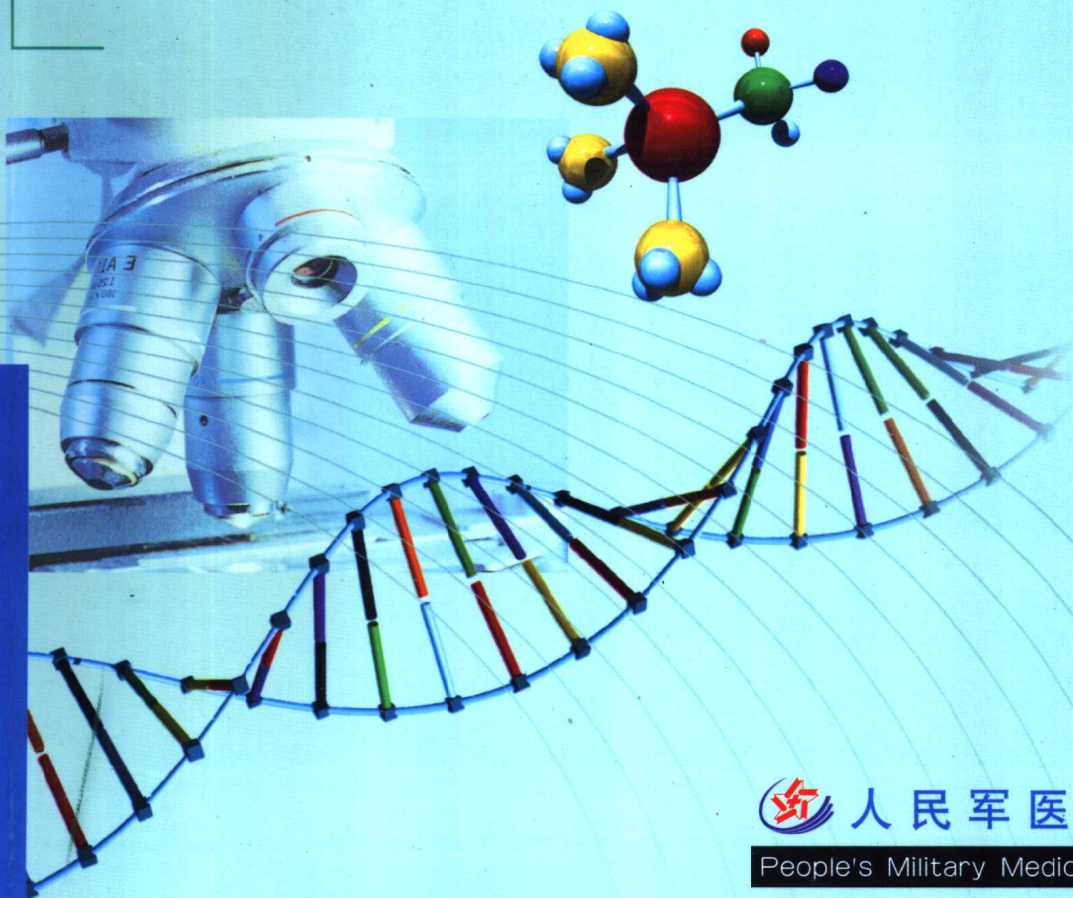


创伤修复与组织再生研究进展丛书

现代高新技术与 Xiandai 创伤修复

Gaoxin Jishu Yu
Changshang Xiufu

名誉主编 盛志勇 程天民 / 主编 付小兵 王正国



人民军医出版社

People's Military Medical Publisher

创伤修复与组织再生研究进展丛书

现代高新技术与创伤修复

XIANDAI GAOXINJISHU YU CHUANGSHANG XIUFU

主 编 付小兵 王正国

副 主 编 李校坤 崔玉芳 李兵仓



人民军医出版社

People's Military Medical Publisher

北 京

图书在版编目(CIP)数据

现代高新技术与创伤修复/付小兵,王正国主编. 北京:人民军医出版社,2002.5
ISBN 7-80157-417-6

I. 现… II. ①付… ②王… III. 高技术-应用-创伤-修复术 IV. R64

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2001)第 079677 号

人民军医出版社出版
(北京市复兴路 22 号甲 3 号)
(邮政编码:100842 电话:68222916)
人民军医出版社激光照排中心排版
北京天宇星印刷厂印刷
桃园装订厂装订
新华书店总店北京发行所发行

*

开本:787×1092mm 1/16·印张:21.25·字数:492 千字

2002 年 5 月第 1 版 (北京)第 1 次印刷

印数:0001~3000 定价:50.00 元

(购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换)

内 容 简 介

这是一部全面系统介绍近年来创伤修复(愈合)与组织再生某些基础研究领域最新进展和研究热点的高级学术专著。主要内容涉及信号转导、干细胞技术、基因工程技术、以及组织工程等高新技术的基础理论及其可能在创伤修复和组织再生中的应用。全书共分 21 章,既相互独立,同时在内容上又相互衔接。适合于外科学、创烧伤外科学及其相关医学领域从基础到临床的医务工作者阅读。与此同时对从事分子生物学、病理学、生化学等领域的研究人员也有较大的参考价值。也可作为医学与生物学领域大中专院校的参考教材。

责任编辑 靳纯桥

创伤修复与组织再生研究进展丛书

学术顾问

(以姓氏笔画为序)

- 卢世璧 中国工程院院士,解放军第三〇一医院教授
吴祖泽 中国科学院院士,军事医学科学院教授
顾玉东 中国工程院院士,上海华山医院教授
程天民 中国工程院院士,第三军医大学教授
盛志勇 中国工程院院士,解放军第三〇四医院教授
鞠 躬 中国科学院院士,第四军医大学教授

总 主 编

王正国 付小兵

编著者名单

主 编

付小兵 王正国

副 主 编

李校坤 崔玉芳 李兵仓

编 委

(以编著章节为序)

- 王正国 中国工程院院士,第三军医大学教授,博士生导师
盛志勇 中国工程院院士,解放军第三〇四医院教授,博士生导师
付小兵 解放军第三〇四医院教授,博士生导师
罗向东 第三军医大学西南医院教授,博士生导师
程 飏 解放军第三〇四医院博士后

李 磊 第三军医大学野战外科研究所教授,博士生导师
李建福 解放军第三〇四医院博士后
费 舟 第四军医大学西京医院教授,博士生导师
李兵仓 第三军医大学野战外科研究所教授,博士生导师
吴宗耀 第三军医大学西南医院教授,博士生导师
武继祥 第三军医大学西南医院副教授
吴 军 第三军医大学西南医院教授,博士生导师
解慧琪 华西医科大学第一附属医院博士
赵 明 解放军国防科学技术大学医院教授
王予彬 解放军第三〇四医院主任医师
王德文 军事医学科学院二所教授,博士生导师
崔玉芳 军事医学科学院二所教授
赖西南 第三军医大学野战外科研究所教授
朱旭东 第三军医大学野战外科研究所副教授
李校坤 暨南大学生物工程研究所副教授
洪 岸 暨南大学生物工程研究所副教授
杨 恬 第三军医大学基础部教授,博士生导师

前 言

创伤修复(愈合)与组织再生不仅是近年来创(烧)伤医学,而且也是整个外科学领域进展最为明显的部分之一。组织工程技术、干细胞技术、克隆技术、纳米技术的产生以及人类基因组计划的顺利实施,使人们对创伤修复与组织再生的认识发生了根本的改变,同时其可能的应用将会给该领域的临床治疗带来革命性的突破。因此,在这样一个大的科学背景下,各国科学家均在竞相开展该项领域的研究,并力图在基础理论研究获得突破的同时尽早应用于临床,造福于大众。在国内,国家对该领域的研究给予了足够的重视,在刚刚启动的国家为在 21 世纪影响我国国民经济和社会发展所设立的重大基础 research 项目中,严重创伤后的早期损害与组织修复研究已名列其中,受到国家投入数千万元专项基金的资助。从该项目启动一年多的实践来看,不仅国外在这一领域的工作突飞猛进,国内也取得了长足的进展。初步结果预示,再经过一段时间的研究,创伤修复(愈合)与组织再生领域基础研究的成果将为临床治疗带来革命性的突破,故其重要性值得关注。

为更好地反映该领域国内外的最新进展和研究动态,在国内创(烧)伤界前辈们的支持下,我们从基础到临床邀请了国内 10 余位从事创(烧)伤修复与组织再生的中青年专家,从不同领域比较全面系统地介绍了创伤修复与组织再生的最新研究进展。这些受邀的中青年科学家或从事创伤修复的临床工作,或专攻于创伤修复与组织再生某一专门领域,均学有所成,大部分曾到国外著名大学和实验室进行过深造或参加了相关领域的国际交流,他们是我国从事该领域从基础研究到临床治疗的中坚力量。因此,我们编著这部专著,其目的之一是要尽可能全面介绍和反映该领域近年来热点研究方向的最新进展(包括新概念、新理论、新认识、新技术与新应用等),为我国学者在该领域下一步的研究提供启迪和有益的参考。与此同时,通过学术交流,我们也希望借此机会推荐一些在该领域有一定成就或正在崭露头角的青年专家,给他们一个展示自己才华的舞台,并借此展示我国创伤修复与组织再生研究领域的队伍建设与蓬勃生机。因此,在每一章之首我们配发了相关作者的近照和中英文简历,希望广大读者,在阅读书稿的过程中能对这

些专家有一个更加深入的了解。

在此需要说明两点,一是部分受邀的在该领域从事基础和临床研究的中青年专家由于时间关系,其研究成果未能在该集中得到及时反映,对此我们表示遗憾并希望在下一集出版时能给予展示;二是由于各位撰稿专家所从事的工作性质不同,难免在写作风格上有所差异,对此我们并不求同,而是在大体格式一致的情况下保留各自的写作特点。

在该书编著过程中,我们得到了我国医学界,特别是创(烧)伤外科领域许多著名专家学者的热心指导与帮助。中国工程院院士、著名烧伤创伤外科专家盛志勇教授,中国工程院院士、著名复合伤专家程天民教授,中国科学院院士、著名神经生物学家鞠躬教授,中国科学院院士、著名细胞生物学家吴祖泽教授,中国工程院院士、著名骨科专家卢世璧教授以及中国工程院院士、著名手外科专家顾玉东教授等应邀担任了本书的学术顾问,并从不同角度对本书的出版给予关怀和指导。此外,主编所在单位解放军第三〇四医院以及全军烧伤研究所的领导对本书的出版给予了大力的支持与帮助,人民军医出版社的有关专家为本书的出版也付出了辛勤的劳动,对此我们一并表示衷心的感谢。

由于时间匆忙,本书错误在所难免,望读者给予斧正。

付小兵 王正国

2001年12月于北京

目 录

第一章	创面愈合与组织再生研究的现状与展望·····	(1)
第二章	现代高新技术与 21 世纪创伤修复与组织再生的几个热点研究领域 ·····	(8)
第三章	组织修复相关的细胞信号及其通路研究 ·····	(18)
第四章	创伤修复中的信号转导与生长因子作用的研究 ·····	(36)
第五章	创伤愈合与组织修复中的免疫调控研究 ·····	(50)
第六章	基因治疗在创面愈合中的应用研究 ·····	(85)
第七章	表皮干细胞与汗腺再生研究 ·····	(97)
第八章	中枢神经系统损伤修复机制的研究·····	(108)
第九章	脊髓损伤与移植修复的研究·····	(126)
第十章	基质金属蛋白酶与创伤修复的研究·····	(149)
第十一章	皮肤保存的研究·····	(163)
第十二章	组织工程种子细胞研究·····	(178)
第十三章	骨与软骨缺损的组织工程学修复研究·····	(203)
第十四章	膝关节半月板的损伤与修复研究·····	(218)
第十五章	创伤修复中细胞凋亡研究·····	(239)
第十六章	肥大细胞和淋巴细胞在创伤修复中作用的研究·····	(249)
第十七章	神经肽与伤口愈合的研究·····	(261)
第十八章	胎儿伤口无瘢痕愈合的研究·····	(268)
第十九章	生长因子与创伤修复的基础与临床应用研究·····	(280)
第二十章	细胞分化与组织修复研究·····	(309)
第二十一章	PA 级联的生物学特征及其在表皮组织修复中作用的研究 ·····	(323)

第一章 创面愈合与组织再生研究的现状与展望

王正国



作者简介:王正国 教授,中国工程院医药卫生工程学部院士,著名野战外科专家。1935年12月12日出生,1956年毕业于中国医科大学,从事战伤和创伤研究40余年,在冲击伤、创伤弹道学和撞击伤研究方面有重要贡献。发表论文190余篇,主编和参编专著27部,曾获国家科技进步一等奖(1992年)和其他奖多项。曾任第6届国际创伤弹道学会议秘书长(1988年)和第16届国际意外事故和交通医学会议主席(1999年),现任中华医学会创伤学分会主任委员、《中华创伤杂志》(中、英文版)总编辑、《国际交通医学杂志》副主编、国际军事医学大会文肯奖评委等职。

Resume: Professor Wang Zhengguo, academician of the Chinese Academy of Engineering (Division of Medicine and Health Sciences), is a distinguished expert in military surgery. Born on December 12, 1935, he was graduated with a degree of M. D. from China Medical University in 1956. He has been engaging in research on war wounds and other kinds of trauma for over 40 years. Based on his research on blast injury, wound ballistics and impact injury, he published over 190 papers and 27 books. He was the winner of the First Prize of National Sci-Tech Progress in 1992 and many other prizes. He was the Secretary General of the 6th International Symposium on Wound Ballistics held in China in 1988, and the president of the 16th International Congress on Accidents and Traffic Medicine held in 1999. Being the chairman of the Chinese Society of Traumatology, he also serves as editor-in-chief of the *Chinese Journal of Traumatology* (both Chinese and English editions), associate editor of the *Journal of Traffic Medicine*, and the appraising member of the Jules Voncken Prize, ICMM.

摘要:本文回顾了创面愈合与组织再生的漫长历史,指出20世纪80年代后,由于分子生物学的引入,组织再生研究跨入了一个新的阶段。文中介绍了各种生长因子的促愈合作用以及烧伤创面修复的各种方法。展望未来,提出要加强组织修复分子生物学研究、皮肤移植和代用品研究、慢性难愈创面和瘢痕过度增生防治研究以及干细胞在组织修复中作用的研究。

Abstract: The long history of wound healing and tissue regeneration indicates that the application of molecular biology has stimulated the research on tissue regeneration since the 1980s. The author describes the effects of growth factors on wound healing and different methods for the treatment of burn wound. He suggests that the following research should be strengthened: molecular biology of tissue repair, development of skin grafts and skin substitutes, prevention and treatment of chronic wounds and scar hyperproliferation, and the effects of stem cells on tissue regeneration.

创面愈合是医学中最古老的课题。因为,从人类诞生之日起,就开始出现创伤,有

创伤就有创面愈合和组织再生。随着社会的不断进步和医学的迅速发展,人类许多疾病,如某些传染病,已逐步得到有效的控制,在有些地区甚至已经绝迹,但是创伤却随着现代文明的发展而不断增多。由此可见,创面愈合与组织再生在新世纪中将会成为医学研究的热点之一。

1 回顾

据文献记载,约在公元前 3000 年,埃及人曾用蜂蜜、油脂和葡萄酒来促进创伤愈合,并用缝线和粘合物来闭合伤口。在我国,约于公元前 2100~1600 年,相当于夏代,即原始公社后期和石器时代的晚期,已用砭石、骨针对伤口作按压、放血和排脓,以促进创面愈合。以后的数千年中,运用中草药去腐化淤,消毒止痛,也取得了一定的疗效。19 世纪中叶以后,现代创伤治疗的许多原则已逐渐确定下来,如早期清创、伤肢固定、伤口缝合等。消毒和灭菌技术的创立为创伤治疗提供了良好的条件。19 世纪末以后,开始用组织病理学等技术,对创面愈合过程中伤口的细胞成分、纤维成分、血管和其他间质的变化作了观察;接着,应用生物化学、免疫学、生物力学、实验治疗等手段进行了多方面的研究,由此使得创面愈合研究进入了一个以现代科学为指导的新阶段。

组织病理学研究证明,不同的组织细胞,其再生和修复能力有很大差异。创伤愈合的基础是炎症细胞(如单核/巨噬细胞、中性粒细胞、淋巴细胞等)和修复细胞(如成纤维细胞、成骨细胞、成软骨细胞、内皮细胞、表皮细胞等)的一系列活动,细胞基质也有重要作用。

80 年代以后,分子生物学被引入创面愈合的研究,各种生长因子在创伤愈合中的作用受到了广泛的注意,因而创面愈合的研究提高到新的分子水平。

2 现状

2.1 生长因子与组织修复

业已证明,生长因子在组织修复中具有重要作用。研究生长因子的意义在于:①它使创伤愈合和组织修复这一传统课题的研究水平上了一个新台阶,由整体、器官、细胞水平深入到分子水平。②生长因子对组织修复作用的研究是基础科学和临床医学密切结合的范例之一:基础科学不仅能在理论上指导临床,而且还可将其研究成果直接应用于临床。③以往组织修复的治疗措施,除手术外,主要立足于消除不利于组织修复的各种因素,如局部感染、出血、水肿和改善局部微循环、增强全身营养等,以便为创伤愈合提供良好的生理环境,而外源性生长因子的应用,却是着眼于提高机体本身的自我修复能力。有人认为这是由被动愈合发展到主动调控,从治疗观念上讲,也是一种更新与突破。创伤修复的分子生物学研究已取得如下主要进展:

2.1.1 证明创伤愈合的各个阶段都由生长因子的参与和调控:如:①炎症期中,由血小板释放出的血小板衍生生长因子(PDGF)、胰岛素样生长因子 1(IGF-1)、表皮细胞生长因子(EGF)、转化生长因子 β (TGF- β)等,作为炎症细胞的趋化剂而发挥重要作用。巨噬细胞在伤口处合成并分泌 TGF- β 、TGF- α 、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、巨噬细胞衍化生长因子(MDGF)和亲肝素性上皮生长因子(HB-EGF),这些因子可刺激成纤维细胞、表皮细胞和血管内皮细胞向伤口移动。②增生期中,成纤维细胞分泌 IGF-1、bFGF、TGF- β 、PDGF 和角化细胞生长因子(KGF);内皮细胞合成 bFGF 和 PDGF;角化细胞合成 TGF- β 、TGF- α 和角化细胞来源的自分泌因子(KAF)。这些生长因子刺激细胞增殖、细胞间基质蛋白合成和血管生成。③瘢痕形成期中,TGF、PDGF、TGF- β 等在肉芽组织

转变为瘢痕的过程中具有重要作用。PDGF有三种异构体(PDGF-AA, BB, AB)和两种受体(α 和 β), α 受体可与三种异构体结合,而 β 受体仅能够和BB与AB结合。PDGF有趋化和促分裂作用,即趋化中性粒细胞、单核巨噬细胞和成纤维细胞,使其进入创伤区;促使成纤维细胞和平滑肌细胞分裂增殖,并促使成纤维细胞分泌以胶原为主的细胞外基质,以修复损伤组织。

TGF- β 与损伤后的凝血、免疫反应和创伤修复过程均密切相关,中性粒细胞、单核巨噬细胞和成纤维细胞和表皮细胞等都可产生TGF- β ,几乎所有的细胞表面都有TGF- β 受体,哺乳动物中有三种TGF- β ,即 β_1 、 β_2 、 β_3 ,TGF- β 对细胞具有促进和抑制两种不同的生物学功能,对中性粒细胞、单核巨噬细胞、内皮细胞和成纤维细胞有趋化作用,又可刺激成纤维细胞和内皮细胞增殖,对血管和细胞外基质的形成也有促进作用。TGF- α 由血小板、巨噬细胞、淋巴细胞和角朊细胞等产生,约1/3与EGF同源,并能与EGF受体结合,TGF- α 受体主要分布在表皮细胞、汗腺和毛囊上皮细胞等表面,因此,TGF- α 主要与上皮细胞,成纤维细胞和内皮细胞等增殖有关。

bFGF是促血管生长因子,主要由内皮细胞产生,通常以无活性的多肽结合蛋白形式储存于细胞外基质中,当血管基底膜或内皮细胞受伤时,在蛋白酶和糖苷内切酶的作用下,结合的bFGF就会被释放出来,刺激毛细血管内细胞的增殖和迁移,诱导毛细血管内皮细胞蛋白酶的合成和诱发毛细血管内皮细胞形成管腔,bFGF通过刺激成纤维细胞、内皮细胞和平滑肌细胞等的增殖也有利于细胞外基质的形成,由此促进创面愈合。

已表明外用生长因子可促进创面的愈合,采用细胞基因工程可使生长因子持续释放,提高生长因子的利用率。

生长因子对烧伤创面的修复也有许多研

究。有人观察到Ⅱ度烧伤水疱液中EGF和bFGF的含量较低,而PDGF、IL-6和TGF的含量则较高,这些生长因子的平衡状态有助于创面的愈合。临床上保留Ⅱ度烧伤含有大量生长因子的水疱液可刺激创面愈合。重组外源性生长因子bFGF对Ⅱ度烧伤修复有促进作用。Ⅲ度烧伤切痂后,bFGF保持了高度活性,肝素能刺激bFGF对肉芽组织的形成,FGF对创面愈合中的表皮角化细胞和真皮的血管再生也有促进作用。

EGF-R存在于创面边缘部和临床的毛囊附件中,伤后2~4天观察到EGF-R明显表达,伤后5~16天,在表皮的边缘表达减少,在增殖的瘢痕疙瘩中呈强阳性。

但是,也有的报告称,EGF不能促进烧伤创面的上皮化,如采用含有或不含有EGF的磺胺嘧啶银霜治疗,结果显示EGF无任何促上皮生长作用。PDGF也是如此。

2.1.2 初步阐明慢性溃疡与瘢痕过度增生的分子基础:慢性创面之所以难以愈合,主要是因为创面缺乏炎症反应,缺乏内源性生长因子的释放和生长刺激作用。同时,巨噬细胞和组织修复细胞(上皮细胞、成纤维细胞)处于“失活”或“休眠”状态,外源性应用PDGF、FGF、EGF、血小板源伤口愈合因子(PD-WHF)等生长因子,可使创面“失活”的巨噬细胞得到激活,并释放TGF、TNF及EGF等生长因子。这些外源性生长因子加上内源性释放的生长因子相互作用,可直接作用于组织修复细胞,启动修复过程。此外,慢性溃疡可能是由于未能控制胶原酶降解的结果。同时还观察到,慢性难愈创面处,IL-8、IL-10的含量很高,它们以自分泌的方式对组织修复起抑制作用。慢性溃疡创面中成纤维细胞产生胶原的能力减弱,对TGF- β 和低氧刺激的反应能力有所下降,这与溃疡部位TGF- β_2 型受体数量减少有关。此外,慢性溃疡时创面细胞凋亡增多,其特征是细胞肿胀与空泡化,DNA片段化。

有的实验结果显示,在瘢痕疙瘩内的成纤维细胞中,I、Ⅲ型胶原前体 mRNA 的比值为 22:1,而正常皮肤为 6:1,这是由于 I 型胶原前体 mRNA 选择性转录增殖所致。此外,由于纤维结合素(FN)相应 mRNA 转录增强,成纤维细胞合成 FN 的速率较正常高 4 倍。IGF-1 可使增生的成纤维细胞的胶原酶 mRNA 及其活力明显减弱,由此可能促成烧伤后瘢痕增生。

2.2 烧伤创面的修复

2.2.1 切痂、削痂和植皮手术:20 世纪 50 年代起,中国对特大面积烧伤开展了切痂术,由于此手术有加重休克以至危及生命的危险,出现了早期分批切痂,自体皮与异体(种)皮混合移植,大张异体皮开洞,嵌植断层自体小皮片,当嵌植的自体皮片不小于 0.10cm^2 ,小皮片间距不超过 1cm 和异体皮与自体皮之比为 10:1 时,不仅可节约自体皮,而且可使自体皮增殖迁移的速度能赶上异体表皮排斥和坏死脱落的速度,以达到仅用少量自体皮最终可覆盖大于 70% 的Ⅲ度烧伤创面,治愈了总面积 98%,Ⅲ度 90% 以上的伤员。此外,还开展了头皮多次供皮以扩大自体皮源。60 年代后,国内曾用削痂术来处理大面积深Ⅱ度和Ⅲ度烧伤的焦痂,以后多采用削痂与切痂同时进行。70 年代,曾引用 Tanner 网状植皮术,覆盖面积最大可扩大 9 倍,愈合功能较好,但因网眼裸露创面大,易感染,愈合后有瘢痕。80 年代后,创造性采用自体微粒皮移植,因其总边缘很长,有利于更多的细胞有机会在皮片边缘分裂、增殖和向周围爬行,其优点是:自体皮的利用率高,受皮面积和供皮面积之比可达 18:1,术后 45 天左右创面愈合。传统的切痂时机在伤后 4~7 天,90 年代后开展了伤后 48h(休克期)切痂,证明此法可及早封闭创面,减轻或控制感染,减少 MODS 等并发症,提高治愈率。大面积切痂植皮需有良好的新鲜异体皮支持,为此,国内于 70 年代开始建立了低温皮库(最低温度达

-196℃),比较了慢冻法和速冻法,认为速冻法更好。用此法存储的皮片,移植后,其成活率达 95% 以上者占 87.7%,成活率低于 50% 者仅占 5.8%。

西京医院于 80 年代对总面积 50%~70%,Ⅲ度 20%~55% 的烧伤患者,采用分次切痂自体筛状皮移植,植皮成活率在 95%~100%,Ⅲ度面积在 70% 以上的可采用早期切痂,微粒皮移植,待Ⅱ度烧伤愈合后,功能部位再移植自体大皮片,此法需要较多的自体皮供应,对总面积在 80% 及Ⅲ度在 50% 以下,可显示其优越性。

2.2.2 组织工程:有关皮肤创面愈合和组织修复的组织工程已引起了广泛的重视,组织工程主要包括种子细胞研究、细胞外基质研究和工程化组织三个方面,就皮肤创面修复而言,主要进展有以下几个方面:

(1)表皮细胞培养与移植:80 年代后,人表皮细胞培养成功,移植存活率可达 85% 以上,采用表皮细胞嵌合培养技术(即自体表皮细胞间嵌合有异体细胞)可缩短培养周期,节省自体皮源 50% 以上,移植后 30 天的免疫学检查表明,单核细胞、 T_4 、 T_8 淋巴细胞浸润比异体移植显著减少,表皮表型分析显示,已无异体细胞存在。选择能促进创面愈合的基因,如生长激素(hGH)、表皮生长因子(EGF)、纤维细胞生长因子(FGF)基因等转染表皮细胞,使其大量表达相应的有生物活性的蛋白,可加速愈合。目前,基因转染表皮细胞治疗创面愈合仍处在实验研究阶段。此外,培养的表皮细胞用于临床后,显示有不耐磨、易破溃、培养周期长(1~2 周)等缺点,因而难以在临床上推广应用。

(2)真皮替代物:真皮基质可增强机械耐磨性,减少瘢痕过度增生,其中存在的成纤维细胞可促进表皮生长分化,诱导基底膜形成,从而克服单纯表皮细胞膜片移植的缺点。常用的方法有制备天然真皮与人工合成真皮两种。天然真皮的制作方法是:用酶消化、高渗

盐水浸泡等方法去除异体皮表层和真皮细胞成分,而保留胶原结构和基底膜的永久性真皮支架。目前有用尸体皮和猪皮作为原材料而制成的天然真皮。人工合成真皮的制作方法是:采用具有生物可吸收性、组织相容性好及无毒、无致癌作用的生物材料或高分子材料构成真皮基质,与天然真皮相比,其组织成分可以根据需要而改变,以增加对胶原酶的耐受性,并可大量生产,长期保存。

Integra 为最具代表性双层人工皮,其内层为 2mm 厚的牛胶原纤维与氨基葡萄糖(GAG)的结构,呈多孔状,外层为 0.009 英寸厚的硅胶层,类似于表皮。用 Integra 覆盖切痂后创面 2~3 周后,通过移植超薄自体皮替代硅胶层而修复创面,临床试用效果良好。

另一种人工合成真皮为 Dermagraft,系用聚羟基乙酸(PGA)/聚乳酸(PGL)编织成网,其上种植成纤维细胞经体外培养后形成真皮支架。成纤维细胞分泌多种细胞外基质蛋白充填于网孔中,还可分泌细胞因子,如 bFGF、IGF、PDGF 等,由此具有较高的生物活性,植入Ⅲ度烧伤切痂创面后,创面基底部的成纤维细胞、毛细血管内皮细胞能很快进入其中,抗感染能力较强,且不易被降解。

胶原溶液加异体成纤维细胞于体外培养后可形成具有生物活性的凝胶膜,也可作为永久性真皮替代物,但植入创面后易引起收缩和降解。

(3)活性复合皮:市售的 Apligraf 由合成纤维细胞的胶原凝胶表面种植表皮细胞培养而成,表皮细胞可形成多层角化的表皮,并有桥粒和半桥粒样结构,此种活性复合皮治疗慢性溃疡也有效,但异体细胞仍可引起免疫排斥反应,胶原易被胶原酶消化降解,故未用于深度烧伤创面。

2.3 基因治疗

基因治疗是将“目的基因”放进指定的载体中,然后导入人体,要求这种基因在人体细

胞中能制造成我们所需要的蛋白,通过它来达到治疗的目的。它不同于基因工程,后者是将“目的基因”放在一个载体内,然后导入大肠杆菌、酵母和哺乳动物细胞,在体外表达出所需要的蛋白,经过分离纯化获得能用于治疗或其他用途的蛋白纯品,最终是制造出一种蛋白质类药物。目前已开展皮肤基因疗法研究,显示有一定作用,其他如骨关节与韧带修复等也在实验中。

3 展望

如前所述,今后相当长的时期内,创伤的发生率不仅不会减少,而且仍有继续上升的趋势。因此,对创伤修复的要求也会更高。展望未来,创面愈合与组织再生的研究将会更为拓宽和深入,特别在以下几个方面:

3.1 创伤修复的分子生物学研究

3.1.1 网络调控机制的研究:创伤修复是一个复杂的生物学过程,生长因子的作用是受许多因素制约的。因此,要探明一些重要生长因子(如 FGF、EGF、PDGF、TGF、IL 等)及其受体和相关基因调控创面愈合的作用,弄清生长因子在组织生长发育的不同阶段与组织修复的不同时相的定位、表达特征及其与修复的关系,还要了解因子与靶细胞间的信号传递方式、途径与网络调控作用。

3.1.2 “修复相关基因”的研究:任何组织细胞的生长和发育均由其自身的遗传学特性所决定的。组织修复过程中,因年龄、动物种类和品系、人的种族以致个体等不同而有很大的差异,这些都提示我们,是否有其遗传基础,是否有决定和影响组织修复的“修复基因”或“修复相关基因”?近年的研究发现,一种称为 Smad3 基因鼠的创面愈合时间为 5 天,而带有一倍或不带有 Smad3 基因鼠的创面则在 3 天和 2 天内愈合,这是否意味着 Smad3 基因可能就是控制创面愈合的“修复基因”或“修复相关基因”?如有新的发现,可通过现代基因工程技术来弄清这类基因的性质

质及其与组织修复启动和关闭的调控关系。

3.1.3 创伤修复“失控”(慢性溃疡与过度增生)的分子机制研究:现已证明,创伤修复的“失控”是有其分子基础的。今后要从多个层次上研究修复“失控”形成的组织、细胞及分子生物学机制,并阐明“失控”过程中多因素网络作用机制异常与修复“失控”的关系。在此基础上,在创伤修复的不同时期中,有选择地和综合地应用生长因子,以达到促进难愈创面的修复和抑制瘢痕过度增生的目的。

3.1.4 生长因子的开发研究:已知的生长因子至少有 50 余种,其中相当一部分有潜在性临床应用价值,但目前应用于临床的生长因子却寥寥无几。应进一步弄清各种生长因子在组织修复中的作用,并努力将更多有应用价值的生长因子投放市场,是今后重要任务之一。

3.2 皮肤移植物和代用品的研究

现已有多种可用于临床的皮肤移植物和皮肤代用品,但仍不能满足临床的各种需求,特别是大面积深度皮肤烧伤,自体皮源十分缺乏时,采用组织工程的方法有可能研制出各种新的皮肤代用品。

3.3 慢性难愈创面和瘢痕过度增生防治研究

除了应用生长因子外,还需寻找其他治疗难愈创面和抑制瘢痕过度增生的新途径和新方法,如新的药物、新的皮肤移植或代用品、新的手术方法、新的预防措施等,以便使难愈创面的修复更为有效,瘢痕过度增生的抑制更加确实。

3.4 干细胞研究

干细胞已成为组织再生研究中的热点之一,原因有二:一是成功培养了人胚干细胞系列;二是成人干细胞可分化为发育上本来不相关的细胞,如神经细胞分化为血细胞。

业已证明,以往认为没有再生能力的器官中已分离出干细胞,而干细胞的可塑性证据和人类胚胎干细胞的生成清楚地表明,用

人的干细胞进行损伤组织的治疗是可行的。成年后,皮肤仍保留有未分化的干细胞,而毛囊的干细胞不仅可形成毛囊,也可形成表皮,所有这些都为皮肤再生提供了新的思路和途径,当然,有关干细胞的治疗在技术上(例如:如何分离和培养人干细胞以及如何在体内和体外调节其成活和分化或反分化等)和伦理上(例如:胚胎干细胞研究常可导致活胚胎组织的破坏,这样做是否符合伦理原则)仍有许多问题没有解决。但今后,干细胞的研究一定会不断深入和走向应用。其研究方向是:从不同的终分化器官中识别出干细胞,并以干细胞代替受损伤的细胞;开发细胞核转导技术,以体细胞核生成的干细胞分化来替代损害组织所丧失的细胞;开发与基因治疗相结合的方法,通过采用适当的皮肤干细胞,表达正常的基因,然后再将其返回到机体中以再生出完整的皮肤。以细胞为基础的疗法使得采用自体细胞促进创面愈合和组织再生成为可能,并有着广阔的前景。

参 考 文 献

- 1 付小兵,王德文主编. 创伤修复基础. 北京:人民军医出版社,1997;4-13,127-163
- 2 王正国主编. 创伤愈合与组织修复. 济南:山东科学技术出版社,1998;1-6
- 3 王正国. 创伤后组织修复研究的现状与展望. 中华创伤杂志,1995;11:131-133
- 4 王正国. 新世纪创伤愈合研究的思考. 中华创伤杂志,1998;14:346-347
- 5 王正国. 创伤修复与生长因子. 中国修复重建外科杂志,1999;13:257-258
- 6 王正国. 创伤修复的分子生物学研究. 第二届全国创伤修复(愈合)与组织再生学术交流会议论文摘要汇编. 上海:中华创伤学会组织修复学组,2000;1-2
- 7 柳川. 多肽生长因子与创伤愈合. 见:周延冲主编. 多肽生长因子-基础与临床. 北京:中国科技出版社,1992;42-52
- 8 葛绳德. 生长因子与创伤愈合. 首届全国创伤修复(愈合)与组织再生学术交流会议论文摘要汇编. 中华创伤学会组织修复学组,1998;21-24

- 9 付小兵, 盛志勇. 我国创伤修复的现状与展望. 首届全国创伤修复(愈合)与组织再生学术交流会议论文摘要汇编. 中华创伤学会组织修复学组, 1998; 24—27
- 10 Carpenter G, Cohen S. Epidermal growth factor. *J Biol Chem*. 1990; 265: 7709—12
- 11 Bennett NT, Schultz GS. Growth factors and wound healing; Biochemical properties of growth factors and their receptors. *Am J Surg*. 1993; 165(6): 728—37
- 12 Herndon DN, Nguyen TT, Gilpin DA. Growth factors, local and systemic. *Arch Surg*. 1993; 128: 1227—1233
- 13 Schmid P, Cox D, Bilbe G, *et al*. TGF- β and TGF- β Type II receptor in human epidermis; Differential expression in acute and chronic skin wounds. *J Pathol*. 1993; 171(3): 191—7
- 14 Frank S, Madlener M, Werner S, *et al*. Transforming growth factors β 1, β 2 and their receptors and differentially regulated during normal and impaired wound healing. *J Biol Chem*. 1996; 271(17): 10188—93
- 15 Ziehler TR, Pierce GF, Herndon DN. Growth factors and wound healing. Basic science and potential clinical applications. 1st ed, New York: Springer-Verlag Publisher, 1997; 206—228
- 16 刘凯, 钱云良, 范志宏. 转化生长因子 β 与组织创伤修复综述. *中国修复重建外科杂志*, 1999; 13: 283—286
- 17 付小兵, 郭振荣, 盛志勇. 碱性成纤维细胞生长因子加速慢性难愈合创面愈合. *中国修复重建外科杂志*, 1999; 13: 270—272
- 18 冯江, 杜文华, 王劲, 牟江洪. 多种生长因子促糖尿病患者难愈合性创面愈合的临床研究. *中国修复重建外科杂志*, 1999; 13: 273—277
- 19 陈璧. 半个世纪以来我国烧伤创面修复的进展. 第二届全国创伤修复(愈合)与组织再生学术交流会议论文摘要汇编. 上海: 中华创伤学会组织修复学组, 2000; 11—15
- 20 廖镇江. 混合移植创面愈合规律的研究. 第二届全国创伤修复(愈合)与组织再生学术交流会议论文摘要汇编. 上海: 中华创伤学会组织修复学组, 2000; 21—25
- 21 王锡华, 吴军. 皮肤保存研究进展. 首届全国创伤修复(愈合)与组织再生学术交流会议论文摘要汇编. 中华创伤学会组织修复学组, 1998; 19—20
- 22 夏照帆. 皮肤组织工程. 第二届全国创伤修复(愈合)与组织再生学术交流会议论文摘要汇编. 上海: 中华创伤学会组织修复学组, 2000; 18—21
- 23 杨志明 主编. 组织工程基础与临床. 成都: 四川科学技术出版社, 2000; 14—61
- 24 杨志明主编. 修复重建外科学. 北京: 人民卫生出版社, 2000; 62—84
- 25 艾玉峰. 组织工程研究进展. 第二届全国组织工程学术大会论文汇编, 中国修复重建外科委员会组织工程学组、中国生物医学工程学会生物材料分会联合主办, 广州, 2000; 12: 17—19
- 26 Watt FM, Hogan BM. Out of Eden; Stem cells and their niches. *Science*. 2000; 287: 1427—1430
- 27 Kaji EH, Leiden JM. Gene and stem cell therapies. *JAMA*. 2001; 285: 545—550
- 28 Taylor G, Lehrer MS, Jensen PJ, Sun TT, *et al*. Involvement of follicular stem cells in forming not only the follicle but also the epidermis. *Cell*. 2000; 102: 451—461
- 29 Perry D. Patients' Voices; the powerful sound in the stem cell debate. *Science*. 2000; 289: 1423
- 30 Young FE. A time for restraint. *Science*. 2000; 287: 1424
- 31 Lenoir N. Europe confronts the embryonic stem cell research challenge. *Science*. 2000; 287: 1425—1426
- 32 Cotsarelis G, Kaur P, Dhoubailly D, Hengge U, *et al*. Epithelial stem cells in the skin: definition makers, localization and functions. *Experimental Dermatology*. 1999; 8: 80—88

第二章 现代高新技术与 21 世纪创伤修复与组织再生的几个热点研究领域

付小兵 盛志勇



作者简介:付小兵教授,1960年8月14日生。西班牙马德里大学博士,研究员,博士生导师。现任解放军创伤修复重点实验室主任,解放军第三〇四医院全军烧伤研究所副所长兼基础研究部主任。主要从事创伤修复与严重创伤致多脏器损伤发生机制与防治研究。已主编出版学术专著3部,参与编著12部,发表论文220余篇。获国际、国家、军队二等奖以上成果奖10项。曾任第三届欧洲组织修复学会和美国创伤愈合学会学术委员会委员(1999),第一届世界创伤愈合大会学术委员会委员(2000)兼青年科学家研究奖评委。现任国际创伤愈合联盟执委兼教育委员会主席,中华创伤学会组织修复学组组长,全军创(战)伤学会副主任委员及12家国内杂志编委。

Resume Professor Fu Xiaobing, M. D. director of the Key Research Laboratory of the Wound Repair of PLA and deputy director of the Burn Research Institute of PLA in 304th Hospital. Born on August 14, 1960 and graduated from the Third Military Medical University in 1988 with a master degree and the University of Madrid in 1993 with a doctoral degree, he has been engaging in trauma research, especially in wound healing research for twenty years. His contributions include the basic research on growth factors, physiological mechanisms of wound healing, uncontrolled wound healing such as chronic ulcers and scars. He has published more than 220 scientific papers and 3 books as chief editor, and won ten international, national or military prizes for Sci-Tech Progress from 1989 to 2001. He was a member of the Scientific Committee of the Third Joint Meeting of the European Tissue Repair Society and the Wound Healing Society held in Bourdeaux in 1999, and a member the Scientific Committee of the First World Wound Healing Congress held in Melbourne in 2000. He is the executive committee member of the World Wound Healing Union, president of the Chinese Tissue Repair Society and vice chairman of the Trauma Society of PLA.

摘要:本文概要介绍组织工程技术、克隆技术、基因组计划、生物芯片技术、纳米技术以及干细胞技术等,在创伤和创伤修复领域可能的应用及其前景。

Abstract: The basic knowledges about tissue engineering, human genome project, biochip, nano scale technology and stem cell and their possible applications in wound healing and tissue regeneration are described.

在世纪之交,大量新思维、新技术与新方法的出现为21世纪生命科学时代的研究增添了许多新的内容。基因工程技术、生物芯

片技术以及纳米技术等的应用将有可能从根本上改变我们的行为和生活方式。在生物医学方面,这些技术方法的广泛应用,不仅能从