

表皮干细胞研究进展

李彬彬 孙培鸣 孙宏伟 崔彦

摘要 哺乳动物的表皮中存在多种不同类型的表皮干细胞(epidermal stem cells, EpSCs), EpSCs 拥有自我更新和分化的潜能, 在维持表皮组织结构稳定和皮肤创伤愈合及皮肤疾病发生、发展过程中发挥重要作用。本文就 EpSCs 的特性、信号调节、在创伤愈合过程和抗衰老中的作用以及与皮肤癌的关系做一综述。

关键词 表皮干细胞 信号调节 创面愈合 抗衰老 皮肤癌

中图分类号 R365

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.01.034

皮肤是人体最大的器官, 主要功能为阻止外界有害物质入侵, 同时具有调节机体温度、感觉、保湿等作用。在皮肤表皮中存在多种干细胞, 其中表皮干细胞(epidermal stem cells, EpSCs) 在表皮形成、表皮组织结构稳定和皮肤创伤愈合及各种皮肤疾病发生、发展过程中发挥重要作用。EpSCs 是表皮多种细胞的来源, 位于表皮的基底、毛囊和皮脂腺等特定位置, 可分化为皮肤表层各层组织, 使表皮始终处于连续的增殖、分化、凋亡的状态。若表皮干细胞增殖与凋亡的平衡遭到破坏, 则可导致多种皮肤疾病包括肿瘤的发生^[1,2]。因此, EpSCs 的基础研究对于阐述各种皮肤疾病的病理机制乃至临床诊疗都具有重要意义。本文就 EpSCs 的特性、信号调节、在创伤愈合过程和抗衰老中的作用以及与皮肤癌的关系做一综述。

一、表皮干细胞的特性

EpSCs 是多种表皮细胞的祖细胞, 拥有自我更新能力和分化潜能, 一旦遇到各种刺激因素, 可增殖分化形成具有不同功能的细胞。EpSCs 来源于胚胎的神经外胚层, 具有双向分化能力, 一方面可向上迁移, EpSCs 从壁龛中移出, 到达最外层, 形成棘细胞的中间产物, 最后到达表皮的最外层, 分化成为各种表皮细胞, 取代脱落的表皮和毛发; 另一方面可向下迁移, 分化形成表皮的基层, 从而产生毛囊^[3]。另外, EpSCs 可通过不对称的方式产生两种子代细胞, 其一仍然维持 EpSCs 的特性, 另一种类型的子细胞则在没有

细胞分裂的情况下进行分化, 这两种子代细胞在维持表皮稳态方面均发挥重要作用^[4]。

EpSCs 在体内的自我更新能力相当强大, 在体外培养亦具有 140 多次传代的潜能。根据 EpSCs 增殖潜能而将其分为 3 种克隆形态: ①具有高度增殖能力的全克隆; ②增殖能力相对弱的部分克隆; ③终末分化的类克隆。这 3 种类型 EpSCs 的增殖潜能依次降低, 而分化程度则依次增加。全克隆 EpSCs 主要由干细胞组成, 形态尚未成熟, 增殖潜力最大, 可高度表达 $\beta 1$ 、 $\beta 6$ 整合素、K19、K15、CD71 等, 这些分子可作为显示干细胞特性包括静止和增殖能力的标志^[2]。

EpSCs 包含几种不同的细胞类型, 包括滤泡间表皮干细胞、毛囊干细胞和皮脂腺干细胞等。滤泡间表皮干细胞均匀分布于基层, 形成功能独立的隔室, 即表皮增生单位(epidermal proliferative unit, EPU), 而每个 EPU 的结构由一个被短暂扩增细胞包围的中央干细胞组成^[1-3]。XV II 型胶原(COL17)是位于表皮基膜带的跨膜蛋白, 具有调节滤泡间表皮细胞的增殖的作用, 与皮肤屏障功能、增生、肥厚、衰老等密切相关; 滤泡间表皮干细胞的生物学标志物尚未明确, 需要进一步研究^[5]。在组织稳态的过程中, 毛囊干细胞具有独特的生物学功能, 虽然不参与表皮细胞的形成, 但在特殊情况下, 它可以表现出多能干细胞的特性, 并且参与伤口的再上皮化。每个毛囊都经历 3 个连续的周期性变化阶段, 即生长阶段(生长期)、过渡阶段(生长中期)和休眠期(生长末期), 而位于毛囊凸起处的干细胞具有自我更新的能力。毛囊干细胞有许多种标志物, 包括阳性标志物 CK15、CK19、p63 和 CD200 等, 以及阴性标志物 CD34 和联接蛋白 4(connexin 4)等, 这些标志物有助于鉴别毛囊干细胞^[1,6]。

基金项目: 国家重大基础科学研究计划项目(2013CB945501); 全军试验技术研究计划重点项目(SYFD1500128)

作者单位: 100083 北京, 安徽医科大学解放军 306 临床学院普通外科(李彬彬); 100083 北京, 中国人民解放军战略支援部队特色医学中心普通外科(孙培鸣、孙宏伟、崔彦)

通讯作者: 崔彦, 电子信箱: dryancui@aliyun.com

在皮肤创面愈合过程中,EpSCs 不仅具有慢周期性、自我更新能力,还具有对基膜的黏附特性。EpSCs 对基膜的黏附特性是干细胞维持其特性的基本条件之一,并且干细胞脱离基膜的黏附是诱导其进入分化周期的重要调控机制。有研究 EpSCs 对 IV 胶原黏附特性的影响,取贴壁后 10、20、30、60min 的 EpSCs 培养,发现 EpSCs 的贴壁数量随时间延长而逐渐增多, $\beta 1$ 整合素阳性率的表达量可达 100%,说明 IV 型胶原有利于干细胞的贴附及生长^[7]。

随着对 EpSCs 自我更新和分化潜能的深入研究以及 EpSCs 技术的转化应用,将会进一步提升对 EpSCs 特性的全面认识。

二、表皮干细胞的信号调节

研究证实,一些信号通路在维持表皮干细胞的稳态、增殖和分化过程中发挥重要作用。Wnt/ β -catenin 信号通路对 EpSCs 发育、毛囊形态形成和组织稳态过程发挥调控作用^[8]。杨荣华等^[9]观察 Notch 信号通路对 EpSCs 增殖和分化的影响,结果表明,激活 Notch 信号通路能促进 EpSC 增殖并维持低分化状态,而抑制 Notch 信号通路则能促进表皮干细胞向表皮细胞分化。李冰等^[10]研究发现,激活的细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 进入细胞核内,作用于多种转录因子进而参与某些基因的转录与表达,影响细胞的增殖与分化,说明 ERK 通路在 EpSCs 的增殖与分化中发挥重要的作用,这为 EpSCs 的靶向诱导提供了一定的理论基础。

长期暴露于紫外线会对皮肤造成损伤。研究证实,众多信号调节介导了紫外线对皮肤的损伤效应。Netrin-1 蛋白作为 netrins 家族成员,在紫外线 B (ultraviolet-B, UV-B) 辐射下,具有调节 EpSCs 功能的作用,能减轻 UV-B 辐射诱导的氧化应激过程,还可通过增加线粒体膜电位水平和三磷酸腺苷 (ATP) 的生成,进一步调节 UV-B 辐射诱导的线粒体功能障碍和乳酸脱氢酶释放,从而改善细胞的功能,这些变化与 Wnt/ β -catenin 信号通路有关^[11]。Wang 等^[12]研究发现,Sl4G-humanin (HNG) 作为线粒体衍生肽家族中重要成员,具有抑制 UV-B 辐射诱导的活性氧生成、增强氧化谷胱甘肽表达的作用;通过增加 HNG 可减弱 UV-B 辐射诱导的线粒体膜电位,表明 HNG 能够改善 Wnt/ β -catenin 相关通路蛋白表达。Chang 等^[13]研究 TGR5 (takeda G-protein-coupled receptor-5) 对 EpSCs 紫外线 B 辐射的保护作用,发现 UV-B 辐射后 TGR5 表达下降,加入其激动剂 3-

(2-氯苯基)-N-(4-氯苯基)-N,5-二甲基异恶唑-4-羧酰胺 (GPBARA) 后,通过降低 4-羟基-2-壬烯醛 (4-hydroxy-2-nonenal) 和增加谷胱甘肽水平从而抑制 UV-B 辐射诱导的氧化应激反应;GPBARA 还可以通过提高线粒体膜电位,改善 UV-B 辐射诱导的线粒体功能障碍;使用 GPBARA 提前处理细胞,能够抑制 UV-B 辐射诱导的细胞活力、LDH 释放和高迁移率组 box 1 分泌,GPBARA 预处理还能减轻紫外线辐射诱导的整合素 $\beta 1$ 和 Krt 19 下降水平。

研究表明,转录因子包括 p16^{INK4a}、Myc 和 p63 等与染色质重构因子相互作用对表皮干细胞的增殖和分化具有一定的调节作用。p16^{INK4a} 作为一种周期调控蛋白,能抑制细胞周期 G₁/S 转换,在调节 EpSCs 自我更新过程中发挥调节作用,该调控功能失调可能与皮肤衰老或肿瘤发生有关。组蛋白修饰已成为表皮分化的表观遗传调控因子,Myc 可通过诱导与修饰活化染色质状态相关的组蛋白来调控从静止干细胞到 TA 细胞的转变。Myc 活化不仅能促进 EpSCs 的增殖,还能促进滤泡间上皮细胞和皮脂腺细胞的分化^[9,14]。除转录因子外,miRNA 和 lncRNA 在表皮干细胞的增殖和分化中也发挥一定的调节作用。另有一些分子如 GATA3、SSEA-4、CLC 和 RUNX1 等亦与 EpSCs 增殖、分化调控有关^[14,15]。

EpSCs 的信号调节,既是 EpSCs 发挥各种潜能的内在机制,也是全面认识 EpSCs 特性和发掘 EpSCs 转化应用的关键环节,有待于深入探讨。

三、表皮干细胞在创面愈合过程中的作用

皮肤及其附属器官为机体适应生存环境提供了许多关键功能。皮肤由中胚层起源的下层真皮和外胚层起源的上层表皮组成,其中表皮是一种分层的上皮细胞,由增殖细胞的内基层和分化后的基层组成,一些基底细胞通过不对称分裂,从细胞周期中退出并从基膜中脱离,进入细胞的终末分化阶段^[1,16]。

皮肤损伤修复是一个复杂的动态过程,可分为 3 个阶段,即炎症、组织形成及组织重构。该过程在损伤后即启动,涉及多种细胞和多种因子以及细胞基质的相互作用。另外,皮肤的更新包括皮肤的补充、角化和老化皮肤的脱落、毛发的生成和损伤后的组织修复等过程^[3,17]。

EpSCs 在皮肤创伤愈合过程中具有独特作用,通过免疫调节、表皮再生、血管再生和胶原沉积等作用

于伤口愈合全过程。促进创面愈合的干细胞可作为细胞来源,这些细胞不仅可以再生丢失的组织,还可以通过旁分泌的方式促进伤口愈合^[3,17]。

毛囊干细胞位于隆突部,是神经末梢和毛细血管汇集的地方,这为其维持自身稳定提供了良好的微环境,并接受信号转导调控自身的增殖与分化。皮脂腺干细胞分化产生皮脂腺细胞,滤泡间表皮干细胞形成表皮最外的屏障层。这些细胞在皮肤损伤修复方面起着重要作用,包括炎症反应、新生血管化、组织重塑、再上皮化等。毛囊干细胞群和滤泡间表皮干细胞群可以产生角化细胞,进而演化为创面再上皮化的细胞^[7]。

EpSCs 分泌的细胞因子具有特殊的生物活性特征,可促进细胞分化增殖,诱导趋化炎症细胞,并调节细胞的分裂、迁移,进而影响创面愈合。这类细胞因子在一定程度上能抑制成纤维细胞生长,使胶原纤维合成减少从而达到减少瘢痕形成的作用;另一方面,若伤口愈合过程受到不良因素影响则会导致肉芽组织过度生成,最终导致增生性瘢痕的形成^[3,16]。微囊蛋白 1 (caveolin - 1) 是胞膜上的一种整合膜蛋白,在保持 caveolae 的完整性、小泡运输以及信号转导中起到重要作用。Yang 等^[18] 研究 caveolin - 1 在大鼠烧伤创面愈合过程中对表皮干细胞的作用,发现过表达 caveolin - 1 的 EpSCs 能明显促进伤口的再上皮化,增强细胞构成,促进脉管系统形成,并增加伤口评分;同时探讨姜黄素对 EpSCs 调控创面愈合的作用及分子机制,发现姜黄素不仅能促进 EpSCs 增殖、脉管系统形成,还能提升 caveolin - 1 表达^[19]。聂刚等^[20] 探讨高浓度葡萄糖对小鼠 EpSCs 增殖的影响,研究结果表明,高浓度葡萄糖可明显抑制小鼠 EpSCs 的增殖,进一步阐明了糖尿病创面难愈的干细胞相关机制。Tang 等^[21] 研究发现,急性缺氧可诱导 EpSCs 从静止状态转变为活化状态,并明显增强细胞活力和运动性,促使 EpSCs 增殖高峰提前出现;外源性羟化酶抑制剂 FG - 4592 能稳定缺氧诱导因子 1,提升 EpSCs 增殖水平及活性,加速伤口愈合,为皮肤创面愈合的靶向治疗提供了新的理论基础。

随着创伤研究和转化医学的发展,EpSCs 在创面愈合过程中的作用机制研究及转化应用将会迅速延伸并发挥越来越重要的作用。

四、表皮干细胞与皮肤癌的关系

EpSCs 的增殖和分化受多种因素的调节,其中组蛋白修饰、DNA 修饰和非编码 RNA 在内的动态表观

遗传网络在调控 EpSCs 的稳态性和可塑性方面起着重要作用。特殊环节发生变化,将会导致皮肤疾病甚至皮肤癌的发生。有研究表明,表皮生长因子受体的结构性激活与表皮乳头状瘤及鳞状细胞癌的发生、发展有关。Chen 等^[22] 研究抑癌基因 Pten 在 EpSCs 中的作用,发现 Pten 基因发生缺失则会导致 Akt/ β - catenin 信号转导通路异常,与皮肤鳞状细胞癌发生有关。基底细胞癌可以由多种干细胞群产生,包括隆凸的干细胞和滤泡间干细胞,其间演化与致癌信号和 Hh/Gli 驱动的皮肤肿瘤表型有关。组织干细胞进行再生和创面愈合修复的细胞程序,会被肿瘤细胞“劫持”。当应激反应转录因子水平升高,干细胞谱系稳定性遭到破坏,癌基因被激活,就会诱发肿瘤生成^[23]。一系列研究表明,在众多不良因素的影响下,EpSCs 可演变为皮肤癌。尽管机制复杂而需深入研究,但避免内外环境因素对 EpSCs 的不良影响是维护干细胞健康分化和预防皮肤癌的关键。

五、表皮干细胞与抗衰老和美容

衰老是一种与基因相关的受内外因综合性因素影响的疾病。在人的生命周期中,细胞逐渐衰老,直至死亡又被新的细胞取代,在这种更替过程中,干细胞在维持机体稳态、保证组织器官的修复和再生中发挥着举足轻重的作用。衰老与干细胞的数量下降导致修复功能衰退有关。衰老不可避免,但可以不同程度的延缓。干细胞对颜面美容和皮肤防老化过程的作用^[24]。徐永飞等^[25] 研究发现,成熟期增生性瘢痕组织中存在 EpSCs,与正常皮肤来源 EpSCs 具有相近的生物学特性,为整形外科中成熟期增生性瘢痕组织表皮的再利用提供了理论基础。You 等^[26] 研究中药穿心莲 (A. paniculata, Chuanxinlian) 对皮肤的影响作用,通过体外、离体和在体实验研究,发现在穿心莲提取物作用下,EpSCs 增殖显著增加,EpSCs 的 G₂/M 和 S 期呈剂量依赖性上升,EpSCs 以及皮肤外植体中干细胞标志物整合素 β 1 (CD29) 表达上调,EpSCs 生成 VEGF 显著增加,EpSCs 调控提升成纤维细胞的 I 型胶原蛋白生成,皮肤保湿、真皮致密度、皱纹形成、松弛下垂等均得以明显改善。同时,将含有穿心莲的配方剂应用于临床,进一步明确了穿心莲提取物通过影响 EpSCs 而具有的抗衰老作用,并认为穿心莲可作为一种潜在的抗衰老剂。目前,EpSCs 在美容和抗衰老方面的研究方兴未艾,涉及物理、化学、药物、植物等的综合研究必将迅速推动干细胞技术和产品在该领域的广泛应用。

六、展 望

干细胞治疗人类疾病的地位和价值已经初步显现,尤其在部分慢性疾病、创伤修复的再生医学领域,显示出了明确的疗效。随着相关研究和产业化政策的顺应调整,干细胞的研究和临床应用将进入有序、规范化发展阶段。EpSCs 在表皮的形成、分化以及皮肤创伤愈合过程中发挥重要作用,同时与皮肤疾病包括皮肤癌的发生、发展密切相关,相关科学问题正逐步阐明。伴随着基础科学对 EpSCs 生物学特性、特殊功能和调控机制的深入研究,EpSCs 在再生医学、组织工程、基因及靶向治疗、自体成体干细胞基础治疗、抗衰老和美容以及航天医学等特殊领域中将展现出广阔的应用前景。

参考文献

- Gonzales KAU, Fuchs E. Skin and its regenerative powers: an alliance between stem cells and their niche[J]. *Dev Cell*, 2017, 43(4): 387-401
- Mesa KR, Kawaguchi K, Cockburn K, *et al.* Homeostatic epidermal stem cell self-renewal is driven by local differentiation[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(5): 677-686
- Li Y, Zhang J, Yue J, *et al.* Epidermal stem cells in skin wound healing[J]. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 2017, 6(9): 297-307
- Mascre G, Dekoninck S, Drogat B, *et al.* Distinct contribution of stem and progenitor cells to epidermal maintenance[J]. *Nature*, 2012, 489(7415): 257-262
- Watanabe M, Natsuga K, Nishie W, *et al.* Type XVII collagen coordinates proliferation in the interfollicular epidermis[J]. *Elife*, 2017, 6: e26635
- Gentile P, Garcovich S. Advances in regenerative stem cell therapy in androgenic alopecia and hair loss: Wnt pathway, growth-factor, and mesenchymal stem cell signaling impact analysis on cell growth and hair follicle development[J]. *Cells*, 2019, 8(5): 466
- 崔洪勋, 伍津津, 唐书谦, 等. 表皮干细胞对 IV 胶原的黏附特性及分选方法的研究[J]. *第三军医大学学报*, 2009, 31(9): 802-804
- Veltri A, Lang C, Lien WH. Concise review: Wnt signaling pathways in skin development and epidermal stem cells[J]. *Stem Cells*, 2018, 36(1): 22-35
- 杨荣华, 谢举临, 舒斌, 等. Notch 信号通路激活/抑制对表皮干细胞增殖和分化的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2013, 30(4): 694-697
- 李冰, 王军爱. ERK 信号通路对人表皮干细胞增殖分化的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(45): 6807-6813
- Wu P, Cao Y, Zhao R, *et al.* Netrin-1 plays a critical role in regulating capacities of epidermal stem cells upon ultraviolet-B (UV-B)

- irradiation[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1): 1416-1422
- Wang X, Liu X, Zhao Y, *et al.* Cytoprotective role of S14G-humanin(HNG) in ultraviolet-B induced epidermal stem cells injury[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 110: 248-253
- Chang Y, Yu J. The protective effects of TGR5 against ultraviolet B irradiation in epidermal stem cells[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(9): 15038-15044
- Chacón-Martínez CA, Koester J, Wickström SA. Signaling in the stem cell niche: regulating cell fate, function and plasticity[J]. *Development*, 2018, 145(15): dev165399
- Tanis SEJ, Köksal ES, van Buggenum JAGL, *et al.* BLNCR is a long non-coding RNA adjacent to integrin beta-1 that is rapidly lost during epidermal progenitor cell differentiation[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 31
- Strong AL, Neumeister MW, Levi B. Stem cells and tissue engineering: regeneration of the skin and its contents[J]. *Clin Plast Surg*, 2017, 44(3): 635-650
- Kanji S, Das H. Advances of stem cell therapeutics in cutaneous wound healing and regeneration[J]. *Mediators Inflamm*, 2017, 2017: 5217967
- Yang R, Wang J, Zhou Z, *et al.* Role of caveolin-1 in epidermal stem cells during burn wound healing in rats[J]. *Dev Biol*, 2019, 445(2): 271-279
- Yang R, Wang J, Zhou Z, *et al.* Curcumin promotes burn wound healing in mice by upregulating caveolin-1 in epidermal stem cells[J]. *Phytother Res*, 2019, 33(2): 422-430
- 聂刚, 亓俊华, 姜南雁, 等. 高浓度葡萄糖对小鼠表皮干细胞增殖的影响[J]. *医学研究杂志*, 2014, 43(10): 99-103
- Tang D, Zhang J, Yan T, *et al.* FG-4592 accelerates cutaneous wound healing by epidermal stem cell activation via HIF-1 α stabilization[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(6): 2460-2470
- Chen H, Wang X, Chen Y, *et al.* Pten loss in Lgr5+ hair follicle stem cells promotes SCC development[J]. *Theranostics*, 2019, 9(26): 8321-8331
- Miao Y, Yang H, Levorse J, *et al.* Adaptive immune resistance emerges from tumor-initiating stem cells[J]. *Cell*, 2019, 177(5): 1172-1186. e14
- Zarei F, Abbaszadeh A. Application of cell therapy for anti-aging facial skin[J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2019, 14(3): 244-248
- 徐永飞, 张建文, 刘林峰, 等. 成熟期增生性瘢痕与正常皮肤来源表皮干细胞生物学特性的对比研究[J]. *中国美容医学*, 2018, 27(4): 102-104
- You J, Roh KB, Li Z, *et al.* The antiaging properties of andrographis paniculata by activation epidermal cell stemness[J]. *Molecules*, 2015, 20(9): 17557-17569

(收稿日期: 2020-05-29)

(修回日期: 2020-07-13)