DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.11.012
第23卷第11期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 11
2001年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2001

文章编号:1000-5404(2001)11-1279-03

论著

uPAR在人毛囊发育中的表达及其规律

高强国,杨 恬,杨 进 (第三军医大学基础医学部细胞生物学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 探讨人胚胎毛囊形成发育进程中,尿激酶型纤溶酶原激活剂受体(uPAR)的表达及其规律。方法 用免疫细胞化学和原位杂交分别对人胚胎毛囊起始期、延长期、分化期和胎毛阶段的表皮及毛囊的uPAR蛋白及mRNA的表达进行了检测,用图像分析系统进行了定量测定。结果 uPAR在起始期和延长期的整个毛囊中有表达,在分化期和胎毛前期毛囊的外根鞘有表达。在起始期、延长期、分化期和胎毛阶段前期表皮的基底层、最外层细胞有阳性表达。阳性表达在延长期最高,呈现出先增后减的趋势。结论 uPAR与角质形成细胞的增殖和迁移密切相关。

关键词:形成发育;毛囊;uPAR;增殖;迁移
中图法分类号:R322.991;R345.63;R394.2 文献标识码:A

Study on the function of uPAR during the developmental period of hair follicle

GAO Qiang-guo, YANG Tian, YANG Jin (Department of Cell Biology, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore the expression and rule of urokinase plasminogen activator receptor (uPAR) in the developmental process of hair follicle. Methods The scalp of the human embryo were taken from four stages (initiation, elongation, differentiation and lanugo stage) respectively and observed with immunocytochemical and *in situ* hybridization techniques for uPAR. Sections of specimen were quantitatively analyzed with image analysis system. Results The immunoreactive and mRNA positive cells of uPAR were found in the ectoderm-derived cells of hair follicle germs and pegs during initiation and elongation stages of hair follicle; the outer root sheath, basal layer during differentiation and early lanugo stages also expressed positively; in these four stages the positive cells were also found in basal layer and suprabasal layers of epidermis. The uPAR exhibited a very high expression in elongation stage with a tendency of increased at first and then decrease. Conclusion The expression of uPAR may play an important role in regulating the proliferation and migration of keratinocytes.

Key words: development; hair follicle; uPAR; proliferation; migration

纤溶酶原激活剂/纤溶酶原激活剂抑制剂(Plasminogen activator/plasminogen activator inhibitor, PA/PAI)是一个蛋白水解酶及抑制剂系统,尿激酶型纤溶酶原激活剂(Urokinase type PA, uPA)与uPA受体(uPA receptor, uPAR)是其重要成分。以往文献认为,在正常的皮肤中无uPAR的表达,但在某些皮肤病理及创伤愈合条件下,uPAR表达强度极高[1]。毛囊是皮肤的附属物,是上皮成分与间充质成分相互作用形成的一个复杂的亚器官结构,在其周期性的生长退化过程中,可控制的蛋白水解系统起着重要的作用。在胚胎毛囊形成发育期,细胞的增殖、迁移和分化功能表现极为活跃,与某些皮肤病理及创伤愈合的状况极为相似。本实验利用免疫细胞化学及原位杂交技术检测在胚胎期的表皮毛囊中是否涉及uPAR的表达,探讨uPAR在表皮毛囊发育中的作用,从而为进一步揭示毛发生长的机制打下基础。

1 材料和方法

1.1 材料

16例经合法人工流产术终止妊娠的人胚胎,根据母体之末次月经日期、胚胎顶臀长、体重、宫内超声波检查结果和发育状况等综合指标确定胚胎龄(月经龄)。胚胎龄为12~37周,材料均在胚胎死亡后1 h内获得。取枕骨后皮肤备用。标本4%多聚甲醛固定,30%蔗糖脱水,12 μm冰冻切片分析。

1.2 方法

1.2.1 标本分类法[2,3] 人胚胎标本按Holbrook K A和Akiyama M毛囊分类方法分为四个阶段:起始期,即毛囊芽阶段[65~84 d估计胚胎龄(Estimated gestational age: EGA)];延长期,即毛囊钉阶段(85~104 d EGA);分化期(105~135 d EGA)和胎毛阶段(>135 d EGA),HE染色确认。实验各期(每组)均有4例标本。

1.2.2 免疫细胞化学法 SABC法,兔抗人uPAR单抗为American Diagnostica Inc产品,SABC试剂盒、DAB显色试剂盒为博士德公司产品。

1.2.3 原位杂交法 uPAR原位杂交试剂盒为博士德公司产品,按说明书进行操作。

1.3 图像分析

采用重庆大学TIGER图像分析系统,测定毛囊和表皮细胞平均光密度(Average optic density, AOD)值。

1.4 统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用微软EXCEL 97 student t 检验。

2 结果

uPAR蛋白和mRNA的表达:①毛囊起始期和延长期:免疫细胞化学(Immunocytochemistry, ICC)显示,整个毛囊芽和毛囊钉

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39870690)
作者简介:高强国(1971—),男,河北省平山县人,硕士,讲师,主要从事毛囊生物学方面的研究。电话:(023)68752259
收稿日期:2001-07-01;修回日期:2001-09-05

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

细胞表达均为 uPAR 阳性，表皮的基底层细胞和最外层细胞及皮上层细胞有阳性表达，阳性颗粒位于胞膜处，染色强度表皮为中度阳性，毛囊为弱阳性。原位杂交（*in situ* hybridization ISH）染色显示阳性颗粒位于胞浆内，染色强度为中度阳性，其余表达显示与 ICC 结果类似的特点，见图 1、2。②毛囊分化期及胎毛阶段前期（105～155 d EGA）：ICC 显示毛囊在外根鞘部位表达阳性，在隆突区和皮脂腺部位也有阳性表达，表皮在基底层有阳性表达，阳性颗粒位于胞膜处，染色强度为弱阳性，皮上层细胞不显色。ISH 染色阳性颗粒位于胞浆内，染色强度及显色部位表达与 ICC 类似的特点，见图 3。③胎毛阶段中晚期：ICC 染色，阳性表达可疑。ISH 染色结果与 ICC 类似。

uPAR 蛋白及 mRNA 在胚胎毛囊起始期已有表达，毛囊延长期到达高峰，分化期和胎毛阶段前期则表达降低。通过对 uPAR 在毛囊起始期/延长期/分化期及胎毛前期与胎毛中晚期定量相比较，均有显著差异或有差异，表明 uPAR 的表达随毛囊的形成发育呈现先增后减的趋势，见表 1、2。

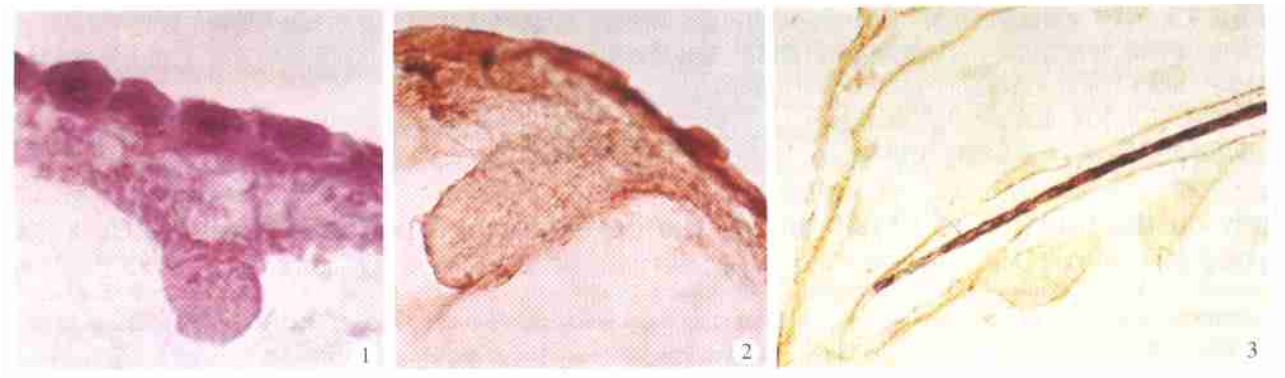


图 1 人胚胎毛囊起始期 **uPAR** 原位杂交染色 （ISH× 400）

Fig 1 Expression of uPAR mRNA in hair follicle of initiation stage of human embryo （ISH× 400）

图 2 人胚胎毛囊延长期 **uPAR** 免疫细胞化学染色 （SABC× 400）

Fig 2 Expression of uPAR protein in hair follicle of elongation stage of human embryo （SABC× 400）

图 3 人胚胎毛囊分化期及胎毛前期 **uPAR** 免疫细胞化学染色 （SABC × 100）

Fig 3 Expression of uPAR protein in differentiation and early lanugo stages of human embryo （SABC × 100）

表 1 人胚胎毛囊形成各期 **uPAR** 蛋白阳性细胞平均光密度值

Tab 1 AOD of uPAR protein positive cells of human embryonic hair follicle

	Initiation stage	Elongation stage	Differentiation and early lanugo stage	Middle and late stage of lanugo
Epidermis	0.4958±0.03	0.4989±0.031 *	0.4138±0.025	0.2053±0.027
Follicle	0.4752±0.028	0.4873±0.032 *	0.4065±0.022	0.1984±0.031

*: $P<0.01$ *vs* middle and late stages of lanugo

表 2 人胚胎毛囊形成各期 **uPAR mRNA** 阳性细胞平均光密度值

Tab 2 AOD of uPAR mRNA positive cells of human embryonic hair follicle

	Initiation stage	Elongation stage	Differentiation and early lanugo stage	Middle and late stage of lanugo
Epidermis	0.5987±0.038	0.7880±0.042 *	0.5478±0.03	0.2312±0.086
Follicle	0.5960±0.037	0.7465±0.04 *	0.5366±0.031	0.2021±0.083

*: $P<0.01$ *vs* middle and late stages of lanugo

3 讨论

关于 uPAR 在胚胎期表皮毛囊中的研究，国内外均未曾报道。以往文献研究表明，在病理条件下，如用肿瘤提升物波罗酯处理皮肤，48 h 后，uPAR mRNA 从表皮的基底上层角质形成细胞一直到角质层下正在分化的细胞和毛囊的角质形成细胞中有表达[4]。在创伤愈合过程中 uPAR 的表达也起着重要作用[5]。本实验结果表明，正常皮肤及毛囊的发育中，在毛囊起始期和延长期，整个毛囊和表皮的基底层及皮上层有 uPAR 的表达；在分化期和胎毛阶段前期，毛囊的外根鞘和表皮的基底层有 uPAR 的表达，在毛根及成纤维细胞来源的毛乳头和结缔组织鞘中未见阳性表达。

本实验结果表明，毛囊起始期和延长期有 uPAR 的表达，原因可能是由于角质形成细胞构成的毛囊芽和毛囊钉向真皮层扩展，在增殖、迁移过程中需要不断地分解细胞外基质，本室的前期实验表明此期有 uPA 的表达[6]，通过形成 uPA/uPAR 复合物，共同降解细胞外基质。由于此时细胞的增殖和迁移较为活跃，因此在整个初期毛囊中都有表达。表皮基底层细胞此时也处于活跃的增殖迁移状态，因此 uPAR 也可检出。关于 uPA/uPAR 分解细胞外基质和促进细胞的迁移和增殖，文献[7]已有报道。1995 年 Jensen 提出了角质形成细胞中 PA/PAI 作用的假说：uPA 和 PAI-1 在表皮角质形成细胞的迁移和增殖中起重要作用；tPA 和 PAI-2 主要作用于角质形成细胞的分化阶段。这一假说已得到多个实验室的一些重要实验结果的支持。本实验结果从毛囊形成发育角度对 Jensen 假说提供了有力的实验证据。

在分化期和胎毛阶段前期，uPAR 主要在毛囊的外根鞘中表达，在表皮的基底层和角质层仍有分布。此时毛囊生长并未达到其最大值，仍需分解细胞外基质；由毛囊的结构可知毛囊外根鞘被结缔组织鞘包围，因此，通过外根鞘细胞分泌的 uPA 与细胞表面的 uPAR 结合，再裂解其

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

它酶类，从而达到分解外层的结缔组织，促进毛囊生长的目的。表皮基底层也通过分泌的 uPA 与细胞表面的 uPAR 结合，促进表皮的增殖。在毛囊的隆突区和皮脂腺位置也有 uPAR 的表达。

在实验中还发现，毛囊形成发育过程与表皮外层的皮上层(periderm)的生成至凋亡有部分时间相对应[8]。近年来对皮上层的功能一直未见定论。在本实验中发现在起始期皮上层细胞有 uPAR 的表达，同时，紧邻皮上层细胞的表皮部分和基底层也有 uPAR 的表达；但当皮上层细胞连接成层，即进入凋亡期后，uPAR 的表达停止。此时，毛囊发育也进入分化期和胎毛阶段，表皮发育也进入晚期。因此，作者推测可能皮上层细胞表达的 uPAR，通过 uPA 或 uPA/uPAR 复合物，激活基底层细胞，使之快速增殖，从而促进毛囊的发生发育和表皮的增殖迁移。

参考文献：

[1] Romer J, Pyke C, Lund L R, *et al*. Cancer cell expression of urokinase-type plasminogen activator receptor mRNA in squamous cell carcinomas of the skin [J]. J Invest Dermatol, 2001, 116(3): 353－358.
[2] Holbrook K A, Smith L T, Kaplan E D, *et al*. Expression of morphogens during human follicle development *in vivo* and a model for studying follicle morphogenesis *in vitro* [J]. J Invest Dermatol, 1993, 101(1): 39s－49s.
[3] Akiyama M, Smith L T, Shimizu H. Changing patterns of localization of putative stem cells in developing human hair follicles [J]. J Invest Dermatol, 2000, 114(2): 321－327.
[4] Lund L R, Eriksen J, Ralfkiaer E. Differential expression of urokinase-type plasminogen activator, its receptor, and inhibitors in mouse skin after exposure to a tumor-promoting phorbal ester [J]. J Invest Dermatol, 1996, 106(4): 622－630.
[5] Wakita H, Matsushita K, Nishimura K, *et al*. Sphingosylphosphorylcholine stimulates proliferation and upregulates cell surface-associated plasminogen activator activity in cultured human keratinocytes [J]. J Invest Dermatol, 1998, 110(3): 253－258.
[6] 崔志鸿，杨　恬，高强国. 人和小鼠表皮及毛囊 uPA/uPAR 的表达 [J]. 中国学术期刊文摘, 2000, 6(8): 1 047.
[7] Stepanova V, Mukhina S, Kohler E, *et al*. Urokinase plasminogen activator induces human smooth muscle cell migration and proliferation via distinct receptor-dependent and proteolysis-dependent mechanisms [J]. Mol Cell Biochem, 1999, 195(1－2): 199－206.
[8] Holbrook K A, Odland G F. The fine structure of developing human epidermis: light, scanning and transmission electron microscopy of the periderm [J]. J Invest Dermatol, 1975, 65(1): 16－38.

（编辑　汪勤俭）

文章编号：1000-5404(2001)11-1281-01

个案与短篇

上排式粘贴造口袋的改进及应用

An improved adhesive bag with top drainage for enterostomy and its application

陈　锦，王亚旭，刘宝华，雷　英，王亚玲，陆　坷　（第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所普通外科，重庆 400042）

肠造口俗称人工肛门。行肠造口手术的病人，需长时间的使用造口袋。提高造口者的生活质量是值得关注的问题。国产捆绑式造口袋对皮肤损害重，异味明显，且容易移位，污染被服。进口粘贴式造口袋可避免上述缺点。但在使用的过程中我们发现，不论是一件式或是两件式造口袋均存在排气和冲洗的不方便，两个过程均需开放造口袋的下口才能完成，而且因为袋内大便的污染，使造口袋的使用时间缩短，增加了患者的经济负担。为此，我们对造口袋进行了改进。

1　材料

丹麦康乐保公司生产的粘贴式造口袋；丹麦康乐保公司生产的康微尿袋；立得宝万能胶。

2　制作方法

在原造口袋右上方剪一约 20～25 mm 弧形的孔洞。弧形剪下约 25～30 mm 带开关的尿袋导管。将尿袋导管粘贴到造口袋上。

3　讨论

根据空气上排的特性，改进后的造口袋打开上排口开关即可排气。

利用重力原理，冲洗造口袋内粪便可通过新管口从上到下单向进行，更加彻底、干净。患者卧床时，护士或陪护可非常简单地利用冲洗球、注射器等完成；生活自理后，自我清洗亦方便。

延长了造口袋的使用时间。经临床应用 46 例，上排式粘贴造口袋减轻和避免了因术后早期频繁更换便袋引起的疼痛，应用 Olerud[1] 疼痛评估法(疼痛模拟线)，与同期患者比较，46 例中 42 例(91.3%)显著缓解，4 例部分缓解，有效率 100%；原造口袋平均使用时间 3～5 d，现在可应用 5～10 d，平均延长一半以上时间，相应节省费用一半以上，对维护造口者的自尊和自理能力有极大帮助，提高了生活质量。病人、家属及护士均感满意。

关键词：肠造口；上排式粘贴造口袋
中图法分类号：R197.39　　文献标识码：B

参考文献：

[1] Olerud S, Sjostrom L, Karlstrom G, *et al*. Spontaneous effect of increased stability of the lower lumbar spine in cases of servere chronic back pain. The answer of an external transpeduncular fixation test [J]. Clin Orthop, 1986, 203(1): 67－74.

（编辑　薛国文）

作者简介：陈　锦(1971－)，女，重庆江津市人，主管护师，主要从事肠造口治疗和护理方面的研究，发表论文 6 篇。电话：(023)68757248

收稿日期：2001-02-09；修回日期：2001-09-05

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