

出國報告（出國類別：進修）

# 皮膚纖維化裡 間葉幹細胞微環境的角色

服務機關：國立臺灣大學醫學院附設醫院

姓名：官振翔

派赴國家：美國

出國期間：108年7月15日至110年6月30日

報告日期：110年8月29日

## 摘要

疤痕是整形外科在臨床上常面對的問題，許多外傷或燒燙傷的病患，無法正常排汗及調節散熱，因為功能上及外觀上的缺損，影響生活甚鉅。在人類及哺乳類受傷後傷口癒合的過程中，大多以皮膚纖維化修補傷痕，且皮膚附屬物如毛囊及汗腺無法再生。相較之下，兩棲類墨西哥蝾螈有強大的再生能力，並且與哺乳類動物皮膚具有高度結構相似性，因此提供了許多再生醫學的原則與機轉研究。此次兩年進修前往美國加州大學爾灣分校幹細胞中心，在 Plikus 實驗室中與團隊以墨西哥蝾螈 (*Ambystoma mexicanum*) 皮膚傷口癒合為動物模型，研究皮膚再生中纖維母細胞與微環境中互相影響的角色。墨西哥蝾螈在受傷後可且藉由細胞去分化形成“芽基組織“(blastema)“，進一步形成基質先驅細胞來參與各種再生式修復。同時，墨西哥蝾螈的皮膚可以無疤癒合，形成完整的皮膚分層及再生具功能性的皮膚附屬物腺體。我們主要利用活體影像 (live imaging) 與單細胞基因定序 (single cell sequencing)，來釐清表皮－真皮互動對腺體再生時的細胞空間動態與產生之誘導機制。因為兩棲類與哺乳類在訊號機轉上有許多演化保存性與共通性，此進修研究成果將可幫助我們進一步了解皮膚再生背後的細胞及分子機轉，並將所學之活體影像與單細胞基因定序技術進一步應用在哺乳類與人類臨床上之傷口癒合與皮膚再生的研究。

# 目次

摘要.....	1
目的.....	3
過程.....	6
心得與建議.....	8
致謝.....	9

## 目的

臨床上，整型外科面對各式各樣的外傷，燙傷與慢性傷口，而傷口癒合後的疤痕，缺少毛髮及汗腺結構，無法正常排汗及散熱調節，並因為纖維硬化產生關節攣縮，嚴重影響病人外觀及生活機能，為社會帶來莫大的代價與損失。疤痕 (Scar)及纖維化(Fibrosis)，指的是細胞外基質累積膠原蛋白，是生物體在受傷後正常的生理修復機制，但也同時伴隨著組織無法回復至原本的功能型態。在各種上皮組織器官中，疤痕及纖維化是傷害後常見的不可逆反應，尤其在肺臟，肝臟，皮膚與腎臟等，更是棘手的臨床問題。因為正常的細胞組織被膠原蛋白取代，造成架構及功能上的影響，嚴重者甚至器官衰竭。



圖 1. 全層燒傷之後造成之疤痕，引起關節攣縮與皮膚功能缺損，並且缺少皮膚附屬物如汗腺及毛囊，因此無法正常調節溫度與排汗。

在正常的傷口癒合過程中，發炎細胞扮演關鍵角色，許多研究都顯示免疫系統在組織修復與再生極為重要 (Immunobiology. 2014: 216, 753-762)。嗜中性球 neutrophils 首先在組織受傷幾分鐘內抵達，之後是單核球 monocytes 及淋巴球 lymphocytes。他們共同產生一連串的蛋白酶來抵抗入侵的微生物並且吞噬細胞殘骸。除此之外，發炎細胞也是許多細胞激素及生長因子的來源。在傷口癒合的增生階段。角質細胞開始分裂與移行。纖維母細胞開始分化並沈積大量細胞外界質，自傷口邊緣也有新的微小血管及神經突觸新生形成。最後，這些富含細胞外界質的肉芽組織逐漸轉變為成熟疤痕 (Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2010;10(4):320-30)。

肉芽組織內包含各式異質性的間葉細胞族群，面對複雜的傷口微環境，這群間葉細胞被視為含有動態性，可以改變細胞型態。藉由單一細胞的分析，我們可以得知特定細胞的來源，其面對環境刺激後的反應，及對傷口修復的貢獻。肉芽組織中的 fibroblast 受先天免疫細胞所釋放的訊號所調控，在傷口癒合的初始階段，主要來自於下層網狀真皮層 reticular dermis，而之後是上層乳突真皮層 papillary dermis 帶領表皮前進緊接在後 (Nature. 2013;504(7479):277-281)。而疤痕組織複雜錯綜的構造來自於 fibroblast 接受啟動的時間點及本質不同，下層網狀真皮因為無法接受訊號，因此無法再生毛囊及皮脂腺。

過去利用活體內影像(in vivo imaging) 來觀測追蹤皮膚細胞動態變化一向困難，主要由於真皮組織的深度及缺乏特定細胞標誌，但近來因為顯微鏡及細胞分選技術的進步，使得標定不同傷口細胞族群變得可行，甚而組織學上都可活體觀測 chemo-attractant 如 insulin, PDGF 吸引 fibroblast 及 MSC 長入傷口內 (Nature. 2013;504(7479):277-281)。應用活體影像來研究傷口癒合細胞動態也成了近幾年來的研究重點。

此次進修研究主要針對纖維母細胞的再塑性 (fibroblast plasticity)。近年來研究發現在肺部與皮膚中，脂肪細胞及類脂肪細胞可以轉化為分泌膠原蛋白的 myofibroblasts (Cell Stem Cell. 2017;20(4):571, Science. 2017;355(6326):748-752)。在肺組織及皮膚 myofibroblasts 也被證實可以反轉化回 adipocytes 及 adipocyte-like cells (El Agha et al, 2017, Plikus et al, 2016)。研究顯示 transcription factor 21(TCF21) lineage labeled myofibroblasts 可以轉化回 fibroblasts。其中纖維化過程裡如何跳脫原本譜系限制 lineage restricting 的細胞來源及反轉回復展現再塑性，這其中仍有許多尚待研究的地方。

在哺乳類動物的胚胎內，到中期後期一直都存在著無疤癒合，暗示著在胚胎時期及成人體內存在著根本不同的差異(Am J Med Sci. 2013: 306, 42-48. Science. 1997 276, 75-81)。在胚胎體內，胎兒皮膚癒合併隨著毛囊

再生及排列適度有序的膠原蛋白重組，顯示皮膚可以再生並重建正常皮膚構造及功能。從無疤癒合到疤痕癒合的轉變典型發生在人體的第三產程及老鼠的胚胎第十八天(Development. 1992: 114, 253-259)。過去有許多研究在討論胎兒無疤癒合的理論基礎，其中值得注意的是，成人傷口癒合雖然發炎反應是其中必須的，但在胎兒體內卻缺乏了急性發炎。在胎兒體內，細胞外介質及傷口微環境裡外來及原本細胞的微細變化提供了可能的解釋，而在實際治療上可以藉由改變生物體內修復的機制來模擬胚胎癒合，提供了改善成人癒合的巨大潛力。

在其他脊椎動物也保有組織再生或修復的能力。兩棲類 Urodele 像是蠑螈 salamander 在截斷肢斷後保留再生的能力，魚類 Teleost fish 則是留存心肌再生的能力(Biochem Soc Trans. 2014: 42, 625-630)，在哺乳類當中，胚胎的心肌細胞在受傷後會產生不斷增生的反應(Developmental cell. 2015 34, 387-399)。

此次進修，藉由過去我們實驗室與 UC Irvine 幹細胞中心 Plikus 教授合作的良好經驗及互信基礎，我們進一步探索皮膚受傷後傷口癒合背後的細胞動態過程及分子機轉，及纖維母細胞的角色，我們利用蠑螈皮膚無疤癒合當作模型，主要針對：(1)利用活體影像探討傷口癒合過程中的細胞空間動態 (2) 研究纖維母細胞如何誘導表皮腺體分化與再生 (3) 探索纖維母細胞之異質性與再塑性。這些結果可以幫助我們進一步了解皮膚受傷後傷口癒合背後複雜的細胞動態與分子機轉，將基礎研究與臨床研究密切轉譯結合，提供我們發展新的策略來降低病人的疤痕纖維化反應，加速傷口癒合，增加美觀及減少功能損害。

## 過程

加州大學爾灣分校 UC Irvine 幹細胞研究中心

( [https://stemcell.uci.edu/About/sue\\_and\\_bill.php](https://stemcell.uci.edu/About/sue_and_bill.php) ) Maksim Plikus 教授主要研究領域為皮膚毛囊再生(hair follicle regeneration)及無疤癒合(scarless wound healing)。  
Plikus 教授為南加州大學中研院士鍾正明教授發育與再生實驗室之得意門生，其論文過去陸續發表在國外著名期刊，如 Nature, Science, PNAS, Cell 等  
( <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=maksim+plikus&sort=date> )。

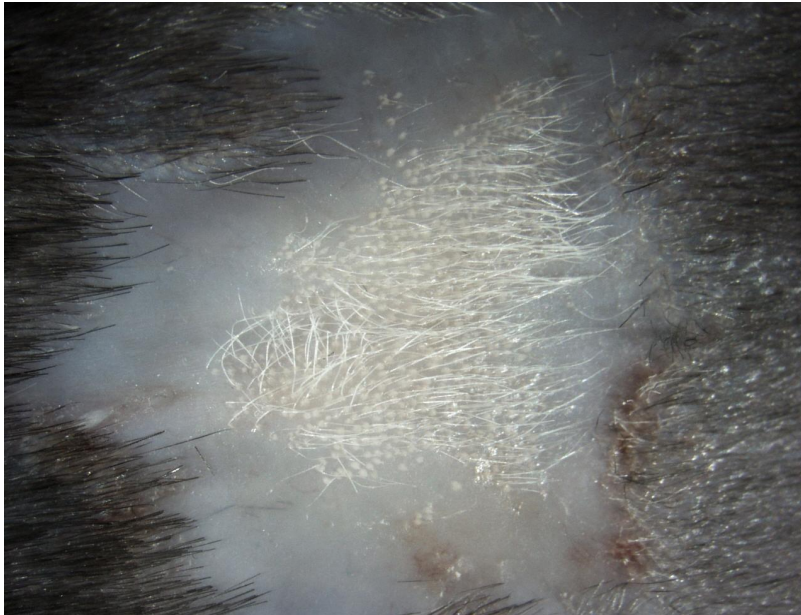


圖二. 加州大學爾灣分校 幹細胞研究中心 Sue and Bill Gross Hall

實驗室主要研究複雜組織及器官結構如何在受傷後再生並回復成正常組織。主軸其一研究幹細胞的調節網絡：許多器官的調節恆定取決於組織特定幹細胞的活性，在過去許多研究專注在了解單一幹細胞如何接收周遭微環境訊號的反應，並決定保持後續休止或活化。然而，目前對於組織內數千以計的幹細胞如何彼此互相協調溝通，團隊近年來主要利用毛髮再生的模型來研究成年幹細胞之間的溝通行為。

主軸其二研究成人細胞在受傷後的可塑性。成人哺乳類的皮膚遠比想像中有更多再生的能力。在一定程度比例的受傷後，大面積的皮膚傷口內可以得到類似胚胎似狀態並且有功能的毛髮。毛髮周圍細胞會再生新的脂肪組織。團隊發現成肌纖維細胞 myofibroblast 可以轉變成新的脂肪細胞。過去認為疤痕形成後細胞是

不可逆無法形成脂肪的。Myofibroblasts 藉由毛髮衍伸的 BMP 訊號傳遞，啟動特定的轉錄因子，藉由譜系重組重新形成脂肪細胞。因此在受傷數月之後，細胞譜系重組再生可以持續存在，也因此疤痕組織跟正常皮膚組織差異會逐漸縮小。進一步可以深入的研究是探討什麼樣的機制導致原本祖系限制的成年細胞在受傷過後得以展現再塑性，應用如此類胚胎的組織再生將有機會在成年纖維化的疤痕組織中反轉達成無疤癒合。



圖三. 實驗室所應用之大面積傷口誘發傷口中央毛囊再生模型  
Model of wound induced hair neogenesis, WIHN. Plikus et al., *Science* 2017



## 心得與建議

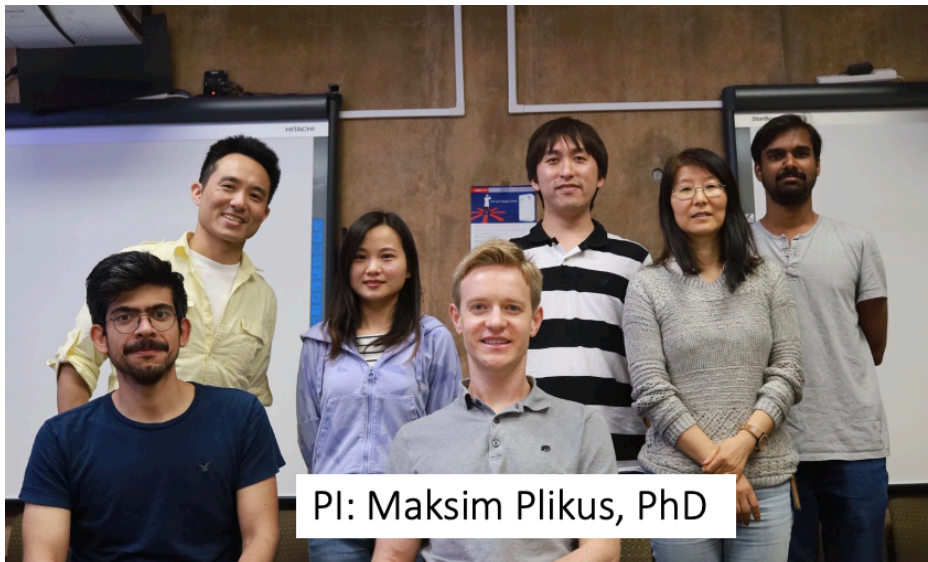
在國外進修期間，每週收穫最多的是週一固定舉行的 **skin club research meeting**，會由約十個實驗室的研究 PI 與研究人員共同參加，並邀請臨床醫師與基因研究人員參與，每週會有各個實驗室推派博士後研究員或博士生報告相關研究進度。因為美國學術討論風氣開放，往往一個小時的議程會相對延長，每個實驗室 PI 及與會者都會針對其研究問題及給予相當實用的建議，並且分享資源，往往每個禮拜開會完都能獲益匪淺，研究知識更加精進。

在本次的進修過程當中，中間雖然因為 COVID-19 疫情一度實驗室限縮研究人員及部分設施關閉，然而因為我的研究當中有包含照顧動物及維持少數基因轉殖品種，屬於必要研究人員，所以仍等以維持部分研究。為了減少感染風險與維，學校有嚴格要求研究人員遵守必要社交距離，因此而能繼續緩慢進行，過程當中許多研究設施如共軛顯微鏡，細胞分選設備，甚至訂購藥品試劑等都會遭到延遲。所幸在第二年 2021 年初，因為我的研究其中一部分會接觸臨床病人，屬於臨床醫療研究人員，很快被安排接種兩劑疫苗，被感染的風險相對降低之後，做研究時的擔心及憂慮也緩解了許多。

在疫情初期，許多國際或大型會議改為線上舉辦，仍有不錯的效果，也因此可以減少許多傳統需要親自前往所需要花費之舟車勞頓與交通時間，也不啻因為疫情逼迫所帶來的進步改變。

## 致謝

特別感謝臺大醫院，醫研部楊偉勛主任，林頌然教授及外科部黃俊升主任，戴浩志前主任及許多師長同事們的鼓勵與支持，讓我在這影響全球甚鉅的疫情期間繼續完成研究進修學業，得以除了臨床醫療工作以外，也可以發展基礎研究的興趣與專業。更感謝我的家人的全力支持，希望未來我可以永保對研究的熱忱，運用這兩年所拓展的視野，習得的知識與技能，努力於研究上，並進一步應用於臨床，造福病人。



UCI Plikus 實驗室成員 <https://plikuslab.bio.uci.edu/members/>

(左起) Raul Ramos, PhD , Chen-Hsiang Kuan, Yingzi Liu, MD, PhD, Maksim, Plikus, PhD, Kosuke Yamaga, MD, PhD, Xiaojie Wang, PhD, Nittish Shettigar, MS



2019.12 Plikus 教授應邀來臺參與皮膚科國際學會並且來臺大演講



左起：李世傑教授，林頌然教授，Plikus 教授，戴浩志教授，官振翔醫師



臺大與加州大學爾灣分校有良好研究合作關係。圖為 2019.11 醫學院倪衍玄院長率團參加 NTU-UCI 學術交流研討會



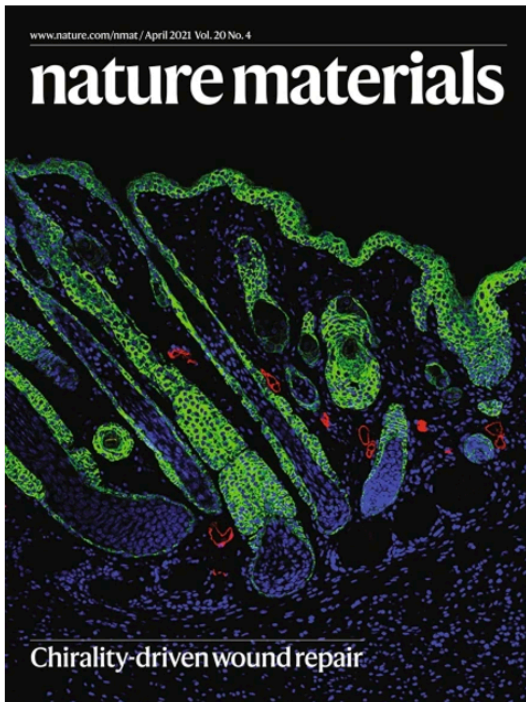
(右圖右起：倪衍玄院長，張智芬教授，李日翔醫師與我)



2019.9 外科部黃俊升主任率團參訪匹茲堡大學途中經過洛杉磯，與學生餐敘 (左起：吳俞鋒醫師，戴浩志教授，黃俊升教授，虞希禹教授與我)



2019.8 心臟外科周迺寬教授(中)來參訪 UC Irvine



進修期間與 UCLA 之合作研究  
Activating an adaptive immune  
response from a hydrogel scaffold  
imparts regenerative wound healing  
刊登在 *Nature Materials* 2021  
*Apr;20(4):560-569*. 並獲選為 Cover  
image

**Activating an adaptive immune response from a hydrogel scaffold imparts regenerative wound healing**

Nov. 9, 2020 — Image taken by UCI researcher Sean Kuan (Chen-Hsian Kuan) has been selected as the cover art for the journal *Nature Materials*



UCI 校園春天時美麗的櫻花風景



於進修之虞參與運動三鐵比賽，  
鍛鍊身體