

• 综述 •

创伤条件下骨髓细胞向皮肤软组织细胞分化的研究进展

王君 李海红(综述) 付小兵 李存保(审校)

【关键词】 创伤; 骨髓细胞; 细胞分化

皮肤是人体最大的器官,具有抵御外界微生物入侵、排泄、防止水分蒸发、调节体温等重要作用,同时也是免疫系统的组成部分。目前对烧/创伤皮肤缺损的治疗常采用自体皮肤移植方法,但大面积烧/创伤患者常常存在自体皮肤不足的状况。近十余年,组织工程学的发展为大面积皮肤缺损修复开辟了新的途径,虽然研制了几种人工皮肤,但目前尚无一种能完全满足创面修复在功能上与外观上的需要,其存在的最大共同问题是均不能重建毛囊、皮脂腺、汗腺等皮肤附属器官,降低了皮肤对环境的适应能力。因此,进行烧/创伤皮肤的功能修复,是目前创伤修复的热点问题,也具有极大的临床应用前景。

组织损伤修复是一个极其复杂的生物学过程,需要有多种细胞、细胞外基质(ECM)成分以及各种调控因子的共同参与。目前认为,参与组织损伤修复的细胞来源主要有两大类:一类是定居于损伤组织自身的干细胞(resident stem cells),其在许多组织中已经被鉴定出来,包括神经^[1]、脂肪^[2]和表皮^[3]等;另一类是由骨髓迁移到损伤组织的骨髓来源细胞(bone marrow-derived cells)。归巢到损伤位点的骨髓来源干细胞或分化为损伤细胞的表型^[4,5],或通过创造增强修复的微环境来促进组织内源性细胞的再生^[6]。目前认为,骨髓中至少有两种多能干细胞群可能有助于组织修复,即造

基金项目:国家重点基础研究发展规划基金资助项目(2005CB522603);国家自然科学基金资助项目(30230370,30500194)

作者单位:100037 北京,解放军总医院第一附属医院(原解放军第三〇四医院)全军创伤修复重点实验室(王君,李海红,付小兵);010059 呼和浩特,内蒙古医学院(王君,李存保)

通讯作者:付小兵,博士(西班牙),博士研究生导师,研究员(Email: fuxb@cgw.net.cn)

作者简介:王君(1980-),男(汉族),内蒙古呼和浩特人,硕士研究生。

血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)和间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)。皮肤组织损伤后,在损伤细胞产生的趋化信号作用下,骨髓中的干细胞从骨髓动员到循环细胞池并迁移到损伤位点。在早期炎症阶段,这些细胞调节上皮细胞和真皮 MSCs 的增殖和迁移^[7],促进炎症细胞趋化,发动创伤修复过程;炎症消退后,骨髓来源的细胞可以分化为表皮角质细胞、皮脂腺细胞、毛囊上皮细胞、树突状细胞以及内皮祖细胞,并且可整合到愈合的皮肤^[8,9];上皮化完成后,HSCs 和 MSCs 都能产生 I、II 型胶原,长期重构愈合的真皮。

1 骨髓 MSCs 的生物学特性

MSCs 是来源于中胚层的具有多向分化潜能的干细胞,主要存在于全身结缔组织和器官间质中,以骨髓组织中最易获得,胎肝、胎儿脐血中亦可分离得到^[10]。骨髓中只含有少量 MSCs,约占单核细胞的 0.001%~0.010%,并随着年龄增加而减少。原代培养的 MSCs 经过 2~4 d 潜伏期,迅速集落性扩增,呈漩涡状生长,细胞呈均一的成纤维状形态。MSCs 中约有 20% 的细胞处于静止期(G0 期),表明 MSCs 有强大增殖能力。

MSCs 的表面标志具有非单一性特征,它表达间质细胞、内皮细胞和表皮细胞的表面标志,一般认为 CD29、CD44、CD166 及 SH2、SH3 是 MSCs 的重要标志物^[11,12],通过流式细胞仪研究细胞表面抗原发现,MSCs 分子表面不表达造血细胞表面抗原,如造血前体细胞标志抗原 CD34,白细胞标志抗原 CD45,淋巴细胞表面抗原 CD11a,单核细胞/巨噬细胞表面抗原 CD14,证明 MSCs 为非造血类细胞。

常见培养方法为全血接种法、氯化铵溶血法、密度梯度离心法、流式细胞仪分离法。Vlasselaer 等^[13]的实验表明,利用流式细胞仪分选的细胞,有很多不黏附于培养瓶,且在培养 24 h 后死亡,推测可能是分选操作抑制了 ECM 蛋白黏

附分子的合成和分选操作中的剪切力所致,称为“分选效应(sorting effect)”。吕昌伟等^[14]通过对全血培养法、溶血纯化法、密度梯度离心法进行比较性研究,结果显示在克隆形成率、首次传代时间、扩增成功率等指标方面,密度梯度离心法明显优于其他两种分离法。

在研究早期人们普遍认为,干细胞只在个体发育时向其最为相邻的细胞形态增殖,这一传统观念在过去 10 年的研究中被彻底颠覆。一些成体细胞显示出极为广阔的可塑性,因此,在临床应用中有着向多种组织分化的能力,这种可塑性是一把双刃剑,不稳定的细胞表型可以导致组织细胞功能和/或表型的退化,甚至分化为恶性细胞。成体干细胞的可塑性是指来源于一种器官或组织的干细胞被转移到另一种生长环境中,分化成与新的生长环境相适应的细胞。大多数人认为干细胞的分化与微环境密切相关,干细胞进入新环境后对新的微环境调节信号作出反应。

MSCs 连续传代和冷冻保存后仍具有多向分化潜能,体外培养 12 代仍能保持正常的染色体组型和端粒酶活性^[11]。在一定的诱导条件下,如微环境中的细胞因子、多维分化信号、ECM 成分以及同种或异种细胞间接触等,MSCs 具有向成骨细胞、软骨细胞、肌腱细胞、脂肪细胞^[15]、骨骼肌、平滑肌、造血支持基质^[16,17]等中胚层细胞分化的能力;同时可以向外胚层的星形胶质细胞^[18],神经元^[19,20],表皮或上皮组织^[21]及内胚层的肝卵圆细胞^[22]、血管内皮细胞^[23]和心肌细胞^[24]分化。

2 骨髓 HSCs 的生物学特性

HSCs 是较早进行研究的干细胞,1962 年 Goodman 等首先实验证明小鼠血液中存在 HSCs。HSCs 由胚胎期的中胚层细胞衍生而来,在卵黄囊、胎肝和骨髓中可分离得到。出生后 HSCs 包括骨髓干细胞和外周血干细胞。HSCs 约为整个骨髓细胞的 0.01%~0.05%,体积

较小,体积质量较轻,形态与小淋巴细胞相似;对 4-氢过氧环磷酸胺(4-HC)和 5-氟脲嘧啶(5-FU)有抵抗作用;罗丹明拒染或淡染。HSCs 可持续产生并且维持终生,具有自我更新和多向分化增殖潜能,99.5%以上处于 G0 期。HSCs 是体内各种血细胞的唯一来源,单个 HSCs 就可以重建整个造血系统所有髓系和淋巴系细胞。

已有研究显示,HSCs 的表型特征为 CD34⁺Thy-1⁺CD38⁻Lin⁻CD45RA⁺/Rh123^{low}。国内外研究都支持 CD34⁺ 是 HSCs 的主要标志物。但最近的研究发现,还存在着 CD34⁻HSCs,它能长期重建造血系统,并且可以分化为 CD34⁺ 细胞。Ziegler 等^[25]报道,血管内皮生长因子受体(KDR)可作为判别 HSCs 和造血祖细胞(hematopoietic progenitor cells, HPCs)的标志。KDR⁺在 CD34⁺ 细胞表达仅占 0.1%~0.5%,HSCs 细胞表面标志限定在 CD34⁺KDR⁺,而 HPCs 细胞表面标志则为 CD34⁺KDR⁻。Nishi 等^[26]报告,CD34⁻Lin⁻C-Kit⁺Scal⁺ 的部分 HSCs 具有长期重建造血的能力,因此,CD34⁺CD38⁻Lin⁻C-Kit⁺Scal⁺ 的细胞都是 HSCs。

获取高度均一的纯化细胞是开展细胞生物学特性等各项研究的基础。最近 20 年来建立的 HSCs 分选方法主要有流式细胞分选技术(FACS)、组织培养瓶铺展贴壁、亲和吸附柱(CEPRATE)、免疫磁珠法(MACS)等。但前 3 种方法存在纯度不高、技术要求高、仪器设备昂贵、影响细胞活力、易于污染等不足。免疫磁珠是一种包被有单克隆抗体的磁性微粒,可特异性地与靶物质(细胞、蛋白质、DNA 和细菌等)结合,使之具有磁顺应性,继而在外加磁场的作用下被滞留,从而与其他成分分离,达到富集纯化的目的。MACS 根据最终选留物质的不同可分为阳性选择(留取与磁珠结合的阳性物质)和阴性选择(留取不与磁珠结合的阴性物质)。

早期干细胞研究主要集中在 HSCs 上,且在 HSCs 移植及基因治疗血液病方面取得了巨大进展。单个 HSCs 可重建整个造血系统所有髓系和淋巴系细胞。现代干细胞技术研究表明,HSCs 较预期有更高的可塑性,可分化成为除造血组织外其他类型的组织细胞。Ohgushi 等^[27]研究发现,用 HSCs 依附在生物活

性材料上,扩增后植入皮下、肌肉或骨缺损处,在微环境作用下,可以向特定的方向转化,成为其他类型的细胞。Eglitis 等^[28]研究表明,HSCs 能够分化为星形胶质细胞、少突胶质细胞及小胶质细胞。Jackson 等^[29]发现,移植后 HSCs 可选择性自行迁移进入受体小鼠心肌梗死灶内,进一步分化形成心肌细胞和血管内皮细胞,参与形成有功能的心肌组织。Alison 等^[30]研究指出,骨髓干细胞或 HSCs 能够在鼠肝内转化成为肝卵圆细胞,甚至成熟的肝细胞和胆管细胞。

3 骨髓细胞对创伤皮肤软组织细胞的修复

骨髓细胞长久以来被认为是通过产生炎性细胞分泌的细胞活性因子及其相应的级联反应来参与皮肤损伤的修复。近年来研究表明,骨髓细胞也可以成为皮肤祖细胞一个重要补充源。目前在皮肤创伤修复的研究中常引入 GFP 转基因小鼠模型(green fluorescent protein-transgenic mice),其骨髓细胞中约有一半的细胞带有绿色荧光标记,在荧光显微镜的特定波长下可以显示绿色荧光。Kataoka 等^[31]和 Fathke 等^[32]将从 GFP 鼠股骨中获取的骨髓细胞注入到非 GFP 鼠体内,受体鼠在移植前要经过放射线如⁶⁰Co 或化疗药物如白消安等的处理,以破坏其免疫系统,防止移植排斥反应的发生;在移植后 10 周,免疫荧光显微镜下可观察到正常皮肤中有散在的绿色荧光标记,流式细胞技术检测到 GFP 阳性细胞约占皮肤中正常皮肤细胞的 14%,GFP 阳性细胞在非创伤表皮中发生浸润,在临近表皮的毛囊、内外毛根鞘局部、真皮乳头和邻近毛囊膨出部可见到很多 GFP 阳性细胞表达,但在皮脂腺和汗腺周围很少看到。在 GFP 嵌合体鼠的背部形成深达筋膜的创面,观察骨髓细胞对创面愈合和皮肤再生的促进作用,结果发现,创伤后 21 d,创面已达到完全上皮化。在新生成的血管、毛囊、真皮的横纹肌、皮脂腺和表皮中可以明显看到 GFP 阳性细胞,其中毛囊和皮脂腺中表达较高。同时对创面再生皮肤进行特异性免疫染色,发现 GFP 阳性细胞可以出现角蛋白和 GFP 抗体双重标志。这一发现强有力地证明了骨髓在皮肤组织损伤时有向表皮干细胞或祖细胞转化的趋势。Badiavas 等^[33]在实验中将 GFP 骨髓细胞与 C57BL 胎鼠的真皮细胞和

表皮细胞按比例混合涂抹到裸鼠背部创面,并用一个特制的硅胶帽罩住周边创面边缘,防止其在创伤愈合期间向创面蔓延生长。在创伤 4 周后,在创面形成与 C57BL 鼠相似的黑毛,提示重建的皮肤组织是由移植的细胞组成,而不是由宿主周边的残余皮肤细胞移行而来。在移植 3 周后重建皮肤的组织切片中,发现许多 GFP 阳性细胞出现在表皮、毛囊、皮脂腺和真皮中。在重建的组织中约有 372 个毛囊,其中 18 个(占 4.8%)含有 GFP 阳性细胞。在这些含有 GFP 阳性细胞的毛囊中 GFP 阳性细胞大约占细胞总数的 10%~90%,一些毛囊主要由 GFP 阳性细胞组成。在 87 个再生皮脂腺中有 10 个表达 GFP 阳性细胞,其腺体中的阳性表达率占 25%~90%。为了标记这些从骨髓细胞衍生的皮肤细胞,研究中采取了组化和特殊染色。结果发现,表皮基部和底部皮脂腺的 GFP 阳性细胞表达 CK1(一种表皮及其相关细胞典型的角蛋白标志物),在毛囊外根鞘的 GFP 阳性细胞表达 CK6,在真皮中未发现 GFP 阳性黑色素细胞。一些 GFP 阳性细胞形成一个环形结构,其内出现红细胞,这些细胞表达血管假血友病因子,这种因子是从表达有平滑肌肌动蛋白的细胞中分离得到的,提示这是新生的血管管腔。在表皮中同时还发现了树突状 GFP 阳性细胞。这一实验表明骨髓来源的细胞可以分化为组成皮肤组织的各种细胞。

4 MSCs 对创伤皮肤软组织细胞的修复

当前,有关 HSCs 对皮肤创面软组织细胞修复的研究鲜有报道。相反,近期 Rovo 等^[34]的研究却表明移入体内的 HSCs 并不能达到毛囊的重建。因此我们猜想在骨髓细胞中参与创伤皮肤软组织细胞重建的主要是 MSCs,并有望利用干细胞壁龛(niche)诱导 MSCs 分化来重建皮肤附属器官^[35]。当前国内对于该项的研究常采用 MSCs 体外培养标记,体内移植转化的方法进行观察。将获取的成体大鼠骨髓细胞在体外进行培养,传至第 3 代,移植前用 5 μmol/L 的 5-溴脱氧尿嘧啶(5-BrdU)的培养基孵育。应用 5-BrdU 标记细胞是目前细胞生物学研究手段中的一项基本技术,在细胞合成期(S 期)5-BrdU 替代胸腺嘧啶掺入细胞核内,可以作为体外培养的 MSCs 所特有的标记物,以区分在体细

胞。将标记好的 MSCs 注入到烧/创伤动物体内,一般在移植 3 周后,通过对创面组织的特异性组化染色显示,BrdU 阳性细胞多聚集在真皮层及皮下脂肪层的血管周围,部分细胞包绕血管或位于血管内皮处。部分阳性细胞同时表达Ⅷ因子,提示该细胞已转化为血管内皮细胞。有少量 5-BrdU 染色阳性细胞存在于表皮层。连续切片中 5-BrdU 阳性细胞同时表达角蛋白,并位于毛囊内层的上皮根鞘、表皮棘层和颗粒层内,呈立方形或多角形,与周围表皮细胞无形态学差异,可见其相邻生长。激光共聚焦显微镜观察,皮肤 5-BrdU 和角蛋白免疫荧光双染色也有类似结果显示。在一些实验中也初步观察到 5-BrdU 阳性细胞参与了皮脂腺导管的构成。

目前认为,局部应用 MSCs 治疗促进皮肤创面愈合,提高愈合质量可能通过以下几种途径:①MSCs 分泌的细胞因子和生长因子促进创面肉芽组织的形成、再上皮化及附件的再生。已有研究表明,在创伤环境下 MSCs 还能够分泌集落细胞刺激因子(G-CSF)、白细胞介素-6(IL-6)、IL-8、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等,影响创伤愈合的过程^[36]。②MSCs 转化为血管内皮细胞、表皮细胞及皮肤附件的某些结构参与修复。

目前,国内外对于皮肤创伤修复的研究虽然取得了一些进展,但均未解决汗腺损伤的修复问题。如果这一问题不能得到进一步解决,就不可能达到再生皮肤的完全功能修复目的。本实验室在利用 MSCs 对创伤修复取得了一些进展^[21,23,37],希望以此来推动创伤皮肤功能修复的进一步完善。李海红等^[38]体外分别分离培养和扩增人骨髓 MSCs 和人汗腺细胞(SGCs),用二步免疫细胞化学法检测骨髓 MSCs 和 SGCs 抗原表达情况。SGCs 经高温损伤后,大多数细胞的细胞间连接消失。与经 5-BrdU 标记的 MSCs 共同培养 2 周后,部分细胞同时表达癌胚抗原(CEA)和 BrdU,并且有多核现象。细胞染色显示双染细胞可达 1%~5%,多核细胞且核染色不同的细胞约为 0.01%~0.05%。通过以上实验我们认为,在损伤的微环境下,MSCs 可以向 SGCs 转化,其机制可能是细胞分化、细胞融合甚至是核融合。

参考文献:

1 Kulbatski I, Mothe A J, Nomura H, et al.

Endogenous and exogenous CNS derived stem/progenitor cell approaches for neurotrauma[J]. *Curr Drug Targets*, 2005, 6: 111-126.

2 Safford K M, Rice H E. Stem cell therapy for neurologic disorders: therapeutic potential of adipose-derived stem cells [J]. *Curr Drug Targets*, 2005, 6: 57-62.

3 Janes S M, Lowell S, Hutter C. Epidermal stem cells [J]. *J Pathol*, 2002, 197: 479-491.

4 Kajstura J, Rota M, Whang B, et al. Bone marrow cells differentiate in cardiac cell lineages after infarction independently of cell fusion [J]. *Circ Res*, 2005, 96: 127-137.

5 付小兵,程巍,盛志勇.有关创伤修复与组织再生的现代认识[J].*中国危重病急救医学*, 2002, 14: 67-68.

6 Hofstetter C P, Schwarz E J, Hess D, et al. Marrow stromal cells form guiding strands in the injured spinal cord and promote recovery [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2002, 99: 2199-2204.

7 Singer A J, Clark R A. Cutaneous wound healing [J]. *N Engl J Med*, 1999, 341: 738-746.

8 Bucala R, Spiegel L A, Chesney J, et al. Circulating fibrocytes define a new leukocyte subpopulation that mediates tissue repair [J]. *Mol Med*, 1994, 1: 71-81.

9 Badiavas E V, Abedi M, Butmarc J, et al. Participation of bone marrow derived cells in cutaneous wound healing [J]. *J Cell Physiol*, 2003, 196: 245-250.

10 Ericcs A, Conget P, Minguell J J. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood [J]. *Br J Haematol*, 2000, 109: 235-242.

11 Pittenger M F, Mackay A M, Beck S C, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells [J]. *Sciences*, 1999, 284: 143-147.

12 白晓东,付小兵.骨髓间充质干细胞诱导增殖分化信号的研究进展[J].*中国危重病急救医学*, 2004, 16: 318-320.

13 Vlasselaer P V, Falla N, Snoeck H, et al. Characterization and purification of osteogenic cells from murine bone marrow by two-colour cell sorting using anti-Sea-1 monoclonal antibody and wheat germ agglutinin [J]. *Blood*, 1994, 84: 753.

14 吕昌伟,胡蕴玉,白健萍.多样本骨髓间充质干细胞分离培养方法的量化比较[J].*中国临床康复*, 2003, 7: 1636-1637.

15 A I Caplan. The mesengenic process [J].

Clin Plast Surg, 1994, 21: 429-435.

16 Majumdar M K, Thiede M A, Mosca J D, et al. Phenotypic and functional comparison of cultures of marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) and stromal cells [J]. *J Cell Physiol*, 1998, 176: 57-66.

17 Dennis J E, Merriam A, Awadallah A, et al. A quadripotential mesenchymal progenitor cell isolated from the marrow of an adult mouse [J]. *J Bone Miner Res*, 1999, 14: 700-709.

18 Reyes M, Verfaillie C M. Skeletal smooth and cardiac muscle differentiation from single adult marrow derived mesodermal progenitor cells [J]. *Blood*, 1999, 94: 586a.

19 常颖,齐欣,卜丽莎,等.成人骨髓间充质干细胞体外多向分化潜能特性的研究[J].*中国危重病急救医学*, 2005, 17: 95-97.

20 Brazelton T R, Rossi F M V, Keshet G I, et al. From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice [J]. *Science*, 2000, 290: 1775-1779.

21 方利君,付小兵,孙同柱,等.在体诱导骨髓间充质干细胞分化为表皮细胞的初步观察[J].*中华创伤杂志*, 2003, 19: 212-214.

22 Robert E, Schwart Z, Morayma R, et al. Verfaillie multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells [J]. *J Clin Invest*, 2002, 109: 1291-1302.

23 方利君,付小兵,孙同柱,等.骨髓间充质干细胞分化为血管内皮细胞的实验研究[J].*中华烧伤杂志*, 2003, 19: 22-24.

24 Hiroshi K, Jun F, Kentaro K, et al. Non-hematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction [J]. *Blood*, 2004: 1488.

25 Ziegler B L, Valtieri M, Porada G A, et al. KDR receptor: a key marker defining hematopoietic stem cell [J]. *Science*, 1999, 285: 1553-1558.

26 Nishi H, Nishimura S, Higashiura M, et al. A new method for histamine release from purified peripheral blood basophils using monoclonal antibody coated magnetic beads [J]. *J Immunol Methods*, 2000, 240: 39-46.

27 Ohgushi H, Caplan A I. Stem cell technology and bioceramics: from cell to gene engineering [J]. *J Biomed Mater Res*, 1999, 48: 913-927.

28 Eglitis M A, Mezey E. Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brains of adult mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 4080-4085.

- 29 Jackson K A, Majka S M, Wang Hougu, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells [J]. J Clin Invest, 2001, 107: 1395 - 1402.
- 30 Alison M R, Poulson R, Jeffery R, et al. Hepatocytes from nonhepatic adult stem cells [J]. Nature, 2000, 406: 257.
- 31 Kataoka K, Medina R J, Kageyama T, et al. Participation of adult mouse bone marrow cells in reconstitution of skin [J]. Am J Pathol, 2003, 163: 1227 - 1231.
- 32 Fathke C, Wilson L, Hutter J, et al. Contribution of bone marrow - derived cells to skin: collagen deposition and wound repair [J]. Stem Cells, 2004, 22: 812 - 822.
- 33 Badiavas E V, Abedi M, Butmarc J, et al. Participation of bone marrow derived cells in cutaneous wound healing [J]. J Cell Physiol, 2003, 196: 245 - 250.
- 34 Rovo A, Meyer - Monard S, Heim D, et al. No evidence of plasticity in hair follicles of recipient after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. Exp Hematol, 2005, 33: 909 - 911.
- 35 付小兵. 利用成体干细胞可塑性潜能重建受创皮肤解剖和生理功能研究的现状与展望 [J]. 中华实验外科杂志, 2003, 20: 965 - 966.
- 36 艾国平, 粟永萍, 闫国和, 等. 骨髓间充质干细胞对合并局部放射损伤创面愈合作用及机理研究 [J]. 中华医学杂志, 2002, 82: 1632 - 1636.
- 37 付小兵, 方利君, 王玉新, 等. 骨髓间充质干细胞自体移植提高猪皮肤创面修复质量的初步研究 [J]. 中华医学杂志, 2004, 84: 920 - 924.
- 38 李海红, 付小兵, 周岗, 等. 人骨髓间充质干细胞与汗腺细胞共同培养诱导细胞表型转化的初步研究 [J]. 中华医学杂志, 2005, 85: 1885 - 1889.

(收稿日期: 2005 - 12 - 08)

(本文编辑: 李银平)

• 经验交流 •

综合治疗银环蛇咬伤 82 例

卢春喜

【关键词】 蛇咬伤; 中毒; 综合治疗

银环蛇毒是神经毒素, 一般咬伤后当时无明显不适感, 伤后 1~4 h 出现全身中毒症状, 往往因喉头水肿, 外周呼吸肌麻痹以及心脏束支传导阻滞而死于呼吸、循环衰竭^[1]。1996 年 5 月—2005 年 8 月, 共收治银环蛇咬伤患者 82 例, 采取综合治疗方法, 效果满意, 报告如下。

1 临床资料

1.1 病例: 82 例中男 48 例, 女 34 例, 年龄 18~67 岁。受伤部位: 上肢 28 例, 下肢 54 例。咬伤距就诊时间: 10 min~3 h, 65 例为伤后 1 h。伤口有 2 个牙痕, 针尖样大小, 间距 0.8~1.5 cm, 伤口不红、不肿、不痛或仅微痛、有麻木感。

1.2 治疗方法: ①局部处理: 蛇咬伤后立即用绳带结扎伤口上端, 每隔 15~20 min 松解 1~2 min, 直至局部处理完毕。蛇咬伤后 10 min 内用火柴头反复烧灼牙痕, 再用刀片划破伤口, 负压吸引毒液, 用清水或冷盐水反复冲洗伤口。用质量分数为 2% 的普鲁卡因加 α -糜蛋白酶或 1: 500~1: 1 000 高锰酸钾溶液 1~3 ml 环形封闭伤口。中草药任选半枝莲、犁头草、匍匐堇、东风菜、鸭跖草、万年青、蛇莓中的一种, 洗净、捣烂, 外敷伤

作者单位: 321300 浙江省永康市西城街道卫生院

作者简介: 卢春喜 (1954 -), 男 (汉族), 浙江永康人, 主治医师。

口。②全身治疗: 石老鼠 5 g^[2], 水黄连 5 g, 青木香 2 g, 八角莲 4 g, 开口箭 4 g, 七叶一枝花 3 g, 研粉, 冷开水送服, 每日 2~3 次, 病情严重者增加剂量及用药次数, 并加服人工牛黄 0.2 g^[3], 必要时重复使用。尽早使用抗银环蛇毒血清 8 kU 加入到质量分数为 25%~50% 的葡萄糖 20 ml 中静脉注射, 病情严重者加用抗银环蛇毒血清 8 kU 加入到质量分数为 5% 的葡萄糖盐水 250~500 ml 中静脉滴注。用药前进行皮肤过敏试验。另给予激素、莨菪类药、氨茶碱、广谱抗生素、破伤风抗毒素及支持疗法治疗。

1.3 疗效判定标准^[4]: ①治愈: 全身及局部症状消失, 合并症消除, 无后遗症。②显效: 全身症状消失, 局部伤口仍有少许微痛或麻木感。③无效: 经治疗后症状加重或死亡。

1.4 结果: 82 例中, 2 d 内治愈 18 例, 均为小银环蛇咬伤或咬伤浅表的患者; 3~5 d 治愈 62 例; 7 d 治愈 1 例; 12 d 治愈 1 例, 总有效率 100%。

2 讨论与体会

银环蛇咬伤治疗困难, 病死率极高, 早期诊断和及时处理是治疗成功的关键。由于银环蛇个体较小、毒牙短、牙痕不深、毒液少, 咬伤时毒液仅限于皮下组织, 范围不广, 采用局部烧灼可使蛇毒蛋白凝固而失去毒性; 负压吸引、环形封

闭、草药外敷治疗, 可阻断蛇毒沿静脉及淋巴管扩散。抗银环蛇血清具有中和血中蛇毒素、控制和消除全身中毒症状的功效, 且作用快; 但对已损伤的内脏功能和局部变化几乎无作用。笔者在临床诊治过程中体会到, 伤后 2 h 使用效果最佳, 被一条银环蛇咬伤一般使用一支抗银环蛇毒血清, 同时加用地塞米松 10~20 mg, 以防变态反应发生。

中草药是治疗银环蛇咬伤的有效方法, 笔者体会到人工牛黄、石老鼠对银环蛇毒素有明显的解毒功能, 使用后可迅速改善中毒症状, 恢复器官功能, 加用人工牛黄、青木香、八角莲、开口箭、七叶一枝花等草药效果更佳。配合西医疗法, 可扬长避短, 提高疗效。

参考文献:

- 1 王晓燕, 王允生. 毒蛇咬伤的中医药治疗 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2005, 12: 122 - 124.
- 2 黄燮才. 实用中草药原色图谱 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 1997: 210.
- 3 钱信忠. 中国本草彩色图鉴下卷 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 456.
- 4 李景新, 林天辅, 余佩琦, 等. 中西医结合治疗毒蛇咬伤 773 例 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2000, 7: 215 - 216.

(收稿日期: 2005 - 10 - 10)

(本文编辑: 郭方)