

• 基础研究 •

胸腺素 $\beta 4$ 基因片断 mRNA 在人瘢痕及皮肤组织中的表达定位^{*}翟晓梅 聂兴举 秦泽莲^{**} 赵 霞 李健宁

(北京大学第三医院成形外科, 北京 100083)

【摘要】 目的 研究胸腺素 $\beta 4$ (thymosin $\beta 4$, T $\beta 4$) 基因片断 mRNA 在人包皮及其他部位正常皮肤、瘢痕疙瘩、增生性瘢痕组织中的表达, 探讨其表达与病理性瘢痕发生的相关性。方法 采用地高辛标记 T $\beta 4$ 基因片断 [BM005698 (EST) 基因] 探针, 利用组织切片的原位杂交技术显示 T $\beta 4$ mRNA 的表达, 分别进行定性和体视学半定量分析 4 组标本的 T $\beta 4$ 表达情况。结果 T $\beta 4$ 基因片断的 mRNA 在大部分包皮及其他部位正常皮肤、增生性瘢痕、瘢痕疙瘩中表达, 瘢痕疙瘩的成纤维细胞表达 T $\beta 4$ 的阳性标本比率 (2/10) 仅为包皮 (8/10) 的 25%, 为其他部位正常皮肤 (7/10) 的 28.6%, 其真皮的表达多于表皮; T $\beta 4$ 在成纤维细胞、血管内皮细胞、巨噬细胞中表达较多。表达阳性标本真皮的平均光密度值, T $\beta 4$ 基因片断在瘢痕疙瘩的表达为 0.03 ± 0.01 , 比它在正常皮肤 0.09 ± 0.03 和增生性瘢痕 0.09 ± 0.02 的表达分别明显减少 ($P = 0.000$; $P = 0.000$); 包皮组 T $\beta 4$ 基因表达为 0.30 ± 0.08 , 比其他部位正常皮肤增高 231.5% ($P < 0.001$)。4 组的积分光密度值分析结果与平均光密度值比较结果基本相同。T $\beta 4$ 基因在增生性瘢痕组中的表达阳性率 (3/10) 与包皮外其他部位正常皮肤中的表达差异不显著, 但 4 组的表达量均存在显著差异; T $\beta 4$ 表达量在包皮组中最高, 在其他部位的正常皮肤和增生性瘢痕中次之, 瘢痕疙瘩表达最少。

结论 T $\beta 4$ 基因片断 mRNA 在瘢痕和正常皮肤中均有表达。T $\beta 4$ 基因片断在瘢痕疙瘩中表达减少, 在包皮中表达增加, 说明 T $\beta 4$ 基因片断可能涉及瘢痕疙瘩形成的病理机制, 可能是一个影响瘢痕疙瘩的重要因素。

【关键词】 胸腺素 $\beta 4$; 瘢痕疙瘩; 增生性瘢痕; 皮肤; 原位杂交

中图分类号: R34

文献标识: A

文章编号: 1009-6604(2007)12-1217-04

Location of Thymosin $\beta 4$ mRNA Expression in Scars and Skins Zhai Xiaomei, Nie Xingju, Qin Zelian, et al. Department of Plastic Surgery, Peking University Third Hospital, Beijing 100083, China

【Abstract】 **Objective** To investigate the expression of thymosin $\beta 4$ in the foreskin, normal skin (except the foreskin), hypertrophic scar, and keloid, and its relationship to pathological scars. **Methods** In situ hybridization was applied to detect the expression of thymosin $\beta 4$ mRNA [With the probe of BM005698 (EST) gene marked by digoxin] in four groups: foreskin, normal skin (except the foreskin), hypertrophic scar, and keloid. Both qualitative and semi-quantitative analysis were performed. **Results** Thymosin $\beta 4$ mRNA was expressed in all the four groups. The proportion of thymosin $\beta 4$ mRNA expression in the keloid was 2/10, which was 25% of that in the foreskin (8/10), and was 28.6% of that in the normal skin (7/10). The positive rate of thymosin $\beta 4$ mRNA expression in the dermis was higher than that in the epidermis; and was high in fibroblasts, intravascular endothelial cells, and macrophages. The mean OSD of the positive samples was 0.03 ± 0.01 in the keloids, which was significantly lower than that in the normal skins (0.09 ± 0.03) and hypertrophic scars (0.09 ± 0.02) ($P = 0.000$ for both). Compared with the normal skins, the expression increased by 231.5% ($P < 0.001$) in the foreskins (0.30 ± 0.08). The accumulated value of OSD in the four groups was similar to the mean OSD. No significant difference existed in the expression of thymosin $\beta 4$ mRNA between the normal skins and hypertrophic scars (3/10). However, compared with these two groups, the expression was significantly higher in the foreskins, and significantly lower in the keloids. **Conclusions** Thymosin $\beta 4$ mRNA is expressed in both normal skins and scars. The level of expression is decreased in keloids, but is increased in foreskins, indicating that thymosin $\beta 4$ play a role in keloid formation.

【Key Words】 Thymosin $\beta 4$; Keloids; Hypertrophic scar; Skin; In situ hybridization

随着生物技术的迅速发展,人们越来越重视瘢痕疙瘩和增生性瘢痕发生的生物学机制,研究表明瘢痕发生可能与某些基因相关。我们前期实验构建了瘢痕疙瘩和增生性瘢痕的消减杂交 cDNA 基因文库^[1],从瘢痕疙瘩下调基因文库中得到了

BM005698 (EST 数据库) 号基因片断。它在瘢痕疙瘩组织中表达减少,初步提示其与瘢痕疙瘩形成负相关。该基因与胸腺素 $\beta 4$ 基因部分序列有高度同源性。因此,我们在皮肤和瘢痕组织对胸腺素 $\beta 4$ (thymosin $\beta 4$, 简称 T $\beta 4$) 基因片断进行定位研究。

* 国家自然科学基金资助课题 (30170971)

** 通讯作者

本实验检测了 T β 4 基因片断在正常皮肤、增生性瘢痕和瘢痕疙瘩组织中的 mRNA 表达,验证其与瘢痕形成的关系,并对其作用机制进行初步探讨。

1 材料与方法

1.1 组织取材

经患者知情同意,检测标本取自北京大学第三医院成形科门诊及病房手术病人。瘢痕组织为切除的病变组织,正常皮肤来源于除皱术、巨乳缩小、重睑术等病人切除的组织。

1.2 实验分组

病理标本分为 4 组。包皮组:10 例;包皮外其他部位正常皮肤组 10 例;瘢痕疙瘩组 10 例;增生性瘢痕组 10 例。实验对照设立阴性对照(以加未标记探针的预杂交液代替杂交液,其余同实验组)和阳性对照(以地高辛标记的 β -肌动蛋白,即 β -actin 探针代替目的探针)。

1.3 切片制作

用 RNA 实验取材的专门处理的手术器械,将组织在离体后 10 min 之内切成 1 cm³ 小块,迅速置于液氮中;取出组织块,冰冻切片连续切片,厚度 8 μ m;室温干燥 30 min。

1.4 探针制备

我们建立的瘢痕疙瘩和增生性瘢痕的消减杂交 cDNA 基因文库的瘢痕疙瘩下调基因文库中的 BM005698 (EST) 号基因片断序列如下: 5' - ACATTCCACAAGCATTGCCTTCTTATTTTACTTCTT-TTAGCTGTTTAACTTTGTAAGATGCAAGAGGCTTGG-ATCAAGTTTAAATGACTGTGCTGCCCTTTCACATC-AAAGAACTACTGACAACGAAGGCCCGCCCTGCCTT-TCCCATCTGTCTATCTATCTGGCTGGCAGGAAGCA-AAGAACTTGCATGTTGCTGAAGGAAGAAGTGGGCT-GGAAGAAGTGGGCTGGGACGACAGTGAAATCTAGA-GTAAACCAAGCTGGCCCAAGGTGCTCCTGCAGGCTG-TAATGCAGTTTAATCAGAGTGCCATTTTTTTTTTGTTC-CAAATGATTTTAATTATTGGAATGCACAATTTTTTTA-ATATGCAATAAAAAAGTTTAAAAACTTAAAAAAA-GAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA-3'。该基因片断与胸腺素 β 4 基因部分序列高度同源。将前期实验获取的胸腺素 β 4 基因片断 [BM005698 (EST) 基因克隆] 和 β -actin 质粒进行提取,采用 Promega 公司 EcoR I 内切酶试剂盒按说明进行酶切,回收及纯化质粒,最终所得质粒采用地高辛探针标记显色试剂盒 (Roche 公司,美国) 进行地高辛 (简称 DIG) 标记,经效率检测,获得合格的 T β 4 DNA 和 β -actin 探针。

1.5 冰冻切片的原位杂交

采用美国罗氏公司的原位杂交试剂盒,按说明操作。-80 $^{\circ}$ C 冰箱中取出玻片,充分干燥;蛋白酶 K (10 mg/ml) 消化 1~2 min。探针置于 80 $^{\circ}$ C 变性 10 min。每张玻片加预杂交液 30 μ l,置于 42 $^{\circ}$ C 湿盒内杂交 1 h。弃去预杂交液,加杂交液 30 μ l,42 $^{\circ}$ C 湿盒内杂交 16 h。弃去多余杂交液,2 \times SSC (3

mol/L NaCl, 0.3 mol/L 柠檬酸)、60% 甲酰胺/0.2 \times SSC, 2 \times SSC 依次摇洗 5 min。

室温下作免疫检测。用缓冲液 I 浸洗 5 min;封阻 30 min;按照 1:200 用阻滞液稀释碱性磷酸酶的抗地高辛抗体,每个样本加 30 μ l 孵育 120 min;缓冲液 I 洗 5 min,2 次;缓冲液 II 洗 10 min。将 BCIP/NBT (5-溴-4-氯-3-吲哚磷酸二钠盐/氯化氮蓝四唑) 以 1:40 比例用缓冲液 II 稀释,每个样本加 30 μ l,在 37 $^{\circ}$ C 避光显色 16~20 h。

1.6 结果观察及图像处理

覆盖切片后在光镜下观察结果,尽量避免人为因素影响。对比阴性对照及阳性对照观察结果,在细胞胞浆内出现紫蓝色颗粒为阳性;反之,则为阴性。首先定性分析 4 组标本 T β 4 是否表达,每例标本观察 3~5 张切片,镜下观察切片全部视野寻找阳性反应信号。高倍镜下重点观察成纤维细胞、血管内皮细胞、巨噬细胞表达 T β 4 的情况,细胞表达 T β 4 的阳性样本比率的组间差异采用卡方检验,两两比较采用 Fisher 精确概率法。

表达阴性的标本不再进行半定量分析。对各组表达阳性的标本(样本数见表 2)进行体视学半定量分析。采用麦克奥迪图像技术有限公司 CMIAS 系列——多功能真彩色病理图像分析仪器系统,应用北京航空航天大学图像处理软件,对原位杂交信号进行体视学分析,每例切片选取 3 个视野采集平均光密度和积分光密度数据。应用 SPSS13.0 分析软件作统计学处理,以方差分析检验组间差异,采用 Post Hoc Tests 行两两比较, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

光镜下, T β 4 mRNA 在大部分人的包皮及其他部位正常皮肤 (图 1,3)、增生性瘢痕和瘢痕疙瘩 (图 2) 组织中均有表达。真皮的阳性信号明显强于表皮 (图 1), 毛囊内根鞘的阳性信号较强 (图 1), 在胶原基质中也有 T β 4 阳性反应信号。T β 4 在成纤维细胞 (图 1,2)、血管内皮细胞 (图 2)、巨噬细胞 (图 3) 中表达较多 (表 1)。

对 4 组标本进行定性分析, T β 4 mRNA 在各组标本的成纤维细胞、血管内皮细胞、巨噬细胞中表达阳性的标本比率见表 1。瘢痕疙瘩的成纤维细胞表达 T β 4 的阳性标本比率仅为包皮的 25% ($P < 0.05$), 2 组差异有统计学意义; 比较成纤维细胞阳性率, 虽然瘢痕疙瘩比其他部位正常皮肤和增生性瘢痕的也减少 71.4% 和 33.3%, 然而, 同 4 组的其他细胞表达 T β 4 的阳性标本比率一样, 差别未表现出统计学意义。

各组表达阳性的标本真皮的积分光密度值和平均光密度值的数据详见表 2。数据经方差齐性检验, 积分光密度值为方差齐性资料, 平均光密度值方差不齐, 采用 lg 转换后为方差齐性资料。平均光密度值的方差分析结果, T β 4 基因片断在瘢痕疙瘩的

表达比它在包皮、其他正常皮肤和增生性瘢痕的表达分别减少 90.5% ($P < 0.001$)、68.5% ($P = 0.001$) 和 68.2% ($P < 0.001$)。这一结果说明 T β 4 在瘢痕疙瘩组织中的表达量要显著低于其在正常皮肤和增生性瘢痕组织中的表达量。包皮组的 T β 4 基因表达的平均光密度值较其他部位正常皮肤组之值增高 231.5% ($P < 0.001$)。4 组的积分光密度值

分析结果与平均光密度值比较结果基本相同。结果显示, T β 4 在增生性瘢痕组中的表达与在包皮外正常皮肤中的表达无显著差别; 其他各组的 T β 4 基因表达量均存在显著差异。T β 4 基因表达量在包皮组中最高, 在其他部位的正常皮肤或增生性瘢痕中次之, 瘢痕疙瘩表达最少。

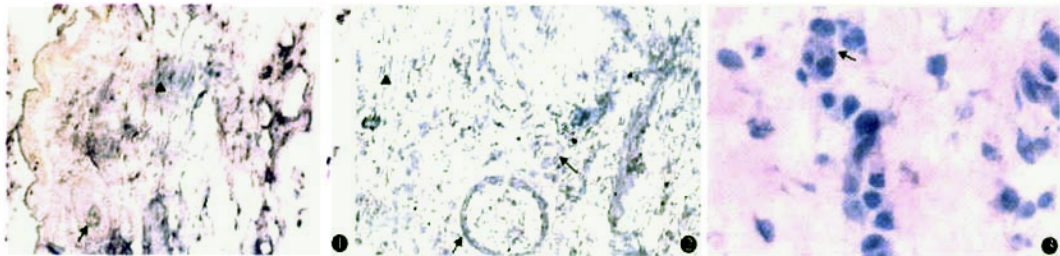


图1 T β 4 在正常皮肤组织中的表达 ↑毛囊内根鞘, ▲成纤维细胞 地高辛标记原位杂交染色 ×100 图2 集中在瘢痕疙瘩血管周围的 T β 4 阳性反应 ↑血管, 血管内皮细胞, ▲成纤维细胞 地高辛标记原位杂交染色 ×400 图3 T β 4 在包皮巨噬细胞中的表达 ↑巨噬细胞 地高辛标记原位杂交染色 苏木素复染 ×400

表1 4组胸腺素 β 4 表达的阳性率比较			
组别	成纤维细胞	内皮细胞	巨噬细胞
正常皮肤组①	7/10	3/10	3/10
包皮组②	8/10	8/10	5/10
增生性瘢痕组③	3/10	5/10	2/10
瘢痕疙瘩组④	2/10	5/10	2/10
χ^2, P 值	10.400, 0.016	5.113, 0.164	2.857, 0.414
P_{1-2} 值	1.000	0.070	0.650
P_{1-3} 值	0.179	0.650	1.000
P_{2-3} 值	0.070	0.350	0.350
P_{1-4} 值	0.070	0.650	1.000
P_{2-4} 值	0.023	0.350	0.350
P_{3-4} 值	1.000	1.000	1.000

表2 胸腺素 β 4 mRNA 在皮肤和瘢痕真皮表达的原位杂交光密度比较		
组别	积分光密度	平均光密度
正常皮肤组 ($n=7$) ①	62.29 ± 19.28	0.09 ± 0.03
包皮组 ($n=8$) ②	136.29 ± 12.06	0.30 ± 0.08
增生性瘢痕组 ($n=6$) ③	67.66 ± 15.14	0.09 ± 0.02
瘢痕疙瘩组 ($n=5$) ④	30.58 ± 8.73	0.03 ± 0.01
F, P 值	63.473, 0.000	62.367, 0.000
P_{1-2} 值	0.000	0.000
P_{1-3} 值	0.516	0.765
P_{2-3} 值	0.000	0.000
P_{1-4} 值	0.001	0.000
P_{2-4} 值	0.000	0.000
P_{3-4} 值	0.000	0.000

3 讨论

T β 4 是 1981 年 Low 等^[2] 从胸腺素组分 5 中分离得到的由 43 个氨基酸残端构成的多肽, 具备多种生物学功能, 与创面愈合^[3,4]、肿瘤转移^[5,6]、神经发育^[7] 有关。以往研究发现 T β 4 广泛存在于多个物种的多种组织和多种细胞中, 非网状内皮系统的细

胞如成纤维细胞、肌成纤维细胞也能合成 T β 4^[8]。我们的 Northern Blotting (待发表资料) 和 RT-PCR 实验^[9] 表明 T β 4 基因片断在增生性瘢痕中的表达高于在瘢痕疙瘩中的表达, 本实验经原位杂交发现它主要在成纤维细胞、巨噬细胞、血管内皮细胞中表达。T β 4 基因片断在瘢痕疙瘩中的表达低于其在增生性瘢痕及正常皮肤中的表达, 提示 T β 4 与瘢痕疙瘩发生相关。T β 4 在人类皮肤中的表达情况及与瘢痕形成的关系尚未见文献报道。

本实验研究表明: T β 4 基因片断 mRNA 在人正常皮肤真皮组织中的表达明显多于表皮中的表达, 这与 Malinda 等^[3] 在大鼠全层皮肤缺损的实验研究中所发现的 T β 4 主要在角质形成细胞中表达的情况明显不同。我们考虑可能有三方面原因: ①物种的差异, 虽同属于哺乳类动物, 但大鼠皮肤结构毕竟和人类存在一定差异。②我们检测的是基因片断的 mRNA 表达情况, Malinda 等乃是免疫组化实验的蛋白结果, 基因和蛋白的表达可能有所不同。③实验对象的机体状态不同, 我们研究的是皮肤在正常状态下 T β 4 的表达情况, 而 Malinda 等反映的则是在创伤过程中, 在局部或全身给予 T β 4 的治疗的情况。我们的实验结果为什么与 Malinda 的实验有所不同, 有待进一步的实验研究。

本研究表明经原位杂交发现 T β 4 基因片断在包皮中的 mRNA 表达高于在其他部位正常皮肤中的表达, 主要在成纤维细胞、巨噬细胞、血管内皮细胞中表达。包皮组织色素颗粒较多, 却是不易产生瘢痕疙瘩的部位。T β 4 在包皮组织的成纤维细胞、血管内皮细胞、巨噬细胞中表达较在其他部位的皮肤中表达增加。我们推测 T β 4 基因可能涉及包皮不易产生瘢痕疙瘩的机理。在伤口愈合时候, T β 4 的增高会加速内皮细胞的分化与移动, 很快形成新

生血管,迅速完成创伤愈合过程,因而减少瘢痕疙瘩的发生。

根据实验结果,综合以前的文献报道,我们推测 T β 4 在瘢痕疙瘩形成中是一抑制因素,其可能通过以下机制起作用:①加速血管形成^[10],促进创面愈合:T β 4 加速创面愈合的作用影响瘢痕发生的机理还不清楚,Goodall 等^[11]研究表明肌成纤维细胞和成纤维细胞株可分泌有活性的 T β 4,在活性较高的细胞中,T β 4 分泌增加;T β 4 可以增加内皮细胞在基质中的黏附与扩散,刺激人类脐静脉内皮细胞的迁移^[12];可以通过组织中的谷氨酰胺转移酶与纤维蛋白和胶原蛋白交联,影响其运动^[13]。T β 4 可诱导内皮细胞的分化增殖,加速内皮细胞的迁移,加速创面的愈合,迅速完成愈合过程。②通过成纤维细胞发挥作用:T β 4 可以通过影响 G-actin 与 F-actin 之间的转化而影响到细胞的形态及运动。维持细胞正常形状对细胞的增殖分化是非常重要的,细胞表面的接触和细胞形状的改变,都是通过细胞骨架成分,把信息传导至核内而引起细胞一系列生物化学反应^[14]。我们推测由于 T β 4 的表达减少,使从丝状结合蛋白向单体状态的肌动蛋白的转化障碍,微丝不能很好地解聚,微丝大量沉积,从而影响细胞的移动与排列,最终引起细胞的无序排列,导致瘢痕形成。③通过抑制免疫反应及细胞凋亡发挥作用:巨噬细胞能分泌多种生长因子,如:PDGF、FGF、TGF- β 、TNF 等,刺激成纤维细胞及毛细血管增生,诱发瘢痕疙瘩形成。巨噬细胞还释放 IL-1 α 和 IL-1 β ,诱导炎症细胞黏附和迁移,释放各种蛋白水解酶,在 ECM 降解中起重要作用^[15]。T β 4 有抑制炎症细胞的趋化作用^[16],可通过抑制巨噬细胞的迁移,减轻机体的免疫反应,从而抑制瘢痕疙瘩的生成。目前,已有许多研究证明细胞凋亡参与了肉芽组织到瘢痕的塑形过程^[17],同时亦有人证明瘢痕疙瘩中的细胞凋亡减少;在瘢痕组织中,成纤维细胞的增殖和凋亡构成了一个动态平衡^[18],而 T β 4 可能通过影响细胞的凋亡而参与了瘢痕的发展。④T β 4 可能通过细胞因子发挥作用。Vareli 等^[19]研究认为,细胞骨架微丝结构情况决定了转化生长因子(TGF- β 1)、胶原酶和基质金属蛋白酶-1(MMP-1)抑制因子的基因表达。在创面修复过程中起重要作用的 TGF- β 1,是通过细胞微丝结构发挥作用的,而 T β 4 是最主要的肌动蛋白隔蛋白,它可能通过对微丝单体的结合,抑制了 TGF 的生物学功能,从而抑制了成纤维细胞的分化增殖与胶原蛋白的分泌,减少瘢痕形成。

我们的实验结果已提示 T β 4 与瘢痕疙瘩形成有关,我们推测其可能是瘢痕疙瘩的负性调控因素。但是两者之间究竟是何作用关系还存在着许多疑问。例如:T β 4 在瘢痕形成过程中的变化规律是怎样的? T β 4 的诸多功能中到底是哪种功能影响了瘢痕疙瘩的生成?它在瘢痕中的作用机制如何?它与其它瘢痕相关因素怎样相互作用?要说明 T β 4 与瘢痕之间的作用关系,还有待进行更多的研究工作。

参考文献

- 1 秦泽莲,刘刚,聂兴举,等。“瘢痕疙瘩和增生性瘢痕组织差异表达基因文库及其构建方法”国家发明专利,专利号 03136990.1,2007 年 6 月 27 日授权公告。
- 2 Low TL, Hu SK, Goldstein AL. Complete amino acid sequence of bovine thymosin beta 4: a thymic hormone that induces terminal deoxynucleotidyl transferase activity in thymocyte populations. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1981, 78(2):1162-1166.
- 3 Malinda KM, Sidhu GS, Mani H, et al. Thymosin beta-4 accelerates wound healing. *J Invest Dermatol*, 1999, 113(3):364-368.
- 4 Goldstein AL, Hannappel E, Kleinman HK. Thymosin β 4: actin-sequestering protein moonlights to repair injured tissues. *Trends Mol Med*, 2005, 11(9):421-429.
- 5 Yamamoto T, Gotoh M, Kitajima M, et al. Thymosin beta-4 expression is correlated with metastatic capacity of colorectal carcinomas. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, 193(2):706-710.
- 6 Vigneswaran N, Wu J, Sacks P, et al. Microarray gene expression profiling of cell lines from primary and metastatic tongue squamous cell carcinoma; possible insights from emerging technology. *J Oral Pathol Med*, 2005, 34(2):77-86.
- 7 Condon MR, Hall AK. Expression of thymosin beta-4 and related genes in developing human brain. *J Mol Neurosci*, 1992, 3(3):165-170.
- 8 Low TL, Goldstein AL. Thymosins: structure, function and therapeutic applications. *Thymus*, 1984, 6(1-2):27-42.
- 9 袁芳菲,吴江群,秦泽莲. 瘢痕疙瘩和增生性瘢痕中胸腺素 β 4 基因表达变化及其意义. *中国危重病急救医学*, 2005, 17(2):80-83.
- 10 Smart N, Risebro CA, Melville AA, et al. Thymosin β 4 is essential for coronary vessel development and promotes neovascularisation via adult epicardium. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1112:171-188.
- 11 Goodall GL, Morgan JI, Horecker BL. Thymosin beta 4 in cultured mammalian cell lines. *Arch Biochem Biophys*, 1983, 221(2):598-601.
- 12 Malinda KM, Goldstein AL, Kleinman HK. Thymosin beta 4 stimulates directional migration of human umbilical vein endothelial cells. *FASEB J*, 1997, 11(6):474-481.
- 13 Yu FX, Lin SC, Morrison-Bogorad M, et al. Thymosin beta 10 and thymosin beta 4 are both actin monomer sequestering proteins. *J Biol Chem*, 1993, 268(1):502-509.
- 14 左 俊,主编.医学分子细胞生物学.第 1 版.上海:复旦大学出版社,2005.36-41.
- 15 Lawrence WT, Diegelmann RF. Growth factors in wound healing. *Clin Dermatol*, 1994, 12:157-169.
- 16 Weller FE, Mutchnick MG, Goldstein AL, et al. Enzyme immunoassay measurement of thymosin β 4 in human serum. *J Biol Res Mod*, 1988, 7:91-96.
- 17 Desmouliere A, Badier C, Bochaton-Piallat ML. Apoptosis during wound healing, fibrocontractile diseases and vascular wall injury. *Int J Biochem Cell Biol*, 1997, 29:19-30.
- 18 Appleton I, Brown NJ. Apoptosis, necrosis, and proliferation: possible implications in the etiology of keloids. *Am J Pathol*, 1996, 149(5):1441-1447.
- 19 Vareli M, Tredget EE, Scott PG, et al. Alteration in cell morphology triggers transforming growth factor- β 1, collagenase, and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 expression in normal and hypertrophic scar fibroblasts. *J Invest Dermatol*, 1995, 104(1):118-123.

(收稿日期:2007-08-20)

(修回日期:2007-10-16)

(责任编辑:李贺琼)