

· 论 著 ·

鼠神经生长因子促进大张移植皮片感觉康复的临床研究

吴志宏 黄静 高微虹 王爱丽 贾卿 陈波 徐顺 顾耀辉



【摘要】 目的 观察局部应用鼠神经生长因子(NGF)对大张移植皮片感觉神经末梢再生过程的影响。方法 选择中小面积烧伤和需行瘢痕整形术的成年患者 48 例共 60 处创面,随机分为 NGF 组、对照组(各 30 处)。NGF 组术前采用含鼠 NGF 的等渗盐水(9000 AU/100 ml)纱布包裹皮片,术后用 100 ml 该盐水行皮片下冲洗;术后 20 d 起,于移植皮片下多点微量注射 NGF,隔日 1 次,持续 1 个月。对照组单纯用等量等渗盐水作相同处理。检测术后 12 个月内移植皮片的两点辨别比并行皮片感觉功能评级。采集再次行整形术患者的术区组织标本行组织病理学检查,观察神经末梢再生和分布情况。结果 术后 12 个月,NGF 组 17 处皮片达 S₄级、两点辨别比为 1.11 ± 0.14,而对照组仅 5 处皮片达 S₄级、两点辨别比为 1.56 ± 0.73 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);其余各时相点 2 项指标组间差异与之相似。术后 6 个月,NGF 组可在皮片移植区的微血管床、瘢痕结节旁的疏松组织间隙和移植皮片下的瘢痕组织中,见到丰富的感觉神经末梢,附件结构也较为完整;对照组上述组织中神经末梢纤细,稀少。结论 局部应用 NGF 可加速感觉神经末梢的再生,促进移植皮片的感觉恢复。

【关键词】 皮肤移植; 神经生长因子; 感受器,感觉

Effect of nerve growth factor on the promotion of sensory recovery of large skin graft in patients WU Zhi-hong, HUANG Jing, CAO Wei-hong, WANG Ai-li, JIA Qing, CHEN Bo, XU Shun, GU Yao-hui. Department of Burns and Plastic Surgery, the 7th People's Hospital of Shanghai, Shanghai 200137, P. R. China

【Abstract】 Objective To analyze the influence of topical application of nerve growth factor (NGF) on nerve ending regeneration of large skin grafts in patients. Methods Sixty wounds from 48 adult patients with small or moderate burn area and scar excision were randomly divided into NGF and control groups, with 30 wounds in each group. The wounds in control group were treated with simple saline solution, while those in NGF group, the graft was first wrapped in a piece of gauze holding 100 ml saline solution containing 9000 AU NGF before operation, and then flushed with same amount of NGF saline underneath skin after application of the graft. From 20 post-operative day on, NGF was injected at multiple points every other day for one month. In control group, only normal saline was used. The texture of the graft, pain sensation, temperature and two-point discrimination, BMRC grade were observed for 12 months. Skin specimens were obtained from 6 wounds in control group, 5 wounds in NGF group, and 4 specimens from normal skin for immunohistological examination of protein gene product 9.5 (PGP 9.5), synaptophysin (SYN), and neuron specific enolase (NSE). The nerve endings regeneration and distribution were also observed. Results Compared with those in control group, each index of feeling recovered earlier and better in NGF group, with better two-point discrimination ratio and BMRC grade. One year after operation, 17 skin grafts in NGF group reached S₄ grade, with two-point discrimination ratio of 1.11 ± 0.14, while only 5 grafts in control group reached S₄ grade, with two-point discrimination ratio of 1.56 ± 0.73. Six months after operation, rich nerve endings, with integral adnexae were observed in microvascular bed of skin-graft region and tissue interspace around fibroas tissue in subcutaneous tissue in NGF group, while nerve endings were found to be scanty and slender in subcutaneous tissue in control group. Conclusion Local application of NGF can promote nerve regeneration and sensory recovery of grafted skin.

【Key words】 Skin transplantation; Nerve growth factors; Receptors, sensory

神经生长因子(NGF)可诱导损伤区神经元和轴索的发芽、再生,是一种对中枢神经系统和神经干损伤的愈合起着重要调控作用的细胞因子^[1]。此

外,它还可促进上皮细胞的迁移和增殖,加速创面愈合^[2,3]。动物实验表明,培养的上皮细胞可产生内源性 NGF,诱导移植的组织工程皮获得来自受体的感觉神经支配^[4]。是否局部应用 NGF 也可促进大张移植皮片感觉神经末梢再生,加速神经支配的重建过程?笔者就此问题进行了临床研究。

基金项目:上海市医学重点专科建设项目(05 II 014);浦东新区社会发展局医学科研项目(PW2002-19)

作者单位:200137 上海市第七人民医院烧伤整形科

1 资料与方法

1.1 入选及排除标准

选择需行大张皮移植术的中小面积烧伤或瘢痕整形成年患者(知情同意)。排除血管、神经、肌腱和关节组织严重受损者,有糖尿病及神经、血管疾病者,有神经、精神障碍者,肿瘤患者,年幼无分辨能力或随访不足 3 个月者。

1.2 试验分组

纳入本试验的患者共 48 例,其中男 35 例、女 13 例,年龄(26±13)岁。烧伤患者 31 例,烧伤总面积 1%~14% TBSA,深Ⅱ~Ⅲ度,共 42 处创面,植皮面积 1.0%~3.0% TBSA。瘢痕整形患者 17 例,瘢痕创面 18 处,植皮面积 0.5%~2.0% TBSA。按随机数字表将 60 处创面分为 NGF 组和对照组(各 30 处),行双盲试验。NGF 组患者移植大张自体皮片前,用含鼠 NGF(恩经复,国药试字 S20040002,厦门北大之路生物工程有限公司)的等渗盐水(9000 AU/100 ml)纱布包裹皮片,10 min 后移植。术毕用上述等渗盐水 100 ml 行皮片下冲洗,打包包扎。术后 20 d 拆线后,用微量注射器于皮片下多点注射 NGF(每支 2 ml,含 NGF 9000 AU)30 AU/cm²,隔日 1 次,持续 1 个月。术后逐月检查移植皮片的感觉恢复情况,并观察有无不良反应,随访 6 个月以上。对照组患者仅用等量等渗盐水处理,方法同上。

1.3 检测指标

1.3.1 移植部位皮肤感觉功能检查和两点辨别比评价 检查患者移植部位皮肤的痛觉、触觉、温觉等。分别测量移植部位皮肤及其邻近或对侧正常皮

肤的两点区别觉距离,计算两点辨别比 = 移植部位皮肤的两点区别觉距离 ÷ 邻近或对侧正常皮肤的两点区别觉距离。

1.3.2 移植部位皮肤的感觉功能分级评估 参照英国医学研究委员会(BMRC)评级标准^[5]进行感觉功能分级评定。S₀级:完全无感觉;S₁级:深痛觉存在;S₂级:部分浅痛觉及触觉恢复;S₂₊级:同 S₂级但有感觉过敏现象;S₃级:痛、触觉完全恢复,过敏现象消失,但两点区别觉距离较大(通常 > 15 mm);S₄级:感觉恢复正常。

1.3.3 组织病理学检查 术后 6 个月,采集术区接受后期整形的组织标本(对照组 6 处、NGF 组 5 处),行 HE 染色、神经标记物[蛋白基因肽 9.5(PGP 9.5)、神经元特异性烯醇酶和突触素]染色,观察神经末梢再生和分布情况,取 4 处正常皮肤作对照。

1.4 统计学处理

应用 SPSS 10.0 统计软件,移植皮片两点辨别比用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用双尾 *t* 检验;BMRC 评级数据采用组间 χ^2 检验。

2 结果

2.1 感觉功能的评估

2 组患者移植部位皮肤成活早期仅有深痛觉、重压觉。术后 1~2 个月对照组有痛觉,以后依次可检查出动、静态触觉及动、静态两点区别觉;温觉最迟,一般约术后 4 个月出现。NGF 组的各项感觉指标恢复较早且更完全,各随访时相点 BMRC 评级和两点辨别比优于对照组(表 1)。

表 1 2 组患者移植部位 BMRC 评级及两点辨别比结果($\bar{x} \pm s$)

组别	移植部位 (处)	BMRC 评级						两点辨别比
		S ₀	S ₁	S ₂	S ₂₊	S ₃	S ₄	
对照组								
术后 1 个月	30	20	6	4	0	0	0	—
术后 2 个月	30	9	10	10	1	0	0	—
术后 3 个月	30	0	4	22	2	2	0	2.73 ± 0.86
术后 4 个月	25	0	0	19	3	3	0	—
术后 6 个月	28	0	0	16	3	7	2	2.07 ± 0.83
术后 9 个月	20	0	0	9	0	9	2	1.83 ± 0.75
术后 12 个月	18	0	0	3	0	10	5	1.56 ± 0.73
神经生长因子组								
术后 1 个月	30	11 ^b	4 ^b	14 ^b	0	1 ^b	0	—
术后 2 个月	30	1 ^b	1 ^b	19 ^b	4 ^b	5 ^b	0	—
术后 3 个月	30	0	0	7 ^b	8 ^b	15 ^b	0	1.67 ± 0.41 ^b
术后 4 个月	24	0	0	2 ^b	1 ^b	19 ^b	2 ^b	—
术后 6 个月	24	0	0	2 ^b	0	14 ^b	8 ^b	1.34 ± 0.26 ^b
术后 9 个月	18	0	0	0	0	5 ^b	13 ^b	1.25 ± 0.17 ^b
术后 12 个月	19	0	0	0	0	2 ^b	17 ^b	1.11 ± 0.14 ^a

注:按照英国医学研究委员会(BMRC)评级标准进行评定;“—”表示无此项或未检测;与对照组比较,a: *P* < 0.05, b: *P* < 0.01

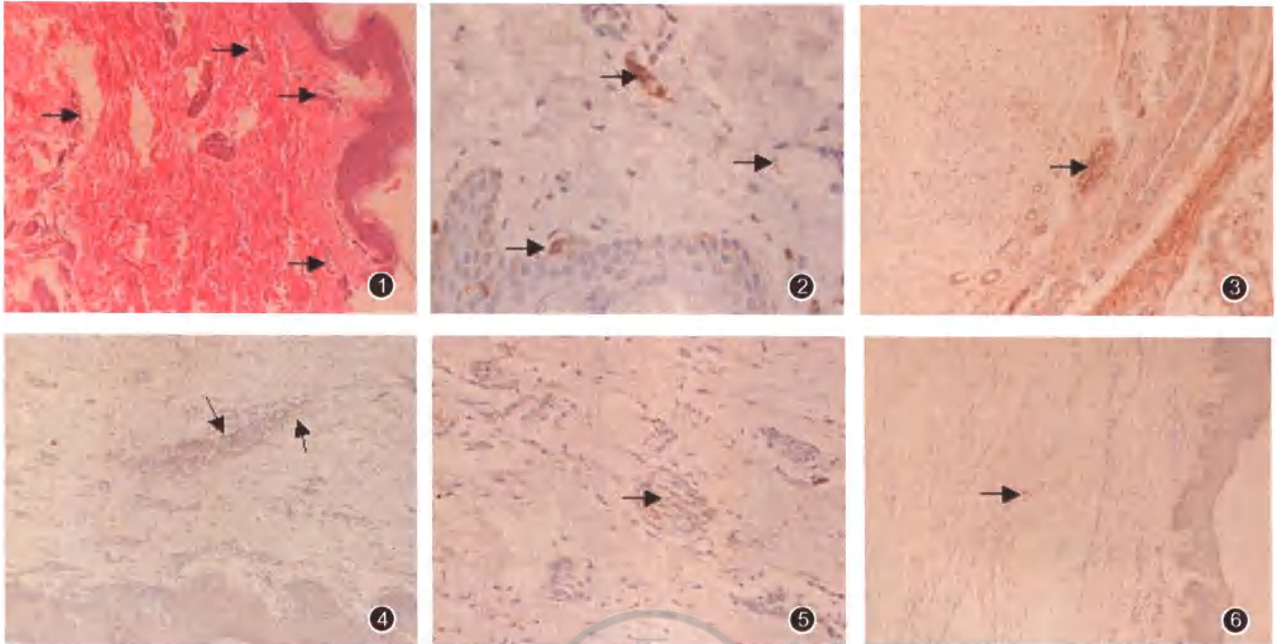


图 1 正常皮肤神经末梢(箭头所示)位于汗腺、真皮乳头旁、微血管周围 HE ×100 图 2 正常皮肤真皮乳头及皮下小血管旁的神经末梢(箭头所示) 神经元特异性烯醇酶(NSE) ×400 图 3 术后 6 个月,神经生长因子(NGF)组移植皮片下瘢痕结节旁的间隙可见神经末梢(箭头所示) 蛋白基因肽 9.5 (PGP 9.5) ×200 图 4 术后 10 个月,NGF 组神经末梢位于移植皮片下的瘢痕组织和血管周围突触素 ×100 图 5 术后 10 个月,NGF 组移植皮片下瘢痕组织中的神经末梢(箭头所示)分布有序,结构清晰、完整 NSE ×200 图 6 术后 10 个月,对照组神经末梢纤细(箭头所示)、稀少 PGP 9.5 ×100

2.2 组织病理学检查结果

HE 染色和免疫组织化学检查示,正常皮肤的感觉神经末梢主要分布于真皮组织中的皮肤附属器、真皮乳头旁和微血管周围(图 1,2)。术后 6、10 个月,NGF 组术区的微血管床、瘢痕结节旁的疏松组织间隙和移植皮片下的瘢痕组织中,可见丰富的感觉神经末梢,附件结构也较为完整(图 3~5)。对照组上述组织中神经末梢纤细、稀少(图 6)。

3 讨论

重建移植皮片的感觉,取决于创周和受区基底部的神经末梢再生。该过程漫长,易受瘢痕增生、感染和患者营养状况等因素干扰。若长时间失神经支配,皮片内原有的感觉神经末梢、感受器和效应器也将逐步蜕变直至消失,给感觉恢复带来困难^[1]。因此,如何尽早促进受区感觉神经末梢再生,加速神经支配的重建过程,是临床医师长期关注的问题。NGF 治疗神经干损伤已取得了肯定效果^[1,6]。本研究结果提示,外源性 NGF 可较早且有效地恢复移植皮片的感觉功能。

神经末梢免疫组织化学染色是观察神经支配重建过程的有效手段。Stella 等^[7]应用 PGP 9.5 染色观察烧伤后移植皮片和瘢痕组织中感觉神经末梢再生情况,认为它们均与 BMRC 评级有良好的相关

性。应用感觉阈值测定仪,结合 PGP 9.5 或抗 P 物质免疫组织化学法,观察烧伤或整形患者移植皮片触、温、痛觉的恢复水平与神经再生的关系,结果显示烧伤植皮区活检标本的表皮、真皮、汗腺和血管周围神经末梢减少,仅为自体正常皮肤的 40%~70%,是感觉阈值升高的根本因素^[8,9]。Ward 等^[9]的研究表明,主诉瘙痒和疼痛难忍的患者热阈值降低,移植皮片中 P 物质神经纤维增多(达正常值的 177%)。他们认为原因是 P 物质神经纤维无髓鞘,较有髓鞘纤维具有更强的穿透瘢痕组织、使移植皮片重获神经支配的能力。本研究采用不同类型神经标记物,观察外源性 NGF 对植皮区神经末梢再生的作用,结果提示局部应用 NGF 可加速神经末梢的再生过程,促进它沿着微血管床和瘢痕结节旁的疏松组织间隙,长入真皮内的瘢痕组织或移植皮片下的瘢痕组织,形成感觉重建的结构基础,从而促进移植皮片的感觉恢复。

参考文献

- [1] Donnerer J . Regeneration of primary sensory neurons Pharmacology, 2003, 67(4):169-181.
- [2] Gibran NS , Tamura R , Tsou R , et al . Human dermal microvascular endothelial cells produce nerve growth factor: implications for wound repair. Shock, 2003, 19(2):127-130.
- [3] 李玲巧,姜会庆,解伟光,等. 神经生长因子对深 II 度烫伤大

鼠创面愈合的调控作用. 中华烧伤杂志, 2004, 20(5): 299 - 300.

[4] Kangesu T, Manek S, Terenghi G, et al. Nerve and blood vessel growth in response to grafted dermis and cultured keratinocytes. *Plast Reconstr Surg*, 1998, 101(4): 1029 - 1038.

[5] 王炜. 整形外科学. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1999: 1239 - 1240.

[6] 王正国. 创伤基础研究进展. 中华创伤杂志, 2005, 21(1): 6 - 10.

[7] Stella M, Calcagni M, Ramiri G, et al. Sensory endings in skin grafts and scars after extensive burns. *Burns*, 1994, 20(6): 491 -

495.

[8] Nedelec B, Hou Q, Sohbi I, et al. Sensory perception and neuroanatomical structures in normal and grafted skin of burn survivors. *Burns*, 2005, 31(7): 817 - 830.

[9] Ward RS, Tuckett RP, English KB, et al. Substance P axons and sensory threshold increase in burn-graft human skin. *J Surg Res*, 2004, 118(2): 154 - 160.

(收稿日期: 2007 - 03 - 09)

(本文编辑: 莫愚)

· 经验交流 ·

大张扩张全厚皮治疗瘢痕挛缩五例

孟杰 张维鹏 张义民 夏双印

1 临床资料

2003 年 3 月—2007 年 5 月, 笔者单位采用皮肤扩张技术^[1]获得大张全厚皮片移植修复瘢痕挛缩畸形患者 5 例, 其中男 2 例、女 3 例, 烧伤面积 68% ~ 87% TBSA。瘢痕部位: 2 例为双膝关节, 1 例为双髋关节, 2 例为双手。扩张部位: 双侧胸壁 3 例、腰臀部 1 例、右大腿 1 例。

2 方法

针对患者正常皮肤的分布及面积选择扩张部位, 多采用基底为骨性组织的部位以利于扩张。在拟切取全厚皮片处两侧对应串联置入扩张器, 其中 3 例置入 6 只, 2 例置入 4 只。串联扩张器置于皮下, 腔隙相通, 尽量保留较少的皮下组织, 躯干和四肢部位按每修复 1 cm² 创面所需扩张容量为 3 ml 给予注水。切口愈合后, 每 5 ~ 7 天注水 1 次, 每次以扩张区中央皮肤不出现苍白为宜。

取出扩张器, 将扩张皮瓣推进修复供区。受区切除瘢痕后彻底止血, 移植皮片并加压包扎, 关节部位适当制动以保证皮片成活, 术后 10 ~ 14 d 拆除包扎敷料及缝线。

3 结果

本组病例中最大扩张容量为 2200 ml, 切取扩张皮片 21 cm × 14 cm ~ 45 cm × 15 cm, 修复瘢痕面积 675 cm², 全厚皮移植后成活良好。术后 6 个月复查, 移植部位皮肤柔软, 弹

性好, 皮下可移动, 关节功能良好。

典型病例: 患者男, 35 岁, 双下肢被铁水 III 度烫伤后增生性瘢痕挛缩, 双膝关节伸直畸形(图 1)。将两侧胸部设计为供皮区, 分 2 次于供皮区两侧分别对应串联置入 300 ~ 600 ml 扩张器 6 个(图 2), 经注水扩张后, 于扩张部位分别切取 45 cm × 15 cm、42 cm × 16 cm 全厚皮片, 取皮部位用扩张皮瓣推进修复(图 3)。切除松解双膝关节周围环形瘢痕组织, 将扩张全厚皮片植于创面。术后皮片成活 95% 以上。移植后 6 个月随访, 双膝关节屈曲接近正常水平(图 4)。

4 讨论

临床实践证明, 关节部位所移植的皮片越厚效果越好。但全厚皮片切取后供区往往采用直接拉拢缝合的方式, 使取皮面积受到限制, 常用于小面积创面修复。应用扩张技术提供大面积全厚皮片具有以下特点: (1) 可在全身任何部位设定供皮区。(2) 供皮区创面可自行愈合, 只留有线性切口, 外观明显好于中厚皮供区。(3) 供皮区不出现继发畸形, 可用同样方法再次获得全厚皮片。(4) 受皮区的功能与外观恢复较满意。

参考文献

[1] 杨兴华, 黄晓元, 肖目张, 等. 皮肤软组织串联扩张修复面中部瘢痕. 中华烧伤杂志, 2006, 22(6): 431 - 433.



图 1 患者双膝关节因瘢痕挛缩伸直 图 2 侧胸部置入扩张器
图 4 膝关节移植侧胸部全厚扩张皮片术后 6 个月, 膝关节屈曲近正常

图 3 侧胸部供区取大张全厚扩张皮片后用扩张皮瓣推进修复

作者单位: 158100 黑龙江省鸡西市人民医院烧伤整形科(孟杰、张维鹏、张义民); 哈尔滨医科大学第一附属医院整形外科(夏双印)

(收稿日期: 2007 - 05 - 14)

(本文编辑: 王旭)