



研究生规划教材

全国高等医药院校教材·全国高等医药教材建设研究会规划教材

外科常用实验方法及动物模型的建立

供 研 究 生 用

Graduate
Student
Graduate
Student

主 审 裘法祖
主 编 陈孝平



人民卫生出版社

全国高等医药院校教材

供研究生用

外科常用实验方法及 动物模型的建立

主 审 裘法祖

主 编 陈孝平

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

外科常用实验方法及动物模型的建立 / 陈孝平主编.
北京: 人民卫生出版社, 2003. 7

ISBN 7-117-05660-6

I. 外… II. 陈… III. 外科学: 实验医学 - 研究生 - 教材 IV. R6-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 058307 号

外科常用实验方法及动物模型的建立

主 编: 陈 孝 平

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 67616688)

地 址: (100078)北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: <http://www.pmph.com>

E-mail: pmph@pmph.com

印 刷: 北京人卫印刷厂(万通)

经 销: 新华书店

开 本: 850×1168 1/16 印张: 32

字 数: 774 千字

版 次: 2003 年 8 月第 1 版 2003 年 8 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-05660-6/R·5661

定 价: 46.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

编 者

(按姓氏笔画为序)

- 毛小军 (华中科技大学同济医学院附属协和医院)
王 晶 (华中科技大学同济医学院)
王天佑 (首都医科大学北京友谊医院)
王玉琦 (复旦大学医学院中山医院)
王国斌 (华中科技大学同济医学院附属协和医院)
王悦华 (中国人民解放军总医院)
叶章群 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
石应康 (四川大学华西医学中心第一附属医院)
刘 斌 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
孙晓毅 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
汤钊猷 (复旦大学肝癌研究所)
冷希圣 (北京大学人民医院)
吴 强 (华中科技大学同济医学院附属协和医院)
张万广 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
张志伟 (华中科技大学同济医学院附属同济医院) (兼秘书)
张苏展 (浙江大学医学院第一附属医院)
张宗明 (同济大学附属同济医院)
李 宁 (中国人民解放军南京军区总医院)
李 雁 (复旦大学肝癌研究所)
李东华 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
李兴睿 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
杨 镇 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
杨东亮 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
杨述华 (华中科技大学同济医学院附属协和医院)
沈 锋 (第二军医大学东方肝胆外科医院)
沈世乾 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
邱贵兴 (中国协和医科大学北京协和医院)
闵 军 (中山医科大学附属孙逸仙纪念医院)
陈 实 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
陈 栋 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
陈义发 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
陈孝平 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
陈志雄 (华中科技大学同济医学院附属协和医院)

陈忠华 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
陈道达 (华中科技大学同济医学院附属协和医院)
周广东 (上海第二医科大学第九人民医院)
周宁新 (中国人民解放军总医院)
周岩冰 (北京大学人民医院)
武正炎 (南京医科大学第一附属医院)
郑树森 (浙江大学医学院第一附属医院)
姚尚龙 (华中科技大学同济医学院附属协和医院)
姜洪池 (哈尔滨医科大学附属第一医院)
赵西平 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
赵继宗 (首都医科大学天坛医院)
邵勇 (华中科技大学同济医学院附属协和医院)
倪泉兴 (上海第二医科大学附属华山医院)
秦仁义 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
耿小平 (安徽医科大学附属医院)
崔磊 (上海第二医科大学第九人民医院)
曹荣华 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
曹谊林 (上海第二医科大学第九人民医院)
梅斌 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
龚非力 (华中科技大学同济医学院)
傅德皓 (华中科技大学同济医学院附属协和医院)
董家鸿 (第三军医大学西南医院)
雷霆 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)
裴国献 (第一军医大学南方医院)
薛新波 (华中科技大学同济医学院附属同济医院)

全国高等医药院校研究生规划教材出版说明

《中国医学教育改革和发展纲要》明确指出，在今后的5~15年我国医学教育要加速发展研究生教育，到2005年，本专科教育（含高等职业技术教育）和研究生教育年招生总量占总体的比例要达到60%以上，到2015年增长到70%以上。为适应这一要求，经全国高等医药教材建设研究会和卫生部教材办公室研究决定，自2001年8月起组织编写一套供研究生使用的规划教材。此套教材较五年制和七年制教材要体现“更高”、“更新”、“更深”的特点；在教材的“三基”（基础理论、基本知识、基本技能）、“五性”（思想性、科学性、先进性、启发性、适用性）方面要更强调启发性，以培养善于思考、勇于探索、敢于创新的临床型和科研型人才。与以课程教育为主的本科学学历教育不同，研究生学历教育是课题教育，研究生可根据自己的课题方向选择性地研修相关课程。这就要求我们除了考虑整套教材的一定系统性和交叉内容外，还要指出每种课题中有争论的问题，以及其前沿和发展的方向，以启发研究生在学习中的兴趣，甚至产生科学灵感。

这次编写的19种为第一批研究生规划教材，今后将陆续编辑出版，以供广大读者使用。

目 录

第一章 绪论.....	陈孝平	1
第二章 怎样从事外科实验研究.....	杨 镇	9
第三章 外科实验室的建立	沈 锋	19
第四章 实验动物及动物尸体解剖	张志伟	23
第一节 小鼠		23
第二节 大鼠		25
第三节 家兔		27
第四节 犬		29
第五节 猪		30
第五章 外科实验模型动物的手术前准备和手术后处理	陈义发	32
第一节 实验模型动物的手术前准备		32
第二节 实验模型动物的手术后处理		37
第六章 麻醉与复苏	姚尚龙	44
第七章 免疫组织化学和原位杂交技术基础	杨东亮 赵西平	54
第一节 组织的准备		54
第二节 免疫染色技术		58
第三节 原位杂交技术		64
第八章 分子细胞生物学技术在外科实验研究中的应用	龚非力 王 晶	67
第一节 细胞分离技术		67
第二节 细胞表面标志检测		71
第三节 细胞周期的检测		73
第四节 细胞凋亡的检测		75
第九章 外科实验研究中常用的分子生物学方法和技术	张宗明	80

第一节	核酸的分离与纯化	80
第二节	聚合酶链反应技术	83
第三节	分子杂交技术	83
第四节	基因芯片技术	88
第五节	重组 DNA 技术	88
第十章	营养支持动物模型	李宁 89
第一节	发展简史	89
第二节	肠外营养支持动物模型	90
第三节	肠内营养支持动物模型	91
第十一章	休克动物模型	王国斌 93
第一节	感染性休克	93
第二节	失血性休克	97
第三节	创伤性休克	99
	附：细菌内毒素的制备方法	100
第十二章	创伤、战伤实验动物模型	赖西南 陈志雄 102
第一节	烧伤实验模型	102
第二节	吸入性损伤实验模型	105
第三节	火器伤实验模型	107
第四节	颅脑撞击伤实验模型	109
第五节	冲击伤实验模型	112
第六节	冻伤实验模型	114
第十三章	神经外科动物模型	赵继宗 117
第一节	颅脑创伤动物模型	117
第二节	颅脑肿瘤动物模型	123
第三节	脑血管疾病动物模型	128
第四节	功能神经外科	134
第五节	脊髓空洞和脑积水动物模型	139
第十四章	胸心外科动物模型	143
第一节	急性呼吸窘迫综合征	王天佑 143
第二节	肺癌	143
第三节	食管癌	144
第四节	心肌缺血再灌注损伤实验模型	石应康 145
第五节	二尖瓣关闭不全模型	150
第六节	实验动物常用胸心外科手术	157

第十五章	甲状腺外科疾病动物模型的建立	武正炎	161
第一节	甲状腺癌.....		161
第二节	甲状腺功能亢进症.....		161
第十六章	乳腺外科疾病动物模型的建立	武正炎	164
第十七章	胃十二指肠疾病及常用术式动物模型	陈道达	167
第十八章	小肠疾病动物模型	李 宁	176
第一节	肠梗阻的动物模型.....		176
第二节	肠屏障功能的动物模型和检测方法.....		177
第十九章	大肠疾病及常用术式动物模型	张苏展	180
第一节	溃疡性结肠炎动物模型.....		180
第二节	大肠癌动物模型.....		183
第三节	其他大肠疾病动物模型.....		192
第二十章	肝脏外科疾病及常用术式动物模型		196
第一节	肝外伤的实验研究.....	耿小平	196
第二节	肝缺血动物模型的建立.....	陈孝平 张万广	197
第三节	肝静脉结扎术.....	陈孝平 张志伟	202
第四节	肝动脉结扎术.....	耿小平	202
第五节	门静脉结扎术.....	耿小平	203
第六节	肝动脉插管术.....	沈 锋	204
第七节	门静脉插管术.....	沈 锋	206
第八节	肝静脉插管术.....	沈 锋	207
第九节	肝部分切除术.....	陈孝平 张志伟	207
第十节	原发性肝癌动物模型.....	汤钊猷 李 雁	208
第十一节	继发性肝癌动物模型.....	沈 锋	215
第二十一章	门静脉高压症		224
第一节	肝硬化动物模型.....	冷希圣 周岩冰	224
第二节	门静脉高压症动物模型.....	冷希圣 周岩冰	231
第三节	各种分流术.....	冷希圣 周岩冰	236
第四节	各种断流术.....	陈孝平 梅 斌	238
第五节	肝性脑病动物模型.....	陈孝平 李兴睿	239
第二十二章	胆道外科疾病及常用术式动物模型		252
第一节	胆道外伤实验研究.....	周宁新 王悦华	252

第二节	不同类型胆结石的形成实验研究·····	周宁新	王悦华	254
第三节	阻塞性黄疸动物模型·····	周宁新	王悦华	259
第四节	急性梗阻性化脓性胆管炎动物模型·····		董家鸿	262
第五节	实验动物常用胆道手术·····		董家鸿	263
第二十三章	胰腺外科疾病及常用术式动物模型·····			269
第一节	胰腺癌基因治疗的实验研究·····		秦仁义	269
第二节	急性胰腺炎动物模型·····		袁祖荣	272
第三节	胰腺假性囊肿动物模型·····		秦仁义	274
第四节	胰腺癌动物模型·····		倪泉兴	275
第五节	实验动物常用胰腺手术·····		薛新波	279
第二十四章	脾疾病动物模型的建立·····		姜洪池	286
第一节	脾被膜下血肿·····			286
第二节	脾与免疫功能的研究·····			286
第三节	脾切除对红细胞膜的影响·····			287
第四节	部分脾切除术·····			288
第五节	血脾屏障·····			288
第二十五章	小儿外科疾病动物模型的建立·····		孙晓毅	290
第一节	小儿外科动物模型的特点及适用动物的选择·····			290
第二节	小儿外科常用动物模型·····			291
第二十六章	泌尿外科疾病及常用术式动物模型的建立·····	叶章群	蓝儒竹	303
第一节	肾肿瘤动物模型·····			303
第二节	膀胱肿瘤实验动物模型·····			305
第三节	前列腺癌动物模型·····			307
第四节	肾积水动物模型·····			310
第五节	膀胱出口部分梗阻动物模型·····			312
第六节	泌尿系结石症动物模型·····			314
第七节	去势大鼠前列腺动物模型·····			319
第八节	前列腺增生症动物模型·····			320
第九节	精索静脉曲张动物模型·····			322
第十节	隐睾动物模型·····			322
第十一节	泌尿系感染动物模型·····			323
第十二节	慢性前列腺炎动物模型·····			328
第十三节	梅毒仓鼠模型·····			329
第十四节	衣原体支原体泌尿生殖道感染动物模型·····			330
第十五节	实验动物泌尿外科常用术式·····			332

第二十七章 血管外科动物模型	王玉琦	340
第一节 概述.....		340
第二节 血管内膜增生动物模型.....		341
第三节 肢体动脉闭塞性病变动物模型.....		342
第四节 多发性大动脉炎动物模型.....		343
第五节 腹主动脉瘤动物模型.....		344
第六节 主动脉夹层动脉瘤动物模型.....		347
第七节 下肢静脉功能不全动物模型.....		348
第二十八章 骨科疾病及常用术式动物模型		353
第一节 骨外伤动物模型的建立.....	杨述华 傅德皓	353
第二节 脊髓损伤动物模型.....	杨述华 郜 勇	356
第三节 骨质疏松症及动物模型的相关研究.....	杨述华 毛小军	362
第四节 颈椎病.....	杨述华 吴 强	366
第五节 股骨头缺血性坏死的实验方法.....	邱贵兴 林 进	375
第六节 腰神经根压迫的动物模型.....	邱贵兴 林 进	377
第七节 化脓性骨髓炎实验模型的建立.....	邱贵兴 林 进	379
第八节 骨肿瘤动物模型的制作和研究.....	邱贵兴 林 进	381
第九节 实验动物常用骨科手术.....	邱贵兴 林 进	386
第二十九章 显微外科动物模型	裴国献	396
第三十章 细胞培养与细胞移植	闵 军	409
第一节 细胞培养基本技术.....		409
第二节 细胞培养实例.....		421
第三节 细胞移植简介.....		431
第三十一章 组织工程实验研究	曹谊林 崔 磊 周广东	434
第一节 概述.....		434
第二节 组织工程实验研究动物模型的建立.....		435
第三十二章 同种异体器官移植动物模型		446
第一节 肾移植动物模型.....	郑树森	446
第二节 肝移植动物模型制作.....	陈孝平 李东华 陈 实 陈 栋	448
第三节 胰腺移植模型制作.....	陈 实 陈 栋	453
第四节 脾移植.....	姜洪池	455
第五节 小肠移植动物模型.....	李 宁	459
第六节 大鼠心脏移植模型制作.....	陈 实 陈 栋	466
第七节 肺移植.....	郑树森	469

第八节	肝肾联合移植	陈孝平	张志伟	472
第九节	胰肾联合移植	郑树森		473
第十节	腹腔内多器官联合移植	郑树森		474
第十一节	心肺联合移植	郑树森		476
第十二节	脑内移植	雷霆		479
第三十三章	异种器官移植动物模型的建立			483
第一节	猕猴异位猪肾异种移植模型制作	陈实	刘斌	483
第二节	猕猴腹腔内异位猪心异种移植模型制作	陈实	刘斌 曹荣华	484
第三节	小鼠颈部异位心脏移植模型制作	陈实	沈世乾 陈忠华	487
第三十四章	转基因动物的模型制作	陈实	陈栋	490
附录	常用实验动物生物学数据	陈孝平	张志伟	493
附表 1	常用实验动物生理正常值表			493
附表 2	常用实验动物红细胞正常值			493
附表 3	常用实验动物白细胞正常指标值表			493
附表 4	常用哺乳动物平均寿命和最长寿命			493
附表 5	常用实验动物正常血压值			494
附表 6	常用实验动物呼吸频率、潮气量、通气量、耗氧量			494
附表 7	常用实验动物生化指标综合参考值			494

第一章 绪 论

医学与其他学科的最大不同点在于其服务对象是患了病的人，由于这种特殊性，在很大程度上限制了医学的临床研究及实践。然而，医学科学要发展，就必须进行相关的研究。例如，一种新的医用材料用于临床之前，一定要进行组织相容性方面的研究，还要证明它对人体有无毒性；一种新的手术方法定型之前，也不能随意在病人身上应用。为了解决这些矛盾，只有通过动物实验进行验证，通过对实验结果进行分析，总结出某种适于临床应用的正面或反面结论，供临床实践参考。外科是一门实践性很强的学科，外科的发展离不开动物实验。进行动物实验和建立外科疾病及手术术式的动物模型是外科学基础研究的重要组成部分，是外科医生必须掌握的基本技术之一。

一、建立外科实验动物模型的基本概念

（一）外科实验动物模型分类

一般来说，外科实验动物模型可分为两大类：一类是在动物身上施行手术，目的是建立一种新的手术方式，或者是通过建立的手术动物模型进行相关的基础研究，如建立心脏移植动物模型进行心肌保护方面的研究等。另一类是，复制人类外科疾病的动物模型，如在动物体内复制肿瘤性疾病等。按动物疾病模型产生的原因又可分为以下三类：

1. 自发性动物模型 是指动物未经任何有意识的人工处理，在自然情况下发生的疾病，包括突变系的遗传疾病和近交系的肿瘤疾病模型。由于这种模型其疾病均是在自然条件下发生的，因此其发病特征与人类疾病很相似，对研究人类疾病有很高价值。但由于这类模型来源较困难，不可大量获得。

2. 诱发性动物模型 是指各学科的研究者根据自己的研究目标使用物理的、化学的和生物的致病因素作用于动物，造成动物组织、器官或全身一定的损害，出现某些类似人类疾病时的功能、代谢或形态结构方面的变化，即人工诱出特定的疾病，以供研究之用。该模型具有能在短时间内复制出大量疾病模型，并能严格控制各种条件，使复制出的疾病模型实验观察周期短，适合研究目的的需要等特点。

3. 移植性疾病模型 为了使自发或诱发的实验动物疾病不会随着宿主的死亡而丢失，可把这一疾病移植于另外健康动物身上，这种疾病可以在移植动物体内继续发展而延续下去，以备为不同的实验研究目的应用。如肿瘤的移植，可以在短期内获得大量带有某种肿瘤的实验动物或大量的肿瘤组织，适于肿瘤生长和转移情况的研究。

（二）建立外科疾病动物模型的意义

使用动物模型是现代科技中一种便于认识生命科学客观规律的实验方法和手段。通过对

动物模型的研究,进而有意识地改变那些在自然条件下不可能或不容易排除的因素,以便更加准确地观察模型的实验结果,并将研究结果推及于人类,从而更有助于认识人类疾病的发生、发展规律和研究防治措施。具体来说,建立外科疾病动物模型的意义有以下几个方面:

1. 动物可作为人类的替代者。临床上对外伤、中毒、肿瘤、感染等疾病的研究不可能在人体重复进行,许多科学数据不可能通过人体实验而获得和收集,而动物却可以在人为设计的实验条件下,制成模型,反复进行实验研究。

2. 动物可在人为设计的相同的实验条件下,在同一个时期内制成一定数量的模型,取得一定数量的条件一致的模型资料,克服了在医学研究中很难在人身上在同一个时期内取得一定数量条件一致的疾病材料的缺点。

3. 动物模型作为人类疾病的“复制品”,可按需采集各种样品,及时或分批处死动物收集标本,以了解疾病全过程,这是临床难以办到的。

4. 动物可提供临床上发病率较低或潜伏期较长的疾病模型材料,供医学研究用。

5. 通过对人畜共患病的比较研究,可以充分认识同一病因对不同机体带来的损害。从某种意义上说,可使研究工作升华到立体的水平揭示某种疾病的本质,从而更有利于解释在人体上所发生的相关病理改变。

(三) 复制动物模型标准

在医学研究中使用动物模型,最重要的是所选择的模型能否达到研究的目的,因此,理想的动物模型应具备如下特点:

1. 应再现所要研究的人类疾病,应该与人类疾病相类似。
2. 易于复制,复制率高。最好能在2种以上动物复制该病,复制方法要有专一性。
3. 动物背景资料完整,实验动物合格,生命周期要满足实验需要。
4. 动物价廉,来源充足,便于运送。

应该强调,动物毕竟是动物,动物疾病模型只是一种间接性研究,只能在一个局部或某个方面与人类疾病相似,不可能完全制成人类疾病的真实情况。所以动物模型实验结论的正确性只是相对的,最终还需要在人体上加以验证。复制过程中,一旦出现与人类疾病不同的情况,必须分析其分歧范围和程度,提出可供参考的共同点,正确评估有价值的结论。

二、实验外科发展简史

实验外科的萌芽要追溯到古希腊和罗马时代,希腊人在从事动物解剖的研究中获得了了解剖结构的概念,在古希腊的 Alexandria 学校中对解剖学就非常重视。早期的解剖只限于动物尸体,随后发展到对某些死者尸体进行解剖以寻找病因。到13世纪末开始普及对人体进行解剖。1316年 Mondino de Luzzi 写了最早的一本解剖手册,供学生学习时参考。1543年 Andreas Vesalius 出版了他的著作《人体结构》,指出了解剖学的纲领。1761年 Morgagni 所著的《以解剖学来研究疾病的部位和原因》一书出版, Morgagni 坚持临床观察必须和死后检查所见联系起来,《以解剖学来研究疾病的部位和原因》代表了他毕生的工作,是医学主要的经典著作之一。18世纪是实验外科的开端,这与 Hunter 的贡献分不开。Hunter 按照 Morgagni 的传统,把病理检查引进到外科学来。Hunter 曾将公鸡腿上的肉距移植到鸡冠上并继续生长,是为组织移植的先例。Hunter 还通过对鹿角的实验性研究,认识到在处理

动脉瘤时，在无病变的正常血管段处进行动脉结扎，术后往往有充足的侧支循环建立。因此，如果对股动脉瘤或腘窝动脉瘤采用这种方法可避免截肢，这是外科治疗的一大进展。1794年 Hunter 的著作《论血流、炎症、枪伤》出版，炎症因而成为“外科的第一个原则”。由于 Hunter 的巨大贡献，被誉为实验外科之父。William Bearment (1785~1853) 对创伤性胃痿病人 Martin 进行了首创性的胃生理研究，成为临床实验研究的先例。Kocker (1841~1917) 在甲状腺肿的外科治疗中发展了甲状腺切除的外科技术，同时对甲状腺在人体代谢中的功能作了大量的研究工作，并因此于 1909 年获诺贝尔奖。法国的 Dupuytren 利用实验生理学和病理学方法对外科疾病进行了开拓性的研究。德国外科医生 M. H. Blook 在 1882 年发表了有关心脏伤口的报告，他成功地缝合了兔心的伤口，并极力主张按同样方法应用于人，标志着实验心脏外科的开始。Alexis Carrel (1873~1944) 是一个伟大的实验外科学家，他对伤口愈合、组织培养、器官移植，以及血管吻合术等颇有研究，并于 1912 年获诺贝尔奖。Harrison 和 Burrows 在细胞和组织培养方面的开创性研究工作则把医学和生物学结合起来。此外，Bassini、Billroth、Halsted、Whipple 等外科大师们均在实验的基础上做出了今天为我们所熟知的卓越成就，为推动外科的发展建立了不朽的功勋。

实验外科的快速发展是在 20 世纪 50 年代。1950 年至 1960 年初，实验动物学获得重大发展，实验动物质量显著提高，实验外科也进入全面发展时期。以实验动物复制人类疾病模型为探索人类疾病的病因、诊断及治疗作出了巨大贡献。实验的初期是以自然发生方式或诱发方式获得人类疾病动物模型。随着医学的进展以及外科特有的优势，更具有外科特点的是采用手术的方法制作与外科相关的疾病模型，其研究内容和应用范围也逐渐扩大。如在休克的实验研究方面，确立了微循环学说。1954 年 Murray 在实验研究的基础上首先施行同卵双生姐妹间的肾移植获得成功，并于术后长期生存；1962 年 Murray 又第一次用尸体肾进行人的异体肾移植而长期存活，从而打开了脏器移植的大门。1955 年纽约的 Welch 首次报道狗的同种异位肝移植，1956 年美国外科医生 Cannon 首次进行了狗的同种原位肝移植 (OLT)。1960 年美国医生 Jacobson 和 Saurez 开创了显微血管外科技术，用放大 25 倍的手术显微镜吻合了 26 条口径在 1.6mm 以上的动物小血管，通畅率达 100%，这一实验结果为 1962 年 Malt 和 1963 年陈中伟等在临床取得断肢、断指再植成功奠定了基础。1960 年以后，随着高质量实验动物的商品化，实验外科步入了一个新的发展时期，尤其是在脏器移植和生物医学工程技术方面取得了突破性的进展。通过实验外科的深入研究，在脏器移植方面取得了三方面的突破，即①显微血管吻合技术和吻合器械的成熟；②离体供移植器官的低温保存方法研制成功，如移植供肝 UW 液的发明及商品化；③HLA 配型的发现及免疫抑制剂（硫唑嘌呤，1961；泼尼松，1964；抗淋巴细胞球蛋白 ALG，1969；环孢菌素 CsA，1979；FK506，1989）的研制成功并不断发展。由于器官移植技术的进步、移植免疫基础的研究以及各种免疫抑制剂的进展，有些脏器（如肾）器官移植已成为临床上治疗器官功能衰竭的有效手段。20 世纪末期，由于分子生物学的发展，使利用现代分子生物学技术建立人类疾病实验动物模型成为现实，体内基因转移动物模型（1980）、基因敲除动物模型（1988）、模仿人体肿瘤发生的实验动物模型（1993）等相继建立，为进一步研究人类疾病发挥着巨大作用。此外，实验动物学的发展对实验外科的发展也产生了深远的影响。

我国实验外科主要的成就 解放前，我国外科的基础极其薄弱，几乎无实验外科可言。新中国成立后，随着创伤外科、大面积烧伤救治、断肢（指）再植、心脏直视手术、肝胆外

科以及器官移植等临床外科的发展，推动了实验外科的进步。实验外科的队伍从无到有，除了医学科学院等专门研究机构以外，各地有条件的单位逐步建立起实验室（组）、研究室。1952年解放军军事医学科学院创建了第一个野战外科实验基地，也是我国第一个实验外科工作基地；1953年，鉴于外科学在军事医学中的重要性，组建了实验外科系，并在沈阳市建立了我国第一所大型中心血库；1954年开展了心脏瓣膜手术；1955年临床肝叶切除术在武汉同济医院和长春白求恩医科大学先后获得成功；1959年成功地抢救了烧伤面积达89%的伤员；特别是1963年首例断肢再植获得成功，引起国际外科界的极大重视。北京协和医院对水盐电解质和酸碱平衡等外科基础的研究；第二军医大学和武汉同济医院对肝内外血管解剖的研究，武汉同济医院发现肝短静脉多达数十支，分2~3排排列，认为这是肝另外一个“门”，即第三肝门；上海医科大学对周围血管病的研究等，这些具有里程碑意义的成绩都是在积极开展各项实验研究的基础上完成的。1964年武汉同济医院成立了我国第一所经国家科委批准的“腹部外科研究室”。随着外科各专科的成立，实验外科开始向各分支学科发展。应该肯定，1949~1965年是我国实验外科蓬勃发展的萌芽时期。10年文化大革命期间，我国实验外科同样遭受了重大挫折，基础理论研究几乎停顿。尽管如此，在这样的历史条件下，我国外科工作者仍积极开展了一些临床实验研究，如针刺麻醉、中药麻醉、中西医结合治疗急腹症和骨折；显微外科研究进一步发展；烧伤、严重创伤的治疗技术又有所提高；开始对肝癌、食管癌、胃癌等恶性肿瘤进行普查和早期诊断与治疗的研究；开展了器官移植，特别是肾、肝移植的动物实验和人工器官的研制，包括探讨移植手术方式、器官保存方法和抗排斥反应等。1970~1973年，武汉同济医院开展了狗同种异体原位肝移植，为我国开展临床肝移植奠定了基础。正是这一时期，国外在外科基本理论和高新技术应用方面取得突破性的进展，从而加大了我国实验外科与国际先进水平的差距。1977年以后，我国实验外科重新开始发展。1978年恢复了研究生培养制度，此后大批留学生出国进修学习，从而迅速壮大了实验外科的学术队伍，提高了实验研究的学术水平。1983年实验外科成为第十届全国外科学术会议的主题之一。1984年《中华实验外科杂志》创刊。1990年在武汉召开了第一届全国实验外科学术会议，并成立了中华医学会外科学会实验外科学组。进入20世纪90年代，我国实验外科逐渐向分子水平发展，同时涉及边缘学科的研究也不断开展并取得进步。特别是近几年，随着纳米技术和基因工程等高科技的融入，我国实验外科与国外实验外科之间的差距明显缩小，并显示出强大的生命力和灿烂的发展前景。

三、现代高科技的融入与实验外科的发展

（一）细胞分子生物学技术

1953年Watson和Crick根据X射线分析和生物化学等手段提供的材料发现了DNA分子的双螺旋结构，科学地证明了基因的化学本质是DNA分子，标志着分子生物学诞生。1958年Crick在DNA双螺旋学说基础上提出了分子生物学的中心法则，从而把从微生物到人类的整个生物世界统一为一个大的生物系统。1962年Holley等破译遗传密码，阐明了蛋白质合成机制。在此期间，由于DNA多聚酶，信使RNA、DNA连接酶，限制性内切酶和逆转录酶的发现，细菌“乳糖操纵子学说”的提出，全部遗传密码的破译等理论与技术的突破，美国的Boyer和Cohen先后完成了DNA体外重组实验，使分子生物学家们能够在体外

按照主观愿望切割和拼接 DNA 分子, 借助细菌制造大量所需 DNA 片段, 极大地促进了 DNA 本身结构和功能的研究, 使生物学家从认识利用生物的时代进入了改造和创造物种的新时期。1975 年 Hier 和 Milstein 成功地利用 B 细胞杂交瘤技术制备出了单克隆抗体。20 世纪 80 年代基因工程开始用于疾病治疗, 如利用单克隆抗体治疗肿瘤等。

分子生物学与外科学的相互渗透、交叉, 形成了一个新的学科——外科与细胞分子生物学 (molecular cell biology in surgery, MCBS)。MCBS 旨在以手术获得的临床材料 (或一部分培养的人类细胞) 为对象, 应用细胞分子生物学的理论, 以现代生物学技术为手段, 来研究、解决临床外科中肿瘤、移植、创伤、感染等常见疾病和问题, 并以其研究结果推动整个临床医学的进步, 反馈和完善细胞分子生物学。细胞分子生物学几乎涉及外科实验研究的各个领域, 尤其是在肿瘤、移植、创伤、感染及脏器外科等领域中已取得瞩目成就, 极大地推动了实验外科的发展。外科医师可以选择性地提供人体的组织标本, 借助于细胞分子生物学实验室的生物模式和先进技术在分子水平研究细胞的结构和功能, 从而揭示疾病本质。

(二) 干细胞技术

干细胞 (stem cell) 是来自胚胎、胎儿或成人的具有持久或终身自我更新能力的细胞, 它能产生特异的细胞类型形成人体组织和器官。按发育阶段可划分为胚胎干细胞和成体干细胞两类。从分化潜能划分, 有全能干细胞、亚全能干细胞、多能干细胞和相对定向干细胞。

干细胞在生命科学的各个领域都有着重要而深远的影响, 如克隆动物, 转基因动物的生产, 细胞、组织和器官的修复和移植治疗, 组织工程等。干细胞技术应用于临床可望分为三个阶段实现:

(1) 成体干细胞移植阶段: 把一种组织的成体干细胞直接移植给相应组织坏损的病人。如大家熟悉的“骨髓移植”治疗白血病, 实际就是移植造血干细胞。因为成体干细胞已经经过一定程度的分化, 具有相对的“组织特异性”, 因此可以直接用来修复相应的坏损组织。如何在体外扩增成体干细胞以提供充足的移植细胞是应用这一技术的关键。最近有多家实验室在体外成功地扩增了造血干细胞, 如果其他组织的成体干细胞也可以通过类似的方法进行扩增, 那么利用成体干细胞治疗疾病就有望在临床中率先实施。

(2) 细胞替代阶段: 如果掌握了干细胞分化的条件, 就可以在体外对干细胞进行诱导, 使之“定向”分化成所需要的细胞; 对于某些遗传性疾病, 还可以对干细胞进行基因修饰, 将经过“定向分化”或“基因修饰”后的干细胞进行筛选后, 把“合格”的细胞移植给病人。这两种方法都属于“细胞替代”。“细胞替代”技术可望用于糖尿病、帕金森病等因某种细胞死亡而引起的活性因子缺乏疾病。

(3) 器官替代阶段: 对于那些固体器官严重损坏者, 必须进行“器官替代”。干细胞技术的理想阶段就是希望在体外进行“器官克隆”以供病人移植。虽然“器官克隆”已经不是陌生的名词, 但真正在体外形成一个具有空间结构, 有正常血液供应、神经分布和正常生理功能的人体器官还是一个“美好的愿望”。但我们有理由相信, 干细胞技术将成为 21 世纪生命科学的强大推动力。

(三) 纳米技术

“纳米技术”的基本涵义是在纳米尺寸 ($10^{-9} \sim 10^{-7} \text{m}$) 范围内认识和改造自然, 通过直接操作和安排原子、分子创制新的物质。纳米技术是以许多现代先进科学技术为基础的科学, 它是现代科学 (量子力学、介观物理、分子生物学等) 和现代技术 (计算机技术、微电