维普资讯 http://www.cqvip.com

13—16 脾移植，自体移植，肺炎球菌感染，抗感染实验

局解手术学杂志 1995 年第 4 卷第 2 期总第 14 期

不同自体脾组织移植量抗肺炎球菌感染的实验研究

第三军医大学应解与手术学教研室 雷 新

审阅 陈维佩

（四川重庆，邮政编码 630038）

R657.6

随着人们对脾脏各种功能的认识以及脾切除后严重感染和心血管疾病的发生，脾损伤后采用各种保脾术越来越多。当严重脾损伤无法保留脾脏时，很多学者仍主张将自体脾组织再移植，但移植后再生的脾组织结构及功能怎样？能否防止发生“OPSI”？尤其是对脾组织的临界移植量问题，无论在临床或是动物实验方面都存在较大争议。本实验采用大鼠进行不同量脾组织网膜内移植，然后进行抗感染能力和实验研究，试图阐明移植脾组织的抗感染作用，移植多少脾组织才是抗感染的理想量，从而为临床处理严重脾损伤提供理论和实践依据。

材料与方法

一、实验动物与分组：健康的雄性 Wistar 大鼠 360 只，随机分为 6 组：1. 假手术组；2. 脾切除组；3. 25%脾组织移植组；4. 40%脾移植组；5. 60%脾移植组；6. 80%脾移植组。

二、观察指标及方法

1. Ⅰ型肺炎球菌菌液的制备、计数和保存。2. 肺炎球菌攻击后的动物存活率：采用气管内经呼吸道注射肺炎球菌。3. 图象分析技术测定脾及移植脾中的脾小体数量和面积：从动物腹主动脉注入生理盐水冲洗后，120mmHg 压力灌注 4%多聚甲醛，取标本经脱水、石蜡包埋切片、HE 染色。4. 化学发光法测定外周血中吞噬细胞活性。5. ^{3}H—TdR 标记活的肺炎球菌测定血、肝、肺、脾和移植脾的清除功能。6. 血中肺炎球菌廓清率的测定：腹腔内注射肺炎球菌后，颈外静脉插管取不同时相的血样，经生理盐水倍比稀释后血皿培养，计数菌落。7. 血浆纤维结合蛋白（PFn）的动态检测。8. 动态观察不同时期不同移植量脾组织再生后的形态结构：各组动物每次取 2 只分别于术后 2、5、8 周、3 月、5 月取脾移植标本，HE 染色，光镜下观察记录并比较再生情况。

三、数据处理：除存活率用四格表确切概率法计算外，余数据均采用 $\bar{x}\pm s$ 表示，经方差齐性检验后，用单因素方差分析进行处理，必要时求数据之间的相关关系。

结 果

一、大鼠感染肺炎球菌后的发病过程及存活率：各组动物感染肺炎球菌 4 小时后即出现精神差、活动少，食欲减退，毛发竖立，呼吸急促，呈典型肺炎性“蛙叫”样呼吸，脾切除组大部分动物在 24h 以内出现肺炎球菌败血症，但 84h 以后各组动物均呈现败血症，13 天后全部存活动物经血培养证实已无细菌生长。死亡动物血培养亦表明为肺炎球菌向败血症，肺脏组织学检查见肺泡壁充血，内有弥漫性出血，肺间质有支气管周围炎。在各组动物中脾切除动物出现败血症时间早，从患败血症后至死亡时的时间间隔短，假手术组和各脾移植组动物出现败血症的时间较脾切除动物晚，死亡时间也多在 6 天以上。从存活情况来看，脾切除组动物存活率最低（33%），80%脾移植组成活率最高（100%），假手术组次之（89.9%）。似有移植量越多，存活率越高的倾向。

二、大鼠感染肺炎球菌后再生移植脾的重量：肺炎球菌无论从血或呼吸道感染后，各移植组再生移植脾重量与假手术组原脾重量均有显著性差异（$P<0.05$），80%移植组再生脾重与 25%、40%组之间亦有显著性差异（$P<0.05$），不同量脾组织移植后的再生重量与移植时的重量呈显著正相关（$r=0.66$，0.88，$P<0.01$）。

三、各组动物不同量脾组织移植后再生脾中脾小体数量和面积的变化：假手术组动物的单位面积脾小体数量，明显多于各移植组（$P<0.01$），而各移植组间均无明显差异，提示移植再生脾的脾小体由于诸多原因不能达到原脾数目，但移植脾的脾小体个数与移植量无关。假手术组动物的

维普资讯 http://www.cqvip.com

脾小体面积与各移植组之间的明显差异（P＜0.01），25%移植组与60%和80%移植组间亦有明显差异（P＜0.01）。

四、各组动物外周血中吞噬细胞活性的变化：假手术组和各移植组动物血中吞噬细胞活性与脾切除组之间均有显著差异（P＜0.05），但各移植组之间，各移植组与假手术组之间均无明显差异。

五、^{3}H－TdR标记活的肺炎球菌在务组动物主要脏器的清除率及血中残存率变化：假手术组动物的肝脏清除标记的活菌能力最强，它与脾切除组和各移植组的比较均有显著差异（P＜0.05），肺的清除率各组间均地显著差异，但仍以假手术组较强，脾切除组较弱；脾或移植脾的清除率，假手术组与各移植组间均有显著差异（P＜0.05），而各移植组间无显著差异，以80%、25%组偏高。脾切除组动物血中标记细菌的残存率，15分钟时与假手术组间有显著差异（P＜0.05），而与其它各组比较无显著差异，移植组动物血中标记细菌和残存率均低于脾切除组，1小时时，各组间均无显著差异。

六、各组动物血中肺炎球菌廓清率：脾切除组动物血中细菌数在1、3、5小时三个时相点均高于其它各组（P＜0.01），说明假手术组和各移植组的细菌廓清能力明显高于脾切除组，而各移植组与假手术组之间，各移植组之间均无显著差异，但以假手术组血中细菌数量最少，80%脾移植组次之。

七、各组动物血浆Fn含量的动态观察：各组动物术后1月时，脾切除组PFn含量与假手术组比较有显著差异（P＜0.01），各移植组与假手术组间均无显著差异，但假手术组PFn含量均高于各移植组，各移植组间亦无显著差异。6月时脾切除组PFn含量虽有明显回升，但与假手术组比较仍有显著差异（P＜0.05），与各移植组比较已无显著差异。虽然各移植组间PFn含量，在1月、6月时无显著差别，但可看出移植量多，Fn含量增高的趋势，且各移植组PFn含量在6月较1月时有回升。

八、移植脾组织的组织形态学观察：

1. 移植脾再生的动态观察：各移植组动物在术后2周时均可见再生脾组织中央明显坏死，红、白髓结构模糊不清，脾窦扩张瘀血，脾小体结构松散；5周后坏死明显减轻，脾窦结构稍有恢复；8周后红、白髓结构渐清楚，可见散在吞噬含有铁血黄素的巨噬细胞；3月后部分区域可见较清楚的白髓结构形成，但仍有一些区域红、白髓界限不清，一些白髓位于包膜下，白髓周围巨噬细胞增多，常聚集成散片状分布，多吞噬有含铁血红素，脾窦内也可见少量巨噬细胞，但白髓周围淋巴细胞较稀疏；5月后红、白髓结构较前清楚，白髓周围淋巴细胞、巨噬细胞较前增多，但仍有少数区域白髓、红髓界限不清，脾小体生发中心仍松散，未见PALS形成，可见片状或索状呈透明变性的纤维结缔组织，各不同量脾组织移植组在上述再生过程中结构变化大致相同。

2. 感染肺炎球菌后移植脾组织的观察：各组移植脾结构变化大致类似，病变以脾窦、脾索内血管扩张瘀血明显，大部分均见有出血，偶见有脓肿形成，炎性细胞浸润以吞噬细胞为主伴淋巴细胞及少数浆细胞，各组中均有多量吞噬细胞聚集成片，部分为多核巨细胞浸润，有些切片可见有菌团存在。假手术组脾脏除脾窦及血管扩张瘀血较明显外，余无特殊病变。

讨　论

一、脾脏在机体抗肺炎球菌感染中的作用：脾脏切除后特别是成人切脾后是否会发生OPSI，各家意见不一。本文采用成年大鼠作为实验对象，并结合临床实际在国内首次通过呼吸道途径进行肺炎球菌攻击，造成OPSI模型，结果显示脾切除大鼠在感染肺炎球菌后出现败血症时间较假手术组早，从败血症至死亡的时间间隔短，发病急，病情重，存活率低（33%），尸检大鼠肺脏呈典型肺炎表现，上述表现与临床OPSI病例相似。本实验资料证实脾切除后外周血中吞噬细胞活性较假手术组明显降低，血中肺炎球菌的清除率在1、3、5小时脾切除组均较假手术组明显下降。脾切除组血中Fn术后1月时较假手术组明显减少，术后6月虽有一定恢复，但仍较假手术组明显降低。本实验用^{3}H－TdR标记的肺炎球菌研究肝脾之间的关系的结果显示脾切除后标记的Pn在肝脏的清除率明显下降，提示脾切除后肝脏捕获肺炎球菌能力下降，上述结果说明脾脏在抗肺炎球菌感染中起重要作用。

二、移植脾组织在抗肺炎球菌感染中的作用：脾脏在抗感染中的作用已无容置疑，但移植脾由

维普资讯 http://www.cqvip.com

于血流量不足，组织结构变化等方面的问题、其在抗感染中的作用争论还比较大。本实验资料显示大鼠经呼吸道感染肺炎球菌后，各脾移植组存活率均高于脾切除组，但以 80% 移植组和脾切除之间有统计差异，说明移植脾在抗肺炎球菌感染中起了重要作用。

本研究结果表明各脾移植组在不同时期血中 Fn 含量均较脾切除组高，说明移植脾在 1 月时就可恢复脾脏产生 Fn 的功能，到 6 月时即可接近正常，各脾移植组的血中细菌廓清率、血中吞噬细胞活性都高于脾切除组，^3H-TdR 标记的活肺炎球菌还直观地显示移植脾组织中确实吞噬有细菌，感染肺炎球菌后的移植脾组织切片中也发现有肺炎球菌的菌团存在，这些结果反映了移植脾在抗肺炎球菌感染中起了积极作用，但本实验资料也显示了各组动物移植脾组织中标记肺炎球菌的清除率较假手术组明显降低，移植组动物血中细菌廓清率、Fn 含量虽接近正常，但仍较假手术组为低，这些观察结果也从另一方面反映了移植脾尚不能完全恢复原脾的抗感染功能。

三、移植脾组织形态结构的再生及其意义：移植脾组织再生后能否恢复原脾重量或移植时的重量？能否恢复原脾结构？肺炎球菌感染后移植脾组织有哪些改变？各家文献结论不一。本实验结果证实脾组织移植术后 6 月，移植脾组织不但不能恢复至原脾重量，亦不能恢复至移植时的重量。移植脾再生的动态观察表明移植脾虽能形成与原脾相似的结构，但在一些特点上已与原脾不同，这些不同点无疑影响了移植脾的抗感染能力。但本实验发现经肺炎球菌感染后的移植脾内可见巨噬细胞、淋巴细胞、浆细胞、多核巨细胞明显增多，甚至超过原脾，说明移植脾组织有潜在防御能力，有一定抗感染作用。

四、自体脾组织移植的临界移植量：脾组织移植的理想量究竟为多少，各家结论极不一致。本实验资料表明，移植再生的重量不能恢复至移植时的重量，且移植再生量与移植时的重量呈显著相关关系，说明移植量少时，移植再生脾重量并不能代偿性增长，本研究结果认为，80% 脾移植量为抗肺炎球菌感染的理想量，这可从各移植组大鼠感染肺炎球菌后存活率以 80% 移植组最高，术后 1 月，6 月 PFn 含量以 80% 移植组最高，血中细菌和廓清率以 80% 移植组最好等指标来证实。另外从再生角度来看，80% 组的再生过程与其它移植组比较并无明显异常，且 80% 组的再生重量最大，其中的脾小体个数与其它移植组比较无显著差异，证明再生是比较好的。但 60%、80% 移植组的脾小体面积较 25% 组有明显差异、这又从另一个角度说明了移植量并不是无限制的越多越好，有人认为严重脾损伤时可将破裂的整个脾脏进行移植的提法是不合适的、当多量脾移植时，仍存在一个再生不够完善的现象。

五、肝、肺、脾等器官在抗肺炎球菌感染中的作用及相互关系：机体感染肺炎球菌后，肝、脾、肺等器官在清除细菌的过程中究竟起了多大作用？脾切除后肝、肺等器官能否代偿脾脏功能？各家意见不一，本实验在国内首次用 ^3H-TdR 标记的活肺炎球菌血中感染大鼠后，假手术组动物肝脏单位重量组织的标记肺炎球菌清除率最高，脾脏的清除率次之，肺脏的清除率最低，本实验结果证实，脾切除动物的肝脏单位重量组织的清除率较假手术组明显下降、肺脏的单位重量组织清除率虽下降不明显，但也偏低，本实验资料还表明各脾移植组并不能明显恢复肝、肺的清除细菌功能。

六、自体脾组织移植术的应用评价：已有文献报告脾组织移植术的抗感染能力明显低于脾部份切除术或脾动脉结扎术，这与移植脾组织血流量不足，组织结构在一些特点与原脾不同有关。从本实验脾移植抗感染的结果看来，其存活率，血中吞噬细胞活性、Fn 含量、细菌廓清率等明显优于脾切除组，但稍逊于假手术组。因此，自体脾组织移植术在机体抗感染过程中确实发挥了一定积极作用，在严重脾损伤无法保留原位脾脏时，仍不失为一种简便易行，安全有效的保脾手术。

结 论

1. 移植脾组织的再生过程经过坏死、再生、生长等三个阶段，都可以形成与原脾相似的结构，但在形态结构上仍有一些特点与原脾不同。

2. 脾切除后削弱了机体防御能力，增加感染发病率和死亡率。

3. 移植脾组织在肺炎球菌感染过程中确实发挥了积极重要作用。

4. 机体在抗肺炎球菌过程中，肝、脾、肺起了重要作用，脾脏切除后，肝脏对标志肺炎球菌清除能力明显下降，肺脏的清除能力亦偏低。

维普资讯 http://www.cqvip.com

5. 80%脾组织移植的大鼠在肺炎球菌败血症中取得较好效果的移植量。

6. 在严重脾损伤无法采用其它保脾术时，才可考虑使用脾移植术，以便保留部分脾功能。

参考文献 略

Experimental study on various amount of autotransplanted spelenic tissue for protection against pneumococcal infection (Abstract)

This study presented the anti—infection capbility and critical amount of autotransplanted splenic tissue. 360 Wistar rats were divided into six groups: sham operation, total splenectomy, 25, 40, 60 and 80% omental pouch auto — transplantation. After 6 months the anti—infection indexes were measured, and histological architecture was dynamically examined.

The results showed: the implanted splenic tissue through oecrosis, regeneration, growth phases, was similar to the nomal spleen, except a few specialcbaracters were different from the nomal. The autotranspl anten splenic tissue weight neither regenerated to the nomal, nor to the originally implanted amount; The regeneratde splenic weght was significantly correlated to the original implanted. Both the number and area of the splenic nodules in the implantde animals decreased significangly. Among the implanted groups. difference was insignificant, but comparing with the 25% the aren of splenic nodules in 60,80% group distinctly decreased. After intra—trachea challenge with pneumococi (Pn), the survival rate of sham operation and 80% groups were significantly higber than that of the spllenectomy group. PFn, phagcoyte activty in blcod, Pn clearance from the blcodstream of splenectomy group markedly reduced compsred with sham operation, but sll the implanted groups were approximately nomal. After splenectomy, the liver uptake ratd of ^{3}H—TdR labeiled live Pn decreased significantly, the lung one lightly decreased. The implanted splenic tissue one significantly decreased, conpared with nomai spleen.

It suggestg that implanted spieen has sbility to protect against infection, amount of implanted splenic tissue must be adequate, autotransplantation of 80% of the spleen is the optimum amount.

Key words: Splencctomy, Autotransplantation of spleen, Critical implanted amount, Pn infection.

(收稿 1994—06—02)