

# 阿糖胞苷引起毛囊损伤离体模型的建立以及他克莫司对其的逆转作用

吴贤杰, 郑敏, 吕中法 (浙江大学医学院附属第二医院皮肤科, 浙江 杭州 310009)

**摘要:**目的 建立阿糖胞苷 (Ara-c) 诱导毛囊损伤的离体器官培养模型, 并观察他克莫司 (FK506) 对 Ara-c 诱导的小鼠触须毛囊损伤的逆转作用。方法 用离体器官培养的方法在倒置显微镜底下每日测量空白组、FK506 + Ara-c 和单纯 Ara-c 作用下毛囊生长长度、记录生长天数, 以及液相闪烁仪测量同位素  $^3\text{H}$ -TdR 的掺入率。结果 Ara-c 10 mg/L 和 25 mg/L 的浓度, 作用 2.5 h 能明显抑制毛囊生长和 DNA 合成, 缩短毛囊在体外的生长时间, 抑制毛囊球部细胞增殖。0.01 ~ 0.3 mg/L 的 FK506 能改善 10 mg/L Ara-c 引起的毛囊生长和 DNA 合成的抑制, 体外生长时间缩短以及毛囊球部细胞增殖抑制。0.1 mg/L 的 FK506 对 25 mg/L Ara-c 引起的毛囊损伤也有相似的改善作用。结论 Ara-c 诱导毛囊损伤的离体模型可以用于研究化疗脱发的机制和某些因子及药物对它的干预作用, FK506 在体外对 Ara-c 诱导的毛囊损伤有修复作用, 是治疗化疗后脱发的潜在药物。

**关键词:** 他克莫司; 阿糖胞苷; 毛囊; 器官培养

中图分类号: R979.5; R965 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2005)02-0109-05

## An *in vitro* model of hair follicle damage induced by Ara-c and reversal effect of FK506

WU Xian-jie, ZHENG Min, LU Zhong-fa (Department of Dermatology, The Second Affiliated Hospital of Zhejiang University, School of Medicine, Hangzhou 310008, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish an *in vitro* model of hair follicle damage induced by anti-cancer drugs and to evaluate the reversal effect of FK506. **METHOD** An *in vitro* organ culture of mouse vibrissa follicles was used to investigate the effect of Ara-c on hair follicle total growth length, growth speed, hair growth period keeping and  $^3\text{H}$ -TdR incorporation. After Ara-c treatment, FK506 was added to culture to observe the properties of hair follicle. **RESULTS** Ara-c (10 mg/L and 25 mg/L) inhibited the hair follicle total growth length, growth speed, hair growth period keeping and  $^3\text{H}$ -TdR incorporation as well as the proliferation of hair follicle bulb cells *in vitro*. FK506 improved these properties of hair follicle which were inhibited by Ara-c *in vitro*. **CONCLUSION** The model established in this study is useful for evaluating the effects of anti-cancer drugs on hair follicle, and FK506 is effective on remodeling processes of hair follicle after damaged by Ara-c.

**KEY WORDS:** FK506; Ara-c; hair follicle; organ culture

游离毛囊器官培养模型可用于细胞因子和药物对毛囊生长影响研究, 试验方便且重复性好<sup>[1]</sup>, 因此我们用该模型研究了阿糖胞苷 (Ara-c) 对毛囊的生物学特性影响。近年发现免疫抑制剂他克莫司 (FK506) 对环磷酰胺诱导的背部小鼠毛囊损伤有保护作用<sup>[2]</sup>, 但是否能直接修复化疗药物引起的游离培养的毛囊损伤尚未见报道。我们用游离毛囊器官

培养模型研究了 FK506 对化疗药物引起的毛囊损伤的直接修复作用作了研究。

### 1 材料和方法

#### 1.1 动物来源

C57BL/6J 近交系鼠由浙江大学实验动物中心提供。(动物合格证: 22-000014)

基金项目: 浙江省科技计划项目 (编号: 2003C23012)

## 1.2 试剂

WilliamsE无血清培养基、亚硒酸钠、转铁蛋白、MTT和胶原酶均购自Sigma公司,分离酶购自Gibco公司,牛胰岛素由徐州万邦生化制药公司生产,HEPES购自上海吉泰公司,FK506注射剂由香港藤泽公司惠赠,Ara-c由东北制药总厂生产,<sup>3</sup>H-TdR购自中国科学院北京原子能研究所。毛囊培养基由WilliamsE无血清培养基由牛胰岛素10mg/L,氯化考的松10μg/L,Hepes10mmol/L,亚硒酸钠10μg/L,转铁蛋白10mg/L,青霉素100u/mL,链霉素100μg/mL等构成。

## 1.3 小鼠触须毛囊的分离

7只近交系C57BL/6J小鼠,出生4~6周,4只雄鼠,3只雌鼠。断颈处死,剪去双侧胡须,75%乙醇消毒上唇部3遍,无菌条件下剪取双侧胡须垫,置于毛囊培养基中,于超净工作台中反复用培养基冲洗3遍,在立体解剖显微镜下用显微剪、镊小心分离胡须垫的真皮与皮下组织,然后在皮下组织中小心地剪取生长期毛囊,选取完整无损伤的生长早期的毛囊,培养基反复冲洗3遍。每遍冲洗均需更换一次器械。

## 1.4 小鼠触须毛囊的体外培养

培养在96孔板中进行,每孔仅放1个毛囊。每孔含毛囊培养基0.2mL。然后在37℃,5%二氧化碳浓度的孵育箱内培养。

## 1.5 Ara-c对毛囊生长的抑制作用及FK506对损伤的逆转作用

实验分空白对照组、Ara-c(10mg/L)组、Ara-c(25mg/L)组和Ara-c(10mg/L)+FK506(0.003,0.01,0.1,0.3mg/L)组及Ara-c(25mg/L)+FK506(0.1mg/L)组。各组实验的毛囊数为16个。各组用毛囊培养基预先孵育12h,然后在Ara-c+FK506组和Ara-c组毛囊培养基中加入Ara-c使其终浓度为10mg/L或25mg/L,继续培养2.5h后各组毛囊均弃去培养基,用PBS冲洗3遍,各组再分别换入与预先孵育时相同的培养基,同时在Ara-c+FK506组加入FK506使其终浓度符合以上分组要求,并以此时作为实验记数的零时。零时及此后每隔24h,在倒置显微镜下观察毛囊生长情况,并通过目镜的测微器测量各组毛囊顶端到毛干末端的长度,共观测10d。每日测得的毛囊长度减去前1d测的长度即为毛囊每日生长净长度,第10天毛囊长度减去零时毛囊长度即为毛囊总生长长度,毛囊停止延长前的天数记录为毛囊体外生长维持时间。

## 1.6 Ara-c对体外培养的毛囊<sup>3</sup>H-TdR掺入率的抑制作用及FK506对抑制的逆转

实验分组及方法同“1.5”,每组10个毛囊,在实验零时各组均加入<sup>3</sup>H-TdR,使在培养基中的终浓度为2uCi/mL。继续培养12h后,取出毛囊,用PBS冲洗3遍。10%氯乙酸固定(4℃,10min×2),然后在70℃水浴锅中用2%乙酸200μL溶解毛囊,用自动收集器收集标本至玻璃纤维纸上,使每张纸上含有2个毛囊的标本,每个闪烁瓶中放入1张玻璃纤维纸,加二氧六烷闪烁液6mL,至液相闪烁仪上测掺入率。

## 1.7 MTT法测定Ara-c对乳鼠毛囊球部细胞增殖率的抑制作用及FK506对抑制的逆转

毛囊球部细胞分离主要参考文献<sup>[3]</sup>,方法简单介绍如下。无菌取刚出生4d的C57BL/6J近交系乳鼠背部皮肤,切成宽约1mm的长条状,用500U/mL的分离酶4℃处理12h,弃去表皮,把含有毛囊的真皮组织用PBS冲洗后,放入0.25%的胶原酶溶液,37℃孵育2h。而后用吸管反复吹打至组织块崩解成混悬液。200~300r/min在4℃下离心5min,弃去上清液(主要含有成纤维细胞),沉淀物(含有毛囊球部组织)置于平皿,反复用镊子在PBS淘洗以去掉毛干,再经200~300r/min离心5min,PBS重悬浮,反复3次,可以清洗掉单个细胞,获得纯度较高成团的毛囊球部细胞,直接接种于培养瓶中,用含有10%新生牛血清的DMEM培养液在37℃5%二氧化碳浓度的孵育箱内培养。第二代细胞用于实验研究。

实验在96孔板中进行,分组同“1.5”,每组设6个复孔,每孔接种细胞浓度为 $5 \times 10^4$ /mL,每孔接种100μL,培养条件同“1.5”,培养24h后根据分组要求加药方法同“1.5”,实验零时以后培养72h,在培养终止前4h每孔加入5mg/mL的MTT,继续孵育4h后弃去培养液,每孔加入DMSO100μL,振荡15~30min,至结晶完全溶解,在酶标仪上测570nm处的吸光度A值。

## 1.8 统计学处理

单因素方差检验及相关分析由SPSS11.0处理,设P<0.05为显著意义。

## 2 结果

### 2.1 Ara-c对毛囊生长的抑制作用

与空白对照组相比,10mg/L与25mg/L的Ara-c明显缩短毛囊在体外的生长时间(P<0.001)和总生长长度(P<0.001),抑制<sup>3</sup>H-TdR的掺入率(P<0.001)(图1,2,3,4)。10mg/L与25mg/L的Ara-c也明显抑制毛囊球部细胞的增殖(P<0.001,图5)。

比较4d内毛囊的生长速度(图4,6,表1),发现Ara-c明显抑制前3d毛囊的每日净生长长度(P<0.05),第4天的每日净生长长度与空白对照组比较无显著性差异(P>0.05),第5天起因Ara-c组的毛囊绝大部分已停止生长,故与对照组又出现差异。我们定义:毛囊生长抑制率=(对照组平均每日净生长长度-Ara-c组平均每日净生长长度)/对照组平均每日净生长长度。(图7)研究前4d的抑制率,我们发现Ara-c主要抑制毛囊前3d的生长,抑制率第一天最明显,随后逐渐减轻,到第4天抑制已无显著性,而后由于Ara-c组毛囊大部分开始停止生长,抑制率又逐渐上升。对前4d毛囊生长抑制率与生长时间作相关分析,发现毛囊生长抑制率与生长时间成负相关(10mg/L的Ara-c组:R=-0.996,P<0.005;10mg/L的Ara-c组:R=-0.984,P<0.05)。

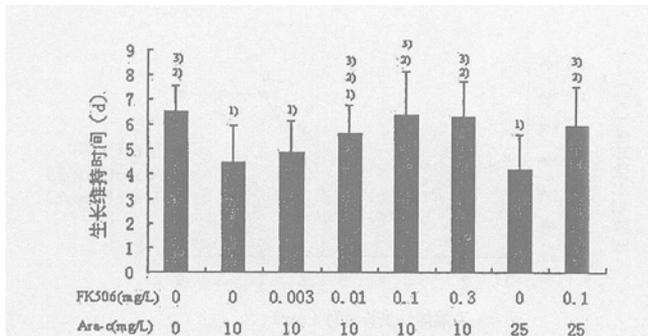


图 1 Ara-c对体外器官培养的小鼠触须毛囊生长维持时间的抑制及 FK506对其逆转作用

Fig 1 FK506 reserved mouse vibrissa follicle growth period keeping inhibited by Ara-c *in vitro*

注:  $n=16$ ,  $F=6.819$ ,  $P<0.001$ 。<sup>1)</sup>  $P<0.05$ 与空白对照相比; <sup>2)</sup>  $P<0.05$ 与 Ara-c(10mg/L)组相比; <sup>3)</sup>  $P<0.05$ 与 Ara-c(25mg/L)组相比。

Note:  $n=16$ ,  $F=6.819$ ,  $P<0.001$ ; <sup>1)</sup>  $P<0.05$  vs control; <sup>2)</sup>  $P<0.05$  vs Ara-c(10mg/L) group; <sup>3)</sup>  $P<0.05$  vs Ara-c(25mg/L) group.

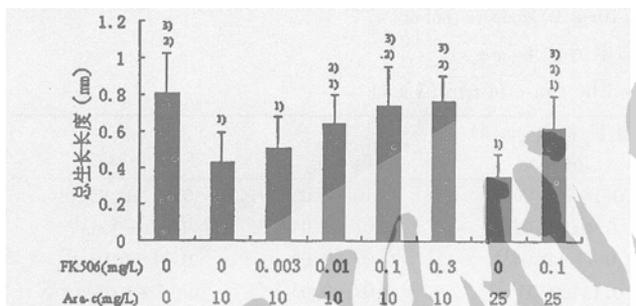


图 2 Ara-c对体外器官培养的小鼠触须毛囊总生长长度的抑制及 FK506对其逆转作用

Fig 2 FK506 reserved mouse vibrissa follicle total growth length inhibited by Ara-c *in vitro*

注:  $n=16$ ,  $F=14.840$ ,  $P<0.001$ 。<sup>1)</sup>  $P<0.05$ 与空白对照相比; <sup>2)</sup>  $P<0.05$ 与 Ara-c(10mg/L)组相比; <sup>3)</sup>  $P<0.05$ 与 Ara-c(25mg/L)组相比。

Note:  $n=16$ ,  $F=14.840$ ,  $P<0.001$ ; <sup>1)</sup>  $P<0.05$  vs control; <sup>2)</sup>  $P<0.05$  vs Ara-c(10mg/L) group; <sup>3)</sup>  $P<0.05$  vs Ara-c(25mg/L) group.

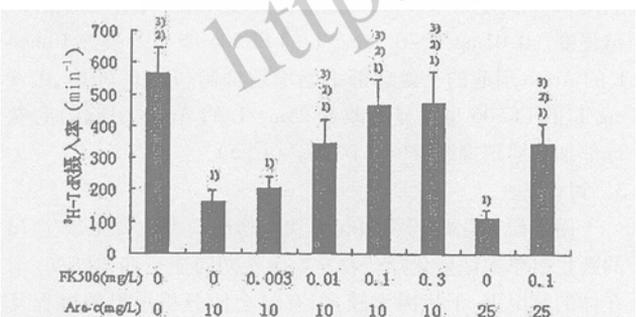


图 3 Ara-c对体外器官培养的小鼠触须毛囊<sup>3</sup>H-TdR摄入的抑制及 FK506对其逆转作用

Fig 3 FK506 reserved <sup>3</sup>H-TdR incorporation in mouse vibrissa follicle inhibited by Ara-c *in vitro*

注:  $n=16$ ,  $F=76.042$ ,  $P<0.001$ 。<sup>1)</sup>  $P<0.05$ 与空白对照相比; <sup>2)</sup>  $P<0.05$ 与 Ara-c(10mg/L)组相比; <sup>3)</sup>  $P<0.05$ 与 Ara-c(25mg/L)组相比。

比

Note:  $n=16$ ,  $F=76.042$ ,  $P<0.001$ ; <sup>1)</sup>  $P<0.05$  vs control; <sup>2)</sup>  $P<0.05$  vs Ara-c(10mg/L) group; <sup>3)</sup>  $P<0.05$  vs Ara-c(25mg/L) group

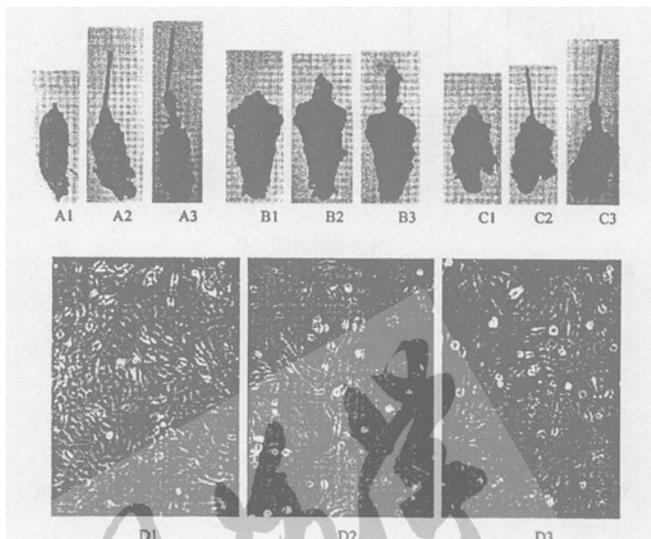


图 4 FK506逆转 Ara-c对离体毛囊及毛囊球部细胞损伤的形态学观察

Fig 4 Morphologic observation of FK506 reserved mouse vibrissa follicle and hair follicle bulb cells growth inhibited by Ara-c *in vitro*. A1 ~ A3为空白对照组毛囊生长情况; B1 ~ B3为 Ara-c(10mg/L)组毛囊生长情况; C1 ~ C3为 Ara-c(10mg/L) + FK506(0.1mg/L)组毛囊生长情况。A1, B1, C1为0d, A2, B2, C2为第3天, A3, B3, C3为第8天。D1为空白对照组乳鼠毛囊球部细胞第72h生长情况, D2为 Ara-c(10mg/L)组乳鼠毛囊球部细胞第72h生长情况, D3为 Ara-c(10mg/L) + FK506(0.1mg/L)组乳鼠毛囊球部细胞第72h生长情况。A1 ~ A3 control group; B1 ~ B3 Ara-c group; C1 ~ C3 Ara-c + FK506 group. A1, B1, C1 at 0st d; A2, B2, C2 at 3st d; A3, B3, C3 at 8st d. D1 control group, D2 Ara-c group, D3 Ara-c + FK506 group, D1 ~ D3 observed at 72h later. Ara-c at 10mg/L and FK506 at 0.1 mg/L

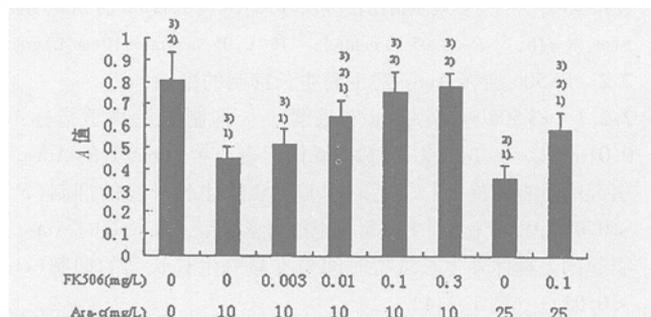


图 5 Ara-c对体外培养的小鼠触须毛囊球部细胞 MTT摄入率的抑制及 FK506对其逆转作用

Fig 5 FK506 reserved mouse hair bulb cell survival inhibited by Ara-c after 72h *in vitro*

注:  $n=16$ ,  $F=24.711$ ,  $P<0.001$ 。<sup>1)</sup>  $P<0.05$ 与空白对照相比; <sup>2)</sup>  $P<0.05$ 与 Ara-c(10mg/L)组相比; <sup>3)</sup>  $P<0.05$ 与 Ara-c(25mg/L)组相比。

Note:  $n=16$ ,  $F=24.711$ ,  $P<0.001$ ; <sup>1)</sup>  $P<0.05$  vs control; <sup>2)</sup>  $P<0.05$  vs Ara-c(10mg/L) group; <sup>3)</sup>  $P<0.05$  vs Ara-c(25mg/L) group

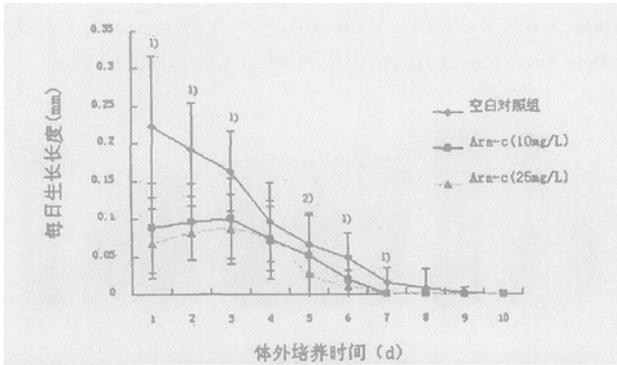


图 6 Ara-c对体外器官培养的小鼠触须毛囊每日生长速度的抑制作用

Fig 6 Effect of Ara-c on mouse vibrissa follicle growth speed *in vitro*

注:  $n=16$ , <sup>1)</sup>  $P < 0.05$  Ara-c组与空白对照相比; <sup>2)</sup>  $P < 0.05$ 空白组与 Ara-c(10mg/L)组相比

Note:  $n=16$ , <sup>1)</sup>  $P < 0.05$  Ara-c group vs control; <sup>2)</sup>  $P < 0.05$  Ara-c (10mg/L) group vs control

表 1 FK506逆转 Ara-c引起的离体培养小鼠触须毛囊生长速度抑制的作用 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 1 Reserval effect of FK506 on hair follicle growth speed inhibited by Ara-c *in vitro* ( $\bar{x} \pm s$ )

| Ara-c (mg/L) | FK506 (mg/L) | 生长速度 (mm/d)                 |                               |                             |             |                               |
|--------------|--------------|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------|-------------------------------|
|              |              | 第 1 天                       | 第 2 天                         | 第 3 天                       | 第 4 天       | 4天平均                          |
| 0            | 0            | 0.22 ± 0.09 <sup>2,3)</sup> | 0.19 ± 0.06 <sup>2,3)</sup>   | 0.16 ± 0.05 <sup>2,3)</sup> | 0.10 ± 0.05 | 0.17 ± 0.05 <sup>2,3)</sup>   |
| 10           | 0            | 0.09 ± 0.06 <sup>1)</sup>   | 0.10 ± 0.05 <sup>1)</sup>     | 0.10 ± 0.05 <sup>1)</sup>   | 0.07 ± 0.04 | 0.09 ± 0.03 <sup>1)</sup>     |
| 10           | 0.003        | 0.11 ± 0.04 <sup>1,3)</sup> | 0.12 ± 0.04 <sup>1,3)</sup>   | 0.11 ± 0.04 <sup>1)</sup>   | 0.09 ± 0.06 | 0.11 ± 0.03 <sup>1,3)</sup>   |
| 10           | 0.01         | 0.19 ± 0.06 <sup>2,3)</sup> | 0.14 ± 0.03 <sup>1,2,3)</sup> | 0.13 ± 0.05 <sup>1,3)</sup> | 0.09 ± 0.03 | 0.14 ± 0.03 <sup>1,2,3)</sup> |
| 10           | 0.1          | 0.21 ± 0.07 <sup>2,3)</sup> | 0.18 ± 0.05 <sup>2,3)</sup>   | 0.15 ± 0.06 <sup>2,3)</sup> | 0.09 ± 0.07 | 0.16 ± 0.04 <sup>2,3)</sup>   |
| 10           | 0.3          | 0.22 ± 0.07 <sup>2,3)</sup> | 0.18 ± 0.04 <sup>2,3)</sup>   | 0.16 ± 0.05 <sup>2,3)</sup> | 0.09 ± 0.05 | 0.16 ± 0.03 <sup>2,3)</sup>   |
| 25           | 0            | 0.07 ± 0.05 <sup>1)</sup>   | 0.08 ± 0.04 <sup>1)</sup>     | 0.09 ± 0.05 <sup>1)</sup>   | 0.07 ± 0.05 | 0.08 ± 0.03 <sup>1)</sup>     |
| 25           | 0.1          | 0.17 ± 0.04 <sup>2,3)</sup> | 0.14 ± 0.03 <sup>1,2,3)</sup> | 0.12 ± 0.04 <sup>1)</sup>   | 0.09 ± 0.05 | 0.13 ± 0.03 <sup>1,2,3)</sup> |
| F值           |              | 16.141                      | 12.004                        | 4.930                       | 0.439       | 16.885                        |
| P值           |              | <0.001                      | <0.001                        | <0.001                      | >0.05       | <0.001                        |

注:  $n=16$ , <sup>1)</sup>与空白对照组比较均  $P < 0.05$ ; <sup>2)</sup>与 10mg/L的 Ara-c组比较均  $P < 0.05$ ; <sup>3)</sup>与 25mg/L的 Ara-c组比较均  $P < 0.05$

Note:  $n=16$ , <sup>1)</sup>  $P < 0.05$  vs control; <sup>2)</sup>  $P < 0.05$  vs Ara-c(10mg/L) group; <sup>3)</sup>  $P < 0.05$  vs Ara-c(25mg/L) group

## 2.2 FK506逆转 Ara-c对毛囊生长抑制的影响

### 2.2.1 FK506逆转 Ara-c对毛囊生长抑制的生物学指标:

0.01 mg/L ~ 0.3 mg/L的 FK506能显著改善 10mg/L的 Ara-c引起的毛囊体外生长维持时间与毛囊总生长长度的抑制 ( $P < 0.05$ ); 0.1 mg/L的 FK506也能显著改善 25mg/L的 Ara-c引起的毛囊体外生长维持时间与毛囊总生长长度的抑制 ( $P < 0.05$ )。(图 1, 2, 4)

0.01 mg/L ~ 0.3 mg/L的 FK506能不同程度地改善 10mg/L的 Ara-c引起的前 3d及前 4d平均毛囊体外每日净生长长度的抑制 ( $P < 0.05$ ), 0.1 mg/L的 FK506也能不同程度地改善 25mg/L的 Ara-c引起的前 2d及前 4d平均毛囊体外每日净生长长度的抑制 ( $P < 0.05$ , 表 1)。

2.2.2 <sup>3</sup>H-TdR 掺入率分析 0.01 mg/L ~ 0.3 mg/L的 FK506能显著改善 10mg/L的 Ara-c引起的毛囊 <sup>3</sup>H-TdR 掺入率抑制 ( $P < 0.001$ ), 0.1 mg/L的 FK506也能显著改善 50mg/L的 Ara-c引起的毛囊 <sup>3</sup>H-TdR 掺入率抑制 ( $P <$

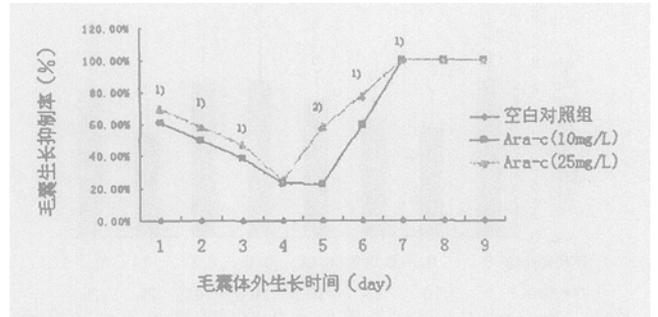


图 7 Ara-c引起的体外器官培养的小鼠触须毛囊每日生长抑制率的变化

Fig 7 Effect of Ara-c on inhibit ratio of mouse vibrissa follicle growth speed *in vitro*

注:  $n=16$ , <sup>1)</sup>  $P < 0.05$  Ara-c组与空白对照相比; <sup>2)</sup>  $P < 0.05$ 空白组与 Ara-c(10mg/L)组相比

Note:  $n=16$ , <sup>1)</sup>  $P < 0.05$  Ara-c group vs control; <sup>2)</sup>  $P < 0.05$  Ara-c (10mg/L) group vs control

0.001, 图 3)

### 2.2.3 FK506逆转 Ara-c对毛囊球部细胞增殖的抑制

我们用 MTT测定结果, 570nm 处的吸光度 A值来表示细胞的增殖程度。0.01 mg/L ~ 0.3 mg/L的 FK506能显著改善 10mg/L的 Ara-c引起的毛囊球部细胞增殖抑制 ( $P < 0.001$ ), 0.1 mg/L的 FK506也能显著改善 25mg/L的 Ara-c引起的毛囊球部细胞增殖抑制 ( $P < 0.001$ )。(图 5)

## 3 讨论

用于研究化疗药物引起毛囊损伤的模型主要是出生 7d 的新生鼠单次注射化疗药物诱导生长期向退行期样转变<sup>[4]</sup>。在体的情况下, 干扰因素较多, 有时会使分析结果的过程复杂化, 不能直接或直观地反映一些生物学性状, 所以建立一个离体的模型有利于对化疗药物引起的毛囊损伤的研究, 但目前还没有见到该模型的报道。因此我们用游离小鼠触须毛囊器官培养模型, 对 Ara-c引起的毛囊损伤作用作了研究。Ara-c的浓度我们选用经常用于离体研究肿瘤化疗的 10mg/L

L与 25mg/L<sup>[5]</sup>,体外的药物作用时间参考该药物在人体内的血浆浓度维持时间,定为 2.5h。模拟 Ara-c在体内作用于毛囊时的药物作用环境。我们发现 10mg/L与 25mg/L的 Ara-c作用 2.5h能明显抑制毛囊的生长,尤其是第 1个 24h,生长抑制均达 60%以上;能缩短毛囊在体外的生长时间、总生长长度;不同程度地抑制毛囊前 3d以及前 4d平均每日净生长长度;毛囊同位素<sup>3</sup>H-TdR的摄入也明显减少,提示 Ara-c能抑制毛囊的 DNA的合成;Ara-c也能明显抑制毛囊球部细胞的增殖。因此我们较好地模拟出化疗药物对毛囊的损伤作用,同时我们也发现该模型具有能直观反映毛囊被化疗药物损伤后生物学性状改变的特点。

利用该模型,我们用 FK506对 Ara-c损伤的毛囊进行了治疗,发现它能不同程度改善 Ara-c引起的毛囊生长速度,体外生长维持时间和生长总长度的抑制。这说明该模型也可以方便地用于一些细胞因子、生长因子或一些药物对化疗药物引起的毛囊损伤的保护作用或治疗作用地研究。但对于不同的化疗药物建立模型时,可能对药物的浓度和作用的时间还需要作进一步的探讨。时间过短,浓度过低,可能就不能很好地模拟出化疗药物对毛囊的损伤;时间过长,浓度过高,可能会造成实际化疗过程中更为严重的毛囊损伤,影响一些有价值的细胞因子或药物的疗效评价。我们也发现 0.1mg/L的 FK506对 25mg/L的 Ara-c引起的毛囊损伤的改善比 10mg/L的 Ara-c引起的毛囊损伤的改善效果要差。因此对不同抗癌药物在离体的毛囊器官培养条件下对毛囊的损伤作进一步的研究,有利于建立更为完善的模型。

环孢素 A,FK506是免疫抑制剂,近年发现它们有促进毛囊生长和预防化疗引起脱发的作用<sup>[2]</sup>。环孢素 A的修复化疗后毛囊损伤的作用,是通过比较化疗后从退行期样毛囊结构到生长期毛囊的重新出现时间短于正常的退行期毛囊向生长期毛囊转变的时间而间接获得的<sup>[6]</sup>,但环孢素 A又具有诱导生长期毛囊的作用<sup>[7]</sup>,因此很难说明环孢素 A是否对损伤的毛囊有直接修复作用。而且与它有类似作用的 FK506对化疗后的毛囊损伤是否有逆转作用尚未见报道。我们用离体模型证明了 FK506对 Ara-c诱导的毛囊损伤有直接修复作用。FK506的保护作用起效于毛囊损伤后,具体的机制尚不清楚。抗癌药物对细胞的作用可产生两种命运,一种通过凋亡而死亡,一种通过进入 G<sub>2</sub>期停滞<sup>[8]</sup>。因此 FK506可能对细胞的早期凋亡有逆转作用,或者对进入 G<sub>2</sub>期停滞的细胞有促进进入增殖池的作用。化疗药物对毛囊的损伤主要集中在毛囊球部增殖活跃的细胞群,诱导他们的凋亡,促使毛囊由生长期到休止期转变,而不是坏死的作用<sup>[9]</sup>。我们也发现化疗药物能明显抑制毛囊球部细胞的增殖,而 FK506能明显改善它的抑制。因此研究化疗药物对毛

囊球部细胞生物学特性的影响和各种细胞因子、生长因子的表达,以及 FK506对这些影响和各种分子表达的干预作用将有利于理解 FK506逆转抗癌药物对毛囊损伤的具体机制。

我们认为 FK506是治疗化疗后秃发的潜在有效药物,但其作用的浓度较高,我们实验发现在 0.01~0.3mg/L之间,远高于全身用药时的游离血浆内药物浓度。因此用于治疗化疗脱发时,只能局部外用,一般用于局部治疗的浓度在 0.01%~0.5%之间<sup>[7,10]</sup>。在体情况下是否对化疗药物引起的人毛囊的损伤有治疗作用尚需作进一步的研究。

#### 参考文献

- [1] Philpott MP, Sanders D, Kealey T. Cultured human hair follicles and growth factors[J]. *J Invest Dermatol*, 1995, 104: 44s.
- [2] Maurer M, handjicki B, Paus R. Hair growth modulation by topical immunophilin ligands: Induction of anagen, inhibition of massive catagen development, and relative protection from chemotherapy-induced alopecia[J]. *Am J Pathol*, 1997, 150(4): 1433.
- [3] Shirai A, Ikeda J, Kawashima S, *et al*. KF19418, a new compound for hair growth promotion *in vitro* and *in vivo* mouse models[J]. *J Dermatol Sci*, 2001, 25(3): 213.
- [4] Peters EM, Foitzik K, Paus R, *et al*. A new strategy for modulating chemotherapy-induced alopecia, using PTH/PTHrP receptor agonist and antagonist[J]. *J Invest Dermatol*, 2001, 117(2): 173.
- [5] Vial JP, Belloc F, Dumain P, *et al*. Study of the apoptosis induced *in vitro* by antitumor drugs on leukaemic cells[J]. *Leuk Res*, 1997, 21(2): 163.
- [6] Shirai A, Tsunoda H, Tamaoki T, *et al*. Topical application of cyclosporin A induces rapid remodeling of damaged anagen hair follicle produced in cyclophosphamide administered mice[J]. *J Dermatol sci*, 2001, 27(1): 7.
- [7] Jiang H, Yamamoto S, Kato R. Induction of anagen in telogen mouse skin by topical application of FK506, a potent immunosuppressant[J]. *J Invest Dermatol*, 1995, 104(4): 523.
- [8] Eastman A. Activation of programmed cell death by anticancer agents: Cisplatin as a model system[J]. *Cancer Cells*, 1990, 2(8-9): 275.
- [9] Cece R, Cazzaniga S, Morelli D, *et al*. Apoptosis of hair follicle cells during doxorubicin-induced alopecia in rats[J]. *Laboratory Investigation*, 1996, 75(4): 601.
- [10] Maurer M, handjicki B, Paus R. Hair growth modulation by topical immunophilin ligands: Induction of anagen, inhibition of massive catagen development, and relative protection from chemotherapy-induced alopecia[J]. *Am J Pathol*, 1997, 150(4): 1433.

收稿日期:2003-11-10