

同种异体幼犬睾丸组织块大网膜移植研究

孙 杰 施诚仁 张忠德 李怀远 沈 萍

[摘要] 目的 通过研究同种异体幼犬睾丸组织块大网膜移植,探讨同种异体睾丸组织块移植对男童原发性性腺功能低下症的治疗意义。方法 以幼犬为实验对象,采用异体睾丸组织块移植的方法,将供体动物的部分睾丸组织种植到受体动物,并经皮下隧道延伸到阴囊的大网膜上。术后每周测定受体血清睾酮含量,连续测量 4 次,将移植组织切片分析,HE 染色观察组织结构。结果 睾丸组织块移植后,受体动物血清睾酮水平逐渐上升,至手术后第 4 周,体内激素含量较移植前明显升高($P < 0.05$)。病理观察移植的睾丸组织块在受体大网膜上成活,可见到间质细胞形态。结论 异体睾丸组织块大网膜移植是可行的,治疗的目的仅限于提高体内雄激素水平,不涉及生育。

[关键词] 移植, 同种; 睾丸/移植; 网膜/移植; 狗

Study of allotransplantation of testis fragments on juvenile canines' omentum. SUN Jie, SHI Cheng-ren, ZHANG Zhong-de, et al, Department of Surgery, Shanghai Children's Medical Center, Shanghai 200127, China

[Abstract] **Objective** To study the curative significance of allotransplantation of testis fragments to male primary hypogonadism. **Methods** Juvenile canines were employed as experimental objectives. Partial testis of the donors was transplanted to the receptors' omentum which had been extended to the scrotum subcutaneously. Serum testosterone concentration was detected weekly for 4 times postoperatively. Grafts were observed microscopically with HE staining. **Results** The level of the receptors' serum testosterone increase gradually, which improved significantly 4 weeks postoperation. The transplanted testis fragments were survived in the omentum and testicular mesenchymal (Leydig) cells could be identified microscopically. **Conclusions** Allotransplantation of testis fragments on omentum can be performed. The aim of the experiment is to improve the level of androgen with no effect on reproduction which profits clinical application.

[Key words] Transplantation, Homologous; Testis/TR; Omentum/TR; Dogs

目前先天性畸形、肿瘤及外伤的发生率逐年上升,男童原发性性腺功能低下症的发病也逐渐增多。近 5 年来,本院诊断为性腺功能低下症的患者超过百人,其中绝大多数属于原发性性腺功能低下。儿童性腺功能低下症的治疗一直是临床上较为棘手的问题,传统激素替代疗法并不是一个有效的方法^[1,2]。虽然睾丸移植在技术上已日趋成熟,但其造成的法律和伦理问题却始终制约着临床应用^[3]。儿童睾丸移植面临器官体积差异和细胞老化等问题。因此,作者拟通过研究同种异体幼犬睾丸组织块大网膜移植,探讨同种异体睾丸组织块移植对男童原发性性腺功能低下症的治疗意义。

材料与方法

一、实验动物与分组

选择 10 条幼年雄性杂种犬,年龄 1 岁左右,体重 8.7 ± 1.3 kg。随机分成睾丸组织块移植供体组和睾丸组织块移植受体组,每组各 5 条。

二、实验步骤

1、受体犬接受睾丸切除手术,术后饲养 2 周,每周 1 次采集股静脉血 2 ml,采用微粒子化学发光法(Access 全自动免疫分析系统,Beckman 公司产品)测定受体犬体内血清睾酮含量,作为移植术前对照。

2、受体犬接受睾丸组织块移植术,先开腹将受体犬的大网膜经皮下隧道带血管蒂延伸到阴囊内。取供体犬的两侧睾丸,去除白膜,剪取 20 块约 $0.3 \text{ cm} \times 0.3 \text{ cm} \times 0.3 \text{ cm}$ 大小的睾丸组织块,将修剪后

作者单位:上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心外科(200127),E-mail:ppdrsun@gmail.com

的供体犬辜丸组织块种植到受体犬阴囊内大网膜上,以 F6-0PDS 缝线缝合,大网膜卷管包裹组织。

3、受体犬行辜丸组织块移植术后,饲养 4 周,每周测定血清辜酮水平 1 次。将受体犬处死,移植植物连同阴囊内大网膜组织一并切除,常规福尔马林浸泡固定后,予 HE 染色镜检。

三、统计学方法

全部数据通过 SAS 统计软件包 (6.12) 进行处理,采用自身对照,配对 t 检验,比较受体犬手术前后的血清辜酮含量。

结 果

5 条受体犬在辜丸切除 1 周后即不能检测到血清辜酮,术后 2 周重复检测,证实辜丸切除以后动物体内辜酮水平为 0。辜丸组织块异体移植后,血清辜酮于术后 1 周即能被检测到,且随术后恢复时间的延长,血清辜酮浓度逐渐上升。统计分析表明,辜丸组织块移植术后 4 周,血清辜酮含量与辜丸切除后比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1。受体犬中,1 条腹壁伤口感染,术后 3 d 再次手术清创,其余 4 条恢复良好,无呕吐、体重下降等。

表 1 受体犬辜丸移植前后血清辜酮含量 ($\bar{x} \pm s$, ng/ml)

时间	n	辜酮含量	t 值	P 值 *
辜丸切除后	5	0 \pm 0		
移植术后 1 周	5	1.02 \pm 0.81	2.512	0.087
移植术后 2 周	5	1.16 \pm 0.75	2.831	0.066
移植术后 3 周	5	1.52 \pm 0.58	3.078	0.054
移植术后 4 周	5	2.30 \pm 0.62	3.861	0.015

注: * 与辜丸切除术后比较

显微镜下,正常犬辜丸与人类相似,组织中可见大量曲细精管结构,管腔上皮主要由不同形态的生精细胞组成。辜丸组织块移植后,部分曲细精管结构遭到破坏,生精上皮游离于大网膜组织中,大量曲细精管保留完好,构成管腔上皮的支持细胞和各级生精细胞清晰可辨,切片中见大量空泡样结构,组织间质中血管丰富,辜丸间质细胞浸润其中。

讨 论

在保证移植植物血液供应的情况下,辜丸移植是可以成功的,移植以后的辜丸可在大体和组织形态

上保持正常^[4]。Schlatt 等^[5]研究发现,异体辜丸移植后,约 65% 的移植植物可以在新宿主体内成活。目前,异体辜丸移植技术已成熟,成为治疗男性性腺功能低下症的方法之一^[6]。

有实验报道,辜丸异体移植以后,移植植物会出现变性退化等。变性早期,辜丸体积增大、质地变硬,而后出现组织水肿、实变。显微镜下显示,出现退化的主要部位是曲细精管,术后 4 周,移植辜丸出现细胞水肿、渗出、管腔积液、炎性细胞浸润等,继而上皮发生坏死。但移植后辜丸间质细胞能够保持足够的数量和正常的形态,证明间质细胞对辜丸移植的耐受能力较强^[7]。成活的辜丸间质细胞具有合成分泌雄激素的能力。据统计,辜丸间质细胞的数量占辜丸细胞总数的 5% ~ 12%。研究表明,只需保留 10% 容量的辜丸组织就能产生足量的雄激素维持男性生长发育,因此辜丸组织块移植后,由间质细胞合成分泌的雄激素能够提高患者体内的性激素水平^[8]。

上世纪 70 年代, Fox^[9] 和 Boyle^[10] 曾报道鼠自体性腺组织碎片移植后能在血清中检测到辜酮。国内鲁波^[11] 对新生大鼠辜丸组织移植后的情况也进行了研究。他把新生大鼠的辜丸组织剪切成 1 cm \times 1 cm \times 1 cm 的组织,移植于成年去势大鼠的大腿内侧深筋膜和肌膜之间,60 d 内,肉眼观察组织移植植物逐渐生长,镜下见辜丸间质细胞形态正常。

把辜丸组织移植到大网膜上是一个全新的设想。大网膜血液供应丰富,富含脂肪血管生成因子,临床上通过大网膜带血管蒂移植的方法可以改善器官的缺血状态,促进组织修复^[12,13]。Koga^[14] 报道以大网膜包裹离体阴茎,移植植物可以利用网膜血管成活。

大网膜移植应用于辜丸手术,同样可以促进辜丸的血液供应。Sonmez 等^[15] 发现,在以 Fowler-Stephens 手术治疗高位隐辜前 4 周将大网膜覆盖到精索表面,可明显减少精索离断后辜丸萎缩的发生。Shoshany^[16] 通过腹腔动脉造影证实,带血管蒂的大网膜组织覆盖精索后能与之建立血管吻合,下降不全的辜丸可正常发育。

本实验在同种异体幼犬中采用辜丸组织块大网膜移植,病理切片上见大网膜与辜丸组织之间建立血管交通,下降到阴囊内的大网膜上有大量曲细精管,表明辜丸组织块移植后可以利用网膜血液供应成活。研究证明,辜丸间质细胞的生存能力比生精细胞更强^[7],移植以后间质细胞成活率更高。存在于移植组织内的辜丸间质细胞利用网膜血管成活,其分泌的辜酮循内分泌途径被转运到靶器官发挥效用。

激素检测发现, 睾丸移植 15 ~ 30 d 后, 血清睾酮含量呈上升趋势, 45 d 升至高峰。FSH 和 LH 在睾丸缺如的动物体内浓度很高, 睾丸移植以后下降^[1]。高浓度促性腺激素对移植睾丸的生长发育有促进作用^[7]。Schlatti^[9]观察到, 睾丸移植以后第 4 ~ 12 周, 受体血清 FSH、LH 水平介于正常动物和去势动物之间, 说明移植分泌雄激素, 对下丘脑-垂体有负反馈作用。Kirpatovsky^[18]发现, 睾丸移植后 2 周, 血清 LH 水平开始下降, 直到术后 6 个月左右恢复正常。

另有研究发现, 睾丸移植 12 ~ 16 周后, FSH 重新上升, 这一现象与病理学上观察到的曲细精管上皮发生变性相符^[9]。与 FSH 不同, 血清睾酮、LH 水平与正常动物仍然相似, 能长期保持正常。睾酮、LH 与 FSH 变化的不协调性, 再次证明移植后的间质细胞不随生精上皮的坏死而发生变性^[9], 进一步说明, 移植睾丸组织块可以促进体内雄激素的产生。

本实验中, 犬体内睾酮含量在移植以后逐渐上升, 术后 4 周, 血清睾酮较睾丸切除后显著改善, 说明手术对提高血清睾酮水平的作用是稳定的。但移植术后, 受体犬体内的睾酮含量略低于正常, 造成这一现象的原因在于移植组织的数量不足。相同条件下, 组织分泌的睾酮量与具有内分泌功能的细胞数量成正比, 本实验仅移植了供体的部分睾丸组织, 造成血清睾酮含量低于正常动物, 结果也在预料之中。

作者认为, 采用异体睾丸组织块大网膜移植的方法治疗男性原发性性腺功能低下症是可行的。移植以后的睾丸组织能够利用大网膜提供的血液成活, 并具备分泌雄激素的能力, 分泌的雄激素可以改善因睾丸功能不良造成的男性原发性性腺功能低下。与经典的睾丸器官移植比较, 组织块移植手术简单, 且治疗目标仅限于改善患者体内的性激素水平, 不牵涉生育问题, 将更有利于临床应用。

参 考 文 献

- Handelsman DJ, Zajac JD. Androgen deficiency and replacement therapy in men [J]. *Med J Aust*, 2004, 180(10): 529-535.
- Gooren LJ, Bunck MC. Androgen replacement therapy: present and future [J]. *Drugs*, 2004, 64(17): 1861-1891.
- 高晓康, 郭照江, 邵国兴. 关于睾丸移植的伦理学问题 [J]. *医学与哲学*, 2003, 24, 11: 33-35.
- 孙杰, 施诚仁. 异体睾丸移植的研究进展 [J]. *中华男科学杂志*, 2007, 13(1): 61-64.
- Schlatt S, Kim SS, Gosden R. Spermatogenesis and steroidogenesis in mouse, hamster and monkey testicular tissue after cryopreservation and heterotopic grafting to castrated hosts [J]. *Reproduction*, 2002, 124: 339-346.
- 谭付清, 陈昭典. 睾丸移植的研究现状 [J]. *中国男科学杂志*, 2002, 16(4): 325-326.
- Barten EJ, Garybian H, Klopfer PJ, et al. Homologous testis transplantation in dogs [J]. *Transpl Int*, 1997, 10: 362-368.
- Mendis-Handagama SM, Risbridger GP, De Kretser DM. Morphometric analysis of the components of neonatal and adult rat testis interstitium [J]. *Int J Androl*, 1987, 10(3): 525-534.
- Boyle PF, Fox M. Transplantation of interstitial cells of the testis [J]. *Br J Surg*, 1973, 60(4): 313.
- Boyle PF, Fox M, Slater D. Transplantation of interstitial cells of the testis: effect of implant site, graft mass and ischemia [J]. *Br J Urol*, 1975, 47(7): 891-898.
- 鲁波, 詹炳炎. 同种新生大鼠睾丸组织移植的实验研究 [J]. *中华外科杂志*, 1993, 31(2): 91-93.
- Acarturk TO, Swartz WM, Luketich J, et al. Laparoscopically harvested omental flap for chest wall and intrathoracic reconstruction [J]. *Ann Plast Surg*, 2004, 53(3): 210-216.
- Goldsmith HS, Wu W, Zhong J, et al. Omental transposition to the brain as a surgical method for treating Alzheimer's disease [J]. *Neurol Res*, 2003, 25(6): 625-634.
- Koga H, Yamataka A, Wang K, et al. Experimental allogenic penile transplantation [J]. *J Pediatr Surg*, 2003, 38(12): 1802-1805.
- Sonmez K, Basaklar AC, Turkyilmaz Z, et al. Neovascularization of the testicle through spermatic vessels by omental pedicle flap: a new experimental model [J]. *J Pediatr Surg*, 1995, 30(12): 1654-1657.
- Shoshany G, Shofty R, Livne E, et al. Testicular neovascularization by omentotesticulopexy a possible adjuvant in the surgical correction of high undescended testes [J]. *J Pediatr Surg*, 1996, 31(9): 1229-1232.
- 游海燕, 高惠宝. Leydig 细胞睾酮合成的调节 [J]. *中国男科学杂志*, 2003, 17(2): 138-141.
- Kirpatovsky ID, Chemodanov VI, Vasiliev VI. Hypophysial-testicular function in patients with primary hypogonadism during the early period after transplantation of the testis [J]. *J Steroid Biochem*, 1974, 5(4): 371.
- Pullium JK, Lin PH, Pinter MJ, et al. Homologous transplantation of prepubertal testes in the dog [J]. *Transplantation*, 2001, 72(3): 552-553.
- Schlatt S, Honaramooz A, Boiani M, et al. Progeny from sperm obtained after ectopic grafting of neonatal mouse testes [J]. *Biol Reprod*, 2003, 68(6): 2331-2335.

作者: 孙杰, 施诚仁, 张忠德, 李怀远, 沈萍
作者单位: 上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心外科, 200127
刊名: 临床小儿外科杂志 **ISTIC**
英文刊名: JOURNAL OF CLINICAL PEDIATRIC SURGERY
年, 卷(期): 2008, 7(1)
被引用次数: 0次

参考文献(20条)

1. Boyle PF; Fox M [Transplantation of interstitial cells of the testis](#) 1973(04)
2. Schlatt S; Honaramooz A; Boiani M [Progeny from sperm obtained after ectopic grafting of neonatal mouse testes](#) 2003(06)
3. Pullium JK; Lin PH; Pinter MJ [Homologous transplanration of prepubertal testes in the dog](#) 2001(03)
4. Kirpatovsky ID; Chemodanov VI; Vasiliev VI [Hypophysialtesticular function in patients with primary hypogonadism during the early period after transplantation of the testis](#) 1974(04)
5. Mendis-Handagama SM; Risbridger GP; De Kretser DM [Morphometric analysis of the components of neonatal and adult rat testis intemtitium](#) 1987(03)
6. Barten EJ; Garybian H; Kloppe PJ [Homologous testis transplantation in dogs](#) 1997
7. 谭付清; 陈昭典 [睾丸移植的研究现状](#)[期刊论文]-[中国男科学杂志](#) 2002(04)
8. Schlatt S; Kim SS; Gosden R [Spermatogenesis and steroidogenesis in mouse, hamster and monkey testicular tissue after cryopreservation and heterotopic grafting to castrated hosts](#) 2002(3)
9. 孙杰; 施诚仁 [异体睾丸移植的研究进展](#)[期刊论文]-[中华男科学杂志](#) 2007(01)
10. 高晓康; 郭照江; 邵国兴 [关于睾丸移植的伦理学问题](#)[期刊论文]-[医学与哲学](#) 2003(11)
11. Gooren LJ; Bunck MC [Androgen replacement therapy: present and future](#) 2004(17)
12. Goldsmith HS; Wu W; Zhong J [Omental transposition to the brain as a surgical method for treating Alzheimer's disease](#) 2003(06)
13. Acarturk TO; Swartz WM; Luketich J [Laparoscopically harvested omental flap for chest wall and intrathoracic reconstruction](#) 2004(03)
14. 鲁波; 詹炳炎 [同种新生大鼠睾丸组织移植的实验研究](#) 1993(02)
15. Boyle PF; Fox M; Slater D [Transplantation of interstitial cells of the testis: effect of implant site, graft mass and ischemia](#) 1975(07)
16. Handelsman DJ; Zajac JD [Androgen deficiency and replacement therapy in men](#) 2004(10)
17. 游海燕; 高惠宝 [Leydig细胞睾酮合成的调节](#)[期刊论文]-[中国男科学杂志](#) 2003(02)
18. Shoshany G; Shofty R; Livne E [Testicular neovascularization by omentotesticulopexy a possible adjuvant in the surgical correction of high undescended testes](#) 1996(09)
19. Sonmez K; Basaklar AC; Turkyilmaz Z [Neovascularization of the testicle through spermatic vessels by omental pedicle flap: a new experimental model](#) 1995(12)
20. Koga H; Yamataka A; Wang K [Experimental allogenic penile transplantation](#) 2003(12)

相似文献(4条)

1. 期刊论文 姚晓霖, 陈昭典 [睾丸移植发展史](#) - [国际泌尿系统杂志](#) 2007, 27(6)

睾丸移植技术发展至今, 已经历器官水平、组织水平、细胞水平的吻合血管自体、异体睾丸移植, 睾丸组织移植、睾丸Leydig细胞和精原干细胞移植几个阶段. 目前在治疗高位腹腔型隐睾、男性性腺功能减退和男性不育等领域中, 睾丸移植有广阔的发展前景. 本文结合近年相关文献, 对睾丸移植研究历史与现状进行综述.

2. 会议论文 [周玉春, 黄宇烽 睾丸移植的发展与现状](#) 2009

在过去的几十年中, 自体睾丸移植、同种异体睾丸移植、睾丸组织块移植、Leydig细胞移植以及精原干细胞移植等方面取得了较为显著的进展. 尤其是睾丸组织块移植及睾丸细胞移植方面取得的进步更是令人振奋, 有望成为临床治疗男性不育症、男子性腺功能减退一种新的方法和手段. 本文将就睾丸移植、组织及细胞移植发展历史及现状作一综述.

3. 期刊论文 [方家杰, 朱选文 睾丸移植的昨天今天明天](#) -[国际泌尿系统杂志](#)2006, 26(3)

睾丸移植技术是治疗高位腹腔型隐睾、男性性腺功能减退和男性不育重要而有效的方法. 19世纪初至今, 在自体移植、同种异体移植、Leydig细胞移植等方面已取得较大进展, 本文结合近年来的相关文献报道, 就睾丸移植的研究进展进行综述, 对精原干细胞移植这一新近研究热点进行介绍. 并就睾丸移植技术带来的伦理学问题加以讨论.

4. 期刊论文 [周玉春, 黄宇烽, ZHOU Yu-chun, HUANG Yu-feng 睾丸移植的发展与现状](#) -[中华男科学杂志](#)2008, 14(11)

在过去的几十年中, 自体睾丸移植、同种异体睾丸移植、睾丸组织块移植、Leydig细胞移植以及精原干细胞移植等方面取得了较为显著的进展. 尤其是睾丸组织块移植及睾丸细胞移植方面取得的进步更是令人振奋, 有望成为临床治疗男性不育症、男子性腺功能减退一种新的方法和手段. 本文将就睾丸器官、组织及细胞移植发展历史及现状作一综述.

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_lcxewkzz200801007.aspx

授权使用: 黔南民族师范学院(gnnzsfxy), 授权号: 19a6be8d-c2a3-4c0b-90fb-9ed30126d783

下载时间: 2011年4月28日