

实验研究

中西药结合治疗家兔同种肾移植急性排斥反应的组织学及超微结构观察

北京医学院成形外科研究室 朱洪荫 王雪圃

北京医学院电镜室 彭学敏

组织和器官移植与抗排斥反应是近代医学很受重视的问题。我室从1978年至1982年对900余只家兔作了同种肾移植术,从中西药结合、免疫促进等途径探索了治疗肾移植术后急性排斥反应的有效方法。由于家兔对当前常用的西药免疫抑制剂硫唑嘌呤、强的松的有效剂量与中毒剂量非常接近⁽¹⁾,对某种革兰氏阴性杆菌易感而发展为出血性败血症,以及移植术后饲养护理条件不够完善,实验动物多在观察过程中因合并症死亡,因而难以用动物平均存活时间的长短来判断药物的疗效。为了排除这一对药物疗效观察的干扰,1982年以来,我室着重从术后移植肾组织结构改变的程度来研究药物治疗的效果。为此,所有实验动物于死亡时皆作尸体解剖,留取组织标本行组织病理学检查,并在各实验组任择2~3只家兔,在电镜下重点观察了移植肾小球滤过膜的超微结构。现将该阶段实验观察结果报告于后。

材料和方法

一、实验动物模型:远交青紫兰家兔,雄性,体重2.5~3公斤,随机组成受体和供体,行同种肾移植术(腹膜后原位肾移植术式)。自体左肾于移植术时摘除,右肾于术后7~10天摘除。

二、分组及药物:西药组选用硫唑嘌呤、强的松,中药组选用益肾汤、桃红四物汤、血府逐瘀汤、膈下逐瘀汤等活血化瘀剂与清热解毒药联合组方,每剂中药煎至20毫升;中西药组为上述西药与中药结合应用。所有药物皆从食道灌入,以确保剂量准确。

实验动物分组见表1。

三、标本制作:组织病理标本于动物死亡时留取,用10%福尔马林固定,石蜡包埋,切片用HE染色。电镜标本于术后12~13天留取,该时间的确定是根据行肾移植术动物在不给免疫抑制药物的条件下,因急性排斥反应肾功能衰竭处于濒死的时间⁽²⁾。取新鲜组

表1 实验动物分组

组别	动物数	硫唑嘌呤 (毫克)	强的松 (毫克)	中药方剂 (毫升)	每天服药 次数
不给药组	15	—	—	—	—
西药一组	9	10	20	—	1
西药二组	6	10	20	—	2
西药三组	7	20	20	—	2
中药组	25	—	—	20	2
中西药组	26	10	20	20	2

织块,体积不超过1立方毫米,用3%戊二醛及1%锇磷酸缓冲液双固定,国产618环氧树脂包埋,LKB超薄切片机先切半薄切片,定肾小球位置,后作超薄切片,用铀、铅双染色。H-500电镜观察。

实验结果

一、不给药组动物移植肾的组织结构损害:关于肾移植术后急性排斥所造成的组织结构损害,Lindquist⁽³⁾、Porter⁽⁴⁾、Dempster⁽⁵⁾等在60年代已经作过很多研究。本实验共用15只家兔,行肾移植术后不给免疫抑制药物抑制排斥反应,在光学显微镜下观察术后不同时期的组织损害。早期:移植术后3~4天,间质内少量单核细胞浸润,管间毛细管内皮轻度肿胀。中期:移植术后7~8天,间质内浸润细胞增多,聚集在血管或肾小球周围,有的浸润灶连结在一起呈大灶性(图1。图在封三,下同);水肿、出血比较显著;小动脉内皮细胞增殖、剥脱,与红细胞、白细胞、血小板等积聚粘附于血管内壁(图2)。晚期:移植术后10天左右,间质内大量单核细胞浸润,其中有中性白细胞、嗜酸细胞;水肿出血皆极著明;间质内有纤维素有样物质沉积(图3);大部分管壁纤维素样变性,有的管壁有炎细胞浸润,腔内因大量泡沫细胞、脱落的内皮细胞及血细胞堵塞而消失,表现为闭锁性动脉病(图4);有的腔内有纤维素有样血栓,表现为坏死性动

脉病(图5);肾小球除细胞浸润外,鲍氏囊内可有蛋白液,囊上皮表现增殖或崩解,小球毛细血管丛系膜有纤维素样坏死(图6);多数曲管上皮变性、坏死、崩解,残余曲管扩张,管腔内有管型(图5)。

本组动物存活时间为4~14日,上述组织病变Meadows将其分为细胞免疫为主的单核细胞浸润即细胞型排斥和体液免疫所致的血管损害即血管型排斥两类,其他病变如间质水肿、出血、曲管变性坏死等皆为该两主要病变的继发损害。该组动物移植肾出现上述排斥损害的情况见表2。

表2 肾移植后急性排斥反应组织结构损害情况

组别	动物数	细胞浸润				血管损害				存活天数
		0	+	++	+++	内膜改变	壁纤维素样变性	壁炎症细胞浸润	管腔闭塞或炎细胞栓	
不给药组	15	0	1	4	10	12	12	7	7	4~14
西药一组	9	0	6	2	1	2	9	1	2	5~21
西药二组	6	0	4	2	0	3	5	0	1	4~25
西药三组	7	0	5	1	1	1	5	0	0	8~14
中药组	25	0	8	6	11	4	3	6	5	4~21
中西药组	26	3	11	6	6	3	3	3	3	6~46

电镜观察肾移植急性排斥终末期肾小球滤过膜,其结果与Rossmann^(6,7)的观察相一致。其超微结构损害的主要表现如下。基底膜肿胀,内层变宽,致密层疏松,有的部位有纤维增生。足细胞突大部分呈融合状态。内皮细胞增生,胞质增厚,内有髓样小体,窗孔膜消失;毛细血管腔大部分为内皮细胞充填,管腔变窄;内皮细胞与基底膜附着不紧密,呈锯齿状;有的部位内皮细胞脱离基底膜,基底膜内层直接与毛细血管相通。与正常肾小球滤过膜的超微结构(基底膜分为厚薄均匀一致的内、外透明层,中央为致密层,内皮细胞的窗孔膜贴附于基底膜内透明层,足细胞突呈鼓锤状突起,均匀地贴附于基底膜外透明层)相比,损害异常显著。(图7、8)

二、各给药组动物移植肾的组织结构观察:西药组共22只家兔,于肾移植术后投予硫唑嘌呤、强的松,根据给药剂量的不同又分为三个小组(用药剂量以西药三组为最大,二组次之,西药一组最小)。中药组共25只家兔,移植术后分别投予中药。中西药组共26只家兔,移植术后投予上述西药及中药。实验动物存活情况及光学显微镜下的组织损害见表2。中药组及中西药组中各任择3只家兔,于术后12~13日取活体标本,分别在电镜下观察移植肾肾小球滤过膜的超微结构。中药组:内皮细胞窗孔膜清晰,内皮细

胞与基底膜贴附不够紧密,基底膜结构大致正常,有的部位增厚,足突有融合(图9)。中西药组:其肾小球滤过膜超微结构与中药组基本一致,惟足细胞的细胞器增生较明显(图10)。

讨 论

西药组硫唑嘌呤、强的松的用药剂量以第三小组为最大,组织损害也最轻,细胞浸润明显减轻,但对血管壁的纤维素样变性却无显著改善;中药组间质内浸润细胞的数量虽然比不用药组要少,但比西药组严重,而血管壁的损害及肾小球滤过膜的超微结构病变则比不用药组及西药组均明显减轻;中西药组移植肾内细胞浸润、血管损害以及肾小球滤过膜超微结构的病变均较轻微,足细胞内细胞器增殖,显示细胞内代谢机能比较旺盛。上述治疗结果表明,西药硫唑嘌呤、强的松对细胞免疫的抑制效果较好,但对体液免疫所致血管壁纤维素样变性——抗原抗体反应的结果,似无明显作用。中药组移植肾内细胞浸润比不用药组轻,但比西药组严重,而血管损害比其他两组显著减轻,提示以活血化瘀为主的中药对细胞免疫的抑制作用较弱,而对抗原—抗体复合物沉积于血管的基底膜及补体系统激活的免疫反应环节发挥了治疗作用。电镜标本显示用中药治疗的家兔,肾小球滤过膜损伤皆比较轻微,为上述推论提供了有力的证据。活血化瘀为主的中药之所以有这作用,我们分析可能与下述因素有关:(1)抗原—抗体复合物生成量少,在基底膜的沉积少,因而毛细血管内皮细胞及基底膜损伤轻,血管内皮损伤所继发的一系列继发改变减轻;(2)激活补体系统的动因减少或补体激活系统受到一定的抑制,使补体系统激活过程中所释放的生物活性物质如C_{3a}、C_{5a}等过敏毒素也相应减少,从而使作用于肾小球毛细血管壁改变其通透性的物质减少,故能较好地保存肾小球滤过膜的超微结构。中药组有一动物,存活35日,其直接死因不是肾功能衰竭,而是合并出血性败血症。死后发现该动物移植肾内虽有相当数量的肾小球毛细血管呈纤维素样坏死(图11、12),但肾皮质内血管壁的损伤及血栓形成皆很轻微。在相当多的肾小球及球内大部分毛细血管丛遭到剧烈的免疫排斥的严重损伤下,残余的肾小球仍能在较长的时间内发挥其功能,维持动物的生命,只能用以活血化瘀为主的中药发挥了一定的治疗作用来解释。

参 考 文 献

(1) Green CJ, et al. Lancet 1:1182, 1978.

- (2) 朱洪荫等: 中医杂志 23 (2):69, 1982。
 (3) Lindquist RR, et al: The American Journal of Pathology 53:851, 1968。
 (4) Porter KA, et al: Transplant Bull 26:458, 1960。
 (5) Dempster WJ, et al: Brit Med 1:18, 1963。
 (6) Rossmann P, et al: Rejection nephropathy. p170, Early obliterative arteriopathy of graft. Academia Praha, 1979。

- (7) Rossmann P, et al: Rejection nephropathy. p 179, Early segmental glomerulopathy of graft. Academia Praha, 1979。
 (8) Meadows R: Renal histopathology. 24. Transplantation. p334, 336, Oxford University Press, London, 1973。

放射性肺炎 1 例 治 验

中医研究院广安门医院肿瘤科 张代钊

放射性肺炎及放射性肺纤维化目前西医尚无有效疗法, 解放以来亦未曾见到有关中医治疗本病的临床报道。现举一例报告如下。

病案简介: 甄××, 女性, 48岁, 未婚, 工程师。

患者于1977年8月发现右乳房上方生一肿物, 约有2×3厘米大小, 疑为乳癌于同年9月初赴某医院就诊。9月21日经该院行右乳腺根治术, 术后病理诊断为右乳腺腺癌, 并有右腋下淋巴结5/8转移。术后18天在该院行放射治疗, 于右锁骨处照射4000拉德, 胸骨处4000拉德, 右腋下5800拉德, 放疗结束后曾先后进行了4个疗程的化疗(塞替派等药, 剂量不详), 于1981年1月9日结束。但至1981年1月12日, 患者无意中发见右胸骨旁第三、四肋间有一0.5厘米直径大小之结节, 经病理切片诊断为右乳腺癌局部复发, 至1月20日又发现右锁骨上有一蚕豆大小之淋巴结肿大, 质硬, 不活动。故于1月28日开始在该院行第二疗程放疗, 于右锁骨上照射6000拉德, 胸骨处5500拉德, 胸骨旁两肺野各照射4000拉德, 放疗至3月17日结束。患者自3月中旬放疗结束后即开始出现剧烈咳嗽, 干咳痰少, 气短胸闷, 至5月初咳嗽加剧, 痰少色黄, 低烧, 当即赴该院行肺部X线片检查, 诊断为双肺放射性肺炎, 以右侧为重。此后给以青霉素、红霉素等各类抗菌素治疗, 诸症未减, 治疗无效, 经该院放射治疗科经治医师介绍, 于5月25日转来我院。

5月25日初诊: 患者剧咳不止, 干咳痰少, 色黄, 上楼时气喘胸闷, 心慌气短, 发烧(体温38~38.5℃), 右胸痛, 口干, 多汗, 纳差, 舌燥苔黄微腻, 脉象细数。证属放疗后热毒炽盛, 日久烧灼肺胃之阴。治宜清热解毒、养阴清肺, 兼顾脾胃, 佐以活血化痰止痛。处方: 银花30克, 黄连6克, 沙参30克, 天冬12克, 芦根30克, 枇杷叶30克, 橘皮10克, 百合12克, 生苡米30克(包煎), 焦三仙各9克, 生甘草6克, 三七粉3克(另包冲服)。7~14剂,

一日一剂, 2次分服。

6月8日二诊: 烧退, 剧咳、气短、胸闷等症明显减轻, 食欲渐有好转, 唯大便稍干, 苔薄黄, 脉细数。处方: 原方加全瓜蒌30克, 继服14剂。另服养阴清肺膏1斤, 每日早晚各服一匙。

6月22日~7月22日, 继续复诊2次, 以上病情进一步减轻, 患者于7月下旬在某医院再次行肺部X线片检查, 见肺部之放射性肺炎已基本消失。

体会: 随着我国常见恶性肿瘤的发病率日益上升, 开展胸部放射治疗的机会愈来愈多, 因此放射性肺炎及放射性肺纤维化的发生率亦在增加。近年来对一些肿瘤病人多采用放、化疗同时并用的综合疗法, 故引起肺部损伤的机会更多, 据Phillips报道, 应用争光霉素、自力霉素和长春新碱等化疗药物与胸部放射治疗配合应用时, 即使是小剂量的放疗量亦可引起严重的放射性肺损伤, 甚或造成病人死亡。因此放、化疗配合应用时认真掌握好放疗的总剂量、放疗的疗程、放射野的大小以及放射线的种类等是极为重要的。在胸部放射治疗时还应根据每个病人的体质、年龄和肿瘤的类型等而采取不同的放疗方案, 即中医所说的“同病异治”, 多能使肺部的放射性损伤发生率有所减轻。

目前本病的发生仍不失为胸部放疗中一种不易控制的并发症。近年来西医常用抗菌素、激素、抗凝血及抗组织胺制剂等治疗, 因这些疗法多停留在探索和实验阶段, 故其疗效多不理想。我们根据本病的病因、病机以及出现的主要症候进行中医辨证论治, 即放射线所造成的火毒内蕴, 日久损伤肺阴, 脾胃失调, 气血凝滞, 最后造成肺组织纤维化等机理, 采用清热解毒、养阴清肺、健脾和胃、活血化瘀等四大治法则进行辨证加减治疗。通过临床实践, 这一治法则是行之有效的。并体会到以预防治疗的效果最好, 即对每一病人在放疗开始之前1~2日就开始服用中药治疗, 一直到放疗结束时为止。如病人已出现了放射性肺损伤后再服中药, 则其疗效一般都较差。

中西药结合治疗家兔同种肾移植急性排斥反应的组织学及超微结构观察

(正文见 65 ~ 67 页)

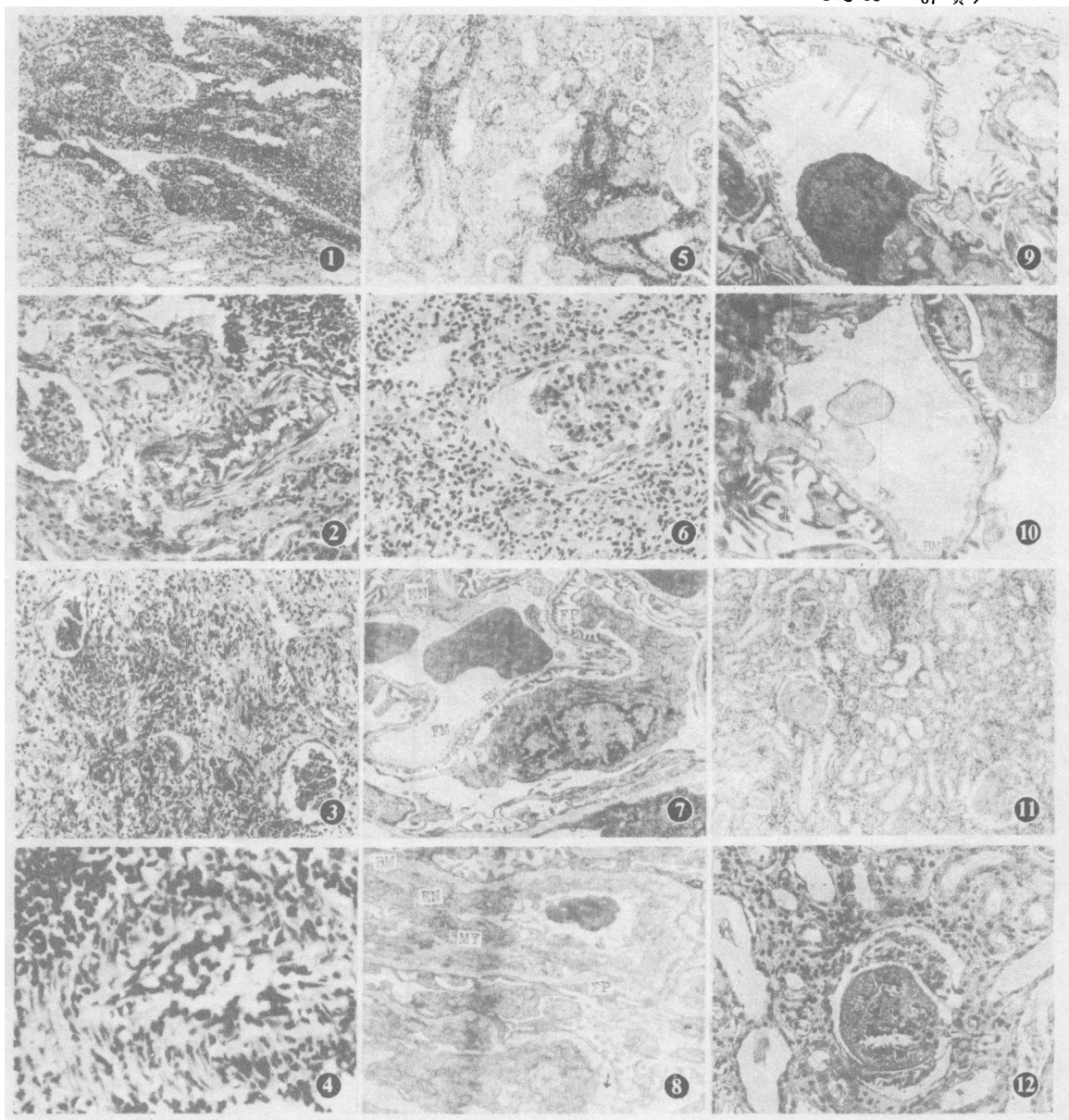


图 1 不给药组术后第 8 天, 间质内大量单核细胞浸润 (200×) 图 2 不给药组术后第 11 天, 血管外膜严重水肿, 大量单核细胞浸润, 肌层纤维变性, 内膜水肿, 红, 白细胞粘附于内膜 (250×) 图 3 不给药组术后第 11 天, 间质内有大量纤维素沉积, 水肿显著, 单核细胞浸润, 小球鲍氏囊内有蛋白液, 有的小球已经闭锁 (200×) 图 4 不给药组术后第 13 天, 血管壁为大量炎细胞浸润, 血管内腔被肿胀的内膜, 大量泡沫细胞、脱落的内皮及血球阻塞, 为典型的闭塞性动脉病 (500×) 图 5 不给药组术后第 7 天, 多数血管壁变性, 有的已被血栓栓塞 血管周围有密集的单核细胞浸润, 曲管上皮细胞变性严重, 不少曲管已经坏死, 有的曲管扩张, 管腔内有管型 (90×) 图 6 不给药组术后第 12 天, 间质内大量单核细胞浸润, 小球鲍氏囊上皮增生, 囊内有脱落的上皮细胞及炎细胞, 小球毛细血管丛系膜有纤维素样坏死 (250×) 图 7 正常肾小球滤过膜结构, EN 为内皮细胞, P 为足细胞, FP 为足细胞突, BM 为基底膜, FM 为窗孔膜 (10000×) 图 8 不给药组术后第 12 天, 内皮细胞 (EN) 增殖, 窗孔膜消失, 胞质内有髓磷体 (MY), 基底膜 (BM) 肿胀, 有的部位有纤维增生 (↑), 足突 (FP) 融合 (16500×) 图 9 中药组术后第 12 天, 内皮细胞窗孔膜 (FM) 清晰, 基底膜 (BM) 基本正常, 有的部位有肿胀, 足突 (FP) 轻度融合 (6100×) 图 10 中西药组术后第 12 天, 内皮细胞窗孔膜 (FM) 清晰, 基底膜 (BM) 有的部位有肿胀, 足突轻度融合足细胞 (P) 内细胞器增殖 (11000×) 图 11 中药组术后第 35 天, 间质内弥散的单核细胞浸润, 多数小球有部分毛细血管丛纤维素样坏死 (90×) 图 12 同上动物, 纤维素样坏死毛细血管丛的中倍镜检 (300倍)。