

· 短篇论著 ·

人瘢痕组织中钙/钙调蛋白依赖性丝氨酸蛋白激酶的表达

冯登超 贺光照 江川

1 对象与方法

1.1 主要试剂和仪器

兔抗人钙/钙调蛋白依赖性丝氨酸蛋白激酶(CASK)多克隆抗体、兔抗人β肌动蛋白单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔多克隆抗体、增强型化学发光(ECL)试剂盒(美国 Santa Cruz 公司),二辛丁酸试剂盒(北京百泰克生物技术有限公司),聚偏二氟乙烯膜(美国 Millipore 公司)。酶标仪(奥地利 Anthosht 公司),电泳仪、凝胶成像仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.2 标本采集及分组

取笔者单位 2006 年 9 月—2007 年 5 月 45 例患者手术切除的病理性瘢痕组织。其中男 18 例、女 27 例,年龄 12~46 岁。分为增生性瘢痕(HS)组 20 例(男 8 例、女 12 例)和瘢痕疙瘩组 25 例(男 10 例、女 15 例)。瘢痕增生时间均为 3 个月~2 年,所切瘢痕经病理学诊断证实为 HS 或瘢痕疙瘩。患者术前 1 年内均未做任何治疗。同时取该 45 例患者中的 12 例(男 5 例、女 7 例)作为对照组,所取标本为患者手术供皮区取皮修剪后剩余皮片。患者或家属知情同意。

1.3 各组 CASK 蛋白表达水平的检测

采用蛋白质印迹法检测,以 ECL 法显色,凝胶成像仪采取图像,用 Quantity One 分析软件进行分析。以目的蛋白条带灰度与β肌动蛋白灰度之比表示 CASK 的相对表达水平。

1.4 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 12.0 统计软件行 *F* 分析。

2 结果

HS 组 CASK 蛋白含量为 2.2 ± 0.5 ,瘢痕疙瘩组为 4.2 ± 0.4 ,均高于对照组(0.7 ± 0.3 , $P < 0.01$);而瘢痕疙瘩组又明显高于 HS 组($P < 0.01$)。见图 1。

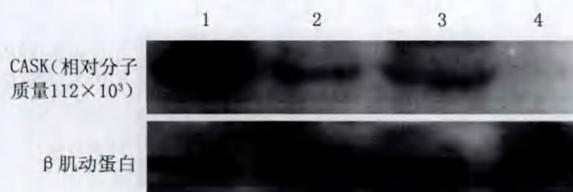


图 1 各组标本钙/钙调蛋白依赖性丝氨酸蛋白激酶(CASK)的表达。1. 瘢痕疙瘩组;2、3. 增生性瘢痕组;4. 对照组

作者单位:400016 重庆医科大学附属第一医院烧伤整形科(冯登超现在延安大学附属医院烧伤整形科,716000)

通讯作者:贺光照,Email: glenghz@yahoo.com.cn,电话:023-89012018

3 讨论

缺氧可促进皮肤瘢痕成纤维细胞增殖^[1],上调人血管内皮细胞 CASK 的表达^[2-3]。组织内缺氧可能是诱发瘢痕增生的关键因素之一^[4]。常氧情况下,即使在培养基中加入生长因子,单个成纤维细胞亦不能增殖,而在低氧条件下则能不断增殖^[5]。有学者应用基因芯片技术规模化筛选缺氧反应基因,CASK 位列其中^[6]。王西樵等^[7]的研究显示,HS 成纤维细胞增殖活性的激活是由于瘢痕组织内胶原的大量产生和堆积,导致微血管狭窄、闭塞和缺氧所致。另有研究表明,缺氧应激可以激活哺乳动物细胞的 c-Jun 氨基末端激酶信号通路^[8-9]。苏踊跃等^[2]观察到,短期缺氧刺激可以上调血管内皮细胞 CASK 的表达。陈建等^[3]的研究也表明,缺氧不但能改变血管内皮细胞 CASK 的表达,且随细胞缺氧时间延长,CASK 表达增强,明显改变发生在缺氧 3 h 后,6 h 达高峰,12 h 仍维持在较高水平。目前,关于 HS 和瘢痕疙瘩中 CASK 的研究报道较少。笔者应用蛋白质印迹法检测组织中 CASK 的表达,结果瘢痕疙瘩和 HS 组织中 CASK 蛋白表达量明显高于正常皮肤组织($P < 0.01$)。推测前 2 种组织的形成可能与缺氧刺激导致 CASK 的高表达有关,至于 CASK 在瘢痕形成中的作用及机制,尚待进一步研究。

参考文献

- [1] 李高峰,谭军,钟茜,等. 不同程度缺氧对体外培养的瘢痕成纤维细胞增殖的影响. 中国实用美容整形外科杂志,2006,17(1):72-74.
- [2] 苏踊跃,梁光萍,刘友生,等. c-Jun 氨基末端激酶信号通路对缺氧上调血管内皮细胞钙/钙调蛋白依赖性丝氨酸蛋白激酶表达的影响. 中华烧伤杂志,2007,23(3):198-200.
- [3] 陈建,梁光萍,苏踊跃,等. 缺氧对 ECV-304 细胞 CASK 表达及细胞内分布的影响. 第三军医大学学报,2007,29(12):1142-1144.
- [4] 秦泽莲. 增生性瘢痕异常增生的启动因素. 中华整形外科杂志,2003,19(2):135-137.
- [5] Falmga V, Kirsner RS. Low oxygen stimulates proliferation of fibroblasts seeded as single cells. J Cell Physiol, 1993, 154(2):506-510.
- [6] Manalo DJ, Rowan A, Lavoie T, et al. Transcriptional regulation of vascular endothelial cell responses to hypoxia by HIF-1. Blood, 2005, 105(2):659-669.
- [7] 王西樵,陆树良,毛志刚,等. 增生性瘢痕中血管内皮细胞生物学功能的研究. 中华烧伤杂志,2007,23(3):219-221.
- [8] McCloskey CA, Kameneva MV, Uryash A, et al. Tissue hypoxia activates JNK in the liver during hemorrhagic shock. Shock, 2004, 22(4):380-386.
- [9] Dougherty CJ, Kubasiak LA, Frazier DP, et al. Mitochondrial signals initiate the activation of c-Jun N-terminal kinase (JNK) by hypoxia-reoxygenation. FASEB J, 2004, 18(10):1060-1070.

(收稿日期:2007-12-28)

(本文编辑:张红)