

瘢痕疙瘩发病机制的分子生物学研究进展

陈 森 李养群

摘要 瘢痕疙瘩的病因以及具体致病机制仍不明确,目前观点认为瘢痕疙瘩的形成是环境、基因、细胞和细胞因子等多种因素共同作用下的复杂病理过程。成纤维细胞是主要的效应细胞,细胞转化因子 β 是主要的细胞因子,而肥大细胞、黑色素细胞等细胞和血小板衍生生长因子、血管内皮生长因子等细胞因子也起到了重要的作用。本文从基因、细胞、细胞因子和信号通路多个角度共同阐述瘢痕疙瘩致病机制的最新研究进展。

关键词 瘢痕疙瘩 成纤维细胞 转化生长因子 研究进展

中图分类号 R62

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.05.004

创伤后瘢痕形成是一种正常的生理反应,但是瘢痕疙瘩则表现为过度的瘢痕化。病理学上,瘢痕疙瘩主要表现为以胶原蛋白为主的细胞外基质的过度沉积,这种过度反应甚至超出了原伤口的范围,并累及周围正常组织。瘢痕疙瘩会逐渐发展,常常造成各种生理和心理障碍。单纯的外科切除的复发率极高,很难治愈。由于分子生物学和细胞生物学的进展,对于瘢痕疙瘩的发病机制有了更加深入的了解,也为其治疗提供了新的思路。

一、基因易感性

瘢痕疙瘩具有遗传倾向和家族聚集性。之前的流行病研究调查了 715 名中国患者,表明患者的一级亲属发生率达到了 72.45%,家族史和瘢痕疙瘩的发病有明确的相关性($P = 0.000$)。相比白种人,有色人种的瘢痕疙瘩发生率明显较高。日本的一项研究在 3 个染色体上的 4 个基因找到了瘢痕疙瘩的新敏感位点,分别是 1q41、3q22.3~23 和 15q21.3,其中 15q21.3 上的神经前体细胞表达下调因子 4 基因(neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 4, NEDD4) 基因最为重要^[1]。Zhu 等^[2,3]的研究验证了汉族与日本人一样共享以上 3 个敏感位点,并认为 15q21.3 与瘢痕疙瘩的一系列临床表现密切相关。NEDD4 的激活会上调纤维连接蛋白(fibronectin, FN) 和 I 型胶原的表达,促进成纤维细胞的增殖,引起细胞外基质的过度沉积。虽然以上研究发现了瘢痕疙瘩的高危基因,但是他们与瘢痕疙

瘩的发病之间的关系仍不明确,瘢痕疙瘩的生长性、浸润性及萎缩性之间的调控途径及方式仍不得而知。研究者认为瘢痕疙瘩的发病受到多基因的调控,而且受到性别、部位、创份数目等多种环境因素影响,因此其遗传规律仍需要进一步研究。

二、细胞生物学

1. 成纤维细胞:在伤口愈合的过程中,成纤维细胞发挥了最重要的作用,主要是促进了胶原和细胞外基质的形成。但是多种因素的共同作用导致了成纤维细胞凋亡和增殖异常,包括基因突变,细胞因子的异常表达,炎性反应,紫外线损伤等。成纤维细胞在创伤部位的位置也会影响其功能,处于皮肤深部的成纤维细胞表达了更多的 I 型胶原蛋白 $\alpha 1$ 链,转移生长因子 β (transforming growth factor - β , TGF - β),骨膜蛋白,纤溶酶原激活物抑制剂 2 和抑制素 β 。刘永波等^[4]用在瘢痕疙瘩组织及成纤维细胞中检测到 P53 基因突变,正常组织中则没有发现,认为瘢痕疙瘩的成纤维细胞中有高表达的 p53 蛋白导致了细胞凋亡机制调节异常。吴严等^[5]的 Meta 分析结果也显示 p53 基因第 72 密码子等位基因 Pro 与中国患者瘢痕疙瘩发病有关。瘢痕疙瘩组织中 p53 表达较正常皮肤减少,这可能正是 p53 蛋白无法执行细胞凋亡致成纤维细胞有较高增殖活性的原因,而导致进行性的瘢痕组织增生^[6]。但是 Heitzer 等^[7]在 23 例高加索患者中,仅有 2 例存在 p53 基因的变异,并且认为 p53 上第 72 密码子等位基因 Pro 在促进成纤维细胞增殖过程中并不扮演主要角色。其原因很大程度上与人种差异有关,因为既往认为 p53 变异与瘢痕疙瘩密切相关的研究大多集中在高发的有色人种,而不是白种人。

作者单位:100144 北京,中国医学科学院整形外科医院整形二科

通讯作者:李养群,教授,博士生导师,电子信箱:liyangqun_doctor@126.com

2. 肌成纤维细胞:肌成纤维细胞由成纤维细胞子分化而来。在之前的研究中,肌成纤维细胞被认为在瘢痕疙瘩的发病过程中并没有起到重要作用,但是最近的研究发现肌成纤维细胞在瘢痕疙瘩的发病中也发挥了作用。肌成纤维细胞不仅有收缩和迁移的功能,也保留成纤维细胞分泌胶原和细胞外基质的能力。Har-Shai 等^[8]在瘢痕疙瘩的组织中检测到了高表达的转凝蛋白,星状细胞激活相关蛋白和脯氨酰羟化酶 4 β ,这些都在肌成纤维细胞中表达。在失去了黑素细胞刺激素 α (melanocyte-stimulating hormone, α -MSH) 的抑制作用后,Luo 等^[9]通过 TGF- β 刺激成纤维细胞,发现其大量分泌胶原,并且检测到了许多肌动蛋白 α 阳性的肌成纤维细胞,认为肌成纤维细胞同样与瘢痕疙瘩的形成有关,肌成纤维细胞高表达促进瘢痕疙瘩形成,但进而其转归及凋亡与瘢痕疙瘩的关系证据不足。

3. 黑色素细胞:有色人种的瘢痕疙瘩发生率要比白人高很多,特别是黑人,除此之外,也罕有白化病患者还有瘢痕疙瘩的报道,并且瘢痕疙瘩多发生在黑色素细胞较密集的部位,因此猜测瘢痕疙瘩的发病可能与黑色素细胞有关,但在体表皮肤色素痣的患者并无瘢痕疙瘩易出现的证据。在正常情况下,黑色素细胞鲜有增生,但是在创伤刺激下,黑色素细胞大量增殖并分泌黑色素相关的各种细胞因子,加重炎性反应。在之前的研究中,Cario-Andre 等^[10]认为,成纤维细胞可以促进黑色素细胞的增殖,将黑色素细胞与成纤维细胞共同培养的结果显示黑色素细胞促进成纤维细胞大量分泌胶原。之前的研究认为是 α -MSH 促进入成纤维细胞增殖和分泌胶原,但是 Stanisz 等^[11]认为 α -MSH 不仅不会促进入成纤维细胞的增殖,反而会抑制,而之前诸多试验结果偏差的主要原因是 α -MSH 受体基因的多态性。Luo 等^[12]发现在瘢痕疙瘩组织中, α -MSH 受体表达下调,认为其受体表达不足,是导致 α -MSH 抑制机制失灵的原因,最终导致成纤维细胞大量增殖、分化为肌成纤维细胞。故而,黑色素细胞促进瘢痕疙瘩形成无有力的研究证据支持,可能结果相反。

4. 角质细胞:过去认为角质细胞具有抑制成纤维细胞的凋亡、促进其增殖的功能,其主要是依靠缺氧诱导因子 1 α 等细胞因子的旁分泌作用。但是最新研究发现,缺氧诱导因子 1 α 高表达使角质细胞通过上皮细胞间质转型而获得成纤维细胞样的生理功能和侵袭性的生长方式,表现为细胞间连接蛋白和相关

基因的低表达和移动性增强^[13]。因此研究者认为角质细胞在促进瘢痕疙瘩侵袭性生长中扮演正相关的重要角色。

5. 肥大细胞:Arbi 等^[14]观察到了肥大细胞对于胶原纤维的吞噬作用,因此假设大量胶原的堆积会诱导肥大细胞的浓聚和吞噬,之后肥大细胞驱动的细胞介质的释放会刺激成纤维细胞分泌更多的胶原纤维。Dong 等^[15]的研究表明,肥大细胞的类糜蛋白酶可以通过激活 TGF- β 和 SMAD (drosophila mothers against decapentaplegic protein) 信号通路促进成纤维细胞的增殖和胶原合成。

三、细胞因子

1. TGF- β :定位在染色体 19q13.1,由两个含 112 个氨基酸的亚单位经二硫键连接的二聚体结构组成,在瘢痕疙瘩形成中起到了关键作用,和普通组织相比,在瘢痕疙瘩中其表达明显增高,主要作用是刺激成纤维细胞增殖分化和促进细胞外基质的沉积,还与炎性反应,血管生成,伤口的重塑有关。在炎性反应和创伤愈合过程中,TGF- β 还能促进巨噬细胞和成纤维细胞的趋化。在正常组织中,当新鲜的瘢痕组织开始成熟,TGF- β 的表达逐渐降低,胶原和细胞基质的产生也降低,当瘢痕完全成熟,TGF- β 水平降至正常,但是在瘢痕疙瘩中,TGF- β 始终维持在高水平^[16]。TGF- β 不仅促进入成纤维细胞的增殖和胶原合成,还通过诱导蛋白抑制剂的表达阻止了正常的胶原降解,例如纤溶酶原激活物抑制剂、金属蛋白酶组织抑制剂。此外,TGF- β 可以刺激纤维粘连蛋白、血小板衍生生长因子等促进细胞外基质的形成。TGF- β 的大多数生物学功能是通过与 TGF- β 受体结合激活 SMAD 细胞通路实现的。抑制 TGF- β 和 SMAD 信号通路的诸多药物都可以起到抑制瘢痕疙瘩形成的作用。虽然 TGF- β 被认为是促进入纤维化的主要因子,但是 Campaner 等^[17]发现单独的 TGF- β 无法促进入纤维化的进程,因此认为还有其他信号通路的激活与 TGF- β 共同作用。

2. 血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF):在 TGF- β 作用下,可以促进入瘢痕中成纤维细胞增生和细胞外基质合成,促进巨噬细胞、中性粒细胞和成纤维细胞趋化。之前的研究中认为瘢痕疙瘩成纤维细胞的 PDGF 受体并没有上调,但是与正常皮肤相比,其受体大多位于细胞膜,而正常皮肤则有一部分位于细胞核。但是,最新的研究认为,PDGF 受体也在瘢痕疙瘩中存在高表达,并且 Shah

等^[18]认为 TGF - β 除了可以促进 PDGF 的分泌,也可以上调 PDGF 受体的表达。因此猜测可能 PDGF 的分布改变和表达上调在瘢痕疙瘩中同时存在,但是 PDGF 会随着瘢痕疙瘩生长浸润而逐渐恢复正常,但是其分布改变则是长期的。

3. 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF): 是血管内皮细胞增殖的强刺激因子, 在正常组织中也有持续性的低表达, 以维持正常的血管密度和新陈代谢。瘢痕疙瘩中发现呈现侵袭性生长的肌成纤维细胞中持续高表达 VEGF, 因此认为 VEGF 可能侵袭生长和异常瘢痕增生的病理基础。最新的研究表明, 在瘢痕疙瘩患者的外周血中检测到了内皮祖细胞高表达, 认为其与瘢痕疙瘩的形成有关^[19]。VEGF 与内皮祖细胞上的抗体结合, 可以促进内皮祖细胞转化为内皮细胞, 参与创伤修复和血管形成, 而其过度表达则会导致瘢痕疙瘩形成。总之, 任一因素的活性增强及高表达, 如无其他因素进行限制, 即有可能使瘢痕组织增生无序化而成为瘢痕疙瘩。

四、信号通路

1. SMAD 信号通路: TGF - β 与 TGF - β 受体结合后激活下游的 SMAD 信号通路, SMAD 信号家族分为受体激活型 SMADs (R - SMAD 1、2、3、5 和 8), 中间介质 SMAD (Co - SMAD 4) 和抑制型 SMADs (I - SMAD 6 和 SMAD 7)。磷酸化的 SMAD3 与中间介质 Co - SMAD4 形成 1 个复合体, 这个复合体可以细胞内基因的表达, 而抑制其上调可以抑制成纤维细胞中前胶原蛋白基因的表达。SMAD6/7 则可以和 TGF - β I 型受体结合, 从而反向抑制 R - SMAD 的磷酸化, 达到抑制胶原形成的作用。但是在瘢痕疙瘩中, SMAD6/7 的表达降低了, 导致其调节失灵^[20]。

2. Toll 样受体 (Toll - like receptors, TLR) 通路: TLR 不仅可以识别革兰阴性杆菌的脂多糖, 还可以识别内源性脂多糖。当组织受到破坏, 内源性的脂多糖被释放到组织间隙, 与成纤维细胞上的 TLR4 结合, 一方面上调了一系列基因的表达, 促进了细胞外基质的合成, 另一方面抑制了内生性 TGF - β 拮抗剂的表达, 使 SMAD 通路持续性激活, 组织过度纤维化。TLR 在抑制 TGF - β 拮抗剂的同时, 也可以激活炎性反应, 而许多研究者认为炎性反应是导致瘢痕疙瘩持续发展的重要因素。首先, 免疫细胞上的 TLR 在内生性脂多糖刺激下能启动损伤相关分子模式 (damage - associated molecular patterns, DAMPs), 分

泌 TGF - β, 白细胞介素 13 和白细胞介素 4 等细胞因子, 促进组织纤维化和胶原的合成^[21]。其中白细胞介素 13 不仅可以直接作用于成纤维细胞, 也通过 TGF - β 间接刺激成纤维细胞; 而白细胞介素 4 也可以直接刺激成纤维细胞, 并与白细胞介素 13 共同抑制基质金属蛋白酶 1 和基质金属蛋白酶 3 等胶原酶的活性, 减少胶原降解^[21]。其次炎性反应会刺激 PDGF 和 VEGF 大量生成, 促进血管内皮大量增生, 使微血管闭塞, 血管闭塞后的局部缺氧会刺激胶原生成。除此以外血管活性物质和大量的氧自由基也会刺激结缔组织形成瘢痕。

3. 纤维连接蛋白和纤维连接蛋白 EDA (fibronectin extra domain A, FN - EDA): FN 是一种在细胞外基质、液体和血浆中都有表达的高分子质量糖蛋白。人类的 FN mRNA 可以被切割成 20 余种变异型, 其中 FN - EDA 最主要的。FN 在伤口愈合过程中起到很重要的作用, 在正常的生理过程中, 随着伤口愈合和炎症消退, FN 在组织和血浆中的表达逐渐下降, 但是在皮肤纤维化和瘢痕疙瘩中 FN - EDA 持续高表达^[22]。在瘢痕疙瘩中高表达的 TGF - β 被认为是能够刺激 FN - EDA 分泌的重要因素, Eric 发现磷脂酰醇 3 - 激酶 (phosphoinositide - 3 kinase, PI, K) - 蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB, 又称 AKT) - 雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路是刺激 FN - EDA 分泌非常重要的机制^[23]。除此以外, FN - EDA 也可以通过 TLR4 受体激活炎性反应, 而刺激 TGF - β 的分泌。并且, Shinde 发现, FN - EDA 自身也可以直接促进组织的纤维化, 和 FN 分泌沉积。Muro 等^[24]发现, FN - EDA 不仅刺激 TGF - β 分泌, 还增强了成纤维细胞对 TGF - β 的敏感度, 增强其生理作用。因此有人提出了假说, 认为瘢痕疙瘩的发病时由于一系列的反馈导致的恶性循环, FN - EDA 通过 TLR 通路刺激 TGF - β 分泌, 并且增强其功能, 而 TGF - β 通过刺激成纤维细胞, 促进胶原, 细胞外基质, FN 和 FN - EDA 的分泌^[25]。

五、展望

瘢痕疙瘩是由于体表外胚层组织受到创伤的刺激, 随伤口愈合 (无论大小), 起动组织生长, 同时, 控制生长的因素出现异常, 使纤维组织生长无序化、进行性、浸润性, 形成瘢痕疙瘩。瘢痕疙瘩的形成过程是一个多基因, 多因素共同调节的复杂过程, 其中成纤维细胞和 TGF - β 是瘢痕疙瘩形成的核心, 目前有多种针对他们的药物和治疗方法, 但是疗效都不理

想。对 TLR、FN - EDA、PDGF、VDGF 等基础研究的进展,为瘢痕疙瘩的治疗提供了一些新的思路。而对于基因的研究则让瘢痕疙瘩的预防和基因治疗成为可能,单一的针对因素的治疗均未取处良好效果,使各因素平衡调节成为治疗效果显现的良好手段。

参考文献

- 1 Nakashima M, Chung S, Takahashi A, et al. A genome-wide association study identifies four susceptibility loci for keloid in the Japanese population [J]. *Nat Genet*, 2010, 42(9):768–771
- 2 Zhu F, Wu B, Li P, et al. Association study confirmed susceptibility loci with keloid in the Chinese Han population [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5):e62377
- 3 Zhao Y, Liu S L, Xie J, et al. NEDD4 single nucleotide polymorphism rs2271289 is associated with keloids in Chinese Han population [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(2):544–555
- 4 刘永波,高建华,段红杰,等. 瘢痕疙瘩 p53 基因突变高发区基因结构的研究[J]. 中华整形外科杂志,2003,19(4):258–260
- 5 吴严,刘佳丽,陈晶,等. 外周血 p53 基因多态性与中国人瘢痕疙瘩相关性的 Meta 分析 [J]. 中国循证医学杂志,2011,11(6):651–654
- 6 王辉,桑鹏飞,王敏,等. WW1,p53 在瘢痕疙瘩和正常皮肤中的差异表达及意义 [J]. 安徽医科大学学报,2016,51(2):247–250
- 7 Heitzer E, Seidl H, Bambach I, et al. Infrequent p53 gene mutation but UV gradient-like p53 protein positivity in keloids [J]. *Exp Dermatol*, 2012, 21(4):277–280
- 8 Har-Shai Y, Mettanes I, Zilberman Y, et al. Keloid histopathology after intralesional cryosurgery treatment [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2011, 25(9):1027–1036
- 9 Luo L F, Shi Y, Zhou Q, et al. Insufficient expression of the melanocortin-1 receptor by human dermal fibroblasts contributes to excess collagen synthesis in keloid scars [J]. *Exp Dermatol*, 2013, 22(11):764–766
- 10 Cario-Andre M, Pain C, Gauthier Y, et al. In vivo and in vitro evidence of dermal fibroblasts influence on human epidermal pigmentation [J]. *Pigment Cell Res*, 2006, 19(5):434–442
- 11 Stanisz H, Seifert M, Tilgen W, et al. Reciprocal responses of fibroblasts and melanocytes to alpha-MSH depending on MC1R polymorphisms [J]. *Dermatoendocrinol*, 2011, 3(4):259–265
- 12 Luo LF, Shi Y, Zhou Q, et al. Insufficient expression of the melanocortin-1 receptor by human dermal fibroblasts contributes to excess collagen synthesis in keloid scars [J]. *Exp Dermatol*, 2013, 22(11):764–766
- 13 Hahn JM, Glaser K, Mcfarland KL, et al. Keloid-derived keratino-

cytes exhibit an abnormal gene expression profile consistent with a distinct causal role in keloid pathology [J]. *Wound Repair Regen*, 2013, 21(4):530–544

- 14 Arbi S, Eksteen EC, Oberholzer HM, et al. Premature collagen fibril formation, fibroblast-mast cell interactions and mast cell-mediated phagocytosis of collagen in keloids [J]. *Ultrastruct Pathol*, 2015, 39(2):95–103
- 15 Dong X, Zhang C, Ma S, et al. Mast cell chymase in keloid induces profibrotic response via transforming growth factor-beta1/Smad activation in keloid fibroblasts [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(7):3596–3607
- 16 Pakyari M, Farrokhi A, Maharlooei MK, et al. Critical Role of Transforming Growth Factor Beta in Different Phases of Wound Healing [J]. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 2013, 2(5):215–224
- 17 Campaner AB, Ferreira LM, Gragnani A, et al. Upregulation of TGF-β1 expression may be necessary but is not sufficient for excessive scarring [J]. *J Invest Dermatol*, 2006, 126(5):1168–1176
- 18 Shah R, Reyes-Gordillo K, Arellanes-Robledo J, et al. TGF-β1 up-regulates the expression of PDGF-β receptor mRNA and induces a delayed PI3K-, AKT-, and p70(S6K)-dependent proliferative response in activated hepatic stellate cells [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2013, 37(11):1838–1848
- 19 Zhang GY, Wu LC, Liao T, et al. Altered circulating endothelial progenitor cells in patients with keloid [J]. *Clin Exp Dermatol*, 2016, 41(2):152–155
- 20 Yu H, Bock O, Bayat A, et al. Decreased expression of inhibitory SMAD6 and SMAD7 in keloid scarring [J]. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2006, 59(3):221–229
- 21 Fichtner-Feigl S, Strober W, Kawakami K, et al. IL-13 signaling through the IL-13alpha2 receptor is involved in induction of TGF-β1 production and fibrosis [J]. *Nat Med*, 2006, 12(1):99–106
- 22 Andrews JP, Marttala J, Macarak E, et al. Keloid pathogenesis: potential role of cellular fibronectin with the EDA domain [J]. *J Invest Dermatol*, 2015, 135(7):1921–1924
- 23 White ES, Sagana RL, Booth AJ, et al. Control of fibroblast fibronectin expression and alternative splicing via the PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Exp Cell Res*, 2010, 316(16):2644–2653
- 24 Muro AF, Moretti FA, Moore BB, et al. An essential role for fibronectin extra type III domain A in pulmonary fibrosis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 177(6):638–645
- 25 Kelsh RM, McKeown-Longo PJ, Clark RA. EDA fibronectin in keloids create a vicious cycle of fibrotic tumor formation [J]. *J Invest Dermatol*, 2015, 135(7):1714–1718

(收稿日期:2016-09-25)

(修回日期:2016-09-27)

(接第 178 页)

- 17 Jin WY, Tran TH, Sung CL, et al. Pin1 induction in the fibrotic liver and its roles in TGF-β1 expression and smad2/3 phosphorylation [J]. *J Hepatol*, 2014, 60(6):1235–1241
- 18 Yang JW, Hien TT, Lim SC, et al. Pin1 induction in the fibrotic liver and its roles in TGF-β1 expression and Smad2/3 phosphorylation [J]. *J Hepatol*, 2014, 60(6):1235–1241
- 19 Liu X, Liang E, Song X, et al. Inhibition of Pin1 alleviates myocardial fibrosis and dysfunction in STZ-induced diabetic mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 479(1):109–115
- 20 Sakai S, Shimojo N, Kimura T, et al. Involvement of peptidyl-prolyl isomerase Pin1 in the inhibitory effect of fluvastatin on endothelin-1 induced cardiomyocyte hypertrophy [J]. *Life Sci*, 2014, 102(2):98–104

- 21 Lufei C, Cao X. Nuclear import of Pin1 is mediated by a novel sequence in the PPIase domain [J]. *FEBS Lett*, 2009, 583(2):271–276
- 22 Park JE, Lee JA, Park SG, et al. A critical step for JNK activation: isomerization by the prolyl isomerase Pin1 [J]. *Cell Death Differ*, 2012, 19(1):153–161
- 23 Monje P, Hernandez-Losa J, Lyons RJ, et al. Regulation of the transcriptional activity of c-Fos by ERK. A novel role for the prolyl isomerase PIN1 [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(42):35081–35084
- 24 Sano M, Wang SC, Shirai M, et al. Activation of cardiac Cdk9 represses PGC-1 and confers a predisposition to heart failure [J]. *EMBO J*, 2004, 23(17):3559–3569

(收稿日期:2016-09-07)

(修回日期:2016-09-27)