

成纤维细胞生长因子-10 对 3 种与修复有关 内源性生长因子表达的调控作用

孙晓庆 付小兵 陈伟 孙同柱

【摘要】 目的 观察成纤维细胞生长因子(FGF-10)对人角质细胞表达转化生长因子- α (TGF- α)、血小板源性生长因子-AB(PDGF-AB)和血管内皮细胞生长因子(VEGF)的作用。**方法** FGF-10 工作浓度为 4、16、125 和 500 $\mu\text{g/L}$, 不含 EGF 和含 EGF 的无血清角质细胞培养液分别作为阴性和阳性对照。细胞接种密度为 2 500 和 375 000 细胞/ cm^2 , 24、48 和 72 h 进行培养上清中的细胞计数, TGF- α 、PDGF-AB 和 VEGF 的含量用酶联免疫吸附法(ELISA)测定。**结果** ①低接种密度、细胞处于未融合生长状态时, 各组 24 h 培养上清中 TGF- α 含量均较低, 48 h 的 16 $\mu\text{g/L}$ 以上组及 72 h 各浓度组培养上清中 TGF- α 的分泌量均显著高于阴性对照组单个细胞的 TGF- α 分泌量。高接种密度、细胞处于融合生长状态时, 24 h 的培养上清中未检测到 PDGF-AB; 48 和 72 h 的培养上清中, 125 和 500 $\mu\text{g/L}$ 的 FGF-10 组 PDGF-AB 浓度及每 10^6 细胞的分泌量显著高于阴性对照组, 且 PDGF-AB 的分泌呈 FGF-10 剂量依赖性。②低接种密度时, FGF-10 各组 VEGF 浓度及每 10^6 细胞 VEGF 分泌量在各时间点均与阴性对照组无明显差异, 而阳性对照 EGF 组 VEGF 分泌显著高于其它各组。**结论** FGF-10 上调角质细胞分泌 PDGF-AB、TNF- α 可能与 FGF-10 间接作用于成纤维细胞、血管内皮细胞进而促进肉芽组织的形成有关。

【关键词】 成纤维细胞生长因子-10; 血小板源性生长因子; 转化生长因子; 血管内皮细胞生长因子

中图分类号: Q256; Q257 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-0603(2004)01-0013-06

Effects of fibroblast growth factor-10 on the secretions of transforming growth factor- α , platelet-derived growth factor-AB and vascular endothelial growth factor by normal adult human keratinocytes in culture

SUN Xiao-qing*, FU Xiao-bing, CHEN Wei, SUN Tong-zhu. * 304th Hospital of People's Liberation Army, Beijing 100037, China

【Abstract】 Objective To evaluate the effect of fibroblast growth factor-10 (FGF-10) on the secretion of transforming growth factor- α (TGF- α), platelet-derived growth factor-AB (PDGF-AB) and vascular endothelial growth factor (VEGF) by human keratinocytes. **Methods** Concentrations of FGF-10 used were 4, 16, 125 and 500 ng/ml. Serum-free keratinocyte growth medium without EGF or with EGF were as negative control and positive control, respectively. Cells were cultured at 2 500, 37 500 cells/ cm^2 in dishes in serum-free medium and supernatants were collected at 24, 48 and 72 hours. The concentrations of TGF- α , PDGF-AB and VEGF in cell culture supernatant were measured by using TGF- α , PDGF-AB and VEGF enzyme linked immunoadsorbent assay (ELISA) kits, respectively and cell numbers were counted by haemocytometer. **Results** For cells cultured at low density and cells were subconfluent, TGF- α in each group was low and there was no significant difference among them at 24 hours. At 48 hours, both in absolute concentrations and on a per-cell basis, FGF-10 enhanced the secretion of TGF- α by cells cultured at low density in a dose-dependent fashion. At 72 hours, the concentrations of TGF- α in all dose of FGF-10 were significantly higher than that in negative control ($P < 0.05$). The production of TGF- α in pg/ 10^6 cells in 500 ng/ml FGF-10 reached statistical significance compared with negative control ($P < 0.05$). The secretion of TGF- α in FGF-10 were lower than that in positive control at 48 and 72 hours. For cells cultured at 37 500 cells/ cm^2 , the secretion of TGF- α stimulated by FGF-10 was similar to that when cells cultured at lower density. PDGF-AB in each group was undetectable. When cells cultured at high density and reached 100% confluent, PDGF-AB could not be detected at 24 hours. At 48 hours, both in absolute concentrations and on a per-cell basis, PDGF-AB productions in 125 and 500 ng/ml of FGF-10 were markedly greater than those of negative control at 48 and 72 hours ($P < 0.05$), and the secretion of PDGF-AB stimulated by FGF-10 was in a dose-dependent fashion. For cells cultured at low density, although the concentrations of VEGF in 16-500 ng/ml of FGF-10 were significantly higher than that in negative control ($P < 0.05$) at 72 hours, on a per-cell basis, they were not greater than that of negative control. The secretion of VEGF in positive control was greater than that of FGF-10 at 24-72 hours. **Conclusion** The effect of FGF-10 on increasing secretion of TGF- α and PDGF-AB might mediate the actions of FGF-10 on keratinocytes, fibroblasts and endothelial cells to promote re-epithelialization as well as granulation tissue deposition during wound healing.

【Key words】 FGF-10; PDGF-AB; TGF- α ; VEGF

CLC number: Q256; Q257 **Document code:** A **Article ID:** 1003-0603(2004)01-0013-06

成纤维细胞生长因子 10 (FGF-10) 也称为角朊细胞生长因子 2 (KGF-2), 它由间质细胞合成与分泌, 其受体则分布在一些上皮细胞起源的细胞表面, 如皮肤的角朊细胞和胃肠道黏膜上皮细胞等^[1]。实验研究表明, FGF-10 在促进动物创面以及人下肢静脉慢性溃疡的愈合过程中, 其组织学不仅表现在刺激角朊细胞增殖与迁移, 还表现在促进肉芽组织的形成^[2,3]。因而 FGF-10 如何促进肉芽组织的形成, 是否可通过作用于角朊细胞, 调控角朊细胞表达生长因子等, 从而对创面修复产生间接作用尚不清楚。本研究拟通过体外细胞培养实验, 观察 FGF-10 对培养的成人角朊细胞分泌转化生长因子- α (TGF- α) 及血小板源性生长因子-AB (PDGF-AB) 和血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 的影响, 来探讨 FGF-10 促进创面再上皮化及肉芽组织形成的作用机制。

1 材料与方法

1.1 人角朊细胞培养: 参照 Hager 等^[4] 方法, 改良后用 Dispase 和胰蛋白酶分离人角朊细胞。成人皮肤取材于整形外科手术患者。采用无血清的角朊细胞培养液 (GKGM, Gibco, Paisly, UK) 培养分离的角朊细胞, 培养液中添加有牛垂体提取液 (BPE) 和表皮细胞生长因子 (EGF)。细胞接种于 75 mm² 培养瓶中, 在 37℃、体积分数为 5% 的 CO₂ 培养箱中生长为第一代细胞, 细胞达 70%~80% 融合后经胰酶消化传代。将在培养瓶中生长至第二代的角朊细胞用胰酶消化后冻存于液氮中备用。

1.2 角朊细胞接种: 为观察 FGF-10 对不同生长密度角朊细胞表达 TGF- α 的差异, 将细胞接种密度分高低两种, 即 2×10^4 /培养皿 ($2\,500$ 细胞/cm²) 和 3×10^5 /培养皿 ($37\,500$ 细胞/cm²) 两组。将第二代角朊细胞从液氮中复苏后接种于直径为 32 mm 的细胞培养皿中, 接种密度分别为 $2\,500$ 细胞/cm² 和 $37\,500$ 细胞/cm², 采用添加 EGF 的无血清角朊细胞生长培养液 (KGM-2, Biowhittaker Co. Ltd, USA) 在 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养、贴壁 24 h, 将培养液替换成不含 EGF 的 KGM-2 培养液再培养 24 h。然后将培养液替换成分别含有 4、16、125 和

500 μ g/L FGF-10 (人类基因科学公司, Rockville, MD 20850, 美国) 的 KGM-2 培养液 (未添加 EGF), FGF-10 贮存液用无菌去离子水配制, 分装后贮存于 -70℃ 备用, 于实验当日用 KGM-2 培养液配制 FGF-10 工作液。以不含 EGF 的 KGM-2 培养液作为阴性对照组, 含有 EGF 的 KGM-2 培养液作为阳性对照组, 即以 EGF 为阳性对照。分别于 24、48 和 72 h 收集培养上清液。

1.3 TGF- α 、PDGF-AB 和 VEGF 测定:

1.3.1 上清收集: 为减少离心管壁及冻存管对细胞培养上清中 TGF- α 的吸附, 于收集细胞培养上清前在培养皿中加入体积分数为 10% 的牛血清白蛋白 (BSA), 使其终浓度为 0.1%。将细胞培养上清离心, 10 000 r/min, 4℃, 以去除细胞及细胞碎片, 然后分装于冻存管中 (每管 0.3 ml), -70℃ 保存备用。

1.3.2 细胞计数: 将角朊细胞用质量分数为 0.125% 的胰蛋白酶 + 0.01% EDTA 消化, 采用血球计数板计数得出各培养皿中的细胞总数。

1.3.3 检测方法: 均采用酶联免疫吸附 (ELISA) 法, TGF- α 试剂盒为 CNBiosciences Nottingham UK; PDGF-AB 和 VEGF 试剂盒为 R&D Systems Abington UK, 按说明书进行操作。样本均采用复孔检测。TGF- α 含量以 ng/L 表示, 由每个细胞培养皿上清中 TGF- α 、PDGF-AB 和 VEGF 总量与该培养皿细胞总数计算可得每 10^6 个细胞 TGF- α 、PDGF-AB 和 VEGF 分泌量, 以 pg/ 10^6 细胞表示。

1.4 统计学处理: 采用 Statview 4.5 软件对数据进行多元分析。对每个时间点的数据采用单侧方差分析检验, 所得 F 值用 Fisher's PLSD 进行 TGF- α 、PDGF-AB 和 VEGF 含量组间差异显著性判断, $P < 0.05$ 为差异有显著的统计学意义。

2 结果

2.1 FGF-10 对低密度接种角朊细胞分泌 TGF- α 、PDGF-AB 和 VEGF 的影响: 当细胞接种密度为 $2\,500$ 细胞/cm² 时, 各种浓度的 FGF-10 在 24~72 h 均对角朊细胞产生增殖作用, 最佳作用浓度为 125 μ g/L, 而且 FGF-10 的增殖作用要强于 EGF (图 1)。各时间点的细胞培养上清中均未检测到 PDGF-AB。当细胞接种密度为 $37\,500$ 细胞/cm²、贴壁并在无 EGF 的培养基中生长 24 h 后, 显微镜下观察, 细胞已 100% 融合, 且角化的细胞团较多。

24 h 收集的各组细胞培养上清中 TGF- α 的浓度及每 10^6 个细胞的 TGF- α 分泌量均较低, 且各组间无明显差异; 同时未能检测到 PDGF-AB。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (30170966); 国家重大基础研究规划基金资助项目 (G1999054204); 国家自然科学基金重点项目 (30230370); 全军医学科研“十五”计划面上项目 (01MA208)

作者单位: 100037 北京, 解放军第三〇四医院

作者简介: 孙晓庆 (1964-), 女 (汉族), 湖北省武汉市人, 医学硕士, 助理研究员, 主要从事创伤修复基础及临床应用研究, 已发表论文 20 余篇。

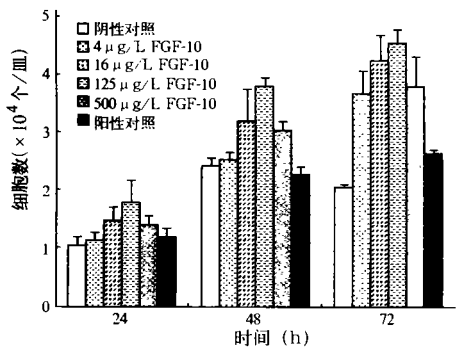
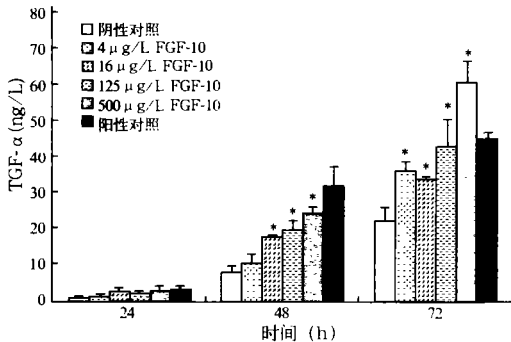


图 1 FGF-10 对低密度接种角朊细胞的增殖作用
Fig. 1 Effect of FGF-10 on the proliferation of keratinocytes seeded at low density

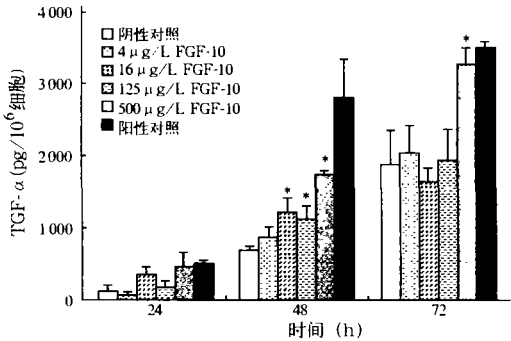
48 h 培养上清中, 16~500 $\mu\text{g/L}$ FGF-10 组中的 TGF- α 浓度及每 10^6 个细胞的 TGF- α 分泌量均较阴性对照组显著升高 (P 均 < 0.05), 但均低于阳性对照 EGF 组 (图 2 和 3)。上清中 TGF- α 的浓度以及每 10^6 个细胞的 TGF- α 分泌量与 FGF-10 浓度的对数均呈正相关, 相关系数分别为 0.983 和 0.848。72 h 培养上清中, 4 种不同浓度 FGF-10 组 TGF- α 含量均显著高于阴性对照组 (P 均 < 0.05 , 图 2), 但仅 500 $\mu\text{g/L}$ FGF-10 组每 10^6 个细胞的 TGF- α 分泌量较阴性对照组显著升高, 其它浓度 FGF-10 组 TGF- α 虽较阴性对照组高, 但均未达到显著性差异, 且均低于阳性对照 EGF 组 (图 3)。48 h FGF-10 各组每 10^6 细胞分泌 TGF- α 为 880~1 700 $\text{pg}/10^6$ 细胞, 72 h FGF-10 各组分泌 TGF- α 为 1 650~3 200 $\text{pg}/10^6$ 细胞。



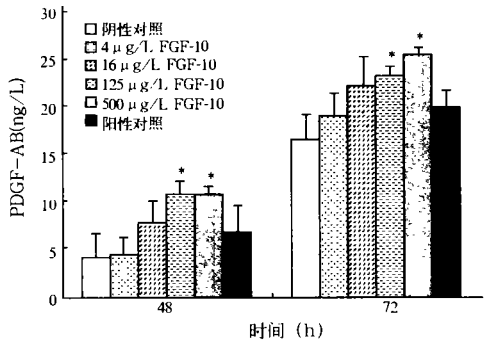
注: 与阴性对照比较, * $P < 0.05$
图 2 低密度接种角朊细胞培养上清液中 TGF- α 的浓度
Fig. 2 Concentration of TGF- α in supernatant from keratinocytes seeded at low density

48 及 72 h 的培养上清中, 125 和 500 $\mu\text{g/L}$ FGF-10 组 PDGF-AB 的浓度及每 10^6 个细胞的 PDGF-AB 分泌量较阴性对照组显著升高 ($P < 0.05$, 图 4 和 5)。PDGF-AB 的分泌呈 FGF-10 剂量依赖性。48 h 上清中 PDGF-AB 的浓度以及每

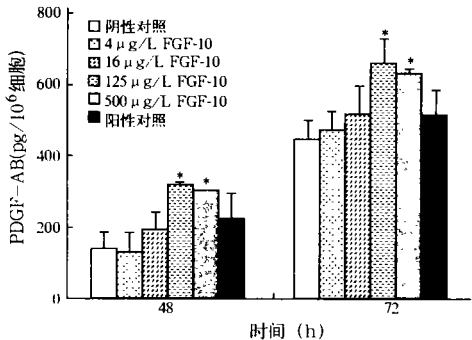
10^6 个细胞的 PDGF-AB 分泌量与 FGF-10 浓度的对数均呈正相关, 相关系数分别为 0.928 和 0.892。72 h 上清中 PDGF-AB 浓度以及每 10^6 个细胞的 PDGF-AB 分泌量与 FGF-10 浓度的对数也均呈正相关, 相关系数分别为 0.902 和 0.848。



注: 与阴性对照比较, * $P < 0.05$
图 3 FGF-10 对低密度接种角朊细胞产生 TGF- α 的作用
Fig. 3 Effect of FGF-10 on the production of TGF- α of keratinocytes seeded at low density

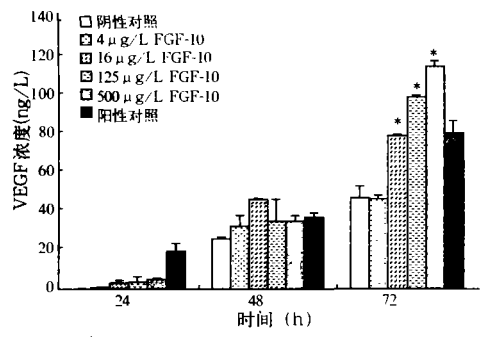


注: 与阴性对照比较, * $P < 0.05$
图 4 低密度接种角朊细胞培养上清液中 PDGF-AB 的浓度
Fig. 4 Concentration of PDGF-AB in supernatant from keratinocytes seeded at low density



注: 与阴性对照比较, * $P < 0.05$
图 5 FGF-10 对低密度接种角朊细胞分泌 PDGF-AB 的作用
Fig. 5 Effect of FGF-10 on the production of PDGF-AB of keratinocytes seeded at low density

在细胞接种密度为 2 500 细胞/cm² 时,虽然 16~500 $\mu\text{g/L}$ 的 FGF-10 组培养上清中 VEGF 浓度显著高于阴性对照组(P 均 <0.05),但每 10⁶ 个细胞 VEGF 的分泌量与阴性对照组并无差异(图 6 和图 7),EGF 阳性对照组每 10⁶ 个细胞 VEGF 的分泌量明显增高。



注:与阴性对照比较,* $P<0.05$

图 6 低密度接种角朊细胞培养上清液中 VEGF 的浓度

Fig. 6 Concentration of VEGF in supernatant from keratinocytes seeded at low density

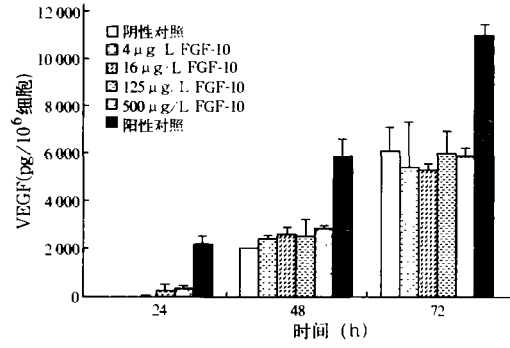


图 7 FGF-10 对低密度接种角朊细胞分泌 VEGF 的作用

Fig. 7 Effect of FGF-10 on the production of VEGF of keratinocytes seeded at low density

2.2 FGF-10 对高密度接种细胞分泌 TGF- α 、VEGF 的作用:细胞接种密度为 37 500 细胞/cm²、贴壁、在无 EGF 的培养基中生长 24 h 以后,显微镜下观察,细胞已 100% 融合,且角化的细胞团较多。FGF-10 作用 24~72 h 后,与低密度接种细胞不同,各组培养皿中细胞总数增加较少(图 8)。24 h 的细胞培养上清中,与低密度接种细胞一样,各组 TGF- α 的浓度较低。FGF-10 作用 48 h 后,各个剂量的 FGF-10 组 TGF- α 的浓度及每 10⁶ 细胞的分泌均较阴性对照组显著升高(P 均 <0.05)。72 h 收集的细胞培养上清中,125 和 500 $\mu\text{g/L}$ FGF-10 的 TGF- α 浓度显著高于阴性对照组(P 均 <0.05),500 $\mu\text{g/L}$ FGF-10 的每 10⁶ 细胞的 TGF- α 分泌高于阴性对照组($P<0.05$,图 9 和 10)。与低密度接

种的细胞相同,72h 上清中 TGF- α 浓度及每 10⁶ 个细胞 TGF- α 分泌量与 FGF-10 浓度的对数均呈正相关,相关系数分别为 0.845 和 0.954。阳性对照 EGF 组 TGF- α 分泌在各时间点均高于 FGF-10 组。48 h FGF-10 各组细胞的 TGF- α 分泌量为 2 000~2 700 pg/10⁶ 细胞,72 h FGF-10 各组细胞 TGF- α 分泌量为 2 850~4 300 pg/10⁶ 细胞。

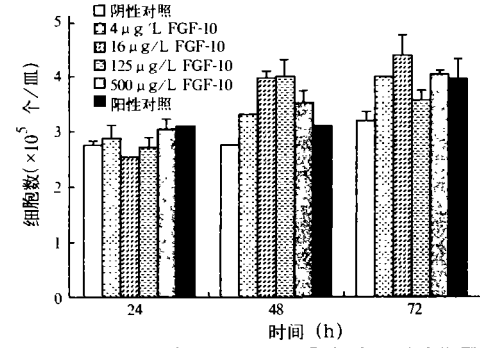
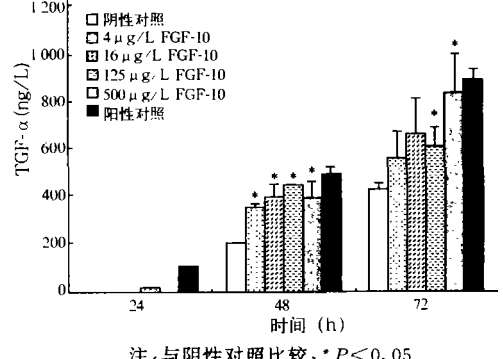


图 8 FGF-10 对高密度接种角朊细胞的增殖作用
Fig. 8 Effect of FGF-10 on the proliferation of keratinocytes seeded at high density



注:与阴性对照比较,* $P<0.05$

图 9 高密度接种角朊细胞培养上清液中 TGF- α 的浓度
Fig. 9 Concentration of TGF- α in supernatant from keratinocytes seeded at high density

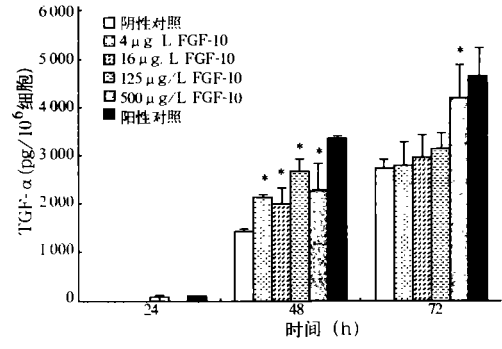


图 10 FGF-10 对高密度接种的角朊细胞分泌 TGF- α 的作用
Fig. 10 Effect of FGF-10 on the production of TGF- α of keratinocytes seeded at high density

当细胞接种密度为 37 500 细胞/cm² 时,各组 VEGF 的分泌随培养时间的延长而增多,但各组之间并不存在差异(图 11)。

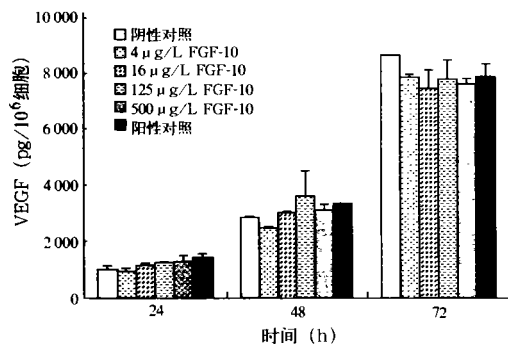


图 11 FGF-10 对高密度接种角朊细胞分泌 VEGF 的作用

Fig. 11 Effect of FGF-10 on the production of VEGF of keratinocytes seeded at high density

3 讨论

3.1 在本实验中,我们分别观察了 FGF-10 对处于未融合状态和融合状态生长的角朊细胞表达 TGF- α 、PDGF-AB 和 VEGF 的刺激作用。实验结果表明,FGF-10 可刺激两种状态生长的角朊细胞表达 TGF- α ,这种刺激作用强度与培养皿中细胞的生长状态有关。在细胞处于尚未融合状态和融合状态时,FGF-10 对角朊细胞分泌 TGF- α 均产生刺激作用。在细胞接种密度为 2 500 细胞/cm²,细胞尚未融合,即大部分细胞未进入分化阶段,FGF-10 对角朊细胞分泌 TGF- α 的刺激作用相对较弱,TGF- α 作用后 48 h 每 10⁶ 细胞分泌的 TGF- α 为 880~1 700 pg/10⁶ 细胞,作用 72 h 后每 10⁶ 细胞分泌的 TGF- α 为 1 650~3 200 pg/10⁶ 细胞。当角朊细胞处于 100% 融合状态,并出现较多角化细胞,即大部分细胞不再增殖而进入分化阶段时,FGF-10 对角朊细胞分泌 TGF- α 的刺激作用相对较强,TGF- α 作用 48 h 后每 10⁶ 细胞的分泌 TGF- α 为 2 000~2 700 pg/10⁶ 细胞,TGF- α 作用 72 h 后每 10⁶ 细胞分泌 TGF- α 为 2850~4300 pg/10⁶ 细胞。

在细胞处于尚未融合状态时,角朊细胞不表达 PDGF-AB。在细胞处于融合状态时,FGF-10 对角朊细胞分泌 PDGF-AB 产生刺激作用,且这种刺激作用呈 FGF-10 剂量依赖性。无论角朊细胞生长处于尚未融合状态或融合状态,FGF-10 均对细胞分泌 VEGF 无刺激作用。而 EGF 仅刺激处于尚未融合状态生长的角朊细胞分泌 VEGF。

3.2 FGF-10 是一种以旁分泌作用为特点的生长因子,由间质细胞合成与分泌,它的特异性受体——成纤维细胞生长因子受体的剪切异构体 FGFR2 IIIb 则分布在上皮起源的细胞膜上,如皮肤的角朊细胞、

消化道的黏膜上皮细胞,因而 FGF-10 作用的靶细胞仅为上皮细胞^[3,5]。我们以前的实验结果表明,FGF-10 对体外培养的成人角朊细胞产生促增殖作用,且这种促增殖作用与 FGF-10 呈剂量依赖性^[6]。动物实验表明,创伤后第 1 d FGF-10 表达上调,第 3 d FGF-10 表达迅速下调^[7]。外用 FGF-10 能明显促进青年和老年兔的缺血性创面修复,其组织学表现不仅为促进表皮基底层细胞增殖,而且还促进创面肉芽组织形成,刺激真皮成纤维细胞增殖^[3]。由于皮肤中仅表皮细胞为 FGF-10 的靶细胞,因而 FGF-10 对成纤维细胞增殖及肉芽组织形成的刺激可能是 FGF-10 的间接作用。在创面愈合过程中,角朊细胞产生的多种细胞因子和生长因子,是上皮细胞与间质细胞相互调控中的重要作用机制之一。因而 FGF-10 促进真皮成纤维细胞增殖与肉芽组织形成是否与 FGF-10 通过特异性结合角朊细胞的 FGFR2 IIIb 后,调控角朊细胞生长因子合成与分泌,从而间接作用于成纤维细胞、血管内皮细胞,促进肉芽组织形成有关,尚缺乏实验证据。

3.3 TGF- α 是 EGF 家族成员之一,TGF- α 在结构上与 EGF 相似,通过与 EGF 受体的结合对靶细胞产生生物学效应。在正常情况下,上皮细胞和间质细胞均能合成与分泌 TGF- α ,皮肤的多种细胞表面如角朊细胞、成纤维细胞和血管内皮细胞等均表达 EGF 受体。在创面修复过程中,许多细胞如血小板、活化的巨噬细胞、成纤维细胞和角朊细胞合成与分泌 TGF- α ^[8]。研究证明,TGF- α 能促进多种动物模型与患者的创面修复,如外用 TGF- α 可加速动物与人烧伤创面的再上皮化及肉芽组织的形成^[9]。TGF- α 对成纤维细胞产生促分裂作用,在发育与创面修复过程中,还调控 TGF- β 诱导成纤维细胞、平滑肌细胞的细胞外基质合成与分泌^[10]。将角朊细胞与微血管内皮细胞共培养,不仅促进了内皮细胞增殖,还诱导内皮细胞成管状结构,而且进一步研究证实角朊细胞的这种作用是由 TGF- α 介导^[11,12]。因而 FGF-10 刺激角朊细胞合成与分泌 TGF- α ,通过 TGF- α 的介导来实现 FGF-10 促进创面肉芽组织形成的作用。

3.4 皮肤组织中,除血小板是创面 PDGF 的重要来源外,角朊细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞及单核细胞均表达 PDGF,包括 PDGF-AA、-BB、-AB 和近年来新发现的 PDGF-CC。PDGF 的受体分别由 α 、 β 两个亚基聚合而成, α 亚基不仅和 PDGF-A 结合;也和 PDGF-B 及 PDGF-C 结合;但 β 亚基

则只与 PDGF - B 特异性结合,因而,PDGF - AB 既能与 α 亚基结合,也能与 β 亚基结合,这也就是 PDGF - AB 和 PDGF - BB 是 PDGF 家族中生物学活性最强的生长因子的原因之一。许多细胞均表达 PDGF 受体,如成纤维细胞、血管内皮细胞、平滑肌细胞以及一些炎性细胞,但角朊细胞本身并不表达 PDGF 的受体^[13]。在创面愈合过程中,PDGF - AB 调控肉芽组织的形成与组织改建。体外实验结果表明,PDGF - AB 不仅刺激正常皮肤的成纤维细胞的增殖,也刺激糖尿病慢性溃疡创面的成纤维细胞的增殖^[14]。PDGF - AB 还通过上调真皮成纤维细胞整和素的表达,促进成纤维细胞对胶原与纤维连接蛋白等细胞外基质的迁移^[15]。动物实验结果也表明,在创面愈合过程中,创面局部 PDGF - AB 的表达上调,而且局部应用 PDGF - AB 也可缩短创面的愈合时间^[16]。大鼠局部应用 PDGF - AB 不仅刺激成纤维细胞增殖,而且诱导成纤维细胞合成胶原增加,从而促进创面肉芽组织的形成^[17]。大血管和微血管内皮细胞、平滑肌细胞也均表达 PDGF 受体,PDGF - AB 可诱导创面血管平滑肌细胞迁移和内皮细胞增殖、迁移及血管腔形成^[18]。因此,FGF - 10 可能通过刺激角朊细胞合成与分泌 PDGF - AB 来介导其促进创面肉芽组织形成的生物学效应。

本实验结果提示 FGF - 10 不仅直接促进角朊细胞的增殖,而且还刺激角朊细胞合成与分泌粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM - CSF)和 PDGF - AB,从而间接作用于参与组织修复的其它细胞如炎性细胞、成纤维细胞、内皮细胞以及角朊细胞自身,促进创面的再上皮化与肉芽组织形成。此外,离体实验及在体实验表明 FGF - 10 对肿瘤细胞无明显的促增殖作用^[19],因而 FGF - 10 可能是一个较为安全的治疗创面愈合的生长因子。

参考文献:

- 1 Aaronson S A, Bottaro D P, Miki T, *et al.* Keratinocyte growth factor: a fibroblast growth factor family member with unusual target cell specificity[J]. *Ann NY Acad Sci*, 1991, 638: 62 - 77.
- 2 Jimenez P A, Rampy M A. Keratinocyte growth factor - 2 accelerates wound healing in incisional wounds[J]. *J Surg Res*, 1999, 81: 238 - 242.
- 3 Xia Y P, Zhao Y, Marcus J, *et al.* Effects of keratinocyte growth factor - 2 (KGF - 2) on wound healing in an ischemia - impaired rabbit ear model and on scar formations[J]. *J Pathol*, 1999, 188: 431 - 438.
- 4 Hager B, Bickenbach J R, Fleckman P. Long - term culture of murine epidermal keratinocytes [J]. *J Invest Dermatol*, 1999, 112: 971 - 976.
- 5 Igarashi M, Finch P W, Aaronson S A. Characterization of recombinant human fibroblast growth factor (FGF - 10) reveals functional similarities with keratinocyte growth factor (FGF - 7) [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273: 13230 - 13235.
- 6 Yang Yinhui, Fu Xiaobing, Li Jianfu. Effect of keratinocyte growth factor - 2 on proliferation of human adult keratinocytes [J]. *Chin J Traumatol (Eng Ed)*, 2002, 5: 342 - 345.
- 7 Tagashira S, Harada H, Katsumata T, *et al.* Cloning of mouse FGF10 and up - regulation of its gene expression during wound healing[J]. *Gene*, 1997, 197: 399 - 404.
- 8 付小兵. 生长因子与创伤修复[M]. 北京: 人民军医出版社, 1991. 22 - 40.
- 9 Schultz G, Rotatori D S, Clark W. EGF and TGF - alpha in wound healing and repair [J]. *J Cell Biochem*, 1991, 45: 346 - 352.
- 10 Davidson J M, Zoia O, Liu J M, *et al.* Modulation of transforming growth factor - beta 1 stimulated elastin and collagen production and proliferation in porcine vascular smooth muscle cells and skin fibroblasts by basic fibroblast growth factor, transforming growth factor - alpha, and insulin - like growth factor - I [J]. *J Cell Physiol*, 1993, 155: 149 - 156.
- 11 Ono M, Okamura K, Nakayama Y, *et al.* Induction of human microvascular endothelial tubular morphogenesis by human keratinocytes: involvement of transforming growth factor - alpha [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992, 189: 601 - 609.
- 12 Detmar M, Yeo K T, Nagy J A, *et al.* Keratinocyte - derived vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) is a potent mitogen for dermal microvascular endothelial cells [J]. *Invest Dermatol*, 1995, 105(1): 44 - 50.
- 13 Gilbertson D G, Duff M E, West J W, *et al.* Platelet - derived growth factor C (PDGF - C), a novel growth factor that binds to PDGF α and β receptor [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 27406 - 27414.
- 14 Loot M A, Kenter S B, Au F L, *et al.* Fibroblasts derived from chronic diabetic ulcers differ in their response to stimulation with EGF, IGF - 1, bFGF and PDGF - AB compared to controls [J]. *Eur J Cell Biol*, 2002, 81: 153 - 160.
- 15 Kirchberg K, Lange T S, Klein E C, *et al.* Induction of beta 1 integrin synthesis by recombinant platelet - derived growth factor (PDGF - AB) correlates with an enhanced migratory response of human dermal fibroblasts to various extracellular matrix proteins [J]. *Exp Cell Res*, 1995, 220: 29 - 35.
- 16 Breuing K, Andree C, Helo G, *et al.* Growth factors in the repair of partial thickness porcine skin wounds [J]. *Plast Reconstr Surg*, 1997, 100: 657 - 664.
- 17 Lepisto J, Kujari H, Niinikoski J, *et al.* Effects of heterodimeric isoform of platelet - derived growth factor PDGF - AB on wound healing in the rat [J]. *Eur Surg Res*, 1994, 26: 267 - 272.
- 18 Marx M, Perlmutter R A, Madri J A. Modulation of platelet - derived growth factor receptor expression in microvascular endothelial cells during in vitro angiogenesis [J]. *J Clin Invest*, 1994, 93: 131 - 139.
- 19 Alderson R, Gohari - Fritsh S, Olsen H, *et al.* In vitro and in vivo effects of repifermin (keratinocyte growth factor - 2, KGF - 2) on human carcinoma cells [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2002, 50: 202 - 212.

(收稿日期: 2003 - 03 - 30 修回日期: 2003 - 11 - 30)

(本文编辑: 李银平)