



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104667353 A

(43) 申请公布日 2015.06.03

(21) 申请号 201510100264.9

(22) 申请日 2015.03.06

(71) 申请人 广州赛莱拉干细胞科技股份有限公司

地址 510000 广东省广州市国际生物岛螺旋四路一号生产区第五层 502 单元

(72) 发明人 陈海佳 王一飞 葛啸虎 戴国胜 王小燕

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

代理人 赵青朵

(51) Int. Cl.

A61L 27/60(2006.01)

A61L 27/36(2006.01)

权利要求书1页 说明书7页 附图3页

(54) 发明名称

一种组织工程皮肤及其应用

(57) 摘要

本发明涉及组织工程领域,特别涉及一种组织工程皮肤及其应用。该组织工程皮肤的构建方法为:采用脐带间充质干细胞作为种子细胞,以脱细胞真皮基质(Acellular dermal matrix, ADM)作为支架,构建获得组织工程皮肤。本发明提供的组织工程皮肤能够更加有效地修复皮肤创伤;本发明提供的组织工程皮肤构建方法简便,操作步骤少。

1. 一种组织工程皮肤,其特征在于,其构建方法为:采用脐带间充质干细胞作为种子细胞,以 ADM 作为支架,构建获得组织工程皮肤。

2. 根据权利要求 1 所述的组织工程皮肤,其特征在于,所述构建方法具体为:

采用明胶溶液包被 ADM,浸泡于干细胞专用培养基,去除干细胞专用培养基,获得预处理后的 ADM;

将脐带间充质干细胞种植于所述预处理后的 ADM,加入干细胞专用培养基,用针插 ADM 制孔,孵育培养,获得组织工程皮肤。

3. 根据权利要求 2 所述的组织工程皮肤,其特征在于,所述明胶溶液的浓度为 0.1 ~ 100mg/mL。

4. 根据权利要求 2 所述的组织工程皮肤,其特征在于,所述包被的时间为 10 ~ 60min。

5. 根据权利要求 2 所述的组织工程皮肤,其特征在于,所述浸泡的时间为 1 ~ 3h。

6. 根据权利要求 2 所述的组织工程皮肤,其特征在于,所述脐带间充质干细胞的密度为 $0.1 \times 10^6 \sim 100 \times 10^6$ /mL。

7. 根据权利要求 2 所述的组织工程皮肤,其特征在于,所述种植的次数为 1 ~ 5 次。

8. 根据权利要求 2 所述的组织工程皮肤,其特征在于,所述孵育培养的时间为 3 ~ 5 天,温度为 37°C。

9. 根据权利要求 2 所述的组织工程皮肤,其特征在于,所述脐带间充质干细胞的培养代数 P1 ~ P5 代。

10. 一种修复皮肤创伤的方法,其特征在于,采用权利要求 1 至 9 中任一项所述的组织工程皮肤移植于皮肤创伤部位。

一种组织工程皮肤及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及组织工程领域,特别涉及一种组织工程皮肤及其应用。

背景技术

[0002] 皮肤是人体抵御外界损伤的第一道屏障,皮肤是人体最大、最复杂的器官,也是烧伤创伤过程中最易受损的器官,大面积皮肤缺损会引起体液丧失,水电解质紊乱及低蛋白血症、严重感染等,而皮肤移植是解决这一问题的关键,但由于自体与异体皮肤来源和应用在某些情况下受到限制,人们一直在寻找理想的皮肤替代物。皮肤组织工程为有希望解决这一问题的途径之一。皮肤组织工程是一门新兴的边缘学科,是目前最接近成功的组织学产品。它是利用生物学和工程学原理研究,构建出用于修复、维持和改善损伤组织功能的组织替代物。其核心是创造出一种三维生长支架,将由机体分离出的表皮细胞或成纤维细胞进行体外复合培养,形成人工再生的真皮等同物或皮肤等同物,移植于需要修复、重建的皮肤病损处。用组织工程化皮肤是解决大面积皮肤缺损的根本方法,目前已有较大的发展。

[0003] 种子细胞、支架材料以及细胞与支架材料相互作用的方式是构建组织工程皮肤的3个基本要素。从组织工程学的观点来看,人工皮肤主要有三类:①表皮替代物,即培养表皮片;②真皮替代物,即胶原凝胶、胶原海绵合成膜、透明质酸膜及壳聚糖膜等构成的人工真皮;③具有双层结构的人工皮肤,包括:活性皮肤替代物、脱细胞真皮基质(Acellular dermal matrix, ADM)和人工网膜上培养的表皮片构成的复合皮。

[0004] ADM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。刘坡等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限、可能传播病毒等。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。

[0005] 种子细胞的研究一直是组织工程研究的焦点之一,理想的种子细胞应具有以下特点:①具有高增殖能力和多种分化潜能;②获取容易,对取材者损伤小;③获取的种子细胞能够在体外大量扩增等。组织工程中种子细胞的研究是限制组织工程迅速发展的瓶颈,选择何种细胞作为皮肤种子细胞已成为当前研究的关键。目前用于构建组织工程皮肤的种子细胞有人表皮干细胞、真皮成纤维细胞等。

[0006] 表皮干细胞为皮肤的组织特异性干细胞,在胎儿期主要集中于初级表皮嵴,至成人时呈片状分布在表皮基层。研究表明,表皮干细胞占表皮基层细胞1%~10%,在维持皮肤生理性新陈代谢中起重要作用。随着年龄增大,干细胞数量减少,这也是小儿皮肤创伤愈合好于成年人的重要原因之一。表皮细胞培养在国外已应用于临床,但存在培养周期长,创面愈合后瘢痕严重,不能达到功能康复,后来人们又研制出自体表皮加异体脱细胞真皮或人工真皮联合移植的方法,但因成活率较低、人工皮降解速度过快等原因目前仍不尽人意。

[0007] 成纤维细胞作为真皮中重要的细胞组成部分,可分泌多种细胞因子,如肝细胞生长因子、角质形成细胞生长因子、类胰岛素生长因子、TGF- β 1、前列腺素等,对表皮细胞的生长、移行和分化均有促进作用。真皮成纤维细胞作为种子细胞可以促进表皮干细胞的增殖与分化,有利于创面的愈合,但修复皮肤创伤的效果有限。在组织工程领域,如何更好的修复皮肤创伤成为了研究的热点。

发明内容

[0008] 有鉴于此,本发明提供了一种组织工程皮肤及其应用。该组织工程皮肤将脐带间充质干细胞作为种子细胞,极大提高了种子细胞的数量和增殖能力,并与 ADM 结合,充分发挥两者对皮肤创伤的修复作用,组成一个具有修复皮肤创伤功能的组织工程皮肤。相比其他来源的 MSC 或其他细胞,人脐带 MSC 与 ADM 结合能够更加有效地修复皮肤创伤。

[0009] 为了实现上述发明目的,本发明提供以下技术方案:

[0010] 本发明提供了一种组织工程皮肤,其构建方法为:采用脐带间充质干细胞作为种子细胞,以 ADM 作为支架,构建获得组织工程皮肤。

[0011] 在本发明中,将脐带间充质干细胞作为种子细胞,极大提高了种子细胞的数量和增殖能力,并与 ADM 结合,充分发挥两者对皮肤创伤的修复作用,组成一个具有修复皮肤创伤功能的组织工程皮肤。

[0012] 作为优选,脐带间充质干细胞为人源脐带间充质干细胞。

[0013] 在本发明提供的一些实施例中,构建方法具体为:

[0014] 采用明胶溶液包被 ADM,浸泡于干细胞专用培养基,去除干细胞专用培养基,获得预处理后的 ADM;

[0015] 将脐带间充质干细胞种植于所述预处理后的 ADM,加入干细胞专用培养基,用针插 ADM 制孔,孵育培养,获得组织工程皮肤。

[0016] 为了提高细胞的种植效率,将明胶溶液包被于 ADM,有利于细胞的种植。作为优选,明胶溶液的浓度为 0.1 ~ 100mg/mL。

[0017] 优选地,明胶溶液的浓度为 1 ~ 10mg/mL。

[0018] 更优选地,明胶溶液的浓度为 3 ~ 9mg/mL。

[0019] 在本发明提供的一些实施例中,明胶溶液的浓度为 7mg/mL。

[0020] 作为优选,包被的时间为 10 ~ 60min。

[0021] 在本发明提供的一些实施例中,包被的时间为 30min。

[0022] 作为优选,浸泡的时间为 1 ~ 3h。

[0023] 在本发明提供的一些实施例中,浸泡的时间为 2h。

[0024] 作为优选,脐带间充质干细胞的密度为 $0.1 \times 10^6 \sim 100 \times 10^6$ /mL。

[0025] 优选地,脐带间充质干细胞的密度为 $1 \times 10^6 \sim 10 \times 10^6$ /mL。

[0026] 更优选地,脐带间充质干细胞的密度为 5×10^6 /mL。

[0027] 在本发明提供的一些实施例中,脐带间充质干细胞悬液的加入量为使 ADM 表面充满液体即可。

[0028] 在本发明提供的一些实施例中,种植的次数为 1 ~ 5 次。

[0029] 作为优选,种植的次数为 3 次。

[0030] 作为优选,种植的时间间隔为 1 ~ 2h。

[0031] 作为优选,脐带间充质干细胞种植完毕与加入干细胞专用培养基的时间间隔为 1 ~ 2h。

[0032] 在本发明提供的一些实施例中,孵育培养的时间为 3 ~ 5 天,温度为 37℃。

[0033] 作为优选,孵育培养的时间为 3 天。

[0034] 在本发明提供的一些实施例中,脐带间充质干细胞的培养代数为 P1 ~ P5 代。

[0035] 本发明还提供了一种修复皮肤创伤的方法,采用本发明提供的组织工程皮肤移植于皮肤创伤部位;

[0036] 该组织工程皮肤的构建方法为:采用脐带间充质干细胞作为种子细胞,以 ADM 作为支架,构建获得组织工程皮肤;具体为:采用明胶溶液包被 ADM,浸泡于干细胞专用培养基,去除干细胞专用培养基,获得预处理后的 ADM;将脐带间充质干细胞种植于所述预处理后的 ADM,加入干细胞专用培养基,用针插 ADM 制孔,孵育培养,获得组织工程皮肤;作为优选,明胶溶液的浓度为 0.1 ~ 100mg/mL;在本发明提供的一些实施例中,明胶溶液的浓度为 7mg/mL;作为优选,包被的时间为 10 ~ 60min;作为优选,浸泡的时间为 1 ~ 3h;在本发明提供的一些实施例中,脐带间充质干细胞的密度为 $0.1 \times 10^6 \sim 100 \times 10^6$ /mL;在本发明提供的一些实施例中,种植的次数为 1 ~ 5 次;作为优选,种植的时间间隔为 1 ~ 2h;作为优选,脐带间充质干细胞种植完毕与加入干细胞专用培养基的时间间隔为 1 ~ 2h;在本发明提供的一些实施例中,孵育培养的时间为 3 ~ 5 天,温度为 37℃;在本发明提供的一些实施例中,脐带间充质干细胞的培养代数为 P1 ~ P5 代。

[0037] 本发明提供了一种组织工程皮肤及其应用。该组织工程皮肤的构建方法为:采用脐带间充质干细胞作为种子细胞,以 ADM 作为支架,构建获得组织工程皮肤。本发明至少具有如下优势之一:

[0038] 在本发明中,将脐带间充质干细胞作为种子细胞,极大提高了种子细胞的数量和增殖能力,并与 ADM 结合,充分发挥两者对皮肤创伤的修复作用,组成一个具有修复皮肤创伤功能的组织工程皮肤。相比其他来源的 MSC 或其他细胞,人脐带 MSC 与 ADM 结合能够更加有效地修复皮肤创伤;

[0039] 本发明提供的组织工程皮肤构建方法简便,操作步骤少。

附图说明

[0040] 图 1 示实施例 1 中培养第 3 天的组织工程皮肤的 HE 染色结果 ($\times 100$);其中,A 示试验组(用明胶溶液包被 ADM)的组织工程皮肤染色图片,B 示对照组(未用明胶包被 ADM)的组织工程皮肤染色图片;

[0041] 图 2 示实施例 3 中创面愈合情况;

[0042] 图 3 示实施例 3 中愈后组织结构 HE 染色 (A1 ~ D1, $\times 100$;A2 ~ D2, A3 ~ D3, $\times 400$);其中 A1 示实验组新生皮肤;A2 示实验组新生皮肤;A3 示实验组新生皮肤真皮层;B1 示对照组 1 新生皮肤;B2 示对照组 1 新生皮肤;B3 示对照组 1 新生皮肤真皮层;C1 示对照组 2 新生皮肤;C2 示对照组 2 新生皮肤;C3 示对照组 2 新生皮肤真皮层;D1 示正常大鼠背部皮肤;D2 示正常大鼠背部皮肤;D3 示正常大鼠背部皮肤真皮层。

具体实施方式

[0043] 本发明公开了一种组织工程皮肤及其应用,本领域技术人员可以借鉴本文内容,适当改进工艺参数实现。特别需要指出的是,所有类似的替换和改动对本领域技术人员来说是显而易见的,它们都被视为包括在本发明。本发明的方法及应用已经通过较佳实施例进行了描述,相关人员明显能在不脱离本发明内容、精神和范围内对本文所述的方法和用进行改动或适当变更与组合,来实现和应用本发明技术。

[0044] 本发明提供的组织工程皮肤及其应用中所用脐带间充质干细胞、支架材料、试剂均可由市场购得。

[0045] 下面结合实施例,进一步阐述本发明:

[0046] 实施例 1 组织工程皮肤的构建

[0047] 用 7mg/mL 的明胶溶液包被 2×2cm 大小的 ADM 30 分钟,吸弃剩余明胶溶液, PBS 洗涤 1 遍。加入干细胞专用培养基 (Lonza) 浸没 ADM,2 小时后倒弃培养基,无菌滤纸擦拭 ADM 表面,以吸干其表面液体,使其表面保持适度湿润。

[0048] 用与 ADM 尺寸一致的无菌不锈钢圈压在 ADM 周缘,以 5×10^6 /mL 的细胞密度在 ADM 表面均匀滴加人脐带 MSC (P1 ~ P5 代) 悬液至 ADM 表面充满液体为止,1 小时后再种植,连续种植 3 次,种植完毕 1 小时后加入足量干细胞专用培养基,用细针轻插 ADM 制造数个孔,置于标准孵育箱 (37°C) 中培养。第 3 天切取一小块组织做冰冻切片,行 HE 染色鉴定。同时设置未用明胶包被的组织工程皮肤作为对照。HE 染色切片图见图 1。

[0049] 由图 1 可知,明胶溶液包被的 ADM 表面 (图 1A) 和凹陷处充满大量的细胞,内部散在分布一些细胞。而未用明胶包被的 ADM 表面 (图 1B) 粘附一层稀薄的细胞,内部亦分布一些细胞。结果表明,明胶包被有助于细胞粘附于 ADM 表面。

[0050] 实施例 2 细胞种植效率的验证

[0051] 分别用浓度为 3mg/mL、5mg/mL、7mg/mL、9mg/mL 的明胶溶液包被 1cm×1cm 大小的 ADM,用实施例 1 提供的细胞种植方法分别在明胶包被的 ADM 和未包被的 ADM 表面种植细胞,2 小时后收集培养基,并用 0.25% 胰酶-0.53mM EDTA 溶液消化贴附在瓶壁上的细胞,计算种植后未贴附在 ADM 上的细胞量,利用下列公式计算细胞种植效率:

[0052] 细胞种植效率 = (种植细胞总量 - 未贴附 ADM 的细胞量) / 种植细胞总量 × 100%。

[0053] 各组细胞种植效率结果见表 1:

[0054] 表 1 各组细胞种植效率比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

[0055]

组别	细胞种植效率
3mg/mL 组 (n = 4)	76.23 ± 21.99
5mg/mL 组 (n = 4)	83.90 ± 4.75
7mg/mL 组 (n = 4)	83.46 ± 4.98

9mg/mL 组 (n = 4)	78.30 ± 11.39
未包被组 (n = 4)	85.26 ± 4.78

[0056] 注：各组间互相比对， $P > 0.05$

[0057] 表 1 的试验结果显示：不同浓度明胶包被的 ADM 细胞种植效率没有显著差异 ($P > 0.05$)，明胶包被和未包被的 ADM 其细胞种植效率亦无明显差异 ($P > 0.05$)。

[0058] 实施例 3 组织工程皮肤移植

[0059] (一) 制作大鼠烧伤模型

[0060] 雌性 SD 大鼠 15 只，体重 200 克左右，烧伤前一天，3% 戊巴比妥钠 30mg/kg 腹腔注射麻醉 SD 大鼠，剪刀剪去待烫伤部位（位于背部）的毛发，用 10% 硫化钠溶液进行脱毛。次日，大鼠麻醉后，腹腔注射曲马多注射液 (10mg/kg) 以止痛，用直径 2cm、长 10cm、温度达 100℃（在 100℃沸水中加热 10 分钟以上）的紫铜棒在大鼠背部制造 3 个烫伤部位（烫伤时间 12 秒），烫伤程度经组织病理学检查，证实为 III 度烧伤。烫伤后立即腹腔注射乳酸林格氏溶液 2mL 以助其复苏，磺胺嘧啶银乳膏涂抹创面。

[0061] (二) 组织工程皮肤移植

[0062] 烧伤后第 3 天，大鼠麻醉后，腹腔注射曲马多注射液 (10mg/kg)，络合碘擦拭全身，切痂，对于渗血点使用热生理盐水纱布压迫止血。试验分组如下：

[0063] 实验组：将实施例 1 制得的组织工程皮肤用 PBS 洗涤一遍，植入创面，种植细胞的表面紧贴创面，支架下不能残留气泡，移植物与周围正常皮肤间不缝合，皮肤周缘缝合数针结成连线，压住覆盖移植物表面的无菌凡士林纱布，以防止移植物移位；无菌绷带加压包扎，透气胶带包扎加压固定；

[0064] 对照组 1：移植单纯的 ADM；

[0065] 对照组 2：不移植，其他处理与实验组一样。

[0066] 正确的包扎方法是移植成功的关键。即先用 6 ~ 8 层纱布剪成一与创面大小形状相同的纱布模，于植皮区铺一层凡士林纱布后，依次将纱布模及适量的疏松纱布或乱纱头盖上，再将四周所留长线相对结扎于敷料上，以固定敷料。然后用凡士林纱布围绕敷料底部四周，以防污染。在此打包的敷料上再加一些纱布及棉垫，用胶布固定，最后以绷带包扎。

[0067] 术后腹腔注射氨苄西林 (500mg/kg)、头孢他啶 (400mg/kg) 和两性霉素 B (4mg/kg)，并注射乳酸林格氏注射液 2mL。术后第 3 ~ 4 天首次换药，此后每 2 天换药 1 次。

[0068] (三) 移植效果评价

[0069] 1、评价指标

[0070] (1) 创面大体情况：每次换药时观察创面有无出血或感染，移植物成活状况，以及创面上皮化情况，并拍照。

[0071] (2) 创面收缩率：术后 1、2、3、4、5 周打开包扎，用无菌载玻片描画创面形状，以计算创面面积，Photoshop 软件计算创面面积，据此计算创面收缩率，创面收缩率 = (原创面面积 - 检测时面积) / 原创面面积 × 100%。

[0072] (3) 再生表皮面积比例：第 5 周时，用载玻片描画再生表皮面积，计算再生表皮面积占原创面面积的比例。

[0073] (4) 组织学观察：第 5 周时切取各组新生皮肤，4% 多聚甲醛固定后，做冰冻切片，

行 HE 染色。

[0074] 所得数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,应用 SPSS12.0 软件进行组间比较 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

[0075] 2、移植效果的评价结果

[0076] (1) 创面大体情况:

[0077] 实验组在第 3 ~ 4 天换药时已无出血现象,对照组 1 和对照组 2 则尚有微量渗血,至第 8 天左右一些大鼠仍有渗血,各组均无感染现象。

[0078] 实验组移植物成活时间长于对照组。实验组移植物至第 3 周一直与创面和周缘黏附紧密,色泽红润,表面呈铺路石样,无皮下积血、积液。此后逐渐发生降解,至第 5 周时被彻底降解,创面完全被新生的表皮覆盖(图 2)。对照组 1 移植物在第 1 周时与创面紧密黏附,色泽红润,第 2 周开始逐渐被降解,至第 3 周时完全降解,或留下僵硬的残余组织(图 2)。

[0079] (2) 创面收缩情况:

[0080] 在各个时点,对照组创面收缩较实验组显著。第 5 周时,实验组再生表皮覆盖创面,平坦红润,没有毛发;对照组 1 再生表皮覆盖创面,面积小于实验组,没有毛发;对照组 2 创面收缩成线状愈合面。

[0081] 实验组上皮化时间亦早于对照组,实验组在第 3 ~ 5 天创面周缘开始上皮化,若移植物缝隙较大,可见到移植物中间的缝隙为再上皮化组织填充;对照组 1 上皮化开始于第 8 ~ 10 天,周缘最先上皮化,移植物缝隙间则未见到上皮化组织;对照组 2 未形成再生表皮,在第 10 天左右创面被肉芽组织覆盖,第 14 天左右肉芽组织完全封闭创面,第 5 周时创面已收缩形成线状(图 2)。

[0082] 术后实验组与两个对照组创面收缩率比较见表 2,在同一检测时点,实验组创面收缩程度明显低于对照组 1 和对照组 2,差异具有显著性 ($P < 0.05$);对照组 1 收缩程度则弱于对照组 2 ($P < 0.05$),后者在第 5 周时创面收缩成线状(表 2)。

[0083] 表 2 术后各组创面收缩率比较(%, $\bar{x} \pm s$)

[0084]

组别	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周
实验组	3.99 \pm 0.51	8.70 \pm 0.56	26.23 \pm 3.64	39.39 \pm 5.59	48.37 \pm 7.21
对照组 1	17.27 \pm 1.02	22.28 \pm 1.69	45.88 \pm 4.34	70.18 \pm 4.54	81.46 \pm 3.40
对照组 2	49.01 \pm 1.04	77.33 \pm 1.72	89.15 \pm 1.85	95.12 \pm 1.89	*

[0085] 注:对照组 1 和 2 与实验组比较, $P < 0.05$; 对照组 2 与对照组 1 比较, $P < 0.05$;

[0086] *: 对照组 2 在第 5 周时创面收缩成线状。

[0087] (3) 再生表皮面积

[0088] 计算 ADM 完全降解后再生表皮面积占原创面面积比例(表 3)。可见实验组再生表皮面积明显大于对照组 1 ($P < 0.05$)。对照组 2 则由肉芽组织填充创面,最后收缩形成线状愈合面。

[0089] 表 3 再生表皮面积比较 ($\bar{x} \pm s$)

[0090]

组别	再生表皮面积比
实验组	51.63±7.22
对照组 1	18.54±3.40*

[0091] 注:与实验组比较,* $P < 0.05$

[0092] (4) 组织学观察

[0093] 实验组新生皮肤表皮突不是很明显,没有毛囊、腺体等皮肤附属结构,除此以外,表皮层结构和真皮层结构与正常皮肤一致(图 3A1 ~ A3);对照组 1 新生皮肤表皮颗粒层细胞出现较早,固有层肉芽组织未恢复到正常结构,亦无皮肤附属结构,其他结构与正常皮肤一致(图 3B1 ~ B3);对照组 2 表皮层较薄,仅有 2 ~ 3 层,少于正常表皮分层数目,真皮层有较多的细胞(图 3C1 ~ C3)。组织学观察结果说明,实验组和对照组 1 新生组织与正常皮肤更为接近,系再生皮肤,但缺少皮肤附属结构;对照组 2 新生组织表皮很薄,真皮层细胞多于正常皮肤,可能是从周围正常组织迁徙而来。

[0094] 实施例 4 与其他组织工程皮肤的比较

[0095] 传统的组织工程皮肤采用皮肤成纤维细胞种植于 ADM 上,新型的组织工程皮肤则采用间充质干细胞种植于 ADM 上。本发明属于新型组织工程皮肤,该实施例将比较本发明与传统组织工程皮肤和其他新型组织工程皮肤对皮肤创伤的修复效果。

[0096] 取 SD 大鼠 24 只,制作 III 度烧伤模型,随机分成 A、B、C、D 四组,A 组采用本发明实施例 1 的组织工程皮肤,B 组采用传统的组织工程皮肤,即采用皮肤成纤维细胞种植于 ADM 上,C 组则采用骨髓间充质干细胞种植于 ADM 上,D 组则采用脂肪干细胞种植于 ADM 上,分别进行移植,并评价移植效果。试验结果见表 4。

[0097] 表 4 与传统组织工程皮肤的比较

[0098]

	A 组	B 组	C 组	D 组
创面收缩率(%)	47.38±5.62	72.32±7.85	62.45±6.23	60.19±8.24
再生表皮面积比(%)	50.63±6.89	29.56±7.42	39.82±7.29	40.75±6.85

[0099] 表 4 结果显示,A 组新生皮肤组织结构与 B、C、D 组类似,但 A 组毛细血管更为丰富,显示其修复创面效果更佳;同时,在第 5 周时,A 组的创面收缩率亦低于其他组 ($P < 0.05$),而再生表皮面积则更大 ($P < 0.05$),显示其促进创面再生效果更好。

[0100] 该结果表明,脐带 MSC 与 ADM 相结合的组织工程皮肤,其修复创面效果优于其他新型组织工程皮肤和传统组织工程皮肤。

[0101] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

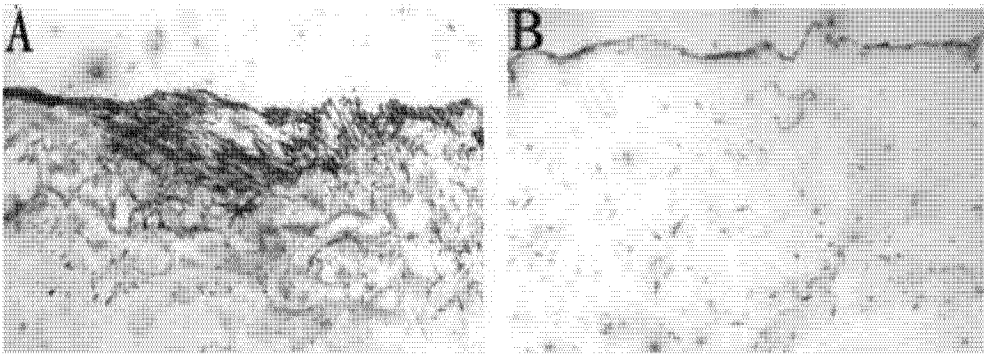


图 1

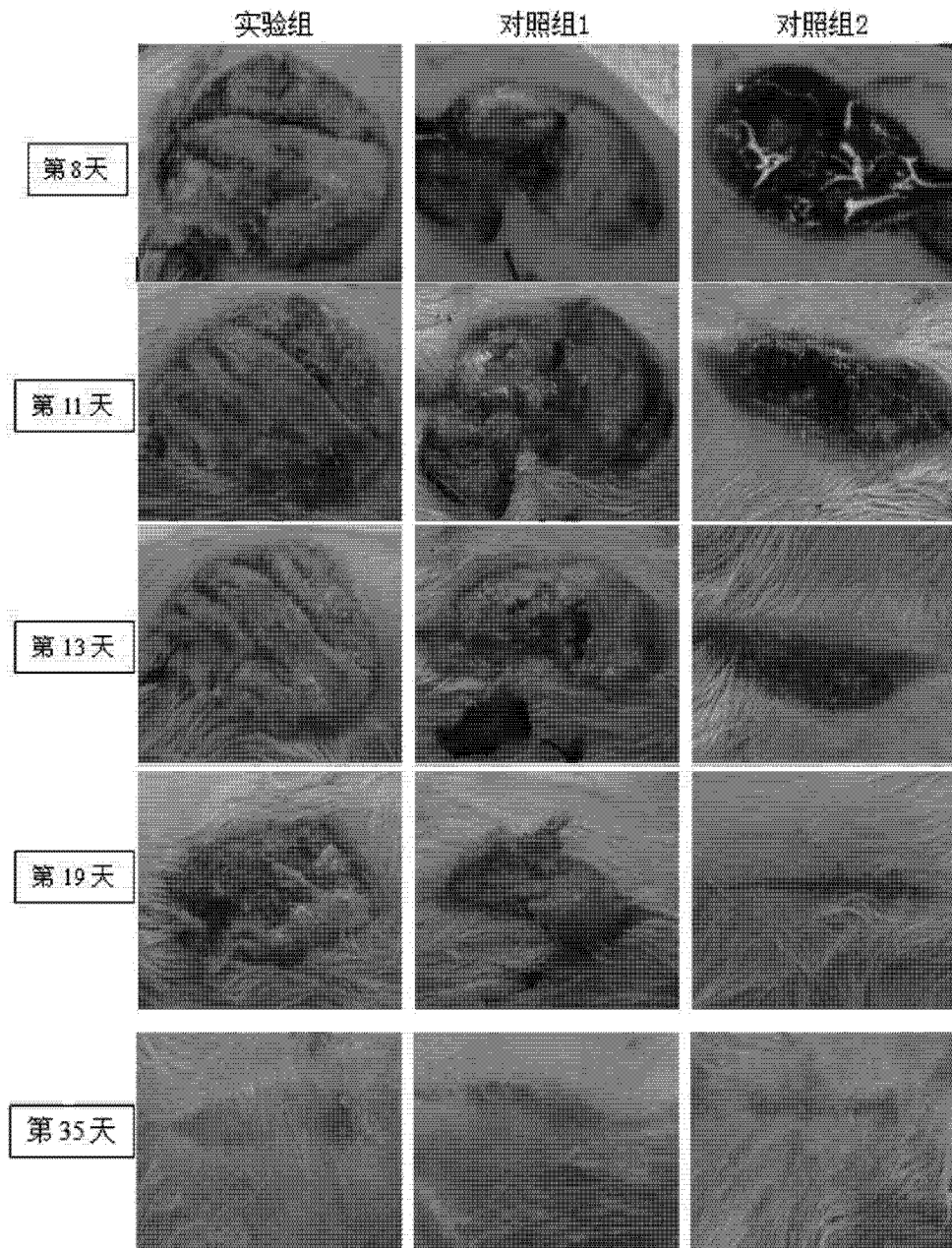


图 2

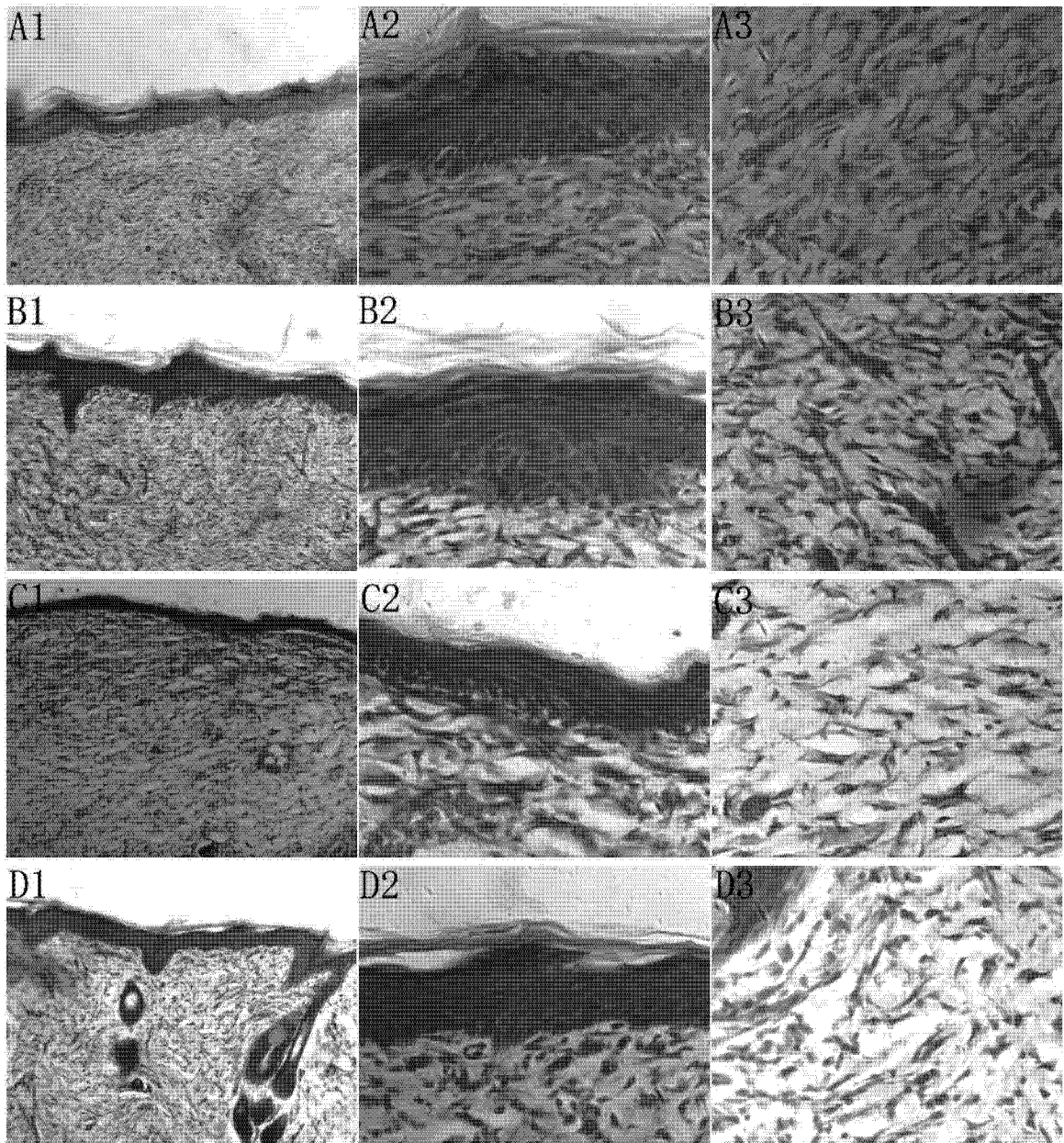


图 3