论著

文章编号:1000-5404(2008)03-0254-03

以胎鼠为供体的肾上腺移植实验研究

田顺亮[1],孙建森[2] ([1]桂林医学院基础医学院人体解剖学教研室,广西 桂林 541004;[2]第三军医大学基础医学部人体解剖学教研室,重庆市生物力学实验室,重庆 400037)

摘 要:目的 研究以不同胎龄胎鼠为供体的肾上腺移植后,移植物的结构重建及分泌功能状况。方法 将30只SD大鼠,分为5组,每组6只。A组,假手术组;B组,双侧肾上腺切除组;C、D、E组分别以16、18、20 d龄胎鼠为供体进行移植。结果 术后4周,C、D、E组镜下显示被膜增厚,被膜下有许多新增殖的细胞,球状带、束状带有较好的重建。体质量:A组术后第3周降至最低点,第4周逐渐恢复接近术前水平;B组术后持续上升;C、D组术后前2周增高,后2周持续下降;E组术后前3周缓慢升高,第4周回落。血清皮质酮水平:B组术后急剧下降;C、D、E组术后2周都大幅下降,然后逐渐增高;D、E组术后同期水平接近,C组术后水平却明显低于D、E组($P<0.05$)。结论 胎鼠肾上腺移植后易于成活,结构可较好地重建,分泌功能逐步增强,是一种合适的供体;大龄胎鼠的供体移植后,在免疫排斥反应方面与小龄胎鼠的供体无明显差异,而结构重建及分泌功能优于小龄胎鼠的供体。

关键词:胎鼠;同种异体肾上腺移植;皮质酮

中图法分类号:R-332;R617;R699.3 文献标识码:A

Adrenal allografts using fetal rats as donors

TIAN Shun-liang[1], SUN Jian-sen[2] ([1] Department of Human Anatomy, College of Basic Medicine, Guilin Medical College, Guilin 541004, Guangxi; [2] Department of Anatomy, College of Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To study the reconstruction and secretory function of the grafts after adrenal transplantation using fetal rats as donors. Methods Thirty adult SD rats randomly received sham operation (group A), excision of bilateral adrenals (groups B, C, D and E), and additionally adrenal transplantation in groups C, D and E using fetal rats aged 16, 18 and 20 days respectively as donors. Results The weight of group A got down to the lowest at the 3rd week, and restored to the preoperation level at the 4th week after sham operation. The weight of group B gradually rose up within 4 weeks. The weight of groups C and D rose up in the first 2 weeks, then down. The weight of group E rose slowly within the first 3 weeks, then down. The serum level of corticosterone decreased sharply in group B after operation, while that of groups C, D and E went down obviously in the first 2 weeks, then up, but that in group C was significantly lower than that in groups D and E. Microscopically, we found the capsule of allografts thicken and underneath many proliferative cells and well-constructed glomerular and fascicular zone 4 weeks after operation. Conclusion After transplantation, the fetal adrenal could survive and reconstruct well, and its secretory function gets better gradually. The graft from the elder donor is better than that from the younger in reconstruction and secretory function, but shows no obvious difference in immunological rejection.

Key words: fetal rat; adrenal allograft; corticosterone

肾上腺移植是治疗Addison's病、双侧肾上腺全切等的有效方法。胎儿肾上腺组织细胞HLA抗原发育不完善,免疫原性较弱,淋巴细胞也发育不成熟,即使HLA不配,发生免疫排斥反应的概率和程度都比较小,移植物易于成活[1],因而以胎儿为供体进行肾上腺移植是一种理想的选择。在临床上,5个月以上的胎儿都可用作肾上腺供体[2],但由于胎龄不同,移植物的结构和功能必然存在着差异。移植后,其结构重建及分泌功能会有何不同,免疫排斥反应有何不同,对机体有何不同的影响等都有待进一步探讨。本实验以不同胎龄的胎鼠为供体,成年大鼠为受体进行同种异体肾上腺移植研究,旨在为临床以胎儿为供体的肾上

作者简介:田顺亮,男,河南省孟州市人,硕士,讲师,主要从事临床应用解剖学方面的研究,发表论文10余篇。电话:(0773)5895385,E-mail:tianshunliang238@163.com

收稿日期:2007-05-29;修回日期:2007-10-12

腺移植提供参考依据。

1　材料与方法

1.1　动物分组

将 30 只体质量 200 ~ 260 g 的 SD 大鼠（雌雄各半，由第三军医大学实验动物中心提供）分为 A 组，假手术组；B 组，双侧肾上腺切除组；C 组，以 16 d 龄胎鼠为供体移植组；D 组，以 18 d 龄胎鼠为供体移植组；E 组，以 20 d 龄胎鼠为供体移植组。每组 6 只。

1.2　手术方法

A 组，将大鼠用 3.5% 水合氯醛进行腹腔注射麻醉，固定于左侧卧位及右侧卧位，于脊柱旁 1 cm 左右，做肋缘下斜切口，切开皮肤、皮下组织，分离腹肌进入腹腔，显露肾上腺，然后逐层缝合切口。B 组，在 A 组术式基础上切除两侧的肾上腺[3]。C、D、E 组，在 B 组术式基础上进行肾上腺的移植，具体步骤为：先于左侧卧位切除左侧肾上腺，再于右侧卧位切除右侧肾上腺；将孕鼠按同样方法麻醉后固定于仰卧位，做下腹正中切口，进入腹腔显露子宫，将胎鼠取出体外；解剖胎鼠，取出胎鼠两侧的肾上腺，置于 4 ℃ 生理盐水中备用；用注射器将 1 枚肾上腺吸入针头头端，将针头由肾外下方刺入右肾被膜下，沿肾前面向内上方在被膜下潜行约 0.5 cm，推注，将肾上腺置于肾被膜下。各组术后均腹腔注射 10 万单位的青霉素，用生理盐水喂养，不用免疫抑制剂。

1.3　观测指标

组织学观察：C、D、E 组大鼠在术后第 4 周处死，取出移植物做 HE 染色切片，显微镜下观察组织结构的变化。

血清皮质酮水平变化：各组于术前及术后第 2、4 周在同一时间段内断尾取血。每只鼠的取血应在 2 ~ 3 min 内完成，取血量 0.3 ~ 0.5 ml，静置待血液凝固后，离心（3 000 r/min），取血清保存于 -40 ℃ 低温冰箱内。最后将血清样本集中进行放射免疫测定（皮质酮放射免疫试剂由美国 DSL 公司提供）。

体质量变化：各组于术前及术后第 1、2、3、4 周在同一时间段内称取体质量。

肾上腺残留：B、C、D、E 组大鼠在术后第 4 周处死，检查肾上腺区有无肾上腺组织残留。如有残留，将该鼠排除。

1.4　统计学方法

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 10.0 统计软件对移植前后大鼠血清皮质酮、体质量的变化行单因素方差分析，组间两两比较行 q 检验。

2　结果

2.1　组织学观察

移植前，3 个移植组胎鼠供体肾上腺组织结构相比，16 d 龄胎鼠肾上腺的球状带较薄，束状带不太发达，网状带不明显，球状带和束状带的细胞体积小，细胞核小，细胞质内泡沫少；随着胎龄增大，腺体体积增大，球状带及束状带逐渐增厚，束状带细胞体积、细胞核增大，细胞质内泡沫增多，说明分泌功能在逐步增强。

与移植前相比，供体肾上腺移植 4 周后，3 个移植组移植物的被膜都有所增厚，成纤维细胞增多；被膜下有增殖的细胞聚集，球状带、束状带得以重建，但细胞较少，不如移植前密集，窦腔较大。从结构的重建和细胞的分化成熟来看，E 组要好于 C、D 两组。3 组都未见网状带，原有的肾上腺髓质退化、消失。组织结构内未见免疫细胞浸润。见图 1。

与成年大鼠相比，移植肾上腺的被膜比成年大鼠厚，成纤维细胞分裂、增殖活跃，球状带、束状带细胞的大小及细胞质内泡沫状结构与成年大鼠相似；但重建的球状带和束状带，特别是束状带，细胞相对较少，结构排列不如成年大鼠规整，也不如成年大鼠发达，血窦的窦腔较成年大鼠大。

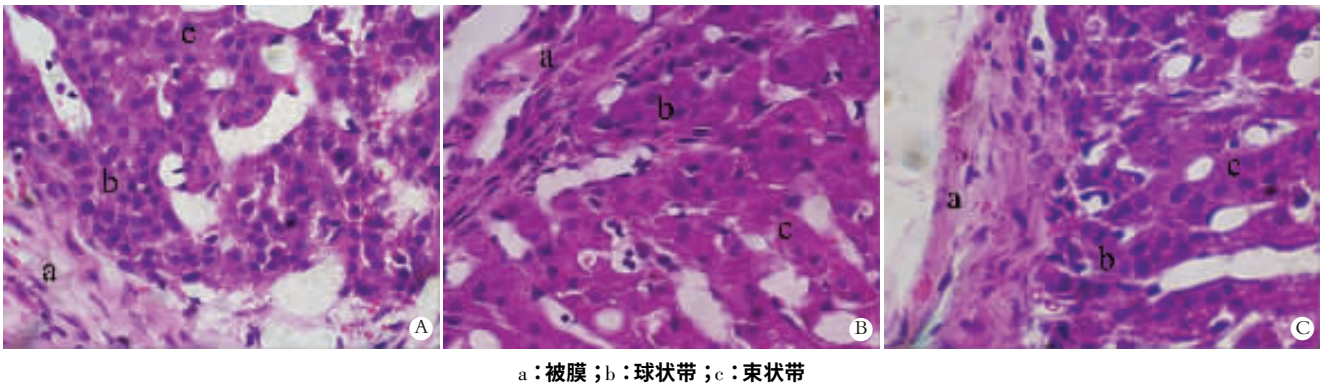
2.2　血清皮质酮水平变化

各移植组术后血清皮质酮水平明显低于术前，但明显高于 B 组同期水平（$P < 0.05$）。B 组术后急剧下降；C、D、E 组术后 2 周也大幅下降，然后逐渐升高；D、E 组术后同期水平接近，C 组术后水平明显低于 D、E 组（$P < 0.05$），见表 1。

表 1　移植前后大鼠血清皮质酮水平的变化（ng/ml，$\bar{x} \pm s$）

组别	移植术前	移植术后	
		第 2 周	第 4 周
A 组	642.708 ± 186.155	535.708 ± 72.635	604.524 ± 146.977
B 组	748.647 ± 45.053	15.874 ± 3.804^{ad}	11.450 ± 6.691^{ad}
C 组	566.030 ± 96.388	60.980 ± 15.070^{abd}	152.067 ± 74.685^{abd}
D 组	677.463 ± 101.487	121.306 ± 25.366^{abcd}	212.800 ± 89.099^{abd}
E 组	662.400 ± 200.603	161.517 ± 51.794^{abcd}	179.302 ± 97.192^{abd}

a：$P < 0.05$，与 A 组比较；b：$P < 0.05$，与 B 组比较；c：$P < 0.05$，与 C 组比较；d：$P < 0.05$，与术前比较



a：被膜；b：球状带；c：束状带

A：16 d 龄；B：18 d 龄；C：20 d 龄

图 1　不同天龄胎鼠肾上腺移植 4 周后的肾上腺结构　（HE × 400）

2.3 体质量变化

A 组移植术后体质量先降后升，B 组术后持续上升，C、D 组术后前 2 周增高，后 2 周持续下降，E 组术后前 3 周缓慢升高，第 4 周回落。见表 2。

表 2 移植前后大鼠体质量的变化（g，$\bar{x} \pm s$）

组别	移植术前	移植术后			
		第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
A 组	240.43 ± 9.58	205.10 ± 7.87[d]	171.09 ± 10.30[d]	164.65 ± 23.23[d]	234.55 ± 18.54[b]
B 组	237.84 ± 10.00	248.12 ± 20.27[a]	262.68 ± 18.53[acd]	281.03 ± 27.43[ad]	289.11 ± 30.22[d]
C 组	227.49 ± 19.01	247.49 ± 15.32[a]	255.77 ± 15.23[acd]	245.79 ± 26.90[ab]	232.48 ± 25.00[b]
D 组	225.01 ± 19.73	231.86 ± 30.75[a]	249.62 ± 18.98[acd]	244.80 ± 27.53[ab]	235.34 ± 41.02[b]
E 组	223.86 ± 18.43	232.92 ± 13.67[a]	236.55 ± 12.12[ab]	240.38 ± 13.56[ab]	237.19 ± 17.33[b]

a：$P < 0.05$，与 A 组比较；b：$P < 0.05$，与 B 组比较；c：$P < 0.05$，与 E 组比较；d：$P < 0.05$，与术前比较

3 讨论

3.1 组织结构

肾上腺组织块移植后，肾上腺髓质及大部分皮质都要退化，然后由肾上腺被膜及被膜下残留的部分球状带细胞或干细胞分裂、增殖，再分化出球状带和束状带[4,5]。本实验结果显示，在不用免疫抑制剂的情况下，移植的胎鼠肾上腺在术后未见明显的免疫细胞浸润，可以良好地存活。被膜及被膜下细胞可较好地增殖分化形成球状带和束状带。原因可能在于胎鼠肾上腺免疫原性较弱；肾上腺被膜下为“免疫赦免区”[6]；移植肾上腺的分泌物具有自身免疫保护作用[7,8]。

比较而言，大龄胎鼠肾上腺移植后，球状带、束状带增殖、分化、重建优于小龄胎鼠，可能由于移植物体积较大，有更多的被膜、球状带细胞或干细胞，这为组织结构的增殖、重建提供了良好的基础，可能是大龄胎鼠肾上腺移植后，体内激素水平较高的原因。

3.2 血清皮质酮水平

3 个移植组在接受胎鼠肾上腺移植后，皮质酮水平先降后升，明显高于同期 B 组水平（$P < 0.05$），说明移植物已存活，并逐步显示其分泌功能。D、E 两组的皮质酮水平在术后明显高于 C 组同期水平，说明大龄胎鼠供体肾上腺移植后的分泌功能要强于小龄胎鼠。结合前面所述移植后结构的重建特点及免疫特点，我们在移植时应多考虑大龄胚胎供体。虽然大龄供体移植后比较强，但与术前及 A 组同期相比却明显偏低（$P < 0.05$），说明移植肾上腺的功能还不能满足机体的正常需求。这一结果提示，在临床肾上腺移植前期，应补充一定量的外源性皮质激素，以满足机体的需求，防止“肾上腺危象”、“水中毒”等现象的发生。但随时间推移，移植肾上腺的分泌功能在逐渐增强，应即时调整补充激素的量，防止用量过大，反馈性地抑制促肾上腺皮质激素的分泌，不利于移植肾上腺的增殖分化[9]。

3.3 体质量变化

A 组术后体质量逐渐降低，主要是手术因素的作用。B 组经历了肾上腺切除，手术创伤比 A 组大，但术后体质量不降反升。双侧肾上腺切除后皮质酮的急剧下降，导致肾对体内水负荷的清除率下降以及抗利尿激素分泌增加，可能是导致体内水分潴留，体质量增加的主要因素[10]。由于皮质酮不足而引起体质量的变化在 C、D 两组也得到了体现。移植后的第 1、2 周，皮质酮水平较低，体质量呈上升趋势，与 B 组同期相比，基本相似（$P > 0.05$）。随着皮质酮水平开始逐步增高，体质量随之在第 3 周开始回落，与 B 组同期相比，已有明显差异（$P < 0.05$），第 4 周基本接近术前状态。E 组体质量的变化可能与术后皮质酮相对较高有关。由于激素水平的变化可通过体质量的变化得以展示，在临床上是否可以将体质量的变化作为评价移植物是否存活、分泌功能是否良好的辅助性指标，以及是否可以作为调整外源性皮质激素给药量的参考依据，均有待进一步研究。

参考文献：

[1] Metzger R, Parasta A, Joppich I, *et al*. Organ-specific maturation of the major histocompatibility antigens in rats [J]. Pediatr Surg Int, 2002, 18(7): 640 - 647.

[2] 王平贤，张艮甫. 肾上腺移植的进展 [J]. 第三军医大学学报，2003，25(1)：79 - 81.

[3] 刘定益，齐世杰，徐大生，等. 雷帕霉素延长大鼠同种异体肾上腺移植物存活的作用 [J]. 中华实验外科杂志，2002，19(1)：66 - 67.

[4] 夏维木，徐玉生，姜秀芳，等. 同种自体肾上腺包膜移植的实验研究 [J]. 现代泌尿外科杂志，2001，6(2)：22 - 23.

[5] Kim A C, Hammer G D. Adrenocortical cells with stem/progenitor cell properties: recent advances [J]. Mol Cell Endocrinol, 2007, 265 - 266: 10 - 16.

[6] 何上进，张孝斌，胡 平，等. 聚 β-羟基丁酸酯为载体鼠肾上腺细胞肾被膜下移植研究 [J]. 中华实验外科杂志，2007，24(6)：758.

[7] 史燕军，贾瑞鹏，周广臣. 肾、带血管蒂肾上腺联合移植的实验研究 [J]. 南京医科大学学报：自然科学版，2006，26(5)：367 - 370.

[8] Musholt T J, Ellerkmap V, Musholt P B, *et al*. Allogeneic adrenocortical transplantation: glucocorticosteroid-independent immunomodulatory properties of adrenal cortex cells [J]. Transplantation, 2003, 75(3): 292 - 296.

[9] Stojanoski M M, Nestorovic N, Negic N, *et al*. The pituitary-adrenal axis of fetal rats after maternal dexamethasone treatment [J]. Anat Embryol (Berl), 2006, 211(1): 61 - 69.

[10] 姚 泰. 人体生理学 [M]. 北京：人民卫生出版社，2001：835 - 838.

（编辑 王小寒）