

脾次全切除术治疗门脉高压症的实验研究

刘程伟¹, 胡新华², 张雪松¹, 王树卿¹, 罗维¹, 张强²

(1. 佳木斯大学附属第一医院普通外科, 黑龙江 佳木斯 154002; 2. 中国医科大学附属第一医院外科)

[摘要] 目的:检测门脉高压症脾次全切除术后细胞免疫、体液免疫和组织学的变化,初步评价脾次全切除术在门脉高压症中的作用。方法:建立肝硬化门脉高压症大鼠模型,大鼠腹部皮下注射 60% 四氯化碳(CCl₄)0.3 ml/100 g 油溶液,同时 10%乙醇溶液代替饮水,测量门静脉压 ≥ 12 mmHg 及病理学证实模型成功。对各组进行血常规、免疫球蛋白、T淋巴细胞亚群的测定及 HE 染色组织学观察。结果:保留约正常脾脏大小的脾部分切除组与正常对照组术后血常规、免疫球蛋白和 T 淋巴细胞亚群的水平无显著性差异。保留约正常脾脏大小的脾部分切除组肝纤维化程度减轻;脾包膜变薄,脾实质轻度充血。结论:门脉高压症的残余脾脏具有一定的生理功能;保留约正常脾脏大小的脾部分切除术在一定程度上能够维持机体的体液免疫和细胞免疫。

[关键词] 脾次全切除术;门脉高压症

[中图分类号] R657.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-4646(2007)05-0539-03

Experimental study of subtotal splenectomy for treating portal hypertension

LIU Cheng-wei¹, HU Xin-hua², ZHANG Xue-song¹, WANG Shu-qing¹, LUO Wei¹, ZANG Qiang²

(1. Department of General Surgery, The First Affiliated Hospital, Jiamusi University, Jiamusi 154002, China; 2. Department of General Surgery, The First Affiliated Hospital, China Medical University)

[Abstract] **Objective:** To detect the changes of cellular and humoral immunity after subtotal splenectomy in rats with portal hypertension (PHT), and to evaluate the role of subtotal splenectomy for treating portal hypertension. **Methods:** The rat model of cirrhotic PHT was established by hypodermic injection of 60% carbon tetrachloride (CCl₄) oil solution (0.003 ml/g) into the abdomen and by replacing the drinking water with 10% alcohol solution. The portal vein pressure ≥ 12 mmHg and pathological changes indicated that the rat model was established successfully. The blood routine, determination of immunoglobulin and T lymphocyte subgroups, and HE staining were performed. **Results:** There were no significant differences in the results of blood routine and the levels of immunoglobulin and T lymphocyte subgroups between normal control group and partial splenectomy group in which the size of residual spleen is almost the same as that of normal spleen. The degree of liver fibrosis was less severe in partial splenectomy group in which the size of residual spleen is almost the same as that of normal spleen. **Conclusion:** The residual spleen after partial splenectomy in rats with portal hypertension has physiological function to some extent. The residual spleen whose size is almost the same as that of normal spleen after partial splenectomy could maintain the cellular and humoral immunity.

[Key words] subtotal splenectomy; portal hypertension

门脉高压症(portal hypertension, PHT)是门静脉的血流受到阻碍,发生淤滞,引起的门脉系压力增高。其治疗方法趋向于多元化。争论的焦点在于脾的“切”和“保”的问题。本文通过 HE 染色方法及检测脾次全切除术后血常规、免疫球蛋白、T 淋巴细胞亚群的变化,探讨脾次全切除术在 PHT 中的应用。

1 材料与方 法

1.1 动物与模型制备

健康 Wistar 大鼠 100 只,雄性,体质量 200~250 g, 建立肝硬化 PHT 大鼠模型:大鼠腹部皮下注射 60% 四氯化碳(CCl₄)0.3 ml/100 g 油溶液,首次剂量

加倍(0.5 ml/100 g),每 4 d 1 次,共 15 次,同时 10%乙醇溶液代替饮水,60 d 后随机抽样 10 只,测量门静脉压 ≥ 12 mmHg 及病理证实大鼠肝硬化 PHT 模型成功(模型建立过程中死亡 35 只)。实验共分 5 组(10 只/组):(1)正常对照组(NCG):自由饮食的正常大鼠,10%水合氯醛水溶液 300 mg/kg 腹腔注射麻醉,剖腹切除部分大网膜;(2)实验对照组(MCG):PHT 大鼠,切除部分大网膜;(3)全脾切除组(TSG):PHT 大鼠,行全脾切除,副脾一并切除;(4)保留正常脾 50%大小的脾部分切除组(R50%NSG):PHT 大鼠,切除脾上极大部,保留脾下极组织体积约为正常脾的 50%;(5)保留正常脾脏大小的脾部分切除组(RNSG):PHT 大鼠,切除脾上极大部,保留脾下极组织体积约为正常脾大小。

1.2 观察指标

1.2.1 血常规测定:经大鼠内眦静脉用细玻璃管采

[基金项目] 黑龙江省教育厅科研基金资助项目(11521275);黑龙江省青年学术骨干支持计划基金资助项目(1152G041)

[作者简介] 刘程伟(1976-),男,主治医师,博士。

E-mail: liucwew@163.com

血,每次 1 ml 置于含肝素的抗凝管中,利用 Sysmex kx-21 仪器,电阻法测血细胞计数,比色法测血红蛋白。

1.2.2 免疫球蛋白测定:取待测血清 0.1 ml,加生理盐水 0.3 ml 混匀,测 IgG、IgA 各取 10 μ l,测 IgM 取 20 μ l,分别注入 G、A、M 板孔中,放入 37 $^{\circ}$ C 培养箱内,48 h 后观察结果,测沉淀直径与对应标准曲线中查出免疫球蛋白的含量。

1.2.3 T 淋巴细胞亚群水平测定:待测血样加入含枸橼酸钠 (3.13%) 的抗凝管中,摇匀,按试剂盒 (Becton Dickinson, USA) 说明书操作。

1.2.4 HE 染色组织学观察:对肝脏、脾脏进行光镜

取材,置于 10% 中性福尔马林溶液固定 24 h,常规脱水、透明、浸蜡、包埋制成蜡块,切片、HE 染色 400 倍光镜下观察。

1.3 统计学处理

计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 10.0 统计软件包处理数据。

2 结果

2.1 术后 4 周大鼠血常规的变化(表 1)

TSG 组、RNSG 组与 NCG 组血红蛋白和血小板比较差异不显著。TSG 组、R50%NSG 组与 NCG 组白细胞比较,差异显著 ($P < 0.01$)。

表 1 术后 4 周大鼠血常规的变化($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Changes in blood routine in rats 4 weeks after the operation ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	Hb (g/L)	WBC ($\times 10^9/L$)	PLT ($\times 10^9/L$)
NCG 组	10	118.5 \pm 13.1	18.82 \pm 1.6	1158 \pm 12
MCG 组	10	96.5 \pm 6.20 ¹⁾	10.16 \pm 2.0 ¹⁾	678 \pm 11 ¹⁾
TSG 组	10	117.9 \pm 14.1	29.58 \pm 2.6 ¹⁾	1161 \pm 13
R50%NSG 组	10	118.3 \pm 9.80	27.50 \pm 4.5 ¹⁾	1159 \pm 13
RNSG 组	10	118.1 \pm 11.5	19.92 \pm 5.3	1159 \pm 16

注:1) 与 NCG 组相比, $P < 0.01$

2.2 术后 4 周 IgM、IgA、IgG 水平(表 2)

MCG 组与 NCG 组比较 IgM、IgA、IgG 显著降低

($P < 0.01$)。TSG 组与 MCG 组比较 IgM 水平显著降低 ($P < 0.01$)。

表 2 术后 4 周 IgM、IgA、IgG 水平($\bar{x} \pm s, g/L$)

Tab.2 Levels of IgM, IgA, and IgG 4 weeks after the operation ($\bar{x} \pm s, g/L$)

分组	n	IgM	IgA	IgG
NCG 组	10	1.38 \pm 0.26	11.88 \pm 1.71	1.97 \pm 0.10
MCG 组	10	0.96 \pm 0.23 ¹⁾	12.89 \pm 6.70 ¹⁾	2.97 \pm 0.33 ¹⁾
TSG 组	10	0.70 \pm 0.39 ²⁾	14.89 \pm 3.60	2.43 \pm 0.30
R50%NSG 组	10	0.93 \pm 0.22	12.85 \pm 6.58	2.92 \pm 0.35
RNSG 组	10	1.36 \pm 0.25	11.85 \pm 1.69	1.93 \pm 0.20

注:1) 与 NCG 组相比, $P < 0.01$; 2) 与 MCG 相比, $P < 0.01$

2.3 术后 4 周外周血 T 淋巴细胞亚群水平(表 3)

MCG 组与 NCG 组比较 T 淋巴细胞亚群水平显

著降低 ($P < 0.05$)。TSG 组与 MCG 组比较显著降低 ($P < 0.05$)。

表 3 术后 4 周外周血 T 淋巴细胞亚群水平($\bar{x} \pm s, g/L$)

Tab.3 Levels of T lymphocyte subgroups 4 weeks after the operation ($\bar{x} \pm s, g/L$)

分组	n	CD ₃ ⁺	CD ₄ ⁺	CD ₈ ⁺
NCG 组	10	66.85 \pm 8.10	45.53 \pm 8.22	26.32 \pm 9.42
MCG 组	10	55.85 \pm 7.62 ¹⁾	34.51 \pm 8.76 ¹⁾	19.29 \pm 5.23 ¹⁾
TSG 组	10	47.65 \pm 6.73 ²⁾	28.52 \pm 6.58 ²⁾	16.73 \pm 5.24 ²⁾
R50%NSG 组	10	55.81 \pm 7.60	33.49 \pm 8.70	19.32 \pm 5.19
RNSG 组	10	66.81 \pm 8.09	45.50 \pm 8.19	26.34 \pm 9.39

注:1) 与 NCG 组相比, $P < 0.05$; 2) 与 MCG 相比, $P < 0.05$

2.4 大鼠肝、脾组织学观察

MCG 组光镜下可见:正常肝小叶组织破坏,广泛增生的纤维组织将肝小叶分割包绕成大小不等的圆形的肝细胞,即假小叶。假小叶内肝细胞索排列

紊乱,小叶中央静脉阙如、偏位或出现两个以上的中央静脉,再生的肝细胞结节肝细胞索排列紊乱,胞体大,核大,着色深,肝细胞还出现气泡样变、脂肪变性等(图 1)。RNSG 组可见肝纤维化程度减轻(图 2)。

MCG 组光镜下可见:脾包膜增厚,脾实质充血严重,脾内纤维严重增生;骨髓有不同程度萎缩,滤泡和生发中心变小,数量减少(图3)。RNSG 组可见脾包膜变薄,脾实质轻度充血,以包膜下明显,轻度纤维化且有少量散在的小出血灶(图4)。

图1 MCG 组肝出现假小叶 HE × 100
Fig.1 Pseudo-lobule formation in MCG group observed under light microscope HE × 100

图2 RNSG 组肝纤维化程度减轻 HE × 100
Fig.2 Less severe liver fibrosis in RNSG group observed under light microscope HE × 100

图3 MCG 组脾实质严重充血 HE × 100
Fig.3 Severely congested spleen mass in MCG group observed under light microscope HE × 100

图4 RNSG 组脾包膜变薄、脾实质轻度充血 HE × 200
Fig.4 Thinned spleen membrane and lightly congested spleen mass in RNSG group observed under light microscope HE × 200

3 讨论

脾是血源性抗原发生免疫应答的主要场所,又是产生抗体尤其是初级反应中 IgM 的主要基地^[1,2],

IgM 水平的下降,预示着体液免疫功能的低下。本实验中 TSG 组和 R50%NSG 组,IgM 有下降趋势,说明脾切除者,可通过其他淋巴器官部分代偿,但 IgM 水平却无法恢复。可能因为产生 IgM 的 B 淋巴细胞亚群 CD20⁺、CD21⁺主要存在于脾。脾内的 T 细胞占全身循环的 25%,B 细胞占 10%~15%^[3]。T 淋巴细胞亚群的紊乱,常引起免疫应答的改变。原因:(1)T 细胞对有丝分裂素刺激的反应增殖能力低下;(2)Ts 活性增强,Th 和放大 T 细胞活性下降;(3)T 细胞数量和亚群比例失调。本实验中,肝硬化 PHT 大鼠术前 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺较 NCG 组降低,全脾切除后 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺较脾大部切除后显著降低,且以 CD4⁺降低尤为显著,说明全脾切除后细胞免疫功能更趋恶化。但是,RNSG 组 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺术后和 NCG 组无显著性差异,说明保留约正常脾脏大小的脾部分切除术在一定程度上能够维持机体的细胞免疫。光镜观察 RNSG 组肝纤维化程度减轻,未见明显的假小叶形成。脾包膜变薄,脾实质轻度充血,以包膜下明显,轻度纤维化仅有少量散在的小出血灶。

PHT 病人的整个免疫功能均有所低下,但作为机体最大的外周淋巴器官的脾,仍对病人的体液免疫和细胞免疫具有重要的调控作用,且具有强大的抗感染等免疫功能。目前关于肝硬化 PHT,脾保留多少分歧较大^[4],脾保留过小对术后免疫功能恢复不利,过大可引起脾功能亢进复发^[5]。认为保留部分脾脏能够消除脾亢,保留脾脏免疫功能,降低门静脉压力,余脾成为疏导处于高动力循环状态的门静脉血流的通道。本实验结果显示,残余脾具有一定的生理功能,保留约正常脾大小的脾部分切除术在一定程度上能够维持机体的体液免疫和细胞免疫。

参考文献:

- [1] PETROIANU A,BERINDOAGUE NETO R. Laparoscopic subtotal splenectomy[J]. *Minerva Chir*,2004,59(5):501-505.
- [2] TATULLI F,CIANI V,Caputi A,et al. Subtotal splenectomy for large splenic cyst [J]. *Chir Ital*,2003,55(5):761-764.
- [3] PETROIANU A. Subtotal splenectomy for treatment of retarded growth and sexual development associated with splenomegaly [J]. *Minerva Chir*,2003,58(3):413-414.
- [4] 杨新华,马宏敏,蔡志民. 脾大部切除术治疗肝硬化脾大脾亢的疗效分析[J]. *中华肝胆外科杂志*,2000,6(5):337-340.
- [5] STOEHR GA,STAUFFER UG,EBER SW. Near-total splenectomy: a new technique for the management of hereditary spherocytosis [J]. *Ann Surg*,2005,241(1):40-47.

[收稿日期] 2005-08-20