

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.10.032

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.10.032

## Cyr61/CCN1在创面愈合中的研究进展

蒯仿<sup>1,2</sup>, 许逊哲<sup>1,2</sup>, 茹意<sup>1,2</sup>, 魏冬慧<sup>1,2</sup>, 吴人杰<sup>3</sup>, 王一花<sup>3</sup> 综述 李欣<sup>1,2</sup>, 李斌<sup>1,2</sup> 审校

(1. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院皮肤科, 上海 200437; 2. 上海市中医药研究院皮肤病研究所, 上海 201203; 3. 上海中医药大学研究生院, 上海 201203)

**[摘要]** Cyr61/CCN1(cysteine-rich 61)是近年来国内外生物医学领域研究的热点之一。Cyr61通过 $\alpha v\beta 3/\alpha v\beta 5$ 诱导形成p130<sup>Cas</sup>/CrkII信号复合物,使得FAK磷酸化,进一步激活Rac1信号通路,促进中性粒细胞的胞葬作用,从而降低创面炎症反应,加速愈合。修复期则与整合素 $\alpha 6\beta 1$ 相结合诱导成纤维细胞衰老或激活p16 INK4a/pRb信号通路进一步令抗纤维化因子表达,从而抑制创面纤维化的发生。其在愈合炎症期和修复期都扮演重要角色,潜在治疗价值在于加速创面炎症阶段并抑制修复阶段的纤维化,减少瘢痕组织生成。更深入地了解Cyr61与皮肤创面愈合之间的作用关系对研制安全有效的临床治疗方案与药物具有重要意义。

**[关键词]** Cyr61/CCN1; 创面愈合; 炎症; 组织修复

## Research progress in Cyr61/CCN1 in wound healing

KUAI Le<sup>1,2</sup>, XU Xunzhe<sup>1,2</sup>, RU Yi<sup>1,2</sup>, WEI Donghui<sup>1,2</sup>, WU Renjie<sup>3</sup>, WANG Yihua<sup>3</sup>, LI Xin<sup>1,2</sup>, LI Bin<sup>1,2</sup>

(1. Department of Dermatology, Yueyang Hospital of Integrative Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437; 2. Institute of Dermatology, Shanghai Traditional Chinese Medicine Research Institute, Shanghai 201203; 3. Graduate School, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

**Abstract** Cyr61/CCN1 (cysteine-rich 61) is one of the focuses of biomedical research at home and abroad in recent years. Cyr61 forms p130<sup>Cas</sup>/CrkII signal complexes via  $\alpha v\beta 3/\alpha v\beta 5$ , allowing FAK to phosphorylate and further activates the Rac1 signal pathway to promote the role of neutrophils in the burial effect to reduce the inflammatory response of wound to accelerate healing. During the tissue repair phase, the combination of integrin  $\alpha 6\beta 1$  induces fibroblast senescence or activates p16 INK4a/pRb signaling to further inhibit the expression of fibrosis factor, thereby inhibiting the occurrence of fibrosis. It plays an important role both in inflammation and repair phase. The potential therapeutic value is to accelerate the stage of inflammation and inhibit the fibrosis of the repair stage and reduce the scar tissue. More in-depth understanding of the role of Cyr61 and skin wound healing relationship is useful to the development of safe and effective clinical treatment programs and drugs.

**Keywords** Cyr61/CCN1; wound healing; inflammation; tissue repair

收稿日期 (Date of reception): 2017-08-03

通信作者 (Corresponding author): 李斌, Email: 18930568129@163.com

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金 (81473682); 国家基础科学人才培养基金项目 (J1103607); 上海市卫计委项目 (ZY3-CCCX-3-3033); 上海市科委项目 (14401970200); 上海中医药大学第十批大学生科技创新项目 (JX61.08.97, JX61.08.98)。This work was supported by the National Natural Science Foundation (81373648), National Science and Technology Major Project Foundation (J1103607), the Project of Shanghai Health Bureau (ZY3-CCCX-3-3033), the Project of Shanghai Science and Technology Commission (14401970200) and the 10th College Students Science and Technological Innovation Project of Shanghai University TCM (JX61.08.97, JX61.08.98), China.

皮肤损伤引发包括炎症反应、再上皮化、新组织形成、组织重塑等阶段, 最终导致创面愈合<sup>[1]</sup>。创面愈合的各个阶段都有生长因子的参与和调控, Cyr61(cysteine-rich 61)是结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CCN)家族成员之一, 为分泌型蛋白, 含38个保守的半胱氨酸残基, 形成4个不同的结构域, 分别为胰岛素生长因子结合蛋白结构域、VWC因子结构域、血小板反应I型蛋白结构与和C-末端结构域<sup>[2]</sup>。

研究<sup>[2-5]</sup>已证实Cyr61在胚胎发育、伤口愈合、组织重塑及多种肿瘤(乳腺癌、肝癌、前列腺癌等)的发生、发展过程中发挥重要作用。近年来人们开始注意到Cyr61可能在创面愈合的全过程中起作用<sup>[6]</sup>。研究Cyr61与创面愈合相关因子之间的关系, 不仅有助于进一步解析其在愈合过程中对信号通路的调控机制, 更有可能为各种慢性难愈合创面的治疗寻找到潜在的作用靶点。

## 1 Cyr61 在创面愈合过程中的作用机制

### 1.1 Cyr61 调控创面炎症反应

炎症反应是机体对组织损伤的基本反应。其作用在于杀灭侵入的微生物、清除异物及自身伤亡细胞、坏死组织, 防止感染及损伤的扩大, 以利组织的再生与修复, 同时炎症细胞分泌多种细胞因子诱导修复细胞的迁移。增殖、启动并调控创面修复过程, 炎症介质的激活和释放是组织修复的基础。适度的炎症反应可以发挥防御的功能, 诱导创面的有序恢复, 但在慢性难愈性创面如放射性皮肤溃疡和糖尿病创面均见过度的慢性炎症, 创伤后炎症细胞进入创面时间延迟, 数量增加, 停留时间延长, 创面难以向后两期过渡<sup>[7]</sup>。

Cyr61分子在促进免疫疾病如类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)自身病变滑膜细胞增殖、介导炎症过程中起重要作用, 是炎症发展和组织损伤的重要介质<sup>[8]</sup>。目前国际同行明确将Cyr61定位于“一种新的前炎症因子”, 表明Cyr61能够广泛参与炎症和自身免疫病的病理损伤<sup>[9-13]</sup>, 是炎性微环境的重要启动和维持者。最近研究<sup>[6]</sup>发现: Cyr61基因敲除的小鼠创面愈合延迟且持续停留在炎症阶段, 免疫荧光检测创面炎症相关指标Ly6G与CD68显示中性粒细胞在创面异常、过度地堆积, 同时相关促炎细胞因子1L-1 $\beta$ 与TNF $\alpha$ 表达也较正常创面增多。Cyr61能够与细胞表面整合素如 $\alpha 6\beta 1$ ,  $\alpha v\beta 3$ ,  $\alpha v\beta 5$ ,  $\alpha M\beta 2$ ,  $\alpha 2\beta 3$ ,  $\alpha 2\beta 1$ 等结合, 调节细胞的增殖、分化、

迁移、黏附、生存与凋亡、血管生成等<sup>[14-15]</sup>。为进一步明确Cyr61通过哪种特定的整合素受体信号通路在炎症阶段发挥调控作用<sup>[6]</sup>, 研究者制作Ccn1<sup>D125A</sup>小鼠, 特异性地阻断Cyr61与受体整合素 $\alpha v$ 的结合, 与Cyr61基因敲除鼠类似, Ccn1<sup>D125A</sup>小鼠创面愈合延迟, 肉芽组织形成减弱, 炎症细胞异常浸润, 伤口中性粒细胞过度聚集, 但依旧抑制创面修复阶段新生血管生成及相关血管生长因子的表达, 诱导成纤维细胞衰老, 胶原蛋白沉积与组织重塑迟缓, 提示Cyr61于创面炎症阶段与整合素 $\alpha v$ 相结合发挥其功用。体外实验<sup>[6]</sup>显示Cyr61通过 $\alpha v\beta 3/\alpha v\beta 5$ 诱导形成p130<sup>Cas</sup>/CrkII信号复合物, 使得FAK磷酸化, 进一步激活Rac1信号通路促进中性粒细胞的胞葬作用从而降低创面的炎症反应, 加速愈合。

Cyr61蛋白在糖尿病溃疡创伤形成后9 d内的表达均低于正常对照组, 而外源性干预重组Cyr61蛋白能够使得溃疡面MPO活性降至正常对照水平, 炎症细胞聚集与中性粒细胞浸润程度均得到改善<sup>[6]</sup>。

### 1.2 Cyr61 调控创面组织修复

成纤维细胞是机体组织修复阶段的主要细胞, 它的增殖障碍将使细胞外基质特别是胶原的合成和降解失衡阻碍正常的组织修复<sup>[16-17]</sup>。难愈性创面如糖尿病溃疡创面等在治疗过程中常常伴随“缸口”现象的出现, 影响周围上皮的向内延伸, 易形成过度的瘢痕组织, 创面难愈的同时预后亦不佳。慢性溃疡创源与基质的成纤维细胞呈现过早的衰老, 研究<sup>[18-19]</sup>表明: 与急性伤口或正常皮肤中的成纤维细胞相比, 慢性皮肤溃疡的成纤维细胞生长缓慢, 具有明显的细胞衰老特征, 对正常的创面愈合刺激反应低下, 占据有限的创面空间, 据此推测皮肤溃疡表面和创缘衰老细胞的存在可能是生长因子受体表达降低, 创面病理变化导致溃疡愈合受损的重要机制。

Cyr61通过降低正常皮肤TGF- $\beta 2$ 受体的表达从而影响TGF- $\beta$ 作用的信号路径以致I型前胶原蛋白(type I procollagen)表达减少与基质金属蛋白酶1(MMP-1)表达增多<sup>[20-21]</sup>。此外, Cyr61可促进成纤维细胞增殖趋化, 增强其他细胞的促有丝分裂作用, 与整合素 $\alpha 6\beta 1$ 相结合诱导成纤维细胞衰老, 同时Cyr61还可诱导DNA损伤反应与P53因子的活化, 激活RAC1-NOX1复合物诱导活性氧ROS的产生, 激活其依赖的p16 INK4a/pRb信号通路, 进一步导致创面抗纤维化基因表达水平上升<sup>[3]</sup>。为进一

步明确Cyr61在皮肤创面组织修复中的表达方式, 研究者<sup>[22]</sup>建立转基因小鼠模型, 由内源性Cyr61基因启动子调控细胞LacZ基因表达, 检测皮肤全厚切开创面Cyr61基因的表达, 发现在肉芽组织真皮成纤维细胞中表达Cyr61。Cyr61基因衰老缺陷的突变体小鼠模型出现过度纤维化, 基质金属蛋白酶抑制剂MMP2, MMP3和MMP9表达减少, 而I型胶原基因col1a1和TGF- $\beta$ 1(成纤维细胞潜在的刺激因子, 过度表达易形成瘢痕组织)表达则增多, 于创面局部应用Cyr61蛋白能够改善相关因子的异常表达并减少过度的纤维化<sup>[3]</sup>。此外, Cyr61在体内实验还被证明是血管发生的诱导因子, 可增强血管内皮生长因子VEGF的表达<sup>[23]</sup>。在体外培养的皮肤成纤维细胞, Cyr61亦激活了关于创面修复的遗传程序<sup>[24]</sup>。对二型糖尿病相关因子进一步基因富集分析发现, 异常的Cyr61表达诱导细胞外基质(extracellular matrix, ECM)失衡可能是糖尿病患者溃疡面迁延难愈的重要机制之一<sup>[25]</sup>。

同样, Cyr61表达下降可能是放创复合伤创面难愈合的原因之一, 运用重组腺病毒感染创面局部组织外源性干预Cyr61则促进相关细胞因子如MMP1, TIMP1及bFGF的表达改善ECM微环境, 减少创面的纤维化程度<sup>[26-27]</sup>。

## 2 结语

糖尿病溃疡、压力性溃疡和静脉性溃疡等难愈性溃疡存在持久的炎症性过程, 过度、异常的中性粒细胞浸润会阻碍创面的正常愈合<sup>[28]</sup>。糖尿病模型小鼠的中性粒细胞浸润程度较正常创面高出50%, 而外源性应用Cyr61通过 $\alpha$ v $\beta$ 3/ $\alpha$ v $\beta$ 5诱导形成p130<sup>Cas</sup>/CrkII信号复合物, 使得FAK磷酸化, 进一步激活Rac1信号通路, 促进中性粒细胞的胞葬作用, 改善创面炎症微环境, 加速愈合<sup>[6]</sup>。创面修复期, Cyr61则与整合素 $\alpha$ 6 $\beta$ 1相结合, 诱导成纤维细胞衰老或激活p16 INK4a/pRb信号通路进一步令抗纤维化因子表达, 从而抑制创面纤维化的发生<sup>[3]</sup>。

Cyr61在创面愈合炎症期和组织修复期都扮演重要角色, 其潜在治疗价值亦在于同时加速创面的炎症阶段并抑制修复阶段的纤维化, 减少瘢痕组织生成, 能同时满足皮肤缺损疾病更好、更快地愈合并不留或少留后遗症的临床需求。虽然目前尚未全面了解Cyr61在创面愈合不同阶段的病理生理干预机制, 将Cyr61介导的靶向疗法投入到临床实践前仍有很多困难与障碍<sup>[29]</sup>, 例如通过何种途径将Cyr61导入靶细胞且不对机体造成损害(或

损害轻微), 确保有足够的靶细胞转染率, 同时相关靶细胞中Cyr61的表达量能产生足够的治疗效果, 并维持一定的时间和浓度从而充分发挥Cyr61的基因调控作用等。鉴于Cyr61在皮肤创面的部分调控作用已得到实验室证实, 为今后针对性地以Cyr61为靶向治疗慢性难愈合溃疡创建了较好的基础研究平台。因此, 更深入地了解Cyr61与皮肤创面愈合之间的作用关系, 找到确切的靶向治疗靶点, 对研制创面愈合安全且有效的临床治疗方案与药物具有重要意义。

## 参考文献

1. Boniakowski AE, Kimball AS, Jacobs BN, et al. Macrophage-mediated inflammation in normal and diabetic wound healing[J]. *J Immunol*, 2017, 199(1): 17-24.
2. Holbourn KP, Acharya KR, Perbal B. The CCN family of proteins: structure-function relationships[J]. *Trends Biochem Sci*, 2008, 33(10): 461-473.
3. Jun JI, Lau LF. The matricellular protein CCN1 induces fibroblast senescence and restricts fibrosis in cutaneous wound healing[J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(7): 676-685.
4. 李东, 周新, 郑方, 等. Cyr61的研究进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2005, 26(7): 424-426.
5. LI Dong, ZHOU Xin, ZHENG Fang, et al. Advances in studies of cysteine-rich 61[J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2005, 26(7): 424-426.
6. 吴聪莲, 祝先进, 曹颖平. Cyr61在肿瘤中的作用及临床应用前景[J]. *中华检验医学杂志*, 2016, 39(8): 571-574.
7. WU Conglian, ZHU Xianjin, CAO Yingping. The role of Cyr61 in tumors and its clinical application[J]. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, 2016, 39(8): 571-574.
8. Jun JI, Kim KH, Lau LF. The matricellular protein CCN1 mediates neutrophil efferocytosis in cutaneous wound healing[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7386.
9. Xu F, Zhang C, Graves DT. Abnormal cell responses and role of TNF- $\alpha$  in impaired diabetic wound healing[J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 754802.
10. Lin J, Zhou Z, Huo R, et al. Cyr61 induces IL-6 production by fibroblast-like synoviocytes promoting Th17 differentiation in rheumatoid arthritis[J]. *J Immunol*, 2012, 188(11): 5776-5784.
11. Zhu X, Xiao L, Huo R, et al. Cyr61 is involved in neutrophil infiltration in joints by inducing IL-8 production by fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2013, 15(6): R187.
12. Jun JI, Lau LF. Taking aim at the extracellular matrix: CCN proteins as

- emerging therapeutic targets[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2011, 10(12): 945-963.
11. Lau LF. CCN1/CYR61: the very model of a modern matricellular protein[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(19): 3149-3163.
  12. Bai T, Chen CC, Lau LF. Matricellular protein CCN1 activates a proinflammatory genetic program in murine macrophages[J]. *J Immunol*, 2010, 184(6): 3223-3232.
  13. 徐京京, 王晓非. 富含半胱氨酸蛋白61(CYR61/CCN1)与风湿病关系的研究进展[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2016, 32(10): 1423-1426.  
XU Jingjing, WANG Xiaofei. Advances in the study of the relationship between cysteine rich protein 61 (CYR61/CCN1) and rheumatoid arthritis[J]. *Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 2016, 32(10): 1423-1426.
  14. Mo FE, Muntean AG, Chen CC, et al. CYR61 (CCN1) is essential for placental development and vascular integrity[J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(24): 8709-8720.
  15. Malik AR, Liszewska E, Jaworski J. Matricellular proteins of the Cyr61/CTGF/NOV (CCN) family and the nervous system[J]. *Front Cell Neurosci*, 2015, 9: 237.
  16. 蒋与刚, 高先存, 庞伟. 组织修复的细胞与分子生物学机制研究进展[J]. *感染、炎症、修复*, 2004, 5(4): 182-184.  
JIANG Yugang, GAO Xiancun, PANG Wei. Research progress in the mechanism of cell and molecular biology research on tissue repair[J]. *Infection, Inflammation, Repair*, 2004, 5 (4): 182-184.
  17. 王曦, 李利. 成纤维细胞与皮肤老化[J]. *中国美容医学杂志*, 2005, 14(2): 243-245.  
WANG Xi, LI Li. Fibroblast and aging of skin[J]. *Chinese Medical Journal of Cosmetology*, 2005, 14(2): 243-245.
  18. 万家兴. 黄芪主要成份对免疫抑制复合皮肤伤口愈合及成纤维细胞作用的研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2007.  
WAN Jiaying. The main ingredients of astragalus on immune suppression of composite skin wound healing and fibroblast in vitro studies[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2007.
  19. 罗晓春. 黄芪甲苷促糖尿病伤口愈合的作用研究[D]. 广州: 广东药科大学, 2016.  
LUO Xiaochun. Astragaloside promoting diabetic wound healing effect of [D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University, 2016.
  20. Quan T, Qin Z, Voorhees JJ, et al. Cysteine-rich protein 61 (CCN1) mediates replicative senescence-associated aberrant collagen homeostasis in human skin fibroblasts[J]. *J Cell Biochem*, 2012, 113(9): 3011-3018.
  21. 王安远. Cyr61在增生性瘢痕及正常皮肤中的差异表达及意义[D]. 温州: 温州医学院, 2011.  
WANG Anyuan. Differential expression and significance of Cyr61 in hypertrophic scars and normal skin [D]. Wenzhou: Wenzhou Medical College, 2011.
  22. Latinkic BV, Mo FE, Greenspan JA, et al. Promoter function of the angiogenic inducer Cyr61 gene in transgenic mice: tissue specificity, inducibility during wound healing, and role of the serum response element[J]. *Endocrinology*, 2001, 142(6): 2549-2557.
  23. Tsai MS, Bogart DF, Li P, et al. Expression and regulation of Cyr61 in human breast cancer cell lines[J]. *Oncogene*, 2002, 21(6): 964-973.
  24. Grzeszkiewicz TM, Kirschling DJ, Chen N, et al. CYR61 stimulates human skin fibroblast migration through Integrin alpha vbeta 5 and enhances mitogenesis through integrin alpha vbeta 3, independent of its carboxyl-terminal domain[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(24): 21943-21950.
  25. Ge K, Wu JJ, Qian L, et al. Bioinformatic analysis of the effect of type II diabetes on skin wound healing[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(2): 4802-4811.
  26. 李招权, 杜业军, 司维柯, 等. 过表达外源性CCN1对大鼠放创复合伤愈合的影响[J]. *西南国防医药*, 2010, 20(5): 471-474.  
LI Zhaoquan, DU Yejun, SI Weike, et al. Effects of over-expressed exogenous CCN1 on healing process in rats with combined radiation and wound injury[J]. *Medical Journal of National Defending Forces in Southwest China*, 2010, 20 (5): 471-474.
  27. 杜业军. CCN1基因腺病毒在放创复合伤修复中的作用和机理研究[D]. 重庆: 第三军医大学, 2008.  
DU Yejun. Study on the role and mechanism of adenovirus CCN1 gene in repair of combined wound repair[D]. Chongqing: Third Military Medical University, 2008.
  28. Idrovo JP, Jacob A, Yang WL, et al. A deficiency in cold-inducible RNA-binding protein accelerates the inflammation phase and improves wound healing[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 37(2): 423-428.
  29. 付小兵. 慢性难愈合创面防治理论与实践[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 178.  
FU Xiaobing. Theory and practice of prevention and cure of chronic refractory wounds[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011: 178.
- 本文引用:** 蒯仂, 许逊哲, 茹意, 魏冬慧, 吴人杰, 王一花, 李欣, 李斌. Cyr61/CCN1在创面愈合中的研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2017, 37(10): 2220-2223. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.10.032

**Cite this article as:** KUAI Le, XU Xunzhe, RU Yi, WEI Donghui, WU Renjie, WANG Yihua, LI Xin, LI Bin. Research progress in Cyr61/CCN1 in wound healing[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2017, 37(10): 2220-2223. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.10.032