

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.06.048

组织工程皮肤研究现状*

马东东^{1,2} 周玉杰^{1,2} 路婷婷³ 卢涛^{2Δ}

(1 河北联合大学 河北 唐山 063009; 2 天津武警后勤学院附属医院皮肤科 天津 300162; 3 沈阳药科大学 沈阳 辽宁 110016)

摘要:组织工程皮肤是通过培养功能细胞,将其与细胞外基质及支架材料互相作用,制成的具有生物活性的人工皮肤替代物。组织工程皮肤的发展为修复皮肤创面,重建皮肤功能,治疗皮肤病提供了新的方法。本文从皮肤种子细胞培养、真皮支架材料和体外构建活性复合皮三个方面对组织工程皮肤的研究进展进行了综述。目前组织工程皮肤在一定程度上克服了原有的皮肤供区不足、免疫排斥、传播疾病等各种问题。新的种子细胞和支架材料逐渐成熟,并逐渐应用于临床治疗;在种子细胞和真皮替代物基础上发展起来的复合皮肤可以更快速的促进缺损皮肤的愈合,但与在体皮肤比较尚有差距。组织工程皮肤是理想的皮肤替代物,具有良好的发展前景,未来的研究应该着眼于模仿机体皮肤的生理结构和功能,使愈合后的皮肤与在体皮肤融为一体。

关键词:组织工程皮肤;支架材料;种子细胞

中图分类号:R318.08 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)06-1183-05

Research of Skin Tissue Engineering*

MA Dong-dong^{1,2}, ZHOU Yu-jie^{1,2}, LU Ting-ting³, LU Tao^{2,Δ}

(1 Hebei united university, Tangshan, Hebei, 063009, China; 2 Dept. of Dermatology, Affiliated Hospital of Tianjin Armed Police Logistics Institute, Tianjin, 300162, China; 3 Shenyang Pharmaceutical University, Liaoning, Shenyang, 110016, China)

ABSTRACT: Skin tissue engineering are artificial skin substitutes. It is made of culturing functional cells, and is used for interacting with the extracellular matrix and scaffold materials. The development of skin tissue engineering provides new methods for skin wounds repair, rebuild the skin functions, and the treatment of skin diseases. The review summarizes culture of skin cell, dermal scaffold material and constructed activity composite skin *in vitro*. Skin tissue engineering solve the problems to a certain extent like the lack of original skin, immune rejection and spread diseases. The new seed cells and scaffold materials are being to mature and applied to the clinical treatment gradually. The development of seed cells and dermal substitutes based on composite skin can promote faster healing of the defects of the skin, but there are still some gaps compared with the body skin. Skin tissue engineering is an ideal skin substitute, which has prospects for development. The future research should focus on mimic the structure and function of the physiology of the body skin, and blend it *in vivo* skin.

Key words: Skin tissue engineering; Scaffold materials; Seed cells

Chinese Library Classification: R318.08 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)06-1183-05

前言

皮肤是人体最大的器官,也是保护机体免受外界侵袭的重要屏障。创伤、烧伤等原因引起的皮肤缺损,传统的治疗方法是进行皮肤移植,但存在供体不足和免疫排斥等问题,因此临床上迫切需要一种理想的皮肤替代物。组织工程皮肤是由细胞或细胞外基质制成的具有一定功能的人工皮肤,可用于修复创面,重建皮肤功能,为构建皮肤替代物提供了新的方法,具有良好的发展前景^[1]。组织工程皮肤的研究内容主要包括皮肤种子细胞培养、真皮支架材料和体外构建活性复合皮三个方面,本文将从以下方面对其进展进行综述。

1 皮肤种子细胞

种子细胞是组织工程的基本要素,通过培养、扩增不同生物学特性的种子细胞,可以为组织工程皮肤提供新的基础。目前组织工程皮肤的种子细胞主要有干细胞、成纤维细胞、黑素细胞、内皮细胞等。

1.1 干细胞

干细胞是可以分化为多种功能细胞的多潜能细胞,有“万用细胞”之称^[2]。按机体的发育情况可分为胚胎干细胞和成体干细胞,按分化潜能可以分为全能、多能和单能干细胞。胚胎干细胞是全能干细胞,可以分化为机体所有类型的组织器官。由于人体胚胎干细胞的来源和研究受法律及伦理的限制,因此其发

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81072964)

作者简介:马东东(1984-),女,硕士研究生,主要研究方向:光老化、组织工程皮肤,E-mail:360201455@qq.com.

Δ通讯作者:卢涛(1972-)男,博士,主任医师,主要研究方向:白癜风、银屑病、光老化、组织工程皮肤,E-mail:48144051@qq.com

(收稿日期:2013-06-17 接受日期:2013-07-12)

展较慢,但也取得了一定的成就。

1.1.1 胚胎干细胞 胚胎干细胞的研究问题主要是如何诱导其向特定功能细胞的分化以及应用。Shamis 等^[3]采用构建的皮肤类似物作为平台,成功地诱导胚胎干细胞分化为成纤维细胞,并且进行 3D 培养后可进行皮肤移植。Vatansever 等^[4]在加入 BMP-4 的基底膜上培养小鼠胚胎干细胞,使其转化为类角质细胞后用于小鼠皮肤创伤的治疗具有良好的效果。国内学者刘爱军等^[5]用羊膜诱导生物膜上培养的胚胎干细胞,移植于全层皮肤缺损的小鼠模型上,结果显示胚胎干细胞不仅参与表皮的修复,而且还可以分化为汗腺、毛囊等细胞。

1.1.2 表皮干细胞 表皮是人体皮肤的最外层,表皮干细胞位于表皮的基底层。表皮干细胞具有慢周期性、更新能力快和对基底膜的粘附等特点,不仅参与皮肤的新陈代谢过程,而且与皮肤的修复功能密切相关^[6]。研究发现,表皮干细胞在特定的微环境下可以分化为汗腺、毛囊等皮肤附属器^[7]。基础研究显示,表皮干细胞可提高创面的愈合效果与胚胎干细胞无明显差别,且能促进皮肤附属腺的再生^[8]。目前表皮干细胞的相关研究主要是与生物材料共同构建具有表皮的皮肤替代物,分化为皮肤附属结构等方面。张彦刚等^[9]采用改良的酶消化法培养人表皮干细胞,发现表皮细胞的层数增加,排列更整齐,为组织工程皮肤的构建提供了新的基础。

1.1.3 毛囊干细胞 毛囊干细胞位于毛囊外根鞘隆突部,是一种慢周期性细胞^[10]。毛囊干细胞具有很高的增殖分化潜能,在体内外培养均可以分化为不同的皮肤细胞^[11]。张群等^[12]利用毛囊干细胞和生物材料构建组织工程表皮膜片,可以有效修复裸鼠背部的全层皮肤缺损。Qi 等^[13]学者发现,将毛囊真皮乳头细胞接种与真皮基质内可以增加皮肤厚度,减少皮肤的收缩,改善皮肤性状。

1.1.4 间充质干细胞 间充质干细胞是来源于中胚层和外胚层的多能干细胞,最初在骨髓中被发现。间充质细胞可以在特定的条件下分化为脂肪、骨、软骨、肌肉、神经、内皮等多种组织细胞,是理想的种子细胞。目前其研究主要包括骨髓间充质干细胞、脂肪间充质干细胞和人脐带间充质干细胞 3 种。

骨髓间充质干细胞一直是组织工程的研究热点,具有增殖能力强、可多向分化、来源方便,不存在免疫排斥等优点^[14],在组织工程中应用广泛。采用自体移植骨髓间充质干细胞,不仅可以有效的保护创伤皮肤,而且可以通过调节炎症反应和血管生成,促进创面良好愈合^[15]。王少云等^[16]采用骨髓间充质干细胞与小肠黏膜下层构建组织工程皮肤,用于免糖尿病皮肤缺损的修复,取得了良好的效果,但只是为观察到皮肤附件结构的生成。

脂肪间充质干细胞是 2001 年在脂肪组织提取物中发现的一种间充质干细胞,目前可通过脂肪组织分离而获得,而脂肪组织可通过吸脂手术取得,因此其来源较广泛,成为近年来研究的热点。脂肪间充质干细胞同样具有多向分化潜能,通过诱导可使其定向分化。有研究显示,脂肪来源的间充质干细胞具有和骨髓来源相同的分化能力^[17]。鞠晓军等^[18]报道显示,利用脂肪间充质干细胞和羊膜共同修复大鼠皮肤全层缺损具有良好的效果。

人脐带间充质干细胞是分娩后脐带中分离出来的,来源广泛,容易培养,由于不受法律和伦理的限制,应用不受约束。研

究发现,人脐带间充质干细胞不仅具有良好的分化潜能,而且可以调节免疫功能。吕璐璐等^[19]发现,人脐带间充质干细胞的增殖能力比骨髓间充质干细胞更高,而且 HLA 抗原表达较低。

1.2 成纤维细胞

成纤维细胞是真皮基质中的主要细胞,功能活动旺,增殖速度快,是皮肤损伤后的主要修复细胞。另外,成纤维细胞分泌的成纤维细胞生长因子,调节表皮表皮细胞的功能和细胞外基质的合成。目前成纤维细胞的研究主要是来源、功能调控和培养方式等方面。

研究发现,胚胎成纤维细胞的增殖能力较强,且免疫原性低,体外合适的条件培养生物学特性活跃,是较理想的种子细胞^[20]。动物研究也发现,胚胎成纤维细胞对生长因子的应答作用与出生后有本质区别^[21]。刘柳等^[22]采用三维培养方式大鼠胚胎成纤维细胞,用于治疗全层皮肤缺损可以加速创面的愈合,减少瘢痕的形成。随着基因技术的发展,利用转染技术制成的成纤维细胞已经问世,转染后的细胞分泌生长因子的能力增加,可以更有效地发挥修复作用。但转基因产品的安全性仍然需要进一步探讨,其临床应用受到一定的限制^[23]。成纤维细胞的体外培养方式主要是立体培养,这种方式最接近其载体的生长环境。Huang 等^[24]发现,采用三维支架培养成纤维细胞可以提高其胶原和纤连蛋白的分泌,加速皮肤再生。

1.3 人黑色素细胞

人黑色素细胞是神经嵴衍生细胞,其位于表皮基底层角质形成细胞之间,黑色素细胞与其相邻的约 36 个角质细胞紧密配合,向他们输送黑色素颗粒形成表皮黑色素单元,黑色素颗粒在角质形成细胞内形成核帽,进而阻挡紫外线对皮肤的损伤^[25]。曹玉萍等^[26]用 HaCat 和黑色素细胞构建的组织工程皮肤中,显示黑色素细胞能够执行分泌黑色素颗粒的功能。

1.4 内皮细胞

内皮细胞是形成血管内壁的上皮细胞,与血管的生成密切相关。有学者发现,在皮肤移植后 48h 可观察到血管化现象^[27]。良好的血供是移植皮肤能够成活的基础,将内皮细胞种植于支架材料可以促进皮肤替代物的血管化。Kunz-Schughart 等^[28]将内皮细胞与成纤维细胞共同培养,可观察到毛细血管样的结构。但内皮细胞也有缺点,即增殖能力有限,培养周期较长,不适于急性创伤患者。

2 真皮替代物

真皮位于表皮和皮下组织之间,由胶原纤维、弹力纤维、网状纤维、基质和皮肤附属器构成,可以为皮肤提供机械保护和防御外伤等作用。目前其研究主要包括天然和人工合成的真皮替代物。

2.1 天然生物支架材料

主要有脱细胞真皮基质(ADM)和羊膜,其中 ADM 的研究较多,它是异体或异种皮肤经过化学手段进行脱细胞制备而成的真皮基质。ADM 具有完整的基底膜结构,可以促进表皮细胞、成纤维细胞和内皮细胞的增殖和分化,是理想的支架材料。Alloderm 是目前临床上应用较多的商品化 ADM,具有良好的应用前景^[29]。刘坡等^[30]检测了异体脱细胞真皮基质的组织相容性,结果显示其机械性与正常皮肤接近,组织相容性较好,免疫排斥反应较小。脱细胞异体真皮的缺点是来源有效、可能传播

病毒等^[31],异种真皮的缺点虽然来源方便,但存在免疫反应,也限制了其临床应用。

羊膜是胎盘的 inner 层组织,含有胶原蛋白、纤连蛋白和多糖等成份。脱细胞羊膜是将细胞成分去除后的组织,免疫反应较少,而且具有多种生长因子,利于细胞的生长繁殖^[32]。霍艳丽等^[33]发现,采用脱细胞羊膜修复大鼠皮肤缺损具有良好的效果,且可以增加 VEGF 的分泌,与小肠黏膜下层相比效果更强。

2.2 人工合成真皮支架

可作为真皮支架的高分子材料有尼龙网膜、多聚半乳糖网、聚乳酸和聚羟基乙酸等。成纤维细胞可以种植在这些支架上作为真皮类似物,在愈合过程中利于血管的生长,而且在真皮形成过程中可发生生物降解^[34]。

2.3 生物材料合成真皮支架

可以合成真皮支架的生物材料包括胶原蛋白、透明质酸、壳聚糖及其衍生物等。

胶原蛋白是细胞外基质的主要成份,可以促进细胞的粘附和生长,而且抗原性低,是合成组织工程支架的理想材料,目前以胶原蛋白合成的支架主要分为胶原凝胶和胶原海绵两种。Integra 是以牛 I 型胶原合成的真皮替代物,胶原与 6-硫酸软骨素交联形成内层,硅胶作为表层,在临床应用中取得了良好的效果^[35]。Yeong 等^[36]发现,Integra 用于烧伤患者操作方便且愈合后较美观。

透明质酸是一种酸性粘多糖,有润滑关节、调节血管通透性、改善皮肤代谢、促进创伤愈合等生理功能,而且具有良好的保湿作用。透明质酸作为支架材料具有亲和力好,瘢痕少等优点。研究发现,透明质酸可以调节机体的炎症反应,改善细胞外基质的随性,利于成纤维细胞的增殖和分化^[37]。

壳聚糖是几丁质脱乙酰后得到的多糖,具有两好的生物相容性、抗菌性和吸附性。单纯壳聚糖具有脆性大、韧性差,不容易降解,亲和力低等缺点^[38],因此壳聚糖及其衍生物的应用主要是于其他材料联合使用,尤其是胶原。

2.4 活性真皮支架

真皮支架中加入成纤维细胞即活性真皮支架,成纤维细胞可以加速毛细血管的形成,促进表皮细胞的生长和分化,增加真皮支架的成活率。活性真皮替代物的代表产品是 Dermagraft,是采用新生儿包皮成纤维细胞种植于聚乳酸纤维支架材料进行培养的,成纤维细胞分泌的细胞外基质逐渐形成真皮^[39]。研究发现,Dermagraft 具有较高的生物活性,植入创面后,成纤维细胞和内皮细胞增殖快,且具有良好的抗感染能力^[40]。

3 活性复合皮肤

皮肤再生过程中,角质细胞和成纤维细胞共同作用,可以加快皮肤创面的愈合,而且真皮对表皮的生长和成熟具有促进作用。因此,同时修复表皮和真皮能更快的促进皮肤的修复。Apligraf 是第一种商品化的复合皮肤,是新生儿包皮成纤维细胞和表皮细胞接种于牛肌腱培养而成^[41]。研究发现,Apligraf 用于创面修复疗效较好,免疫反应较少,而且可以产生生长因子。国内学者高学军等^[42]采用在胶原海绵支架上培养成纤维细胞和角质形成细胞,可观察到与正常皮肤类似的表皮和真皮结构。秦瑞峰等^[43]发现,组织工程复合皮肤用于医源性皮肤缺损的修复可以缩短创面愈合时间,提高愈合质量,且无明显排斥

反应。

4 展望

目前组织工程皮肤的研究取得了丰硕的成果,新的种子细胞和支架材料逐渐成熟并应用于临床。复合皮肤是在种子细胞和真皮替代物基础上发展起来的,能更快速的促进缺损皮肤的愈合。尽管如此,复合皮肤并不能算真正意义上的皮肤。因为机体皮肤的结构和功能并不是简单的几种细胞和支架材料复合物,而是一个具有多种功能的活性组织。未来的组织工程皮肤应该着眼于尽可能地模仿机体皮肤的生理结构和功能,如汗腺、皮脂腺等皮肤附属器及黑色素细胞等,使愈合后的皮肤与在体皮肤融为一体。

参考文献(References)

- [1] 《中国组织工程研究与临床康复》杂志社学术部. 组织工程皮肤研究的临床应用:表皮与支架材料及其他[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(2): 306-308
Academic department of china tissue engineering research and clinical rehabilitation magazine. Study of the clinical application of tissue-engineered skin:epidermal scaffold materials and others[J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2010, 14(2): 306-308
- [2] Fuchs E. The Impact of Cell Culture on Stem Cell Research [J]. Cell Stem Cell, 2012, 10(6): 640-641
- [3] Shamis Y, Hewitt KJ, Carlson MW, et al. Fibroblasts derived from human embryonic stem cells direct development and repair of 3D human skin equivalents[J]. Stem Cell Res Ther, 2011, 2(1): 10
- [4] Vatansever HS, Uluer ET, Aydede H, et al. Analysis of transferred keratinocyte-like cells derived from mouse embryonic stem cells on experimental surgical skin wounds of mouse [J]. Acta Histochem, 2012, [Epub ahead of print]
- [5] 刘爱军, 黄锦桃, 李海标. 胚胎干细胞源性表皮干细胞对小鼠全层皮肤缺损的修复[J]. 解剖学报, 2007, 38(3): 296-299
Liu Aijun, Huang Jintao, Li Haibiao. Es cell-derived epidermal stem cells for treatment of mice full thickness skin defects [J]. Acta Anatomica Sinica, 2007, 38(3): 296-299
- [6] 赖麒, 熊爱兵. 表皮干细胞的生物学特性及应用 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(36): 6813-6816
Lai Qi, Xiong Aibing. Biological characteristics and application of epidermal stem cells [J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2011, 15(36): 6813-6816
- [7] Zhang CP, Fu XB. Therapeutic potential of stem cells in skin repair and regeneration[J]. Chin J Traumatol, 2008, 11(4): 209-221
- [8] 费阳, 张翠萍, 付小兵. 不同来源的表皮干细胞促进皮肤创面愈合的研究[J]. 中华实验外科杂志, 2011, 28(2): 215-218
Fei Yang, Zhang Cui-ping, Fu Xiao-bing. Differently derived epithelial stem cells in healing of epidermal wound [J]. Chin Exp Surg, 2011, 28(2): 215-218
- [9] 张彦刚, 胡大海, 张战凤, 等. 人表皮干细胞改良培养及其组织工程皮肤的构建[J]. 中国美容医学, 2011, 20(1): 79-82
Zhang Yan-gang, Hu Da-hai, Zhang Zhan-feng, et al. Improved culture method of Human epidermal stem cell and tissue engineering skin construction[J]. Chinese Journal of Aesthetic Medicine, 2011, 20(1): 79-82
- [10] Fujiwara H, Ferreira M, Donati G, et al. The basement membrane of

- hair follicle stem cells is a muscle cell niche [J]. *Cell*, 2011, 144(4): 577-589
- [11] Jiang S, Zhao L, Teklemariam T, et al. Small cutaneous wounds induce telogen to anagen transition of murine hair follicle stem cells[J]. *J Dermatol Sci*, 2010, 60(3): 143-150
- [12] 张群, 杨光辉, 丛笑倩, 等. 毛囊干细胞表皮膜片修复裸鼠皮肤缺损的实验研究[J]. *组织工程与重建外科杂志*, 2009, 5(2): 79-82
Zhang Qun, Yang Guang-hui, Cong Xiao-qian, et al. An Experimental study of human hair follicle stem cells-chitosan-gelatin membrane for repairing the skin defect of nude mouse [J]. *Journal of Tissue Engineering and Reconstructive Surgery*, 2009, 5(2): 79-82
- [13] Qi SH, Liu P, Xie JL, et al. Experimental study on repairing of nude mice skin defects with composite skin consisting of xenogeneic dermis and epidermal stem cells and hair follicle dermal papilla cells[J]. *Burns*, 2008, 34(3): 385-392
- [14] Ha XQ, Lü TD, Hui L, et al. Effects of mesenchymal stem cells transfected with human hepatocyte growth factor gene on healing of burn wounds[J]. *Chin J Traumatol*, 2010, 13(6): 349-355
- [15] Jackson WM, Nesti LJ, Tuan RS. Potential therapeutic applications of muscle-derived mesenchymal stem and progenitor cells [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2010, 10(4): 505-517
- [16] 王少云, 吴迪, 张丽, 等. 骨髓间充质干细胞复合小肠黏膜下层构建组织工程皮肤修复糖尿病皮肤缺损 [J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(3): 443-448
Wang Shaoyun, Wu Di, Zhang Li, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells combined with small intestinal submucosa to construct tissue-engineered skin for repair of diabetes mellitus induced full-thickness skin defects[J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2012, 16(3): 443-448
- [17] Pilgaard L, Lund P, Duroux M, et al. Effect of oxygen concentration, culture format and donor variability on in vitro chondrogenesis of human adipose tissue-derived stem cells [J]. *Regen Med*, 2009, 4(4): 539-548
- [18] 鞠晓军, 潘锋, 柏树令, 等. 人脱细胞羊膜复合脂肪源性干细胞修复大鼠全层皮肤缺损的实验研究 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2010, 24(2): 143-149
Ju Xiao-jun, Pan Feng, Bai Shu-ling, et al. An Experimental Study on Repairing Full-thickness Skin Wound By Human Acellular Amniotic Membrane Loaded with Adipose-derived Stem Cells in Rats[J]. *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery*, 2010, 24(2): 143-149
- [19] 吕璐璐, 宋永平, 魏旭东, 等. 人脐带和骨髓源间充质干细胞生物学特征的对比研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2008, 16(1): 140-146
Lv Lu-lu, Song Yong-ping, Wei Xu-dong, et al. Comparative Characterization of Mesenchymal Stem Cells from Human Umbilical Cord Tissue and Bone Marrow [J]. *Journal of Experimental Hematology*, 2008, 16(1): 140-146
- [20] 刘柳, 李武德, 蔡国斌. 人胚胎成纤维细胞作为组织工程皮肤种子细胞的可行性研究[J]. *中国美容医学*, 2011, 20(4): 605-608
Liu Liu, Li Wu-de, Cai Guo-bin. Investigation on feasibility of constructing engineered skin substitutes with human embryonic fibroblasts [J]. *Chinese Journal of Aesthetic Medicine*, 2011, 20(4): 605-608
- [21] Carre AL, James AW, MacLeod L, et al. Interaction of wingless protein (Wnt), transforming growth factor-beta1, and hyaluronan production in fetal and postnatal fibroblasts [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2010, 125(1): 74-88
- [22] 刘柳, 李武德, 蔡国斌. 含鼠胚胎成纤维细胞的组织工程皮肤体外构建及大鼠移植研究[J]. *中华整形外科杂志*, 2011, 27(4): 284-289
Liu Liu, Li Wu-de, Cai Guo-bin. Construction and transplantation of tissue-engineered skin with mouse embryonic fibroblasts in SD mice [J]. *Chin J Plast Surg*, 2011, 27(4): 284-289
- [23] Groeber F, Holeiter M, Hampel M, et al. Skin tissue engineering--in vivo and in vitro applications[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011, 63(4-5): 352-366
- [24] Huang WY, Yeh CL, Lin JH, et al. Development of fibroblast culture in three-dimensional activated carbon fiber-based scaffold for wound healing[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2012, 23(6): 1465-1478
- [25] Lugovic L, Sium M, Ozanie-Bulic S, et al. Phototoxic and photoallergic skin reactions[J]. *Coll Antropol*, 2007, 31, 63-67
- [26] 曹玉萍, 周武庆, 马鹏程, 等. 用 HaCaT 细胞和正常人黑素细胞构建组织工程皮肤[J]. *毒理学杂志*, 2009, 23(5): 341-344
Cao Yu-ping, Zhou Wu-qing, Ma Peng-cheng. Reconstruction of tissue engineered skin with HaCaT cells and melanocytes in vitro [J]. *Journal of Toxicology*, 2009, 23(5): 341-344
- [27] O'Ceallaigh S, Herrick SE, Bluff JE, et al. Quantification of total and perfused blood vessels in murine skin autografts using a fluorescent double-labeling technique [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2006, 117(1): 140-151
- [28] Kunz-Schughart LA, Schroeder JA, Wondrak M, et al. Potential of fibroblasts to regulate the formation of three-dimensional vessel-like structures from endothelial cells in vitro[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006, 290(5): C1385-C1398
- [29] Salzberg CA, Ashikari AY, Koch RM, et al. An 8-year experience of direct-to-implant immediate breast reconstruction using human acellular dermal matrix (AlloDerm)[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2011, 127(2): 514-524
- [30] 刘坡, 祁少海, 舒斌, 等. 异体脱细胞真皮基质作为组织工程皮肤真皮支架的可行性[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(21): 3864-3868
Liu Po, Qi Shao-hai, Shu Bin, et al. Feasibility of acellular dermal matrix as a dermal substitute in tissue engineering[J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2012, 16(21): 3864-3868
- [31] Prasertsung I, Kanokpanont S, Bunaprasert T, et al. Development of acellular dermis from porcine skin using periodic pressurized technique[J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2008, 85(1): 210-219
- [32] Jin CZ, Park SR, Choi BH, et al. Human amniotic membrane as a delivery matrix for articular cartilage repair[J]. *Tissue Eng*, 2007, 13(4): 693-702
- [33] 霍艳丽, 马洁华, 柏树令, 等. 脱细胞羊膜与小肠黏膜下层促进大鼠皮肤缺损修复和血管形成 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2011, 20(2): 176-181
Huo Yan-li, Ma Jie-hua, Bai Shu-ling, et al. Acellular amniotic membrane and small intestinal submucosa promote skin repair and vascularization in rats [J]. *Chinese Journal of Histochemistry And Cytochemistry*, 2011, 20(2): 176-181
- [34] Shikiji T, Minami M, Inoue T, et al. Keratinocytes can differentiate into eccrine sweat ducts in vitro: involvement of epidermal growth factor and fetal bovine serum [J]. *J Dermatol Sci*, 2003, 33(3): 141-150
- [35] JJ Jung, AS Woo, GH Borschel. The use of Integra bilaminar dermal regeneration template in apert syndactyly reconstruction: A novel al-

- ternative to simplify care and improve outcomes [J]. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2012, 65(1): 118-121
- [36] Yeong EK, Huang HF, Chen YB, et al. The use of artificial dermis for reconstruction of full thickness scalp burn involving the calvaria[J]. Burns, 2006, 32(3): 375-379
- [37] Jokela TA, Lindgren A, Rilla K, et al. Induction of hyaluronan cables and monocyte adherence in epidermal keratinocytes [J]. Connect Tissue Res, 2008, 49(3): 115-119
- [38] Wang C, Lau TT, Loh WL, et al. Cytocompatibility study of a natural biomaterial crosslinker-Genipin with therapeutic model cells [J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2011, 97(1): 58-65
- [39] Charles E, Hart, Andrea Loewen-Rodriguez, et al. Dermagraft: Use in the Treatment of Chronic Wounds [J]. Advances in Wound Care, 2012, 1(3): 138-141
- [40] Bhattarai SR, Bhattarai N, Yi HK, et al. Novel biodegradable electro-spun membrane: scaffold for tissue engineering [J]. Biomaterials, 2004, 25(13): 2595-2602
- [41] Anne Ouellette, Melissa Diamond, Anna-Lena Makowski. Outcomes of Using Bioengineered Skin Substitute (Apligraf®) for Wound Coverage in Dupuytren's Surgery[M]. 2012, 373-378
- [42] 高学军, 蔡霞, 孙文娟, 等. 应用胶原海绵构建组织工程皮肤的实验研究[J]. 解剖科学进展, 2005, 11(4): 321-323
Gao Xue-jun, Cai Xia, Sun Wen-juan, et al. Experimental Study of the Reconstruction of Tissue-Engineered Skin by Collagen-Sponge[J]. Progress of Anatomical Sciences, 2005, 11(4): 321-323
- [43] 秦瑞峰, 聂鑫, 张勇杰, 等. 组织工程复合皮肤应用于皮肤缺损创面的临床疗效观察[J]. 现代生物医学进展, 2007, 7(12): 1840-1843
Qin Rui-feng, Nie Xin, Zhang Yong-jie, et al. Clinical effect assessment of tissue-engineered composite skin on the donor site defect Wound[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2007, 7(12): 1840-1843

(上接第 1166 页)

- [10] 侯俊杰. 深入浅出 MFC 第 2 版. 武汉: 华中科技大学出版社, 1997: 87-165
Hou Jun-jie. Dissecting MFC 2nd Edition. Wu Han: Huazhong University of Science and Technology Press(In Chinese), 1997: 87-165
- [11] 王继奎, 赵捷, 唐文涛, 等. 基于 Visual c++ 的 MIT-BIH 心电数据管理系统的设计[J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(10): 1953-1955
Wang Ji-kui, Zhao Jie, Tang Wen-tao, et al. Design of MIT-BIH ECG Data Management System Based on Visual c++ [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2009, 9(10): 1953-1955
- [12] 孙书鹰, 陈志佳, 寇超. 新一代嵌入式处理器 STM32F103 开发与应用[J]. 微计算机应用, 2010, (12): 59-63
Sun Shu-ying, Chen Zhi-jia, Kou Chao. The new generation of embedded processors STM32F103 development and application [J]. Microcomputer Applications, 2010, (12): 59-63
- [13] 曾恋, 王元钦, 杨文革. 多路高速信号采集、记录与回放系统设计[J]. 微计算机信息, 2004, (11): 56-57
Zeng Lian, Wang Yuan-qin, Yang wen-ge. Multi-channel high-speed signal acquisition, recording and playback system design [J]. Microcomputer Information, 2004, (11): 56-57
- [14] 钟文华, 王冬霞, 周航慈. 基于 ARM 的微弱生理信号采集系统[J]. 微计算机信息, 2008, (10-2): 138-139
Zhong Wen-hua, Wang Dong-xia, Zhou Hang-ci. The ARM-based weak physiological signal acquisition system [J]. Microcomputer Information, 2008, (10-2): 138-139
- [15] 陈东升, 王啸, 李宗方. 基于 STM32 的数据采集模块的设计及应用[J]. 仪器仪表学报, 2009, (10): 258-262
Chen Dong-sheng, Wang Xiao, Li Zong-fang. The design and application of data acquisition module based on the STM32. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2009, (10): 258-262
- [16] 蔡卫明, 韦云隆. 基于嵌入式系统的医学信号采集系统的开发[J]. 电子工程师, 2008, (4): 75-77
Cai Wei-ming, Wei Yun-long. The develop of Medical signal acquisition system based on embedded system [J]. Electronics Engineers, 2008, (4): 75-77
- [17] 李曼. 多通道高速数据采集电路设计[J]. 西安科技学院学报, 2006, (2): 144-147
Li Man. Multi-channel high-speed data acquisition circuit design[J]. Journal of Xi'an Institute of Science and Technology, 2006, (2): 144-147
- [18] 王煜. 适用于嵌入式应用的高速信号采集电路 [J]. 测试技术学报, 2005, (4): 372-376
Wang Yu. High-speed signal acquisition circuit for embedded applications [J]. Journal of Test and Measurement Technology, 2005, (4): 372-376
- [19] 杨耀, 漆婷, 庞小峰. 基于 USB 接口的多通道生理信号采集系统实现[J]. 仪器仪表与检测技术, 2006, (10): 51-53
Yang Yao, Qi Ting, Pang Xiao-feng. Multi-channel physiological signal acquisition system based on USB interface to achieve [J]. Instrumentation and detection technology, 2006, (10): 51-53
- [20] 孙高俊. 生物医学信号数据采集系统研究 [D]. 西安: 西北工业大学, 2003
Sun Gao-jun. Biomedical signal data acquisition system [D]. Xi'an: Northwestern Polytechnical University, 2003