

2. 细胞周期调控因子 cyclinD1、CDK4、cyclinB1 的表达规律:各时相点 cyclinD1、CDK4、cyclinB1 表达的蛋白印迹图谱见图 1。cyclinD1 在伤后 3 d 表达明显升高,并维持高水平表达直至伤后 14 d。CDK4 在伤后 3 d 出现下降趋势,并在伤后 7 d 降至最低,伤后 14 d 开始回升。cyclinB1 的表达在该愈合过程中无明显起伏,略表现出逐渐下降的趋势。

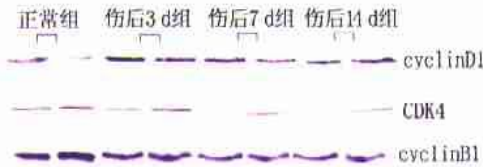


图 1 各组大鼠表皮细胞 cyclinB1、cyclinD1、CDK4 表达的蛋白印迹图谱

Fig 1 The expression of cyclinB1, cyclinD1 and cdk4 in each group by Western blotting

3. 表皮细胞 MPF 的组蛋白激酶活性:磷屏扫描结果显示,大鼠表皮细胞 MPF 的组蛋白激酶活性在伤前呈结构性表达,伤后 3 d 组和 7 d 组表达低下,14 d 组表达水平大幅上调,显著超出伤前的表达强度。见图 2、3。

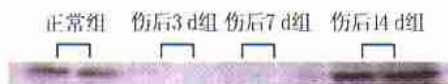


图 2 各组大鼠表皮细胞 MPF 活性测定

Fig 2 The MPF activity in each group

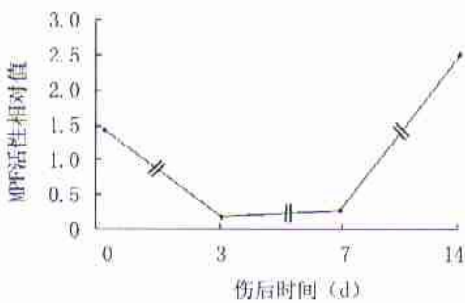
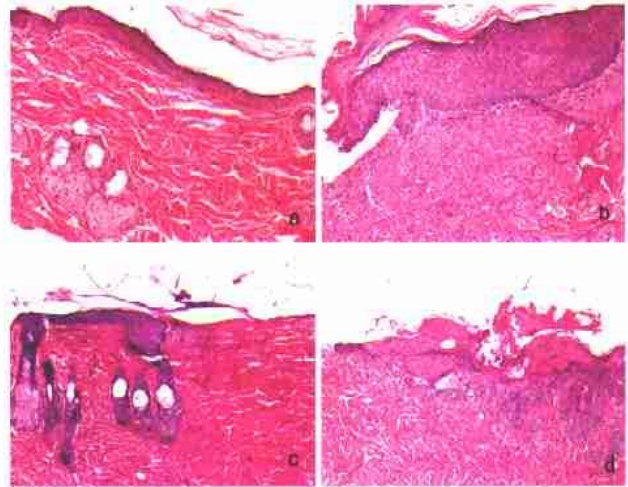


图 3 表皮细胞 MPF 活性变化规律

Fig 3 Changes in the MPF activity in each group

4. 表皮组织愈合过程中的组织学观察:烫伤后可见表皮层和附件完全被破坏,其组织学表现符合深 II 度烫伤病理学特征,说明模型建立成功。伤后 3 d 组大鼠创缘部位的表皮细胞层次增多,部分胞核及核仁变大。伤后 7 d 组表皮细胞层次进一步增多,核仁亦较 3 d 组时稍大。伤后 14 d 组创缘表皮细胞层厚度及数量明显增加,胞核、核仁明显增大,边缘毛糙(图 4)。



注:a 正常组;b 伤后 3 d 组创缘部位表皮细胞层次增多,部分胞核及核仁变大;c 伤后 7 d 组表皮细胞层次进一步增多,核仁亦较伤后 3 d 组增大;d 伤后 14 d 组创缘表皮细胞层厚度及数量明显增加,胞核、核仁明显增大,边缘毛糙

图 4 烫伤大鼠表皮组织愈合过程中的组织学观察 HE × 100  
Fig 4 Histological appearance of epidermal tissue during wound healing HE × 100

### 讨 论

深 II 度烫伤后,创缘表皮细胞伤后 3 d 便表现出增殖趋势,至伤后 14 d,创缘表皮细胞增殖旺盛。烫伤后 3 d,表皮细胞 DNA 合成呈逐渐上升趋势,而细胞有丝分裂在伤后 3 d 亦呈现活跃趋势,伤后 7、14 d 持续升高并显著高于伤前水平。细胞周期的检测结果与其组织学表现相吻合。

细胞周期的正常运行与细胞增殖直接相关。研究表明,细胞周期的正常运行有赖于类似“开关”的关键检查点,即维持细胞内事件之间正常依赖关系的调控机制,以保证各个细胞周期事件的启动、完成和严格地按序进行<sup>[1,4]</sup>。CDKs 的时相性激活是细胞周期调控机制的核心。它主要依赖于细胞周期素的细胞周期特异性或时相性表达、积累和分解。细胞周期受激酶复合物驱动,该复合物由一系列 cyclin 调节亚基和 CDK 催化亚基组成。在该调控机制中,G1/S 期和 G2/M 期检查点至关重要。cyclinD 与 CDKs 的结合是启动细胞周期、使细胞从 G1 末期进入 S 期的关键;另一重要的细胞周期素 cyclinB 在 S 期末表达并逐渐积累,于 G2 期达到高峰,其与 cdc2 激酶形成的复合物 MPF 受到复杂而有序的调控而被激活,从而诱导细胞进入 M 期。

本实验观察到皮肤组织中表皮细胞 cyclinD1 自伤后 3 d 起即明显升高,至 14 d 时仍保持在较高水平,而 CDK4 伤后 3 d 出现下降趋势,并在伤后 7 d