

临床研究

DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2012.01.024

经颈动脉途径肝动脉插管及脾内注射肝细胞移植治疗急性肝衰大鼠的疗效比较

冯 渊,李德卫,杨晓波,陈 睿,杜文俊,樊 斌

(重庆医科大学附属第一医院肝胆暨肝移植外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:建立 SD 大鼠颈动脉途径肝动脉插管肝细胞移植的动物模型;探讨肝动脉与脾脏直接注射 2 种途径肝细胞移植治疗急性肝衰竭(Acute hepatic failure, AHF)大鼠的疗效。方法:经 D-氨基半乳糖(D-galactosamine, D-gal)诱导大鼠 AHF 24 h 后,65 只大鼠经颈动脉途径肝动脉插管,60 只成功后分为 3 组,Ⅰ组($n=20$)经脾脏直接注射约 2×10^7 个肝细胞、肝动脉注射 0.4 ml Hank's 液;Ⅱ组($n=20$)经脾脏直接注射 0.4 ml Hank's 液、肝动脉注射 2×10^7 个肝细胞;Ⅲ组($n=20$)经脾脏直接注射 0.4 ml Hank's 液、肝动脉注射 0.4 ml Hank's 液。观察每组大鼠的生存率及肝功能变化情况,追踪经肝动脉移植荧光示踪剂 CFDA SE 标记的肝细胞,HE 染色观察脾内肝细胞病理变化和免疫荧光观察白蛋白分泌作用。结果:Ⅰ组 14 d 存活率显著高于Ⅱ组($P=0.031, <0.05$),Ⅱ组 14 d 存活率也高于Ⅲ组($P=0.048, <0.005$);Ⅰ、Ⅱ组都能明显改善 AHF 大鼠的肝功能,尤其以Ⅰ组最为显著;Ⅱ组 CFDA SE 荧光标记的肝细胞肝动脉移植 24 h 后,受体大鼠肝脏可以看到散在绿色荧光分布;Ⅰ组移植 30 d 后,白蛋白共免疫荧光结果表明,脾内有肝细胞白蛋白绿色荧光信号;Ⅰ组移植 7 d 后,HE 染色可以看到肝细胞在脾脏红髓中簇集在一起并定植下来。结论:经大鼠颈动脉途径肝动脉插管肝细胞移植能提高 AHF 大鼠的存活率和改善其肝功能;脾脏直接注射肝细胞移植改善 AHF 大鼠生存率和肝功能更优于肝动脉途径。

【关键词】肝动脉插管;脾脏内移植;肝细胞移植

【中国图书分类法分类号】R332

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-11-09

Comparison of therapeutic effects between catheterization of hepatic artery via carotid route and intrasplenic injection for hepatocyte transplantation in acute hepatic failure rats

FENG Yuan, LI Dewei, YANG Xiaobo, CHEN Rui, DU Wenjun, FAN Bin

(Departments of Hepatobiliary Surgery & Liver Transplantation, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To establish the animal model of hepatocyte transplantation via hepatic artery in SD rats; to evaluate the treatment effects of hepatocyte transplantation by hepatic artery and intrasplenic injection in rats with acute hepatic failure. Methods: Acute hepatic failure (AHF) was induced by D-gal in SD rats. After 24 hours, a catheter was inserted into the hepatic artery in 65 rats with AHF. Then the 60 rats were randomly divided into 3 groups. Group I received 2×10^7 hepatocytes through intrasplenic injection and 0.4 ml Hank's solution was infused through hepatic artery; Group II received 0.4 ml Hank's solution through intrasplenic injection and 2×10^7 hepatocytes was infused through hepatic artery; Group III received 0.4 ml Hank's solution through intrasplenic injection and 0.4 ml Hank's solution through hepatic artery. Surviving rate was observed at 14 days and liver function was measured at different time points. The distribution of transplanted CFDA-SE-labeled hepatocytes through hepatic artery was observed. Secretion of albumin and liver histopathological change were observed in spleen by immunofluorescence and HE staining. Results: At 14 days, the survival of Group I rats was significantly higher than that of Group II rats ($P=0.031, <0.05$); the survival of Group II was significantly higher than that of Group III ($P=0.048, <0.05$). Hepatic function of Groups I and II had improved, especially of Group I. In Group II, 24 h after transplantation of CFDA-SE-labeled hepatocytes, scattered green fluorescence region was found under fluorescent microscopy. In Group I, at 30 days post-transplantation, immunofluorescent staining of albumin demonstrated some positive cells in spleen; at 7 days post-transplantation, transplanted hepatocytes was found in spleen. Conclusion: Hepatocyte transplantation through catheterization hepatic artery via carotid route can improve the survival of rats with AHF and ameliorate hepatic function, but intrasplenic injection is significantly superior to it.

作者介绍:冯 渊(1984-),男,硕士,

研究方向:肝细胞移植。

通信作者:李德卫,男,副教授, Email: lidewei406@sina.com.cn。

【Key words】catheterization hepatic artery; intrasplenic injection; hepatocyte transplantation

目前临床上常用介入治疗原发性肝癌,指经股动脉插管将抗癌药物或栓塞剂注入肝动脉的一种区域性局部化疗。有研究者经大鼠颈动脉途径肝动脉插管研究介入造影技术^[1],本实验通过大鼠颈动脉途径肝动脉插管研究肝动脉肝细胞移植,为临床肝动脉肝细胞移植研究提供一种新的动物模型。

1 材料和方法

1.1 动物和试剂

85 只 SD 大鼠,雌雄各半,体重 175~225 g,由重庆医科大学动物实验中心提供,饲养条件:20℃~25℃,充足的水和食物,12 h 昼夜交换。胶原酶 IV(美国 Sigma 公司),D-gal(重庆医科大学化学教研室),兔抗大鼠白蛋白单克隆抗体(美国 Abcam 公司),CFDA SE 荧光染料(上海碧云天生物公司),D-Hank's、Hank's 液(北京 Solarbio 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 肝细胞分离 20 只 SD 大鼠作为肝细胞移植的供体。肝细胞的分离是在 Seglen 改良两步法的基础上稍加改进^[2]。①通过门静脉插管灌注 D-Hank's 液。②换用含 0.05% 胶原酶 IV 的 Hank's 液灌注。将分离出的肝细胞制成细胞悬液,通过台盼蓝染色,观察肝细胞的活性。

1.2.2 肝细胞荧光标记 使用荧光染料 CFDA SE 对肝细胞进行荧光标记,通过荧光显微镜检测肝细胞的标记情况。

1.2.3 肝动脉插管^[3] 65 只 SD 大鼠经 D-gal(剂量为 0.7 g/kg)诱导 AHF 24 h 后,用 3% 水合氯醛腹腔麻醉,常规消毒铺巾,分别钝性分离左侧颈动脉和腹腔干,暴露腹腔干后,钝性分离腹腔干 3 个分支肝动脉、脾动脉、胃左动脉。用拉长硬膜外导管插入左侧颈动脉,进入腹腔干,用显微镊轻轻夹住腹主动脉,便于导管顺利进入腹腔干,使用细线固定导管。

1.2.4 肝细胞移植 临时阻断腹腔干的脾动脉、胃左动脉分支,保持腹腔干与肝动脉形成唯一通路。I 组($n=20$)脾尾直接注射 2×10^7 个肝细胞悬液、通过导管注射 0.4 ml Hank's 液;II 组($n=20$)脾尾直接注射 0.4 ml Hank's 液、通过导管注射 2×10^7 个肝细胞悬液;III 组($n=20$)脾尾直接注射 0.4 ml Hank's 液、通过导管注射 0.4 ml Hank's 液。毕后退出导管,结扎左侧颈动脉,2 min 后解除各血管梗阻(恢复脾动脉、胃左动脉畅通),缝合皮肤。

1.3 观察指标

1.3.1 分离肝细胞存活情况和荧光染色 使用台盼蓝染色观察分离肝细胞存活情况和荧光显微镜观察荧光染色 CFDA SE 标记的肝细胞染色情况。

1.3.2 大鼠存活情况 观察 14 d 内 3 组 AHF 大鼠存活情况。

1.3.3 肝功能检测 各组大鼠分别在术后 1、3、7、14 d 经尾静脉采血,大鼠死亡后立即经心脏采血。用赖氏法检测谷丙转氨酶(Alanine amino transferase, ALT)和溴甲酚绿法检测胆总红素(Total bilirubin, TBIL)。

1.3.4 荧光标记检测 在移植术后 24 h,取下 II 组荧光标记受体大鼠的肝脏送快速冰冻,6 μm 厚度连续切片。用 60% 甘

油封片后,通过荧光显微镜观察移植肝细胞在肝脏内的分布情况。

1.3.5 白蛋白免疫荧光检测 ①取下脾脏组织送快速冰冻,6 μm 厚度连续切片。②冻冰切片组织 4% 多聚甲醛固定,室温下解冻 15~30 min。③室温下 PBS 水化组织 2 次,每次 10 min。④3% BSA 封闭,室温,30 min。⑤加入 I 抗兔抗大鼠白蛋白单克隆抗体孵育 2 h,避光。⑥室温下 PBS 水化组织 2 次,每次 10 min,避光,风干。⑦60% 甘油封片,共聚焦荧光显微镜观察荧光信号。

1.3.6 组织学检测 取下各组大鼠脾脏和肝脏经 4% 多聚甲醛固定 24 h 后,石蜡包埋、切片,HE 染色观察脾脏、肝脏内移植肝细胞分布情况。

1.4 统计学分析

计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,3 组 14 d 生存率比较采用 χ^2 检验,检验水准 $\alpha=0.05$,3 组之间两两比较时 $\alpha' = \frac{\alpha}{k(k-1)/2}$

用校正检验水准;ALT 和 TBIL 水平差异采用方差分析且用 SNK 检验进行两两对比。所有数据均采用 SPSS 17.0 统计分析软件分析。

2 结果

2.1 肝动脉插管观察

经颈动脉途径肝动脉插管成功后,通过导管注射亚甲基蓝溶液,肝脏显蓝色,脾脏和胃未显色(图 2、3)。

2.2 肝细胞分离及荧光标记

肝细胞成功分离为单个细胞,台盼蓝染色活力为 85%~95%,存活的肝细胞显透亮不被台盼蓝染色,而细胞壁破坏的肝细胞则易被染成蓝色(图 4)。肝细胞使用荧光 CFDA SE 标记后显绿荧光(图 5)。

2.3 大鼠存活情况

经颈动脉途径肝动脉插管大鼠成功 60 只,死亡 5 只,成功率约 92%。14 d I、II、III 组大鼠存活率分别为:90%(18/20)、55%(11/20)、20%(4/20)。I 组大鼠 14 d 存活率较 II 组明显提高($P=0.0132$, <0.0167);而 I 组与 III 组有显著差异($P<0.0001$);II 组和 III 组大鼠 14 d 生存率也有显著差异($P=0.0122$, <0.0167)。I、II、III 组 14 d 生存率对比发现,移植

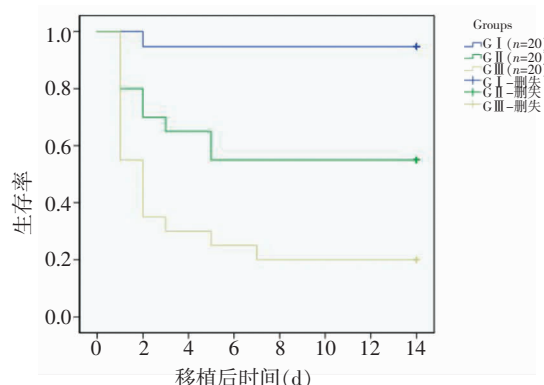


图 1 AHF 大鼠 14 d 生存曲线

Fig.1 Survival curves of AHF rats in 14 days

术后前 3 d 是大鼠死亡高峰期。I、II、III 组平均生存时间分别是 13.37、8.75、4.40。生存分析的 $\log\text{-rank}$ 检验 $\chi^2=23.628$, $P<0.05$ (图 1)。

2.4 肝功能检测

移植前肝功能 ALT、TBiL 明显升高,移植术后 1 d 3 组大鼠的 ALT 和 TBiL 比较无显著差异($P>0.05$)。对比术后 3、7 d 肝功能发现, I 组大鼠的 ALT 和 TBiL 水平与 II 组、III 组均有显著差异($P<0.05$)。II 组大鼠的 ALT 和 TBiL 水平与 III 组也有显著差异($P<0.05$)。14 d 以后, 3 组存活大鼠肝功能基本恢复正常(表 1、2)。

2.5 组织荧光标记

II 组大鼠移植术后 24 h, 肝脏快速冰冻切片通过荧光显微镜观察, 发现肝脏内有散在绿色荧光标记的肝细胞(图 6)。

2.6 白蛋白免疫荧光检测

I 组大鼠移植术后 30 d, 白蛋白免疫荧光发现大量的绿色荧光信号, 表明移植的肝细胞在脾脏内具有分泌白蛋白的功能(图 7)。

2.7 组织学检测

光镜下, I 组大鼠移植术后 7 d, 脾脏红髓中发现许多胞浆较红的肝细胞, 胞浆丰富, 圆形或椭圆形核位于中央, 还可见双核, 核膜清楚, 核仁 1、2 个。一些肝细胞簇集在一起, 3、4

个肝细胞形成细胞群, 在脾脏红髓内定植下来(图 8)。II 组移植术后 7 d 肝脏 HE 染色观察肝脏结构排列规则, 无法辨别经颈动脉途径肝动脉移植入肝脏内的肝细胞(图 9)。

3 讨论

目前肝细胞移植也是治疗急性肝衰竭的方法之一, 可以帮助病人度过急性肝衰期, 等待肝移植或肝脏的再生^[3-5]。Gábelein G 等研究认为, 肝细胞移植的部位和时机具有重要的作用^[6]。肝细胞移植的部位较多, 其中最为成熟的部位有肝脏和脾脏^[7], 对于 AHF 的治疗哪个部位更适合呢?

本实验建立 SD 大鼠颈动脉途径肝动脉插管肝细胞移植的动物模型, 肝动脉插管成功后, 通过导管注射亚甲基蓝溶液后, 肝脏显蓝色, 而脾脏和胃未显色, 证实肝动脉插管成功。该途径成功率较高, 成功率约 92%, 易于操作, 重复性好。D-gal 诱导大鼠 AHF 后, 通过肝动脉移植 CFDA SE 荧光标记的肝细胞, 24 h 后在肝脏内发现绿色荧光信号, 表明经大鼠颈动脉途径肝动脉插管移植的肝细胞成功到达肝脏。II 组移植术后 7 d 肝脏 HE 染色无法辨别经颈动脉途径肝动脉插管植入肝脏内的肝细胞, 可能与移植的肝细胞整合入正常肝窦里有关。II 组(55%)与 III 组(20%)14 d 存活率有显著差异,

表 1 移植后 SD 大鼠肝功能 ALT 变化情况 (IU/L)

Tab. 1 Changes of the serum ALT level in AHF rats after transplantation (IU/L)

组别	正常	移植后 0 d	移植后 1 d	移植后 3 d	移植后 7 d	14 d
第 I 组 (n=4)	31.5 ± 11.6	1 238.5 ± 196.3	1 100.7 ± 101.7	618.2 ± 91.5*	152.0 ± 46.6*	34.7 ± 19.0
第 II 组 (n=4)	38.5 ± 17.6	1 337.2 ± 136.2	1 250.7 ± 108.1	878.0 ± 115.0*	299.5 ± 50.3*	33.5 ± 9.1
第 III 组 (n=4)	32.5 ± 9.2	1 272.1 ± 154.9	1 356.7 ± 187.1	1 268.7 ± 172.6*	457.7 ± 101.5*	49.5 ± 22.6

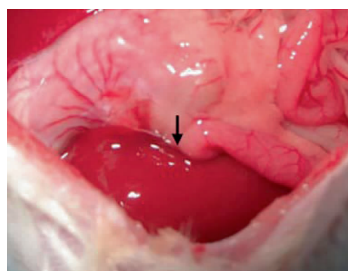
注: 移植术后 1 d, 3 组大鼠肝功能 ALT 两两比较无显著差异, $P=0.076$; * 移植术后 3、7 d, 3 组 ALT 两两比较显著差异, $P=0.002$ 、 $P=0.001$; 移植术后 14 d 3 组大鼠肝功能基本恢复正常, $P=0.48$

表 2 移植后 SD 大鼠肝功能 TBiL 变化情况 ($\mu\text{mol/L}$)

Tab.2 Changes of the serum TBiL level in AHF rats after transplantation ($\mu\text{mol/L}$)

组别	正常	移植后 0 d	移植后 1 d	移植后 3 d	移植后 7 d	移植后 14 d
第 I 组 (n=4)	6.7 ± 2.31	78.6 ± 12.8	67.0 ± 13.1	50.3 ± 6.6*	23.9 ± 4.4*	15.3 ± 5.8
第 II 组 (n=4)	10.9 ± 5.4	69.6 ± 20.3	69.9 ± 13.1	68.4 ± 8.8*	39.8 ± 7.6*	19.9 ± 6.7
第 III 组 (n=4)	11.5 ± 4.7	83.6 ± 9.9	76.3 ± 12.5	86.1 ± 7.5*	60.8 ± 8.7*	23.6 ± 6.8

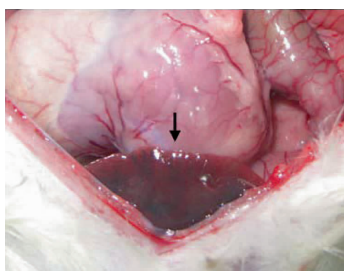
注: 移植术后 1 d, 3 组大鼠肝功能 TBiL 两两比较无显著差异, $P=0.556$; * 移植术后 3、7 d, 3 组 TBiL 两两比较显著差异, $P<0.05$; 移植术后 14 d, 3 组大鼠肝功能基本恢复正常, $P=0.48$



未注射亚甲基蓝溶液肝脏颜色

图 2 正常肝脏图片

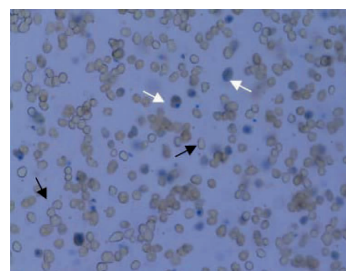
Fig.2 The picture of normal liver



经颈动脉途径肝动脉插管成功注射亚甲基蓝后, 肝脏显蓝色

图 3 肝动脉插管图片

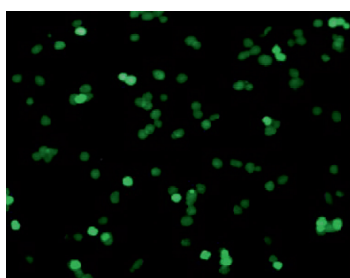
Fig.3 The picture of liver with catheterization



黑色箭头表示存活肝细胞, 白色箭头表示死亡肝细胞, 台盼蓝染色 ($\times 100$)

图 4 肝细胞活性检测

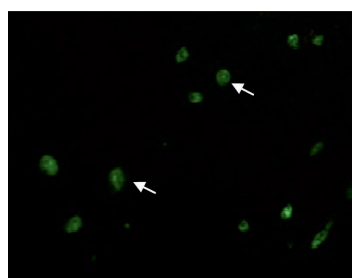
Fig.4 Live of hepatocytes



肝细胞经 CFDA-SE 荧光染色后显绿色荧光 (×100)

图 5 肝细胞荧光染色

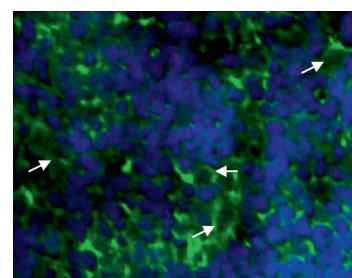
Fig.5 CFDA-SE-labeled hepatocytes



经肝动脉移植术后 24 h 肝脏内发现 CFDA-SE 荧光标记的肝细胞 (×200)

图 6 肝细胞免疫荧光标记

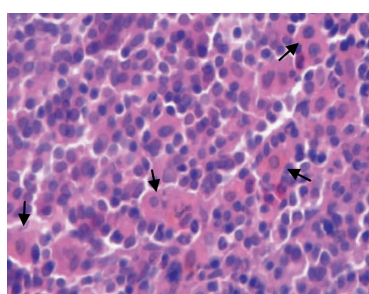
Fig.6 Immuno-fluorescent of CFDA-SE-labeled hepatocytes



术后 30 d, 肝细胞白蛋白免疫荧光 (箭头表示绿色荧光白蛋白 ×400)

图 7 白蛋白免疫荧光

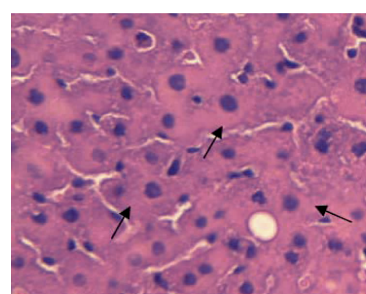
Fig.7 Immuno-fluorescent staining of albumin



移植术后 7 d 肝细胞在脾脏内定植 (箭头表示肝细胞, HE ×400)

图 8 脾脏 HE 染色

Fig.8 HE-Staining of spleen



经颈动脉途径肝动脉插管移植术后第 7 天肝脏 HE 染色 (箭头所指为肝脏内肝细胞,无法观察辨别移植入的肝细胞 HE ×400)

图 9 肝脏 HE 染色

Fig.9 HE-Staining of liver

表明经肝动脉插管移植肝细胞能提高 AHF 大鼠生存率。术后 3、7 d, II 组大鼠的 ALT 和 TBiL 水平与 III 组有显著差异,表明肝动脉肝细胞移植能明显改善 AHF 大鼠的肝功能。I 组 (90%) 大鼠 14 d 生存率较 II 组 (55%) 明显提高;术后 3、7 d, I 组大鼠的 ALT 和 TBiL 水平与 II 组、III 组有显著差异;I 组 7 d HE 染色内能发现肝细胞在脾脏内定植下来;移植术后 30 d 肝细胞白蛋白免疫荧光有绿色阳性表达,以上结果均能证实脾脏直接注射法肝细胞移植能改善 AHF 大鼠肝功能和提高生存率,同时治疗 AHF 方面更优于肝动脉途径。

肝脏具有基底膜矩阵支架结构的微环境,能维持肝细胞的功能和肝细胞的分化能力^[8];肝脏能分泌一些细胞因子(如:肝细胞生长因子),促进肝细胞的生长和增殖^[9,10];肝脏具有细胞与细胞之间相互作用的非实质细胞,对维持肝细胞功能发挥巨大作用^[8]。从生理环境和细胞环境来说,肝脏是肝细胞移植最理想的植入途径^[11]。临床上经介入肝动脉肝细胞移植具有操作简单易行,安全可靠;只需局麻,患者保持清醒;可重复多次使用;费用相对较低等优点。然而 D-gal 诱导大鼠 AHF 后,肝脏内的肝细胞呈一次性大面积坏死,伴存活肝细胞严重变性,肝窦网状支架塌陷或非完全性塌陷;坏死组织释放各种酶及细胞内容物导致局部炎症反应;同时正常肝细胞释放过量的细胞因子和炎症介质进一步破坏溶解肝细胞,最终导致肝脏内环境紊乱。此时通过肝动脉肝细胞移植治疗 AHF 的大鼠,移植后的肝细胞在肝脏内受到病理微环境的影响,只有少量的肝细胞能幸存下来,发挥功能作用。

脾脏是肝细胞移植运用较多部位之一^[7]。脾脏与肝脏结构相似,有利于移植的肝细胞着床;脾脏丰富血供和临近门脉系统也为肝细胞长期存活与增殖提供了有利的条件。大量研究证实脾脏内移植的肝细胞能合成糖原和分泌白蛋白等功能,并在一定时间内具有增殖能力^[12]。D-gal 诱导的大鼠 AHF 主要机理与肝脏细胞膜的完整性、谷胱甘肽耗竭及肿瘤坏死因子等因素有关^[13]。对脾脏影响较小,脾脏内移植的肝细胞受到 AHF 影响较小,能在脾脏内发挥其功能作用。所以脾脏内肝细胞移植治疗 AHF 大鼠更优于肝动脉途径。

综上所述,本实验成功建立经大鼠颈动脉途径肝动脉插管肝细胞移植的动物模型,为临床研究肝动脉肝细胞移植提供了一种新的动物模型;该途径能改善 AHF 大鼠的肝功能和生存率;脾脏直接注射法肝细胞移植在改善 AHF 大鼠的肝功能和生存率方面更优于肝动脉途径。但本实验仅仅对比两种途径改善肝功能和生存率的情况,而对肝动脉移植的肝细胞在体内分布和在肝脏内生存情况未做进一步研究,这也是我们下一步研究的方向。

参 考 文 献

- [1] 李 肖,官泳松,周翔平,等.经颈动脉途径大鼠肝动脉插管及造影技术[J].中国比较医学杂志,2005,15(3):167-169.
- Li X, Guan Y S, Zhou X P, et al. The catheterization and angiography of hepatic artery via carotid route in sprague-Dawley Rats[J]. Chinese Jour-

nal of Comparative Medicine, 2005, 15(3): 167-169.

[2] Seglen P O. Preparation of isolated rat liver cells[J]. Methods Cell Biol, 1976, 13: 29-83.

[3] Puppi J, Dhawan A. Human hepatocyte transplantation overview[R]. Methods Mol Biol, 2009, 48(1): 1-16.

[4] Fisher R A, Strom S C. Human hepatocyte transplantation: worldwide results[J]. Transplantation, 2006, 82(4): 441-449.

[5] Mazaris E M, Roussos C T, Papalois V E. Hepatocyte transplantation: a review of worldwide clinical developments and experiences[R]. Exp Clin Transplant, 2005, 3(1): 306-315.

[6] Gäbelein G, Nüssler A K, Morgott F, et al. Intrasplenic or subperitoneal hepatocyte transplantation to increase survival after surgically induced hepatic failure[J]. Eur Surg Res, 2008, 41(3): 253-259.

[7] Cubero F J, Maganto P, Mula N, et al. Functional response of hepatocytes transplanted into guinea rats stimulated with Thyroid Hormone[J]. Dig Dis Sci, 2007, 52(1): 210-216.

[8] Yamamoto T, Navarro-Alvarez N, Soto-Gutierrez A, et al. Treatment of acute liver failure in mice by hepatocyte xenotransplantation[J]. Cell Transplant, 2010, 19(6): 799-806.

[9] Chen Y, Kobayashi N, Suzuki S, et al. Transplantation of human

hepatocytes cultured with deleted variant of hepatocyte growth factor prolongs the survival of mice with acute liver failure[J]. Transplantation, 2005, 79(10): 1378-1385.

[10] Soto-Gutierrez A, Navarro-Alvarez N, Rivas-Carrillo J D, et al. Differentiation of human embryonic stem cells to hepatocytes using deleted variant of HGF and poly-amino-urethane-coated nonwoven polytetrafluoroethylene fabric[J]. Cell Transplant, 2006, 15(4): 335-341.

[11] Rozga J, Holzman M, Moscioni A D, et al. Repeated intraportal hepatocyte transplantation in albuminemic rats[J]. Cell Transplant, 1995, 4(2): 237-243.

[12] David P, Alexandre E, Chenard-Neu M P, et al. Engraftment and function of freshly isolated and cryopreserved sprague dawley rat hepatocytes after intrasplenic transplantation in albuminemic rats[J]. Transplantation Proceedings, 2000, 32(8): 2796-2797.

[13] 李宏涛, 陈国民. D-氨基半乳糖研究的回顾和展望[J]. 肝脏, 2004, 9(3): 209-210.

Li H T, Chen G M. Review and prospect of D-galactosamine research[J]. Chinese Hepatology, 2004, 9(3): 209-210.

(责任编辑: 关蕴良)

(上接第 74 页)

1.3 辅助检查

某医院查: 心脏彩超示左房增大、主动脉瓣少量返流、左室舒张功能降低。胸部 CT 平扫未见明显异常, 肝脏 CT 示肝右叶后下段钙化灶。颅脑 CT 示双侧基底节区少许腔隙性梗塞。骨髓检查示粒红巨三系无明显异常。心脏彩超示左房增大, 三尖瓣轻度返流。肝活检示肝细胞浊肿变性, 汇管区周围肝细胞碎屑样坏死, 汇管区及局部肝细胞间慢性炎症细胞浸润。2010 年 9 月 2 日右侧腹股沟淋巴结活检示反应性增生。

我院检查: 血常规: RBC 4×10^{12} 个/L, HGB 112 g/L, WBC: 5.08×10^9 个/L, PLT 76×10^9 个/L, N 72%, PCT 0.16 ng/L, ESR 77 mm/h, 抗核抗体示 ANA+1:100 胞浆型。CRP 37.7 mg/L。蛋白电泳示 ALB 40.62% (正常值为 57~70)、ALPHA-1 为 6.3% (正常值为 1~5)、ALPHA-2 为 10.2% (正常值为 4~9)、BETA 为 10.1% (正常值为 7~13)、GAMMA 32.7% (正常值为 10~22)。甲状腺功能、甲状腺球蛋白及过氧化物酶蛋白抗体、结核抗体、抗 O、RF、癌谱均阴性。狼疮细胞(-), HIV、丙肝、梅毒阴性。肝功示 ALB 29 g/L, TB/DB 8.2/3.0 mmol/L, AST/ALT 102/35 U/L。骨髓检查示增生性骨髓象, 骨髓培养无致病菌生长。

2 讨论

发热待查是内科学目前常见疾病^[1], 感染性疾病最为常见 (50%), 结缔组织疾病次之 (20%~30%), 肿瘤性疾病也占了 10%~20%, 另外, 还有 10% 左右的病人未能查找到发热原因^[2]。该患者在外院诊治过程中考虑了细菌感染及特殊感染 (结核) 的可能, 但抗感染及抗结核治疗无效提示其可能性小; 患者做了类似全身检查未查找到肿瘤证据, 同时其甲状腺功能、甲状腺球蛋白等正常, 考虑亚甲炎可能性也不大。另外,

外周血象、骨髓检查不支持血液系统疾病。但在整个诊治过程中, 对患者除了反复发热外, 近 1 年来还存在反复肝功能的轻度异常这一点却忽略了。患者 1 年前曾发现肝功能无诱因出现反复轻度异常, 且甲乙丙戊肝标志物皆阴性, 这次发热后又发现肝功能轻度异常, 蛋白电泳异常, 肝穿活检示“肝细胞浊肿变性, 汇管区周围肝细胞碎屑样坏死, 汇管区及局部肝细胞间慢性炎症细胞浸润”。体检发现肝肋下 0.5 cm, 质硬。参照 AASLD 修订的自身免疫性肝炎评分标准, 该患者评分 18 分, 认为患者自身免疫性肝病诊断可能, 且其 ANA (+), 故考虑患者发热原因由自身免疫性疾病所致可能性大。入院后, 基于以上分析, 考虑患者发热原因不明, 在外院用抗感染、抗结核治疗皆无效, 且肝功受损, 故皆停用。考虑患者自身免疫性疾病可能性大, 开始用激素 (强的松 30 mg qd 治疗), 患者体温于 3 d 左右降至正常, 以后未再反弹。药物治疗有效支持该诊断。

所以, 发热待查病人查找病因是一个非常复杂的过程。需要仔细的病史询问、细致的体格检查 (包括仔细进行肝脏触诊)、充分的辅助检查以及必要时进行有创检查才可能得到确诊。另外, 对于诊断不明的死亡病例应尽可能取得家属同意进行尸检, 以提高我们对疾病的认识水平。

参 考 文 献

[1] Petersdorf R G, Beeson P B. Fever of unexplained origin: report on 100 cases[J]. Medicine (Baltimore), 1961, 40: 1-30.

[2] Haslett C, Chilvers E R, Hunter J A, et al. Davidson's Principles and Practice of Medicine[M]. 18th ed. London: Churchill, 1999: 66.

(责任编辑: 冉明会)