DOI:10.16016/j.1000-5404.1981.01.007

小　结

用狗29只分为三组，分别以"冲击伤炮管"造成中度至重度冲击伤，以5KW溴钨灯造成15%三度光辐射烧伤，和二者复合的烧冲复合伤。从一般临床观察和实验室检验进行了对比研究。

本法造成的冲击伤，主要为肺、心和听器等内脏冲击伤，临床上主要为中度肺冲击伤的表现，大多数狗经过平稳，仅1/10狗死亡。

15%三度光辐射烧伤，临床经过与一般重度烧伤相似，休克较轻，局部和全身感染较突出，6/9狗相继死于感染。

烧冲复合伤临床经过的主要特点和转归与烧伤相似，同时兼有冲击伤的主要表现，在感染方面显示一定程度的加重。有8/10狗死亡。

参考文献（略）

用抗胸腺细胞血清以延长异种移植皮片的存活

一院临床实验科　赵雄飞　黄文华

烧　伤　科　钟履华

烧伤研究室　杨斯华

摘　要

鉴于同种皮来源困难，烧伤创面的覆盖将更多地采用异种皮。为此，我们开展了用抗胸腺细胞血清（ATS）延长异种移植皮片存活的研究。在植皮前一天开始给小鼠以腹腔注射ATS，并于术后采取间隔注射的方法，每次0.5ml一直持续到术后18天，总剂量为3.5ml（共7次）。可使移植于小鼠背部的大鼠皮存活期明显延长，为对照的2.4倍。从实验中观察到剂量和给予方案对效果有很大影响。若加用氟氢松醋酸酯处理皮片，相互的协同作用，可使移植皮片的存活进一步延长。

用抗淋巴细胞血清类制剂作为免疫抑制剂的方法延长烧伤创面移植皮片的存活期始于1972年。Diethelm[1]用抗胸腺细胞球蛋白（ATG）处理的同种移植皮片救治二例烧伤面积75%以上患儿，其中一例治愈。继之，1975年Burke报道[2]曾以ATG作为延长同种移植皮片存活的措施，使6例严重烧伤患儿（总面积>80%，Ⅲ°>70%）中的4例得以痊愈。

由于同种皮源比较困难，势必更多地采用异种皮片以覆盖烧伤创面，而有关ALS用以延长异种移植物存活的研究至今报道很少。为此，我们用动物实验观察抗胸腺细胞血清(ATS)对延长异种移植皮片存活的作用，以便为临床使用提供参考。

材　料　和　方　法

一、兔抗小鼠ATS的制备

按Levey和Medawar的二次静脉注射法致敏家兔，但每次注射的胸腺细胞量参考Végh等

注：抗淋巴细胞血清　简称ALS　　抗胸腺细胞血清　简称ATS
　　抗淋巴细胞球蛋白　简称ALG　　抗胸腺细胞球蛋白　简称ATG

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

的报告[3]改为 3 ×10^7/Kg，第二次注射后一周以台盼兰染色法进行细胞毒试验以测试效价，高于1:400者放血，将效价接近的血清混合，－20℃冷藏备用。共二批，批号 3 — 1 的效价为1:6400，批号 3 — 8 的效价为1:3200。

部份批号 3 — 1 的血清曾用小鼠红细胞吸收其中的抗红细胞抗体。吸收前后血凝试验的效价分别为1:32和1: 2。吸收后血清的细胞毒效价为1:3200。

二、皮肤移植及观察方法

以小白鼠为受者，体重20克±2克，性别相同或雌雄各半。用戊巴比妥钠麻醉。于胸部背侧中央切除直径 1 厘米左右圆形皮肤后，移植幼年(120克左右)大白鼠腹部皮肤。将创缘修整对合良好后以油纱布、橡皮膏固定。5 天后拆除敷料，每天观察皮片生长情况。以2/3干枯、变黑、变硬或脱落作为排斥标准。部份动物并系统检查血红蛋白、白细胞总数、淋巴细胞绝对值及体重的变化，以观察ATS在体内的免疫抑制效能及其副作用。实验动物均单笼饲养。

三、ATS的使用

ATS均由腹腔注射给予，剂量及给予方案则按实验要求而定。以注射正常兔血清或不加任何处理作为对照，以资比较。

实 验 结 果

一、异种皮片存活期的观察

1．不同剂量和给予方案对延长皮片存活期的作用

二种剂量：0.25ml/次、0.5ml/次。

二种给药方案（均给 7 次）：

连续注射：（以手术日为 0 日）－ 1 、 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 日给药。

间隔注射：－ 1 、 1 、 3 、 5 、 7 、10、14日给药。

以注射正常兔血清作为对照，共 5 组。结果（见表 1 、图 1 ）可见剂量小时，不论何种

表1 不同剂量和给药方案对延长皮片存活的效果

组 别	例 数	皮片存活天数 (平均数±SE)	p值*
正常血清对照组	8	12.88±0.77	—
ATS0.25ml连续注射组	8	16.00±1.41	>0.05
ATS0.25ml间隔注射组	7	16.14±2.02	>0.05
ATS0.5ml 连续注射组	5	16.20±1.20	>0.05
ATS0.5ml 间隔注射组	8	23.88±3.59	<0.025

* t测验（与正常血清组相比较）

给药方案，效果均不佳。剂量加大后，即或是给药次数（总剂量）相同，但给予方案不同结果也不同。只有较大剂量（0.5ml/次），并采用较长的给药方案（间隔注射），可以显著延长皮片存活为正常血清对照组的1.9倍。

2．不同细胞毒效价和血凝效价ATS对异种皮片存活的影响

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

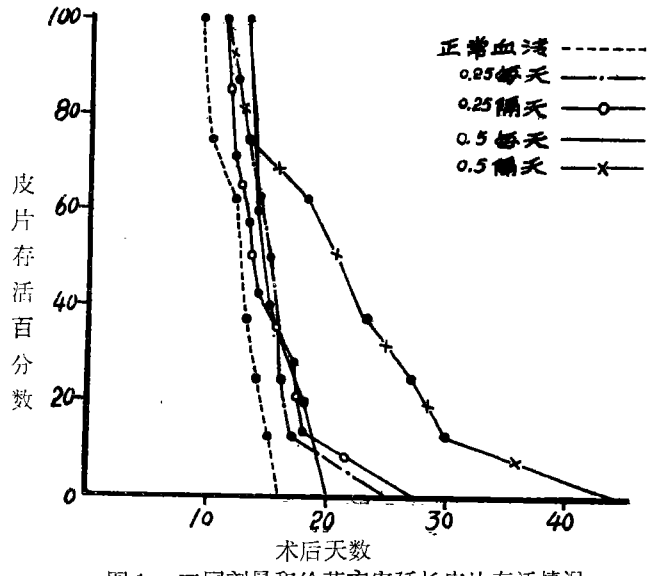


图1　不同剂量和给药方案延长皮片存活情况

ATS均按大剂量间隔给药方案给予，并于术后18天增加一次。实验结果（见表2、图2）

表2　ATS不同制剂对延长皮片存活的效果

组别	例数	皮片存活天数（平均数±SE）	p值*
对照组	7	13.00±1.20	—
正常血清对照组	8	13.75±1.28	—
ATS（3—1）经吸收+	8	33.00±3.67	<0.001
ATS（3—1）未吸收	6	22.33±3.11	<0.005
ATS（3—8）未吸收	7	22.71±3.54	<0.05

* t测验（与正常血清组相比较）

\+ 与（3—1）（3—8）批未吸收组相比较，t测验p值分别为<0.06，<0.07

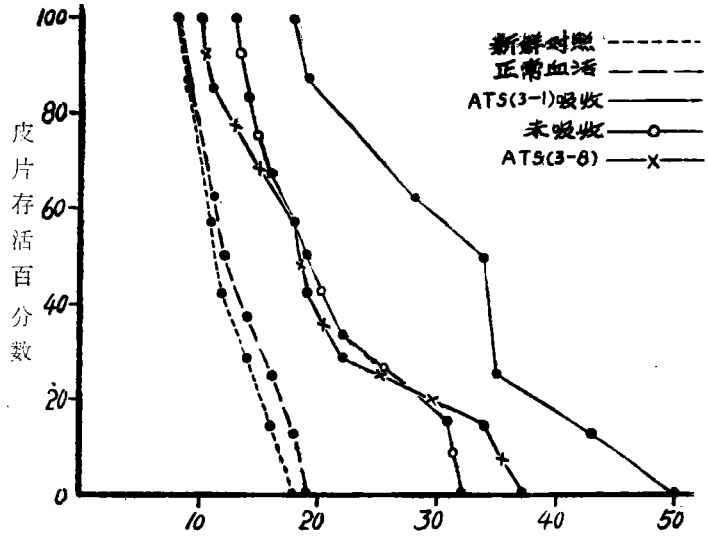


图2　ATS不同制剂延长皮片存活情况

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

与注射正常血清和未经任何处理的对照组相比较，各批血清均能显著延长异种皮片的存活期。以3—1批吸收过的血清效果最佳。存活期平均为对照组的2.4倍，其中最长的一例50天才被排斥。但经统计学处理各批ATS之间差别尚不够显著（$P>0.05$），说明体外测定的细胞毒效价可以作为参考，但不一定能代表体内免疫抑制作用的效能。

3．ATS与氟氢松醋酸酯（FA）处理皮片的协同作用

在上述实验的基础上，移植给经50μg/mlFA溶液浸泡一小时的沟鼠皮，结果皮片存活期进一步延长，为单纯使用ATS组的1.6倍，有显著的协同作用，详见另文报道[4]。

二、移植皮片的变化

在对照动物（包括注射正常兔血清及未给任何处理者）异种皮肤移植后，一般于6～7天开始部份或全部呈暗红色，有散在淤血点，色泽逐渐转深，有的有不同程度的水肿，最后变为紫黑色，干硬而排斥。也有个别皮片由红润转为苍白，然后变为黄、褐色，枯干变硬而排斥。

经使用ATS而延长的皮片，在早期有的也有些暗红或散在淤血点但一般很快转为红润、柔软，淤血点也吸收消失。存活期达20天以上的，通常于16～18天开始见到皮片上长出细绒毛（见表3），并日渐增多增粗。存活43天和50天的二例，毛长约1～1.5厘米，可明显看出比小鼠毛粗硬且长。合并FA处理皮片的实验中供者为沟鼠，毛色呈黄棕色，具沟鼠的特点，因受FA的影响，这种皮片开始长毛时间推迟至21～26天。在排斥前4～5天皮片又转暗红，多数并出现水肿，以后的变化和对照组相似。

表3　异种皮片长毛情况

组　　别	长毛例数/总例数	开始长毛日期	未长毛的皮片存活天数
ATS（3—1）经吸收	7/8	17、16、24、17、16、16、16	19
ATS（3—1）未吸收	3/6	18、21、18	19、16、14
ATS（3—8）未吸收	3/7	16、18、16	18、11、18、19

三、周围血白细胞计数及淋巴细胞绝对值的变化

白细胞计数：

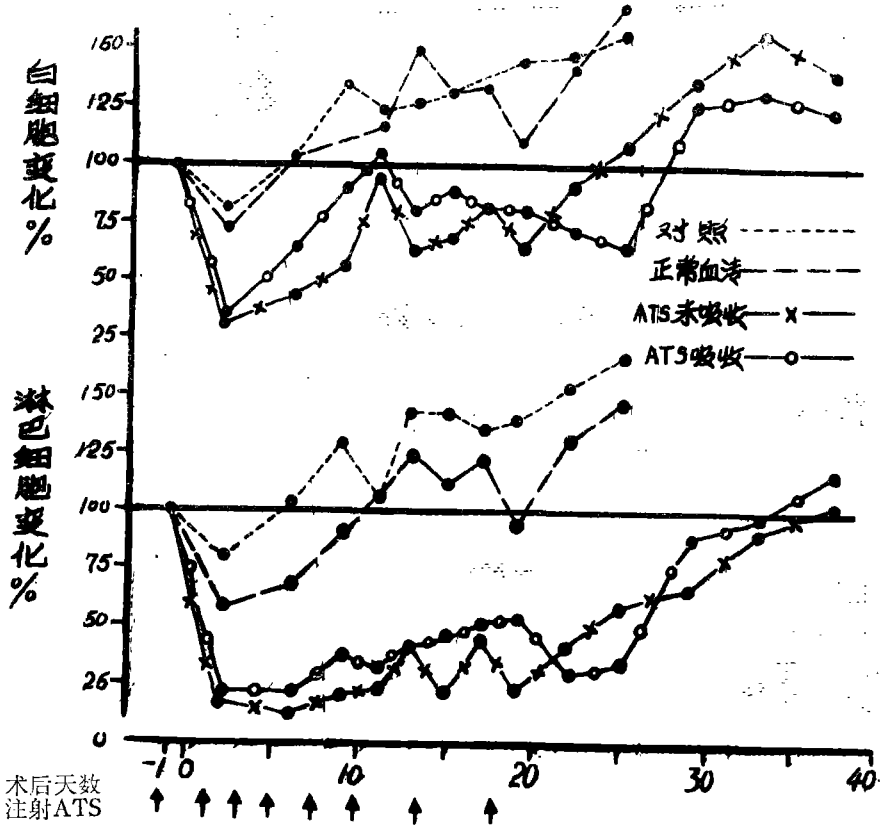
未经处理或给予正常兔血清的对照动物，植皮后有短暂的轻度下降，并很快回升。于术后6天恢复至术前水平，此后则继续增多。至术后25天时增加达术前水平的50%以上（见图3）。

但凡接受ATS者均迅即出现明显下降，术后第二天达最低水平，为用药前的1/3左右。此后呈现波动式缓慢回升。于停用ATS后一周左右方始回至原水平。此后仍继续增高。

淋巴细胞绝对值：

二组对照用的动物，其变化规律与白细胞计数相似。但接受ATS者可使周围血中的淋巴细胞迅速显著下降，术后第二天已只有原水平的20%左右。在整个接受ATS的过程中始终维持此一低水平。停用后仍持续约一周左右方开始回升，二周后才回至用药前水平。对比每次注射前后所测结果来看，有的仅一次注射就可使淋巴细胞明显减少，达术前水平的20%左右。

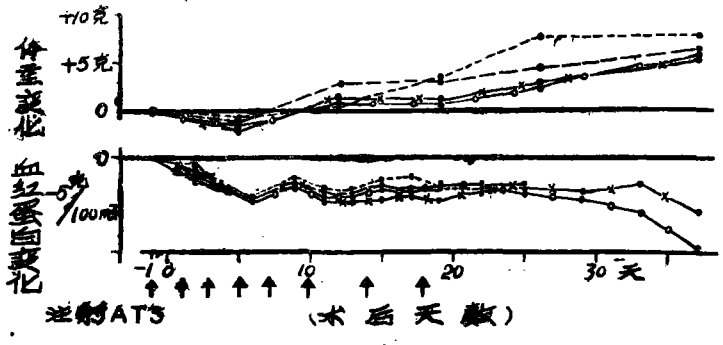
?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.



注：均以术前计数为100%　　图 3　白细胞和淋巴细胞的变化

四、全身情况的变化

各组动物于实验开始后均有短暂的体重轻度下降（见图 4），以后即逐步增加。使用ATS的动物增加虽略缓慢，但与对照动物差别不大。



注：均以术前测定值为 0，图例同图三　　图 4　体重和血红蛋白变化

血清经红细胞吸收前后，血凝效价有明显不同。但在体内，血红蛋白的变化各组间未见明显差别，均较术前平均值为低。

讨　论

对延长烧伤创面皮片移植目前的要求有别于器官移植，只需所植皮片的存活有一定的延

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

长，使有限的自体供皮区可以充分反复利用。本实验结果，可以看到在适当的剂量和给予方案的条件下是可以使异种移植皮片的存活期得到明显延长的。

剂量和给予方案看来对能否取得理想的结果是极关重要的一环。实验结果表明，需要有足够的剂量和用药时间，才能使受者的免疫功能维持于低水平，使移植物的存活得到一定的延长。Kountz等[5]在肾移植的观察中也得出同样的结论。但对于烧伤患者，本身免疫功能，尤其是细胞免疫方面，在伤后受到一定的抑制[6]而且由于创面的存在又面对细菌感染的威胁。因此，对ALS类制剂的使用剂量问题还应取慎重态度。再加上人的个体差异很大，对ALS的反应也不同，故目前有些文献[2][7][8]中强调剂量应因人而异，更提出以E-玫瑰花结试验计数周围血中T细胞数作为调整剂量和给予方案的依据，看来是比较合理的。在我们的实验中虽然未测E-玫瑰花结，但从计数的淋巴细胞绝对值来看，在ATS使用期间始终处于低水平。ATS停用后一周开始回升，至二周后回至用药前水平，这也说明实验中所采用的剂量和间隔给予的方案是可行的。至于皮片移植前何时开始给予ALS的问题，Monaco和Russell[9]在他们的小鼠异种植皮实验中，曾观察到当ALS在植皮前一周就开始给予，一直持续到术后一周，可使移植的大鼠皮片存活达一个月。他们认为如能在植皮前尽早给予ALS，使淋巴细胞的减少达到最低水平时再行植皮，则效果最好。但我们考虑到目前烧伤创面的治疗原则是早期切痂和植皮，一般在植皮前不可能有充裕的时间先接受ALS，然后再行移植，所以我们只是在植皮的前一天开始给药。从实验结果看，还是可以得到较为满意的结果。

由于ALS的制备方法目前还没有标准化。所以不同单位的制剂，甚至不同批号的产品，效价高低可能相差很大。这对效果来说是有一定影响的。我们这二批制品，从细胞毒试验看，效价有所不同。可能由于两者相差不多，故实验结果差别不显著。而且，体外测试效价的一些方法，如E-玫瑰花环抑制试验、细胞毒试验等，往往与ALS在体内所表现的免疫抑制效能并不一定完全一致。故有人用猴的皮肤移植来测定用于人的ALS效价，也许更说明问题。

关于ALS可能引起一些副作用，这主要是由于杂抗体的存在所致。故在制备过程中常采取各种措施以避免或去除杂抗体。在我们的实验中，曾以小鼠红细胞进行过吸收，吸收后的血凝效价有所降低。从延长皮片存活的效果看，也较未吸收者为佳。但从血红蛋白的测定来看，二组间未能见到有明显差别。

除给予ATS外，再加用FA处理皮片，对延长异种移植皮片的存活，较单纯使用ATS者效果更为显著，值得进一步深入研究。

主要参考文献

(1)Russell P. S.: Antibodies in Human Diagnosis and Therapy, P. 303, edited by Haber E. et al, Raven press,New York,1977

(2)Burke J. F. et al: Ann. Surg. 182:183,1975

(3)Végh P et al: Transplantation 25:324,1978

(4)赵雄飞等：本刊本期41页

(5)Kountz S. L. et al: Transplantation proc. 9:1023, 1977

(6)黄文华等：待发表

(7)Byfield P. E. et al: Transplantation Proc. 10:627, 1978

(8)Cosimi A. B. et al: ibid. 10:647, 1978

(9)Monaco A. P. et al: J. Immunol. 96:229,1966

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