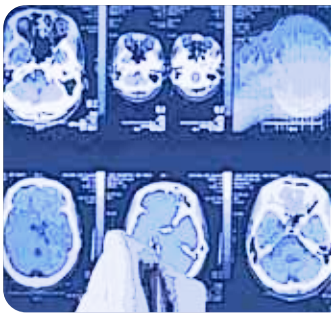


醫學新知

重組人類生長因子在傷口癒合上的運用

郭緒東[1,2]　張天長[3]

前言

創傷傷口泛指涉及皮膚完整性的破壞或結構功能性上的瓦解，常見傷口包括外傷、切割傷、燒傷、潰瘍等。傷口癒合取決於體內平衡的整體表現，是複雜、動態的，更是諸多細胞基質酶與蛋白酶的生成、細胞激素與趨化物質的增減，與不同生長因子的功能調節所呈現的臨床生理表現。就細胞生理而言，由於內皮可稱為人體內最大的內分泌器官，對外傷的壓力反應促使一系列的化學激素(chemokines)產生，可能影響血管滲透性、白血球的黏附因子(adhesion moleculars)與其趨化性，造成調節性的血管滲出發炎現象；這些都會造成創傷傷口的累加傷害(cumulative injury)，而影響傷口癒合。

不論在醫院、一般診所，亦或美容門診，傷口醫療照護問題是常見的。生長因子是影響細胞生理的重要角色，也是調節傷口癒合的關鍵因子。藉由重組DNA的技術，將相關基因序列，融合成載體序列以載入質體中，轉換置入特定種的目標物中量產純化，開闢了重組人類生長因子的發展契機。現今研究中，以調理並協助肌膚重建為主，重組人類生長因子的發展方向上，包括重組人類表皮(recombinant human epidermal growth factor, rhEGF)、重組人類血小板生長因子(recombinant human platelet-derived growth factor, rhPDGF)、重組人類變形生長因子β3 (recombinant human transforming growth factor-β3, rhTGF-β3)等，從文獻回顧了解其介入肌膚傷口的安全性與適用性之後，對基層醫療的傷口處置有提升的成效。

1 林新醫院家庭醫學部
2 國立中興大學生物醫學工程研究所
3 張天長診所
關鍵詞：recombinant human epidermal growth factor, recombinant human platelet-derived growth factor, recombinant human transforming growth factor-β3, wound healing

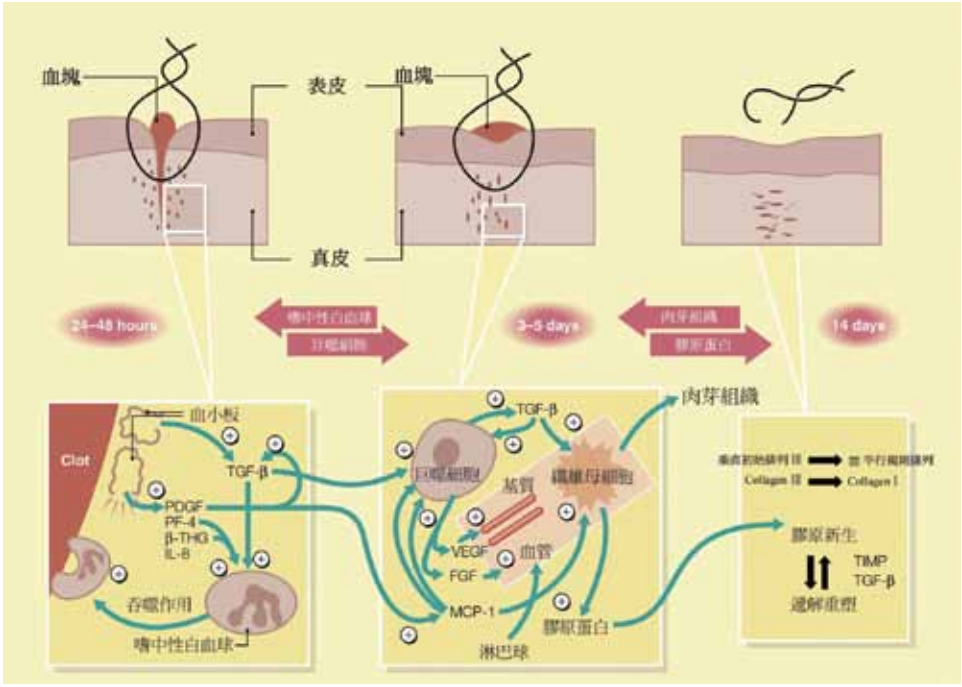
傷口癒合的病理與生理

影響傷口癒合因素眾多，腫脹發炎消退反應與繼發之組織傷害，都與皮膚結締組織之中的系列生理反應與相關作用有關。就局部的創傷研究，指出傷口周邊氧壓(pO2)若<30mmHg即易造成癒合不全，若<10mmHg則會抑制癒合。傷口癒合過程可分為五期，包括凝血期、發炎期、增生期、重塑期(remodelling)與傷疤成熟期。若在第二、三期產生變異或細胞激素作用不全，便容易形成慢性傷口；若在第

三期之後產生細胞介質或細胞激素的不平衡，便會造成增生傷痕與瘢瘤化。從凝血期開始，以癒合過程的生理作用來看(如圖一)，由血小板產生一系列的細胞激素，刺激白血球與血管內皮細胞的邊緣化(margination)和移行(migration)，也吸引巨噬細胞滲入傷口，除了進行清創作用外，其本身也釋放影響因子，如interleukin-6、血小板生長因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、變形生長因子β(transforming growth factor-β, TGF-β)以及表皮生長因子(epidermal growth factor, EGF)，吸引纖維母細胞及內皮細胞在傷口處聚集，形成顆粒狀組織，同時進行上皮化與血管新生作用。接著進入增生期，此時PDGF和TGF-β，會產生彌合修復的肉芽組織伴隨膠原組織增加以進行纖維組織化，而肌纖維母細胞主導附屬傷口張力強度(tensile strength)和收縮力。正常的癒合決定因素在於透過纖維母細胞與細胞外基質的增減，來主導後續肉芽組織、上皮化、與形成新生膠原與蛋白醣等多種癒合反應。

傷疤重塑期中，藉由以遞解(degradation)基質為主的基質金屬蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)與增生瘢瘤為主的基質金屬蛋白酶組織抑制蛋白(tissue inhibitors of matrix

圖一 癒合的生理過程與細胞激素作用*



資料來源：參考資料3

*FGF: Fibroblast growth factors, IL-8: interleukin-8, MCP-1: monocyte chemotactic protein-1, PDGF: platelet-derived growth factor, PF-4: platelet factor-4, TGF-β: transforming growth factor-β, VEGF: Vascular endothelial growth factor, β-THG: β-thromboglobulin.

metalloproteinases, TIMPs)兩者活性調控，以期重新將傷口重組以動態癒合方式完成。生理方面，造成遞解效應的MMPs與刺激增生的TIMPs必須適切地平衡，其中TGF-β會減少MMPs活性與增加TIMPs活性，同時減低吞噬反應和血流供應增加傷口張力強度。膠原蛋白的代謝是動態的，在遞解與合成(synthesis)之間有固定的比例，這使得膠原蛋白可以進行重塑，也是傷口張力強度發展的關鍵。傷口新生膠原以第I、III、V型膠原為主，其中第I型是最主要的蛋白質，且通常會與第III型一起分佈，另外還有第IV型膠原以形成基底膜(basement membrane)為主，會受MMPs調控而遞解。若MMPs活性減低，則以垂直方式排列為主的第III型膠原便容易過度活化增生，造成傷口瘢瘤化。為了使上皮重塑最佳化，轉變成以平行規則排列為主的第I型膠原，必須正確的調整MMPs與TIMPs的活性。而在慢性或難癒合傷口，由於嗜中性球持續產生異常的MMPs破壞平衡，無法以TIMPs調控，造成膠原蛋白分解而使傷口不易癒合。

因此，找出能調控適當介入遞解與防護平衡的傷口癒合的作用關鍵因子，是現今最受矚目的發展。雖然EGF不如PDGF早在發炎期便扮演重要角色，但EGF在傷口癒合增生期之後的影響層面不可小覷，EGF主要作用是促進上皮細胞的增殖分化，巨觀對傷口、燒傷、肺泡與氣管上皮組織、遠端骨的再吸收等生理作用之外，微觀可增強增殖細胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen)和α平滑肌肌動蛋白(α-smooth muscle actin)的表現活性，調控膠原蛋白合成速率的酵素prolyl 4-hydroxylase，來促進角質細胞及上皮細胞的移行(migration)，增加肌纖維母細胞含量，及加快傷口的癒合。在動物研究也發現，EGF能有效降低肥胖細胞中的組織胺成分與嗜鹼細胞的組織胺分泌，避免內生性組織胺影響癒合、抑制血管新生、異常膠原增生、與造成傷口的累加傷害，進而調理並協助傷口癒合。另外EGF的防護作用，包括對抗紫外線、低溫、藥物、及腫瘤壞死因子，進而減少細胞凋亡，以及誘發銅鋅超氧化歧酶(Cu/Zn superoxide dismutase)以保護減少組織受過氧化物的傷害，尤其是對電燒傷後的傷口。由於研究指出PDGF不如預期理想，而TGF-β研究未臻完備，相較之下，EGF在近年的更新純化研究中，可得到>99%的純化度以及>42%的活化產量，和促進微循環調理並協助傷口癒合的功效，都是開闢截然不同新領域的研究發展方向。

生長因子在傷口癒合的角色

生長因子與細胞激素在調節重塑上佔舉足輕重的地位，從1970年代後期，生長因子的發現引起了傷口癒合研究的興趣，也各自扮演不同的介入角色(如表一)。其實生長因子作用在於改變細胞外生理病理反應，和細胞內基因表現量，也涉及相關蛋白質的表現。此生長調節的機轉，和原致癌基因(proto-oncogene)相關，因此在強調療效之餘，不良反應更是我們必須加以著墨的。許多臨床試驗，藉由

實驗室純化製造的生長因子等，都是針對外生性重組生長因子與慢性難癒合傷口的應用。現今重組人類生長因子的系列研究中，以rhEGF, rhPDGF, rhTGF-β3，有較多且完整的臨床隨機控制研究(randomized controlled studies, RCS)和市場後監督研究(post-marketing surveillance, PMS)。

一、重組人類血小板生長因子(rhPDGF)的相關研究

在1980年代後期，傷口癒合前期被釋放的PDGF，是成功發展重組人類生長因子並投入應用的生長因子之一。PDGF一開始會刺激TGF-β生成，使葡萄糖胺聚醣(glycosaminoglycan)和纖維黏蛋白(fibronectin)沉積在傷口基底部分，進而產生肉芽組織、血管和新生上皮化，但也間接抑制了第I型膠原的表現。PDGF能系統性趨化嗜中性白血球與巨噬細胞，但若系統免疫抑制或血流供應不全處，PDGF的功效便大打折扣。由於PDGF對細胞增

表一 生長因子在傷口癒合的角色

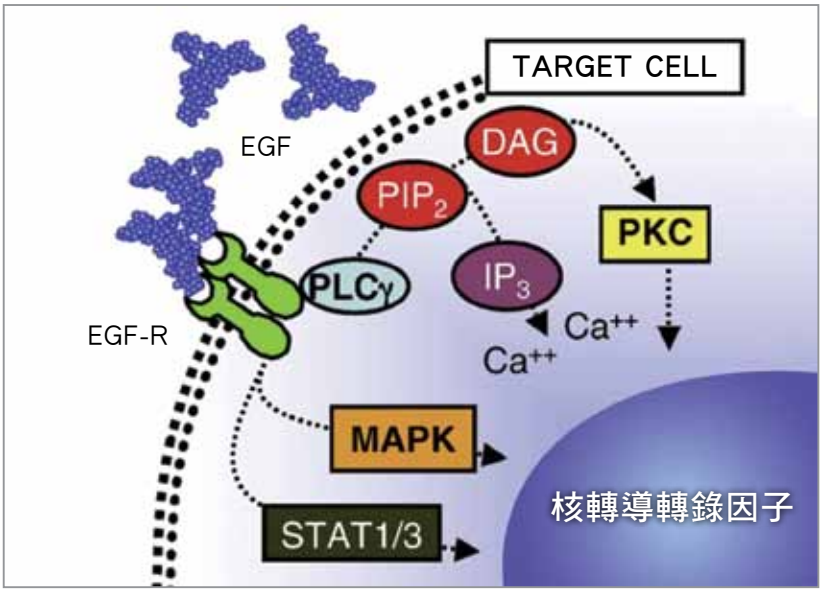
生長因子	主要來源	癒合功能角色
Vascular endothelial growth factor (VEGF)	Platelets, neutrophils	刺激肉芽組織血管新生 刺激周邊間接血管生成
Fibroblast growth factors (FGFs)	Fibroblasts, endothelial cells, smooth muscle cells, macrophages; also brain, pituitary	纖維母細胞及表皮細胞增生 傷口攣縮及加速肉芽生成
Keratinocyte growth factors (KGFs)	Fibroblasts	角質細胞增生
Epidermal growth factor (EGF)	Platelets, macrophages, keratinocytes; also saliva, urine, milk, plasma	刺激分化，增生與吞噬反應 角質細胞增生與重組
Platelet-derived growth factor (PDGF)	Platelets, fibroblasts, macrophages, endothelial cells	刺激平滑肌，血管內皮細胞,纖維母細胞活化 趨化嗜中性白血球與巨噬細胞 刺激TGF-β, MCP-1生成
Granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF)	Monocytes, fibroblasts, lymphocytes	調節表皮細胞增生
Transforming growth factor-α (TGF-α)	Activated macrophages, platelets, epithelial cells	刺激表皮細胞和纖維母細胞活化 血管新生與肉芽生成
Transforming growth factor-β (TGF-β)	Platelets, macrophages, fibroblasts, neutrophils, keratinocytes	趨化巨噬細胞和活化纖維母細胞 產生TIMP而活化膠原重塑
Insulin-like growth factor-1 (IGF-1)	Fibroblasts, plasma, liver	纖維母細胞增生 刺激蛋白醣與膠原新生
Interleukin-8(細胞激素)	Platelets, Macrophages, Endothelial cells	趨化嗜中性白血球和纖維母細胞

資料來源：參考資料1、2、3

生的效能遠大於膠原基質產生，所以單獨PDGF刺激不足以提供足夠的傷口張力強度。研究指出當PDGF不足時，生成的肉芽組織甚至會可逆性回復消失。經研究重組DNA技術純化的rhPDGF，是以同二聚蛋白聚合物rhPDGF-BB為主。後製成含0.01% rhPDGF的軟膏藥劑，曾經由美國食品藥物協會核可，能對傷口復原有實質上的功效。臨床研究包括四階段RCS和PMS研究，共922位大於19歲的病患，傷口性質為至少持續8週以上的皮下或更深層下肢潰瘍，傷口皮下氧壓(pO2)均>30mmHg，比對研究結果發現0.003%的軟膏有比安慰劑高23%的完全癒合發生率，0.01%的軟膏則比0.003%的軟膏高14%的完全癒合發生率，此時安慰劑需耗時20週才能達到相同癒合率，確認0.01% rhPDGF統計上的效用。大體而言，使用rhPDGF軟膏於下肢糖尿病或神經性潰瘍，每日一次持續10週的塗抹治療，合併持續傷口護理，可得到較高的完全癒合發生率。禁忌症方面，包括對苯甲酸酯類(parabens)或內含物過敏，以及本身被診斷過癌症(不分種類)，都必須小心甚至禁用。但是在2008年，美國食品藥物協會在臨床研究中發現，經由局部使用超過3管(單管15gm)總量45gm的0.01% rhPDGF後，易造成本身惡性細胞遠端轉移趨勢，合併增加已存在腫瘤的系統性癌症死亡率，有高達3%的後續系統性癌症診斷，相對危險性為2.7倍，因為美國食品藥物協會在尚未提出適用guideline情況下，除指出癌症病患須小心避免使用之外，亦先予以下架停止販售。

現今較多研究的EGF，開始是由Stanley C和Rita LM在1986年諾貝爾獎中發表。在細胞訊息層次中發現，可幫助組織增生、血管新生和傷口癒合。早在1962年，EGF就已從成鼠的頷下腺被分離出來，主要在增生期影響傷口癒合，對複雜的組織增生、血管新生和傷口癒合有助益。在皮膚老化研究方面，EGF的組織效能關係著老化皮膚中衰退的纖維母細胞，決定了皮膚的年輕程度。由於表皮生長因子受體主要存在於基底層、棘狀層顆粒層的角質細胞和真皮層腺體，EGF相關的生理生化機制與傳遞途徑，主要是藉由活化主導分裂增生的mitogen-activated protein kinase(MAPK) pathway，以及主要移行分化的phospholipase-C γ (PLC γ) pathway，有效率地調控增生細胞並正確地加速上皮重塑(如圖二)。EGF在人體方面的研究，則在1996年，Robson使用外用的EGF治療人體慢性傷口，正面評估EGF對壓瘡、糖尿病足、缺血灌流性差傷口的復原成效。關於對人體的臨床試驗也持續發表，包括rhEGF對新生兒壞死性腸炎有實質療效；EGF對人類眼睛角膜上皮也有刺激增生以及抑制角膜上皮老化分生的機制；對多處水泡傷口的尋常天疱瘡(pemphigus vulgaris)，EGF有增厚肉芽組織和新生上皮化效果，且能有意義地降低癒合時間；近年在對放射治療後或化療後的口腔黏膜炎臨床人體試驗研究裡，使用rhEGF治療可顯著地降低29%的口腔黏膜炎發生率。在新英格蘭醫學雜誌中，也正面肯定EGF在潰瘍性結腸炎(ulcerative colitis)中的短期療效，然而對於長期使用

圖二 EGF接受體轉錄刺激各種訊號*



資料來源：參考資料7

*EGF: Epidermal growth factor. EGF-R: Epidermal growth factor receptor.
IP3: inositol 1,4,5,-triphosphate. DAG: diacylglycerol.
MAPK: mitogen-activated protein kinase. PLC γ : phospholipase-C γ .
PKC: protein kinase C. PIP2: lipid phosphatidylinositol(4,5)bisphosphate.
STAT: signal transducers and activators of transcription.

的致癌化可能，仍持保留態度。糖尿病期刊Diabetes Care也於2003年提出外用人類表皮生長因子軟膏的研究，能有意義地提高癒合差的糖尿病足傷口完全癒合發生率和縮短癒合時間。

經研究以重組技術生產的含rhEGF軟膏，含量為150mcg/g，雖然藥物安全仍在評估當中，臨床上已完成三階段臨床人體試驗研究和PMS研究，對糖尿病足、潰瘍、燒傷與植皮都能在20週達到近100%的癒合率，使用10週之後有69%的完全癒合發生率，比安慰劑高48%。此外對第三階段持續2年的追蹤性研究，記錄使用實驗中與過去病史相關的副作用，rhEGF並無本身癌症轉移趨勢亦無致癌性與致畸胎性的發現，但是仍建議更具實證效力的安全性研究。整體而言，rhEGF軟膏建議使用於糖尿病下肢潰瘍、第一及二度的燒燙傷、植皮的取皮處、針對Wagner's grade I或II的傷口，都是經實證研究的適應症。2008年Hardwicke的研究報告進一步指出，超過400 μg/mL的rhEGF濃度，將會反抑制細胞增生訊號使重塑停止，因此不同使用路徑，應有不同安全濃度建議指標。rhEGF禁忌症則包括使用免疫抑制劑者以及對成分過敏者，如無法確認應使用低劑量貼片測試。

三、重組人類變形生長因子β3(rhTGF-β3)的相關研究

在生理方面，TGF-β進一步分為β1、β2與β3，均能增強傷口張力強度進而協助傷口癒合，也是新生上皮收縮力的來源。其中TGF-β3扮演較特殊的角色，與TGF-β1、β2不同，TGF-β3以刺激成纖維母細胞為主，進而在角質細胞和成纖維母細胞間，促進膠原結構正常化而扮演調節細胞外間質的平衡者。在嬰孩、年輕肌膚中，避免傷疤形成的狀況下，存在較低濃度的TGF-β1、β2與較高濃度的TGF-β3，而在老化肌膚則相反，因此較易形成傷疤。現今以重組技術製造的rhTGF-β3，臨床上完成三階段臨床人體試驗研究，均以線性傷口為主，在使用後的第7個月時，顯示rhTGF-β3在高劑量200與500 ng/100 μL/cm的效果顯著，老年病人傷口癒合與傷疤改善都比較好。整體而言，由於藥物安全仍在評估當中，高劑量rhTGF-β3是否有潛藏副作用，是否適用在非線性傷口，與其調理並協助肌膚重建的功效都需進一步臨床研究證實。

生長因子與致癌基因的關係

如同之前所述，rhPDGF易造成本身惡性遠端轉移趨勢，就是本來藉由胞內肌動蛋白(actin)再機化(reorganization)，原本是活化轉譯因子再生組織的正常機制，卻因為基因增幅而導致部分正常調節致癌因子，和過量致癌蛋白質產生，而活化了原致癌基因。腫瘤細胞與正常細胞相同，都會被血管內皮生長因子等因素來誘導內皮生長與移動，只是腫瘤細胞由於腫瘤轉化，進而造成更多致癌基因的異常。細胞的腫瘤轉化涉及(1)生長因子分泌增加，(2)生長因子接受體表現增加，(3)傳遞蛋白(transport protein)基因突變，(4)轉錄因子(transcription activator)的突變，(5)DNA修復系統的喪失，而造成不正常的細胞調節機轉(如表二)。在適當生長因子

表二 前致癌基因與蛋白和其相關的不正常細胞調節機轉*

前致癌基因	調節對象	基因類型	引發活化機制
erb-B1	EGF receptor	生長因子接受體	基因增幅
erb-B2	EGF-like receptor	生長因子接受體	基因增幅
sis	PDGF-β chain	生長因子	過量表現
hst-1	FGF	生長因子	過量表現
bcl-2	Mitochondrion protein	抑制凋亡	轉位啟動
abl	Tyrosine kinase	訊息傳導	轉位啟動
ras	GTP	訊息傳導	點突變
myc	Transcription	細胞核調節	轉位啟動

資料來源：參考資料4

*EGF: Epidermal growth factor, PDGF: platelet-derived growth factor, FGF: Fibroblast growth factors GTP: guanine triphosphate.

介入後，腫瘤細胞得以能調控MMPs和TIMPs，影響其遞解第IV型膠原和細胞黏附因子的表現，進而侵犯基底膜和細胞外基質，造成初始轉移與微轉移(micro-metastasis)。可見未來rhEGF研究方面，應朝最大傷口復原效果，和最低致癌基因訊號活化影響兩方面為主體，或許可朝向不同的純化程度，或者合併共同化合物減少細胞突變基因表現為研究方向。

結語

不論在門診或病房，燒燙傷或慢性皮膚潰瘍都是很常見的醫療照護問題，本文的議題在於找出在適當傷口護理照護同時，能介入肌膚重建與傷口癒合的相關輔助因子。藉由本文的文獻回顧，在傷口癒合的病理與生理方面，與比較相關生長因子研究方面，EGF在調理並協助傷口癒合的功效應獲得肯定。整體而言，未來在基層醫療院所處理傷口時，基礎傷口護理合併使用rhEGF，在確認無禁忌症亦無本身癌症轉移趨勢下，應是一項截然不同新領域的治療運用方向。

參考資料

1. Robson MC, Mustoe TA, Hunt TK: The future of recombinant growth factors in wound healing. Am J Surg 1998;176:80-2.
2. Inoue M, Ono I, Tateshita T, Kuroyanagi Y, Shioya N: Effect of a collagen matrix containing epidermal growth factor on wound contraction. Wound Rep Reg 1998;6:213-22.
3. Halloran CM, Slavin JP: Pathophysiology of wound healing. Surgery 2002;20:1-3.
4. Stevens A, Lowe J: Pathology. 2nd ed. Yi-Hsien Publishing Co., 2004: 91-4.
5. Anil B, Venkatesh S, Pinaki D, Dhillon MS, Sambit D, Aditya A: Which is the better option? recombinant human PDGF-BB 0.01% gel or standard wound care, in diabetic neuropathic large plantar ulcers off-loaded by a customized contact cast?. Diabetes Res Clin Pract 2009;83:13-6.
6. Repertinger SK, Campagnaro E, Fuhrman J, et al: EGFR enhances early healing after cutaneous incisional wounding. J Invest Dermatol 2004;123:982-9.
7. Hardwicke J, Ferguson EL, Moseley R, Stephens P, Thomas DW, Duncan R: Dextrinr-rhEGF conjugates as bioresponsive nanomedicines for wound repair. J Contr Release 2008;130:275-83.
8. Sinha A, Nightingale J, West KP, et al: Epidermal growth factor enemas with oral mesalamine for mild-to-moderate left-sided ulcerative colitis or proctitis. N Engl J Med 2003;349:350-7.
9. Viswanathan V, Pendsey S, Sekar N, Murthy GSR: A phase III study to evaluate the safety and efficacy of rhEGF (REGEN-D™ 150) in healing diabetic foot ulcers. Wounds 2006;18:186-96.
10. Ferguson MWJ, Duncan J, Bond J, et al: Prophylactic administration of Avotermin for improvement of skin scarring: three double-blind, placebo-controlled, phase I/II studies. The Lancet 2009;373:1264-74.