DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.24.037
第26卷第24期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 24
2004年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2004

文章编号:1000-5404(2004)24-2269-02

综述

天然真皮支架抗原性研究进展

Advances in studies of antigenicity of natural dermal framework

杨燕妮 综述,彭代智,伍素华 审校 (第三军医大学西南医院全军烧伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400038)

为大面积创伤寻找理想的永久创面覆盖物一直是外科研究的热点。天然真皮支架作为一种生物创面覆盖物及自体真皮修复的模板,其复杂的三维胶原结构的完整保留使之具有其它人工创面覆盖物所不可比拟的优点[1]。然而排斥反应是限制其使用的主要障碍。现就其研究进展综述如下。

1 天然真皮支架在创伤修复中的作用

天然真皮支架主要由以胶原蛋白为主的细胞外基质组成,用于同种异体移植已广为接受。与人工真皮支架相比,天然真皮支架在创伤修复中的重要作用主要体现在两个方面。

其一,天然真皮的支架结构更有利于创伤修复。天然真皮支架主要取材于尸体皮或猪皮,经处理后仍保持其完整复杂的三维结构,且具有良好的组织相容性,为成纤维细胞提供良好的支架,有利于成纤维细胞对其胶原成分的改建。

其二,天然真皮支架作为真皮替代物,其成分较人工真皮更为复杂。这些细胞外基质成分如基底膜、透明质酸等已被证实在同种异体移植皮肤重建过程中具有重要作用,可提高培养表皮膜片或自体刃厚皮的移植成活率,增强创面愈合后皮肤弹性、柔韧度及机械耐磨性同时减少瘢痕增生及控制挛缩[2]。

胶原是真皮结缔组织的主要结构成分。正常人皮肤的真皮胶原是由胶原束组成的复杂的三维结构,其损伤后的愈合只能由瘢痕取代而不能像表皮一样通过再生愈合。瘢痕是由非正常沉积的细胞外基质形成。烧伤创面愈合后的瘢痕中胶原的主要成分Ⅰ型和Ⅲ型胶原构成比改变。在正常皮肤中,其比率约为4∶1,而在瘢痕疙瘩和肥厚性瘢痕组织,它们的比率可降至2∶1[3]。

人们对完整真皮胶原基质重要性的认识源于对冻伤的研究,冻伤的愈合快于热烧伤且无瘢痕沉积。组织学研究比较,前者细胞外基质保存完整而后者受到破坏。这表明细胞外基质及其正常的三维结构在预防瘢痕形成中具有重要意义。使用生物皮作为创面覆盖物,其正常复杂的三维胶原结构的完整保留具有其它人工创面覆盖物所不可比拟的优点,但排斥反应是限制其使用的主要障碍。

2 天然真皮支架的抗原性

目前研究表明,与天然真皮支架抗原性相关的成分主要包括细胞相关性抗原及细胞外基质成分。

2.1 真皮中细胞相关性抗原

研究表明,异体/异种皮中的细胞成分是引起免疫反应的主要原因,特别是表皮中的角质形成细胞、郎罕细胞等是导致移植皮肤排斥反应的最主要原因。其次,真皮中也存在真皮树突状细胞、巨噬细胞、血管内皮细胞、淋巴细胞等免疫相关细胞。树突状细胞、巨噬细胞及真皮内皮细胞的抗原提呈作用已十分明确,但同种异体真皮中成纤维细胞是否具有此能力存有争议;研究证明,内皮细胞和成纤维细胞在IFN-γ存在时能被诱导表达MHCⅡ类抗原。而IFN-γ水平在烧伤创面表达增高已得到证实,这提示极有可能诱导内皮细胞和成纤维细胞表达MHCⅡ类抗原。大量研究表明,去除皮肤内的所有细胞成分,即制备无细胞真皮(acellular dermal matrix, ADM),可使真皮的免疫原性大大降低而保留其完整的三维胶原结构。但无论哪种方法制备的ADM均有不同程度的细胞相关性抗原成分残留。

2.2 真皮细胞外基质的抗原性

ADM的应用在同种异体移植中取得了满意的效果[1,4-7],同种异体ADM移植不会导致特异性免疫排斥反应[6],移植效果理想,能支持成纤维细胞浸润、血管化、加强表皮真皮连接及创面愈合且移植后稳定性好。

然而,研究表明,异种ADM抗原性明显强于同种异体ADM,主要表现在:异种ADM比同种ADM移植物成活率降低且收缩明显,组织学研究证实异种ADM组织中有广泛的炎症反应及胶原结构破坏,而同种异体ADM仅呈现慢性炎症过程。

对异种ADM抗原性来源的研究较少,目前主要有两种推测:一是认为残余的基底板成分如Ⅳ型胶原和层粘蛋白可能是异种ADM的主要抗原物质[6]。二是推测异种ADM天然胶原分子的羧基末端和氨基末端明显的种属差异是异种ADM和同种异体ADM存在不同炎症免疫反应的原因[8]。

DeSagun等[6,9]在对Dispase-TritonX100法制备的异种ADM移植研究中,观察到短期的急性炎症反应及长期存在的体液和细胞免疫反应。其研究表明,异种猪ADM移植至大鼠能支持其上的自体皮片成活,但创面愈合质量明显差于同种异体移植,成活率明显降低且收缩严重。术后1个月异种移植创面组织切片炎症反应强烈,并少见完整的肥大细胞,表明激发了肥大细胞脱颗粒反应。受体鼠血清与猪ADM匀浆的免疫反应强阳性,且受体鼠抗血清与猪ADM免疫组化实验证实在真皮乳头和基底板处反应最强。异种ADM移植后出现强烈的针对异种抗原的体液和细胞免疫,提示细胞外基质也可能是异种抗原

作者简介:杨燕妮(1970-),女,湖北省宜都市人,硕士,主管护师,主要从事创面愈合与修复方面的研究。电话:(023)68754471

收稿日期:2003-10-13;修回日期:2003-12-08

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

性的，而ADM的主要成分Ⅰ型胶原和Ⅲ型胶原与其抗血清不发生反应，推测单纯的异种Ⅰ型胶原网可能免疫原性较低，而残余的基底板成分如Ⅳ型胶原和层粘蛋白可能有较强的抗原性，是异种ADM排斥的主要原因。Wang等[10]移植经刀去表皮-胰蛋白酶处理的同种异体和异种(猪)真皮至大鼠创面，术后1月的组织学观察表明，异种真皮诱导产生比较强烈的区域免疫反应，4个月后，异种真皮纤维化或由鼠胶原取代。但其研究同时也发现，无论是同种异体或异种真皮支架均能提高大鼠自体刃厚皮移植的成活率并降低创面收缩率，且二者比较无统计学差异。但该研究未作系统的免疫学研究。国内吴秋合等[11]研究发现，戊二醛交联的异种ADM，其抗原性显著降低，移植1周后存在急性炎症反应，4周基本消失，说明其仍具有一定的免疫原性，推测其免疫排斥反应主要是异种蛋白引起。

3 天然真皮支架的制备方法对其抗原性的影响

早期研究应用的天然真皮支架制备方法有胰蛋白酶消化法、反复冻融法和平衡盐浸泡法。目前应用较多的天然真皮支架制备方法包括胰蛋白酶/去污剂法[1,10]、Dispase-TritonX100法[1,12]、高渗盐-SDS法[4,13]、高渗盐-胰蛋白酶法[11]等。制备方法对ADM抗原性产生影响主要体现在2个方面：其一，不同处理方法对细胞相关性和细胞外基质抗原成分去除程度；其二，戊二醛交联对抗原决定簇的封闭效应。

多项试验及临床研究表明，高渗盐-SDS法和Dispase-TritonX100法能有效去除表皮及真皮内完整细胞但能保留其基底膜成分。有研究将人尸皮用高渗盐(1MNaCl)浸泡去除表皮，然后用去污剂SDS进一步去除真皮内细胞成分，最后冻干保存，其终产品AlloDerm无完整的细胞存在，具有正常的真皮胶原结构且含有基底膜，现已广泛应用于烧伤创面，取得了较理想效果[4]。

有研究提示[1,13]，在同种异体移植中，Dispase-TritonX100法制备ADM支持创面愈合的效果可能优于其它方法制备的ADM。Walter等[13]对高渗盐-SDS法和Dispase-TritonX100法制备的人ADM的结构成分包括数种细胞相关抗原及细胞外基质成分进行了较为全面的评价，认为高渗盐-SDS法制备ADM中大多数抗原的保存量均大于Dispase-TritonX100 ADM，其中laminin和Ⅶ型胶原量差异最大。其次，Ⅳ型胶原、纤维连接蛋白、弹力蛋白和HLA-DR等的差异也较大。这导致前者更易支持角质形成细胞的粘附和增殖但与此同时在创面移植中其免疫原性也可能更强。

姜笃银等[14]采用胰蛋白酶、dispase和高渗盐与去污剂联合处理制备ADM，均能使其细胞相关抗原HLA－ABC，HLA－DR，vimentin，desmin，actin，F Ⅷ RA，cytokeratin和细胞外基质成分HA fibronectin，laminin，Ⅳ型胶原，及Ⅰ、Ⅲ、Ⅶ型胶原等抗原成分明显减少，细胞全部消失，但仍存有相当数量的Ⅰ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅶ型胶原和Laminin。各种方法制备的ADM抗原强弱比较：高渗盐－去污剂＞Dispase－去污剂＞胰蛋白酶－去污剂。戊二醛可使蛋白质中的氨基酸相互交联，封闭移植物的抗原决定簇，从而降低其抗原性。Oliver等报道经胰蛋白酶处理，戊二醛交联稳定的同种异体或异种真皮移植后不发生排斥。瑞金医院吴秋合[11]等研究也表明，经高渗盐去表皮-戊二醛交联-胰蛋白酶处理的异种(猪)ADM其抗原性显著降低，移植后不发生排斥。而姜笃银等[8,14]认为，戊二醛交联型ADM组织抗原性降低可能是由于产生了蛋白变性或惰性化和细胞营养利用障碍，导致早期血管再生和细胞浸润迟缓而造成的假象，这种异种蛋白降解困难将导致滞后的、强烈的异物巨细胞反应，从而导致部分异种ADM移植失败。

关键词：真皮；细胞外基质；抗原性
中图法分类号：R392.4 文献标识码：A

参考文献：

[1] Takami Y, Matsuda T, Yoshitake M, *et al*. Dispase/detergent treated dermal matrix as a dermal substitute[J]. Burns, 1996, 22(3): 182－190.
[2] 姜笃银，陈 壁，徐明达，等. 复合皮内源性透明质酸含量的变化[J]. 第四军医大学学报，1999，20(5)：379－381.
[3] Si Z, Bhardwai R, Rosch R, *et al*. Impaired balance of type I and type Ⅲ procollagen mRNA in cultured fibroblasts of patients with incisional hernia[J]. Surgery, 2002, 131(3): 324－331.
[4] Munster A M, Smith Meek M, Shalom A. Acellular allograft dermal matrix: immediate or delayed epidermal coverage[J]? Burns 2001, 27(2): 150－153.
[5] Abenavoli F M, Corelli R. About AlloDerm[J]. Plast Reconstr Surg, 2001, 108(7): 2175－2176.
[6] DeSagun E Z, Botts J L, Srivastava A, *et al*. Long-term outcome of xenogenic dermal matrix implantation in immunocompetent rats[J]. J Surg Res, 2001, 96(1): 96－106.
[7] Sclafani A P, Romo T 3rd, Jacono A A, *et al*. Evaluation of acellular dermal graft (AlloDerm) sheet for soft tissue augmentation: a 1-year follow-up of clinical observations and histological findings[J]. Arch Facial Plast Surg 2001, 3(2): 101－103.
[8] 姜笃银，陈 壁，贾赤宇，等. 异种脱细胞真皮基质抗原性的实验研究[J]. 中华烧伤杂志，2003，19(3)：155－158.
[9] Srivastva A, DeSagun E Z, Jennings L J, *et al*. Use of porcine acellular dermal matrix as a dermal substitute in rats[J]. Ann Surg 2001, 233(3): 400－408.
[10] Wang H J, Chen T M, Cheng T Y. Use of a porcine dermis template to enhance widely expanded mesh autologous split-thickness skin graft growth: Preliminary report[J]. J Trauma, 1997, 42(2): 177－182.
[11] 吴秋合，姚 敏，潘银根，等. 异种(猪)脱细胞真皮基质移植后炎症免疫反应的实验研究[J]. 中华整形外科杂志，2002，18(5)：266－268.
[12] Walter R J, Jennings L J, Matsuda T, *et al*. Dispase/triton treated acellular dermal matrix as a dermal substitute in rats[J]. Curr Surg, 1997, 54(5): 371－374.
[13] Walter R J, Matsuda T, Reyes H M, *et al*. Characterization of acellular dermal matrices (ADMs) prepared by two different methods[J]. Burns, 1998, 24(2): 104－113.
[14] 姜笃银，陈 壁，汤朝武，等. 猪与人致敏的淋巴细胞混合培养及其细胞因子检测[J]. 西北国防医学杂志，2002，23(2)：90－93.

(编辑 薛国文)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net