

· 综述 ·

自体组织工程皮肤作为永久性移植物的研究现状及前景

康坤 邵阳 宋国栋

山东大学附属济南市中心医院烧伤整复外科 250013

通信作者:宋国栋, Email:sgd.zxyy@163.com



【摘要】 迄今,能够永久性封闭创面的皮肤替代物仍是以自体皮肤细胞作为种子细胞的自体组织工程皮肤。培养的自体表皮移植物的的发展经历了漫长而曲折的历程;自体组织工程复合皮肤在结构、功能与疗效上更接近自体断层皮片,成为近年来研究的热点。本文从组织工程皮肤应用研究的实际现状出发,就自体组织工程皮肤作为永久性移植物的主要研究进展、存在的主要问题、研究开发与临床应用前景进行综述,以期自体组织工程皮肤改进及应用提供参考。

【关键词】 皮肤,人工; 移植物; 皮肤组织工程; 培养的自体表皮移植物; 自体组织工程复合皮肤

基金项目:山东省自然科学基金(ZR2014HP016);济南市烧伤与慢性创面临床医学研究中心(201912010);济南市医疗卫生科技创新计划(201907080)

DOI:10.3760/cma.j.cn501120-20200204-00043

Research status and prospect on autologous tissue-engineered skin as permanent graft

Kang Kun, Shao Yang, Song Guodong

Department of Burns and Plastic Surgery, Jinan Central Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250013, China

Corresponding author: Song Guodong, Email:sgd.zxyy@163.com

【Abstract】 To date, skin substitute that can provide permanent wound closure is still autologous tissue-engineered skin using autologous skin cells as seed cells. The development of cultured epithelial autograft has experienced a long and tortuous process. Autologous tissue-engineered composite skin is closer to autologous split-thickness skin graft in terms of structure, function, and efficacy, which has become a research focus in recent years. Based on the actual status of research on tissue-engineered skin application, this paper reviewed the main research progresses and existing problems, and the prospect of research and development and clinical application of autologous tissue-engineered skin as permanent graft in order to provide a reference for the improvement and application of autologous tissue-engineered skin.

【Key words】 Skin, artificial; Transplants; Skin tissue engineering; Cultured epithelial autograft; Autologous tissue-engineered composite skin

Fund program: Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2014HP016); Jinan Clinical Medical Research Center for Burns/Trauma and Chronic Wounds (201912010); Jinan Science and Technology Innovation Plan on Medicine and Health (201907080)

DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20200204-00043

烧创伤,瘢痕、肿物等体表病变切除,以及压力性、静脉性、糖尿病性、放射性溃疡等各类皮肤软组织损伤,常累及真皮深层及以下组织。以创面永久性覆盖或同时瘢痕形成最小为主要目标的标准疗法是自体断层皮片移植,包括为兼顾供皮区情况而制作的不同厚度、不同大小的自体皮片,其中尤以大张中厚自体皮片移植整体效果最佳,但这仍是“以创伤修复创伤”的治疗模式,该疗法在大面积深度烧伤救治中应用时则存在着自体皮源不足的问题^[1-4]。过去 40 多年来,研发出多种治疗急、慢性创面的组织工程皮肤产品,根据其组织结构,可分为表皮类产品如 EpiCel[®],真皮支架类产品如 AlloDerm[®]、Integra[®],和复合皮产品如 PermaDerm[®];根据其临床用途,可分为暂时性皮肤替代物(敷料)如 DermaGraft[®],和永久性皮肤替代物(移植物)如 EpiCel[®]、AlloDerm[®]、PermaDerm[®]等^[1,5-8]。迄今,能够永久性封闭创面的皮肤替代物仍是以自体皮肤细胞作为种子细胞的自体组织工程皮肤。应用自体组织工程皮肤治疗大面积深度烧伤创面和慢性溃疡的效果肯定^[1,5,7,9-10],甚至可与自体断层皮片相媲美^[4],但其临床应用仍存在较多局限^[6]。本文从组织工程皮肤应用研究的实际现状出发,就自体组织工程皮肤主要研究进展、存在的主要问题、研究开发与临床应用前景进行综述,以期自体组织工程皮肤改进及应用提供参考。

1 培养的自体表皮移植物 (cultured epithelial autograft, CEA)

1975 年,James G. Rheinwald 和 Howard Green 首次报道体外培养人表皮 KC 获得成功。1981 年,Nicholas E. O'Connor 等首次报道应用 CEA 治疗 2 例成年大面积烧伤患者获得成功;随后,该研究团队证实 CEA 移植为 2 例大面积Ⅲ度烧伤患儿提供了永久性覆盖。这些开创性的工作既较组织工程学概念被正式采用早 10 余年,亦奠定了皮肤组织工程学的基础^[1-2,6]。应用表皮细胞培养技术可在 3 周或 4 周内将约 3 cm² 活检皮肤扩增 5 000 ~ 10 000 倍以上,产生足以覆盖人体表的 CEA,这被认为是一项挽救严重烧伤患者生命的措施^[1,5,11]。

然而,临床实践中出现的许多问题限制了 CEA 的推广应用^[1,6]:制备 CEA 需要 3 ~ 4 周时间,而一旦形成细胞膜片则需要尽快移植,手术时机难以平衡^[11-12];CEA 脆弱易损,移植困难,需要精细的创面处理和良好的术后固定^[13];CEA 对细菌蛋白酶和细胞毒素高度敏感,创面细菌污染可导致 CEA 移植完全失败^[11,13];近期效果不确定,CEA 移植后 7 ~ 10 d 成活率平均为 15% ~ 85%^[1],呈现不一致和不可预测性;远期效果差,CEA 成活后耐磨性差,愈合创面常起水疱及

形成溃疡,晚期瘢痕挛缩严重;制备 CEA 需要较多专业人员、设备、设施和耗材,成本较高^[13-14]。

上述问题部分源于 CEA 制备技术本身,而其他则主要与临床应用技术相关。采用中性蛋白酶等酶处理方法从培养皿分离 CEA 膜片,可造成克隆源性 KC 平均 37% 和 KC 基底膜蛋白、整合素的丢失,此外,当 KC 培养达到融合时即从高增殖状态转化为生长停滞和分化状态,这些均可能是导致 CEA 成活率低、成活后表皮突形成与基底膜成熟延迟的重要因素^[1,11,13]。不正确的培养条件、暴露的 CEA 膜片基底膜的环境损害,或使用未经预先测试的新基质或培养技术,均可造成表皮干细胞丢失,影响 CEA 远期效果^[1]。临床观察显示,慢性肉芽创面移植的 CEA 成活率一般为 15%,早期肉芽创面或切除坏死组织的新鲜创面移植的 CEA 成活率为 28%~47%,经异体皮移植过渡创面移植的 CEA 成活率可达 45%~75%,有真皮成分存留创面一般有较高的 CEA 成活率^[1,11,15]。在 CEA 膜片布置、包扎固定、患者搬动过程中或移植后局部受压,均可导致 CEA 损害^[1,6,13]。此外,各类创面尤其是大面积深度烧伤,清创、切痂后仍有较多含有高水平内毒素、炎症介质和细胞因子的渗出液,加之大面积膜片引流不畅,均可使 CEA 溶解。

表皮细胞培养是构建自体组织工程皮肤的基础性与关键性技术,培养表皮细胞群内一定比例干细胞的维持是确保自体组织工程皮肤移植后创面稳定愈合与表皮再生更新的基础^[1,4,6,8]。表皮种子细胞来源于含有表皮干细胞的正常皮肤或头皮毛囊外根鞘^[6,16]。Rho 激酶抑制剂 Y-27632 可通过选择性阻断真皮细胞黏附斑简化人原代表皮细胞的分离程序,能产生更多表达整合素的表皮干细胞^[17]。ATP 结合盒式转运蛋白家族成员 ABCG2 是人表皮基底层干细胞标志物,可被用于富集表皮干细胞^[18]。随着 CEA 制备及应用技术的改进,有望改善包括 CEA 在内的自体组织工程皮肤的疗效。

2 CEA 制备与移植技术的改良

为了规避 CEA 存在的问题并发挥其优势,在 CEA 生产制备与临床应用方面不断进行着技术改进与尝试,可移植膜性基质材料、KC 亚融合培养和培养表皮细胞悬液等技术先后被研发应用。将种子细胞接种于可移植膜性基质材料共培养,即使在细胞尚未融合形成膜片时,亦可将细胞与基质材料一起从培养皿分离直接移植于创面,随后细胞融合与分化可在体内完成^[1,11,13]。其潜在优势包括:缩短了 CEA 培养周期,并使移植手术时机更加灵活;易于操作,确保细胞与创面接触;避免了 CEA 酶分离方法的潜在损害;亚融合细胞处于较高增殖状态并且整合素分布良好,移植后利于细胞成活与附着。其潜在不足是:部分 KC 可能没有附着在膜上,而已经附着者亦可能没有全部转移至创面床^[1,11]。研究显示,生长在球形微载体结构上的亚融合 KC 移植后可形成更为连续的基底膜,并有更加成熟、稳固的真皮-表皮连接。此外,可用胰蛋白酶消化培养表皮细胞,使其成为单细胞悬液,在悬浮状态下直接喷洒于创面,避免了使用膜性基质材料作为载体的上述不足^[1,11,19]。另有研究显示,将自、异体表皮细胞按 1:5 比例混合后培养扩增,可明显缩短 CEA 膜片制

备周期;若在异体表皮细胞中转染 EGF 基因,则异体表皮细胞在共培养期间和移植后早期分泌诸多活性细胞因子,可促进自体表皮细胞增殖,而异体表皮细胞则在移植后逐渐被排斥^[8,20]。

在 CEA 临床应用方面,以创面永久性覆盖或同时瘢痕形成最小为目标,根据组织工程皮肤特性并结合临床常用移植技术,进行了有限尝试并取得满意效果,包括 CEA 与 Integra® 或 AlloDerm® 复合移植,和 CEA 与网状或小片自体皮联合应用,但相关临床应用报道^[6]很少。1998 年,Ankur N. Pandya 等报道,1 例儿童躯干前侧烧伤创面移植 Integra® 3 周后分别移植 CEA 和刃厚网状自体皮,结果 2 种疗法在愈合速度、外观和耐久性方面表现同样好。然而,此后几乎没有 Integra® 与 CEA“两步法”使用的大样本临床应用报道,其原因除了过高的使用成本外,还可能与培养的 KC 与真皮再生模板较差的黏附性有关^[6,14]。2009 年,有研究者在先天性皮肤发育不全 (aplasia cutis congenita, ACC) 患者应用 AlloDerm® 2 周后移植 CEA 获得成功,2 年期随访未见增生性瘢痕或瘢痕挛缩所致的活动受限等并发症^[6]。然而,根据笔者团队治疗 9 例 ACC 患者的经验,对较大面积皮肤缺损行刃厚小片自体皮移植、对较小面积者行保守治疗,长期随访均未见增生性瘢痕或瘢痕挛缩发生,且愈合皮肤局部柔软并随患儿生长发育成比例扩展(另文发表),因此认为新生儿 ACC 愈合后一般不易发生增生性瘢痕,不必进行前述“两步法”治疗。网状和小片自体皮移植均属治疗大面积深度烧伤的常用移植技术,但若网孔或皮片间隙过大则创面愈合延迟、瘢痕增生明显^[21-22]。临床应用显示,高扩展比例网状自体皮外覆 CEA 膜片联合移植的创面修复效果及预后明显优于网状自体皮或 CEA 膜片单独应用,而小片自体皮与 CEA 联合移植则比单独应用小片自体皮或 CEA 膜片加速了创面封闭^[22]。此外,尚有培养表皮细胞悬液喷洒与网状或 Meek 自体皮移植结合应用的临床报道,均一定程度改善了单独网状或 Meek 皮片移植的不足^[22-23]。

3 自体组织工程复合皮肤

临床实践证实,真皮组织一定程度的缺损与连续性破坏影响着创面愈合过程,是导致瘢痕增生挛缩的主要原因。移植植物中自体或异体真皮成分的加入,对创面稳定愈合、机械性能改善、瘢痕挛缩预防和美容效果改善均具有重要作用^[1,6]。体外研究证明,Fb 可分泌多种细胞因子和 ECM,促进 KC 生长,改善真皮-表皮连接形成、胶原沉积与重塑,减少肌 Fb 形成与创面收缩^[1,6,8]。

自体组织工程复合皮肤由自体皮肤来源的 KC 构建的表皮层和自体皮肤来源的 Fb 构建的真皮层组成,是迄今在组织结构和生理功能上最接近正常皮肤,并能够“一步法”移植、效果接近自体断层皮片的组织工程皮肤替代物^[1-6]。过去 30 年中研发出许多自体组织工程复合皮肤,其差异主要表现在真皮层的构建上,其中临床应用研究最多的属以牛胶原-糖胺聚糖与自体 Fb 混合培养作为真皮层的自体组织工程复合皮肤[命名为工程皮肤替代物 (engineered skin substitutes, ESS)]^[3-6,24]。2017 年,Boyce 等^[3]对 15 例大面积 III 度烧伤患儿采用受皮区随机配对设计分别移植 ESS、网状自

体断层皮片,结果显示,ESS 制备时间平均 32.1 d,移植成活率 83.5% (自体断层皮片移植成活率为 96.5%),在减少瘢痕形成、改善功能与外观等远期效果方面与大张自体断层皮片相似,移植物随患儿发育成比例生长,利用 1% TBSA 以内自体断层皮片可以生产足以覆盖全身的 ESS^[2]。一项使用以人凝固血浆与自体 Fb 混合培养作为真皮层构建的自体组织工程复合皮肤,治疗 25 例大面积Ⅲ度烧伤成年患者的多中心临床研究显示,该组织工程复合皮肤使用成本低,远期效果与自体断层皮片相似,可作为大面积烧伤的辅助治疗,但易受感染,移植成活率低(平均 49%)^[4]。2018 年,Germain 等^[4]应用由自体 Fb 分泌的富含胶原的 ECM 作为真皮层构建的自体组织工程复合皮肤[命名为自体组装皮肤替代物 (self-assembled skin substitute, SASS)]修复 14 例严重烧伤患者创面,结果显示,移植物机械性能好,操作、移植与自体断层皮片相似;感染率较低,移植成活率平均达 98.0%;长期随访移植物保持完整,表皮再生无明显不足;远期效果等同于自体断层皮片,具有随患儿成长而扩展的能力;制备时间平均需 62.7 d 是其主要不足。2018 年,笔者课题组使用牛 I 型胶原凝胶与自体 Fb 混合培养作为真皮层构建的自体组织工程复合皮肤,移植修复 2 例儿童大面积Ⅲ度烧伤切痂创面(2 例共移植 6 次),结果显示,移植成活率平均 61%,远期效果接近自体薄中厚皮片,分析认为可能与真皮层降解速度较快有关(另文发表)。以牛胶原蛋白和弹性蛋白水解物基质作为模板,接种扩增的自体皮肤 Fb 和 KC 培养构建的自体组织工程复合皮肤,在表皮层特征、增殖与分化标志物和功能性基底膜方面与正常人体皮肤高度同源,初步用于治疗严重电烧伤和难愈创面患者后,可完全封闭创面^[25-27]。此外,有研究者将以塑性压缩 I 型胶原水凝胶与自体皮肤 Fb 和 KC 培养构建的自体组织工程复合皮肤应用于裸鼠背部创面,结果显示,移植的自体组织工程复合皮肤存活良好^[28-29]。

尽管自体组织工程复合皮肤的研发已取得很大进展并显示出良好的应用前景,但自体组织工程复合皮肤的临床应用依然受到某些因素的限制,如制备周期较长、使用成本过高、大样本临床试验缺乏等。此外,自体组织工程复合皮肤真皮层缺乏微血管结构,移植后早期主要依赖血浆营养,血管化延迟可导致移植物坏死^[1]。Germain 等^[4]和 Larouche 等^[30]报道通过优化生产工艺可使 SASS 生产标准化并缩短制备时间。另有研究者报道使用人 KC、Fb 和微血管内皮细胞构建了含有功能性真皮血管和淋巴管的自体组织工程复合皮肤,临床前实验结果表明可以应用于严重皮肤缺损患者^[28-29,31-32]。清创术、引流术是创面处理的基本手段,亦是实施包括自体断层皮片、自体组织工程复合皮肤移植在内的其他疗法的基础,以适当孔径及间距制备自体组织工程复合皮肤,不但有利于创面引流,亦有利于自体组织工程复合皮肤的渗透营养及血管化进程。

4 结语与展望

综上,自体断层皮片移植仍是修复皮肤缺损创面的主要疗法。自体组织工程皮肤作为永久性移植物,与临床常用移植技术相结合,已被纳入大面积深度烧伤治疗的临床实践,

通常作为加速创面愈合或同时改善愈合质量的辅助疗法^[2,6]。迄今最佳和最实用的选择为,对深度烧伤切痂创面首先行有活性新鲜或冷藏异体皮移植过渡,在暂时性封闭创面的同时可整合真皮成分于创面床,2~3 周后随着异体皮被揭除和/或排异、自体组织工程皮肤产品如 CEA 等制备完成,再行清创、自体组织工程皮肤移植术^[1,6]。从自体组织工程皮肤临床应用的整体疗效来看,以牛胶原-糖胺聚糖与自体 Fb 混合培养或由自体 Fb 分泌的富含胶原的 ECM 作为真皮层构建的自体组织工程复合皮肤表现最佳^[3,4]。显而易见,这些治疗只能在具有自体组织工程皮肤制备设施和异体皮肤组织库条件的极少数大的烧伤中心才能实施,因此难以推广应用。

皮肤缺损临床常见,自体组织工程皮肤应用前景广阔。研发解剖与生理近似于正常皮肤的永久性移植物依然任重道远,应从现有应用生物学技术和临床实际需求出发,基础与临床密切结合,全程贯彻转化医学研究思路,重点研发自体组织工程复合皮肤,内容包括表皮干细胞的富集,Fb、血管内皮细胞的加入及真皮层的构建,移植后防御机制与血运重建、生长愈合及其演变规律,以及与临床相关疗法的技术集成等。通过改进可使自体组织工程复合皮肤达到或接近大张中厚自体断层皮片移植的临床效果,既可用于大面积深度烧伤创面的修复,亦可用于中、小面积皮肤缺损的重建。

自体组织工程皮肤属于“量身定制”的细胞疗法类产品,即使在大型烧伤中心制备使用亦难以形成规模效益,而且要求按照严格的质量标准在严格控制的洁净环境中进行标准化生产,导致成本居高不下^[1,6,14]。此外,冷藏异体皮为抢救大面积深度烧伤尤其是群体烧伤所必需,应按规范加强皮肤组织库建设,但其制备使用存在着与自体组织工程皮肤相似的问题^[5,33]。因此,自体组织工程皮肤的研发生产,亦包括异体皮的制备存储,均应实行集约化、商品化运营模式,以降低成本、保证质量、造福患者。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Atiyeh BS, Costagliola M. Cultured epithelial autograft (CEA) in burn treatment: three decades later [J]. *Burns*, 2007, 33 (4): 405-413. DOI: 10.1016/j.burns.2006.11.002.
- [2] Gómez C, Galán JM, Torrero V, et al. Use of an autologous bio-engineered composite skin in extensive burns: clinical and functional outcomes. A multicentric study [J]. *Burns*, 2011, 37 (4): 580-589. DOI: 10.1016/j.burns.2010.10.005.
- [3] Boyce ST, Simpson PS, Rieman MT, et al. Randomized, paired-site comparison of autologous engineered skin substitutes and split-thickness skin graft for closure of extensive, full-thickness burns [J]. *J Burn Care Res*, 2017, 38 (2): 61-70. DOI: 10.1097/BCR.0000000000000401.
- [4] Germain L, Larouche D, Nedelec B, et al. Autologous bilayered self-assembled skin substitutes (SASSs) as permanent grafts: a case series of 14 severely burned patients indicating clinical effectiveness [J]. *Eur Cell Mater*, 2018, 36: 128-141. DOI: 10.22203/eCM.v036a10.
- [5] Boyce ST, Lally AL. Tissue engineering of skin and regenerative medicine for wound care [J/OL]. *Burns Trauma*, 2018, 6: 4 [2020-02-04]. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/search/all/?term=Tissue engineering of skin and regenerative medicine for](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/search/all/?term=Tissue+engineering+of+skin+and+regenerative+medicine+for)

- wound care. DOI: 10.1186/s41038-017-0103-y.
- [6] Chua AWC, Khoo YC, Tan BK, et al. Skin tissue engineering advances in severe burns: review and therapeutic applications[J/OL]. Burns Trauma, 2016, 4: 3 [2020-02-04]. <https://academic.oup.com/burnstrauma/article/doi/10.1186/s41038-016-0027-y/5671132>. DOI: 10.1186/s41038-016-0027-y.
- [7] 杨维, 崔占峰. 组织工程皮肤发展现状[J]. 中国科学: 生命科学, 2015, 45(5): 460-470. DOI: 10.1360/N052014-00276.
- [8] 卫裴, 罗鹏飞, 夏照帆. 皮肤替代模式的研究现状及发展前景[J/CD]. 中华损伤与修复杂志: 电子版, 2019, 14(3): 161-165. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1673-9450.2019.03.001.
- [9] Munster AM. Cultured skin for massive burns. A prospective, controlled trial[J]. Ann Surg, 1996, 224(3): 372-375; discussion 375-377. DOI: 10.1097/00000658-199609000-00013.
- [10] Boa O, Cloutier CB, Genest H, et al. Prospective study on the treatment of lower-extremity chronic venous and mixed ulcers using tissue-engineered skin substitute made by the self-assembly approach[J]. Adv Skin Wound Care, 2013, 26(9): 400-409. DOI: 10.1097/01.ASW.0000433102.48268.2a.
- [11] Chester DL, Balderson DS, Papini RPG. A review of keratinocyte delivery to the wound bed[J]. J Burn Care Rehabil, 2004, 25(3): 266-275. DOI: 10.1097/01.bcr.0000124749.85552.cd.
- [12] Sood R, Roggy D, Zieger M, et al. Cultured epithelial autografts for coverage of large burn wounds in eighty-eight patients: the Indiana University experience[J]. J Burn Care Res, 2010, 31(4): 559-568. DOI: 10.1097/BCR.0b013e3181e4ca29.
- [13] Ronfard V, Rives JM, Neveux Y, et al. Long-term regeneration of human epidermis on third degree burns transplanted with autologous cultured epithelium grown on a fibrin matrix[J]. Transplantation, 2000, 70(11): 1588-1598. DOI: 10.1097/00007890-200012150-00009.
- [14] MacNeil S. Progress and opportunities for tissue-engineered skin[J]. Nature, 2007, 445(7130): 874-880. DOI: 10.1038/nature05664.
- [15] Matsumura H, Matsushima A, Ueyama M, et al. Application of the cultured epidermal autograft "JACE[®]" for treatment of severe burns: results of a 6-year multicenter surveillance in Japan[J]. Burns, 2016, 42(4): 769-776. DOI: 10.1016/j.burns.2016.01.019.
- [16] Brockmann I, Ehrenpfordt J, Sturmheit T, et al. Skin-derived stem cells for wound treatment using cultured epidermal autografts: clinical applications and challenges[J]. Stem Cells Int, 2018, 2018: 4623615. DOI: 10.1155/2018/4623615.
- [17] Wen J, Zu TJ, Zhou Q, et al. Y-27632 simplifies the isolation procedure of human primary epidermal cells by selectively blocking focal adhesion of dermal cells[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2018, 12(2): e1251-e1255. DOI: 10.1002/term.2526.
- [18] Ma DR, Chua AWC, Yang E, et al. Breast cancer resistance protein identifies clonogenic keratinocytes in human interfollicular epidermis[J]. Stem Cell Res Ther, 2015, 6(1): 43. DOI: 10.1186/s13287-015-0032-2.
- [19] Sood R, Roggy D, Zieger M, et al. A comparative study of spray keratinocytes and autologous meshed split-thickness skin graft in the treatment of acute burn injuries[J]. Wounds, 2015, 27(2): 31-40.
- [20] 肖仕初, 朱世辉, 夏照帆, 等. 含转表皮细胞生长因子基因人表皮细胞复合皮的构建与移植[J]. 中国医学科学院学报, 2007, 29(4): 506-509, 插页 3.
- [21] Hsieh CS, Schuong JY, Huang WS, et al. Five years' experience of the modified Meek technique in the management of extensive burns[J]. Burns, 2008, 34(3): 350-354. DOI: 10.1016/j.burns.2007.05.005.
- [22] Menon S, Li Z, Harvey JG, et al. The use of the Meek technique in conjunction with cultured epithelial autograft in the management of major paediatric burns[J]. Burns, 2013, 39(4): 674-679. DOI: 10.1016/j.burns.2012.09.009.
- [23] James SE, Booth S, Dheansa B, et al. Sprayed cultured autologous keratinocytes used alone or in combination with meshed autografts to accelerate wound closure in difficult-to-heal burns patients[J]. Burns, 2010, 36(3): e10-20. DOI: 10.1016/j.burns.2008.11.011.
- [24] Hansbrough JF, Boyce ST, Cooper ML, et al. Burn wound closure with cultured autologous keratinocytes and fibroblasts attached to a collagen-glycosaminoglycan substrate[J]. JAMA, 1989, 262(15): 2125-2130. DOI: 10.1001/jama.262.15.2125.
- [25] Golinski PA, Zöller N, Kippenberger S, et al. Development of an engraftable skin equivalent based on matrigel with human keratinocytes and fibroblasts[J]. Handchir Mikrochir Plast Chir, 2009, 41(6): 327-332. DOI: 10.1055/s-0029-1234132.
- [26] Golinski P, Menke H, Hofmann M, et al. Development and characterization of an engraftable tissue-cultured skin autograft: alternative treatment for severe electrical injuries[J]. Cells Tissues Organs, 2014, 200(3/4): 227-239. DOI: 10.1159/000433519.
- [27] Zöller N, Valesky E, Butting M, et al. Clinical application of a tissue-cultured skin autograft: an alternative for the treatment of non-healing or slowly healing wounds? [J]. Dermatology, 2014, 229(3): 190-198. DOI: 10.1159/000362927.
- [28] Pontiggia L, Klar A, Böttcher-Haberzeth S, et al. Optimizing in vitro culture conditions leads to a significantly shorter production time of human dermo-epidermal skin substitutes[J]. Pediatr Surg Int, 2013, 29(3): 249-256. DOI: 10.1007/s00383-013-3268-x.
- [29] Hartmann-Fritsch F, Biedermann T, Braziulis E, et al. Collagen hydrogels strengthened by biodegradable meshes are a basis for dermo-epidermal skin grafts intended to reconstitute human skin in a one-step surgical intervention[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2016, 10(1): 81-91. DOI: 10.1002/term.1665.
- [30] Larouche D, Cantin-Warren L, Desgagné M, et al. Improved methods to produce tissue-engineered skin substitutes suitable for the permanent closure of full-thickness skin injuries[J]. Biores Open Access, 2016, 5(1): 320-329. DOI: 10.1089/biores.2016.0036.
- [31] Marino D, Luginbühl J, Scola S, et al. Bioengineering dermo-epidermal skin grafts with blood and lymphatic capillaries[J]. Sci Transl Med, 2014, 6(221): 221ra214. DOI: 10.1126/scitranslmed.3006894.
- [32] Marino D, Reichmann E, Meuli M. Skingeneering[J]. Eur J Pediatr Surg, 2014, 24(3): 205-213. DOI: 10.1055/s-0034-1376315.
- [33] Song GD, Jia J, Ma YD, et al. Experience and efficacy of surgery for retaining viable subcutaneous tissue in extensive full-thickness burns[J]. Burns, 2016, 42(1): 71-80. DOI: 10.1016/j.burns.2015.06.012.

(收稿日期: 2020-02-04)

本文引用格式

康坤, 邵阳, 宋国栋. 自体组织工程皮肤作为永久性移植物的研究现状及前景[J]. 中华烧伤杂志, 2020, 36(10): 971-974. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20200204-00043.

Kang K, Shao Y, Song GD. Research status and prospect on autologous tissue-engineered skin as permanent graft[J]. Chin J Burns, 2020, 36(10): 971-974. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20200204-00043.