

脱细胞真皮基质体内转归的研究进展

刘道峰(综述) 左金华(审校)

滨州医学院附属医院口腔科 滨州市 256603

【关键词】 脱细胞真皮基质;组织再生;成纤维细胞

【中图分类号】 R318.5 【文献标识码】 A 【文章编号】 1001-9510(2008)01-0053-03

脱细胞真皮基质(acellular dermal matrix, ADM)是最近几年兴起的一种天然生物材料,最初用作真皮替代物,已有 ADM 在神经外科、耳鼻咽喉、烧伤整形、牙周等学科领域的研究和应用报道^[1-4],但对于 ADM 异体移植后的最终生物学转归,存在较大争议。本文着重就其异体移植后的生物学转归及其机制的研究进展作一综述。

1 ADM 的结构与特性

ADM 在制备过程中去除了表皮和真皮中的细胞成分,仅保留真皮的不溶性基质成分,具有低抗原性、快速血管化和一定的稳定性。ADM^[5]为规则的三维网状支架,Ⅰ型胶原纤维占主要地位,构成 ADM 的基本骨架;Ⅲ型胶原纤维减少至原来的一半;Ⅳ型胶原纤维和Ⅶ型胶原纤维几乎消失。弹力蛋白明显减少,层粘连蛋白损失较多,硫酸软骨素消失殆尽,纤维连接素明显减少,糖蛋白几乎完整保存。

2 ADM 的转归研究

ADM 是无细胞的组织支架,植入受区给创面提供了足够的真皮组织,即形成了一个理想的生物支架,引导新生血管长入和上皮爬行,又大大减轻愈后疤痕形成和创面挛缩的程度。伴随血管长入和成纤维细胞迁移其中,宿主机体对 ADM 逐步进行改建。

关于 ADM 的体内结局,学术界持有两种观点:
①部分学者报道大约在 4~6 周时 ADM 的降解与成纤维细胞分泌的基质量达到动态平衡,新生胶原纤维与 ADM 原有胶原网架并存,ADM 被视为自体组织。Cummings 等^[6]观察到术后 6 个月发现新生成纤维细胞、血管和胶原纤维贯穿 ADM 中,原有的弹性纤维仍有保留。Sclafani 等^[7]观察 ADM 移植后 1 年,初始 6 个月 ADM 不断被改建,面积不断缩小,余下的 6 个月保持一个稳定的量,不再有明显变化。
②多数学者认为 ADM 在体内逐渐被降解替代,最终完全替换为自体组织或相似组织,这一过程时间长短不一。

Chaplin 等^[1]应用 ADM 修复硬脑膜缺损,术后 1 个月时 ADM 已完全血管化,3 个月时 ADM 与周围硬脑膜不易区分,达到临床修复目的。Thakker 等^[8]采用 ADM 包裹羟磷灰石(HA)或多聚乙稀(PP)作眶内植入物,1.5 个月时 HA 组胶原纤维和血管大部分长入,PP 组有少部分长入(主要在 ADM 附近);3 个月时两组胶原纤维与血管完全长入,ADM 与眶内植入物密贴牢不可分,并与周围组织融合,实现植入物的固位,这比单纯采用眶内植入物的固定要早和牢固。

Tark 等^[9]采用 ADM 复合角质形成细胞修复猪全层皮肤缺损,6 个月时创面组织学观察揭示成纤维细胞侵入支架中,血管网明显,ADM 上出现复层角化细胞,透明层形成,与正常皮肤在构造上基本一致。Wei 等^[10]采用 ADM 增加附着龈高度,术后 6 个月 ADM 与游离龈及根部牙槽粘膜的分界不甚清楚,上皮层厚度中等,有角化,上皮与固有层交界面平坦,结缔组织中包含浓密的胶原纤维和分散的弹性纤维,形态与层次基本等同于正常粘膜。谢卫国等^[11]观察到 6 个月时发现 ADM 原有的疏松海绵状结构已逐步转变为与正常真皮类似的结构。Pahari 等^[12]应用 ADM 延长大鼠肠粘膜的长度,取得满意效果,术后 6 个月 ADM 皮片延伸为完整而坚实的肠粘膜,二者在组织学上难以鉴别。Buinewicz 等^[13]使用 ADM 修复腹壁缺损观察到术后 8 个月,ADM 转化为筋膜样组织,与原先的筋膜发挥同样的生理功能。Witt 等^[14]使用 ADM 修复大疱性表皮松解症,1 年后观察胶原和弹性纤维成熟并按照正常皮肤形式排列,实现临床愈合。Gaspar 等^[3]将 ADM 直接置于重度烧伤后暴露的骨面,表面再覆盖半厚皮片,术后 2 年组织学观察,上皮显示正常的结构和角化;在上皮与真皮连接处有中等数量的疏松胶原纤维;真皮深层为弹性结缔组织,下方有成熟的薄片状骨小梁,这表明此时 ADM 已完全转化为致密的具有良好形态和功能的自体真皮组织。

Harper 对应用 AlloDerm(商品化的 ADM)修复腹壁和乳腺缺损的转归做了基础性研究^[15]。①修复腹壁缺损:术后 8 个月(HE 切片)ADM 区域细胞和血管密度等同于腹壁筋膜,其与周围筋膜的交界已不清楚,组织中胶原依然紧密和粗壮;Verhoeff's 染色显示 ADM 中有弹性蛋白。术后 12 个月(HE 切片)ADM 具有粗壮的胶原基质,排列整齐,细胞与血管分布等同于正常筋膜而有别于瘢痕;Verhoeff's 染色显示弹性蛋白网被重塑,形态与分布如同周边筋膜。术后 24 个月,ADM 与周围组织完全融合(其辨认通过手术标记的永久性缝线),胶原纤维自然延伸向周围筋膜的纤维网,弹性蛋白已无法观察到。②修复乳腺缺损:术后 1 年,ADM 基底表现为真皮结缔组织,细胞分布和血管网与正常结缔组织相同;Verhoeff's 染色显示弹性蛋白,ADM 支架与结缔组织具有一致性。术后 2.5 年,HE 染色与 Verhoeff's 染色都显示 ADM 已成为包含有正常量细胞与血管的粗壮的结缔组织,胶原纤维束按线性紧密排列。

3 ADM 转归机制探讨

组织再生需有三个关键因素:具有合适生物活性的致密支架以支持再生愈合过程;支架内适量的生长因子以促进细胞分化、成熟和迁移;细胞对生长因子和生物学刺激的反应能力。ADM 内含有大量精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸三肽序列(Arg-Gly-Asp, RGD),该序列是许多细胞膜的粘附蛋白共同的识别标志,在介导细胞与基质、细胞与细胞之间粘附方面起着非常重要的作用。ADM 支架植入后,通过止血作用使血小板激活系统触发生长因子和其他形态生成素的释放,使其浸透沉积于胶原纤维间。RGD 引导特殊的细胞粘附蛋白(可被成纤维细胞表面的整合素受体识别)进入支架。通过粘附位点和蛋白酶活性相互作用,成纤维细胞向支架迁移。进入支架内,成纤维细胞一方面合成细胞外基质(主要是胶原纤维)和细胞因子增加支架活性,另一方面释放胶原酶等分解基质。在微环境的多种因素作用下,成纤维细胞重塑支架,使其转变为与受损前原始组织具有同样功能和生理的组织。Buinewicz 等^[14]均观察到 ADM 并不是仅停留于基质状态,而是随应用部位不同被改建为适宜的组织。

成纤维细胞(fibroblast, FB)是创伤修复的工程师、建筑者和管理员,除组织改建外,FB 对 ADM 还有多重作用。FB 的快速移入,使 ADM 具有细胞活性,更加接近生理状态,可对移植环境作出反应;FB 分泌的细胞因子可修饰 ADM 表面,提高 ADM 诱导

创周血管内皮细胞向内移行的能力,促进快速血管化;FB 还可间接促进表皮细胞的生长、分化和基底膜形成,提高 ADM 的成活率。

基质金属蛋白酶(MMPs)是细胞外基质改建的基础酶家族。间质胶原酶(MMP-1)是降解 I 型胶原的主要酶。成纤维细胞迁移入 ADM 支架,在胶原纤维上爬行,受到 I 型胶原的刺激释放出 MMP-1。MMP-1 裂解 I 型胶原为明胶(可被进一步降解),直接参与 ADM 支架结构蛋白的再塑形。MMPs 的重要功能还在于分解细胞迁移的胞外基质障碍物。通过裂解 I 型胶原等, MMPs 提供利于细胞迁移的物质,增加细胞与基质的亲和力,使支架周边的角质细胞眼胶原纤维向中央爬行,实现再上皮化覆盖创面。推测 MMP-2 在这一过程中有更明显的作用。Lindman 等^[15]将天然组鼠成纤维细胞和 MMP-2 缺乏组成纤维细胞分别置于 ADM 基底膜面适度孵育 20 d,发现天然组浸透和降解 ADM 的能力显著优于 MMP-2 缺乏组($P < 0.001$)。

ADM 真皮面可引导新生血管长入,短时间内形成血管网。血管化是 ADM 组织改建的基础和前提,也是 ADM 转归的重要组成部分。ADM 的毛细血管为成纤维细胞的运动提供动力,促进了旧胶原的吸收,并转运胶原降解后的组织废物;血管内皮细胞也可产生胶原。这样,血管网参与了胶原代谢的动态平衡。成纤维细胞分泌多种细胞因子、生长因子,可促进血管化。Novaes 等^[16]观察到复合成纤维细胞的 ADM 组移植 2 周时血管数量显著高于单纯 ADM 组($P < 0.05$),表明成纤维细胞可明显促进 ADM 的血管化,改良皮片功能。

4 问题与展望

外伤、烧伤和肿瘤术后造成的组织缺损是外科系统常见病症,组织缺损的修复是许多学者致力研究的课题,ADM 的出现为组织缺损的修复提供了新的治疗途径。

ADM 遵循组织再生规律的转归是个漫长的过程,受到诸多干扰。体内复杂的微环境中何种因子或因素起主导作用尚不清楚;成纤维细胞是转归的基础性细胞,如何提高维持其作用尚需要解决,如何保证组织再生的彻底性也需要进一步努力。相信随着研究的深入,上述问题会逐渐得以解决。

参 考 文 献

- [1] Chaplin JM, Costantino PD, Wolpoe ME. Use of an acellular dermal allograft for dural replacement: an experimental study[J]. Neurosurgery, 1999, 45 (2): 320-327.

(下接第 57 页)

3 结语

综上所述,烟草中有害物质对牙龈成纤维细胞有破坏作用,此作用的大小与时间、浓度呈正相关。体内环境下,烟草中有害物质对牙龈组织的血流量、氧分压、机体免疫系统都有重要影响。要揭示体内环境烟草有害物质对牙龈成纤维细胞的影响,还待进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Lambert PM, Morris HF, Ochi S. The influence of smoking on 3-year clinical success of osseointegrated dental implants[J]. *Ann Periodontol*, 2000, 5(1):79.
- [2] Hanes PJ, Schuster GS, Lubas S. Binding, uptake, and release of nicotine by human gingival fibroblasts[J]. *J Periodontol*, 1991, 62(2):147.
- [3] Tanur E, McQuade MJ, McPherson JC, et al. Effects of nicotine on the strength of attachment of gingival fibroblasts to glass and non-diseased human root surfaces[J]. *J Periodontol*, 2000, 71(5):717.
- [4] Poggi P, Rota MT, Boratto R. The volatile fraction of cigarette smoke induces alterations in human gingival fibroblast cytoskeleton [J]. *J Periodont Res*, 2002, 37(3):230.
- [5] Giannopoulou C, Roehrich N, Monabelli A. Effect nicotine-treated epithelial cells on the proliferation and collagen production of gingival fibroblasts[J]. *J Clin Periodontol*, 2001, 28(8):769.
- [6] Ho YC, Chang YC. Regulation of nicotine-induced cyclooxygenase-2 protein expression in human gingival fibroblasts[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2006, 27(4):409.
- [7] Zhou J, Olson BL, Windsor LJ. Nicotine increases the collagen-degrading ability of human gingival fibroblasts[J]. *J Periodont Res*, 2007, 42(3):228.
- [8] Austin GW, Cuenin MF, Hokett SD, et al. Effect of nicotine on fibroblast beta 1 integrin expression and distribution in vitro[J]. *J Periodontol*, 2001, 72(4):438.
- [9] Almasri A, Wisithphrom K, Windsor LJ, et al. Nicotine and lipopolysaccharide affect cytokine expression from gingival fibroblasts[J]. *J Periodontol*, 2007, 78(3):533.
- [10] Katz J, Caudle RM, Bhattacharyal et al. Receptor for advanced glycation end product (RAGE) upregulation in human gingival fibroblasts incubated with normicotine [J]. *J Periodontol*, 2005, 76(7):1171.
- [11] Fang Y, Svoboda KK. Nicotine inhibits human gingival fibroblast via modulation of Rac signalling pathways[J]. *J Clin Periodontol*, 2005, 32(12):1200.
- [12] Wong IS, Martins-Green M. Firsthand cigarette smoke alters fibroblast migration and survival; implications for impaired healing[J]. *Wound Repair and Regeneration*, 2004, 12(4):471.
- [13] Argentin G, Cicchetti R. Genotoxic and antiapoptotic effect of nicotine on human gingival fibroblasts[J]. *Toxicol Sci*, 2004, 79(1):75.
- (收稿日期:2007-07-23)
-
- (上接第 54 页)
- [2] Haynes DS, Vos JD, Labadie RF. Acellular allograft dermal matrix for tympanoplasty[J]. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 2005, 13(5):283-286.
- [3] Gaspar K, Erdei I, Peter Z, et al. Role of acellular dermal matrix allograft in minimal invasive coverage of deep burn wound with bone exposed-case report and histological evaluation [J]. *Interna Wound J*, 2006, 3(1):51-58.
- [4] Sallum EA, Nogueira-Filho GR, Casati MZ, et al. Coronally positioned flap with or without acellular dermal matrix graft in gingival recessions; a histometric study[J]. *Am J Dent*, 2006, 19(2):128-132.
- [5] Walter RJ, Matsuda T, Reyse HM, et al. Characterization of acellular dermal matrices (ADMS) prepared by two different methods[J]. *Burns*, 1998, 24(2):104-113.
- [6] Cummings LC, Kaldahl WB, Allen EP. Histological evaluation of autogenous connective tissue and acellular dermal matrix grafts in humans[J]. *J Periodontol*, 2005, 76(2):178-186.
- [7] Sclafani AP, Romo T, Jacono AA, et al. Evaluation of acellular dermal graft (AlloDerm) sheet for soft tissue augmentation: a 1-year follow-up of clinical observations and histological [J]. *Arch Facial Plast Surg*, 2001, 3(2):101-103.
- [8] Thakker MM, Fay AM, Pieroth L, et al. Fibrovascular ingrowth into hydroxyapatite and porous polyethylene orbital implants wrapped with acellular dermis[J]. *Ophthal Plast Reconstr Surg*, 2004, 20(5):368-373.
- [9] Tark KC, Chung S, Shin KS, et al. Skin flap prefabrication using acellular dermal matrix and cultured keratinocytes in a porcine model [J]. *Ann Plast Surg*, 2000, 44(4):392-397.
- [10] Wei PC, Laurell L, Lingen MW, et al. Acellular dermal matrix allografts to achieve increased attached gingiva. Part 2. A histological comparative study[J]. *Periodontology*, 2002, 73(3):257-265.
- [11] 谢卫国, 谭红. 真皮替代物移植后的血管化过程及组织学变化的实验研究[J]. *中华烧伤杂志*, 2005, 21(1):37-39.
- [12] Pahari MP, Raman A, Bloomenthal A, et al. A novel approach for intestinal elongation using acellular dermal matrix; an experimental study in rats[J]. *Transplant Proc*, 2006, 38(6):1849-1850.
- [13] Buiniewicz B, Colony LH, Smith RJ. The use of human acellular tissue matrix in abdominal wall reconstruction-A clinical perspective[J]. *Life Cell Clinic Monogr Series*, 2003.
- [14] Witt PD, Cheng CJ, Mallory SB. Surgical treatment of pseudosyndactyly of the hand in epidermolysis bullosa; histological analysis of an acellular allograft dermal matrix[J]. *Ann Plast Surg*, 1999, 43(4):379-385.
- [15] Lindman JP, Talbert M, Zhang W, et al. Promotion of acellular dermal matrix resolution in vitro by matrix metalloproteinase-2[J]. *Arch Facial Plast Surg*, 2006, 8(3):208-212.
- [16] Novaes AB Jr, Marchesan JT, Macedo GO, et al. Effect of in vitro gingival fibroblast seeding on the in vivo incorporation of acellular dermal matrix allografts in dogs [J]. *Periodontology*, 2007, 78(2):296-303.
- (收稿日期:2007-08-01)