

肺组织瓣内衬壳聚糖支架对食管部分缺损的修补

陈刚, 石文君

■背景资料

食管疾病是我国常见的消化系统疾病之一, 食管切除后需要重建以恢复消化系统的连续性。目前常用的食管重建替代物, 但效果都不甚理想。理想的替代物应具有易获取、无毒性、无排斥反应、无致癌性以及可吸收性等特点。

陈刚, 石文君, 中国医科大学附属盛京医院胸外科 辽宁省沈阳市 110004

陈刚, 博士, 副主任医师, 主要研究生物材料在食管气管重建中的应用。

卫生部立项资助项目, No. WKZ-2000-1-17

作者贡献分布: 本文研究课题由石文君构思, 陈刚设计; 生物材料制作由陈刚完成; 动物实验由陈刚与石文君共同完成; 论文撰写由陈刚完成, 修改由石文君完成。

通讯作者: 石文君, 110004, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属盛京医院胸外科. shiwj@cmu2h.com

电话: 024-83955064

收稿日期: 2008-09-18 修回日期: 2008-11-25

接受日期: 2008-12-01 在线出版日期: 2009-01-28

Repairing partial esophagus defection with an inner chitosan stent in rabbits

Gang Chen, Wen-Jun Shi

Gang Chen, Wen-Jun Shi, Department of Thoracic Surgery, Shengjing Hospital Affiliated to China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Supported by: the Foundation of Ministry of Health, No. WKZ-2000-1-17

Correspondence to: Wen-Jun Shi, Department of Thoracic Surgery, Shengjing Hospital Affiliated to China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. shiwj@cmu2h.com

Received: 2008-09-18 Revised: 2008-11-25

Accepted: 2008-12-01 Published online: 2009-01-28

Abstract

AIM: To examine feasibility of patching esophagus damage with chitosan tube stent.

METHODS: Fifty Japanese rabbits were randomly divided into two groups, experimental group ($n = 25$) which underwent patching center-section esophagus partial damages with body lung tissue petal (inside lining chitosan tube stent) and control group ($n = 25$) which underwent non-inside lining stent. At the 2nd, 4th, 8th week after surgery, healing status was observed roughly and histologically. At the 10th week after surgery, the survived rabbits were given barium meal to detect esophagus. The rabbits were followed up for survival time and death cause.

RESULTS: Forty five experimental animals survived over two weeks. Five rabbits died during perioperative period with a 10% death rate.

Reliable cicatrisation between the lung tissue petal and damage area, and squamose epidermis metaplasia were observed. At the 10th week after surgery, the esophagus barium test showed that barium agents went through the esophagus smoothly, and there were no obvious stenosis or reflux and moderate peristalsis in the experiment group. However, there was mild stenosis and no obvious obstruction or reflux in the control group. Followed-up rabbits survived 6-8 months and their death cause was irrelevant to surgery.

CONCLUSION: The lung tissue petal patching esophagus damage is one feasible method, and the chitosan tube, as the inside lining stent, may prevent narrowing.

Key Words: Lung; Tissue petal; Chitosan; Stent; Esophagus reconstruction

Chen G, Shi WJ. Repairing partial esophagus defection with an inner chitosan stent in rabbits. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(3): 236-240

摘要

目的: 探讨肺组织瓣内衬壳聚糖管修补食管缺损的可行性。

方法: 取50只日本大耳白兔, 随机分为2组, 实验组25只, 行自体肺组织瓣修补中段食管部分缺损(内衬壳聚糖管支架); 对照组25只, 无内衬支架, 术后第2、4、8周时, 大体及组织学观察缺损修补处肺组织瓣愈合情况, 并于术后10 wk对存活兔行钡餐透视观察食管通畅情况。随访观察剩余兔长期存活时间及死因。

结果: 45只实验动物存活超过2 wk以上, 围手术期死亡5只, 死亡率10%, 肺组织瓣与食管缺损处牢固愈合, 肺组织瓣表面有鳞状上皮化生。术后10 wk: 食管钡餐检查见实验组食管钡剂通过顺利, 无明显狭窄及反流, 蠕动尚可, 对照组轻度狭窄, 无明显梗阻及反流。随访实验动物存活6-8 mo, 死亡原因与手术无关。

结论: 肺组织瓣修补食管缺损是一种可行的

■同行评议者

伊力亚尔·夏合丁, 教授, 新疆医科大学第一附属医院胸外科

方法,壳聚糖管可以作为内衬支架防止狭窄.

关键词: 肺;组织瓣;壳聚糖;支架;食管重建

陈刚, 石文君. 肺组织瓣内衬壳聚糖支架对食管部分缺损的修补. 世界华人消化杂志 2009; 17(3): 236-240

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/236.asp>

0 引言

食管疾病是我国常见的消化系疾病之一,食管切除后需要重建以恢复消化系的连续性.目前常用的食管重建替代物主要有:(1)自体组织,包括自体管腔组织:胃、结肠和空肠;自体非管腔组织:各种带血管蒂的肌皮瓣^[1]、颈阔肌皮瓣^[2-3]、骨膜肋间肌瓣等^[4].(2)人工食管,如塑料管、金属管、Teflon管、硅胶管等,但效果都不甚理想.理想的替代物应具有易获取、无毒性、无排斥反应、无致癌性以及可吸收性等特点.

目前,食管重建术式较多^[5],有各自的优缺点,手术方法仍处于不断改进和完善中.无论那种重建,减轻瘢痕增生、预防狭窄的发生仍是关键问题.我们在应用自体肺组织瓣重建气管获得临床成功以后^[6],应用自体肺组织瓣,内衬金属和硅胶管支架,在动物实验取得成功,但异物反应无法克服,本实验采用内衬一种新型可吸收生物材料-壳聚糖管作为支架,预防术后狭窄,原位修补部分食管缺损,探讨其应用的可行性及出现的一些问题,为今后整段缺损的进一步研究奠定基础.

1 材料和方法

1.1 材料 健康日本大耳白兔50只,体质量3 kg左右,雌雄不限,由中国医科大学附属第二医院动物实验中心提供,其中25只设为对照组,25只为实验组;壳聚糖管状支架,长15 mm,内径4 mm(壳聚糖粉纯度99%,脱乙酰度为99%,山东济南海洋生物制品有限公司,本人自行研制,戊二醛灭菌);TKR-200C小动物呼吸机1台(江西省特立麻醉呼吸设备有限公司);婴儿喉镜、3.0-4.0型号气管插管.

1.2 方法

1.2.1 手术前处理:全部大耳白兔术前均未给药,无需术前禁食水.200 g/L乌拉坦(5 mL/kg),ip,3 min内兔麻醉,四肢瘫软,呼吸变慢变浅,腹式呼吸,角膜反射存在,肌注氯胺酮(1 mg/kg),减少痛觉反射.将麻醉好的大白兔取仰卧位,用100 g/L普鲁卡因喷洒咽喉部,迅速垂直插入气管插管,

距门齿13 cm左右,接呼吸机,将氧气调到低流量,暂不给机械通气,保持自主呼吸.

1.2.2 手术方法:将大白兔左侧卧位,左侧垫高,便于暴露胸腔,四肢绑定,行右侧开胸,于6-7肋间,逐层切开肌肉,切开胸膜,注意不要损伤到肺组织,开胸见肺萎陷,给与机械通气,呼吸频率30次/min,吸呼比1:1.5,潮气量20 mL左右,可根据肺膨胀大小来调整;胸内手术操作时气流量调小,便于操作,将胃管置入,在主动脉旁可见撑起的食管,寻找中段,将其游离,用细纱布条吊起,切除中段食管为环3 mm×3 mm周径的食管壁,制成食管壁部分缺损的动物模型,实验组将壳聚糖管从破损处置于食管内,并于上下各缝一针固定,将就近的肺组织瓣从食管后穿过,包绕在破损处,与食管破损处边缘3-0丝线连续全层缝合,将胃管退出,要求无张力,放回食管;对照组无需内衬壳聚糖管.关胸前检查无胸内出血及肺漏气,当关胸膜最后一针前给与过渡通气几次,在吸气末关闭胸膜腔,无需胸腔引流管和穿刺排气,逐层缝合.术后补液抗炎治疗,5 d后给予鲜奶,1 wk后逐渐过渡饮食.

1.2.3 观察指标:(1)一般情况观察:大白兔术后的存活情况、进食情况、体质量变化,以及有无并发症发生.(2)大体观察:如实验兔在观察期中死亡,及时尸检,分析死亡原因,病理学检查,术后第2、4、8周分别处死两组存活动物各6只,肉眼大体观察缺损处肺组织瓣愈合情况及壳聚糖管的情况.(3)组织学观察:取缺损修补处组织进行HE染色、光镜检查肺组织瓣生长情况.(4)钡餐透视:术后10 wk对各组存活兔行钡餐透视观察食管通畅情况.(5)随访观察存活兔进食生长情况6-8 mo.

2 结果

2.1 动物存活情况 术后存活45只,实验组23只,对照组22只,围手术期死亡5只,其中术中死亡1只,术后当日死亡1只,死于麻醉过深,第4天死于吻合口瘘1只,第7天死于输液意外1只;第2周死于营养不良衰竭1只,死亡后不再补充.

2.2 一般情况 实验组及对照组禁食5 d后均能经口进食,前5 d禁食,输液,5 d给流质鲜奶,食欲旺盛,未发现呕吐现象,每日少量多餐,10 d后正常饮食,实验组未出现明显进食障碍,对照组于3 wk后饮食差,大白兔术后1 wk内体质量均下降约1-2 kg,对照组体质量未能恢复术前状况.实验组体质量无明显减轻.

■ 研发前沿

食管重建是食管外科研究热点,尚未找到理想的食管重建替代物.

■创新盘点

本研究采用壳聚糖制成管型可吸收支架,在肺组织瓣修复食管缺损重建中防止狭窄和排斥反应。

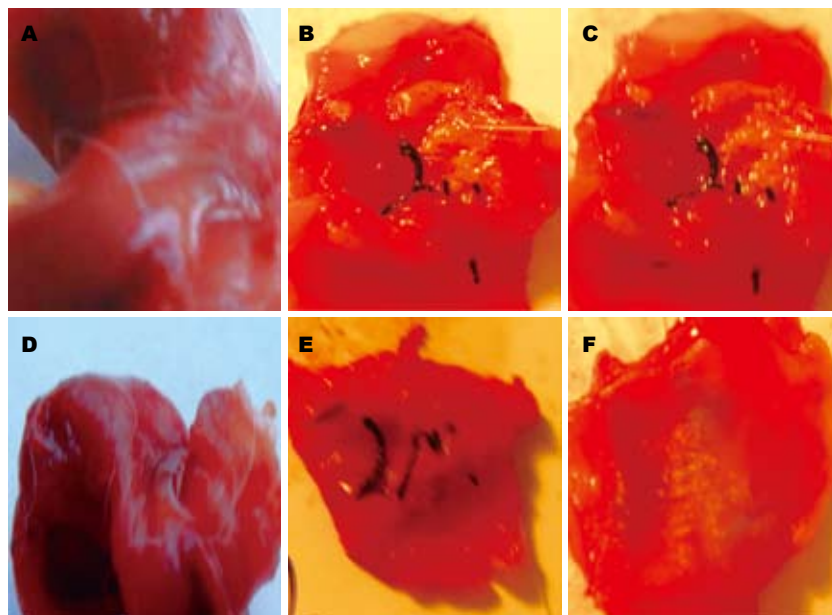


图1 肺修补食管术后大体标本. A: 对照组2 wk; B: 对照组4 wk; C: 对照组8 wk; D: 实验组2 wk; E: 实验组4 wk; F: 实验组8 wk.

2.3 大体观察 术后2 wk: 见食管缺损处食管断端与肺组织瓣结合紧密, 伴有水肿, 替代物肺组织瓣下可触及壳聚糖管, 质地软, 管腔表面有一层污秽膜状物; 术后4 wk: 缺损处完全修复, 缝线可见, 尚未吸收, 实验组食管替代物部分的管腔内表面光滑, 血运丰富, 壳聚糖管部分分解, 触及有颗粒感, 对照组, 缺损处肺组织红色, 有组织增生物覆盖, 伴有水肿; 术后8 wk: 实验组食管缺损处完全被白色厚膜状物覆盖, 管壁无水肿, 无明显狭窄, 无坏死和溃疡; 未见壳聚糖管状物. 对照组愈合良好, 组织瓣表面有增生物存在(图1).

2.4 组织学观察 取缺损部组织行病理检查: 术后2 wk: 实验组及对照组均见肺组织结构, 肺泡萎陷, 肺泡细胞变性肿大, 炎性细胞浸润, 表现为急性炎症反应; 术后4 wk: 实验组替代物表面肺组织结构依然可辨, 肺泡变大, 结构不典型, 炎症反应减弱, 未见明显纤维组织增生, 伴有少许中性粒细胞和淋巴细胞; 对照组缺损处中央肺泡结构不典型, 可见纤维组织细胞生长, 伴有少许炎性细胞; 术后8 wk: 实验组肺组织瓣表面大部分鳞状上皮化, 肺泡结构不明显, 慢性炎症反应明显减轻; 对照组为慢性炎症反应, 伴有明显纤维组织增生, 表面无鳞状上皮化生(图2).

2.5 钡餐透视 术后10 wk食管钡餐检查, 实验组见食管钡剂通过顺利, 无明显狭窄及返流, 吻合部上下无扩张, 无钡剂漏出, 蠕动良好; 对照组出现轻度的狭窄, 吻合口上伴有扩张, 钡剂通过顺畅, 蠕动一般(图3).

2.6 随访情况 剩余各组兔长期存活6-8 mo, 死亡

原因与手术无关, 皆为其他原因所致.

3 讨论

食管切除与食管重建是食管外科领域的一个重要方面, 近年来研究的生物类替代物, 如智发朝 *et al*^[7]应用由猪主动脉经理化处理后制成生物型人工食管, 无生物活性, 对30只实验犬进行食管替代, 结果发现组织相容性好, 质地柔软、有弹性、脱落不构成危险, 围手术期有效率为93.3%, 有良好的研究及开发应用前景, 张兰军 *et al*^[8]应用30只中国杂种犬经右侧开胸切除胸段食管, 并以8 cm长生物型人工食管进行重建, 目前仍旧面临的还有吻合口瘘, 狭窄, 以及植入长度的限制, 仍需进一步的深入研究. 采用生物可降解材料与降解材料复合制成人工食管, 既对自身食管组织爬行再生有一定的诱导作用, 同时生物材料降解速度与之相匹配, 非降解材料起到支架作用, 延长了单纯生物材料的支撑时间, 最终再生食管完全替代人工食管. 组织工程化食管取得了一定进展, 目前尚未应用于临床.

本课题组^[6]首创肺组织瓣用于气管缺损修复获得成功, 证明肺组织瓣可作为胸内修复重建材料, 这为我们修补食管缺损提供了新的思路, 即将肺组织瓣包裹缺损部位, 形成人工食管管腔, 内置金属和硅胶管支架, 有助于近期预防狭窄的发生, 但支架的排斥反应无法避免^[9], 远期效果不理想, 容易造成远期排斥反应, 这是我们课题组前期遇到的问题, 改进方法, 选择壳聚糖材料制成可吸收支架, 来解决排斥反应. 肺组织瓣血运丰富. 在手术中观察无缺血改变, 术后

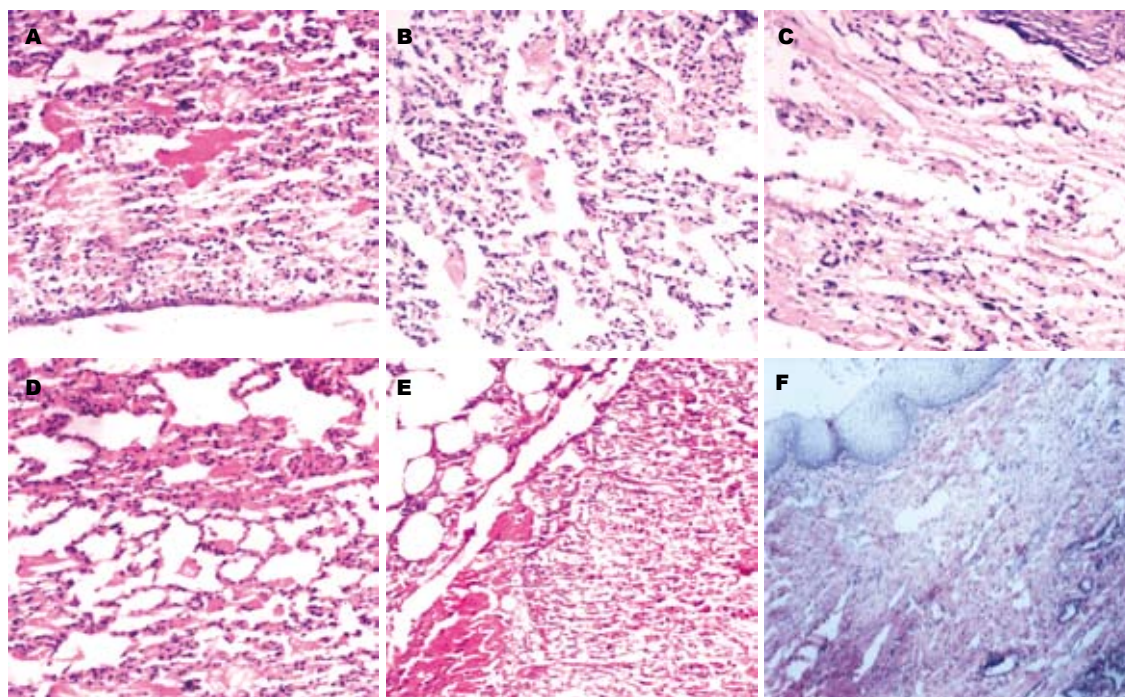


图 2 肺修补食管术后光镜下肺组织瓣变化(HE染色, $\times 10$). A-C: 对照组2、4、8 wk; D-F: 实验组2、4、8 wk.

同行评价

本研究采用可吸收生物材料-壳聚糖管作为内衬支架, 用自体肺组织瓣替代食管缺损, 为食管缺损修补提供了新的思路. 立题新颖, 具有重要的学术价值, 但需扩大样本含量进一步研究.

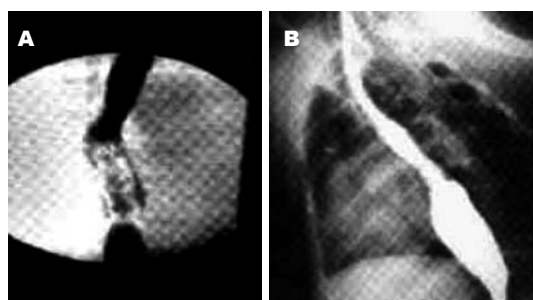


图 3 兔术后10 wk钡餐透视变化. A: 实验组; B: 对照组.

病理及电镜检查也证实这一点. 修补物为自体组织, 避免了人工食管的异物排斥反应, 能与食管缺损缘形成牢固的纤维愈合. 肺组织瓣有一定的延展性, 选取不同的肺叶可以制成不同长度的肺组织瓣. 总之, 肺组织瓣取材方便, 组织相容性好, 血运丰富, 愈合能力强, 抗感染性好, 能够提供食管再上皮化的良好环境.

甲壳素^[10]是存在于自然界中的唯一一种带阳离子能被生物降解的分布极其广泛的高分子材料, 壳聚糖可用于生物工程支架等的研究^[11-13]. 我们将其制成管状, 有一定的弹性和韧性, 遇水略变软, 具有抑制炎症反应的作用, 防止黏连的发生, 可以防止破损处瘢痕形成. 在体内经过体液和体温的环境作用下, 壳聚糖管被逐渐降解吸收, 并且无毒无刺激, 无排斥反应. 以前我们研究发现, 再上皮化后的食管缺损处有一定程度的狭窄, 但没有发生严重狭窄导致进食障

碍, 在给狗做食管修补手术的实验中^[14], 应用金属管和硅胶管作为内衬支架, 存在一定的异物反应, 表现为慢性炎症的过程, 我们采用壳聚糖制成管状支架, 利用壳聚糖自身的组织相容性好、可降解性的特点, 既能够有效地预防组织瘢痕收缩狭窄形成, 在度过狭窄期后, 可在体内自行降解, 产物无毒、无害、无副作用, 是一种理想的生物可降解材料, 值得我们深入研究.

本实验研究肺组织瓣内衬壳聚糖管修补食管壁部分缺损, 是一种创新研究, 他的应用前景是可以直接在胸腔内原位替代食管, 不需开腹和重新吻合血管, 手术操作相对简便, 创伤小. 进一步地研究包括平滑肌及神经丛、腺体的再生^[15], 蠕动功能的恢复, 长段食管的重建等, 如能成功应用于临床, 则可为既往曾行胃或肠道手术且无法用空腔脏器替代食管的患者提供了新的手术方法.

参考文献

- 1 Chen HC, Kuo YR, Hwang TL, Chen HH, Chang CH, Tang YB. Microvascular prefabricated free skin flaps for esophageal reconstruction in difficult patients. *Ann Thorac Surg* 1999; 67: 911-916
- 2 王如文, 蒋耀光, 范士志, 向杰. 颈阔肌皮瓣在颈段食管外科中的应用. *中华胸心血管外科杂志* 1995; 11: 1-3
- 3 赵云平, 王如文, 蒋耀光, 龚太乾, 周景海, 谭群友. 颈阔肌皮瓣修复或重建颈部食管缺损术后并发症探讨. *中国胸心血管外科临床杂志* 2001; 8: 169-171
- 4 张旭, 王笑茹, 李汝泓, 胡建功, 侯继申, 周士杰. 应用骨膜肋间肌瓣行食管成形术. *中华胸心血管外科杂志*

- 2000; 16: 163-164
- 5 廖兵. 儿童食管良性狭窄的临床分析. 中国胸心血管外科临床杂志 2008; 15: 71-72
- 6 石文君, 张苏宁, 杨伟, 赵俊刚, 赵洋, 刘军. 用肺组织瓣重建胸段气管的动物实验与临床应用. 中华外科杂志 2003; 41: 218-221
- 7 智发朝, 张兰军, 彭秀凡, 吴湘惠, 潘德寿, 万田莫, 刘思德, 张振书, 周殿元. 用生物型人工食管进行食管重建的实验研究. 中华消化杂志 2003; 23: 137-141
- 8 张兰军, 智发朝, 戎铁华, 彭秀凡, 温东东, 颜世强. 生物型人工食管的实验研究. 中华胃肠外科杂志 2001; 9: 157-160
- 9 赵俊刚, 石文君, 张苏宁, 韩云, 赵洋, 刘军. 自体肺组织瓣修补食管壁部分缺损的实验研究. 中华胸心血管外科杂志 2003; 19: 166-168
- 10 Berglund JD, Mohseni MM, Nerem RM, Sambanis A. A biological hybrid model for collagen-based tissue engineered vascular constructs. *Biomaterials* 2003; 24: 1241-1254
- 11 敖强, 王爱军, 孙志刚, 张秀芳. 一种壳聚糖神经组织工程支架的制备及表征. 中国组织工程研究与临床康复 2008; 12: 47-50
- 12 Holland TA, Tabata Y, Mikos AG. Dual growth factor delivery from degradable oligo(poly(ethylene glycol) fumarate) hydrogel scaffolds for cartilage tissue engineering. *J Control Release* 2005; 101: 111-125
- 13 Zhang WF, Chen XG, Li PW, He QZ, Zhou HY. Preparation and characterization of theophylline loaded chitosan/beta-cyclodextrin microspheres. *J Mater Sci Mater Med* 2008; 19: 305-310
- 14 刘军, 石文君, 张苏宁, 韩云, 赵俊刚. 犬自体肺组织瓣替代胸段食管部分缺损的实验研究. 中国修复重建外科杂志 2006; 20: 507-510
- 15 秦雄, 徐志飞, 赵学维, 史宏灿, 周建华, 孙康, 高向阳. 可降解复合人工食管重建犬颈段食管的实验研究. 中国修复重建外科杂志 2003; 17: 374-377

编辑 史景红 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志英文摘要要求

本刊讯 本刊英文摘要包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致. 具体格式要求如下: (1)题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致; (2)作者 署名一般不超过8人. 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”; (3)单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China; (4)基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801; (5)通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com; (6)收稿及修回日期 格式如: Received: Revised: . (常务副总编辑: 张海宁 2009-01-28)