

· 短篇论著 ·

黄嘌呤氧化酶在人病理性瘢痕表皮中的表达

李伟人 岑瑛 于蓉 廖殿英

自由基增多在动脉粥样硬化、肝纤维化、慢性间质性肺炎和肺肉芽肿等多种纤维化疾病的发病中具有重要意义。研究表明,病理性瘢痕的发生也与自由基增多有关^[1-3]。黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XO)途径是体内产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)的重要来源之一,现已知表皮中存在 XO,但有关 XO 在人病理性瘢痕表皮中的分布及变化尚不清楚,笔者对此进行了观察。

1 对象与方法

1.1 标本来源

皮肤标本均取自笔者单位门诊和住院患者(供者知情同意,且均无全身结缔组织疾病及重要脏器器质性病变,局部无溃疡及感染)。其中瘢痕疙瘩组(K组)10例,男4例、女6例,年龄(23±7)岁,平均病程26个月;增生性瘢痕组(HS组)10例,男4例、女6例,年龄(21±6)岁,平均病程8个月;正常皮肤组(N组)8例,年龄(23±7)岁。增生性瘢痕与瘢痕疙瘩根据瘢痕范围是否超过原发病灶,是否有向四周浸润生长的倾向而确定,并经常规病理切片证实。

1.2 主要仪器和试剂

BX51型光学显微镜和图像分析系统购自日本 Olympus 公司,兔抗 XO 单克隆抗体购自武汉博士德生物工程有限公司,通用型生物素-链霉亲和素-辣根过氧化物酶免疫组织化学染色试剂盒、二氨基联苯胺均为福州迈新生物技术开发公司产品。

1.3 表皮细胞层数的测定

部分皮肤标本用 100 g/L 多聚甲醛固定后石蜡包埋,切片,HE 染色,用图像分析系统测定表皮细胞层数(每张切片在高倍镜下任选 3 个视野)。

1.4 XO 阳性细胞表达的检测

部分皮肤标本行超薄切片(厚 3 μm),免疫组织化学染色按试剂盒说明书操作,兔抗 XO 单克隆抗体工作浓度 1:50。XO 阳性染色为棕黄色颗粒,定位于胞质。阳性细胞数评分:阳性细胞数 < 10% 为 1 分,10% ~ 50% 为 2 分, > 50% 为 3 分;染色强度评分:染色强度与阳性对照相似为 3 分,呈弱阳性但不同于阴性对照为 1 分,介于二者之间为 2 分;将上述 2 种评分相加后进行综合评分^[4]。

1.5 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 12.0 统计分析软件处理。3 组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验,两组间比较采用 Mann-Whitney 检验。

2 结果

2.1 表皮细胞层数

与 N 组(4.3±1.1)层比较,HS 组、K 组表皮细胞层数明显增多($P < 0.05$),分别为(8.0±1.4)、(8.9±1.3)层,但 HS 组与 K 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 1。

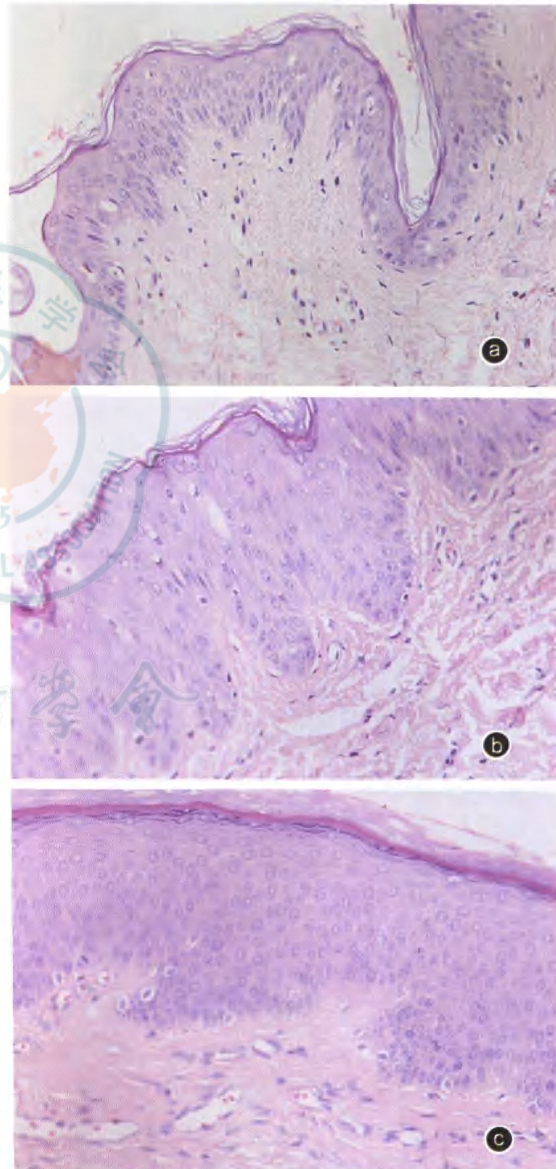


图 1 与正常皮肤组(a)比较,增生性瘢痕组(b)和瘢痕疙瘩组(c)表皮细胞层数明显增加 HE×400

2.2 XO 的表达情况

病理性瘢痕表皮中 XO 呈弥散性分布。与 N 组(2.4±0.6)分比较,HS 组、K 组 XO 表达评分分别为(4.6±0.5)、(4.7±0.5)分,均明显增高($P < 0.05$);但 HS 组与 K 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 2。

作者单位:550004 贵阳医学院附属医院烧伤整形科(李伟人);
四川大学华西医院整形烧伤科(岑瑛、于蓉、廖殿英)

通讯作者:岑瑛,Email:gz_lwr@163.com,电话:028-85422419

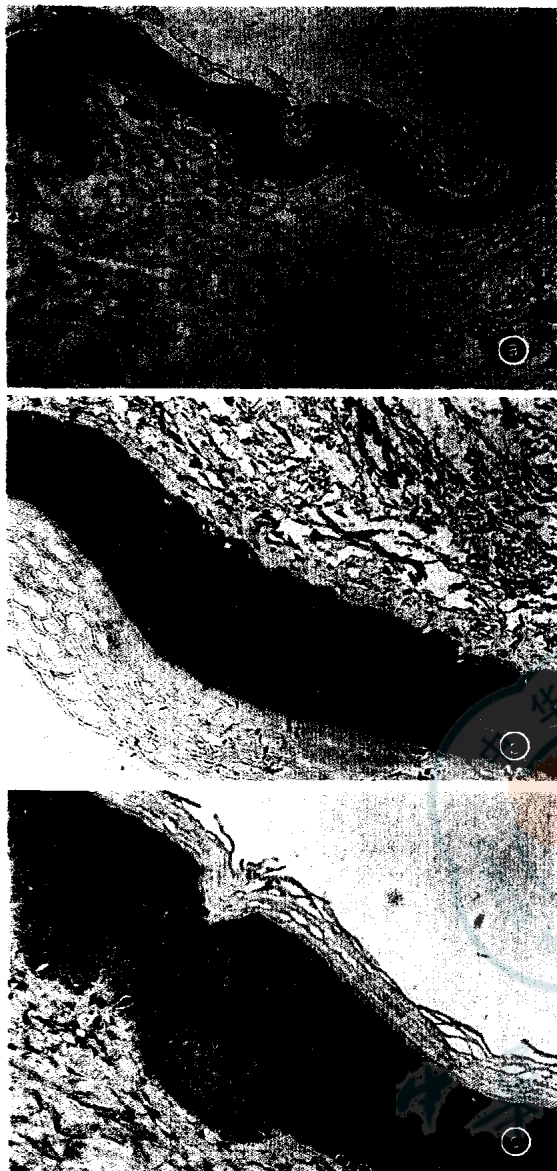


图 2 与正常皮肤组(a)比较,增生性瘢痕组(b)和瘢痕疙瘩组(c)表皮细胞黄嘌呤氧化酶表达增强 生物素-链霉亲和素-辣根过氧化物酶 × 400

3 讨论

XO 是一种黄素蛋白,可以利用分子氧作为电子受体,将次黄嘌呤和黄嘌呤氧化为黄嘌呤和尿酸,此过程中产生超氧阴离子自由基(O_2^-)和过氧化氢(H_2O_2)^[5]。本研究结果显示,病理性瘢痕表皮中 XO 呈弥散性分布,表皮角质化细胞的 XO 表达明显高于正常皮肤 ($P < 0.05$),提示病理性瘢痕表皮中 XO 途径产生的 ROS 增多,这可能是自由基水平升高的原因之一。

最近越来越多的证据表明,一定水平的 ROS 特别是 O_2^- 和 H_2O_2 ,可参与细胞间黏附、增殖、死亡、炎症反应、代谢和免疫反应等的调节,在信号转导过程中能够作为第二信使调节具有重要功能的基因表达^[6,7]。 H_2O_2 可以诱导促纤维化细胞因子如转化生长因子 $\beta 1$ 或结缔组织生长因子的基因表

达及蛋白合成^[8,9],同时还能刺激不同类型细胞的增殖。本实验组织学观察结果以及文献报道^[10]均显示,病理性瘢痕表皮细胞层次较正常皮肤明显增加;同时有研究显示:肥厚性瘢痕角质形成细胞的增殖相关核抗原 Ki-67 表达增加^[11],而瘢痕疙瘩角质形成细胞产生和被激活的转化生长因子 β 增多^[12]。由于自由基是一些生物活性高、半寿期短分子,主要在产生部位及其邻近组织发挥作用,因此在病理性瘢痕表皮中,由 XO 途径产生的 O_2^- 和 H_2O_2 可能作为重要的信号分子,对病理性瘢痕角质形成细胞的增殖以及角质形成细胞来源的细胞因子的表达产生影响,再通过表皮-间质细胞的相互作用对成纤维细胞增殖及胶原合成进行调节,从而参与瘢痕形成,然而确切作用机制还需进一步研究。

参考文献

- [1] 陈小平,郭光昭,李松春,等.电子自旋共振检测人体瘢痕疙瘩的初步研究.中华整形烧伤外科杂志,1996,12(1):9-11.
- [2] Wan KC, Wu HT, Chan HP. Effects of antioxidants on pyridinoline cross-link formation in culture supernatants of fibroblasts from normal skin and hypertrophic scars. Clin Exp Dermatol, 2002, 27(6):507-512.
- [3] Wu H, Hung L, Leung P. The effects of antioxidants on pyridinoline cross linkage formation in human fibroblasts culture from hypertrophic scars. Chinese Med J, 2002, 89(9):590-592.
- [4] Ota H, Igarashi S. HLA-DR expression in endometriotic tissue in patients with endometriosis and adenomyosis. Fertil Steril, 1993, 60(3):834-838.
- [5] Harrison R. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? Free Radic Biol Med, 2002, 33(5):774-797.
- [6] Griendling KK, Sorescu D, Lassegue B. Modulation of protein kinase activity and gene expression by reactive oxygen species and their role in vascular physiology and pathophysiology. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000, 20(10):2175-2183.
- [7] Sen CK. Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: introduction. Med Sci Sports Exerc, 2001, 33(3):368-370.
- [8] Iglesias-Dela CM, Carmen RT, Piedad AJ. Hydrogen peroxide increases extracellular matrix mRNA through TGF- β in human mesangial cells. Kidney Int, 2001, 59(6):87-95.
- [9] Park SK, Kim J, Seomun Y. Hydrogen peroxide is a novel inducer of connective tissue growth factor. Biochem Bioph Res Co, 2001, 284(8):966-971.
- [10] Atiyeh BS, Costagliola M, Hayek SN. Keloid or hypertrophic scar: the controversy: review of the literature. Ann Plast Surg, 2005, 54(6):676-680.
- [11] Andriessen MP, Niessen FB, Van de Kerkhof PC. Hypertrophic scarring is associated with epidermal abnormalities: an immunohistochemical study. J Pathol, 1998, 186(2):192-200.
- [12] Xia W, Phan TT, Lim IJ. Complex epithelial-mesenchymal interactions modulate transforming growth factor-beta expression in keloid-derived cells. Wound Repair Regen, 2004, 12(5):546-556.

(收稿日期:2007-01-12)

(本文编辑:罗勤)