

98例肝移植患者术后肝穿刺活检标本组织病理学分析

周 静, 冯智英, 邵春奎

(中山大学附属第三医院病理科//器官移植研究所病理室, 广东 广州 510630)

摘要:【目的】对98例肝移植(OLTx)患者术后肝穿刺活检病理资料进行回顾性分析,探讨OLTx术后各种并发症的组织形态学表现,提高移植病理诊断水平。【方法】收集361例OLTx患者病例资料,其中98例OLTx患者术后因肝功能异常行肝穿刺活检,常规HE染色以及HBsAg、HBc、HCV、CMV免疫组化染色,部分病例行CK19免疫组化染色。【结果】98例患者共行肝穿刺129次,结果急性排斥反应最常见,共计42例(42.86%),其余为慢性排斥反应2例(2.04%),缺血-再灌注损伤8例(8.16%),胆道并发症21例(21.43%),血管并发症6例(6.12%),药物性肝损害3例(3.06%),肝炎病毒感染及肝炎复发8例(8.16%),CMV感染3例(3.06%),肝癌复发2例(2.04%),难以诊断3例(3.06%)。【结论】移植肝穿刺活检对移植术后并发症的诊断及鉴别诊断具有重要价值,可为临床选择治疗方案提供重要依据。

关键词:肝移植;术后并发症;活检组织检查;病理诊断

中图分类号:R657.3

文献标识码:A

文章编号:1672-3554(2007)04-0466-04

Pathologic Diagnosis of Transplantation Liver Puncture Biopsy: Histopathologic Analysis of 98 Cases

ZHOU Jing, FENG Zhi-ying, SHAO Chun-kui

(Department of Pathology, The Third Affiliated Hospital // Organ Transplantation Institute, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

Abstract: 【Objective】 To explore the histological morphological features of complications following orthotopic liver transplantation (OLTx) and improve the level of pathologic diagnosis. 【Methods】 All cases of post-transplantation liver biopsies were analyzed by using routine HE staining, and combined with immunohistochemical detection, including HBsAg, HBcAg, HCV, CMV, and CK19. Hepatic allograft rejection was determined according to Banff standard and scored with rejection activity index (RAI). 【Results】 A total of 129 times of liver biopsies in 98 cases were performed. Acute cellular rejection was most commonly seen in 42 cases (42.86%), and chronic rejection, ischemia-reperfusion injury, complication of biliary tract, complication of blood vessel, drug-induced damage, recurrence of hepatitis, CMV infection and recurrence of liver cancer were also found in 2 (2.04%), 8 (8.16%), 21 (21.43%), 6 (6.12%), 3 (3.06%), 8 (8.16%), 3 (3.06%), and 2 (2.04%) cases. Otherwise 3 cases of liver biopsies were unable to be diagnosed exactly by the above methods. 【Conclusion】 Percutaneous liver biopsy is valuable for the diagnosis of complications and selection of suitable treatments and should be proposed to use routinely after OLTx.

Key words: liver transplantation; postoperative complications; biopsy; pathologic diagnosis

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2007, 28(4):466-469]

目前,肝移植(orthotopic liver transplantation, OLTx)已成为治疗终末期肝病的有效措施,特别是20世纪90年代后期以来,我国OLTx发展速度明

显加快^[1]。OLTx术后并发症是影响OLTx疗效的最主要因素,而移植肝组织穿刺活检是目前对这些并发症进行鉴别诊断公认的最可靠手段之一。目

收稿日期:2006-08-15

基金项目:广东省科技计划项目(2006B36003012)

作者简介:周静(1974-),男,安徽宣城人,在读硕士研究生,邵春奎,通讯作者,副教授,硕士生导师,E-mail:shaock2001@yahoo.com

前,国内一些大的移植中心已初步掌握了OLTx病理诊断的基本要点,但不同单位对复杂和复合性病变特点的认识尚有一定差异。笔者对我院98例OLTx患者术后肝穿刺病理资料进行了回顾性分析,对OLTx术后并发症的病理形态特征进行总结,为提高国内OLTx病理诊断水平提供依据。

1 材料与方法

1.1 一般资料

收集中山大学附属第三医院自2003年9月至2005年12月间行OLTx患者病例361例,部分患者移植术后临床疑有排斥反应或肝功能异常者行经皮肝穿刺活检病理组织学检查。全部病例均符合以下条件:(1)肝穿刺活检组织显微镜下见到3个以上汇管区;(2)临床及实验室资料完整。在收集的361例病例中,共有98例入选。其中男性90例,女性8例,平均年龄46.35岁(年龄范围1~69岁);原发病病理诊断:乙型肝炎后肝硬化31例;肝恶性肿瘤35例;慢性重型乙型肝炎24例;丙型肝炎后肝硬化3例;胆汁性肝硬化2例;酒精性肝硬化1例;肝巨大血管瘤1例;先天性胆道闭锁1例。全部病例均采用附加腔静脉整形的改良背驮式原位肝移植。术后采用乙肝免疫球蛋白(HBIG)联合核苷类似物抗病毒预防乙肝病毒再感染。采用他克莫司或环孢素A、霉酚酸酯及激素三联或三联免疫抑制方案,术后3个月停用激素。

1.2 方法

1.2.1 HE染色 移植肝穿刺活检组织迅速经100 mL/L中性甲醛固定,石蜡包埋,连续切片,常规HE染色。对排斥反应病例,依照国际统一的Banff标准方案进行分级,应用排斥活动指数(rejection activity index, RAI)进行排斥反应程度评分^[2]。全部切片由专职移植病理医师进行诊断。

1.2.2 免疫组化染色 全部病例行HBsAg、HBcAg、HCV、CMV(巨细胞病毒)免疫组化染色,部分病例行CK19免疫组化染色,采用Envision二步法进行。鼠抗人HBsAg单克隆抗体、兔抗人HBcAg多克隆抗体及鼠抗人CK19单克隆抗体均购自DAKO公司,工作浓度分别为1:50、1:900及1:100;鼠抗人CMV单克隆抗体购自福建迈新公司,工作浓度为1:50;鼠抗人HCV单克隆抗体购自上海长岛公司,工作浓度为1:50;抗体稀释液及Envision试剂

盒均购自DAKO公司。

1.2.3 结果判断 HBsAg、HCV、CK19均为胞浆表达阳性,HBcAg、CMV主要表达于胞核,但胞浆亦可表达。

2 结果

2.1 肝穿刺病理诊断结果

本组病例每例行1~4次肝穿刺不等,穿刺时间在移植术后第2~784天,病理诊断结果见表1。

表1 98例(129例次)肝穿刺活检组织病理结果
Table 1 Pathologic diagnosis of 98 cases (129 times) transplantation liver puncture biopsy

Pathologic diagnosis	Cases [n (%)]	Times [n (%)]	Days*
Acute cellular rejection (ACR)	42 (42.86)	57 (44.19)	7-124
Chronic rejection (CR)	2 (2.04)	2 (1.55)	152-712
Ischemia-reperfusion injury (I/R)	8 (8.16)	11 (8.53)	6-18
Complication of biliary tract	21 (21.43)	28 (21.71)	8-784
Complication of blood vessel	6 (6.12)	7 (5.43)	2-48
Drug-induced damage	3 (3.06)	3 (2.32)	8-168
Recurrence of hepatitis	8 (8.16)	12 (9.30)	34-665
CMV infection	3 (3.06)	3 (2.32)	7-33
Recurrence of liver cancer	2 (2.04)	2 (1.55)	63-87
Unable to be diagnosed	3 (3.06)	4 (3.10)	21-97
Total	98 (100)	129 (100)	

* Days of post-transplantation

2.2 急性细胞排斥反应

急性细胞排斥反应(acute cellular rejection, ACR)最为常见,共42例,占42.86%,其中41例次发生于术后1~30 d(71.9%),发生于30 d以后者16例次(28.1%)。交界性至轻度急性排斥反应35例次(61.4%),中度急性排斥反应16例次(28.1%),重度急性排斥反应6例次(10.5%)。主要表现为发热,胆汁量减少,血清转氨酶升高,胆红素升高等。组织形态学上主要是出现以下三种表现:(1)汇管区混合炎细胞浸润,包括激活转化的淋巴细胞并混杂少量中性粒细胞及嗜酸性粒细胞;(2)小胆管炎,汇管区小胆管上皮细胞空泡变性,核固缩及坏死,淋巴细胞浸润至上皮内;(3)血管炎,汇管区小静脉和(或)小叶中央静脉内皮下淋巴细胞浸润(图1)。排斥反应较轻的病例经加大免疫抑制剂用量后症状缓解,较重者经大剂量激素冲击治疗亦缓解。本组病例中出现1例耐激

素排斥反应病例,激素冲击治疗无效,欲行再移植,患者放弃治疗。

2.3 慢性排斥反应

慢性排斥反应(chronic rejection, CR)发生 2 例,占 1.55%,均发生于术后 5 个月以后,其中 1 例发生于术后 2 年。其组织学表现为:(1)汇管区内胆管明显减少,经 CK19 免疫组织化学染色辅助鉴别(图 2);(2)中央静脉周围肝细胞内胆汁淤积、气球样变性、脱失及坏死。

2.4 缺血-再灌注损伤

缺血-再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury,

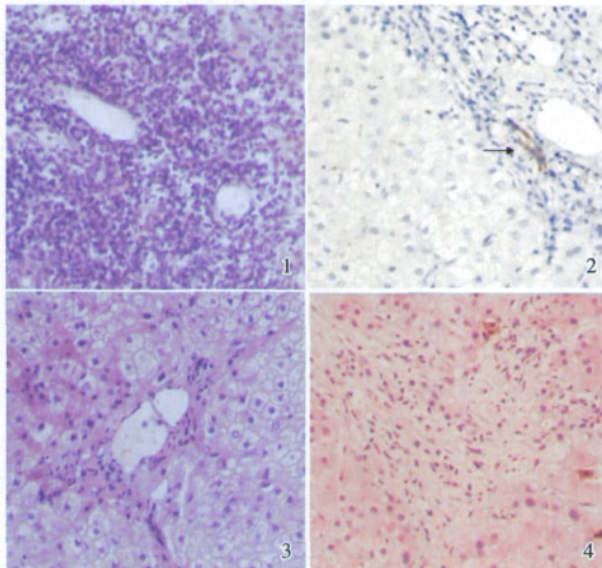


图 1 中-重度急性排斥反应

图 2 慢性排斥反应

图 3 缺血-再灌注损伤

图 4 胆道阻塞

Fig.1 Acute cellular rejection (moderate-severe)

Liver portal tract contains a dense mixed inflammatory infiltrate including lymphocytes, blast cells, and eosinophils. The interlobular bile duct and portal venule shows prominent inflammation infiltrate (HE $\times 100$)

Fig.2 Chronic rejection

Immunohistochemical staining of CK19 demonstrates the interlobular bile duct is decreased prominently (S-P $\times 100$)

Fig.3 Preservation-reperfusion injury in liver allograft

The hepatocyte shows widespread hydropic degeneration and ballooning degeneration. Inflammatory cells infiltrate lightly in portal tract (HE $\times 100$)

Fig.4 Biliary obstruction

The liver biopsy shows hepatocyte granular degeneration and acidophilic change accompanying cholestasis in hepatocyte and cholangiole. In portal tract, some neutrophil infiltrate around the interlobular bile duct (HE $\times 100$)

I/R) 发生 8 例,占 8.16%,均发生于术后 1-2 周,其病理表现以肝细胞水样变性、气球样变性及脂肪变性伴肝实质淤胆为主,汇管区少量炎细胞浸润(图 3)。

2.5 胆道并发症

21 例,占 21.43%,包括胆道感染及梗阻性病变,发生于术后 1 周到 26 个月。病理表现以汇管区中性粒细胞浸润为主,伴有水肿或纤维化;小叶间胆管增生,上皮细胞变性、坏死;肝细胞点状或灶性坏死;肝细胞及毛细胆管出现程度不等的胆汁淤积(图 4)。7 例患者因胆道并发症而行再次肝移植。

2.6 血管并发症

6 例,占 6.12%,病理表现主要为中央静脉及静脉周围肝窦扩张,肝细胞水样变性及嗜酸性变,并有点状或灶性坏死,汇管区少量炎细胞浸润,有较严重肝动脉狭窄或栓塞的,则肝实质内出现多灶性凝固性坏死并伴有血管壁坏死。2 例患者因发生严重血管并发症而行再次肝移植。

2.7 肝炎病毒感染及肝炎复发

8 例,占 8.16%,多发生于术后 3 个月以后,病理表现以肝细胞变性、坏死及炎细胞浸润为主,免疫组化染色 HBsAg 和(或)HBcAg 阳性,血清学检查 HBsAg 和 HBVDNA 均阳性。其中 1 例丙型肝炎复发病例,发生于术后第 40 天。

2.8 其他并发症

本组尚发生药物性肝损伤 3 例(3.06%),均有明确的用药史,病理表现为肝细胞水肿及脂肪变性、坏死及淤胆,毛细胆管淤胆等。巨细胞病毒(CMV)感染发生 3 例(3.06%),见于术后 1 个月左右,病理表现为肝细胞索内见微小脓肿形成,常见肝细胞凋亡,CMV 免疫组化染色及血清学 CMV 病毒的检测均阳性。2 例肝癌复发病例则发生于术后 60 d 及 90 d 以后。

3 讨论

国内外资料显示,ACR 在 OLTx 术后的发生率约为 50%-80%^[1]。本组病例中,ACR 仍然是术后最常见的并发症,是肝穿刺活检病理诊断的重点,但在所收集的 361 例病例中,仅占 11.63%,主要是因为我院尚未实行临床计划性肝穿刺(protocol biopsies),OLTx 患者术后肝穿活检率较低。本组

ACR多见于术后1个月内,7~14 d为高峰,与报道相似^[3]。ACR的病理诊断基础主要依据Banff标准,包括汇管区内混合炎症细胞的浸润,胆管炎及血管内皮炎。在多数病例中,嗜酸性粒细胞常恒定出现,有报道证实嗜酸性粒细胞的计数与ACR的程度成正相关^[4],至于肝细胞变性及坏死并无特异性。由于ACR的临床及实验室生化改变与缺血-再灌注损伤(I/R)区别不明显,且发生时间与I/R重叠,因此在诊断时需格外注意。本组I/R多见于术后1~2周,其病理表现主要肝细胞气球样变明显,伴肝细胞内淤胆,汇管区炎细胞浸润轻微。通过有无ACR典型“三联症”表现,可对ACR及I/R进行鉴别。对ACR及时、正确的诊断及临床合理用药,绝大多数病变都可逆转,但频繁发作的ACR有可能演变成CR。本组病例中CR少见,其组织学诊断标准为:(1)闭塞性动脉病变;(2)胆管消失综合征^[5]。但在穿刺组织内难以见到大动脉病变,主要是以小叶间胆管的进行性损伤及消失,中央静脉周围的肝细胞淤胆,气球样变性及坏死为诊断依据。笔者体会,发生CR时,汇管区炎细胞浸润的程度与病变程度常不成比例。在诊断CR时,需要有足够量的汇管区,因此在诊断时需谨慎,必要时可适时重复肝穿确认,CK19染色有助于观察小胆管的数量和形态,同时应与胆道并发症、肝炎及药物性肝损害等相鉴别。

本组病例中,胆道并发症的发生率仅次于ACR,可发生于术后任何时期内,感染多见于术后30 d以内,梗阻多见于90 d以后。病理表现包括小叶中心肝细胞内及毛细胆管淤胆、胆小管增生、伴有以中性粒细胞为主的炎细胞浸润等。早期的胆道梗阻或胆管炎需与ACR鉴别,尤其是在应用了免疫抑制药物以后,分辨炎症细胞的类型具有重要的鉴别意义,胆道并发症以汇管区出现大量中性粒细胞为特征,ACR则多为混合炎细胞或单个核细胞浸润,而不同区域见到的胆小管增生则有助于胆道并发症与CR鉴别。肝内胆汁淤积是胆道并发症常见的病理特征,但不具特异性,在I/R、ACR和药物损伤等诸多情况下均可出现^[6]。肝动脉血栓形成等血管并发症是影响术后肝功能恢复的重要因素,其典型组织病理学表现主要是肝实质片状出血及典型的凝固性坏死,且以小叶中央区最为严重,非梗死区则表现为肝细胞及胆管的变性坏死,伴有不同程度的淤胆,但若在典型的凝固

性坏死灶形成之前穿刺或坏死灶较小,未穿刺到病变组织,则难以通过穿刺确诊,肝动脉造影有助于确诊^[7,8]。

OLTx术后肝炎复发和病毒感染是影响病人长期存活的主要问题,本组肝炎复发者的组织学表现以肝细胞变性、坏死、枯否细胞肿胀、汇管区炎细胞浸润为主,典型者可见到肝细胞胞浆毛玻璃样改变,结合免疫组化及血清病毒学检查可以确诊。CMV感染性肝炎则以肝细胞点状或灶性坏死伴中性粒细胞浸润为特点,有时在坏死的肝细胞周围见到小脓肿或巨噬细胞组成的小肉芽肿,典型的病毒包涵体^[9]在本组病例并未见到,在形态上甚难与HBV肝炎鉴别,结合CMV免疫组化、临床症状及实验室检查才明确诊断。

目前,由于OLTx术后用药剂量、种类及疗程的复杂性,药物性肝损害越来越受到重视,也取得了一些新的研究进展^[10],其病理表现主要为肝细胞气球样变或脂肪变性,小叶中央肝细胞脱落或坏死,有散在嗜酸性小体,汇管区胆管破坏以及单个核细胞浸润。因其组织学表现多样且无特异性,有时与ACR、I/R等改变相重叠,诊断时必须密切结合临床用药史、血药浓度及肝功能变化并做好排除诊断。

通过本组资料分析发现,OLTx术后各种并发症的检出率受各种因素影响,多种病变重叠时病理表现复杂,给病理诊断和鉴别诊断带来了很大的干扰。在掌握OLTx术后各种并发症的特征性病变的同时,病理医生应与临床医生密切合作,充分了解移植手术时间、并发症的发生时间、临床症状、血清生化及影像学检查结果等,进行综合分析后做出病理诊断,以利于临床合理治疗。

参考文献:

- [1] WIESNER R H, RAKELA J, ISHITANI M B, et al. Recent advances in liver transplantation [J]. Mayo Clin Proc, 2003, 78(2):197-210.
- [2] An International Panel. Banff Schema for grading liver allograft rejection: an international consensus document [J]. Hepatology, 1997, 25(3):658-663.
- [3] CONG W M, ZHANG S Y, WANG Z L, et al. Pathologic diagnosis of 1123 post-transplant liver biopsies from 665 liver transplant patients [J]. Zhonghua Bingli Xue Za Zhi, 2005,34(11):716-719.

(下转第475页 to page 475)

玻璃体腔的生长,从而使眼球向正视眼的方向发展。这种婴幼儿期的远视不需要矫正,如果加以矫正,则会出现类似于本实验中近视性离焦猴的结果,即正常的正视化过程受到影响。而 Hung 等的研究也确实表明,过早对年幼儿的远视状态进行矫正会阻碍其正常的正视化过程^[12],与本实验理论完全吻合。由此可见,研究光学离焦对幼猴正视化过程的影响对探索人类正视化过程具有潜在的临床价值。

参考文献:

- [1] QIAO-GRIDER Y, HUNG L F, KEE C S, et al. Normal ocular development in young rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) [J]. *Vision Res*, 2007, 47(11): 1424-1444.
- [2] WALLMAN J, WINAWER J. Homeostasis of eye growth and the question of myopia [J]. *Neuron*, 2004, 43(4): 447-468.
- [3] ZHONG X, GE J, NIE H, et al. Effects of photorefractive keratectomy-induced defocus in emmetropization of infant rhesus monkeys [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45(10): 3806-3811.
- [4] 吴君舒, 钟兴武, 葛坚, 等. 光学离焦和形觉剥夺对幼恒河猴正视化过程的影响 [J]. *眼科学报*, 2004, 20(2): 118-122.
- [5] KEE C S, HUNG L F, QIAO-GRIDER Y, et al. Temporal constraints on experimental emmetropization in infant monkeys [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007, 48(3): 957-962.
- [6] 钟兴武, 葛坚, 刘念. 隐形眼镜配戴对近视眼视网膜成像质量的影响 [J]. *中山大学学报:医学科学版*, 2005, 26(5): 555-558.
- [7] ZHONG X, GE J, NIE H, et al. Compensation for experimentally induced hyperopic anisometropia in adolescent monkeys [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45(10): 3373-3379.
- [8] SMITH E L 3rd, HUNG L F, HARWERTH R S. Development visual system anomalies and the limits of emmetropization [J]. *Ophthalmol Physiol Opt*, 1999, 19(2): 90-102.
- [9] BRADLEY D V, FERNANDES A, LYNN M, et al. Emmetropization in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*): birth to young adulthood [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1999, 40(1): 214-229.
- [10] TROILO D, NICKLA D L, MERTZ J R, et al. Change in the synthesis rates of ocular retinoic acid and scleral glycosaminoglycan during experimentally altered eye growth in marmosets [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(5): 1768-1777.
- [11] TKATCHENKO A V, WALSH P A, TKATCHENKO T V, et al. Form deprivation modulates retinal neurogenesis in primate experimental myopia [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(12): 4681-4686.
- [12] HUNG L F, CRAWFORD M L, SMITH E L 3rd. Spectacle lenses alter eye growth and refractive status of young monkeys [J]. *Nature Med*, 1995, 1(8): 761-765.

(编辑 刘清海)

(上接第 469 页 from page 469)

- [4] NAGRAL A, QUAGLIA A, SABIN C A, et al. Blood and graft eosinophils in acute cellular rejection of liver allografts [J]. *Transplant Proc*, 2001, 33(4):2588-2593.
- [5] DEMETRIS A, ADAMS D, BELLAMY C, et al. Update of the International Banff Schema for Liver Allograft Rejection: working recommendations for the histopathologic staging and reporting of chronic rejection. An International Panel [J]. *Hepatology*, 2000, 31(3):792-799.
- [6] BEN-ARI Z, PAPPO O, MOR E. Intrahepatic cholestasis after liver transplantation [J]. *Liver Transpl*, 2003, 9(10):1005-1018.
- [7] ZHENG S S, LIANG T B, YU Z Y, Diagnosis and treatment of hepatic artery thrombosis after liver transplantation [J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2004, 84(18):1536-1540.
- [8] 陈敏强, 陈规划, 杨杨, 等. 肝移植术后血管并发症的原因与对策 [J]. *中山大学学报:医学科学版*, 2003, 24(5):485-487.
- [9] LAUTENDCHLAGER I, HALME L, HOCKERSTEDT K, et al. Cytomegalovirus infection of the liver transplant: virological, histological, immunological, and clinical observations [J]. *Transpl Infect Dis*, 2006, 8(1):21-30.
- [10] RUSSO M W, GALANKO J A, SHRESTHA R, et al. Liver transplantation for acute liver failure from drug induced liver injury in the United States [J]. *Liver Transpl*, 2004, 10(8):1018-1023.

(编辑 孙慧兰)