·论著·

不同厚度异体皮制备的微粒皮混合自体微粒皮移植对创面愈合的影响

杨燕妮 彭代智 伍素华 周新 刘敬 董征学

【摘要】 **目的** 观察不同厚度异体皮制备的微粒皮混合自体微粒皮移植于大鼠背部全层皮肤缺损后对创面愈合的影响。 **方法** 制作大鼠全层皮肤缺损创面模型。以移植面积扩张比为 5∶1 的自体微粒皮为对照组(10 只),两种不同厚度异体皮制备的微粒皮与同样扩张比的自体微粒皮混合移植为实验组,其中实验 1 组异体微粒皮厚度为 0.3 mm(10 只),实验 2 组 0.6 mm(6 只)。比较移植后 2、3、4 周 3 组大鼠创面愈合率、收缩率及组织学差异。 **结果** 创面愈合率:移植后 2 周实验 1 组大鼠(94.58 ± 3.99)% 和实验 2 组(95.28 ± 1.93)% 均高于对照组(88.28 ± 6.85)%($P < 0.05$),移植后 3 周实验 2 组(94.55 ± 3.47)% 高于实验 1 组(89.51 ± 4.70)% 及对照组(88.51 ± 5.59)%($P < 0.05$),移植后 4 周 3 组比较,差异无显著性意义($P > 0.05$)。创面收缩率:实验 1 组大鼠与对照组比较,差异无显著性意义($P > 0.05$),实验 2 组各时相点均低于实验 1 组及对照组($P < 0.05$)。组织学检查:移植后 2 周实验组大鼠有明显的淋巴细胞灶性浸润,移植后 4 周 3 组之间比较,差异无显著性意义($P > 0.05$)。**结论** 适量的异体微粒皮混合自体微粒皮移植,可以促进创面愈合;混合移植等量异体微粒皮时增加其真皮厚度,能够减轻创面的收缩程度。

【关键词】 移植,自体; 移植,同种; 创面愈合

Influence of mixed grafting of autologous and allogeneic microskin on burn wound healing in rats

YANG Yan-ni, PENG Dai-zhi, WU Su-hua, ZHOU Xin, LIU Jing, DONG Zheng-xue. Institution of Burn Research, Southwest Hospital, State Key Laboratory of Trauma, Burn and Combined Injury, The Third Military Medical University, Chongqing 400038, P. R. China

Corresponding author: PENG Dai-zhi Email: dzpeng@yahoo.com, Tel: 023-68754148-8041

【Abstract】 **Objective** To observe the influence of mixed grafting of autologous and allogeneic microskin on burn wound healing. **Methods** Autologous microskin grafting (expansion rate 5∶1) was employed as control. Autologous microskin mixed with the allogeneic microskin with the thickness of 0.3mm and 0.6mm, respectively, were designated as experimental groups 1 and 2 (EP1 and EP2). The wound healing rate, wound contraction rate, and histological changes were observed on the 2nd, 3rd and 4th weeks after the grafting. **Results** The wound healing rate in two experimental groups (94.58 ± 3.99)% in EP1, and (95.28 ± 1.93)% in EP2 was significantly higher than that in the control group (88.28 ± 6.85)% at the end of the 2nd week after the grafting($P < 0.05$) The wound healing rate in experimental group 2(94.55 ± 3.47)% was obviously higher than that in control (88.51 ± 5.59)% and experimental group 1(89.51 ± 4.70)% at the end of the 3rd week after grafting($P < 0.05$). There was no obvious difference in wound healing rate among the three groups at the end of the 4th week after grafting. Obvious lymphocytic infiltration was observed by histological examination between epidermis and dermis in the two experimental groups at the end of the 2nd week after grafting. But there was no obvious difference among the three groups 4 weeks after grafting. **Conclusion** The wound healing could be improved by mixed skin grafting with appropriate quantity of allogeneic and autologous microskin. Furthermore, the wound contraction could be ameliorated if the thickness of allogeneic dermis was increased in the mixed grafting even with the same proportion of allogeneic to autologous microskin.

【Key words】 Transplantation, autologous; Transplantation, homologous; Wound healing

大面积烧伤患者自体皮源不足时,采用自体微粒皮移植可降低自体皮用量[1],但当扩张比较大时愈合时间也相对延长,但对创面收缩影响的相关报道少见。本研究用不同厚度自异体微粒皮混合移植于大鼠创面,观察其对创面愈合率及收缩率的影响。

材 料 与 方 法

1. 实验动物及分组:受体为 26 只雄性 SD 大鼠,体重 220 ~ 260 g;异体皮供体为 4 只雄性 Wistar 大

基金项目:第三军医大学回国人员启动基金资助项目(200209);西南医院科技创新基金资助项目(200201)

作者单位:400038 重庆,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(杨燕妮、彭代智、周新、刘敬、董征学),护理部(伍素华)

通信(讯)作者:彭代智,Email:dzpeng@yahoo.com,电话:023-68754148-8041

中华医学会杂志社 版权所有 Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo=

鼠，体重 220～260 g，均由第三军医大学大坪医院动物所提供。将受体动物随机分为 3 组，各组创面与移植的自体皮面积比均为 5∶1。仅移植自体微粒皮的大鼠为对照组（10 只）；自异体微粒皮混合移植为实验组，按制备微粒皮的异体皮厚度不同，分为实验 1 组（0.3 mm，10 只）和实验 2 组（0.6 mm，6 只）。

2. 动物模型及微粒皮的制备：采用 10 g/L 戊巴比妥钠（40 mg/kg）腹腔注射麻醉 Wistar 大鼠，剃毛，消毒后切取大鼠背部全层皮肤，取皮鼓反向取皮，获得真皮厚度为 0.3 mm 或 0.6 mm 的皮片，制成微粒皮备用。麻醉 SD 大鼠方法同上，于大鼠背部正中位切除 4 cm×6 cm 的全层皮肤至深筋膜作为微粒皮移植创面，切下的皮肤用取皮鼓制备 0.3 mm 厚皮片并称重，随后制成微粒皮。根据称得的重量确定移植所需的自异体皮用量，其中自体皮量为称量值的 20%，异体皮量为称量值的 30%。将混合微粒皮均匀涂抹于创面，用油纱及无菌敷料覆盖，加压包扎。

3. 创面大体观察：分别于移植后 2、3、4 周时打开敷料观察大鼠创面愈合情况，用数码相机照相并采用图像分析软件（Image J, V 1.30）测量创面愈合率及收缩率。创面愈合率 = 创面愈合面积 ÷ 检测时面积 × 100%。创面收缩率 =（原移植总面积 − 检测时面积）÷ 原移植总面积 × 100%。

4. 组织学检查：移植后 2、3、4 周分别在大鼠愈合创面取样，用体积分数 4% 甲醛固定 24 h，石蜡包埋，HE 染色，光镜下观察其组织形态结构。

5. 统计学处理：数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，行完全随机设计资料样本均数的 t 检验。

结　果

1. 创面愈合情况：移植后 2 周，3 组大鼠创面大部分呈上皮化，但两实验组已愈合面积明显多于对照组（$P<0.05$）。3 周左右，实验 1 组部分已愈合创面发生小片渗出结痂，愈合率下降；对照组及实验 2 组未见类似现象，实验 2 组创面愈合率高于对照组和实验 1 组（$P<0.05$）。4 周时 3 组大鼠创面愈合率比较差异无显著性意义（$P>0.05$）。见表 1、图 1。

表 1　移植后 2～4 周 3 组大鼠创面愈合率比较（%，$\bar{x} \pm s$）

Tab 1　Comparison of the wound healing rate among three groups 2 to 4 weeks after grafting（%，$\bar{x} \pm s$）

组别	鼠数（只）	移植后时间（周）		
		2	3	4
对照组	10	88.28 ± 6.85	88.51 ± 5.59	90.73 ± 5.57
实验 1 组	10	94.58 ± 3.99△	89.51 ± 4.70	92.87 ± 7.36
实验 2 组	6	95.28 ± 1.93△	94.55 ± 3.47△*	94.67 ± 3.33

注：与对照组比较，△ $P<0.05$；与实验 1 组比较，* $P<0.05$

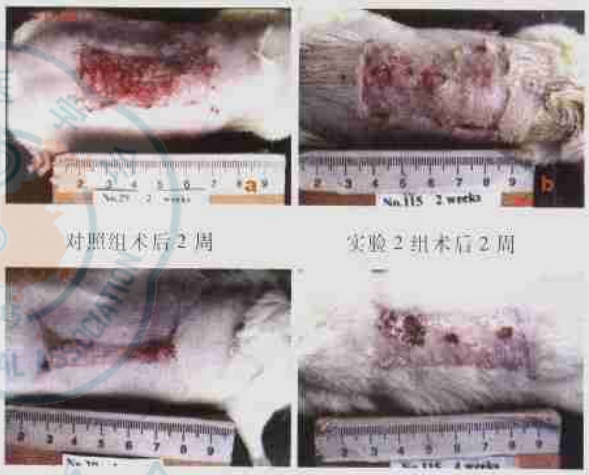
2. 创面收缩情况：移植后 2～4 周，各组大鼠创面呈持续性收缩。实验 1 组和对照组间比较，差异无显著性意义（$P>0.05$）。与实验 1 组、对照组比较，实验 2 组创面收缩率明显降低（$P<0.05$）。见表 2、图 1。

表 2　移植后 2～4 周 3 组大鼠创面收缩率比较（%，$\bar{x} \pm s$）

Tab 2　Comparison of the wound contraction rate among three groups 2 to 4 weeks after grafting（%，$\bar{x} \pm s$）

组别	鼠数（只）	移植后时间（周）		
		2	3	4
对照组	10	44.15 ± 7.32	60.27 ± 10.17	69.45 ± 9.20
实验 1 组	10	39.85 ± 4.80	54.50 ± 4.67	66.95 ± 7.48
实验 2 组	6	26.26 ± 2.20△*	30.55 ± 2.99△*	42.48 ± 3.08△*

注：与对照组比较，△ $P<0.05$；与实验 1 组比较，* $P<0.05$



对照组术后 2 周　　实验 2 组术后 2 周

对照组术后 4 周　　实验 2 组术后 4 周

图 1　两组大鼠微粒皮移植术后创面愈合及收缩情况

Fig 1　The wound healing and contraction in experimental group 1 and 2 after grafting

3. 组织学检查：正常 SD 大鼠皮肤表皮仅 3～4 层细胞，棘状层和基底层细胞分界不明显。移植后 2 周各组大鼠创面表皮层均明显增生，基底层细胞增生达 2～3 层，棘状层细胞也呈多层排列。对照组大鼠创面表皮细胞层中有散在的炎症细胞，主要是中性粒细胞及少量淋巴细胞。两实验组炎症细胞浸润明显增多，主要分布在表皮深层，以淋巴细胞为主，呈明显灶性浸润，浸润处基底细胞排列紊乱或点状坏死（图 2）。相应部位的真皮组织中炎症细胞浸润也较明显，实验 1 组中可见较多的表皮突延长，较实验 2 组和对照组明显。各组真皮内见成纤维细胞增生，真皮深层毛细血管增生，可见不规则发育毛囊。移植后 4 周时 3 组大鼠创面的炎症细胞浸润均明显减少，基底细胞排列整齐，真皮内以成熟胶原分布为主。

Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo7

对照组　　实验 2 组

图 2　移植术后 2 周两组大鼠微粒皮组织学变化　HE × 200

Fig 2　Histological changes in the wounds of experimental group 2 and control group after grafting　HE × 200

讨　论

微粒皮移植可降低自体皮用量，大张异体皮嵌小块自体皮混合移植术能缓解异体皮的排斥反应[2]。本实验将自异体微粒皮混合移植，利用微粒皮移植和混合移植技术的优势，使自异体微粒皮混合更加均匀，从而进一步延缓和抑制排斥反应，达到加速创面愈合的目的。本研究中组织学观察提示，大鼠移植术后 2 周两实验组的创面虽然有排斥反应，但创面的愈合率均明显高于对照组。由此表明，加入异体微粒皮混合移植能明显缩短创面愈合时间。术后 3 周，实验 1 组愈合率明显下降，而实验 2 组下降并不明显，说明增加异体微粒皮的厚度能更有效地降低排斥反应，促进创面愈合。笔者认为，混合移植创面愈合过程中，异体微粒皮中表皮成分的作用主要表现在排斥反应发生之前，且异体表皮在混合移植中仍是导致排斥反应的主要原因；而异体真皮成分的作用在促创面愈合中可能占主要地位。Lin 等[3]将自体微粒皮与异体真皮微粒皮混合移植，能缩短创面愈合的时间，但并未观察创面的收缩情况。

本研究中笔者观察到，混合移植厚度为 0.3 mm 的异体皮能提高术后 2 周时创面的愈合率，但对创面收缩无控制作用；将同样重量的异体皮厚度增加至 0.6 mm，创面的收缩率明显下降。由此表明，提高异体微粒皮中的真皮含量，减少其表皮含量能有效抑制创面的收缩。未经脱细胞处理的异体真皮与刃厚皮复合移植可明显减轻创面收缩[4,5]，笔者推测，实验 2 组移植的异体真皮含量增加，是创面抗收缩作用的主要原因。其可能的机制是：(1) 由于异体真皮胶原的免疫原性较弱，能在局部较长时间存在而不被排斥，作为自体真皮修复的支架，表现出抗收缩效应。(2) 异体真皮中丰富的细胞外基质成分改善了创面局部愈合的环境，使创面收缩减轻。另外，异体真皮中表皮含量减少，即抗原性较强的异体细胞移植量明显降低，故排斥反应和局部炎症反应也较轻，是实验 2 组创面收缩减轻的又一原因。

实验动物的移植面积较小，而啮齿类动物皮肤回缩严重，均不利于精确测量切取皮肤的面积。本研究根据称重法测体表面积的原理[6]来确定微粒皮移植量，使每个创面与移植微粒皮的比例更加精确。

综上所述，本研究结果证实了在移植等量自体微粒皮时，加入适量的异体微粒皮混合移植可促进创面愈合，并且适当增加异体真皮的厚度有助于减轻创面的收缩，为该技术的临床应用提供了实验依据。

志谢　感谢第二军医大学西南医院皮肤科钟白玉、唐书谦老师和邓永键博士等在皮肤病理方面给予的指导和帮助

参 考 文 献

1　张明良，周光峰，张普柱. 大面积烧伤的微皮移植术. 中华外科杂志，2001，39：708－710.

2　李幸群，廖镇江，史济湘. 烧伤后皮肤混合移植中局部免疫移植的研究. 中华创伤杂志，1999，15：444－447.

3　Lin SD, Chai CY, Chou CK, et al. A mixture of allogeneic dermal tissue and autologous microskin grafting of rabbit skin wound. J Med Sci, 1997, 13: 301－307.

4　Wang HJ, Chen TM, Cheng TY. Use of a porcine dermis template to enhance widely expanded mesh autologouse split-thickness skin graft growth: preliminary report. J Trauma, 1997, 42: 177－182.

5　Chu CS, Matylevitch NP, McManus AT, et al. Accelerated healing with a mesh autograft/allodermal composite skin graft treated with silver nylon dressings with and without direct current in rats. J Trauma, 2000, 49: 115－125.

6　汪仕良，黎鳌，李超志，等. 三种测量烧伤创面面积方法的比较. 中华整形烧伤外科杂志，1991，7：61－62.

（收稿日期：2003－12－26）

（本文编辑：荀学萍）

· 消息 ·

欢迎订阅《创伤外科杂志》

《创伤外科杂志》是反映创伤外科临床和基础研究内容的学术性期刊，国内外公开发行，中国科技部中国科技论文统计源核心期刊。主要栏目包括：创伤临床研究、基础研究、药物应用方面的论著；国内外创伤救治和研究进展方面的综述、述评等；创伤救治新成果、新技术、新方法介绍；创伤临床方面的经验交流、病例报告、误诊分析、短篇报道、基层园地、国外医学报道、临床问答、专题讲座等。主要读者对象为从事创伤外科相关学科工作的临床、教学、科研人员。

《创伤外科杂志》为大 16 开 80 页，双月刊（铜版纸），单月 15 日由全国邮政局发行。邮发代号：78－111；定价：每期 10.00 元，全年 60.00 元。编辑部地址：重庆市大坪长江支路 10 号《创伤外科杂志》编辑部；邮政编码：400042。电话：023－68757134，023－68706804；传真：023－68705417；Email：jtrasurg@cta.cq.cn。