

· 基础研究 ·

巢蛋白(nestin)在瘢痕疙瘩和增生性瘢痕中的表达

赵霞 马勇光 陈东明 乔薇

(北京大学第三医院整形外科, 北京 100083)

【摘要】目的 探讨巢蛋白(nestin)在瘢痕疙瘩和增生性瘢痕中的表达。方法 采用免疫组织化学技术方法检测 8 例正常皮肤、7 例扁平瘢痕、8 例瘢痕疙瘩、8 例增生性瘢痕中 nestin⁺ 细胞, 计数分析 nestin⁺ 细胞在瘢痕疙瘩和增生性瘢痕中的表达。结果 ①nestin 在 8 例正常皮肤组织中表皮基底细胞和棘细胞、汗腺、毛囊、皮脂腺、血管内皮细胞和 7 例成纤维细胞的胞浆中表达。nestin 在扁平瘢痕、瘢痕疙瘩、增生性瘢痕组织中表皮基底细胞和棘细胞、血管内皮细胞和成纤维细胞的胞浆及残留的汗腺、毛囊、皮脂腺中表达。②瘢痕疙瘩和增生性瘢痕组织中 nestin⁺ 表皮细胞、nestin⁺ 成纤维细胞和 nestin⁺ 血管内皮细胞的数量明显高于正常皮肤和扁平瘢痕($P < 0.05$), 而正常皮肤与扁平瘢痕组织中 nestin⁺ 细胞的表达差异无显著性($P > 0.05$)。结论 巢蛋白在瘢痕疙瘩和增生性瘢痕表皮、成纤维细胞和血管内皮细胞中表达增高提示瘢痕疙瘩和增生性瘢痕的过度增生可能与巢蛋白相关。

【关键词】巢蛋白; 瘢痕疙瘩; 增生性瘢痕

中图分类号: R62

文献标识: A

文章编号: 1009-6604(2006)02-0142-03

Nestin expression in keloid and hypertrophic scarring Zhao Xia, Ma Yongguang, Chen Dongming, et al. Department of Plastic Surgery, Peking University Third Hospital, Beijing 100083, China

【Abstract】Objective To investigate the expression of nestin in keloid and hypertrophic scarring. Methods Samples were obtained from patients with normal skin ($n = 8$), flat scars ($n = 7$), keloids ($n = 8$) and hypertrophic scars ($n = 8$), respectively. Immunohistochemistry staining was used to measure the nestin expression in above samples. Nestin positive cells were counted to evaluate the expression levels. Results ①Nestin expression was detected in basal cells, prickle cells, sweat glands, hair follicles, sebaceous glands, and vascular endothelial cells in 8 samples of normal skin, and in fibroblasts in 7 of them. Nestin was also positively expressed in abovementioned cells or skin appendages in samples of flat scars, keloids and hypertrophic scars. ②Nestin positive cell counts (epidermic cells, fibroblasts, and vascular endothelial cells) in keloids and hypertrophic scars were significantly higher than those in normal skin and flat scars ($P < 0.05$). There was no significant difference between normal skin and flat scars in nestin positive cell counts ($P > 0.05$). Conclusions The increased expression of nestin in epidermic cells, fibroblasts, and vascular endothelial cells in keloid and hypertrophic scarring supports a possible role of nestin as fibrosis inducing factors in keloids and hypertrophic scars.

【Key Words】Nestin; Keloid; Hypertrophic scar

巢蛋白(nestin)作为一种细胞骨架蛋白,在具有分裂能力的细胞中表达^[1-3]。瘢痕疙瘩和增生性瘢痕是临床上常见的异常增生的病理性瘢痕,也是整形外科最棘手的问题之一。病理性瘢痕常发生于皮肤损伤以后,由过度增生的致密纤维组织组成。虽然近些年来对病理性瘢痕的研究较多,但其发生机制尚需进一步探讨^[4]。本实验利用免疫组织化学方法观察 nestin 在瘢痕疙瘩和增生性瘢痕组织中的表达,旨在研究病理性瘢痕的发生机制。

1 材料与方法

1.1 实验分组

本实验所用标本取自 2004 年 7 月~2005 年 4 月我科住院和门诊治疗的患者。瘢痕疙瘩组 8 例,

增生性瘢痕组 8 例,扁平瘢痕组 7 例,正常皮肤组 8 例。术前经病人同意后取材,取材前均未经任何其他药物治疗,且取材部位无破溃、感染、肿瘤等其他疾病;诊断标准同 Berman 报道^[5],4 组临床资料见表 1。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色 冰冻切片,4 μm ,4%多聚甲醛固定,1 抗,兔抗人 nestin 多克隆抗体由购自 CHEMICON 公司,ABC 和 SP 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司,DAB 显色。

1.2.2 计数方法 应用武汉产目镜格式显微测微尺,在放大 10×40 的条件下,每样本检测 10 个视野,计数分析各组表皮、真皮中成纤维细胞数目及血管中 nestin⁺ 细胞的含量。

表 1 瘢痕疙瘩、增生性瘢痕、扁平瘢痕和正常皮肤临床资料

组别	性别		年龄(岁)	病程(月)
	男	女		
瘢痕疙瘩组(n=8)	3	5	30.4±8.7	38.3±36.3
增生性瘢痕组(n=8)	5	3	26.5±7.1	31.3±20.5
扁平瘢痕组(n=7)	2	5	29.0±12.0	12.3±3.6
正常皮肤组(n=8)	2	6	36.4±6.9	-
F(χ ²)值	χ ² =2.850		F=1.82	F=2.17
P值	0.415		0.167	0.141

细胞数/mm² = 细胞总数 ÷ n ÷ N ÷ 0.005。式中 n = 视野数, N = 例数, 0.005 = 格式目镜测微尺的面积。

1.3 统计学方法 利用 Primer 软件 one way

analysis of variance 和 student-newman-keuls test 进行统计学处理。数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, $P < 0.05$ 为统计学有显著性差异。

2 结果

2.1 nestin 在正常皮肤、瘢痕疙瘩、增生性瘢痕组织中的表达部位

nestin 在 8 例正常皮肤的表皮基底细胞、棘细胞层、汗腺、皮脂腺、毛囊、血管内皮细胞及 7 例成纤维细胞中表达(图 1)。在 7 例扁平瘢痕、8 例瘢痕疙瘩和 8 例增生性瘢痕组织的表皮基底细胞、棘细胞层、血管内皮细胞、成纤维细胞及残留的汗腺、皮脂腺、毛囊中表达(图 2,3)。

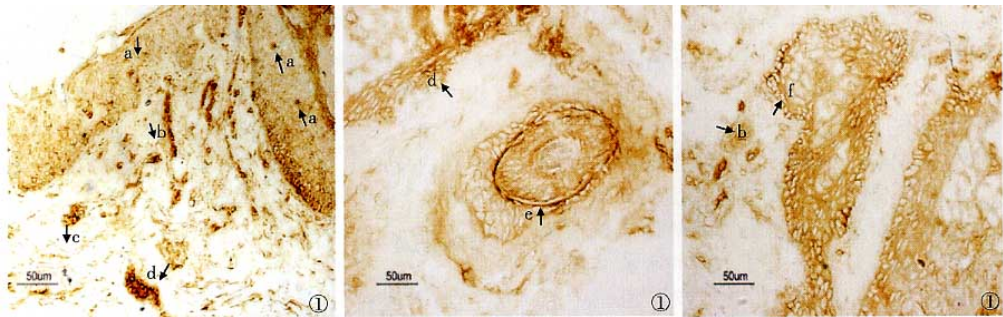


图 1 nestin 在正常皮肤的表达 免疫组织化学染色 ×200

a. nestin⁺表皮细胞;b. 血管内皮细胞;c. 成纤维细胞;d. nestin 在汗腺中的表达;e. nestin 在毛囊中的表达;f. nestin 在皮脂腺中的表达

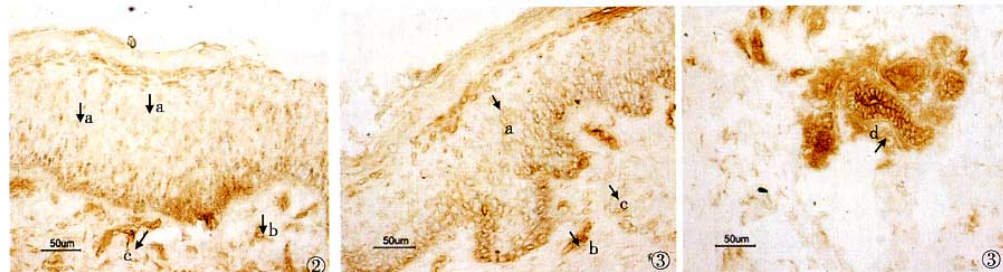


图 2 nestin 在瘢痕疙瘩组织中的表达 免疫组织化学染色 ×200

a. nestin⁺表皮细胞;b. nestin⁺血管内皮细胞;c. nestin⁺成纤维细胞

图 3 nestin 在增生性瘢痕组织中的表达 免疫组织化学染色 ×200

a. nestin⁺表皮细胞;b. nestin⁺血管内皮细胞;c. nestin⁺成纤维细胞;d. nestin⁺残留的汗腺

2.2 瘢痕疙瘩和增生性瘢痕阳性细胞的数量变化
瘢痕疙瘩和增生性瘢痕组织中 nestin⁺表皮细胞、nestin⁺成纤维细胞及 nestin⁺血管内皮细胞的数

量均明显高于正常皮肤和扁平瘢痕($P < 0.05$), 见表 2。正常皮肤与扁平瘢痕组织中 nestin⁺细胞的表达差异无显著性($P > 0.05$)。

表 2 nestin 在正常皮肤、扁平瘢痕、瘢痕疙瘩和增生性瘢痕组织中的表达 个/mm²

组别	表皮	真皮	
		成纤维细胞	血管内皮细胞
正常皮肤组 (1) (n=8)	550.0 ± 168.7	247.5 ± 161.40	192.5 ± 62.3
扁平瘢痕组 (2) (n=7)	517.1 ± 314.4	294.3 ± 236.8	257.1 ± 106.1
增生性瘢痕组 (3) (n=8)	922.5 ± 422.4	592.5 ± 177.9	417.5 ± 60.9
瘢痕疙瘩组 (4) (n=8)	1000.0 ± 251.6	590.0 ± 74.8	440.0 ± 68.5
F 值, P 值	4.51, 0.011	9.36, 0.000	20.32, 0.000
q ₂₋₄ 值, P 值	4.437, <0.05	4.755, <0.05	6.628, <0.05
q ₂₋₃ 值, P 值	3.725, <0.05	4.795, <0.05	5.813, <0.05
q ₁₋₃ 值, P 值	—	5.742, <0.05	8.422, <0.05
q ₁₋₄ 值, P 值	—	4.755, <0.05	6.628, <0.05

3 讨论

nestin 是一个新发现的高分子量中间丝蛋白,最初发现 nestin 特异表达于神经上皮干细胞中,被称为巢蛋白。nestin 定位于细胞质,在所有的中枢神经系统(central nervous system, CNS)干细胞中都有表达,作为鉴定 CNS 干细胞的一个标记物^[1-3]。研究结果表明, nestin 在肌肉组织、新形成的内皮细胞、胰腺导管细胞、肝脏的星形细胞等多种组织器官中均有表达,出现在具有分裂能力的早期原始细胞中,被作为干细胞的标志之一^[1-3]。本实验结果可见干细胞标志之一的 nestin 在成人皮肤组织中表皮、汗腺、皮脂腺、毛囊、血管内皮及部分成纤维细胞的胞浆中也有表达。由此可见,具有分裂能力的细胞除在表皮基底细胞层分布外,还分布于汗腺、皮脂腺、毛囊、血管内皮及成纤维细胞,表明成人皮肤中含有干细胞或前体细胞^[6,7]。

近期研究发现,成体分化发育成熟的上皮细胞在炎症、创伤等因素的作用下,通过上皮细胞-间充质细胞转变(epithelial-mesenchymal transition, EMT)产生间质纤维母细胞,参与组织纤维化的形成^[6]。本实验中,瘢痕疙瘩及增生性瘢痕组织中 nestin⁺表皮细胞和 nestin⁺成纤维细胞数目的增多提示在瘢痕形成过程中可能存在上皮细胞向间充质细胞转变的现象,这种转变可能是“终末分化”的成熟上皮细胞在损伤刺激下转变为间充质细胞,被激活的细胞恢复其增殖分化能力,由于细胞分化能力增强,导致

细胞数量增多^[6]。瘢痕疙瘩和增生性瘢痕表皮增厚可能是由于 nestin⁺表皮细胞分裂增生能力增强,使表皮细胞数量增多引起。Nestin⁺成纤维细胞数量增多可能是 EMT 产生间质纤维母细胞(成纤维细胞)^[6,7],该细胞分裂增生和分泌合成能力强,使组织中纤维含量增多,引起瘢痕疙瘩和增生性瘢痕的过度增生。瘢痕疙瘩和增生性瘢痕组织中 nestin⁺血管内皮细胞增多表明新生血管数量增多,使瘢痕疙瘩和增生性瘢痕组织局部血供加快。

参考文献

1 薛 栋,杜成友. nestin 阳性细胞的研究. 国外医学·外科学分册, 2005, 32(3): 193-197.
2 Amoh Y, Yang M, Li L, et al. Nestin-linked green fluorescent protein transgenic nude mouse for imaging human tumor. Cancer Res, 2005, 65: 5352-5357.
3 夏修金, 鲍卫汉, 陈东明, 等. 从人胚胎胰腺中分离获得巢蛋白表达阳性的细胞. 中国微创外科杂志, 2003, 3: 174-176.
4 鲍卫汉, 主编. 实用瘢痕学. 北京: 北京医科大学出版社, 2000. 72-86.
5 Berman B, Flores F. The treatment of hypertrophic scars and keloids. Eur J Dermatol, 1998, 8: 591-595.
6 Yang LY, Zheng JK, Liu XM, et al. Culture of skin-derived precursors and their differentiation into neurons. Chin J Traumatol, 2004, 7(2): 91-95.
7 Iwano M, Plieth D, Danoff TM, et al. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis. J Clin Invest, 2002, 110: 341-350.

(收稿日期: 2005-06-02)
(修回日期: 2005-09-19)