

肝硬化门脉高压患者肝动脉与门静脉病理变化分析

张浩¹,李波^{2△}

(1.四川省人民医院肝胆胰外科,成都 610072;2.四川大学华西医学中心肝脏外科,成都 610041)

[摘要] **目的** 研究肝硬化后门静脉高压病例大血管血管壁的组织结构改变,探讨诱导型一氧化氮合酶(iNOS)在肝硬化发生进程中的作用。**方法** 收集肝硬化肝移植病例的门静脉左支、左肝动脉和肝左静脉 27 例作为病例组,同期外伤性肝切除相应血管 15 例为对照组。分别予以 HE 染色、Masson 染色,肝动脉加用弹力纤维染色和兔抗人 iNOS 多克隆抗体免疫组织化学。**结果** 病例组门静脉内膜、中膜增厚,中膜平滑肌细胞增生、肥大,部分突出至内膜下;肝动脉内膜不规则增生,动脉管腔变窄,动脉壁内弹力膜变平、甚至断裂,中膜平滑肌向内膜增生;肝静脉壁组织结构没有明显改变。iNOS 在肝动脉平滑肌细胞胞质呈高表达。**结论** 肝硬化患者肝动脉与门静脉血管壁会继发组织结构重建,这是人体自身代偿机制的结果,iNOS 的高表达加速了该组织结构重建的发生、发展。

[关键词] 肝硬化;高血压,门静脉;门脉高压性血管病变;诱导型一氧化氮合酶**[中图分类号]** R575.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)20-2767-03

Analysis on pathological changes of portal vein and hepatic artery in patient with cirrhotic portal hypertension

Zhang Hao¹, Li Bo^{2△}

(1. Department of Hepatopancreatobiliary Surgery, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610072, China;

2. Department of Liver Surgery, West China Medical Center, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China)

[Abstract] **Objective** To research the tissue structure changes of vessels wall in the patients with liver cirrhotic portal hypertension and to investigate the role of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in development process of liver cirrhosis. **Methods** The left portal vein, left hepatic artery and left hepatic vein ($n=27$) were collected from the patients with liver transplantation as the case group and the corresponding vessels of traumatic hepatectomy were collected as control group ($n=15$). HE staining and Masson staining were performed respectively. The hepatic arteries were stained with elastic fibers and immunized with anti-human iNOS polyclonal antibody. **Results** Compared with the control group, the portal vein intima and tunica media in the case group were thickened, the smooth muscle cells of tunica media were hyperplasia and hypertrophy, partial smooth muscle cells protruded into the intima; the irregular proliferation of hepatic arterial intima, arterial luminal stenosis, internal elastic membrane flatten, and even fracture, the tunica media smooth muscle hyperplasia to the intima were also observed; no obvious structural changes were observed in the hepatic vein wall. The higher expression of iNOS was found in the cytoplasm of hepatic artery smooth muscle cells ($P<0.01$). **Conclusion** The walls of liver artery and portal vein in the patients with liver cirrhosis would secondarily develop the tissue structure reconstruction, which is the results of human body's own compensatory mechanism, the higher expression of iNOS accelerates the occurrence and development of the tissue structure reconstruction.

[Key words] liver cirrhosis; hypertension, portal; portal hypertensive vasculopathy; inducible nitric oxide synthase

肝硬化门脉高压患者常并发有内脏血管的一系列病理结构重建,统称为门脉高压血管病变(portal hypertensive vasculopathy, PHV)。现有针对 PHV 的研究大都集中在脾血管、胃肠道静脉等处^[1-3],而对人体肝静脉、肝动脉、门静脉的研究极少,只有一些动物实验的研究报道^[4-6]。另外,一氧化氮(nitric oxide, NO)在促进肝硬化发生、发展中的作用已经得到证实^[6-7],而诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)作为 NO 合成酶的一种,是否在此类患者肝动脉血管壁高表达,是否参与 PHV 形成,现在尚有争议。笔者收集肝硬化患者和外伤性肝切除相应的病理标本进行相关问题的验证与探讨,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 为了避免选择偏倚,本研究尽量选择左肝血

管进行该研究,收集四川大学华西医院 27 例肝硬化肝移植患者门静脉左支、肝动脉左支及左肝静脉各 3~5 cm,各标本均无肿瘤压迫,癌栓侵犯等情况;而对照组标本 15 例来自外伤性肝破裂需行半肝切除术的肝动脉、门静脉和肝静脉一段,左肝 12 例,右肝 3 例。

1.2 方法 两组标本均予 10% 甲醛固定、包埋与切片,再行 HE 染色、Masson 染色和弹力纤维染色;动脉标本予以兔抗人 iNOS 多克隆抗体(武汉博士德生物工程有限公司)免疫组织化学染色分析。在光镜下观察各种染色分析结果,在病理图像采集系统(NIKON ECLIPSE E600)采集后,用 Image Pro Plus 4.5 系统于高倍镜下($\times 400$),对每张切片随机选取 4 个视野,进行病理图像的分析,获得每个图像的光密度值(OD)和总的染色阳性面积(SUM),再分别求其均值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件包进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 Levene 检验检查其方差齐性,再用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 病例组患者年龄 22~69 岁,平均(44.89±11.32)岁;男 25 例,女 2 例;术前肝功能 Child-Pugh 分级:A 级 9 例(33.33%)、B 级 5 例(18.52%)、C 级 13 例(48.15%);均确诊为肝硬化失代偿,其中酒精性肝硬化 3 例(11.11%),自身免疫性肝炎肝硬化 1 例(3.70%),乙肝后肝硬化 23 例(85.19%)。尽管病例组有不同病因,但最终都会导致肝组织的大小不等的增生结节,肝小叶结构异常,从而发展为肝硬化,

引起肝脏血管的继发改变,因而虽然病因不一致,但血管病变表现没有差异。病例组同时伴有肝细胞肝癌患者 12 例,占总数 44.44%,均为乙型肝炎。对照组年龄 21~51 岁,平均(36.20±10.13)岁,男 14 例,女 1 例,术前肝功能均为 A 级,2 例为乙型肝炎病毒携带者。

2.2 两组 OD、SUM 比较 两组 OD、SUM 比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组 OD、SUM 比较

组别	OD	SUM
病例组	0.170±0.023	16.801±4.117
对照组	0.109±0.019	10.727±3.553

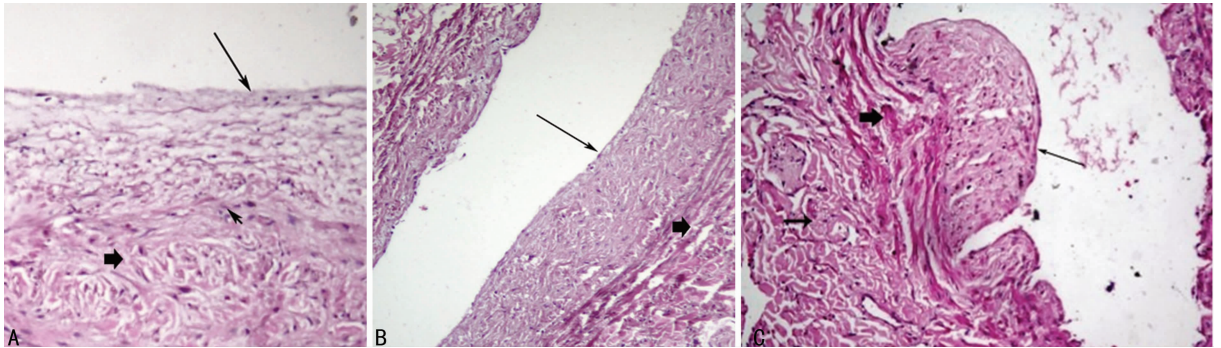


图 1 两组门静脉 HE 染色
A:对照组($\times 200$)内膜薄(长箭头),中膜有一薄层的环形平滑肌(三角短箭头),分布松散,外膜厚,可见纵行的平滑肌(粗箭头);B:病例组($\times 200$)内膜弥漫性增厚,增生明显(长箭头),中膜环形平滑肌明显增厚(粗箭头),层数增加,肌细胞增粗,胞浆肥厚;C:病例组($\times 400$)内膜不规则增生,类似粥样斑块形成(长箭头),中膜平滑肌细胞增生、扭曲,不规则增厚,向内膜迁移(粗箭头)

图 1 两组门静脉 HE 染色

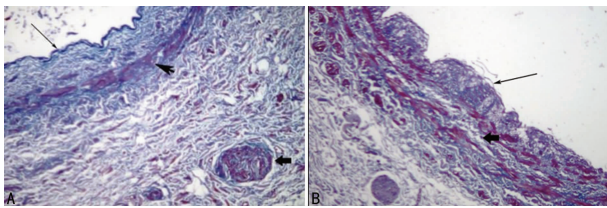


图 2 两组门静脉 Masson 染色
A:对照组($\times 200$)内膜薄(长箭头),有一薄层的环形平滑肌(三角短箭头)分布松散,外膜厚,可见纵行的平滑肌(粗箭头);B:病例组($\times 200$)内膜增厚(长箭头),中膜平滑肌增生,层数增加,肌细胞增粗胞浆肥厚(短箭头)

图 2 两组门静脉 Masson 染色

2.3 临床病理 门静脉:对照组内膜较薄,中膜由几层排列疏松的环行平滑肌组成,外膜较厚,由结缔组织构成,常含有较多的纵行平滑肌束。病例组内膜弥漫性或局灶性增厚,含大量平滑肌细胞;增生斑块呈丘状,突向腔内,受损血管内皮表面有微小血栓形成;中膜平滑肌细胞增生、肥大,部分突出至内膜下,见图 1~2。肝动脉:对照组内膜壁薄,内弹力膜(internal elastic membrane, IEM)呈波浪状;中膜较厚,由 10~40 层排列的平滑肌组成;外膜厚度与中膜相当,由疏松结缔组织组成。病例组动脉内皮细胞受损,部分内皮细胞脱落,血小板黏附内膜,内膜增厚,中膜平滑肌移行至内膜;弹力纤维染色内弹力膜变平,或完全断裂;中膜部分平滑肌细胞增生突出至内膜下,排列紊乱,见图 3~5。肝静脉未见明显改变。对照组中膜平滑肌细胞 iNOS 表达弱阳性,为淡黄色颗粒状;病例组中膜平滑肌细胞胞质内高表达,颜色从黄色到棕褐色,片状,中间包绕染

色呈蓝色的细胞核。见图 6。

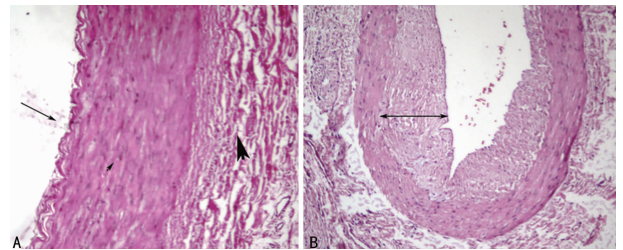


图 3 两组动脉 HE 染色($\times 100$)
A:对照组内膜薄(长箭头),内弹力膜连续,呈波浪状,中膜很厚(小三角箭头),外膜(大三角箭头)为一层厚的疏松结缔组织;B:病例组可见内膜明显不规则增厚(箭头)

图 3 两组动脉 HE 染色($\times 100$)

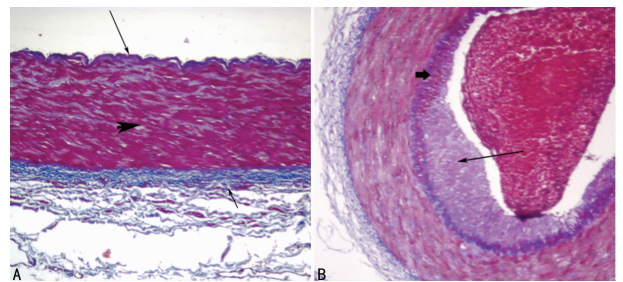
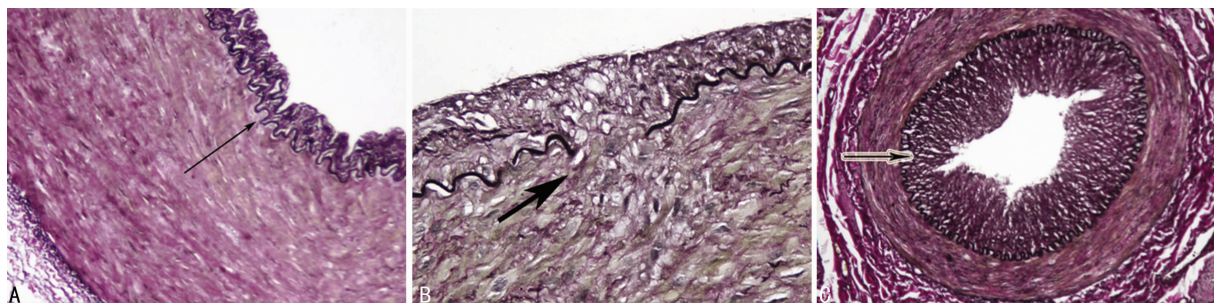


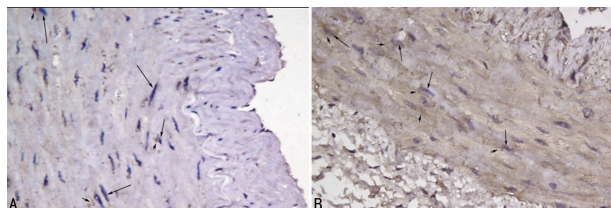
图 4 两组动脉 Masson 染色
A:对照组($\times 100$)长箭头、三角箭头和短箭头分别指向内膜、中膜与外膜;B:病例组($\times 200$)内膜明显增生(长箭头),部分平滑肌细胞向内膜下生长形成新内膜(粗箭头)

图 4 两组动脉 Masson 染色



A: 对照组(×200)内膜薄,仅一薄层内皮细胞,其下即内弹力膜(箭头),内弹力膜呈波浪状,起伏好,有弹性;B: 病例组(×400)内膜增生,内弹力膜断裂,中膜平滑肌细胞向内膜迁移形成新生内膜(箭头处);C: 病例组(×100)内膜广泛增生,动脉管腔明显狭窄

图 5 两组肝动脉弹力纤维染色



A: 对照组(×400)中膜平滑肌细胞胞浆着色浅淡,呈颗粒状(短箭头),包绕在平滑肌细胞核(长箭头)周围;B: 病例组(×400)中膜平滑肌细胞胞浆着色深,呈黄褐色,片状(短箭头),包绕在平滑肌细胞核(长箭头)周围

图 6 两组肝动脉 iNOS 染色

3 讨论

门脉高压的形成是一个复杂的病理生理过程,各种原因导致的肝内血管阻力增加是门脉高压的始动因素。此时,血管内皮细胞在各种损伤因子如剪应力等作用下出现损伤和脱落,致胶原纤维暴露,血小板聚集,血栓形成;同时,内皮细胞表达黏附分子,并释放趋化因子等促使单核细胞与内皮细胞结合并穿透内皮细胞浸入内膜下层,也促使血管平滑肌细胞向内膜下迁移及增生,合成大量细胞外基质沉积于血管壁以形成新生内膜^[5-6],导致血管构型改建。

而针对肝硬化门脉高压下血管构型改变的研究,有的着眼于在人体标本容易取材的脾血管、胃底静脉等处;有的就是动物模型下门静脉、肝动脉等的研究,缺乏人体门静脉和肝动脉在肝硬化、门脉高压下的病理构型改变及可能机制的研究。

本研究证实,无论是门静脉壁或肝动脉血管壁,都能观察到血管内膜的损伤、增生,甚至血栓形成。在门静脉,增厚内膜内可见大量的平滑肌细胞;中膜增厚,含有大量密集增生的肌肉纤维,这些增生的平滑肌细胞和肌肉纤维使得门静脉的有效收缩力成倍增加^[8],是形成肝脏血管重构的重要因素^[9-10]。而在肝动脉,增厚的内膜使得动脉管腔狭窄,内弹力膜变平甚至断裂;中膜平滑肌细胞萎缩变形,排列紊乱,并从收缩型变成合成型^[11],肝动脉壁收缩结构破坏和收缩力降低,狭窄的动脉管腔和低下的动脉收缩能力,可能会造成肝脏动脉血供的不足。

血管壁本身作为一种复杂的生物学材料,在一定压力范围内,血管张力、跨壁压和血管的几何参数遵循生物力学 Laplace 定律^[12]。血管的张力在弹性范围内,跨壁压增加时,可通过增加壁厚厚度、减少血管半径来进行调节,这也符合观察结果。机体通过增加入肝血流的血管壁厚度,血管管腔的狭窄,来平衡血管跨壁压增加给血管张力带来的影响,在一定程度上起代偿性调节的作用。但是,当肝硬化逐渐加重,入肝血流跨壁压超过血管自身代偿能力的时候,压力不再能够通过血

管自身调节得到舒缓,表现为肝动脉内弹力膜折叠变平、甚至断裂。此时,门静脉压力也不断增大,参与门静脉高压的形成,在病变后期,甚至出现门静脉血液的逆流^[13]。因此,上述入肝血管管壁结构的病理改变,不仅是机体在肝硬化后,自身调节的结果,也是参与和加剧门静脉高压症形成和发展的原因。

在肝硬化门脉高压患者血液内,NO 释放增加,并伴有内脏动脉的扩张和门静脉血流增加;同时,研究显示 NO 还是肝内动脉血管重构的重要因素^[5],因此,NO 是参与肝硬化发生、发展的重要一环,那么 iNOS 是否在肝动脉血管壁表达增加,显得至关重要。本试验证实了 iNOS 在肝动脉壁的高表达;也有研究显示^[14-15],iNOS 在肝炎等因素导致的慢性肝损伤时高表达,并促进了肝纤维化进程,因此,笔者认为 iNOS 在慢性肝病患者表达是增加的。

笔者设想:当入肝血流阻力增加引致肝动脉内膜增厚,平滑肌细胞逐渐由收缩型转变为合成型以后,iNOS 表达增加,并参与调节肝硬化腹水患者周围血管张力^[16],促进高动力循环的发生发展;而 iNOS 高表达大量合成了 NO,一方面参与血管结构重建,另一方面和其他的血管活性物质一起,促进全身与局部的血流动力学的高循环状态。因此,可以得出结论:iNOS 的高表达参与了 PHV 的形成,并直接和间接地影响了肝硬化的发展进程。

综上所述,在各种原因导致肝脏入肝血流阻力持续增加以后,机体在自身代偿作用的驱使下,进行自我修复与调节,最终形成了 PHV 与高动力循环,再加上机体自身的基础病变:肝硬化门脉高压症,在三者之间相互促进、影响,最终形成一个恶性循环。

参考文献

- [1] Zeng J, Jy FN, Xu JQ, et al. Down-regulation of the gax gene in smooth muscle cells of the splenic vein of portal hypertension patients[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2006, 5(2): 242-245.
- [2] Negreanu L, Full NL, Andronescu D, et al. Portal hypertensive gastropathy[J]. *Rom J Intern Med*, 2005, 43(1/2): 3-8.
- [3] Misra V, Misra SP, Dwivedi M, et al. Colonic mucosa in patients with portal hypertension [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2003, 18(3): 302-308.
- [4] Huang HC, Chang CC, Wang SS, et al. The roles of angiotensin II receptors in the portosystemic collaterals of portal hypertensive and cirrhotic rats[J]. *J Vasc Res*, 2012, 49(2): 160-168.

综上所述,利拉鲁肽联合甘精胰岛素在降糖、调脂、降体质量和胰岛功能恢复效果方面显著优于强化胰岛素治疗,值得临床推广应用。

参考文献

- [1] 潘长玉. 2 型糖尿病早期应用利拉鲁肽的益处[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2012, 28(4): 1-4.
- [2] 陈睿, 陈莉明, 于珮, 等. 利拉鲁肽和门冬胰岛素 30 对超重和肥胖 2 型糖尿病患者的疗效和安全性比较[J]. 中华糖尿病杂志, 2013, 5(5): 270-274.
- [3] 牛颜丽, 吴国富, 袁靖. 胰岛素治疗的肥胖 2 型糖尿病患者加用利拉鲁肽的临床疗效研究[J]. 中国全科医学, 2014, 17(1): 56-60.
- [4] 马凤海, 李秀钧. 胰岛 β 细胞自身胰岛素抵抗和 2 型糖尿病——胰岛素抵抗研究的新领域[J]. 国外医学(内分泌学分册), 2004, 24(3): 154-155.
- [5] 耿劲松, 陈英耀, 吴博生. 胰岛素注射笔相对于传统注射器治疗糖尿病效果的系统评价[J]. 中国全科医学, 2014, 17(2): 173-176.
- [6] 梁翠格, 董庆玉, 杜文华, 等. 2 型糖尿病持续皮下胰岛素输注治疗起始剂量与体质指数相关性研究[J]. 实用医学杂志, 2014(15): 2408-2410.
- [7] Yang W, Chen L, Ji Q, et al. Liraglutide provides similar glycaemic control as glimepiride (both in combination with metformin) and reduces body weight and systolic

blood pressure in Asian population with type 2 diabetes from China, South Korea and India: a 16-week, randomized, double-blind study[J]. Diabetes Obes Metab, 2011, 13(1): 81-88.

- [8] 杨文英, 刘晓民, 马建华, 等. 利拉鲁肽与格列美脲联合二甲双胍对 2 型糖尿病的疗效和安全性比较[J]. 中华糖尿病杂志, 2011, 3(6): 457-462.
- [9] 郭晓蕙. 利拉鲁肽对胰岛 β 细胞保护作用的研究进展[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2011, 27(10): 877-880.
- [10] 邹大进. 人胰升糖素样肽 1 类似物利拉鲁肽减轻 2 型糖尿病患者体重的作用[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2011, 27(8): 703-706.
- [11] 胡瑛, 苏欣, 刘灵佳, 等. 胰升糖素样肽 1 类似物利拉鲁肽对正常人和 1 型糖尿病患者 $CD4^+ CD25^-$ T 细胞增殖的影响[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2013, 29(6): 474-478.
- [12] 陆菊明. 利拉鲁肽提高 2 型糖尿病患者复合终点达标率[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2012, 28(7): 609-612.
- [13] 王远征, 曲琨. 甘精胰岛素联合诺和灵 R 强化治疗初发 2 型糖尿病的疗效与安全性[J]. 山东医药, 2012, 52(21): 73-74.
- [14] 刘湘茹, 胡德龙, 薛珮怡, 等. 甘精胰岛素联合瑞格列奈与双相门冬胰岛素治疗新诊断 2 型糖尿病的效果比较[J]. 广东医学, 2014, 34(10): 1603-1605.

(收稿日期: 2017-02-10 修回日期: 2017-04-18)

(上接第 2769 页)

- [5] Zipprich A, Loureiro-Silva MR, Jain D, et al. Nitric oxide and vascular remodeling modulate hepatic arterial vascular resistance in the isolated perfused cirrhotic rat liver[J]. J Hepatol, 2008, 49(5): 739-745.
- [6] Leung TM, Fung ML, Liong EC, et al. Role of nitric oxide in the regulation of fibrogenic factors in experimental liver fibrosis in mice[J]. Histol Histopathol, 2011, 26(2): 201-211.
- [7] Hu LS, George J, Wang JH. Current concepts on the role of nitric oxide in portal hypertension[J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(11): 1707-1717.
- [8] Majesky MW, Giachelli CM, Reidy MA, et al. Rat carotid neointimal smooth muscle cells reexpress a developmentally regulated mRNA phenotype during repair of arterial injury[J]. Circ Res, 1992, 71(4): 759-768.
- [9] Lemoine S, Cadoret A, Rautou PE, et al. Portal myofibroblasts promote vascular remodeling underlying cirrhosis formation through the release of microparticles[J]. Hepatology, 2015, 61(3): 1041-1055.
- [10] Fausther M, Dranoff JA. Beyond scar formation: portal myofibroblast-mediated angiogenesis in the fibrotic liver[J]. Hepatology, 2015, 61(3): 766-768.
- [11] Lincoln TM, Dey N, Sellak H. Invited review: cGMP-de-

pendent protein kinase signaling mechanisms in smooth muscle: from the regulation of tone to gene expression[J]. J Appl Physiol (1985), 2001, 91(3): 1421-1430.

- [12] Srivastava A, Sood A, Joy PS, et al. Principles of physics in surgery: the laws of mechanics and vectors physics for surgeons-part 2[J]. Indian J Surg, 2010, 72(5): 355-361.
- [13] Hirata M, Kurose K, Minami H, et al. Clinical characteristics of portal hemodynamics in alcoholic liver cirrhosis[J]. Alcohol Clin Exp Res, 2004, 28(8 Suppl): S148-152.
- [14] Aram G, Potter JJ, Liu X, et al. Lack of inducible nitric oxide synthase leads to increased hepatic apoptosis and decreased fibrosis in mice after chronic Carbon tetrachloride administration[J]. Hepatology, 2008, 47(6): 2051-2058.
- [15] Tache DE, Stănculescu CE, Banișă IM, et al. Inducible nitric oxide synthase expression (iNOS) in chronic viral hepatitis and its correlation with liver fibrosis[J]. Romanian J Morphol Embryol, 2014, 55(2 Suppl): S539-543.
- [16] Ferguson JW, Dover AR, Chia S, et al. Inducible nitric oxide synthase activity contributes to the regulation of peripheral vascular tone in patients with cirrhosis and ascites[J]. Gut, 2006, 55(4): 542-546.

(收稿日期: 2017-02-03 修回日期: 2017-04-28)