文章编号:1000-5404(2005)17-1793-03

论著

AnnexinⅡ在已分化人表皮角质形成细胞中表达的研究

李习玲[1],连小华[1],杨 力[2],杨 恬[1] ([1]第三军医大学基础医学部细胞生物学教研室,重庆 400038;[2]重庆大学生物工程学院,重庆 400044)

提 要:目的 探讨annexinⅡ在已分化人表皮角质形成细胞(keratinocyte, KC)中的表达。**方法** 采用免疫组织化学(immunohistochemistry,IHC)技术检测早、中、晚期人胚胎表皮KC及成人表皮KC中annexinⅡ蛋白的表达。**结果** ①annexinⅡ在人胚胎期表皮KC中的表达随胚胎的发育逐渐增强,在成人期表皮KC中的表达明显高于胚胎期。②annexinⅡ呈胞膜方式表达,主要分布于基底上层的分化KC中。**结论** annexinⅡ可能参与表皮KC分化的调控。

关键词:annexinⅡ;组织型纤溶酶原激活剂;角质形成细胞;分化;人胚胎;成人
中图法分类号:R322.991; R392.11; R394.2 **文献标识码**:A

Study on annexinⅡ expression in differentiation of human epidermal keratinocyte

LI Xi-ling[1], LIAN Xiao-hua[1], YANG Li[2], YANG Tian[1] ([1]Department of Cell Biology, College of Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038; [2]Bioengineering College, Chongqing University, Chongqing 400044, China)

Abstract: Objective To explore the annexinⅡ expression in the differentiation of human epidermal keratinocytes. **Methods** Immunohistochemistry was used to detect annexinⅡ expression in early, middle, late human embryonic skin and adult skin, respectively. **Results** The expression of annexinⅡ in embryonic epidermis was significantly increased with the development of embryo and annexinⅡ expressed much higher in adult epidermis than in embryonic epidermis. AnnexinⅡ localized in the membrane of keratinocyte, mainly in suprabasal, the more differentiated layers of the epidermis. **Conclusion** AnnexinⅡ may be involved in regulating the differentiation of human epidermal keratinocytes.

Key words: annexinⅡ; tissue-type plasminogen activator; keratinocyte; differentiation; human embryo; adult

Annexin Ⅱ是新近发现的纤维蛋白溶解酶原(PLG)和组织型纤溶酶原激活剂(tissue-type plasminogen activator,tPA)的共受体,是Ca^{2+}介导的具有高亲和力的磷脂结合蛋白,具有多种重要生理功能,如参与纤溶、细胞骨架活动、胞膜运输、细胞间的粘附,粘合素介导的细胞信号转导、病毒感染及细胞的增殖、迁移与分化等[1~4]。本室研究表明,tPA与KC的分化密切相关[5],为进一步了解其受体annexinⅡ在KC分化中的作用,本实验选用早、中、晚期人胚胎及成人的皮肤作为研究对象,采用免疫组织化学(IHC)技术检测annexinⅡ在不同胚胎发育阶段及成人期的表达和变化规律,以探讨annexinⅡ在KC分化中的作用及可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 标本分组

11例合法人工流产术终止妊娠的人胚胎(取自西南医院妇产科),根据综合指标确定胎龄并分为3期:早期(12~13周)3例,中期(20~24周)3例,晚期(30~33周)3例。成人(20~30岁)标本取自西南医院创伤外科手术切除背部皮肤组织。

1.2 免疫组化单染方法

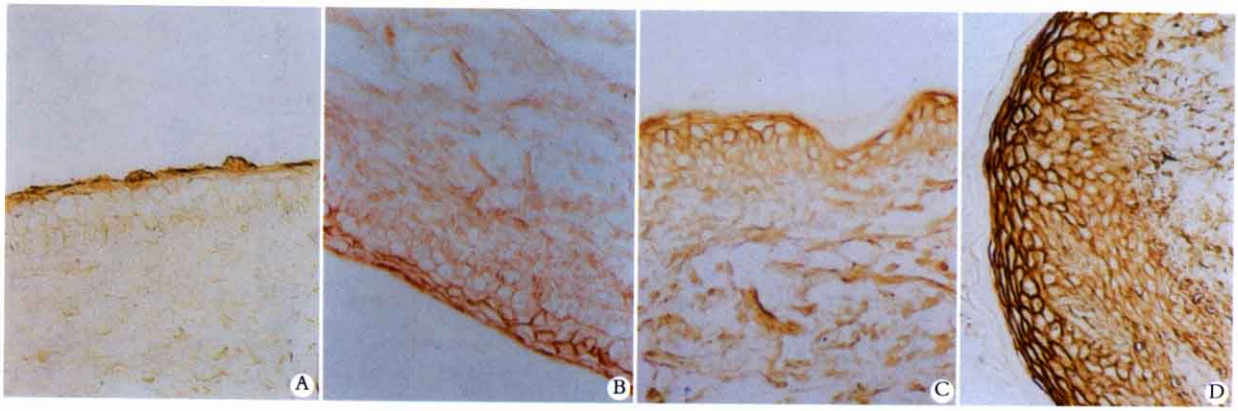
抗annexinⅡ单克隆抗体购自American Diagnostic公司,S-P试剂盒为北京中山公司产品。具体步骤为:皮肤标本在4%多聚甲醛中固定24 h后浸入30%蔗糖脱水24 h,低温恒冷切片机切成6 μm厚切片,风干后丙酮固定10 min,0.01 mol/L PBS洗3×3 min;1% H_2O_2甲醇封闭15 min以阻断内源性过氧化物酶,0.01 mol/L PBS洗3×3 min;二抗的正常血清封闭,室温15 min,倾去血清,不洗,加抗annexinⅡ单抗(1:500稀释),置湿盒

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30371383,30270671)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30371383, 30270671)
作者简介:李习玲(1968-),女,河南省卫辉县人,硕士,讲师,主要从事表皮角质形成细胞分化调控机制方面的研究。电话:(023)68752260
通讯作者:杨 恬,电话:(023)68752260, E-mail: tiany@163.net
收稿日期:2004-07-05;**修回日期**:2004-11-21

中4 ℃过夜，PBS 洗 3 ×3 min；加二抗，37 ℃孵育 30 min，PBS 洗 3 ×3 min；滴加 S-P，37 ℃孵育 30 min，0.01 mol/L PBS 洗 3 × 3 min；DAB 显色，梯度酒精脱水，二甲苯透明，中性树脂封片。以 0.01 mol/L PBS 替代一抗作为阴性对照。

2 结果

Annexin Ⅱ在人胚胎期表皮 KC 中的表达随胚胎的发育逐渐增强，主要分布于表皮浅层的 KC 细胞膜内。胚胎早期，表皮浅层表达较强的阳性细胞有 2 层（图 1A）；胚胎中期，表皮浅层表达较强的阳性细胞层数增多，有 3 ~ 4 层（图 1B）；胚胎晚期，表皮浅层表达较强的阳性细胞增至 5 ~ 6 层（图 1C）。而其在成人表皮 KC 中的表达强度明显高于胚胎期，且主要分布于基底上层分化程度较高的 KC 细胞膜内，表皮浅层表达较强的阳性细胞有 7 ~ 8 层（图 1D）。



A: Early embryonic skin; B: Middle embryonic skin; C: Late embryonic skin; D: Adult skin

图 1 皮肤 annexin Ⅱ IHC 染色 （S-P ×200）

Fig 1 Annexin Ⅱ in skin （S-P ×200）

3 讨论

Annexin Ⅱ是 Ca^{2+} 介导的具有高亲和力的磷脂结合蛋白，具有多种重要生理功能，如参与纤溶、细胞骨架活动、胞膜运输、细胞间的粘附，粘合素介导的细胞信号转导、病毒感染及细胞的增殖、迁移与分化等[1~4]。Vellucci 等[6]采用原代培养的人角质形成细胞（HKs）和表皮鳞癌细胞株（SqCCs），通过差减杂交实验发现，HKs 内 annexin Ⅱ的转录水平比 SqCCs 高 2 ~20 倍，并由此推断 annexin Ⅱ与角质形成细胞的分化密切相关。本实验采用免疫组化（IHC）技术，分别对早、中、晚期人胚胎表皮 KC 及成人表皮 KC 中 annexin Ⅱ蛋白的表达进行检测。结果显示，annexin Ⅱ在人胚胎期表皮 KC 及成人表皮 KC 中的表达，均主要分布于基底上层分化程度较高的 KC 中。提示 annexin Ⅱ与角质形成细胞的分化相关。

新近研究表明，annexin Ⅱ是纤维蛋白溶解酶原（PLG）和组织型纤溶酶原激活物（tPA）的共受体[7,8]，其在表皮 KC 表达丰富，亦可以游离状态分泌到 KC 细胞间，关于此种细胞间游离 annexin Ⅱ的功能尚不十分明确，而位于 KC 表面的 annexin Ⅱ可能作为 tPA 的受体蛋白，通过活化纤溶酶原为纤溶酶，降解胞外的基质来促进角质形成细胞的迁移、分层和分化，而参与 KC 的分化[5,9~11]。

本研究结果显示，胚胎期，annexin Ⅱ的表达主要分布于基底上层分化程度较高的 KC 中，与 tPA 在胚胎期的表达部位一致[12]。但两者在胚胎期及成人期表达水平的变化却并不一致，本研究表明，annexin Ⅱ在人胚胎期表皮 KC 中的表达随胚胎的发育逐渐增强，且其在成人期表皮 KC 中的表达明显高于胚胎期；而 tPA 在人胚胎期表皮 KC 中的表达明显高于出生后期，胚胎期的表达高峰在胚胎中期[12]，成人表皮 KC 内 tPA 的表达量极低，用常规技术方法难以检测[13]。已有实验证实，tPA 与表皮 KC 的分化密切相关[5,12]，胚胎期，表皮 KC 的增殖、分化、迁移功能活跃，annexin Ⅱ可能是作为 tPA 的受体，通过活化纤溶酶原为纤溶酶，降解胞外的基质来促进角质形成细胞的迁移、分层和分化[5,11]。成人期，两者表达水平的不一致表明，annexin Ⅱ可能在调节正常表皮 KC 的分化中起重要作用，对此国内外尚少见报道。

参考文献：

[1] Raynal P, Pollard H B. Annexins: the problem of assessing the biological role for gene family of multifunctional calcium- and phospholipid-binding proteins[J]. Biochem Biophys Acta, 1994, 1197(1): 63 - 93.

[2] Hajjar K A, Krishnan S. Annexin Ⅱ: a mediator of the plasmin/plas-

minogen activator system[J]. Trends Cardiovasc Med, 1999, 9(5): 128 - 138.
[3] Kang H M, Choi K S, Kassam G, *et al*. Role of annexin Ⅱ tetramer in plasminogen activation[J]. Trends Cardiovasc Med, 1999, 9(3-4): 92 - 102.
[4] Siever D A, Erickson H P. Extracellular annexin Ⅱ[J] Int J Biochem Cell Biol, 1997, 29(11): 1219 - 1223.
[5] Lian X H, Yang T, Xiang M M. Roles of tissue plasminogen activator in epidermal stratification[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2003, 27(2-3): 231 - 240.
[6] Vellucci V F, Germino F J, Reiss M. Cloning of putative growth regulatory genes from primary human keratinocytes by subtractive hybridization[J]. Gene, 1995, 166(2): 213 - 220.
[7] Kim J, Hajjar K A. Annexin Ⅱ: a plasminogen-plasminogen activator co-receptor[J]. Front Biosci, 2002, 7: D341 - D348.
[8] Falcone D J, Borth W, Khan K M, *et al*. Plasminogen-mediated matrix invasion and degradation by macrophages is dependent on surface expression of annexin Ⅱ[J]. Blood, 2001, 97(3): 777 - 784.
[9] Ma A S, Bell D J, Mittal A A, *et al*. Immunocytochemical detection of extracellular annexin II in cultured human skin keratinocytes and isolation of annexin Ⅱ isoforms enriched in the extracellular pool[J]. J Cell Sci, 1994, 107 (Pt 7): 1973 - 1984.
[10] Karimi Busheri F, Marcoux Y, Tredget E E, *et al*. Expression of a releasable form of annexin Ⅱ by human keratinocytes[J]. J Cell Biochem, 2002, 86(4): 737-747.
[11] Buessecker F, Reinartz J, Kramer M D. tPA of human keratinocytes: contribution to cell surface-associated plasminogen activation and upregulation by retinoic acid[J]. Exp Dermatol, 1995, 4(6): 357 - 364.
[12] 宋 川, 杨 恬, 杨 进. 组织型纤溶酶原激活剂在人胚胎表皮角质形成细胞分化中的作用[J]. 中国医学科学院学报, 2001, 23(6): 623 - 626.
[13] Baird J, Lazarus G S, Belin D, *et al*. mRNA for tissue-type plasminogen activator is present in lesional epidermis from patients with psoriasis, pemphigus, or bullous pemphigoid, but is not detected in normal epidermis[J]. J Jnvest Dermatol, 1990, 95(5): 548 - 552.

(编辑 陈聪连)

文章编号:1000-5404(2005)17-1795-01

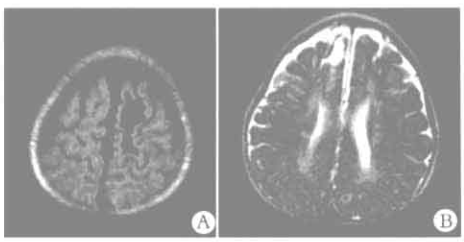
个案与短篇

1例色素失禁症颅脑损害的MRI表现

MRI manifestation of cerebral lesions of incontinentia pigmenti: a case report

李政良[1], 幸 东[1], 王 亮[1], 王连庆[2], 张淑倩[2] ([1]武警河北总队医院放射科, 石家庄 050081; [2]河北省人民医院影像中心, 石家庄 050051)

患儿, 女, 10个月, 生后15 d开始在躯干、四肢近端出现弥漫性线条状排列的淡红色斑。3周后在此基础上出现绿豆至蚕豆大水疱和丘疹, 疱壁厚, 尼氏征阴性, 不伴发热, 无自觉症状。2个月后水疱逐渐消退代之以不规则或旋涡形淡褐色斑, 随后由淡褐色逐渐变为深褐色。9个月时, 父母发现患儿右侧肢体轻度无力, 并肢体活动减少。个人史: 患儿系第2胎, 足月, 顺产, 无宫内缺氧或窒息史, 无传染病接触史及疫区生活史。其哥哥12岁, 无此病史, 查体未见异常, 父母健康, 非近亲结婚。查体: 患儿营养良好, 发育迟缓。右侧肢体肌力Ⅳ级, 肌腱反射亢进, 浅表感觉减退, 未见乳牙生长, 毛发、指(趾)甲未见异常, 患儿智力如3～4个月大小, 不能说出"爸爸"、"妈妈"等简单词语。皮肤组织病理: 表皮轻度角化过度, 基底层可见点状液化变性, 真皮浅层有较多噬黑素细胞及游离黑素颗粒, 血管周围嗜酸性粒细胞和淋巴细胞浸润。使用GE Signa 1.5T超导型CV/IMR扫描仪, 头表面线圈, 自旋回波(SE)、快速自旋回波(FSE)和水抑制反转恢复(FLAIR)序列常规行横断面扫描, 未行增强扫描。T_1WI TR 480 ms, TE 12 ms; T_2WI TR 3 400 ms, TE 98 ms; FLAIR TR 8 002 ms, TE 105 ms, TI 2 000 ms。FOV: 24 cm × 24 cm, 层厚5 mm, 间隔2.5 mm, 1 NEX, 矩阵512 × 192。结果显示: 双侧额顶叶皮层下不规则形软化囊腔, 双侧侧脑室周围白质略长T2信号影, 边界不清, 双侧大脑半球脑沟、脑裂较深(图1)。



A: 头颅MR横断面T_2WI像; B: 头颅MR横断面FLAIR像

图1 颅脑损害的MRI表现

讨论

色素失禁症(incontinentia pigmenti, IP)又称Bloch-Sulzberger综合征, 属X染色体显性遗传的神经皮肤综合征。由Garrod

(下转1798页)

作者简介: 李政良(1977-), 男, 陕西省西安市人, 医师, 主要从事CT和MRI临床诊断方面的研究。电话: 13081100524
收稿日期: 2004-12-02; 修回日期: 2005-02-12