

# 棉子糖低钾右旋糖酐液供体肺灌注保存的临床病理学研究

杨国仪<sup>1</sup>, 陈静瑜<sup>1</sup>, 夏钰弘<sup>1</sup>, 虞敏红<sup>1</sup>, 洪建刚<sup>1</sup>, 吴波<sup>2</sup>, 姜少军<sup>2</sup>, 周晓军<sup>2</sup>

**摘要:** 目的 探讨棉子糖低钾右旋糖酐液 (raffinose low-potassium dextran solution, R-LPD 液) 供肺灌注低温保存后的组织形态学变化。方法 应用光镜、电镜和免疫组化技术对 R-LPD 液灌注的 18 例肺移植供肺标本按不同的时间段进行观察。结果 R-LPD 供肺灌注低温保存的最佳时间是 6~8 h。随着保存时间延长, 供体肺的形态结构改变也逐渐明显。保存 30 h 时, 可见肺泡壁及血管周围间质组织水肿, 肺泡间隔断裂, 部分肺泡上皮细胞变性、坏死、脱落。结论 R-LPD 液在肺移植冷缺血保存期中起较好的肺泡上皮细胞保护作用, 比低钾右旋糖酐液 (low-potassium dextran solution, LPD 液) 具有明显的优越性。

**关键词:** 肺移植; 器官保存液; 棉子糖; 右旋糖酐类; 免疫组织化学; 超微结构

中图分类号: R 322.34 R 655.3 文献标识码: A 文章编号: 1001-7399(2007)02-0210-03

## Lung donor perfused with raffinose low-potassium dextran solution for lung transplantation: A clinicopathological study

YANG Guo yi<sup>1</sup>, CHEN Jing yu<sup>1</sup>, XIA Yu hong<sup>1</sup>, YU Min hong<sup>1</sup>, HONG Jian gang<sup>1</sup>, WU Bo<sup>2</sup>, JIANG Shao jun<sup>2</sup>, ZHOU Xiao jun<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>Department of Pathology, Lung Transplantation Group, Wuxi Chest Hospital, Wuxi 214073 China; <sup>2</sup>Department of Pathology, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Nanjing 210002, China)

**Abstract Purpose** To observe the change of the structure of the morphology in lung perfused with raffinose low-potassium dextran solution (R-LPD'S). **Methods** The human lung perfused with R-LPD'S was observed under light microscope and electron microscope and analyzed with immunohistochemistry in 18 cases. **Results** The best time of preservation in lung perfused with R-LPD'S was 6~8 hours. Morphologic changes of the structure in the tissue cells were gradually obvious with time. When 30 hours of preservation the tissue of donor lung perfused with R-LPD'S showed a decreased number of intact type II type pneumocytes and a few damaged cells or cellular necrosis. Minimal interstitial and alveolar edema with interstitial macrophage infiltration was also observed. **Conclusions** R-LPD'S exerts a cytoprotective effect on preservation of donor lung during pulmonary grafts and it is superior to low-potassium dextran solution for this purpose.

**Key words** lung transplantation; organ preservation solution; raffinose; dextran; immunohistochemistry; ultrastructure

肺移植是治疗终末期肺部疾患的有效手段, 供肺的保存技术至关重要, 关系到肺移植术的成败<sup>[1]</sup>, 形态结构变化是肺保存质量的评价方法之一。我们应用免疫组化和电镜技术观察用棉子糖低钾右旋糖酐液 (raffinose low-potassium dextran solution, R-LPD 液) 灌注供体肺低温保存后的光镜及超微结构的变化, 从形态学角度为供体肺保存研究提供依据。

### 1 材料与方法

**1.1 材料** 2002年9月~2005年8月间无锡市胸科医院肺移植中心完成临床肺移植 24 例, 收集完整

病理资料的肺移植病例 18 例, 受体年龄 36~68 岁, 平均 47.5 岁, 男性 15 例, 女性 3 例, 其中单肺 15 例 (左肺 9 例, 右肺 6 例); 非体外循环下序贯式双肺移植 3 例。

**1.2 方法** 供体肺灌洗液均为 R-LPD 液, 冷缺血时间 180~465 min, 平均 250 min。单肺移植时, 对侧供肺灌注后 4℃保存, 取灌注保存 3、4、6、12、24 和 30 h 不同时间段肺组织行组织病理学检查。标本经 10% 中性福尔马林固定, 常规脱水, 石蜡包埋, 每个组织块 4 μm 厚连续切片, 分别进行 HE 染色、PAS、基膜、Masson 等组织化学染色, 同时作 CD68 (KP1)、TTF1 (8G7G3/1) 和 SMA (1A4) 免疫组织化学标记。免疫组化采用 SP 法, 组织化学染色试剂及免疫组化试剂购自福建迈新生物技术有限公司和 Dako 生物试剂公司。

收稿日期: 2006-05-25 修回日期: 2006-09-15

作者单位: <sup>1</sup> 无锡市胸科医院肺移植中心病理科, 无锡 214073

<sup>2</sup> 南京军区南京总医院病理科, 南京 210002

锇酸后固定 1 h 梯度丙酮脱水, Epon812 环氧树脂包埋, 半薄切片定位, 70 nm 超薄切片, 醋酸铀-柠檬酸铅双重电子染色, 日本电子公司产 JEM-1200 型透射电镜观察。

## 2 结果

**2.1 光镜观察** 灌注后 3~4 h 肺组织结构完整, 肺泡扩张良好, 肺泡间质及脉管周围组织无明显水肿, 肺泡腔内无积液。6 h 后, 脉管周围组织可出现轻度水肿(图 1), 灌注后 12 h 肺泡间质及脉管周围可见水肿, 部分肺泡上皮细胞脱落, 肺泡腔内可见少量吞噬细胞, 随着保存时间延长, 组织细胞的形态变化也逐渐明显, 保存 24 h 时, 可见出现肺泡融合, 肺大泡形成, 肺泡上皮脱落, 红细胞外渗等(图 2), 此时, 肺组织已不适合进行移植手术, 30 h 时, 上述改变更明显, 并可见部分肺泡上皮细胞坏死、脱落等。

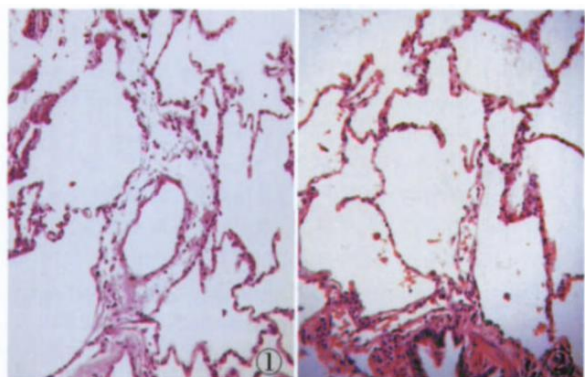


图 1 R-LPD 液灌注后 6 h 肺泡及肺泡壁结构尚完整, 脉管周围组织轻度水肿 图 2 R-LPD 液灌注保存 24 h 后, 可见少量的肺大泡形成, 肺泡腔内可见少量脱落的肺泡上皮及红细胞等

**2.2 组织化学染色及免疫组化染色观察** 灌注 3~4 h 时, 间质及血管旁未见到明显 PAS 阳性物质沉积, 在灌注后 6 h 开始出现间质及血管旁 PAS 阳性物质沉积, 并随保存时间延长, 间质及血管旁 PAS 染色阳性物质逐渐增多。基膜染色显示灌注前及灌注后 6 h 内, 血管及肺泡基膜着色完整、均匀, 12 h 以后, 基膜厚薄不均, 24~30 h 时, 血管基膜断裂、不完整。Masson 染色显示, 所有研究的肺组织均没有明显的纤维组织增生。免疫组化染色显示, 12 h 后, 肺泡腔内均可见少量 CD68 阳性的巨噬细胞和 TTF1 阳性的脱落的肺泡上皮。SMA 染色显示部分保存时间较长的肺, 血管平滑肌及支气管平滑肌细胞着色不均匀, 但分布上没有明显差别。

**2.3 电镜观察** 电镜下肺泡上皮细胞的形态变化最早出现在灌注后 3 h, 细胞膜肿胀, 粗出现在灌注

表现为轻度的间质水肿, 肺泡内衬上皮基本完整, 线粒体、内质网肿胀, 12 h 以后, 上皮细胞的线粒体嵴断裂、消失, 内质网扩张, 上皮细胞间松散, 上皮凋亡现象增加, 肺泡壁毛细血管损伤轻微, 气-血屏障结构基本完整(图 3)。在灌注后 24 h 时, 可见到肺泡结构部分膨胀、部分塌陷, 肺泡表面覆盖上皮大量脱落, 上皮细胞立方状或不规则形, 细胞器部分结构存在, 但明显肿胀, 部分破坏形成髓鞘样小体, 线粒体破坏更明显, 肺泡壁血管内皮细胞增生、肿胀, 血管充血, 基膜厚薄不均, 有断裂, 间质偶见分叶核细胞浸润, 气-血屏障明显增宽, 肺泡壁增厚, 30 h 以后, 肺泡塌陷、融合, 肺出血等。

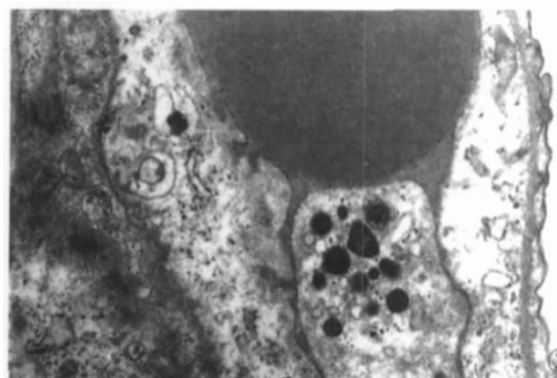


图 3 R-LPD 液灌注后 6.5 h 后, 肺泡结构完好, 肺泡内表面覆盖完整肺泡上皮, 上皮细胞轻度水肿, 血管充血, 偶见分叶核细胞, 内皮细胞形态好, 间质无明显水肿, 气-血屏障薄,  $\times 4000$

## 3 讨论

1983 年人类单肺移植手术在加拿大多伦多首次获得临床成功以来<sup>[2]</sup>, 肺移植术已成为治疗终末期不可逆性肺病患者生命的最有效的方法<sup>[3]</sup>。由于供肺的保存困难、易感性和肺组织极易受损的特点, 使得能被移植的供肺仅是供心的 10%~15%<sup>[4]</sup>。肺保存灌注液对于肺组织形态学结构乃至功能活性均有很大的影响, 已用于临床的肺保存灌注液可分为细胞内液型, 如 Euro-Collin( EC 液)、University of Wisconsin( UW 液), 和细胞外液型如 Low-potassium dextran solution( LPD 液)等。近年来, Fischer 等<sup>[5]</sup>在最初 LPD 液的基础上, 加入棉子糖进行了鼠的肺移植实验, 证实了其能明显减轻肺缺血再灌注损伤, 改善供肺的氧合能力, 使其耐缺血时间延长, 并使缺血安全期延长到 12 h 但尚未应用于大动物实验及临床。

我院据此配制的 R-LPD 液, 进行了大动物猪肺移植实验后, 在国内率先应用于临床供肺的灌注保

织学检查,发现 R-LPD 液在肺保存中能明显减轻缺血末期组织损伤和保持细胞完整性,提高再灌注后移植肺功能,减轻肺缺血再灌注损伤,术后氧合功能增加,与文献报道一致<sup>[9]</sup>。组织化学染色和免疫组化染色也证实随着保存时间的延长,肺组织的损伤也逐步加重,表现在表达 TTF1 的肺泡上皮细胞脱落、以及肺泡间隔破坏等改变,同时有 CD68 阳性的巨噬细胞反应及炎细胞的浸润。

目前临床应用的肺保存技术所能提供的安全极限一般为 4~6 h<sup>[7]</sup>。我们用 R-LPD 液灌注供肺,在动物肺移植模型中适当延长肺保存时间,通过电镜观察, R-LPD 液灌注后的 6 h 内,肺组织的超微结构改变还是轻微的、可逆性的,当超过 12 h 肺泡结构出现一些不可逆的组织学改变,如肺泡上皮的脱落、凋亡数量增加,肺泡上皮内线粒体嵴断裂等, 24 h 以后的不可逆改变已经非常明显,肺泡融合、红细胞外渗、气-血屏障破坏等,此时的肺组织已不适合再进行移植使用了。

近年来我院肺移植中心使用 R-LPD 液先后完成了 24 例肺移植,其中供肺中有 3 例为异地获取, 1 例肺植入时肺冷缺血时间达 7 h 1 例非体外循环下序贯式双肺移植第 2 个肺植入时达 465 min<sup>[8]</sup>,超过目前国内传统肺保存的 6 h 的限制,术后早期肺功能仍良好。第 1 例肺移植患者已生存 44 个月。研究显示 R-LPD 液在肺移植冷缺血保存期中具有很好的细胞保护作用,明显改善肺水肿。根据临床和

动物实验研究的结果分析,我们认为 R-LPD 液的缺血安全时限可达 12 h 但最佳保存时间为 6~8 h。

尽管 R-LPD 液是一种比较理想的肺保存液,不仅能成功限制肺间质水肿的扩散,抑制细胞内水肿、酸中毒和氧自由基的形成,而且能为肺保存及再灌注期间提供必要的能量供给,但目前对其降低细胞损伤及死亡的机制并不清楚,进一步开展 R-LPD 液肺灌注保存的研究,对于我国开展肺移植有非常重要的意义。

## 参考文献:

- [1] 张宏伟,俞丽敏,陈景寒.肺移植术的供肺保存研究现状[J].山东医药,2003 43(33):64-65
- [2] Toronto Lung Transplant Group. Unilateral lung transplantation for pulmonary fibrosis[J]. N Engl J Med. 1986 314:1140
- [3] 张志泰,陈玉平.肺移植发展史及近况[J].心肺血管病杂志,2000 19(1):78-80
- [4] 王玫.肺移植实验供肺摘取及保养[J].现代医院,2005 5(10):70-71.
- [5] Fischer S, Hopkinson D, Mingyao Li *et al*. Raffinose improves 24 hour lung preservation in low potassium dextran glucose solution: a histologic and ultrastructural analysis[J]. Ann Thorac Surg. 2001 71:1140-1145.
- [6] 陈静瑜,胡春晓,朱乾坤,等.改良低钾右旋糖酐液供肺灌注保存的临床观察[J].中华医学杂志,2004 84 1416-1417
- [7] Hertz M, J. Mohacs P, J. Bouced M M, *et al*. The registry of the international society for heart and lung transplantation: past, present and future[J]. J Heart Lung Transplant. 2002 21(9):945
- [8] 陈静瑜,郑明峰,朱艳红,等.肺移植治疗终末期肺病 18 例报告[J].中华器官移植杂志,2005 26(10):603-605

## · 国外期刊文摘 ·

### 肺轻链沉积病:5例报道及文献复习

Bhargava P, Rushin JM, Rusnock E J *et al*. Pulmonary light chain deposition disease: report of five cases and review of the literature. Am J Surg Pathol. 2007 31(2):267-276

肺活检标本间质内有致密红染无结构样物时应首先考虑淀粉样物沉积症(amyloidosis)。如果刚果红染色没有显示特征性的双折射性“苹果绿”时,往往考虑是由于技术不当所致的染色欠佳。在缺少电镜的情况下,这些病例通常被推测性的诊断为淀粉样物沉积症。而轻链沉积病(light chain deposition disease LCDD)很少被考虑,而且许多病理工作者并不熟悉此病。肺的轻链沉积病很罕见。作者描述了 5 例肺 LCDD 并作了文献回顾,与肺淀粉样物沉积症进行了比较。资料来自作者最近遇到 1 例,其他 4 例来自 AFIP 档案。文献检索到 19 例肺 LCDD,其中 2 例临床资料不足以进

进展进行综合分析后,作者提出 LCDD 的两种不同组织学结构:弥漫型和结节型,与弥漫型和结节型肺淀粉样物沉积症相平行。同 12 例弥漫性 LCDD 相比,10 例结节性 LCDD 总体上预后较好。不过,与文献报道的肺结节性淀粉样物沉积症相比,结节性 LCDD 患者的淋巴组织增生和(或)浆细胞异常增生以及肾衰的发生率较高。肺轻链沉积病组织结构类似于淀粉样物,但刚果红染色阴性。电镜显示 LCDD 的颗粒状沉积物与淀粉变物的纤维截然不同。由于弥漫性 LCDD 和弥漫型淀粉样物沉积症具有相似的不良预后,所以区分两者可能并不重要。然而,当 LCDD 表现为结节型时,与淀粉样物沉积症相比,会更频繁地发生浆细胞异常增生和肾功能衰竭,因此,区分两者或许临床上更重要。

(付长霞<sup>1</sup> 摘译,张仁亚<sup>2</sup> 审校) 潍坊医学院病理教研室,潍坊 261043<sup>2</sup> 济宁医学院附属医院病理科,济宁 272029)