

·综述·

碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF) 与创伤愈合

陈 佳, 罗成群

创伤愈合是一复杂生物学过程, 通常认为是由进入伤口的成纤维细胞增殖、分化和合成分泌, 细胞外基质的纤维化, 新生血管长入伤口的血管化和表皮细胞增生覆盖创面的再上皮化等综合作用的结果, 而在愈合过程中产生的生长因子, 包括 bFGF, 大多对皮肤伤口的纤维化、血管和再上皮化有介导和调控作用, 可促进愈合。现将 bFGF 与创伤愈合的关系简要介绍如下:

一、bFGF 及其受体的一般特征

1. bFGF 的结构及特征

FGF 是一同源性的多肽家族, 由于其在体外能刺激成纤维细胞生长而得名, 主要为 aFGF 和 bFGF 两大类, 它们有极为相似的生物功能, 如促进血管生成, 诱导胚胎发育、促进神经生长等功能, 但研究表明 bFGF 生物学功能比 aFGF 约大 10 倍。bFGF 由 155 个氨基酸所组成, 其基因位于人类染色体 4q25 处, 由两个不同长度的内含子隔开的 3 个外显子构成。bFGF 有四种形式, 以 AUG 为起始密码的相对分子质量为 18000 和以 CUG 为起始密码的相对分子质量为 22000、22500 和 24000 四种, 相对分子质量为 18000 的 bFGF 是其活性的主要形式。bFGF 缺乏典型的分泌信号肽, 可能是以旁分泌或自分泌的形式出现在细胞外基质 (extracellular matrix, ECM), 目前仍没有明确的解释。bFGF 与肝素和硫酸肝素蛋白多糖 (heparan sulfate proteoglycan, HSPG) 有高亲和力, 肝素可稳定 bFGF, 使其免受热力、酸、蛋白水解酶的破坏, 可以认为 bFGF 是作为高度稳定的 bFGF-HSPG 复合物的一部分被“隔绝”或储存在 ECM 内。必要时被蛋白酶、肝素酶水解, bFGF 以复合物释放^[1]。

2. bFGF 受体特征

FGFR 属于酪氨酸激酶 (tyrosin kinase, TK) 受体第四型, 目前已知的有四种 FGFR-1 (flg)、FGFR-2 (bek)、FGFR-3 (flg-2) 和 FGFR-4 (fgfr-

3), 氨基酸序列有 56%~92% 的同源性, 并且有相同的结构。FGFR 分为胞外段 (N 端)、跨膜段、胞内段 (C 端)。FGFR 在其 N 端有 18~24 个氨基酸是信号肽, 提示 FGFR 是可以被分泌的。FGFR 的胞外段有三个免疫球蛋白样结构区, 第三个免疫球蛋白样结构区是与 FGF 结合的部位, 在各种 FGFR 中各不相同。即使是同一种 FGFR 中也存在着差异。这是因为相同受体基因由于 mRNA 不同的拼接、缺失、外显子的变化和内聚腺苷酸变化, 产生了不同长度的产物^[2], 使得相同的细胞也可以表达不同的 FGFR, 这就造成细胞表达 FGFR 的种类和数量的不同, 从而引起同一种 FGF 对不同组织和细胞有不同的作用。FGFR 胞内段的氨基酸在近膜区有两个完整的 TK 结构域, 并有 7 个酪氨酸磷酸化位点。这 7 个位点分别与不同的信号转导蛋白结合, 是 FGF 引起的生物学功能的基础。

3. bFGF 及其受体的相互作用

bFGF 释放出胞外后, 先与 HSPG 结合, 再移至细胞表面, 与 FGFR 结合形成一个类似于三明治的结构, bFGF 被夹在当中, bFGF 与 FGFR 结合后导致 FGFR 形成二聚体, 催化自身形成磷酸化, 从而激活其 TK 的活性。TK 的活性作用于 PLC- γ 、SNT、C-src 等蛋白质, 引发一系列的生物学效应。

二、bFGF 及创面愈合

bFGF 广泛分布于人体组织中, 是人体内含有的—种微量活性蛋白。内皮细胞是 bFGF 的主要来源, 当内皮细胞受损时可大量释放 bFGF, 它对源于中胚层和神经外胚层的细胞和组织具有促进丝裂、分化和调节作用, 是创伤愈合和上皮形成的重要调节物^[3]。

创面愈合是一复杂的生物学过程, 通常认为是由进入伤口的成纤维细胞增殖、分化和合成分泌细胞外基质的纤维化, 新生血管长入伤口的血管化和

表皮细胞增生覆盖创面的再上皮化等综合作用的结果。人们用重组的 bFGF 在动物和人体正常及受损的创伤愈合条件下进行实验, 采用了很多检测方法, 建立了各种创伤模型。体内实验中发现 bFGF 对创面愈合的影响与实验动物的种属、创伤的类型、给予 bFGF 的时机和给予量有很大关系。戴方平^[4]等将基因重组的 bFGF 作为外源性生长因子来观察比较不同浓度的 bFGF 对猪深 II 度烧伤创面愈合的影响, 结果显示用 bFGF 后创面细胞 DNA 的 G1 期比例下降, S 期和 G2 + M 期比例增多, 其变化规律和创面愈合的电脑图像分析数据均与应用于创面的 bFGF 的剂量——量效变化关系。付小兵^[5]等采用多中心对照方法, 在 32 家医院经 bFGF 治疗的 1024 例烧伤 (330 例)、手术创伤或供皮区创面 (509 例) 及慢性难愈合创面 (185 例) 均较对照创面 (826 例) 修复质量显著提高, 创面愈合时间分别缩短 3~4 天。Smith PD^[6]等将网眼状皮肤移植到无胸腺小鼠创面上, 结合使用 bFGF 治疗的小鼠, 术后 3 天, 皮肤间的裂口闭合快于对照组, 5~7 天裂口闭合速度与对照组比较, 明显增快。可以认为, bFGF 能促进上皮再生。

1. 诱导微血管的形成、增殖、分化。

在发现 bFGF 后不久, bFGF 的促血管形成的作用就被证实。无论是在体内还是在体外培养的血管内皮细胞都可在 bFGF 的诱导下形成新的小血管。Nissen^[7]等将收集到的术后患者早期创面的引流液用在小鼠模型上研究发现: 手术后当天的引流液引起内皮细胞增生和形成新的血管作用最明显, 其作用随后迅速下降。而引流液中 bFGF 的量与其促进增生作用成平行变化关系。由此可以认为手术创面早期分泌的 bFGF 是启动创面修复、促进血管形成的重要因素之一。bFGF 促进毛细血管内皮细胞及血管周围的细胞增殖, 促进毛细血管形成管腔在血管发生中起重要作用。其作用机理目前仍不太清楚, 但是在用不同剂量、不同浓度的 bFGF 作用于体外血管内皮细胞的研究中发现, bFGF 作用血管内皮细胞后 c-myc 基因 mRNA 的表达增加 ($P < 0.05$), 2h 达到高峰, 并与 bFGF 的剂量和作用时间密切相关^[8]。该实验至少说明 c-myc 基因的表达是 bFGF 促进细胞增殖, 形成新生血管的途径之一。

2. 促进伤口周围的细胞增殖和胶原的合成

bFGF 刺激成纤维细胞增殖、分化和合成新的细胞外基质, 使胶原含量增高, 刺激成纤维细胞、内皮细胞分泌胶原酶、纤维酶原激活酶分解胶原,

通过胶原纤维的合成与分解使胶原含量在新生血管结缔组织中达到相对平衡。bFGF 刺激所有创面修复细胞的增殖, 在创伤早期, 创伤局部的巨噬细胞和内皮细胞等释放 bFGF, 刺激成纤维细胞和角化细胞增殖、迁徙, 引起炎症细胞和创缘细胞迁移到创面, 诱导蛋白酶、胶原酶以及各种细胞因子的产生。利用大鼠 30% 深 II 度烫伤模型, 采用原位杂交与免疫组化方法观察 α -平滑肌肌动蛋白 (ASMA)、转化生长因子- β 1 的变化情况, 发现外源性应用 bFGF 能够通过提高 TGF- β 的分泌, 进而协同其他生长因子对肌成纤维细胞形成和凋亡发挥作用, 最终影响愈合的结局^[9]。

三、bFGF 与慢性难愈合创面的愈合

慢性难愈合创面的病因极为复杂, 最常见原因主要为糖尿病、压迫性溃疡、下肢静脉性溃疡、烧伤伤残创等。因其病因复杂、发病机制复杂、病程长, 因而治疗十分困难, 是临床有待解决的难题。有研究发现, 慢性难愈合创面长期不愈合除与原发疾病有关外, 与创伤本身修复内环境的改变, 如体内某些细胞受到抑制而失去分泌生长因子的功能^[3], 使内源性生长因子含量降低或因子受体活性下调有关。外用生长因子对激活内源性生长因子活性或上调生长因子受体表达均有明显作用^[10], 进而对慢性难愈合创面有明显促进修复作用。Okumura^[11,12]等人曾将 bFGF 运用于合并糖尿病、营养不良等小鼠的难愈性烧伤创面, 发现能显著加速创口收缩, 加快创面封闭。Fu X^[13]等对 28 例 33 个慢性难愈合创面的研究也同样发现, 经过 4 周常规治疗未愈合的创面, 经外源性 bFGF 治疗后, 治愈率达 100%, 其中 4 周愈合率为 90.9%。对其进行组织学观察发现, 使用 bFGF 治疗的创面中毛细血管及成纤维细胞明显增多。应用 bFGF 治疗各类创面, 其促愈合作用随创面类型不同而有差异, 以新鲜创面、烧伤创面、慢性创面依次加强^[14]。大量实验证明, 使用外源性 bFGF 可显著加速慢性难愈合创面的愈合, 但在治疗时仍应加强其病因治疗, 如控制糖尿病、改善血液循环等; 此外, 外科的清创术与创面抗感染治疗也是加速创面愈合的基础或为应用生长因子促进创面愈合创造条件。以生长因子促进慢性难愈合创面愈合的最佳条件是在创面清创与感染控制的前提下进行。

四、bFGF 与瘢痕增生的关系

增生性瘢痕和瘢痕疙瘩是由于组织中胶原的合

成与降解失去平衡,导致过量的胶原沉积。在瘢痕疙瘩组织中胶原表达增高是由于胶原转录水平增高引起的。bFGF 能下调瘢痕疙瘩和正常真皮成纤维细胞 I 型前胶原基因的表达。bFGF 对胶原蛋白合成的抑制作用和 α I 型前胶原基因表达的下行调节作用有关^[15]。另有学者研究表明,在内皮细胞和纤维母细胞中, bFGF 通过刺激胶原酶的表达而调节胶原蛋白的代谢,而该酶活性的增加与 mRNA 水平的提高有关。bFGF 对胶原合成的抑制作用主要是通过增加前胶原 mRNA 的降解和抑制 mRNA 的转录,这些结果说明, bFGF 可以减少瘢痕疙瘩成纤维细胞的胶原蛋白的过量沉积,从而有助于防止瘢痕疙瘩形成。

五、展望

由于创面 bFGF 的高表达,有助于创面愈合过程中血管的形成和肉芽组织的增生,并对创面的愈合有促进作用,故近年来对其促进组织修复的机理进行了广泛的研究,并在临床上取得了良好的效果。

bFGF 已被证实可促进各种组织损伤的修复,尤其是应用 bFGF 治疗慢性难愈合创面和大面积烧伤创面有着广阔的前景,不仅可提高这类病人的生存率,提高其生活质量,而且可减少医疗费用。

随着患者对愈后生活质量的要求不断提高,不仅要求创面的快速愈合,更要求尽量做到创面生理性愈合。正是在这样的前提下,徐荣祥等人研究并发现了皮肤再生治疗技术,它主要是通过无损伤的液化排除坏死皮肤组织(祛腐),为创面创造一个生理的湿润环境,同时激活潜能再生细胞,促进创面以原位干细胞再生修复方式达到创面生理性愈合^[16]。在大量的基础和临床研究中,应用烧伤湿润暴露疗法和湿润烧伤膏(MEBT/MEBO)促使烧伤创面完成坏死组织的液化和新生皮肤的再生已取得了明显的疗效和大量的成果。而 bFGF 在创面生理性愈合中有何作用?使用 MEBT/MEBO 的同时合用 bFGF 是否具有协同作用?以及再生医疗技术与 bFGF 之间是否有一定的内在关系等将有待于我们进一步的研究。

参考文献

[1] Vlodavsky I, Fuks Z, et al. Extracellular matrix - resident basic fibroblast growth factor: implication for the control of angiogenesis J Cell

- Biochem, 1991, 45 (2): 167.
- [2] 付小兵, 现代创伤修复学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 1999: 173~174.
- [3] Cohen K. An overview of wound healing. In: Ziegler TR, Pierce GF, Herndon DN, Eds. Growth factors and Wound Healing, Springer. New York, 1997: 3~7.
- [4] 戴方平, 潘耀良, 范清源, 等. 基因重组碱性成纤维细胞生长因子促进猪深 II 度烧伤创面愈合的实验研究 [J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1997, 13 (2): 83~85.
- [5] 付小兵, 沈祖尧, 陈玉林, 等. 碱性成纤维细胞生长因子与创面修复——1024 例多中心对照临床试验结果 [J]. 中国修复重建外科杂志, 1998, 12 (4): 209~211.
- [6] Smith PD, Polo M, et al. Efficacy of growth factors in the accelerated closure of interstices in explanted meshed human skin grafts. J Burn Care Rehabil. 2000, 21 (1pt1): 5~9.
- [7] Nissen NN, et al. Basic fibroblast growth factor mediates angiogenic activity in early surgical wounds. Surgery. 1996, 119 (4): 457~65.
- [8] 周志钢, 何清濂, 林子豪, 等. 碱性成纤维细胞生长因子作用血管内皮细胞后 c-myc 基因 mRNA 表达的实验研究 [J]. 中华整形外科杂志, 2000: 299~301.
- [9] 程旻, 付小兵, 盛志勇, 等. 碱性成纤维细胞生长因子对肌成纤维细胞生长的作用及其对创面愈合的影响 [J]. 中华医学杂志, 2002: 1187~1191.
- [10] Boulfon AJM. Clinical promise of becaplermin gel: I. Diabetic foot ulcer. 8th Annual Meeting of the European. Tissue Repair Society, 1998, 37: 27~30.
- [11] Okumura M, Okudat T, et al. Effect of basic fibroblast growth factor on wound healing in healing impaired animal models. Arzneimittelforschung, 1996, 46 (5): 547~51.
- [12] Okumura M, et al. Acceleration of wound healing in diabetic mice by basic fibroblast growth factor. Biol Pharm Bull, 1996, 19 (4): 530~5.
- [13] Fu X, Shen Z. Healing of chronic cutaneous wounds by topical treatment with basic fibroblast growth factor. Chin Med J (Engl), 2002 Mar; 115 (3): 331~5.
- [14] 王世岭, 崔晓林, 付小兵, 等. 重组人碱性成纤维细胞生长因子治疗烧伤及皮肤损伤的临床研究 [J]. 中华创伤杂志, 1999, 6: 196~199.
- [15] Tan EM, Rouda S, et al. Acidic and basic fibroblast growth factors down-regulate collagen gene expression in keloid fibroblasts. Am J Pathol, 1993, 142 (2): 463.
- [16] 徐荣祥, 萧摩, 烧伤皮肤再生疗法与创面愈合的机制 [J]. 中国烧伤创疡杂志, 2003, 15 (4): 253~261.

【作者简介】

陈佳 (1979~), 女 (汉族), 湖南长沙人, 2002 年湖南医学院毕业, 现就读于湘雅三医院烧伤整形科硕士研究生。

罗成群 (1949~), 男 (汉族), 湖南衡阳人, 衡阳医学院毕业, 主要从事创面修复与瘢痕预防的研究, 科主任, 教授, 博士生导师。

(摘自 2004 年第八届全国烧伤创疡学术会议论文汇编)