

成年裸鼠和成人表皮皮肤的比较组织形态学研究

王 溯 陈晓蓉

摘要 取成年裸鼠及成人表皮皮肤,用 HE 染色、Masson-Fontana 染色及透射电镜等方法,观察二者全层皮肤组织学结构及黑色素分布情况。提示二者皮肤的组织学结构在光镜水平存在差异,裸鼠无汗腺,皮下有横纹肌层;Masson-Fontana 染色在裸鼠显示为阴性结果。然而在电镜水平可以发现裸鼠皮肤基底层存在黑色素细胞。

关键词 黑色素细胞;裸鼠;皮肤;比较组织学

中图分类号 R 329.499

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2014)08-1157-04

裸鼠作为一种特殊的模式动物广泛用于免疫、肿瘤、移植等研究领域。裸鼠胸腺免疫缺陷,体表无毛,类似人体皮肤外观,是异种异体皮肤移植的理想受体。但是裸鼠皮肤又有其自身组织学特点。因此,将裸鼠与人的表皮皮肤的组织学异同作一比较显得必要,为受试前后的研究结果提供可靠参照,以促使其向临床转化。然而,既往研究多从纯生物学角度出发,侧重不同纲、目间的横向比较,忽略了比较组织学在转化医学方面的价值,涉及鼠与人皮肤形态学差异的描述较为笼统^[1-3],更缺乏专门以裸鼠皮肤为比较对象的报道。该研究选取正常成年裸鼠皮肤与正常成人表皮皮肤作一组织学比较,为皮肤病学和肿瘤学领域的研究提供可靠的形态学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 健康裸鼠,SPF 级,8 周,Balb/c-nu 雌雄不限,体重 19~21 g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,以裸鼠专用标准饲料、灭菌水,25℃室温无菌条件喂养,自由取食饮水,1 周后取用。动物合格证号:SCXK(湘)2011-0003。在本实验全过程中,动物处置方法确保符合动物伦理学要

求。

1.2 方法 取裸鼠背部全层皮肤,用 4% 甲醛固定 24 h,常规脱水、透明、石蜡包埋。成人皮肤由徐州医学院第二附属医院病理科惠赠,取自胸部正常皮肤。将上述材料制成 4 μm 切片,脱蜡至水后行 HE 染色或 Masson-Fontana 染色,光镜(ECLIPSE 80i 高级研究用生物显微镜,Nikon,日本)观察基本组织结构及黑色素染色情况。另取裸鼠新鲜皮肤置于 2.5% 戊二醛溶液固定 12 h。常规用丙酮/环氧树脂包埋制成 500 Å 的切片,醋酸铀和柠檬酸铅染色,透射电镜(JEM-1230,电子株式会社,日本)观察黑色素细胞。

2 结果

2.1 HE 染色 HE 染色显示裸鼠和成人表皮均由表皮及真皮构成,真皮下为皮下组织。观察比较二者显微结构。可见低倍镜下人全层皮肤明显厚于裸鼠,尤其是人皮肤的真皮层明显较裸鼠发达。裸鼠的表皮与真皮接壤处较平整,成人的表皮与真皮相结合处常呈波浪形,二者犬牙交错,形成表皮嵴及真皮乳头。裸鼠皮下组织中可见一肌层,这在人皮下组织中未见。见图 1A、B,图 2A。

高倍镜下可见裸鼠表皮薄于成人(裸鼠表皮 2~5 层角质形成细胞,成人 5~8 层),二者均具有典型复层结构,表皮最外方为角质层。裸鼠和人表皮的颗粒层和基底层细胞在形态上存在差异。裸鼠表皮颗粒层细胞轮廓不清晰,可见浓染颗粒。成人表皮颗粒层由 1~2 层颗粒细胞构成,细胞切面呈长梭形,细胞轮廓较清晰,细胞核扁圆居中,胞质内可见均匀、细密深染的颗粒。成人表皮基底层细胞排列规整紧密,胞质少,细胞核小圆,深染,居中。个别细胞胞质区可见浅棕色颗粒,且颗粒多富集在细胞核上方的胞质区。裸鼠基底层细胞排列较紧密,细胞核小圆,深染,胞质少,未见有如在成人表皮基底层细胞间所见的含浅棕褐色颗粒的细胞。见图 1A1、B1。

裸鼠真皮明显薄于成人,高倍镜下可见染成浅红、呈波浪状的胶原纤维交织,梭形细胞散布其间。

2014-05-29 接收

基金项目:安徽省教育厅基金项目(编号: KJ2007A034)

作者单位:安徽医科大学基础医学院组织胚胎学教研室,合肥 230032

作者简介:王 溯,女,硕士研究生;

陈晓蓉,女,教授,硕士生导师,责任作者,E-mail:chenxrzp@163.com

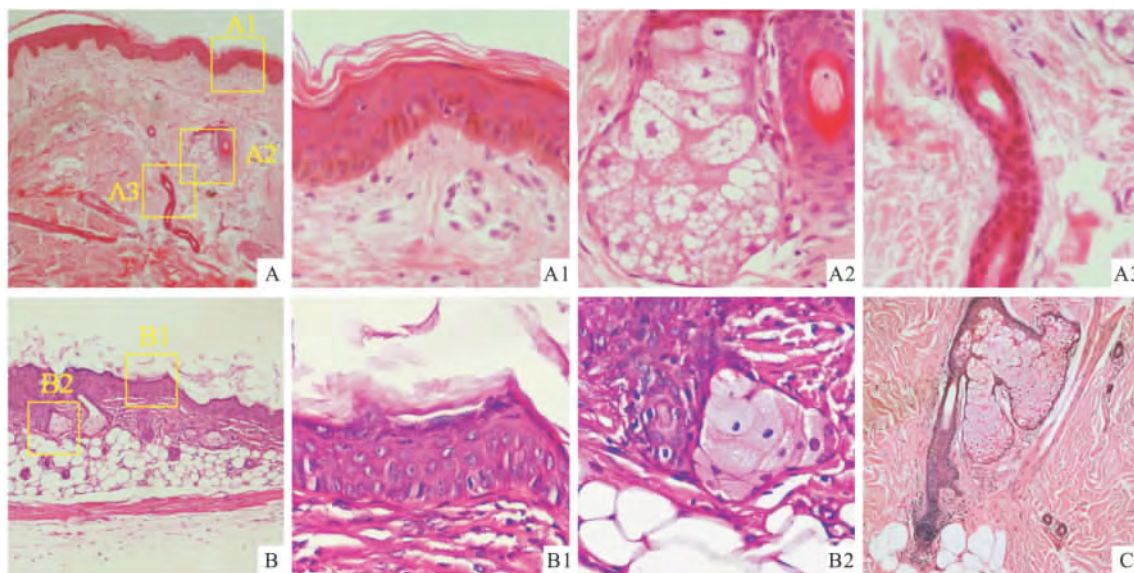


图1 HE染色示裸鼠及成人皮肤

A、A1~3:成人皮肤;B、B1~2:裸鼠皮肤;A:成人皮肤(低倍镜);A1:成人表皮及真皮;A2:成人皮脂腺,其右侧为毛囊;A3:成人汗腺;B:裸鼠皮肤(低倍镜);B1:裸鼠表皮及真皮;B2:裸鼠皮脂腺,其下方为毛囊;C:成人毛囊、皮脂腺及其一侧的立毛肌;A~C:×100;A1~3、B1~2:×400

成人真皮基质发达,在高倍镜下可见均质红染,粗宽的胶原纤维断面,细胞散布其间。见图1A1、B1。

成人真皮中可见毛囊、皮脂腺、汗腺等皮肤附属结构,皮脂腺一侧常见立毛肌附着,见图1A2、A3、C;而裸鼠真皮中仅见毛囊和皮脂腺,汗腺缺如,未见明显立毛肌结构,见图1B2。与成人相比,裸鼠毛囊狭长,深入皮下。与裸鼠皮脂腺相比,成人皮脂腺显著发达。低倍镜下,成人皮脂腺的细胞数量明显多于裸鼠,高倍镜下,成人皮脂腺细胞体积大,细胞质染色浅,充满脂滴,细胞核小,近腺体中心细胞的细胞核趋小。裸鼠皮脂腺细胞的细胞质染色较深,细胞核较大,腺体中心与周边细胞的细胞核差别不大,可见双核。

成人皮下组织由脂肪组织及疏松结缔组织构成,裸鼠皮下组织中还可可见一层肌纤维,见图2A、B、C。高倍镜下,肌纤维纵切面成带状,可见基本处于同一水平的清晰横纹,细胞核多个,呈长卵圆形,沿肌膜下分布。横切面可见肌纤维呈多边形,细胞核分布于外周,见图2B1、C1。

2.2 Masson-Fontana 染色 Masson-Fontana 染色利用黑素可将银溶液中的银离子还原的原理显示黑色素细胞。经本方法处理的裸鼠和成人皮肤显示了很大的差异。低倍镜下可见成人皮肤基底层棕黑色颗粒带。高倍镜下可见基底层间细胞的胞质中富含黑色颗粒,且颗粒在细胞的近棘细胞侧的胞质中

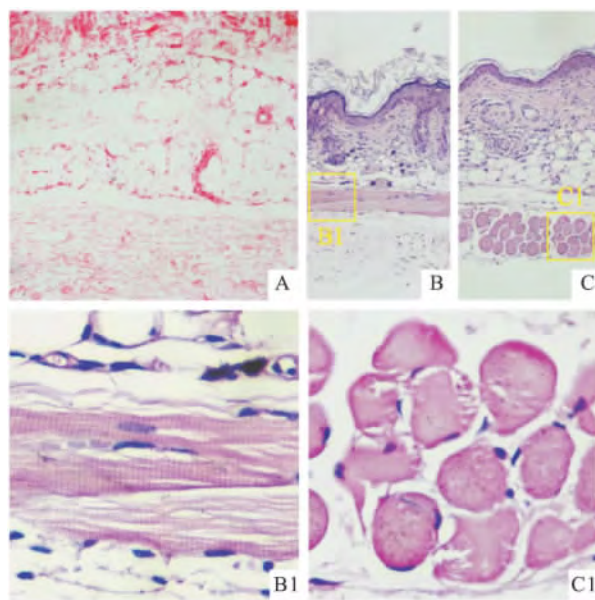


图2 HE染色示裸鼠皮下肌层及成人皮下组织

A:成人皮下组织(无肌层);B、C、B1、C1:裸鼠皮下肌层;B、B1:裸鼠皮下肌层纵切面;C、C1:裸鼠皮下肌层横切面;A~C:×100;B1、C1:×400

浓集,见图3A、A1。Masson-Fontana 染色显示裸鼠基底层细胞淡染,其间无棕黑色带状颗粒分布,为阴性结果,见图3B、B1。

2.3 透射电镜观察 透射电镜观察表明,裸鼠皮肤基底层可见黑色素细胞,见图4,胞质内可见以Ⅲ~Ⅳ期为主的黑素小体,数量不多,呈高电子密度颗

粒。核糖体、线粒体丰富,粗面内质网、高尔基复合体发达,张力微丝少,与相邻细胞间无桥粒连接,见图4。

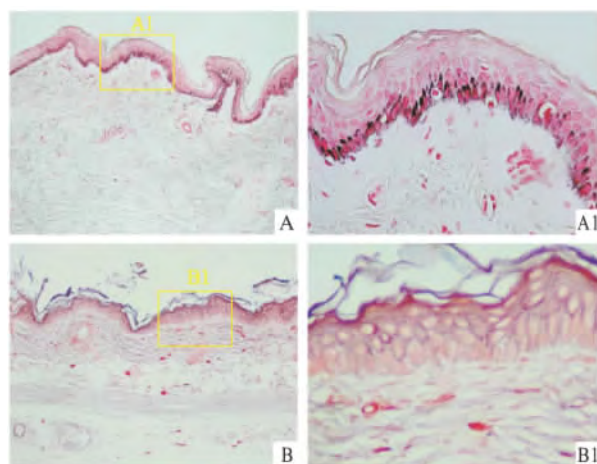


图3 Masson-Fontana 银染法示裸鼠及成人皮肤黑色素分布
A、A1:成人皮肤;B、B1:裸鼠皮肤;A、B: $\times 100$; A1、B1: $\times 400$

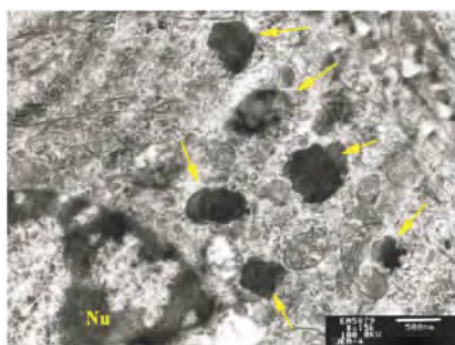


图4 电子透射显微镜示裸鼠皮肤基底层的黑色素细胞 $\times 15\ 000$
Nu 示细胞核; (→) 示高电子密度色素小体

3 讨论

研究^[2-3]显示,体表毛发丰密的哺乳动物表皮薄且平坦(如普通鼠类),无毛发的哺乳动物表皮厚且不平坦(如人类),而真皮厚度由表皮厚度决定^[2-3]。这一组织学特点有其功能意义:一方面,缺乏毛发保护的表皮易磨损,需要获得更丰富的细胞来源,以保证表皮更新所需。另一方面,厚的表皮需要获得更丰富的营养支持^[3]。本研究表明,光镜下HE染色显示裸鼠的表皮及真皮均较成人为薄,且裸鼠表皮基部较平整,未见形成表皮嵴及真皮乳头。说明裸鼠虽然体表无毛,但依然承袭了鼠类表皮的结构特点;且裸鼠优越的饲养环境大大减弱了表皮磨损。报道^[2]指出,成人角质层薄部位的皮肤颗粒

层仅含1~3层细胞,实验动物表皮颗粒层常缺如或不连续。本研究显示成人皮肤颗粒层含1层细胞,裸鼠表皮颗粒层不清晰,证实了这一观点。

有研究^[2-3]表明,哺乳类有汗腺的现象几乎仅见于较高等的灵长类,啮齿类汗腺仅存在于趾垫。本研究表明,裸鼠体皮汗腺缺如,成人具备汗腺,证实了这一观点。

研究^[2-3]显示不同动物皮脂腺结构和腺细胞形态差别不大。而本研究显示:成人皮脂腺明显比裸鼠发达,腺细胞成熟,而裸鼠皮脂腺不发达,成熟程度较低。研究^[2-3]显示,不同物种的皮脂腺合成的酶有所不同,灵长类合成的酶种类更复杂。由此可见,人的皮脂腺细胞较其他物种行使更成熟的分泌功能。皮脂腺具有分泌皮脂,滋润体表的作用,而裸鼠生活环境单一,湿度、温度恒定,这也或可解释本研究中人和裸鼠皮脂腺细胞的组织学差异。

研究^[2-3]显示,立毛肌维持毛囊与表皮的成角,维持毛发趋向走形。本研究显示,HE染色未见裸鼠具有立毛肌结构,成人立毛肌明显。近年一项研究^[4]显示,对立毛肌进行免疫组织化学检测可见裸鼠立毛肌。表明虽然裸鼠体表几乎无毛,但立毛肌结构并未完全退化消失。

近年在涉及皮下组织的移植研究中,啮齿动物的皮下肌层被用作定位标志^[5]。并用于微循环缺血再灌注对横纹肌影响的研究^[6]。但未见文献指明裸鼠皮下该肌层及其组织学性质。本研究表明,裸鼠皮下具有连续的菲薄肌层,且为骨骼肌。是否该层肌肉能自主收缩,或是否可通过非自主的收缩调节微循环的血量进而参与体温调节,其生理学意义及胚胎来源有待进一步研究。

有研究^[2-3]指出,鼠类的皮肤色素仅存于毛发,躯干部缺失有活性的黑色素细胞^[7]。有研究^[8]显示,裸鼠为黑色素细胞标志物S-100的阴性对照。Masson-Fontana染色是检测皮肤黑色素分布情况的简便方法^[9]。在本研究中,裸鼠同样表现为阴性结果。但经透射电镜检查,可以在裸鼠表皮基层观察到含有黑色素细胞及色素小体(色素小体分期参见文献^[7,10])。鉴于黑色素细胞对调节皮肤色泽以及防止紫外线照射引起的细胞损伤起着重要作用^[7,11-12]。结合成人皮肤黑色素细胞相关研究,可见裸鼠黑色素细胞的颗粒数量少于成人^[11,13]。表明裸鼠虽然缺少毛发保护,貌似承袭了鼠类皮肤黑色素分布的一般特点,却并非完全缺失黑色素细胞。

皮肤作为人体最大的器官,具有屏障、黑色素代谢、分泌汗液、体温调节等重要功能。皮肤结构作为其功能的基础,值得对其深入研究。尤其随着近年来皮肤移植领域的发展,裸鼠在动物实验中被广泛应用,这些研究后续不可避免地需要对新生的皮肤结构及功能进行观察评估。因此对正常成年裸鼠皮肤和正常成人体表皮肤的组织学结构的异同进行比较显得尤为必要,以更好地对研究结果进行对照评估。另外,在使用裸鼠模型的皮肤病学研究中,动物实验也要求研究者知悉正常裸鼠的皮肤组织学结构及其与人体皮肤的组织学结构异同,以促进其向临床转化^[14-15]。

参考文献

- [1] Lucy D Leake. Class mammalia[M]// Lucy D Leake. Comparative histology. London: Academic Press, 1975: 676-81.
- [2] Montagna W. Comparative anatomy and physiology of the skin [J]. Arch Dermatol, 1967, 96(4): 357-63.
- [3] Montagna W. Cutaneous comparative biology [J]. Arch Dermatol, 1971, 104(6): 577-91.
- [4] Sato A, Toyoshima K E, Toki H, et al. Single follicular unit transplantation reconstructs arrector pili muscle and nerve connections and restores functional hair follicle piloerection [J]. J Dermatol, 2012, 39(8): 682-7.
- [5] Iwasaki T, Imado T, Kitano S, et al. Hepatocyte growth factor ameliorates dermal sclerosis in the tight-skin mouse model of scleroderma [J]. Arthritis Res Ther, 2006, 8(6): R161.
- [6] Lindenblatt N, Calcagni M, Contaldo C, et al. A new model for studying the revascularization of skin grafts *in vivo*: the role of angiogenesis [J]. Plast Reconstr Surg, 2008, 122(6): 1669-80.
- [7] Slominski A, Tobin D J, Shibahara S, et al. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation [J]. Physiol Rev, 2004, 84(4): 1155-228.
- [8] 宋可新, 乔群, 王晓军. 黑色素细胞与骨髓间充质干细胞复合构建组织工程化皮肤 [J]. 中国医学科学院学报, 2011, 33(4): 402-7.
- [9] Jung E, Lee J A, Shin S, et al. Madecassoside inhibits melanin synthesis by blocking ultraviolet-induced inflammation [J]. Molecules, 2013, 18(12): 15724-36.
- [10] Cichorek M, Wachulska M, Stasiewicz A, et al. Skin melanocytes: biology and development [J]. Postepy Dermatol Alergol, 2013, 30(1): 30-41.
- [11] Ando H, Niki Y, Ito M, et al. Melanosomes are transferred from melanocytes to keratinocytes through the processes of packaging, release, uptake, and dispersion [J]. J Invest Dermatol, 2012, 132(4): 1222-9.
- [12] Videira I F, Moura D F, Magina S, et al. Mechanisms regulating melanogenesis [J]. An Bras Dermatol, 2013, 88(1): 76-83.
- [13] 人体皮肤电镜图谱编写组. 正常人体皮肤超微结构 [M]. 南京: 东南大学出版社, 1990: 4.
- [14] Huang S P, Hsu C C, Chang S C, et al. Adipose-derived stem cells seeded on acellular dermal matrix grafts enhance wound healing in a murine model of a full-thickness defect [J]. Ann Plast Surg, 2012, 69(6): 656-62.
- [15] Martínez-Santamaría L, Guerrero-Aspizua S, Del Río M. Skin bio-engineering: preclinical and clinical applications [J]. Actas Dermosifiliogr, 2012, 103(1): 5-11.

The histological comparasion of the adult nude-mice skin to the adult human skin

Wang Su, Chen Xiaorong

(Dept of Histology and Embryology, The Basic Medical College of Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract After skin flaps were harvested from the adult nude-mice and the adult human, they were made into sections and stained by HE stain or Masson-Fontana stain. Thus the skin structures and the distribution of melanin were observed under the light microscopy. The ultra-structure of melanocytes was detailed by transmission electromicroscopy. Under the light-microscopic observation, sweat glands were found agenesis in nude mice, with a thin layer of straited muscle shown in the subcutaneous layer. Masson-Fontana stain showed negative results in nude mice, but under transmission electromicroscopy, melanocytes were prominent in the basal layer.

Key words melanocytes; nude mice; skin; comparative histology