文章编号:1000-5404(2006)09-0979-03

论著

增生性瘢痕中P物质神经纤维与肥大细胞关联的形态学观察

陈 亮[1],流 沙[2],李世荣[1] (第三军医大学:[1]西南医院整形外科中心,[2]内分泌科,重庆 400038)

提 要:目的 对增生性瘢痕中神经肽P物质神经纤维与肥大细胞进行形态学观察,探讨增生性瘢痕中二者的相互作用情况。**方法** 对神经肽P物质神经纤维及肥大细胞分别行免疫组化及甲苯胺蓝染色,进行形态学观察。**结果** 在增生性瘢痕中,神经肽P物质神经纤维分支多且交错连接,正常皮肤中多为单根走形;瘢痕中肥大细胞数(7.22)显著多于正常皮肤(4.64),有统计学意义;增生性瘢痕中神经肽P物质与肥大细胞密切关联,呈"串珠"样形态。**结论** 增生性瘢痕中神经肽P物质神经纤维与肥大细胞的密切关联,可能与瘢痕的增生和瘙痒相关。

关键词: 增生性瘢痕;P物质;肥大细胞
中图法分类号: R329.24; R392.3; R619.02 **文献标识码:** A

Correlation of substance P nerve fiber and mast cells in hypertrophic scar

CHEN Liang[1], LIU Sha[2], LI Shi-rong[1] ([1]Department of Plastic Surgery, [2]Department of Endocrinology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To observe the morphology of substance P nerve fiber and mast cells in hypertrophic scar and normal skin and investigate the interaction of substance P nerve fiber and mast cells in hypertrophic scar. **Methods** The hypertropic scar tissue and the normal skin was from 8 burnt patients who underwent operation owing to cicatricial contracture. The amount and shape of substance P nerve fiber and mast cells in hypertrophic scar were observed after immunohistochemistry and toluidine blue. **Results** In hypertropic scar tissue, the substance P nerve fiber was ramous and interlacing, but in normal skin, it was paralleled. The mast cells in the hypertropic scar tissue (7.22) were more than that in normal skin (4.64). Substance P and mast cells showed close relationship in hypertrophic scar, as pearls' appearance that was more significant than in normal skin. **Conclusion** Substance P and mast cells have close relationship in hypertrophic scar, indicating that substance P and mast cells may play an important role in the development and pruritus of hypertrophic scar.

Key words: hypertrophic scar; substance P; mast cell

在人的正常皮肤及许多皮肤性疾病中,肥大细胞(mast cell, MC)脱颗粒与含神经肽P物质(substance P, SP)的神经纤维密切相关。研究证明在增生性瘢痕(hypertrophic scar, HS)组织中MC的数目和SP含量均高于正常皮肤,MC的特定颗粒中存在SP,二者的共同作用贯穿皮肤免疫反应和瘙痒炎症作用的整个过程[1,2]。有报道表明在人正常皮肤中有神经纤维与MC联接的突触样结构,并且与MC形成突触样连接的神经纤维末梢内有SP免疫反应的囊泡,提示递质可能为SP。人HS中SP神经纤维与MC的形态学观察尚少见报道,对此进行研究分析有助于揭示HS增生、瘙痒和疼痛的发生机制。

1 材料与方法

1.1 标本选取

HS标本8例,均取自于我院整形美容外科烧伤患者,因瘢痕挛缩畸形需行手术的患者;正常皮肤标本8例,取自供皮。取材时限:烫伤或烧伤后7~12个月;取材部位:多取材于手部、肘部和踝关节的活动部位;患者年龄:其中男性4例,女性4例,年龄4~11岁,平均6.7岁;烧伤深度:烧伤面积为2%~26% TBSA,烧伤深度为Ⅱ~Ⅲ度。取材患者术前检查未见传染病、免疫性疾病和其他皮肤病,肝肾功能、血糖及各项实验室检

作者简介:陈 亮(1978-),男,吉林省吉林市人,博士研究生,医师,主要从事瘢痕的防治方面的研究,发表论文5篇。电话:(023)66953652,E-mail: chenliang1978309@tom.com
通讯作者:李世荣,电话:(023)68754192,E-mail: Lisr@tmmu.com.cn
收稿日期:2006-01-12;修回日期:2006-03-02

查正常，局部未行任何治疗。

1.2 取材处理

新鲜切除的HS组织标本及取自供皮区的正常皮肤标本，用生理盐水清洗3次去除血污，用眼科剪去除皮下脂肪，制备石蜡切片。分别进行HE染色、SP免疫组化染色、MC甲苯胺蓝染色、S-P免疫组化染色后甲苯胺蓝复染。

1.3 SP免疫组化染色

石蜡切片脱蜡至水后，按S-P免疫试剂盒（北京中山生物技术有限公司）操作步骤进行标记，DAB显色试剂盒（北京中山生物技术有限公司）显色，蒸馏水充分冲洗，二甲苯透明中性树胶封片，显微镜下观察照相。

1.4 MC甲苯胺蓝染色[3]

石蜡切片脱蜡至水，切片在20%甲苯胺蓝稀释液中作用15 min，乙醇快速脱水，每步骤10 min，蒸馏水充分冲洗，镜检，MC颗粒呈紫红色，二甲苯透明，中性树胶封片，显微镜下观察，统计分析并照相。MC甲苯胺蓝染色切片中，每高倍视野MC数=20个高倍视野（×400）MC总数/20。

1.5 SP免疫组化染色后甲苯胺蓝复染

石蜡切片脱蜡至水，按以上步骤进行SP免疫组化染色后，甲苯胺蓝复染，二甲苯透明，中性树胶封片，显微镜下观察照相。

1.6 统计学处理

数据均用$\bar{x} \pm s$来表示，采用SPSS 10.0统计软件进行t检验。

2 结果

2.1 HS中SP的表达

在特异性抗血清孵育的皮肤及HS光镜切片上，SP免疫组化反应产物呈棕色沉淀，背景浅黄色。在HS中，可见SP免疫反应阳性神经纤维异常丰富，与正常皮肤中多见的单根走行的SP免疫反应阳性神经纤维不同，HS中SP免疫反应阳性神经纤维含量高，分支多，且多为分支交错连接，可环绕小血管分布（图1、2）。



图1 正常皮肤SP免疫反应阳性神经纤维单根走行 （S-P×400）



图2 HS中SP免疫反应阳性神经纤维网状且环绕小血管 （S-P×200）

2.2 HS中MC形态数量变化

在正常皮肤中，MC主要分布在真皮浅层，且血管、毛囊和皮脂腺周围较多，真皮网状层分布相对较少，正常表皮内不含MC。在HS中，可见MC全层分布，并且各层血管周围和胶原纤维束之间数量较多，瘢痕表皮下和真皮网状层也有大量的MC，MC形态多样，颗粒深染，有不同程度的脱颗粒现象。HS中MC数量显著多于正常皮肤。HS组每高倍视野MC数为7.22个（图3），明显多于正常皮肤组4.64个（$P<0.01$）。

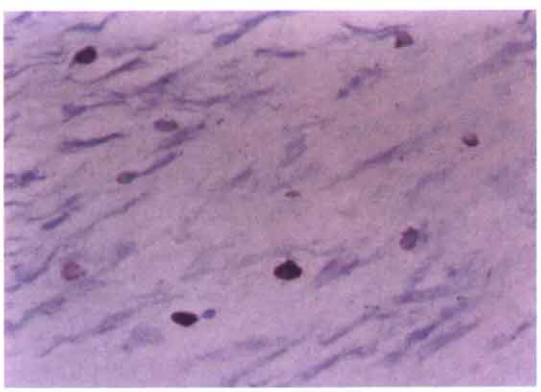


图3 HS中MC数量多，形态多样，有不同程度脱颗粒现象 （甲苯胺蓝染色×400）

2.3 HS中SP与MC形态观察

SP免疫组化染色后，甲苯胺蓝复染，观察二者关联。在HS中，MC多数串连在SP免疫反应阳性神经纤维末梢，与SP神经纤维紧密相连，或分布于SP神经纤维周围，也有少量的MC可游离存在。SP免疫反应阳性神经纤维纵横交错，分布于HS全层，与MC密切关联，呈“串珠”样，但并非所有的SP神经纤维均与MC串连。与SP神经纤维末梢相连的MC可见不同程度的脱颗粒现象，正常皮肤中也表现出类似情况，但SP神经纤维和MC皆少于HS，“串珠”样结构相对较少（图4）。

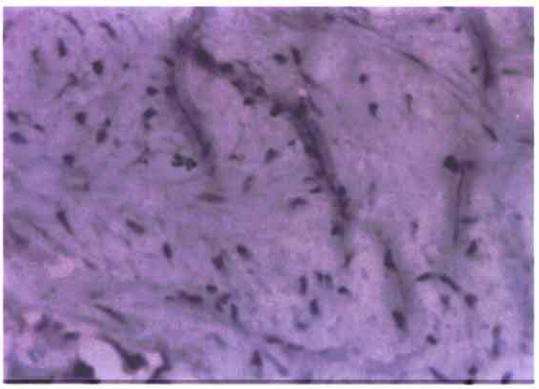


图4　HS中SP免疫反应阳性神经纤维与MC串联　(S-P和甲苯胺蓝染色×400)

3　讨论

神经肽与MC的相互作用近年才引起国内外学者的关注，特别是SP作为首次发现的神经肽，可显著促进MC脱颗粒[4]。以往对SP和MC相互作用的研究多见于正常皮肤，对HS研究较少。本实验表明与正常皮肤相比，HS中的SP和MC在数量、形态、相互的作用及联系等多个方面与正常皮肤比较均存在显著差异，推测与瘢痕增生可能有密切的关联。在HS中MC多数串连在SP免疫反应阳性神经纤维末梢，呈“串珠”样，正常皮肤中“串珠”样结构相对较少，可能是因为正常皮肤中SP神经纤维和MC皆少于HS，或HS中二者的关联更加显著而引起。

SP和MC作用机制可能为：Lembeck[5]提出轴突反应模式和张保真[6]提出的轴突反射、接力联动模型。他们的基本环节是当皮肤某一点受刺激时，受刺激局部MC释放组胺、舒血管缓激肽及前列腺素等使局部的神经末梢兴奋，经轴突反射使另一神经侧枝SP释放，与之相连的MC脱颗粒释放活性物质引起与它相连的另一神经末梢兴奋，通过轴突反射重复上述过程，再引起与这一侧枝相邻的MC释放生物活性物质。现神经与MC联接已得到基本证实，证明了神经与MC联接的双向性传导性及MC在相邻两轴突末梢间信息传递过程中的中介作用。本实验研究表明HS中MC多数串连在SP神经纤维末梢，与SP神经纤维紧密相连，或分布于SP神经纤维周围，SP神经纤维纵横交错，与关联MC密切，呈“串珠”样关联，同样为以上模式提供依据。HS中MC和SP数量的增多能够使轴突反射增强扩散，促进组胺释放，可能是HS中SP对MC作用强于正常皮肤的原因。

瘢痕增生过程实质是胶原大量合成的过程，组胺有促进成纤维细胞合成胶原纤维的作用，SP是促使成纤维细胞有丝分裂的重要因素之一[7]，并且组胺和SP是引起瘙痒的重要介质。含SP的神经纤维与MC直接联接，SP可诱导MC脱颗粒释放活性物质，引起免疫反应和瘙痒炎症，加重HS患者痛苦。可见SP和MC与瘢痕的瘙痒疼痛和增生关系非常密切，有研究表明应用SP拮抗剂可治疗与SP和MC相关的皮肤性疾病[8,9]，起决定性作用的拮抗剂是神经激肽$_1$(neurokinin-1，NK$_1$)受体拮抗剂[10]。充分研究SP与MC的相互作用和作用机制，有利于揭示HS的发病机制，进而应用SP及SP受体拮抗剂阻断二者的作用，有望成为治疗HS的新方法，在临床有广阔的应用前景。

参考文献：

[1] 陈　亮，李世荣，丛　林. 皮肤中的肥大细胞与神经肽P物质[J]. 中国临床康复，2004，8(2)：334－335.

[2] FISCHER A，WUSSOW A，CRYER A，*et al*. Neuronal plasticity in persistent perennial allergic rhinitis[J]. J Occup Environ Med，2005，47(1)：20－25.

[3] 陈德英，蔡文琴. 块染石蜡切片方法显示肥大细胞的探讨[J]. 第三军医大学学报，2001，23(5)：602，607.

[4] AZZOLINA A，BONGIOVANNI A，LAMPIASI N. Substance P induces TNF-alpha and IL-6 production through NF kappa B in peritoneal mast cells [J]. Biochim Biophys Acta，2003，1643(1－3)：75－83.

[5] LEMBECK F. Mediators of vasodilatation in the skin[J]. Br J Dermatol，1983，109(Suppl 25)：1－9.

[6] 张保真. 关于经络线路皮肤反应和循经感传形态生理学问题的讨论：轴索反射接力联动一说的建议[J]. 西安医学院学报，1984，5(1)：90－92.

[7] KAHLER C M，HEROLD M，REINISCH N，*et al*. Interaction of substance P with epidermal growth factor and fibroblast growth factor in cyclooxygenase-dependent proliferation of human skin fibroblast[J]. J Cell Physiol，1996，166(3)：601－608.

[8] ERIN N，ERSOY Y，ERCAN F，*et al*. NK-1 antagonist CP99994 inhibits stress-induced mast cell degranulation in rats[J]. Clin Exp Dermatol，2004，29(6)：644－648.

[9] MASSAAD C A，SAFIEH GARABEDIAN B，POOLE S，*et al*. Involvement of substance P，CGRP and histamine in the hyperalgesia and cytokine upregulation induced by intraplantar injection of capsaicin in rats[J]. J Neuroimmunol，2004，153(1－2)：171－182.

[10] D'ANDREA M R，SABAN M R，GERARD N P，*et al*. Lack of neurokinin-1 receptor expression affects tissue mast cell numbers but not their spatial relationship with nerves[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol，2005，288(2)：491－500.

(编辑　张大春)