自体半脾组织移植的实验研究

任师颜 许明贵 王敖川△ 马宏敏*（第三军医大学新桥医院 普外科）630037

提 要 将145只小鼠随机分组，Ⅰ对照组（25只），Ⅱ半脾保留组（40只），Ⅲ脾移植组（55只）和Ⅳ全脾切除组（25只）。光镜、TEM和SEM检查显示移植脾成活。显微分光光度计测单位面积酶 光值，ACP值Ⅰ组（0.462±0.013）、Ⅱ组（0.304±0.009）和Ⅲ组（0.180±0.014）顺次显著降低（$P<0.05$）；ANAE值Ⅰ组（0.260±0.021）大于Ⅱ组（0.218±0.016）和Ⅲ组（0.210±0.022）（$P<0.05$），后两组无显著差异（$P>0.05$）。微量全血恒温法测化学发光值，有脾鼠血清调理者Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组逐渐降低（$P<0.05$），Ⅱ、Ⅳ组无差异（$P>0.05$）；无脾鼠血清调理者Ⅰ组大于Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ组，Ⅳ组小于Ⅱ、Ⅲ组（$P<0.05$）。结果提示，移植脾有一定的免疫吞噬功能。

关键词 脾/移植；酶类/分析；吞噬作用；小鼠

脾严重损伤难以保脾时，全脾切除后行自体脾移植已受重视，但移植脾的功能如何，对机体有无影响尚未定论[1]。为此我们设计实验，小鼠全脾切除后行自体脾块移植，探讨移植脾的功能变化，为临床处理脾损伤提供依据。

1 材料和方法

1.1 动物分组和术式

杂系健康小鼠145只（购自本校动物所），平均体重22.5g，雌雄不拘，随机分为4组。Ⅰ假手术（对照组）25只，Ⅱ近端半脾保留组40只，Ⅲ近端半脾移植组55只和Ⅳ全脾切除组。

1.2 观测指标

除外周血像在术后7周检查外，余项均在术后12周进行。

1.2.1 外周血像

包括红细胞、白细胞和血小板计数及血红蛋白测定。

1.2.2 形态学检查

剖腹观测移植脾的大小、重量和血供。Ⅰ、Ⅱ、和Ⅲ组各取5个脾脏，制备标本用光镜、透射电镜（TEM）和扫描电镜（SEM）观察。

1.2.3 酶组织化学染色

Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ组各取8个新鲜脾脏，快速做冷冻切片，分别做酸性磷酸酶（ACP）和酸性α-醋酸萘酯酯酶（ANAE）染色。用MPV-3型显微分光光度计（德国产）分别测ACP和ANAE的吸光值，每组测ACP和ANAE切片标本数分别为8、5，每个切片标本测20个区域，显微放大倍数160。

1.2.4 微量全血恒温法测化学发光（CL）值

取3只正常有脾小鼠的血清混和，另取3只无脾小鼠的血清混和，两种混和血清分别以双蒸水稀释成20%，做为调理血清。参照文献[2]测CL值。每日样品分别在5，10，20，40min，用FJ-2101型液体闪烁计数器测定，每个样品用复管，取均值。

2 结 果

2.1 外周血像

血小板计数Ⅳ组（227±50）×10^9/L显著高于Ⅱ组（198±14）×10^9/L和Ⅲ组（187±12）×10^9/L（$P<0.05$），余项检查各组均无显著性差异（$P>0.05$）。

2.2 形态学检查

移植脾暗红色，相互生长融合，周缘有小血管长入，无缺血坏死。脾重量Ⅲ组（0.17±0.03）g显著低于Ⅰ组（0.30±0.06）g和Ⅱ组（0.28±0.05）g（$P<0.01$）。光镜见移植脾内红、白髓和脾小体清晰可见，生发中心和中央动脉少见。TEM见移植脾内淋巴细胞核仁多见，巨噬细胞和浆细胞细胞器丰富，可见穿越血窦内皮细胞的红细胞。SEM见移植脾内小血管由内皮细胞和平滑肌构成，纤维网状支架清晰，内有血细胞。脾索内有

* 西南医院普外科
△西南医院肝胆外科

© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

大量表面有微突的淋巴细胞，血窦内含红细胞和变形红细胞（图1）。

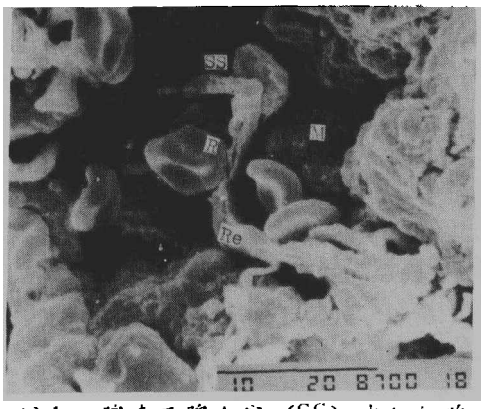


图1 、脾索及脾血窦（SS）内红细胞（R）及巨噬细胞（M）SEM×6750

2.3 单位面积酶吸光值（相对单位）

脾组织的单位面积ACP阳性产物的吸光值Ⅰ组（0.462±0.013）、Ⅱ组（0.304±0.009）和Ⅲ组（0.180±0.014）顺次显著降低（$P<0.05$），单位面积ANAE阳性产物吸光值Ⅰ组（0.260±0.021）大于Ⅱ组（0.218±0.016）和Ⅲ组（0.210±0.022）（$P<0.05$），后两组无显著差异（$P>0.05$）。

2.4 CL测定值

有脾鼠混合血清调理下的CL值高于无脾鼠血清调理下的CL值，但无显著差异（$P>0.05$）。各组CL峰值均出现在10 min。有脾鼠血清调理者Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组逐渐降低（$P<0.05$），Ⅲ、Ⅳ组无显著差异（$P>0.05$）；无脾鼠血清调理者Ⅰ组大于Ⅰ、Ⅱ、Ⅳ组，Ⅱ组大于Ⅳ组（$P<0.05$），但与Ⅰ组差异不显著（$P>0.05$）（图2）。

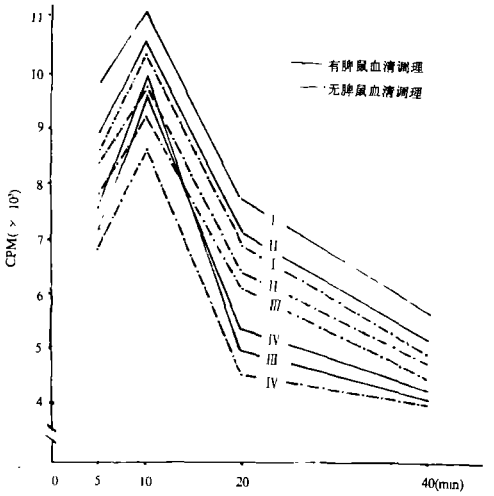


图2 化学发光测定值

3 讨 论

严重脾损伤全脾切除后，自体脾移植已成为保留脾功能的一种措施。移植脾的部位、数量和形状，迄今尚未统一。多数主张将25%～50%的脾脏制成边长小于1cm的脾块移植在大网膜袋内。脾移植后一般经过变性坏死、再生和生长等过程，脾移植后12周，其结构方与正常脾组织无异[3]。我们的预试验发现，将小鼠近端半脾切成0.2cm的方形脾块移植在大网膜袋内，成活较好。移植脾过大，其中心因营养差易变性坏死。本实验于术后7周查周围血像，余项检查均术后12周进行。

移植脾的正常结构和TEM所见的巨噬细胞、浆细胞内丰富发达的细胞器，是移植脾具有免疫吞噬作用的形态学基础。SEM见脾索内含有表面有大量微绒毛的淋巴细胞，表明移植脾储存有参与免疫反应的细胞成份。移植脾内淋巴细胞核仁多见，是淋巴细胞内蛋白质合成和细胞生长旺盛的表现。

脾索内有大量巨噬细胞，ACP为细胞内溶酶体的代表酶；脾内动脉周围淋巴鞘内有大量T淋巴细胞，ANAE染色点状阳性反应是成熟T细胞的标志，小鼠脾脏95%以上的T细胞ANAE反应阳性[4]。因此测定脾索内单位面积ACP的阳性吸光值和脾内动脉周围淋巴鞘内单位面积ANAE阳性吸光值，可间接反映各组脾脏的免疫吞噬功能。移植脾组ANAE吸光值虽然小于对照组，但与半脾保留组无显著差异，提示二者的免疫吞噬功能相接近。

化学发光值可反映吞噬细胞的趋化性、杀菌功能和调理素活性。脾脏能产生Tuftsin、调理素和备解素等。脾损伤严重或全脾切除后，机体的调理因子势必减少，因而本实验无脾鼠血清调理的CL值低于有脾鼠血清调理的CL值。尽管在有脾鼠血清调理下，移植组CL值与切脾组无显著差异，但在无

© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

脾鼠血清调理下，移植组CL值显著高于切脾组，且与半脾保留组无显著差异，提示移植脾的氧化杀菌脾性与半脾保留组者无异。

总之，移植脾能成活生长，且有一定的免疫吞噬功能。脾损伤严重必须切脾时，提倡自体脾移植术，以预防无脾机体发生严重感染。

参 考 文 献

1. 任师颜　王敖川　张肇祥。自体脾组织移植的研究进展。创伤杂志　1989；5(2)：114
2. 董元林　盛志勇　张遵一。白细胞化学发光的微量全血恒温测定法研究。中华微生物和免疫学杂志　1986；6(3)：144
3. Livingston CD. Improved survival rate for intraperitoneal autotran splantation of the spleen following pneumococcal pneumonia. SGO1983; 156:761
4. Ranki A, Kew MC. Identification of mouse T and B lymphocytes *from cytocentrifuged cell smears*. Clin Exp Immunol 1976; 26:682

(收稿：1991-05-13；修回：1991-07-15)

A study of the functions of autografted hemispleen

Ren Shiyan, Xu Minggui, Wang Aochuan, et al. (Department of General Surgery, Xingqiao Hospital) Third Military Medical College, Chongqing, 630037)

Abstract One hundred and forty-five mice were randomized into 4 groups: Group I consisted of 25 mice with sham operation, group II of 40 mice with hemisplenectomy, group III of 55 mice with hemisplenic autotransplantation, and group IV of 25 mice with splenectomy. Twelve weeks after operation, it was found under optical microscopy, transmission electron microscopy and scanning electron microscopy that the autografted hemispleen was viable. The contents of alpha-naphthol acetylate esterase (ANAE) and acid phosphatase (ACP) in the splenic tissue were measured with microspectrophotometer. ACP level decreased continuously in group I (0.462 ± 0.013), group II (0.304 ± 0.009), and group III (0.180 ± 0.014) ($P<0.05$). ANAE level was lower in group III (0.210 ± 0.022) than in group I (0.260 ± 0.021) ($P<0.05$) and was similar between group III and group II (0.218 ± 0.016). The data of chemiluminescence (CL) assay opsonized with normal mice serum dropped significantly in groups I, II, III, and IV, while the data of CL assay opsonized with asplenic mice serum was significantly higher in group III than in group IV, and significantly lower in group III than in group I ($P<0.05$), and similar between group III and group II.

The findings suggest that the autografted hemispleen possesses certain capability of phagocytosis and immune functions.

Key words spleen/TR; enzymes/AN; phagocytosis; mice

© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net