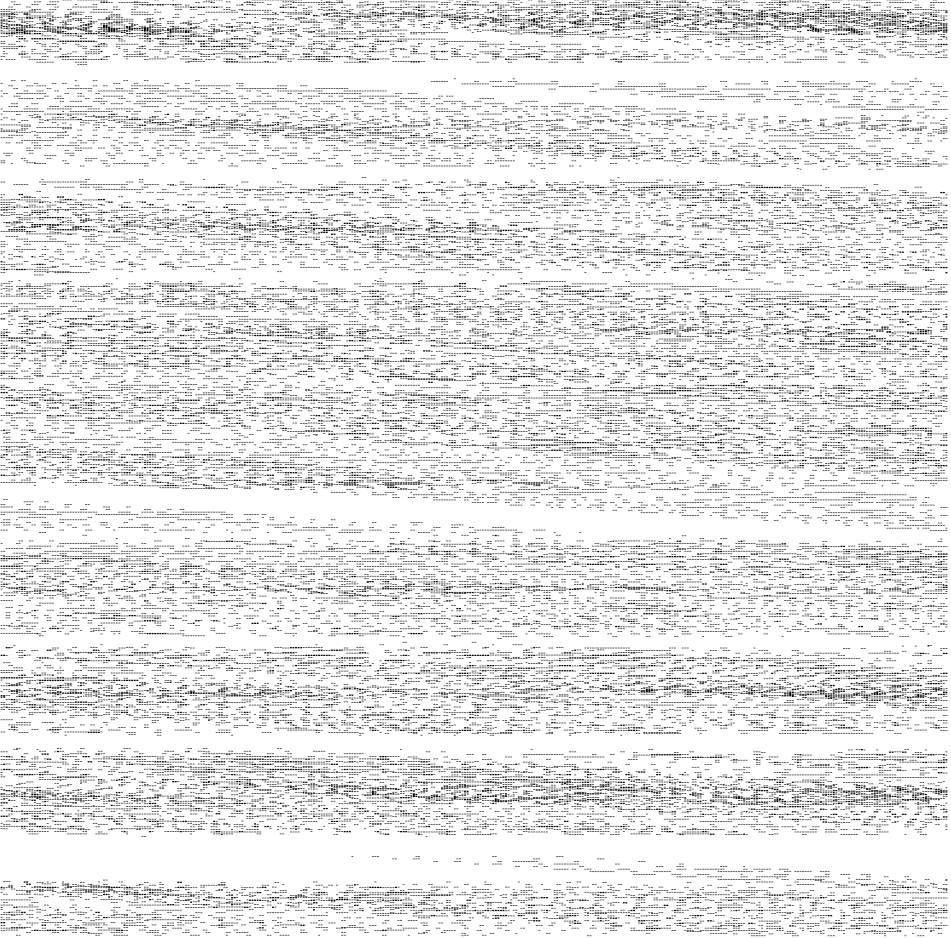
?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



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

3　讨论

近 10 年来，随着生物化学、分子生物学和细胞生物学技术的发展，人们已将胶原广泛应用于医学领域，为解决烧伤后创面覆盖问题提供了新的途径。从人的真皮组织中提取、制备胶原膜，希望利用胶原膜的生物学相容性，探索改进目前单纯培养表皮细胞膜片移植创面后，由于缺乏真皮结构的支持导致：低成功率，愈合后皮片过薄，韧性欠佳等不尽人意之处。

基于纤维母细胞与表皮细胞间的相互作用以及胶原蛋白的生物特性，我们在设计制作复合皮时特别注意以下几点：

3.1　具备人类皮肤的生物特性

以往报道的胶原膜制作，多是依赖于牛、猪等动物的蹄筋或真皮胶原成分[3,4]。虽无明显抗原性，但存在生物属性差异。我们利用人的真皮提取胶原，并有意保留其Ⅰ型、Ⅲ型胶原共存的特点，使制备的生物胶原更容易被人体所接受，有利于表皮细胞的贴附生长及创面毛细血管，非炎性结缔组织长入填充。

3.2　延长胶原膜在体内的骨架效应、控制其降解速度

胶原受体内胶原酶的作用，极易在短时间内降解而失去骨架效应。我们在胶原溶液中添加硫酸-6-软骨素 C，并用低浓度的戊二醛对胶原膦进行分子交联。处理后的胶原膜，力学强度增加，原有的三螺旋结构不变，对体内胶原酶的敏感性降低，为引导非炎性结缔组织的填充，促进创面愈合赢得了时间。

动物试验及组织学检查，均证实胶原膜在体内 14 d 左右仍可辨认。国内王韦等[5]报道经戊二醛交联后，胶原膜可在体内存在 1 个月以上。随时间延长，胶原膜是逐渐被体内胶原酶降解，还是被新生结缔组织，肉芽组织填充所取代，尚需进一步的证实，但重要的是创面被一次性覆盖，而无再次暴露，也不需两次手术治疗。

3.3　可行性与实用性相结合

一个较为理想的创面覆盖物，应具备良好的机械、理化性能和良好的生物学性能，此外还应便于制备，消毒灭菌，能长期贮存。从实用性出发，我们将先移植胶原膜，局部微循环建立后，再移植培养表皮细胞膜片的二次性手术法，改为把纤维母细胞、表皮细胞事先在体外种植在胶原膜的两面，形成复合皮后同期移植。减少制膜步骤，降低胶原膜成本，一次手术即可完成移植程序，容易被临床医生所接受。曾有作者报道，将胶原膜与合成高分子材料（尼龙筛网、聚乙烯膜、聚氨基甲酸乙酯等）共同制作成复合物覆盖烧伤创面，它的主要作用是以生物性敷料促进创面膜下愈合[6]。与之相比，我们研制的复合皮本身参与了创面修复，能够达到培养表皮异体移植创面的效果。同时，冷冻干燥后的胶原膜封入塑料袋，经 ^{60}Co 照射灭菌，既能长期保存又便于携带运输。

动物实验中的前 3 组相比，愈合创面外观无明显差异，组织学发现：植入复合皮组甚至单纯胶原膜移植 15 d 左右创面愈合的同时，可见到新生表皮有毛囊存在。外观创面 25 d 左右亦有鼠毛生长。基底细胞层由平展逐渐变得曲折宛延，形成一些向真皮组织深入的突起。为什么会有这些现象？众所周知，作为异种复合皮，移植于小鼠皮肤缺损创面后，通常短时间内要被排斥。我们所以没看到创面再暴露，原因可能是：①表皮细胞经体外培养后，不但 HLA-Ⅱ类抗原阳性的 Langerhans 细胞消失，而且其它某些与移植排斥反应有关的抗原的表达亦明显减弱，故创面移植后延滞诱发受者的排斥反应[7]。②单纯胶原膜的骨架作用以及具有增殖能力的表皮细胞、纤维母细胞分泌的细胞因子，均起到了促进小鼠自身表皮细胞生长及创面修复的能力。虽然尚不能解释新生表皮下为何有毛囊存在，但复合皮移植物组比自然愈合组更早地发现在新生表皮下出现毛囊这一客观现象提示，胶原膜或复合皮的确有促进创面愈合的积极作用。

我们所观察的移植成活的 7 例病人，均为复合皮异体移植。其中切痂创面，供皮区取皮过深创面各 1 例，肉芽创面 2 例，削痂创面 3 例，观察至两个月左右病人出院未见明显排斥现象。DNA 序列分析证实，移植区活检标本中有供者、受者的 DNA 分子片段同时存在。一年后随访，见移植创面平整，弹性好，皮纹细致，颜色同正常皮肤。国内赵阳兵等[8]曾将男性培养表皮移植在女性烧伤患者创面，利用分子生物学手段，证实 92 d 后仍有男性 Y 染色体特异序列存在。Otto 等[9]用探针原位杂交也证实女性病人移植男性培养细胞后 2.5 年仍可见 Y 染色体序列。Malakhoo 等[10]采用同种异体培养表皮细胞成功地抢救了 3 例深度烧伤

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

面积达50%以上的病人。复合皮异体移植不受烧伤患者自体皮培养时间的限制，也不必等培养细胞融合成片。我们在胶原膜上培养的细胞从4 d到11 d不等，移植后效果相同，提高了择期手术的灵活性。

几例临床活检标本提示，基底层细胞排列由平坦渐出现向真皮组织延伸的皱折。与单纯移植表皮细胞所报导的相比，在单位体表面积内，这种波形起伏的皱折可使表皮与真皮组织的交界面增大，从而增加愈合后的表皮强度。Mackenize 等[11]研究发现，当表皮细胞与含有活性真皮细胞的组织组合时，表皮细胞的成熟状况和空间构成与正常组织相似。进一步研究证实，在真皮细胞存在时移植培养的表皮细胞，即表现为"栏状"组织形态。移植前接种真皮细胞或与真皮层重组，可大大促进表皮细胞的成活。此结果为我们的移植观察提供了佐证。

无论将来移植物的归宿如何(即移植物是长期存活还是逐渐被自体皮所替代)，有一点是比较明确的，人工复合皮异体移植，能够促进创面及早愈合，一次手术即可使创面不再暴露。

参考文献

1 Yannas, IV, Burke JF, Orgill DP *et al*. Wound tissue can utilize a polymeric template to synthesize a functional extension of skin. Science,1982;215:174

2 鈴木茂彦,一色信彦,玉田靖なと.GAG添加コラーゲンとシリコンの二層構造をまつ新しい人工皮膚の作成と使用経験.日形会志,1986;6:221

3 Suzuk S, Matsuda K, Manuguchi T *et al*. Further Applications of bilayer artificial skin. Br J Plast Surg,1995;48:222

4 Boyee ST, Sopp AP, Harriger MD *et al*. Topical nutrients promote engraftment and inhibit wound contraction of cultured skin substitutes in athymic mice. J Invest Dermatol, 1995;104:345

5 王 韦,孙家玲,胡云风等.胶原作为体内支撑材料的研究——戊二醛交联胶原的动物实验.生物医学工程学杂志,1990;7(4):325

6 Tibis MJ, Thornton JW, Bartlett RH *et al*. A new composite skin prothesis. Burns,1980;7:124

7 赵阳兵,赵雄飞,路淑珍等.培养人表皮细胞及其异体移植后血型ABH抗原变化的观察.中华整形烧伤外科杂志,1993;9(1):34

8 赵阳兵,王 旭,路淑珍等.聚合酶链反应与培养表皮细胞异体移植结果的判定.中华外科杂志,1995;33(7)387

9 Otto WR, Nanchahal J, Lu QL *et al*. Suvival of allogeneic in cultured organotypic skin grafts. Plast Reconstr Surg, 1995;96(1):166

10 Malakhoo SF, Paramomou BA, Vasiliev AV *et al*. Preliminary report of the clinical use of cultured allogeneic heralinocytes. Burns,1994;20:463

11 Mackenize IC, Nerbert E. Regeneration of organized epithelial structure. J Invest Dermatol,1983;81(suppl):189S

(收稿:1996-01-02;修回:1996-05-10)

(编辑 冷怀明、汪勤俭)

Study of wound coverage with artificial composite allograft

Wang Xu, Wu Jun, Wang Jiahan, Zhao Yangbin, Lu Shuzhen, Zhao Xiongfei (Research Institute of Burn Injury, Southwest Hosopital. Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract It is in urgent need clinically to look for an ideal substance for the coverage of burn wounds due to shortage of autografts and allografts. Collagen was extracted from cadaver dermis to make a porous membrane and allo-epidermal cells and allo-fibroblasts were seeded on the 2 sides of the collagen membrane respectively to achieve an artificial composite allograft with bio-activity. It was applied to a wound of which the full thickness of the skin was excised in mice. The composite allograft served as the framework to promote wound healing and prevent the wound from reexposure to bacterial invasion. Both general and histomorphological observations showed that this artificial composite allograft has its specific advantages. Preliminary clinical application to burn cases obtaintied a similar results.

Key words collagen membrane; epidermal cell; fibroblast; mouse

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