

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.05.052

骨髓间充质干细胞在脱细胞真皮基质再生过程中的初步研究

薛松¹ 刘昶^{1△} 纪艳超¹ 万会魁² 崔磊¹ 姜龙¹

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院 黑龙江 哈尔滨 150001; 2 新泰市人民医院 山东 新泰 271200)

摘要:较大的腹壁缺损需要应用补片修复来缓解腹横筋膜的张力,人工合成补片的应用一定程度上实现了无张力修补的目的,但它在腹壁外科应用中有诸多的并发症,诸如复发率高,腹腔粘连,肠穿孔导致腹膜炎,侵袭性肠瘘等影响患者术后的正常生活,而脱细胞真皮基质(Acellular dermal matrix, ADM)作为一种新型的生物材料应用在腹壁外科中能解决上述人工合成补片所带来的并发症发挥强大作用且能与周围组织较好的融合,最后改建成宿主自身组织已并在多学科领域中广泛应用;骨髓间充质干细胞(Bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)能参与组织自我修复,并能分化成为多种功能细胞,分泌各种生长因子,在 ADM 内源性转归过程中可发挥作用。本文就对骨髓间充质干细胞在 ADM 生物补片应用于临床疝修补术中转归机制的研究做一综述。

关键词:骨髓间充质干细胞;脱细胞真皮基质

中图分类号:R318.08 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)05-998-03

The Preliminary Study of Regeneration Process in Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells on Acellular Dermal Matrix

XUE Song¹, LIU Chang^{1△}, JI Yan-chao¹, WAN Hui-kui², CUI Lei¹, JIANG Long¹

(1 The fourth affiliated hospital of Harbin medical university, Harbin, Heilongjiang, 150001, China;

2 The people's hospital of Xintai, Xintai, Shandong, 271200, China)

ABSTRACT: To repair larger abdominal wall defects, there is need to use man-made patches of synthesis. Because, to some extent, their application can help reach the purpose of tensionless. The man-made patches of synthesis have many complications used in Abdominal wall surgery, such as high rate of relapse, intraperitoneal adhesion led to peritonitis, and invasive intestinal fistula, which affect the postoperative patients with normal life, but Acellular dermal matrix as a new kind of biological materials, can help solve those problems and can integrate with the organization well instead of man-made patches, even though in many different disciplines. Bone marrow mesenchymal stem cells play an important role in participating tissue repair, secreting multiple cell growth factors. This review describes the preliminary study of the process of regeneration in Bone marrow mesenchymal stem cells on Acellular dermal matrix.

Key words: Acellular dermal matrix; Bone marrow mesenchymal stem cells

Chinese Library Classification(CLC): R318.08 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)05-998-03

前言

腹壁切口疝的治疗经历了单纯缝合修补以及补片应用的无张力修补,人工合成补片在无张力疝修补术中的应用相较单纯修补术虽然能降低疝的复发率,但术后并发症的问题依然没有很好地解决,而且还伴有明显上升的趋势,诸如腹腔粘连,肠穿孔导致腹膜炎,侵袭性肠瘘,特别是术后患者的不适感等^[1,2],这些都影响了患者术后远期的生活质量。随着现代腹壁外科学、生物材料学以及组织工程学的发展,现已研制出脱细胞真皮基质(Acellular dermal matrix, ADM)这种生物材料替代人工合成的不被人体所吸收降解的高分子化学材料,它能明显降低腹壁疝修补术后的高复发率和其他并发症,并且随着时间的推移能重新改建成宿主自身组织,甚至比原有组织拥有更大的张力强度,提高患者适应能力和远期生活质量,并应用于临床多种

学科且逐渐凸显其优势^[3]。下面是对骨髓间充质干细胞在 ADM 生物补片应用于临床疝修补术中转归机制的研究。

1 ADM 生物材料的制备及作用机制

脱细胞真皮基质(Acellular dermal matrix, ADM)主要来源于人或者猪的皮肤,由此分为同种异体与异种异体脱细胞真皮基质,而且都是在组织工程学基础上,通过物理和化学等方法分离表皮和真皮,脱去真皮组织中易诱导免疫排斥反应的细胞成分,保留其胶原蛋白的网架结构、基底膜等细胞外基质成分,形成“细胞支架”^[4,5],提供给宿主细胞诱导、迁徙、粘附、定植和再生的一个良好三维空间。由于在 ADM 早期的制备过程中不能完全去除真皮组织中的细胞成分造成移植后多发生移植排斥反应,但随着组织工程学和材料学的发展,真皮组织中的细胞成分及皮肤的各种附属器官比如:毛囊,皮脂腺,汗腺等细胞成分都能完全去除。现在临床应用的 ADM 的制备方法都是通过使真皮组织内细胞的溶解,保留其内部的胶原和弹性纤维等细胞外基质成分。因为 ADM 在制备过程中保留了皮肤原有外观和内部组织结构但完全去除了真皮组织中的细胞成分,灭活了 I、II 型细胞相容性抗原的免疫原性,因此 ADM 才

作者简介:薛松(1984-),男,医学硕士,主要研究方向:腹壁外科,腹腔镜外科, E-mail: 75706588@qq.com

△通讯作者:刘昶,教授,硕士生导师

(收稿日期:2014-07-15 接受日期:2014-08-11)

在异体移植过程中不会产生免疫排斥反应^[6]。ADM 在宿主体内的功能性再生是动态平衡的,ADM 在宿主体内不断吸收降解的同时由于保留了原有皮肤中胶原蛋白结构完整性,为宿主细胞再生提供了良好的支架结构;保留了基底膜,形成基底膜复合体有利于细胞 ADM 内快速血管化和上皮化,形成新生血管;保留了细胞外基质成分也可使宿主细胞快速定植、增生,这些使 ADM 有良好的组织相容性最终改建成为宿主自身的组织^[7]。ADM 在植入宿主体内后易于成活,因其能迅速血管化,分泌多种细胞因子所以抗感染能力较强;它在修复的同时稳定性也较明显。Sclafani 等观察发现脱细胞真皮基质在移植到宿主体内半年后不再有明显的量的变化^[8,9]。

2 ADM 补片的应用优势及体内转归机制

ADM 作为一种新型发展的优良生物材料应用于腹壁切口疝中与人工合成材料相比具有诸多优点。(1) 低免疫原性:ADM 在制备过程中去除了真皮组织中所有细胞器成分,灭活了 MHC I、II 型细胞相容性抗原的免疫原性,在移植后不会发生免疫排斥反应,易于周围组织融合,在宿主体内改建新生;(2)高度的抗感染能力:ADM 在移植入宿主体内后,形成大量新生血管,分泌多种细胞因子在周围形成屏障作用,抑制病理性增生和感染,使周围组织和 ADM 完成程序性自我修复,不断融合,建立初始的、完整的解剖层次,完成组织重建^[10];(3)自身组织修复:ADM 在宿主体内不断地降解与改建成为周围组织,其修复不同于瘢痕修复,不会形成瘢痕疙瘩造成创面回缩,融合性强,能广泛的应用到烧伤外科和整形外科;(4)提高组织张力:据文献报道,ADM 在移植宿主体内后,抗张强度比移植前提高,且在 ADM 与周围组织结合处的抗张强度最大,明显强于高分子化合物材料^[11,12];(5)方便剪裁:ADM 在保留了皮肤原有的弹性纤维和胶原蛋白的同时也保留了皮肤原有的柔韧度,可以根据皮肤缺损的面积大小,组织创伤缺损的严重程度,神经和肌腱损伤程度等选择不同的脱细胞真皮基质进行适宜的剪裁应用;(6)ADM 能与周围组织较好的融合,诱导细胞进入 ADM 支架,使其重新改建再生为自身组织,无不良反应,应用前景广泛^[13]。除了在腹壁切口疝中的应用外,ADM 作为一种生物材料相比人工合成材料因其优良的生物学特性、人体较强的适应性和较少的并发症,尤其在组织缺损、修复、再生方面的明显优势在外科领域已得到广泛应用。

脱细胞真皮基质作为一种生物材料虽然因其优良的生物学特性在多学科领域得到广泛应用,但 ADM 补片在体内如何启动内源性再生及内源性再生的调控机制尚不清楚。骨髓间充质干细胞(Bone marrow mesenchymal stem cells,BMSCs)是起源于中胚层,在基质系统中具有定向分化潜力,自我分化能力,增值速率快,能在组织自我修复中发挥强大作用的一类细胞群体^[14-16]。BMSCs 在不同的条件下可诱导成为不同的组织细胞,比如骨组织,平滑肌细胞,脂肪细胞,肌肉组织,肌腱,神经细胞,心肌细胞等^[17]。BMSCs 在移植入 ADM 内部可发挥作用使其能够完成再生改建,达到组织修复的目的。

3 骨髓间充质干细胞的分类与生物学特性

骨髓间充质干细胞 (Bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 根据来源不同分为胚胎干细胞 (embryonic stem cell,

ESCs)和成体干细胞 (Adult stem cell,AS)。胚胎干细胞(ESCs)是指起源于早期胚胎未分化组织中,因在未分化状态下所以能长期进行自我增殖和更新^[18,19]。最大的特点是全能性发育,能在不同条件下诱导分化成动物体所有组织和器官,甚至生殖细胞等。成体干细胞 (AS)与胚胎干细胞的不同在于来源于已分化的组织和器官,但仍处于未分化状态。成体干细胞一般在体内处于休眠静止状态,在特定诱导条件下,AS 一边更新成新的细胞,同时程序性的分化成新的功能细胞,从而维持组织和器官生长与衰退的动态平衡且可塑性较强。目前临床研究与治疗当中最常用的就是 AS,主要原因有:(1)虽然 ESCs 能够全能性发育且同样具备多向分化的潜能,但由于个体的主要组织相容性复合体(MHC)不同,在异种或者异体移植时受体会出现免疫排斥反应。而 AS 可以从患者体内提取,自身移植避免了免疫排斥反应的出现;(2)ESCs 在特定诱导条件下进行分化时进行"非定位定性分化",即很难控制 ESCs 在指定部位分化成为要诱导形成的细胞,易导致形成畸胎瘤,而 AS 在特定条件诱导下遵循"定位定性分化",不会产生上述问题;(3)AS 来源广泛,可以从脂肪、表皮、脾脏、骨髓中分离提取,取材的便捷有利于自体移植;具有高效的分化潜能,较强的可塑性,高度的增殖能力。ESCs 虽同样具有分化潜能,但分化的效率和增殖能力较 AS 低。目前 AS 已应用于心肌、神经退行性病变、骨骼、肝脏、血液系统等疾病的治疗当中^[20,21]。

4 骨髓间充质干细胞与脱细胞真皮基质的共同研究

骨髓间充质干细胞因具有分化潜能,能在特定诱导环境下增殖为多种细胞参与并且加速组织的修复重建。在机体损伤产生炎症反应时骨髓间充质干细胞能快速达到损伤部位,进行多向分化并分泌多种生长因子,共同促进组织损伤的修复^[22]。而 ADM 是保留胶原蛋白的网架结构、基底膜等细胞外基质成分的三维立体"细胞支架",在机体产生炎症反应的同时能诱导骨髓间充质干细胞向脱细胞真皮基质内迁徙,并在"支架"内牢固的粘附定植和分化为其他细胞,分泌多种细胞因子参与组织修复。当骨髓间充质干细胞在脱细胞真皮基质内分化为血管内皮细胞后,能快速血管化,在周围形成屏障作用,抑制病理性增生和感染,使周围组织和 ADM 完成程序性自我修复,不断融合,建立初始的、完整的解剖层次,完成组织重建^[23];分化为成纤维细胞后,能分泌多种纤维连接蛋白、胶原蛋白、成纤维细胞还可分泌成纤维细胞生长因子 (Fibroblast growth factor, FGF)、血小板源生长因子(Platelet-derived growth factor, PDGF)、表皮生长因子(Epidermal growth factor, EGF)和 VEGF 等多种生长因子,在脱细胞真皮基质改建中有明显促血管化作用^[24,25]等等。最重要的是骨髓间充质干细胞在脱细胞真皮基质内分化为其他细胞的同时也在使脱细胞真皮基质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,为机体较大缺损的修复提供生物材料。

5 展望

随着组织工程学、生物材料学以及医学的飞速发展,单一的脱细胞真皮基质已经无法满足当代的需要,可调控性复合型脱细胞真皮基质的研究也已取得了较大的进展,目前应用领域也比较广泛,比如神经、肌腱的再生,皮肤缺损的修复,牙周病

学,腹壁外科学等多种学科。随着人们对骨髓间充质干细胞和脱细胞真皮基质在体内功能性、特异性转归基质的研究,构建一种可调控性的复合型脱细胞真皮基质已成为可能,更能加强医生对于疾病恢复过程的控制,有助于患者的痊愈,适应医学发展的需要。

参考文献(References)

- [1] 蒋军,周济春,张喜平,等.切口疝诊治研究概况[J].现代实用医学, 2010,(10): 1197-1199
Jiang Jun, Zhou Ji-chun, Zhang Xi-ping, et al. Research the diagnosis and treatment of incision hernia[J]. Modern Practical Medicine, 2010, (10): 1197-1199
- [2] 李基业.切口疝缝合修补和补片修补的术后复发[J].中国实用外科杂志,2008,(12):1015-1017
Li Ji-ye. The postoperative recurrence of incision hernia repair and patch repair [J]. Chinese Journal of Practical Surgery, 2008, (12): 1015-1017
- [3] 李世宽. 无网片腹壁重建 [J]. 中华疝和腹壁外科杂志 (电子版), 2010,4(1):52-55
Li Shi-kuan. No mesh reconstruction of abdominal wall [J]. Chin J Hernia Abdominal Wall Surg (ElectronicEdition), 2010,4(1):52-55
- [4] Wainwright DJ. Use of an acellular allograft dermal matrix (Allo-Derm) in the management of full-thickness burns [J]. Burns, 1995, 21 (4):243-248
- [5] Wainwright DJ, Madden M, Luterman A, et al. Clinical evaluation of an acellular allograft dermal matrix in full-thickness burns [J]. Tissue Eng, 2003, 9(1):163-164
- [6] Zhang J, Wang GY, Xiao YP, et al. The biomechanical behavior and host response to porcine-derived small intestine submucosa, pericardium and dermal matrix acellular grafts in a rat abdominal defect model[J]. Biomaterials, 2011, 32(29): 7086-7095
- [7] 刘昶,纪艳超.脱细胞真皮基质补片在疝外科领域中的应用[J].国际外科学杂志,2009,36(12):860-863
Liu Chang, Ji Yan-chao. The use of Acellular dermal matrix in hernia surgery[J]. International Journal of Surgery, 2009,36(12):860-863
- [8] Zhou J, Olson BL, Windsor LJ. Nicotine increases the collagen degrading ability of human gingival fibroblasts[J]. J Periodont Res, 2007,42 (3):228-235
- [9] Clayman MA, Clayman LZ. Use of Allo Derm as a barrier to treat chronic Frey's syndrome [J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2001,124 (6):687
- [10] Choe JM, Kothandapani R, James L, et al. Autologous, cadaveric, and synthetic materials used in sling surgery: comparative biomechanical analysis [J]. Urology, 2001, 58(3):482-486
- [11] Silverman RP, Li EN, Holton LH 3rd, et al. Ventral hernia repair using allogenic acellular dermal matrix in a swine model [J]. Hernia, 2004, 8:336-342
- [12] 陈欣,副岛一孝,野崎幹弘,等.成纤维细胞移植促进人工真皮内血管新生的研究[J].中国修复重建外科杂志,2004,18(3):205-208
Chen Xin, Vice island a filial piety, Nozaki Hiro, et al. The research of promote angiogenesis in human dermal fibroblast transplantation [J]. Chinese Journal of Reparaactive and Reconstructive Surgery, 2004,18(3):205-208
- [13] 马雪峰,朱肖奇.骨髓间充质干细胞的成骨研究进展[J].中国现代医药杂志, 2008,10(3):133-135
Ma Xue-feng, Zhu Xiao-qi. The research of progress and development on bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Modern Medicine Journal of China, 2008,10(3):133-135
- [14] Ai GP, Shu YP, Yan GH, et al. Effects of wound microenvironment on transplanted mesenchymal stem cells derived from bone marrow [J]. Acta academiae medicine militaris tertiae, 2003,25(13):1134-1136
- [15] 杨柳,段小军.骨组织工程学中种子细胞研究的前沿问题[J].中国临床康复, 2002,6(4) :522-523
Yang Liu, Duan Xiao-jun. The forefront of seed cells in bone tissue engineering research [J]. Chinese Journal of Clinical Rehabilitation, 2002,6(4) :522-523
- [16] Kelly KA, Gimble JM 1,25-Dihydroxy vitamin D3 inhibits adipocyte differentiation and gene expression in marine bone marrow stromal cell clones and primary cultures [J]. Endocrinology, 1998,139 (5) 2622-2628
- [17] 杨超,习佳飞,岳文.胚胎干细胞向造血干细胞/祖细胞的定向诱导分化的研究[J].生物化学与生物物理进展, 2009,36(7):797-802
Yang Chao, Xi Jia-fei, Yue Wen. The research of embryonic stem cells to the directional differentiation of hematopoietic stem cell and progenitor cell [J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2009,36 (7):797-802
- [18] Daley G Q, Scandden D T. Propects for stem cell-based therapy[J]. Cell, 2008,132(4):544-548
- [19] 习佳飞,王韞房,裴雪涛.成体干细胞及其在再生医学中的作用[J].生命科学,2006,18(4):328-332
Xi Jia-fei, Wang Yun-fang, Pei Xue-tao. The role of adult stem cells in regenerative medicine[J]. Chinese bulletin of life sciences, 2006,18 (4):328-332
- [20] Slack J M. Stem cells in epithelial tissues[J]. Science, 2000,287(5457): 1431-1433
- [21] 潘新宇,崔颖,马林祥.骨髓间充质干细胞的研究进展及临床应用前景[J].中国医学工程,2011,19(5):173-176
Pan Xin-yu, Cui Yin, Ma Lin-xiang. The research of bone marrow mesenchymal stem cells and the clinical application prospects [J]. China Medical Engineering, 2011,19(5):173-176
- [22] Li D, Fang Y, Wang P, et al. Autologous transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells attenuates cerebral ischemia and reperfusion injury through suppressing apoptosis and inducible nitric oxide synthase[J]. Int J Mol Med, 2012, 29(5): 848-854
- [23] Silverman RP, Li EN, Holton LH, et al. Ventral hernia repair using allogenic acellular dermal matrix in a swine model [J]. Hernia, 2004, 8(4):336-342
- [24] 刘德伍,刘德明.组织工程化人工皮肤的构建与应用[J].国外医学(生物医学工程分册),2003,26(2):76-80
Liu De-wu, Liu De-ming. Construction and application of tissue engineering artificial skin [J]. Foreign Medicine Health Economics, 2003,26(2):76-80
- [25] Wei PC, Laurell L, Lingen MW, et al. Acellular dermal matrix allografts to achieve increased attached gingiva.Part2. A histological comparative study[J]. Periodontology, 2002,73 (3):257-265