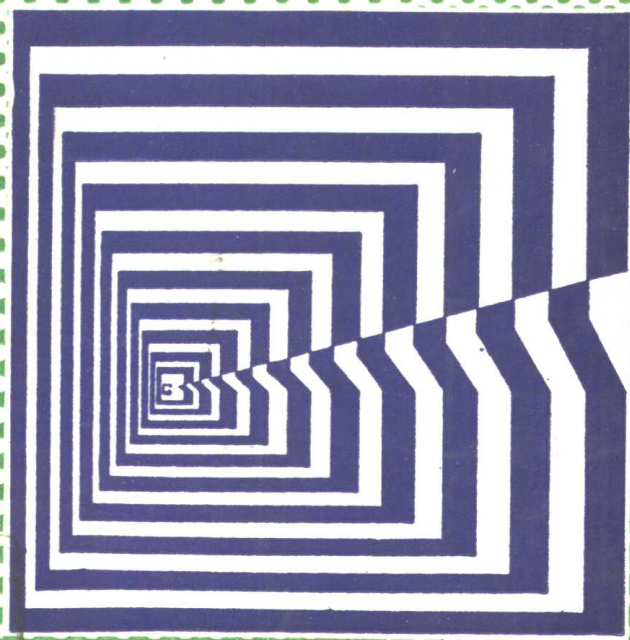


傅小兵 编著 盛志勇 田惠民 审阅

生长因子与创伤修复



人民军医出版社

85731

生长因子与创伤修复

SHENGZHANG YINZI YU
CHUANGSHANG XIUFU

傅小兵 编著

盛志勇 田惠民 审阅

1991·北京

内 容 提 要

本书是作者根据近十几年来国内外在生长因子生物学、生化学和创伤医学研究的最新资料,并结合部分作者的工作编著而成。全书共分四章,比较系统地介绍了生长因子研究发展史、生长因子分类、几种国内外研究较成熟的生长因子分子结构和受体表达,重点介绍了创伤修复中生长因子的体内、外实验研究和临床应用,反映了国内外有关生长因子在创伤修复中应用的研究最新进展。本书适合于从事分子生物学、生化学、生理学和创伤医学的基础研究人员以及临床医生阅读,对于医科和畜牧院校的研究生、大学生也是一本较好的课外读物。

2472/10
责任编辑 冯江东

生长因子与创伤修复

傅小兵 编著

人民军医出版社出版

(北京复兴路22号甲3号)

(邮政编码:100842)

一二〇一印刷厂印刷

新华书店总店科技发行所发行

开本: 787×1092mm 1/32·印张: 6.875·字数: 140千字

1991年12月第1版 1991年12月(北京)第1次印刷

印数: 1~1500 定价: 3.95元

ISBN 7-80020-281-X/R·237

[科技新书目: 255—201②]



序 言

生长因子的研究已有40余年的历史,但探索它与创伤修复的关系,则是80年代以后在创伤修复领域中开展的一项新课题。它代表着创伤修复领域的一个新进展,并赋予了创伤修复这一古老课题新的内容。对其深入了解和研究,不仅有利于创伤的处理,而且在揭示创伤修复奥秘的同时,将对其内涵提出新的认识。

有关生长因子与创伤修复关系的研究,国外开展较多,国内则起步较迟,目前尚缺乏系统介绍此问题的专著。本书作者在参阅了大量国内外资料的基础上,结合自己的部分研究工作编写了此书。除较系统地介绍生长因子研究发展历史和部分生长因子的生物学知识外,还着重介绍了几种国内外研究较多的生长因子对创伤修复的促抑作用以及毒副反应等,并对有争议的问题提出了自己的见解。这是当前一本较系统、全面介绍生长因子与创伤修复研究工作的著作。本书行文流畅,并辅以图表说明,深入浅出,层次清楚,重点突出。相信它的出版,无论对从事基础或临床研究的人员,或对生物学、生理学、生化学、医疗、教学和(或)科研人员,都是一本很好的参考书。

黎 鳌

1991年6月

前 言

尽管早在本世纪60年代初Cohen和Levi-Montalcini等人就已经纯化了NGF,同时又证明了它与促进神经生长的密切关系,但真正系统地研究各种生长因子在创伤修复中的地位和作用则始于80年代初。短短的10余年,已有大量的实验与临床资料证实了生长因子与组织修复的密切关系。这种密切的关系表现在传统的组织修复三大步骤中,其基本的过程是由各种生长因子参与与调控的。多种生长因子不仅参与了炎症反应阶段炎细胞的趋化作用,同时也参与了组织增生阶段细胞、纤维的增殖以及基质的形成,并对后期的组织改建有重要影响。这些成果,不仅深化了创伤修复的研究内容,而且从DNA重组、基因调控以及受体表达等分子生物学领域为创伤修复研究开辟了广阔的前景。为此,Waterfield把它称之为“现代医学研究中最激动人心的收获之一”。1986年度的诺贝尔生理学 and 医学奖授予因研究生长因子而闻名的发生生物学家Levi-Montalcini和生物化学家Cohen,就是对人们在这一领域所获成果的巨大肯定。

目前,国内外对生长因子与创伤修复关系的研究十分重视。除大力投资外,更重要的是许多生物学家、生物化学家和医学家的有力协同,进行跨学科攻关,因而成果倍出。以近10余年来世界重要杂志发表的100余篇涉及生长因子与创伤修复的文章为例,其基础研究包括生长因子的来源、基因调控与受体表达等分子生物学内容,动物实验与临床应用中还

涉及应用生长因子的方法学、剂量效应关系、毒副反应的发生以及今后因子的商品化等问题。这些成果均是我们正确了解生长因子与创伤修复关系并合理应用它的宝贵财富。

本书是在参阅了大量国内外的有关文献，特别是吴克复先生编著的《细胞生长调节因子》和英国医学学报(British Medical Bulletin)生长因子专辑的基础上，结合作者的部分工作编写而成，重点是探讨生长因子在促进创伤修复中的地位和作用。

中华医学会创伤学会主任委员、著名烧伤、创伤外科专家黎鳌教授在百忙之中为本书写了序言，盛志勇教授、田惠民研究员对书稿进行了审阅。在本书编写过程中，徐世豪研究员、王德文研究员对许多章节提出了宝贵的修改意见，作者所在单位三〇四医院的领导和机关对本书的出版给予了大力的支持和鼓励，人民军医出版社编辑也为本书的出版付出了辛勤的劳动。由于有以上专家教授和单位领导的帮助，使本书得以顺利出版，在此作者一并表示谢意。

由于作者才疏学浅，错误之处难免，恳请读者批评指正。

作者

一九九一年五月于北京

三〇四医院

目 录

前 言

第一章 生长因子概述	(1)
第一节 生长因子研究简史	(2)
第二节 生长因子的分类	(4)
第三节 生长因子受体	(9)
第四节 生长因子的作用机制	(12)
第五节 生长因子与创伤修复	(15)
一、生长因子参与创伤修复的几种类型	(16)
二、生长因子参与创伤修复的作用方式	(21)
三、生长因子与创伤修复的剂量效应关系	(23)
第六节 用以研究生长因子与创伤修复关系 的动物模型	(25)
第二章 创伤愈合的基本病理生理过程以及用以 判定生长因子促进创伤修复的指标	(30)
第一节 创伤愈合的基本病理生理过程	(30)
一、创伤后局部组织炎症反应及炎症介质	(30)
二、组织修复细胞的增殖及变化过程	(32)
三、创伤愈合中几种重要细胞和介质成分 的作用	(34)
第二节 用以评价生长因子参与创伤修复的 指标和方法	(37)
一、物理学指标	(37)
二、分子生物学指标	(40)
三、病理学指标	(43)

第三章 几种主要生长因子与创伤修复	(46)
第一节 表皮生长因子(EGF)	(46)
一、EGF概述	(46)
二、EGF的分子结构与一般理化特性	(47)
三、EGF合成与释放的调节	(49)
四、EGF受体	(52)
五、EGF与受体的作用机制	(54)
六、EGF的生物学效应	(57)
七、EGF与肿瘤	(58)
八、EGF在创伤修复中的作用	(59)
(一)动物实验材料及证据	(59)
(二)体外培养试验结果	(62)
(三)临床应用评价及前景	(65)
第二节 转化生长因子(TGF)	(68)
一、TGF概述	(68)
二、TGF _α	(68)
(一)TGF _α 及前体的一般理化性质	(68)
(二)TGF _α 受体	(70)
(三)TGF _α 的作用方式与机制	(71)
(四)TGF _α 的生物学效应	(72)
三、TGF _β	(74)
(一)TGF _β 概述	(74)
(二)TGF _β 受体	(75)
(三)TGF _β 介导的生物学效应	(76)
四、TGF _β 在组织修复中的作用	(76)
(一)体外研究	(76)
(二)活体观察	(79)
(三)TGF _β 促进组织修复的机理	(83)
(四)影响TGF _β 作用的因素	(84)

五、TGF α 与创伤修复	(85)
第三节 成纤维细胞生长因子(FGF)	(86)
一、FGF概述	(86)
二、FGF合成与分泌的调节	(88)
三、FGF的生物学效应	(89)
四、FGF对创伤修复的作用	(91)
(一)bFGF与创伤修复	(91)
(二)aFGF与创伤修复	(98)
五、FGF的其他病理生理学作用	(100)
第四节 血小板来源的生长因子(PDGF)	(101)
一、PDGF概述	(101)
二、PDGF的一般理化性质	(101)
三、PDGF在体内的代谢	(102)
四、PDGF受体	(106)
五、PDGF的生物学活性及作用机制	(108)
六、PDGF与创伤修复	(111)
(一)炎症反应期与细胞增殖期PDGF的 作用	(114)
(二)PDGF与正常生理状态下的伤口愈合	(116)
(三)PDGF与病理状态下的伤口愈合	(121)
第五节 胰岛素样生长因子(IGF)	(126)
一、IGF概述	(126)
二、IGF在体内的分泌与代谢	(128)
三、IGF受体	(129)
四、IGF受体在生物效应中的介导作用	(130)
五、IGF与创伤修复	(131)
第六节 肿瘤坏死因子(TNF)	(133)
一、TNF概述	(133)
二、TNF的生物学特性	(134)

三、TNF受体	(135)
四、TNF的生物学作用	(136)
五、TNF在创伤修复中的作用	(140)
第七节 白细胞介素(IL)	(149)
一、IL类物质概述	(149)
(一)IL-1	(149)
(二)IL-2	(155)
二、IL-2与创伤修复	(157)
三、IL-1与创伤修复	(160)
第八节 神经生长因子(NGF)	(161)
一、NGF概述	(161)
二、NGF的一般理化特性	(161)
三、NGF在体内的分布	(162)
四、NGF受体	(164)
(一)膜结合部位	(164)
(二)核受体	(164)
(三)突触的NGF受体与逆转录	(165)
五、NGF的生物学活性	(165)
六、NGF的作用机制	(166)
七、NGF与创伤修复	(166)
(一)NGF与上皮再生	(167)
(二)NGF与中枢和外周神经损伤修复	(170)
第四章 对生长因子在创伤修复中作用的评价及 展望	(175)
第一节 生长因子的参与是调控组织修复的 微观机制之一	(176)
第二节 生长因子的促进生长与抑制生长作用 是并存的	(178)
第三节 生长因子参与了体内部分疾病的发生	

	与发展过程	(180)
第四节	生长因子与组织转化(恶变)有直接联系, 二者并无明显界限	(183)
第五节	生长因子与创伤修复作用具有剂量与 效应依赖关系	(185)
第六节	生长因子的应用方法与创伤修复作用 密切相关	(187)
第七节	生长因子与其他促组织修复因素之间 互为因果关系	(188)
第八节	控制生长因子所致并发症的措施与 方法	(191)
第九节	展望	(194)
参考文献		(196)

第一章 生长因子概述

生长因子(growth factor),又称生长激素,是一种对细胞生长以及分化具有显著调节作用的多肽,是近30余年来分子生物学和医学研究的一个重要领域。随着各种蛋白质提取、纯化和DNA重组等技术的提高和应用,人们已对部分生长因子的提纯、化学结构及生物学效应等研究日趋深入,并有助于人类对胚胎的发育、组织与器官发生等基本生物学问题的认识,同时对临床肿瘤、血管疾病的诊断、治疗以及对创伤修复技术的提高都将产生巨大的影响。为此,英国著名的病理学家、路德维格癌症研究所(Ludwing Institute for Cancer Research)主任Waterfield称之为“现代医学研究中最激动人心的收获之一”。1986年度的诺贝尔医学和生理科学奖就授予了因研究神经生长因子与表皮生长因子而卓有成效的发生生物学家Levi-Montalcini和生物化学家S.Cohen。从这一点可以看出生长因子的研究在现代生物学和现代医学中所占的重要地位,同时也展示了人们在这一领域的研究已达到了相当的水平。

现代对细胞生长因子的研究已远远超出了十多年前(1976年)Gospodarowicz对生长因子所下的定义。细胞生长因子是指在体内和体外对动物的细胞生长发育具有促进作用的物质,它不是营养成分,它同时也包括对细胞生长具有抑制作用的因子,即负性细胞生长因子(negative growth factor)。因此在现代的生长因子研究中,在激素、细胞间基质、载体

蛋白以及典型的生长因子之间已经没有清晰的界限了。本书将就近10年来国内外在生长因子生物学和创伤医学，特别是创伤愈合领域的研究成果进行概述，并结合我们自己的工作，就生长因子与创伤愈合的关系、一些有争议性的问题以及生长因子今后的应用前景等进行讨论。

第一节 生长因子研究简史

生长因子的研究历史最早要追溯到Elmer Bueker, R Levi-Montalcini, Cohen S, Metcalf D等开拓神经生长因子和上皮生长因子研究的时代。

早在第二次世界大战期间，意大利人Levi-Montalcini就对神经细胞的生长及其维持进行了研究，由于战争的缘故而停止了这项工作。战争结束后，她在都灵大学谋取了一个职位，继续她的研究。以后，受美国圣路易城华盛顿大学的Viktor Hamburger教授的邀请，在圣路易工作。1948年，Hamburger教授的学生Bueker在一项研究中，将S₁₈₀瘤块移植到鼠胚中时发现有大量的感觉和交感神经纤维长入。当时他既不能解释这一现象，也没有分离出有关因子。1952年，Levi-Montalcini和Hamburger在将S₁₈₀和S₃₇瘤块与7~9日龄的鸡胚感觉神经或交感神经节一起在半固定培养基培养时，同样也观察到了与Bueker报告的类似现象。虽然他们当时尚不能解释这一现象，却已敏感地感到一个新的发现即将来临。但在这个时候，Hamburger教授退出了这项工作，Levi-Montalcini开始了与华盛顿大学另一位颇有才华和训练有素的青年科学家Cohen的合作。

1954年，Levi-Montalcini与Cohen合作，在用蛇毒的磷酸

二脂酶灭活肉瘤中的核酸时，结果又意外地发现了蛇毒中也含有大量的促神经生长激素物质，以后又在小鼠颌下腺发现了类似物质。1960年，Cohen首先从鼠颌下腺中纯化了这种促神经生长的物质，即神经生长因子(nerve growth factor, NGF)。同年，Levi-Montalcini将已纯化的NGF用于动物实验，观察到了NGF对交感神经的过度生长反应。以后人们又陆续发现，不仅在颌下腺和蛇毒中有NGF，在虹膜、心脏、脾脏以及脑神经节等部位也存在NGF。

1962年Cohen等在研究神经生长因子的同时，将纯化后的NGF注入新生的小鼠，又意外地发现不能用NGF的作用来解释的某些生物学现象，如眼睑早开、牙齿早萌等。经过深入的研究发现，上述所谓提纯的NGF中，实际上还含有另一种生长因子，即上皮生长因子(Epidermal growth factor, EGF)，并于10年后搞清了EGF的一级结构。

神经生长因子与上皮生长因子研究的成功，开拓了分子生物学研究的一个新领域，极大地鼓舞了人们对生长因子的研究兴趣。随之而来的便是各种生长因子的发现：1974年Gospodarowicz发现成纤维细胞生长因子(FGF)，1971年Balk发现了血小板生长因子(PDGF)，1978年Gospodarowicz又发现了内皮细胞生长因子等。到目前为止，已发现的各种生长因子类物质有40~50种之多，并且陆续有新的因子报道。有些生长因子的分子结构与生物学活性已基本清楚，有的生长因子已经商品化，并在医学临床中得以应用。诺贝尔评奖委员会在授予Cohen和Levi-Montalcini 1986年度的医学与生理学奖时曾经写道：“这项研究，为基础科学研究开辟了一个具有广泛重要性的新领域。由于这项研究，人们对许多疾病都将产生新的认识，包括发育异常、老年性痴呆中的退行性改变、伤

口愈合延缓以及肿瘤等。”

第二节 生长因子的分类

由于生长因子种类繁多，来源复杂，结构各异，因此单靠一种分类方法尚不足以表达生长因子的本质与作用机制。如果采用几种分类方法，则又显得过于分散和繁杂。目前的分类方法有以下几类。

1. 生长因子根据其生物学效应，可分为细胞生长促进因子和细胞生长抑制因子(表1-1、1-2)。有时同一种生长因子对不同的组织细胞或同一种组织细胞的不同生长阶段又有不同的作用。如 TGF_{β} 对细胞的增殖既有促进作用，也有抑制效应。

2. 根据其理化特性，可分为四类。(1)以表皮生长因子为代表的单链多肽；(2)以血小板衍生生长因子(PDGF)为代表的含糖链的多肽二聚体蛋白质；(3)以胰岛素(Ins)为代表的多肽二聚体蛋白；(4)以克隆刺激因子(CSF)和白细胞介素(IL)为代表的糖蛋白。前三类和第四类中M-CSF及IL-3的受体均具有酪氨酸激酶活性，由此可见这些因子与细胞的激活和调控密切相关。

3. 根据其作用的细胞类型，可分为单价因子(一种因子只作用于一类细胞)和多价因子(一种因子可以作用于不同类型的细胞)。

4. 按其作用还可分为增殖因子(IL-2、IL-3、GM-CSF以及BCGF)、分化因子(IL-2、IL-3、BCGF和IFN- γ)以及效应因子(TNF、LT等)。

表1-1 细胞生长因子的种类

名 称	来 源	靶 细 胞	分 子 量
1. B细胞生长因子 (BCGF)	人末梢血淋巴细 胞	B 细胞	16 000~30 000
2. 骨髓衍化生长因子 (BDGF)	小鼠头顶骨	软骨细胞	20 000~30 000 (I) 6000~13000(II)
3. 脑成纤维细胞生长 因子	牛 脑	成纤维细胞	12 000~13 000
4. 软骨衍化生长因子 (CDGF)	小牛软骨	软骨细胞	16 000~18 000
5. 软骨衍化因子 (CDF)	胎牛软骨	软骨细胞	12 000~13 000
6. 细胞分裂因子 (CDF)	大鼠肉瘤细胞	BALB/c3T3 细胞	5 000
7. 克隆刺激因子 (CSF)	人的组织、血液、 尿	骨髓细胞 培养的成纤维细 胞等	10 000~80 000
8. 结缔组织活性肽- Ⅲ (CTAP-Ⅲ)	人血小板	结缔组织细胞	9278
9. DNA合成因子	大鼠肉瘤细胞	BALB/c3T3细 胞	12 000
10. 内皮细胞衍化生 长因子(EDGF)	血管内皮细胞	成纤维细胞、 平滑肌细胞	14 000~24 000
11. 内皮细胞生长因 子 (ECGF)	牛视丘下部	血管内皮细胞	17 000~25 000 70 000
12. 上皮生长因子 (EGF)	大鼠软骨肉瘤细 胞、小鼠颌下腺	毛细血管内皮细 胞、上皮细胞、中 胚层衍化来的细胞	18 000 6 045
13. 眼衍化生长因子 (EDGF)	牛视网膜	内皮细胞、肌母 细胞、软骨细胞、表 皮细胞、红系幼稚	15 000~20 000

续表

名	称	来	源	靶 细 胞	分 子 量
细胞					
14. 红系生成素 (EPO)	人 尿		红系幼稚细胞	39 000	
15. 成纤维细胞衍化 生长因子(FDGF)	SV-40转换 BHK细胞株		Swiss 3T3细胞	34 000	
16. 成纤维细胞生长 因子(FGF)	牛的垂体		中胚层衍生来的 细胞	13 000	
17. 酸性成纤维细胞 生长因子	牛 脑		BALB/c 3T3 细胞	12 000	
18. 白细胞介素-1 (IL-1)	巨噬细胞		T细胞	12 000~15 000	
19. 白细胞介素-2 (IL-2)	人淋巴细胞		T、B细胞等	12 000~30 000	
20. 白细胞介素-3 (IL-3)	Con A刺激淋巴 细胞		幼稚淋巴细胞 肥大细胞、骨髓 WEHI-3细胞	28 000	
21. 白细胞介素-4 (IL-4)	T细胞		B细胞	20 000	
22. 白细胞介素-5 (IL-5)	T细胞		小鼠B细胞	12 000	
23. 白细胞介素-6 (IL-6)			B 细胞	21 000	
24. 干扰素- α (INF- α)	白细胞、淋巴细 胞、巨噬细胞		病毒肿瘤细胞	18 000~24 000	
25. 干扰素- β (INF- β)	成纤维细胞		病毒、肿瘤细胞	22 000	
26. 干扰素- γ (INF- γ)	T细胞、NK细 胞		T细胞、巨噬细 胞、肿瘤细胞	15 000、20 000 25 000	
27. 白细胞调节素 (LRG)	淋巴细胞		肿瘤细胞	32 000	
28. 淋巴毒素	T细胞		肿瘤细胞	10 000—20 000	