

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.18.014 [http://www.crter.org]

马洪斌, 张荣明. 以化学去细胞法处理同种异体神经与周围静脉伴行修复面神经缺损[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(18):3325-3332

以化学去细胞法处理同种异体神经与周围静脉伴行修复面神经缺损**

马洪斌, 张荣明

辽宁医学院附属第一医院整形外科, 辽宁省锦州市 121000

文章亮点:

1 课题的设计灵感来源于将自体神经吻合后与伴行静脉行外膜缝合以保证血液和生长因子供应, 但自体神经移植毕竟取材难、来源少。设计者希望在目前应用较成熟的化学去细胞法处理同种异体神经的基础上再与周围静脉伴行, 观察能够否取得更好的实验结果。国内外此类相关研究只是单纯应用化学去细胞法处理的同种异体神经进行移植, 或者增加人为制作的缓释系统, 并没有综合这两种先进技术且并未应用到面神经上, 而面神经缺损的修复是一个值得关注的问题, 因此课题设计期待证明与周围静脉伴行的化学去细胞同种异体神经修复兔面神经缺损能够取得与自体神经原位吻合相似的结果。

2 实验结果证实, 化学去细胞同种异体神经与周围静脉伴行修复兔面神经缺损的方法, 可加速神经再血管化, 以达到与自体面神经原位移植相似的修复效果。

关键词:

器官移植; 组织移植; 面神经; 去细胞; 抗原性; 同种异体; 神经移植; 血管化; 血管伴行; 省级基金

摘要

背景: 有研究表明化学去细胞法处理的同种异体神经修复面神经缺损可以取得较好的修复效果。

目的: 在化学去细胞法处理同种异体神经的基础上探索一种修复面神经缺损更有效的修复方式。

方法: 将新西兰大白兔随机分为 2 组, 实验组制备面神经颊支缺损动物模型, 采用经化学去细胞的同种异体腓肠神经进行移植, 且与伴行静脉行外膜缝合; 对照组在同样位置的远近端分别切断面神经, 但不破坏被切断神经与周围组织的正常解剖关系, 再切断处行外膜缝合桥接。

结果与结论: 修复后 3 个月两组兔均存活, 面部表情基本对称, 胡须活动正常, 神经移植处未见明显瘢痕及神经瘤形成。电镜观察结果显示, 实验组与对照组右侧面神经颊支传导速度, 移植体远端吻合口附近 5.0 mm 段有髓神经纤维数量, 靶肌肉运动终板计数均差异无显著性意义($P > 0.05$)。结果证实, 化学去细胞同种异体神经与周围静脉伴行修复兔面神经缺损的方法可以达到与自体面神经原位移植相似的修复效果。

马洪斌★, 男, 1987 年生, 山东省临沂市人, 辽宁医学院在读硕士。
416766628@qq.com

通讯作者: 张荣明, 教授、主任医师、硕士生导师。辽宁医学院附属第一医院整形外科, 辽宁省锦州市 121000
zrm99999@126.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 2095-4344
(2013)18-03325-08

收稿日期: 2013-01-04
修回日期: 2013-03-25
(20121205004/WJ · C)

Chemically extracted acellular allogenic nerve and accompanying peripheral vein for repair of facial nerve defects

Ma Hong-bin, Zhang Rong-ming

Department of Plastic and Cosmetic Surgery, the First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China

Abstract

BACKGROUND: Studies have showed that repair of facial nerve defect in rabbit with chemically extracted acellular allogenic nerve can achieve good effect.

OBJECTIVE: To explore a more effective operation means to repair facial nerve defects on the basis of chemically extracted acellular allogenic nerve.

METHODS: New Zealand rabbits were randomly divided into the experimental group and the control group.

Ma Hong-bin ★, Studying for master's degree, Department of Plastic and Cosmetic Surgery, the First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China
416766628@qq.com

Corresponding author: Zhang Rong-ming, Professor, Chief physician, Master's supervisor, Department of Plastic and Cosmetic Surgery, the First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning province, China zrm99999@126.com

Supported by: Key and Major Science and Technology Projects of Liaoning Provincial Science and Technology Agency, No. 2009225010-43*

Received: 2013-01-04
Accepted: 2013-03-25

The experimental group received chemically extracted acellular allogenic sural nerve transplantation and then received adventitial suture with accompanying peripheral vein to prepare the animal models of defects of buccal branches of facial nerve; the control group received the autologous facial nerve *in situ* anastomosis. The rabbits in the control group were treated with facial nerve cutting on the proximal and distal part of the same position that did not damage the normal anatomy relations between the cut nerve and the surrounding tissues, then the adventitia suture bridge was performed at the cutting site.

RESULTS AND CONCLUSION: At 3 months after operation, the animals of both groups survived well with basically symmetrical facial expression and normal moustache swinging, no formation of obvious scars and neuroma could be seen at the neural transplantation site. The microscope observation results showed that there were no significant differences in the conduction velocity of right facial nerve buccal branch, number of myelinated nerve fibers in the 5.0 mm segment of graft distal anastomosis and the count of target muscle motor endplate between two groups ($P > 0.05$). Repairing of rabbit facial nerve defects with chemically extracted acellular allogenic nerve and accompanying peripheral vein shows a postoperative result similar to that of autologous facial nerve *in situ* anastomosis.

Key Words: organ transplantation; tissue transplantation; facial nerve; acellular; antigenicity; allogenic; nerve transplantation; vascularization; accompanying blood vessels; provincial grants-supported paper

Ma HB, Zhang RM. Chemically extracted acellular allogenic nerve and accompanying peripheral vein for repair of facial nerve defects. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(18):3325-3332.

0 引言

面神经作为第Ⅶ对脑神经主要支配面部表情肌和传导舌前2/3的味觉及支配舌下腺、下颌下腺和泪腺的分泌。由于其走行路线比较复杂,通过茎乳孔出颅后横穿腮腺后分为颞支、颧支、颊支、下颌缘支、颈支5个分支,所以极易受到外伤、疾病的侵袭,而且在正常面部损伤修复过程中也可能带来一定的副损伤。所以面神经损伤成为了临床上常见的一种疾病,会引起不同程度的面部表情不协调甚至面神经麻痹,给患者带来极大的经济困难和心理障碍。

神经出现损伤后如果能立即进行端端原位吻合修复必然是修复损伤的最佳方式,可是在一些外伤或者感染引起的面神经疾病情况下,必须通过切除一段病变的面神经来治疗原发疾病,这样就使得面神经出现了缺损。在这种情况下必须通过移植物的桥接来修复缺损的面神经。

在移植物的选择取材方面,广大学者一直期待能有一种效果好、取材易的移植供体。众所周知,神经的再生主要是轴突的再生,在面神经缺损很少的情况下神经轴突可以通过自己的延伸来完成缺损的修复,但与此同时会形成较大的瘢痕神经瘤,且与周围组织发生较重的粘连,严重影响神经修复后的功能恢复,而且在很多情况下神经缺损的长度并不允许通过轴突自身延伸来修复,必须有相对稳定的微环境的引导下才能较好的再生,近年来很多专家学者致力于研究一种人工合成材料来引导缺损神经再生,但是由于生物相似性较差所以神经再生一直很不理想,临床应用价值不大。

自体神经移植则成为面神经缺损修复的首选方法^[1-4],但是也有很多不足,其中自体神经的取材问题一直困扰着广大学者,而同种异体神经有着来源广,取材易的优点,因此成为近年来研究的热点。孙明学^[5]和刘洪飞等^[6]也在去细胞同种异体神经的移植方面取得了一定成果。实验所用化学去细胞法处理的同种异体腓肠神经不但保留了神经的基本结构,而且在极大程度上降低了异体神经的免疫原性。

众所周知, 同种异体神经移植的成败, 取决于异体神经所具有的抗原性, 移植免疫的核心问题即最主要的组织相容性复合物的表达产物主要存在于细胞膜的表面^[7], 所以免疫排斥反应主要由细胞膜产生^[8], 而同种异体神经的抗原性主要存在于许旺细胞和髓鞘^[9-10]。化学去细胞法不仅能够去除周围神经细胞和髓鞘, 还能保留神经的管道状结构, 后期给再生的神经提供一个类似导管的结构^[11], 创造了一个相对稳定的微环境, 适宜移植神经的生长^[12]。

近年来, 人们发现机体内的知名神经往往伴行有血管, 通过研究发现这种伴行并非偶然, 神经与血管之间必然存在着某些相互促进相互吸引的关系, 受到这种解剖结构特点的启发, 实验采用将移植段神经和与它伴行的静脉进行外膜缝合, 巧妙的为移植段神经提供了丰富的营养供应。

Taylor等^[13]首次成功实施了带血管的神经移植修复神经缺损, 血管壁中富含的神经生长因子对神经的生长起到了很大的促进作用, 由此可归纳出神经再生最适宜的微环境包括充足的血液供应、相对稳定的神经结构及适当浓度的促神经生长因子^[14]。

由于传统修复方式在破坏了移植处正常结构后并未做任何恢复移植端神经血液供应的处理, 使得神经功能的恢复受到影响, 还增加了瘢痕和神经瘤的发病率, 因此移植神经的快速血管化成为神经成活的关键^[15]。

实验在经化学去细胞处理的同种异体神经移植后与伴行静脉血管进行外膜缝合, 保证移植处神经的血液供应, 观察神经再生的情况, 有望得到一种修复面神经的新型理想的修复方式。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 实验于2012年1至10月在辽宁医学院动物实验室完成。

材料:

实验动物: 健康5-8月龄的雌性新西兰大耳白兔24只, 体质量为2.0-2.5 kg, 由辽宁医学院实验动物中心提供, 实验动物许可证号: SCXK(辽): 2003-0007。

实验前逐一检查以确认兔面部表情肌功能正常, 两

侧胡须摆动正常, 单笼混合饲料单人喂养。

兔面神经缺损修复主要仪器及试剂:

Main reagents and instruments:

仪器及设备	来源
Triton X-200、SB-10、SB-16	美国 Sigma 公司
BL-420F 生物机能试验系统、	日本 Hitachi 公司
JEM-1200EX 透射电镜	

方法:

分组: 将24只兔随机分为2组, 每组12只, 实验组行化学去细胞同种异体神经与周围静脉伴行修复, 对照组行自体神经原位吻合修复。

化学去细胞移植物的制备: 将24只兔按照30 mg/kg肌肉注射戊巴比妥钠麻醉, 切开右下肢皮肤及皮下组织, 分离肌肉, 游离出腓神经1.0-2.0 cm, 去除附着在神经表面的组织, 清洗后蒸馏水浸浴10 h, 按照以下步骤依次进行: ①在含有120 mmol/L的SB-10的0.01 mol/L的PBS中浸浴10 h。②用0.05 mol/L的PBS反复冲洗10 min。③在含有0.6 mmol/L的SB-16和体积分数0.14%的Triton X-200的0.01 mol/L的PBS中浸浴20 h。④用0.05 mol/L的PBS反复冲洗10 min。

再重复①-④步骤后放入4 °C 无菌的0.01 mol/L的PBS中保存以备下步实验。

异体神经移植:

实验组: 兔称质量后, 按照30 mg/kg肌肉注射戊巴比妥钠进行全身麻醉, 麻醉成功后将兔子固定在手术台, 常规备皮、消毒、铺巾, 自右侧外耳道向右侧口角做横向切口, 仔细分离嚼肌筋膜即可见到面神经的颊支横向进入腮腺, 仔细分离面神经颊支的近端和远端, 游离出大约2.5 cm长, 在游离神经的中间段切除约1.0 cm造成面神经缺损模型, 继续在面神经缺损处仔细分离出一段静脉分支, 用10-0的无损伤缝线将经化学去细胞处理的同种异体神经与面神经的远近断端进行三四针的外膜缝合, 且将移植段神经的外膜与伴行静脉分支的外膜进行单纯间断缝合, 缝合距离超过神经吻合的远近端, 再逐层缝合切口, 在切口处喷洒庆大霉素以预防感染。

对照组: 兔称质量后, 逐层分离筋膜至可见约2.5 cm面神经颊支, 不对其进行完全游离, 保持中段神经与周围组织的正常解剖关系, 在中间段长度约1.0 cm的远近端分别切断面神经, 用10-0无损伤缝线进行神经外膜的原位吻合作为对照, 逐层缝合切口, 在切口处喷洒庆大霉素以预防感染。

修复后兔一般形态观察及移植段神经的大体形态: 修复后3个月观察2组兔是否生存良好, 切口有无溃疡形成, 两侧口唇活动是否对称, 胡须摆动是否正常。戊巴比妥钠全身麻醉后沿原切口1次切开皮肤皮下组织, 暴露移植神经处, 观察移植段神经血管化情况及与周围组织粘连情况, 观察有无神经瘤形成。

神经电生理检测移植段神经传导速度: 修复后3个月, 在戊巴比妥钠全麻下暴露移植段神经, 用NDA-500肌电图仪器测定两组神经的传导速度。

移植段神经有髓神经纤维计数: 修复后3个月全麻下沿原切口一次切开皮肤及皮下组织, 暴露移植段神经, 取移植段神经远端吻合口附近5 mm段神经, 在体积分数3%戊二醛磷酸溶液中固定20 h, 在体积分数2%饿酸溶液中固定2 h, 乙醇梯度脱水, 用EPON812环氧树脂包埋, 进行连续半薄组织切片, 厚度为1.0 μm , 用甲苯胺蓝进行染色, 在光镜下观察标本的有髓神经纤维, 用细胞图像分析仪对神经轴突的数目进行分析。

电镜观察移植段神经髓鞘结构: 在EPON812环氧树脂包埋的基础之上, 继续进一步做厚度为60 nm的超薄切片, 用醋酸双氧铀和柠檬酸铅溶液进行双重染色, 在透射电镜下观察移植段神经组织的髓鞘结构。

靶肌肉运动终板染色: 在每只兔子的右侧面神经进入口轮匝肌肌部位切取4 mm厚的肌肉块, 行冰冻切片, 切片厚度为20 μm 。用胆碱酯酶法进行运动终板染色, 观察靶肌肉中再生的运动终板的形态。每张切片随意选4个视野计数运动终板数量, 取其平均数。

主要观察指标: 移植段神经传导速度, 神经有髓神经纤维数量, 神经髓鞘结构及运动终板数量。

统计学分析: 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 采用SPSS 17.0统计软件进行数据分析, 组间均数差异的比较采用成组设计资料的两样本 t 检验进行, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

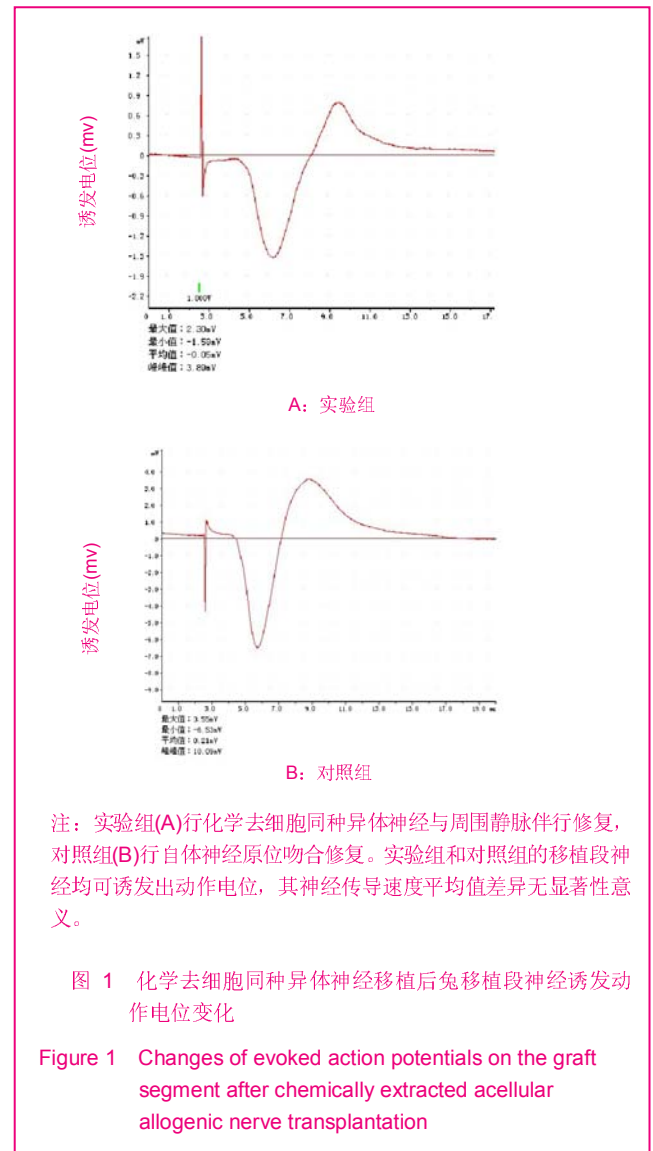
2 结果

2.1 实验动物数量分析 纳入兔24只最终均进入结果分析, 无死亡和感染, 无脱失值。

2.2 化学去细胞同种异体神经移植后兔大体形态及移植段神经的一般形态 修复后3个月, 两组兔均成活良好, 切口均未见溃疡形成, 修复区的口唇活动基本对称, 胡须活动情况基本正常, 全麻下暴露移植神经段, 两组实验动物移植段神经均呈连续性, 实验组可见移植段神经有小血管长入, 血供较丰富, 两组神经移植段与周围

组织均未见明显粘连, 未见神经瘤形成。

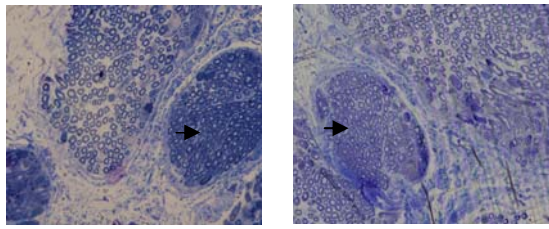
2.3 化学去细胞同种异体神经移植后兔移植段神经动作电位变化 修复后3个月, 实验组和对照组的移植段神经均可诱发出动作电位, 见图1。



经NDA-500肌电图仪器测定, 实验组的神经传导速度平均值为(56.21 \pm 10.53) m/s, 对照组神经传导平均值为(61.11 \pm 9.71) m/s, 两组之间差异无显著性意义($P > 0.05$)。

2.4 化学去细胞同种异体神经移植后兔有髓神经纤维形态及密度 标本经甲苯胺蓝染色后切片观察, 光镜下观察发现两组中的移植处再生神经纤维均呈束状分布, 其内可见有大量的有髓神经纤维形成, 如图2。经图像分析仪检测, 实验组中的有髓神经纤维密度为(18 160.37 \pm 916.56) n/mm^2 , 对照组中的有髓神经纤维

的密度为 $(18\ 512.31 \pm 981.29) \text{ n/mm}^2$, 两组之间比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。



A: 实验组

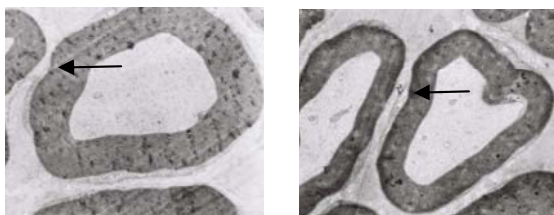
B: 对照组

注: 实验组(A)行化学去细胞同种异体神经与周围静脉伴行修复, 对照组(B)行自体神经原位吻合修复。两组中的移植处再生神经纤维均呈束状分布, 其内可见有大量的有髓神经纤维(箭头所指)形成。

图 2 化学去细胞同种异体神经移植兔移植段神经纤维横切面形态(甲苯胺蓝染色, $\times 200$)

Figure 2 Morphology of cross-section of nerve fibers on the graft segment after chemically extracted acellular allogenic nerve transplantation (Toluidine blue staining, $\times 200$)

2.5 化学去细胞同种异体神经移植兔移植段组织超微结构 经过透射电镜观察, 实验组和对照组均可见有大量的神经纤维形成, 有髓神经纤维髓鞘板层结构均清晰, 髓鞘的直径及厚度均差异无显著性意义, 见图3。



A: 实验组

B: 对照组

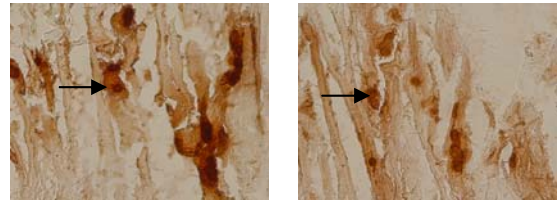
注: 实验组(A)行化学去细胞同种异体神经与周围静脉伴行修复, 对照组(B)行自体神经原位吻合修复。两组均可见有大量的神经纤维(箭头)形成, 有髓神经纤维髓鞘板层结构均清晰。

图 3 化学去细胞同种异体神经移植兔神经移植体远端吻合口附近 4.0 mm 段神经图像(醋酸双氧铀和柠檬酸铅溶液双重染色, $\times 65\ 000$)

Figure 3 Image of 4.0 mm nerve segment of graft distal anastomosis after chemically extracted acellular allogenic nerve transplantation (Uranyl acetate and lead citrate solution double staining, $\times 65\ 000$)

2.6 化学去细胞同种异体神经移植兔靶肌肉运动终板形态 两组兔的运动终板均染成棕黄色, 形状成圆形或

者椭圆形, 高倍镜下运动终板计数, 自体神经原位吻合组运动终板数量为 (18.19 ± 4.33) 个, 与周围静脉伴行的去细胞同种异体神经移植组运动终板数量为 (16.18 ± 3.81) 个, 两组之间差异无显著性意义($P > 0.05$), 见图4。



A: 实验组

B: 对照组

注: 实验组(A)行化学去细胞同种异体神经与周围静脉伴行修复, 对照组(B)行自体神经原位吻合修复。两组兔的运动终板(箭头所指)均染成棕黄色, 形状成圆形或者椭圆形, 两组运动终板数量差异无显著性意义。

图 4 化学去细胞同种异体神经移植兔术侧下唇肌肉纵切片形态(胆碱酯酶染色法, $\times 200$)

Figure 4 Morphology of lower lip muscle longitudinal slice on the surgery side after chemically extracted acellular allogenic nerve transplantation (Cholinesterase staining, $\times 200$)

3 讨论

化学去细胞法处理的同种异体神经在组织结构上具有很多的优良特性。一直以来自体神经移植修复损伤的面神经被公认为“金标准”^[16], 但由于自体神经来源少, 且需要以破坏另一处正常组织结构为代价, 所以自体神经的移植未能深入研究, 供体神经的来源成为广大学者共同思考的问题。近年来, 用化学去细胞法处理过的同种异体神经来作为供体神经来修复人体外周神经缺损的修复方法已逐渐被接受^[17], 但异体神经移植引起的排斥反应成为阻碍移植的难题。众所周知, 引起排斥反应的神经抗原性主要存在于许旺细胞和髓鞘中^[18-20], Whitworth等^[21]也通过实验证实了此观点。

目前去除神经的抗原性有很多方法^[22-36], 比如: 冻融法、冻干法、放射法及化学法等^[37]。其中化学去细胞法不仅能够较彻底的去掉周围神经细胞和髓鞘结构, 极大程度的降低了同种异体神经的抗原性, 减小了排斥反应, 而且还能较完整的保留了神经的管道状结构, 无形中创造了一种导管的结构, 使得再生的神经纤维按照

导管的指引生长^[38-43], 避免了其外生且明显降低了瘢痕和神经瘤形成的概率, 保留下来的导管结构无形中创造的微环境非常适宜神经的再生, 保证了神经再生所必须浓度的促神经生长因子, 相对稳定的微环境还在一定程度上保护了新生的神经纤维不受外界环境的干扰, 这对抑制瘢痕的形成也起到了很大的作用。最重要的一点, 经化学去细胞法处理过的同种异体神经在本质上还是具有神经的很多特性, 与断端神经有较好的相似性。

如何恢复移植修复区域的组织解剖结构在很大程度上影响着神经功能的恢复。同种异体神经取材时已经完全丧失了其正常的血供来源, 且由于移植时不可避免的破坏了受体处的正常组织结构, 导致接受移植的同种异体神经得不到充足的血供, 使得虽然有相对隔绝的导管结构但个别还是会形成瘢痕和神经瘤, 且易于周围组织发生粘连。实验将被移植的同种异体神经与伴行静脉进行外膜缝合, 因伴行静脉血管壁中富含的各种促神经生长因子, 神经移植处局部的神经营养因子使得神经纤维再生快于结缔组织^[44], 所以伴行静脉早期即可以对移植段神经进行滋养, 极大地降低了瘢痕、神经瘤和与周围组织粘连的概率^[45], 对建立适合损伤或者移植神经修复、生长的微环境对移植神经的成功再生具有重要意义。

神经内微环境是否恒定, 影响神经纤维的再生, 内膜血管和神经束膜是维持神经内微环境相对恒定的主要因素, 因此如何给移植段神经丰富的血供, 是神经移植存活的关键所在。移植段神经的血供重建对于神经的再生起到了至关重要的作用, 神经移植后与周围血管伴行, 可以改善移植神经局部的血运不佳, 为移植神经的成活和功能的恢复提供了有利条件。一般来说, 血管长入移植段神经有2个来源: 一是从近远端吻合口处较大血管长入, 这是移植神经恢复血供的主要来源, 但是生长距离有限, 且所需要的时间也较长; 二是在较长段神经移植中段血运主要从周围基床的毛细血管长入, 这种方法长入速度也较慢, 且只能使表面一定厚度的神经血管化, 早期很难渗透到中央部位, 会出现中心性或节段性坏死。实验采用移植段神经与周围伴行静脉进行外膜缝合在早期就有大量毛细血管长入移植段神经, 充足的血供为再生的神经纤维提供了丰富的营养物质, 对于神经功能的早起恢复起到了很大的促进作用。

实验首次将经化学去细胞法处理过的同种异体神

经与周围静脉伴行用来修复兔面神经缺损, 修复后3个月兔面部表情肌活动正常, 双侧胡须摆动对称, 未见流涎、面神经麻痹等表现。对移植段神经的大体观察未发现明显瘢痕和神经瘤形成, 与周围正常组织未发现明显粘连, 与自体神经原位吻合组未见明显差异。实验可以初步证明化学去细胞同种异体神经可作为一种较好的神经移植供体。神经电生理检测结果发现, 两组实验动物中移植段神经均可以引发动作电位, 实验组与对照组右侧面神经颊支传导速度分别为(56.21±10.53) m/s及(61.11±9.71) m/s, 与周围静脉伴行的去细胞同种异体神经移植段平均传导速度虽略慢与自体神经原位吻合对照组, 但两组之间差异无显著性意义; 有髓神经纤维计数观察发现, 与周围静脉伴行的去细胞同种异体神经经甲苯胺蓝切片染色后发现大量的呈束状分布的再生有髓神经纤维, 实验组与对照组移植体远端吻合口附近5.0 mm段有髓神经纤维数量, 数量和形态与自体神经原位吻合组的观察结果相似, 差异无显著性意义, 说明再生的有髓神经纤维已经具备了基本的功能; 通过电镜观察, 两组有髓神经纤维结构清晰度以及髓鞘的直径和厚度均未见明显差异; 通过靶肌肉运动终板计数检测, 实验组与对照组靶肌肉运动终板数量与周围静脉伴行的去细胞同种异体神经运动终板计数与对照组相比差别亦无显著性意义, 说明在神经移植修复后3个月, 新生的神经纤维已经完全可以支配靶肌肉来发挥神经的作用。

经化学去细胞法处理后的同种异体神经既解决了很多人工合成材料的生物不相似的问题, 还解决了同种异体神经不可避免的抗原性问题, 使其不被移植体排斥。更重要的是化学去细胞法处理过的同种异体神经不但去除了抗原性主要存在的许旺细胞和髓鞘, 还能够恰到好处地保留了神经原有的形状结构。它能够较完整的保留了神经的管道状结构, 无形中创造了一种导管的结构, 使得再生的神经纤维按照导管的指引生长。此外, 大量研究表明, 神经的再生离不开充足的血液供应, 与神经伴行的血管不仅能够提供充分的血供, 还能为神经提供再生所必需的促神经生长因子, 这些因素可以避免神经再生时形成瘢痕和神经瘤, 也明显降低了再生神经与周围正常组织的粘连。

实验采用经化学去细胞法处理的同种异体神经与周围静脉进行外膜缝合, 保证了神经再生需要的血液供应和促神经生长因子, 因而取得了实验的成功。结果证

实, 采用经化学去细胞法处理的同种异体神经与周围静脉伴行来修复家兔面神经缺损的修复方式, 不仅能明显降低异体神经抗原性, 同时还解决了移植段神经不能得到及时血供、不能快速的血管化的问题, 取得了与自体神经原位吻合基本一致的结果, 为探索一种新的更有效的修复面神经缺损的修复方式提供了实验依据。

致谢: 感谢辽宁医学院动物实验室及辽宁医学院附属第一医院整形外科各位老师对本次实验的大力支持。

基金资助: 辽宁省科学技术厅, 辽宁省科学技术计划重大、重点项目(项目编号: 2009225010-43)。

作者贡献: 马洪斌主要负责实验动物的饲养及结果处理、统计分析、论文的撰写。张荣明负责指导协助马洪斌完成修复过程以及对论文的初步审阅。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验对动物的处理方法符合中华人民共和国科学技术部颁发的《关于善待实验动物的指导性意见》^[46]。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

4 参考文献

- [1] Vleggeert-Lankamp CL. The role of evaluation methods in the assessment of peripheral nerve regeneration through synthetic conduits: a systematic review. *Laboratory investigation. J Neurosurg.* 2007;107(6):1168-1189.
- [2] Niu XF, Liu XL, Hu J. *Zhongguo XiuFu Chongjian Waike Zazhi.* 2009;23(2):235-238.
牛晓锋, 刘小林, 胡军, 等. 大鼠化学去细胞异体神经再血管化的实验研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2009, 23(2): 235-238.
- [3] Lundborg G. A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: evolving neuroscientific concepts and clinical significance. *J Hand Surg (Am).* 2000;25(3):391-414.
- [4] Abo-Auda W, Benza RL. Therapeutic angiogenesis: review of current concepts and future directions. *J Heart Lung Transplant.* 2003;22(4):370-382.
- [5] Sun XM, Tang JS, Xu WJ, et al. *Zhonghua Guke Zazhi.* 2006; 26(4):267-271.
孙明学, 唐金树, 许文静, 等. 化学去细胞同种异体神经移植的实验研究[J]. *中华骨科杂志*, 2006, 26(4): 267-271.
- [6] Liu HF, Hu M, Liu HC, et al. *Kouqiang Yixue Yanjiu.* 2007;23(6): 659-661.
刘洪飞, 胡敏, 刘洪臣, 等. 同种异体神经行面神经缺损修复的初步应用[J]. *口腔医学研究*, 2007, 23(6): 659-661.
- [7] Yang XX, Leng Z, Qian T, et al. *Zhongguo XiuFu Chongjian Waike Zazhi.* 2006;20(3):295-299.
杨小祥, 冷震, 钱塘, 等. 超低温冷冻保存的吻合血管异体神经移植实验研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2006, 20(3): 295-299.
- [8] Ide C, Tohyama K, Tajia K. Long acellular nerve transplants for allogeneic grafting and the effects of basic fibroblast growth factor on the growth of regenerating axons in dogs: a preliminary report. *Exp Neurol.* 1998;154(1):99-122.
- [9] Jakse N, Payer M, Tangl S, et al. Influence of low-level laser treatment on bone regeneration and osseointegration of dental implants following sinus augmentation. An experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(4):517-524.
- [10] Stein E, Koehn J, Sutter W, et al. Initial effects of low-level laser therapy on growth and differentiation of human osteoblast-like cells. *Wien Klin Wochenschr.* 2008;120(3-4): 112-117.
- [11] Liu SQ, Zhang SS, Peng H, et al. *Zhonghua Shouwaik Zazhi.* 2004;20(2):110-113.
刘世清, 张思胜, 彭昊, 等. 无细胞的异体神经修复鼠坐骨神经缺损[J]. *中华手外科杂志*, 2004, 20(2): 110-113.
- [12] Song XZ, Gu YD, Hu SN. *Zhonghua Shouwaik Zazhi.* 2001; 17(1):39.
宋修竹, 顾玉东, 胡韶楠. 神经再生室中神经再生过程和微环境的研究[J]. *中华手外科杂志*, 2001, 17(1): 39.
- [13] Taylor GI, Ham FJ. The free vascularized nerve graft. A further experimental and clinical application of microvascular techniques. *Plast Reconstr Surg.* 1976;57(4):413-426.
- [14] Chen Q, Hu YM, Zhong SZ. *Zhongguo Linchuang Jiepou Zazhi.* 1992;10(2):133-135.
陈强, 胡耀民, 钟世镇. 血管与周围神经再生的关系[J]. *中国临床解剖学杂志*, 1992, 10(2): 133-135.
- [15] Sun Q, Zheng JF, Zhao CM. *Zhongguo XiuFu Chongjian Waike Zazhi.* 2012;26(7):839-843.
孙强, 郑加法, 赵昌明. 移植段神经与周围静脉伴行修复长段周围神经缺损的实验研究. *中国修复重建外科杂志*, 2012, 26(7): 839-843.
- [16] Spector JG, Lee P, Derby A. Rabbit facial nerve regeneration in autologous nerve grafts after antecedent injury. *Laryngoscope.* 2000;110(4):660-667.
- [17] Olsson Y. Microenvironment of the peripheral nervous system under normal and pathological conditions. *Grit Rev Neurobiol.* 1990;5(3):265-270.
- [18] Sun XH, Dou WB, Tong XJ, et al. *Zhongguo Linchuang Kangfu.* 2006;10(29):19-21
孙晓红, 窦文波, 佟晓杰, 等. 许旺细胞与脱细胞神经移植体共培养在周围神经损伤修复中的作用[J]. *中国临床康复*, 2006, 10(29): 19-21.
- [19] Li GK, Yu NS, Li W. *Zhongguo XiuFu Chongjian Waike Zazhi.* 2007;6(21):577-581.
李根卡, 余楠生, 黎文. 许旺细胞和生物蛋白胶构建组织工程神经的初步研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2007, 6(21): 577-581.
- [20] Evans PJ, Midha R, Mackinnon SE. The peripheral nerve allograft: a comprehensive review of regeneration and neuroimmunology. *Prog Neurobiol.* 1994;43(3):187-233.
- [21] Whitworth IH, Dore C, Hall S, et al. Different muscle graft denaturing methods and their use for nerve repair. *Br J Plast Surg.* 1995;48(7):492-499.
- [22] Liu JM, Peng W, Wang ZL. *Linchuang Waike Zazhi.* 2002; 10(4):227-228.
刘金慕, 彭昊, 王志林. 甘油处理的同种异体神经在临床的应用[J]. *临床外科杂志*, 2002, 10(4): 227-228.
- [23] Hao GF, Xin CT, An GL, et al. *Zhonghua Shouwaik Zazhi.* 2000;16(2):123-125.
郝桂芬, 辛畅泰, 安贵林, 等. 受体血浆冷存异体神经桥接神经缺损的形态学研究[J]. *中华手外科杂志*, 2000, 16(2): 123-125.

- [24] Li JM, Yao JM, Song JL, et al. Zhejiang Linchuang Yixue Zazhi. 2000;2(4):222.
李建兵,姚建民,宋建良,等.放射辐照对异体神经移植影响的实验研究[J].浙江临床医学杂志,2000,2(4):222.
- [25] Li TX, Yuan J, Zhang XD, et al. Zhongguo Linchuang Kangfu. 2004;8(28):6117-6119.
李天侠,袁杰,张晓东,等.紫外线B照射低温冷冻同种异体神经移植的实验研究[J].中国临床康复,2004,8(28):6117-6119.
- [26] Song XZ, He CQ, Gu YD. Zhonghua Shiyannwaik Zazhi. 1998;15(3):263.
宋修竹,贺长清,顾玉东.酒精处理的同种异体周围神经移植的研究[J].中华实验外科杂志,1998,15(3):263.
- [27] Gu YR, Jiang AM, Zhu TL. Chuangshang Waik Zazhi. 2002;4(1):31-34.
顾玉荣,蒋安明,朱天亮.低温冷冻和酒精处理的同种异体周围神经移植的效果比较[J].创伤外科杂志,2002,4(1):31-34.
- [28] Dumont CE, Hentz VR. Enhancement of axon growth by detergent-extracted nerve grafts. Transplantation. 1997;63(9):1210-1215.
- [29] Sondell M, Lundborg G, Kanje M. Regeneration of the rat sciatic nerve into allografts made acellular through chemical extraction. Brain Res. 1998;795(1-2):44-54.
- [30] Dai CC, Wang W, Cao YL, et al. Zhonghua Zhengxing Waik Zazhi. 2001;17(6):366-368.
戴传昌,王炜,曹谊林,等.去细胞异体神经基膜管桥接神经缺损的实验研究[J].中华整形外科杂志,2001,17(6):366-368.
- [31] Liu CJ, Sun JZ, Tong XJ, et al. Jieyou Kexue Jinzhan. 2003;9(3):197-200.
刘承吉,孙景致,佟晓杰,等.组织工程化天然神经支架的制备[J].解剖科学进展,2003,9(3):197-200.
- [32] Sun HZ, Tong XJ. Jieyou Kexue Jinzhan. 2001;7(4):331-334.
孙慧哲,佟晓杰.脱细胞处理的同种异体神经移植研究进展[J].解剖科学进展,2001,7(4):331-334.
- [33] Sun XH, Tong XJ, Zhang CS, et al. Zhongguo Yike Daxue Xuebao. 2005;34(1):6-9.
孙晓红,佟晓杰,张彩顺,等.脱细胞同种异体神经移植植物桥接大鼠坐骨神经缺损的形态学观察[J].中国医科大学学报,2005,34(1):6-9.
- [34] Tong XJ, Zhang CS, Cao DS, et al. Jieyou Xuebao. 2005;36(1):1-5.
佟晓杰,张彩顺,曹德寿,等.脱细胞异体神经移植植物桥接大鼠坐骨神经缺损促进神经肌结构重建和功能恢复的实验研究[J].解剖学报,2005,36(1):1-5.
- [35] Liu JC, Lin XP, Tong XJ, et al. Jieyou Kexue Jinzhan. 2005;11(3):206-209.
刘金超,林晓萍,佟晓杰,等.脱细胞异体神经基质移植植物对脊髓前角运动神经元的保护作用[J].解剖科学进展,2005,11(3):206-209.
- [36] Zhong HB, Lu SB, Hou SX, et al. Zhonghua Shouwaik Zazhi. 2002;18(3):131.
衷鸿宾,卢世璧,侯树勋,等.犬化学去细胞神经同种异体移植的神经再生研究[J].中华手外科志,2002,18(3):131.
- [37] Yu HL, Peng J, Sun HY, et al. Zhongguo Xiufu Chongjian Waik Zazhi. 2008;22(11):1373-1377.
于海龙,彭江,孙华燕,等.化学去细胞同种异体神经复合缓释神经生长因子修复周围神经缺损[J].中国修复重建外科杂志,2008,22(11):1373-1377.
- [38] Hudson TW, Zawko S, Deister C, et al. Optimized acellular nerve graft is immunologically tolerated and supports regeneration. Tissue Eng. 2004;10(11-12):1641-1651.
- [39] Zhong HB, Lu SB, Hou SX, et al. Zhonghua Waik Zazhi. 2003;41(1):60.
衷鸿宾,卢世璧,侯树勋,等.人类去细胞同种异体神经移植植物化学萃取方法的研究[J].中华外科杂志,2003,41(1):60.
- [40] Chen GJ, Zhu QS, Xu XZ, et al. Zhongguo Jiaoxing Waik Zazhi. 2007;15(7):541-544.
陈冠军,朱庆生,徐新智,等.优化法去细胞大鼠神经同种异体移植修复坐骨神经缺损[J].中国矫形外科杂志,2007,15(7):541-544.
- [41] Qin CJ, Wang W, Li HY, et al. Zhongguo Yixue Gongcheng. 2006;14(4):340-342.
秦长江,王伟,李宏义,等.改良去细胞同种异体神经移植后免疫反应的观察[J].中国医学工程,2006,14(4):340-342.
- [42] Niu Y, Hu M, E LL, et al. Zhongguo Kouqiang Hemian Waik Zazhi. 2008;6(2):114-118.
牛宇,胡敏,鄂玲玲,等.去细胞异体面神经移植修复兔面神经缺损的实验研究[J].中国口腔颌面外科杂志,2008,6(2):114-118.
- [43] Hudson TW, Zawko S, Deister C, et al. Optimized acellular nerve graft is immunologically tolerated and supports regeneration. Tissue Eng. 2004;10(11-12):1641-1651.
- [44] Yao J, Lin XZ, Shi W, et al. Zhongguo Xiufu Chongjian Waik Zazhi. 2008;22(9):1068-1072.
姚健,林潇哲,施伟,等.大鼠陈旧性坐骨神经缺损修复期限的实验研究[J].中国修复重建外科杂志,2008,22(9):1068-1072.
- [45] Zhao DW, Du GJ, Zhang XM, et al. Zhonghua Chuangshang Zazhi. 1996;12(1):37-39.
赵德伟,杜国君,张晓明,等.血管束植入移植神经修复周围神经缺损[J].中华创伤杂志,1996,12(1):37-39.
- [46] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance Suggestions for the Care and Use of Laboratory Animals. 2006-09-30.