

МЕХАНИЗМЫ НОРМАЛЬНОГО И ПАТОЛОГИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ ТКАНЕЙ

УДК 616-018:57.022:576.08

ФАКТОР РОСТА СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ (СТGF) В ДЕРМЕ ЧЕЛОВЕКА В ОНТОГЕНЕЗЕ

© 2016 г. О. В. Васильева, Н. Н. Голубцова, Ф. Н. Филиппов, А. Г. Гунин

*Чувашский государственный университет
428015 Чебоксары, Московский пр-т, д. 15*

E-mail: histol@mail.ru

Поступила в редакцию 10.03.2015 г.
Окончательный вариант получен 18.10.2015 г.

Содержание фактора роста соединительной ткани (СТGF) было изучено в структурах дермы человека в широком возрастном диапазоне, начиная от 20 недель беременности и до 85 лет. Иммуногистохимическим методом были выявлены положительно окрашенные на СТGF фибробласты и кровеносные сосуды в дерме человека всех возрастов. Установлено увеличение процента фибробластов и кровеносных сосудов в дерме с положительной окраской на СТGF с течением возраста. Между возрастными изменениями общего числа фибробластов, процента фибробластов с положительной окраской на ядерный антиген пролиферирующих клеток и доли фибробластов с положительной окраской на СТGF выявлена достоверная отрицательная корреляционная связь. Между возрастными изменениями числа кровеносных микрососудов дермы и доли микрососудов с положительной окраской на СТGF также выявлена достоверная отрицательная корреляционная связь. Результаты дают основание предположить, что СТGF оказывает ингибирующее влияние на ангиогенез и обновление популяции фибробластов в дерме человека в онтогенезе.

Ключевые слова: дерма, онтогенез, фибробласты, кровеносные сосуды, фактор роста соединительной ткани.

DOI: 10.7868/S0475145016020099

ВВЕДЕНИЕ

Фактор роста соединительной ткани (СТGF) представляет собой небольшой богатый цистеином протеин и принадлежит к семейству CCN факторов (Chen, Lau, 2009; Cicha, Goppelt-Struebe, 2009). Поэтому СТGF имеет также название CCN2. СТGF является так называемым клеточно-внеклеточным протеином. Такие клеточно-внеклеточные протеины функционально связывают структурные компоненты внеклеточного матрикса и факторы роста, цитокины и протеазы. СТGF реализует свои функции путем интегрирования различных веществ, располагающихся во внеклеточном матриксе. Результатом этого интегрирования является биологический ответ клетки. Уникальная молекулярная структура СТGF позволяет ему связывать различные факторы роста, такие как костный морфогенетический протеин-4, трансформирующий фактор роста- β , сосудистый эндотелиальный фактор роста (Cicha, Goppelt-Struebe, 2009). После связывания этих веществ с СТGF изменяется их взаимодействие с рецепторами и, естественно, функциональная активность. СТGF имеет также последовательности, связывающие белки внеклеточного матрикса и

белки, располагающиеся на наружной поверхности клеточной мембраны, такие как интегрины (Gao, Brigstock, 2004), фибронектин (Chen et al., 2004), синдеканы и перлекан (Nishida et al., 2003; Chen, Lau, 2009). Связывание этих белков позволяет СТGF участвовать в регуляции взаимодействия клеток с внеклеточным матриксом, клеточной подвижности, адгезии и сигнализации (Shi-Wen et al., 2008).

Секреция СТGF регулируется различными факторами роста, гипоксическим состоянием, биомеханическим растяжением ткани, индуцируется в процессе восстановления тканей (Karoo et al., 2008). Трансформирующий фактор роста- β является мощным активатором секреции СТGF. Этот эффект трансформирующего фактора роста- β опосредован Smad-регуляторным путем (Abraham et al., 2008). Сосудистый эндотелиальный фактор роста также усиливает продукцию СТGF опосредованно KDR и Flt рецепторами и фосфатидил-инозитол-3-киназным путем (Suzuma et al., 2000).

Учитывая, что СТGF может связывать сосудистый эндотелиальный фактор роста, становится очевидным его участие в ангиогенезе. Установлено, что СТGF имеет мощную ангиогенную актив-

ность (Kubota, Takigawa, 2007; Cicha, Goppelt-Struebe, 2009). Он способен усиливать адгезию, миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток, и формирование трубчатых структур (Markiewicz et al., 2011). Имеются данные о роли CTGF в формировании базальной мембраны эндотелиоцитов (Hall-Glenn et al., 2012). Более того, CTGF способен привлекать CD34+ стволовые клетки в эндотелий, способствуя тем самым пролиферации эндотелия и неоваскуляризации. Однако, для некоторых тканей показано, что CTGF не оказывает влияния на образование новых сосудов и ангиогенез (Cicha, Goppelt-Struebe, 2009).

Таким образом, имеющиеся данные о физиологическом значении CTGF в процессе ангиогенеза не однозначны. В литературе отсутствуют сведения о значении CTGF в обновлении популяции фибробластов и ангиогенезе в дерме в онтогенезе. Поэтому целью нашей работы стало исследование содержания CTGF в дерме человека в связи с возрастными изменениями числа фибробластов и кровеносных сосудов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом исследования служили кусочки кожи нижней части передней поверхности шеи, полученные при аутопсии плодов человека, умерших от различных причин на сроке 20–40 недель беременности, и людей, умерших от различных причин в возрасте от 1 дня до 85 лет. Проведение исследования одобрено Этическим комитетом медицинского факультета Чувашского государственного университета имени И.Н. Ульянова. Кусочки кожи тотчас после извлечения фиксировали в 4% формальдегиде и заливали в парафин. Из залитых в парафин тканевых блоков при помощи микротомы изготавливались поперечные срезы кожи толщиной 5–7 мкм.

CTGF выявляли непрямым иммуногистохимическим методом с применением в качестве первых антител поликлональных кроличьих антител против CTGF (АНР 1278, AbD Serotec, Великобритания) в разведении 1 : 50 и визуализирующей системы EnVision, конъюгированной с пероксидазой (К 4002, DakoCytomation, Дания) (Петров и др., 2013; Gunin et al., 2014). В последующем проводился подсчет числа фибробластов и кровеносных сосудов дермы с положительной окраской на CTGF.

Ядерный антиген пролиферирующих клеток (PCNA) выявляли непрямым иммуногистохимическим методом с применением в качестве первых антител кроличьих поликлональных антител против PCNA (АНР1419, AbD Serotec, Великобритания) в разведении 1 : 100 и визуализирующей системы EnVision, конъюгированной с пероксидазой (К 4002, DakoCytomation, Дания) (Петров и др.,

2013; Gunin et al., 2014) с последующим подсчетом процента положительных на PCNA фибробластов дермы.

Кровеносные сосуды визуализировали путем окраски на антиген CD31 с применением в качестве первых антител мышинных моноклональных антител против CD31 (М 0823, DakoCytomation, Дания) в разведении 1 : 50 и визуализирующей системы EnVision, конъюгированной с пероксидазой (К 4002, DakoCytomation, Дания) (Gunin et al., 2014) с последующим подсчетом числа кровеносных сосудов на 1 мм² ткани дермы.

В качестве контроля специфичности иммуногистохимического окрашивания применяли такую же процедуру обработки срезов, но вместо первых антител использовали нормальную кроличью сыворотку в конечной концентрации – 1%. При использовании такой схемы ни разу не было получено специфического окрашивания.

Определение общего числа фибробластов на 1 мм² ткани дермы производили в срезах, окрашенных гематоксилином и эозином.

Количественную оценку результатов исследования проводили с использованием светового микроскопа Olympus CX-21, цифровой камеры Olympus Camedia 4040z, персонального компьютера и программы Sigma Scan Pro 5.0 (Systat Software Inc., США). При помощи микроскопа находили участки дермы без волосяных фолликулов и фотографировали при увеличении объектива 40X. В каждом случае фотографировали 3–5 случайно выбранных полей зрения. Для определения числа кровеносных сосудов дермы с положительной окраской эндотелия на антиген CD31, доли фибробластов с положительной окраской на PCNA и общего числа фибробластов, фибробластов и сосудов с положительной окраской на CTGF вычисляли площадь сфотографированных участков и подсчитывали количество сосудов или соответствующих клеток в них (Петров и др., 2013; Gunin et al., 2014).

Для исследования CTGF было использовано 97 кусочков кожи (47 женщин и 50 мужчин). Для подсчета числа фибробластов было исследовано 357 кусочков кожи (218 мужчин и 139 женщин). Для определения числа PCNA положительных клеток было изучено 139 кусочков кожи (104 мужчины и 35 женщин). Для исследования CD31-позитивных кровеносных сосудов было использовано 94 кусочка кожи (60 мужчин и 34 женщины). Все случаи группировали по возрастному принципу: 20–40 недель беременности (группа 1); 0–20 лет (группа 2); 21–40 лет (группа 3); 41–60 лет (группа 4); 61–85 лет (группа 5). По каждой группе данных рассчитывали средние арифметические величины (M) и их стандартные ошибки (m). Достоверность влияния возраста или пола на исследуемые параметры кожи оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа.

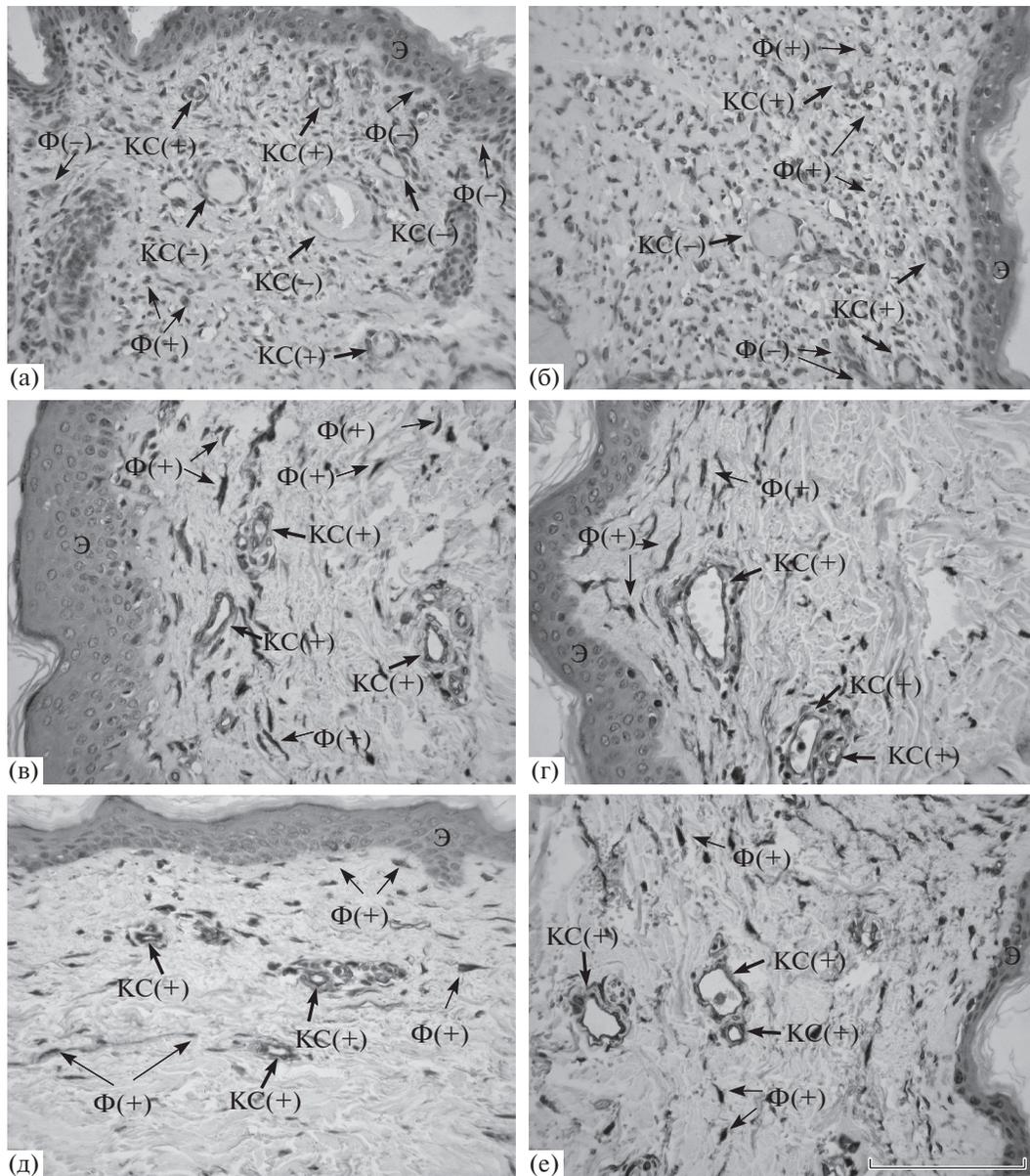


Рис. 1. СТГФ в коже людей разного возраста. а – образец кожи плода человека мужского пола на сроке 28 недель беременности. б – образец кожи человека мужского пола в возрасте 1 года. в – образец кожи мужчины в возрасте 35 лет. г – образец кожи женщины в возрасте 57 лет. д – образец кожи мужчины в возрасте 76 лет. е – образец кожи женщины в возрасте 82 лет. КС(+) – кровеносные сосуды с положительной окраской на СТГФ; КС(-) – кровеносные сосуды с отрицательной окраской на СТГФ; Ф(+) – фибробласты дермы с положительной окраской на СТГФ; Ф(-) – фибробласты с отрицательной окраской на СТГФ; Э – эпидермис. Иммуногистохимическая реакция на СТГФ. Участок шкалы – 50 мкм.

Взаимосвязи между возрастом и параметрами кожи оценивали с применением непараметрического рангового корреляционного анализа Спирмена. Корреляционный анализ проводили без разделения данных на возрастные группы. Достоверными считали отличия при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В коже человека во все возрастные периоды были выявлены фибробласты и кровеносные со-

суды, имеющие положительную окраску на СТГФ (рис. 1). В исследовании проводили подсчет процента фибробластов, имеющих положительное окрашивание на СТГФ по отношению к общему числу фибробластов. В группе 1 (20–40 недель беременности) $73.94 \pm 4.95\%$ ($M \pm m$) фибробластов дермы имели положительную окраску на СТГФ (рис. 2). В группе 2 (0–20 лет) процент иммунопозитивных к СТГФ фибробластов увеличился по сравнению с 1-ой группой и составил 85.12 ± 4.71 (рис. 2). В группе 3, объединяющей образ-

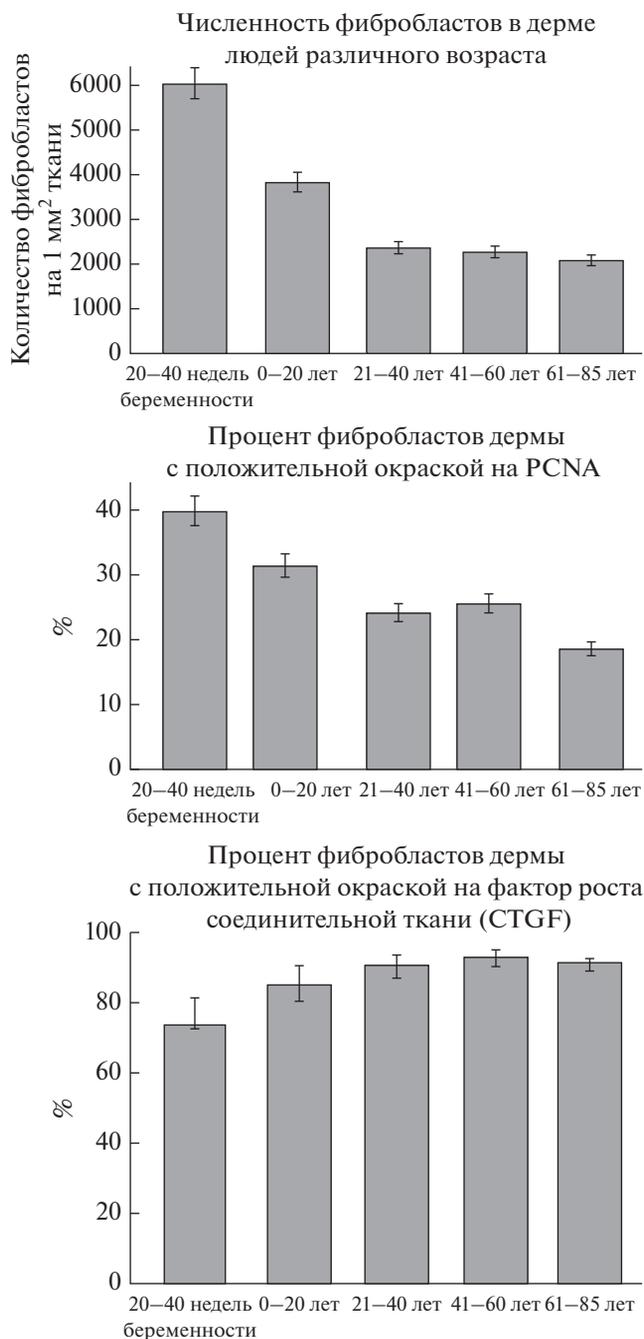


Рис. 2. Общее число фибробластов, процент PCNA-положительных фибробластов, процент фибробластов с положительной окраской на CTGF в дерме людей различного возраста ($M \pm m$).

цы кожи людей от 21 до 40 лет, процент фибробластов с положительной окраской был равен 90.42 ± 3.24 (рис. 2). В группе 4 (41–60 лет) $93.06 \pm 2.07\%$ фибробластов имели положительное окрашивание на CTGF (рис. 2). В группе 5 (61–85 лет) процент фибробластов с положительной окраской на CTGF оставался высоким и составлял 91.37 ± 1.62 (рис. 2). Таким образом, в коже человека от 20 недель беременности и до 60 лет наблюдалось увеличение процента фибробластов дер-

мы, имеющих положительную окраску на CTGF. Корреляционный анализ показал наличие положительной достоверной взаимосвязи между возрастом и процентом иммуно-позитивных к CTGF фибробластов ($r = 0.39$; $p < 0.05$). Однофакторный дисперсионный анализ выявил наличие достоверного влияния ($p < 0.001$) возраста на изменение процента фибробластов, положительно окрашенных на CTGF в дерме.

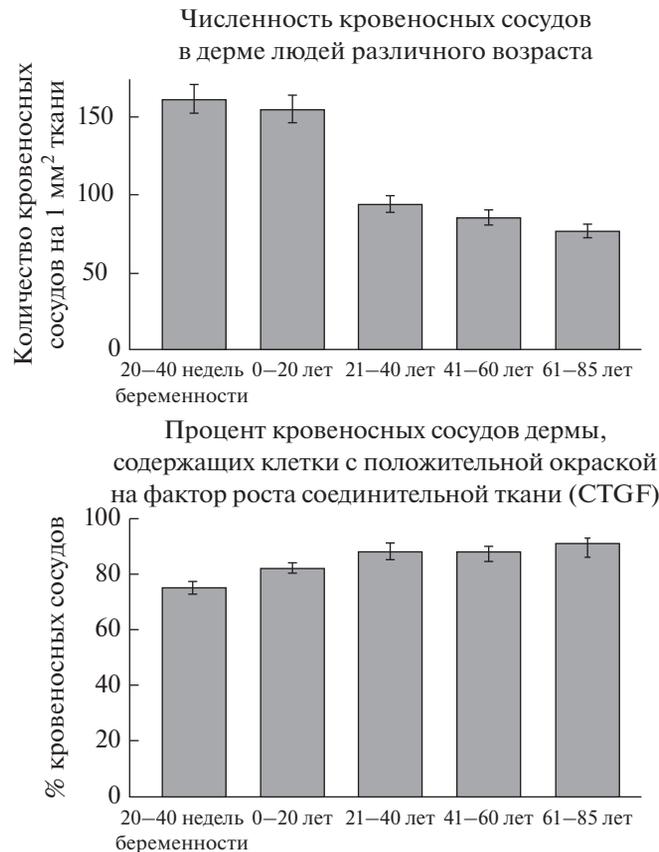


Рис. 3. Общее число кровеносных сосудов, процент кровеносных сосудов с положительной окраской на СТGF в дерме людей различного возраста ($M \pm m$).

Обнаружено, что общее число фибробластов в дерме снижается с возрастом (рис. 2). Наиболее значительное снижение числа фибробластов было видно на протяжении от пренатального периода до 11–20 лет. В последующих возрастных группах практически не наблюдалось дальнейшего уменьшения числа фибробластов в дерме. Корреляционный анализ между изменениями общего числа фибробластов и фибробластов с положительной окраской на СТGF показал наличие достоверной высокой отрицательной взаимосвязи ($r = -0.45$; $p < 0.05$).

В дерме человека число PCNA-положительных фибробластов прогрессивно уменьшалось с возрастом (рис. 2). Корреляционный анализ между изменениями числа PCNA-положительных фибробластов и числа фибробластов с позитивной окраской на СТGF показал наличие достоверной высокой отрицательной взаимосвязи ($r = -0.47$; $p < 0.05$).

Кровеносные сосуды с положительной окраской составляющих их клеток на СТGF были выявлены в коже человека во всех возрастных группах. В составе оболочки микрососудов дермы иммунопозитивными были преимущественно эндотелио-

циты (рис. 1). При изучении кровоснабжения дермы подсчитывался процент кровеносных сосудов, имеющих в своем составе клетки с положительным окрашиванием на СТGF. Подсчеты показали, что в группе 1 (20–40 недель беременности) $74.73 \pm 2.11\%$ кровеносных сосудов были иммуно-позитивны (рис. 3). В группе 2 (0–20 лет) процент сосудов с положительным окрашиванием на СТGF повысился по сравнению с группой 1 и составил 81.85 ± 1.83 (рис. 3). В группе 3 (21–40 лет) и группе 4 (41–60 лет) наблюдалось равное содержание сосудов с положительным окрашиванием на СТGF, которое было выше по сравнению с 2-й возрастной группой. Процент кровеносных сосудов в этом случае был равен 87.67 ± 2.77 в группе 3 и 87.25 ± 3.02 в группе 4 (рис. 3). В группе 5, объединяющей образцы кожи людей от 61 до 85 лет, процент кровеносных сосудов с положительной окраской на СТGF превышал значения в группах 1–4 и составлял 91.13 ± 1.67 (рис. 3). Таким образом, в период от 20 недель беременности и до 85 лет наблюдалось увеличение процента кровеносных сосудов дермы, имеющих положительную окраску на СТGF. Корреляционный анализ установил наличие положительной достоверной

взаимосвязи между возрастом и процентом иммуно-позитивных к CTGF кровеносных сосудов дермы ($r = 0.39$; $p < 0.05$). Однофакторный дисперсионный анализ выявил достоверное влияние ($p < 0.001$) возраста на изменение процента кровеносных сосудов дермы, положительно окрашенных на CTGF.

Исследование препаратов, окрашенных на маркер эндотелиальных клеток CD31, показало уменьшение числа кровеносных сосудов в дерме с возрастом (рис. 2). Корреляционный анализ показал наличие отрицательной достоверной взаимосвязи между изменениями возраста и числа кровеносных сосудов в дерме ($r = -0.68$; $p < 0.01$). Корреляционный анализ выявил достоверную отрицательную взаимосвязь между изменениями общего числа кровеносных сосудов и сосудов с положительной окраской на CTGF ($r = -0.47$; $p < 0.01$).

В исследовании использованы кусочки кожи плодов мужского и женского пола, мужчин и женщин. Был проведен анализ половых различий для возрастных изменений параметров дермы. Для этого был выполнен однофакторный дисперсионный анализ, где в качестве фактора использована половая принадлежность. Результаты этого анализа не установили достоверного ($p < 0.05$) влияния пола на изменения процента фибробластов и сосудов с положительной окраской на CTGF, общего числа фибробластов и процента фибробластов с положительной окраской на PCNA в дерме.

ОБСУЖДЕНИЕ

Нами установлено возрастание процента фибробластов и кровеносных сосудов в дерме с положительной окраской на CTGF. Увеличение содержания в структурах дермы CTGF может быть обусловлено его усиленным синтезом. В этой связи показано, что фетальные фибробласты мыши, полученные на 17–19 дни внутриутробного развития, вырабатывали в 4 раза меньше CTGF, чем фибробласты взрослых животных (Colwell et al., 2006). Повышенный синтез CTGF был выявлен в стареющих культивируемых фибробластах и клетках печени старых крыс (Kim et al., 2004). Это повышение было опосредовано стимулирующим влиянием трансформирующего фактора роста- β и его 1-го и 2-го типами рецепторов, синтез и содержание которых в фибробластах увеличивается при старении (Kim et al., 2004).

CTGF относится к семейству CCN. Содержание другого протеина из семейства CCN – Cugb1 (CCN1) было выше более чем в 3 раза в мышцах старых мышей и крыс, по сравнению с молодыми особями (Du et al., 2014). Эти исследователи определили, что возрастание уровня Cugb1 в мышцах индуцируется протеином Wnt-3a, содержание которого увеличивается в организме с возрастом и кото-

рый обладает способностью стимулировать образование CTGF (Chen et al., 2007; Du et al., 2014).

Повышение содержания CTGF в структурах дермы с возрастом может быть также обусловлено снижением скорости его распада и увеличением продолжительности жизни молекулы. Известно, что CTGF способен связывать различные компоненты внеклеточного матрикса и интегрин, входящие в состав адгезионных межклеточных контактов (Inoki et al., 2002). Возможно, что в связанном с другими молекулами состоянии CTGF оказывается недоступным для действия протеолитических ферментов. Вследствие этого CTGF медленнее разрушается и его количество в ткани увеличивается.

В исследовании мы установили возраст-зависимое снижение общего числа фибробластов, процента пролиферирующих фибробластов, числа кровеносных сосудов в дерме (Гунин и др., 2011; Гунин и др., 2014). Между изменениями общего числа фибробластов и количества фибробластов с положительной окраской на CTGF выявлена отрицательная корреляционная взаимосвязь. Следовательно, можно предположить, что CTGF способствует уменьшению пролиферации фибробластов и снижению их общей численности. Кроме того, обнаружена отрицательная корреляционная взаимосвязь между возрастными изменениями числа сосудов и процента сосудов с положительной окраской на CTGF в дерме. Следовательно, можно предположить наличие негативного влияния CTGF на ангиогенез в дерме с возрастом. В плане действия CTGF на пролиферацию фибробластов и ангиогенез имеются данные как о стимулирующем его влиянии, так и об ингибирующем (Chen, Lau, 2009). Показано, что кроме стимулирующего влияния на пролиферацию, CTGF может индуцировать апоптоз фибробластов (Chen, Lau, 2009). Было установлено, что Cugb1, входящий в то же семейство молекул CCN, что и CTGF, снижал пролиферацию малодифференцированных клеток мышечной ткани путем повышения экспрессии протеинов, вызывающих торможение прохождения клеток по клеточному циклу, таких как p53, p16, pRP (Du et al., 2014). Было показано, что синтез Cugb1 в мышцах индуцируется протеином Wnt-3a, содержание которого увеличивается в организме с возрастом (Du et al., 2014). Известно, что Wnt-3a способен усиливать и синтез CTGF культивируемыми фибробластами (Chen et al., 2007). Исследователи указывают на тканевую и клеточную специфичность действия CTGF (Chen, Lau, 2009). Вероятно, что в случае кожи человека превалируют ингибирующие влияния CTGF на пролиферацию фибробластов и ангиогенез.

Наше предположение подтверждается исследованиями, где продемонстрировано, что глюкокортикоид дексаметазон, блокирующий пролифера-

цию фибробластов и ангиогенез, стимулирует продукцию CTGF культивируемыми фибробластами и фибробластами дермы в процессе заживления раны (Dammeier et al., 1988). То есть возрастание содержания CTGF ассоциировано с угнетением пролиферации фибробластов и ангиогенеза (Dammeier et al., 1988). Другие авторы показали, что CTGF способен связывать сосудистый эндотелиальный фактор роста и ингибировать индуцируемый им ангиогенез (Inoki et al., 2002).

Известно, что секреция CTGF индуцируется трансформирующим фактором роста- β (Quan et al., 2002). Однако затем CTGF начинает тормозить продукцию трансформирующего фактора роста- β , что в конечном итоге сопровождается снижением функциональной активности фибробластов и угнетением синтеза компонентов матрикса соединительной ткани (Quan et al., 2002).

Предыдущие исследования показали, что эффекты CTGF зависят от его концентрации. Установлено, что низкие концентрации CTGF способствуют пролиферации и дифференцировке остеобластов в культуре (Safadi et al., 2003), но его гиперэкспрессия приводит к ингибированию функций остеобластов и развитию остеопении у мышей (Smerdel-Ramoja et al., 2008). Поэтому не исключено, что ингибирующее влияние CTGF на пролиферацию фибробластов и ангиогенез в дерме с возрастом обусловлено действием его высокой концентрации.

Кроме ингибирующего действия на пролиферацию фибробластов и ангиогенез, CTGF способен оказывать стимулирующее влияние на эти процессы и блокировать развитие апоптоза (Chen, Lau, 2009). В нашей работе было выявлено возрастное повышение уровня CTGF и уменьшение числа фибробластов и кровеносных сосудов в дерме. Возможно, что с возрастом в дерме появляются вещества, блокирующие стимулирующие эффекты CTGF на пролиферацию фибробластов и ангиогенез. Однако для выяснения точных механизмов необходимо проведение дальнейших исследований.

Работа поддержана РФФИ и Чувашской Республикой (13-04-97112_p_поволжье_a).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гунин А.Г., Корнилова Н.К., Петров В.В. и др. Возрастные изменения численности и пролиферации фибробластов в коже человека // Успехи геронтологии. 2011. Т. 24. С. 43–47.
- Гунин А.Г., Петров В.В., Васильева О.В. и др. Кровеносные сосуды в дерме человека в процессе старения // Успехи геронтологии. 2014. Т. 27. С. 54–61.
- Петров В.В., Васильева О.В., Корнилова Н.К. и др. Возрастные изменения числа тучных клеток и эозинофилов в дерме человека // Онтогенез. 2013. Т. 44. С. 179–185.
- Abraham D. Connective tissue growth factor: growth factor, matricellular organizer, fibrotic biomarker or molecular target for anti-fibrotic therapy in SSc? // Rheumatology (Oxford). 2008. V. 47. Suppl. 5. P. v8–v9.
- Chen C.C., Lau L.F. Functions and mechanisms of action of CCN matricellular proteins // Int. J. Biochem. Cell Biol. 2009. V. 41. P. 771–783.
- Chen S., McLean S., Carter D.E. et al. The gene expression profile induced by Wnt 3a in NIH 3T3 fibroblasts // J. Cell. Commun. Signal. 2007. V. 1. P. 175–183.
- Chen Y., Abraham D.J., Shi-Wen X. et al. CCN2 (connective tissue growth factor) promotes fibroblast adhesion to fibronectin // Mol. Biol. Cell. 2004. V. 15. P. 5635–5646.
- Cicha I., Goppelt-Strube M. Connective tissue growth factor: context-dependent functions and mechanisms of regulation // Biofactors. 2009. V. 35. P. 200–208.
- Colwell A.S., Krummel T.M., Longaker M.T. et al. Fetal and adult fibroblasts have similar TGF-beta-mediated, Smad-dependent signaling pathways // Plast. Reconstr. Surg. 2006. V. 117. P. 2277–2283.
- Dammeier J., Beer H.D., Brauchle M. et al. Dexamethasone is a novel potent inducer of connective tissue growth factor expression. Implications for glucocorticoid therapy // J. Biol. Chem. 1998. V. 273. P. 18185–18190.
- Du J., Klein J.D., Hassounah F. et al. Aging increases CCN1 expression leading to muscle senescence // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 2014. V. 306. P. C28–C36.
- Gao R., Brigstock D.R. Connective tissue growth factor (CCN2) induces adhesion of rat activated hepatic stellate cells by binding of its C-terminal domain to integrin $\alpha(v)\beta(3)$ and heparan sulfate proteoglycan // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 8848–8855.
- Gunin A.G., Petrov V.V., Golubtzova N.N. et al. Age-related changes in angiogenesis in human dermis // Exp. Gerontol. 2014. V. 55. P. 143–151.
- Hall-Glenn F., De Young R.A., Huang B.L. et al. CCN2/connective tissue growth factor is essential for pericyte adhesion and endothelial basement membrane formation during angiogenesis // PLoS One. 2012. V. 7. e30562.
- Inoki I., Shiomi T., Hashimoto G. et al. Connective tissue growth factor binds vascular endothelial growth factor (VEGF) and inhibits VEGF-induced angiogenesis // FASEB J. 2002. V. 16. P. 219–221.
- Kapoor M., Liu S., Huh K. et al. Connective tissue growth factor promoter activity in normal and wounded skin // Fibrogenesis Tissue Repair. 2008. V. 1. P. 3.
- Kim K.H., Park G.T., Lim Y.B. et al. Expression of connective tissue growth factor, a biomarker in senescence of human diploid fibroblasts, is up-regulated by a transforming growth factor-beta-mediated signaling pathway // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2004. V. 318. P. 819–825.
- Kubota S., Takigawa M. CCN family proteins and angiogenesis: from embryo to adulthood // Angiogenesis. 2007. V. 10. P. 1–11.
- Markiewicz M., Nakerakanti S.S., Kapanadze B. et al. Connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) mediates

- angiogenic effect of S1P in human dermal microvascular endothelial cells // *Microcirculation*. 2011. V. 18. P. 1–11.
- Nishida T., Kubota S., Fukunaga T. et al.* CTGF/Hcs24, hypertrophic chondrocyte-specific gene product, interacts with perlecan in regulating the proliferation and differentiation of chondrocytes // *J. Cell. Physiol.* 2003. V. 196. P. 265–275.
- Quan T., He T., Kang S. et al.* Connective tissue growth factor: expression in human skin in vivo and inhibition by ultraviolet irradiation // *J. Invest. Dermatol.* 2002. V. 118. P. 402–408.
- Safadi F.F., Xu J., Smock S.L. et al.* Expression of connective tissue growth factor in bone: its role in osteoblast proliferation and differentiation in vitro and bone formation in vivo // *J. Cell. Physiol.* 2003. V. 196. P. 51–62.
- Shi-Wen X., Leask A., Abraham D.* Regulation and function of connective tissue growth factor/CCN2 in tissue repair, scarring and fibrosis // *Cytokine Growth Factor Rev.* 2008. V. 19. P. 133–144.
- Smerdel-Ramoya A., Zanotti S., Stadmeier L. et al.* Skeletal overexpression of connective tissue growth factor (ctgf) impairs bone formation and causes osteopenia // *Endocrinology*. 2008. V. 149. P. 4374–4381.
- Suzuma K., Naruse K., Suzuma I. et al.* Vascular endothelial growth factor induces expression of connective tissue growth factor via KDR, Flt1, and phosphatidylinositol 3-kinase-akt-dependent pathways in retinal vascular cells // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. P. 40725–40731.

Connective Tissue Growth Factor (CTGF) in the Human Dermis through Ontogenesis

O. V. Vasilieva, N. N. Golubtzova, F. N. Filippov, and A. G. Gunin

Moscovskii pr. 15, Cheboksary, 428015 Russia

e-mail: histol@mail.ru

Received March 10, 2015; in final form, October 18, 2015

Connective tissue growth factor (CTGF) was examined in the structures of dermis of humans with different ages, from 20 weeks of pregnancy to 85 years. By immunohistochemistry, the fibroblasts and blood vessels positively stained for CTGF were observed in the dermis of all examined ages. An age-dependent increase in the percent of the fibroblasts and blood vessels positively stained for CTGF in the dermis was observed. A statistically significant negative correlation was found between the age-dependent changes in the total number of fibroblasts, percent of the fibroblasts with positive staining for proliferating cell nuclear antigen, and portion of the fibroblasts with positive staining for CTGF. Another statistically significant negative correlation was found between the age-dependent changes in the number of blood vessels and portion of the blood vessels with a positive staining for CTGF. The results suggest that CTGF has an inhibitory influence on the angiogenesis and fibroblast renewal in the human dermis through ontogenesis.

Keywords: dermis, ontogenesis, fibroblasts, blood vessels, connective tissue growth factor