

法分别行整合素 β_1 和 K19 免疫细胞化学染色。每个标本随机选取 8 个视野,每视野计数细胞总数不少于 400 个,计算整合素 β_1 和 K19 强阳性细胞的百分率。整合素 β_1 染色强阳性标准:胞膜呈棕黄色;胞核蓝染,形如环状。K19 染色强阳性标准:胞质呈棕黄色,胞核蓝染。

1.7 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.0 统计软件分析,组间比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 克隆形成率及维持时间

有血清组细胞克隆形成率为 $(16.6 \pm 1.2)\%$,明显高于无血清组 $[(11.5 \pm 1.3)\%, P < 0.01]$ 。有血清组的克隆维持时间为 (16.6 ± 1.5) d,明显长于无血清组 $[(9.2 \pm 1.0)$ d, $P < 0.01]$ 。

2.2 细胞生长曲线

两组细胞的生长曲线均呈倒“S”型。培养第 1~5 天,无血清组细胞增殖较明显;第 9 天时无血清组 ESC 进入平台期,而有血清组继续增殖,第 11 天时达峰值,随后进入平台期(图 1)。

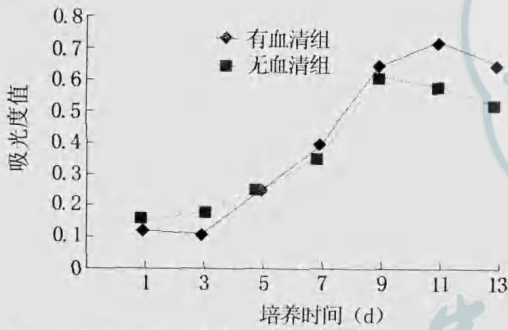


图 1 两组表皮干细胞的生长曲线

2.3 细胞周期分析

有血清组 G_0/G_1 期细胞比例明显高于无血清组 ($P < 0.01$),见表 1。

表 1 两组表皮干细胞细胞周期分析(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	G_0/G_1 期细胞	G_2/M 期细胞	S 期细胞
有血清组	4	83.9 ± 0.7^a	4.1 ± 0.5	12.2 ± 0.8
无血清组	4	76.0 ± 0.9	5.3 ± 0.6	16.6 ± 1.8

注:与无血清组比较,a: $P < 0.01$

2.4 整合素 β_1 和 K19 强阳性表达率检测

有血清组细胞整合素 β_1 和 K19 强阳性表达率分别为 $(59 \pm 4)\%$ 、 $(61 \pm 4)\%$,明显高于无血清组细胞 $[(45 \pm 4)\%$ 、 $(46 \pm 4)\%$, $P < 0.01]$ 。

3 讨论

有研究表明,无血清培养为 ESC 的研究提供了比传统方法更为有效的实验模型^[2]。本实验结果显示:在 ESC 培养的早期,无血清培养液更有利于 ESC 的分裂增殖;随着培养时间的延长,无血清组 ESC 在第 9 天就出现接触抑制,生长缓慢,而有血清组 ESC 则继续增殖,第 11 天时达到生长高峰。这表明有血清培养液更有利于 ESC 的增殖并维持 ESC 的未分化状态。

许多研究证实,ESC 膜上表达多种整合素、连接素等表面黏附分子,通过这些黏附分子介导 ESC 以半桥粒的形式黏附于基底膜上^[3]。同时,整合素还可调节 ESC 的增殖与分化。ESC 特性的维持依赖于与基底膜的黏附,失去黏附的 ESC 则启动终末分化过程。整合素 β_1 表达量降低会刺激 ESC 离开干细胞池,向上迁移成为分化细胞^[4]。本实验结果表明,有血清组 ESC 整合素 β_1 表达水平较无血清组高,可见有血清细胞培养液更有利于 ESC 表型的维持及其体外增殖。分析可能的原因有:(1)血清是由很多相对分子质量不同的生物分子组成的极为复杂的混合物,其中某些不明成分或可加强整合素 β_1 、连接素等介导的黏附作用,促进细胞与细胞、细胞与 IV 型胶原等细胞基质之间的黏附,有利于 ESC 的贴壁、生长、增殖。(2)血清中既有促进细胞生长代谢的成分,又有抑制细胞生长活性的成分,从而实现对生长调节平衡的影响^[5],最终完成整合素 β_1 的调节增殖和分化作用,使 ESC 不至于走向终末分化或细胞凋亡。

由此可见,无论是有血清还是无血清培养液,都可用于体外培养 ESC,但是前者对于 ESC 的体外生长增殖及表型的维持更为重要。

参考文献

- [1] 董蕊,金岩,刘源,等.人表皮干细胞在不同培养基中生长状态的观察及其生物学性状的初步探讨.中国修复重建外科杂志,2005,19(4):314-317.
- [2] 刘德伍,陈国安,曹勇,等.人表皮细胞无血清培养的实验研究.中华整形烧伤外科杂志,1997,13(6):417-420.
- [3] Webb A, Li A, Kaur P. Location and phenotype of human adult keratinocyte stem cells of the skin. Differentiation, 2004,72(8):387-395.
- [4] Bickenbach JR, Dunnwald M. Epidermal stem cells: characteristics and use in tissue engineering and gene therapy. Adv Dermatol, 2000,16:159-183,184.
- [5] Rippon HJ, Ali NN, Polak JM. Initial observations on the effect of medium composition on the differentiation of murine embryonic stem cells to alveolar type II cells. Cloning Stem Cells, 2004,6(2):49-56.

(收稿日期:2006-06-23)

(本文编辑:罗勤)

壬二酸乳膏和维 A 酸霜剂治疗面部烧伤后色素沉着

张志 李孝建 梁蓉 梁达荣 李叶扬 许伟石

基金项目:广东省医学科研基金(A2005566)

作者单位:510220 广州市红十字会医院烧伤整形科(张志、李孝建、梁蓉、梁达荣、李叶扬);上海交通大学医学院附属瑞金医院烧伤中心(许伟石)

1 资料与方法

1.1 临床资料

住院或门诊烧伤患者 42 例,其中男 13 例、女 29 例,年龄 16~47 岁,烧伤总面积 <30% TBSA。面部创面 3 周内愈合,均留有不同程度色素沉着。

1.2 治疗方法

患者于创面愈合后 1 周开始接受治疗,分为治疗组(24 例):用洁面乳清洁面部后,白天将质量分数 0.025% 维 A 酸霜剂(迪维霜,重庆华邦制药有限公司,批号 002190)均匀涂于面部,局部按摩 2 min,按摩时顺皮肤纹理缓慢直线往返移动或旋转移动;晚上将 150 g/L 壬二酸乳膏(壬二酸购自上海国药集团化学试剂有限公司,批号 30015782,由我院药剂室配制)均匀涂于面部,同法局部按摩 2 min;同时给患者口服维生素 C 0.2 g、维生素 E 0.1 g,3 次/d。对照组(18 例):除白天使用的药物为迪维霜基质,晚上为壬二酸乳膏基质外,其他处理同治疗组。治疗前在两组患者前臂皮肤试用迪维霜、壬二酸乳膏 3 d,如无发红、水肿、痒痛等不良反应方可用于面部。治疗 21 d 为 1 个疗程,观察 2 个疗程。所有患者在治疗期间避免日光照射。

1.3 疗效判定

治愈:患处原有色素沉着消失,与周围正常皮肤无明显差异。显效:患处原色素沉着面积缩小 2/3 以上,残留部位色素明显变浅,但未接近正常肤色。有效:患处原色素沉着面积缩小 1/3 以上,色素变浅但肤色未接近正常。无效:色素颜色和面积与治疗前比较无明显变化。

1.4 统计学处理

数据用 Ridit 方法分析,率的比较采用 χ^2 检验。

2 结果

对照组:显效 1 例、有效 6 例、无效 11 例,总有效率 38.9%;治疗组:治愈 2 例、显效 7 例、有效 12 例、无效 3 例,总有效率 87.5%。两组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。在治疗组 21 例判定有效的患者中,治疗 3 周见效者 4 例、4 周 3 例、5 周 6 例、6 周 8 例;对照组判定有效的 7 例中,5 周见效者 4 例、6 周 3 例。治疗组在治疗过程中有 3 例患者皮肤出现轻度潮红,无刺痛感,未予特殊处理,2~3 d 后自行缓解;对照组无任何不适。

典型病例:患者女,27 岁。面部煤气火焰烧伤,总面积 3% TBSA,浅 II 度,伤后 15 d 创面愈合。于愈合后 4 d 出现色素沉着(图 1)。给予祛色素治疗,2 个疗程后患者面部色素沉着全部消失(图 2),痊愈出院。

3 讨论

早期尽快消除烧伤部位的色素沉着,成为烧伤后康复治疗中不可回避的问题^[1]。烧伤后皮肤色素沉着的主要原因可能是损伤后局部皮肤代谢功能紊乱,致黑素细胞产生大量黑素小体,并被输送到皮肤基底层聚集在创伤部位。同时许多炎性介质和细胞因子能刺激黑素细胞的增生,加速其合成,引起色素沉着^[2]。

维 A 酸对刺激黑素细胞激素、霍乱毒素或 L-酪氨酸诱导



图 1 创面愈合后 4 d,患者面部出现色素沉着



图 2 治疗 2 个疗程后,患者面部色素沉着消失

的色素形成途径有较强的抑制作用^[3]。它可抑制细胞黑素形成,促进含有较多黑素颗粒的表皮(尤其是角质层)剥脱,并抑制黑素颗粒向角质形成细胞输送。壬二酸是天然直链饱和二羧酸,为酪氨酸酶的竞争性抑制剂,直接干扰黑素生物合成,选择性作用于异常活跃的和非正常的黑素细胞,抑制其过度活化^[4]。本研究中观察到,将维 A 酸与壬二酸联合应用,烧伤创面愈合后异常活跃的黑素细胞受到抑制,阻断了黑素形成,促进含黑素颗粒较多的表皮剥脱,使烧伤后色素沉着较快消退(多数患者治疗 6 周后色素基本消退)。治疗期间同时给患者口服维生素 C、E 等,可阻止黑素代谢的氧化过程,抑制其形成。此外,应鼓励患者多食用蔬菜、水果,减少日晒,注意劳逸结合,避免过度精神紧张。

参考文献

- [1] 陈璧. 深 II 度烧伤创面治疗与愈合后的关系. 中华烧伤杂志, 2005, 21(1): 9-11.
- [2] Slominski A, Tobin DJ, Shibahara S, et al. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. *Physiol Rev*, 2004, 84(10): 1155-1228.
- [3] Perez-Bernal A, Munoz-Perez MA, Camacho F. Management of facial hyperpigmentation. *Am J Clin Dermatol*, 2000, 1(5): 261-268.
- [4] Halder RM, Richards GM. Topical agents used in the management of hyperpigmentation. *Skin Therapy Lett*, 2004, 9(6): 1-3.

(收稿日期:2006-03-10)

(本文编辑:张红)