

猪脱细胞真皮与自体皮复合移植的临床应用及远期疗效



陈炯 柴家科 韩春茂 潘银根 吴秋合 方周溪

【摘要】 目的 了解异种脱细胞真皮基质与自体皮复合移植修复深度创面的临床效果,并进行不同时期随访及组织学观察。方法 2000 年 2 月—2003 年 7 月,采用猪脱细胞真皮基质与自体刃厚皮二步复合移植法修复深度创面 152 例。观察移植后 1 周的皮片成活率及移植后 1、3、6、12 个月瘢痕增生情况;5 例患者在移植 72 个月后取该部位样本进行组织学检查,其中 2 例进行透射电镜观察。对本组患者进行不同时期随访并与自身其他部位其他移植方式比较。结果 创面植皮完全成活者 116 例占 76.3%,95% 以上成活者 36 例占 23.7%,无一例补充植皮。1 个月后随访到 127 例患者,可见移植局部有轻度挛缩,皮片连接处有条索状瘢痕,质地比较柔软,无明显瘙痒或起疱。3 个月随访到 101 例,见复合移植植物有轻度挛缩,但与刃厚皮移植部位比较明显减轻,关节功能良好。6 个月随访到 82 例,复合移植皮肤颜色、质地接近正常,瘢痕增生不明显。12 个月随访到 58 例,移植皮肤接近正常,未见明显排异现象。72 个月以上随访到 16 例,移植局部稍显干燥,无其他异常。组织学观察结果提示:移植部位组织结构与正常皮肤基本一致,真皮支架中可见不完整的小汗腺及参与汗腺组成的细胞。结论 异种脱细胞真皮基质与自体刃厚皮复合移植,可以与人体局部组织长期共存,无明显排异反应。不完整小汗腺及汗腺细胞的出现,可能成为皮肤功能重建中新的关注点。

【关键词】 移植,异种; 皮肤移植; 移植植物排斥; 组织学; 汗腺

Clinical application and long-term follow-up study of acellular dermal matrix combined with auto-skin grafting
CHEN Jiong, CHAI Jia-ke, HAN Chun-mao, PAN Yin-gen, WU Qiu-he, FANG Zhou-xi. Department of Burns, the Third Affiliated Hospital, Wenzhou Medical College, Ruian 325200, P. R. China

【Abstract】 Objective To investigate the clinical effect of acellular dermal matrix (ADM) combined with auto-skin grafting on deep burn wound, and the result of long-term follow-up and histological examination. Methods One hundred and fifty-two patients with deep burn hospitalized from February 2000 to July 2003 were repaired with porcine ADM and auto split-thickness graft. Wound healing rate was assessed 1 week after operation. Degree of cicatricial hyperplasia was examined 1, 3, 6, 12 months after operation. Wound samples from 5 patients were harvested for histological examination 72 months after operation, for which transmission electron microscopy were employed in 2 cases. Results Grafts completely survived was seen in 116 patients (accounting for 76.3% of cases), survival rate over 95% were observed in 23.7% of cases. One hundred and twenty-seven patients were followed up 1 month after operation, in whom mild local contraction, cord like scar was seen along its junction with skin, its texture was soft, and there was no pruritus or blister formation. One hundred and one patients were followed up 3 months after operation, and the graft showed mild contraction less marked when compared with that of the site where auto split-thickness skin grafting was used. Articular function was good. Eighty-two patients were followed up 6 months after operation, color and texture of grafts were similar to normal skin with no obvious cicatricial hyperplasia. Fifty-eight patients were followed up 12 months after operation, the texture of grafts was similar to normal skin without obvious reject reaction. Sixteen patients were followed up over 72 months after operation, the grafts appeared dry compared with normal skin. Histological examination showed: tissue structure of grafts was similar to normal skin, intact small sweat gland and sweat gland cells were not found in dermal layer. Conclusion Heterologous ADM combined with auto split-thickness graft can survive in human body without obvious immune rejection reaction for a long time. No intact small sweat gland or sweat gland cells in dermis is a problem worth of study in regeneration of skin function.

【Key words】 Transplantation, heterologous; Skin transplantation; Graft rejection; Histology; Sweat glands

基金项目:浙江省医药卫生科学研究基金 A 类计划(2002A083)

作者单位:325200 浙江瑞安,温州医学院附属第三医院烧伤科(陈炯);解放军总医院第一附属医院全军烧伤研究所(柴家科);浙江大学医学院附属第二医院烧伤科(韩春茂);启东市人民医院烧伤科(潘银根);济南市中心医院烧伤科(吴秋合);温州医学院电镜室(方周溪)

近年来,异体脱细胞真皮与自体刃厚皮复合移植被广泛用于深度创面修复,对减少瘢痕增生、改善局部外观与功能产生了良好作用,但较大面积异种脱细胞真皮基质与自体刃厚皮复合移植的远期随访效果鲜见报道。2000 年 2 月—2003 年 7 月,笔者采用猪脱细胞真皮基质与自体刃厚皮二步法复合移植治疗各种创面共 152 例,并进行了长期随访及组织学观察。

1 资料与方法

研究方案由温州医学院附属第三医院烧伤科设计,经医院学术委员会批准并监督实施。

1.1 患者入选标准

患者性别不限,身有需行植皮手术的烧伤切痂创面、瘢痕切除创面以及头皮撕脱伤后的肉芽创面。排除Ⅵ度烧伤和创面严重感染者。

1.2 入选患者的一般资料

本组患者共 152 例,其中男 105 例、女 47 例,年龄 18~65 岁[(35±9)岁]。深度烧伤后切痂创面、瘢痕切除创面、头皮撕脱伤后的肉芽创面分别为 116、31、5 例;复合移植面积 300~1400 cm²[659±168)cm²]。

1.3 手术方法

深度烧伤创面或瘢痕组织切除到深筋膜,部分至脂肪层,肉芽创面刮至新鲜出血创基。5 g/L 碘伏冲洗后,1 g/L 庆大霉素等渗盐水纱布湿敷压迫局部 3~5 min 彻底止血。取猪脱细胞真皮[江苏省启东市医疗用品研究所,国药管械(试)字 2000 第 302090 号],用大量等渗盐水浸洗 3 遍,使粗糙面朝下紧贴创面,用 3-0 丝线间断缝合固定于创缘,保持真皮的自然张力。将辐照猪皮覆盖其上,再用敷料加压包扎。术后 4~7 d,用电动取皮机(美国 Zimmer 公司)切取大张刃厚皮(最宽为 10.5 cm),将其紧密贴附在异种真皮之上,外用凡士林油纱和棉垫加压包扎。第 2 次手术后 5~7 d,首次更换外层敷料,若皮下有积液或积血,应及时剪开引流。

1.4 观察指标及样本取材

(1)观察猪脱细胞真皮移植后 4~7 d 创面外观。(2)观察复合移植后 5~7 d 时自体皮片在异种脱细胞真皮基质上的成活情况。(3)观察复合移植后 1、3、6、12 个月及 72 个月以上创面局部皮肤颜色、瘢痕状况及有无排异反应。(4)异种复合移植局部与自身其他部位行单纯自体刃厚皮、中厚皮及异体皮复合移植挛缩程度的比较。(5)经征得患者同意,取其术后 72~78 个月复合移植部位全层皮肤样本进行组织学检查。

2 结果

2.1 创面外观

152 例患者中,切除焦痂或瘢痕至深筋膜者 15 例、至脂肪层者 116 例(图 1)、肉芽创面刮至有新鲜出血创基者 21 例。实施猪脱细胞真皮移植术后 4~7 d,真皮均不同程度转红(图 2);复合移植刃厚皮后 5~7 d,116 例皮片完全成活,36 例皮片成活 95% 以上。术后 4 周内所有皮片成活,创面封闭。

1 个月后随访到 127 例患者,可见复合移植局部有轻度挛缩,皮片连接处瘢痕呈条索状,质地比较柔软,无明显瘙痒或起疱。3 个月时随访到 101 例患者,移植局部仍有轻度挛缩,但与邻近自体刃厚皮移植相比明显较轻,略逊于自体中厚皮移植,与异体皮复合移植比较无明显差异,关节移植处功能良好(图 3)。6 个月时随访到 82 例患者,12 个月时随访到 58 例患者,复合移植部位的皮肤颜色、质地基本接近正常,无明显瘢痕增生。72~78 个月随访到 16 例患者,复合移植皮肤近似正常但表面稍显干燥(图 4);在正常皮肤出汗时,移植部位未见明显的排汗迹象。患者在接受随访的时间段内,均未见皮肤破溃等明显排异现象。

2.2 组织学检查

2.2.1 光学显微镜观察结果 经组织切片,HE 染色显示:异种复合皮移植部位表皮分化正常,与真皮连接处可见钉突,有汗腺样结构,脱细胞真皮支架

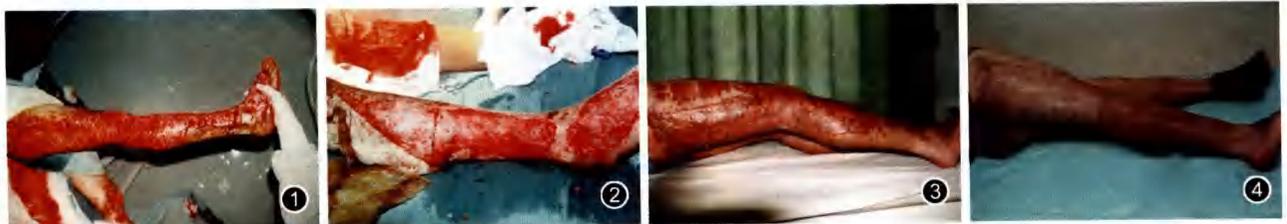


图 1 切痂后创面基底达脂肪层 图 2 移植后 6 d 猪脱细胞真皮基质转红 图 3 复合移植后 3 个月,创面局部轻度挛缩,质地较柔软,无明显瘙痒及起疱,关节功能良好 图 4 复合移植后 78 个月,创面局部较正常皮肤表面稍显干燥

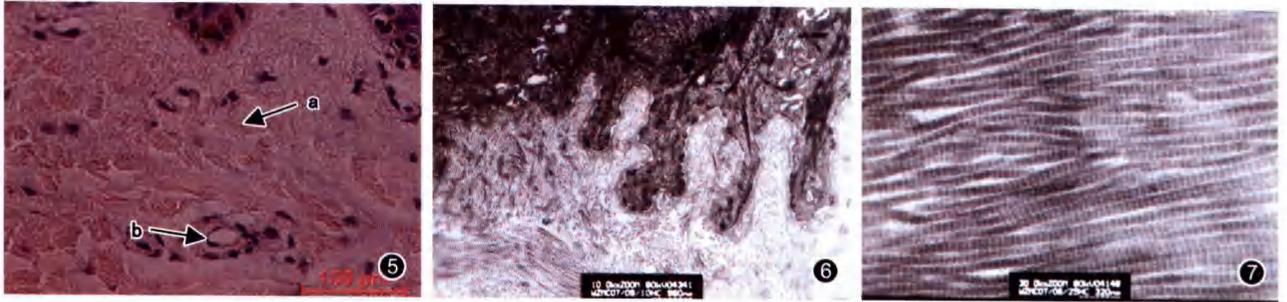


图 5 复合移植部位表皮真皮连接处分化正常,可见真皮支架(a↑)及汗腺样结构(b↑),未见炎性细胞浸润及异物巨细胞 HE × 40

图 6 复合移植部位基底膜结构完整,细胞呈伪足样伸入真皮层,半桥粒结构较成熟,连接致密 透射电镜 × 30 000 图 7 真皮层胶原纤维排列致密,横纹清晰可见 透射电镜 × 30 000

依然存在,未见炎性细胞及异物巨细胞(图 5),与正常皮肤结构基本一致。

2.2.2 透射电镜观察结果 复合移植术后 77、78 个月各获取愈合创面组织标本 1 例。可见皮肤基底膜结构完整,基底细胞张力微丝丰富,有少量黑色素颗粒沉积。基底部细胞呈伪足样伸入真皮层,半桥粒结构丰富且比较成熟,连接致密(图 6)。真皮层胶原纤维排列致密,横纹清晰(图 7)。真皮中有不完整小汗腺,仅见浆液性细胞(亮细胞),线粒体及内质网丰富,细胞表面有少量微绒毛,细胞间连接紧密,未见肌上皮细胞及黏液性细胞(暗细胞),腺腔狭窄,基底膜较完整,外围有少量平滑肌细胞及纤维细胞(图 8)。外周平滑肌细胞较成熟,密斑密体清晰可见,细胞间胶原纤维较致密;真皮内毛细血管旁可见肥大细胞,颗粒丰富。

3 讨论

烧伤后的深度创面、瘢痕切除创面及皮肤撕脱伤创面缺乏真皮组织,尤其是创面较大时难以用自体中厚皮覆盖。为了及时有效地封闭创面,目前多采用自体薄皮、自体网状皮移植或自体、异体皮混合移植(包括大张异体皮加自体微粒皮移植),由于缺乏足够的真皮成分,创面愈合后留有不同程度的增生性瘢痕导致功能障碍。有研究表明,真皮组织缺损程度是导致瘢痕超常增生的根本原因,真皮组织的三维结构不仅可诱导修复细胞长入,还可以改善创面皮肤组织的力学状态,调节修复细胞功能,促进组织重塑^[1]。脱细胞真皮的研制,为解决上述问题提供了可能。猪脱细胞真皮结构近似于人类皮肤^[2],且来源广泛、使用经济,与异体脱细胞真皮基质相比,可能具有更广阔的应用前景^[3-4]。

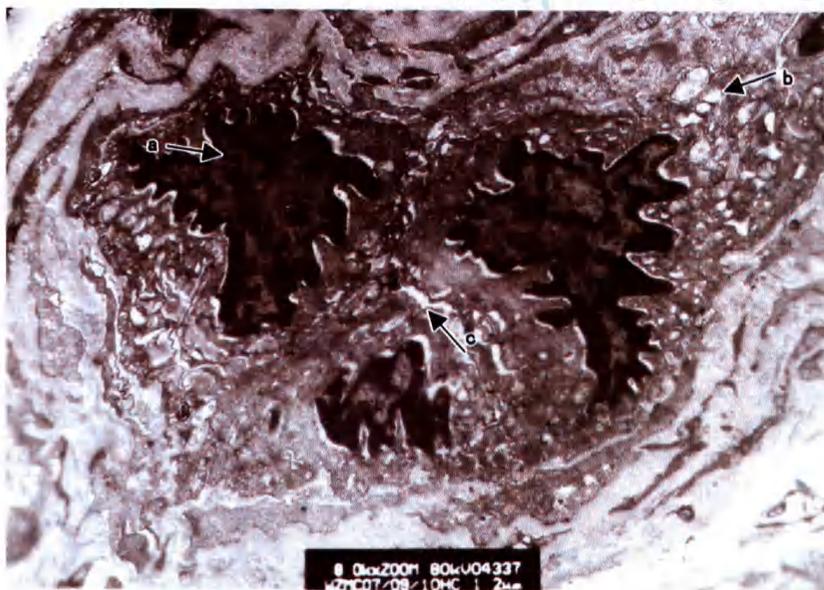


图 8 真皮内有较多不完整的小汗腺结构,仅见浆液性细胞(亮细胞,a↑),线粒体及内质网丰富(b↑),腺腔狭窄(c↑),基底膜较完整,外围有少量平滑肌细胞及纤维细胞 透射电镜 × 80 000

复合皮移植的成活率关系到创面愈合后的质量

与功能重建,其手术方式的选择也是影响移植成活率的关键之一。复合皮移植通常分为一步法和二步法,我们选用了后者。即在真皮移植后 3~4 d 逐步建立血液供给的基础上再移植自体皮,不仅能够避免皮下积血积液,还可使自体皮及时得到经真皮输送的营养^[5],提高复合移植的成活率^[6]。该手术方式明显高于一步法移植成活率的相关报道^[7-8]。复合皮移植后 6 个月,皮肤颜色逐渐接近正常,瘢痕增生不明显^[9-10]。本研究结果与脱细胞异体真皮+自体刃厚皮复合移植的临床效果比较无明显差异,与柴家科等^[3]报道相同。分析原因,可能是异种真皮在“脱细胞”过程去除了

强免疫原性细胞成分,保留了真皮组织的三维结构,为移植后组织重建提供了模板,从而起到减少瘢痕增生、改善愈合质量的作用。

有关异种脱细胞真皮基质与自体刃厚皮复合移植的文献报道,目前多局限在面积偏小创面及较短时间的临床观察^[11-12],难以解决较大创面的移植问题。理论上讲,由于猪脱细胞真皮已经去除了免疫原性很强的细胞成分,保留了免疫原性相对较弱的以胶原为主要成分的细胞外基质,加之猪胶原与人胶原有很大程度的相似性,移植后排斥反应并不明显。有学者观察到复合移植术后(13±7)周时,仍有部分迟发性异种排斥反应创面^[13]。本组资料在随访中未见这种现象,与多数学者报道结果^[10,14]一致。分析原因,可能与所使用的真皮脱细胞方法及制备工艺不同有关^[15-16]。

猪脱细胞真皮在人体内最终的转归和局部移植免疫排斥或耐受,一直是人们关注的重点^[9,14]。本组患者 6 年多来(78 个月)的随访结果显示,猪脱细胞真皮与自体刃厚皮复合移植后,无论是移植局部表皮厚度、分化程度还是表皮与真皮之间的连接以及皮肤结构的完整性,与正常皮肤基本一致;组织标本内未见炎性细胞浸润及异物巨细胞;78 个月时仍可见脱细胞真皮支架与人体组织共存,没有明显的远期局部排斥现象。

皮肤附属器的重建是评价复合皮移植质量的一项重要指标,对提高患者手术后生活质量意义深远。例如汗腺,不但具有参与皮肤多种物质代谢及维持平衡的作用,还通过皮肤血管网共同参与体温和呼吸调节。虽然在正常情况下皮肤呼吸仅占气体代谢量的 1%,但在高温或体力劳动下其代谢量为肺代谢量的 15%~20%^[17]。

笔者在 2 例患者复合移植 78 个月的标本中,通过光学显微镜看到了真皮内不完整的小汗腺及参与汗腺组成的部分细胞;在 8 万倍的透射电镜下可看到小汗腺腺腔狭窄,基底膜较完整,外围有少量平滑肌细胞及纤维细胞,小汗腺内仅见浆液性细胞(亮细胞),细胞表面有少量微绒毛,但未见对发挥汗腺完整功能至关重要的肌上皮细胞及黏液性细胞(暗细胞)^[18]。因此推论,如果汗腺是移植自体皮或切痂后创面残留所致,通常应该有完整结构而不是表现为肌上皮细胞与黏液性细胞缺失。这种现象用移植

的自体薄皮或者创面组织带有少量干细胞并由此分化形成来解释,可能更有说服力。因为干细胞在分化过程中受时间、诱导因素等影响,可能会出现分化成熟、不成熟或缺失现象。无论怎样,目前还难以看到小汗腺这一事实提供直接有力的来源依据,但这种现象将成为学者们对复合皮移植远期效果研究的新关注点。

参考文献

- [1] 陆树良,青春,刘英开,等. 瘢痕形成机制的研究:真皮“模板缺损”学说. 中华烧伤杂志,2007,23(1):6-12.
- [2] Heck EL, Bergstresser PR, Baxter CR. Composite skin graft: frozen dermal allografts support the engraftment and expansion of autologous epidermis. J Trauma, 1985, 25: 106.
- [3] 柴家科,杨红明,李利根,等. 去细胞异体真皮、去细胞猪真皮和自体刃厚皮在临床中的应用. 中华外科杂志, 2000, 38(10):790-793.
- [4] 郭振荣. 脱细胞异种真皮基质作为修复材料大有可为. 中华整形外科杂志, 2002, 18(5):261-262.
- [5] 胡嘉念,黎鳌. 皮肤及其他各种组织的移植//黎鳌. 烧伤治疗学. 2 版. 北京:人民卫生出版社,1997:482-525.
- [6] 孙永华,李迟,王春元,等. 脱细胞异体真皮自体薄片移植的研究与应用. 中华整形烧伤外科杂志,1998,14(5):370.
- [7] 冯祥生,潘银根,谭家驹,等. 异种(猪)脱细胞真皮与自体表皮复合移植研究. 中华整形外科杂志,2000,16(1):40-42.
- [8] 肖调立,曾麦秋,周阳五,等. 异种(猪)脱细胞真皮与自体刃厚皮片复合移植在肉芽创面的应用. 现代医药卫生,2001,17(4):256.
- [9] 陈炯,韩春茂,张力成. 异种(猪)脱细胞真皮基质与自体皮复合移植的临床应用. 中华整形外科杂志,2002,18(5):271-272.
- [10] 李培福,杨敏杰,潘银根,等. 脱细胞异种真皮支架与自体薄片皮片治疗烧伤 55 例. 人民军医,2001,44(2):80.
- [11] 陈璧,姜笃银,贾亦宇,等. 复合皮移植的实验研究与临床应用. 中华烧伤杂志,2004,20(6):374-350.
- [12] 潘圣鑫,朱小平,潘银根,等. 异种(猪)脱细胞真皮基质与头皮薄片复合移植. 中华整形外科杂志,2002,18(5):273-275.
- [13] 姜笃银,陈璧,徐明达,等. 异种脱细胞真皮基质的制作和临床应用观察. 中华烧伤杂志,2002,18(1):15-18.
- [14] 刘强,孟爱华,贺立新,等. 猪脱细胞真皮基质在体内转归的动物实验与临床观察. 中华烧伤杂志,2006,22(5):374-375.
- [15] 韩春茂. 积极开展烧伤创面愈合研究. 中华烧伤杂志,2002,18(1):5-7.
- [16] 钱春华,杜国强,姜笃银,等. 无细胞异种真皮基质动物移植实验和临床应用观察. 组织工程与重建外科杂志,2007,3(3):129-133.
- [17] 秦益民. 健康皮肤的结构和功能//秦益民. 功能性医用敷料. 北京:中国纺织出版社,2007:24-27.
- [18] 程关荣. 皮肤及附属器//钟慈声. 细胞和组织的超微结构. 北京:人民卫生出版社,1984:97-102.

(收稿日期:2007-10-09)

(本文编辑:王旭)