DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.11.030
第22卷第11期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 11
1090 2000年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2000

论著

文章编号:1000-5404(2000)11-1090-04

神经生长因子对瘢痕组织中炎性细胞及胶原沉积的影响

杨东运,李世荣,李荟元 (第三军医大学附属西南医院整形外科,重庆 400038)

提 要:目的 研究神经生长因子对局部瘢痕组织中肥大细胞等炎性细胞及胶原沉积的影响,探讨增生性瘢痕病理性胶原代谢的启动因素。方法 以大鼠背部创面愈合后瘢痕为研究模型,采用常规HE、天青-A及VG染色和计算机图像分析,研究神经生长因子对局部瘢痕组织中肥大细胞等炎性细胞及胶原沉积的影响。结果 注射神经生长因子后局部瘢痕组织中肥大细胞、巨噬细胞、白细胞及淋巴细胞的数量及活化程度、胶原纤维分布的面密度都非常显著增加($P<0.01$)。结论 在创面上皮化愈合后神经生长因子仍可促进炎性细胞的趋化、活化,促进局部瘢痕组织中胶原的沉积,从而可能在增生性瘢痕的形成中发挥重要作用。

关键词:神经生长因子;炎性细胞;胶原沉积;瘢痕
中图法分类号:R394.32;R619.6 文献标识码:A

Effects of nerve growth factor on inflammatory cells and collagen deposition in scar tissues

YANG Dong-yun, LI Shi-rong, LI Hui-yuan (Department of Plastic Surgery, Southwest Hospital, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To study the effects of nerve growth factor (NGF) on inflammatory cells and collagen deposition in local scar tissues after wound-healing for the possible roles of NGF in hypertrophic scar (HS). **Methods** Full-skin thickness wounds were inflicted in the back of 15 male rats. After wound-healing, NGF and normal saline were injected into local scar once a day respectively. Three days later, the scar and nearby normal skin tissues were removed and proceeded with HE staining, Azure-A staining and VG staining. Computer image analysis was carried out. **Results** The amounts and activity of mast cells, macrophages, polymorphonuclear leukocytes and lymphocytes were increased in the NGF-treated group. In this group, the density of collagenous fiber was increased in scar tissues as compared with control group ($P<0.01$). **Conclusion** NGF could not only augment the migration and activation of mast cells and other inflammatory cells, but also enhance collagen deposition in local scar tissues after wound-healing, so NGF may play an essential role in the development of HS.

Key words: nerve growth factor; inflammatory cells; collagen deposition; scar

增生性瘢痕(Hypertrophic scar, HS)不仅影响外观,发生在功能部位者还可导致严重的功能障碍,但由于其发病机制至今还不十分清楚,临床上尚缺乏根本有效的预防和治疗方法。因此,HS发病机制及其防治一直是整形外科和烧伤领域研究的难点和重点。本文拟通过动物实验,研究神经生长因子(Nerve growth factor, NGF)对局部瘢痕组织中肥大细胞等炎性细胞及胶原沉积的影响,探讨NGF在HS发生发展中的作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康雄性大鼠15只,体重200 g左右。购自第三军医大学实验动物中心。

采用同体对照的方法,在大鼠背部两侧各做一创面,待创面愈合后其右侧作为NGF治疗组,左侧为盐水对照组,并取创

作者简介:杨东运(1970—),男,河南省柘城县人,硕士,主治医师,主要从事增生性瘢痕方面的研究。电话:(023)65318301—73091

收稿日期:1999-02-23;修回日期:2000-09-04

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

面周围的正常皮肤为空白对照组, 每组各 15 只动物。

1.2　主要试剂

鼠源性 NGF: 北京北方同正生物技术发展公司。天青-A: 上海化学试剂厂。

1.3　主要仪器

真彩医学图象分析仪: 德国 Leica 公司 MD-20 型。光学显微镜: 日本 Olympus-CH 型。

1.4　实验方法

大鼠用 1% 戊巴比妥腹腔注射麻醉(30 ~ 50 mg/kg 体重), 麻醉后固定于简易操作台, 剃去背部毛发, 2% 碘酒、75% 酒精依次消毒背部皮肤。用眼科剪在背部两侧各剪去一直径约 0.7 cm 的圆形全层皮肤, 两创面相距 2.0 cm 以上。观察无活动性出血点后创面涂以金霉素眼膏, 继续饲养。待创面愈合后连续 3 d 在背部右侧原创面处的皮肤瘢痕内注入 NGF, 剂量为 500 ng/d, 左侧注入等量(0.1 ml)的生理盐水做对照。1 周后腹腔注入过量的戊巴比妥(250 mg/kg 体重)处死大鼠, 立即切取注射部位的瘢痕标本及附近的正常皮肤, 直径各为 0.7 cm。标本立即入福尔马林液分组(NGF 组、盐水对照组和正常皮肤组)固定, 常规石蜡包埋切片, 分别进行: (1)HE 染色, 光镜病理组织学检查。(2)天青-A 法肥大细胞染色, 网行测微器计数, 按改良的 Dellesse' s 公式行密度计算[1], 结果行单因素方差分析。(3)VG 染色, 胶原含量图像分析: 每组测定 5 张切片, 在 25 倍物镜下自表皮基底层向深层方向随机观测 5 个视野, 由计算机辅助系统求出胶原分布的面密度, 结果行单因素方差分析。

1.5　VG 染色

按文献[2]步骤进行。

2　结果

2.1　光镜病理形态学观察

NGF 组: 表皮层增厚, 真皮乳头层、网状层界限不清, 真皮层胶原纤维致密, 胶原束排列紊乱, 其间成纤维细胞、单核/巨噬细胞、白细胞及淋巴细胞明显增多, 核分裂像多见, 微血管增多。

盐水对照组: 表皮层稍增厚, 胶原纤维及成纤维细胞增多, 但程度较 NGF 组轻, 炎性细胞浸润少。

正常皮肤组: 皮肤附件完整, 真皮乳头层和网状层界限清晰, 胶原纤维排列疏松, 胶原束间有较大间隙, 细胞成份及血管数目较少。

2.2　天青-A 法肥大细胞染色

2.2.1　形态学　　在天青 A 染色下, 肥大细胞呈红色, 其它组织呈淡蓝色, 对比明显。

NGF 组: 真皮浅层、深层均可见到大量的肥大细胞, 以真皮浅层最为密集, 细胞大小不等, 脱颗粒现象显著, 有时可见细胞周围的基质被肥大细胞颗粒染成红色, 见图 1。

盐水对照组: 肥大细胞很少, 主要位于乳头层, 细胞较小, 大小一致, 极少有脱颗粒现象, 见图 2。

正常皮肤组: 与盐水对照组相似。

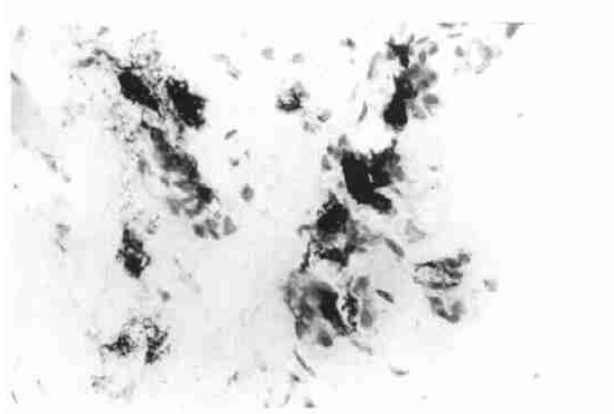


图 1　注射 NGF 组　局部瘢痕组织中肥大细胞增多, 肥大细胞脱颗粒现象显著　(天青-A× 400)

Fig 1　Mast cells increased and degranulation of mast cell was evident in the NGF-treated group (Azure-A× 400)

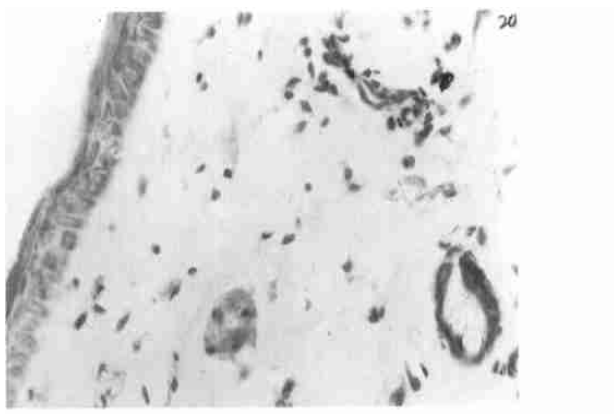


图 2　注射生理盐水组　局部瘢痕组织中肥大细胞数量及脱颗粒状态无明显变化　(天青 A-× 100)

Fig 2　No marked changes in the number and degranulation of mast cell in normal saline treated group (Azure-A× 100)

2.2.2　计数　　各组肥大细胞计数结果见表 1。

表 1　各组肥大细胞计数

Tab 1　Mast cell count in different groups

Group	*n*	Amount ($\bar{x}\pm s$)
NGF-treated	5	309.8±151.2△
Normal saline treated	5	32.2±40.2
Normal-skin	5	31.0±39.4

△: $P<0.01$ *vs* other two groups;

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

2.3 VG 法胶原染色

在 VG 染色下，胶原纤维呈红色，胞浆、红细胞、腺体等呈黄色，细胞核呈棕黄色。光镜下见 NGF 组红色的胶原纤维致密，黄色细胞成份增多，见图 3。



图 3 注射 NGF 组 局部瘢痕组织中胶原含量增多 （VG× 100）

Fig 3 Increased collagen deposition in local scar tissue after NGF treatment （VG× 100）

盐水对照组：乳头层、网状层界限不清，胶原纤维排列较为整齐，胶原束间空隙较大，见图 4。

正常皮肤组：乳头层胶原纤维较细，网状层原纤维较粗，排列疏松，皮肤附件存在，细胞成份少。

经图像分析和统计学处理，NGF 组和盐水对照组胶原纤维的含量有显著差异（$P<0.01$），盐水对照组也显著高于正常皮肤组（$P<0.01$），见表 2。

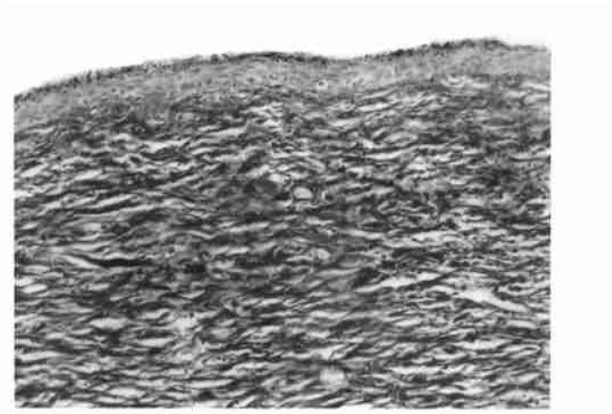


图 4 注射生理盐水组 局部瘢痕组织中胶原含量显著低于 NGF 组 （VG× 100）

Fig 4 Lower collagen deposition in normal saline treated group （Compared with NGF-treated group） （VG× 100）

表 2 各组胶原纤维分布的面密度

Tab 2 Density of collagen in different groups

Group	n	Density（$\bar{x}\pm s$）
NGF-treated	5	0.811±0.088△
NaCl-treated	5	0.606±0.060 *
Normal skin	5	0.452±0.057

△：$P<0.01$ *vs* other two groups； *：$P<0.01$ *vs* normal skin

3 讨论

大量文献报道，局部环境中异常存在的炎性细胞及其产生的细胞因子等生物活性物质是增生性瘢痕发生的重要原因[3,4]，但创面上皮化后 HS 内炎性细胞异常存在的原因目前尚不清楚。

NGF 是神经系统最重要的生物活性分子，除能促进创伤后神经纤维的再生外，它还对免疫、造血等非神经系统具有重要的调节作用，可以通过促进免疫、炎性细胞的功能和活性而促进创面愈合，并在创伤后局部疼痛、痛觉过敏的发生中发挥重要作用[4]。我们以前的实验表明，HS 中存在 NGF 的异常高水平表达[5]，且 NGF 在创面上皮化后仍可趋化、活化炎性细胞，并促进其增殖及脱颗粒。因此我们推测，HS 内异常高水平的 NGF 可能通过趋化、活化炎性细胞而启动病理性胶原代谢，导致胶原的过度堆积。目前尚无 NGF 与 HS 关系的报道，为了验证这一推测，我们进行了此次实验。结果发现：(1)NGF 组胶原束间成纤维细胞、单核/巨噬细胞和多形核白细胞、淋巴细胞明显增加，核分裂相多见，肥大细胞增多亦很明显，细胞大小不等，脱颗粒现象显著。文献报道，肥大细胞与纤维化疾病的关系相当密切，活化的肥大细胞可以促进成纤维细胞的增殖及合成细胞外基质，并且可使成纤维细胞失去接触抑制这一特性，在纤维化组织中，肥大细胞的数量与纤维化程度呈正相关[6]。(2)NGF 组胶原纤维的面密度非常显著高于盐水对照组和正常皮肤组（$P<0.01$），这与我们的预测、也与文献报道的 NGF 可促进创面胶原沉积相符合[7]。(3)盐水对照组胶原纤维的面密度也非常显著高于正常皮肤组（$P<0.01$），考虑原因如下：①盐水对照组标本为创面愈合后瘢痕组织，其胶原含量应该不同于正常皮肤；②可能是注射引起的物理创伤所致。

结合以前的实验结果，我们认为 NGF 可能在 HS 的病理性胶原代谢中可能发挥了重要的启动作用：高水平的 NGF 趋化并活化炎性细胞，促进其增殖及释放细胞因子和炎症介质，后者又作用于成纤维细胞，使成纤维细胞功能状态发生改变，合成过量的胶原等细胞

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

外基质,最终导致 HS 的发生。

参考文献:

[1] 孙本善,李玉霞. 瘢痕组织中肥大细胞变化的观察[J]. 实用美容整形外科杂志, 1991, 2(1, 2): 35—37.
[2] 龚志锦,詹熔洲 著. 病理组织制片和染色技术[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1994. 66—67.
[3] Schmid P, Itin P, Cherry G, *et al*. Enhanced expression of transforming growth factor-beta type I and type II receptors in wound granulation tissue and hypertrophic scar[J]. Am J Pathol, 1998, 152(2): 485—493.
[4] 赵烨德,牛星焘,肖军军. 巨噬细胞、T 淋巴细胞在增生性瘢痕组织中的分布研究[J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1997, 13(6): 446—448.
[5] 杨东运,李世荣,李荟元。增生性瘢痕组织中神经生长因子的免疫组化检测[J]. 第三军医大学学报, 2000, 16(7): 687—691.
[6] Pesci A, Bertorelli G, Gabrielli G, *et al*. Mast cells in fibrotic lung disorders[J]. Chest, 1993, 103(4): 989—996.
[7] Matsuda H, Koyama H, Sato H, *et al*. Role of nerve growth factor in cutaneous wound healing: Acceleration effects in normal and healing—impaired diabetic mice[J]. J Exp Med, 1998, 187(2): 297—306.

(编辑　潘式文)

文章编号: 1000-5404(2000)11-1093-01

经验与短篇

原发性纵隔肿瘤 84 例的外科治疗

Surgical treatment of 84 cases of primary mediastinal tumor

向明章,钟伯龙,程　波,张国强,姚　珂,刘欲团　(第三军医大学附属新桥医院胸心外科,重庆 400037)

自 1978 年 11 月至 1999 年 6 月我院共收治纵隔肿瘤 84 例,均经手术及病理证实。现报告如下。

1　临床资料

本组男 46 例,女 38 例,男女之比为 1.21∶1。年龄 8～66 岁,平均 34.2 岁。肿瘤的部位和病理类型,见表 1。

表 1　84 例纵隔肿瘤的部位和病理类型

病理类型	部位				%
	前上	前下	中	后	
胸腺瘤及囊肿	15	6	—	—	25.2
畸胎瘤	7	10	—	0	20.2
神经原性肿瘤	—	—	—	16	19.0
间叶肿瘤	3	4	—	—	8.3
支气管囊肿	—	—	6	—	7.1
原发癌	2	2	—	1	6.0
淋巴瘤	2	—	2	—	4.8
胸内甲状腺瘤	3	—	—	—	3.6
心包囊肿	—	3	—	—	3.6
巨大淋巴结增生	2	—	—	—	2.4
合计	34	25	8	17	

有 21 例(25.0%)无自觉症状,于体检时偶然发现。其余 63 例病人均有不同程度的胸痛、胸闷、咳嗽、咳痰、气短 等,其中 20 例胸腺瘤中合并重症肌无力(Myasthenia gravis, MG)者 6 例(30.0%),神经原性肿瘤发生下肢瘫痪者 1 例(6.3%),2 例畸胎瘤与相邻肺组织和支气管粘连或相通后发生肺部感染,咳嗽、咳脓痰。

2　结果

本组肿瘤全切除者 76 例,部分切除者 5 例,开胸探查 3 例。有 2 例畸胎类肿瘤侵犯肺、支气管而附加肺叶和肺段切除术,1 例类癌侵犯心包、包绕上腔静脉,经上腔静脉插管后切除肿瘤。术后 1 例死于呼吸衰竭,病死率为 1.2%。

3　讨论

发病情况: Strollo 等[1] 报告外科治疗的原发性纵隔肿瘤发病率依次为神经原性肿瘤、胸腺瘤、良性囊肿、淋巴瘤、畸胎瘤、肉芽肿病。本组以胸腺瘤为最多,其次为畸胎瘤和神经原性肿瘤,再次为囊肿。肿瘤部位与肿瘤类型、性质有密切关系。本组前纵隔以胸腺瘤最为多见,其次是畸胎类肿瘤,中纵隔以囊肿多见,而后纵隔绝大多数为神经原性肿瘤,与文献[1] 基本一致。本组恶性肿瘤占 21.4%,以浸润型胸腺瘤居多。

诊断: 我们认为,本病除临床表现外: ①胸部 X 线摄片是基本和首要诊断手段; ②胸部 CT 检查既能了解肿瘤大小、边界、密度,又能分辨肿瘤与心脏、大血管等周围脏器的关系,尤其是增强扫描,还对血管瘤具有鉴别意义; ③B 超检查能清晰地分辨

(下转 1096 页)

作者简介: 向明章(1962—),男,湖北省仙桃市人,硕士,副主任医师,副教授,主要从事肺缺血再灌注损伤方面的研究,发表论文 18 篇。电话: (023)68755724

收稿日期: 1999-11-19; 修回日期: 2000-09-25

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