

重组人酸性成纤维细胞生长因子促进创伤愈合的研究

李校¹ 许华 付小兵¹ 郑青 黄亚东 赵文 吴晓萍

(暨南大学医药生物技术研究开发中心, 广州 510632; 解放军第 304 医院, 北京 100007)

摘要 目的 研究重组人酸性成纤维细胞生长因子 (rh-aFGF) 对兔创伤的促愈合作用。方法 采用兔背部刀割伤模型, 将 rh-aFGF 溶液隔日一次滴注于创面, 用创面照像、透明膜描记称量法记录伤后第 4 8 12 16 天创面面积, 用注水法测量伤腔容积, 伤后第 8 16 天取创面组织, 观察创面的病理学变化, 包括肉芽组织生长与再上皮化情况。结果 rh-aFGF 可明显加速兔皮肤创伤的愈合, 使创面面积明显缩小 ($P < 0.05$), 使伤腔容积明显减少 ($P < 0.05$)。组织学检查: rh-aFGF 组创面伤后 8 天成纤维细胞生长活跃、数量多, 其毛细血管胚芽与成纤维细胞数量显著多于对照组; 伤后 16 天, 创面收缩与再上皮化明显, 新生上皮向创面中心爬行较快。结论 rh-aFGF 对兔背部刀伤创面有明显的促修复作用。

关键词 重组人酸性成纤维细胞生长因子; 创伤; 愈合; 兔

中图分类号: R965 文献标识码: A 文章编号: 1000-5048(2002)04-0312-04

成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF) 是体内分布极为广泛的生长因子之一, 主要分酸性成纤维细胞生长因子 (aFGF) 和碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF) 两大类, 均具有促进哺乳动物多种来源于中胚层和神经外胚层细胞如上皮细胞、内皮细胞、肌细胞、成纤维细胞等分裂增殖作用。大量基础及临床研究表明^[1-2], bFGF 能促进烧伤、溃疡等的修复与愈合。国外也有部分关于 aFGF 促进创伤修复的报道^[3-5]。本文观察了重组人酸性成纤维细胞生长因子 (rh-aFGF) 对兔皮肤创伤愈合的促进作用。

1 材料与方法

1.1 动物模型

实验采用动物为北京产大耳白兔, 体重 2.0~2.5 kg, 由军事医学科学院实验动物中心提供。于实验前一周购入, 单笼喂养, 自由饮水与摄食。实验当日禁食, 在麻醉条件下用剃刀将动物背部净毛, 面积为 18 cm × 15 cm。待消毒后用特制致伤器 (打孔器, 直径 1.8 cm) 在兔背中部脊柱两侧各旁开 1.5 cm 处, 由前至后共切割 5 个圆形创面 (左 3

个、右 2 个), 直径 1.8 cm, 面积 2.54 cm², 深至皮下并破坏少许肌组织, 创面止血后备用。

1.2 药物及应用方法

重组人酸性成纤维细胞生长因子 (rh-aFGF) 由暨南大学医药生物技术研究开发中心提供, 为无菌冻干粉剂, 25000 U/瓶, 临用前用注射用水配制成溶液。

每一动物分成 A (rh-aFGF 用量为 180 U/cm²)、B (60 U/cm²)、C (20 U/cm²)、D (溶媒) 和 E (空白对照) 共 5 组创面。伤后即开始用药, 以后隔天换药一次, 至伤后第 16 天。每次换药时将纱布揭开, 创面无菌处理后, 用注射器将生长因子或溶媒均匀滴注于相应创面, 待作用 5 min 后用无菌纱布包扎, 单笼喂养, 自由饮水与摄食。

1.3 评价指标及方法

术后用创面照像、透明膜描记称量法记录伤后第 4 8 12 16 天创面面积; 用注水法测量伤腔容积; 伤后第 8 16 天取创面组织, 经福尔马林固定后常规染色, 重点观察创面肉芽组织生长 (包括毛细血管生长、胶原沉积) 与再上皮化变化, 以评价修复效果。

* 收稿日期 2002-04-10 * 通讯作者 Tel: 020-85563780 E-mail: huax-mai@sohu.com

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (十五 863) 项目 (2001AA215131)

1.4 统计学处理

用 SAS 软件对所有数据进行统计学处理, 所有数据均以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 样本均数差异性用 t 检验, 差异的显著性定为 $P < 0.05$

2 结果

Tab 1. Changes of wound area (cm^2) in different time by different treatment ($\bar{x} \pm s$)

Groups	Treatment	Time after injury (day)				
		0*	4 (n= 8)	8 (n= 8)	12 (n= 6)	16 (n= 6)
A	180U / cm^2 rh-aFGF	2.54	2.59 \pm 0.22	1.80 \pm 0.64	0.6 \pm 0.50	0.15 \pm 0.21
B	60 U / cm^2 rh-aFGF	2.54	2.66 \pm 0.35	1.60 \pm 0.35 [§]	0.5 \pm 0.33 [§]	0.17 \pm 0.18
C	20 U / cm^2 rh-aFGF	2.54	2.75 \pm 0.66	1.72 \pm 0.44 [§]	0.55 \pm 0.26 [§]	0.12 \pm 0.08
D	Solvent	2.54	2.76 \pm 0.59	2.08 \pm 0.59	0.87 \pm 0.26	0.27 \pm 0.16
E	Control	2.54	2.72 \pm 0.40	2.17 \pm 0.49	1.03 \pm 0.34	0.22 \pm 0.19

* All the area is 2.54 cm^2 ; [§]compare vs control, $P < 0.05$

2.2 rh-aFGF对伤腔容积的影响

经不同治疗方法处理的各组创面伤腔容积随伤后时间延长而逐渐缩小, 和空白对照组相比, rh-

2.1 rh-aFGF对创面面积的影响

术后第 1 天伤口红肿, 各组间无明显差异; 第 4 天与对照组相比, 用药组创面较干燥; 在第 8 天和第 12 天, 各剂量治疗组显示明显的加速创面面积缩小的作用 ($P < 0.05$), 以 aFGF 中、低剂量组更为明显 (表 1)。

aFGF 治疗组显示明显的加速伤腔容积缩小的作用, 以中剂量组更为明显 ($P < 0.05$) (见表 2)。

Tab 2. Changes of wound volume (ml) in different time by different treatment ($\bar{x} \pm s, n= 8$)

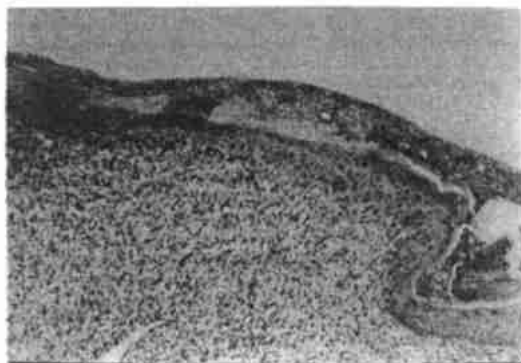
Groups	Treatment	Time after injury (day)		
		4	8	12
A	180U / cm^2 rh-aFGF	0.56 \pm 0.16	0.39 \pm 0.17	0.16 \pm 0.18
B	60 U / cm^2 rh-aFGF	0.46 \pm 0.11 [*]	0.30 \pm 0.10 ⁰⁾	0.09 \pm 0.04 [§]
C	20 U / cm^2 rh-aFGF	0.57 \pm 0.19	0.33 \pm 0.08	0.08 \pm 0.07
D	Solvent	0.60 \pm 0.24	0.43 \pm 0.19	0.18 \pm 0.03
E	Control	0.59 \pm 0.11 [*]	0.4 \pm 0.08	0.19 \pm 0.05

* compare vs Blank control. $P < 0.05$

2.3 组织学检查

HE 染色切片后观察: 经 rh-aFGF 治疗的创面, 伤后 7 天成纤维细胞生长活跃, 数量多, 其毛细

血管胚芽与成纤维细胞数量显著多于对照组。伤后 16 天, rh-aFGF 治疗组的创面收缩与再上皮化明显, 新生上皮向创面中心爬行较快 (图 1、2)。



A



B

Fig 1. Pathological check of wounds on the 8th day after injury (HE \times 20). Capillary vessel embryo and fibroblastic cells in rh-aFGF group manifold distinctly than that in control group on the 8th day after injury. A. rh-aFGF group (20 U / cm^2); B. control group

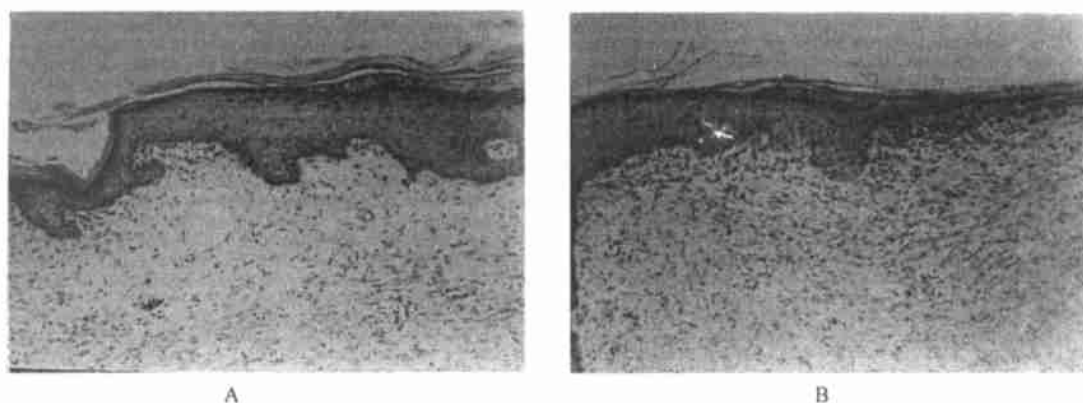


Fig 2 Pathological check of wounds on the 16th day after injury (HEX 200). Wound was almost completely covered by epithelium in rh-aFGF group, but the bigger surface of wound was exist in control group. A. rh-aFGF group (20 U/cm²); B. control group

3 讨论

成纤维细胞生长因子(FGF)是一类对中胚层和神经外胚层来源的各种类型的细胞具有促分裂分化活性的多肽生长因子,包括碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、酸性成纤维细胞生长因子(aFGF)等多个成员。近十多年来的研究表明,该类因子具有广泛的生物学作用,可促进血管生成、创伤愈合、骨骼修复、溃疡愈合、神经组织的修复等。bFGF已用于临床,以促进各种组织损伤的修复,改善伤口的愈合^[6]。

aFGF是第二个被分离纯化的成纤维细胞生长因子,最初由 Thomas 于 1984 年从牛脑中分离纯化得到。但由于 aFGF 是人体内的微量活性物质,难于在体液或组织中提取并用于临床。重组人酸性成纤维细胞生长因子系采用生物工程方法得到的人酸性成纤维细胞生长因子。研究发现 aFGF 对创伤、糖尿病溃疡等多种皮肤损伤都有良好的促愈合作用^[3-5],另外 aFGF 能够促进损伤血管的修复和生长^[7-8]。本实验用兔背部创伤模型,观察了 rh-aFGF 对创伤修复的促进作用。结果表明, rh-aFGF 可促进创面肉芽组织生长,诱导毛细血管芽形成与再上皮化,对创面修复有明显的促进作用。这种促愈合作用在 4~12 天均有效果,说明 rh-aFGF 作用的持久性。药动力学研究结果证明, rh-aFGF 经皮肤吸收后,以分布在皮肤(包括远处皮肤)含量最高,也从另一方面证明了 rh-aFGF 可有效地促进皮肤损伤愈合,可能和 rh-aFGF 对皮肤有较大的亲和力有关^[9]。

创面环境对于 aFGF 的稳定性及维持高活性具有极其重要的意义,如用药局部感染、细菌毒素和创面酸性环境均可影响 aFGF 的作用。临床上烧伤、创伤、慢性溃疡等情况下,由于局部组织炎症反应使创面这一微环境呈酸性, aFGF 的等电点是 5.0~6.0,因此在此酸性环境中 aFGF 的稳定性好,更有利于发挥其温和而持久的生物学活性。

参考文献

- [1] 李校堃(Li X K),付小兵(Fu X B),洪岸(Hong A)等. 基因重组 bFGF 的药效学研究[J]. 华西药学杂志(*West China J Pharm Sci*), 1999, 14(5-6): 332-334.
- [2] Fu X, Shen Z, Cheng Y, et al. Randomised placebo-controlled trial of use of topical recombinant bovine basic fibroblast growth factor for second-degree burns[J]. *The Lancet*, 1998, 352(12): 1661-1664.
- [3] Pandit A, Ashar R, Feldman D, et al. Investigation of acidic fibroblast growth factor delivered through a collagen scaffold for the treatment of full-thickness skin defects in a rabbit model[J]. *Plast Reconstr Surg*, 1998, 101(3): 766-775.
- [4] Mellin TN, Mennie RJ, Cashen DE, et al. Acidic fibroblast growth factor accelerates dermal wound healing[J]. *Growth Factors*, 1992, 7(1): 1-14.
- [5] Mellin TN, Cashen DE, Ronan JJ, et al. Acidic fibroblast growth factor accelerates dermal wound healing in diabetic mice[J]. *J Invest Dermatol*, 1995, 104(5): 850-855.
- [6] 付小兵(Fu X B),沈祖尧(Shen Z R),陈玉林(Cheng Y L)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(*Chin J Repair Reconstr Surg*), 1998, 12(4): 209-211.
- [7] Bjornsson TD, Dryjski M, Tluczek J, et al. Acidic fibroblast growth factor promotes vascular repair[J]. *Proc Natl*

Acad Sci USA, 1991, **88**(19): 8651-8655.

- [8] Pandit AS, Feldman DS, Caulfield J *et al*. Stimulation of angiogenesis by FGF-1 delivered through a modified fibrin scaffold[J]. *Growth Factors*, 1998, **15**(2): 113-123.

- [9] 李校 (Li X K), 许华 (Xu H), 赵文 (Zhao W) 等. 重组人酸性成纤维细胞生长因子皮肤用药的药代动力学. *药理学报 (Acta Pharm Sin)*, 2002, **37**(6): 424-427.

Study of Recombinant Human Acidic Fibroblast Growth Factor on Improving Wound Healing in Rabbits

LI Xiao-Kun, XU Hua, FU Xiao-Bing, ZHENG Qing, HUANG Ya-Dong, ZHAO Wen, WU Xiao-Ping

Biopharmaceutical Research and Development Center of Jinan University, Guangzhou 510632, China

ABSTRACT **AIM** To study the effects of recombinant human acidic fibroblast growth factor (rh-aFGF) on improving wound healing of rabbit skin. **METHODS** Taking knife-wound as model, each rabbit had 6 round-shaped wound (18 mm in diameter), rh-aFGF (180 U/cm², 60 U/cm², 20 U/cm²) was dressed on the surface of wound at intervals of two days. The area and depth of cut were measured at different time, and the histology was observed on the 8th and 16th day. **RESULTS** The wound area decreased obviously in treatment groups (60 U/cm², 20 U/cm²) on the 4th, 8th and 12th day. The wound depth was shallower in treatment group (60 U/cm²) on the 4th, 8th and 12th day than that in control group. The histomorphometric results indicated that fibroblastic cells had flourish growth, the quantity of capillary vessel embryo and fibroblastic cells in treatment group were manifold than that in control group on the 8th day after injury. **CONCLUSION** The knife-wound healing on rabbits back was improved significantly by daubing rh-aFGF.

KEY WORDS Recombinant human acidic fibroblast growth factor; Wound healing; Rabbits

· 新动向 ·

国家中药新药开发计划启动

国家中医药管理局 2002年 6月下旬启动中药新药开发专项课题计划,包括免疫抑制剂研究、抗肺纤维化新药研究、抗肿瘤新药注射液研究等七十个项目,并专门成立“新药开发专项领导小组”统筹项目的成本,提高效率。为使科研成果和应用紧密结合,这次新药开发专项有别于以往开发项目的立项方式,中医药管理局投入五百万的开发经费,委托中国中医药科技开发交流中心进行招标及管理,开发项目由市场主导,更切合市场的需要。

据透露,这次新药专项项目要求具备明确的技术创新和潜在经济效益,其中包括具备知识产权的中药一、二类新药,有疗效确切的名老中医验方,重点医院的制剂,名优中成药的二次开发等。其中一类新药占百分之八,二类新药占百分之三十,三类新药占百分之五十五,以治疗心血管病、肿瘤及呼吸系统用药的研究项目最多。

(中创网)