

生物型人工甲状腺—荷尔蒙调节剂

孙志敏 俞耀庭 吴绍延

(南开大学分子生物学研究所, 天津)

甲状腺分泌多种激素, 它对机体的生长、发育、组织分化及许多代谢过程都有着广泛的影响。用具有一定通透性能的高分子薄膜将甲状腺细胞包裹后再做移植, 可有效地防止由细胞移植而带来的排异反应, 同时移植入的细胞仍可生存并维持正常的生理功能^[1, 2]。

材料和方法

(一)材料

1. 甲状腺细胞来源: 雄性成年家兔, 体重约为 2—3kg, 购于天津市卫生局药品检验所。
2. 4—5 个月的胎儿。

(二)方法

1. 甲状腺细胞(TGC)的分离^[3]: 取兔甲状腺约 2g, 加入 2ml 生理盐水, 加胶原酶约 2500 个胶原消化活力单位, 室温消化 30min 后, 取含有甲状腺细胞的上清液备用。胎儿甲状腺细胞分离方法同上。

2. TGC 的组织培养; 组织培养液为 RPMI-1640 (日本进口) 培养液。取 RPMI-1640 粉末 10g, 加入重蒸水 1000ml, pH 为 6.8—7.0。从动物体内得到的 TGC 预先在 RPMI-1640 培养液中 37℃ 下培养 2 天再做包裹。微囊化甲状腺细胞的培养条件类同。

3. TGC 的微囊化^[1]: 将分离得到的 TGC 悬浮于 1.5% (w/v) 的海藻酸钠溶液中, 用特制的喷头将其喷入 1.5% (w/v) 的 CaCl₂ 溶液中, 静置 20min 使其微囊化后涂以聚赖氨酸, 再在 0.05 mol/L 的柠檬酸钠溶液中搅拌 5min 后用 0.85% NaCl 和 1.1% CaCl₂ 分别洗涤数次后置于 RPMI-1640 培养基中, 于 37℃ 下培养, 定时测定培养基中葡萄糖的含量^[4]。用电镜对包裹细胞做组织和形态学的研究。

结果和讨论

采用胶原酶消化法从成年雄性家兔体内可分离获得 5—8 × 10⁹ 个甲状腺细胞, 在 Olympus BHT 生物显微镜下检查细胞存活率在 95% 以上, 37℃ 下体外培养 48h 后于透射电镜下观察, 细胞结构完整, 细胞的高尔基体和内质网都明显可见。将甲状腺细胞在 37℃ 下培养 1—2 天后用 T. M. S. Chang 和 A. M. Sun (Canada) 提出的海藻酸盐-聚赖氨酸-海藻酸盐复合生物相容性包薄技术, 将甲状腺细胞包裹于直径 0.75mm 的微囊中, 微囊的半透膜可以允许中、小分子量的营养物质自由通透, 但却能阻挡大分子物质 (如免疫球蛋白, 淋巴细胞等) 透过, 因而有效地防止了因细胞移植而带来的排异反应。甲状腺细胞经微囊化后于显微镜下复查, 细胞存活率仍在 70% 以上。微囊后的细胞在 37℃ 下体外培养, 定期更换培养液, 两周内用放射免疫法始终可测到三碘甲状腺原氨酸 (T₃) 和甲状腺素 (T₄) 在培养液中存在, 分别保持在 T₃ = 8ng/ml 和 T₄ = 240ng/ml (图 1)。微囊化甲状腺细胞和游离甲状腺细胞在体

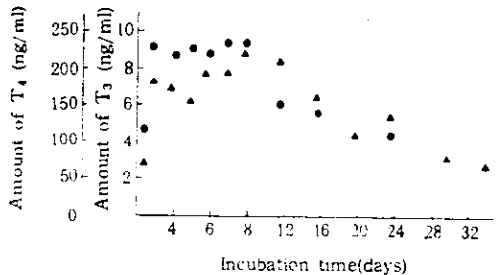


图 1 微囊化甲状腺细胞培养过程中释放 T₃ (▲) 和 T₄ (●)

本文于 1989 年 12 月 4 日收到,

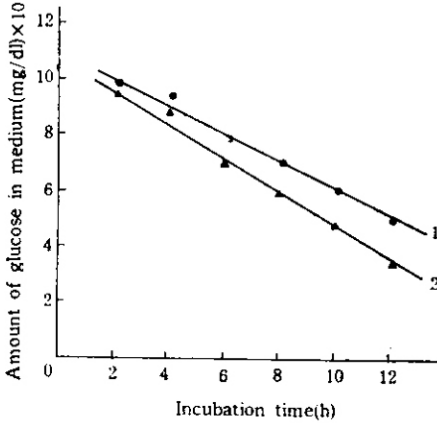


图2 微囊化甲状腺细胞和游离细胞对培养液中葡萄糖的消耗情况

1. 微囊化甲状腺细胞, 2. 游离甲状腺细胞

外培养过程中对 RPMI-1640 培养液中的葡萄糖均有所消耗(图2)。图3为定期更换培养液微囊化甲状腺细胞对 RPMI-1640 培养液中葡萄糖的消耗。表明两组细胞在体外培养过程中都可以代谢、生长。为细胞移植后的生存提供了实验依据。

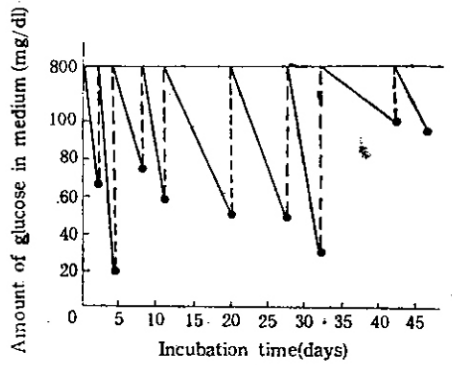


图3 定期更换培养液, 微囊化甲状腺细胞对 RPMI-1640 培养液中葡萄糖的消耗

用同样技术将4—5个月的胎儿甲状腺细胞微囊化、体外培养两天后于扫描电镜下观察, 腺细胞表面质膜完整, 微绒毛清晰, 细胞分界可辨, 图4表明与对照组未经微囊化的游离甲状腺细胞无显著差别。两组细胞周围均可见到分泌物颗粒, 如箭头所示。说明甲状腺细胞经微囊后仍有很好的分泌激素功能。

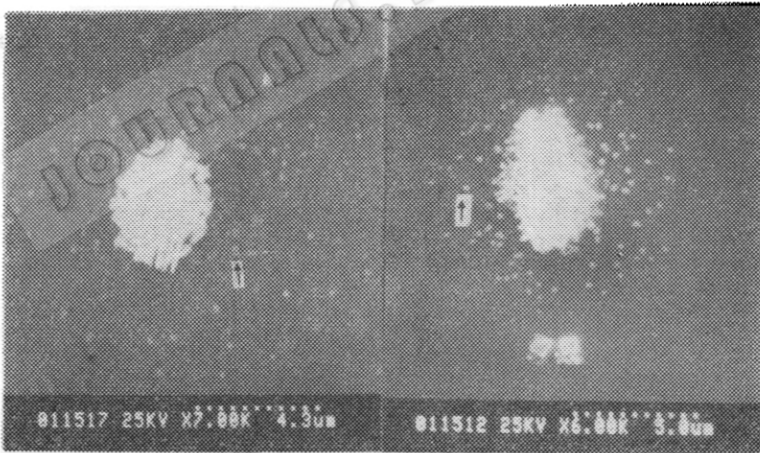


图4 扫描电镜下观察微囊化甲状腺细胞 右, 对照组; 左, 微囊化甲状腺细胞

上述实验结果证明, 微囊化过程对甲状腺细胞无显著不利影响, 显示了良好而持久的生物活性治疗价值, 为临床治疗甲状腺功能低下症提供

了一种有高度研究价值的新途径。它也将作为一种荷尔蒙调节剂移植到动物或人体内。

参 考 文 献

[1] Iwata, H. et al., *Artificial Organs*, 11(4):320, 1987.
 [2] Chang, T. M. S. et al., *Artif. Intern. Organs*, 16:142, 1970.

[3] Iwata, H. et al., *Artificial Organs*, 11(4):315, 1987.

[4] Zeller, H. et al., *Artificial Organs*, 11(4):315, 1987.

A Bioartificial Thyroid Gland—as A Hormone Regulator

Sun Zhimin Yu Yaoting Wu Shaoyan

(Institute for Molecular Biology Nankai University, Tianjin)

Thyroid gland cells (TGC) of rabbit were encapsulated with sodium alginate. When the encapsulated TGC were cultured *in vitro*, 8ng/ml T_3 and 240ng/ml T_4 were secreted and could be maintained during two weeks, and the glucose in RPMI-1640 medium was consumed. The TGC of fetal were also encapsulated with sodium alginate, when the encapsulated TGC were cultured *in vitro*, particles secreted around the TGC were observed. The above results showed that encapsulated TGC of rabbit and fetal could grow and metabolize *in vitro*.

Key words

Thyroid gland cell (TGC); encapsulate, sodium alginate, metabolize