

# 大鼠甲状旁腺胸腺内移植<sup>①</sup>

秦有<sup>②</sup> 陈国锐

(中山医科大学附属第一医院外科; 广州, 510080)

**摘要** 将同种甲状旁腺移植于大鼠胸腺内,并与移植于肾包膜下甲状旁腺的效果进行了比较。移植于胸腺内者其平均存活期(35.8 d)明显长于肾包膜下移植(15.2 d)。如果在移植的同时应用抗胸腺淋巴细胞血清,则胸腺内移植者平均存活期为65.5 d,部分(3/8)胸腺内移植者可达到长期存活。结果认为胸腺可能为甲状旁腺移植的最理想免疫特许区,而且在免疫耐受的诱导中具有重要作用。

**关键词** 甲状旁腺 移植; 胸腺; 免疫耐受; 大鼠, Sprague-Dawley; 大鼠, 近交 Lew

中图分类号 R582.2

寻找器官移植的免疫特许区,一直是器官移植专家感兴趣的问题。缺乏排斥反应的移植区有利于移植体生存期的延长。有关甲状旁腺(PTG)移植的免疫特许区已有一些报道。包括有肝、脑及子宫等<sup>[1-3]</sup>。Posselt<sup>[4]</sup>于1990年报道,将胰岛移植于胸腺内时其生存期可明显延长。甲状旁腺为小器官组织,将其移植于胸腺内可否长期存活?本研究将Lewis大鼠的PTG移植于SD大鼠的胸腺内并同时观察应用抗胸腺淋巴细胞血清(ATS)的效果,以期PTG移植开辟新移植区的途径。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物选择

供体与受体均选用纯种大鼠,体重150~200 g,雌雄各半,移植时,供受体性别一致。供体为Lewis大鼠(Ag-B<sup>+</sup>),由深圳市老年病研究所提供。受体为与供体主要组织相容性(MHC)不配的SD大鼠(Ag-B<sup>-</sup>),由我校动物中心提供。

### 1.2 受体SD大鼠PTG功能低下模型的制备

参考吴壮宏<sup>[5]</sup>的方法,在SX P-1型双目手术显微镜下(10 $\times$ ),切除双侧PTG,术后饲低钙饮食,其配方为:稻谷(Ca<sup>2+</sup> 2 mmol/kg),牛肉(Ca<sup>2+</sup> 1.75 mmol/kg)及多种维生素。动物饮用自来水(Ca<sup>2+</sup> 1.39 mmol/L)。SD大鼠术后若血钙低于1.5 mmol/L则作为受体,移植时间在PTG切除后2周。

### 1.3 血钙的测定方法

大鼠经断尾采血约0.5 mL,分离血清后用美国

Monarch-760型自动生化分析仪测定。

### 1.4 抗胸腺淋巴细胞血清的制备

用SD大鼠的胸腺细胞免疫新西兰白兔共3次。胸腺细胞的制备方法是将胸腺剪碎后过100目钢丝网。把胸腺细胞收集到乳酸林格液中,1500 r/min离心10 min,弃上清后,用Tis-N HCl除去红细胞后,计数细胞。每次免疫用 $\times 10^9$  T细胞。第1次,第2次免疫方法为皮下多部位注射,第3次为静脉注射。间隔时间为2周。第3次免疫后7 d分离血清,56 $^{\circ}$ C 30 min灭活补体后分装成1 mL-20 $^{\circ}$ C保存备用。用微量淋巴细胞毒试验测定抗血清效价为1:1024。

### 1.5 移植方法

供体PTG的切除方法同PTG功能低下模型制备时的切除一样。切下以后,修去甲状腺组织,置4 $^{\circ}$ C乳酸林格溶液中漂洗备用。受体SD大鼠用戊巴比妥钠30 mg/kg体重腹腔麻醉后,在颈及上胸部正中切口,长约1.5 cm,用剪刀沿胸骨柄正中将胸骨剪开,长约1 cm,暴露胸腺,用显微镊子将供体Lewis大鼠的PTG送入胸腺的左右两叶内。每只受体接受供体的2颗PTG。用9-0缝线缝合胸腺被膜,以免移植的PTG脱出。左肾被膜下移植则取左侧腹直肌切口暴露左肾后,用保安刀片将肾被膜切一长约2 mm长的切口,用显微镊子将一只Lewis大鼠的2颗PTG移植于肾包膜下,因肾包膜张力大,不需缝合肾包膜,随后关腹即可。

### 1.6 实验分组

按PTG移植部位等分为4组:I组:PTG移植

①. 国家自然科学基金资助课题; ②. 第一作者, 1964年出生, 男, 博士研究生

于左侧肾包膜下,受体大鼠 6只;II组:PTG移植于胸腺内,受体大鼠 9只;III组:PTG移植于左侧肾包膜下,同时腹腔内注射 ATS 1 mL,受体大鼠 5只;IV组:PTG移植于内胸腺内,同时腹腔内注射 ATS 1 mL,受体大鼠 8只。

### 1.7 观察指标及移植存活的判定

分别在 PTG切除前后及移植后每周由鼠尾采血测定血钙。移植术后受体血清钙若大于 1.75 mmol/L,则判定为移植未受免疫排斥而存活,如血清钙复又降为 1.5 mmol/L以下时,则判定为 PTG移植被排斥。

## 2 结 果

表 1 甲状旁腺同种移植的存活期

分 组	<i>n</i>	部 位	ATS <sup>3)</sup>	ST <sup>4)</sup>	MST <sup>5)</sup>
I	6	KC <sup>1)</sup>	-	< 14× 5, 21	< 15. 2
II	9	IT <sup>2)</sup>	-	14× 2, 21, 28, 35 49× 2, 56× 2	35. 8
III	5	KC	+	24, 35× 2, 53× 2	40
IV	8	IT	+	28× 2, 56× 3, > 100× 3	> 65. 5

1) KC肾包膜下移植; 2) IT胸腺内移植; 3) ATS抗胸腺细胞血清; 4) ST存活期(按例数分别计算存活天数); 5) MST平均存活期

II组与I组相比,其存活期差异非常显著( $P < 0.01$ ,秩和检验,下同)说明胸腺内移植时PTG的存活期长于肾包膜下移植。III组与I组相比其存活期差异非常显著( $P < 0.01$ ),说明应用ATS时可延长PTG存活期。IV组与I组( $P < 0.01$ ),II组( $P < 0.05$ )及III组( $P < 0.01$ )相比差异均有显著性( $P < 0.01$ ),说明胸腺内移植的同时应用ATS可以使部分PTG达到长期存活。

## 3 讨 论

甲状旁腺移植是治疗PTG功能低下的最有效方法。但是由于免疫排斥反应,很难使PTG移植长期存活,而免疫抑制剂的使用又易致感染和肿瘤的发生。为了改善移植物的生存期,近年来,人们进行了不少的研究包括移植前的培养,射线照射及用裸鼠过渡<sup>[6]</sup>,并起到了一定作用。为了改善PTG移植生存期的另一方法便是寻找免疫特区。Pfeffermann<sup>[1]</sup>的实验认为将PTG移植于肝实质中,存

### 2.1 去甲状旁腺低血钙模型的建立

28只SD大鼠切除PTG前的平均血钙值为(2.59±0.21)mmol/L( $\bar{x} \pm s$ ,下同)。切除PTG并饲低钙饮食14d后的平均血钙值为(1.11±0.27)mmol/L,与术前相比差异非常显著( $P < 0.001$ ,*t*检验)。以上结果表明SD大鼠甲状旁腺功能低下模型的建立成功。

### 2.2 甲状旁腺同种移植物的存活期

28只受体SD大鼠移植术后1周的血钙值为(1.98±0.30)mmol/L,与移植术前血清钙值相比差异非常显著( $P < 0.001$ ,*t*检验),表明移植的甲状旁腺存活,并且有分泌甲状旁腺素的功能。各组移植物的存活期,结果见表1。

活时间较长。而陈国锐<sup>[3]</sup>的研究则显示将PTG移植于子宫壁内时可明显延长移植物的生存期。1990年,Possett<sup>[4]</sup>进行胰岛移植实验时发现,胸腺内胰岛移植物的平均生存期达17d,明显长于肾包膜下移植组(平均存活期9.5d)而应用抗淋巴细胞血清时,胸腺内的胰岛移植多数可达到长期存活。我们的实验结果与Possett类似,胸腺内的PTG移植生存期明显长于肾包膜下移植,在移植的同时如果应用ATS清除外周循环的T细胞,则可使部分PTG移植达到长期存活。以上结果说明胸腺可能是一免疫特区。

关于胸腺内移植生存期延长的机制目前尚不清楚。胸腺为中枢性免疫器官,在发育过程中,通过T细胞的阴性和阳性选择形成了对自身抗原的耐受<sup>[7]</sup>。在胸腺内进行移植而不应用ATS时,由于胸腺上皮细胞之间有紧密连接,不允许外来细胞的进入;同时外周的成熟T细胞又很少返回胸腺实质,从而使胸腺对移植具有保护作用,免受免疫系统的攻击<sup>[4]</sup>。如果在移植的同时应用ATS时,由于ATS将周围循环的成熟T细胞杀死,促使胸腺干细

胞在胸腺发育,在前 T细胞成熟的过程中,在胸腺内接触外来的 MHC抗原,将其错误地识别为自身抗原,经过功能性 T细胞灭活或克隆清除,从而诱导免疫耐受,使移植物达到长期存活<sup>[8]</sup>。

### 参 考 文 献

- 1 Pfeffermann R, Sakai A, Auda S, *et al.* The liver as a privileged site for parathyroid alloimplantation in the rat. *Surgery*, 1976, 79: 182
- 2 Lance BM. A functional and morphological study of intracranial parathyroid allografts in dog. *Transplantation*, 1967, 5: 1471
- 3 陈国锐,李晓曦,林勇杰,等. 以大鼠子宫为移植区的同种甲状旁腺移植实验研究. *中华器官移植杂志*, 1988, 9: 165
- 4 Posselt AM, Barker CF, Tomaszewski JE, *et al.* Induction of donor-specific unresponsiveness by intrathymic islet transplantation. *Science*, 1990, 249: 1293
- 5 吴壮宏,陈国锐,詹世光,等. 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
- 6 陈国锐. 甲状旁腺移植的进展. *普外临床*, 1991, 6: 155
- 7 Sprent J, Lo D, Gao EK, *et al.* T Cell selection in the thymus. *Immunol Rev*, 1988, 101: 173
- 8 Remuzzi G, Perico N, Carpenter CB, *et al.* The thymic way to transplantation tolerance. *J Am Soc Nephrol*, 1995, 5: 1639

(1996-09-09收稿 1996-11-03修回)

## EXPERIMENTAL STUDY OF INTRATHYMIC PARATHYROID IMPLANTATION

Qin You      Chen Guorui

(Department of Surgery, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510080)

This paper reported rat parathyroid implantation intrathymically. The median survival times (MST) of allografts were 36.8 d, significantly longer than those of parathyroid implanted under kidney capsule. The MST of allografts implanted intrathymically were 65.5 d, when ATS administered at the time of implantation, and some (3/8) of allografts survived indefinitely. The results suggested that the thymus may be an immunoprivileged site for parathyroid transplantation and may play an important role during the induction of immunologic tolerance.

**Subject headings**      parathyroid gland/transplantation; thymus gland; immune tolerance; rat; Sprague-Dawley; rat, inbred Lew