

转化生长因子  $\beta$  与增生性瘢痕

谢举临 利天增

[关键词] 转化生长因子  $\beta$ ; 增生性瘢痕; 治疗; 综述

中图分类号: R644, R49 文献标识码: A 文章编号: 1006-9771(2002)01-0008-03

深 II° 以上的烧伤创面, 外伤后延期愈合的创面均可伴不同程度的瘢痕增生和挛缩。增生性瘢痕(hypertrophic scar, HS) 是临床上常见的皮肤纤维增生性疾病, 严重影响深度烧伤患者的功能康复。目前的治疗方法主要是外科手术、加压、浅层放射、激素、中草药等, 但效果均不甚满意<sup>[1]</sup>。

细胞和分子生物学研究显示, 在组织修复过程中, 有多种细胞因子参与调节。成纤维细胞(fibroblast, FB) 将 I 型前胶原基因转录上调, I 型胶原蛋白合成增加, III/I 胶原比例下降, 导致细胞外基质(extracellular matrix, ECM) 过度堆积。这是增生性瘢痕形成的主要原因<sup>[2]</sup>。ECM 过度沉积既是 HS 一个重要的病理特征, 也是 HS 得以增生、发展的主要物质基础, 而细胞因子正是细胞与细胞外基质间重要的信号传递物质。许多细胞因子参与瘢痕的形成。目前认为, 转化生长因子  $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 与瘢痕形成关系最密切。TGF- $\beta$  及其受体可由损伤处多种细胞表达, 参与调节瘢痕的形成。TGF- $\beta$  具有复杂的生物学功能, 可影响瘢痕形成的各个阶段, 如炎症反应和基质的积聚, 正常愈合信号物质的提供。因此, 了解 TGF- $\beta$  在瘢痕形成过程中的作用对指导临床治疗具有重要意义。

1 TGF- $\beta$  的生物特性

TGF- $\beta$  是经双硫键联结的具有多种生理功能的多肽, 它由 2 个含 112 个氨基酸的亚单位组成, 分子量约 25 000D。TGF- $\beta$  有 5 种异构体, 哺乳动物只能表达其中的 3 种, 即 TGF- $\beta_1$ 、TGF- $\beta_2$ 、TGF- $\beta_3$ 。它们的氨基酸序列高度保守, 生物学活性相似, 具有极高的同源性。区别是: TGF- $\beta_1$  能促进上皮细胞分化增殖, 刺激上皮细胞的运动, 诱导纤维连接蛋白(FN) 的产生, 在瘢痕增生过程中起重要作用; TGF- $\beta_2$  在渐进性系统性硬皮病的发病过程中起主要作用; TGF- $\beta_3$  在抑制角质细胞 DNA 合成上表现出更大活性。

许多种细胞最初合成的 TGF- $\beta$  都是无活性的前

体。这种前体只有经过活化并与细胞表面的 TGF- $\beta$  受体结合后, 才能引起 G 蛋白发生构相改变, 激活腺苷酸环化酶, 导致胞浆内 cAMP 变化, 影响蛋白激酶 A 的活性, 催化蛋白质磷酸化。也有学者在未转化的成纤维细胞中发现, TGF- $\beta$  可促进细胞膜  $\text{Ca}^{2+}$  通道开放,  $\text{Ca}^{2+}$  与胞浆内钙结合蛋白结合形成一种复合物, 诱发蛋白的磷酸化反应, 完成信息传递过程。

对 TGF- $\beta$  生物活性的研究已有很大的进展, 但调节 TGF- $\beta$  合成及其活性的机制仍不清楚。目前认为自分泌调节机制是主要途径。TGF- $\beta$  可以正向调控自身 mRNA 的表达, 使 TGF- $\beta$  分泌增加。在 TGF- $\beta$  基因启动区域中有 2 个序列与这种自身调控有关, 其中一个位于转录起始区部位 5' 上游, 另一个位于 TGF- $\beta$  基因两个起始区之间。TGF- $\beta$  的自身诱导作用就是通过癌基因产物 jun-fos(即 AP-1) 与这两个部位的结合而被启动。TGF- $\beta$  也可增加转录因子 c-jun 和 c-fos 的表达。另外, AP-1 也能激活 c-jun 的表达<sup>[3]</sup>。一些因素如胞膜上受体类型和数量、核因子(NF- $\kappa$ B)、细胞分化程度、氧张力、细胞因子(包括 TGF- $\beta$ ) 浓度、类固醇激素超家族成员和 ECM 等都可能参与 TGF- $\beta$  表达的调节。此外, 血小板的集聚作用差、伤区的 ADP 的水平降低也可影响 TGF- $\beta$  的释放<sup>[4]</sup>。

此外, 体内许多活性肽及其编码基因的结构或功能与 TGF- $\beta$  密切相关, 与 TGF- $\beta$  有不同程度的同源性, 它们共同组成 TGF- $\beta$  超家族, 并在细胞生长、分化、胚胎早期发育中发挥重要作用。这个家族包括哺乳动物的抑制素、激活素、缪勒氏抑制物、果蝇的型式基因以及 3 种骨形态形成蛋白<sup>[5, 6]</sup>, 其中 TGF- $\beta_1$  与创伤愈合关系最为密切。

2 TGF- $\beta$  与瘢痕的形成

瘢痕增生是一种创面修复的异常表现。创面修复是一个很复杂的过程, 涉及细胞与细胞外基质间的相互作用。TGF- $\beta$  正是这种相互作用的重要调节因子, 是一个对细胞增殖进行组织和协调的信号物质, 是胚胎发育、损伤愈合、瘢痕生长等生理性和病理性细胞生长和修复的介质。它主要来源于血小板。当组织损伤后, 血小板在受损组织脱颗粒而释放 TGF- $\beta$ 。TGF- $\beta$  的自身诱导作用又可使激活的巨噬细胞、T 淋巴细胞、

基金项目: 广东省科委重点联合攻关项目资助(编号 98-2-016-01)

作者单位: 510080 广东广州市, 中山医科大学第一附属医院烧伤科。作者简介: 谢举临(1973-), 男, 博士, 研究方向: 烧伤瘢痕的防治。

增殖的上皮细胞和成纤维细胞表达  $TGF-\beta$ , 加强并延长  $TGF-\beta$  的作用。 $TGF-\beta$  对细胞主要是以内分泌、自分泌或旁分泌的形式发挥作用。血小板和激活的巨噬细胞脱颗粒释放  $TGF-\beta$  可能启动一个连锁反应, 最终诱导伤口部位皮肤和表皮细胞通过自分泌机制表达  $TGF-\beta$  而促进损伤组织修复。

虽然对  $TGF-\beta$  如何启动组织修复已经了解很多, 但是对其终止愈合进程或控制瘢痕过度形成却知之甚少。通过对人和动物的研究表明, 适量的  $TGF-\beta$  有益于伤口愈合, 但如果  $TGF-\beta$  过度表达, 有可能导致瘢痕和纤维化形成。肺间质纤维化、肾小球硬化、皮肤伤口的瘢痕和胃溃疡愈合过程中  $TGF-\beta$  过度表达导致 ECM 的病理积累是组织结构愈合差的主要生物学原因。在视网膜玻璃化增生中, 当视网膜瘢痕由中度发展到重度时, 眼内液中总的  $TGF-\beta$  水平增高。 $TGF-\beta$  的作用如分子开关, 通过影响 ECM 的生成来调节修复过程的启动和停止。在对肾、肝、肺纤维化病变中的研究中发现,  $TGF-\beta$  可以作用于许多种细胞, 提高 I 和 III 型前胶原 mRNA 的表达, 所以  $TGF-\beta$  在纤维化疾病中可能起重要作用<sup>[7]</sup>。在烧伤后增生性瘢痕的 FB 中, I、II 型前胶原及  $TGF-\beta$  mRNA 表达较正常细胞明显增加, 且表达幅度与瘢痕增生程度成正比<sup>[8]</sup>。有研究证实, 与正常皮肤中的 FB 相比, 体外培养的增生性瘢痕中的 FB 对  $TGF-\beta$  的反应性更高。增生性瘢痕的形成也可能与  $TGF-\beta$  受体表达增加或是在伤口修复后对  $TGF-\beta$  高反应性的 FB 未能发生凋亡而持续存在有关。

许多有关  $TGF-\beta$  对体外培养的 FB 代谢的影响研究也表明,  $TGF-\beta$  有助于增生性瘢痕的形成, 它可直接或间接增加间质蛋白的合成和分泌, 促进胶原基质的粘附。它的机制是多方面的: ①  $TGF-\beta$  促进成纤维细胞合成 I、II 型胶原和 FN; ②  $TGF-\beta$  增加 I、II 型胶原和 FN 的 mRNA 水平; ③ 直接刺激 I、II 型胶原启动子和 FN 的活性; ④ 降低蛋白酶的合成和分泌; ⑤ 抑制胶原酶的活性, 增加含金属蛋白酶 (TIMP-I、II) 的合成, 减少 ECM 的降解; ⑥ 增加细胞与细胞外间质的相互作用; ⑦ 促进 FN 和胶原基质的粘附。 $TGF-\beta$  扰乱了胶原合成与降解的平衡, 结果导致 ECM 过度积聚。ECM 不仅起着细胞骨架的作用, 而且还调节许多细胞的功能。ECM 刺激 FB 分泌更多的  $TGF-\beta$ , 最终导致纤维化和瘢痕形成。

对胎儿创伤无瘢痕愈合的研究发现, 在低氧张力中胎儿 FB 的  $TGF-\beta$  转录减少, 而成龄 FB 经低氧张力刺激,  $TGF-\beta$  转录增高。胎儿创面愈合后一般无瘢痕形成, 而如果加进  $TGF-\beta$  则会导致瘢痕形成, 说明胎儿创伤的无瘢痕愈合与  $TGF-\beta$  的缺乏直接相关。

Roberts 等报道, 在胎鼠皮下注射  $TGF-\beta$  可引起注射区形成瘢痕。应用表皮生长因子或血小板源生长因子则没有出现同样的结果<sup>[9]</sup>。可见  $TGF-\beta$  在瘢痕形成中起着极其重要的作用。

成人伤口中有大量的  $TGF-\beta$ , 且它的量与纤维化程度有关, 抗  $TGF-\beta$  抗体能抑制纤维化。这些发现提示, 成人纤维化疾病中应用抗  $TGF-\beta$  治疗可能有助于减轻瘢痕的形成。

### 3 $TGF-\beta$ 与瘢痕挛缩

烧伤瘢痕挛缩不仅给患者增加痛苦, 也给治疗带来困难。目前还没有有效的方法。有报道认为,  $TGF-\beta$  也与瘢痕挛缩有关。增生性瘢痕中的 FB 有很强的收缩特性,  $TGF-\beta$  的自分泌水平提高可能导致其收缩性提高<sup>[10, 11]</sup>。在  $TGF-\beta$  的刺激下, 正常的多边形 FB 变为长梭形的肌 FB, 同时诱导  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白在 FB 细胞中表达。 $\alpha$ -SM 肌动蛋白是肌 FB 最特异的标志, 与平滑肌细胞同样具有收缩力。肌 FB 在伤区大量出现, 与以后发生的病理性创伤收缩和瘢痕形成有关。 $TGF-\beta$  诱导增生性瘢痕 FB 的纤维蛋白凝胶收缩性提高就依赖  $\alpha$ -SM 肌动蛋白的表达。

### 4 $TGF-\beta$ 在防治瘢痕形成中的应用前景

如果抑制  $TGF-\beta$  的生物学作用, 在理论上可减少瘢痕的形成。抑制  $TGF-\beta$  的途径很多, 如抑制  $TGF-\beta$  的基因表达, 抑制  $TGF-\beta$  与靶细胞的结合。

4.1 抗体的应用 对  $TGF-\beta$  与瘢痕形成关系的研究发现, 应用抗  $TGF-\beta$  可能会减轻瘢痕。Shah 等的研究显示, 在成年大鼠皮下局部注射  $TGF-\beta_2$  和  $TGF-\beta_1$  抗体可降低  $TGF-\beta$  的水平, 减少单核细胞、巨噬细胞的数量, 减少 FN、I、II 型胶原的沉积, 结果瘢痕显著减少。经抗体处理的伤口与对照组相比, 胶原和 FN 的沉积、巨噬细胞和血管的增生等更少, 其张力和皮肤结构与对照组一致。在创伤早期应用  $TGF-\beta$  抗体对降低  $TGF-\beta$  水平, 避免  $TGF-\beta$  mRNA 自我诱导, 对限制巨噬细胞增生和  $TGF-\beta$  的释放具有重要作用<sup>[12]</sup>。但因抗原性问题, 临床上  $TGF-\beta$  的应用受到限制。

4.2  $TGF-\beta_3$  单体的应用  $TGF-\beta_3$  能降低  $TGF-\beta_1$  和  $TGF-\beta_2$  水平, 被称为抗瘢痕因子。Shah 等向伤口注射  $TGF-\beta_3$ , 治疗 70 天后, 伤口瘢痕减小, 皮肤结构基本恢复正常。 $TGF-\beta_3$  的作用类似于中和  $TGF-\beta_1$  和  $TGF-\beta_2$  抗体, 它能下调  $TGF-\beta_1$  和  $TGF-\beta_2$ , 具有明显的抗瘢痕作用<sup>[13]</sup>。

4.3 其他拮抗剂 随着对调节  $TGF-\beta$  产生机制的不断研究, 出现了一些减少  $TGF-\beta$  产生的新途径。①利用可溶的  $TGF-\beta$  R II 抑制  $TGF-\beta$  与细胞膜受体结合, 从而阻止它发生作用。可溶的 I、II 型受体与  $TGF-\beta$  具有高度的亲和性, 在阻止  $TGF-\beta$  发挥作用方面很有

潜力。维甲酸类固醇受体的超家族可作为  $TGF-\beta$  异构体转录后的调节剂,减少  $TGF-\beta$  合成。Redlich 等的试验显示,给予维甲酸可减少  $TGF-\beta$  刺激体外培养的人肺成纤维细胞合成 I 型胶原蛋白<sup>[14]</sup>。②核心蛋白聚糖(decorin)是 ECM 中蛋白多糖的主要成分,主要位于胶原纤维表面,能吸附  $TGF-\beta$ ,阻断它与细胞表面受体的结合。Scott 等的研究表明,增生性瘢痕中核心蛋白聚糖及 mRNA 水平明显下降,提示与瘢痕形成有关<sup>[15]</sup>。有人给大鼠体内注射核心蛋白聚糖,证明它在防止 ECM 沉积,抑制  $TGF-\beta$  中有重要作用。在纤维化疾病、血管性肾小球肾炎中,ECM 的积聚也是由  $TGF-\beta$  过度产生而引起的。将重组的核心蛋白聚糖注射到血管性肾小球炎动物模型上,它能明显抑制基质合成和积累<sup>[16]</sup>。减少核心蛋白聚糖的量,相对提高  $TGF-\beta$  的生物活性,基质合成会增加。与抗  $TGF-\beta$  抗体相比,核心蛋白聚糖是人体自然存在的物质,可重组,不具有免疫原性,更应用前景非常广泛。③甘露糖-6-磷酸能够阻断对  $TGF-\beta$  有激活作用的 IGF II/甘露糖-6-磷酸受体,抑制瘢痕形成。另外,还有应用  $TGF-\beta$  受体灌注伤口来与细胞内  $TGF-\beta$  受体竞争结合,或加入反义核酸以抑制  $TGF-\beta$  的基因表达,使成人伤口像胎儿创伤那样无瘢痕愈合。Choi 等报道,当把与  $TGF-\beta_1$  mRNA 互补的反义寡聚核酸加入到伤口时,与对照组相比,瘢痕明显减少,可见反义核酸在伤口愈合过程中可在一定程度上减少瘢痕形成<sup>[17]</sup>。

$TGF-\beta$  的最新研究进展为控制成人伤口愈合过程中瘢痕的形成提供了许多有益的思路和方法。如阻断某些介质或因子对  $TGF-\beta$  的刺激,抑制成纤维细胞等合成  $TGF-\beta$ ,阻滞  $TGF-\beta$  对 ECM 合成的刺激,以及  $TGF-\beta$  受体拮抗剂等。总之, $TGF-\beta$  抑制剂在防治瘢痕和控制纤维化疾病中大有可为。

#### [参考文献]

- [1] Sizov VM. The diagnosis and treatment of hypertrophic and keloid scars[J]. Klin Khir, 1994, (9): 41—3.
- [2] Zhang LQ, Laato M, Muonal P, et al. Normal and hypertrophic scars: quantification and localization of messenger RNA for type I and II collagens[J]. Br J Dermatol, 1994, 130: 453—459.
- [3] Schmid P, Itin P, Cherry G, et al. Enhanced expression of transforming growth factor-beta type I and type II receptors in wound granulation tissue and hypertrophic scar[J]. Am J Pathol, 1998, 152(2): 485—93.
- [4] El-Gamel A, Awad MR, Hasleton PS, et al. Transforming growth factor-beta ( $TGF-\beta$  1) genotype and lung allograft fibrosis[J]. J Heart Lung Transplant, 1999, 18(6): 517—23.
- [5] Schaefer L, Raslik I, Grone HJ, et al. Small proteoglycans in human diabetic nephropathy: discrepancy between glomerular expression and protein accumulation of decorin, biglycan, lumican, and fibromodulin[J]. FASEB J, 2001, 15(3): 559—61.
- [6] Gold LI, Sung JJ, Siebert JW, et al. Type I (RI) and type II (RII) receptors for transforming growth factor-beta isoforms are expressed subsequent to transforming growth factor-beta ligands during excisional wound repair[J]. Am J Pathol, 1997, 150(1): 209—22.
- [7] Rossert J, Terraz Durasnel C, Brideau G. Growth factors, cytokines, and renal fibrosis during the course of diabetic nephropathy[J]. Diabetes Metab, 2000, 26(Suppl): 416—24.
- [8] Zhang K, Garner W, Cohen L, et al. Increased types I and III collagen and transforming growth factor-beta 1 mRNA and protein in hypertrophic burn scar[J]. J Invest Dermatol, 1995, 104(5): 750—4.
- [9] Roberts AB, Mccune BK, Sporn MB.  $TGF-\beta$ : regulation of extracellular matrix[J]. Kidney Int, 1992, 4(13): 557—559.
- [10] Younai S, Renters G, Stere V. Role of growth factors in scar contraction: an in vitro analysis[J]. Ann Plast Surg, 1996, 36(5): 495—501.
- [11] Erich HP, Desmouliere A, Diegelmann RF, et al. Morphological and immunochemical differences between keloid and hypertrophic scar[J]. Am J Pathol, 1994, 145: 105—113.
- [12] Shah M, Foreman DM, Furguson M. Control of scarring in adult wounds by neutralising antibody to transforming growth factor-beta[J]. Lancet, 1992, 339: 213—14.
- [13] Shah M, Furguson M. Neutralisation of  $TGF-\beta$  1 and  $TGF-\beta$  2 or exogenous addition of  $TGF-\beta$  3 to cutaneous rat wounds reduces scarring[J]. J Cell Sci, 1995, 108: 985—1002.
- [14] Redlich CA, Delisser HM, Elias JA. Retinoic acid inhibition of transforming growth factor-beta induced collagen production by human lung fibroblasts[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 1995, 12(3): 287—95.
- [15] Scott PG, Dodd CM, Tredget EE, et al. Chemical characterization and quantification of proteoglycans in human post-burn hypertrophic and mature scars[J]. Clin Sci Colch, 1996, 90(5): 417—25.
- [16] Border WA, Noble NA, Yumamoto T, et al. Natural inhibitor of transforming growth factor-beta protects against scarring in experimental kidney disease[J]. Nature, 1992, 360: 361—64.
- [17] Choi BM, Kwak HJ, Jun CD, et al. Control of scarring in adult wounds using antisense transforming growth factor-beta 1 oligodeoxynucleotides[J]. Immunol Cell Biol, 1996, 74(2): 144—50.

(收稿日期: 2001-07-23 修回日期 2001-08-09)