 (transient amplifying cells, TA))^[8]。两者均存在于基底层中, 称为表皮增殖单位 (epidermal proliferation unit, EPU)。表皮干细胞的典型特征是: (1) 慢周期性, 表现为活体细胞标记滞留; (2) 自我更新能力强, 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 1×10^{40} 个子代细胞^[9]; (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。

3. 表面标志: 根据细胞的不同分裂增殖能力, 表皮细胞存在三种状态: 干细胞、短暂扩充细胞和分化细胞。干细胞为不对称分裂细胞, 具有无限增殖分化能力; 而短暂扩充细胞为干细胞的分裂子细胞, 经历有限几代分裂后即形成分化细胞。定位表皮干细胞的关键是区分上述两种细胞。目前确定表皮干细胞的表面标记物尚存争论。研究表明细胞周期分析是鉴定表皮干细胞最直接的方式, 一些表面标志如 1-整合素、-钙粘素、角质蛋白等在表皮细胞中的表达有利于对其增殖分化的深入研究。目前被学术界认可的表皮干细胞特异性标志物只有在体内呈慢性标记滞留一种。但以下因子可作为鉴定表皮干细胞的参考: $\beta 1$ 整合素、表达角蛋白 19 (keratin 19, K19)、K15、钙粘连蛋白和连环蛋白等^[8,10,11]。目前普遍认为, 角蛋白 (表皮细胞的结构蛋白) 对于鉴别表皮干细胞具有重要意义。如皮肤中表达角蛋白 19 (K19) 的细胞定位于毛囊隆突部, 它不仅具有干细胞的特征, 而且表达高水平的

【作者单位】 广西中医学院一附院, 南宁 530023

$\beta 1$ 整合素, 故认为它可作为表皮干细胞的一个表面标志。此外在干细胞的分化过程中, K15 表达量的减少较 K19 发生时间更早, K15 阴性而 K19 阳性的细胞可能是早期 TA 细胞。在鉴别毛囊干细胞方面, K15 可能比 K18 更有意义^[12]。

二、表皮干细胞的增殖分化调控机制

正常情况下表皮干细胞按一定的概率与方式进行增殖分化, 当机体受到损伤等情况下, 干细胞的增殖分化方式会发生改变以适应机体的需要。干细胞的增殖与分化行为一方面为细胞本身所预先程序化, 另一方面又受细胞周围环境即干细胞所处的微环境, 又称干细胞“壁龛 (Niche)” (由生长因子、细胞因子和细胞外基质分子构成) 的调控^[13]。干细胞壁龛通过细胞与细胞、细胞与细胞外基质两种方式调控着干细胞的增殖分化, 细胞因子在传递细胞与胞外基质之间、细胞与细胞之间的信息中起重要作用, 细胞外基质成分如纤维结合蛋白、层粘连蛋白、不同类型的胶原等参与了表皮干细胞特征的维持及其增殖与分化等生物学行为的调控。以往认为表皮干细胞之间还存在许多缝隙连接 (gap junction), 作为壁龛的信息通道, 规范着表皮干细胞群落分化方向, 但 Maja 等^[14]提出表皮干细胞并不通过缝隙连接传递信息; Nicholas 等^[15]提出表皮干细胞群落的调控是由中间凹口 (notch-mediated) 的横向诱导。此外 merkel 细胞多集中于干细胞壁龛周围, 从神经源的角度参加了表皮干细胞调控的机制^[16]。

三、表皮干细胞与毛囊干细胞

毛囊对于其它自我更新组织来说, 具有独特的性质, 毛囊增殖具有周期性, 要经过生长期、退化期、休止期。因而推论毛与其它可自我更新的组织一样, 亦含有干细胞, 并与毛发生长周期紧密相关。目前有关毛囊干细胞的定位尚不十分清楚, 传统认为它在毛球部。Cotsarelis 等^[17]于 1998 年在成人毛囊中观察到, 毛囊隆突部 (皮脂腺开口处与立毛肌毛囊附着处之间的毛囊外根鞘) 含有丰富的干细胞样细胞, 并提出角蛋白 (K15) 为该类细胞的标志物。Masashi 观察了人胚胎不同时期 $\beta 1$ 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后认为, 随着胎龄的增加, 这些干细胞逐渐从毛胚芽的边缘迁移至毛桩的外层, 继而进入分化的胎毛囊内, 最后集中在毛囊外根鞘的外层及隆突部。这种程序性的局限化, 恰恰也是 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。因此, 目前学术界基本认可隆突部即为毛囊干细胞的存在部位。

四、表皮干细胞与烧伤湿性医疗技术

深 2 度和 3 度烧伤其损伤的皮肤不再存留位于表皮基底层 of 的干细胞, 而烧伤后残存于皮下组织的毛囊、汗腺和毛细血管周围存有许多潜在干细胞。潜在的再生干细胞是表皮再生的干细胞来源, 徐荣祥等^[18]在浅 3 度烧伤时脂肪层烧伤创面, 以小鼠抗人角蛋白 19 的单克隆抗体检测表皮再生干细胞, 在烧伤后 24 小时可见表皮再生干细胞出现, 烧伤后 4 天表皮再生干细胞数量增多, 烧伤后 7 天和 14 天表皮再生干细胞数量最多, 烧伤后 21 天和 28 天表皮再生干细胞减少。因此, 烧伤湿性医疗技术 (由烧伤湿润暴露疗法和湿润烧伤膏组成) 对浅 3 度烧伤残余组织中的再生表皮干细胞具有促进其激活和增生的作用。其机制为残存于皮下组织的毛囊、汗腺, 以及毛细血管周围的间质细胞都有可能提供表皮再生的干细胞, 烧伤湿润暴露疗法和湿润烧伤膏的治疗作用, 可能激活了休眠状态的潜在的表皮再生干细胞, 使之不断分裂、增殖, 实现深度创面的生理性愈合^[19]。这就是徐荣祥研究创立的以原位干细胞培植再生修复为基础的再生医学, 率先搞清干细胞组织复制图谱, 完成皮肤组织的再生修复。

五、展 望

表皮干细胞具有无限增殖和多向分化潜能对今后进行表皮重建将具有重大实用价值^[7], 调控表皮干细胞直接分化为毛囊、汗腺等皮肤附属组织, 实现皮肤烧伤创面从解剖修复到功能修复。此外, 表皮干细胞已经成为转基因的重要靶细胞, 在基因治疗和组织器官再造的组织工程中有广阔的应用前

景。随着科技的进步,干细胞与端粒酶活性等的深入研究,干细胞的研究在生命科学领域将具有深远意义。

参考文献

- [1] 付小兵,李建福,盛志勇.表皮干细胞:实现创面由解剖修复到功能修复飞跃的新策略[J].中华烧伤杂志,2003,19:5~7.
- [2] 黄新凡.干细胞治疗新进展[J].中国烧伤创疡杂志,2002,14(1):4.
- [3] Kooy D, Welss S. Why Stem Cells [J]. Science, 2000, 287: (25): 1439~1440.
- [4] Slack JMW. Stem Cells in Epithelial Tissues [J]. Science, 2000, 287 (25): 1431~1433.
- [5] Kolodka TM, Garlick JA, Taichman LB. Evidence for keratinocyte stem cells in vitro: Long term engraftment and persistence of transgene expression from retrovirus transduced keratinocyte [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 4356~4361.
- [6] Bickenbach, JR, Chism E. Selection and extended growth of murine epidermal stem cells in culture [J]. Exp Cell Res, 1998, 244: 184~195.
- [7] Taylor G, Lehrer MS, Jensen PJ, et al. Involvement of follicular stem cells in forming not only the follicle but also the epidermis [J]. Cell, 2000, 102: 451~461.
- [8] Philip H Jones. Epithelial stem cells [J]. Bio Essays, 1997, 19: 683 [~690].
- [9] Masashi Akiuama, Lynne T, Swith, et al. Changing patterns of localization of putative stem cell in developing human hair follicles [J]. J. Invest. Dermatol, 1999, 113: 321~327.
- [10] Cotsarelis G, Kaur P, Dhouailly D, et al. Epithelial stem cells in the skin: definition makers, localization and functions [J]. Exp Dematol, 1999, 8 (1): 80.
- [11] Choate K A, Khavair P A. Sustainability of keratinocyte gene transfer and cell survival in vivo Hum Cen Ther [J]. 1997, 8: 895.
- [12] Sam M. Janes, Sally Lowell, Caroline Hutter. Epidermal stem cells [J]. Journal of Pathology, 2002, 197 (4): 479~491.
- [13] Watt FM, Hogan BLM. Out of eden: stem cells and their niches [J]. Science, 2000, 287: 1427~1430.
- [14] Maja Matic, W. Howard Evans. Epidermal stem cells do not communicate through gap junctions [J]. Journal of Investigative Dermatology, 2002, 118 (1): 110~116.
- [15] Nicholas J. Savill, Jonathan A. Sherratt. Control of epidermal stem cells clusters by notch-mediated lateral induction [J]. Developmental Biology, 2003, 258 (1): 141~153.
- [16] Deichmann M. Kurzen H. Adhesion Molecules CD171 (LICAM) and CD24 are expressed by primary neuroendocrine carcinomas of the Skin (Merkel cell carcinomas) Journal of Cutaneous Pathology [J]. 2003, 30 (6): 363~368.
- [17] Cotsarelis G, Kaur P, Dhouailly D, et al. Epithelial stem cell in the skin: definition, makers localization and function [J]. Exp Dermatol, 1999, 283: 80~88.
- [18] 徐荣祥, 许增禄. 烧伤湿性医疗技术对表皮再生干细胞作用的研究 [J]. 中国烧伤创疡杂志, 2000, 3: 41~43.
- [19] 张向清. 烧伤皮肤再生的核心技术 [J]. 中国烧伤创疡杂志, 2002, 14 (1): 56.

【作者简介】

王权胜 (1975~), 男 (汉族), 广西陆川县人, 1999 年广西中医学院毕业, 住院医师。

唐乾利 (1961~), 男 (汉族), 广西金州县人, 广西中医学院毕业, 医学学士, 副院长, 硕士研究生导师, 主任医师。

(收稿日期: 2004-03-19; 修回日期: 2004-04-05)