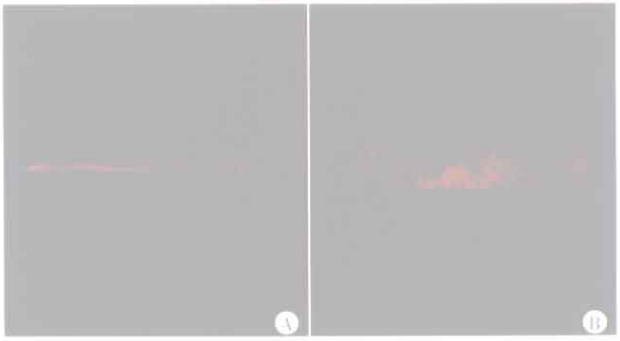


A: Treated without calcium; B: Treated with high-concentration calcium (1.5 mmol/L)

图 3　培养 KC 中 K10 表达结果　(免疫荧光染色 ×400)

Fig 3　Expression of K10 in cultured keratinocytes (Immunofluorescence ×400)

3　讨论

气液界面培养法是一种被广泛应用的体外培养技术，其培养的材料涉及细胞、组织及器官，但用该法来对胚胎皮片进行培养并诱导其表皮的分层，目前尚少有报道。

本实验中，当胚胎龄为 16 d 的小鼠胚胎皮片经气液界面培养后，处于分层早期的表皮 KC 逐渐发生进一步分层，培养时间延长，分层层数增多，表明经气液界面培养，胎鼠表皮分层得到了促进，证实该法是体外诱导表皮分层的有效方法之一。气液界面培养时，培养基液面高度与普通浸没培养相比发生了降低，由此可增加培养皮片氧的供应量、促进 CO_2 的排除[5]，使培养条件更接近于表皮天然的生长环境，这可能是气液界面培养促进小鼠胚胎皮片表皮分层形成的一个重要的原因。

在本实验中，培养的 KC 在高浓度作用下，其分层的层数增加，表明提高培养基中 Ca^{2+} 浓度是诱导表皮体外分层的又一途径。研究表明，表皮 KC 分层与 KC 间桥粒的形成及粘附分子 E-cadherin 在 KC 胞膜处的表达密切相关[6]，在有 E-cadherin 抗体存在的情况下，KC 分层的层数明显降低[4]。文献[7,8]报道，高浓度 Ca^{2+} 能促进了 KC 间桥粒的形成，并增加 E-cadherin 在 KC 表面的表达，因此本实验中高浓度的 Ca^{2+} 诱导 KC 分层的形成可能与 Ca^{2+} 的此功能相关。

本实验结果还显示，在高 Ca^{2+} 浓度作用下，伴随着培养 KC 分层的发生，KC 分化标记物 K10 也有明显的表达；在气液界面培养中，当 KC 分层层数增加的同时，KC 呈现出更为扁平、分化的细胞形态，表明上述两种途径在诱导 KC 分层的同时，也诱导了 KC 分化，这一特点与正常表皮中 KC 分层的特点类似，即：KC 在分层的同时，其分化程度也发生相应的变化，分层与分化平行发生[9]。由此证实本实验中，高浓度 Ca^{2+} 及气液界面培养对表皮 KC 体外分层的诱导是有效且可靠的。

参考文献：

[1] Chen C S, LyonsGiordano B, Lazarus G S, *et al*. Differential expression of plasminogen activators and their inhibitor in an organotypic skin coculture system[J]. J Cell Sci, 1993, 106(Pt1): 45 - 53.

[2] Hanley K, Jing Y, Elias P M, *et al*. Acceleration of barrier ontogenesis *in vitro* through air exposure[J]. Pediatr Res, 1997, 41(2): 293 - 299.

[3] Lian X, Yang T, Xiang M. Roles of tissue plasminogen activator in epidermal stratification[J]. Colloids and surfaces B: Biointerfaces, 2003, 27(2-3): 231 - 240.

[4] Jensen P J, Telegan B, Lavker R M, *et al*. E-cadherin and P-cadherin have partially redundant roles in human epidermal stratification[J]. Cell Tissue Res, 1997, 288(2): 307 - 316.

[5] 黄　宁，唐　彬，潘小玲，等. 人气管上皮细胞气液界面无血清培养[J]. 基础医学与临床，2000，20(2)：89 - 92.

[6] Wheelock M J, Jensen P J. Regulation of keratinocyte intercellular junction organization and epidermal morphogenesis by E-cadherin[J]. J Cell Biol, 1992, 117(2): 415 - 425.

[7] Kee S H, Steinert P M. Microtubule disruption in keratinocytes induces cell-cell adhesion through activation of endogenous E-cadherin[J]. Mol Biol Cell, 2001, 12(7): 1983 - 1993.

[8] O'keefe E J, Briggaman R A, Herman B. Calcium induced assembly of adherens junctions in keratinocytes[J]. J Cell Biol, 1987, 105(2): 807 - 817.

[9] Asselineau D, Bernard B A, Bailly C, *et al*. Human epidermis reconstructed by culture: is it "normal"[J]? J Invest Dermatol, 1986, 86(2): 181 - 186.

(编辑　龙　亮)

关于修回稿件附软盘的说明

为缩短学报出版周期，减少编排错误，请作者根据学报编辑部提出的意见对文稿修改后，将修改稿以 Word 格式存入软盘，并请标明软盘中的文件名、作者姓名及稿件编号，连同修改稿一并送交本刊编辑部或 E-mail: aammt@mail.tmmu.com.cn(校外稿件请邮寄)。

本刊编辑部