

• 临床检验研究论著 •

# 角蛋白 2e 在寻常型鱼鳞病皮损组织中的表达模式分析\*

李国周, 李常兴<sup>△</sup>, 韩春雷

(东莞市慢性病防治院检验科, 广东东莞 523008)

**摘要:**目的 探讨角蛋白 2e 在寻常型鱼鳞病(IV)皮损组织中的表达模式。方法 采用 S-P 免疫组化方法检测 10 例 IV 患者皮损组织标本及 14 例正常皮肤组织标本中角蛋白 2e 的表达, 用图像分析软件 ImagePro plus(IPP)判定角蛋白 2e 在 IV 患者皮损组织及正常皮肤组织中阳性表达的强弱(通过 PU 值反映)。结果 角蛋白 2e 在 IV 皮损组织及正常皮肤组织中均有表达。在正常皮肤组织中, 角蛋白 2e 阳性染色弥散分布于表皮角质层、颗粒层、棘层及基底层细胞; 在 IV 皮损组织中, 角蛋白 2e 阳性染色分布于表皮角质层、颗粒层, 及少量棘层细胞, 基底层细胞未见染色。染色均为胞质染色。角蛋白 2e 在 IV 皮损及正常皮肤组织的阳性染色 PU 值分别为  $0.1537 \pm 0.0097$  和  $0.2168 \pm 0.0180$ ; 角蛋白 2e 在 IV 皮损阳性染色 PU 值明显低于正常皮肤( $t = -11.05, P < 0.0001$ )。结论 角蛋白 2e 在 IV 皮损组织中表达降低, 可能与 IV 发病有关。

**关键词:**寻常型鱼鳞病; 角蛋白 2e; 免疫组织化学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.15.008

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)15-1937-02

## Analysis on the expression pattern of Keratin 2e in ichthyosis vulgaris lesions\*

Li Guozhou, Li ChangXing<sup>△</sup>, Han Chunlei

(Dongguan Hospital of Chronic Disease, Dongguan, Guangzhou 523008, China)

**Abstract:** Objective To investigate the expression pattern of keratin 2e in ichthyosis vulgaris(IV) lesions. Methods S-P immunohistochemical method was adopted to detect the expression of keratin 2e in 10 IV lesion tissue samples and 14 samples of normal skin tissue, both of which were from different persons, and then image analysis were performed by software ImagePro plus(IPP), which indicated the expression intensity via PU values. Results Expression of keratin 2e was mainly localized within cytoplasm of stratum corneum, granular layer, prickle layer and basal layer in healthy skin. Expression of keratin 2e was mainly localized within cytoplasm of stratum corneum and granular layer in lesional skin of IV patients. The PU values of positive staining in lesional skin tissue of IV patients and healthy skin tissue were  $0.1537 \pm 0.0097$  and  $0.2168 \pm 0.0180$ , respectively. The PU value of keratin 2e markedly decreased in lesion skin tissue of IV patients compared with that of healthy skin( $t = -11.05, P < 0.0001$ ). Conclusion The expression of keratin 2e decreased in lesion skin tissue of IV patients, which may relate to the pathogenesis of IV.

**Key words:** ichthyosis vulgaris; keratin 2e; immunohistochemistry

寻常型鱼鳞病(IV)是皮肤科最常见的染色体显性遗传病,其发病率为 0.1%~0.4%<sup>[1]</sup>。遗传因素在 IV 的发病中起关键作用,中间丝聚合蛋白(filaggrin, FLG)基因突变是导致 IV 病的原因<sup>[1-3]</sup>。IV 患者中 FLG 的功能缺陷会影响正常角质包膜的形成,使皮肤的屏障功能受损,出现代偿性角化过度<sup>[4-5]</sup>。FLG 及角蛋白 2e 是角质包膜重要的组成蛋白,角蛋白 2e 在 IV 患者皮损的表达如何,是否影响与皮肤屏障功能,笔者未见相关研究报道。本研究旨在探讨角蛋白 2e 在 IV 皮损组织中的表达及其临床意义,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** IV 患者 10 例为门诊患者,其中男 6 例,女 4 例,年龄 16~36 岁;所选取的患者均经病理检查确诊,皮损组织标本取材均为非曝光部位,所有患者治疗前 1 个月内未接收免疫抑制剂或皮质类固醇制剂或中药制剂治疗。作为对照的正常皮肤组织为外科美容手术切除的非曝光部位正常皮肤,共 14 例,男 9 例,女 5 例,年龄为 16~45 岁。经医院伦理学委员会批准,所有患者均签署知情同意书。

**1.2 仪器与试剂** 显微镜采用奥林巴斯 CX31 生物显微镜;角蛋白 2e 购自 abcam 公司,货号:ab24722;S-P 免疫组化染色试剂盒购自 abcam 公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 标本的免疫组化染色** 采用 S-P 法对组织切片标本进行常规免疫组化染色,操作严格按照抗体及试剂盒说明书进行。

**1.3.2 结果判读** 光镜下观察角质形成细胞内角蛋白 2e 染色阳性细胞。阳性切片随机选取 5 个 200 倍视野摄片。

**1.3.3 半定量分析** 采用 ImagePro plus(IPP)分析软件对在光镜下判断为阳性染色的切片进行分析:(1)选取图片上具有染料色调的区域(AOD);(2)测试每个阳性细胞的灰度值  $G_o$ , 同时在相应的 5 个视野中测试背景灰度  $G_p$ , 并自动计算选择区域内的光密度平均值,即 PU 值。

**1.4 统计学处理** 采用 SAS8.01 统计软件进行统计分析,计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间均数比较,若总体方差齐,采用两独立样本  $t$  检验;若总体方差不齐,采用独立样本  $t'$  检验,检验水准为  $\alpha = 0.05, P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

角蛋白 2e 在正常皮肤组织中弥散分布于表皮角质层、颗粒层、棘层及基底层细胞,阳性染色主要位于细胞质,染色从角质层、向基底层细胞扩散延伸,染色强度有所减弱(图 1);在 IV 皮损组织中,角蛋白 2e 分布于表皮角质层及颗粒层,

\* 基金项目:东莞市医疗卫生单位科技计划项目资助(2012105102021,201210515005138)。 作者简介:李国周,男,主管检验技师,主要从事临床检验研究。 <sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: lilichangxing@163.com。

少量棘层细胞有染色,阳性染色主要位于胞质(图 2);角蛋白 2e 在正常皮肤组织及 IV 皮损组织的阳性染色 PU 值分别为  $0.216 8 \pm 0.018 0$  及  $0.153 7 \pm 0.009 7$ ;IV 皮损组织阳性染色 PU 值明显低于正常皮肤组织( $t = -11.05, P < 0.000 1$ )。

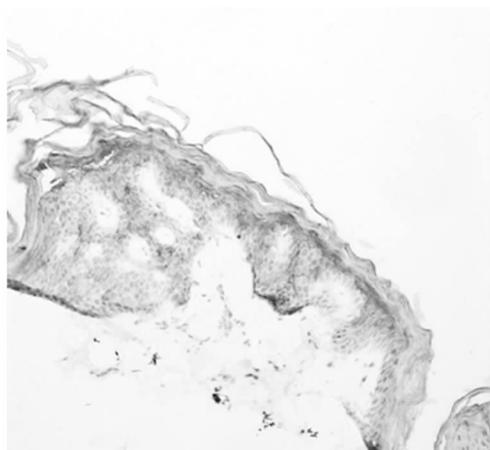


图 1 正常皮肤组织中角蛋白 2e 的免疫组化染色(DAB 法,×100)

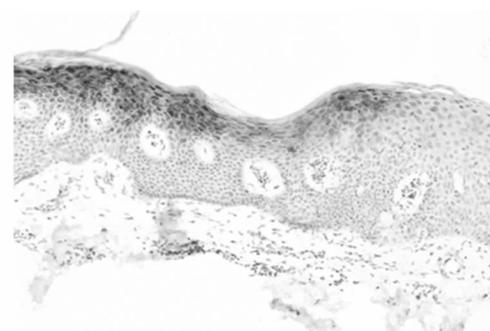


图 2 IV 皮损组织角蛋白 2e 的免疫组化染色(DAB 法,×100)

### 3 讨 论

皮肤的正常角化过程是从表皮基底层细胞开始逐步向表皮外层分化成棘层细胞、颗粒层细胞、角层细胞。基底层位于表皮的最深处,与真皮相连,表皮的生成正是从基底层细胞的有序增殖开始的,基底层细胞在增殖过程中不断地向表面移动。在向表面移动分化过程中,基底细胞逐渐丧失其增殖能力,从而完成了角质形成细胞从有生命细胞到无生命细胞即角质细胞的转变<sup>[6-8]</sup>。在皮肤角化过程中 2 个表皮特异性复合体家族起主要作用:第一个家族编码细胞角质化包膜的前体蛋白,组成编码人类表皮的结构蛋白,包括内皮蛋白,兜甲蛋白等<sup>[1,7-8]</sup>;第二个家族编码位于表皮颗粒层的中间丝相关蛋白,在表皮角化过程中与角质形成细胞的角蛋白丝相结合,包括角蛋白、中间丝聚蛋白,毛透明蛋白(trichohyalin)<sup>[9-10]</sup>。IV 患者临床存在皮肤屏障功能障碍,IV 病理显示角质层中度角化过

度,颗粒层变薄或消失。电镜示透明角质颗粒数量减少且结构异常。FLG 基因突变与 IV 及特应性皮炎发病有关,特应性皮炎患者皮肤亦存在皮肤屏障功能障碍,可能与其 FLG 蛋白表达下降有关<sup>[8]</sup>,提示表皮特异性复合体与皮肤屏障功能密切相关。角蛋白 2e 属于表皮特异性复合体的成员,角蛋白 2e 基因突变是板层状鱼鳞病的致病因素。角蛋白 2e 在 IV 患者皮损标本中的表达如何,是否与鱼鳞病有关,国内尚未见到相关报道。

本研究发现角蛋白 2e 在正常皮肤组织中弥漫分布于表皮角质层、颗粒层、棘层及基底层细胞,阳性染色主要位于细胞质内,胞核未见染色,染色从颗粒层向基底层细胞扩散延伸,染色强度有所减弱;在 IV 皮损组织中,角蛋白 2e 在 IV 皮损中分布于表皮角质层及颗粒层,棘层细胞少量染色,基底层细胞未见染色,阳性染色主要位于胞质内。角蛋白 2e 在 IV 皮损组织的染色强度均明显低于正常组织。IV 患者皮肤屏障功能障碍,临床表现为皮肤干燥、剧烈瘙痒、易合并哮喘、过敏性鼻炎、特应性皮炎、毛周角化等症状。本研究结果提示表皮角蛋白 2e 表达减少与 IV 患者的皮肤屏障功能受损有关。

### 参考文献

- [1] Wells RS, Kerr CB. Genetic classification of ichthyosis[J]. Arch Dermatol, 1965, 92(1): 1-6.
- [2] Digiiovanna JJ, Robinson-Bostom L. Ichthyosis: etiology, diagnosis, and management[J]. Am J Clin Dermatol, 2003, 4(2): 81-95.
- [3] 李常兴,李雪梅,张锡宝,等.汉族寻常型鱼鳞病丝聚蛋白基因突变的研究[J].中国麻风皮肤病杂志, 2011, 27(2): 90-92.
- [4] 韩春雷,孙澍彬,李常兴,等.寻常型鱼鳞病一家系 Filaggrin 基因突变检测[J].中国皮肤性病学杂志, 2011, 25(9): 681-683.
- [5] Li CX, Luo Q, Li XM, et al. Filaggrin mutations are associated with ichthyosis vulgaris in the Southern Chinese population[J]. Health(Irvine Calif), 2010, 2(12): 1345-1348.
- [6] Presland RB, Boggess D, Lewis SP, et al. Loss of normal profilaggrin and filaggrin in flaky tail(ft/ft) mice: an animal model for the filaggrin-deficient skin disease ichthyosis vulgaris[J]. J Invest Dermatol, 2000, 115(6): 1072-1081.
- [7] 刘玮.皮肤屏障功能解析[J].中国皮肤性病学杂志, 2008, 22(12): 758-761.
- [8] 李常兴,李雪梅,张锡宝,等.中间丝聚蛋白在特应性皮炎患者皮损中的表达[J].皮肤性病诊疗学杂志, 2012, 19(5): 279-281.
- [9] 李常兴,李雪梅,张锡宝,等.南方汉族人特应性皮炎中间丝聚蛋白基因多态性检测与分析[J].中华医学遗传学杂志, 2011, 28(5): 572-574.
- [10] Smith FJ, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, et al. Loss-of-function mutations in the gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris[J]. Nat Genet, 2006, 38(3): 337-342.

(收稿日期:2013-04-13)

(上接第 1936 页)

- 改变中的诊断价值[J].实用预防医学, 2012, 19(4): 601-603.
- [8] 陆小梅,黎四平,邹建铭.联合检测尿微量清蛋白、转铁蛋白和 α<sub>2</sub>-微球蛋白在窒息新生儿早期肾损伤的应用价值[J].中国实验诊断学, 2012, 16(3): 436-443.
- [9] 刘敏.血清清蛋白、尿微量清蛋白在妊高征患者中表达和临床诊断意义[J].中国实验诊断学, 2012, 16(1): 93-94.
- [10] 陈华丽,杨文东,韩景银.尿 mAlb 与 NAG 联合检测对原发性高

- 血压早期肾损伤的诊断价值[J].实用医技杂志, 2006, 13(13): 2233-2234.
- [11] 李顺君,黄文方,饶绍琴,等.探讨制备尿液微量蛋白质控液[J].现代检验医学杂志, 2003, 18(2): 46-47.
- [12] 彭小丽,冯春颜,吴文权.全自动尿沉渣分析仪质控物的研制及其应用[J].现代医院, 2007, 7(2): 53-54.

(收稿日期:2013-04-08)