

脱细胞异体真皮基质皮下移植后胶原的动态变化

霍孟华 戚可名 黄金井 管正玉 庄强 王阳 吕晓岩

【摘要】 目的 探讨脱细胞异体真皮基质 (ADM) 移植后胶原的变化情况。方法 将异体 ADM 移植于 SD 鼠皮下, 测定移植后 ADM 中胶原的含量及 I、II 型胶原的比例。结果 异体 ADM 移植后胶原含量及 I、II 型胶原比例无明显变化。结论 异体 ADM 是一种良好的软组织填充材料。

【关键词】 脱细胞真皮基质 移植 胶原

Collagen changes of allografting an acellular dermal matrix HUO Meng-hua, QI Ke-ming, HUANG Jin-jing, GUAN Zheng-yu, ZHUANG Qiang, WANG Yang, LÜ Xiao-Yan. Plastic Surgery Hospital of Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100041, China

【Abstract】 Objective To evaluate the collagen changes of allografting an acellular dermal matrix (allo-ADM). **Methods** The allo-ADM was grafted underneath the skin of SD rats. The content of collagen and the proportion of type I to III collagen was examined with a biochemical assay. **Result** The content of collagen and the proportion of type I to III collagen in the allo-ADM group showed no significant changes. **Conclusion** The allo-ADM could keep long time in the body and it may be an ideal material for soft tissue filling.

【Key words】 Acellular dermal matrix; Transplantation; Collagen

脱细胞真皮基质 (acellular dermal matrix, ADM) 去除了皮肤中的细胞成分, 保留了真皮的基质成分。胶原蛋白 (胶原) 是构成真皮基质的主要成分, ADM 移植后胶原的变化对其功能的发挥具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 异体 ADM 的来源

同种异体 SD 大白鼠处死后, 浸于 2% 碘伏溶液中消毒, 切取皮肤修剪成全厚皮片, 厚约 0.5 mm, 分别进行脱细胞、冷冻干燥及水化处理, 制成脱细胞真皮基质。再切制成 1 cm × 1 cm 大小的片状, 置磷酸盐缓冲液中待用。

1.2 实验动物

SD 系健康成年大白鼠, 体重 250 g 左右, 雌雄不限 (由中国农科院实验动物中心提供)。按取材时间不同分为 5 组, 每组 10 只。

1.3 皮下移植的手术方法

将 SD 鼠背部皮肤术前 1 天以脱毛剂脱毛, 清洗干净。术日称体重, 1% 戊巴比妥钠 30 mg/kg 体重,

腹腔注射全身麻醉。术区皮肤 2% 碘伏溶液消毒, 铺无菌巾单。背部中线右侧, 距中线约 0.5 cm 处作一个长 1 cm 的切口。在皮肤与皮肌之间, 向右侧分离, 形成 1 cm × 1 cm 大小的腔隙。植入异体 ADM, 其基底膜面均朝向皮肤, 真皮面朝向皮肌, 在腔隙内展平后, 缝合切口。分笼常规饲养。

1.4 胶原含量的定量测定

移植手术后 2 周, 1、2、3、4 个月时, 循原切口切开皮肤, 显露 ADM, 将其与周围组织分离后取出。将取出的新鲜组织标本经反复烘烤成干组织, 经 6 mol/L HCl 水解、0.05 mol/L 氯胺 T 氧化、10% 对二甲氨基苯甲醛显色后, 在波长为 560 nm 的 UV-1601 记录式分光光度计 (日本 Shimadzu 公司产品) 上进行比色, 测定羟脯氨酸吸光度 A 值, 根据羟脯氨酸标准曲线, 计算出胶原的含量。

1.5 胶原分型定量测定

应用乙酸纤维素薄膜电泳将 I、II 型胶原分离, 考马斯亮兰 R250 染色, 75% 乙酸—50% 甲醇溶液脱色, 除去未与蛋白质结合的染料, 即可见清晰的两条电泳区带。将着色的各电泳区带剪下, 配平, 以 0.12 N NaOH—80% 甲醇液将染色的蛋白质从薄膜

上洗脱下来,在波长为 580 nm 的 UV-1601 记录式分光光度计上进行比色,测出样本吸光度 A 值,求其比值。

1.6 统计学分析方法

不同时期的组织标本以均数 ± 标准差表示,采用 SPSS 10.0 进行单因素方差分析(F 检验),移植后不同时期的 ADM 与移植前的 ADM 进行两两比较(Dunnett t 检验)。

2 结果

移植后胶原含量、I、II型胶原比值的变化,差异均无显著性意义($P > 0.05$,表 1)。

3 讨论

胶原蛋白分子的主要特征是氨基酸成分中羟脯氨酸(4-羟脯氨酸)占 12% ~ 14%,这种氨基酸在其它动物组织蛋白中是没有的(弹性蛋白除外),因此可将羟脯氨酸作为一个特殊的标志,定量测定水解后羟脯氨酸乃是胶原定量常用的方法。考马斯亮兰 R250 是一种蛋白质染料,由于其所含有的疏水基团与蛋白质的疏水微区具有亲和力,因此该染料能与蛋白质结合。当把蛋白质样品固定于纤维薄膜上,以考马斯亮兰 R250 与蛋白质作用,蛋白质即被染上颜色。将被染色的蛋白质从纤维薄膜上洗脱下来进行比色测定,即能定量测出蛋白质的浓度。

胶原是一组在结构上既有共同特点又有差异的蛋白质总称,至少有五种不同的类型。在体内分布

具有一定的组织特异性,皮肤中则含有 I 和 II 型胶原,IV 型胶原仅存在于基底膜中^[1]。人体内胶原总含量约占蛋白质总量的 25% ~ 33%,它们是身体的主要结构蛋白,是各种组织的重要成分。其主要功能是作为组织支持物,赋予了组织以张力。除此之外,胶原分子及其纤维在生物的发育、生长、细胞分化及黏附、运动、化学趋向性以及抗原抗体结合反应等均起着重要的作用^[1]。

异体 ADM 移植后出现宿主成纤维细胞的移入和血管化,成纤维细胞在异体 ADM 提供的纤维支架上进行增殖,在产生胶原的同时,ADM 不断得以改建,并处于动态平衡之中。研究表明异体 ADM 皮下移植后胶原含量和 I、II 型胶原的比值无明显变化,此乃 ADM 发挥功能所必需的物质基础。作为软组织填充材料,ADM 移植后能较好地保留其原有的组织量,达到填充组织缺损的目的;作为真皮替代品,移植后能较好地覆盖创面,提供张力,促进表皮细胞的成活、黏附、分化和增殖^[2]。进一步表明脱细胞真皮基质是一种良好的软组织填充材料和真皮替代品。

参 考 文 献

- 1 李玉瑞.细胞外间质的生物化学及研究方法.北京:人民卫生出版社,1988.2,128.
- 2 Ghosh MM, Boyce S, Layton C, et al. A comparison of methodologies for the preparation of human epidermal-dermal composites. Ann Plast Surg, 1997, 39: 390-404.

表 1 移植后胶原含量及 I、II 型胶原比值变化($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Changes of collage content and III/I ratio after transplantation($\bar{x} \pm s$)

检测指标	移植后时间						P
	0	2 周	1 个月	2 个月	3 个月	4 个月	
胶原含量(mg/g 干组织)	94.49 ± 27.11	67.73 ± 9.05	69.74 ± 19.50	100.19 ± 33.45	59.05 ± 11.97	80.20 ± 6.57	0.082
I、II 型胶原比值(III/I ratio)	0.71 ± 0.13	0.56 ± 0.16	0.66 ± 0.12	0.58 ± 0.27	0.92 ± 0.10	0.50 ± 0.34	0.124

(收稿日期:2002-08-21)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊开通快速通道

本刊对重大科研成果开通快速通道以在最快时间内发表,凡要求在快速通道发表论文的作者,需提供关于论文创新性的书面说明和权威机构的查新报告,并交纳一定的加急审稿费。经审阅同意后,一般在收到稿件 4 个月内出版。