DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.07.041
第23卷第7期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 7
844 2001年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2001

论著

文章编号:1000-5404(2001)07-0844-03

61例烧伤肥厚性瘢痕形态学观察与细胞增殖活性的研究

汪 琴,吴宗耀 (第三军医大学附属西南医院康复理疗科,重庆 400038)

提 要:目的 探讨肥厚性瘢痕的形态学特点及成纤维细胞增殖活性与其发生的关系。方法 应用光镜和免疫组化染色对61例肥厚性瘢痕、8例正常皮肤进行形态学观察、成纤维细胞平均密度计数和增殖细胞核抗原(PCNA)表达检测。结果 肥厚性瘢痕按其形态改变可分为增厚期、成熟期和消退期,各期间成纤维细胞平均密度相差非常显著($P<0.01$);肥厚性瘢痕增厚期、成熟期、消退期和正常对照组间PCNA标记指数差异均无显著性($P>0.05$)。结论 肥厚性瘢痕发展经历了增厚期→成熟期→消退期的病理过程,其成纤维细胞数的多少与细胞增殖活性无关,肥厚性瘢痕的形成并非成纤维细胞增生所致。

关键词:肥厚性瘢痕;成纤维细胞;增殖细胞核抗原
中图法分类号:R329.25;R619.6;R644 文献标识码:A

Study on the morphology and proliferating activity of hypertrophic scars

WANG Qin, WU Zong-yao (Department of Rehibilitation Medicine, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore the relationship between proliferating activity of fibroblast and occurrence of hypertrophic scars (HS). Methods The morphological changes, mean density of fibroblast and the expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) were detected by using light microscopy and immunohistochemical staining in 61 cases of HS and 8 cases of normal skin. Results According to clinical and pathological changes, HS were divided into proliferating stage, mature stage and regressive stage. The mean density of fibroblast was significantly different among three stages of HS ($P<0.01$), but the index of PCNA was not significant different among three stages of HS and normal skin ($P>0.05$). Conclusion The development of HS is a pathological process from proliferating stage, through mature stage to regressive stage. The increase of fibroblast in hypertrophic scar is not related to its proliferating activity, its occurrence is not due to proliferation of fibroblast.

Key words: hypertrophic scar; fibroblast; proliferating cell nuclear antigen

肥厚性瘢痕是烧伤后遗留的一种常见并发症,长期以来对其发生发展机制的研究大多集中在胶原代谢特征上,而对于产生胶原的成纤维细胞的变化研究甚少[1]。为此,本研究通过对肥厚性瘢痕的形态学观察和对其成纤维细胞平均密度和细胞增殖活性检测,探讨肥厚性瘢痕的发生机制,为其治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 标本

取自本院烧伤整形61例患者的肥厚性瘢痕,年龄为2~40岁,平均23.13岁,参照文献[2]根据其临床表现和病理形态改变分为增厚期、成熟期各24例,消退期13例。病程为烧伤后4个月至10年,各期平均病程分别为增厚期11.83个月,成熟期22.75个月,消退期39.85个月。另取自乳癌手术患者胸部相对正常的皮肤8例作对照。以上标本均经10%中性福尔马林液固定,石蜡包埋,连续切片,厚度3~5 μm。

1.2 实验方法

1.2.1 成纤维细胞平均密度计数 采用HE染色,在×40物镜高倍视野(High power field, HPF)下,对肥厚性瘢痕成纤维细胞计数,每例切片选择成纤维细胞丰富区域观测3个HPF,并计算每例切片成纤维细胞数/HPF,求出各组均值。

1.2.2 细胞增殖活性检测 采用S-P法免疫组化染色,第一抗体为鼠抗人PCNA(PC10)单克隆抗体(美国Maxim公司产品),染色步骤按说明书进行,DAB显色,胞核着棕色者为阳性。结果判定:参照文献[3]采用计数增殖细胞核抗原(Proliferating cell nuclear antigen, PCNA)标记指数(Labeling index, LI)方法,即平均每100个细胞中PCNA阳性细胞数。

1.3 统计学分析

采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 肥厚性瘢痕临床表现和组织学观察

①增厚期:表现为疼痛,瘙痒,色红,质硬,弹性差,高出周围皮肤0.5 cm以上。胶原纤维排列紊乱,呈涡轮状或形成胶原结节,有大量的成纤维细胞和小血管。②成熟期:疼痛、瘙痒等症状消失,颜色变深,仍质硬,高出周围皮肤0.5 cm以上。部分胶原纤维定向平行排列,胶原结节开始消退,成纤维细胞和血管数轻度减少。③消退期:瘢痕开始变软,变薄,颜色变白。以胶原为主要成分,呈平行带状排列,成纤维细胞和血管数显著减少。

2.2 成纤维细胞平均细胞密度

肥厚性瘢痕中,随着增厚期、成熟期、消退期的变化,其成纤维细胞计数均值逐渐减少,见表1,经统计学处理,各期间成纤维细胞平均细胞密度均值相差非常显著($P<0.01$)。正常对照皮肤真皮成纤维细胞密度显著低于肥厚性瘢痕增厚期组和成熟期组($P<0.01$)。与消退期组比较差异无显著性。

作者简介:汪 琴(1964-),女,江苏省苏州市人,硕士,主治医师,讲师,主要从事烧伤瘢痕发生、发展机制方面的研究,发表论文6篇。电话:(023)68754266

收稿日期:2000-10-11;修回日期:2001-03-12

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1　肥厚性瘢痕、正常皮肤成纤维细胞平均密度

Tab 1　Mean density of fibroblast in hypertrophic scars and normal skin

Group	*n*	HPFs	Fibroblast counts	$\bar{x}\pm s$
Proliferating stage	24	72	194～360	289.45±40.53
Mature stage	24	72	179～316	217.75±30.15 *
Regressive stage	13	39	31～118	68.23±24.44 #
Normal skin	8	24	52～133	74.34±28.31 #

*: $P<0.01$ *vs* Proliferating stage; #: $P<0.01$ *vs* Mature stage

2.3　PCNA 染色

肥厚性瘢痕和正常皮肤组织中成纤维细胞 PCNA 阳性染色位于细胞核, 呈浅棕色, 图 1, 2。各组间 PCNA 显示不同程度的表达, 见表 2, 其中增厚期组阳性表达细胞计数范围 5% ～ 36%, 成熟期组阳性表达范围 5% ～ 35%。消退期由于大量胶原纤维形成, 细胞成分较少, 其 PCNA 阳性细胞计数相对较低约为 2% ～ 25%, 正常皮肤组 PCNA 阳性细胞计数为 2% ～ 27%, 上述各组间 PCNA 标记指数均值, 经统计学处理差异均无显著性($P>0.05$)。

表 2　肥厚性瘢痕、正常皮肤成纤维细胞 **PCNA** 表达

Tab 2　Expression of PCNA of fibroblast in hyperplastic scars and normal skin

Group	*n*	Positive cell counts	$\bar{x}\pm s$
Proliferating stage	24	5～36	16.92±7.88
Mature stage	24	5～35	15.38±8.03
Regressive stage	13	2～25	12.07±6.75
Normal skin	8	2～27	13.25±7.85

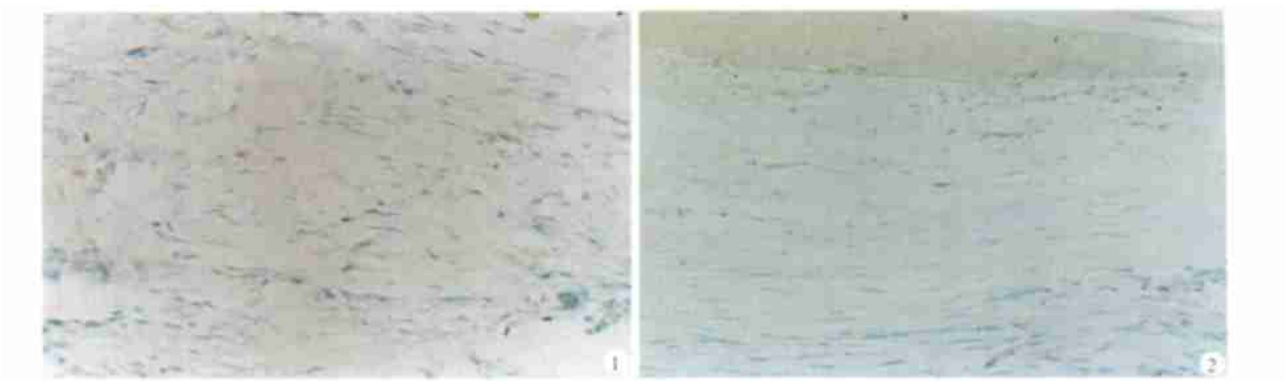


图 1　肥厚性瘢痕增厚期少数细胞核 **PCNA** 呈浅棕色阳性表达　(S-P× 100)

Fig 1　Light brownish positive expression of PCNA in few cell nucleus in proliferating stage of hypertrophic scar　(S-P× 100)

图 2　肥厚性瘢痕成熟期散在细胞核 **PCNA** 呈棕色阳性表达　(S-P× 100)

Fig 2　Brownish positive expression of PCNA in individual cell nucleus in mature stage of hypertrophic scar　(S-P× 100)

3　讨论

肥厚性瘢痕一般要经历增生活跃、静止、缓解消退 3 个阶段, 即临床上所见的瘢痕由红、厚、硬逐渐变淡、变薄、变软的过程。增生活跃期一般病程在 1 年内, 但由于个体差异等因素, 增生期长短不一, 短者仅数周, 长者数月甚至可达 3～4 年。因此仅靠病程长短来作为分期的标准显然不太准确。Linares 等[2] 对 234 例肥厚性瘢痕进行了光镜和电镜研究, 认为胶原结节的形成是反映肥厚性瘢痕增生最活跃的时期, 随着瘢痕的成熟, 观察到增生期典型的胶原结节将逐渐消失, 胶原由涡轮状、结节状排列逐渐变成束状分布, 并平行于皮肤表面, 且增生的成纤维细胞和微血管明显减少, 完全成熟的瘢痕成纤维细胞数量极少, 微血管数亦接近于正常真皮, 表现为纤维化。因此, 根据肥厚性瘢痕组织学改变与临床变化过程相一致的特点, 提出了将临床表现与组织学改变相结合的肥厚性瘢痕分期标准, 即分为非成熟期、半成熟期和成熟期。为此, 我们参照 Linares 等[2] 提出的分期标准, 并结合烧伤后肥厚性瘢痕形成和发展变化过程以及其病理形态改变, 将其分为增厚期、成熟期和消退期, 并对肥厚性瘢痕各期成纤维细胞计数, 发现肥厚性瘢痕经增厚期、成熟期和消退期的发展, 其成纤维细胞平均密度值明显减少, 各期间相差非常显著($P<0.01$), 而消退期与正常皮肤成纤维细胞平均密度值无显著性差异。通过定量分析, 进一步验证了 Linares 的观点, 为此, 本研究分期较客观地反映了肥厚性瘢痕的变化过程, 可作为肥厚性瘢痕的分期之一。

肥厚性瘢痕见于多种创伤, 尤其是深 II 度烧伤。其组织学特征是许多成纤维细胞和胶原纤维密集成涡轮状和结节状, 但其发生的原因不甚明了。由于其成纤维细胞和胶原纤维远多于非肥厚性瘢痕, 曾认为是成纤维细胞过度增生所致, 故命名为增殖性瘢痕。近年来有学者通过对瘢痕疙瘩、肥厚性瘢痕和正常皮肤的成纤维细胞增殖活性进行检测, 发现肥厚性瘢痕成纤维细胞的增殖活性明显低于瘢痕疙瘩, 而与正常皮肤相比无显著性差异[1]。本研究采用免疫组化方法检测增殖细胞核抗原的表达, 可以较客观地反映细胞的增殖状态[4～6]。结果显示肥厚性瘢痕增厚期、成熟期和消退期间成纤维细胞的平均细胞密度各期间差异非常显著($P<0.01$), 而增厚期、成熟期和消退期成纤维细胞 PCNA 标记指数各期间差异无显著性($P>0.05$), 同时肥厚性瘢痕各期与正常皮肤组成纤维细胞 PCNA 标记指数(13.25 ±7.85)相比差异也无显著性($P>0.05$)。表明肥厚性瘢痕成纤维细胞的增殖活性与正常皮肤相一致, 提示肥厚性瘢痕的形成可能与其成纤

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

维细胞的增殖状态无关。那么肥厚性瘢痕究竟如何发生？Desmouliere 等[7]观察到创伤愈合后期成纤维细胞的终末分化细胞－肌成纤维细胞的改变类似细胞凋亡，提出肌成纤维细胞可能通过此种死亡方式而消失。并发现创伤愈合第 20～25 d 时凋亡细胞的比率最高，因此认为正常创伤愈合过程中，肉芽组织中成纤维细胞的减少是通过其凋亡而实现。同时推测凋亡调控失调可能是病理性瘢痕发生发展的原因之一。Wassermann 等[8]对烧伤后瘢痕研究也发现其凋亡诱导蛋白 Fas 和 ICE 表达呈降低改变。我们曾对比检测了肥厚性瘢痕与非肥厚性瘢痕细胞凋亡，结果显示肥厚性瘢痕增厚期的成纤维细胞凋亡率为 6.64%，远低于成熟期的 25.62%，也低于非肥厚性瘢痕早期组的22.18%。细胞凋亡时间亦较非肥厚性瘢痕明显延迟，正常创伤的非肥厚性瘢痕在伤后 1～1.5 个月达凋亡高峰，而烧伤肥厚性瘢痕约在 22.75 个月后方达凋亡高峰，显示其成纤维细胞没有按正常创伤规律及时凋亡，即成纤维细胞生存期明显延长，结果是成纤维细胞不断积累，形成肥厚性瘢痕[9]。为此，我们认为肥厚性瘢痕中成纤维细胞数的增多并非由细胞增殖活性增高所致，在肥厚性瘢痕的增厚期，成纤维细胞的增殖活性并无明显增加，表明瘢痕肥厚的原因主要不是成纤维细胞增殖过度，肥厚性瘢痕不应命名为增殖性瘢痕。

参考文献：

[1] Nakaoka H, Miyauchi S. Proliferating activity of dermal fibroblasts in keloids and hypertrophic scars[J]. Acta Derm Venereol, 1995, 75(2): 102－104.

[2] Linares H A, Kischer C W, Dobrkovsky M, *et al*. The histiotypic organization of the hypertrophic scar in humans[J]. J Invest Dermatol, 1972, 59(3): 323－331.

[3] Elias J M. Cell proliferation indexes: a biomarker in solid tumors[J]. Biotech Histochem, 1997, 72(2): 78－85.

[4] Tanno M, Taguchi T. Proliferating cell nuclear antigen in normal and regenerating rat livers[J]. Exp Mol Pathol, 1999, 67(3): 192－200.

[5] Liu S C, Klein-Szanto A J. Markers of proliferation in normal and leukoplakic oral epithelia[J]. Oral Oncol, 2000, 36(2): 145－151.

[6] Zhu Q, Tipoe G L, White F H. Proliferative activity as detected by immunostaining with Ki-67 and proliferating cell nuclear antigen in benign and malignant epithelial lesions of the human parotid gland[J]. Anal Quant Cytol Histol, 1999, 21(4): 336－342.

[7] Desmouliere A, Redard M, Darby I, *et al*. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar[J]. Am J Pathol, 1995, 146(1): 56－66.

[8] Wassermann R J, Polo M, Smith P, *et al*. Differential production of apoptosis-modulating proteins in patients with hypertrophic burn scar[J]. J Surg Res, 1998, 75(1): 74－80.

[9] 汪　琴，吴宗耀. 细胞凋亡与肥厚性瘢痕发生关系的研究. 中华物理医学与康复杂志, 1999, 21(4): 223－225.

（编辑　潘式文）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2001)07-0846-01

双阑尾畸形 1 例报告

A case report of malformation of duplex vermiform appendix

林大富，涂永久，高传文　（解放军 174 医院普通外科，厦门 361003）

患者男，36 岁，因转移性右下腹痛 3 d 入院，查体：一般情况尚可，右下腹部压痛、反跳痛及轻度肌紧张，腰大肌及闭孔肌试验阳性，肠鸣音正常存在，无气过水声及金属音。检验：血 WBC 18.9×10^9/L，中性 90%，尿常规正常，腹部 X 线透视正常，诊断急性阑尾炎。入院后即在硬膜外麻醉下经麦氏切口行阑尾切除术，术中见腹腔内脓性分泌物 100 ml，大网膜下移包裹直肠，推开后发现盲肠下方有一 1 cm×5 cm 的条索状物，中段有 0.2 cm 穿孔，有脓液流出，在其后方又见 4 cm×5 cm 条索状物，表面充血，确诊为双阑尾，行常规阑尾切除，痊愈出院。病理检查符合双阑尾畸形，随访 4 个月无不良反应。

讨论

双阑尾畸形相当罕见，发病率为 0.003%～0.240%，如果没有手术，不易发现，如术中检查不仔细亦有漏诊，北京某医院 30 年来 12 000 例阑尾切除中仅见 1 例[1]。该病以女性多见（占 65%～70%），常伴有双阑尾双盲肠双阴道等畸形[2]，临床常以转移性右下腹痛入院，体检与阑尾炎相符。WBC（11.0～20.0）×10^9/L 之间，中性 85%～90%，与本病相一致。该患者阑尾穿孔与文献报道近似（占 70%）[3]，阑尾都呈粗短，直径极少超过 10 mm，也是粗短一条穿孔，另一条呈慢性炎症。双阑尾畸形类型有：①两个盲肠各有一个阑尾；②同一个盲肠的不同部位发出两个完整的的阑尾；③袢状阑尾，本病属第 2 类型，文献报道该型占双阑尾畸形的 60%。本病发生类癌机会较多，腺癌或转移性癌也有报道，比正常阑尾发生癌变率高。因此，外科医师在阑尾手术中需仔细检查有否双阑尾，以防漏诊。

关键词：双阑尾；外科手术
中图法分类号：R656.8　　文献标识码：B

参考文献：

[1] 潘　波. 罕见双阑尾畸形 1 例报告[J]. 中国普外基础与临床杂志, 1999, 6(6): 336.

[2] 干佳斌，刁秀军，于　宇. 双阑尾双盲肠结肠并阴道瘘 1 例[J]. 中华小儿外科杂志, 1995, 16(2): 82.

[3] 胡素英. 盲肠异位双阑尾 1 例[J]. 中国普通外科杂志, 1999, 8(4): 75.

（编辑　郭建秀）

作者简介：林大富（1951－），男，福建省连江县人，副主任医师，主要从事胃肠及乳腺方面的研究，发表论文 20 余篇。电话：(0592)2025971

收稿日期：2001-03-26；修回日期：2001-05-14

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net