

He-Ne 激光照射、免疫抑制剂及二者配合应用 对大鼠全胰十二指肠移植的影响

赵玉军 关玉贵 冯欣畅 王云鹤

(东北农业大学动物医学系, 哈尔滨 150030)

提要 以 Alloxan 糖尿病模型大鼠作为受体, 健康雄性大鼠为供体, 行全胰十二指肠移植术, 观察了 He-Ne 激光照射、免疫抑制剂及二者配合应用抗移植排斥反应的作用效果。结果表明, 日剂量为 39.72 J/cm^2 的 He-Ne 激光照射, 可推迟排斥反应的发生时间、降低排斥反应的发生程度及延长大鼠全胰十二指肠移植物的存活时间。激光照射与 $8-5-3 \text{ mg/kg/day}$ 的硫唑嘌呤(Aza)配合应用, 具有相加的效果, 上述作用更为显著, 且与环孢霉素 A(CsA)的作用效果接近。

关键词 大鼠, 全胰十二指肠移植, He-Ne 激光, 硫唑嘌呤(Aza), 环孢霉素 A(CsA)

为进一步探讨激光在器官移植抗排斥领域的应用效果, 我们在观察其对大鼠皮肤移植排斥反应影响的基础上, 进行了本试验。

1 材料与方方法

1.1 材料

所需材料为: 健康雄性 Wistar 大鼠 120 只, 体重 $250 \sim 450 \text{ g}$, XTS-6 型手术显微镜, SSW-4 型精密显微外科手术器械, 英国产 Alloxan(四氧嘧啶), HN-8 型 He-Ne 激光治疗仪, 英国产 Azathioprine(硫唑嘌呤), 瑞士产 Sandimmun(环孢霉素 A), 尿糖试纸, 血糖试剂盒(Glucose-GOD), 美国产 BECKMANDU-7 型分光光度计, 日本产 AH₂-VANOZX-S 型 OLYMPUS 研究显微镜(摄片用)和速眠新(846 合剂)。

1.2 方法

1.2.1 大鼠糖尿病模型制备: 分批选择血、尿糖正常的健康雄性 Wistar 大鼠, 以 50 mg/kg 的剂量尾静脉快速注射新制的 1% Alloxan 溶液, 于注药后第 3、7 天及移植前测定血糖和尿糖, 血糖值大于 300 mg/dl , 尿糖定性在 +++ 以上者为模型成功, 接受胰移植。

1.2.2 大鼠尿糖测定(尿糖试纸法)。

1.2.3 大鼠血糖测定法(Glu-GOD 法)。

1.2.4 动物分组、投药方法与判定方法: 以成功模型大鼠为试材, 分成五组, 每组 6 只, A 组为全胰十二指肠移植对照组, 仅进行全胰十二指肠移植手术, 不作其他处置。分别从移植术后 3 天起, 隔天监测血糖及尿糖, 直至尿糖持续为 +++, 血糖高于 200 mg/dl 为止, B 组为 39.72

J/cm² He-Ne 激光(波长 632.8 nm, 功率为 13 mW, 光斑直径为 0.5 cm, 照射时间为 150 s)照射组, 照射大鼠脊背正中线皮肤, 每日一次, 于术后开始, 连续 15 天。监测项目及时间同 A 组。C 组为 Aza 组, 以 10-8-5 mg/kg/d 的剂量(片剂制成 20 mg/ml 的悬液)经食道灌服, 每个剂量连续 5 天。观察项目及判定方法同 A 组。D 组为 CsA 组以 25-20-15 mg/kg/d 的剂量食道灌服, 投给方法、方式及判定方法同 C 组。E 组为 He-Ne 激光与 Aza 配合组, 激光照射的剂量、部位及时间同 B 组, Aza 剂量分别为 8-5-3 mg/kg/d。投药方法、方式及结果观察同 C 组。

1.2.5 胰脏灌洗保存液的配制: 按 Euro-Collins^[1] 液配方配制, G6 漏斗过滤除菌, 分装后于 4℃ 冰箱中保存。

1.2.6 大鼠全胰十二指肠移植术: 采用改良 Starzl 法^[2]。

2 结果与分析

2.1 大鼠糖尿病模型制备结果

模型制备的成功率为 85%, 10.8% 缓解, 14.2% 无效。死亡率为 12.5%。成功率高于张兰芳^[3]应用 STZ 的结果(77.8%), 死亡率低于王吉莆^[4]应用 Alloxan 的结果(51.8%)。Alloxan 能选择地作用于多种动物的胰腺 β -细胞, 造成其不可逆坏死, 从而导致糖尿病。

2.2 全胰十二指肠移植术后移植胰脏存活时间(详见表 1)

Table 1 Functional living-time of transplanted pancreas

Groups	Living time (d)	$X \pm S$	P. level
Control G.	8, 9, 10, 11, 11, 11	10.0 ± 1.15	
Laser G.	11, 11, 14, 15, 15, 18	14.0 ± 2.45	$P < 0.1$
Aza G.	13, 14, 15, 17, 17, 17	15.5 ± 1.61	$P < 0.05$
CsA G.	17, 19, 20, 21, 24, 26	21.2 ± 3.02	$P < 0.05$
Laser and Aza G.	17, 17, 19, 19, 21, 21	19.0 ± 1.63	$P < 0.05$

由表 1 可知, He-Ne 激光照射可以延长大鼠全胰十二指肠移植物的存活时间 ($P < 0.1$)。Aza 及 CsA 均可显著延长移植胰的功能存活时间 ($P < 0.05$)。激光与 Aza 配合应用, 具有相加的作用效果, 甚至达到了 CsA 单方的作用水平(19/21.2)。

2.3 全胰十二指肠移植后组织学变化

对照组: 术后一周时, 炎性细胞浸润明显, 已出现排斥相(图 1)。血糖持续升高时, 移植胰结缔组织增生明显。

He-Ne 激光照射组: 术后一周时, 炎性细胞浸润轻微, 移植胰结构完整(见图 2)。说明激光照射可推迟排斥反应的发生时间, 降低排斥反应的发生程度。血糖持续升高时仍有一定结构的胰组织存在, 但分泌颗粒消失, 说明已出现排斥相。

Aza 组: 术后一周及血糖持续升高时移植胰组织学变化均与激光组相似, 说明激光照射与 Aza 的作用效果相近, 但在血糖升高时移植胰尚存在有分泌颗粒, 其移植胰的功能存活时间要比激光组长。

CsA 组: 术后一周时, 胰腺内几乎无小细胞浸润, 与健康的胰脏结构相似(见图 3)。血糖持续升高时, 仍有部分正常胰组织存在。说明其出现排斥反应的时间最晚, 移植胰功能存活时间

最长。

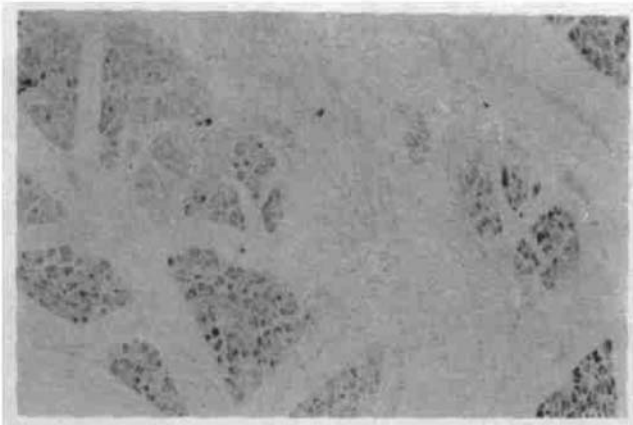


Fig. 1 The histological structure of the transplanted pancreas 7 days after transplantation. Unclear histological structure and serious inflammatory infiltration. (Control group 48 ×)



Fig. 2 The histological structure of the transplanted pancreas 7 days after transplantation. Slight inflammatory infiltration, clearer structure and better function. (He-Ne laser irradiation group 48 ×)

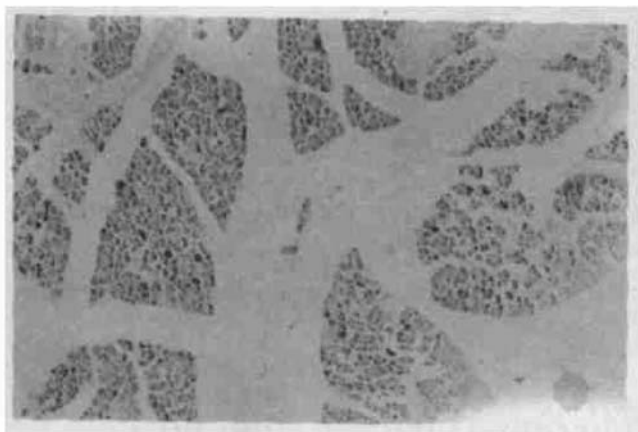


Fig. 3 The histological structure of the transplanted pancreas 7 days after transplantation. The structure and function of the transplanted pancreas were almost in normality. There was a little inflammatory infiltration. (CsA group 48 ×)

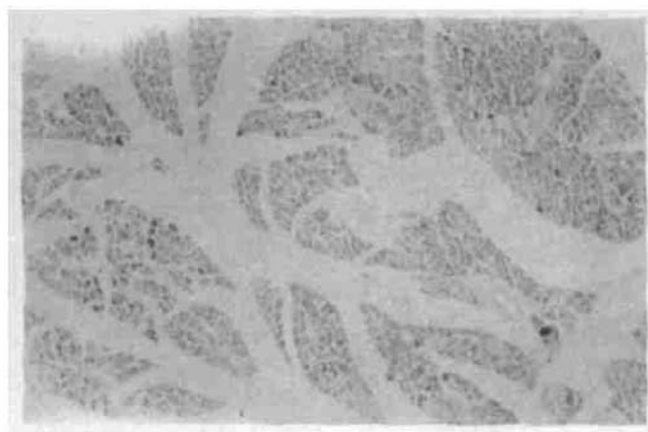


Fig. 4 The histological structure of the transplanted pancreas 7 days after transplantation. Slight inflammatory infiltration. The structure of the transplanted pancreas was clear and its function was quite well. (He-Ne laser irradiation + Aza group 48 ×)

Aza 与 He-Ne 激光照射配合组: 移植术后一周移植胰结构远较二者单一使用时炎性细胞量少,与正常胰组织结构相似(见图 4)。血糖持续升高时移植胰结构与 CsA 组变化相近。说明激光照射与 Aza 配合使用,具有相加的作用效果,且与目前临床上最佳抗排斥反应药物 CsA 的作用效果相近。

He-Ne 激光照射对机体免疫系统抑制作用的机制,目前尚在研究之中,从我们的研究结果来看,它是通过降低免疫细胞的数量及其转化功能来实现的^[5],从而抑制机体对移植物的排斥而延长移植物的存活时间。

Aza 主要通过干扰嘌呤代谢,导致 DNA 合成障碍而阻止淋巴细胞的转化和增殖^[6]。Aza 对 T 细胞的抑制比 B 细胞更强,影响 T 细胞对抗原的识别。CsA 的主要作用是抑制 T 细胞亚群的功能^[7],并对白细胞介素 2(IL-2)产生抑制作用^[8],因此,比其他免疫抑制剂具有更强的抗移植排斥反应的能力和更广泛的动物与器官的适应性。

He-Ne 激光照射与 Aza 配合应用,较二者单独使用效果更佳,由于降低了 Aza 的剂量而减少了其毒副作用。因此,该组合具有很大的应用前景,可望成为临床上价廉而效果确实的抗排斥方法之一。

综上所述,39.72 J/cm² 的 He-Ne 激光照射,可降低排斥反应的发生程度,推迟排斥反应的发生时间及延长全胰十二指肠移植物的存活时间。

39.72 J/cm² 的 He-Ne 激光照射与亚剂量的 Aza 配合,可明显推迟排斥反应的发生时间,降低排斥反应的发生程度,显著提高大鼠全胰十二指肠移植物的功能存活时间。

Aza 及 CsA 均可明显地提高全胰十二指肠移植物的存活时间。

参 考 文 献

- 1 中国医学百科全书编辑委员会. 中国医学百科全书——免疫学. 上海: 上海科学技术出版社, 1989. 288
- 2 Starzl TE, Iwatsuki, Shaw BN. Pancreaticoduodenal transplantation in humans. *Surg Gynecol Obstet*, 1984, **159**: 265~272
- 3 张兰芳, 刘小芳, 周启愚. 27 例链脲霉素糖尿病大鼠胰岛移植报告. *中华器官移植杂志*, 1985, **6**(3): 110~111
- 4 王吉蕾, 杜 兵, 唐文华 等. 药物性大鼠糖尿病模型. *中华实验外科杂志*, 1986, **3**(3): 127~128
- 5 赵玉军, 王云鹤. 大剂量激光与免疫抑制剂对大鼠免疫功能的影响. *激光生物学杂志*, 1993, **2**(4): 349~354
- 6 黄 沁 主编. 免疫药理学. 上海: 上海科学技术出版社, 1986. 205
- 7 Hess AD, Bordes-Aznar J., Kupiec-weglinski JW. Function and migration of suppressor lymphocyte from cyclosporine-treated heart graft recipients. *Transplantation*, 1983, **35**: 185~190
- 8 Gtaneli-Piperna A, Yashimura N, Kahan BD. The immunosuppressive action of suppressor cells allograft survival. *Transplantation*, 1985, **40**: 384~389

The Effects of He-Ne Laser Irradiation, Immune Inhibitors and Their Combination Upon the Transplantation of Pancreas with Duodenum in Wistar Rats

Zhao Yujun Guan Yugui Fen Xinchang Wang Yunhe

(Northeast Agricultural University, Harbin 150030)

Abstract Pancreas with duodenum was transplanted from healthy, male rats to the artificially diseased male rats of alloxan diabetes. He-Ne laser irradiation, immune inhibitors and their combination were applied immediately after the operation to observe their effects against rejection. The results are as follows: with the treatment of He-Ne laser irradiation at a dose of 39.72 J/cm², the starting time of rejection to the organs was delayed, the living time of the organs was prolonged and the intensity of rejection was lightened. The above stated effects can be stronger when laser irradiation is combined with medication of azathioprin (at the dose of 8-5-3 mg/kg/day) and the effects are close to those of cyclosporin A(CsA).

Key words rat, transplantation of pancreas and duodenum, irradiation of He-Ne laser, immune inhibitors, azathioprine (Aza), cyclosporin A(CsA)