

腹壁-盲肠损伤粘连模型的建立及 mXG 温敏水凝胶的防粘连机制研究*

李硕峰^{1,2}, 李 傲^{1,2}, 赵露安¹, 李景武³, 闫志文¹, 马丽桃¹,
张二帅⁴, 熊艳杰⁵, 孙 红¹, 姚芳莲⁴, 车鹏程^{1△}

1. 华北理工大学基础医学院(唐山 063210); 2. 华北理工大学临床医学院(唐山 063000);
3. 唐山市人民医院 胃肠外科(唐山 063001); 4. 天津大学化工学院 高分子科学与工程系(天津 300350);
5. 华北理工大学附属医院 病理科(唐山 063000)

【摘要】 目的 构建腹壁-盲肠损伤粘连模型并探究改性木葡聚糖(mXG)温敏水凝胶对腹壁-盲肠损伤粘连的防治效果。**方法** 选用SD大鼠构建腹壁-盲肠损伤粘连模型,随机分为空白对照组(Control)、商业化壳聚糖膜对照组(Film)和mXG温敏凝胶组(Hydrogel),每组16只。Hydrogel组,将1 mL 4%(m/V)mXG溶液涂抹至腹壁和盲肠的创面,待凝胶形成(3 min)后关腹;Film组,关腹前将2 cm×3 cm大小的壳聚糖防粘连膜覆盖于腹壁创面;Control组,关腹前将1 mL生理盐水注射于腹壁和盲肠的创面。术后7 d和14 d,开腹检查腹壁与盲肠的粘连情况,采用双盲设计进行粘连评分。取同一部位粘连组织或创面组织,进行HE、Masson和Van Gieson染色后,进行防粘连效果组织学评价,免疫组织化学染色检测转化生长因子-β1(TGF-β1)和结缔组织生长因子(CTGF)的表达情况。另取12只SD大鼠予以造模和mXG温敏水凝胶干预,术后第1周和6周取心、肝、脾、肺、肾等主要脏器使用HE染色进行组织学检查,进行体内毒性评价。**结果** 动物模型大体观察发现,Hydrogel组的大鼠基本未发生粘连,Film组发生轻度粘连,Control组发生了严重的粘连,差异有统计学意义($P<0.05$)。组织学镜下观察发现,7 d时Hydrogel组创面恢复良好,未看到变异的组织,有一定程度的炎性细胞浸润;14 d时创面组织中的炎性细胞明显减少,新生间皮层下仅含有少量胶原纤维的愈合组织;而7 d、14 d,其余两组均出现不同程度粘连的病理表现。免疫组织化学染色发现,Hydrogel组TGF-β1和CTGF的阳性表达一致且较其它两组弱,差异有统计学意义($P<0.05$)。体内毒性检测发现,使用mXG凝胶的动物在不同时间点各脏器的结构均没有出现明显变化。**结论** mXG温敏水凝胶能够在粘连形成的关键时期起到良好的物理隔离作用,有效预防盲肠-腹壁粘连的发生。

【关键词】 腹壁-盲肠损伤粘连模型 mXG 可注射温敏水凝胶 预防腹腔粘连

Modeling of Abdominal Wall-Cecum Injury Adhesion and the Anti-adhesion Mechanism of mXG LI Shuo-feng^{1,2}, LI Ao^{1,2}, ZHAO Lu-an¹, LI Jing-wu³, YAN Zhi-wen¹, MA Li-tao¹, ZHANG Er-shuai⁴, XIONG Yan-jie⁵, SUN Hong¹, YAO Fang-lian⁴, CHE Peng-cheng^{1△}. 1. College of Basic Medical Sciences, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210, China; 2. College of Clinical Medicine, North China University of Science and Technology, Tangshan 063000, China; 3. Gastrointestinal Surgery of Tangshan People's Hospital, Tangshan 063001, China; 4. Department of Polymer Science and Engineering, School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300350, China; 5. Department of Pathology, the Affiliated Hospital, North China University of Science and Technology, Tangshan 063000, China

△ Corresponding author, E-mail: 3725930@163.com

【Abstract】 Objective To construct the adhesion model of abdominal wall-cecum injury and explore the prevention and treatment effect of modified xyloglucan (mXG) thermosensitive hydrogel on abdominal wall-cecal injury adhesion. **Methods** SD rats were used to construct the abdominal wall-cecal injury adhesion model. Model mice were randomly divided into blank control group (Control), commercial chitosan membrane Control group (Film) and mXG thermosensitive hydrogel group (Hydrogel), each group contained 16 rats. In the Hydrogel group, 1 mL 4% (m/V) mXG solution was smeared on the wound surface of abdominal wall and the cecum, then closed the abdomen after gel was formed (3 min). In the Film group, 2 cm×3 cm chitosan anti-adhesion Film was applied onto

* 国家级大学生创新创业训练计划项目(No. 201810081005)、河北省自然科学基金(No. H2017209005)、唐山市科技创新团队培养计划项目(No. 18130211B)、唐山市人才项目(No. A201903014)和华北理工大学大学生创新创业训练计划项目(No. X2018009、No. X2019165)资助

△ 通信作者, E-mail: 3725930@163.com

the wound surface of the abdominal wall before abdominal closure. In the Control group, 1 mL normal saline was applied onto the wound surface of abdominal wall and the cecum before abdominal closure. On 7 and 14 d after the operation, rats' abdominal cavity was opened by surgery to examine and score the adhesion grade between the abdominal wall and the cecum, with double-blind design. Meanwhile, the adhesion tissue or wound tissue was taken and stained by HE, Masson and Van Gieson to histological evaluate the anti-adhesion effect. The expression of transforming growth factor- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) and connective tissue growth factor (CTGF) was determined by immunohistochemical staining as well. Another group of 12 SD rat models were subjected to mXG thermosensitive hydrogel intervention. At the 1 and 6 weeks postoperation, rats main organs such as heart, liver, spleen, lung and kidney were taken for histological examination with HE staining for the purpose of evaluation the toxicity of mXG *in vivo*. **Results** Adhesion grade evaluation results showed that Film group rats occurred mild adhesion, Control group rats occurred severe adhesion, while in Hydrogel group hardly rats occurred adhesion, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Histological results showed that the Hydrogel group rats recovered well at 7 d after surgery. In healing wound tissue, no mutated tissue was observed, but a certain degree of inflammatory cell infiltration was still existed. At 14 d after surgery, the inflammation cells in the wound were significantly reduced, and the healing tissue containing only a small amount of collagen fibers under the neonatal mesothelial layer. But the other two groups showed different degrees of adhesion at the 7 and 14 d post surgery. Immunohistochemical staining showed that the expression of TGF- $\beta 1$ and CTGF in the Hydrogel group were both weaker than those in the other groups, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). *In vivo* toxicity tests did not show significant changes in the structure of the organs of mXG gel intervention rats at different time points. **Conclusion** mXG thermosensitive hydrogel plays a good role in physical isolation during the key period of adhesion formation and effectively prevent the occurrence of cecum-abdominal adhesion.

【Key words】 Adhesion model of abdominal wall-cecum injury mXG Injectable temperature-sensitive hydrogel Prevention of abdominal adhesion

术后粘连是外科手术领域普遍存在的问题^[1]。物理隔离材料和药物治疗是目前预防术后粘连的常用方法,但药物在腹腔间隙会被快速清除^[2-3],固态膜难以实现对创面的完全覆盖,也不能用于微创手术,限制了其临床治疗效果^[4]。液态类防粘连材料虽然提高了便利性和创面覆盖率,但是其在创面的滞留时间短,因而防粘连的效果并不理想^[5-8]。理想的阻隔材料应该具有良好的生物安全性和生物可降解性,能在腹膜重塑的急性期持续发挥作用,并且不需缝合和固定,不受术野渗血影响,并能结合微创疗法等特点^[9]。因此,兼具液体材料操作便利性和固态膜材料物理屏障性的可注射原位水凝胶引起了人们的广泛关注,但其大多数在体内使用时会带来一些生物安全性问题。研究和开发具有良好的生物相容性和可降解性,并且凝胶在降解过程中能够保持良好完整性的材料具有非常重要的意义^[10]。本课题组与天津大学化工学院合作,通过温和的酶解反应脱除木葡聚糖侧链的部分半乳糖,得到具有可逆“gel-sol”转变的改性木葡聚糖(mXG)温敏可注射水凝胶,并将 mXG 凝胶用于腹壁和盲肠损伤的 SD 大鼠,通过大体观察、组织学观察和体内毒性研究,评价其预防粘连的效果。

1 材料与方法

1.1 实验动物和主要试剂

清洁级健康雄性 SD 大鼠 60 只,体质量 200~240 g,购自中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所实验动物中心。所有动物在温度 22~24 °C,相对湿度 45%~55% 环境下单笼饲养,术前 12 h 对实验大鼠禁食。mXG 由天津大学化工学院合成;医用壳聚糖防粘连膜材料粘停宁(Film)购自山东烟台万利医用品公司;转化生长因子(TGF)- $\beta 1$ 抗体购自艾菲生物技术有限公司;结缔组织生长因子(CTGF)抗体购自艾菲生物技术有限公司;一抗稀释液购自北京中杉金桥公司;羊抗小鼠/兔 IgG 聚合物购自北京中杉金桥公司;DAB 显色剂购自北京中杉金桥公司。

1.2 腹壁-盲肠损伤粘连模型的建立

用 3 mL/kg 水合氯醛通过腹腔注射麻醉大鼠,将大鼠固定于实验手术台,下腹部备皮,消毒,铺巾,沿下腹部皮肤中心线做 5 cm 切口。用止血钳夹住右侧腹壁,在腹壁内距离中心切口约 1 cm 处先用手术刀划出深度约 0.5 mm、大小 1 cm×2 cm 的区域,之后使用眼科剪将该区域的浅层肌剥离,形成出

血创面;然后在与腹壁创面相对应的盲肠表面使用手术刷轻轻磨擦直到盲肠浆膜层被破坏至有明显的点状出血,至此腹壁-盲肠缺损制作完成。然后用3-0缝合线将盲肠的肠系膜缝合固定于腹壁创面的右上角处,以保证腹壁和盲肠的创伤面相互之间能够充分接触,分组干预(方法见1.3),最后使用3-0缝合线对腹壁肌肉层和皮肤层分别进行连续缝合关腹,所有操作均在无菌条件下进行。

1.3 动物分组及处理

按照1.2方法对48只SD大鼠造模后,将其平均分为3组,分别为mXG凝胶组(Hydrogel)、商业化壳聚糖膜对照组(Film)以及空白对照组(Control)。Hydrogel组,用无针头的注射器将1 mL 4%(m/V)mXG溶液涂抹至腹壁和盲肠的创面,待凝胶形成(3 min)后关腹;Film组,关腹前将2 cm×3 cm大小的壳聚糖防粘连膜覆盖于腹壁创面;Control组,关腹前将1 mL生理盐水注射于腹壁和盲肠的创面。

1.4 样本组织防粘连效果评分

术后1~3 d内每天肌注一次头孢消炎药,术后7 d和14 d,通过腹腔注射过量水合氯醛分别处死各组中的动物($n=8$),开腹后检查腹壁与盲肠的粘连情况,并参照粘连5级评分标准对粘连进行评分^[1](0~5分粘连程度从无到重),为保证评分的客观性,实验采用双盲设计,手术者不参与打分。

1.5 样本组织防粘连效果组织学评价

术后7 d和14 d取材,对于粘连发生的区域,切取腹壁-盲肠粘连区域的组织为样本;对于未粘连的区域,分别切取腹壁和盲肠的创面组织为样本。采用体积分数4%多聚甲醛溶液固定,石蜡包埋切片,分别对同一部位进行HE、Masson和Van Gieson染色后使用光学显微镜进行组织学检查。

1.6 免疫组织化学染色检测样本组织TGF- β 1和CTGF的表达情况

石蜡切片,脱蜡,柠檬酸盐缓冲液(pH=8.0)高压修复2 min 30 s,3% H_2O_2 、5%牛血清白蛋白封闭,滴加浓度1:100的TGF- β 1一抗或CTGF一抗,放置4℃冰箱过夜,滴入二抗羊抗小鼠/兔IgG聚合物,放置37℃温箱孵育半小时。DAB显色,细胞质或细胞核内出现棕色或棕黄色颗粒为阳性。每组8张切片,切片随机取5个400倍视野,每个视野均进行阳性细胞百分比计分与着色强度记分。阳性细胞百分比记分按视野内阳性细胞所占总细胞数的比例<5%、<25%、25%~50%、51%~75%、>

75%分别记为0、1、2、3、4分。着色强度记分:按阳性细胞着色,无着色或与背景颜色均匀一致的淡黄色、弱(浅棕黄)、中(棕黄)、强(棕褐)分别记分为0、1、2、3分。以上两种评分之和作为最后的免疫组织化学评分:0~1分为阴性(-);2~3分为弱阳性(+);4~5分为中等阳性(++);6~7分为强阳性(+++)。

1.7 mXG温敏水凝胶的体内毒性评价

按照1.2、1.3的方法对12只SD大鼠实施造模手术和mXG溶液注射。术后观察并记录其体重、饮食、饮水、活动性。术后1周和6周分别处死6只大鼠,取其心、肝、脾、肺、肾,利用HE染色进行组织学观察,以1.3中空白对照组大鼠7 d处死解剖的脏器作为对照。

1.8 统计学方法

检测结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 术后粘连大体评价

术后7 d内,Control组有2只大鼠腹部发生明显肿胀,且排便明显减少。在第7天,Control组大鼠均形成了腹壁盲肠致密广泛的粘连。部分肿胀的动物中发现了明显的肠梗阻症状,见图1A。Film组大鼠腹腔均发生了不同程度粘连,以中度粘连居多,使用钝器用力撕扯即可将粘连分离,此外有2只大鼠出现了网膜与盲肠擦伤区域的粘连,见图1B。Hydrogel组大鼠未出现腹水增多,且均未发生粘连,损伤的腹壁创面愈合良好,仅能看到轻微的浅色疤痕,其面积明显小于初始创面,盲肠也基本恢复正常,部分可见轻微擦伤痕迹,且在腹腔中未看到有残余的凝胶,见图1C。

术后14 d时,Control组所有大鼠在缺损腹壁和擦伤盲肠之间都形成非常严重的粘连,并且粘连延伸到未受损伤的部位之外。此外1只大鼠出现了网膜与腹部切口间的粘连,3只出现了网膜与盲肠擦伤区域的粘连,见图1D。在Film组中,大多数大鼠出现了较严重的致密性粘连,见图1E。Hydrogel组有2只大鼠在腹壁盲肠创面部位出现了轻度的粘连,其它大鼠均未发生粘连,且盲肠和腹壁创面恢复良好,见图1F。

2.2 术后粘连评分

Control组中,术后7 d所有的大鼠粘连评分为4~5分;14 d时,几乎全部大鼠粘连评分为5分。

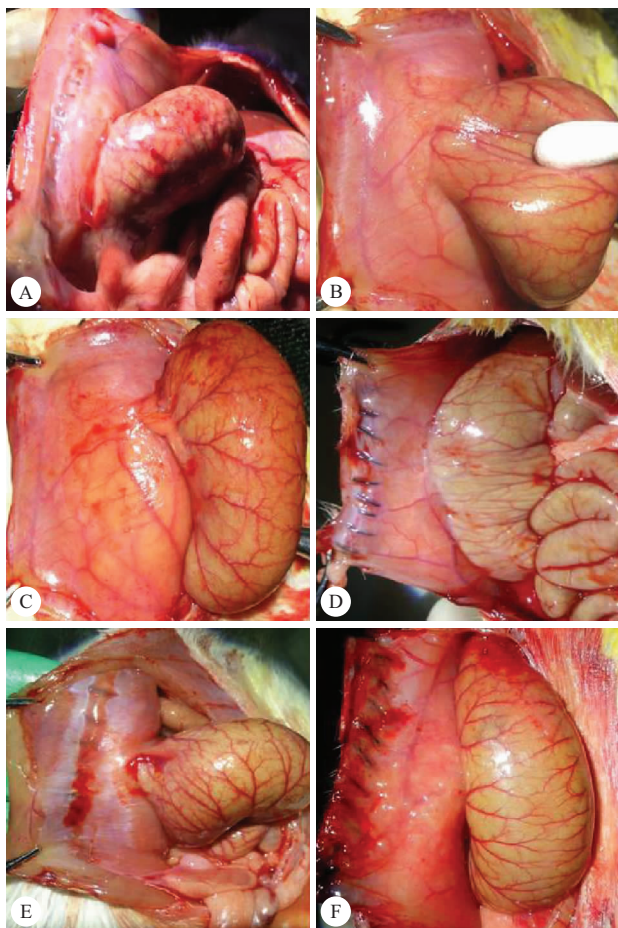


图 1 术后粘连大体评价

Fig 1 General evaluation of postoperative adhesion

The adhesion conditions at 7 d (A-C) and 14 d (D-F) after surgery of Control group (A, D); Film group (B, E); Hydrogel group (C, F)

Film 组中,大鼠在 7 d 时均发生了粘连,大部分粘连评分为 3~4 分,14 d 时粘连评分为 5 分的较少。Hydrogel 组中,绝大多数的大鼠都未发生粘连(0 分),少数发生粘连的动物其粘连评分也较低(1 分),见图 2。7 d 和 14 d, Hydrogel 组粘连评分低

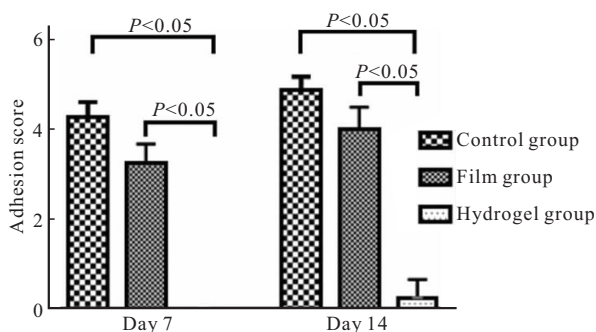


图 2 术后 7 d 和 14 d 各组的粘连分数(n=8)

Fig 2 The adhesion scores at 7 d and 14 d of different groups (n=8)

于 Film 组和 Control 组,差异有统计学意义($P<0.05$),而 Film 组和 Control 组的粘连评分差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 术后组织学评价

术后 7 d 对粘连组织进行分析,见图 3,Control 组大鼠标本 HE 染色结果显示腹壁和盲肠之间通过致密的粘连组织连接在一起,Masson 染色结果显示在粘连区域有大量的胶原纤维存在,在 Van Gieson 染色中对应位置被特异性染成红色。在 Film 组中,受损的腹壁和盲肠间也出现了明显的粘连,但是相对 Control 组,其粘连组织结构较为松散。在 Hydrogel 组中,大鼠腹壁和盲肠的创面恢复良好,未发生粘连,创面表层已经出现层次清楚、均匀分布的新生间皮层,创面有部分炎性细胞浸润。通过 Masson 和 Van Gieson 染色,在间皮细胞层下方可以看到不同程度的纤维化组织。

术后 14 d(图 3),Control 组大鼠标本组织的粘连更为致密,且粘连区域的厚度增加,粘连组织中可明显看到新生血管的出现。Film 组大鼠标本组织相对于 7 d 时更加规整和致密,粘连区域的厚度明显增加,且部分区域可见新生血管。Hydrogel 组大鼠标本组织未发生粘连,盲肠腹壁损伤组织中的炎性细胞明显减少,可见少量纤维结缔组织,表面被覆成熟的间皮层,与正常的盲肠和腹壁组织形态类似。

2.4 术后组织标本 TGF- β 1 和 CTGF 的表达变化

见图 4A、表 1。术后 7 d,Hydrogel 组大鼠组织标本 TGF- β 1 阳性表达较弱,阳性部位为粘连组织内的血管内皮细胞和成纤维细胞。Control 组与 Film 组大鼠组织标本中,粘连区域有大量的胶原纤维,其中成纤维细胞、血管内皮细胞中 TGF- β 1 呈弥漫性阳性表达。术后 14 d,Control 组大鼠组织标本粘连组织致密而广泛,TGF- β 1 呈弥漫阳性表达。Film 组大鼠组织标本中,TGF- β 1 在粘连组织内的成纤维细胞、血管内皮细胞中有较强表达。Hydrogel 组大鼠组织标本中,TGF- β 1 主要表达在一些散在的成纤维细胞、血管内皮细胞。与 Control 组相比,Film 组和 Hydrogel 组 TGF- β 1 阳性表达较低,术后 7 d、14 d 的差异有统计学意义($P<0.05$),且 Hydrogel 组 TGF- β 1 阳性表达较 Film 组更低($P<0.05$)。

见图 4B、表 1。术后 7 d 和 14 d,Control 组大鼠组织标本中 CTGF 在无序的梭形成纤维细胞中广泛表达。Film 组大鼠组织标本中,可明显看到 CTGF 在成纤维细胞和血管中阳性表达。Hydrogel

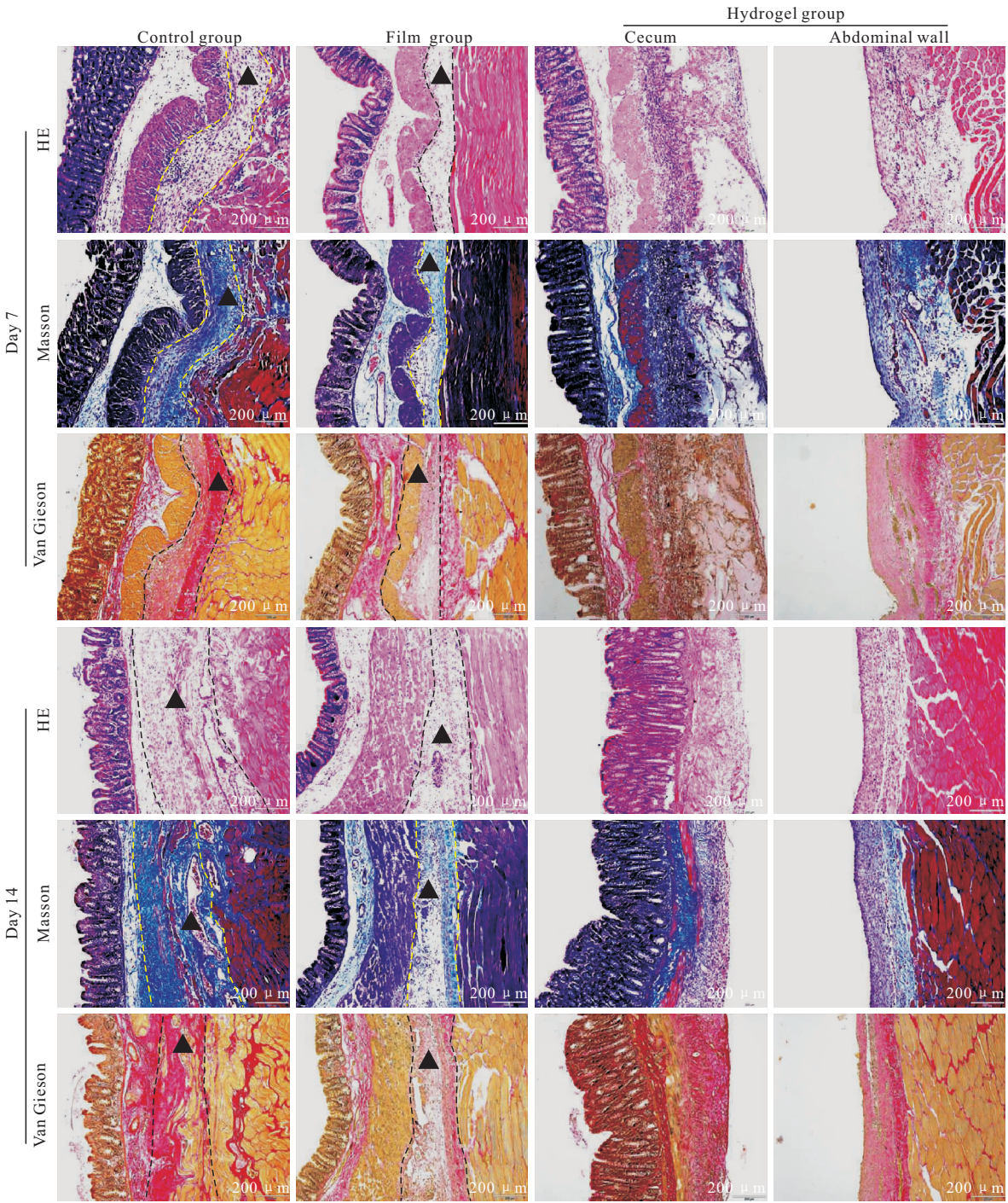


图 3 术后 7 d 和 14 d 组织学评价
Fig 3 Histologic evaluation 7 d and 14 d after surgery (▲Adhesion)

组中 CTGF 仅在极少的成纤维细胞的细胞质中表达。与 Control 组相比, Film 组和 Hydrogel 组大鼠组织标本中, CTGF 阳性表达较低, 术后 7 d、14 d 的差异有统计学意义 ($P<0.05$), 且 Hydrogel 组和 Film 组相比, CTGF 阳性表达更低 ($P<0.05$)。

2.5 mXG 温敏水凝胶的体内毒性

从大体行为角度观察, 整个实验过程中所有的大鼠行为和活动均正常, 并且对光、声音等刺激非常

敏感, 未观察到如反应迟钝、行动迟缓及饮食饮水减少等异常反应。各时间点大鼠称重结果显示其与同龄正常大鼠体质量无明显差异。

术后不同时间点, 心、肝、脾、肺及肾等主要脏器的组织学检查结果见图 5。与正常的组织相比, 所有使用 mXG 凝胶的大鼠在时间点各器官的结构均未出现明显变化, 以肝脏切片为例, 各组肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列, 形成肝细胞索。肝细

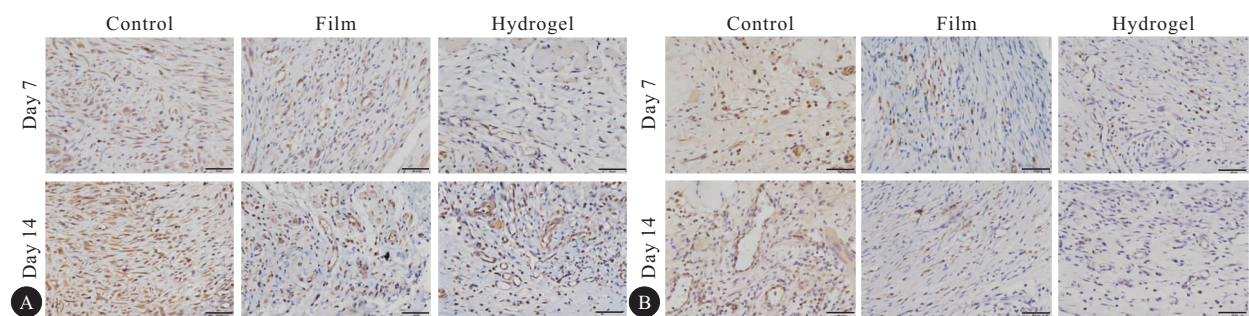


图 4 术后 TGF-β1(A)和 CTGF(B)表达变化。免疫组化染色

Fig 4 Changes in expression of TGF-β1 (A) and CTGF (B) after surgery. Immuno-histochemical staining, bar=50 μm

表 1 术后各组 TGF- 1、CTGF 免疫组织化学评分结果(̄x±s)

Table 1 Results of TGF- 1、CTGF immunohistochemical scores in each group after surgery (̄x±s)

Group	n	TGF-β1		CTGF	
		7 d	14 d	7 d	14 d
Control	8	6.00±0.70	6.80±0.44	5.60±0.54	6.20±0.83
Film	8	4.80±0.83 *	5.20±0.83 *	4.20±0.83 *	4.60±0.54 *
Hydrogel	8	2.20±0.45 *、#	3.60±0.89 *、#	1.80±0.45 *、#	3.20±0.83 *、#

* P<0.05, vs. Control group; # P<0.05, vs. Film group

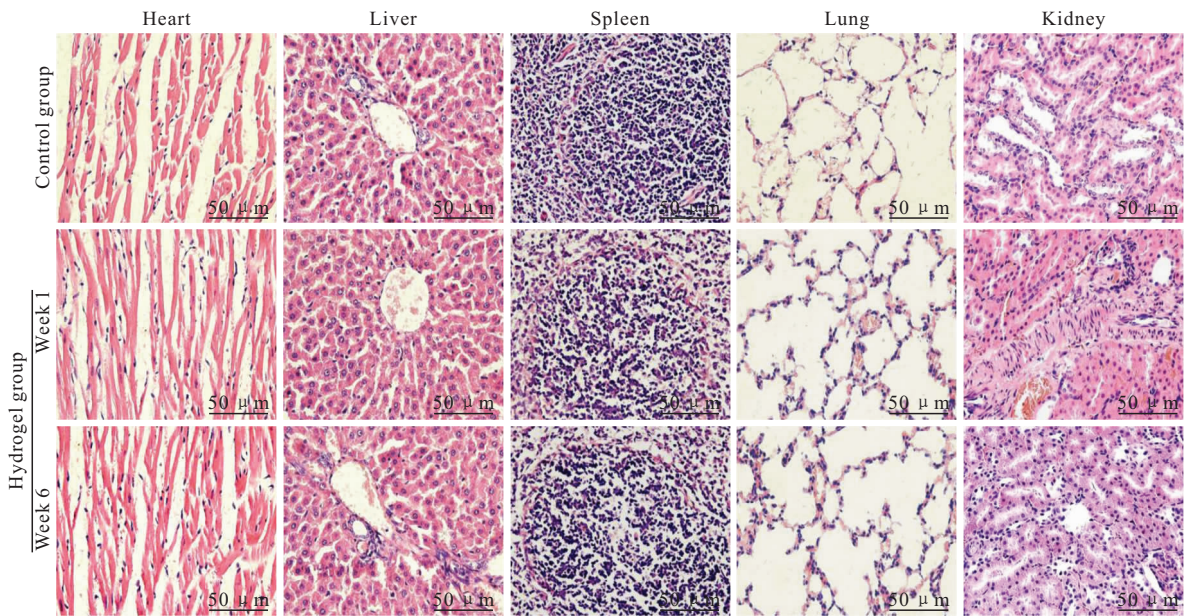


图 5 各组大鼠组织的术后 HE 染色

Fig 5 HE staining of different tissues after operation in normal animals (Control group) and animals using mXG gel as anti-adhesion material (Hydrogel group)

胞为多角形，核圆居中，未看到有变性、坏死区域。

3 讨论

腹腔术后粘连为外科手术后的常见并发症，其发生机制还未得到彻底的阐明，与手术的损伤、组织缺血缺氧、以及异物刺激，炎细胞、间皮细胞和成纤维细胞渗出、增殖，释放大量炎性细胞因子等因素共

同作用有关。防治粘连一直以来是腹部外科研究的重点和难点^[12]。课题组前期与天津大学化工学院合作，构建了具有“低温溶胶，体温凝胶”特性的温敏水凝胶(待发表)。

本研究为了评价 mXG 凝胶的术后防粘连效果，首先建立了大鼠腹壁-盲肠损伤粘连模型，然后将 mXG 凝胶用于腹壁和盲肠的创面，并分别以生

理盐水和商业化产品壳聚糖防粘连材料作为对照。在手术过程中,商业膜极易粘黏在手术器械表面,且一旦覆盖就无法调整位置,而 mXG 溶液可以通过注射器涂抹的方式形成对创面的完全覆盖,之后能够快速在原位形成凝胶。大体观察和粘连评分可知,Hydrogel 组较其它两组防粘连效果显著,差异有统计学意义($P < 0.05$)。表明 mXG 凝胶在腹壁-盲肠损伤粘连模型中具有非常好的防粘连效果。

本研究在对粘连大体观察的基础上,从病理学角度对术后粘连的效果进行组织学分析。在 Control 组中,胶原纤维的沉积是粘连形成的关键,Masson 显示在粘连区域有大量的胶原纤维存在, Van Gieson 染色进一步说明了胶原纤维的存在。Hydrogel 组中术后 7 d 时腹壁-盲肠创面恢复良好,在间皮细胞层下方出现了不同程度的纤维化组织,术后 14 d 时,在造成损伤的组织中,炎症细胞明显减少,且新生成的愈合组织中仅发现了少量的胶原纤维。研究结果提示 mXG 凝胶在用于腹壁-盲肠损伤粘连模型时,能够在粘连形成的关键时期起到良好的物理隔离作用,之后凝胶在降解、肠胃蠕动及腹腔液的稀释作用下逐渐消失,同时伴随着创面组织的逐渐愈合,效果明显好于防粘连膜,进一步证明了 mXG 凝胶具有良好的生物相容性。

TGF- β 1 是组织纤维化过程中最重要的促发因子,主要表达于粘连组织内的血管内皮细胞和成纤维细胞,在损伤、炎症及纤维化之间起纽带作用。腹膜受损后巨噬细胞和血小板释放 TGF- β 1,启动连锁反应,组织纤溶酶原激活剂(t-PA)的活性会受到 TGF- β 1 影响而降低;腹膜表面 t-PA 的活性受到长时间抑制,会导致纤溶酶原不能及时转化成纤维蛋白溶酶,缺少纤维蛋白溶酶的溶解作用,导致细胞外基质(ECM)的沉积,加速纤连蛋白、胶原蛋白和蛋白多糖等多种成分在 ECM 中的表达,阻碍其降解并刺激结缔组织的形成,加速了胶原蛋白的生成^[13]。TGF- β 1 过表达是导致胶原纤维沉积、粘连形成的重要原因^[14]。腹膜间皮细胞(HPMC)在腹膜受到损伤后能够产生 CTGF,CTGF 是 TGF- β 1 的直接下游效应介质,介导促纤维化作用,并且 TGF- β 1 刺激可使 HPMC 表达 CTGF 增加。本研究结果显示,术后 7 d、14 d 组织标本的免疫组织化学染色和评分结果证实,与 Control 组、Film 组相比,Hydrogel 组标本组织中 TGF- β 1 和 CTGF 阳性表达较低($P < 0.05$),提示 mXG 凝胶可通过抑制成纤维细胞的增殖,降低胶原合成与沉积,达到预防术

后粘连的作用。由此可知,mXG 凝胶可有效预防腹腔术后粘连,其主要机制为:一方面通过机械屏障隔离作用,避免瘢痕组织与浆膜相接触;另一方面通过减少纤维蛋白原的渗出,抑制胶原纤维组织增生和 TGF- β 1 的过表达。本研究的前期工作发现 mXG 凝胶具有很好的抗成纤维细胞黏附性能,结合 mXG 的温敏特性使其在粘连形成的关键期发挥优良的隔离作用,避免了盲肠损伤与腹壁创面之间的相互接触,起到预防粘连的作用。

本研究 mXG 凝胶在体内使用的毒性实验结果证明,mXG 作为术后防粘连材料用于体内时具有良好的生物相容性,不会影响大鼠的正常代谢活动,同时降解产物也不会对各器官产生毒副作用。

本研究结果证实 mXG 温敏水凝胶能够有效地预防盲肠-腹壁粘连的发生,为今后临床研究预防腹腔粘连奠定了理论基础和实验依据。然而,术后腹腔粘连的发生受多种因素相互作用和影响,过度的异常炎症反应在术后粘连中起重要作用。补体是炎症反应发生的中心,是机体重要的炎症介质。补体激活介导的免疫损伤在组织病理性损伤中发挥重要作用,抑制补体异常激活是抗炎的有效途径。mXG 温敏水凝胶作为一种物理隔离材料,不能直接抑制补体激活,因此,在应用可注射水凝胶起到物理隔离作用预防腹腔粘连的同时,如何抑制补体激活,降低炎症反应的发生仍需进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] DIAZ J J J, CULLINANE D C, KHWAJA K A, *et al.* Eastern association for the surgery of trauma: management of the open abdomen, part III-review of abdominal wall reconstruction. *J Trauma Acute Care Surg*, 2013, 75(3): 376-386.
- [2] GONG C Y, WU Q J, LIAO J F, *et al.* Prevention of postsurgical cauterization-induced peritoneal adhesions by biodegradable and thermosensitive micelles. *J Biomed Nanotechnol*, 2013, 9(12): 1984-1995.
- [3] YEO Y, HIGHLEY C B, BELLAS E, *et al.* *In situ* cross-linkable hyaluronic acid hydrogels prevent post-operative abdominal adhesions in a rabbit model. *Biomaterials*, 2006, 27(27): 4698-4705.
- [4] LI L, WANG N, JIN X. Biodegradable and injectable *in situ* crosslinking chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for postoperative adhesion prevention. *Biomaterials*, 2014, 35(12): 3903-3917.
- [5] PARK K S, LEE K E, KU D H, *et al.* Antiadhesive effect and safety of oxidized regenerated cellulose after thyroidectomy: a prospective, randomized controlled study. *J*

- Korean Surg Soc,2013,84(6):321-329.
- [6] 林思,秦飞,宋路瑶,等.丹参酮ⅡA 磺酸钠通过增强腹膜纤溶系统活性降低大鼠术后腹膜粘连发生.南方医科大学学报,2016,36(2):260-264.
- [7] CAI L,DEWI R E,HEILSHORN S C. Injectable hydrogels with *in situ* double network formation enhance retention of transplanted stem cells. *Adv Funct Mater*,2015,25(9):1344-1351.
- [8] OKABAYASHI K,ASHRAFIAN H,ZACHARAKIS E, *et al*. Adhesions after abdominal surgery: a systematic review of the incidence, distribution and severity. *Surg Today*,2014,44(3):405-420.
- [9] DIAMOND M P,WEXNER S D,DI Z G S, *et al*. Adhesion prevention and reduction: current status and future recommendations of a multinational interdisciplinary consensus conference. *Surg Innov*,2010,17(3):183-188.
- [10] ZHANG H,SONG Y,LI Z, *et al*. Evaluation of breviscapine on prevention of experimentally induced abdominal adhesions in rats. *Am J Surg*,2016,211(6):1143-1152.
- [11] 郑培鸿,陈维荣.大鼠腹膜粘连的模型构建与评价.中国比较医学杂志,2017,27(9):104-110.
- [12] 宋具昆,包崇云,袁明龙,等.可生物降解凝胶膜预防腹腔术后粘连的实验研究.四川大学学报(医学版),2007,38(4):660-662.
- [13] 余毅,李增棋,陈昆,等.MMP-1、TIMP-1 及 TGF- β 1 在风湿性心脏病瓣膜组织中的表达及意义.四川大学学报(医学版),2017,48(1):52-56.
- [14] LIU F Y,XIAO L,PENG Y M, *et al*. Inhibition effect of small interfering RNA of connective tissue growth factor on the expression of vascular endothelial growth factor and connective tissue growth factor in cultured human peritoneal mesothelial cells. *Chin Med J*,2007,120(3):231-236.

(2019-03-20 收稿,2019-07-21 修回)

编辑 吕 熙