DOI:10.16016/j.1000-5404.1988.06.003

犬自体脾块移植后部分脾功能变化的研究

葛海燕 王敖川 （新桥医院 普通外科）

提 要 24条本地健康杂种犬随机分成3组：①切脾组；②对照组；③自体脾组织移植组。实验表明犬自体脾块大网膜内移植存活良好，并恢复部分脾功能。切脾后犬周围血嗜中性粒细胞的细菌吞噬率和杀菌功能均低于正常犬，而行脾组织移植后能使之接近正常水平。但移植脾的脾小体中T淋巴细胞数和红髓中单核吞噬细胞数均少于正常脾组织。

关键词 脾切除术；移植；自体

自体脾组织移植手术能否保留一定的脾功能，是近年来作者们普遍关注的问题[1][2][3]。我们研究了犬自体脾块移植后再生脾块以及周围血嗜中性粒细胞的功能变化，报告如下。

材料与方法

一、动物分组

取本地健康杂种犬24条，体重10～14kg，随机分成3组，各组均按无菌术要求进行手术。

1. 切脾组 8条犬，3%戊巴比妥钠静脉麻醉（1 ml/kg）。上腹部左侧旁正中切口，进腹后行全脾切除术，如有副脾一并切除。

2. 对照组 8条犬，手术过程同1组，进腹后搬动脾脏至切口外，然后送回脾窝，随即关腹。

3. 脾移植组 8条犬，切脾过程同1组。取全脾1/2的脾组织，切成1×1×0.5cm大小，移植于大网膜中下部血供丰富处，用网膜边缘部分反折覆盖，“O”号丝线缝合，然后将移植脾缝合固定于左上腹，防止网膜蒂扭转。

二、检测指标

1. 周围血嗜中性粒细胞（PMN）的功能

（1）采用化学发光方法（PMN-CL）[4]测定周围血嗜中性粒细胞杀菌功能。

（2）周围血嗜中性粒细胞体外吞噬功能

$$\text{吞噬率}=\frac{\text{100个PMN中发生吞噬作用的细胞数}}{100}\times 100\%$$

2. 自体脾组织移植的形态和功能

（1）肉眼观察。

（2）组织学检查。

（3）酸性α-醋酸萘脂酶（ANAE）染色，按Mueller[5]法进行。每一标本选择30个视野，计数脾小体中ANAE染色呈点状阳性的比例，和红髓中ANAE染色呈弥漫性阳性细胞数。

（4）^{99m}锝-标记热变性红细胞脾扫描，按Armas法[6]进行。

以上指标均在术后6个月时测定。实验数据在Apple-Ⅱ型微机按计量指标作统计学处理。

结 果

一、周围血中PMN的功能测定结果

1. 周围血中PMN-CL测定 各组动物周围血中PMN的杀菌高峰均出现在5 min。但峰值各有不同，对照组最高，与切脾组比较有显著性差异（$P<0.05$）；与移植组比较也有差异（$P=0.05$）。在20min内，切脾组PMN-CL强度与对照组比较均有显著性差异（$P<0.05$），而移植组与对照组比较则差异不显著（$P>0.05$）见图1。说明切脾犬PMN-CL功能降低，自体脾组织移植后对PMN-CL功能有一定保护作用，但未完全达到正常水平。

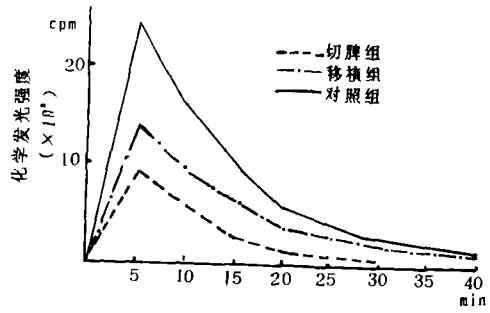


图1 嗜中性粒细胞化学发光曲线

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2. 周围血中PMN体外吞噬功能由表1得出，切脾组的细菌吞噬率明显低于对照组和移植组，均有显著性差异；移植组与对照组比较则无显著性差异。提示犬脾切除后PMN体外对细菌吞噬作用下降，而脾移植犬能维持正常水平。

表1 犬PMN体外细菌吞噬率比较

($\bar{X}\pm SD$)

组 别	吞噬率（%）	P 值
对照组	58.5±5.6	
切脾组	46.5±4.5	P<0.01
移植组	57.6±4.0	P>0.05

二、自体脾组织移植的形态和功能观察

结果

1. 内眼观察：移植脾块存活良好，外观暗红色，血供丰富，脾块之间互相融合。移植脾与周围脏器无粘连，无液化消失或脓肿形成。

2. 组织学检查：移植脾外周有一层纤维性包膜，脾块内可见白髓和红髓及脾小梁，部分淋巴小结中央出现生发中心；红髓中脾窦充血扩张，内有丰富的血细胞。脾块内还可见纤维组织增生，尤以脾块中央较明显。

3. 脾组织ANAE染色结果(见表2、3)：两组资料均有非常显著性差异。说明术后6个月时移植脾组织白髓中的ANAE染色点状阳性细胞数，以及红髓中的ANAE染色弥漫性阳性细胞数均低于正常脾组织。

表2 犬脾小体ANAE点状阳性细胞率（%）比较

犬 号	1	2	6	11	12	17	23	24	$\bar{X}\pm SD$
移植前	42.8	41.5	44.5	50.0	44.6	41.8	46.4	44.6	44.53±2.8
移植后	36.5	38.3	33.0	30.0	33.0	33.2	—	—	34.0±3.0

P<0.01

表3 犬脾红髓ANAE弥漫性阳性细胞数比较

犬 号	1	2	6	11	12	17	23	24	$\bar{X}\pm SD$
移植前	44.57	47.57	49.67	49.03	48.53	55.47	46.03	53.0	49.23±3.56
移植后	32.83	31.43	41.17	32.37	35.33	31.97	—	—	34.18±3.68

P<0.01

4. ^{99m}锝-标记热变性红细胞脾扫描，除2例因技术原因失败外，其余6条犬在移植部位均呈现放射性浓聚区（图2）。说明移植脾已恢复吞噬变性红细胞的能力。

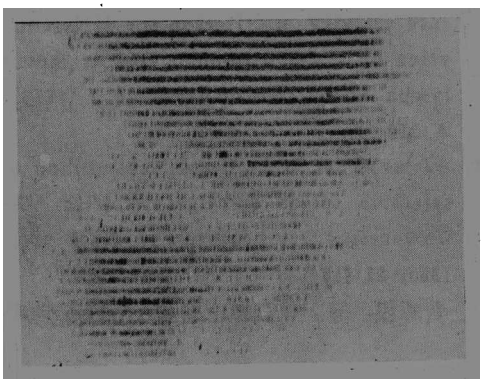


图2 ^{99m}锝-标记热变性红细胞脾扫描图像

其中右下角为移植脾影像，上方为肝脏影像。扫描时间：术后6个月。

讨 论

一、脾块大小对移植脾生机的影响

对于移植脾块的生机，一般认为需要经过变性坏死、组织再生和增长三个阶段，5～6周后显微镜下已可见到正常的脾组织结构[1]。而Krasna[3]近来报告犬脾移植6个月后仍不能存活。本实验表明，犬脾小块大网膜内移植确能存活，并能摄取^{99m}锝标记变性红细胞；脾块内可见脾小体、生发中心、红髓等组织结构。对于上述不同结果，推测与移植脾块大小有一定关系。由于Tavassoli等以小动物为实验对象，脾块细小（0.3×

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

0.3×0.3cm），在再生过程中有利于毛细血管的长入再建血循。Krasna采用全脾或脾大块移植，由于组织块过大，妨碍了毛细血管的长入与组织再生。陈氏[2]报告将犬脾切成薄片状自体网膜内移植获成功，再生脾组织具有吞噬清除功能。因此，我们认为，移植脾块的大小对能否成功有一定影响。犬脾组织自体移植，取1×1×0.2～0.5cm较适宜。

二、脾移植对PMN-CL的影响

化学发光（CL）是国外在近10余年内发展起来的用以测定PMN杀菌功能的一种方法[4]。应用CL方法检测切脾后PMN杀菌功能变化，尚未见报道。由于PMN的杀菌作用依赖细胞内氧自由基（O_2^-、-OH）的产生，直接测定PMN在呼吸爆发（RB）时释放氧自由基多寡的CL方法，能比较客观地反映PMN的杀菌功能。我们发现，切脾犬PMN-CL强度明显降低，而脾移植犬可接近正常水平，提示脾移植对PMN杀菌功能有一定的保护作用。

对于切脾后PMN-CL功能降低的确切机制尚不完全明了。本实验表明，切脾犬PMN体外细菌吞噬率明显降低，而脾移植犬则保持正常。由于PMN的吞噬功能降低，也必将影响PMN消化杀菌功能的发挥。因此，PMN-CL呈现下降。

三、移植脾组织内淋巴细胞和单核吞噬细胞数量变化及其意义

ANAE染色呈点状阳性反应是成熟T细胞的标志，弥漫性阳性反应属于单核吞噬细胞[5]。对ANAE染色检测T细胞的可靠性问题，许多作者曾作过研究，认为ANAE点状阳性反应主要存在于T细胞，ANAE可以作为T细胞的一种标记[5][7]。

我们发现移植脾的脾小体中T细胞比例与红髓中单核吞噬细胞数均较术前减少。脾脏红髓是吞噬滤过功能的主要部位，一些作者报道移植脾组织的吞噬功能降低[10]，推测与红髓中单核吞噬细胞的减少有一定关系。Millikan[8]报导1例自体脾组织移植5个月后死于OPSI（切脾后凶险性感染），尸检发现脾块内缺乏淋巴细胞。Livingston[9]报道自体脾组织移植后周围血T细胞减少。因此，对于脾移植后脾块与周围血淋巴细胞数量和功能的变化，应深入研究。

（本实验承我院病理科姚云泉、高广正，同位素科叶恒光、邓居有等医（技）师的协助，特此致谢。）

参考文献

1. Tavassoli M, et al. Studies on regeneration of heterotopic splenic autotransplants. Blood 1973; 41:701
2. 陈维佩，等。自体移植脾组织的吞噬清除功能的实验研究。中华外科杂志 1985; 23:182
3. Krasna IH, et al. Failure of autotransplantation of the spleen in dogs: an anatomic, radionuclide imaging, and pathologic study. J Pediatr Surg 1985; 20: 30
4. 董元林，等。白细胞化学发光的微量全血恒温测定法研究。中华微生物学和免疫学杂志 1986; 6:144
5. Mueller J, et al. Nonspecific acid esterase activity, a criterion for differentiation of T and B lymphocytes in mouse lymph nodes. Europ Immunol J 1975; 5:270
6. Armas R, et al. A simplified method of selective spleen scintigraphy with ^{99m}Tc-labelled erythrocytes. J Nucl Med 1980; 21:413
7. 黄威权，等。裸鼠淋巴细胞ANAE阳性率

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

的观察。第四军大学学报 1984; 5:276
8. Millikan JS, et al. Alternatives to splenectomy in the adults after trauma: repair, partial resection, and reimplantation of splenic tissue. Am J Surg 1982; 144: 711
9. Livingston CD, et al. Transplant site affects splenic T-and B- cell survival and function. Arch Surg 1985; 120:89
10. Malangoni MK, et al. splenic phagocytic function after partial splenectomy and splenic autotransplantation. Arch Surg 1985; 120:275

(收稿: 1988.2.3; 修回: 1988.6.1)

Studies on Partial Splenic Function after Splenic Pieces Autotransplantation in Dogs

Ke Heiyan and Wang Aochuan (Department of General Surgery, Xinqiao Hospital, Third Military Medical College)

24 dogs for experiments were divided into 3 groups: total splenectomy, sham-operation and splenic autologous transplantation (SAT). Results of the study showed that in dogs the SAT (each splenic piece size 1~0.5 cm) into the omental pouch did survive well, and restore a part of function. The function of neutrophil chemoluminescence and the phagocytosis rate of neutrophils, after splenectomy, in vitro, were lower than that of sham-operation group. The dogs of SAT could give some protective action, but the number of T-lymphocytes in splenic corpuscles and mononuclear phagocytes in splenic red pulps in regenerated splenic tissue were lower that of normal splenic tissue.

Key words: Splenectomy; Transplantation; Autologous

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net