

· 论著 ·

应用同种异体脱细胞真皮的眼睑原位重建术

陈家祺 顾建军 彭鸿钧 黄挺 陈龙山 周世有

【摘要】 目的 探讨脱细胞真皮在眼睑缺损治疗中的临床效果。方法 2001 年 11 月至 2002 年 11 月收治 10 例眼睑缺损患者(11 只眼睑),其中上睑 8 例,下睑 1 例,同侧眼上下睑 1 例;外伤所致者 9 例,先天性缺损者 1 例;眼睑完全缺损 2 只睑,2/3 缺损 8 只睑,1/3 缺损 1 只睑。以厚度为 1 mm 的商业化同种异体脱细胞真皮代替睑板,运用眼睑原位重建术治疗眼睑缺损。随访观察平均 8 个月。**结果** 脱细胞真皮植入眼睑后炎症反应轻微,未见有植入物脱落和感染现象,受体结膜可在脱细胞真皮表面爬行生长。组织学检查发现术后半年脱细胞真皮植片内有新生毛细血管和纤维母细胞存在。术后按治疗标准评为优者 8 只睑,良好 2 只睑,改善 1 只睑,治愈率为 91%。**结论** 脱细胞真皮不仅能代替睑板起支撑作用,而且术后引起的免疫和炎性反应轻微,可作为一种生物支架引导受体新生血管和胶原纤维的长入。(中华眼科杂志,2005,41:409-413)

【关键词】 真皮; 生物敷料; 眼睑成形术

The eyelid reconstruction in situ with allograft acellular dermal matrix CHEN Jia-qi, GU Jian-jun, PENG Hong-jun, HUANG Ting, CHEN Long-shan, ZHOU Shi-you. Zhongshan Ophthalmic Center, Zhongshan University, Guangzhou 510060, China

Corresponding author: CHEN Jia-qi, Email: guccig19@hotmail.com

【Abstract】 Objective To explore the clinical value of allograft acellular dermal matrix in the treatment of eyelid defects. **Methods** From November 2001 to November 2002, 10 patients (8 male and 2 female; age varied from 14 to 47) with 11 eyelids were treated by eyelid reconstruction in situ with implantation of 1 mm thick allograft acellular dermal matrix. In 11 eyelids with defects, 2 was totally defect, 8 was 2/3 defect, 1 was 1/3 defect. In these 10 patients, 9 were injured and 1 was congenital. These defective eyelids included 8 upper lids, 1 lower lid and 1 case with both upper and lower lids. The average follow-up time was 8 months. **Results** In the follow-up periods, the inflammation of the eyelid was slight and no implants shedding or infection happened postoperatively. The conjunctiva grew well on the surface of the acellular dermal matrix. Histology examination showed neovascularization and presence of fibroblasts in the acellular dermal matrix 6 months after the operation. By the end of the follow up period, the results were excellent in 8 eyelids, good in 2 eyelids and improved in 1 eyelid. The efficacy rate of this treatment was 91%. **Conclusions** Acellular dermal matrix can be used as a substitute of the tarsus in supporting the eyelid, it invokes little immunological and inflammatory reaction, and therefore, it can act as a biological scaffold to guide the growth of collagen and neovascularization. (Chin J Ophthalmol, 2005, 41:409-413)

【Key words】 Dermis; Biological dressings; Blepharoplasty

眼睑缺损常由于眼球的暴露,造成暴露性角膜溃疡,进而引起角膜混浊,甚至穿孔失明。我们设计了眼睑缺损原位修复法,与以往不同之处在于不用取同侧的正常眼睑修补,如桥形皮瓣修复法等,而临床运用脱细胞真皮代替睑板。国外仅见 2 篇初步研

究报道^[1,2],国内尚未见类似报道。我们以眼睑原位重建术作为一种治疗眼睑缺损的新术式,现将初步临床研究报告如下。

材料与方 法

一、脱细胞真皮的来源、制作及检查

1. 脱细胞真皮来源:取自商业化的同种异体脱细胞真皮,病毒性脑炎、肝炎、狂犬病、白血病、恶性肿瘤、有艾滋病高危因素、或死因不明者为禁忌证

基金项目:卫生部临床学科重点项目资助[(2001)321]

作者单位:510060 广州,中山大学中山眼科中心

通讯作者:陈家祺, Email: guccig19@hotmail.com

(北京桀亚公司提供)。

2. 制作方法:将取出的全层皮肤组织经大量消毒生理盐水冲洗后用 5 mg/ml 庆大霉素、1 mg/ml 多粘菌素溶液浸泡 2 次,每次 15 min,然后使用常规固定剂(戊二醛等)对皮肤的细胞外基质进行交联,无菌条件下将皮肤置入高渗盐水中 24 h,使表皮与真皮组织的连接松解,用自行配制的脱细胞液(胰蛋白酶和乙二胺四乙酸螯合剂)脱去细胞,用 DNA 酶、RNA 酶等对细胞成分进行第二次消化脱去,生理盐水冲洗后,进行冻干硬化处理,使脱细胞真皮组织中的胶原得到进一步的交联,具有一定的可塑性和硬度(北京桀亚公司提供)。

3. 保存方法:将制成的脱细胞真皮放入装有变色指示剂硅胶的消毒广口玻璃瓶中,中间用涤纶薄膜相隔,旋上瓶盖,用封口胶密封,作好标记,储存于 4℃ 冰箱内备用。

4. 观察方法:将保存 4 个月的材料控制性复水后作细菌和真菌培养,并做组织切片,行光镜检查 and 电镜检查,与正常皮肤和新鲜脱细胞真皮作比较。

5. 脱细胞真皮的电镜检查方法:标本用 2.5% 戊二醛-多聚甲醛固定后,分级酒精脱水, Epon-812 渗透包埋,半薄片定位后超薄切片,醋酸铀和枸橼酸铅双重染色, H-600 电镜(日本日立公司产品)观察。

二、对象

2001 年 11 月至 2002 年 11 月,我院中心共诊治 10 例(11 只眼睑)眼睑缺损患者,男性 8 例,女性 2 例;年龄 14~47 岁,中位年龄 31 岁。其中上睑 8 例,下睑 1 例,单眼上下睑 1 例。外伤所致者 9 例,其中热烧伤 3 例,化学烧伤 6 例;先天性眼睑缺损 1 例。眼睑完全缺损 2 只睑, 2/3 缺损 8 只睑, 1/3 缺损 1 只睑。合并有睑内翻者 2 例,睑外翻者 2 例。

三、手术方法

1. 睑板的修复:(1)部分眼睑缺损的修复:当睑板部分缺损时,先切开分离出睑板缺损区的创面,按缺损面积切取脱细胞真皮,以基底膜面朝向眼球表面,用 6-0 线缝合,上方缝于提上睑肌腱膜,两侧缝于残存睑板的创缘,睑缘部则与自身皮瓣连续缝合,以形成睑缘。睑板前表面分离邻近眼轮匝肌覆盖脱细胞真皮的真皮面,以保证有足够的血液供应,内表面游离上穹隆部部分的结膜向下覆盖脱细胞真皮的基底膜面。术后加压包扎 5~7 d 后用妥布霉素滴眼液开放滴眼。(2)上睑全或亚全缺损的修复:常规消毒铺巾,离睑缘 5 mm 平行全长切开皮肤,分离

眼轮匝肌,将残留的睑板连带睑结膜中央剖开,其切口长度接近睑板全长,分离穹隆部结膜使其松解,如有较多结膜缺损则在结膜切口中间间断缝合一块羊膜(图 1),将制作的干燥脱细胞真皮浸入含抗生素的生理盐水中复水 5 min,基底膜面朝向眼球表面插入及镶嵌入睑板切口中(图 2),使重建一正常宽度的新睑板,将其用 6-0 可吸收线间断缝合于残留的睑板创缘,修复上睑时将脱细胞真皮上缘与提上睑肌断端缝合,下睑则与下睑缩肌间断缝合,两侧与内外眦韧带缝合,然后将分离的眼轮匝肌覆盖于脱细胞真皮表面,如合并有眼睑前层皮肤缺损,则用游离的自体中厚皮瓣修复眼睑,作缝线包埋压迫敷料法固定皮肤移植片。如认为眼睑缺损区血供较差时,先一期作前层皮肤面的修补,二期再行脱细胞真皮的植入。(3)上下睑同时全层缺损的修复:当上下睑同时全层缺损时,首先分开上下缺损眼睑的边缘,使成前后两层,然后根据上下睑的缺损面积切取相应大小的脱细胞真皮,上方与残存睑板或提上睑肌腱膜间断缝合,下方与残存睑板或下睑缩肌间断缝合,两端分别与内外眦韧带缝合,从上、下眼轮匝肌分别分离一带蒂肌瓣,转移覆盖于脱细胞真皮表面,两个肌瓣的游离端用 6-0 线间断缝合。最后移植一中厚游离皮片,以形成上下睑皮肤。6 个月后,在相当于睑裂分界处切开,再作睑缘成形术。

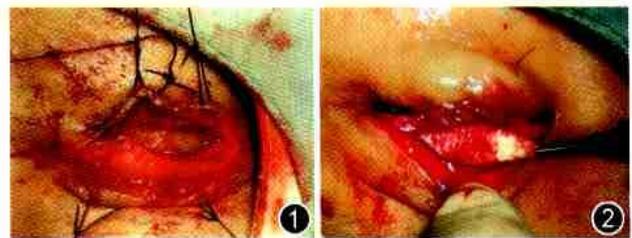


图 1 于离睑缘 3~4 mm 处全层切开眼睑,如结膜缺损较多,则在结膜切口处间断缝合一块羊膜组织 图 2 将脱细胞真皮植入眼睑,其中基底膜面朝向睑结膜,真皮面与眼轮匝肌面接触,以提供充分的血供

2. 表层皮片的修复:表层皮片视患者受伤状况和睑缺损情况,可从耳后或上臂内侧取游离中厚皮片或作转位或移行皮片修复。如为上下睑完全性缺损时,游离皮片宜用滚轴式切皮刀由大腿内侧切取中厚皮片,植皮片时,用 8-0 可吸收缝线缝合皮肤,术毕用压迫包埋敷料法固定皮片。4 d 后第 1 次换药,以后隔天换药 1 次,12 d 后拆除小纱枕及皮肤缝线。

3. 睑缘缝合:为防止术后皮片和植入物收缩,对化学伤和热烧伤造成的眼睑缺损,术毕于结膜囊内放入弥补物并行睑缘缝合术,至少 6 个月后行睑缘切开。对一些受伤较轻的病例,则可在睑缘内外 1/3 处缝合两组提吊缝线,约于术后 2 周拆除缝线,以抵抗收缩的张力。

四、术后处理

术后 3 d 静脉滴注头孢唑啉 4 g/d,绷带包扎至术后 2 周,术后常规作双眼外观照相。

五、疗效标准

疗效标准分为四级:(1)优:眼睑外形、功能完全恢复。(2)良好:眼睑外形、功能基本恢复,闭合不全 ≤ 2 mm,睑裂长度差值 ≤ 2 mm,高度差值 ≤ 2 mm。轻度睑缘切迹。(3)改善:眼睑外形和功能有改善,闭合不全 > 2 mm,睑裂长度差值 > 2 mm,高度差值 > 2 mm。睑缘切迹,轻度眼睑内外翻。(4)无效:眼睑外形和功能无改善,植片脱落。其中治愈率包括优和良好两个部分的修复后眼睑。

结 果

一、细胞真皮材料分析

1. 一般性状:经处理后的人脱细胞真皮外观呈浅黄白色,坚韧,复水后颜色变白,质地柔韧,可任意裁剪成不同形状,厚度约为 0.8 ~ 1.0 mm。可分辨出脱细胞真皮由光滑和较粗糙的两面组成,其中光滑面为基底膜层,较粗糙面为真皮面层。

2. 细菌和真菌培养:对保存 4 个月后的脱细胞真皮用单纯随机抽样法抽取各 5 个标本作细菌和真菌培养,结果均为无菌生长。

3. 组织学检查:(1)将保存 4 个月后的脱细胞真皮作苏木精和曙红染色,结果显示纤维结构排列整齐,无纤维断裂、紊乱现象,有小血管的残留管壁存在,与正常人的皮肤比较,可以发现缺乏表皮细胞层和真皮层内的细胞结构。而胶原组织在形态上无明显差异。(2)Masson 三色染色显示脱细胞真皮组织内不仅有胶原纤维存在,还有弹性纤维存在。(3)扫描电镜检查:脱细胞真皮为互相交叉排列的胶原纤维束构成,可见清晰的胶原螺纹样结构,胶原纤维的完整性未被破坏,并有纤维母细胞和其他细胞留下的组织空隙(图 3)。

二、术后随访和效果

1. 随访时间:随访 3 ~ 10 个月,中位时间 8 个月。
2. 眼部效果:11 只眼睑中,按治疗标准评为优

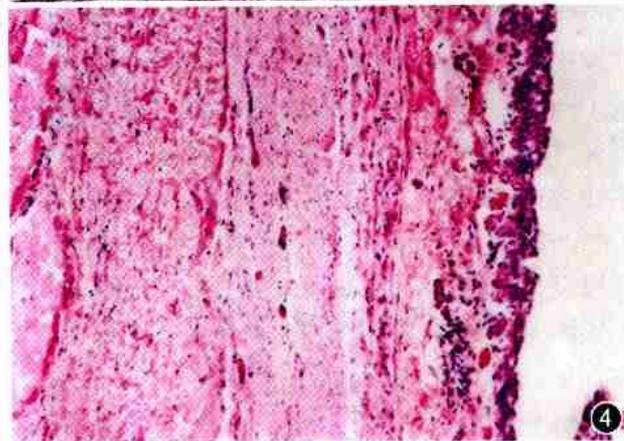
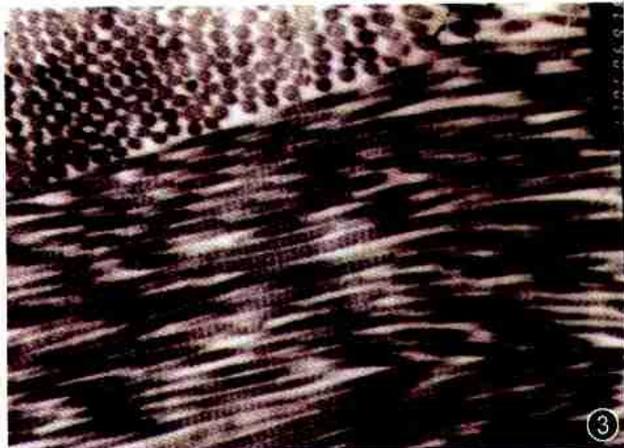


图 3 经处理的脱细胞真皮电镜检查显示由纵横排列的胶原纤维组成,胶原的纹理结构清晰,未见有组织破坏 电镜 $\times 14\ 000$

图 4 手术后半年的脱细胞真皮取材检查,左侧为脱细胞真皮,可见胶原排列不整齐,右侧为新生的胶原纤维,内有新生血管和纤维母细胞,排列与睑结膜平行,显示脱细胞真皮正作为一种生物支架引导受体组织的生长,结膜面可见杯状细胞的存在 HE $\times 33$

者 8 只睑(73%),良好 2 只睑(18%),改善 1 只睑(9%),无手术无效者,以先天性眼睑缺损和轻中度眼睑烧伤的治愈效果较好。

3. 一般情况:脱细胞真皮在 10 例眼睑重建代替睑板手术中,均获得一期愈合,术后反应轻微,眼睑无明显水肿,患者无明显疼痛、肿胀等自觉症状。术后早期,脱细胞真皮颜色较苍白,质地较柔软,之后随着结膜组织和新生血管的长入,质地渐变硬,一般术后 1 周开始有结膜和新生血管长入脱细胞真皮,两周后将脱细胞真皮完全覆盖。在随访过程中,所有病例未见有脱细胞真皮脱落、严重扭曲变形及感染现象发生,术眼外形好,恢复一定运动功能。泪膜分布较均匀,眼睑缺损导致的角膜溃疡亦愈合。

4. 手术并发症:1 例轻度上睑下垂,另 1 例由于化学伤炎症反应较重且持续时间长,出现了皮肤瘢痕的收缩,导致存在约 2 mm 的眼睑闭合不全。

5. 植片收缩率:随访期间 8 例眼睑无明显收缩现象,其他 2 例术后半年时较术后 2 周约有 10% 的收缩。

6. 脱细胞真皮移植后转归:对 1 例术后半年眼睑下垂病例行矫正时,切取一窄条移植组织,组织学检查发现为脱细胞真皮内的胶原组织正在为自身的胶原纤维所替代,新生胶原纤维排列较整齐紧密,而且与结膜面平行,内有纤维母细胞、新生毛细血管及少量的淋巴细胞,未见到异物巨细胞,基底膜结构分辨不清,植片表面可见杯状细胞的存在(图 4)。

三、典型病例分析

患者男性,28 岁,右眼被氢氧化钠溶液烧伤,出现上睑亚全缺损,虽然一期急救手术时作了全角膜移植,但由于眼睑闭合不全,角膜暴露,出现了植片的血管化和斑翳形成,我们考虑到患眼局部血供较差,先做了上睑的游离中厚皮片移植术,待术后半年患眼炎性反应得到了初步稳定后,再于上睑植入脱细胞真皮填充物以代替睑板,手术切开时见睑板已大部分萎缩消失,残留睑缘的睑板也有卷曲现象,将脱细胞真皮植入眼睑后并作睑缘缝合,术后半年眼睑已可较好闭合,可考虑再次行角膜手术时机(图 5,6)。



图 5,6 右眼热烧伤所致的眼睑缺损,经右眼植入脱细胞真皮后,手术前(图 5)和后(图 6)6 个月的外观照相

讨 论

脱细胞真皮已得到商业化生产,该产品经过一系列的生物处理使基底膜组织和胶原纤维束完整地保留下来,脱细胞真皮临床应用的理论基础是细胞外基质可以作为一个模板来引导受体的正常组织结构得以生长,另外由于脱细胞真皮已去掉了主要引起免疫反应的细胞成分,其所存留的胶原组织一般只有轻微的免疫反应^[3]。我们所采用的手术方法都以脱细胞真皮的基底膜面朝向结膜,临床结果显示结膜覆盖在其表面可迅速固定,即使在结膜缺损较多的眼睑,让羊膜覆盖在脱细胞真皮表面,结膜组

织也可在两周内完全覆盖脱细胞真皮,半年后病理检查可见新生结膜内有杯状细胞存在。间接证明代替睑板的植入真皮组织后表面能引导结膜化愈合。另外含有胶原组织较为疏松的真皮侧与眼轮匝肌相接触,由于该部位血液运输较丰富,且制作的真皮侧有较多冻干后产生的孔隙,所以有利于新生血管的长入,提高了植片的存活率。

理想的眼睑后层替代物应与睑板-结膜复合体具有相似的厚度、表面性质及一定的弹性,另外,必须较易获得供体,手术容易操作,炎性反应轻。自体游离硬腭黏膜为带黏膜的复合植片,与睑板-结膜复合体结构相似是它的优点,运用该材料行眼睑重建术的成功率也较高^[4]。但该手术需要第二手术切口,一般眼科医生对口腔解剖结构较生疏,同时带角化上皮的口腔黏膜对角膜也有一定的破坏作用,临床应用表明眼睑植入自体硬腭组织 6 个月后多有慢性刺激症状^[5]。向非角化的黏膜上皮化生时间需要几个月以上。所以常应用于下眼睑的重建术中。供材区的组织病变也是一个不容忽视的问题,患者可出现口腔出血和不适症状,黏膜下的瘢痕收缩可影响平时的咀嚼活动^[6,7]。另外,一些自体组织如耳廓软骨、鼻中隔软骨、健眼睑板等作为组织替代物经临床试用后,已证实效果良好,但用自体组织替代,手术复杂,且增加患者的痛苦和负担,同时可能造成供材区出现感染坏死等并发症。

脱细胞真皮具有许多作为替代眼睑后层的优点,材料较易获得,避免了第二手术切口、缩短了手术时间,经硬化处理的脱细胞真皮适当复水后可塑性和弹性较好,另外光滑的基底膜面加速上皮化。由于脱去了细胞成分,不仅引起的免疫反应很轻微,也明显减少了病毒寄宿的环境。植入物不发生移动,可较好的与周围组织整合在一起。在受体的植入物重塑过程中,植入物处容积不发生变化。在我们所做的短期临床观察中,脱细胞真皮可基本起到支撑眼睑后层的结构作用。脱细胞真皮植入眼睑后的长期效果,尚待临床深入研究。我们认为,脱细胞真皮可作为诸多眼睑后层替代物中的选择之一。

另外,脱细胞真皮移植重建眼睑手术中需注意以下几个问题:(1)对于化学伤和热烧伤的病例,行眼睑缺损成形术后的同时必须作睑缘缝合术和结膜囊内放入弥补物,至少 6 个月后行睑缘切开术,以减少瘢痕收缩。(2)必须高度注意,在睑板重建术中切忌损伤残存的睑缘间部及尽可能保存下部的残存

睑板腺,从而最大限度保存睑缘干细胞和睑板腺及其导管的开口。另外,在分离过程中勿破坏上睑颞侧穹隆部结膜,该处是泪腺排出管的开口所在,同时结膜干细胞很可能位于上穹隆结膜。

参 考 文 献

- 1 Rubin P, Fay A, Remulla H, et al. Ophthalmic plastic applications of acellular dermal allografts. *Ophthalmology*, 1999, 106: 2091-2097.
- 2 Shorr N, Perry JD, Goldberg RA, et al. The safety and applications of acellular human dermal allograft in ophthalmic plastic and reconstructive surgery. *Ophthalmic Plast Recon Surg*, 2000, 16: 223-230.
- 3 Reagan BJ, Madden MR, Huo J, et al. Analysis of cellular and decellular allogeneic dermal grafts for the treatment of full-thickness wounds in a porcine model. *J Trauma*, 1997, 43: 458-466.
- 4 赵光喜,李冰. 自体游离硬腭粘膜移植修复眼睑缺损. *中华眼科杂志*, 1996, 32: 167-170.
- 5 Kersten RC, Kulwin DR. Management of lower eyelid retraction with hard palate mucosa grafts. *Arch Ophthalmol*, 1990, 108: 1339-1343.
- 6 Neuhas RW, Balis HI. Complication at mucosa membrane donor sites. *Am J Ophthalmol*, 1982, 93: 643-646.
- 7 Wainwright DJ. Use of an acellular allograft dermal matrix (AlloDerm) in the management of full-thickness burns. *Burns*, 1995, 21: 243-248.

(收稿日期:2004-07-27)

(本文编辑:韩轶)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对来稿中统计学处理的有关要求

1. 统计研究设计:应交代统计研究设计的名称和主要做法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性或横断面调查研究);实验设计(应交代具体的设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等);临床试验设计(应交代属于第几期临床试验,采用了何种盲法措施等)。主要做法应围绕 4 个基本原则(随机、对照、重复、均衡)概要说明,尤其要交代如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

2. 资料的表达与描述:用 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料,用 $M(Q_R)$ 表达呈偏态分布的定量资料;用统计表时,要合理安排纵横标目,并将数据的含义表达清楚;用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上刻度值的标法符合数学原则;用相对数时,分母不宜小于 20,要注意区分百分率与百分比。

3. 统计分析方法的选择:对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选用合适的统计分析方法,不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件以及分析目的,选用合适的统计分析方法,不应盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析,应结合专业知识和散点图,选用合适的回归类型,不应盲目套用简单直线回归分析,对具有重复实验数据的回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系进行全面、合理的解释和评价。

4. 统计结果的解释和表达:当 $P < 0.05$ (或 $P < 0.01$) 时,应说明对比组之间的差异有统计学意义,而不应对对比组之间具有显著性(或非常显著性)的差别;应写明所用统计分析方法的具体名称(如:成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等),统计量的具体值(如 $t = 3.45$, $\chi^2 = 4.68$, $F = 6.79$ 等)应尽可能给出具体的 P 值(如 $P = 0.0238$);当涉及到总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,再给出 95% 置信区间。

本刊编辑部

· 时讯 ·

《临床多焦视觉电生理学》一书出版

《临床多焦视觉电生理学》一书由广州中山眼科中心吴乐正教授主编,北京科学技术出版社出版。全书系统介绍了视网膜及视路生物电的产生及传播,多焦电生理技术测定原理、方法、影响因素及结果分析,以及此技术在眼黄斑病变、视网膜病变、视路病变等的应用。本书受国家科技学术著作出版基金资助。联系地址:北京科学技术出版社 西直门南大街 16 号;邮政编码:100035;联系电话:010-66161952,66137380。

(李金莉)