维普资讯 http://www.cqvip.com

29~31

包裹胰岛微囊的物理性能研究

第一医院人工细胞研究室 何 军 舒昌达 R657.5

提 要 用3%海藻酸钠及2.2%$CaCl_2$所制备的微囊在高流速及高浓度的蔗糖溶液冲击下未见破裂，且微囊包裹活细胞经过二小时的剧烈搅拌，亦无损漏。改进法所制备的微囊具有良好的机械强度，其物理性能已达到临床进行包膜胰岛移植治疗糖尿病的要求。

关键词 微囊；物理性能；胰岛移植 糖尿病
中图分类号 K318.08

胰岛移植是治疗胰岛素依赖型糖尿病患者的一种有效方法，但由于移植后所出现的排异反应影响其疗效，若将一种人工免疫隔离膜将胰岛进行包裹后移植至糖尿病患者体内，则因为其免疫屏障作用而免受排异反应所破坏。我们已研制成一种新的人工膜，该膜可允许营养物质及胰岛素自由通过，但大分子量物质却不能进入[1]，而起到免疫隔离作用，用该人工膜包裹大鼠胰岛移植至糖尿病小鼠腹腔内，移植后有效率为91%，十一只糖尿病鼠移植后有四只完全缓解，缓解持续时间最长一只达365天，因此，在活体内已证实我们所制备的人工免疫隔离膜起到预期的抗排异反应[2]，本文是对我们所制备的微囊在物理性能方面作深入研究。

材料与方法

微囊的制作方法是根据Sun氏法[3]并在技术上作了一系列的改进，其原理是将海藻酸钠滴入氯化钙溶液中形成圆珠，用2－[N—cyc10－hex－ylam ino]ethane sulfuric acid,(sigma)处理后，再用聚－L－赖氨酸氢溴酸盐(分子量25000，sigma)包膜。

微囊机械强度的测定

按cheelham所报导的方法略作改进[4]，即用蔗糖溶液(40%w/v)，在30℃条件下，控制流速，流经装有微囊和未装有微囊的玻璃柱，(柱长70cm，直径1.2 cm)，流速为3l/h，共4小时，其结果以蔗糖溶液经过装有微囊与未装微囊柱两者间的流速比值表示之。因在高浓度蔗糖溶液流通冲击过程中，一部分强度差的微囊破裂，其碎片将阻塞微囊的空隙，使柱内微囊间的间隙变小，溶液流过的阻力增加，而致流速下降，流速的比值亦下降。

我们在用免疫隔离膜制备微囊过程中，最合适的$CaCl_2$浓度为2.2%[1]，故以此为基础以探讨制备微囊最佳机械强度的海藻酸钠浓度。

微囊包膜活细胞漏损率测定

将经24小时培养的酵母细胞悬液，取5ml悬液加生理盐水25ml测定光密度(波长540nm)，另外各取5 ml悬液包囊，分别按Sun氏法[3]和我们改进方法制备微囊，加25ml生理盐水，在磁力搅拌器上以120r/min的速度搅拌，测定搅拌过程中微囊漏出酵母细胞的情况，由于搅拌器剧烈的机械碰撞和微囊间在高速运动中的相互撞击，强度低的微囊破裂，酵母细胞逸出，溶液的光密度增高。

结果和讨论

1.海藻酸钠的浓度与微囊强度的关系结

维普资讯 http://www.cqvip.com

果见表1:

较低浓度的海藻酸钠与$CaCl_2$成形制备的微囊，强度低，在40%蔗糖溶液的冲击下，微囊破裂较多，蔗糖溶液流出玻璃柱的速度与流速比率均显著下降，随着高浓度蔗糖溶液冲击时间的增加，微囊破裂损伤程度有增加的趋势，而若海藻酸钠浓度增加，则流速比值迅速上升，使用3%海藻酸钠制备的微囊，经过蔗糖液4小时连续冲击，流速无改变，微囊无破损现象。

2.$CaCl_2$浓度与微囊强度的关系结果见表2

$CaCl_2$的浓度对微囊强度有明显影响，低浓度的$CaCl_2$制备的微囊易变形，装柱后，由于压力作用微囊间形态变化较大，孔隙变小，又因为部分微囊破损，碎片阻塞。所以从表2中可见到蔗糖溶液流经低浓度1.1%$CaCl_2$溶液制备的微囊其流速比值下降显著，随着$CaCl_2$浓度的增加流速比值很快接近1.3%$CaCl_2$溶液制备的微囊获得最好的机械强度，Sun氏报导的微囊制备用1.5%$CaCl_2$，而从上述实验发现及我们以前研究结果表明，用2.2%$CaCl_2$制的微囊不仅达到免疫屏障要求且机械强度亦较好。

3.微囊包裹活细胞漏损率研究

按Sun氏报导方法[3]制备微囊包膜酵母细胞与我们研制的微囊人工膜包膜酵母细胞在同一条件下作微囊漏损率测定，结果见表3

表1 各种不同浓度海藻酸钠对微囊机械强度的影响

时间(min)	空白	1%海藻酸钠	比值	2%海藻酸钠	比值	3%海藻酸钠	比值
60	3000	2000	0.66	2800	0.93	3000	1
120	6000	4000	0.66	5600	0.93	6000	1
180	9000	5600	0.62	8300	0.92	9000	1
240	12000	7000	0.58	10800	0.90	12000	1

表2 $CaCl_2$浓度与微囊强度的关系

时间(min)	对照	1%$CaCl_2$	比值	2%$CaCl_2$	比值	3%$CaCl_2$	比值
60	3000	2600	0.86	2950	0.98	3000	1
120	6000	5100	0.85	5800	0.97	6000	1
180	9000	7300	0.81	8500	0.94	9000	1
240	12000	9000	0.75	11000	0.91	12000	1

表3 微囊包裹活细胞的漏损率

时间(min)	对照	Sun氏法制备微囊	漏出率	改进法制备微囊	漏出率
30	0.121	0.016	13.6	0.00	0
60	0.121	0.036	29.7	0.00	0
90	0.121	0.056	46.2	0.00	0
120	0.121	0.680	56.1	0.00	0

维普资讯 http://www.cqvip.com

从表3中观察到，我们用改进法研制的微囊包膜活细胞后，微囊不易破裂，能耐受机械振荡作用，虽经过2小时剧烈搅拌无微囊损漏。

人工免疫隔离膜包裹组织细胞后进行移植，对其机械强度要求很高，因一旦微囊破裂，则所包裹的组织即被排异反应所破坏。从本文研究结果中可以认为我们所用的海藻酸钠及$CaCl_2$浓度，以及我们用改进的制囊方法所制备的微囊，不仅具有免疫屏障作用，且机械强度亦较好符合临床移植要求。

参 考 文 献

1 舒昌达，等.重庆医科大学学报 1986; 11(2):123

2 舒昌达，等.中华内分泌代谢杂志 1991; 7(2):101

3 Lim F, Sun AM: Science 1980; 210:908

4 Cheelham P. S. J,et al. Biotechnol Bioeng 1979;21:2155

(收稿日期 1993-07-15)

PHYSICAL STUDIES OF ISLETS IMMOBILIZATION MICROCAPSULES

He Jun, et al

Artificial Cells Research Lab, The First Hospital

Columns of gel pellets which were made of 3% sodium alginate and 2.2% calcium chloride were very resistant to compression and abrasion during passage of high concentration of sucrose at high flow rates. No leakage of cells occurrde during agitation for long periods. So this new calcium alginate pellets appear to have excellent physical characteristics for use as an islets immobilization support in the treatment of diabetes mellitus.

KEY WORDS Microcapsules; Physical properties; Islets transplantation

(上接28页)

DETERMINATION AND SIGNIFICANCE OF IgG ANTIBOBY TO PPD IN CSF

Lu Xianyu, et al

Dept. of Clinical Microbiology and Immunology

We determined the IgG antibody activity to purified protein derivative (PPD) in CSF from patients with tuberculous meningitis (TBM) or other brain diseases and normal control, 76 cases of total, by ELISA. According to statistics we regarded $OD \geq 0.20$ as positive. The results showed that patients with TBM clearly had higher levels of antibody to PPD antigen than did appropriate control groups ($P<0.01$). The sensitivity and specificity for the detection of antibody activity in CSF was 92.1% and 94.7%respectively. This method is rapid and convenient, it can be used for early diagnosis of tuberculous meningitis.

KEY WORDS Tuberculous Meningitis, ELISA; PPD