

主编 杨 镇



我国在门静脉高压症的外科治疗方面取得了举世公认的成绩，积累了丰富的经验，并涌现出许多新的理论和技术。本书是在我国外科学泰斗裘法祖院士亲自指导下完成的，具有较高的学术水平和临床实用价值。

门静脉高压症 的最新外科治疗

MENJINGMAI GAOYAZHENG
DE ZUIXIN WAIKE ZHILIAO



山东科学技术出版社
www.lkj.com.cn



门静脉高压症 的最新外科治疗

我国在门静脉高压症的外科治疗方面取得了举世公认的成绩，积累了丰富的经验，并涌现出许多新的理论和技术。本书是在我国外科学泰斗裘法祖院士亲自指导下完成的，具有较高的学术水平和临床实用价值。



山东科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

门静脉高压症的最新外科治疗/杨镇主编. — 济南:
山东科学技术出版社, 2005.1

ISBN 7-5331-3772-8

I. 门... II. 杨... III. 门脉高血压-外科-治疗
学 IV. R657.305

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 074646 号

门静脉高压症的最新外科治疗

主编 杨 镇

出版者: 山东科学技术出版社

地址: 济南市玉函路 16 号

邮编: 250002 电话: (0531)2098088

网址: www.lkj.com.cn

电子邮件: sdkj@jn-public.sd.cninfo.net

发行者: 山东科学技术出版社

地址: 济南市玉函路 16 号

邮编: 250002 电话: (0531)2098071

印刷者: 山东新华印刷厂临沂厂

地址: 临沂市解放路 76 号

邮编: 276002 电话: (0539)2925888

开本: 787mm×1092mm 1/16

印张: 33

插页: 10

字数: 740 千

版次: 2005 年 1 月第 1 版第 1 次印刷

印数: 1-3000

ISBN 7-5331-3772-8

定价: 80.00 元

编写人员 (按姓氏笔画排序)

- | | |
|-----|-------------------|
| 马庆久 | 第四军医大学唐都医院 |
| 王 宇 | 首都医科大学附属北京友谊医院 |
| 王维民 | 北京大学第一医院 |
| 冯敢生 | 华中科技大学同济医学院附属协和医院 |
| 朱文珍 | 华中科技大学同济医学院附属同济医院 |
| 刘于宝 | 华中科技大学同济医学院附属同济医院 |
| 许戈良 | 安徽省立医院 |
| 许瑞云 | 中山医科大学附属第三医院 |
| 孙 政 | 华中科技大学同济医学院附属同济医院 |
| 杨 镇 | 华中科技大学同济医学院附属同济医院 |
| 杨春明 | 大连医科大学附属二院 |
| 李 涛 | 华中科技大学同济医学院附属同济医院 |
| 李大鹏 | 上海第一人民医院 |
| 李开艳 | 华中科技大学同济医学院附属同济医院 |
| 李世拥 | 北京军区总医院 |
| 李宏为 | 上海第二医科大学瑞金医院 |
| 时 德 | 重庆医科大学附属第一医院 |
| 李崇健 | 华中科技大学同济医学院附属同济医院 |
| 吴志勇 | 上海第二医科大学附属仁济医院 |
| 李海洋 | 贵阳医学院附属医院 |
| 吴性江 | 南京军区南京总医院普通外科研究所 |

- 何振平 第三军医大学附属西南医院肝胆外科中心
张忠涛 首都医科大学附属北京友谊医院
陈汝福 中山大学附属第二医院
陈积圣 中山大学附属第二医院
胡国栋 华中科技大学同济医学院附属同济医院
胡虞乾 桂林市广西区南溪山医院
金咸琰 华中科技大学同济医学院
周永贵 华中科技大学同济医学院附属同济医院
周光文 上海第二医科大学瑞金医院
高德明 第四军医大学唐都医院
曹 苇 苏州大学附属第一医院
黄銓庭 北京大学第一医院
曾 军 华中科技大学同济医学院附属同济医院
裘法祖 华中科技大学同济医学院附属同济医院
颜志平 复旦大学附属中山医院
编写秘书 孙 政

前 言

当前多种原因引起的门静脉高压症仍然是严重威胁我国人民生命健康的常见病、多发病,这也是普外科领域最难治疗的疾病之一。肝硬化病人病情重,体质差,手术风险大,术后并发症多,外科医生要付出极大的努力才能成功地治愈每一个病人。我国在门静脉高压症的外科治疗方面取得了举世公认的成绩,积累了丰富的经验,并涌现出许多新的理论和技术。

我们撰写“门静脉高压症最新外科治疗”的专著,就是为了总结经验,交流思想,进一步提高我国门静脉高压症外科治疗的水平,更好地为广大病人服务。

国内已有多部高水平的关于门静脉高压症的专著。相比之下本书并不强调系统性和完整性,而是将重点放在内容新颖、实用方面,使本书有较高的学术水平和临床实用价值。这就要求各位作者一方面能介绍最新进展,另一方面要结合自己的医疗实践,提出自己的心得体会和独特见解。我们衷心期望本书能对广大读者有所启发和裨益。

本书内容极其丰富,主要包括以下方面:①首先讨论门静脉高压症的基础理论研究,包括动物模型的制作,血流动力学和病理生理学变化,肝硬化的病理学研究等。只有深刻阐明了门静脉高压症的发病机制,才能为外科治疗提供科学依据。②B超、CT、MRI等影像学内容不仅是诊断工具,而且可用于研究门静脉高压症的发病机制,判断病情,制定合理的治疗方案。另外,介入治疗属于微创外科,在门静脉高压症的治疗中占有重要地位。③介绍手术治疗是本书的重点。门静脉高压症的病因不同,病

情也千变万化,所以应该采取具体问题具体分析个体化治疗策略。在众多的手术方式中,裘法祖院士首创的贲门周围血管离断术最符合我国的国情,实践证明,这是国内治疗门静脉高压症的最佳术式。各种分流术、分流加断流的联合手术、腹腔镜手术等也有成功的经验,对某些病例也是有效的治疗措施。④肝硬化门静脉高压症应采用综合性治疗,包括药物、内镜治疗等。顽固性腹水、肝肺综合征、肝肾衰竭等并发症的治疗也不容忽视。⑤肝移植是治疗门静脉高压症的方向之一,但关于其手术适应证、手术时机等问题有待取得共识。⑥门静脉高压症外科治疗的围手术期处理十分重要,术后再出血的处理也极其复杂,应引起高度重视。⑦晚期血吸虫病是引起门静脉高压症的重要原因之一,在我国南方仍有较高的发病率,本书对该病有详细的介绍。⑧为了科学地总结临床经验,门静脉高压症的外科治疗离不开循证医学和临床流行病学的指导,应该开展前瞻性随机对照研究,使我国丰富的临床科研成果达到国际先进水平。

本书是在我国外科学的泰斗、门静脉高压症的创始人裘法祖院士的直接指示和热情鼓励下完成的。裘老一系列创新的理论和丰富的实践是我国外科界的宝贵财富,具有极其深远的历史价值和现实意义。

参加本书编写的有许多德高望重的老专家,也有许多年富力强的中青年精英,大家高度负责,忘我工作,使本书得以顺利完成。山东科技出版社的编辑为出版本书作了大量贡献,在此表示衷心感谢!

鉴于我们学识和水平有限,在内容和撰写方面存在不少缺点和疏漏,盼请广大读者批评指正。

杨 镇

目 录

第一章 肝纤维化动物模型	1
第二章 门静脉高压症的病因	14
第三章 门静脉高压症的发病机制	21
第一节 门静脉血流阻力增加	21
第二节 高动力循环	30
第四章 门静脉高压症血流动力学研究	43
第一节 正常门静脉系统血管及血流动力学状态	43
第二节 门静脉高压时的血流动力学变化	45
第三节 前向学说及后向学说	47
第四节 门静脉高压过程中相关的血管活性物质	52
第五节 门静脉高压症血流动力学与临床	58
第五章 门静脉高压性血管病变研究进展	65
第一节 门静脉高压性血管病变的病理	65
第二节 门静脉高压性血管病变的机理	70
第六章 门静脉高压症时肝功能储备的评估	78
第一节 肝脏生理和肝功能的检测	78
第二节 肝功能的总体评价	88
第三节 肝脏储备功能与肝脏手术的关系	90
第七章 肝硬化病理学及发病机制	101
第一节 肝硬化病因	101
第二节 肝硬化病理改变	104
第三节 肝纤维化发生机制	110
第八章 肝肺综合征	119
第九章 肝肺综合征的诊断与治疗	127
第十章 门静脉高压症异位静脉曲张	135
第十一章 门静脉高压性胃病	146
第一节 概述	146
第二节 临床表现	147
第三节 诊断与鉴别诊断	148
第四节 治疗原则与具体措施	149

第十二章	门静脉高压性胃病和胃曲张静脉出血的诊断与治疗	152
第十三章	门静脉高压症的超声诊断	160
第一节	实时超声检查	160
第二节	彩色多普勒超声检查	164
第十四章	门静脉高压症的影像学诊断	169
第一节	肝硬化门静脉高压症的 CT 诊断	169
第二节	门静脉高压症的 MRI 诊断	173
第三节	门静脉高压症的血管造影诊断	173
第四节	门静脉高压的血管造影表现	178
第十五章	门静脉高压症的介入治疗	180
第一节	脾动脉栓塞术	180
第二节	经颈静脉肝内门体支架分流术	183
第三节	经皮肝穿刺胃冠状静脉栓塞术	187
第四节	球囊导管逆行静脉栓塞术	188
第五节	其他辅助疗法	189
第十六章	肝硬化门静脉高压症的介入断流术治疗	191
第十七章	影像学诊断在门静脉高压症中的应用	202
第一节	门静脉高压症的影像学检查方法	202
第二节	门静脉高压症的影像学表现	205
第三节	影像学对门静脉高压症手术效果的评价	217
第十八章	门静脉高压症食管胃底曲张静脉的内镜诊断与鉴别诊断	219
第一节	正常消化道的解剖和内镜下表现	219
第二节	门静脉高压症的消化道内镜诊断	221
第三节	门静脉高压症食管胃底静脉曲张的鉴别诊断	224
第十九章	门静脉高压症手术术式选择的基本原则	230
第二十章	经颈内静脉肝内门体分流术	240
第一节	TIPS 技术发展的历史	240
第二节	器械和设备	241
第三节	手术步骤	243
第四节	TIPS 围手术期处理	244
第五节	TIPS 的适应证、禁忌证	246
第六节	手术并发症及其处理	248
第二十一章	肝硬化腹水的外科治疗	255
第一节	肝硬化腹水的治疗	255
第二节	顽固性腹水的治疗	257
第三节	肝肾综合征	258
第四节	原发性细菌性腹膜炎	260
第二十二章	经皮穿刺胃食道曲张静脉栓塞术治疗门静脉高压症	263
第二十三章	门体静脉分流术	273
第一节	全门体分流术	273

第二节 选择性门体分流术	286
第三节 个体化门静脉分流术	293
第二十四章 门腔静脉 H 型人造血管分流术	301
第一节 概述	301
第二节 PCHG 的手术指征	302
第三节 PCHG 的手术方法	303
第四节 PCHG 的常见并发症及处理	306
第二十五章 限制性门腔静脉侧侧分流术	308
第二十六章 分流加断流的联合手术	316
第一节 分流加断流联合手术的形成和发展	316
第二节 联合手术的理论基础	317
第三节 联合手术的适应证与术前准备	318
第四节 联合手术的种类和手术要点	319
第五节 脾切除脾肾静脉分流加贲门周围血管离断术	320
第二十七章 脾肾分流加断流联合术的理论价值	322
第一节 门静脉高压症血流动力学的变化	323
第二节 脾肾分流加断流联合术的理论与实践	327
第三节 脾肾分流加断流联合术的评价	333
第二十八章 保留拉氏神经的贲门周围血管离断术	338
第二十九章 经胸门奇静脉断流术	342
第一节 经胸门奇静脉断流术的外科解剖学基础	342
第二节 经胸门奇静脉断流术	345
第三节 经胸门奇静脉断流术的评价	349
第三十章 手助腹腔镜下门静脉高压症巨脾切除术	353
第三十一章 自体脾移植联合食管横断吻合术治疗肝硬化门静脉高压症	358
第三十二章 门静脉高压症治疗效果的荟萃分析	367
第一节 曲张静脉破裂出血的发生率	367
第二节 如何预防首次急性大出血	367
第三节 预防复发性曲张静脉破裂出血	369
第四节 急性曲张静脉破裂大出血和早期曲张静脉再出血的治疗	370
第三十三章 门静脉高压症食管胃底曲张静脉破裂出血的外科治疗	378
第一节 曲张静脉破裂出血的发病率及预示出血的高危因素	378
第二节 预防首次曲张静脉破裂大出血	379
第三节 急性大出血的抢救性治疗	380
第四节 预防再次曲张静脉破裂出血	383
第五节 食管胃底曲张静脉破裂大出血的急症处理	384
第六节 门脉高压症的外科手术治疗	386
第七节 门脉高压症外科治疗中应重视的几个问题	398
第三十四章 门奇静脉断流术	404
第一节 概述及理论依据	404
第二节 胃底贲门区的解剖生理特点及与贲门周围血管离断术的关系	407

第三节 门奇静脉断流术的评价	412
第四节 联合断流术手术	416
第五节 分流加断流联合手术治疗门静脉高压症	420
第六节 断流术的现状与展望	422
第七节 选择性贲门周围血管离断术	425
第三十五章 贲门周围血管离断术	431
第一节 概况	431
第二节 手术步骤	433
第三节 手术后处理	441
第四节 手术后并发症、预防与处理	442
第五节 手术的经验与有关问题讨论	444
第三十六章 晚期血吸虫病的外科治疗	447
第一节 晚期血吸虫病的病理生理改变	447
第二节 晚期血吸虫病的合并症	451
第三节 晚期血吸虫病的外科治疗	452
第四节 晚期血吸虫病的诊疗常规	457
第五节 晚期血吸虫病治疗效果的评定标准	459
第三十七章 肝外型门脉高压症的诊治	462
第三十八章 门静脉系统血栓的诊治	466
第三十九章 门静脉高压症术后并发症的外科治疗	471
第一节 术后腹腔内出血	471
第二节 术后发热	472
第三节 术后膈下脓肿	473
第四节 术后再出血	474
第五节 术后肝性脑病	477
第六节 术后腹水	479
第七节 术后门静脉系统血栓形成	480
第八节 术后消化系统并发症	482
第九节 术后呼吸系统并发症	484
第四十章 门静脉高压症术后再手术	487
第一节 门静脉高压症术后再出血的手术治疗	487
第二节 手术后继发性腹腔大出血	494
第三节 手术后严重感染	498
第四节 食管、胃狭窄和胃排空障碍	498
第五节 手术后消化道穿孔和瘘管形成	499
第六节 门脉高压症术后肠系膜血管缺血性疾病	500
第七节 顽固性腹水	502
第八节 顽固性肝性脑病	502
第九节 肝功能衰竭	503
第四十一章 门静脉高压症预后与结局的研究	505
第四十二章 门静脉高压症外科临床技术操作指南	509

第一章 肝纤维化动物模型

肝纤维化是许多肝病特别是病毒性肝炎、血吸虫病等致肝硬化的重要中间环节,也是上述病变缠绵难愈甚至恶变死亡的主要原因。已证明,不同的致使肝脏损伤的因素,均可引起肝纤维化。因此,阻断肝纤维化的过程是治愈许多难愈性肝病的关键所在。研究肝纤维化的发生机制、病理形态和药物的防治效果等,必须建立合适的动物模型。近年来,肝纤维化动物模型研究取得了可喜的成就,但目前尚缺乏与人类肝纤维化病理过程极为相似的理想动物模型。因此,有必要了解目前动物模型研究现状,并进一步加以改进和发展。现将其常用的肝纤维化动物模型分述如下:

一、化学毒性物质诱导肝纤维化

(一)四氯化碳诱导肝纤维化

四氯化碳(CCl_4)进入人体内后经肝脏 P450 代谢为 CCl_3 ,攻击肝脏大分子,引起脂质过氧化,影响线粒体的结构和功能,使肝细胞变性、坏死,长期反复给药后损害肝脏,导致纤维化。在 CCl_4 所致肝纤维化中,也有免疫反应和自身的溶酶作用参与。 CCl_4 还可激活肝星状细胞导致胶原纤维沉积。 CCl_4 中毒性肝纤维化动物模型制作是一种经典的造模方法。

方法一:

动物:健康雄性 Wistar 大鼠,体重 180 ~ 220g。

操作步骤:

1. 饮用含苯巴比妥钠 380mg/L 的水 2 周,待肝脏明显肿大后,以四氯化碳(CCl_4)灌胃;

2. 99.5% CCl_4 0.02ml/100g 体重,1 次/5d。实验中根据大鼠体重增减情况调节用量;

3. 分别于给药 12 次和 24 次后,逐批处死动物进行肝组织病理检查。

结果:

给 CCl_4 12 次后,肝细胞呈明显灶性退行性变。表现为气球样变及大量液化性、嗜酸性坏死,纤维组织明显增生,但未见明显假小叶形成。给 CCl_4 24 次后,形成假小叶。

方法二:

动物:雄性 Wistar 大鼠,体重 170 ~ 210g。

操作步骤:

1. 实验组动物先饲由玉米粉(80%)、猪油(20%)和胆固醇(0.5%)组成的饲料2周。此后喂饲玉米粉并饮用15%乙醇;

2. 首次皮下注射用植物油配制的40% CCl_4 溶液, 5ml/kg。3天后每隔3天皮下注射同样的 CCl_4 溶液, 3ml/kg, 持续6周。

结果:

注射 CCl_4 2周后以肝细胞坏死和炎性细胞浸润为主, 并可见窄的纤维间隔形成, 从门管区向相邻肝小叶间伸延; 注射 CCl_4 6周后肝小叶可见多数较宽纤维间隔, 部分动物已有假小叶形成。

方法三:

动物: 昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重18~22g。饲全价颗粒饲料, 饮自来水。

操作步骤:

1. 动物按0.05ml/10g体重, 皮下注射20% CCl_4 橄榄油溶液, 每5天1次;

2. 给药6、48、96小时及1、2、3、5、7、10、14周分批处死动物。

结果:

给 CCl_4 后6小时检肝细胞轻度脂肪变性, 可有点状坏死。48小时脂变加重, 可见带状或大块状坏死。96小时肝细胞坏死, 脂肪变性, 细胞间和Disse腔内可见胶原纤维, 中央静脉周围、汇管区纤维组织增生。1~2周时纤维增生明显, 3周时增生的胶原纤维分割包绕肝小叶。5周时假小叶形成, 肝后窦纤维化并发生血窦阻塞。

方法四:

动物: 雄性昆明种小鼠, 体重18~20g。

操作步骤:

1. 临用前, CCl_4 用精制茶油配成20% CCl_4 的油剂;

2. 按5ml/kg体重皮下注射上述油剂, 每5天1次, 连续3个月。对照组小鼠皮下注射等量等次茶油。

结果:

注射 CCl_4 30天后半数动物肝脏出现少量纤维组织增生; 60天时, 约75%动物出现少量至中等纤维组织增生; 90天时所剩的8只小鼠全部出现中等到大量纤维组织增生(实验后期动物死亡率达33.3%, 肝脏内无明显假小叶形成)。

方法五:

动物: Wistar大鼠, 体重170~210g。

操作步骤:

用40% CCl_4 油溶液, 按2ml/kg体重的剂量, 给予Wistar大鼠腹腔注射, 每周2次, 共8周。

结果:

大鼠肝脏明显肿大, 肝包膜紧张, 边缘钝, 黄棕色, 质硬。切面可见岛状结节。镜下大鼠肝脏小叶间结缔组织明显增多, 出现由再生肝细胞形成的假小叶, 其中有坏死细胞和气球样变细胞, 中央静脉壁和汇管区的血管壁纤维有较明显的增生。透射电镜显示, 肝星形细胞内的脂滴明显减少, 细胞周围大量胶原沉积, 星形细胞周围有胶原纤维形成。Von

Gieson 染色显示大量纤维间隔形成,纤维间隔分割包绕肝组织形成假小叶。该模型制作方法简单,肝纤维化病变过程可靠。

方法六:

动物:Wistar 或 SD 大鼠,体重 170~210g。

操作步骤:

用 40%~50% CCl_4 油溶液,按每百克体重 0.3ml 的剂量, Wistar 或 SD 大鼠皮下注射,每周 2 次。第 2 周开始,隔日以 20%~30% 乙醇 1ml 灌胃。饲混有 0.5% 胆固醇低胆碱饲料,连续 8 周。大鼠肝脏正常结构破坏,形成厚的纤维间隔,并分割形成假小叶。该模型可靠且复制时间短,肝纤维化进展稳定,适合于以引起肝细胞损伤为始动机制的肝硬化发生发展过程的动态研究。

方法七:

动物:杂种犬。

操作步骤:

用 50% CCl_4 溶液,按每千克体重 0.12ml,清晨空腹经腹腔内注射,间隔 3~4 天注射 1 次,每周注射 2 次,共注药 4 周。营养控制方面用米饭拌猪油为饲料,喂量控制在 15g/kg·d 体重左右,猪油含量为 10%。

结果:

镜下肝小叶中央静脉周围肝细胞肿胀,空泡变性显著,伴脂肪变性及片状坏死,部分坏死细胞溶解并被出血充填,细胞质间见淋巴细胞浸润,呈炎性反应。第 4 周肝脏浊肿稍见减轻,表面色泽变暗。镜检见脂肪变性更为广泛及严重,坏死持续存在,汇管区大量纤维组织增生并向小叶内延伸,交织成网,正常小叶结构被破坏。采用此模型可以观察到动物肝纤维化过程中糖、脂肪、蛋白质、色素等方面的代谢障碍,以及迅速出现的营养不良、脂肪变性、肝纤维化等形态学改变。

方法八:

动物:健康雄性 Wistar 大鼠,体重 100~125g。

操作步骤:

肝纤维化模型: CCl_4 0.1ml/body,用等容积橄榄油稀释后腹腔内注射,每周 2 次,共 10 周。

肝硬化模型: CCl_4 0.2ml/body,用等容积橄榄油稀释后腹腔内注射,每周 2 次,共 10 周。

方法九:

动物:健康成年杂种犬 13 只,体重 17.5~28.5kg,雌雄不限。

操作步骤:

每次实验前动物禁食 24h,实验后 12h 恢复正常饮食。6%戊巴比妥钠(0.4 ml/kg)静脉缓慢推注,待动物麻醉后取仰卧位固定在 800 mA X 线造影机诊断台上,双侧腹股沟区备皮,按介入放射学手术的无菌操作要求铺单,经左或右侧股动脉穿刺行 Seldinger 术,将 4F 导管超选择地插入左肝动脉或右肝动脉,造影证实导管位置正确后,经导管注入四氯化碳稀释液(含四氯化碳 50~100ml、生理盐水 5ml),注射完毕后拔除导管,咀部加压包

扎。上述过程每2周重复1次,直至动物按期处死。

结果:

注药半肝的肝组织损伤及纤维化的程度较严重,而未注药的彪肝也有较轻的损伤和纤维化,与临床所见的不均匀性肝硬化相近。本模型还有一个优点是每只动物模型既可做不同时间(肝硬化从轻到重的进展)的自身对照,也可做同一时间肝硬化程度不同的左右半肝的对照,这样不仅实验结果更加可靠,而且可以节约动物模型。但此法局部的药物浓度很高,引发的肝细胞坏死比较严重,易造成动物死亡。其次,本模型未注药区域病变严重程度的差别过于夸大。

另有报道,Ugazio - G 和 Garcia - Tsao - G 等采用 CCl_4 蒸气吸入法制备大鼠肝硬化和肝纤维化模型。

[模型特点]

用 CCl_4 攻击建立肝纤维化模型历史较久,操作简便,费用低,病变典型,已被广泛应用。 CCl_4 主要引起中央静脉周围肝坏死,纤维增生,小叶内以窦隙为主,最后产生小结节性肝硬化,有时可出现大结节性肝硬化,适合于门脉性肝硬化及肝炎后肝硬化的研究。不足之处是连续多次给予 CCl_4 动物死亡率较高,纤维化形成所需时间较长而持续的时间较短。有人研究,在饮食调节下,8周可制成肝硬化模型。在饮水中加入苯巴比妥钠,可使大鼠发生持久、快速的肝纤维化,死亡率下降。皮下注射 CCl_4 橄榄油所致的肝纤维化与酒精性肝损伤模型类似,但与人类乙型肝炎病毒引起免疫损伤所发生的肝纤维化可能不完全相同。

(二)硫代乙酰胺所致肝纤维化模型

硫代乙酰胺(TAA)在肝内代谢为硫氢化合物与大分子物质结合,引起肝损伤,同时激活磷脂酶 A_2 ,引起肝细胞膜损害致肝细胞坏死。

方法一:

动物:雄性 Wistar 大鼠,体重 130g 左右。

操作步骤:

用硫化乙酰胺腹腔内注射,第一次 20mg/100g 体重,从第二次起 12mg/100g 体重,每周注射二次。于注射开始后 3, 4, 5, 6, 8 和 12 周各处死 5 只大鼠,取材固定,制作光、电镜标本,取血清做血清生化检测。

结果:

TAA 腹腔注射第 3 周,在小叶中间带出现大片的肝细胞变性坏死和炎细胞浸润。6 周后出现增生的纤维束,纤维增生明显晚于和少于猪血清模型。Sun M 等认为化学损伤性肝纤维化模型,肝细胞变性坏死,比免疫性肝纤维化模型严重且炎细胞浸润明显。化学损伤法引起 I 型前胶原的 mRNA 增多,转化生长因子- β 明显增多,而免疫性肝纤维化 III, IV 型前胶原 mRNA 增多。

方法二:

动物:6 周龄雄性 SD 大鼠。

操作步骤:

4% 的 TAA 溶液,以 0.2g/kg·d 的剂量,每周 3 次,连续 10 周腹腔内注射后停药 3 周。

[模型特点]

TAA 所致肝纤维化模型被认为与人肝硬化的病理组织学相类似。但该肝纤维化的模型周期长,动物损伤大,生长状态不良。

(三)二甲基亚硝胺诱导肝纤维化动物模型

致癌物质二甲基亚硝胺(DMN)其损伤机制主要是毒性产物引起核酸和蛋白质的烷基化,从而引起 DNA 损伤,可能为选择性或特异性攻击真染色质或活性染色质。DMN 还可使肝内皮细胞及邻接的肝细胞形态发生变化。

动物:SD 大鼠。

操作步骤:

SD 大鼠按 $10\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重的剂量,给予 1% 二甲基亚硝胺生理盐水稀释液,腹腔注射共 10 次。第 1 周连续 3 次,第 2、3、4 周各 1 次,第 6、7 周各连续 2 次,共 8 周。或者每周前 3 天每天连续给药 $10\mu\text{g}/\text{kg}$,持续注射 4 周。

结果:

在染毒期间大鼠肝内小叶中央出血性坏死的炎性浸润持续存在,肝细胞外基质进行性增加,染毒 4 周末在肝内形成中心 - 中心性和/或中心 - 门脉性纤维间隔,停止染毒后 4 周末肝纤维化仍然明显。

[模型特点]

本模型造模周期短,大鼠死亡率低,形成的纤维化相对稳定不易吸收。这种肝纤维化与人慢性肝炎导致的肝硬化相似,多用于药物抗肝纤维化研究。缺点是不容易掌握剂量。

二、免疫损伤性肝纤维化

免疫损伤性肝纤维化产生的机理是Ⅲ型变态反应引起的,清蛋白和血清的大分子物质,作为异种抗原进入大鼠体内后,刺激其产生相应的抗体,当抗原再次进入机体后抗原抗体结合,形成抗原 - 抗体免疫复合物(IC), IC 可激活(或结合)补体。由于抗原的反复、长期刺激,过量的免疫复合物来不及被清除,沉积于肝脏的血管壁内外,引起血管炎和血管周炎,造成肝损伤,形成广泛的进行性慢性炎症病变。如此反复导致肝细胞变性、坏死,肝细胞再生,清蛋白激发了静态的肝星状细胞增生,向纤维细胞转化,进而分泌胶原,形成肝纤维化,最后发展为肝硬化。

(一)人血清诱发肝纤维化

动物:雌性 Wistar 大鼠,体重 120 ~ 150g。

操作步骤:

1. 将人血清清蛋白用生理盐水稀释,与等量不完全弗氏佐剂乳化。每只大鼠皮下多点注射,每次 0.5ml (含清蛋白 4mg),共注射 4 次。前 2 次间隔 14 天,第 3、4 次间隔 10 天。

2. 末次注射后 10 天取血测抗体,取抗体阳性大鼠做实验,尾静脉注射清蛋白,每周 2 次,第 1 周 2.5mg/只,以后逐次增加 0.5mg,直至 4.5mg/只。维持此剂量至少 2 个月。

结果:

注射后 60 天肝纤维化达到最大限度,纤维化持续时间达 260 天以上,肝纤维化形成率为 85%,死亡率为 20% ~ 30%。纤维化形成后期,光镜下可见门管区和中央静脉周围

网状纤维及胶原纤维增生,并沿肝窦散在分布,互相连接,汇管区及中央静脉周围有炎细胞浸润。电镜下早期可见 HSC 增生活跃,后期见 MFB 形成,分布于门管区,其周围有大量胶原沉积。免疫荧光染色显示肝肾组织有免疫复合物沉着,补体水平下降。

[模型特点]

人血清诱发肝纤维化模型形成的机制是清蛋白免疫复合物所致的Ⅲ型变态反应。本模型纤维组织形成后的自然再吸收较 CCl_4 诱导者为慢,形成的纤维组织持续时间长。本模型肝细胞损伤较轻,无碎屑状或桥状坏死,有别于肝炎后肝硬化。目前,用肝炎病毒尚不能制成可供实验用的肝纤维化模型,本模型系免疫损伤所致,有利于从免疫学角度探讨发病机制及评价药物。

(二)猪血清诱发肝纤维化

动物:雌性 Wistar 大鼠,体重约 100g,自由进食、饮水。

操作步骤:

1. 注射猪血清 0.5ml/只,每周 2 次。对照大鼠以生理盐水替代血清注射。
2. 于注射猪血清第 3、8 和 10 周,末次注射后 1 周内处死大鼠。

结果:

猪血清注射 8 周后,全部动物发展为肝纤维化。肝纤维化形成过程中有肝星状细胞增生、活化。猪血清注射 2 周末门管区基质增多,较易见到嗜酸性粒细胞浸润。注射 4 周末,大部分形成粗细不均的细胞性间隔分割肝小叶。注射 8 周末门管区明显扩大,纤维增多,纤维向肝小叶内伸展,与邻近汇管区相连,分割包绕肝实质,门管区及纤维间隔内间质细胞明显增多。10 周末汇管区及间隔内基质成分明显增多,细胞成分减少。

[模型特点]

猪血清诱发肝纤维化模型主要是主动性纤维间隔形成,大量胶原纤维增生,微循环障碍,亦见界板肝细胞坏死,适用于研究由抗原抗体复合物反应(如慢性乙型肝炎、慢性活动性肝炎)所致肝纤维化的发生机制、防治和药物筛选。

用猪血清诱发肝纤维化模型自愈性低,造型方法简便、周期短、经济、可靠、稳定、死亡率低、出现率高,动物整体损伤重。重要的是诱发阶段病变单纯,无显著肝细胞变性、坏死和大量炎细胞浸润,能清楚显示不同时期的间隔,即细胞性、细胞和纤维混合性及纤维性间隔,有利于原位观察和分析。所以,本模型可作为一种无明显肝细胞损伤性纤维化模型。

但本模型中未见到血管壁纤维素样坏死、嗜中性粒细胞浸润等Ⅲ型变态反应的常见病理改变。本模型的病变早期门管区及间隔内有大量嗜酸性粒细胞浸润,该现象与Ⅰ型变态反应中迟发性反应极为相似,可能由于异种血清引起肥大细胞介导白三烯产物的释放,吸引了大量嗜酸性粒细胞浸润,通过其释放的一些物质如 $\text{TGF}-\beta$ 等使肝星状细胞激活,合成大量细胞外基质,从而使组织内细胞外基质过度沉积导致肝纤维化。

临床上,慢性活动性肝炎患者循环免疫复合物多为阳性,故猪血清模型可用于慢性肝炎所致肝纤维化的研究,对于研究免疫复合物的形成、沉积和清除及对于防治免疫损伤性肝纤维化有效药物的筛选,具有理论和实际意义。

(三)牛血清清蛋白诱发肝纤维化