

异种去细胞真皮基质在体内转归的初步研究

刘强 冯瑞 孟爱华 贺立新 杨红明 柴家科

【摘要】 目的 初步研究异种(猪)去细胞真皮基质在体内的转归。方法 经曲通(Triton)X-100、胰蛋白酶处理得到异种(猪)去细胞真皮基质后,将其包埋于SD大鼠皮下,于术后1、2、4、6、8、12、16、20和30周观察异种(猪)去细胞真皮基质的大体形态及组织学变化。结果 制备的异种(猪)去细胞真皮基质去细胞成分,胶原纤维排列有序,基底膜结构完整。大体观察异种(猪)去细胞真皮基质原始形态随时间延长而逐渐模糊,组织学观察异种(猪)去细胞真皮基质1周以炎性细胞浸润为主,以后成纤维细胞、毛细血管逐渐增多,真皮胶原排列逐渐规则、致密。结论 异种(猪)去细胞真皮基质可在体内作为支架长期存在,并可诱导自身成纤维细胞及毛细血管有序长入。

【关键词】 异体皮肤; 猪; 去细胞真皮; 基底膜; 胶原

Preliminary study on outcome of xenogeneic (porcine) acellular dermal matrix in vivo LIU Qiang*, FENG Rui, MENG Ai-hua, HE Li-xin, YANG Hong-ming, CHAI Jia-ke. * Department of Burns and Plastic Surgery, Youanmen Hospital, Beijing 100054, China

【Abstract】 **Objective** To investigate the outcome of xenogeneic (porcine) acellular dermal matrix in vivo. **Methods** Xenogeneic (porcine) acellular dermal matrix was prepared by removing cellular components with trypsin and triton X-100 and was embedded under the skin of SD rat. Gross and histological changes were observed periodically. **Results** There was no cellular components but with intact basal membrane, and collagen was found to have a regular arrangement in xenogeneic (porcine) acellular dermal matrix. Grossly, the xenogeneic (porcine) acellular dermal matrix was found to disintegrate gradually. Histological examination revealed that xenogeneic (porcine) acellular dermal matrix was mainly infiltrated by inflammatory cells in one week after implantation. After one week, fibroblasts and capillary vessel increased in number gradually, and collagen began to arrange densely in regular manner. **Conclusion** Xenogeneic (porcine) acellular dermal matrix disintegrates gradually after transplantation, inducing growth of fibroblasts and capillaries.

【Key words】 xenogeneic; porcine; acellular dermal matrix; basal membrane; collagen

异体去细胞真皮(alloderm)是一种永久性真皮替代物,自问世以来广泛用于烧伤整形专业。由于其价格昂贵且异体皮来源有限,目前异种去细胞真皮基质已成为研究热点^[1-3],但是其在体内的转归鲜有报道。本实验中将异种(猪)去细胞真皮基质埋于SD大鼠皮下,定期观察其大体及组织学变化,初步研究其在体内的转归。

1 材料与方法

1.1 异种(猪)去细胞真皮基质的制备:取50 kg左右无皮肤疾病的健康白色家猪,活杀,剃毛洗净皮肤,剥下大张全厚皮,用鼓式取皮刀反削为厚0.3~0.4 mm的断层皮片,用质量分数为0.25%的胰蛋白酶消化30 min,然后用体积分数为0.5%的曲通

(Triton)X-100浸泡,持续震荡24 h以进一步去除细胞成分,体积分数为0.5%的戊二醛浸泡10 min,洗必泰溶液浸泡消毒30 min后,用磷酸盐缓冲液(PBS)洗净,皮肤拉网机拉网,含庆大霉素的PBS充分浸泡洗涤,4℃保存。

1.2 微生物学监测:异种(猪)去细胞真皮基质制备结束后,留取标本置37℃营养肉汤中培养24 h,取肉汤样本于血琼脂平板上画线,37℃培养24 h,观察有无细菌污染,有细菌污染则弃之,无细菌污染则继续培养24 h,同时取储存液作微生物学监测。

1.3 动物模型:健康SD大鼠54只,雌雄不限,体重(205±15)g。用体积分数为3%的戊巴比妥钠50 mg/kg腹腔麻醉,背部剃毛,碘酒、乙醇消毒后切开皮肤、皮下组织至深筋膜,向两侧分离皮下组织,植入约3 cm×3 cm的异种(猪)去细胞真皮基质,用3-0缝合线将其固定于肌层,缝合皮肤。无菌敷料覆盖包扎,定期换药。术后实验鼠单笼饲养。术后1、2、4、6、8、12、16、20和30周任选6只大鼠切开皮肤观察,并取组织行组织学观察。

基金项目:首都医学发展科研基金重点项目(2002-2036)

作者单位:100054 北京,右安门医院创伤科(刘强,孟爱华,贺立新);100037 北京,解放军总医院第一附属医院(原解放军第三〇四医院)全军烧伤研究所(冯瑞,杨红明,柴家科)

作者简介:刘强(1976-),男(汉族),山东莱芜人,医学硕士,主治医师,主要从事烧伤创面替代物的研究,已发表论文10余篇。

2 结果

2.1 异种(猪)去细胞真皮基质的物理特性以及组织学特点:制备好的去细胞真皮基质呈瓷白色,表皮面有光泽,柔软,有弹性,易于塑型,便于手术操作。苏木素-伊红(HE)染色证实无表皮,真皮内无任何细胞成分、皮肤附件及血管,胶原纤维排列规则。免疫组化兔抗人抗层粘连蛋白抗体(Laminin 抗体, Sigma公司)染色证实有完整的基底膜结构。

2.2 微生物学监测:所有异种(猪)去细胞真皮标本及储存液微生物学监测均为阴性。

2.3 大体观察:术后 1 周,植入的异种(猪)去细胞真皮基质与创面黏附紧密,不易剥离(彩色插页图 1A)。术后 4 周,异种(猪)去细胞真皮基质与创面黏附牢固,逐渐转红。术后 8 周,新生组织填充于异种(猪)去细胞真皮基质的网孔间及其周围,轮廓清楚(彩色插页图 1B)。术后 12 周,仍可见植入的异种(猪)去细胞真皮基质轮廓模糊,与周围组织无明显界限。术后 20 周,仍可见异种(猪)去细胞真皮基质的轮廓(彩色插页图 1C)。术后 30 周,异种(猪)去细胞真皮基质轮廓模糊,可见整片鲜红色的新生组织(彩色插页图 1D)。

2.4 组织学观察:术后 1 周,异种(猪)去细胞真皮基质被大量的炎性细胞浸润,以单核细胞和中性粒细胞为主,成纤维细胞较少(彩色插页图 2A)。术后 2 周,炎性细胞浸润逐渐减少,成纤维细胞逐渐增多,并可见新生的毛细血管。术后 4 周,成纤维细胞及新生毛细血管明显增多,胶原纤维排列尚不规则,仍可见少量炎性细胞(彩色插页图 2B)。术后 8 周,仍可见较多的成纤维细胞及新生毛细血管,毛细血管垂直于创面生长(彩色插页图 2C)。术后 12 周,成纤维细胞及毛细血管逐渐减少,基本无炎性细胞浸润,胶原纤维排列规则、致密。术后 16 周,胶原纤维排列更加规则、致密(彩色插页图 2D)。术后 20 及 30 周与术后 16 周相比,均无明显变化。

3 讨论

真皮成分在创面愈合过程及愈合后的瘢痕调控中都具有极其重要的作用。异体/异种去细胞真皮基质经过物理方法及化学方法处理,去除了皮肤内可引起免疫反应的细胞成分,是一种较为理想的真皮替代物。有关去细胞真皮基质在体内的转归鲜有报道。姜笃银等^[4]将健康小猪中厚皮经胰蛋白酶和 TritonX-100 等去细胞处理后,制作成交联和未交联型的异种(猪)去细胞真皮基质,通过动物和临床实验发现,交联型异种去细胞真皮基质能减缓早期

免疫反应,提高复合皮的移植效果,但仍避免不了迟发性异种排斥反应。本实验中经 30 周连续大体与组织学观察发现,术后早期异种(猪)去细胞真皮基质被炎性细胞浸润,以单核细胞为主,后期炎症反应逐渐减轻,未发现明显的局部免疫排斥反应。

有报道植入体内的去细胞真皮基质会被宿主细胞逐渐吸收^[5]。本实验中经 30 周连续大体观察发现,最初植入体内的去细胞真皮基质轮廓清晰,与创面基底黏附牢固,随时间推移,轮廓逐渐模糊,30 周时已被宿主新生组织包裹,其网孔间隙填充了新生组织,但仍可见去细胞真皮基质的模糊轮廓。由此可见,去细胞真皮基质在体内可被吸收一部分,但能否全部被吸收还有待于更长时间的追踪实验。

另外,去细胞真皮基质还有调节诱导宿主细胞长入的作用。Eppley 等^[6]将单层去细胞真皮基质移植到幼兔耳部,发现术后去细胞真皮基质再血管化迅速,14 d 后基本完全血管化。Wainwright^[7]报告将异体去细胞真皮和自体皮用于全厚皮肤烧伤,镜下证实宿主细胞长入异体去细胞真皮并使其再血管化,可建立牢固的表皮-真皮连接。本结果与之相似。说明异种(猪)去细胞真皮基质可诱导宿主成纤维细胞及毛细血管有序长入,并可改造新生的真皮基质,使胶原纤维排列更加规则。当然,有关新生胶原的亚型及其比例是否接近正常皮肤,还有待于进一步验证。

参考文献:

- 1 柴家科,盛志勇.进一步重视大面积深度烧伤皮肤替代物的研究[J].中华烧伤杂志,2002,18:73-74.
- 2 刘强,柴家科,杨红明,等.异种(猪)无细胞真皮基质与自体微粒皮复合移植修复深度烧伤创面的实验研究[J].中国危重病急救医学,2004,16:77-80.
- 3 马忠锋,柴家科,杨红明,等.不同方法制备猪脱细胞真皮基质及创面移植的实验研究[J].中国危重病急救医学,2005,17:92-94.
- 4 姜笃银,陈曦,徐明达,等.异种脱细胞真皮基质的制作和临床应用观察[J].中华烧伤杂志,2002,18:15-18.
- 5 Srivastava A, De Sagun F Z, Jennings L J, et al. Use of porcine acellular dermal matrix as a dermal substitute in rats [J]. Ann Surg, 2001, 233:400-408.
- 6 Eppley B L. Experimental assessment of the revascularization of acellular human dermis for soft-tissue augmentation [J]. Plast Reconstr Surg, 2001, 107:757-762.
- 7 Wainwright D J. Use of an acellular allograft dermal matrix (alloderm) in the management of full-thickness burns [J]. Burns, 1995, 21:243-248.

(收稿日期:2005-08-27 修回日期:2005-12-20)

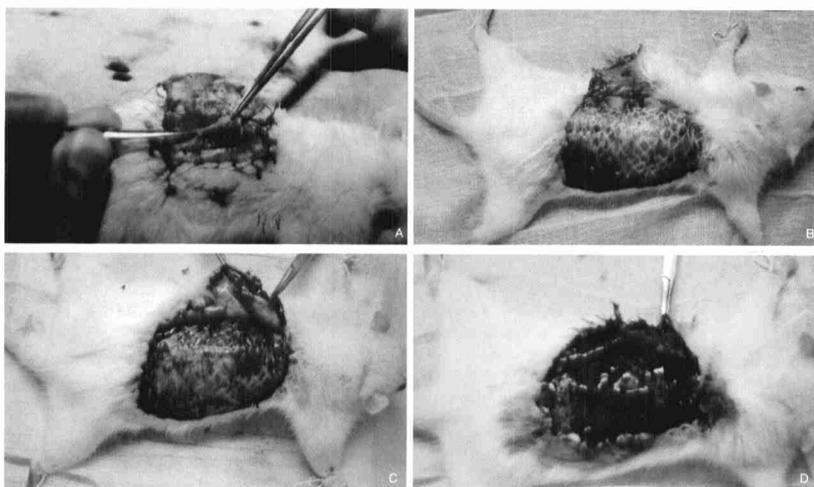
(本文编辑:郭方)

• 广告目次 •

- ① 珠海丽珠:丽珠血液灌流器 (封二)
- ② 天津红日:血必净 (封三)
- ③ 索诺声有限公司:便携式彩超 (封底)

异种去细胞真皮基质在体内转归的初步研究

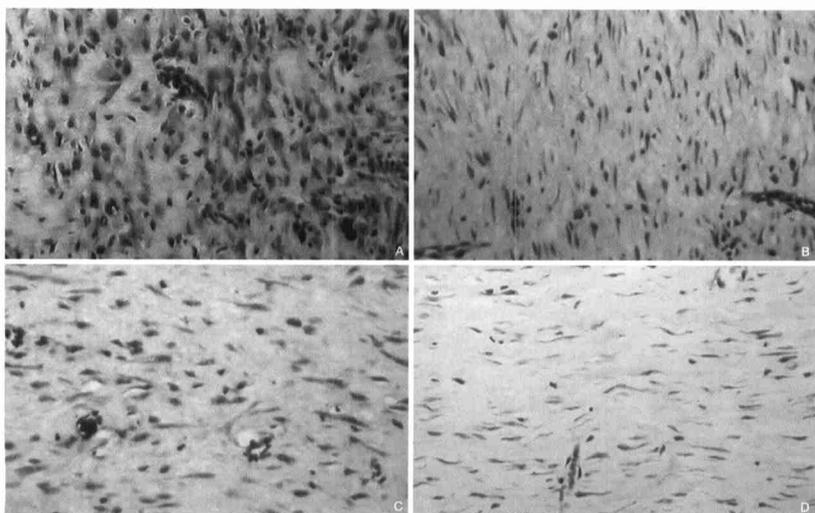
(正文见49页)



A: 术后1周; B: 术后8周; C: 术后20周; D: 术后30周

图1 术后不同时间异种(猪)去细胞真皮基质的大体观察

Figure 1 Appearance of xenogeneic (porcine) acellular dermal matrix at different time after graft



A: 术后1周; B: 术后4周; C: 术后8周; D: 术后16周

图2 术后不同时间异种(猪)去细胞真皮基质的组织学观察(HE, ×200)

Figure 2 Pathological appearance of xenogeneic (porcine) acellular dermal matrix at different time after graft (HE, ×200)