

## 复合皮的研究与临床应用

孙永华 胡 杰

复合皮(Composite skin)是一种永久性覆盖创面的替代物,是由自体表皮和异体真皮或人工真皮组成的创面覆盖物。80 年代开始,应用组织工程技术制成细胞外基质,在体外或体内进行上皮细胞培养形成一种新的人工皮肤,成为国内外研究者关注的热门课题。

自体皮是最为理想的永久性创面覆盖物。大面积深度烧伤,过多的全层皮肤毁坏,随着休克复苏、抗感染和代谢支持等治疗措施的进步已有可能治愈,但必须在一定的时间内完成创面的永久性覆盖,否则由于皮肤维护机体内环境稳定和屏障功能丧失以及免疫调节失衡,易产生感染、水电解质紊乱等多种并发症,最后可使病人因脓毒症和脏器功能衰竭而死亡。特别是Ⅲ度烧伤面积超过 70% 以上的严重烧伤由于供皮区少,要在一定的时间内完成创面永久性覆盖困难很大。虽然可用临时性覆盖物如同种皮、异种皮和自体皮供区反复使用覆盖创面,然而同(异)种皮的排斥,创面的裸露、感染和能量的大量消耗仍时刻威胁着病人的安全。

1975 年 Rheinwald<sup>[1]</sup>和 Green<sup>[2]</sup>首次报道人体上皮细胞在体外培养获得成功。其后,体外培养的自体上皮细胞膜片作为一种永久性的生物覆盖物被应用于烧伤创面。1981 年 O'Conner<sup>[3]</sup>首次应用移植培养上皮细胞膜片修复 2 例烧伤病人较小创面获得成功。1984 年 Gallico<sup>[4]</sup>使用约 50% 体表面积的自体表皮片移植,成功救治了 2 例烧伤总面积 95% 深度烧伤儿童。但经过多年的临床和实验发现,体外培养的细胞膜片系单纯的上皮成分,缺乏真皮组织,不具备真皮的皮肤结构和功能。虽然能够作为一种永久性的覆盖物并且移植成功,但由于缺少真皮组织,特别是缺少表皮与真皮间的基底膜,通常在手术植入后 3 周内就有部分区域与创面分离起泡;愈合好的部位也是脆性大、不耐磨、不抗压、易破损,愈合后的创面瘢痕增生严重,挛缩明显,功能差。尤其是易发生感染,成活率受到影响。另外患者需要等 2~3 周,以待体外细胞培养成长为足够的覆盖创面的膜片<sup>[5]</sup>。1981 年 Yannas 与 Burke<sup>[6,7]</sup>

开始利用胶原膜和硅膜制成的人工复合皮来作为永久性的新型烧伤创面覆盖物,并应用于临床。其后,报道日渐增多,且其临床应用价值越来越受到人们的重视。复合皮具有以往的覆盖物所不具备的优点,它已部分的具有类似真皮的结构和功能。复合皮的植入使得植皮区比无复合皮的创面更光滑、平整,功能也较为完善<sup>[5,8-12]</sup>。

Burke<sup>[13]</sup>所采用的人工皮已发展为今天美国市场上的商品“Integra”,它是用 silastic 作为表皮,以牛胶原及鲨鱼软骨中提取的六硫酸盐软骨素作为真皮。这种人工皮移植到创面上,机体细胞及血管可长入真皮内,形成新生真皮。表皮部分在有供皮区时去掉,取薄断层自体皮植于新生真皮上,创面可完整地覆盖。愈合后的创面瘢痕不明显,表层硅膜厚 100  $\mu\text{m}$ ,微孔径小于 5  $\mu\text{m}$ ,可以控制水分丧失和阻止细菌侵入。人工真皮具有的真皮相似的三维结构为长入的成纤维细胞提供信息,诱导成纤维细胞、内皮细胞长入,合成新生的血管和胶原,形成具有真皮相似的三维结构“新生真皮”。一般在数周后“新生真皮”结构完全取代人工真皮。

组织学观察发现,早期新生结缔组织穿过人工真皮小孔进入真皮,经 2~4 周结缔组织丛扩大,人造真皮逐渐被降解吸收。3 周后,已查不出牛胶原的残留物,人工真皮已完全被自体组织取代,人工真皮对于新生真皮的形成起到了“模板”作用。

“Integra”可大规模生产,而且可以人为的控制和选择替代组织的原料、结构以及生产工艺等。所不足的是生产原料包括有非天然的高分子聚合物及部分失去活性的胶原蛋白等,缺少完整的细胞外基质成分和结构。1981~1997 年文献报道<sup>[13,14]</sup>Integra 为临床提供了一个满意的永久性覆盖物。由于使用薄自体皮片(厚 0.15~0.25 mm)移植,供皮区愈合快,无瘢痕增生之虑。Boyce<sup>[14]</sup>等报告,将自体皮细胞放置于膜片上面,将成纤维细胞置于下面,进行移植,已获初步成功。

1981 年 Bell<sup>[15]</sup>等人利用提取的天然胶原蛋白与成纤维细胞按一定的比例混合,形成一个真皮层。再

作者单位:100035 北京积水潭医院烧伤科(孙永华);杰亚生物技术公司(胡杰)

将表皮细胞悬液接种在这个真皮层上,制成一个类似正常皮肤的复合皮。Hansbrough<sup>[16]</sup>也报道利用可被生物降解的聚合物作为细胞生长的基质框架,在体外将新生儿成纤维细胞接种于基质框架内。随着细胞在框架上的生长,它们不断地分泌出许多蛋白质和糖蛋白等成分,充填在网状框架中,形成一个天然的细胞外基质。经过实验表明这个具有生命活性的(组织)真皮替代物覆盖在深度创面上能够迅速血管化,并且覆盖在其上的自体表皮也随之上皮化。1996年 Vallel 等,1997年国内王旭等<sup>[17,18]</sup>也有类似的报道。

Heck<sup>[19]</sup>于1985年报道,以同种异体真皮作为自体表皮的移植载体并应用于大鼠和人体上。他采用经过冷冻处理过的天然同种异体皮肤通过真空吸引法将所得的自体皮覆盖在异体真皮表面。

随后 Cuono<sup>[8]</sup>等报道:借助体外培养后的单层表皮细胞,覆盖于去除表皮层的异体真皮表面。这种方法虽然已初步应用于临床,但效果尚难以肯定。原因是这种方法虽然脱除了表皮,从而降低了免疫抗原性,不会招致急性排斥反应,但是由于保留了真皮层内含有的表皮细胞成分、成纤维细胞和血管内皮细胞等,它们依然会引发机体产生免疫排斥反应。

目前,冻伤细胞外基质的完整对于皮肤愈合重要性的临床报道引人注目。冷冻导致皮肤内的细胞损坏、死亡。但细胞外基质并没有受到破坏,因此冻伤的愈合要比烧伤快,而且通常无瘢痕。

正常皮肤的上皮与真皮的连接依靠接触面凹凸不平的相互嵌入的基底膜。在电镜下见基底膜是由不同结构的三层组成,角质细胞与成纤维细胞分泌一些基质及生长因子参与连接结构的形成,上皮在真皮上生长很快形成半桥粒。它凭借基底细胞透明层张力丝横跨基底膜,将表皮固定于真皮上。

Livesey 等人报道利用新鲜的异体皮肤,通过特定的化学处理<sup>[19~21]</sup>。首先将具有高度免疫抗原性的表皮层,从皮肤上脱掉。随后再对真皮层进一步处理,将真皮内可引发被宿主识别的外来成分,如成纤维细胞、血管内皮细胞及各种皮肤附件的细胞成分脱除掉。同时在单一脱除细胞的整个过程中,却奇迹般地完整地保留了细胞外基质的形态结构和组成成份,并完整地保留界于真皮层与表皮层之间的基底膜。基底膜的存在对于在其上生长的表皮细胞的生长、分化具有极为重要的作用。而完整地保留真皮层细胞外基质,可诱导具有再生能力的成纤维细胞,血管内皮细胞按照应

有的组织学方式长入这个“真皮层”。临床报道业已证明了这种非常易于血管化的真皮基质和对进行上皮化具有重要作用的基底膜的“真皮”,使得重建后的皮肤,具有很好的弹性以及美观效果。这种人工皮目前以商品名“AlloDerm”进入市场<sup>[22]</sup>。

上述人工皮肤均已在临床上应用,收到了很好的效果,但价格很贵,一般每平方英尺1万美元左右。因此,尚难以推广。

近年来,日本京都大学<sup>[23]</sup>设计了自体细胞培养膜片+胶原海绵的人工复合皮。北里大学和湘南谦合医院<sup>[24]</sup>共同进行动物实验及临床研究,将同种传代培养的纤维母细胞,以 $1 \times 10^5$ 个/cm<sup>2</sup>的密度播种于胶原基质中培养1周,制成复合培养真皮(Cultured dermis substitute)移植于Ⅲ度烧伤切痂创面,3周后在生长良好的肉芽组织上,再植上0.13 mm极薄的断层表皮片,组织学证实,肉芽组织均匀质密,创面愈合平整,挛缩轻。

俞为荣用自体表皮细胞培植与胰酶处理冷冻异体真皮组合进行实验,成活率达 $(84.6 \pm 2.4)\%$ 。

姜笃银等用胰蛋白酶处理的异体真皮+薄断层皮片的动物实验证实,皮片较异体冻干真皮、新鲜异体真皮其上再重叠移植自体皮成活率高、挛缩轻。方承辉等报告<sup>[25]</sup>用未经处理的异体真皮+表皮层皮片移植皮片成活率低,挛缩重。用纤维母细胞因子(FGF)对复合皮处理后移植成活率有所提高,挛缩轻。孙永华和胡杰共同研制的“J-1型脱细胞异体真皮”+0.2 mm的自体薄断层皮片,经动物实验和临床应用证实具有成活率高、收缩率低、瘢痕轻、质地软、外观平整的良好效果<sup>[26]</sup>。

总之,研制和应用复合皮的时间尚短,经验不多,长期观察的报道尚少,但发展前途令人鼓舞,相信在实践中会有更多、更好的发现。

#### 参 考 文 献

- 1 Rheinwald JG, Green H. Formation of a keratinizing epithelium in culture by a cloned cell line derived from a teratoma. *Cell*, 1975, 6: 317 - 330.
- 2 Green H, Kehinde O, Thomas J. Growth of cultured human epidermal cells into multiple epithelia suitable for grafting. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76: 5665 - 5668.
- 3 O'Conner NE, Malliken JB, Bank-schlegels, *et al.* Grafting of burns with cultured epithelium prepared from autologous epidermal cells. *Lancet*, 1981, 1: 75 - 78.
- 4 Gallico GG, O'Conner NE, Compton CC, *et al.* Permanent coverage of large burn wound with autologous cultured human epithelium. *New Engl J*

- Med, 1984, 311:488.
- 5 Saffle JR, Davis B, Williams P. Recent outcomes in the treatment of burn injury in United States. *J Burn Care Rehabil*, 1995, 16:219 - 232.
  - 6 Yannas IV, Lee E, Orgill DP, *et al.* Synthesis and characterization of a model extracellular matrix that induces partial regeneration of adult mammalian skin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86:933 - 937.
  - 7 Burke JF, Yannas IV, Ourinby WC, *et al.* Successful use of a physiologically acceptable artificial skin in the treatment of extensive burn injury. *Ann Surg*, 1981, 194:413 - 428.
  - 8 Cuono CB, London R, Birchall N, *et al.* Composite autologous-allogeneic skin replacement: development and clinical application. *Plast Reconstr Surg*, 1987, 80:626 - 635.
  - 9 Tompkins RG, Burke JF. Progress in burn treatment and the use of artificial skin. *World J Surg*, 1990, 14:819 - 824.
  - 10 李迟, 孙永华. 烧伤小创面测量尺. *中华整形烧伤外科杂志*, 1992, 8: 241 - 242.
  - 11 McKay I, Woodward B, Wood K, *et al.* Reconstruction of human skin from glycerol preserved allodermis and culture keratinocyte sheets. *Burns*, 1994, 20:19 - 22.
  - 12 陈璧, 汤朝武, 龚熙荣. 复合皮片移植的实验研究. *中华实验外科杂志*, 1990, 7:29.
  - 13 Burke JF. Clinical cases studies of Integra artificial skin. In: Burke JF Ed. *New Jersey: Physician Training Manual*, 1996.
  - 14 Boyce ST, Hansbrough JF. Biological attachment growth and differentiation of cultured human epidermal keratinocytes on a graftable collagen and chondroitin-6-sulfate substrate. *Surgery*, 1998, 103:412 - 431.
  - 15 Bell E, Ehrlich HP, Sher S, *et al.* Development and use of skin equivalent. *Plast Reconstr Surg*, 1981, 67:386 - 392.
  - 16 Hansbrough JF, Cooper ML, Cohen R, *et al.* Evaluation of a biodegradable matrix containing cultured human fibroblasts as a dermal replacement beneath meshed skin grafts on athymic mice. *Surg*, 1992, 111:438 - 446.
  - 17 Lopez-Valle CA, Germain L, Rouabhia M, *et al.* Grafting on nude mice of living skin equivalents produced using human collagens. *Transplant*, 1996, 62:317 - 323.
  - 18 王旭, 王甲汉, 吴军. 复合皮的制作与临床应用. *中国修复与重建外科杂志*, 1997, 11:100 - 102.
  - 19 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 - 112.
  - 20 Hansbrough JF, Dore C, Hansbrough WB. Clinical trials of a living dermal tissue replacement placed beneath meshed, split-thickness skin graft on excised burn wounds. *J Burn Care Rehabil*, 1992, 13:519 - 529.
  - 21 Wainwright D, Madden M, Luteran A, *et al.* Clinical evaluation of an acellular allograft dermal matrix in full-thickness burn. *J Burn Care and Rehabilitation*, 1996, 17:124 - 136.
  - 22 Wainwright DJ. Use of an acellular allograft dermal matrix (Alloderm) in the management of full-thickness. *Burns*, 1995, 21:243 - 248.
  - 23 Soejima K, Nozaki M, Sasaki K, *et al.* Reconstruction of burn deformity using artificial dermis combined with thin split skin grafting. *Burns*, 1997, 23:501 - 504.
  - 24 Lorenz C, Apetracie P, Hohl HP, *et al.* Early wound closure and early reconstruction. *Burns*, 1997, 6:505 - 508.
  - 25 方承辉, Robb EC, 于光曙, 等. 纤维母细胞生长因子对复合皮肤移植成活和收缩的影响. *中华整形烧伤外科杂志*, 1993, 1:41 - 44.
  - 26 孙永华, 李迟, 王春元, 等. 脱细胞异体真皮与自体薄皮片移植的研究与应用. *中华整形烧伤外科杂志*, 1998, 14:370 - 373.

(收稿日期:1999-04-20;编辑:刘志远)

## · 经验介绍 ·

### 0.5%利多卡因喷雾烧伤创面清创

张宋俊

我院自1990年2月以来,应用0.5%利多卡因行烧伤创面喷雾止痛800例,无不良效果。

本组800例中男500例,女300例;年龄最大的83岁,最小的13个月。创面最大60%,最小10%左右。

方法:0.5%利多卡因溶液40ml,用50ml消毒注射器(6号

针头)喷雾于创面。根据创面大小配制药液剂量,一次以不超过150mg为宜。一般喷雾后3~5min后,可行清创,用0.9%等渗盐水冲洗创面,然后再用0.5%碘伏溶液冲洗消毒,去除创面痂皮,外涂磺胺嘧啶锌膏后包扎。首次清创容易彻底,病人不感局部疼痛,有利于坏死组织的彻底清除或创面污染物的去除。2~3d更换一次敷料,由于清创彻底,感染机会少,有利于创面的愈合。本组使用800例经临床观察后无不良反应。

(收稿日期:1999-04-20;编辑:赵云)

作者单位:223600 江苏省沭阳县人民医院