

# 增生性瘢痕转化生长因子 $\beta$ 及其受体的分布及表达

吕洛 陈玉林 章庆国

**【摘要】** 目的 探讨转化生长因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 及其受体在增生性瘢痕形成中的作用机制。方法 收集临床手术切除后的正常皮肤组织 7 例和增生性瘢痕组织标本 11 例,用免疫组织化学和原位杂交的方法检测 TGF- $\beta$  及其 TGF- $\beta$  受体 (TGFR) I、TGFR II 在组织中的定位分布、蛋白和 mRNA 表达。结果 在正常皮肤组织中,与 TGF- $\beta_1$ 、TGF- $\beta_2$ 、TGFR I 比较,TGF- $\beta_3$  和 TGFR II 呈较高表达;在增生性瘢痕组织中则呈现与正常皮肤组织中的表达相反的结果。与正常皮肤组织相比,增生性瘢痕组织中 TGF- $\beta_1$ 、TGF- $\beta_2$  和 TGFR I 的蛋白和 mRNA 表达均明显增加,而 TGF- $\beta_3$  和 TGFR II 的蛋白以及 mRNA 表达相对减少。结论 创面愈合过程中 TGF- $\beta$  及其受体不同水平的表达与增生性瘢痕的形成直接相关。

**【关键词】** 瘢痕; 转化生长因子  $\beta$ ; 受体,转化生长因子  $\beta$ ; 基因表达

Distribution and expression of transforming growth factor beta and their receptors in hypertrophic scar LV Luo, CHEN Yu-lin, ZHANG Qing-guo. Department of Burns, Changhai Hospital, The Second Military Medical University. Shanghai 200433, P. R. China

**【Abstract】** Objective To explore the role of transforming growth factor beta (TGF $\beta$ ) and their receptors (TGF $\beta$ -R) in the pathogenesis of hypertrophic scar. Methods Specimens of normal skin and hypertrophic scar were harvested and the distribution and the expression of the TGF $\beta$  and TGF $\beta$ -R were determined by immunohistochemistry and in situ hybridization method. Results The expressions of TGF $\beta$  and TGF $\beta$ -R II in normal skin were higher than the expression of TGF $\beta_1$ , TGF $\beta_2$  and TGF-R I. But in hypertrophic scar the results were on the contrary. The mRNA expressions of TGF $\beta_1$ , TGF $\beta_2$  and TGFR I were evidently increased with decreased mRNA expression of TGF- $\beta_3$  and TGFR II in the hypertrophic scar when compared with those in the normal skin. Conclusion The expression of TGF- $\beta$  ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ ) and their receptors in different levels during the process of wound healing might be related to the formation of hypertrophic scars.

**【Key words】** Cicatrix; Transforming growth factor beta; Receptor, transforming growth factor beta; Gene expression

增生性瘢痕是临床上常见的皮肤病理性疾患,大多为创面愈合过程中过度修复所致。研究证实,转化生长因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 及其受体与增生性瘢痕的发生、发展密切相关<sup>[1]</sup>。笔者通过研究 TGF- $\beta$  及其 TGF- $\beta$  受体 (TGFR) I、TGFR II 在正常皮肤和增生性瘢痕组织中的分布及其表达,为进一步试验和临床治疗提供理论依据。

## 资料与方法

1. 标本收集:取临床手术切除后的增生性瘢痕 11 例和正常皮肤组织 7 例(包皮 3 例、腹部 2 例、胸和面部各 1 例),用体积分数 10% 甲醛固定,石蜡包埋,5  $\mu$ m 连续切片,病理诊断证实。将组织标本置于

4 $^{\circ}$ C、0.01 mol/L 磷酸缓冲液 (PBS, pH 7.3) 中洗去血液,用手术刀片将组织块修成 1.0 cm  $\times$  1.0 cm  $\times$  0.5 cm 大小,迅速置于体积 10 倍以上体积分数 4% 多聚甲醛中固定,于 4 $^{\circ}$ C 下过夜。

2. 主要试剂:兔抗 TGF- $\beta_1$ 、TGF- $\beta_2$ 、TGF- $\beta_3$ 、TGFR I 和 TGFR II 多克隆抗体为美国 Santa Cruz 公司产品;人 TGF- $\beta_1$ 、TGF- $\beta_2$ 、TGF- $\beta_3$  DNA 片段由瑞士巴塞尔大学医学院皮肤病研究所 Schmid 博士惠赠;TGFR、TGFR 探针 cDNA 片段由中国科学院上海细胞生物学研究所提供;地高辛 DNA 标记及显色试剂盒为德国 Boehringer Mannheim 公司产品;限制性内切酶 Nco I、EcoR I 和 Sal I 为美国 New England Biolabs 公司产品。

3. 探针标记:TGF- $\beta_1$ 、TGF- $\beta_2$ 、TGF- $\beta_3$  探针大小均为 339 bp, TGFR I 及 TGFR II cDNA 片段分别为 500 bp 和 700 bp,用随机引物法标记地高辛探针。

作者单位:200433 上海,第二军医大学长海医院全军烧伤中心(吕洛现在上海家化联合股份有限公司技术中心,201702);东南大学中大医院整形科(章庆国)



## 讨 论

TGF- $\beta$  在组织损伤修复过程中有重要的作用,也是与增生性瘢痕形成关系最为密切的生长因子之一。有资料显示,皮肤损伤后不久,局部的 TGF- $\beta$  及其受体表达即开始增加,在整个愈合过程中,TGF- $\beta$  及其受体表达的时相和空间结构也呈现出不同的变化<sup>[3,4]</sup>。因此,探讨 TGF- $\beta$  及其受体在正常皮肤和增生性瘢痕中组织的分布,对明确其在增生性瘢痕形成中的作用具有重要意义。

胎儿无瘢痕愈合的试验结果表明,在创面愈合过程中 TGF- $\beta$  通过促进细胞外基质过度沉积而导致病理性瘢痕的形成,其主要归因于 TGF- $\beta$  异构体中的 TGF- $\beta_1$  和 TGF- $\beta_2$ ; TGF- $\beta_3$  在创面愈合中可通过与受体亚单位竞争性结合下调 TGF- $\beta_1$  和 TGF- $\beta_2$  的产生,因此在创面愈合及瘢痕形成中与 TGF- $\beta_1$  和 TGF- $\beta_2$  具有不同的生物学作用<sup>[5]</sup>。在 TGF- $\beta_1$  过度表达的转基因鼠创面模型中,实验组创面 TGF- $\beta_3$  和 TGF- $\beta_2$  在相同时相点表达增加,而 TGF- $\beta_1$  表达减少,瘢痕形成也相应减少。此结果提示:TGF- $\beta$  的 3 个异构体在创面愈合过程中可能存在相互交叉的调节作用<sup>[6]</sup>。本研究结果显示:正常皮肤组织中,与 TGF- $\beta_1$ 、TGF- $\beta_2$  和 TGF- $\beta_3$  比较,TGF- $\beta_3$  和 TGF- $\beta_2$  呈较高表达;在增生性瘢痕组织中则呈现相反的结果。这表明 TGF- $\beta$  及其受体在正常皮肤和增生性瘢痕组织中不同信号的表达与其生物学作用直接相关。TGF- $\beta_1$  和 TGF- $\beta_2$  在增生性瘢痕组织中表达的增加,则进一步表明两者与瘢痕形成联系紧密;而 TGF- $\beta_3$  和 TGF- $\beta_2$  在增生性瘢痕表皮基底层中表达增加,提示 TGF- $\beta_3$  在抑制其细胞增殖方面有比 TGF- $\beta_1$  和 TGF- $\beta_2$  更强的生物活性<sup>[7]</sup>。

正常组织中细胞合成分泌后的 TGF- $\beta$  大多以潜活的复合蛋白肽分子出现。各种理化因素和组织蛋白酶作用及磷酸化,可激活潜活的 TGF- $\beta$  与靶器官细胞膜上的 TGF- $\beta$  受体结合,通过所产生的各种特异性信号而使其具有不同生物学作用<sup>[8]</sup>。TGF- $\beta$  受体亚单位的表达变化继 TGF- $\beta$  表达增加之后出现,其自身表达水平升高<sup>[9]</sup>。由此可见,TGF- $\beta$  与膜受体结合这一中心环节产生的结果与创面局部 TGF- $\beta_3$  相对于 TGF- $\beta_1$ /TGF- $\beta_2$ 、TGF- $\beta_2$ 、TGF- $\beta_1$  及 TGF- $\beta_1$  的比例直接相关,也是影响最终创面愈合质量的重要因素之一。本研究原位杂交的结果表明,增生性瘢痕中 TGF- $\beta_3$  相对于 TGF- $\beta_1$  和 TGF- $\beta_2$  的比例和 TGF- $\beta_2$  相对于 TGF- $\beta_1$  的比例减少这一变化,与增

生性瘢痕的形成有直接的关系。然而,基于目前对 TGF- $\beta$  与受体之间相互诱导作用机制了解甚少,此结果可能是由于不同受体亚单位与 TGF- $\beta$  异构体间的亲和力不同,以及 TGF- $\beta$  异构体构型的易变性不同所致<sup>[10]</sup>。

TGF- $\beta$  信号传递主要通过 TGF- $\beta$  R II 和 TGF- $\beta$  R I 两者所形成的杂二聚体<sup>[11]</sup>。在受体亚单位与 TGF- $\beta$  结合的复合体中,TGF- $\beta$  R I 和 TGF- $\beta$  R II 所占的比例不同是导致 TGF- $\beta$  异构体产生不同生物学作用的根本所在<sup>[12]</sup>。Levine 等<sup>[13]</sup>的研究证明,在创面愈合中 TGF- $\beta$  R II 与 TGF- $\beta_3$  的表达相同;当创面中 TGF- $\beta_3$  和 TGF- $\beta$  R II 表达缺失时,创面愈合组织则会过度增生。然而两个受体相对比例的变化对 TGF- $\beta$  下游靶器官信号传递的影响机制尚未阐明。有学者认为,当 TGF- $\beta$  R II 占优势时,有利于抗纤维化或减少瘢痕的形成;反之,则利于纤维化或瘢痕的形成<sup>[14]</sup>。本研究中,正常皮肤组织中 TGF- $\beta$  R II 和增生性瘢痕组织中 TGF- $\beta$  R I 蛋白和 mRNA 水平表达增高的结果也支持上述观点。同时 TGF- $\beta_1$ 、TGF- $\beta_2$  和 TGF- $\beta$  R I 在增生性瘢痕组织中也均有较高的表达,提示 TGF- $\beta$  R I、TGF- $\beta$  R II 可能在组织和细胞基因表达中和两者在 TGF- $\beta$  的信号传递中分别有不同作用,这一结果与国外学者的报道<sup>[15]</sup>一致。本研究结果表明,增生性瘢痕中 TGF- $\beta_1$ 、TGF- $\beta_2$  和 TGF- $\beta$  R I 的高表达以及 TGF- $\beta$  和 TGF- $\beta$  R II 的较高表达与瘢痕形成密切相关。提示在创面愈合过程中,可以通过在创面局部应用抗 TGF- $\beta_1$ 、TGF- $\beta_2$  中和抗体,或者应用外源性 TGF- $\beta_3$  来调整 TGF- $\beta$  超家族成员在创面愈合中的相应含量或比例,例如将 TGF- $\beta_3$  相对于 TGF- $\beta_1$ /TGF- $\beta_2$  的比例提高,对预防增生性瘢痕形成意义重大。有关 TGF- $\beta$  超家族分子的激活及其受体亚单位在信号传递中的作用机制等,仍有待进一步的研究。

## 参 考 文 献

- 1 O'kane S, Ferguson MW. Transforming growth factors  $\beta$  and wound healing. *Int Biochem Cell Biol*, 1997, 29:63-78.
- 2 倪灿荣,郑建明,朱明华,等. 催化信号放大系统的制备及其在免疫组织化学和原位杂交中的应用. *第二军医大学学报*, 2000, 21: 336-339.
- 3 Schmid P, Itin P, Ruffli T. In situ analysis of transforming growth factors-beta and TGF-beta type II receptor expression in basal cell carcinomas. *British J Dermatology*, 1996, 134:1044-1051.
- 4 Levine JH, Moses HL, Gold LI, et al. Spital and temporal patterns of immunore-active transforming growth factors- $\beta_1$ ,  $\beta_2$  and  $\beta_3$  during excisional wound repair. *Am J Pathol*, 1993, 143:368-380.
- 5 Shan M, Foreman DM, Ferguson MW. Neutralization of TGF- $\beta_1$  and TGF- $\beta_2$  or exogenous addition of TGF- $\beta_3$  to cutaneous rat

- wounds reduces scarring. *J Cell Science*, 1995, 108:985 - 1002.
- 6 Shah M, Revis D, Herrick S, et al. Role of elevated plasma transforming growth factor- $\beta_1$  levels in wound healing. *Am J Pathol*, 1999, 154:1115 - 1124.
  - 7 Frank S, Marianne M, Werner S. Transforming growth factors  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ , and their receptors are differentially regulated during normal and impaired wound healing. *J Bio Chem*, 1996, 274:1018 - 1019.
  - 8 Dubois CM, Laprise MH. Processing of transforming growth factor beta 1 precursor by human furin convertase. *J Biol Chem*, 1995, 270: 10618 - 10624.
  - 9 Gold LI, Sung JJ, Siebert JW, et al. Type I (RI) and type II (RII) receptors for transforming growth factor- $\beta$  isoforms are expressed subsequent to transforming growth factor- $\beta$  ligands during excisional wound healing repair. *Am J Pathol*, 1997, 50: 209 - 222.
  - 10 Pellaud J, Schote U, Arvinte T, et al. Conformation and self-association of human recombinant transforming growth factor-beta 3 in aqueous solutions. *J Bio Chem*, 1999, 274:7699 - 7704.
  - 11 Derynck R, Feng XH. TGF- $\beta$  receptors signaling. *Biochim Biophys Acta*, 1997, 1333: 105.
  - 12 Massague J. TGF- $\beta$  signal; receptor, transducers, and Mad protein. *Cell*, 1996, 85:947 - 950.
  - 13 Levine JH, Moses HL, Gold LI, et al. Spatial and temporal patterns of immunoreactive transforming growth factors  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  and  $\beta_3$  during excisional wound repair. *Am J Pathol*, 1993, 143:368 - 380.
  - 14 Mccaffrey TA, Consigli S, Du B, et al. Decreased type II/type I TGF- $\beta$  receptor ratio in cells derived from human atherosclerotic lesions; conversion from an antiproliferative to profibrotic response to TGF- $\beta_1$ . *J Clin Invest*, 1995, 6:2667 - 2675.
  - 15 Feng XH, Filvaroff EH, Derynck R. Transforming growth factor-beta (TGF-beta)-induced down-regulation of cyclin A expression requires a functional TGF-beta receptor complex. Characterization of chimeric and truncated type II receptors. *J Biol Chem*, 1995, 270: 24237 - 24245.
- (收稿日期:2002-11-28)  
(本文编辑:苟学萍)

## · 警钟 ·

# 洛阳 12·25 特大火灾警示

吕建中 史素玲 于爱香

特大火灾给人们的生命、财产带来巨大损失。2000 年 12 月 25 日,河南省洛阳市东都商厦舞厅发生火灾,致使 300 余人丧生。笔者分析了此次火灾的几个特点,以引起人们警惕。

洛阳市东都商厦为 20 世纪 50 年代的建筑,共 6 层,地下 2 层,地上 4 层,层距为 4 m 左右。当晚,3 名工人在进行焊接作业时违规操作,任由烧红的电焊渣掉到周围的易燃物品上,导致起火。开始火势并不大,但灭火人员经验不足、措施不力,加之起火地点为地下 2 层,该处未放置灭火器材,致使火势迅速蔓延。火灾发生时,地下 1、2 层及地上 1~3 层共有 200 多人,人员较为分散。起火以后,通过广播、呼叫等,这 200 多人迅速从各个通道逃出了大楼,无一例伤亡。而 4 楼的歌舞厅相对独立、密闭,与其他楼层虽有楼梯相通,但平时封闭未用,上、下楼均使用电梯。事发当晚正值圣诞夜,歌舞厅里的 300 多人尚在狂欢,因乐声太大,对火情并未察觉,甚至将起火导致的断电视为普通停电。起火后 1 h 左右,一股浓烟顺着楼梯涌入了舞厅,惊慌的人们狂奔、呼喊着冲向楼梯、电梯口。电梯已因停电不能使用,部分人被浓烟呛回或倒下,更多的人拥挤在楼梯口和电梯口,但无一人从楼梯逃出。

当消防队赶到时,4 楼的部分窗户已开始燃烧,很多人已经丧失逃生能力,仅用云梯救下 2 人;1 人从 4 楼跳到救生气垫上而获救;4 人躲入厕所用衣物堵住门缝防止浓烟窜入,直至获救;另有 10 人分散在 2 个小包间内,他们卸下窗式空调,立即涌入了新鲜空气,随后用空调堵住进烟口,并用

衣物护住口鼻,得以幸存。其余人员均死亡。

本次特大火灾共死亡 309 人,其中女 174 人、男 135 人。年龄 14~65 岁,其中 20 岁以下 11 人,20~40 岁 83 人(多为女性),40 岁以上 115 人。所有死亡人员均无皮肤烧伤,但面颈、前躯干多呈棕色,用力搓可致表皮脱落,咽部多有充血。一死者尸体解剖见咽、气管、肺肿胀,有血性液体渗出,组织变脆。本次火灾中,309 人均因吸入性损伤而死亡。

**讨论** (1)3 名电焊工人焊接时严重违反操作规程、火灾初发时灭火不力是本次事故的根本原因。提请人们工作时严格遵守规章制度,并且应大力普及防火、灭火知识,以杜绝类似灾难再次发生。(2)火灾中,烟雾比明火对人体危害更大,特别是在室内等密闭环境中,人体吸入大量的有毒烟雾后会迅速中毒、窒息死亡。故火灾发生时应尽量保持冷静,不可狂奔呐喊,以免吸入更多的烟雾。同时应迅速分辨大量烟雾的来向,向相反方向或向与外界相通的地方转移,以吸入新鲜空气。此时身体(特别是头部)应尽量放低,可弯腰甚至爬行,或者静止俯卧。暂时无法吸入新鲜空气者,可用湿毛巾、衣物等捂住口鼻,以过滤有毒烟雾。(3)受困者应服从指挥、听从救护安排,现场应保持良好的秩序。本次火灾发生后,消防队到达较及时,但由于现场极为混乱,各种营救措施收效甚微,运用云梯及救护气垫仅救获 3 人。救火的同时,用高音喇叭指挥火场内的人员有序撤离,并宣传生存、逃离的方法,将有助于更多的人获救。

(收稿日期:2001-09-10)

(本文编辑:罗勤)

作者单位:471003 洛阳,河南科技大学附属第一医院烧伤科