

人同种异体真皮脱细胞基质在尿道重建中的临床应用

林健 郝金瑞 金杰 邓庶民 胡杰 那彦群

【摘要】 目的 观察人同种异体真皮脱细胞基质(AMG)在尿道重建中的临床应用,寻求理想的尿道修复材料。方法 将组织工程学材料-人同种异体真皮 AMG 作为尿道重建的替代材料,治疗男性尿道患者 16 例,年龄 18~46 岁,平均 26.5 岁,其中 13 例因骨盆骨折尿道断裂致后尿道狭窄,2 例前尿道狭窄,1 例尿道下裂。术时将 AMG 缝合成管状,替代缺损尿道,术中置 F18~22 尿管作支架,4~6 周后拔除尿管。结果 16 位患者拔除尿管后均恢复排尿,尿道造影显示尿道连续性好,膀胱尿道镜示 AMG 腔表面已被尿路上皮细胞覆盖,与自体尿道几乎不可分辨。3 例随后出现尿道再狭窄,其中 2 例行尿道扩张术,1 例行尿道内切开术。所有患者均未发生排斥反应。随访 12~72 个月,平均 45.6 个月,患者可通过尿道正常排尿,4 例患者定期行尿道扩张。结论 人同种异体真皮 AMG 作为尿道修复材料,无排斥等不良反应,适合于长段的尿道狭窄或缺损,是较理想的尿道替代材料。

【关键词】 尿道; 尿道狭窄; 脱细胞基质

Homologous dermal acellular matrix graft for urethral reconstruction in man (report of 16 cases)

LIN Jian*, HAO Jin-rui, JIN Jie, DENG Shu-min, HU Jie, NA Yan-qun. *Department of Urology, the First Hospital of Peking University, the Institute of Urology, Beijing 100034, China

【Abstract】 **Objective** To investigate the value of homologous dermal acellular matrix graft (AMG) for urethral reconstruction in man, and found an ideal replacement material to simplify the urethroplasty surgery. **Methods** 16 male patients, aged 18-46 (mean 26.5), with urethral diseases were treated with allograft of tissue engineering material AMG. The causes of urethroplasty were complex urethral stricture followed by pelvic fracture (13 cases), anterior urethral stricture (2 cases), hypospadias (1 case). During the operation, AMG was sutured to a tubular graft and replaced the defect urethra. A 18-22 Fr silicone catheter was inserted in the reconstructed urethra for 4-6 weeks. **Results** All 16 patients were voiding well after removing the catheter, urethrography reveal excellent caliber of the reconstructed urethra. Urethroscopic examination showed the graft urethra was covered by epithelial tissue and grew into the native tissue. But stenosis was developed in 3 patients postoperatively, 1 patients received transurethral incision, another 2 needed urethral sounding. The patients were followed-up for 12-72 months (mean 45.6), no rejection was observed, all patients voided normally except 4 cases needed urethral dilatation periodically. **Conclusion** The homologous dermal acellular matrix graft may serve as an ideal replacement material for complex urethral stricture or defect, without concern of rejection.

【Key words】 Urethra; Urethral stricture; Acellular matrix graft (AMG)

长段尿道狭窄和缺损的治疗是泌尿外科医生颇感棘手的难题,主要原因是缺乏理想的尿道替代材料。我们采用组织工程技术制作出人同种异体真皮脱细胞基质,将其作为尿道重建的替代材料应用于临床,初步获得了满意的临床效果,现报道如下。

对象与方法

一、对象

作者单位:100034 北京大学第一医院泌尿外科 北京大学泌尿外科研究所(林健、郝金瑞、金杰、那彦群);卫生部北京医院泌尿外科(邓庶民);北京清源伟业生物组织工程科技有限公司(胡杰)

1. 临床资料:1998 年 5 月至 2003 年 6 月北京大学泌尿外科研究所就诊的男性尿道疾病患者 16 例,年龄 18~46 岁(平均 26.5 岁),其中 13 例因骨盆骨折尿道断裂致后尿道狭窄,2 例因留置尿管反复尿道感染致前尿道狭窄,上述患者均经多次手术失败,不能通过尿道排尿而留置膀胱造瘘管;1 例为阴茎体型尿道下裂。所有患者术前行 B 超、静

脉尿路造影检查,无上尿路梗阻。排泄性及逆行尿道膀胱造影判断尿道缺损长度,需替代的尿道长度 2~10 cm,平均 4.7 cm。患者术前签署知情同意书。

2. 脱细胞基质(AMG)的制备:用电动取皮机获取人新鲜尸体 0.3~0.5 cm 厚的断层皮,制成宽 2~3 cm、长 3~15 cm 皮片,经生理盐水反复冲洗及 1%醋酸氯己啶消毒后置入高渗盐水中 24 h,去除表皮留取真皮,戊二醛交联,用细胞脱洗液脱洗细胞, DNA 酶、RNA 酶等对细胞成分二次脱取,获取人同种异体真皮 AMG。生理盐水冲洗后进行组织学、免疫组织化学、电镜检查,证实组织内细胞已被完全提取,仅为胶原组织,结构正常,为 I, IV 型胶原。提取后按长度分装,保存于 4℃ 冰箱。AMG 的特征:半透明组织,有弹性、不断裂、不变形、不溶解、不破裂,无细胞和细胞核,无菌,无致敏反应,遗传毒性实验(Ames 实验)阴性,不携带乙肝病毒。

二、方法

1. 尿道重建方法:13 例后尿道狭窄患者在麻醉下取截石位,经会阴切口,切除尿道狭窄段至见到正常的尿道黏膜,并将尿道狭窄段周围瘢痕尽量彻底切除,以防止术后瘢痕压迫尿道。将制备好的 AMG 置入 1%新洁尔灭再次灭菌,生理盐水冲洗。10 例 AMG 缝合管状,两端分别与近端、远端有正常黏膜肌肉的尿道无张力端端吻合,3-0 可吸收线间断全层缝合 4~6 针,肌肉、皮下组织、皮肤逐层缝合,留置伤口引流。3 例后尿道狭窄段较长,行拖入式手术,将管状 AMG 与尿道远端缝合,并打开膀胱,AMG 近端拖至尿道内口,用可吸收线固定于膀胱颈,7 号丝线牵引固定于腹壁。2 例前尿道狭窄,将狭窄段切除,AMG 缝合管状,近端与尿道端端吻

合,远端行尿道外口成型术。1 例尿道下裂行 AMG 卷管尿道成型和下裂修补术。手术结束时,尿道中留置 F18~22 尿管作支架,术后 4~6 周拔除尿管。

2. 观察项目:患者一般情况,血尿常规和生化检查,观察有无局部感染、排斥反应,移植物的存活情况;拔除尿管后观察排尿状况,并行尿道造影及软性膀胱尿道镜检查;测定尿流率测定(术后 2、6、12 月);观察有无并发症的发生等。

结 果

16 例患者均未发生感染和排异反应,拔除尿管后均恢复排尿,尿道造影显示尿道连续性良好(图 1, 2),软性膀胱尿道镜示 AMG 管腔表面已被尿路上皮细胞覆盖,与自体尿道几乎不可分辨(图 3)。手术后 16 例患者平均最大尿流率的测定结果:2 个月时,19.3 ml/s ± 2.7 ml/s;6 个月时,17.6 ml/s ± 3.1 ml/s;12 个月时,16.9 ml/s ± 2.8 ml/s;3 者差异无统计学意义($P < 0.05$)。3 例分别在手术后 2、5 和 14 个月时出现尿道再狭窄,经检查均为 AMG 与正常尿道吻合口处狭窄,其中 2 例发生一处狭窄,行尿道扩张术,1 例发生两处狭窄行尿道内切开术,手术中见两狭窄间 AMG 已有尿路上皮爬入。术后随访 12~72 个月,平均 45.6 个月,所有患者可通过尿道正常排尿,4 例患者定期行尿道扩张。

讨 论

长段尿道狭窄或尿道缺损的修复仍是泌尿外科的一大难题。目前临床上可采用的尿道修复材料有:患者的自体材料、体外培养的尿路上皮细胞、和人工材料等,但多少都存在一些问题。采用患者自体生殖部位和生殖部位以外的皮片或皮瓣,如阴囊



图 1 男性患者 42 岁,骨盆骨折多次手术后尿道闭锁段 4 cm,留置膀胱造瘘管 图 2 手术后 4 周排泄性尿道造影示尿道连续性恢复 图 3 手术后 4 周软性膀胱尿道镜所见:1. 远端正常尿道黏膜;2. 吻合口处;3. AMG 替代尿道段有尿道黏膜覆盖

带蒂皮管、包皮和腹部皮瓣来修复狭窄的尿道, 手术操作复杂, 技术要求高, 可发生移植皮瓣坏死, 阴囊皮肤毛发生成, 移植片收缩、狭窄, 结石、憩室形成等^[1]; 而且供区也会产生并发症, 取材部位和范围也很有限; 从结果来看, 采用自体组织的植入来治疗尿道狭窄也只是保持了尿道的连续性, 修补后缺乏尿道上皮, 故尚不是功能的修复。黏膜皮片往往采用颊黏膜、唇黏膜或膀胱黏膜, 但由于腺体的分泌和供区的并发症, 临床应用较少, 睾丸鞘膜、腹膜皮片等会引起狭窄^[2]。而采用尿路上皮移行细胞, 在支架上进行细胞培养, 再置入人体, 需要尿道重建手术前取膀胱黏膜, 手术创伤大, 操作复杂, 细胞培养技术要求高, 不利于临床大范围应用。采用人工不降解材料如聚硅酮、聚四氟乙烯等存在组织坏死、痿、狭窄、外渗、结石形成等; L 型聚乳酸 (PLLA) 聚羟基乙酸 (PGA) 等可降解的人工材料作为尿道上皮培养的支架^[3], 虽然取材容易, 制备方便, 但在降解的过程中炎症反应很重, 影响到细胞的分化增殖, 不能与细胞发生理想的相互作用, 不利于尿道的修复, 聚合生物材料的安全性仍受到怀疑。

细胞外基质具有种属差异小, 抗原性弱, 不易引发宿主产生免疫排斥反应, 良好的生物相容性和较好的生物降解性等优点^[4]。采用组织工程技术利用自体材料, 经脱细胞处理后得到的 AMG, 再移植回宿主, 赋予组织以韧性、弹性、保水性及对机械力的缓冲性, 并为细胞提供生存及从事各种活动的微环境, 是一理想的生物支架^[5], 可产生有功能的新器官, 这是其他人工材料或天然高分子材料所不能达到的效果, 能有效地解决宿主自身供区材料不足的问题^[6], AMG 作为修复缺损区的材料在动物实验及临床上得到了应用。Sievert 等^[7]提取同种异体兔尿道制成 AMG, 完成兔尿道修补, 在 10 d 至 8 个月间进行尿动力学、尿道造影和组织学研究发现, 移植无排斥反应, 组织学检查上皮生长良好有血管长入。认为同种异体 AMG 可进行 I 期尿道重建, 无并发症, 这种重建是功能的组织学的再生。Shokeir 等^[8]在犬的尿道重建中也得到类似的结论。Sievert 等^[9]又进行了犬尿道 AMG 在兔尿道的重建的异种 AMG 实验, 也未发现排斥反应。国内刘流等^[10]进行异体真皮 AMG 犬尿道重建的实验, 同样取得满意效果, 并进行了 2 例人体尿道的临床应用获得成功。

本组 16 例 AMG 植入体内后全部成活均未发生排斥反应。术后长期随访。所有患者可通过尿道正

常排尿, 4 例患者定期行尿道扩张。

在手术操作上, 只需分离出尿道缺损段, 将 AMG 缝合成管状替代缺损即可, 可以保证完全无张力吻合, 手术操作简单。

这种修复是解剖的和功能性的。因而, 与传统的尿道替代材料相比, 此材料具有下述优点: (1) 无需自体材料, 减少了患者的痛苦; (2) 来源广, 可产业化生产, 具有极好的社会效益与经济效益; (3) 抗原性低, 并发症少; (4) 修复后尿道具有与原尿道相似的组织结构及生理特点; (5) 极大地简化了手术过程, 手术 I 期成型, 提高了治愈率。尤其适用于长段尿道缺损的修补。

从本组治疗效果观察, 在尿道缺损的修补中, 依靠自体尿道细胞生长完成修复的时间与尿道长度有一定关系, 对于长距离的缺损, 完成修复的时间相对较长。但临床实验中未发现不良事件和副作用。尽管采用同种异体真皮 AMG 修复尿道术后仍部分存在再狭窄的问题, 尚需进一步做长期大量的临床研究, 但临床初步结果证实人同种异体真皮 AMG 不失为一种较理想的尿道替代材料, 有极广阔的发展前景。

参 考 文 献

- 1 Brannan W, Ochsner MG, Fuselier HA, et al. Free full thickness skin graft urethroplasty for urethral stricture: experience with 66 patients. *J Urol*, 1992, 115: 677-680.
- 2 Snow Bw, Cartwright PC. Tunica vaginalis urethroplasty. *Urology*, 1992, 40: 442-445.
- 3 Olsen L, Bowald S, Busch C, et al. Urethral reconstruction with a new synthetic absorbable device. *Scand J Urol Nephrol*, 1992, 26: 323-326.
- 4 Karlsson JO, Toner M. Long-term storage of tissues by cryopreservation: critical issues. *Biomaterials*, 1996, 17: 243-256.
- 5 Mantovani F, Trinchieri A, Castelnovo C, et al. Reconstructive urethroplasty using porcine acellular matrix. *Eur Urol*, 2003, 44: 600-602.
- 6 Cilento BG, Retik AB, Atala A, et al. Urethral reconstruction using a polymer mesh. *J Urol*, 1995, 153: 371A.
- 7 Sievert K, Bakircioglu M, Nunes L, et al. Homologous acellular matrix graft for urethral reconstruction in the rabbit: histological and functional evaluation. *J Urol*, 2000, 163: 1958-1965.
- 8 Shokeir A, Osman Y, El-sherbiny M, et al. Acellular matrix tube for canine urethral replacement: is it fact or fiction? *Eur Urol*, 2003, 44: 603-609.
- 9 Sievert K, Wefer J, Bakircioglu M, et al. Heterologous acellular matrix graft for reconstruction of the rabbit: histological and functional evaluation. *J Urol*, 2001, 165: 2096-2102.
- 10 Liu L, Liang DJ, Shen PF, et al. Tissue engineering material for the replacement of urethral. *Chin J Urol*, 2001, 22: 428-431. 刘流, 梁德江, 申鹏飞, 等. 异体真皮细胞外基质重建尿道的实验和临床研究. *中华泌尿外科杂志*, 2001, 22: 428-431.

(收稿日期: 2005-02-05)

(本文编辑: 陈新石)