

# 瘢痕性喉狭窄瘢痕组织中弹性纤维和胶原纤维分析

吴旋<sup>1</sup>, 苏振忠<sup>1</sup>, 蒋爱云<sup>1</sup>, 赖英荣<sup>2</sup>, 柴丽萍<sup>1</sup>

(中山大学 1. 附属第一医院耳鼻喉科医院, 2. 基础医学院病理教研室, 广东 广州 510080)

**摘要:**【目的】了解喉狭窄瘢痕组织中弹性纤维, I型/Ⅲ型胶原纤维的含量和形态特征。【方法】喉部分切除术后瘢痕性喉狭窄13例患者的喉瘢痕组织为实验组及15例正常声带组织为对照组, 分别进行苏木精-伊红染色, 胶原纤维、弹性纤维复合染色, 及I、Ⅲ型胶原苦味酸-天狼猩红染色, 全自动图像分析系统下观察和计算。【结果】喉狭窄瘢痕组织中, 细胞外基质排列紊乱, 胶原纤维增多, 弹性纤维含量( $0.178 \pm 0.066$ )较正常声带中弹性纤维含量( $0.374 \pm 0.055$ )明显减少( $P < 0.001$ ); 喉狭窄瘢痕组织I型胶原的含量( $0.382 \pm 0.199$ )较正常声带中I型胶原含量( $0.147 \pm 0.073$ )增加明显( $P < 0.05$ ); 喉狭窄瘢痕组织I型/Ⅲ型比值( $3.98 \pm 0.88$ )较正常声带组织( $1.01 \pm 0.37$ )大( $P < 0.001$ )。【结论】弹性纤维及I、Ⅲ型胶原纤维形态特征和含量改变可能是导致喉部分切除术后瘢痕性喉狭窄的病理基础。

**关键词:** 瘢痕/病理学; 喉狭窄; 弹性纤维; 胶原纤维

中图分类号: R767

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2005)03-0312-04

## Analysis on Elastic Fibers and Collagen Fibers in Laryngeal Stricture Scar After Partial Laryngectomy

WU Xuan<sup>1</sup>, SU Zhen-zhong<sup>1</sup>, JIANG Ai-yun<sup>1</sup>, LAI Ying-rong<sup>2</sup>, CHAI Li-ping<sup>1</sup>

(1. Department of Otolaryngology, The First Affiliated Hospital, 2. Department of Pathology of Basic Medical School, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

**Abstract:** 【Objective】 To explore the significance of the change of elastic fibers, types I and III collagen fibers contents in the laryngeal stricture scar. 【Methods】 The laryngeal tissues were 13 human surgical specimens of laryngeal structure scar after partial laryngectomy and 15 human normal vocal folds. Collagen fibers and elastic fibers were observed by Van Gieson and Verhoeff compound staining respectively in laryngeal tissue sections. Types I and collagen III in laryngeal tissues were assessed by sirius red staining. 【Results】 In laryngeal stricture scar tissues, collagen fibers increased and elastic fibers obviously reduced in extracellular matrix. The density of elastic fibers in laryngeal stricture scar was  $0.178 \pm 0.066$  and that in the normal vocal fold was  $0.374 \pm 0.055$ , there was significantly difference ( $P < 0.001$ ); the density of type I collagen in laryngeal stricture scar was  $0.382 \pm 0.199$  and that in the normal vocal fold was  $0.147 \pm 0.073$ , there was significantly difference ( $P < 0.05$ ); the proportionality of type I and III collagen ( $3.98 \pm 0.88$ ) was significantly higher than that ( $1.01 \pm 0.37$ ) in the normal vocal fold ( $P < 0.001$ ). 【Conclusion】 The change of the morphological features and contents in the elastic fibers, types I and III collagen fibers in the laryngeal structure scar, which may be the pathological foundation of laryngeal stricture after partial laryngectomy.

**Key words:** scar/pathology; laryngeal stricture; elastic fibers; collagen fibers

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2005, 26(3):312-315]

手术创伤引起喉内瘢痕过度增生, 导致喉狭窄是喉外科手术常见的并发症, 虽然发病率不高, 但临床处理较困难。多数学者认为原因与喉支架

大块缺损、喉腔组织大范围损伤而又修复不良有关。喉部分切除术后瘢痕性喉狭窄的病理方面研究较少<sup>[1,2]</sup>。本研究通过对喉狭窄组织病理学的初

收稿日期: 2004-10-25

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(31739)

作者简介: 吴旋(1974-), 男, 广东阳江人, 博士生, 主治医师; 苏振忠, 教授, 导师, 通讯作者。E-mail: szzhz@163.com

步研究,了解其中胶原纤维、弹性纤维, I 型及 III 型胶原纤维形态特征及含量, 并从病理学角度探索喉部分切除术后瘢痕性喉狭窄的发病机理。

## 1 材料与方 法

### 1.1 临床资料

1.1.1 病例选择 1994 年 1 月至 2004 年 3 月在我院行喉癌部分切除术后并发瘢痕性喉狭窄患者 13 例,其中男性 11 例,女性 2 例;年龄 50~70 岁,平均 62 岁。13 例喉癌患者中 TNM 分期为  $T_{1b}N_0M_0$  1 例,  $T_2N_0M_0$  8 例,  $T_2N_1M_0$  2 例,  $T_3N_0M_0$  2 例,术式包括垂直喉部分切除术 8 例,喉大部分切除术 5 例。本组病例全部为鳞状细胞癌,其中高分化 8 例,中分化 3 例,低分化 2 例;本组病例术后均未接受放疗。瘢痕性喉狭窄发生情况:10 例患者喉癌术后拔管,半年后出现不同程度呼吸困难症状,需重新行气管切开;3 例喉癌术后不能拔管。喉狭窄主要处理方法:喉狭窄发生 8 月~1 年后(平均 10 月),通过行支撑喉镜或喉裂开术切除喉瘢痕组织。喉狭窄处理后拔管率 84.6%(11/13)。

1.1.2 对照组 正常声带组织来源:取 15 例下咽癌侵犯喉部,需行喉切除患者的未受累声带组织(经病理检查证实)。其中 TNM 分期  $T_3N_0M_0$  9 例,  $T_3N_1M_0$  6 例。本组病例全部为鳞状细胞癌,其中高分化 5 例,中分化 6 例,低分化 4 例。男性 11 例,女性 4 例;年龄 52~68 岁,平均年龄 60 岁。

### 1.2 病理学检查方法

标本均经甲醛固定,常规石蜡包埋。苏木精-伊红染色,光学显微镜下观察组织学结构。参照文献[3]方法,蜡块切片脱蜡至水,经苦味酸+阿尔辛蓝复合染色,光学显微镜下观察胶原纤维、弹性纤维。参照文献[4]方法,蜡块切片脱蜡至水,苦味酸-天狼猩红染色,偏振光显微镜下观察 I、III 型胶原纤维。

### 1.3 图像分析及统计学处理

采用德国 KONTRON IBAS 2.5 全自动图像分析系统,观察、检测以上 3 种染色切片,在 200 倍放大下随机选取 5 个测定域,分别按统一标准测定胶原纤维、弹性纤维、I、III 型胶原纤维染色各自的面密度(目标面积/统计场面积),计量数据用均数±标准差表示,采用 *t* 检验,SPSS 10.0 统计软件进行统计学处理。

## 2 结 果

### 2.1 组织学结构观察

正常声带组织由上皮层、固有层、肌肉、血管等构成。固有层含有疏松结缔组织,纤维组织,另有少量淋巴细胞、成纤维细胞等。喉狭窄组织上皮层断裂甚至消失,代之是大量纤维结缔组织,纤维组织中有较多细胞成分浸润如小淋巴细胞等。

### 2.2 胶原纤维、弹性纤维观察

正常声带组织中,染色呈紫黑色的弹性纤维位于声带固有层,排列规则,整齐,细长。染色呈浅红色的胶原纤维位于弹性纤维深层,与弹性纤维交错,呈波浪状排列,分布规则(图 1A)。喉瘢痕组织中,紫黑色的弹性纤维明显减少,断裂崩解,呈裂片状,卷曲散在分布于胶原纤维中。胶原纤维增厚增多,排列紊乱,呈团状、旋涡状,染色深红(图 1B)。图像分析,正常声带组织与喉狭窄瘢痕胶原、

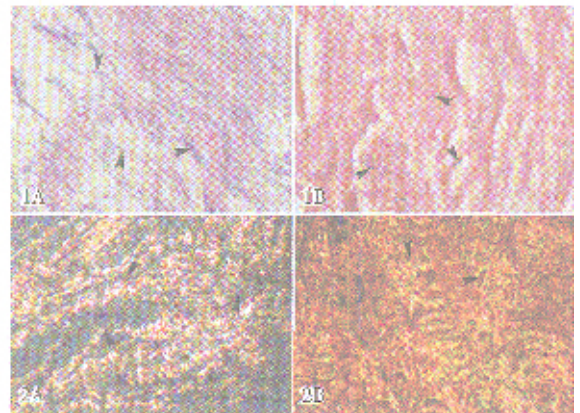


图 1 声带和喉瘢痕组织胶原纤维、弹性纤维复合染色

图 2 偏振光显微镜显示声带和喉瘢痕组织 I、III 型胶原

Fig.1 The collagen fibers and elastic fibers in normal vocal fold and Laryngeal stricture scar

(Compound staining)

Fig.2 Types I and III collagen fibers in normal vocal cord and laryngeal stricture scar with polarization microscopy (Sirius red staining  $\times 200$ )

A: normal vocal fold; B: Laryngeal stricture scar

表 1 喉瘢痕组织中胶原纤维、弹性纤维含量

Table 1 The content of collagen fibers and elastic fibers in

		laryngeal stricture scar (area density) ( $\bar{x} \pm s$ )	
Group	<i>n</i>	Collagen fibers	Elastic fibers
Control	15	0.296±0.035	0.374±0.055
Laryngeal scar	13	0.372±0.104 <sup>1)</sup>	0.178±0.066 <sup>2)</sup>

Compared with control group 1)  $t=1.537, P>0.05$ ; 2)  $t=5.503,$

$P<0.001$

弹性纤维含量见表 1。正常声带组织和喉狭窄瘢痕组织中,弹性纤维含量差异有显著意义。

### 2.3 I、III型胶原纤维观察

偏振光显微镜观察,波纹状长纤维,呈红色,具有很强的双折光性,为 I 型胶原纤维,在 I 型胶原纤维束的周围区域,散在的、显示弱的双折光黄绿色细纤维,呈疏网状分布,为 III 型胶原纤维。正常声带的 I、III 型胶原纤维位于固有层,两种纤维相互交织一起(图 2A)。喉狭窄瘢痕组织的 I 型胶原分布较密集,III 型胶原分布较稀疏,两者相互重叠,不能完全分开(图 2B)。图像分析,正常声带组织与喉狭窄瘢痕组织 I、III 型胶原纤维含量见表 2。正常声带组织和喉狭窄瘢痕组织中, I 型胶原含量差异有显著意义。正常声带组织 I 型/III 型胶原比值与喉狭窄瘢痕组织比较, 差异亦有显著意义。

表 2 喉瘢痕组织中 I、III 型胶原含量分析

Table 2 The content of types I and III collagen fibers in laryngeal stricture scar(area density) ( $\bar{x}\pm s$ )

Group	n	I collagen fibers	III collagen fibers	I/III rate
Control	15	0.147±0.073	0.114±0.008	1.01±0.37
Laryngeal scar	13	0.382±0.199 <sup>1)</sup>	0.102±0.058 <sup>2)</sup>	3.98±0.88 <sup>3)</sup>

Compared with control group 1)  $t=2.493, P<0.05$ ; 2)  $t=1.467, P>0.05$ ; 3)  $t=8.41, P<0.001$

## 3 讨 论

### 3.1 组织细胞成分变化可引起喉瘢痕组织的增生

正常声带组织仅含有少量淋巴细胞、成纤维细胞。本研究结果显示,喉部分切除术后 8 月~1 年,喉狭窄瘢痕组织中仍可见多量细胞成分,主要为炎症细胞和成纤维细胞。研究<sup>[4]</sup>表明,正常的皮肤、皮肤瘢痕中细胞成分较少,而在皮肤异常瘢痕中存在大量成纤维细胞,这些细胞能产生大量的细胞外基质,形成增生瘢痕或瘢痕疙瘩,这与本研究的喉狭窄瘢痕组织是一致的。我们认为炎症可以促使成纤维细胞增殖活跃,分泌过量细胞外基质。因此,喉狭窄瘢痕中炎症细胞较长时间存在对瘢痕组织的增生所起的作用值得引起重视。

### 3.2 胶原纤维和弹性纤维形态、含量改变导致喉瘢痕挛缩

弹力纤维是声带主要功能成分,对固有层的生物机械性能起着举足轻重的作用,对声带的生

理功能非常重要<sup>[5]</sup>。经复合染色,我们发现,胶原纤维、弹力纤维呈束状整齐排列,分布规则,声带组织弹性纤维含量较胶原纤维多。而喉狭窄瘢痕组织中,胶原纤维含量增多,相互融合,变得粗大,并发生玻璃样变性,排列紊乱,呈团状,染色深红,仅有少量弹性纤维,排列不规则,卷曲散在分布于胶原纤维中。因此,我们认为上述细胞外基质成分形态、含量改变可能是导致喉腔瘢痕挛缩的病理基础。

### 3.3 I、III型胶原纤维含量改变导致喉瘢痕组织僵硬

研究<sup>[6]</sup>表明,不同的胶原分子类型及比例组成的胶原纤维具有不同的物理性质, I 型与 III 型胶原纤维的比例在机体发育过程中也有很大的改变,且在生理或病理状态下也有不同的比例, III 型胶原纤维表达主要在伤口愈合的早期,是具有可曲性与柔韧性的一类胶原,相反, I 型胶原纤维主要表达在伤口愈合的晚期,对伤口的抗张力以及收缩有重要的作用。I 型胶原纤维有很强的张力, I 型胶原纤维含量决定组织的僵硬程度。III 型胶原纤维比 I 型胶原纤维更富有伸展性, I 型/III 型胶原比值变化,可导致组织顺应性改变, I 型/III 型胶原比值升高,将使组织僵硬并失去弹性<sup>[7,8]</sup>。因此, I、III 型胶原之间保持适当数量和比例对维持组织正常结构和功能具有重要意义。本研究结果显示,喉狭窄瘢痕组织中,决定组织僵硬度的 I 型胶原纤维含量升高明显,决定组织顺应性的 I 型/III 型胶原纤维比值明显高于正常声带组织,因此,我们认为, I、III 型胶原数量和比例变化导致喉瘢痕组织顺应性改变,喉瘢痕质地僵硬而丧失弹性。有效减少 I 型胶原纤维在喉瘢痕组织中的含量和降低 I 型/III 型胶原的比值,将是治疗或预防创伤后喉狭窄的重要研究内容。

(感谢中山大学外语教研室王亚娜副教授在英文审阅方面的帮助)

### 参考文献:

- [1] Doolin EJ, Tsuno K, Strande LF, *et al.* Pharmacologic inhibition of collagen in an experimental model of subglottic stenosis [J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1998, 107 (4):275-9.
- [2] 蒋爱云,苏振忠,赖英荣,等. 声带创伤性瘢痕的临床和病理研究 [J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2004, 25 (3): 284-6.

[3] 于洪藻,李成库,主编. 病理标本制作技术[M]. 沈阳:白求恩医科大学出版社, 1980.113-36.

[4] Hunt TK. Basic principles of wound healing [J]. J Trauma, 1990 , 30 (12 Suppl): S122-8.

[5] Hammond TH, Gray SD, Butler J, *et al.* Age- and gender-related elastin distribution changes in human vocal folds [J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 1998, 119 (4):314-22.

[6] Hurme T, Kalimo H, Sandberg M, *et al.* Localization of type I and III collagen and fibronectin production in

injured gastrocnemius muscle [J]. Lab Invest, 1991, 64 (1):76-84.

[7] Burlew BS, Weber KT. Connective tissue and the heart. Functional significance and regulatory mechanisms [J]. Cardiol Clin, 2000 ,18 (3):435-42.

[8] Kaplan EP, Richier JC, Howard PS, *et al.* Type III collagen messenger RNA is modulated in non-compliant human bladder tissue [J]. J Urol, 1997, 157 (6):2366-9.

(编辑 刘清海)



(上接第 277 页 from page 277)

NIDDM[J]. Diabetologia, 1997, 40(12): 1449-54.

[10] Baricos WH, Cortez SL, Deboisblanc M, *et al.* Transforming growth factor-beta is a potent inhibitor of extracellular matrix degradation by cultured human mesangial cells[J]. J Am Soc Nephrol, 1999, 10(4): 790-5.

[11] Kagami S, Kuhara T, Okada K, *et al.* Dual effects of angiotensin II on the plasminogen/plasmin system in rat mesangial cells[J]. Kidney Int, 1997, 51(3): 664-71.

[12] Romanic AM, Burns-Kurtis CL, Ao Z, *et al.* Upregulated expression of human membrane type-5 matrix

metalloproteinase in kidneys from diabetic patients [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2001, 281(2): F309-17.

[13] Ueno H, Nakamura H, Inoue M, *et al.* Expression and tissue localization of membrane-types 1, 2, and 3 matrix metalloproteinases in human invasive breast carcinomas [J]. Cancer Res, 1997, 57(10):2055-60.

[14] 丁鹤林, 邓庆丽, 徐明彤, 等. 抑制核因子-κB 活性降低糖尿病大鼠肾组织血管紧张素 II 及其 1 型受体水平[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2004, 20(1): 71-4.

(编辑 张恩健)



(上接第 299 页 from page 299)

matrix collagen synthesis and degradation following coronary balloon angioplasty [J]. J Mol Cell Cardiol, 1996, 28(4): 699-706.

[2] Kitamoto S, Egashira K, Takeshita A. Stress and vascular responses: anti-inflammatory therapeutic strategy against atherosclerosis and restenosis after coronary intervention[J]. J Pharmacol Sci, 2003, 91(3): 192-6.

[3] Jacob MP, Badier-Commander C, Fontaine V, *et al.* Extracellular matrix remodeling in the vascular wall[J]. Pathol Biol (Paris), 2001, 49(4):326-32.

[4] Nili N, Zhang M, Strauss BH, *et al.* Biochemical analysis of collagen and elastin synthesis in the balloon injured rat carotid artery[J]. Cardiovasc Pathol, 2002,

11(5):272 - 6.

[5] 张秀云,徐 辉,任丽群. 大鼠主动脉平滑肌细胞体外培养及其临床意义[J]. 吉林医学,2003, 24(1): 34-5.

[6] Halloran BG, Grange JJ, So BJ, *et al.* Macrophage products inhibit human aortic smooth muscle cell proliferation and alter 1 alpha ( I ) procollagen expression[J]. Ann Vasc Surg, 1997, 11(1): 80-4.

[7] Moretao MP, Zampronio AR, Gorin PA, *et al.* Induction of secretory and tumoricidal activities in peritoneal macrophages activated by an acidic heteropolysaccharide (ARAGAL) from the gum of *Anadenanthera colubrina* (*Angico branco*) [J]. Immunology Letters, 2004,93(2-3):189-97.

(编辑 张恩健)