

· 基础研究 ·

一种改进型增生性瘢痕动物模型

李晓伟 刘宏亮 武继祥

【摘要】目的 对传统的增生性瘢痕动物模型进行改进,为增生性瘢痕发病机制的研究建立更实用的动物模型。**方法** 将 20 只裸鼠随机分成观察组和对照组,每组 10 只。观察组裸鼠背部皮下移植人全厚皮肤,皮片存活后用加热的铜柱造成深Ⅱ度烧伤;对照组裸鼠如同观察组移植人全厚皮片,但未予热烧伤,观察皮片存活、创面愈合与瘢痕增生情况。**结果** 观察组裸鼠存活 9 只,移植存活皮片与正常成人皮肤相比,无明显差异;烧伤后有 8 只可见明显、持续的瘢痕增生,其外观和组织学特点与人体增生性瘢痕相似,组织学观察可见丰富胶原纤维和炎症浸润。对照组存活 8 只,皮片干痂脱落后,有 6 只出现类似瘢痕样增生。**结论** 与以往模型相比,改进后模型的组织来源更可靠,皮片存活率及瘢痕复制率更高,建立周期更短,且瘢痕增生明显,可用于观察创面愈合至瘢痕形成的全过程,因此是一种较理想的研究增生性瘢痕的动物模型。

【关键词】 烧伤; 瘢痕; 模型; 动物

An improved animal model of hypertrophic scarring LI Xiao-wei, LIU Hong-liang, WU Ji-xiang. Department of Rehabilitation and Physical Therapy, The First Affiliated Hospital, Third Military Medical University of the Chinese PLA, Chongqing 400038, China

Corresponding author: LIU Hong-liang, Email: lhliang38@hotmail.com

【Abstract】Objective To improve the animal model of hypertrophic scars for studying their pathology. **Methods** Twenty nude mice were divided randomly into two groups of 10. In group one every mouse received a full thickness piece of human skin grafted into the subcutaneous tissue of their back. After the graft had survived 14d after transplantation, a burn was caused on the graft with a heated copper cylinder. The mice in the second group received the transplant but no burn. The status of the grafts and scars was observed, and histological examinations of the grafts were performed. **Results** Nine mice in group one survived, of which eight developed obvious and persistent hypertrophic scars after the burns. These were hard and rose above the surrounding skin. Eight nude mice survived in group two, of which only six developed hypertrophic scar analogues after transplantation. Histological examinations showed abundant collagen deposition and inflammatory infiltration in all scars. **Conclusion** The similarity, repeatability, certainty, and survival rate of this improved hypertrophic scar model are superior to those reported previously. This improved animal model can induce obvious and persistent scarring that can be used to observe the whole procedure of hypertrophic scarring, so it is a useful tool for studying hypertrophic scars.

【Key words】 Burns; Scarring; Animal models

创伤修复过程中出现的增生性瘢痕(hypertrophic scar, HS)不仅影响患者的外观,还可引起严重的功能障碍乃至残疾,其形成机制一直是烧(创)伤后康复研究的难点和重点,但长期以来,一直缺乏理想的瘢痕动物模型。传统的动物模型主要是直接将瘢痕组织移植至裸鼠背部,或移植人全厚皮片至裸鼠背部,烧伤致瘢痕形成,但存在移植物的存活率和瘢痕复制率不理想、可用于观察瘢痕形成的时间较短等问题。此外,杨东运等^[1]在采用后者建立动物模型时发现,移植组织自然脱落后亦可观察到类似瘢痕组织增生,并据此方法建立了新的模型,称之为类似瘢痕增生(analogue of hy-

pertrophic scar, AHS)动物模型。但该方法中 AHS 的组织来源值得商榷。为此,我们将传统动物模型中人全厚皮片移植的位置、烧伤的方法等进行了改进,并以最新报道的 AHS 动物模型作为对照,以期研究增生性瘢痕的发病机制提供更实用的动物模型。

材料与方法

一、动物及标本来源

4~6 周龄裸鼠 20 只,体重 20~25 g,雌雄不拘,由第三军医大学实验动物中心提供,为单纯 T 淋巴细胞缺陷(BALB/c)品系。人全厚皮来源于巨乳缩小术切除的正常皮肤,术前征得患者同意。

二、人全厚皮移植

将人全厚皮肤去除多余的皮下脂肪,修剪成 1.5 cm × 1.0 cm × 0.2 cm 的皮片备用。用速眠新注

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2009.05.001

基金项目:国家自然科学基金项目(30672214)

作者单位:400038 重庆,第三军医大学第一附属医院康复理疗科

通信作者:刘宏亮,Email: lhliang38@hotmail.com

射液(军事医学院兽医研究所)按 1~2 ml/kg 体重肌肉注射麻醉裸鼠。将裸鼠随机分为观察组和对照组,每组 10 只。在观察组裸鼠背部正中位置做 1.2 cm 切口,钝性分离皮下组织,将制备好的皮片真皮层向下植入裸鼠背部皮下间隙,切口间断缝合。对照组参考杨东运等^[1]的方法,首先剪除裸鼠背部全层皮肤约 1.5 cm × 1.0 cm,然后创面移植入人全厚皮片并加压包扎。2 组均于术后 10 d 拆线,留取移植皮片标本,同时剔除死鼠。

三、制作深Ⅱ度烧伤创面

移植后 14 d,将观察组裸鼠背部创口重新打开,暴露皮下移植表皮。将直径为 1.0 cm、重为 300 g 的铜柱一端磨平,置于酒精灯外焰 20 s,待铜柱顶端发红后,迅速不加外界压力置于裸鼠背部的移植皮片上 10 s,造成直径 1.0 cm 的圆形深Ⅱ度创面(经组织学切片证实)。创面暴露,自行愈合。

四、形态学观察

观察 2 组移植皮片大小、色泽及质地变化,记录观察组创面愈合后瘢痕增生及对照组皮片移植后的大体情况,根据瘢痕增生及持续情况,切取观察组烧伤前 1 d、烧伤后第 1,2,3 个月的瘢痕组织,对照组皮片移植后第 3,4,5,6 个月的组织标本,测量厚度并记录瘢痕增生持续时间。

五、组织学观察

切取观察组烧伤后第 1 个月,对照组皮片移植后第 3 个月的组织标本,经石蜡包埋、切片、苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色,光镜下观察增生瘢痕的组织学特点,并与人增生期瘢痕及正常人全厚皮片作比较。

结 果

一、裸鼠及移植物的存活情况

观察组裸鼠烧伤后死亡 1 只,其余 9 只裸鼠存活的移植皮片均与移植前无明显差别,于裸鼠背部皮下组织连接处可见血管植入,组织学切片显示其与正常成人皮肤组织无明显差别。对照组裸鼠拆线之前死亡 2 只,其余 8 只裸鼠背部的移植皮片于移植后 12 d 左右开始干痂,平均 40 d 脱落 1/2,73 d 全部脱落完。见图 1,2。

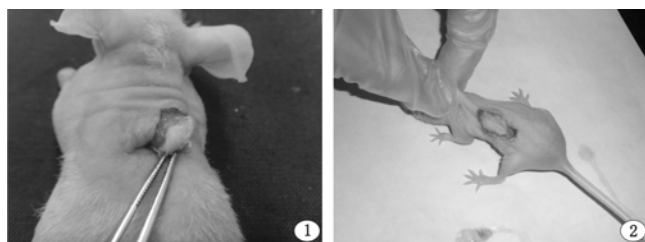


图 1 观察组移植皮片烧伤前

图 2 对照组皮片开始干痂脱落

二、增生瘢痕大体观察

观察组 9 只裸鼠烧伤后,有 8 只(88.9%)创面愈合后可见局部逐渐隆起,瘢痕增生明显,质硬且高于周围正常组织;烧伤后 2 个月左右增生达到高峰,最厚处达 0.50 cm,平均 0.36 cm;3 个月后瘢痕部分开始变软,并有不同程度的挛缩;但 6 个月后,大部分瘢痕仍明显高于皮面。对照组 8 只裸鼠移植皮片边缘开始脱落后,局部以瘢痕愈合,有 6 只(75.0%)背部创面逐渐隆起,高于周围正常组织,质地较硬,与人体增生性瘢痕组织类似;移植后 4 个月左右增生达到高峰,最高者达 0.51 cm,平均增生厚度为 0.32 cm;6 个月后部分瘢痕开始萎缩变软,并有不同程度的挛缩,但大部分瘢痕 8 个月后仍明显高于皮面。见图 3,4。



图 3 观察组烧伤致创后第 1 个月

图 4 对照组移植后第 3 个月

三、增生瘢痕组织学观察

观察组烧伤后 1 个月可见明显瘢痕组织增生,对照组移植后 3 个月也可见类似瘢痕样增生。其组织学上均表现为真皮层明显增厚,真皮乳头层、网状层界限不清,胶原纤维致密,胶原束排列紊乱,在真皮深层呈水平方向排列,浅层则呈结节或漩涡状分布,其间细胞成分及微血管增多,多见细胞核分裂。与人体增生期瘢痕相比,无明显区别。正常人全厚皮真皮乳头层和网状层界限较明显,胶原纤维排列疏松,细胞成分及血管数目少。见图 5-8。

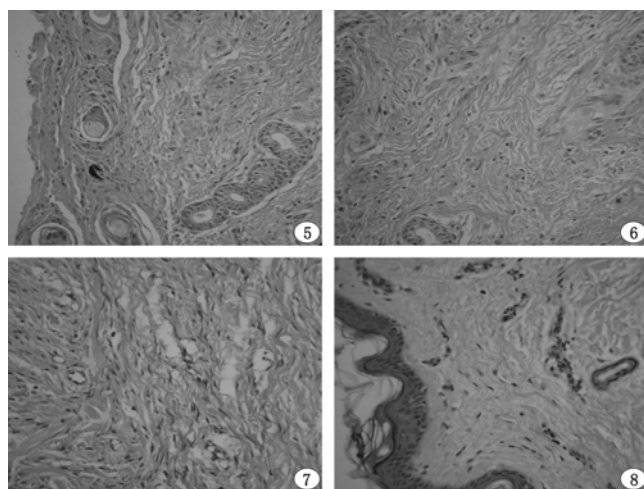


图 5 观察组烧伤后第 1 个月(HE 染色, ×400); 图 6 对照组移植后第 3 个月(HE 染色, ×400); 图 7 人体增生期瘢痕(HE 染色, ×400); 图 8 正常成人皮肤(HE 染色, ×400)

讨 论

动物创面自然愈合后不产生增生性瘢痕,因此,目前仍未能找到一种理想的增生性瘢痕动物模型。

当前应用的瘢痕动物模型可分为两类。一类是直接诱导实验动物产生类似瘢痕样增生,目前常见的模型有兔耳瘢痕模型^[2]、豚鼠瘢痕模型^[3]和红色的雌性杜洛克猪模型^[4]等,但鉴于其组织来源与人不同、瘢痕的复制率不高、重复报道不多等问题,目前较少应用于瘢痕的形成机制研究;另一类为异体移植模型,直接移植人瘢痕组织至裸鼠背部^[5],或将正常成人皮肤全厚皮片移植至实验动物,烧(创)伤诱导瘢痕的形成,如 1987 年 Robb 等^[6]的模型和 2004 年杨东运等^[7]的模型。但该类模型中移植成活皮片组织学特性是否与移植前相同,未见明确报道,且实验动物、移植皮片的存活率不高,移植后的皮片也容易出现坏死、干痂、脱落等情况,从而影响下一步的瘢痕形成观察和研究。在创面制作上主要采用水浴烫伤,但存在对设备要求高,且单纯追求烫伤温度而忽略烫伤质量等弊端,因而瘢痕的复制率不高。

我们参考国内外文献,对传统模型做了以下改进:缩小移植皮片的体积,把异体皮片移植的位置由皮上改进为皮下,证实移植存活皮片为正常成人皮肤后,对其进行烧伤以诱导瘢痕形成,从而大大提高了皮片移植的成功率,并确定了瘢痕来源的可靠性。将传统的水浴烫伤改为直接由加热的铜柱烧伤,在降低了模型制造的成本的同时更注重对烧伤质量的控制。实验中,我们发现改进后模型瘢痕增生高峰出现的时间(3 个月)较对照组(4 个月)短,但持续的时间并没有明显差异(6 个月以后均有部分瘢痕增生高于皮面),因而我们分别留取了瘢痕增生相应阶段的标本,并对其进行了组织学切片观察,发现移植皮片增生组织与人增生性瘢痕组织相比,没有明显差异,表明瘢痕模型构建成功。与传统模型相比,改进型模型的操作简单,可重复性好,且模型复制的周期较短。

另外,本研究与杨东运等^[1]报道的 AHS 动物模型做了对照。尽管有文献表明,AHS 动物模型中的瘢痕

组织中有部分人来源的 DNA^[8],但瘢痕形成机制的研究,需要的是一种可观察瘢痕形成全过程的动物模型,该模型应排除动物自身原因诱导的瘢痕形成,且有利于观察外部因素对瘢痕形成的影响,而 AHS 动物模型缺少的恰恰是外部因素影响瘢痕形成这一重要的环节,其可用于瘢痕特性研究或者药物治疗性研究,但作为瘢痕形成机制研究的动物模型并不合适,而改进型动物模型的组织来源则更可靠,模型建立的周期更短,且瘢痕的产生与临床瘢痕的形成都有外部因素的作用,更适合瘢痕形成机制的研究。

综上所述,改进型瘢痕动物模型皮片存活率及瘢痕复制率高,建立周期短,瘢痕增生明显,组织来源可靠,且可用于观察创面愈合至瘢痕形成的全过程,是一种较理想的动物模型。

参 考 文 献

- [1] Yang DY, Li SR, Wu JL, et al. Establishment of a hypertrophic scar model by transplanting full-thickness human skin grafts onto the backs of nude mice. *Plast Reconstr Surg*, 2007, 119: 104-109.
- [2] 李荟元. 创伤动物模型——兔耳瘢痕模型的建立与应用. 西安: 第四军医大学出版社, 2005: 5-32.
- [3] Aksoy MH, Vargel I, Canter IH, et al. A new experimental hypertrophic scars in guinea pigs. *Aesthetic Plast Surg*, 2002, 26: 388-396.
- [4] Harunari N, Zhu KQ, Armendariz RT, et al. Histology of the thick scar on the female, red Duroc pig: final similarities to human hypertrophic scar. *Burns*, 2006, 32: 669-677.
- [5] 杨远滨, 吴宗耀, 胡嘉念, 等. 重组人 γ -干扰素对移植于裸鼠的人增生性瘢痕的作用. *中华物理医学与康复杂志*, 2000, 22: 240-242.
- [6] Robb EC, Waymack JP, Warden GD, et al. A new model for studying the development of human hypertrophic burn scar formation. *J Burn Care Rehabil*, 1987, 8: 371-375.
- [7] 杨东运, 李世荣, 李钢, 等. 新型增生性瘢痕裸鼠动物模型的建立. *中华烧伤杂志*, 2004, 20: 82-84.
- [8] 杨东运, 李世荣, 李刚, 等. 人皮肤移植增生性瘢痕裸鼠动物模型的建立. *第三军医大学学报*, 2004, 26: 899-901.

(修回日期: 2009-04-17)

(本文编辑: 松 明)

· 消息 ·

江苏省医学会物理医学与康复学分会第六届专业委员会成立

根据江苏省医学会相关章程,江苏省医学会物理医学与康复学分会于 2009 年 4 月 8 日在南京召开了换届选举大会,本次会议通过公开竞聘及投票选举方式,产生了第六届专业委员会领导班子,其中由王彤担任主任委员,秦洪云、江钟立、杨卫新、沈光宇担任副主任委员,王蓓蓓担任学会秘书,高秋野担任工作秘书。新一届委员会共有委员 29 人,同时还聘请前任主委励建安作为名誉主任委员。

江苏省医学会物理医学与康复学分会