

· 瘢痕的形成与防治 ·

腱糖蛋白 C 在瘢痕疙瘩和增生性瘢痕中的表达

贺肖洁 韩春茂

【摘要】 目的 观察腱糖蛋白 C(Tn-C)在瘢痕疙瘩和增生性瘢痕中的表达规律。方法 取瘢痕患者的瘢痕疙瘩和 6~10 个月增生性瘢痕组织各 10 例,并取部分患者距瘢痕边缘 1 cm 的正常皮肤;另取手术剩余的正常成人皮肤组织 5 例。采用免疫组织化学方法,检测 Tn-C 在瘢痕疙瘩、增生性瘢痕和正常成人皮肤中的表达。结果 正常成人皮肤中 Tn-C 表达稀少,局限在真皮-表皮交界的乳头真皮,部分靠近基底膜血管和皮肤附件。Tn-C 在瘢痕疙瘩和增生性瘢痕的真皮瘢痕组织、皮肤附件中呈弥散分布,表达显著增强($P < 0.01$),以瘢痕疙瘩的增强尤为明显。瘢痕疙瘩旁正常皮肤附件的 Tn-C 较正常皮肤表达增强,在增生性瘢痕旁的正常皮肤中未见到 Tn-C 的高表达。结论 Tn-C 在瘢痕疙瘩和 6~10 个月增生性瘢痕中呈异常高表达,值得进一步研究。

【关键词】 瘢痕疙瘩; 腱糖蛋白; 增生性瘢痕

Study on the expression of tenascin-C in keloid and hyperplastic scar HE Xiao-jie, HAN Chun-mao. Department of Burns, The Second Affiliated Hospital of School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310009, P. R. China

Corresponding author: HAN Chun-mao, Email: Hancm@mail.hz.zj.cn, Tel: 0571-87784585

【Abstract】 Objective To investigate the expression of tenascin-C (Tn-C) in keloid and hyperplastic scar (HS). Methods Tissue samples were harvested from 10 patients with keloid and 10 with HS (6-10 months) and from the skin of 5 adult healthy volunteers. The expression of Tn-C in these samples was determined with immunohistochemistry method. Results There was scarce expression of Tn-C in the skin tissue in adult healthy volunteers, and it was only present in the dermal papillae at the dermis epidermis junctions and partly in the blood vessels and skin appendages adjacent to the basement membrane. There was enhanced expression of Tn-C in the dermal scar tissue and skin appendages in both keloid and HS, especially in keloid, which exhibited a diffused pattern in the tissue. When compared with that in normal skin, the Tn-C expression in the normal skin adjacent to the keloid was enhanced markedly, but not in the normal skin near HS tissue. Conclusion There was increased Tn-C expression in keloid and HS (6-10 months).

【Key words】 Keloid; Tenascin; Hyperplastic scar

腱糖蛋白(tenascins, Tns)是细胞外基质中一个具有独特六聚体结构的寡聚糖蛋白家族,至今已有 Tn-C、Tn-R、Tn-X、Tn-Y 4 种异构体。Tns 与胚胎形成、肿瘤发生及损伤修复过程有关,参与细胞活动的一系列调节机制^[1,2]。笔者运用免疫组织化学方法检测了 Tn-C 在人瘢痕疙瘩和增生性瘢痕中的表达情况,观察其变化规律。

资料与方法

1. 标本来源及处理:收集笔者单位 2000 年 6 月~2001 年 6 月瘢痕疙瘩和增生性瘢痕患者手术中切除的瘢痕标本,其中瘢痕疙瘩 10 例,男 3 例、女 7 例;增生性瘢痕 10 例(瘢痕增生 6 个月 7 例,7 个月 1 例,8 个月 1 例,10 个月 1 例),男 9 例、女 1 例。

另取部分患者距瘢痕疙瘩和增生性瘢痕边缘 1 cm 之内的正常皮肤标本。用于对照的正常皮肤取自整形外科门诊腋臭、痣切除患者 5 例,男 2 例、女 3 例(排除有瘢痕增生史)。标本离体后立即取材,用质量浓度 10% 多聚甲醛固定、脱水,二甲苯致透明,浸蜡包埋,切片厚度为 5 μm 。

2. 免疫组织化学染色:石蜡切片常规脱蜡入水后,用 1 \times EDTA 组织抗原修复液浸泡,加入抗 Tn-C 抗体(MAB-0372, Clone: T₂H₅),采用链霉素抗生物素蛋白-过氧化酶免疫组化染色超敏(SP)法,检测瘢痕疙瘩、增生性瘢痕中 Tn-C 的表达情况,上述试剂均购自福建迈新生物技术公司。同时设正常对照(正常皮肤)、阳性对照(乳腺癌癌变组织)、阴性对照(磷酸盐缓冲液)代替一抗。阳性信号为棕黄色颗粒,分布于胞浆、细胞外基质。

3. 综合染色强度和阳性细胞数分级:SP 法染色后在显微镜(日本 Olympus 公司)下观察。取表达

作者单位:310009 杭州,浙江大学医学院附属第二医院烧伤科
通信(讯)作者:韩春茂, Email: Hancm@mail.hz.zj.cn, 电话:

0571-87784585

最强的部位,按着色程度评分:基本未着色、染色与背景相似者为 0 分;着色浅,略高于背景者为 1 分;中度着色、明显高于背景者为 2 分;深度着色者为 3 分。按阳性细胞数评分:阳性细胞数 < 25% 为 0 分, 25% ~ 49% 为 1 分, 50% ~ 75% 为 2 分, > 75% 为 3 分。两项相加后用以下方式表示:0 ~ 1 分为 (-), 2 分为 (+), 3 ~ 4 分为 (++) , 5 分以上为 (+++)。

4. 统计学处理:应用 STAT 4.0 统计软件。用 χ^2 检验和方差分析处理数据。

结 果

1. Tn-C 在正常皮肤中的表达:Tn-C 在正常皮肤表皮中呈阴性表达;在真皮内分布于真皮-表皮交界的乳头真皮处,呈少量、不连续、斑点样表达;汗腺导管、皮脂腺、毛囊等皮肤附件及靠近基底膜的血管有部分表达,着色颗粒位于胞浆,见图 1。



图 1 腱糖蛋白 C 在正常皮肤组织中的表达 SP×400
Fig 1 Expression of Tn-C in the normal skin SP×400

2. Tn-C 在瘢痕疙瘩中的表达:在 10 例瘢痕疙瘩表皮中 Tn-C 表达均呈阴性;在瘢痕疙瘩真皮组织中 Tn-C 呈弥散分布,主要见于成纤维细胞、胶原纤维、血管内皮、平滑肌细胞和皮肤附件(瘢痕组织中皮肤附件较少),见图 2。瘢痕疙瘩真皮中 Tn-C 的表达比正常皮肤明显增强 ($P < 0.01$),见表 1。距瘢痕疙瘩边缘 1 cm 内的组织中 Tn-C 的表达较正常皮肤强,主要分布在汗腺导管细胞,着色颗粒粗大,同时伴有部分汗腺腺泡及纤维层阳性表达。毛囊阳性信号集中于毛乳头,见图 3。

表 1 腱糖蛋白 C 在不同组织真皮中的表达情况

Tab 1 Comparison of expression of Tn-C in the dermis of Keloid, hyperplastic scar and normal skin

标本类别	例数	阳性强度		
		+	++	+++
瘢痕疙瘩	10	0*	4*	6*
增生性瘢痕	10	0*	8*	2*
正常皮肤	5	5	0	0

注:与正常皮肤比较, * $P < 0.01$

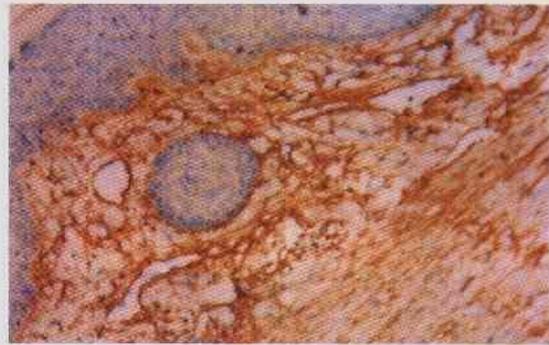


图 2 腱糖蛋白 C 在瘢痕疙瘩真皮中的表达 SP×400
Fig 2 Positive expression of Tn-C in keloid dermis SP×400



图 3 距瘢痕疙瘩边缘 1 cm 正常皮肤毛囊中腱糖蛋白 C 呈阳性表达 SP×400
Fig 3 Positive expression of Tn-C in hair follicles in normal skin near the edge of the keloid SP×400

3. Tn-C 在增生性瘢痕中的表达:增生性瘢痕表皮中 Tn-C 表达阴性;在真皮中 Tn-C 呈弥散性分布,阳性信号表达部位同瘢痕疙瘩(图 4),其表达强度明显强于正常皮肤组织的真皮 ($P < 0.01$),但与瘢痕疙瘩真皮比较,差异无显著性意义 ($P > 0.05$),见表 1。增生性瘢痕旁正常皮肤附件中未见 Tn-C 的高表达



图 4 腱糖蛋白 C 在增生性瘢痕真皮组织中的表达 SP×400
Fig 4 Positive expression of Tn-C in the dermis of the hyperplastic scar SP×400

讨 论

瘢痕疙瘩和增生性瘢痕为创面过度增生所致,国内外许多学者曾对其形成机制进行过研究,由于

受客观实验条件限制,目前在认识上不够全面和统一,瘢痕防治仍是一个难题。

在正常成人皮肤中,Tn-C 表达局限、稀少,笔者的观察结果与国外报道^[3,4]相符。但在皮肤损伤修复时,伤后 1 d Tn-C 表达迅速增强,连续分布于创缘,以扩散的方式遍及基质直至创面愈合(伤后 14 d)^[5]。婴幼儿皮肤伤后 1 h 即出现 Tn-C 表达增强,伤口愈合后 Tn-C 消失的时间比成人早^[4],笔者推测婴幼儿伤后皮肤快速无瘢痕愈合可能与 Tn-C 相关。

本实验中,Tn-C 在瘢痕疙瘩和增生性瘢痕真皮组织中呈弥散分布,表达显著增强,以瘢痕疙瘩增强更为明显。随着病程延长增生性瘢痕逐渐成熟,有研究报道,伤口愈合后 12 个月瘢痕组织中 Tn-C 的表达情况接近正常皮肤^[6]。本研究所采用的标本多为 6 个月的增生性瘢痕,占样本量的 70%。胶原纤维和胶原束仍呈过度增生,其中细胞、血管成分仍较多,属未成熟瘢痕,但 Tn-C 的表达明显强于正常皮肤。瘢痕疙瘩的病程虽长达数年之久,但 Tn-C 在其真皮仍呈弥散性高表达。说明瘢痕疙瘩可长期保持不成熟的瘢痕组织状态,有别于增生性瘢痕。

真皮成纤维细胞被认为是 Tn-C 的主要细胞来源,Tn-C 的表达可能反映了不断发展的纤维生成过程。据报道,间质性肺炎中,Tn-C mRNA 在肌成纤维细胞和 II 型肺泡上皮细胞组成的新生纤维灶中有表达,而陈旧的纤维化区域没有 Tn-C mRNA 表达^[7]。推测瘢痕疙瘩成纤维细胞中存在着变异的反馈机制来调节 Tn-C 的产生,这可能与其纤维生成活性延长有关^[3]。 $\alpha_2\beta_1$ 整合素是一种细胞胶原受体,也是 Tn-C 的受体^[8]。伤口愈合时,表达增加的 Tn-C 可与 I 型胶原竞争性地结合 $\alpha_2\beta_1$,导致细胞黏

附减弱,使细胞迁徙,通过影响新的基质形成而妨碍真皮结构与收缩性的重塑。提示细胞外基质对瘢痕创面过度增生的生物学特征有一定作用。当伤口完全愈合时,Tn-C 水平下降至正常,伤口中胶原得以与 $\alpha_2\beta_1$ 整合素结合,稳定了重塑的真皮。在瘢痕疙瘩中 Tn-C 一直处于高水平状态,影响胶原重塑。瘢痕疙瘩旁正常皮肤附件的 Tn-C 与正常皮肤比较表达增强,这与 Tn-C 在瘢痕疙瘩与旁边正常皮肤中的表达存在明显分界的报道^[3]有所不同。而增生性瘢痕旁正常皮肤中未见 Tn-C 的高表达,推测与瘢痕疙瘩逐步侵及正常皮肤有内在的联系。Tn-C 在伤口愈合中的具体作用机制还有待于进一步研究证实。

参 考 文 献

- 1 Curzio RR, Ruth CE, Sefic SA. Tenascin, an ECM protein, exerts immunomodulatory activities. *Cell Biol*, 1989, 86:7437 - 7441.
- 2 贺肖洁,韩春茂,马奇. 瘢痕疙瘩发病机制的研究进展. *中华烧伤杂志*, 2002, 18:56 - 59.
- 3 Dalkowski A, Schuppan D, Orfanos CE, et al. Increased expression of tenascin-C by keloids in vivo and in vitro. *Br J Dermatol*, 1999, 141:50 - 56.
- 4 Mieke A, Latijnhouwers MBH. Tenascin expression during wound healing in human skin. *J Pathol*, 1996, 178:30 - 35.
- 5 Filsell W, Rudman S, Jenkins G, et al. Coordinate upregulation of tenascin-C expression with degree of photodamage in human skin. *Br J Dermatol*, 1999, 140:592 - 599.
- 6 Kurt W, Chen L, Prediman K, et al. Tenascin-C is expressed in macrophage-rich human coronary atherosclerotic plaque. *Circulation*, 1999, 99:1284 - 1289.
- 7 Paavo P, Ritta K, Raimo P, et al. Tenascin mRNA expression at the foci of recent injury in usual interstitial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 161: 967 - 972.
- 8 Nakaoka H, Miyauchi S, Miki Y, et al. Proliferating activity of dermal fibroblasts in keloids and hypertrophic scars. *Acta Derm Venereol*, 1995, 75:102 - 104.

(收稿日期:2003-01-06)
(本文编辑:赵敏 王旭)

· 经验交流 ·

皮下注射法的改进

赵耀华 吴兰草 赵春安 曹平

烧伤、整形手术中,为获取较薄、较大的皮片,减少创面出血,常采用皮下注射法推注液体,操作耗时、费力。笔者应用上海安吉尔电子设备有限公司生产的 AJ 5800 型电脑输液泵进行自动皮下注液,收到了较好的效果,现作简单介绍。

将已配制好的皮下水肿液加入电脑输液泵中,连接输液管与输液泵,流量调整为 1000 ml/h,用 9 号或 10 号穿刺针

于取皮部位行皮下穿刺,启动输液泵,可见皮下组织缓慢水肿。当液体压力达到报警阈值时,变换穿刺部位,重新启动输液泵。也可持续按压冲洗键进行输注。

此法简单易行,同样适用于头皮部位的皮下注射,可于手术前半小时在病房内进行,缩短了手术时间。

(收稿日期:2002-05-14)
(本文编辑:莫愚 罗勤)

作者单位:450004 郑州市第一人民医院烧伤科