DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.06.020

毛囊细胞生物学和器官型培养的研究

论文摘要

Study on the cell biology and organotypic culture of human hair follicles

伍津津 刘荣卿 (第三军医大学附属西南医院皮肤科)重庆,630038

毛囊由属上皮成分的内、外根鞘和属真皮成分的真皮鞘与毛乳头组成,是一个很值得深入研究的皮肤附属结构。它涉及到许多的生理现象,如细胞的生长和分化、真表皮间的相互作用、细胞凋亡等,而且在皮肤的自我更新、伤口愈合和肿瘤发生等过程中起主导作用。其生长具有周期性,体内研究其生长规律还存在着许多困难,目前体外研究的主要方法有:单种细胞培养、游离毛囊培养、器官型培养或共同培养结合动物移植试验以及皮片培养。

有关毛囊干细胞的定位问题还存在争议,传统认为它在毛球部的毛母细胞中,但近来提出的隆突激活假说更能准确阐明毛囊的许多生理现象,尤其是毛囊的周期性生长,不过还缺乏直接的实验证据。

毛乳头细胞是目前唯一已知的具有诱导毛囊再生和毛发生长的一类特殊间质,在体外培养时具有多层凝集生长、低增殖潜能、容易衰老等特点。

本研究主要采用细胞培养技术,建立了单种细胞培养法、游离毛囊培养模型和器官型培养模型。重点探讨了重建的表皮和毛囊的组织学及角蛋白构型的变化。主要结果如下:

(1)首次证明了真皮鞘细胞在体外培养条件下具有诱导毛囊形成的能力。将毛囊上、下段和球部,分别与真皮成纤维细胞、真皮鞘细胞及毛乳头细胞行器官型培养,组织学检查发现毛囊上、下段在真皮鞘细胞胶原凝胶上形成了毛囊结构,由同心圆的上皮细胞组成,其内层细胞似内根鞘细胞,中央为毛发纤维。从角蛋白构型来看与体内时基本相同。

(2)游离毛囊在10%小牛血清DMEM培养基中仍能保持适当的增长速度,前4天平均延长0.17 mm/d,低于体内毛发生长的速度。EGF(10 ng/ml)、bFGF(1 ng/ml)和TGF-β(5 ng/ml)对游离毛囊的生长没有明显的影响。游离毛囊培养过程中重要的技术关键是避免毛囊上皮成分和真皮成分的分离。

(3)组织块法培养毛乳头不易贴壁,增生能力低,经胶原酶D消化后贴壁率显著提高,倍增时间缩短,细胞生长加快。而且大大降低了劳动强度。说明胶原酶D是成功培养毛乳头细胞的有力工具,适用于大批量分离毛乳头。

(4)EGF对真皮鞘细胞、真皮成纤维细胞和毛乳头细胞有显著的促生长作用,其中对真皮鞘细胞的作用最强,而bFGF、GM-GSF、胰岛素十氢化可的松对三种细胞没有明显的作用。

(5)表皮细胞在间质细胞胶原凝胶上重建的表皮,有明显的四层结构,即基底层、基底上层、颗粒层和角质层。电镜检查有桥粒、张力微丝和角质透明颗粒。经15种角蛋白单抗免疫组化染色,它们基本上保持了原位时的角蛋白构型。但在真皮鞘细胞的诱导下可表达低分子量角蛋白,揭示真皮鞘细胞可能具有诱导表皮细胞向毛囊分化的能力。而毛乳头细胞可阻止K10表达,说明它可能阻止表皮细胞向表皮分化。

(6)毛囊上、下段球部传代培养表明,毛囊各段细胞的增生能力是不同的,上段细胞的增生能力最强,而下段和球部原代生长差,不能融合传代。

(7)在毛囊各段细胞的器官型培养中,重建的表皮以上段形成的最厚,球部形成的最薄;从间质细胞来看,毛乳头细胞凝胶上形成的表皮最薄。免疫组化染色显示重建表皮的角蛋白构型基本上维持了原位时的情况。在真皮成纤维细胞胶原凝胶上的重建表皮大多RKSE60阳性,说明已有向表皮分化的倾向。当与真皮鞘细胞培养时,上段和下段能形成毛囊结构,揭示它们含有一群能向毛母质细胞分化的细胞,这为隆突激活假说提供了一个有力的支持证据。

关键词 毛囊;毛乳头细胞;器官型

中图法分类号 R753.3

(收稿:1994-12-01;修回:1995-12-12)

大鼠烧伤早期内皮素及其受体、一氧化氮变化规律和意义的研究*

An experimental study on endothelin, endothelin receptors and nitric oxide in burnt rats

高建川 杨宗城 黎鳌 (第三军医大学附属西南医院烧伤研究所)重庆,630038

以大鼠30%Ⅱ度烧伤模型,动态检测了烧伤后主要脏器内皮素/一氧化氮含量变化、内皮素-1(ET-1)及其受体亚型基因

* 国家自然科学基金资助课题(No 39290700)

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