论著

文章编号:1000-5404(2007)24-2304-03

整合素 β1 在大鼠毛囊中的表达稳定性研究

郭燕燕[1],杨 恬[1],杨 力[2],陈 伟[1],施春英[2],连小华[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 探讨整合素 β1(β1 integrin)在大鼠背皮毛囊发育及生长周期中的表达及其意义。**方法** 采用免疫组织化学技术检测 β1 integrin 在胚胎 E17.5、E18.5、E19、E20 和出生后 1、7、29 d 的表达。**结果** 在 E17.5、E18.5、E19、E20 β1 integrin 在发育毛囊中未见表达,在胚胎前期即 E17.5、E18.5 时表皮呈阳性表达,到 E19、E20 转为阴性。出生后 1、7 d β1 integrin 在毛囊外根鞘中下段接近毛球部呈阳性表达,29 d 在皮脂腺细胞呈阳性表达。**结论** β1 integrin 在大鼠毛囊生长期作为毛囊干细胞标记物比较好,并且它对毛囊干细胞维持自身的稳定性有重要作用。

关键词: 毛囊发育;干细胞标记物;毛囊周期

中图法分类号: R322.99;R329.25 **文献标识码:** A

β1 integrin expression in rat hair follicle

GUO Yan-yan[1], YANG Tian[1], YANG Li[2], CHEN Wei[1], SHI Chun-ying[2], LIAN Xiao-hua[1] ([1]Department of Cell Biology, College of Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, [2]College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China)

Abstract: Objective To investigate β1 integrin expression during development and growth cycle in hair follicle of SD rat dorsal skin. **Methods** β1 integrin expression was detected by immunohistochemistry at E17.5, E18.5, E19, E20 and postnatal day 1, 7, 29. **Results** β1 integrin expression was negative in hair follicle of E17.5, E18.5, E19, E20, positive in epidermis of E17.5, E18.5 and turned to be negative in E19, E20. β1 integrin expressed in outer root-sheath of hair follicle at postnatal day 1, 7. **Conclusion** β1 integrin can be a good hair follicle stem cell marker in anagen and is very important for hair follicle stem cell to maintain its stability.

Key words: hair follicle development; stem cell maker; hair follicle cycle

整合素 β1(β1 integrin)主要使干细胞与其周围的细胞外基质黏附维持其自身的稳定性。它与其配体相互作用可以为干细胞的分化、增殖提供适当的微环境并控制干细胞的增殖和分化,因此它是毛囊干细胞研究常用的标记物之一[1,2]。毛囊干细胞具有通过整合素(integrin)与基膜黏附的特性,整合素表达降低表明该干细胞脱离该干细胞群并进入了分化。整合素可以定位追踪干细胞[1]。而标记物表达的稳定性对于毛囊干细胞的分离、鉴定及功能特性的研究有重要意义。目前关于 β1 integrin 在毛囊发育及毛囊周期各时期中的表达情况还没有系统的报道。而大鼠背部皮肤毛囊的周期同步性比较好,在国外很多文献中都选取背部皮肤毛囊作为研究对象,因此我们通过对大鼠背部皮肤毛囊发育及生长周期中 β1 integrin 表达研究来探讨其意义。

1 材料与方法

1.1 标本来源

SD 大鼠(第三军医大学实验动物中心提供),胚胎 E17.5、E18.5、E19、E20 各期及出生后 1、7、29 d 各 1 只。

1.2 主要试剂

兔抗大鼠 β1 integrin 抗体(武汉博士德有限公司)、SABC 免疫组化试剂盒、DAB 显色试剂盒(北京中杉公司)。

基金项目: 国家自然科学基金(30671888);高等学校学科创新引智计划("111")(B06023)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30671888) and the Innovation Project of Higher Education ("111" Project, B06023)

作者简介: 郭燕燕(1981-),女,山西省洪洞县人,硕士研究生,主要从事毛囊干细胞分化方面的研究。电话:(023)66100082,E-mail:yanyan5127@sina.com

通讯作者: 连小华,电话:(023)68752264,E-mail:29hx@sohu.com

收稿日期: 2007-06-12;**修回日期:** 2007-08-30

1.3　主要设备

光学显微镜、转轮切片机、病理切片漂烘仪等(Leica)。

1.4　免疫组织化学法

取大鼠背部皮肤(距颈部 1 cm 处为界)，PBS 洗净，于 4% 多聚甲醛中 4 ℃固定 12～24 h，梯度乙醇脱水，二甲苯透明，浸蜡后包埋，石蜡切片厚度为 6 μm。经脱蜡水合，蒸馏水冲洗，3% H_2O_2 室温孵育 15 min，PBS 洗 3 次，每次 5 min，微波抗原修复，用 SABC 试剂盒中正常血清封闭室温孵育15 min。吸去血清，勿洗，加入兔抗大鼠 β1 integrin 抗体，4 ℃孵育过夜，另以 PBS 替代一抗作为空白对照。随后加二抗，37 ℃孵育 30 min。再加三抗 37 ℃孵育 30 min，DAB 显色，梯度乙醇脱水，二甲苯透明，中性树胶封片。

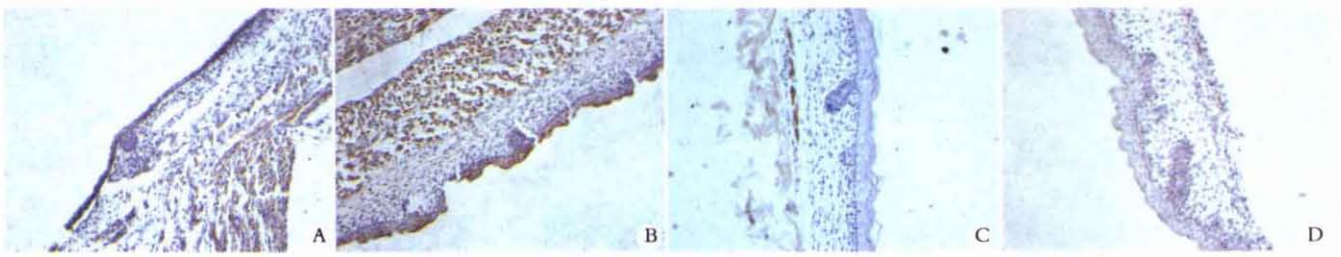
2　结果

2.1　β1 integrin 在胚胎各期毛囊中的表达

免疫组化染色结果显示在胚胎发育各期中的毛囊均未见表达，在胚胎前期即 E17.5、E18.5 表皮全层呈阳性表达，到 E19、E20 转为阴性，随着胎龄的增加表达量逐渐减弱。见图 1。

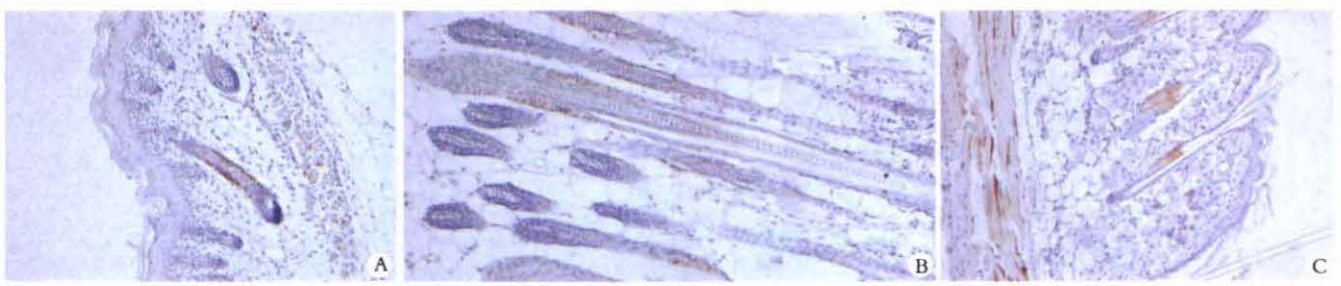
2.2　β1 integrin 在生长周期各时期的表达

免疫组化染色结果可见 β1 integrin 在生长期(1、7 d)毛囊外根鞘中下段呈阳性表达，在处于静止期(29 d)的毛囊中皮脂腺细胞呈阳性表达。在各期变化过程中未看到表达量有明显变化。见图 2。



A：E17.5；B：E18.5；C：E19；D：E20

图 1　大鼠胚胎各期背皮毛囊 β1 integrin 的表达　(SABC×200)



A:1 d；B:7 d；C:29 d

图 2　大鼠生长周期中各时期背皮毛囊 β1 integrin 的表达　(SABC×200)

3　讨论

毛囊是皮肤的重要附属器官，它能够不断自我更新并周期性地生长、退化，主要依靠存在于毛囊隆突区的角质干细胞[3]。越来越多的证据证实了毛囊隆突区(bulge region)是多潜能干细胞的贮藏地，该区域的细胞具有慢周期、高增殖、多潜能分化的特性，然而，缺乏特异的毛囊干细胞标记物已经阻碍了这些多潜能干细胞的分离以及进一步分析[4,5]。

通过对大鼠胚胎各期 β1 integrin 表达情况的观察，我们观察到胚胎发育各时期中的毛囊 β1 integrin 均未见表达，说明 β1 integrin 是否适合作为胚胎发育期毛囊干细胞的标记，有待进一步探讨。β1 integrin 在出生后 1、7 d 处于生长期的毛囊外根鞘的中下段呈阳性表达，在出生后 29 d 处于静止期的毛囊皮脂腺细胞呈阳性表达。在这个过程中未看到表达量明显变化。与以往研究相比，我们较完整的观察了毛囊生长周期中 β1 integrin 的表达情况，说明 β1 integrin 可作为出生后毛囊干细胞的标记物。

当干细胞微环境发生改变时，细胞外某些信息可通过整合素传递给干细胞，以触发跨膜信号转导，调控细胞的基因表达。这一过程可改变干细胞的分裂方式，而且可激发干细胞的多潜能性，使干细胞产生一种或多种定向祖细胞，以适应组织修复的需要。β1 integrin 正常表达时，可介导干细胞和细胞外基质黏附，抑制干细胞分化。β1 integrin 丧失功能时，表皮干细胞脱离微环境的制约进行分化。表面整合素水平下降，细胞失去对基底膜的黏附。所以整合素的表达及干细胞的黏附性是维持干细胞群落所必需的条件，二者的缺失将导致干细胞停止自我更新，进入终末分化[2,6]。本研究显示 β1 integrin 在胚胎期毛囊表达缺乏，是否提示在毛囊发育过程中可能存在其他与 β1 integrin 作

用类似的分子如α6 integrin、钙黏素等维持着毛囊干细胞对微环境的黏附，稳定其相关特性。对此推测需进行更多的实验加以证实[7,8]；从我们对毛囊生长周期β1 integrin表达情况的观察可以推测它对于生长周期中毛囊干细胞的维持比较重要。因此β1 integrin作为生长期的毛囊干细胞标记物比较稳定。

参考文献：

[1] Morris R J, Liu Y, Marles L, *et al*. Capturing and profiling adult hair follicle stem cells[J]. Nat Biotechnol, 2004, 22(4): 411-417.

[2] 王 锋，王启凤，赵雪萍. 皮肤干细胞的研究进展及其应用[J]. 中国临床康复, 2006, 10(21): 135-137.

[3] 李远宾，王 韵，杨 恬，等. 雄激素受体在大鼠触须毛囊干细胞中的表达研究[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(9): 889-891.

[4] Oshima H, Rochat A, Kedzia C, *et al*. Morphogenesis and renewal of hair follicles from adult multipotent stem cells[J]. Cell, 2001, 104(2): 233-245.

[5] Blanpain C, Lowry W E, Geoghegan A, *et al*. Self-renewal, multipotency, and the existence of two cell populations within an epithelial stem cell niche[J]. Cell, 2004, 118(5): 635-648.

[6] Brakebusch C, Fassler R. beta 1 integrin function *in vivo*: adhesion, migration and more[J]. Cancer Metastasis Rev, 2005, 24(3): 403-411.

[7] Watt F M, Lo-Celso C, Silva-Vargas V. Epidermal stem cells: an update[J]. Curr Opin Genet Dev, 2006, 16(5): 518-524.

[8] 徐盈斌，利天增，祁少海，等. 荷负电气溶胶对大鼠烫伤创面表皮细胞生长因子和β_1整合素表达的影响[J]. 第三军医大学学报, 2005, 27(12): 1229-1231.

（编辑 郭建秀）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2007)24-2306-01

亲水性丙烯酸酯人工晶体植入后前囊膜挛缩1例

李世宏，叶 剑，郑 灿，干雪梅，董 燕 （第三军医大学大坪医院野战外科研究所眼科，重庆 400042）

患者，男性，50岁。因双眼视力下降10年，左眼加重半年来我院就诊。视力检查：右眼0.2，左眼0.05。双眼角膜明，前房清，晶体核性混浊，右眼Ⅲ级，左眼Ⅳ级。眼底看不清。B超：无异常。眼电生理提示：双眼视诱发电位，视网膜电图均异常。于2006年12月20日和2007年1月12日分别行Phaco+IOL植入术。植入博士伦亲水性丙烯酸酯人工晶体——AKEROS A-DAPT四襻式人工晶体。术后视力：右眼0.6，左眼0.4。半年后，患者感双眼视力进行性下降，复诊。视力检查：右眼0.1，左眼0.05。散瞳后视觉质量进一步下降。双眼前房(-)，人工晶体被挛缩的前囊膜紧紧包裹，仅余中心2 mm大小前囊袋口。四襻向前，向心卷曲，晶体光学面向后凸起，后囊膜可见薄层增殖，混浊(图1)。予Nd:YAG激光前囊膜放射状切开，人工晶体光学面变平展，晶体襻向外张开，视力提高至0.3(图2)。

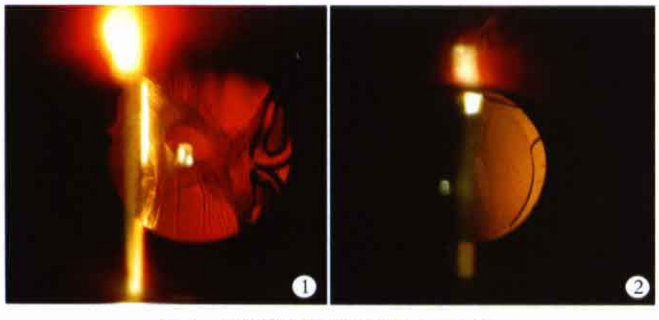


图1 收缩的囊袋和弯曲的人工晶体

图2 Nd:YAG激光后的人工晶体

作者简介：李世宏(1969-)，男，天津市人，硕士，主治医师，主要从事青光眼、白内障基础方面的研究，发表论文6篇。电话：(023)68757834

通讯作者：叶 剑，电话：(023)68757834

收稿日期：2007-07-06；**修回日期**：2007-09-27

讨论

亲水性丙烯酸酯一片式人工晶体是近年推出的一款新型人工晶体，具有生物相容性好，放置平稳，囊袋受力均匀等优点，特别是其直角方边的款型，有助于减少后发障的发生。囊膜收缩综合征(capsular contraction syndrome, CCS)[1]是白内障手术后的一种重要并发症，表现为前囊袋口进行性收缩，前囊膜纤维化等，其发生的病理机制可能是手术中残存的晶体上皮细胞增殖，并化生为具有收缩性的纤维细胞，从而造成人工晶体的移位，光学部偏中心以及倾斜等，使患者的术后视觉质量下降。据文献[2]报道，囊膜收缩综合征常发生于术后的2~4周，术中前囊袋的连续环形撕囊(continuous curvilinear capsulorhexis, CCC)开口过小，可能是CCS的诱因。本例患者的发生CCS可能与手术中CCC开口较小有关。同时，由于AKEROS晶体较软，晶体襻对囊袋张力较小，因此囊袋收缩时晶体较易发生弯曲，倾斜，节点移位，引起视力下降。当行Nd:YAG激光前囊袋口十字切开后，囊膜向心的收缩力随即放松，晶体平展，视力提高。

关键词：丙烯酸酯；人工晶体；囊膜挛缩

中图法分类号：R776.105 **文献标识码**：B

参考文献：

[1] 黄 蓉，管怀进，周激波. 白内障摘除术后晶状体前囊膜收缩综合征临床病理分析三例[J]. 中华眼科杂志, 2005, 40(1): 72-75.

[2] 曲道飞，张小平，李 欣，等. 囊袋收缩综合征的Nd:YAG激光治疗[J]. 中国实用眼科杂志, 2005, 23(12): 1340-1341.

（编辑 汪勤俭）