维普资讯 http://www.cqvip.com

7. 王金环，等．脊髓根动脉的观察，蚌埠医学院学报 1993；18：156.
8. 金保纯，等．脊髓动脉及其配布形式，解剖学报 1985；16：21.
9. 金保纯，等．中国人的脊髓动脉，白求恩医科大学学报 1981；7：6.
10. 周怀伟．脊髓动脉的临床解剖学研究，解剖学通报 1984；7：3.
11. 周怀伟．脊髓供血的生物力学研究，生物医学工程学杂志 1992；9：23.
12. Patten BM. Human embrology. J & A. Churchill. London，1953；470.
13. Feeny JF. Jr and watterson RL. The development of the vascular pattern within the walls of central system of the chick embryo. J. Morph 1946；78：231.
14. Strong Lh. The first appearance of vessels within the spinal cord of the mammal. Acta Anat 1961；44：80.
15. 引自 [9]．
16. Dommise GF. The blood supply of the spinal cord；A critical vascular zone in spinal surgery. J. Bone joint surg (B) 1974；56：225.
17. La zorthes G，et al. Arterial vascularization of the spinal cord. J. Neurosurg. 1971；35：253.
18. Jike Lu. Valnera bility of great medullary artery. spine 1996；21：1852.
19. Gillian LA. The arterial blood supply of the spinal cord. J. comp. Neurol 1985；110：75.
20. Rodrigues—Baeza A，et al. Anterior spinal arteries. Acta Anat. 1989；136：217.
21. Dichiro G，et al. Ligation of major thoraco—lumbar spinal cord arteries in monkeys. J. Neurosurg. 1969；31：608.
22. Turnbull Im. Blood supply of the spinal cord，normal and pathologicul considerations. Clin Neurosurg. 1973；20：56.
23. 赵宝麟．颈椎伤病学，上海科技教育出版社 1993；16.
24. Tveten L. Spinal cord vascularity. Acta Radiologica Diagnosis. 1976；17：257.
25. Agnoli A. The vascularization of the spinal cord. Anatomical and pathophysiological aspects. Vasc，surg. 1970；4：245.
26. Wolf HK，et al. Arterial border zone necrosis of the spinal Chn. Neuropathol 1990；9：60.
27. 王笃松，等．猪胸髓毛细血管分布的观察及其比容积测量，四川解剖学杂志 1997；待发表．
28. Duvernoy HM. Human brain stem vessels. Springer—verlag，Berlin，herdelberg. New York. 1978；27.
29. 张恩潭．立体学在分析人延髓脑桥毛细血管密度的初步应用，解剖学杂志 1989；12：61.
30. 引自 [19]
31. 引自 [19]
32. Chiro DG，et al. Microangiography of human fetal spinal cord. Am J. Roentgen. 1973；118：193.
33. Dommisse GF. The arteries and veins of the spinal cord from birth. Chur chill Livingstone，Edinburgh. 1975：250.
34. Hassler O. Vascular changes in senile brains. A microangiographic study. Acta Neuropath. 1965；5：40.
35. Mannen T. Vascular lesions in the spinal cord in the aged. Clin Neuro (Jap) 1963；347.
36. Jellinger R. Spinal cord arteriosclerosis and progressive vascular myelopathy. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat 1967；30：195.

（收稿日期：1997—05—04）

42—44

体外培养甲状旁腺细胞形态与功能的实验研究

哈尔滨医科大学附属第一医院普外科 宋 纯 张伟辉 宋春芳 率尊义

哈尔滨医科大学附属第二医院普外科 聂 刚

黑龙江省人民医院放免中心 张昌秋 双 赫 丁久立

（黑龙江哈尔滨，邮政编码 150001）

提要 甲状旁腺移植仍是治疗甲状旁腺机能减退症理想的方法。如何提高移植成活率并使移植的甲状旁腺细胞（以下简称 PTG 细胞）具有正常的分泌功能是个关键问题，本课题通过对大白鼠甲状旁腺细胞的体外培养，发现培养的 PTG 细胞，保持原有的形态结构并具有正常的分泌功能，为对人体 PTG 细胞移植，提供了新的实验依据。

关键词 甲状旁腺；甲状旁腺机能减退症；甲状旁腺细胞移植。

各种原因引起的甲状旁腺功能低下所产生的血钙代谢障碍，是临床治疗的一个难点。因而，国内外学者

维普资讯 http://www.cqvip.com

对比进行了多方面探索和研究。综合文献资料，甲状旁腺移植仍是甲状旁腺机能减退症最理想的方法，如何提高移植 PTG 细胞的成活率，并使移植的 PTG 细胞分泌的甲状旁腺激素（以下简称 PTH），能维持甲状旁腺正常功能是目前研究的关键。本研究通过体外培养 PTG 细胞，观测其培养过程的形态及分泌功能变化规律，力图为人体 PTG 细胞移植，提供新的理论基础。通过研究发现，PTG 细胞的培养过程，其 PTG 细胞仍保持原有的形态结构，并具有正常的分泌 PTH 功能，为甲状旁腺细胞移植，提供了新的实验依据。

材料和方法

一、实验动物：选用 30 只成年纯系 wistar 大鼠，体重 150～200g，雌雄各半，大鼠由本院实验动物室提供。

二、主要试剂与仪器：RPMI——1640 培养液（Life Technologies inc USA）；小牛血清（省兽医研究所生产）；PTH 放免存盒（INCSTAR，USA）；倒置相差显微镜（日本产）。

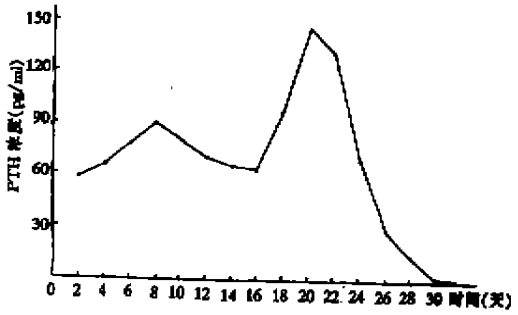
三、甲状旁腺切取与细胞培养：无菌下切取大鼠双侧甲状旁腺[1]，并剪除周围的甲状腺组织，用 RPMI——1640 培养液冲洗后，将甲状旁腺剪成糊状[2]，加入 0.25％胰蛋白酶 37℃孵育 20 分钟，见 PTG 组织已分散成细胞团和单个细胞，细胞形态完整时，终止消化，加入含 10％小牛血清的 RPMI——1640 培养液，内含青霉素 100u/ml，链霉素 100ug/ml，将培养瓶置于内充 95％空气～5％CO_2 的培养箱中，培养 30 天，每 4 天换液一次。

四、PTH 放射免疫测定：每 2 天取每只成鼠的培养上清液 0.5ml，应用放免技术，分别测定培养液中甲状旁腺激素的浓度。正常值 13～25pg/ml 该药盒采用双抗体系统识别完整的 PTH 分子，不但能准确反映相应时间内的 PTH 分泌情况，而且避免了无活性的 PTH 片段对实验结果的干扰。

结　果

一、甲状旁腺细胞的生活观察：PTG 细胞培养到第 4 天左右，细胞吸附于培养瓶壁，第 8 天可见散在贴壁生长的细胞，在倒置显微镜下观察细胞呈圆球形，无极性，轮廓清晰，细胞分散存在，生长状态良好。第 12 天，细胞数量明显增多，聚集成团。第 16 天，细胞按顺序排列，渐成索团状，培养至 20 天时，镜下见 PTG 细胞排列呈索团状的现象最为明显。培养 26～30 天时，培养中的 PTG 细胞轮廓逐渐增强，细胞内可见多个颗粒，并可见空泡，细胞数量逐渐减少，视野中可见细胞崩解残余的碎片。

二、PTH 放免测定结果：PTG 细胞培养到第 8 天时，培养液中 PTH 浓度增高，随后稍下降，第 18 天，PTH 浓度又开始升高，第 20 天时，培养液中的 PTH 浓度达到峰值，并维持 2～3 天。随后 PTH 含量逐渐下降，培养至 30 天时，培养中的 PTH 含量消失，PTG 细胞在 30 天体外培养中共出现两次高峰，呈双峰曲线（见附图）。



附图　体外培养 PTG 细胞的 PTH 分泌情况

讨　论

PTH 对人体内钙稳态的维持起到了重要的作用，PTH 的合成分泌异常可导致钙平衡的紊乱。多年来为提高甲状旁腺机能减退症患者体内 PTH 水平，使体内血清钙维持正常，已经采用了多种方式的甲状旁腺移植，而本研究采用组织培养的方法，观察经培养的 PTG 细胞的形态与分泌功能情况，是为 PTG 细胞移植治疗甲状旁腺机能减退症的临床研究奠定基础。

短期体外培养是降低免疫源性的方法之一[3]，体外培养可降低 HLA－DR 抗原的阳性表达[4]。采用 95％空气～50％CO_2 环境下培养的 PTG 能使移植的 PTG 生存期延长[5]。组织培养可去除或减少移植物中带有 classII 抗原的过客淋巴细胞，因而使移植物的免疫原性降低，减少刺激受体产生免疫排斥反应[6]。这些研究表明，用培养的 PTG 细胞进行移植，可使受体排斥反应减少，使移植物的生存期延长。但在 PTG 细胞培养中 PTG 细胞是否能保持正常的细胞形态结构；是否能有分泌 PTH 的功能；选用什么时间培养的 PTG 细胞进行移植效果最好，该研究满意的解决了这些问题。

我们对 30 只成鼠的 PTG 进行体外细胞培养，在培养期间，①用倒置显微镜对培养的 PTG 细胞进行生活观察：结果发现贴壁生长的细胞先聚集成团，细胞轮廓清晰，生长状态良好，继而细胞团中逐渐出现空隙，培养第 20 天时，细胞呈索团状排列，索状细胞多由单层细胞构成，少数细胞积聚成团，培养到 26 天之后，培养中的 PTG 细胞轮廓逐渐增强，细胞内隐约可见多个

维普资讯 http://www.cqvip.com

颗粒，并出现空泡，细胞数量逐渐减少，视野中可见细胞崩解残余的碎片。②PTH 放射免疫测定：PTG 细胞体外培养第 8 天时，培养液中的 PTH 浓度为 89.9±3.0pg/ml，第 16 天，PTH 浓度稍下降，为 64.5±2.6pg/ml，培养第 20 天时 PTH 分泌达最高峰，为 142.6±2.4pg/ml，但此高峰只持续 2～3 天，培养 26 天时，随关 PTG 细胞的数量减少，PTH 浓度逐渐下降。为 43.6±1.1pg/ml，培养 30 天时，培养液中的 PTH 浓度几乎是零。从图上可以看出 PTH 分泌呈双峰曲线，第 8 天和第 20 天，出现两次高峰，但第 20 天，PTH 分泌达最高峰。该项研究结果证明，PTG 细胞在体外培养期间仍保持原有的细胞形态结构，并有分泌 PTH 的功能。在 30 天的体外培养中 PTH 出现两次高峰，如果在 PTH 分泌最高峰即 PTG 细胞培养第 20 天进行移植，移植术后是否能得到较理想的治疗效果，有待于进一步研究。

该次研究证实了在体外培养期间 PTG 细胞能成活并有分泌 PTH 的功能。将为人体 PTG 细胞同种异体移植提供可靠的理论基础。

参考文献

1. 吴状宏．如何制备大鼠甲状旁腺功能低下症模型，中华器官移植杂志 1989；10，100～101.
2. 郭征．组织培养技术，人民卫生出版社 1993；107.
3. Pinhas s, et al. Function in athymic nude mice of parathyroid heterografts from patients with primary hyperparathyroidism and secondary hyperparathyroidism. Surgery 1990；108 (6)：1040.
4. Mark H, et al. Difficulties of parathyroidectomy after previous thyroidectomy. Surgery. 1989；106 (6)；1018.
5. 吴剑彪，等．大鼠甲状旁腺移植前的培养对移植物存活期的影响，中华器官移植杂志 1991；12 (1)：8.
6. Lafferty KG. Immunogenicity of foreign tissues. transplantation. 1980；29：179.

（收稿日期：1997－03－08）

试论七年制手术学基础教学的师资培训

第一军医大学第一附属医院外科教研室 孙大成 陈 庆 马桂珍

（广东广州，邮政编码 510515）

临床医学七年制办学自 1988 年开始，已跨过第 9 个年头了。经过 9 年的试办，七年制教学在全国业已形成七年一贯制单独办学、七年一贯制合作办学和七年制四三分流制第三种办学模式。依据国家教委的要求，七年制学生完成临床医学基本训练后，进入二级学科定向实习，要培养学生具有较深厚的专业理论知识和较熟练的医疗技能，对临床各科常见病、多发病和一般危急病症能够独立处理；规定外科学（含手术学基础）为主干学科的主要课程；规定分配去向主要为省市级综合医院及高等医学院校附属医院。

无论何种办学模式，外科手术学基础教学都属于基础课范畴，属于重点课程，属于“三基”的基础性教学内容。而具有“较熟练的医疗技能”的目标要求和分配去向，对手术学教学则提出了更高层次、更为严格的要求。如何达到七年制的教学要求，完成七年制的培养目标，我们体会到，开课前对任课教师开展短期师资培训活动，对提高手术学教学质量是十分必要的。我们在 95、96 学年度先后开展了临床医学专业七年制 93、94 两个年级，共 60 名学员的手术学教学师资培训工作，情况如下。

一、一般情况

1. 教师选择：七年制手术学基础教学除要求教师总体素质优秀外，要着重选择教学献身意识强、技能带教水平高、外科临床经验丰富的教师任教。硕士、博士研究生及外语能力强者优先。

2. 培训时间：开课前一周任课教师集中，至学生开始手术学操作练习结束。时间过短达不到培训目的。

3. 活动形式：培训活动可采取讲座、示教、观看教学录像、集体备课、辅导学生超前练（打结、缝合、剪线等操作）等形式。培训工作要密切结合教学实际，针对教学中的重点、难点，培训活动就会生动活泼。

二、培训内容

1. 目标要求和教学动力：①教学目标：七年制学生手术学基础的教学目标应与国家教委规定的总的培训目标相一致，要突出强化基本技能训练和独立处理临床常见病的目标要求，统一教师认识，将手术学基础教学活动与培养目标紧密相连，贯彻始终。②教学重点：培养具有硕士水平的临床医师，这一要求就必然要将临床实用的基本无菌技术和手术基本操作技术作为手术学基础教学重点。引导教师明确“手术学基础”与“手术学”的联系与区别，明确手术学基础教学内容与外科临床工作的联系与区别。否则，教学随意性将增大，甚至将使学生的手术学基础教学混同于专科医师的培养。这必将严重扭曲了手术学基础教学的教学目的，使教学质量蒙受损失。③教学动力：七年制教学，引发了教学观念的更新、涉及教学动力的开发问题。师