基础研究 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001248

微管不稳定蛋白 stathmin 在炎症性皮肤病引起的慢性瘙痒患者中的作用

茹丽艳[1]，蔡　涛[2]，余维华[1]，柯美玲[1]，赵　楠[1]，Vishnu Prasad Adhikari[3]

（1. 重庆医科大学神经科学中心，重庆　400016；2. 重庆医科大学附属第一医院皮肤科，重庆　400016；
3. 重庆医科大学附属第一医院内分泌乳腺外科，重庆　400016）

【摘　要】**目的**：研究微管不稳定蛋白 stathmin 在炎症性皮肤病引起的慢性瘙痒患者发病机制中的作用。**方法**：收集 35 例炎症性皮肤病引起的慢性瘙痒患者的皮损标本和 3 例正常人的皮肤标本。用免疫组化（immunohistochemistry，IHC）法检测皮肤活检标本中 stathmin 的表达。用苏木精-伊红染色（hematoxylin-eosinstaining，HE 染色）检测患者表皮组织中病理结构的变化。**结果**：IHC 法检测结果显示，与正常对照的皮肤相比，stathmin 在患者皮损中表皮角质形成细胞、毛囊上皮细胞和免疫炎症细胞中高表达。HE 染色显示慢性瘙痒患者皮损处增厚、角化过度，并伴有炎症性细胞浸润。**结论**：研究结果初步表明 stathmin 在慢性瘙痒的机制中发挥作用。Stathmin 通过在角质形成细胞、上皮细胞和免疫炎症细胞中的表达影响皮肤屏障功能，促进慢性瘙痒的进程。Stathmin 可能是慢性瘙痒治疗的新靶点，对慢性瘙痒的治疗和新药研发具有重要意义。

【关键词】微管不稳定蛋白；慢性瘙痒；角质形成细胞；上皮细胞；免疫炎症细胞

【中图分类号】R758.3　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2016-11-03

Role of stathmin in patients with chronic itch caused by inflammatory skin diseases

Ru Liyan[1], Cai Tao[2], Yu Weihua[1], Ke Meiling[1], Zhao Nan[1], Vishnu Prasad Adhikari[3]

(1. Institute of Neuroscience, Chongqing Medical University; 2. Department of Dermatology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University; 3. Department of Endocrine and Breast Surgery, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】***Objective***: To determine the role of stathmin in the pathogenesis of chronic itch caused by inflammatory skin diseases in human subjects. ***Methods***: This research collected 35 samples from patients with chronic itch caused by inflammatory skin diseases and 3 control samples. Expression of stathmin was evaluated in skin biopsy samples from patients and control individuals by means of immunohistochemistry (IHC). Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to detect structural changes in epidermal tissue from patients. ***Results***: IHC showed that high expressions of stathmin were found on keratinocytes, epithelial cells and inflamed immune cells in skin lesions from patients compared with those of control individuals. HE showed that the stratum corneum of skin lesions from patients thickened accompanied with hyperkeratosis and inflammatory cell infiltration. ***Conclusion***: Stathmin plays a role in the pathogenesis of chronic itch. Stathmin produced by keratinocytes, epithelial cells and inflamed immune cells can affect the skin barrier function, and promote the chronic itch process. Stathmin may be a promising target for chronic itch treatment, and its expression would be significant for the development of new drugs and a better treatment.

【Key words】stathmin; chronic itch; keratinocytes; epithelial cells; inflamed immune cells

作者介绍：茹丽艳，Email：460351089@qq.com，
研究方向：神经科学，慢性瘙痒的机制。

通信作者：余维华，Email：stevenlyywh@163.com。

基金项目：重庆市研究生科研创新资助项目（编号：CYS15138）。

优先出版：http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20170426.1820.050.html
（2017-04-26）

瘙痒是一种伴有不愉快和搔抓欲望的皮肤感觉，目前在临床上仍难以治愈[1]。瘙痒起源于皮肤[2]，瘙痒信号主要由皮肤中的 C 纤维传输[3]。频繁的搔抓和摩擦可能会导致皮肤的变化，而瘙痒-搔抓形成的恶性循环会进一步导致皮肤的损伤和恶化。慢性瘙痒（> 6 周）是一种使人衰弱的且难以忍受的症状，对皮肤病患者的生活影响很大，但其发病机制仍知之甚少[4-5]。慢性瘙痒常与一些炎症性皮肤病相关[6]，可能涉及局部瘙痒和全身性瘙痒[7-8]。银屑病、慢性皮炎类等人类慢性炎症性皮肤病常伴有皮肤表层的角化不全和角化过度、皮肤各层及毛囊周围的免疫炎症细胞浸润等病理损伤特点，且发病机制复杂并伴随着慢性瘙痒。目前仅有一些临床治疗方法（如局部麻醉剂、冷却剂、抗惊厥药、抗抑郁药、μ-阿片受体拮抗药、紫外线照射[6]等）可以缓解慢性瘙痒症状，但不能彻底治疗和控制慢性瘙痒。近来有一些研究结果提示，stathmin 的表达可能和慢性瘙痒的发病机制密切相关[9-15]。Stathmin 是一种高度保守的磷酸化蛋白，分子量为 17 kD，主要表达于细胞质且广泛存在于各种组织中，发挥信号转导中继站的作用[16-17]，其主要作用是调节微管的功能[9]，对细胞基本功能的保持也非常必要。目前 stathmin 的主要临床应用是作为肿瘤诊断的分子标志物和预测指标。Stathmin 可调节角质形成细胞的增殖和迁移，从而影响其形态和行为[10]，角质形成细胞参与慢性瘙痒的产生[11]。基因功能筛选研究表明 stathmin 是 Toll 样受体 3（Toll-like receptor 3，TLR3）的潜在配体[12]，也可与信号转导及转录激活因子 3（signal transduction and activator of transcription，STAT3）结合，进而相互作用而发挥功能[13]，STAT3 和 TLR3 参与慢性瘙痒的发生[14-15]。总之，这些研究结果提示 stathmin 与慢性瘙痒之间有关联性，然而其在慢性瘙痒中的具体作用仍然未知，表明研究 stathmin 在瘙痒发病机制中的作用是很有必要的，从而为研究慢性瘙痒的治愈途径提供新的思路。本项研究通过在炎症性皮肤病引起的慢性瘙痒患者皮损中检测 stathmin 的表达，探讨 stathmin 是否在慢性瘙痒的进程中发挥作用，以期对研发治疗慢性瘙痒的新型药物提供新的靶标。

1 材料和方法

1.1 实验标本

本项研究符合当地的医学伦理学标准，且受试者签署知情同意书，从重庆医科大学附属第一医院皮肤科收集炎症性皮肤病引起的慢性瘙痒患者的皮损标本。患者纳入标准：超过 6 周炎症性皮肤病引起的慢性瘙痒；主要有 2 种：慢性皮炎类患者和银屑病患者。本项研究收集了 35 例患者皮损样本和 3 例对照样本，年龄为 21~80 岁，表 1 是对患者基本特征的概述。皮肤活检部位（图 1）均有特定的编号，分布于头皮和四肢等位置。皮肤活检标本取后立即浸泡在 4% 多聚甲醛溶液并存放于 4 ℃冰箱，待 IHC 和 HE 染色进一步检测。

表 1 患者基本情况

Tab.1 Overview of patient characteristics at baseline

性别	年龄（岁）	病理诊断	患者例数
男	24~80	慢性皮炎	15
女	34~62	慢性皮炎	8
男	25~69	银屑病	9
女	21~35	银屑病	3



箭头所示主要是分布于四肢和头部的皮损代表

图 1 炎症性皮肤病引起的慢性瘙痒患者的皮损

Fig.1 Skin lesions in patients with chronic itch caused by inflammatory skin diseases

1.2 免疫组化检测 stathmin 的表达

IHC 的一抗是兔来源的抗 stathmin 抗体（(D1Y5A, #13655, CST）。石蜡切片（5 μm）固定于防脱的载玻片上，在电热恒温培养箱中 50 ℃过夜。用 IHC 两步法（BOSTER, SV0002）检测 stathmin 的表达，根据 BOSTER 的实验说明书进行其余步骤的操作（一抗 stathmin 的稀释比例为 1:1 000），阴性对照的操作是用 IHC 抗体稀释液（BOSTER, AR1016）代替一抗 stathmin，其余步骤相同。结果判定[18]：采用半定量评分系统和人工计数方法。主要参数：免疫染色强度，视野内阳

性细胞百分率。Stathmin 的阳性表达为细胞质着色为棕黄色，由 2 位病理学专家采用双盲法在高倍镜下综合这 2 个主要参数进行判定。按程度分 0~3+四个等级，信号值评分从 0(无信号)到 4(信号强烈)。评分标准为：不着色且着色细胞占计数细胞百分率<1%，信号值评分为 0；着色淡且着色细胞占计数细胞百分率为 1%~25%，信号值评分为 1+；着色适中且着色细胞占计数细胞百分率为 26%~50%，信号值评分为 2+；着色深且着色细胞占计数细胞百分率>51%，信号值评分为 3+。

1.3 HE 染色法

石蜡切片经 60 ℃二甲苯脱蜡 30 min，室温二甲苯 2 min，然后用 PBS 洗 5 min，双蒸水洗 3 min。接下来，根据实验说明书(BOSTER，AR1180-100)进行其余步骤的操作。对皮肤组织结构的变化进行评估，本研究随机从 35 例患者皮肤组织的切片中选择 4 个进行观察。

2 结 果

2.1 Stathmin 在皮肤的表皮角质形成细胞、毛囊上皮细胞和免疫炎症细胞中的表达情况

本研究通过 IHC 法检测并评估炎症性皮肤病引起的慢性瘙痒患者和正常对照的皮肤活检标本(图 1)中 stathmin 的表达差异。表 2 列出了 35 例患者和 3 例对照的 IHC 法检测结果。Stathmin 在患者中的表皮角质形成细胞、毛囊上皮细胞和免疫炎症细胞中表达且其表达水平显著高于对照组(表 2，图 2)，说明 stathmin 在慢性瘙痒中有重要作用，且有更好的灵敏度，stathmin 在慢性瘙痒的发生机制中发挥作用。

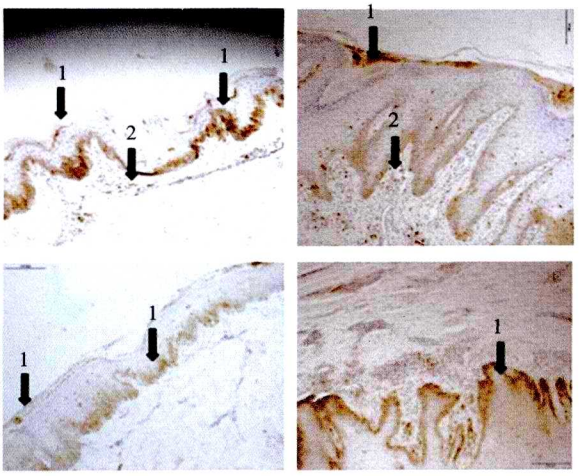
表 2 炎症性皮肤病引起的慢性瘙痒患者皮损组织和正常对照组中的免疫组化评分结果

Tab.2 Results of IHC for stathmin in skin lesions from patients with chronic itch caused by inflammatory skin diseases compared to control individuals

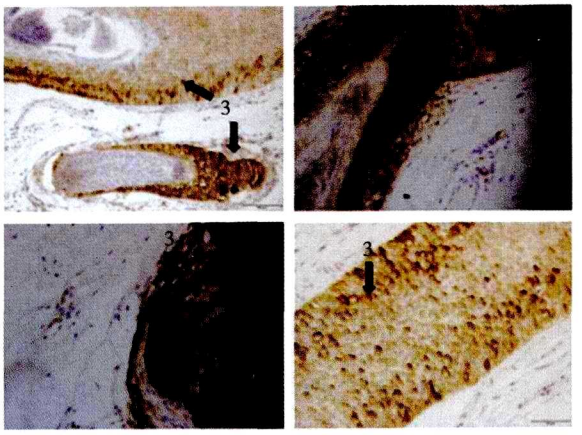
Stathmin 的免疫组化评分	慢性皮炎例数	银屑病例数	对照例数
0~1	0	0	2
1	0	0	1
2	3	1	0
2~3	8	5	0
3	6	3	0
3~4	6	3	0

2.2 炎症性皮肤病引起的慢性瘙痒患者皮损的组织结构变化

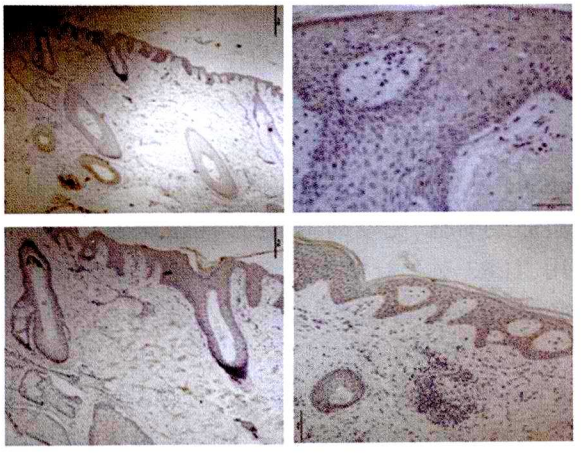
本项研究通过 HE 染色法检测了部分皮肤组织结构的变化。HE 染色法显示患者的皮肤角质层增厚，并伴角化过度和慢性炎症性细胞浸润(图 3)。



A. 患者皮损，IHC 检测，stathmin 的强阳性表达，主要在表皮角质形成细胞(箭头 1)和免疫炎症细胞(箭头 2)



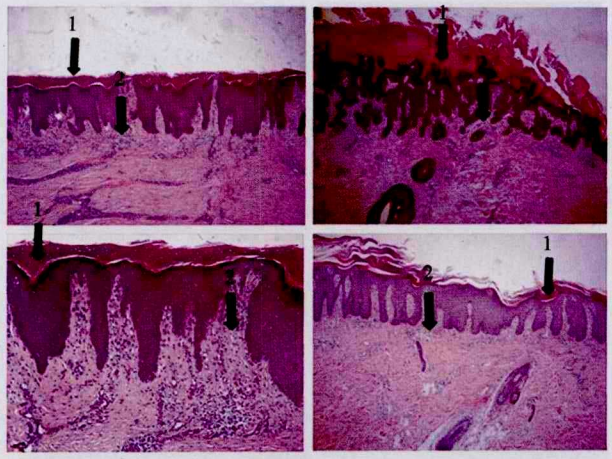
B. 患者皮损，IHC 检测，stathmin 的强阳性表达，主要在毛囊上皮细胞(箭头 3)



C. 对照组皮肤，IHC 检测，stathmin 在表皮角质形成细胞、毛囊上皮细胞和免疫炎症细胞中的阴性表达

图 2 Stathmin 在炎症性皮肤病引起的慢性瘙痒患者的皮损和正常对照组中的表达

Fig.2 Expression of stathmin in skin lesions from patients with chronic itch caused by inflammatory skin diseases compared to control individuals



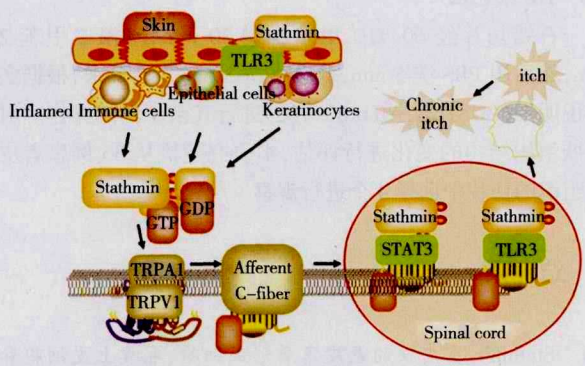
皮肤角质层增厚(箭头 1)，伴角化过度(箭头 1)及慢性炎症细胞浸润(箭头 2)

图 3　炎症性皮肤病引起的慢性瘙痒患者皮损的 HE 染色概况

Fig.3　Overview of HE staining in skin lesions from patients with chronic itch caused by inflammatory skin diseases

3　讨　论

慢性瘙痒导致睡眠缺乏和很多负面的健康问题。瘙痒-搔抓反射是一种保护机制[19]。皮损组织对于瘙痒-搔抓的恶性循环是非常关键的[14]，皮肤和瘙痒之间有很强的相关性[6]，皮肤中的常驻细胞和短暂的炎症细胞参与瘙痒的发病机制。角质形成细胞表达不同形式的感觉传导分子，直接参与慢性瘙痒的传输过程[11]，也可以通过与免疫细胞相互作用促进瘙痒和炎症的发生而介导瘙痒的调控[20]。Stathmin 调节角质形成细胞的形态、行为、增殖和迁移[21]。Stathmin 是 TLR3 的潜在配体[12]，TLR3 广泛表达在角质形成细胞、免疫细胞，在慢性瘙痒中起一定的作用，TLR3 对于脊髓中的突触传递和瘙痒传输很有必要，在瘙痒脊髓水平的调控中是一个新的调控因子，也在慢性瘙痒的皮肤中表达增加，直接激活 TLR3 引发其依赖的搔抓反应[15]。STAT3 是一个转录因子结合蛋白，结合 stathmin 的 C 末端从而对抗其在微管解聚活性中的作用[22]，也参与慢性瘙痒的发生。Stathmin 可能通过与 TLR3 及 STAT3 结合或相互作用参与慢性瘙痒的进程和维持，其在慢性瘙痒中可能的信号通路如图 4 所示：皮肤在外源性或内源性致痒介质刺激下，导致 stathmin(在角质形成细胞、上皮细胞和免疫炎症细胞中表达，也可能通过与 TLR3 结合从而在皮肤中表达而发挥作用)激活，从而使瘙痒信号产生，进而离子通道开放，瘙痒信号开始传输(从传入 C 纤维到脊髓背角中的神经元)，在脊髓中瘙痒信号继续被集成放大和传送(可能在脊髓水平通过与 TLR3 或 STAT3 结合)，最后，瘙痒信号上升到丘脑，进一步传送到大脑的几个区域。



Stathmin在角质形成细胞、上皮细胞及免疫炎症细胞中可能的信号通路，以及它们之间的相互作用如何调控瘙痒信号的传输

图 4　Stathmin 在炎症性皮肤病引起的慢性瘙痒中可能的机制示意图

Fig.4　A schematic representation of possible stathmin pathway in chronic itch caused by inflammatory skin diseases

本实验主要研究 stathmin 在皮肤组织中的表达变化，从而探讨 stathmin 在慢性瘙痒中的作用及可能的传输机制。炎症性皮肤病引起的慢性瘙痒病理生理学特点是皮肤屏障异常和免疫失调的共同作用[17]。皮肤屏障是人体很重要的屏障，不仅可以保护机体的组织和器官免受外界环境导致的损伤，也防止组织内的营养、电解质及水的流失，角质形成细胞在其中发挥关键作用。本项研究的结果是 stathmin 在炎症性皮肤病引起的慢性瘙痒患者的表皮角质形成细胞、毛囊上皮细胞(即角质形成细胞)和免疫炎症细胞中高表达，推测 stathmin 通过影响微管的功能而影响角质形成细胞的有丝分裂和细胞周期的进程，从而调控角质形成细胞的迁移、增殖和功能。角质形成细胞的异常又会导致皮肤屏障功能发生障碍，进而释放炎症因子和细胞因子，导致免疫失调和炎症加重，免疫炎症细胞中 stathmin 的表达上调使炎症进一步加重。瘙痒-搔抓的恶性循环使皮肤组织暴露于外界病原微生物，引发更多的感染

机会，从而诱发和加重慢性瘙痒。Stathmin 的表达又进一步促进角质形成细胞的增殖，导致表皮过度增生，加重皮肤屏障的功能异常，进一步促进慢性瘙痒的病理进程，形成一种恶性循环，这些说明 stathmin 在皮肤屏障异常和免疫失调中都发挥了作用。

综上所述，本项研究的结果说明 stathmin 在慢性瘙痒的机制中发挥一定的作用，为 stathmin 与皮肤表皮角质形成细胞、毛囊上皮细胞及免疫炎症细胞之间的关联性提供了证据和思路。Stathmin 通过影响皮肤屏障的功能，参与慢性瘙痒的进程，可能对于瘙痒的敏感化和瘙痒-搔抓的恶性循环起关键作用。本项研究的结果提示 stathmin 可以作为一种慢性瘙痒干预治疗的新靶点，可能会在慢性瘙痒领域有更令人兴奋的突破，如果通过特异性靶向 stathmin 发展出慢性瘙痒的治疗手段，将会对慢性瘙痒患者生活质量的提高非常有价值。Stathmin 将可能作为生物标志物应用于慢性瘙痒领域。

参 考 文 献

[1] Ikoma A, Steinhoff M, Stander S, et al. The neurobiology of itch[J]. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(7): 535-547.

[2] Han L, Ma C, Liu Q, et al. A subpopulation of nociceptors specifically linked to itch[J]. Nat Neurosci, 2013, 16(2): 174-182.

[3] Davidson S, Giesler GJ. The multiple pathways for itch and their interactions with pain[J]. Trends Neurosci, 2010, 33(12): 550-558.

[4] Yosipovitch G, Greaves MW, Schmelz M. Itch[J]. Lancet, 2003, 361(9358): 690-694.

[5] Biomedicine MG. Grasping for clues to the biology of itch[J]. Science, 2007, 318(5848): 188-189.

[6] Steinhoff M, Cevikbas F, Yeh I, et al. Evaluation and management of a patient with chronic pruritus[J]. J Allergy Clin Immunol, 2012, 130(4): 1015-1016.e7.

[7] Weisshaar E, Dalgard F. Epidemiology of itch: adding to the burden of skin morbidity[J]. Acta Derm Venereol, 2009, 89(4): 339-350.

[8] Ständer S, Schäfer I, Phan NQ, et al. Prevalence of chronic pruritus in Germany: results of a cross-sectional study in a sample working population of 11730[J]. Dermatology, 2010, 221(3): 229-235.

[9] McNally FJ. Microtubule dynamics: controlling split ends[J]. Curr Biol, 1999, 9(8): R274-276.

[10] Schmitt S, Safferling K, Westphal K, et al. Stathmin regulates keratinocyte proliferation and migration during cutaneous regeneration [J]. PLoS One, 2013, 8(9): e75075.

[11] Schmelz M. Neuronal sensitivity of the skin[J]. Eur J Dermatol, 2011, 21(s2): 43-47.

[12] Bsibsi M, Bajramovic JJ, Vogt MH, et al. The microtubule regulator stathmin is an endogenous protein agonist for TLR3[J]. J Immunol, 2010, 184(12): 6929-6937.

[13] Verma NK, Dourlat J, Davies AM, et al. STAT3-stathmin interactions control microtubule dynamics in migrating T-cells[J]. J Biol Chem, 2009, 284(18): 12349-12362.

[14] Shiratori-Hayashi M, Koga K, Tozaki-Saitoh H, et al. STAT3-dependent reactive astrogliosis in the spinal dorsal horn underlies chronic itch[J]. Nat Med, 2015, 21(8): 927-931.

[15] Liu T, Berta T, Xu ZZ, et al. TLR3 deficiency impairs spinal cord synaptic transmission, central sensitization, and pruritus in mice [J]. J Clin Invest, 2012, 122(6): 2195-2207.

[16] Gratiot-Deans J, Keim D, Strahler JR, et al. Differential expression of Op18 phosphoprotein during human thymocyte maturation[J]. J Clin Invest, 1992, 90(4): 1576-1581.

[17] Sobel A. Stathmin: a relay phosphoprotein for multiple signal transduction?[J]. Trends Biochem Sci, 1991, 16(8): 301-305.

[18] Bilsborough J, Leung DY, Maurer M, et al. IL-31 is associated with cutaneous lymphocyte antigen-positive skin homing T cells in patients with atopic dermatitis[J]. J Allergy Clin Immunol, 2006, 117(2): 418-425.

[19] Han L, Dong X. Itch mechanisms and circuits[J]. Annu Rev Biophys, 2014, 43: 331-355.

[20] Buddenkotte J, Steinhoff M. Pathophysiology and therapy of pruritus in allergic and atopic diseases[J]. Allergy, 2010, 65(7): 805-821.

[21] Chauvin S, Sobel A. Neuronal stathmins: a family of phosphoproteins cooperating for neuronal development, plasticity and regeneration [J]. Prog Neurobiol, 2015, 126: 1-18.

[22] Ng DC, Lin BH, Lim CP, et al. Stat3 regulates microtubules by antagonizing the depolymerization activity of stathmin[J]. J Cell Biol, 2006, 172(2): 245-257.

（责任编辑：冉明会）