DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.07.031

关于头颈癌SRT治疗的并发症，对于颅底的病变特别是放疗后复发者，应充分考虑引起或加重颅神经损害及局部坏死的危险。本组1例NPC二程放疗后复发患者颅神经损害加重，复查CT未显示病变进展，故可能是放射性坏死所致。Tokuuye等[4]报道19例脑和颅底肿瘤放疗后复发患者SRT（每2.3周作7次，共42 Gy）治疗，其中1例9月后出现渐进性放射性坏死。与之比较本组病例放射性坏死的发生明显提前，可能与累积放射损伤有关。口咽及咽喉部肿瘤急性期粘膜损伤重，水肿、溃疡甚至出血等，注意对症处理，保持口腔清洁，患者多能耐受治疗。恰当的剂量分割方式可能是减少严重并发症发生的关键，这一问题需要深入的放射生物学研究和临床经验积累。

参考文献：

[1] 庞学利，谭崇富，肖 红，等. 头颈部癌立体定向放射治疗体位固定和摆位方法探讨[J]. 第三军医大学学报，1999，21(11)：856－857.
[2] Cmelak A J, Cox R S, Adler J R, *et al*. Radiosurgery for skull base malignacies and nasopharyngeal carcinoma[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1997, 37(5): 973－978.
[3] Kocher M, Voges J, Staar S, *et al*. Liner accelerator radiosurgery for recurrent malignant tumors of the skull base[J]. Am J Clin Oncol, 1998, 21(1): 18－22.
[4] Tokuuye K, Akine Y, Sumi M, *et al*. Reirradiation of brain and skull base tumors with fractionated stereotactic radiotherapy[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1998, 40(50): 1 151－1 157.

（编辑 汪勤俭）

文章编号：1000-5404(2000)07-0687-01

经验与短篇

增生性瘢痕中神经生长因子的免疫组化测定

Immunohistochemical detection and quantification of nerve growth factor in hypertrophic scar

杨东运，李世荣，李荟元 （第三军医大学附属西南医院康复整形中心 重庆，400038）

增生性瘢痕（Hypertrophic scar，HS）是人类皮肤损伤愈合后出现的一种特有的病理现象，其发病机制至今尚不明确。研究表明，伤口上皮化愈合后局部免疫、炎性细胞仍大量聚集是继发瘢痕增生的重要因素[1,2]，HS中存在着神经纤维的再生不全及活跃再生[3]。神经生长因子（Nerve growth factor，NGF）一方面作为神经营养因子在外周神经损伤修复中起重要作用，另一方面又能作用于免疫、造血等系统，对免疫、炎性细胞有确切的趋化、增殖活性[4]，并能促进细胞外基质的合成，故推测NGF可能在HS的形成中发挥作用。但NGF与HS关系的研究目前尚不清楚，为此，我们采用S-P法结合图像分析技术，对HS、非增生性瘢痕及正常皮肤中NGF的含量进行半定量检测，为探讨NGF在HS发生发展中的作用提供依据。

1 材料和方法

1.1 病例选择及分组

本实验所有标本均取自本科住院病人，既往无慢性病及皮肤病史，术前半年无瘢痕药物治疗史。①HS组：13例。诊断标准为：瘢痕色红质硬、持续增生，高出皮面，局部有瘙痒、疼痛及痛觉过敏等不适，病理组织学检查见表皮下胶原纤维大量增生，纵横交错，呈漩涡状或结节状，成纤维细胞及小血管数目增多。其中男性7例，女性6例，年龄6～36（22.77±10.39）岁。②非增生性瘢痕组13例，男性7例，女性6例，年龄为2～45（23.15±11.5）岁。③正常皮肤组：26例，经病人同意后取瘢痕周边或供皮区的正常皮肤作对照。

1.2 主要试剂及仪器

鼠抗人NGF多克隆抗体（1∶100）由北京中山公司提供，SP免疫组化试剂盒购自第三军医大学试剂中心；德国Leica公司MD 20型真彩医学图像分析仪由第三军医大学中心实验室提供。

1.3 取材、切片

组织标本切下后4%多聚甲醛固定过夜，次日石蜡包埋作石蜡切片，置于4℃冰箱待用。

1.4 免疫组化染色

按下列步骤染色，步骤之间用PBS冲洗（3×5 min）。①石蜡切片脱蜡水化；②加过氧化酶阻断液，室温孵育10～20 min；③加7.5%羊血清，室温孵育10～20 min，吸去多余的液体；④加一抗，4℃冰箱过夜；⑤加生物素标记的二抗，室温孵育20 min；⑥加链霉菌抗生物素蛋白——过氧化物酶溶液，室温孵育20 min；⑦加新配制的DAB液，镜下观察显色3～10 min，自来水冲洗；⑧苏木素复染，中性树胶封固。

1.5 图像分析

用图像分析仪在25倍物镜下自表皮向深层方向连续观测5个视野，由计算机辅助系统求出NGF阳性颗粒分布的表面积密度，即面密度，每组测定10张切片。

（下转691页）

作者简介：杨东运（1970－），男，河南省柘城市人，硕士，医师。电话：(023)68754336
收稿日期：1999-09-16；修回日期：2000-03-30

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

参考文献:

[1] Plinkert P K, Ruck P, Baumann I, *et al*. Inverted papilloma of the nose and paranasal sinuses-diagnosis, surgical procedure and studies of cytokeratin profile[J]. Laryngorhinootologie, 1997, 76(4): 216—224.

[2] Harris M O, Beck J C, Lancaster W, *et al*. The HPV 6 EL/E7 transforming genes are expressed in inverted papilloma[J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 1998, 118(3 Pt1): 312—318.

[3] Segal K, Atar E, Mor C, *et al*. Inverting papilloma of the nose and paranasal sinuses[J]. Laryngoscope, 1986, 96(4): 394—398.

[4] Weissler M C, Montgomery W W, Turner P A, *et al*. Inverted papilloma[J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 1986, 95(3 Pt1): 215—221.

[5] Christensen W N, Smith R R. Schneiderian papillomas: a clinico-pathologic study of 67 cases[J]. Hum Pathol, 1986, 17(4): 393—400.

[6] Nielsen P L, Buchwald C, Nielsen L H, *et al*. Inverted papilloma of the nasal cavity, pathological aspects in a follow-up study[J]. Laryngoscope, 1991, 101(10): 1 094—1 101.

[7] Lesperance M M, Esclamado R M. Squamous cell carcinoma arising in inverted papilloma[J]. Laryngoscope, 1995, 105(2): 178—183.

（编辑　冷怀明）

（上接 687 页）

2　结果

2.1　免疫组化染色

HS 组 NGF 阳性颗粒分布广、密度高、着色浓尤其是真皮乳头层及成纤维细胞聚集处最为明显, 表皮基底层亦可见较多的阳性颗粒。非增生性瘢痕组及正常皮肤组 NGF 阳性颗粒少, 染色淡, 主要分布于表皮基底层及小血管, 皮肤附件周围, 真皮层极少见到。

2.2　图像分析

组织内NGF 阳性颗粒分布面密度见表 1。

表 1　**NGF** 阳性颗粒分布面密度($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

组别	面密度
HS　　组	0.180±0.054**
非增生性瘢痕组	0.021±0.007
正 常 皮 肤 组	0.017±0.04

**: $P<0.01$ 与正常皮肤组及非 增生性瘢痕组比较

3　讨论

动物实验证实, 局部注射 NGF 可导致与创面愈合的细胞反应相似的一系列细胞浸润[5]。还有人证实, 局部应用 NGF 可以促进创面愈合, 并认为这是 NGF 趋化、活化免疫、炎性细胞, 促使后者释放多种促进胶原等细胞外基质合成的细胞因子和炎性介质的结果。有证据表明HS 中存在神经纤维严重再生不全这一环境。我们推测, 在该环境下, 受机体反馈调节局部的靶细胞合成大量 NGF, 使 NGF 维持在较高水平, 持续高水平的 NGF 趋化并活化免疫及炎性细胞, 使其释放大量的细胞因子和炎症介质, 细胞因子和炎症介质一方面作用于成纤维细胞, 促进其合成胶原等细胞外基质, 另一方面又直接或间接抑制基质的降解, 从而导致 HS 形成。本结果发现, HS 组织中 NGF 阳性颗粒显著高于非增生性瘢痕和正常皮肤, 且在真皮乳头层及成纤维细胞聚集处最为明显, 而这些部位正是 HS 增生活跃的部位。经图像分析处理差别显著($P<0.01$)。非增生瘢痕组阳性颗粒的面密度虽较正常皮肤组略有增加, 但差别不显著($P>0.05$)。

当然, 仅凭 HS 中 NGF 水平升高这一点并不能充分说明 NGF 在 HS 的形成中发挥重要作用。我们另有实验证实, NGF 可以促进创面上皮化愈合后局部的免疫、炎性细胞浸润和胶原沉积(待发表), 这也为 NGF 在 HS 的病理性胶原代谢中发挥重要作用提供了一个实验依据。

关键词: 神经生长因子; 增生性瘢痕

中图法分类号: R619.6　　文献标识码: A

参考文献:

[1] Castagnoli C, Trombotto C, Ondie S, *et al*. Characterization of T-cell subsets infiltrating post-burn hypertrophic scar tissues[J]. Burns, 1997, 23(7-8): 565—572.

[2] 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.

[3] Crowe R, Parkhousc N, Mcgrouther D, *et al*. Neuropeptide containing nerves in painful hypertrophic human scar tissue[J]. Br J Dermatol, 1994, 130(4): 444—452.

[4] 程　违, 李春德. 免疫生理学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1993. 60—61.

[5] Matsuda H, Koyama H, Sato H, *et al*. Role of nerve growth factor in cutaneous wound healing: accelerating effects in normal and healing impaired diabetic mice[J]. J Exp Med, 1998, 187(2): 297—306.

（编辑　陈聪连）

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