DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.03.042
第23卷第3期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 3
2001年3月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Mar. 2001

文章编号:1000-5404(2001)03-0343-03

论著

兔耳增生性瘢痕的形态学观察与羟脯氨酸含量变化

舒 彬[1],郝林林[1],吴宗耀[2],黄显凯[3],沈 岳[3],袁 纯[1],唐其敏[1] (第三军医大学:[1]附属大坪医院野战外科研究所康复理疗科,重庆 400042;[2]附属西南医院康复理疗科,重庆 400038;[3]附属大坪医院野战外科研究所全军战创伤中心,重庆 400042)

提 要:目的 建立动物增生性瘢痕实验模型,并探讨其胶原代谢特点与形态学变化规律。方法 用圆形钻刀在兔耳腹面产生直径6 mm的全层皮肤缺损创面64个,分别在术后14、21、35、70和98 d进行形态学观察与羟脯氨酸含量测定。结果 术后21 d,76%的创面(45/59)有突出瘢痕形成,术后35 d,瘢痕增生达高峰,厚度平均为2.05 mm,术后70 d,瘢痕变薄,术后98 d,46%的突出瘢痕(11/24)消失;组织学观察示术后21、35 d有大量增殖成纤维细胞和旋涡状排列胶原纤维,术后70、98 d突出瘢痕内成纤维细胞减少,但不规则排列纤维仍存在;术后21 d,瘢痕组织内羟脯氨酸含量增加,显著高于正常兔耳皮肤($P<0.05$),35 d时羟脯氨酸含量约为正常皮肤的3倍,术后98 d的羟脯氨酸含量亦显著高于正常皮肤($P<0.05$)。结论 胶原大量沉积是动物增生性瘢痕的胶原代谢特征;动物正常愈合瘢痕转化为增生性瘢痕发生在术后14~21 d;动物增生性瘢痕形成快,消退亦快。

关键词:增生性瘢痕;耳,兔;胶原;形态学
中图法分类号:R341.7;R619.6 文献标识码:A

Morphological observation and changes of hydroxyproline content in hypertrophic scar of rabbits

SHU Bin, HAO Lin-lin, WU Zong-yao, HUANG Xian-kai, SHEN Yue, YUAN Chun, TANG Qi-min (Department of Physical Medicine and Rehabilitation, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To establish animal model for hypertrophic scar and study the characters of its morphology and collagen metabolism. Methods A total of 64 round wounds (diameter of 6 mm each) with total skin loss were made on the ventral side of rabbit ear using a trephine. Morphology and collagen metabolism of scar wounds were studied at 14, 21, 35, 70 and 98 days after operation, respectively. Results There were 76% elevated scars developed (45/59 wounds) on the ventral side of rabbit ear at 21 days and 46% elevated scars disappeared (11/24) at 98 days after operation. There were numerous fibroblast proliferation and whorl-arranged collagen fibers at 21 and 35 days. The number of fibroblast decreased, but irregular-arranged fibers still presented in the elevated scars at 70 and 98 days after operation. Hydroxyproline content in elevated scars at 21 days was higher than that in normal skin ($P<0.05$), and at 35 days was 3 times as that in normal skin and at 98 days was also markedly higher than that in normal skin ($P<0.05$). Conclusion Excessive deposition of collagen is a characteristic of hypertrophic scar in rabbits. The conversion of normal scarring to hypertrophic scarring in rabbits occurs at 14~21 days after operation. Both development and regression of hypertrophic scar in rabbit are quicker than that in human.

Key words: hypertrophic scar; ear, rabbit; collagen; morphology

长期以来,人们一直认为增生性瘢痕是人类特有现象,故至今尚未建立增生性瘢痕的动物模型,以往有关增生性瘢痕的研究主要采用细胞培养技术或将人体瘢痕移植于裸鼠(裸鼠模型)等方法来进行,但这些方法都无法取代增生性瘢痕动物模型的建立。最近国内外学者相继报道兔耳腹面全层皮肤缺损后出现真皮过度增生现象,组织学观察它类似于人体增生性瘢痕[1,2],但关于动物这种真皮增生的胶原代谢特点、形态学变化规律等则不清楚,本实验对此进行研究。

1 材料与方法

1.1 动物创口的建立与处理

8只日本大耳白兔,雌雄不拘,体重2.0~2.5 kg,平均2.35 kg。3%戊巴比妥钠(1.5 mg·kg^{-1}体重)行耳缘静脉麻醉。将麻醉动物固定于手术台上,常规消毒、铺巾,然后用圆形钻刀在兔耳腹面产生4个圆形的、6 mm直径的全层皮肤缺损创面,创面之间相距2 cm以上,避开血管,共作创面64个。术后用酒精敷料包扎创面,并用40万μ单位青霉素肌注,每日1次,连续3 d,以预防感染。动物单笼饲养,自由进食。

1.2 大体观察

肉眼观察创面愈合、瘢痕厚度与颜色等变化,分别在术后14、21、35、70和98 d随机切取5个创缘内组织,进行组织学观察和羟脯氨酸含量测定,取材前用游标卡尺(成都量具刃具股份有限公司)测量瘢痕厚度,精度为0.02 mm。

作者简介:舒 彬(1968-),男,重庆市江津县人,博士,主治医师,讲师,主要从事创伤康复的临床与基础方面的研究,发表论文21篇。电话:(023)68757356

收稿日期:2000-02-23;修回日期:2000-10-15

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

1.3 组织学观察

常规石蜡包埋，4 μm 切片，HE 染色，光镜下观察。

1.4 羟脯氨酸含量测定[3]

取出液氮(－196 ℃)中保存标本，称重，置于水解管中，加入 5 ml 6 mol/L 盐酸，吹氮 30 min，抽真空封管，110 ℃水解 22～24 h，开管后在 100 ℃水浴上蒸发，除去盐酸，定容后用 6300 黄金系统高效氨基酸分析仪(BECKMAN 公司)测定羟脯氨酸含量。

1.5 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用本校数学教研室的 SPMR 统计软件进行 t 检验。

2 结果

2.1 大体观察

创口未愈合前，创缘内可见炎症、结痂和肉芽组织，部分创面出现流脓；术后 14 d，全部创面均瘢痕愈合，愈合创面呈粉红色；术后 21 d，有 45 个创面形成突出瘢痕，占全部创面的 76.3%(45/59)，见图 1A，突出瘢痕的平均厚度为(1.85±0.04) mm(n=45)；术后 35 d，瘢痕继续增厚，平均厚度为(2.05±0.05) mm(n=40)；术后 70 d，瘢痕变薄，颜色普遍变浅，其中 6 个瘢痕消失，颜色恢复正常，余瘢痕的平均厚度为(1.41±0.03) mm(n=29)；术后 98 d，瘢痕继续变薄，在 24 个创面中有 11 个瘢痕完全消失(46%)，余瘢痕的平均厚度为(0.97±0.03) mm(n=13)，见图 1B。



图 1 术后 21(A)、98 d(B)兔耳突出瘢痕的大体观察

Fig 1 Gross appearance of elevated scars at 21(A) and days 98(B) after operation in rabbit

2.2 组织学观察

术后 14 d，可见大量增殖成纤维细胞，有新生血管和炎细胞存在；术后 21、35 d，真皮增厚，有大量增殖成纤维细胞，不规则胶原纤维呈旋涡状或结节状排列，见图 2；术后 70、98 d，突出瘢痕组织内成纤维细胞减少，不规则排列纤维仍存在。

2.3 羟脯氨酸含量测定

术后 14 d，瘢痕组织内的羟脯氨酸含量增加，但与正常皮肤相比无差异，术后 21 d 羟脯氨酸含量明显增加，显著多于正常皮肤(P<0.05)，35 d 时继续增加，约为正常皮肤的 3 倍，术后 70 d 的羟脯氨酸含量略有下降，但显著多于正常皮肤(P<0.001)，术后 98 d 时亦多于正常皮肤(P<0.05)，见表 1。

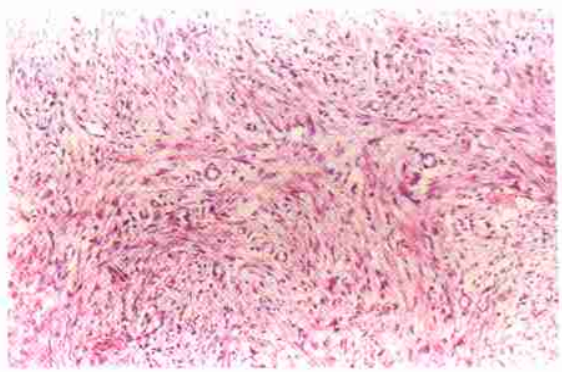


图 2 术后 21 d 兔耳突出瘢痕的组织学观察 (HE×40)

Fig 2 Histological of elevated scars at 21 days after operation in rabbit (HE×40)

表 1 术后不同时间，兔耳瘢痕组织中的羟脯氨酸含量(ω_B/ mg·g^{-1})

Tab 1 Hydroxyproline content of scar tissue at various times after operation (ω_B/ mg·g^{-1})

Normal skin (n=5)	Days after operation				
	14(n=5)	21(n=5)	35(n=5)	70(n=5)	98(n=5)
4.483±0.142	5.826±0.131	10.230±0.225 *	18.785±0.363 **	14.560±0.311 **	7.506±0.141 *

*: P<0.05, **: P<0.001 *vs* normal skin

3 讨论

建立增生性瘢痕的动物模型，对研究创伤早期愈合、正常愈合瘢痕向增生性瘢痕的演变以及评价增生性瘢痕的各种治疗手段等，都具有重要意义。目前国、内外学者广泛采用的裸鼠模型，除具有免疫缺陷外，这种裸鼠模型的瘢痕是来源于人体[4,5]，并非动物自生瘢痕，因此它并非严格意义上的增生性瘢痕动物模型。

1997 年 Morris 等[1] 首次报道兔耳腹面全层皮肤缺损后出现真皮的过度增生，且这种增生在术后 288 d 仍持续存在；1998 年李荟元等[2] 比较了兔耳不同部位(腹面与背面)、不同形状(圆形与方形)以及不同组织结构(全层皮肤与全层皮肤加软骨)缺损后的瘢痕增生形成情况，发现兔耳尤其是兔耳腹面可以产生类似于人增生性瘢痕的病理改变，并认为它有可能成为研究增生性瘢痕的动物模型。本研究采用圆形钻刀在兔耳腹面产生 6 mm 直径的全层皮肤缺损创面，然后在术后不同时间进行形态学观察与羟脯氨酸含量测定，结果示术后 14 d，所有创面均瘢痕愈合，但愈合瘢痕不超过创缘，亦未突出于皮肤表面，组织学观察有大量增殖成纤维细胞、炎细胞；术后 21 d，在 59 个创面中，有 45 个创面内瘢痕突出于皮肤表面，平均厚度为 1.85 mm，组织学观察示突出瘢痕内胶原纤维呈旋涡状或结节状排列。羟脯氨酸含量测定示术后 14 d，创缘内瘢痕组织的羟脯氨酸含量增加，但增加不显著，而术后 21 d，突出瘢痕组织内的羟脯氨酸含量显著增加。由此可

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

见，术后 14～21 d 是动物正常愈合瘢痕转向增生性瘢痕的时期。

人体增生性瘢痕大约在术后或伤后 6～8 周开始形成，6 月内逐渐增大，持续数月，大约在 1 年左右开始消退[6]。本研究发现，动物增生性瘢痕在术后 21 d 开始形成，形成率为 76%(45/59)，术后 35 d 瘢痕增生达高峰，平均厚度约为 2.05 mm，术后 70 d 瘢痕变薄，甚至部分瘢痕完全消失，到术后 98 d(14 周)，在 24 个创面中就有 11 个突出瘢痕完全消失，余瘢痕厚度亦明显变薄，仅为 0.97 mm 左右。此结果表明，与人体增生性瘢痕相比，动物增生性瘢痕形成快，消退亦快。

人体增生性瘢痕的形成机制尚不清楚，一般认为，它是由于成纤维细胞异常增殖，胶原大量合成，导致胶原过度沉积所致[6]。本研究表明术后 21 d 动物突出瘢痕组织内的羟脯氨酸含量显著增加，术后 35 d 增加到正常兔耳皮肤的 3 倍，术后 70、98 d，瘢痕组织内的羟脯氨酸含量亦显著多于正常皮肤，提示胶原大量沉积亦是动物增生性瘢痕的形成特征。

参考文献：

[1] Morris D E, Wu L, Zhao L L, *et al*. Acute and chronic animal models for excessive dermal scarring: quantitative studies[J]. Plast Reconstr Surg, 1997, 100(3): 674－681.
[2] 李荟元，刘建波，兰　海. 建立增生性瘢痕动物实验模型[J]. 第四军医大学学报，1998，19(6)：655－657.
[3] 李玉端. 细胞外基质的生物化学及研究方法[M]. 北京：人民卫生出版社，1988. 216－220.
[4] Shtlar M R, Shetlar C L, Hendricks L, *et al*. The use of athymic nude mice for the study of human keloids[J]. Proc Soc Exp Biol Med, 1985, 179(4): 549－556.
[5] 刘宏亮，吴宗耀. 肥厚性瘢痕移植至裸鼠后的病理学观察[J]. 第三军医大学学报，1994，16(6)：434－436.
[6] 许伟石 主编. 现代烧伤治疗[M]. 北京：北京科学技术出版社，1995. 214－218.

(编辑　汪勤俭)

文章编号：1000-5404(2001)03-0345-01

经验与短篇

慢性髓细胞白血病合并伤寒感染 2 例

Report of 2 cases of chronic myeloid leukemia complicated with typhoid infection

张　勇，张　一军　(第三军医大学附属西南医院血液内科，重庆 400038)

例 1，女性，24 岁，护士。因右小腿瘀斑 1 年余于 1997 年 4 月 29 日入院。无发热、出血。查体：一般情况好。双下肢散在瘀斑。浅表淋巴结不大。胸骨轻压痛。心肺正常。肝脾不大。血象：WBC 126.6×10^9/L，HB 113 g/L，PLT 90×10^9/L。DC：早幼 0.01，中幼 0.08，晚幼 0.24，杆状 0.24，杆状 0.24，分叶 0.39。骨髓：增生极度活跃，粒系增生，原粒 0.01，早幼 0.025，中幼 0.23，晚幼 0.27，杆状 0.25，分叶 0.10，嗜酸 0.035。巨系全片 600 个，胞体小，产板好。NAP 阳性率 65%，积分 115 分。Ph 染色体(－)。Bcr-abl 基因(＋)。诊断为慢性髓细胞白血病。予以三尖杉酯碱、α-干扰素、全反式维甲酸治疗，病情渐好转。6 月 13 日晚突发高热，T 40 ℃，无腹痛、腹泻，血培养两次均为伤寒沙门氏菌，予以环丙沙星、氧哌嗪青霉素治疗半月痊愈。

例 2，男性，67 岁，退休干部。因纳差、乏力 1 年余，加重伴左上腹包块 20 余天于 1999 年 7 月 26 日入院。1953 年普查大便时曾检出血吸虫卵，但一直无临床表现。近来无发热及出血。查体：中度贫血貌。浅表淋巴结不大。胸骨无压痛。心肺正常。脾肋下 25 cm。血象：WBC 38.1×10^9/L，HB 67 g/L，PLT 156×10^9/L。DC：原粒 0.03，早幼 0.04，中幼 0.18，晚幼 0.10，杆状 0.12，分叶 0.24。有核红 1∶100。骨髓：增生活跃，原粒 0.05，早幼 0.06，中幼 0.145，晚幼 0.09，杆状 0.165，分叶 0.195。NAP 阳性率 9%，积分 15 分。Ph 染色体(＋)。诊断为慢性髓细胞白血病。予以三尖杉脂碱、α-干扰素治疗，病情渐好转。8 月 14 日突发寒战、高热，T 41 ℃，无腹痛，有轻度腹泻，血培养两次均为伤寒沙门氏菌，予以头孢哌酮、氨苄青霉素治疗半月痊愈。

讨论

慢性髓细胞白血病(慢性期)合并感染少见。经“中文生物医学文献数据库(1980 年至今)、中文期刊数据库(1989 至今)和 MEDLINE-PubMed 检索未见合并伤寒感染的报道。当出现不明原因发热时一般不应忽视转变为加速期或急变期的可能性[1]。文献[2]报道 1 例急性髓细胞白血病患者血培养出伤寒都柏林沙门菌，复习文献后认为伤寒感染少见而非伤寒感染非常普遍，消化系统以外感染罕见。本 2 例慢性髓细胞白血病患者发生伤寒性败血症，无明显诱因，具备伤寒持续高热(均高热至应用敏感抗生素次日)的特点，但并无玫瑰疹、相对缓脉、表情淡漠等临床表现。提醒医师在慢髓患者发生不明原因发热(Fever of unknown origin，FUO)时应按常规处理，血培养为查明病因必不可少之手段。

关键词：白血病；髓样；慢性；伤寒
中图法分类号：R733.720.6　　文献标识码：B

参考文献：

[1] 陆道培 主编. 白血病治疗学[M]. 北京：科学出版社，1992. 288－292.
[2] Gibson R, Graham S, Lilienfeld A, *et al*. Epidemiology of diseases in adult males with leukemia[J]. J Natl Cancer Inst, 1976, 56(5): 891－898.

(编辑　陈聪连)

作者简介：张　勇(1967－)，男，四川省武胜县人，博士研究生，主治医师，讲师，主要从事白血病的诊断与治疗方面的研究，发表论文 8 篇。电话：(023)68754453

收稿日期：2000-05-24；修回日期：2000-11-15

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