DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.06.006

2.3 培养上清LDH检测

在1周的培养过程中，双层胶原凝胶三明治培养肝细胞上清LDH的含量波动于24.8～58.6 U/L。不同批次培养上清的LDH含量差别不大($P>0.05$)。

3 讨论

传统的肝细胞培养为普通单层贴壁培养，一般系借助肝细胞的粘附贴壁生长特性，将其接种于玻璃或塑料培养板/瓶内，用培养液在37 ℃、5%CO_2、95%O_2条件下培养。由于此种培养方式很难模拟体内肝细胞状态，故培养效果欠佳，仅能满足一般实验，不符合一些特殊肝细胞研究的要求，特别是生物人工肝等所需高密度、高活性培养肝细胞的需求，故探索高活性培养肝细胞的方法成为相关研究的重要内容之一。

已知，正常肝细胞呈三维立体结构排列于肝小叶内，肝细胞-肝细胞之间、肝细胞-肝非实质细胞之间以及肝细胞-生物基质之间均存在着复杂的联系。其中，基质在维持肝细胞功能方面起着重要的作用[3]。大量研究显示，采用胶原凝胶将鼠肝细胞固定成三明治状培养，可提供近似于体内状态的基质环境，更有利于肝细胞的生长和特殊功能的发挥[4,5]。本实验在对刚分离的新生中国实验小型猪肝细胞的双层胶原夹心培养过程中显示，三明治培养的猪肝细胞保持了良好的蛋白分泌功能和形态学特征，其LDH漏出量较少。提示双层胶原凝胶三明治式固定法能为乳猪肝细胞提供较好的培养与生长条件，有利于猪肝细胞高活性的培养和在生物人工肝等研究中的应用[6,7]。

胶原三明治夹心培养肝细胞虽能为肝细胞提供良好的基质环境，但该培养方式的肝细胞仍为单层贴壁状态，即使形式肝板样，仍不能像体内肝细胞那样具备正常的三维立体结构，也缺乏与肝脏其它种类细胞的联系。因此，很有必要在三明治夹心培养的基础上，进一步进行肝细胞－肝非实质细胞－胶原凝胶混合三维立体培养的探索，通过提供更加近似于体内状态的环境，培养出符合生物人工肝等研究要求的肝细胞。

参考文献：

[1] Stange J, Mitzner S. Cell sorces for bioartificial liver support[J]. Int J Artif Organs, 1996, 19(1): 14－17.
[2] 郭海涛，王英杰，刘 俊，等. 体外灌流装置分离肝细胞的初步探索[J]. 第三军医大学学报，2003, 25(6): 549－550.
[3] Moghe P V, Berthiaume F, Ezzell R M, *et al*. Culture matrix configuration and composition in the maintenance of hepatocyte polarity and function[J]. Biomaterials, 1996, 17(3): 373－385.
[4] Nagaki M, Miki K, Kim Y I, *et al*. Development and characterization of a hybrid bioartificial liver using primary hepatocytes entrapped in a basement membrane matrix[J]. Dig Dis Sci, 2001, 46(5): 1046－1056.
[5] Liu X, LeCluyse E L, Brouwer K R, *et al*. Biliary excretion in primary rat hepatocytes cultured in a collagen-sandwich configuration[J]. Am J Physiol, 1999, 277(1 Pt 1): G12－21.
[6] Langsch A, Bader A. Longterm stability of phase I and phase II enzymes of porcine liver cells in flat membrane bioreactors[J]. Biotechnol Bioeng, 2001, 76(2): 115－125.
[7] Sielaff T D, Hu M Y, Amiot B, *et al*. Gel-emtrapment bioartificial liver therapy in galactosamine hepatitis[J]. J Surg Res, 1995, 59(1): 179－184.

（编辑 薛国文）

文章编号：1000-5404(2003)06-0477-01

个案与短篇

垂体腺瘤组织质地的术前判定

Preoperative evaluation of the tissue in pituitary tumor

田 军，陈 忠，曹楚南 （贵阳市脑科医院神经外科，贵阳 550005）

我们通过对45例垂体腺瘤手术病人的回顾性分析，以期了解病人的临床表现、相关激素及CT、MRI与肿瘤组织质地软硬韧度的关系，现报告如下。

本组45例，男性14例，女性31例，年龄16～67岁，视力障碍20例(有光感2例)；内分泌改变27例，其中停经或月经不正常25例，泌乳22例，25例病人泌乳素(测定增高20例，血清PRL平均值＞100 μg/L)。5例肢端肥大症，生长素平均＞100～750 μg/L，同时伴有高血糖症。4例柯兴综合征，肾上腺皮质激素平均＞100 μg/L。

CT平扫低密度、等密度18例，高密度4例，CT增强明显27例，稍有增强6例，无增强7例。MRI平扫低信号、等信号23例。MRI检查：T_1有增强的22例。MRI无明显增强8例。MRI检查：T_1低信号7例，T_2低信号5例，T_2高信号23例。

手术方式：采用经额下垂体腺瘤切除术，经翼点垂体腺瘤切除术，经口～鼻蝶入路垂体腺瘤切除术。术中见肿瘤组织质地较软有23例，肿瘤组织质地较硬4例，质地韧硬3例。3例肿瘤组织质地较韧硬的特殊病例；手术中切除肿瘤非常困难。回顾术前检查，ACTH偏高，临床表现以Cushing综合征为主。CT检查：肿瘤组织密度偏高；MRI检查：T_1像肿瘤组织信号偏低，均提示肿瘤组织无明显强化。

（下转480页）

作者简介：田 军(1960－)，男，山东省成武县人，副主任医师，主要从事神经外科专业方面的研究。电话：(0851)5524926
收稿日期：2002-10-21；修回日期：2002-12-30

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3 讨论

猪的组织、器官和细胞一直是异种移植较为理想的供体来源，自1997年来，有报道PERV感染体外培养人细胞，并建立了PERV感染SCID鼠的动物模型[5,6]，跨种族间感染及异种移植的生物安全性越来越受到重视。

PERV是一类C型逆转录病毒，颗粒大小约为110 nm，自Patience[1]报道PERV感染体外培养人细胞，PERV的携带及感染问题越来越受到重视。Switzer等[7]较早使用PCR或RT-PCR方法检测PERV，并且在猪血清或组织细胞培养上清中亦检测到病毒颗粒，发现在某些患者血浆中可出现PERV-RNA水平升高，但未检测到可提示活动性PERV感染的猪组织细胞微嵌合体的存在。目前大多数检测方法采用对gag、pro/pol序列进行扩增，其主要原因是这些片断在不同变体中较为保守，一对引物可检测出已知及未知的PERV，甚至可测出含有同源序列的亚型，对发现新型病毒亚型有一定的意义，而且这些引物对在其它逆转录病毒阳性患者(如HIV、HTLV)血液样本中未发现交叉反应现象。

根据PERV前病毒及RNA序列，选用特异性引物，可用于肝脏、皮肤等组织PERV序列检测；使用RT-PCR方法检测血清中PERV RNA序列，除严格操作外，并用未逆转录的PCR作为对照以明确无DNA污染。由于尚未见该病毒在猪体内可引起某种疾病文献报道，但病毒是否释放及其载量如何应引起关注，血清中检测到该病毒，对今后异种移植动物的选择有一定的意义。

RT-PCR反应条件的选择是建立本法的关键，适当提高镁离子浓度可提高目的片段的清晰度；本方法只能扩增检出PERV，不能检出HCV及HBV病毒，对其它实验动物的检测均为阴性，同时对照组亦为阴性，说明本法是特异的。

人类在使用异种生物的组织或器官的同时，亦面临着来自生物界不同种族的威胁。逆转录病毒基因组可能与人类基因组进行重组，并可能整合到人基因组中，不仅影响到个体本身，还可能遗传给后代。亦有可能经过筛选、适应而变成能够在人体内生存的新型病毒。再加之，目前低水平的感染尚不能检测、病毒感染途径还不很清楚、对患者远期评估尚无足够的长期随访证据。因此，PERV的实验室监测对使用异种生物材料的生物安全性十分重要，对已行异种移植的患者进行外周血及血清监测、对灵长类动物进行长期研究、对使用猪源性组织进行生物人工肝及细胞移植等治疗的患者进行监测，以期并尽快阐明PERV感染可能性、感染途径及方式等，以推动生物人工肝及细胞移植的广泛开展。

参考文献：

[1] Patience C, Takeuchi Y, Weiss R A. Infection of human cells by an endogenous retrovirus of pigs[J]. Nat Med, 1997, 3(3): 282－286.

[2] Weisis R A. Xenografts and retroviruses[J]. Science, 1999, 285(5431): 1221－1222

[3] Birmingham K. FDA subcommittee finds no evidence of PERV transmission [J]. Nat Med, 1999, 5(8): 855.

[4] Tacke S J, Kurth R, Denner J. Porcine endogenous retroviruses inhibit human immune cell function: risk for xenotransplantation[J]? Virology, 2000, 268(1): 87－93.

[5] Van der Laan L J, Lockey C, Griffeth B C, *et al*. Infection by porcine endogenous retrovirus after islet xenotransplantation in SCID mice[J]. Nature, 2000, 407(6800): 90－94

[6] Deng Y M, Tuch B E, Rawlinson W D. Transmission of porcine endogenous retroviruses in severe combined immunodeficient mice xenotransplanted with fetal porcine pancreatic cells[J]. Transplantation, 2000, 70(7): 1010－1016.

[7] Switzer W M, Shanmugam V, Chapman L, *et al*. Polymerase chain reaction assays for the diagnosis of infection with the porcine endogenous retrovirus and the detection of pig cells in human and nonhuman recipients of pig xenografts[J]. Transplantation, 1999, 68(2): 183－188.

(编辑 王 红)

(上接477页)

讨论

术前判断垂体腺瘤组织质地的软硬度，对垂体腺瘤的手术选择准备及预后有重要意义。

临床症状和体征：临床表现主要有肢端肥大症、巨人症，其肿瘤组织质地较软。症状以泌乳、停经及月经紊乱病人，多数肿瘤组织质地也较软。Cushing综合征主要临床表现，如肥胖、皮肤粗糙、毛发增多等，其肿瘤质地较硬。

神经影像学检查：CT平扫肿瘤为低、等密度，增强CT明显，提示肿瘤质地软，其肿瘤血丰富。CT检查示肿瘤为高密度，CT无明显增强或无增强，提示肿瘤质地较硬。MRI检查：T_1为等信号、低信号，T_2高信号，MRI有增强，提示肿瘤质地较软，其肿瘤血丰富。MRI：T_1为低、等信号，在T_2上显示较低信号强度的垂体瘤质地较韧。T_1为高信号，T_2为高信号，提示肿瘤有出血[1]。

内分泌激素测定：GH、PRL分泌明显增高的垂体腺瘤组织质地软。ACTH增高的肿瘤组织质地较硬。

手术效果与肿瘤的大小、发展方向以及质地有关，质地坚韧的肿瘤往往难以获得满意的切除。特别是肿瘤质地的软、硬、韧度对于手术中切除肿瘤多少有直接关系，所以术前的对垂体腺瘤组织质地的判定有一定的临床实际意义。

关键词：垂体；腺瘤；手术，外科

中图法分类号：R736.4 文献标识码：B

参考文献：

[1] 许百男，徐新民，张 记，等. 大型垂体腺瘤手术入路选择[J]. 中华神经外科杂志，1998，14(5)：313－314.

(编辑 张大春)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net