DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.04.061

2 结果

反应温度、反应时间与引发剂量对PLA聚合物特性粘度与分子量分布的影响，见表1。

表1 反应温度与时间对 η 与 M_w/M_n 的影响

编号	温度(℃)	时间(h)	引发剂(W/W)	η(dl/g)	M_w/M_n	颜色
1	140	52	0.01%	0.4812	1.6	白色
2	140	10	0.02%	0.0964	2.3	白色
3	140	24	0.02%	0.2611	1.7	白色
4	140	48	0.02%	0.4763	2.0	白色
5	140	72	0.02%	0.1962	3.2	白色
6	140	38	0.05%	0.3524	2.3	白色
7	140	18	0.09%	0.2612	3.3	白色
8	160	30	0.01%	0.3921	1.7	白色
9	160	10	0.02%	0.1642	2.0	白色
10	160	24	0.02%	0.3816	1.6	白色
11	160	36	0.02%	0.2461	3.3	白色
12	160	16	0.05%	0.2622	2.2	白色
13	160	8	0.09%	0.1956	3.2	淡黄
14	180	5	0.01%	0.3128	2.0	淡黄
15	180	2	0.02%	0.3211	2.1	淡黄
16	180	4	0.02%	0.3052	2.2	淡黄
17	180	8	0.02%	0.2263	3.2	淡黄
18	180	24	0.02%	0.1543	4.1	棕色
19	180	2	0.05%	0.2863	2.8	淡黄
20	180	1	0.09%	0.1106	3.5	淡黄

聚乳酸及PEG共聚物组成与特性粘度的关系及回收试验：选用反应温度为160 ℃，聚合反应24 h，催化剂用量为0.02%，产物各取一定量在相同条件作回收试验，聚合物特性粘度与组成的关系及回收试验见表2。

表2 PLEA共聚物组成对 η 与 M_w/M_n 的影响及回收试验

No.	PEG(wt%)	η(dl/g)	M_w/M_n	共聚物重量(g)	回收丙交酯(g)	回收率(%, $n=3$)
1	0	0.3816	2.4	50	45.2	90.4
2	0.5	0.3234	2.8	50	41.1	83.3
3	5.0	0.2613	3.1	50	40.2	89.3
4	10.0	0.1678	3.5	50	34.6	86.5

3 讨论

从表1可得出在一定量引发剂与聚合温度在140～180 ℃范围条件下，低反应温度有利于聚合物链的增长，且聚合物分子量分布范围小，反应速率较慢；随着反应温度升高，聚合速率提高，聚合物特性粘度降低，聚合物分子量分布范围增大。引发剂用量增大，聚合反应速率提高，加快了分子间与分子内酯交换反应的进程，也使聚乳酸特性粘度大大降低，聚合分散程度增大。综合考虑丙交酯聚合成聚乳酸，反应温度在140～160 ℃，反应时间24～48 h，引发剂用量在0.01%～0.04%范围为宜，这与文献[3]报道一致。

表2中，随着PEG含量的增加，共聚物的特性粘度下降，分子量降低。这可能是由于羟基化合物与引发剂 $Sn(Oct)_2$ 发生反应时，还能和正在增长的活性链端基发生链转移反应，降低了共聚物的分子量，增大了聚合物的聚合分散程度，与实验结果一致。

关键词：可生物降解；聚乳酸
中图法分类号：R318.08 文献标识码：B

参考文献：

[1] Lim D W, Park T G. Stereocomplex formation between enantiomeric PLA-PEG-PLA triblock copolymers: Characterization and use as protein-delivery microparticulate carrers[J]. J Appl Polym Sci, 2000, 75: 1615—1623.
[2] Zambaux M F, Bonneaux F, Gref R, *et al*. Preparation and characterization of protein C-loaded PLA nanoparticles[J]. J Controlled Release, 1999, 60(2—3): 179—188.
[3] Gilding D K, Reed A M. Biodegradable polymers for use in surgery polyglycolic/poly(actic acid) homo-and copolymers: 1[J]. Polymer, 1979, 20: 1459—1464.
[4] Hans R, Kricheldorf H R, Boettcher C, *et al*. Polylactones: 23. Polymerization of racemic and meso D, L-lactide with various organotin catalysts stereochemical aspects[J]. Polymer, 1992, 33: 2817—2824.

（编辑 薛国文）

技术方法

文章编号：1000-5404(2001)04-0489-02

神经组织联合移植修复成鼠脊髓损伤模型的建立

Model establishment of spinal cord injury repairment with combined vascularized peripheral nerve autograft and fetal spinal cord allograft

郭庆山，王爱民，蒋祖言 （第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所骨科，重庆 400042）

提 要：目的 建立带血管周围神经与胚胎脊髓联合移植修复成鼠脊髓损伤模型。方法 成鼠胸髓左后柱损伤后，先用自体带血管正中神经转位移植，使神经与脊髓间形成一间隙，再植入胚胎脊髓，观察其生长、发育和分化情况。结果 术后8周，有60%的动物存活。胚胎脊髓存活率为100%，体积增长378%。结论 该模型操作简便，动物存活率较高，能充分保证胚胎脊髓的存活、生长和发育，在脊髓损伤修复研究方面有较好应用前景。

作者简介：郭庆山(1971—)，男，山东省肥城市人，硕士，主治医师，主要从事显微外科、脊柱脊髓方面的研究。电话：(023)68757274
收稿日期：2000-03-20；修回日期：2000-07-17

近年来组织移植修复脊髓损伤(Spinal cord injury, SCI)得到较多关注，实验模型也不断改善。本研究建立了带血管周围神经(Vascularized peripheral nerve, VPN)与胚胎脊髓(Fetal spinal cord, FSC)联合移值修复

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

成鼠急性脊髓损伤的实验模型，取得良好效果，现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

4月龄雌性Wistar大鼠30只，体重200～295（262.6±19.8）g。

1.2 制备供体

孕14 d大鼠开腹取出胚胎，选顶臀长12～16 mm、有活力者作为供体。置含0.6%葡萄糖的冷生理盐水中，剪取颈胸段脊柱，交替挤压使脊髓灰质从一端呈蘑菇样膨出[1]，长约5 mm，平均体积（0.80±0.05）mm^3，备用。

1.3 手术设计

大鼠1%戊巴比妥钠（30 mg/kg）腹腔麻醉，固定于俯卧位。背部切口：以T_2棘突为中心，长约30 mm，显露、咬除$T_{1～3}$棘突和椎板，暴露脊髓，镜下打开硬膜，自中线左侧切除约5 mm×1 mm×1 mm的脊髓组织。前肢切口：从左肘关节下10 mm至腋窝，长约50 mm，镜下解剖出正中神经及伴行肱动、静脉。肘下10 mm切断正中神经并结扎切断肱动、静脉，将血管神经束一并向近端分离，当正中神经长度达5 mm后将其切断，带神经的血管蒂继续向近端游离约25 mm备用。转位及移植：将动、静脉蒂翻转180°，经肌间隙转至背部。切开左侧椎旁肌，咬除椎弓根，将正中神经引至椎管内，用10-0无创缝线将其远、近端分别与脊髓创腔的头、尾侧软脊膜缝合，将胚胎脊髓置于二者之间，明胶海绵覆盖，分层关闭切口。术中注意使胚胎脊髓的头、尾端分别与创腔的头、尾侧紧密贴合。

1.4 检测指标

1.4.1 一般情况 观察动物存活、伤口愈合情况，有无肢体溃疡、坏死等。

1.4.2 大体观察 术后8周，原切口暴露移植处，观察移植血管通畅情况、移植物与宿主脊髓融合度、疤痕形成等。

1.4.3 组织学检查 术后8周，动物以4 ℃ 1%多聚甲醛-1.25%戊二醛-0.1 mol/L磷酸盐缓冲液（pH 7.4）左心室灌注固定，取标本行HE、尼氏染色，光镜观察，并做形态计量分析。

2 结果

2.1 一般情况

术后8周动物共存活18只，平均存活率60%。所有存活动物切口均Ⅰ期愈合。有2只动物左上肢坏死，8只动物左爪溃疡或挛缩。

2.2 大体检查

移植神经与脊髓连接完好，血管蒂先静脉后动脉切断后均见明显活动性出血，保持通畅。胚胎脊髓则由于不断生长，逐渐凸出于受体脊髓后表面。

2.3 组织学检查

本实验期内胚胎脊髓存活率为100%。移植时胚胎脊髓平均体积为（0.80±0.05）mm^3，移植后8周达（3.83±0.34）mm^3，增长378%。胚胎脊髓与椎管外瘢痕间有一明显间隙；与受体密切相连，犬牙交错。宿主与移植物移行带缺乏明显的胶质增生，基本无连接组织疤痕侵入。胚胎脊髓实质内有大、中、小3种类型的新生神经元出现，以中型神经元占优势。大部分分化较好，有多形的外观，排列紧密。实质内还有大量新生有髓、无髓神经纤维，成簇或均匀散在。

3 讨论

脊髓损伤后移植自体带血管周围神经，可为神经元再生创造较好的微环境[2,3]；同种异体胚胎脊髓移植后[4,5]也可以成活、分化，弥补损伤、缺失的神经组织。但这两种移植物的神经化较微弱，修复作用比较有限。将VPN与FSC联合移植，可使脊髓损伤区有充沛的血供及大量神经营养因子，为FSC的生长分化、为宿主损伤轴突再生创造了更好条件[6]，胚胎脊髓生长迅速，有较多新生的神经元和神经纤维出现，表现出正常脊髓的某些特征。本模型具下列特点和优点：①采用血管蒂转位，不需血管吻合，能充分保证血管蒂的通畅。大鼠上肢的血供较特殊，游离血管蒂后仅有2例（2/30）肢体坏死，8只（8/30）动物左爪挛缩或趾端形成溃疡。②仅造成脊髓左后柱的损伤，既复制出严重SCI的病理环境，又避免了动物脊髓完全横断后极高的死亡率（50%～70%），本实验中仅有40%动物死亡。③采用挤压胚胎脊柱法获取供体，未经复杂的理化处理，存活率高、快速方便，含有大量的脊髓灰质细胞，间叶组织、软膜组织极少[1]。供体的制备在含0.6%葡萄糖的冷生理盐水中进行，且取材过程中不断离胎盘血管，取材至移植完成的时间应尽可能短（3～5 min内），对供体的损伤小，能使神经细胞得到良好保护，植入受体后仍能很好的存活分化。

关键词：脊髓损伤；修复；胚胎脊髓；周围神经；实验模型
中图法分类号：R-332；R651.2 文献标识码：B

参考文献：

[1] 杜江融，汪奇鸣，张晓倩，等. 大鼠胚胎脊髓组织移植的实验研究[J]. 中华器官移植杂志，1997，18(3)：135－137.
[2] 王爱民，周肇平，周明华，等. 自体带血管神经移植修复脊髓损伤的初步研究[J]. 中华骨科杂志，1995，15(10)：695－697.
[3] 王爱民，周肇平，周明华，等. 血循环因素在鼠周围神经移植修复脊髓损伤中的作用[J]. 中华神经外科杂志，1996，12(3)：160－163.
[4] Iwashita Y，Kawaguchi S，Murate M. Restoration of function by replacement of spinal cord segments in the rat[J]. Nature，1994，367(13)：167－170.
[5] Bregman B S，Kunkel-Bagden E，Reier P J，*et al*. Recovery of function after spinal cord injury：Mechanisms underlying transplant-mediated recovery of function differ after spinal cord injury in newborn and adult rats[J]. Exp Neurol，1993，123(1)：3－16.
[6] 郭庆山，王爱民，蒋祖言，等. 自体和异体神经组织联合移植修复脊髓损伤的实验研究[J]. 中国矫形外科杂志，2000，7(6)：559－561.

（编辑 郭建秀）

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