文章编号:1000-5404(2005)20-2051-03

论著

# 大鼠胚胎卵巢移植的实验研究

谢荣凯,陈波洁,成 娅,陈正琼 (第三军医大学新桥医院妇产科,重庆 400037)

**提 要:目的** 探讨大鼠胚胎卵巢异体异位移植后的生长发育及功能。**方法** 将大鼠胚胎的卵巢移植入去势成年雌性大鼠的肾被膜下,移植40 d后取材进行组织学研究,观察移植效果;同时测定血清雌、孕激素等水平。**结果** 移植后第40天,组织学观察,移植物内可见大量发育卵泡及黄体与间质腺,移植卵巢中有丰富的血管。血清雌、孕激素与正常成年大鼠间无显著性差异($P>0.05$)。**结论** 大鼠胚胎卵巢移植后能继续生长发育并具有内分泌功能。

**关键词**:大鼠胚胎;卵巢;分泌功能;移植
**中图法分类号**:R321.5;R617;R711.75 **文献标识码**:A

# Development and function of murine fetal ovary allotransplant into adult female rat

XIE Rong-kai, CHEN Bo-jie, CHENG Ya, CHEN Zheng-qiong (Department of Obstetrics and Gynecology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

**Abstract: Objective** To investigate the development and function of fetal ovary allotransplant of rats into the spayed adult female SD rats. **Methods** Murine fetal ovaries were grafted under renal capsule of 10 spayed adult female rats. The controls included 10 rats undergone sham operation and 10 spayed adult female rats without ovary transplantation. On day 40 after grafting, the grafts were removed and underwent histological examination. The serum levels of estrodiol, progesterone, FSH, LH were determined. **Results** On day 40 after transplantation, there were many developing follicles, corpora luteas and interstitial glands in the grafts rich in blood capillary. The serum level of estrodiol, progesterone, FSH, LH of the spayed adult female rats showed no difference with that of normal controls ($P>0.05$). **Conclusion** Fetal ovary allotransplant can survive in spayed adult female rats, develop and restore the function of secreting sex hormones.

**Key words**: rat fetus; ovary; secretory function; transplantation

卵巢是女性重要的生殖和内分泌器官,在临床上许多情况会造成女性卵巢功能早衰(premature ovarian failure, POF),POF不仅使女性丧失了生育能力和绝经提前,还因雌激素缺乏造成心血管疾病和骨质疏松等其它疾病的发病率明显增加[1]。目前针对POF的治疗唯有传统的激素替代疗法(hormone replacement therapy, HRT),由于外源性雌激素在体内呈非生理性释放,可产生一些副反应[2],如增加子宫内膜病变的发生率等。随着人们生活质量的不断提高,卵巢移植技术因能够为POF患者提供新的生殖功能和内分泌功能而逐渐为人们所重视。

卵巢移植始于19世纪,学者们通过大量的动物实验表明,移植卵巢能存活、排卵并维持性周期[3,4]。但是卵巢移植在人体应用受到很大限制,主要是由于同种异体移植的免疫排斥反应及供体来源困难等问题未能很好解决。研究表明胚胎卵巢免疫源性低[5],作为供体有望解决上述问题,但移植后生物活性的维持仍有待研究。我们将大鼠胚胎卵巢组织移植至成年去势雌性大鼠肾被膜下,目的在于了解其异体移植后生长发育及内分泌功能,为胚胎卵巢移植提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物及分组

未交配过的成年雌性SD大鼠30只,由第三军医大学新桥医院动物室提供,18~20周龄,体质量180~200 g,经阴道脱落细胞涂片证实有正常动情周期者作为受体,随机分成3组,每组10只。移植物为孕18~20 d的SD大鼠胚胎卵巢,A组为正常对照组,仅行腹部皮肤、筋膜、肌层切开缝合。B组为去势对照组,仅切除双侧卵巢,不移植胚胎卵巢。C组为新鲜胚胎卵巢移植组(实验组),切除双侧卵巢后,立即在双侧肾被膜下移植入新鲜胚胎卵巢。

### 1.2 手术方法

1.2.1 移植物的收集 18~19 d孕龄的孕鼠断颈处死后,消毒腹部皮肤,逐层切开腹壁,取出胚胎,比较胎鼠生殖器距肛门的距离后,选出雌性胎鼠处死,置于体式显微镜下,同法剪开腹壁,摘取双侧卵巢,置于生理盐水中备用。

1.2.2 大鼠去势及移植术 实验组及去势组大鼠用速眠新Ⅱ注射液按0.8 ml/kg肌肉注射麻醉后,取中上腹部正中切口

作者简介:谢荣凯(1974-),男,江西省赣州市人,硕士研究生,医师,主要从事妇科腔镜及产科高危妊娠等方面的研究。电话:(023)68774612
通讯作者:陈波洁,电话:68774612
收稿日期:2005-07-12;修回日期:2005-10-10

纵行切开皮肤、筋膜及肌肉，进入腹腔切除双侧卵巢和部分输卵管，结扎残端。实验组大鼠去势后，暴露双侧肾脏，用显微手术剪在其靠近上极被膜处剪一小口，立即用小尖平镊将1～2个大鼠胚胎卵巢轻柔地送至下极，而后逐层关闭腹腔。

1.2.3 取材方法 将卵巢移植40 d后的实验组、去势组与正常对照组大鼠股血管取血，用于雌二醇($E_2$)、孕酮(P)、卵泡刺激素(FSH)及黄体生成素(LH)的检测；并取存活移植物和正常对照组卵巢，用于组织学及组织化学检查。

1.3 观察指标

1.3.1 动物的一般状态 观察大鼠手术后的活动、饮食、及切口愈合情况常规饲养至40 d处死。

1.3.2 阴道涂片检查 为观察卵巢移植后的存活情况，于术后第5天起，每日对实验组及对照组大鼠阴道脱落细胞进行检查，以判断动情周期是否恢复。

1.3.3 组织学方法 移植存活物及卵巢组织经10%甲醛固定液固定后，石蜡包埋，切片厚3 μm，行HE染色，对组织结构进行观察。

1.3.4 血清生殖激素的检测 在大鼠动情周期的动情期行股血管取血，利用磁分离酶联免疫检测系统测定血清雌、孕激素、FSH、LH的水平，对移植后卵巢组织内分泌功能进行量化判定。测定数据均为本科室实验室测定，所用磁分离酶联免疫检测系统购买自北京倍爱康生物技术有限公司。

1.4 统计学处理

采用SPSS 10.0统计软件进行血清激素测值多个样本均数比较的方差分析及 $t$ 检验。

## 2 结果

2.1 一般情况

实验动物均于术后6 h逐渐恢复活动，无1例死亡。活动、摄食正常，手术切口无感染，愈合好。

2.2 阴道细胞涂片检查

正常大鼠的阴道涂片为：动情前期多是有核上皮细胞，偶有少量角化细胞；动情期全部是无核角化细胞或间有少量上皮细胞；动情后期白细胞、角化细胞、有核上皮细胞均有；动情期间为大量白细胞及少量上皮细胞和粘液。实验结果：A组呈正常动情周期变化；B组阴道上皮呈持续性无角化状态；C组在移植后25 d阴道涂片开始出现改变(大鼠从出生到性成熟需60～75 d)，未呈现典型动情周期的细胞类型，但有角化细胞周期性出现。90%(9/10)术后(30±2.5) d，阴道上皮出现角化现象，至取材时一直呈现规律性周期变化；正常对照组呈持续规律周期性变化。

2.3 移植物组织形态学观察

新鲜胎鼠卵巢取材时大小约0.5 mm×1 mm×1 mm大小，移植物明显增大约3 mm×3 mm×3 mm，多数生长成圆形或椭圆形，移植物表面凸凹不平，呈颗粒状，有类似正常卵巢的外观。镜下可见卵巢周围血管呈网络状生长，移植物内可见不同发育阶段的各级卵泡、间质腺。

2.4 血清学检查

C组血清$E_2$为(18.3±5.4) pg/ml，P为(28.8±8.7) ng/ml；A组血清$E_2$为(20.1±6.6) pg/ml，P为(32.5±11.5) ng/ml；B组$E_2$为(5.5±1.2) pg/ml，P为(1.0±0.3) ng/ml。实验组与正常对照组比较差异均无显著性($P>0.05$)，实验组与去势对照组比较差异均有显著性($P<0.01$)。FSH、LH在各组之间比较去势组明显高于正常对照组及移植组，两组之间差异有显著性($P<0.05$)，移植组略高于正常对照组，但两组之间差异无显著性($P>0.05$)，各组测值见表1。

**表1 胎鼠卵巢移植40 d后3组大鼠血清激素水平检测**

**Tab 1 Serum level of hormone on day 40 after murine fetal ovary allotransplantation**

| Groups | $E_2$(pg/ml) | P(ng/ml) | FSH(IU/L) | LH(IU/L) |
|---|---|---|---|---|
| Normal control | 20.1±6.6 | 32.5±11.5 | 0.34±0.11 | 0.2±0.1 |
| Spayed control | 5.5±1.2 | 1.0±0.3 | 1.85±0.40△ | 1.38±0.2△ |
| Fetal ovary grafting | 18.3±5.4** | 28.8±8.7** | 0.63±0.32* | 0.4±0.2* |

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$, *vs* spayed control. △: $P<0.05$, *vs* normal control

## 3 讨论

胚胎卵巢处于无功能的未发育状态，在适当的条件下，可具有内分泌功能。文献[6]报道，胚胎卵巢体外培养能在较短时间内发育成为较成熟的卵泡，并能分泌$E_2$。为胚胎卵巢移植后能迅速生长发育提供了依据。卵巢自体异位移植的研究也证明，自体卵巢可在异位生长并有内分泌功能[7]，但其应用范围很小。胚胎卵巢组织的组织相容性抗原含量少，免疫原性低，不易引起宿主的免疫排斥反应，并且具有进一步发育成熟的可能[8]。Formelli等[9]在进行兔的卵巢与输卵管自体移植实验时，采用了血管连接与不连接两种方法的比较，结果血管连接组的卵巢50%生存，未存活的50%多数是因为血管口径过细。Bedaiwy等[10]利用微血管吻合术将绵羊完整的卵巢冷冻-解冻后进行自体移植实现卵巢功能的再保存已获得成功。这些说明移植物的生存与移植物内的血供关系密切，那么胚胎卵巢移植时无任何血管的吻合，移植后能否存活并具有内分泌的功能呢？本实验的移植部位选择了血管丰富的部位，移植时未进行血管吻合，且移植后没有应用任何免疫抑制剂。结果胚胎卵巢组织生存良好，移植物存活率高，并重建血液供应。实验结果也证明，移植组与正常对照组在移植物的组织形态学及移植物的内分泌功能上均无显著差异。在移植物的组织切片上，可见卵巢内血管丰富，有大量不同发育阶段的生长卵泡、黄体、间质腺及闭锁卵泡，未见明显淋巴细胞浸润。而这些生长卵泡正是产生雌激素的结构基础。有研究认为卵巢组织移植后促性腺激素的分泌有助于移植物的血管重建[11]。这一血管重建的过程在移植术后48 h之内开始，伴随着选择性血管生长因子基因表达的增加，特别是血管内皮生长因子(VEGF)和转移生长因子$\beta_1$(TGF-$\beta_1$)基因表达的增加，因此从分子生物学角度来看移植成功的关键在于移植后刺激血管生成的相关因素。

$E_2$以及孕酮是卵巢分泌的重要激素，我们用磁分

离酶联免疫法测定各组 $E_2$、P 浓度来评估卵巢移植物的活力。结果证明，正常对照组与实验组的 $E_2$ 和 P 浓度差异无显著性，显著高于去势对照组。阴道作为卵巢激素的靶器官，对雌激素高度敏感，移植后阴道上皮持续角化，并呈现规律性变化。由此可见，大鼠胚胎卵巢在异体异位移植后可生长发育，并具有内分泌功能。体内雌激素的合成依赖卵泡刺激素（FSH）、黄体生成激素（LH）对卵泡颗粒细胞、卵泡膜细胞的作用，同时体内的雌、孕激素水平会反馈性的对 FSH、LH 进行调节，从各组的 FSH、LH 测值比较我们可以看到，去势以后由于雌、孕激素的迅速降低，导致去势组 FSH、LH 的明显升高，而移植组虽然也进行了去势。但因为同时移植了胚胎卵巢，经过一段时间的适应后，FSH、LH 升高并不明显，因此，推测胚胎卵巢组织移植后可重新建立异位的下丘脑－垂体－卵巢轴。

综上所述，本组动物实验结果表明，大鼠胚胎的卵巢异位异体移植后可以存活，并可行使内分泌功能。因此，未成熟卵巢组织作为供体源治疗女性的内分泌功能不足是一个值得考虑的方法。

**参考文献：**

[1] Rossouw J E. Coronary heart disease in menopausal women: implications of primary and secondary prevention trials of hormones[J]. Maturitas, 2005, 51(1): 51－63.
[2] Bramnert M, Segerlantz M, Laurila E, *et al*. Growth hormone replacement therapy induces insulin resistance by activating the glucose-fatty acid cycle[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88(4): 1455－1463.
[3] Chihal H J, Bast J D, Stone S C, *et al*. Plasma estradiol-17beta, progesterone, FSH, LH and follicular development in castrated female rats with subcutaneous ovarian autografts[J]. Biol Reprod, 1976, 15(3): 406－413.
[4] Jones E C, Krohn P L. Orthotopic ovarian transplantation in mice[J]. J Endocrinol, 1960, 20: 135－146.
[5] 刘晓红，郑 英，孙丽君. 胎儿与成人卵巢免疫原性的比较[J]. 河南医科大学学报，2000，35(1)：10－12.
[6] 谭 丽，郑 英. 胎儿卵巢冷冻保存前后组织培养的研究[J]. 中华器官移植杂志，1995，16(4)：182.
[7] 梁元晶，史小林，诸定寿，等. 小鼠移植卵巢的生长及功能初探[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志，1997，6(4)：470－475.
[8] Kirkwood K J, Billington W D. Expression of serologically detectable H-2 antigens on mid-gestation mouse embryonic tissues[J]. J Embryol Exp Morphol, 1981, 61: 207－219.
[9] Formelli G, Bondesan A, Rinaldi A M, *et al*. Tubo-ovarian transplantation in the treatment of sterility. Experimental research[J]. Boll Soc Ital Biol Sper, 1992, 68(12): 775－781.
[10] Bedaiwy M A, Jeremias E, Gurunluoglu R, *et al*. Restoration of ovarian function after autotransplantation of intact frozen-thawed sheep ovaries with microvascular anastomosis[J]. Fertil Steril, 2003, 79(3): 594－602.
[11] Dissen G A, Lara H E, Fahrenbach W H, *et al*. Immature rat ovaries become revascularized rapidly after autotransplantation and show a gonadotropin-dependent increase in angiogenic factor gene expression[J]. Endocrinology, 1994, 134(3): 1146－1154.

（编辑 张大春）

文章编号：1000-5404(2005)20-2053-01

## 个案与短篇

# 新生儿先天性梅毒的临床护理

# Clinical nursing for neonates with congenital syphilis

邓 陵 （第三军医大学大坪医院野战外科研究所儿科，重庆 400042）

近年来，性疾病蔓延，孕妇感染梅毒的几率呈上升趋势，新生儿先天性梅毒发病也就日趋增多。2003年4月至2004年4月的1年中，我科收治了6例新生儿先天性梅毒，现将其护理报告如下。

## 1 护理

### 1.1 消毒隔离，防止交叉感染

梅毒可通过输血、注射、性接触及母婴传播，也可能接触患者的唾液、汗液、鼻腔分泌物、皮肤渗出物等传播[1]。因此医务人员在检查、输液、注射以及生活护理等护理操作中，应戴上一次性手套，并防止刺破皮肤。操作后严格用肥皂洗手，并及时用消毒液泡手消毒。梅毒患儿与其他患儿分开、实行病室隔离。做好消毒隔离工作，对防止梅毒交叉感染意义重大[2]。

1.1.1 房间经常通风换气，每日早晚用紫外线照射消毒30～60 min，并使用医用空气消毒净化机自动消毒3次，每次1 h。每日常规用2%的含氯洗消液擦拭暖箱内外，清洁地面。

1.1.2 终末消毒，患儿穿过的衣物，用过的床单被盖，先用2%的含氯洗消液浸泡1 h，才进入洗衣班清洁消毒；暖箱用三氧消毒机（婴儿箱消毒专用）消毒1 h，再用0.5%～2%的洗消液擦拭内外，彻底清洁后，再次用三氧消毒机消毒后备用。用过的一次性尿布等一次性物品要集中打包焚烧，床褥、床垫用紫外

（下转2056页）

作者简介：邓 陵（1974－），女，重庆市人，护师，主要从事新生婴儿的护理方面的研究 电话：(023)68757345

收稿日期：2005-09-02；修回日期：2005-02-05