

· 论著摘要 ·

烫伤愈合过程中早期即刻基因的变化

丁韧 陈玉英 易静 汤雪明

角质细胞迁移形成新的表皮覆盖创面,是创面愈合的标志。早期即刻基因是一种转录因子,可以调控许多基因的转录,推测在细胞增殖启动方面可能起到了一定作用。本实验通过检测烫伤大鼠皮肤角质细胞中早期即刻基因 *c-myc*、*c-jun* mRNA 的变化,观察其在创面愈合中的作用。

材料与 方法

1. 动物模型及分组:清洁级 SD 大鼠(上海西普尔实验动物公司),雌雄不限,体重 200 ~ 250 g,参照文献[1]制作 10% TBSA 浅 II 度烫伤模型。烫伤实验组:分为伤后 1、3、5、7、10、14 d 6 个时相组,每组 6 只大鼠;正常对照组:6 只大鼠不作烫伤处理。

2. 样品处理及检测指标:于不同时相点麻醉处死烫伤大鼠,取创面皮肤标本,置入 OCT 液 -70 °C 保存待用。采用原位杂交法检测早期即刻基因 *c-myc* 和 *c-jun*,按武汉博士德公司试剂盒说明书操作。每张切片取 3 个不同视野,用 K400 图像处理系统进行表达强度分析,应用显微摄影系统(日本奥林巴斯 BH-2)照相。

结 果

正常大鼠皮肤表皮几乎不表达 *c-myc*。烫伤后 1 d,大鼠创缘表皮细胞 *c-myc* 表达增强,3 d 时除创缘及新生表皮细胞高表达外(图 1),毛囊上皮细胞表达增强(图 2),但创缘外围几乎不表达(图 3)。第 5 天起,大鼠创面表达开始减弱,至第 14 天创面愈合,*c-myc* mRNA 表达阴性(图 4)。在正常大鼠和烫伤大鼠皮肤标本中,*c-jun* mRNA 表达均为阴性。

讨 论

c-myc、*c-jun* mRNA 在皮肤创伤时的表达目前未见报道。笔者观察了烫伤后大鼠皮肤表皮细胞中 *c-myc*、*c-jun* mRNA 的变化,结果提示烫伤后第 1 天,皮肤表皮细胞即被启动,*c-myc* 表达明显。但早期即刻基因的启动是不一致的,有其选择性。因此,烫伤后创缘表皮细胞中未检测出 *c-jun* mRNA

的表达,这可能与 *c-myc*、*c-jun* mRNA 在细胞中的作用机制不同有关。*c-myc* 被认为在其它早期即刻基因未被诱导表达的情况下,可使细胞提早进入 S 期完成 DNA 合成。*c-jun* 则可能与细胞的分化关系更加密切,它可以激活角蛋白 K5、K14 和 K17。

Pawar 等^[2]曾检测体外培养的单层肾上皮细胞机械伤后 *c-jun*、*c-myc* 等早期即刻基因 mRNA 的变化,其结果与本研究结果趋势一致。此外,本研究结果与 Okada 等^[3]在角膜上皮创伤愈合的研究和 Hultgodh 等^[4]在大鼠动脉平滑肌细胞研究中的结果不同,后者认为 *c-jun* 参与了启动过程。原因可能与各自的实验条件和所研究的细胞、组织不同有关,但也提示早期即刻基因的表达有不一致性。

创伤引起早期即刻基因 *c-jun*、*c-myc* 变化的机制尚不清楚。据报道,创伤后损伤细胞释放的蛋白酶可以促使 *c-fos* 和 *c-myc* mRNA 的产生,角质细胞衍生生长因子可以增加 *c-fos*、*c-myc* 和 *c-jun* 的表达,也有人认为 cAMP、Ca²⁺ 对 *c-fos*、*c-jun* 的表达都有影响^[5-8]。早期即刻基因的作用及其调控是一个复杂的问题,牵涉到细胞内信号传递、核内转录水平的调控等,有待进一步研究。

参 考 文 献

- 冯世杰,花兰女,金曙文,等. 大鼠烫伤模型的制作. 上海第二医科大学学报, 1995, 15: 195.
- Pawar S, Kartha S, Toback FG. Differential Gene Expression in Migrating Renal Epithelial cells After Wounding. J Cellular Physiol, 1995, 165: 556 - 565.
- Okada Y, Saika S, Shirai K, et al. Immunolocalization of Proto-oncogene Products in Keratocytes after Epithelial Ablation, Alkali Burn and Penetrating Injury of the Cornea in rats. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 1998, 236: 853 - 858.
- Hultgodh NL, Lidahl C, Blomgren K, et al. Expression of Phenotype- and Proliferation-related Genes in Rat Aortic Smooth Muscle Cells in Primary Culture. Cardiovasc Res, 1997, 34: 418 - 430.
- Hatanaka M, Tsuboi K. Initiation of Wound Healing by Proteinases Re

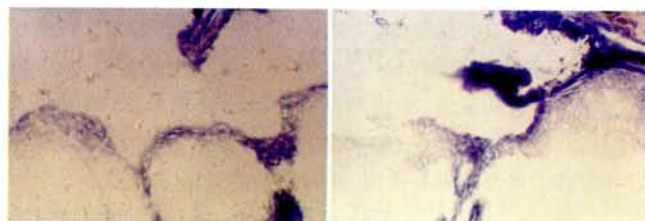


图 1 大鼠烫伤后 3 d。图片上方为坏死组织或焦痂,下方可见新生表皮及毛囊上皮细胞质中 *c-myc* 深蓝色染。NCIB/NBT × 50

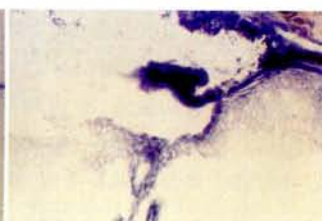


图 2 大鼠烫伤后 3 d,创缘表皮细胞及毛囊上皮细胞 *c-myc* 表达阳性。NCIB/NBT × 50



图 3 大鼠烫伤后 3 d,创缘外围表皮细胞 *c-myc* 表达阴性。NCIB/NBT × 50

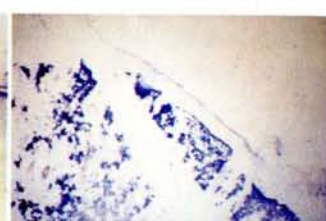


图 4 大鼠烫伤后 14 d,创面愈合,表皮层完整,表皮细胞中 *c-myc* 表达阴性。NCIB/NBT × 10

作者单位:200025 上海第二医科大学瑞金医院上海市烧伤研究所(丁韧);上海第二医科大学细胞生物学实验室(陈玉英、易静、汤雪明)

leased from Damaged Cells. *Int J Tissue React*, 1991, 13:249 - 255.

6 Tsuboi K, Yamaoka S, Maki M, et al. Soluble Factors Including Proteinases Released from Damaged Cells May Trigger the Wound Healing Process. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990, 168:1163 - 1170.

7 Kratz G, Jonzon B, Hultgd, et al. Characterization and Partial Purification of a Keratinocyte-derived Growth Factor with Wound Healing Properties. *Cell Biochem Funct*, 1997, 15:153 - 162.

8 Rosenfeldt H, Lee DJ, Grinnell F. Increased c-fos mRNA Expression by Human Fibroblasts Contracting Stressed Collagen Matrices. *Mol cell Biol*, 1998, 18:2659 - 2667.

(收稿日期:2001-07-21)
(本文编辑:王旭)

· 病例报告 ·

治愈 100% TBSA 严重烧伤合并重度吸入性损伤一例

张树堂 李树仁 田社民 赵春安 牛希华 赵耀华 吕涛

患者男, 24 岁, 二甲苯爆炸烧伤后 1 h 入院。查体: 体温 35.5℃, 心率 142 次/min, 呼吸 36 次/min, 意识清楚, 精神差, 口渴、烦躁、声音嘶哑、双肺呼吸音粗, 心音有力。烧伤总面积达 100%, 除头面部、会阴、双足底有 4% TBSA II 度烧伤外, 其余均为 III 度烧伤。鼻毛、鼻尖、耳廓烧焦, 双手十指远端干枯坏死。X 线胸片显示: 肺纹理增粗, 有炎症及肺水肿表现。入院诊断: (1) 特重烧伤; (2) 重度吸入性损伤; (3) 休克; (4) 苯中毒。

入院后立即行高位大隐静脉切开快速补液, 入院后 3 h 补液 6 200 ml。同时行气管切开及四肢、胸腹部焦痂切开减张术, 留置尿管、吸氧、注意全身保暖, 定时监测体温、心率、呼吸、血氧饱和度、中心静脉压等。第 1 个 24 h 补液 17 500 ml, 其中电解质 4 100 ml, 电解质与胶体比例为 1.08:1, 平均尿量 90 ml/h。伤后 24 h 行四肢、胸腹部切痂异体皮移植及头皮削痂术, 切痂面积 49%、削痂面积 2% TBSA。伤后第 9 天, 取头皮约 4.5% TBSA, 行四肢、胸腹部微粒皮移植。第 10 天患者肺部气管坏死粘膜开始脱落, 出现胸闷、呼吸困难, 血氧饱和度降至 0.89。纤维支气管镜检查结果显示, 气管、左右支气管、叶段支气管、亚段支气管粘膜均充血水肿, 有小水疱, 大部分粘膜苍白并有脱落, 诊断为重度吸入性损伤。遂给予呼吸机辅助呼吸, 以及气道湿化、雾化、灌洗及湿化液中加入地塞米松等治疗措施。伤后第 38 天, 患者肺内陆续有坏死粘膜排出, 大小不等, 最大为 1.5 cm × 9.0 cm。伤后第 59 天拔除气管套管。之后陆续采用微粒皮移植术修复肉芽创面, 其间头枕部取皮 9 次, 双足底取皮 5 次, 共做手术 10 次, 总植皮面积 106% TBSA, 双手十指末节截除, 双耳大部分缺失。经多次换药, 全身营养支持, 创面于伤后 140 d 痊愈。

特大面积深度烧伤患者死亡率极高, 吸入性损伤是严重烧伤后三大死亡原因之一^[1], 重度吸入性损伤的死亡率常在 90% 以上^[2]。本例患者治疗成功的体会如下:

1. 积极抗休克治疗是大面积深度烧伤救治成功的基础。补液计划不应拘泥于公式, 而是依据患者抗休克指征的变化及时调整补充。经抢救治疗, 该患者各项检测符合临床休克期切痂手术指征^[3]。

2. 重视气管切开及机械通气。紧急气管切开、加强辅助呼吸、切开躯干焦痂, 及时解除焦痂对呼吸运动的限制, 是保障呼吸道畅通, 减轻或避免低氧血症发生的有力措施。另外, 当患者心率在 120 ~ 150 次/min 时, 心输出量降低, 心肌耗氧量增加, 此时容易发生心功能不全。为此给予患者 β-肾上腺素受体阻滞剂: 索特洛尔 80 mg, 口服, 2 次/d, 使心率控制在 100 次/min 左右。

3. 早期大面积切痂有利于防治全身性感染。细菌的主要来源是创面, 尽早去除坏死组织并有效覆盖创面, 是消灭感染于萌芽状态的最佳选择。在患者伤后 24 h, 笔者曾一次性切除四肢、胸腹部焦痂创面达 49% TBSA、头皮削痂面积 2% TBSA, 使全身中毒症状明显减轻, 有效控制了创面有害毒素的侵袭及全身感染的程度。

4. 伤后 24 h 削除头部焦痂, 促进创面愈合, 尽早解决自体皮源不足的问题。患者烧伤总面积 100%, 自体皮源极端紧缺。在有效抗休克的前提下, 笔者于伤后 24 h 为患者进行头部削痂, 术后创面喷洒重组人表皮生长因子(深圳华生元基因工程发展有限公司), 用莫匹罗星软膏油纱(中美天津史克制药有限公司)覆盖包扎, 以促进头皮创面生长。伤后第 9 天开始切取头皮, 对第 1 次手术切痂的 49% 创面进行自体微粒皮移植。但由于头皮未完全愈合, 影响了微粒皮成活质量, 应引以为戒。

5. 在晚期肉芽创面上进行大面积微粒皮移植, 效果好。由于患者自体皮质量差, 创面感染后坏死组织多, 导致皮片成活率低, 遗留较多肉芽创面。分别与伤后第 56、78 天, 在躯干、双大腿根部、双肩等处剥痂或肉芽创面上行微粒皮移植, 两次手术面积共 31% TBSA。为了预防感染, 最大限度保障微粒皮成活, 除对肉芽创面精心处理外, 还将异体皮用轧皮机打成 0.5 cm 的网洞, 加强引流。同时注意术后全身营养支持及抗感染措施, 及时有效地封闭了创面。

参 考 文 献

1 黎鳌. 关于我国烧伤防治研究工作存在问题的商榷. *中华外科杂志*, 1992, 30:259.

2 黎鳌, 杨宗城. 主编. 吸入性损伤. 北京: 人民军事出版社, 1993. 302.

3 郭振荣, 盛志勇. 慎重稳妥地开展大面积烧伤休克期切痂植皮. *中华整形烧伤外科杂志*, 1998, 14:321 - 322.

(收稿日期:2001-12-20)
(本文编辑:王旭)

作者单位:450004 郑州市第一人民医院烧伤科