

组织和细胞的移植



978

R. E. 比林汉

等 编 著



科学出版社

組織和細胞的移植

R. E. 比林汉等 編著

朱 润 译

科 学 出 版 社

1 9 6 6

R. E. Billingham and Willys K. Silvers
Transplantation of Tissues and Cells
The Wistar Institute Press, Philadelphia
1961

内 容 简 介

本书记述有关细胞组织移植的各种技术和基本原理,包括皮肤、卵巢和内分泌器官的移植技术,和尿囊绒毛膜、田鼠颊囊与扩散室内等的组织移植方法,以及有关移植耐受性的诱导和移植免疫性的传递等方法和技术,最后一章是有关纯系动物的引种繁殖和维持。

本书可供实验生物学和医学研究工作者参考。

组织和细胞的移植

R. E. 比林汉等 编著

朱 润 译

*

科学出版社出版

北京朝阳门内大街 137 号

北京市书刊出版业营业许可証出字第 061 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1966 年 5 月第 一 版 开本:850×1168 1/32

1966 年 5 月第一次印刷 印张:5 3/16

印数:0001—2,700 字数:133,000

统一书号:13031·2275

本社书号:3449·13—10

定价:[科六] 0.80 元

序 言

在广大范围的医学和生物学问题的研究中,应用细胞和组织的移植日渐增多。其中有一些是关于特殊组织本身的特殊性质:例如皮肤的色素形成、毛的生长、区域性差异以及再生能力;内分泌组织的功能活动;肿瘤的恶化性质;某些组织的免疫能力;多种细胞和上皮细胞的迁移能力;以及血流和淋巴流中小淋巴细胞再循环的习性等。在其它问题中,移植提供了简单而便利的方法,以检定某些细胞和组织在体外对抗各种处理的能力——例如遭受温度或其它物理压力诸如干燥,以及遭受药物和抗血清。作为评价组织生活能力的一种方法,移植往往胜过体外培养,因为在后者的条件下,外植块正常地失去它们的组织学与解剖学的专一性。一片皮肤的正位移植,不仅将确定细胞的生存,而且也确定了皮肤系一种有结构、有功能的组织而生存的。

老年学最重要的实验性研究途径之一是需要年龄嵌合体(age chimeras)的产生,这样,移植的组织 and 器官就能在正常的和功能上活跃的状态中保持,大大超过它们正常生命所能预期的时间。在免疫学上,这一个个体对另一个体的某些类型的免疫性或致敏性的传递,只要用适当的组织学类型的活细胞“移植物”的方法就能达到。

最后,可能为移植的最重要的现代应用是在二个类似现象的研究:(a)组织移植免疫性(tissue transplantation immunity)——当成年个体用它们同种的但遗传上无关的个体细胞或组织移植时所唤起的致敏状态,很快就引起有关的同种移植物的毁坏;以及(b)外来组织移植物的主动获得的耐受性(actively acquired tolerance)——在一生的早期遭受过外来组织细胞的生存后,对同种移植物反应的专一性的无能。

对于(a)的一种变相也须加以说明,这里同种移植物和宿主的免疫作用实际上是可以对换的,宿主本身因被移植物的免疫上有能力的细胞对抗宿主的结果而被损害或毁坏,可用遗传的或实验的方法,使移植物本身免于摒弃。

本专著的目的是详细地提出用作组织和细胞的实验性移植中的以及分析移植物所能唤起的免疫反应中的某些步骤和原理。这些方法既是从不同的贡献者的经验而产生的,又是在他们的手中已产生过满意的结果。已作出了各种努力来指出所记述的技术的可能应用及其限度。

由于对许多问题的研究,包括组织移植技术,近亲品系或同质品系动物的极其重要性,最后一章记述了这些品系的引种、繁殖、和一致性的维持的方法。

R. E. Billingham

Willys K. Silvers

1961年2月20日

目 录

序言	vii
第一章 哺乳动物游离皮肤的移植	R. E. Billingham 1
I. 引言	1
II. 哺乳动物皮肤的解剖学与区域性变化纪要	1
III. 皮肤移植的原理	3
IV. 麻醉	4
V. 皮肤的准备; 器械; 消毒; 包扎	5
VI. 植片的准备	8
VII. 植片的储存	14
VIII. 受皮区域的准备、移植和包扎	15
IX. 检查和术后包扎	19
X. 皮肤植片的检定	20
参考文献	25
第二章 新生大鼠和小鼠的皮肤移植	David Steinmuller 28
参考文献	30
第三章 鸟类的皮肤移植	R. E. Billingham 31
参考文献	34
第四章 内分泌器官的移植技术	Paul S. Russell 35
I. 引言	35
II. 移植术	35
III. 植入	39
IV. 检定内分泌组织植入物命运的方法	47
参考文献	49
第五章 卵巢组织的移植	Joy Palm 51
I. 引言	51
II. 正位移植	52

III. 异位移植	57
参考文献	58
第六章 联体..... Darcy B. Wilson	60
I. 引言	60
II. 方法	60
参考文献	62
第七章 在尿囊绒毛膜上的组织移植..... R. E. Billingham	64
参考文献	66
第八章 在叙利亚田鼠颊囊内的组织移植... R. E. Billingham	67
参考文献	68
第九章 在扩散室内细胞和组织的移植..... D. Bernard Amos	70
I. 引言	70
II. 膜	71
III. 扩散室的壁	72
IV. 膜与环的粘合	73
V. 扩散室的类型	74
VI. 消毒	77
VII. 罅裂	77
VIII. 扩散室的装置和插入	78
IX. 扩散室的检查	79
参考文献	80
第十章 获得胸导管淋巴细胞的方法..... Darcy B. Wilson	82
I. 引言	82
II. 方法	82
参考文献	87
第十一章 同种组织移植物耐受性的诱发..... R. E. Billingham	88
I. 引言	88
II. 一般讨论	89
III. 能存活的细胞悬液的准备	91
IV. 新生哺乳动物的静脉注射	94
V. 腹腔注射	96
VI. 胚体内接种	97

VII. 鸟类耐受性的诱发	99
VIII. 关于异种组织抗原耐受性的诱发	102
IX. 移植物对宿主反应: 矮小症	103
X. 移植物对宿主反应的应用	105
参考文献	106
第十二章 移植免疫性的传递(“受纳”免疫).....	
..... R. E. Billingham	109
参考文献	112
第十三章 能诱发移植免疫性抗原的提取... R. E. Billingham	114
参考文献	115
第十四章 组织移植的免疫遗传观点..... Joy Palm	116
I. 引言	116
II. 组织适合性基因和抗原	117
III. 组织适合性抗原的生物学和化学性质	119
IV. 对同种移植物免疫反应的性质	120
V. 检定被移植的细胞或其后代的技术	120
参考文献	133
第十五章 近亲品系的定义与维持..... Willys K. Silvers	138
I. 引言	138
II. 近亲品系的维持	139
III. 近亲品系同质性的检定	144
IV. 近亲品系混杂的检查	146
V. 抗同质系株	147
参考文献	149
索 引.....	150
中外文名词对照表.....	157

第一章

哺乳动物游离皮肤的移植

R. E. BILLINGHAM

I. 引言

为了移植的目的,皮肤的一些显著优点是这样,除了应用皮肤来研究有关它本身的性质之外,当被移植的组织类型不是一个实验的参数时,皮肤也是被特别选择的组织。它的优点包括:它容易得到而且丰富;用它时容易掌握;它的抵抗损伤和其它影响的显著能力,包括它的血液供应的暂时中断(在移植中不可避免的)而不须计较因局部贫血而坏死的结果;它是能够容易正位移植的唯一组织,即在解剖学上原来的环境;皮肤植片的命运能够粗略地用肉眼一天天的继续检查(有许多标准可利用来检定皮肤植片的正常与否),或者更精细些,用多次的活组织检查而无困难,并且不致引起损害受体的健康;可将皮肤以是否出现上皮从植片向外生长,作为显示它本身的存活或死亡的方法来移植;最后,在大形的哺乳动物之间,如牛或羊,需要交换组织的实验中,皮肤是唯一适宜的固体组织。由于皮肤移植的广泛应用,它将受到相当详细的说明。

II. 哺乳动物皮肤的解剖学与区域性变化概要

哺乳动物的皮肤是由下列各层组成的:(a)表面的表皮及其附属物(毛发和腺体),位于与之相嵌合的(b)真皮上,真皮主要由坚韧的胶原纤维呈立体的聚集而成,通常有很稀疏的成纤维细胞和组织细胞分布。且不管表皮的附属物,它们在正常时不紧接真

皮的基部，真皮表皮接合面很少是平坦的，而是出现有各种不同的‘丘与谷’的式样，因各个区域而不同 (Medawar, 1953; Billingham 和 Silvers, 1960)。从一片表皮的下面看来，真皮突起——所谓真皮乳突——在形状上恰好补足表皮的谷。(c) 浅层筋膜将皮肤与邻近部分——通常很疏松的——联接起来，而它的最简单的形状是单由疏松的蜂窝结缔组织构成。浅层筋膜不是一种均匀的组织，因为它可分化为一层或多层脂肪和插入一些纤维组织层，并且它可含有一层横纹肌，即皮下肌肉层，它能使许多动物剥下它们的皮肤。除人体而外，这一肌层往往扩展到躯干的大部分，并且有一部分扩展到肢体。

在兔子，浅层筋膜是由一些层迭的结缔组织构成的，它们的胶原纤维主要是在与皮肤表面相平行的平面上而排列的。由于缺乏垂直于表面走向的纤维，兔子的皮肤就容易在这些天然的筋膜分裂面上被‘剥下来’。可是在许多其它动物种类中，脂肪层即筋膜 (panniculus adiposus) 在浅层筋膜内出现，它紧密地与上部的真皮与下部的肌层相连接。因此这些动物的皮肤不能从真皮的下部自然而然地剥离，而只有小心地剖开或剪下。

浅层筋膜供作一种基质，主要的皮肤血管、淋巴管和神经都通过它进入平行于皮肤表面的平面内，当有皮下肌层存在时，它们则直接在皮下肌层之上。

在皮肤的精细解剖学上有显著的区域性变化。如在许多动物种类的耳、阴囊、蹠的表面和尾部，表皮较厚并且常有色素，这些地方毛被稀疏或者缺如。耳壳皮肤的真皮通常是薄的，具有细的胶原纤维，而浅层筋膜则很疏松，所以耳廓提供了薄的植片的良好来源。腹部皮肤几乎必定比背部皮肤为薄和柔弱，并且它的毛也较短，在颜色上也往往较淡。这些区域性差异以及种间差异是决定取得所选类型的植片的做法和方便。

大都限于皮肤的纤维成分在解剖学上的这些主要变化之外，还有在各种表皮上皮之间的固有差异，在移植于另一解剖学上不是原来位置的皮肤表面后，这种差异也被无限期地保存下来 (Bill-

lingham 和 Medawar, 1948, 1950b; Medawar, 1953)。例如,无毛、平滑、高度分层和有丝分裂活跃的豚鼠足底表皮,当移植于有毛的躯干皮肤上所作的位置时,永远保持这些明显的性质。有如这样一些差异,以及关于色素形成的差异也是一样,都可供作永远区别植片与四周本有皮肤的“记号”。

III. 皮肤移植的原理

植片由表皮与不等量的真皮组成。植片基底应切割到直接覆盖皮下肌层的血管筋膜的平面上为止,因而皮肤的主要血管是保持完整的,而能备作植片的血管供应(图 1B)。深层筋膜为较多的纤维组织而血管化较差,不能供作很满意的植片基底。

只要皮肤片不太厚,并且在无菌的和足够血管的基底上,保持着适度地稳定压力,直接相接触的伤口面上通过间充组织的增生和纤维朊的活动,就直接连合起来——即以“初步合口”的愈合过程而联合起来。血管供应的恢复可能为在植片中的一些小的、被切断的血管与植片基底的血管以各个断端相连接的方式而吻合起来(Converse 和 Rapaport, 1956),可是最后的血管形成似乎为来自基底血管侵入穿进植片的结果,这在第四天即已完成了。虽然和它的基底的联结仍不很稳固,可是 5 天或 6 天的皮肤植片总是具有异常丰富的血管供应,导致急剧的表皮细胞活动和增生的短暂时期,反映在剧烈的过度增生上(Medawar, 1944)。

只有“游离的”(与皮管或皮瓣相对)移植——即已经完全割离身体的皮肤移植——将予以记述,因为游离的移植片是任何实验上重要的唯一的一种。为了方便起见,二类移植片将予以考虑:大小合适的移植片(fitted grafts),填满缺损,尽可能正确地放到缺损中去(图 2 和 3);“开放式”移植片(openstyle grafts),皮肤缺损不完全用移植的皮肤来覆盖(图 1)。后一移植片,由二种同时发生的过程进行愈合的:(a)由来自植片和创伤边缘的上皮迁移生长,跨越肉芽组织,在未被植片覆盖的接受区域上建立起来;(b)以这一重新生长的表面的一般收缩,尤其是间充组织“充满”的创伤

(Billingham 和 Russell 1956b)。因此,在大小合适的移植片中,原来植片与创伤边缘最后几乎完全并列。开放式移植的特殊优点是简便,使得植片的存活用肉眼就可看出,从植片的表皮向外生长的出现,跨越四周露肉的创伤表面。

IV. 麻 醉

一般麻醉是对小巧伶俐动物作移植手术不可缺少的,并且对皮肤植片的初步检查和以后包扎的更换,如果必要的话,也都是非常需要的。

戊巴比妥钠 (Nembutal) (Pentobarbitone sodium) 对小鼠、兔子、豚鼠、松鼠、叙利亚和中国田鼠以及小鸡都是很满意的,如果必要的话,辅以乙醚。商业上的配方,戊巴比妥钠在下述配就的溶剂内含有 70 毫克/毫升:

戊巴比妥钠	7.0 克
酒精	10.0 毫升
丙二醇	20.0 毫升
水	70.0 毫升
	100.0 毫升

合适的剂量和纳入的途径是:

兔子和猴子: 0.5 毫升/公斤体重,各自耳缘静脉和大腿静脉或腹腔注入。

小鸡: 0.5 毫升/公斤体重,自翅静脉注入(很小的鸡应该用乙醚。

豚鼠: 标准液在生理盐水或任氏液冲淡 1:5, 使用剂量为 1.0 毫升/500 克体重,从腹腔注入。

对小鼠、田鼠和松鼠,须用更淡的戊巴比妥钠溶液,含有 7 毫克/毫升。可将标准液用正常盐液冲淡 10 倍来制备,或者更满意地可将粉末溶解于更淡的溶剂内:

戊巴比妥钠	7.0 克
酒精	10.0 毫升

丙二醇	20.0 毫升
水	970.0 毫升
	1000.0 毫升

将此液以 0.1 毫升/10 克体重的剂量自腹腔注入。配成 25 或 50 毫升的分量,储存于低温冰冻,以便应用。

三溴乙醇(Avertin)(纽约 Winthrop Laboratories)(用正常盐液新鲜配制的 1.25% Bromethol 液,剂量为 0.2 毫升/10 克体重)为另一种对小鼠合适的麻醉剂(Hicken 和 Krohn, 1960)。这是从腹腔途径注入的。

对于大鼠,水合氯醛(Chloral hydrate)的水溶液(含有 36 毫克/毫升和以 0.75—1.0 毫升/100 克体重的剂量,由腹腔注入)已得出优良的结果(Brightman, 私人通讯),可避免呼吸道粘液分泌,这是在这种动物用乙醚麻醉刺激的间接作用。如果应用乙醚麻醉,可用硫酸阿託品(atropine sulphate)(0.01%的正常盐液,剂量为 0.5 毫升/100 克体重)施行皮下注射,防止粘液分泌。

辨别动物对这些麻醉剂的感应性存在着可察觉的种内变化是重要的,但同一品系的动物有相当一致的反应。按照经验,对提出的剂量作某些调整是必需的。

戊巴比妥钠的应用,希望能设法帮助维持正常的体温,例如应用加温的手术台,特别是小鼠,让它们在环境温度约 30°C 中恢复(孵育箱为良好的恢复室)。麻醉的持续时间主要决定于温度。

V. 皮肤的准备;器械;消毒;包扎

预定植片的供皮和受皮区域都必须剪去毛(用机械剪最为方便),在比构成实际手术区更大的区域内,尽可能地剪短。因为有毛被的皮肤,即使经过剃刮,也不能完全消毒,剃刮是不必要的,除非切取很薄的植片。大多数啮齿动物体躯表面的表皮都很薄,在剃刮时要避免损伤它们的皮肤几乎为不可能。这一事实,在计划任何研究停留 6 天或少于 6 天的植片时,必须予以考虑。在研究较长的植片时,这一因素就可忽略不计,因为植片的损伤一当初级

愈合完成时就已迅速痊愈了。

在必要的地方,以肥皂涂抹剪短毛的位置上,用剃刀或用双面保安剃刀剃刮干净;耳廓皮肤最好用保安剃刀刮。要不然,用肥皂和水,或者用适当清淨剂的水溶液,充分洗净剪毛区域,多余的清淨剂可用医用酒精来除去。以含有2%的苯甲烃胺(Zephiran)、溴化鲸蜡三甲基铵(Cetavlon) (cetyltrimethylammonium bromide) 或者类似药剂等在70%酒精的溶液内,揩擦皮肤,令其干燥后而达到最后的清洁。在小形啮齿动物,当应用大小合适的移植片时,只要剪短毛的皮肤不太脏,在预作植片接受区域,可以省略清洁步骤,而简单地应用稀的火棉胶溶液涂抹(参看31页),任其在皮肤上干燥。这就“固定”着留下的毛屑和表皮碎屑,提供了完全适当的“消毒”,而且又便于用小弯剪剪割植片的基底。

所记述的全部手术,都能以“无接触”技术而作出;消毒的覆布、手术衣、橡皮手套以及小心擦洗等都是不必要的了。

对普通移植手术,下述器械应该是有用的:解剖刀(如Bard Parker)与11、12、15、和21或22号不与刀柄一起的刀片;“挟取镊子(pinch forceps)”(以钟表匠镊子的尖端向内弯曲而作成——参阅图1A和2A);不锈钢的钟表匠镊子;精细的弯头剪;大的直剪;大的直镊子;以及细的和粗的二种有犬齿的镊子。所有器械应予消毒,在不用时应放在消毒的布内,或者安放在用5% Dettol (纽约鲁契斯特 The R. T. French Company) 水溶液或用2%苯甲烃胺(Zephiran) 水溶液消毒过的适当表面上。

不锈钢器械最便于消毒,煮沸5分钟就成。解剖刀(实际上所有锐利刀锋的器械)和玻璃器皿最好用热消毒(140—150℃, 45分钟)。为方便起见,解剖刀和精细镊子可保存在消毒过的6" × 5/8"无边界的硬质玻管内,盖以Morton不锈钢培养管套子或其它适当的塞子,以便随时取用。

移植技术需要一些特殊的包扎。将浸透熟石膏的绷带(Gypsona, Baner and Black of Chicago Ill 出品,证明超过其它曾经试验过的品种)对不同动物切成适当大小的长条,这些长条卷在小型的

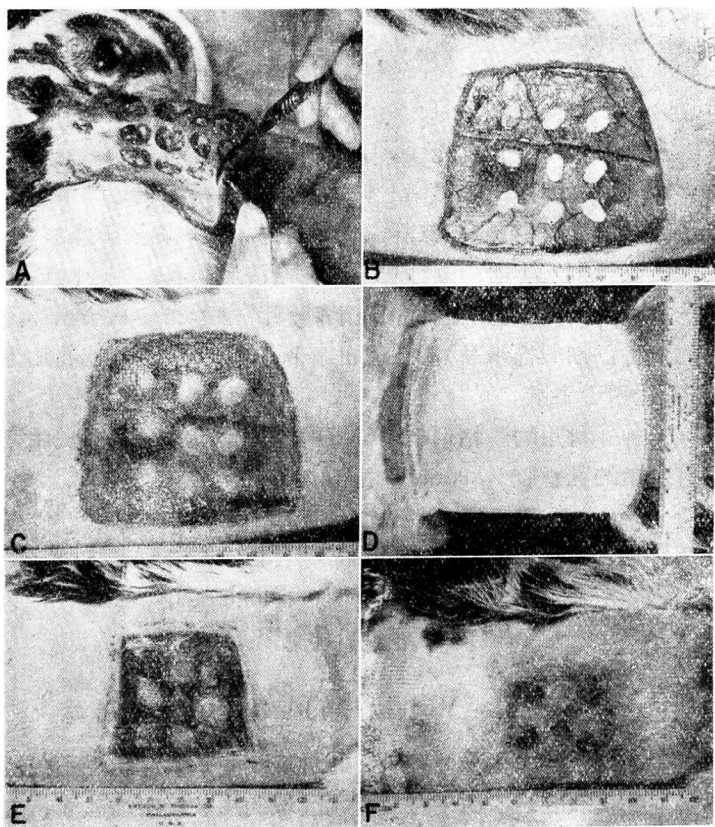


图 1

- A. 说明用“挟取”镊子和12号解剖刀从兔耳背部切割“挟取”植片的技术。
- B. 兔子胸部的广大的长方形露肉区域，在这里移植了 9 个中等大小的体部皮肤挟取植片。其中 5 个是同种植片，4 个是自体植片。注意主要的胸部血管和它们的分枝，在皮下肌层上通过。
- C. 示直接覆盖在植片位置上的一层半透明的凡士林纱布。
- D. 示围在兔子胸部位置上的包扎。
- E. 术后第 9 天的手术区。健康的和四周围有上皮向外生环的自体植片已很好愈合。5 个同种植片的毁坏则正在进行时期。注意它们的变色和缺乏上皮从边缘的向外生长。在整个创伤表面已建立起肉芽组织，模糊了血管。
- F. 术后第 15 天的手术区。毁坏的同种植片现在长期停留，它们有如硬的、干燥而红棕色的痂子，而自体植片看来完全正常。整个创伤区现在已完全重新形成表面，为来自创伤边缘和来自自体植片四周的上皮迁移活动的结果。注意自体植片的差不多样子，以及手术区在大小上的减少——创伤收缩的结果。

卷筒上,储存在密封的容器内,以备应用。

所记述的全部手术都需要大量消毒的脱脂小块纱布,以5厘米见方的最为有用。

凡士林纱布 (Tulle gras) (凡士林浸透的纱布)最好是自己制备,因为商品纱布质地粗糙。将适当大小的精细疏布绷带剪成长方形,紧紧地放入抗热的玻器或金属盒内。在烘箱内干燥后,将熔化的凡士林倒入容器内的纱布上,完全浸透纱布。在140℃下保持一小时,就可达到完全浸透和消毒。用“细纱布”(从纺织部门取得的一种很细的棉织品)代替疏布绷带,作成一种特别细孔凡士林纱布,适用于小鼠。

一种外科用的胶粘剂也是需要的。非常满意而且对皮肤完全没有刺激的乳香胶 (Mastisol) 配方如下:

乳香脂	400.0 克
蓖麻油	12.5 毫升
苯	1000.0 毫升

溶解和过滤

VI. 植片的准备

在选择植片的供皮位置时,特别重要的是要避免毛正在活跃生长期的皮肤区域: 由于在受影响区域的皮肤代谢增强了,皮肤非常厚并有丰富的血管供应(Durward 和 Rudall, 1958; Haddow, Elson, Roe, Rudall 和 Timmis, 1945),如果移植的话,它对贫血坏死就特别敏感(Rous, 1946)。由于它增加了厚度,这种“活跃”的皮肤是容易辨认的,当轻轻地从毛的正常倾斜度的反向吹动时,他们对吹动有较大的抵抗;而当毛被为有颜色时,由于在毛囊基部黑色素发生的活动,在皮肤里显然有一种深藏的颜色。

对大多数实验目的来说,主要只有二类皮肤植片是需要的: (a)“挟取 (pinch)”植片和(b)“劈薄 (split-thickness)”植片。

挟取植片是容易切取的。以挟取镊子或者有细犬齿的镊子,将准备好的供皮区域的皮肤,提升到呈锥状的高度,再以12号解

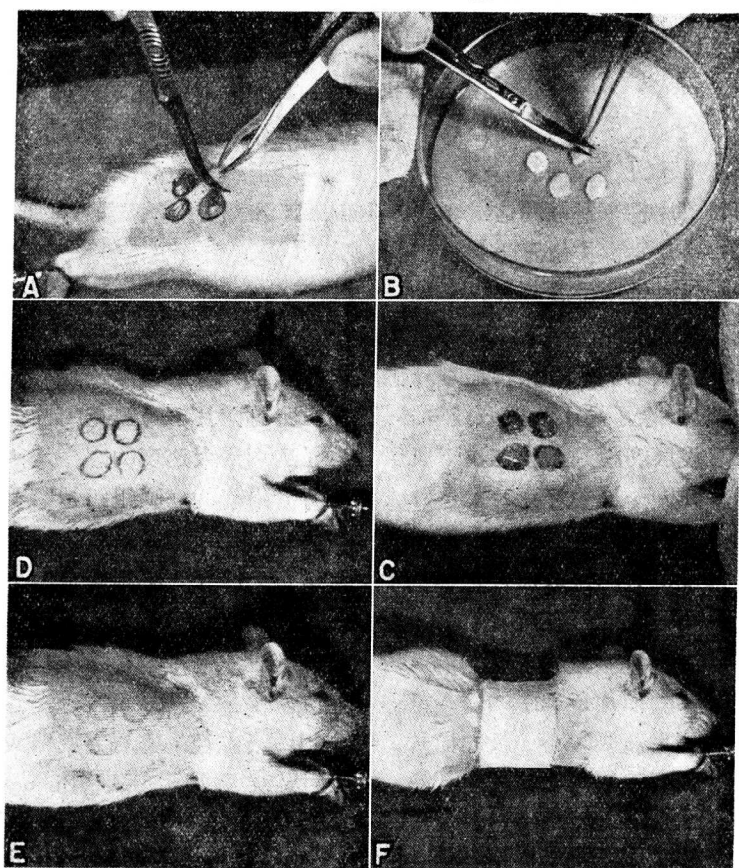


图 2

大鼠大小合适的皮肤植片的切取、准备和移植。

- A. 从动物体侧剪短毛的和消毒过的皮肤切取“挟取”植片。用“挟取”镊子将一小处的皮肤提升，用12号解剖刀在其基部以几乎水平方向的切割而割离之。
- B. 示以精细的弯头剪从植片的露肉表面剪去粘连的筋膜组织。在修正之后，以真皮面朝下，将植片暂时保存在以盐水润湿的滤纸铺底的培养皿中，以备移植。
- C. 示在受体胸部剪短毛的和火棉胶处处理过的皮肤上所准备的4个分开的植片基底。这些基底是用锐利弯头剪剪切成的，要当心保留下完整的皮下肌层及其上部的主要血管。
- D. 在准备好的基底位置上的植片。每个植片正是大小合适的。
- E. 示在手术区位置上的凡士林纱布。
- F. 围在动物胸部位置上的包扎。