

the study. (1) KfB were divided into control group (incubated with serum-free DMEM), TGF- β_1 group (treated with 10 ng/mL TGF- β_1), IFN- γ group (treated with 100 ng/mL IFN- γ), and TGF- β_1 + IFN- γ group (incubated with 10 ng/mL TGF- β_1 combined with 100 ng/mL IFN- γ). The expression level of mRNA and protein of connective tissue growth factor (CTGF), α smooth muscle actin (α -SMA) protein and expression of α -SMA positive KfB were detected by real-time fluorescent quantitation RT-PCR (FQ-RT-PCR), Western blot and immunofluorescence cytochemical staining. (2) Another sample of KfB was obtained and treated with 10 ng/mL IFN- γ . The expression level of Smad 3 and Smad 7 protein was detected by Western blot before and 1, 2, 4, 6, 8 h post stimulation (PSH). The expression level of Smad 3 and Smad 7 mRNA was assessed by FQ-RT-PCR before stimulation and 30 mins post stimulation and at PSH, 1, 2, 4, 6, 8. (3) Another sample of KfB was obtained and divided into 1, 10 and 100 ng/mL IFN- γ groups based on the concentration of IFN- γ , treated for 4 hours; KfB without IFN- γ treatment was set up as control group. The expression levels of the protein and mRNA of Smad 3 and Smad 7 were measured by FQ-RT-PCR and Western blot. **Results** (1) The level of mRNA and protein of CTGF in IFN- γ group (0.017 ± 0.009 and 1.198 ± 0.004) was respectively lower than that in control group (0.024 ± 0.013 and 1.229 ± 0.011 , $P < 0.05$). The level of mRNA and protein of CTGF in TGF- β_1 + IFN- γ group (0.634 ± 0.138 and 1.204 ± 0.010) was respectively lower than that in TGF- β_1 group (1.331 ± 0.298 and 1.727 ± 0.004 , $P < 0.01$). The fluorescence intensity of α -SMA positive KfB (0.922 ± 0.059) and the expression level of α -SMA protein (0.3051 ± 0.0031) in IFN- γ group decreased significantly than those in control group (1.055 ± 0.005 and 0.4513 ± 0.0094 , $P < 0.01$). The fluorescence intensity of α -SMA positive KfB (1.129 ± 0.004) and the expression level of α -SMA protein (0.6734 ± 0.0098) in TGF- β_1 + IFN- γ group decreased significantly than those in TGF- β_1 group (1.270 ± 0.005 and 1.3842 ± 0.0024 , $P < 0.01$). (2) The expression level of Smad 3 mRNA and protein at the first time point after IFN- γ treatment increased temporarily then decreased gradually, and mRNA expression level reached the nadir at PSH 4, it rose gradually later, though it was still lower at PSH 8 than that before treatment ($P < 0.01$); protein expression level at PSH 8 was significantly lower than that before treatment ($P < 0.01$). The expression level of Smad 7 mRNA and protein increased gradually to the maximum at PSH 2 and 4 respectively, then decreased but was still higher at PSH 8 than that before treatment ($P < 0.05$). (3) Compared with those in control group, the expression levels of Smad 3 mRNA and protein in 1, 10 and 100 ng/mL IFN- γ group were significantly lower, the expression levels of Smad 7 mRNA and protein were significantly higher ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The higher concentration of IFN- γ , the more significant differences were observed. **Conclusions** IFN- γ can down-regulate the expression of Smad 3 while up-regulate the expression of Smad 7 in a time- and dose-dependent manner, and reduce the expression level of CTGF and α -SMA in the basic state or induced by TGF- β_1 , which shows a significant inhibitory effect on the TGF- β /Smad signal pathway. This may be an important mechanism in the treatment of pathologic scar by IFN- γ .

【Key words】 Interferon type II; Keloid; Fibroblasts; Transforming growth factor beta₁; Smad proteins

TGF- β_1 是导致病理性瘢痕形成最重要的细胞因子之一,主要通过其下游的 Smads 分子,发挥促进 Fb 增殖、向肌成纤维细胞 (MFb) 转分化以及分泌 ECM 等作用。 γ 干扰素 (IFN- γ) 由活化的 T 淋巴细胞分泌,具有抗肿瘤、抗感染、抗纤维化及免疫调节的作用^[1]。但 IFN- γ 的抗纤维化机制,尤其是它对瘢痕疙瘩 Fb (KfB) 中 TGF- β /Smad 信号通路的作用尚不明了。本实验拟观察 IFN- γ 对 KfB 中结缔组织生长因子 (CTGF)、 α 平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 和 Smad 分子表达的影响,探讨 IFN- γ 治疗病理性瘢痕的可能机制。

1 对象与方法

1.1 主要试剂与仪器

人重组 IFN- γ 、TGF- β_1 (英国 Peprotech 公司),

Trizol 试剂 (美国 Invitrogen 生命技术公司), 反转录试剂盒、SYBR Green 荧光定量试剂盒 (日本 TaKaRa 生物工程有限公司), 兔抗人 Smad 3 多克隆抗体 (美国 Cell Signaling 公司), 兔抗人 Smad 7 多克隆抗体 (美国 Santa Cruz 公司), 兔抗人 CTGF 多克隆抗体、鼠抗人 α -SMA 抗体 (均为一抗, 武汉博士德生物工程有限公司), 吖啶类菁染料 Cy3 标记的荧光二抗 (美国 Sigma 公司), 辣根过氧化物酶标记的二抗 (北京中杉金桥生物技术有限公司)。iQ5TM 荧光定量 PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司), AlphasagerTM 2200 型凝胶成像系统 (美国安莱公司)。

1.2 KfB 的分离与培养

选择 2007 年 11 月—2008 年 10 月来我院就诊的瘢痕疙瘩患者 3 例, 手术切取其瘢痕组织 (患者知情同意)。在无菌条件下用组织块法进行常规原代

培养,每 2~3 天换液,待 KfB 培养至 80% 融合时常规消化传代。实验选用第 3~5 代细胞。

1.3 TGF-β₁、IFN-γ 作用下 CTGF 和 α-SMA 表达的检测

1.3.1 实验分组 将 KfB 分为:(1)对照组,加无血清 DMEM 培养;(2)TGF-β₁ 组,用 10 ng/mL 的 TGF-β₁ 单独作用;(3)IFN-γ 组,用 100 ng/mL 的 IFN-γ 单独作用;(4)TGF-β₁ + IFN-γ 组,10 ng/mL 的 TGF-β₁ 与 100 ng/mL 的 IFN-γ 联合作用。

1.3.2 CTGF mRNA 与蛋白表达的检测 于作用后 24 h 提取各组 KfB 总 RNA,48 h 时提取总蛋白(部分留置待用)。用实时荧光定量 RT-PCR 和蛋白质印迹法检测 CTGF mRNA 与蛋白表达水平。(1)实时荧光定量 RT-PCR 操作如下:用反转录试剂盒进行互补 DNA 合成,反转录产物用 SYBR Green 荧光定量试剂盒进行 PCR,采用 iQ5 系统进行循环阈值相对定量分析,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶为内参照,引物序列见表 1。(2)蛋白质印迹法操作如下:蛋白提取后定量,按总蛋白 40 μg 上样,半干法转膜、封闭,4 ℃ 下一抗孵育过夜,二抗 37 ℃ 孵育 60 min。一抗稀释度为 1:400,二抗稀释度为 1:4000。增强型化学发光试剂盒发光、显影,用 Alphamager™ 2200 型凝胶成像系统进行灰度扫描,与 β 肌动蛋白灰度值的比值表示结果。

表 1 实时荧光定量 RT-PCR 引物序列

基因名称	引物序列
甘油醛-3-磷酸脱氢酶	上游引物:5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3' 下游引物:5'-TGGTGAAGACGCCAGTGA-3'
结缔组织生长因子	上游引物:5'-CTTGCAGCTGACCTGGAA-3' 下游引物:5'-AGCTCAAAGTATAGGCTTGGAGA-3'
Smad 3	上游引物:5'-AGGTCTTCGACAGTGCCTCA-3' 下游引物:5'-GGGTCAACTGCTAGACAGCCTCA-3'
Smad 7	上游引物:5'-CCATCACCTTAGCCGACTCTG-3' 下游引物:5'-CCATCGGGTATCTGGAGTAAGGA-3'

1.3.3 α-SMA 的阳性细胞表达与蛋白表达检测

分别采用免疫荧光细胞化学染色法及蛋白质印迹法。(1)免疫荧光细胞化学染色法操作如下:将 KfB 用体积分数 95% 乙醇固定,5 mg/mL 牛血清白蛋白封闭。1:100 稀释的一抗 37 ℃ 孵育 30 min, Cy3 标记的羊抗鼠荧光二抗 37 ℃ 孵育 30 min, 荧光显微镜下观察并拍照,采用 Image-Pro Plus 软件分析,结果用荧光强度值表示。(2)蛋白质印迹法操作同 1.3.2,取 1.3.2 中留置待用蛋白进行检测,将一抗稀释度改为 1:350。

1.4 IFN-γ 作用前后 Smad 3 和 Smad 7 的 mRNA 及蛋白表达检测

另取 KfB,用终浓度 10 ng/mL 的 IFN-γ 作用,分别于作用前及作用后 30 min 和 1、2、4、6、8 h 检测 Smad 3 和 Smad 7 的 mRNA 水平,于作用前及作用后 1、2、4、6、8 h 检测 Smad 3 和 Smad 7 蛋白水平。分别用实时荧光定量 RT-PCR 和蛋白质印迹法检测。操作同 1.3.2,引物序列见表 1;Smad 3 一抗稀释度为 1:800,Smad 7 一抗稀释度为 1:400,二抗稀释度均为 1:3000。

1.5 不同浓度 IFN-γ 作用后 Smad 3 和 Smad 7 的 mRNA 与蛋白表达检测

另取 KfB,根据添加 IFN-γ 终浓度不同分为 1、10、100 ng/mL IFN-γ 组,按 1.4 实验结果确定作用时间为 4 h;设立未添加 IFN-γ 的 KfB 为对照组。采用实时荧光定量 RT-PCR 和蛋白质印迹法,分别检测各组 Smad 3 和 Smad 7 的 mRNA 及蛋白表达水平,操作同 1.3.2,抗体稀释度同 1.4。

1.6 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 12.0 统计软件行方差分析及 LSD-*t* 检验。

2 结果

2.1 CTGF 的 mRNA 与蛋白表达

对照组、TGF-β₁ 组、IFN-γ 组、TGF-β₁ + IFN-γ 组 CTGF 的 mRNA 表达量分别为 0.024 ± 0.013、1.331 ± 0.298、0.017 ± 0.009、0.634 ± 0.138,CTGF 的蛋白表达量分别为 1.229 ± 0.011、1.727 ± 0.004、1.198 ± 0.004、1.204 ± 0.010。与对照组比较,TGF-β₁ 组 CTGF 的 mRNA 和蛋白表达量显著增加 ($P < 0.01$),而 IFN-γ 组 CTGF 的 mRNA 和蛋白表达量显著减少 ($P < 0.05$)。TGF-β₁ + IFN-γ 组 CTGF 的 mRNA 和蛋白表达量较 TGF-β₁ 组显著减少 ($P < 0.01$)。各组 CTGF 蛋白质印迹法检测结果见图 1。



图 1 各组瘢痕疙瘩 Fb 结缔组织生长因子蛋白质印迹法检测结果。1. 对照组;2. TGF-β₁ 组;3. γ 干扰素组;4. TGF-β₁ + γ 干扰素组

2.2 α-SMA 的阳性细胞表达与蛋白表达

免疫荧光细胞化学染色结果显示,α-SMA 阳性

表达为红色丝状荧光。各组荧光强度分别为:对照组 1.055 ± 0.005 、TGF- β_1 组 1.270 ± 0.005 、IFN- γ 组 0.922 ± 0.059 、TGF- β_1 + IFN- γ 组 1.129 ± 0.004 。与对照组比较, TGF- β_1 组与 TGF- β_1 + IFN- γ 组中 α -SMA 阳性 Kfb 荧光强度明显增强 ($P < 0.01$); IFN- γ 组 α -SMA 阳性 Kfb 荧光强度明显减弱 ($P < 0.01$)。见图 2。与对照组 Kfb 的 α -SMA 蛋白表达量 (0.4513 ± 0.0094) 比较, TGF- β_1 组 (1.3842 ± 0.0024) 显著增加 ($P < 0.01$), IFN- γ 组 α -SMA 蛋白表达量 (0.3051 ± 0.0031) 显著减少 ($P < 0.01$)。TGF- β_1 + IFN- γ 组 α -SMA 的蛋白表达量 (0.6734 ± 0.0098) 较 TGF- β_1 组显著减少 ($P < 0.01$)。见图 3。

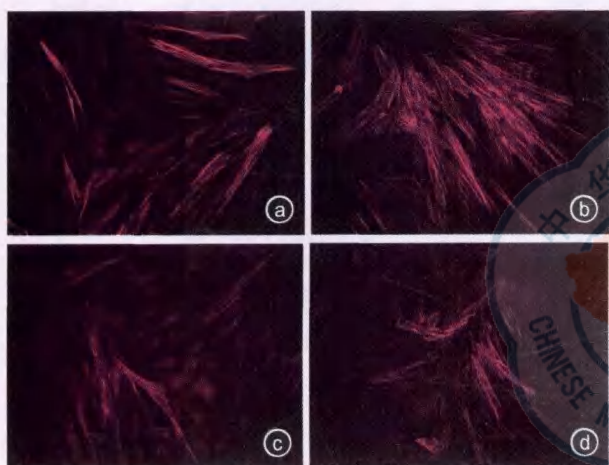


图 2 各组瘢痕疙瘩 Fb α 平滑肌肌动蛋白阳性表达检测结果 吖啶类菁染料 Cy3 $\times 100$ 。a. 对照组; b. TGF- β_1 组荧光强度强于对照组; c. γ 干扰素组荧光强度弱于对照组; d. TGF- β_1 + γ 干扰素组荧光强度弱于 TGF- β_1 组



图 3 各组瘢痕疙瘩 Fb α 平滑肌肌动蛋白的蛋白质印迹法检测结果。1. 对照组; 2. TGF- β_1 组; 3. γ 干扰素组; 4. TGF- β_1 + γ 干扰素组

2.3 IFN- γ 作用前后 Smad 3 和 Smad 7 的表达

2.3.1 IFN- γ 作用前后 Smad 3 和 Smad 7 的 mRNA 表达 10 ng/mL IFN- γ 作用前及作用后 30 min 和 1、2、4、6、8 h, Smad 3 的 mRNA 表达量分别为 0.618 ± 0.021 、 0.990 ± 0.014 、 0.871 ± 0.160 、 0.633 ± 0.089 、 0.252 ± 0.036 、 0.286 ± 0.039 、 0.407 ± 0.078 。IFN- γ 作用后 30 min, Smad 3 的 mRNA 表达量短暂上升, 于作用后 1 h 开始下降, 作用后 4 h 降至最低点 ($P < 0.01$), 后缓慢上升至作

用后 8 h 仍低于作用前 ($P < 0.01$)。IFN- γ 作用后 30 min ~ 8 h, Smad 7 的 mRNA 表达量分别为 0.35 ± 0.05 、 0.54 ± 0.09 、 0.98 ± 0.04 、 0.42 ± 0.06 、 0.48 ± 0.10 、 0.47 ± 0.17 , 均较作用前 (0.24 ± 0.04) 显著升高, 且作用后 2 h 达到高峰 ($P < 0.01$), 随后降低, 但作用后 8 h 仍高于作用前 ($P < 0.05$)。

2.3.2 IFN- γ 作用前后 Smad 3 和 Smad 7 的蛋白表达

10 ng/mL IFN- γ 作用后 1 h, Smad 3 的蛋白表达量于较作用前短暂增高, 作用后 2 h 开始降低, 至 8 h 时仍较作用前显著降低 ($P < 0.01$)。10 ng/mL IFN- γ 作用前, Kfb 仅表达少量 Smad 7 蛋白; 作用后 1 h 其蛋白水平开始上升, 至 4 h 时达高峰, 随后逐渐降低, 但 8 h 时仍高于作用前表达量 ($P < 0.05$)。见图 4, 表 2。

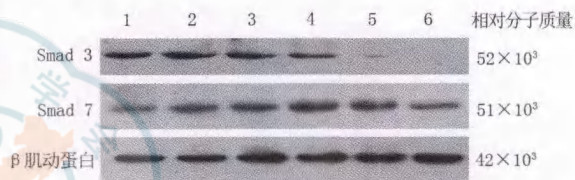


图 4 γ 干扰素作用前后瘢痕疙瘩 Fb 中 Smad 3、Smad 7 蛋白表达情况比较。1~6 分别为 γ 干扰素作用前及作用后 1、2、4、6、8 h

表 2 γ 干扰素作用前后瘢痕疙瘩 Fb 中 Smad 3 和 Smad 7 蛋白表达情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

检测时时间点	样本数	Smad 3	Smad 7
γ 干扰素作用前	3	0.913 ± 0.044	0.834 ± 0.060
γ 干扰素作用后 1 h	3	0.998 ± 0.049^a	0.972 ± 0.012^b
γ 干扰素作用后 2 h	3	0.889 ± 0.047^b	0.983 ± 0.013^b
γ 干扰素作用后 4 h	3	0.790 ± 0.064^b	1.047 ± 0.019^b
γ 干扰素作用后 6 h	3	0.601 ± 0.023^b	0.948 ± 0.014^b
γ 干扰素作用后 8 h	3	0.576 ± 0.043^b	0.914 ± 0.046^a

注: 数据以灰度比值表示; 与 γ 干扰素作用前比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$

2.4 不同浓度 IFN- γ 作用后 Smad 3 和 Smad 7 的表达

2.4.1 不同浓度 IFN- γ 作用后 Smad 3 和 Smad 7 的 mRNA 表达 作用 4 h 后, 1、10、100 ng/mL IFN- γ 组 Smad 3 的 mRNA 表达量分别为 1.229 ± 0.074 、 0.945 ± 0.019 、 0.810 ± 0.051 , 较对照组 (1.613 ± 0.112) 显著减少 ($P < 0.01$), Smad 7 的 mRNA 表达量分别为 0.84 ± 0.10 、 1.09 ± 0.05 、 2.00 ± 0.19 , 较对照组 (0.41 ± 0.07) 显著增加 ($P < 0.01$)。

2.4.2 不同浓度 IFN- γ 作用后 Smad 3 和 Smad 7 的蛋白表达

与对照组比较, 1、10、100 ng/mL IFN- γ 组 Smad 3 蛋白表达量显著减少 ($P < 0.05$), Smad 7 蛋白表达量显著增加 ($P < 0.01$), 且随 IFN- γ 浓度

升高,减少或增高幅度愈为显著。见图 5,表 3。

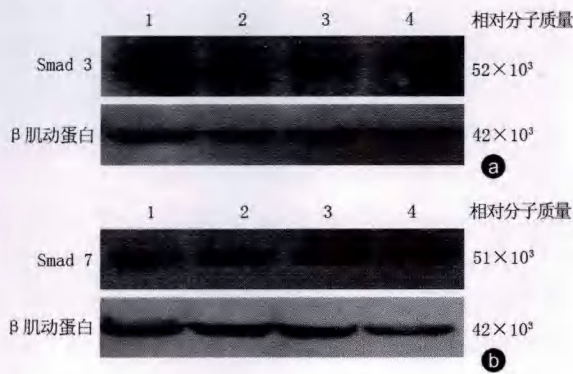


图 5 不同浓度 γ 干扰素作用 4 h 后各组瘢痕疙瘩 Fb 中 Smad 3、Smad 7 蛋白质印迹法检测结果。a、b 中 1~4 均分别为对照组及 1、10、100 ng/mL γ 干扰素组

表 3 不同浓度 γ 干扰素作用后各组瘢痕疙瘩 Fb 中 Smad 3 和 Smad 7 蛋白表达情况 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	Smad 3	Smad 7
对照组	3	0.985 ± 0.011	1.282 ± 0.012
1 ng/mL γ 干扰素组	3	0.940 ± 0.024 ^a	1.406 ± 0.004 ^a
10 ng/mL γ 干扰素组	3	0.775 ± 0.029 ^b	1.547 ± 0.062 ^b
100 ng/mL γ 干扰素组	3	0.743 ± 0.026 ^b	1.825 ± 0.115 ^b

注:数据以灰度值比值表示;与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$

3 讨论

瘢痕疙瘩是病理性瘢痕的一种,其形成机制主要有遗传因素、Fb 活化和增殖凋亡异常、ECM 代谢异常、细胞因子的作用等。 α -SMA 是 Fb 活化为 MFb 的标志, MFb 可引起伤口收缩而促进其愈合。但 MFb 持续存在,可能造成瘢痕组织中 ECM 大量沉积和瘢痕挛缩^[2]。CTGF 是 TGF- β_1 下游重要的细胞因子,高表达于瘢痕和多种纤维化疾病组织中,介导 TGF- β_1 促纤维化的作用,且特异作用于 Fb。可通过降低 CTGF 的水平达到抑制病理性瘢痕的目的。然而,以往 IFN- γ 对 KFB 中 CTGF 的表达有何作用不甚清楚,因此有必要对 IFN- γ 作用后 KFB 中 α -SMA、CTGF 的表达变化进行探讨。

本研究根据预实验结果及文献[3]选定 TGF- β_1 与 IFN- γ 所用浓度,结果表明,IFN- γ 可以显著降低 CTGF 的表达量,拮抗 TGF- β_1 对 CTGF 的上调作用。IFN- γ 单独作用可以显著降低 α -SMA 的表达量,减弱 α -SMA 阳性 KFB 荧光强度,与 TGF- β_1 联合作用还可以显著拮抗后者对 α -SMA 表达的上调效应。此前的研究表明,IFN- γ 可以通过抑制正常 Fb 表达 α -SMA 而阻碍其转分化为 MFb^[4]。而本实验结果进一步证明,IFN- γ 可以使瘢痕疙瘩中 α -SMA 阳性

KFB 的荧光强度显著减弱, α -SMA 蛋白表达量显著降低,从而使 MFb 退分化为 Fb。由于 TGF- β_1 对 α -SMA 和 CTGF 的调控作用依赖 TGF- β /Smad 通路介导,因此上述结果提示,IFN- γ 可能对 TGF- β /Smad 通路存在拮抗作用。

Smad 蛋白家族中介导 TGF- β_1 对下游分子(包括 CTGF 和 α -SMA)调控作用的受体依赖型 Smad 蛋白是 Smad 3,而对 TGF- β /Smad 通路起特异性抑制作用的 Smad 蛋白是 Smad 7。为了进一步研究 IFN- γ 对 TGF- β /Smad 通路拮抗作用的机制,我们观察了 10 ng/mL IFN- γ 作用前后及其他浓度 IFN- γ 作用后 Smad 3 和 Smad 7 表达变化,浓度根据预实验结果及文献[5-6]确定。结果显示 10 ng/mL IFN- γ 作用开始后,Smad 3 的表达量先呈一过性增高然后逐渐降低,至 8 h 时仍不能达到作用前水平,表明 IFN- γ 对 Smad 3 的主要作用是下调而且呈剂量依赖性。10 ng/mL IFN- γ 作用开始后,Smad 7 的表达量先升高后降低,但作用 8 h 后仍高于作用前,不同浓度 IFN- γ 作用后结果表明 IFN- γ 呈剂量依赖性上调 Smad 7。以往研究表明,TGF- β 及其受体在瘢痕组织中高表达,而 Smad 7 在瘢痕组织中呈低表达,由此造成的 TGF- β /Smad 通路正负调控作用的失衡可能是瘢痕形成的重要原因^[7-8]。而采用 RNA 干扰法单独敲除基因 Smad 3 或过度表达的 Smad 7,则可以达到抑制瘢痕形成和抑制 Fb 向 MFb 转化的目的^[9-10]。我们的实验结果表明,IFN- γ 可以同时下调 Smad 3、上调 Smad 7,并抑制受 TGF- β /Smad 通路调控的下游分子的表达。结合以往实验结果,我们推测本实验中 IFN- γ 对 α -SMA 和 CTGF 表达的抑制是通过对 Smad 蛋白的直接调控得以实现的。且以往在支气管上皮细胞、肝星形细胞中都同时观察到了 IFN- γ 对 Smad 3 的下调作用与对 Smad 7 的上调作用^[5-6]。但是,IFN- γ 对 KFB 中 Smad 3 及 Smad 7 的表达作用如何,国内外均鲜见报道。

综上所述,IFN- γ 单独作用可以下调 KFB 中 CTGF 和 α -SMA 的表达,与 TGF- β_1 联合作用则可拮抗后者对 2 种因子的上调,使 MFb 退分化为 Fb。进一步研究表明,IFN- γ 的这一作用是通过时间和剂量依赖的方式下调 Smad 3,同时上调 Smad 7 的表达来实现的,这可能是 IFN- γ 治疗病理性瘢痕和纤维化疾病的重要机制。而 IFN- γ 通过何种机制下调 Smad 3 与上调 Smad 7 则需要更深入的研究,这些深层机制的揭示将有助于更加特异和有效地治疗病理性瘢痕。

参考文献

[1] 杨勇,潘亚菊,夏照帆. 局部注射重组人干扰素 γ 治疗瘢痕增生 48 例疗效观察. 中华烧伤杂志, 2004, 20(3): 177-178.

[2] Chen Y, Shi-Wen X, van Beek J, et al. Matrix contraction by dermal fibroblasts requires transforming growth factor-beta/activin-linked kinase 5, heparan sulfate-containing proteoglycans, and MEK/ERK: insights into pathological scarring in chronic fibrotic disease. Am J Pathol, 2005, 167(6): 1699-1711.

[3] Garrett Q, Khaw PT, Blalock TD, et al. Involvement of CTGF in TGF-beta1-stimulation of myofibroblast differentiation and collagen matrix contraction in the presence of mechanical stress. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2004, 45(4): 1109-1116.

[4] Gu L, Zhu YJ, Guo ZJ, et al. Effect of IFN-gamma and dexamethasone on TGF-beta1-induced human fetal lung fibroblast-myofibroblast differentiation. Acta Pharmacol Sin, 2004, 25(11): 1479-1488.

[5] Wen FQ, Liu X, Kobayashi T, et al. Interferon-gamma inhibits transforming growth factor-beta production in human airway epithelial cells by targeting Smads. Am J Respir Cell Mol Biol, 2004, 30(6): 816-822.

[6] Weng H, Mertens PR, Gressner AM, et al. IFN-gamma abrogates profibrogenic TGF-beta signaling in liver by targeting expression of inhibitory and receptor Smads. J Hepatol, 2007, 46(2): 295-303.

[7] 吕洛,陈玉林,章庆国. 增生性瘢痕转化生长因子 β 及其受体的分布及表达. 中华烧伤杂志, 2004, 20(1): 30-33.

[8] Yu H, Bock O, Bayat A, et al. Decreased expression of inhibitory SMAD6 and SMAD7 in keloid scarring. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2006, 59(3): 221-229.

[9] Kopp J, Preis E, Said H, et al. Abrogation of transforming growth factor-beta signaling by SMAD7 inhibits collagen gel contraction of human dermal fibroblasts. J Biol Chem, 2005, 280(22): 21570-21576.

[10] Wang Z, Gao Z, Shi Y, et al. Inhibition of Smad3 expression decreases collagen synthesis in keloid disease fibroblasts. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2007, 60(11): 1193-1199.

(收稿日期: 2009-05-31)
(本文编辑: 谢秋红)

· 病例报告 ·

严重烫伤合并肩胛上神经损伤一例

梁钢

患者男, 46 岁。蒸气烫伤后 2 h 收入笔者单位。创面分布于头面颈、躯干、臀部、会阴及四肢, 总面积 87%, 其中 II 度 67%、III 度 20% TBSA。咽部充血, 双肺听诊呼吸音粗糙, 可闻及干、湿性啰音。入院后立即行补液抗休克、气管切开、呼吸机支持、维护脏器功能等治疗。患者休克期度过平稳。于伤后 4、9、28 d, 先后行四肢切(削)痂、生物敷料覆盖, 双下肢自、异体皮混合移植手术 3 次。第 2 次手术后患者出现严重肺部感染、深部真菌感染及脓毒症等并发症。伤后 55 d, 患者感右肩外展无力, 不能上举。查体: 右肩胛切迹处压痛及 Tinel 征阳性, 右冈上、下肌肌力 2 级, 右肩关节主动外展 90°, 但起始外展 30°, 明显障碍且不能上举。肩关节其余运动功能及肘、腕关节运动功能无异常。通过询问病史、查体, 结合肌电图检查结果(右侧冈上、下肌有纤颤电位), 并排除受伤前(时)局部外伤、颈椎病、周围神经卡压症等, 诊断为肩胛切迹处肩胛上神经闭合性损伤。随后给予营养神经、局部封闭、电刺激等治疗。4 周左右患者神经功能基本恢复, 肌电图结果示冈上、下肌无纤颤电位。伤后 1 年随访, 患者右肩关节起始外展、上举功能及冈上、下肌肌力和肌电图结果均表明恢复正常。

讨论 由于肩胛上神经经过肩胛切迹和肩胛上横韧带所组成的骨纤维孔较为固定, 因而直接或间接外力均易造成其损伤, 损伤后表现为肩关节起始外展无力, 不能上举, 肩胛切迹压痛, Tinel 征阳性, 肌电图结果示冈上、下肌有纤颤电位^[1]。该患者在病程中出现了上述表现, 结合肌电图检查结果, 故我们确诊其为右肩胛切迹肩胛上神经损伤。鉴于患者

受伤前(时)无局部外伤, 也不存在 C5 神经根卡压、颈椎病、肩周炎等, 故推测其致伤因素可能系患者卧翻身床救治期间, 体位与保护不当所致, 也有可能是在救治过程中上肢的不适当活动, 使肩胛骨不断移位, 以致肩胛切迹处神经反复牵拉或摩擦而造成损伤。此类神经损伤的发生机制主要是神经所承受的压力超过其所承受的生理限度, 使神经外膜的血管拉长变细, 血流中断, 或血管破裂而形成水肿, 导致暂时性周围神经麻痹^[2], 且当损伤神经发生炎性肿胀时, 在其通过的骨纤维隧道处卡压而使症状加重, 但随着病因的去除及炎性肿胀的消退, 多数神经可以逐渐恢复功能^[1]。

通过该病例的诊治, 笔者认为, 当严重烧伤患者出现不明原因的肢体运动障碍时, 应考虑有体位与保护不当致通过骨纤维隧道处的周围神经损伤的可能。严重烧伤患者卧翻身床救治期间, 应避免长时间保持某种体位及肢体的不适当活动, 同时还应注意保护有周围神经通过的骨纤维隧道处。与开放性周围神经损伤相比, 此类神经损伤的程度较轻, 经积极保守治疗后, 多能在 3 个月内恢复功能。若 3 个月后神经功能仍未恢复, 则应尽早行神经探查或松解术。此例患者右肩功能障碍除与损伤程度有关外, 也不排除在确诊前已存在神经损伤, 只因患者当时病情危重未能引起重视而已。

参考文献

[1] 顾玉东. 临床显微外科学. 北京: 科学技术文献出版社, 2002: 199.

[2] 沈美玉. 术中体位不当致周围神经损伤 3 例报告. 综合临床医学, 1997, 13(2): 172-173.

(收稿日期: 2009-06-01)
(本文编辑: 张红)