

· 实验研究 Experimental research ·

TIPS 术后再狭窄组织免疫组化分析

卢 勤, 安艳丽, 邓 钢, 方 文, 朱光宇, 李国昭, 魏晓莹*, 卢园园*, 滕皋军

【摘要】 目的 探讨经颈静脉肝内门腔分流术(TIPS)后再狭窄多种组织成分的变化,为揭示 TIPS 分流道再狭窄的形成机制提供更多的信息。**方法** 对 6 只 25kg 左右的家猪进行 TIPS 术,建成 TIPS 猪模型。14~21 d 后处死,取出肝脏 TIPS 组织做病理检查,包括大体标本检查,电镜检查,病理切片分别用 HE 染色、免疫组化分析 anti-SMC- α (抗平滑肌肌动蛋白- α)、细胞增殖核抗原(PCNA)、波形蛋白(vimentin)、肌球蛋白(myoglobin)、eNOS(内皮型一氧化氮合酶)及 iNOS(诱导型一氧化氮合酶)等多个指标表达。将 TIPS 再狭窄组织与通畅的支架通道组织进行上述多项指标的对比分析。**结果** TIPS 术后 2~3 周处死时,6 只猪有 4 只猪出现不同程度再狭窄,其中有 2 只 TIPS 通道完全堵塞。电镜检查,再狭窄组织含大量增殖的胶原纤维、大量平滑肌细胞与成纤维细胞;抗 SMC- α 、PCNA 在再狭窄组织中表达为强阳性,在 TIPS 通道通畅的组织中,也有较强表达;波形蛋白在通畅的支架通道组织中表达为强阳性,而在支架再狭窄组织中表达明显减弱;肌球蛋白正好相反,在再狭窄组织中表达较强,而在通畅的支架组织中表达减弱;eNOS 在正常肝脏组织中为阳性表达,靠近 TIPS 再狭窄组织,表达有减弱;而 iNOS 在正常肝脏组织中为表达弱阳性,但靠近 TIPS 再狭窄组织,表达明显增强。**结论** 猪 TIPS 模型中,再狭窄中主要为抗 SMC- α 阳性的平滑肌细胞增殖,细胞增殖迁移能力强;正常肝脏组织中主要表达 eNOS,而肝脏损伤后 iNOS 表达明显增强。

【关键词】 TIPS; 再狭窄; 免疫组化分析

Immunohistochemical analysis of restenotic tissue after transjugular portosystemic shunt LU Qin, AN Yan-li, DENG Gang, FANG Wen, ZHU Guang-yu, LI Guo-zhao, WEI Xiao-ying*, LU Yuan-yuan, TENG Gao-jun.
Department of Radiology, Zhongda Hospital Southeast University, Nanjing 210009, China

【Abstract】 Objective To investigate the changes of several restenotic tissue elements after transjugular portosystemic shunt, and to provide more informations for the mechanism of TIPS restenosis. **Methods** TIPS was performed in 6 swine to set up TIPS animal models. 14-21 days after operation, the models were sacrificed to obtain the TIPS tissues for pathological examinations, including electric microscope, HE staining, and immunohistochemical staining of anti-SMC-actin- α , PCNA, Vementin, myoglobin, eNOS and iNOS. Then, the results were comparatively analyzed between TIPS obstructed shunt tissues and non-obstructed shunt tissues. **Results** Restenosis was occurred with differnet degrees in 4 swine of the 6 TIPS models. Electric microscopic results showed that the restenosis tissues were composed of over proliferated collagen, SMCs and fibroblasts. Anti-SMC-actin- α and PCNA were strongly positive expression in restenotic tissues, and also positive in patent tissues. Vimentin expressed strongly in unstenotic tissues, on the contrary, it expressed obviouly weaker in restenotic tissues. Myoglobin expressed more strongly in restenotic tissues and weakened in unstenotic tissues. eNOS expressed positive in normal liver tissues, and expressed weaker near TIPS restenotic tissues. iNOS showed stronger expression in restenotic tissues and could hardly expressed in normal liver tissues. **Conclusions** Restenotic rate may be 67% in TIPS swine models. Restenotic tissues may be mainly composed of proliferated SMCs positively expressed anti-SMC-actin- α with strong ability of movement. eNOS may be expressed in normal liver tissues and instead iNOS be expressed in strongly injured liver tissues. (J Intervent Radiol, 2005, 14: 624-628)

【Key words】 Transjugular portosystemic shunt; Restenosis; Immunohistochemical analysis

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30170279, 30300094)

作者单位:210009 南京 东南大学附属中大医院放射科, * 病理科

通讯作者:滕皋军

万方数据

经颈静脉肝内门腔分流术(TIPS)是介入放射学方法治疗肝硬化、门静脉高压症并发食管静脉曲张出血、顽固性腹水,以及 Budd-Chiari 综合征的有效方法^[1-3]。但 TIPS 术后支架通道易发生再狭窄或闭塞^[4,5]。但形成再狭窄的机制至今尚不明。本研究对 TIPS 支架狭窄组织进行多项指标进行了免疫组化分析,旨在对再狭窄的形成机制提供更多的信息,为其防治提供依据。

材料与方法

一、建立猪 TIPS 支架模型

健康家猪 6 只,体重 25 kg,雌雄不限,由东南大学实验动物中心提供。采用与临床相同的 TIPS 技术^[6,7],对家猪进行 TIPS 术,建立 TIPS 猪模型。肝内穿刺系统采用同轴穿刺针(Angio Dynamic 公司),其他器械采用 Ring TIPS 配套器械(Cook 公司)。具体过程:硫喷妥钠静脉滴注麻醉,肝素抗凝,于右颈经皮穿刺进入颈内静脉,置换导管导丝,经下腔静脉,进入肝静脉,在肝内向门静脉穿刺,造影剂显示达门静脉后,球囊扩张通道,释放支架(南京微创公司提供,直径为 8.0 mm,长度为 6.0 cm)。术后动物继续饲养,至 14~21 d 处死。处死前门静脉造影。

二、组织病理学检查

术后 14~21 d 处死动物,取出肝脏,进一步分离支架通道部位,生理盐水冲洗,分别用 10% 甲醛和戊二醛固定 24 h,仔细剥除支架丝,制备石蜡切片和电镜标本。常规切片 HE 染色观察,免疫组化分析指标包括抗平滑肌肌动蛋白- α (anti-SMC- α)、细胞增殖核抗原(PCNA)(福州迈新生物技术开发公司)、波形蛋白(vimentin)、肌球蛋白(myoglobin)、eNOS(内皮型一氧化氮合酶)及 iNOS(诱导型一氧化氮合酶)(北京中山生物技术有限公司),DAB 显色,二抗试剂盒购自福州迈新生物技术开发公司。免疫组织化学步骤参照说明书进行。PCNA 阳性细胞定位于胞核(工作浓度为 1:400), α -SM-actin(1:600)、myoglobin(1:200)、vimentin(1:600)、eNOS(1:200)及 iNOS(1:200)阳性细胞定位于胞质,阳性染色为棕褐色、棕黄色或浅黄色。将 TIPS 再狭窄组织与通畅的支架通道组织进行对比,并做组织学定量测定比较,采用 HMIAS-2000 高清晰度彩色医学图文分析系统,对免疫组化结果进行辉度半定量分析。透射电镜(Hitachi, H-600 型,日本)观察所制备的电镜标本,并摄片。

万方数据

结 果

一、TIPS 动物模型

术后 2~3 周处死时,6 只猪有 4 只猪出现不同程度再狭窄,其中有 2 只 TIPS 通道完全堵塞。将其分成支架再狭窄组与支架通畅组,取再狭窄组织与通畅的支架通道壁组织,进行以下电镜及免疫组化指标的分析对比。

二、电镜检查

TIPS 再狭窄组织可见大量胶原纤维,其中含有大量的细胞成分,主要是平滑肌细胞及成纤维细胞,细胞内细胞器基本正常,少量平滑肌细胞可见内质网扩张,见图 1。TIPS 支架通畅组:可见大量胶原纤维,胶原纤维中有中量成纤维细胞与平滑肌细胞,但细胞形态显得异形,细胞器可见,一定数量的线粒体有变性改变,可能为凋亡早期征象,见图 2。

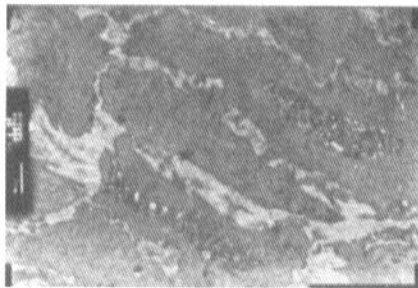


图 1 TIPS 再狭窄组织可见大量胶原纤维,其中含有大量的细胞成分,主要是平滑肌细胞及成纤维细胞,细胞内细胞器基本正常,少量平滑肌细胞可见内质网扩张

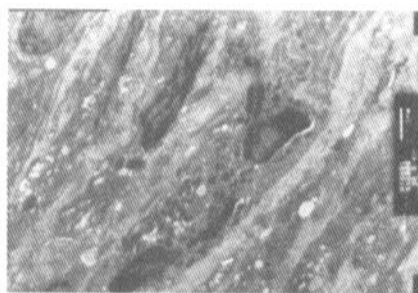


图 2 TIPS 支架通畅组:可见大量胶原纤维,胶原纤维中有中量成纤维细胞与平滑肌细胞,但细胞形态显得异形,细胞器可见,一定数量的线粒体有变性改变

三、免疫组化多项指标的分析对比

Anti-SMC- α 、PCNA 在再狭窄组织中表达为强阳性,在 TIPS 通道通畅的组织中,也有较强表达,见图 3、图 4;波形蛋白在通畅的支架通道组织中表达为阳性,而在支架再狭窄组织中表达明显减弱,见图 5;肌球蛋白正好相反,在再狭窄组织中表达弱阳性,而在通畅的支架组织中表达更弱,见图 6;eNOS 在

正常肝脏组织中为阳性表达,靠近 TIPS 再狭窄组织,表达有减弱,在通畅 TIPS 组织中表达也较弱,见图 7;而 iNOS 在正常肝脏组织中几乎不表达,但靠近 TIPS 再狭窄组织,表达明显增强,而在通畅的 TIPS 支架组织表达为弱阳性,见图 8。计算机图像辉度扫描半定量分析结果如图 9。

讨 论

TIPS 后再狭窄的发生是众多因素相互作用的非常复杂的过程,虽然已有很多相关研究,但其机制尚未完全明了。

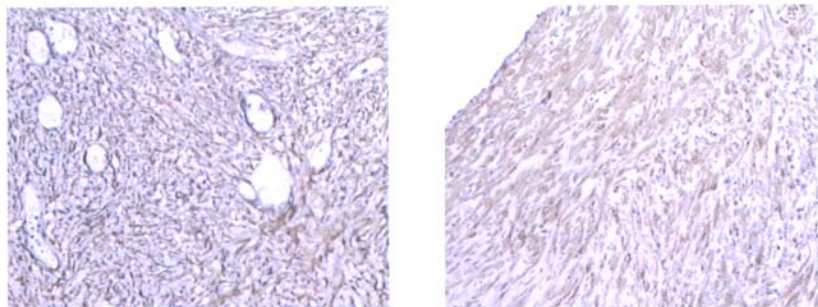


图 3 SMC- α 表达,左图为 TIPS 再狭窄组织,表达强阳性;右图为 TIPS 通畅组织,表达也较强

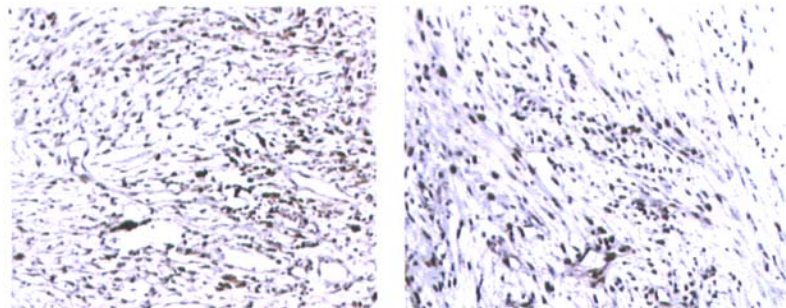


图 4 PCNA 表达,左图为 TIPS 再狭窄组织,表达强阳性;右图为 TIPS 通畅组织,表达也较强

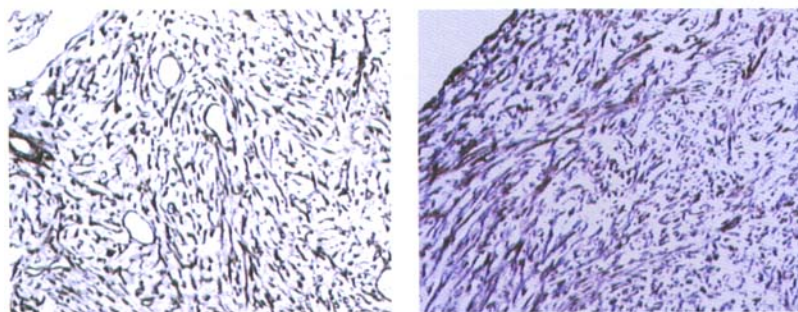


图 5 波形蛋白表达:左图 TIPS 支架再狭窄组织中表达减弱,右图为通畅的 TIPS 支架通道组织中为阳性表达

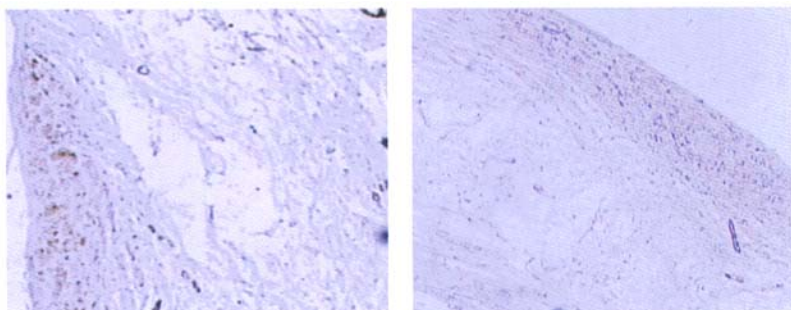


图 6 肌球蛋白表达:左图为 TIPS 再狭窄组织中表达弱阳性,而在 TIPS 通畅(右图)的支架组织中表达更弱,

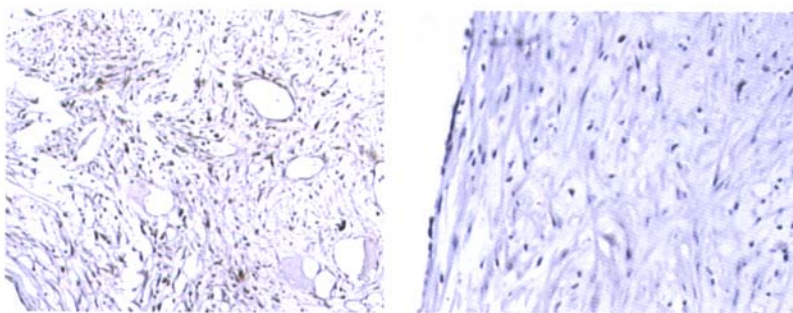


图 7 eNOS 表达:在正常肝脏组织中为阳性表达,靠近 TIPS 再狭窄组织(左图),表达有减弱,在通畅 TIPS 组织(右图)中表达也较弱

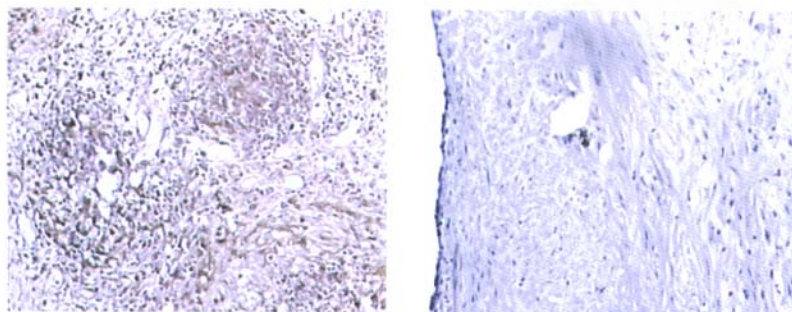


图 8 iNOS 在正常肝组织中几乎不表达,但靠近 TIPS 再狭窄组织(左图),表达明显增强,而在通畅的 TIPS 支架组织(右图)表达弱阳性

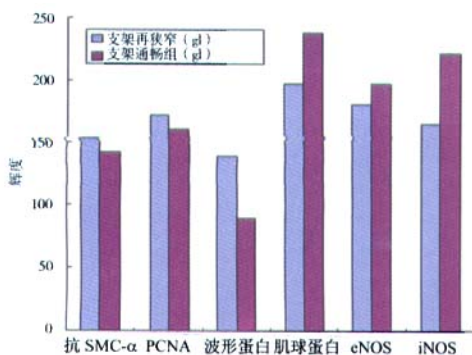


图 9 计算机图像亮度扫描半定量分析结果

目前已经证实 TIPS 支架再狭窄组织为假性内膜的增殖,其病理改变是由胶原基质表面覆盖一层内皮细胞所组成,胶原基质内含大量增殖的平滑肌细胞^[6-12]。这个表现与血管成形术及支架置入术后再狭窄很相似。但对于平滑肌细胞的来源却与血管介入术后狭窄不同。Ducoin 等^[12]对 17 例术后死亡或肝移植取得的 TIPS 分流通道组织病理分析发现:术后 2 周内仅可见到不规则纤维蛋白、血小板凝块,及炎性细胞和红细胞附着在支架网孔间;随着胶原纤维越来越密集,其内所含的细胞成分也越多,主要是成纤维细胞及成肌纤维细胞(myofibroblast);支架内假性内膜在术后 2 周后方可确定,假性内膜含大量的胶原纤维及平滑肌细胞,在纤维层表面可见一层连续的成熟内皮细胞。Sanyal 等^[11]综合了多组研

究,认为 TIPS 假性内膜是由一层内皮细胞和内皮下胶原基质组成,而胶原基质内含大量间充质细胞(mesenchymal cell),这种间充质细胞就是平滑肌细胞的原型。Ducoin 等^[2]也提到,TIPS 分流通道与血管成形术后狭窄的血管中层平滑肌细胞迁移到内膜不同,TIPS 通道周围没有可以迁移的大量平滑肌细胞。组织胚胎学中,间充质细胞是一种分化程度很低的细胞,在胚胎发育过程中能分化成各种结缔组织细胞,包括成纤维细胞、内皮细胞和平滑肌细胞。而 Ducoin 等提到的成肌纤维细胞,具有很强的合成前胶原 $\alpha 1$ 的 mRNA 及细胞内蛋白的能力,并且可以在周围环境变化时,向成纤维细胞与平滑肌细胞转换。成纤维细胞为波形蛋白强阳性;而 α -SM-actin 在成肌纤维细胞与平滑肌细胞中均为阳性表达;肌球蛋白是与细胞运动能力相关的蛋白,肌球蛋白表达的增强说明细胞运动迁移的能力增加,有研究显示在血管受到损伤后,肌球蛋白表达增强,解释了血管中层平滑肌细胞向内膜运动迁移的现象。PCNA 是细胞增殖核抗原,其阳性表达显示细胞具有较强的增殖能力。在本实验中观察到,无论是再狭窄组织或是通畅的支架通道组织,细胞都具备了较强的增殖能力;在再狭窄组织中 α -SM-actin 表达强阳性,波形蛋白相对较弱,且肌球蛋白表达较强,而通畅的通道组织壁 α -SM-actin 表达虽然为强阳性,但肌球蛋白表达较弱,波形蛋白表达增强。因此,从我们的实

验结果,结合 Ducoin 与 Sanyal 的研究,我们认为,在 TIPS 再狭窄形成中,肝组织受到损伤,造成胶原增生,间充质细胞或成纤维细胞形成,细胞增殖,PCNA 表达阳性,并向成肌纤维细胞转换,同时肌球蛋白表达增强,细胞运动迁移能力增加,且 α -SM-actin 表达逐渐增强,至细胞完成向平滑肌细胞转型的过程;但随着组织的不断修复,通道组织细胞增殖速度的减慢,或支架通道通畅,细胞增殖与凋亡平衡后,平滑肌细胞又逐渐向成纤维细胞转变,细胞成分也逐渐减少,最后形成主要为胶原及成纤维细胞成分的通道壁,此时波形蛋白表达又增强;通畅的支架组织细胞虽保持了增殖与凋亡的动态平衡,但细胞本身仍具较强的增殖能力,即 PCNA 具阳性表达。

当然,这个过程,有众多的复杂的因素参与。其中,我们的实验中包括了 eNOS 与 iNOS 这两个指标。NOS 促进细胞分泌 NO,从而抑制血小板聚集和黏附、抑制血细胞黏附于内皮细胞、抑制平滑肌细胞增殖,维持血管通畅;并可调节血管张力、血压及器官血流量,改变血管的通透性,维持正常血运。正常时内皮细胞及肝脏细胞均表达水平较低水平的 eNOS。当有感染(细菌内毒素)和一些细胞因子刺激时,可诱导 iNOS 基因表达, NOS 表达增强,合成 NO 增加。我们实验中也观察到, eNOS 在正常肝脏组织中为阳性表达,靠近 TIPS 再狭窄组织,表达有减弱;而 iNOS 在正常肝脏组织中为表达很弱,但靠近 TIPS 再狭窄组织,表达明显增强。

本研究探讨 TIPS 术后再狭窄多种组织成分的变化,通过实验结果对 TIPS 分流道再狭窄的机制进行了一定的分析,为其防治提供更多的信息。

[参 考 文 献]

[1] Peron JM, Barange K, Wtal P, et al. Transjugular intrahepatic

portosystemic shunts in the treatment of refractory ascites: results in 48 consecutive patients. *JVIR* 2000;11:1211-1216.

[2] Rosado B, Kamath PS. Transjugular intrahepatic portosystemic shunts: An update. *Liver Transpl*, 2003, 9:207-217.

[3] Bilbao JJ, Quiroga J, Herrero JJ, et al. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS): current status and future possibilities. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2002, 25:251-269.

[4] Barton KE, Rosch J, Saxon RR, et al. TIPS: short-and long-term results: a survey in 1750 patients. *Semin Intervent. Radiol*, 1995, 12:364-367.

[5] Zhuang ZW, Teng GJ, Jeffery RF, et al. Long-term results and quality of life in patients treated with transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *AJR*, 2002, 179:1597-1603.

[6] Teng GJ, Bettmann MA, Hoopes PJ, et al. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt in a porcine model: histologic characteristics at the early stage. *Acad Radiol*, 1998, 5:547-555.

[7] Teng GJ, Bettmann AB, Hoopes PJ, et al. Effect of bile on smooth muscles cell proliferation in TIPS. *Radiology*, 1998, 208:799-805.

[8] LaBerge JM, Ferrell LD, Ring EJ, et al. Histopathologic study of transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *JVIR*, 1991, 2: 549-556.

[9] LaBerge JM, Ferrell LD, Ring EJ, et al. Histopathologic study of stenotic and occluded transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *JVIR*, 1993, 4:779-786.

[10] Sanyal AJ, Contos MJ, Yager D, et al. Development of pseudointima and stenosis after transjugular intrahepatic portosystemic shunts: characterization of cell phenotype and function. *Hepatology*, 1998, 28:22-32.

[11] Sanyal AJ, Freedman AM, Luketic VA, et al. The natural history of portal hypertension after transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Gastroenterology*, 1997, 112:889-898.

[12] Ducoin H, El-Khoury J, Rousseau H, et al. Histopathologic Analysis of Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunts. *Hepatology*, 1997, 25:1064-1069.

(收稿日期:2005-08-01)

作者：[卢勤](#)，[安艳丽](#)，[邓钢](#)，[方文](#)，[朱光宇](#)，[李国昭](#)，[魏晓莹](#)，[卢园园](#)，[滕皋军](#)，[LU Qin](#)，[AN Yan-li](#)，[DENG Gang](#)，[FANG Wen](#)，[ZHU Guang-yu](#)，[LI Guo-zhao](#)，[WEI Xiao-ying](#)，[LU Yuan-yuan](#)，[TENG Gao-jun](#)

作者单位：[卢勤](#)，[安艳丽](#)，[邓钢](#)，[方文](#)，[朱光宇](#)，[李国昭](#)，[滕皋军](#)，[LU Qin](#)，[AN Yan-li](#)，[DENG Gang](#)，[FANG Wen](#)，[ZHU Guang-yu](#)，[LI Guo-zhao](#)，[TENG Gao-jun](#)(210009, 南京东南大学附属中大医院放射科)，[魏晓莹](#)，[卢园园](#)，[WEI Xiao-ying](#)，[LU Yuan-yuan](#)(210009, 南京东南大学附属中大医院病理科)

刊名：[介入放射学杂志](#) **ISTIC PKU**

英文刊名：[JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY](#)

年，卷(期)：2005，14(6)

被引用次数：0次

参考文献(12条)

1. [Peron JM](#), [Barange K](#), [Wtal P](#) [Transjugular intrahepatic portosystemic shunts in the treatment of refractory ascites: results in 48 consecutive patients](#) 2000

2. [Rosado B](#), [Kamath PS](#) [Transjugular intrahepatic portosystemic shunts: An update](#) 2003

3. [Bilbao JJ](#), [Quiroga J](#), [Herrero JJ](#) [Transjugular intrahepatic portosystemic shunt \(TIPS\): current status and future possibilities](#) 2002

4. [Barton KE](#), [Rosch J](#), [Saxon RR](#) [TIPS: short- and long-term results: a survey in 1750 patients](#) [Semin Intervent](#) 1995

5. [Zhuang ZW](#), [Teng GJ](#), [Jeffery RF](#) [Long - term results and quality of life in patients treated with transjugular intrahepatic portosystemic shunts](#) 2002

6. [Teng GJ](#), [Bettmann MA](#), [Hoopes PJ](#) [Transjugular intrahepatic portosystemic shunt in a porcine model: histologic characteristics at the early stage](#) 1998

7. [Teng GJ](#), [Bettmann AB](#), [Hoopes PJ](#) [Effect of bile on smooth muscles cell proliferation in TIPS](#) 1998

8. [LaBerge JM](#), [Ferrell LD](#), [Ring E J](#) [Histopathologic study of transjugular intrahepatic portosystemic shunts](#) 1991

9. [LaBerge JM](#), [Ferrell LD](#), [Ring E J](#) [Histopathologic study of stenotic and occluded transjugular intrahepatic portosystemic shunts](#) 1993

10. [Sanyal AJ](#), [Contos MJ](#), [Yager D](#) [Development of pseudointlma and stenosis after transjugular intrahepatic portasystemic shunts: characterization of cell phenotype and function](#) 1998

11. [Sanyal A J](#), [Freedman AM](#), [Luketic VA](#) [The natural history of portal hypertension after transjugular intrahepatic portosystemic shunts](#) 1997

12. [Ducoin H](#), [El-Khoury J](#), [Rousseau H](#) [Histopathologic Analysis of Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunts](#) 1997

相似文献(10条)

1. 期刊论文 [曹广劼](#), [王晓白](#), [CAO Guang-shao](#), [WANG Xiao-bai](#) [覆膜支架防治TIPS分流道再狭窄的研究进展 - 介入放射学杂志](#) 2008, 17(9)
覆膜支架已被越来越多地应用于经颈内静脉肝内门腔静脉分流术(TIPS)分流道再狭窄的防治中,取得了较大进展, Viatorr支架已被证明可以更好地改善分流道通畅率. 本文就各种TIPS覆膜支架的结构、性质、应用及疗效等作一综述,相信随着覆膜支架的不断改善, TIPS在治疗门脉高压疾病领域中将重新盛行.

2. 期刊论文 [卢勤](#), [安艳丽](#), [邓钢](#), [方文](#), [朱光宇](#), [牛焕章](#), [余辉](#), [李国昭](#), [王甄](#), [魏晓莹](#), [滕皋军](#), [LU Qin](#), [AN Yan-li](#), [DENG](#)

肝内门腔分流术支架与血管支架组织成分的对比研究 -中华放射学杂志2009, 43(1)

目的 对比研究经颈静脉肝内门腔分流术(TIPS)与血管支架术后组织成分的异同,为TIPS与血管支架再狭窄的形成机制及防治提供更多的信息。方法 对6只25 kg的家猪进行TIPS术,建立TIPS猪模型,并行髂静脉支架置入术。14~28 d后处死,取出肝脏TIPS组织及支架段静脉组织做病理检查,包括大体标本检查、电镜检查,病理切片行HE染色,免疫组织化学(简称免疫组化)分析抗平滑肌肌动蛋白- α 、细胞增殖核抗原(PCNA)、波形蛋白、肌球蛋白表达,蛋白印迹(Western blot)分析转化牛生长因子- β (TGF- β)表达。将TIPS组织与血管支架组织进行上述多项指标的对比分析。所获数据进行Kruskal Wallis秩和检验。结果 动物处死时,6只猪有4只,TIPS通道出现不同程度再狭窄,其中有2只TIPS通道完全堵塞,而髂静脉支架置入术后静脉支架均通畅,仅见支架通道内壁为一薄层内膜组织覆盖,腔内无狭窄。电镜检查,TIPS再狭窄组织较为稀疏,较多胶原基质与纤维,细胞成分少至中等量,细胞形态多样且不规则,可见平滑肌细胞、少量成纤维细胞及成纤维细胞,细胞含丰富分泌颗粒;TIPS支架通畅组织可见大量胶原纤维,含中等量的细胞成分,主要是成纤维细胞及平滑肌细胞,细胞器基本正常。支架段静脉组织含大量胶原纤维,细胞成分较多,主要为成纤维细胞,平滑肌细胞较少。免疫组化检测:抗平滑肌肌动蛋白- α ,TIPS再狭窄组织表达强阳性,TIPS通畅组织表达也较强,支架段静脉组织表达较强,但阿尼细胞明显稀疏;PCNA在TIPS再狭窄组织表达强阳性,在,TIPS通畅组织表达也较强,在支架段静脉组织表达明显较弱;波形蛋白在支架段静脉组织表达较强,在通畅的TIPS支架通道组织中为阳性表达,而在TIPS支架再狭窄组织中表达减弱;肌球蛋白在TIPS再狭窄组织表达为弱阳性,而在TIPS通畅的支架组织与支架段静脉组织表达更强。Western blot检测TGF- β ,支架段静脉组织、正常静脉组织对照、正常肝组织对照、TIPS狭窄组织及TIPS通畅组织的吸光度比值(TGF- β / β 肌动蛋白)中位数分别为0.23、0、0、0.57、0.30,对所获条带的光密度比值进行统计学分析,差异有统计学意义($H=27.8, P<0.01$)。结论 猪模型中,TIPS再狭窄组织中主要为抗平滑肌肌动蛋白- α 阳性的平滑肌细胞增殖,细胞增殖迁移能力强,细胞型稳定性低;通畅的TIPS组织与支架段静脉组织相似,表达波形蛋白的成纤维细胞较多,细胞较稳定。

3. 学位论文 滕皋军 TIPS术中胆汁漏出对其再狭窄的影响 2003

第一部分:TIPS动物(猪)模型的建立与组织学特征;目的:建立在组织病理学方面与人体相似的TIPS动物模型是研究TIPS再狭窄机制的重要步骤,但是,目前尚无有关TIPS动物模型的组织学特征的专题研究。因此,该研究将系统地评估有关TIPS猪模型的组织学特征。材料与方法:用20只健康家猪建立TIPS模型,2~16天分别处死。所有动物在放置支架后和处死前分别进行门静脉造影。并分别从支架的门静脉段,肝静脉段及支架中段取标本作改良Giemsa染色。并用冰冻切片免疫组化染色(抗平滑肌细胞(SMC) α 胶原染色)甄别SMC。采用电子面板标准面积计算技术对再狭窄增殖组织作定量分析。第二部分:TIPS术中胆汁漏出:动物实验研究;目的:评价TIPS动物模型中胆道损伤并胆汁漏出极其对支架再狭窄的影响。材料与方法:用45只猪建立TIPS模型,术后处死时间为10~16天。观察指标:分流道通畅率,支架内胆汁漏出染色,分流道内增生狭窄的定量分析。第三部分:胆汁对猪平滑肌细胞增殖的影响;目的:研究胆汁对离体SMC培养的直接作用。材料与方法:离体SMC培养分为三组:I组=1%血清+1%胆汁;II组=10%血清+1%胆汁;III组=10%血清。细胞收获点分别为3、10、14天。每一收获点中每组为6个样本。检测指标为DNA,总蛋白及DPM(每分钟[3 H]-胸苷衰减量)。第四部分:胆汁对豚豚肝内皮细胞生长及功能的影响;目的:通过离体细胞培养研究胆汁在内皮细胞生长、繁殖过程中的作用,阐明TIPS术中胆道损伤并胆汁漏出与TIPS术后支架内皮化过程的关系。为TIPS分流道再狭窄的形成机制提供新的理论依据,并有助于理解血管内和其它腔道放置支架后再狭窄的形成机制。材料与方法:无菌条件下取健康产仔分娩6小时脐带,充分洗涤后,灌注0.1%胶原酶进行消化,收集消化液,离心,所获沉淀即内皮细胞,在含20%新生牛血清及其它辅助因子的RPMI-1640培养液中进行培养。短期培养后加入不同浓度的人胆汁,分不加胆汁、含5%、10%、15%、20%及25%胆汁共6组继续培养,光镜下观察培养过程中细胞形态的变化。培养一定的时间后检测不同浓度胆汁培养的内皮细胞MTT光吸收值,绘制细胞生长曲线;并测vWF进行内皮细胞鉴定和功能测定;收获培养一段时间的细胞,测定其总蛋白含量及一氧化氮合酶活性。

4. 期刊论文 滕皋军, 徐克 TIPS再狭窄的研究现状和进展 -介入放射学杂志2005, 14(1)

经颈静脉肝内门腔分流术(Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunt, TIPS)是治疗门静脉高压症的治疗。该技术由Rosch于1969年首先报道[1],1989年Richter首次用于临床[2],经过30多年的发展,TIPS技术已成熟,被广泛地应用于食管胃底静脉曲张出血、顽固性腹水、Budd-Chiari综合征等门静脉高压症的治疗以及肝移植术前等待供体期间防止致命并发症等,并取得了显著的疗效[3~12]。

5. 会议论文 滕皋军 TIPS术后支架再狭窄病理及发生机理研究进展 1998

6. 会议论文 赵剑波, 李彦豪, 陈勇, 何晓峰, 卢伟, 梅雀林, 曾庆乐 经颈静脉门腔分流术: 采用Fluency覆膜支架和技术改进 2008

经颈静脉肝内门腔分流术(Transjugular intrahepatic portosystemic shunt,TIPS)现广泛应用于伴有食管胃底静脉曲张出血、顽固性腹水、肝性胸水、Budd-Chiari综合征等的门静脉高压症的治疗以及肝移植术前防止致命并发症等的治疗,并取得显著疗效。但TIPS术后分流道的再狭窄或闭塞一直是制约TIPS中远期疗效的主要因素,据统计其术后1年的再狭窄率高达30~70%。为解决术后再狭窄的问题,近年来,覆膜支架在TIPS中使用日渐频繁,国际上可见相关的实验及临床报道,同时大宗随机对照研究亦证实相比于既往使用的裸支架,PTFE覆膜支架能明显降低TIPS术后再狭窄的发生,从而更进一步推动了覆膜支架在TIPS中的应用。由于专用于TIPS的覆膜支架(Viatorr支架)尚未进入我国市场,故目前国内仍未见有覆膜支架行TIPS治疗的应用报道。本院在2005年10月~2007年10月间采用血管覆膜支架(巴德公司Fluency Vascular stem-graft)的行TIPS,现对初步结果进行报告。

7. 学位论文 陈军 窦前型猪门静脉高压症模型的研制及自体静脉支架预防TIPS分流道再狭窄的前期研究 2005

经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt TIPS)是90年代治疗门静脉高压症的新方法。目前,TIPS主要用于治疗门静脉高压及其并发症,如食管胃底静脉曲张出血,顽固性腹水等。但是,TIPS术后分流道再狭窄或闭塞严重影响其远期疗效。本研究目的是研制窦前型猪门静脉高压症动物模型及自体静脉支架,为进一步研究自体静脉支架对保持TIPS分流道通畅影响作前期准备。

第一部分: 猪门静脉高压症模型的研究

目的:建立一种可用于研究经颈静脉肝内门体分流术(TIPS)分流道通畅情况的肝内窦前型猪门静脉高压症模型。材料和方法:普通市售白猪8头全麻后,经门静脉导管注入葡聚糖微球(直径为0.300'0.500mm),每5天注射一次,共4次。在微球注入前后分别行门静脉造影、门静脉压力测定、肝功能检查及肝脏病理检查。结果:门静脉造影和肝脏病理检查显示葡聚糖微球栓塞门静脉末梢分支。栓塞前门静脉压力为9.33 \pm 0.33crnH 2 ,2>0,最后一次栓塞后一周门静脉压力为24.17 \pm 2.24cmH 2 ,2>0($p<0.01$)。肝功能检查基本正常。肝脏病理示有轻度肝纤维化,同时可见异物肉芽肿形成。结论:猪门静脉多次注射葡聚糖微球可以形成肝纤维化和门静脉高压症模型。

第二部分 自体静脉支架的实验研究

目的 探讨自体静脉支架防治血管再狭窄的作用。材料和方法 制备自体静脉支架,在X线引导下按照解剖标志分别将裸支架和自体静脉支架置入猪髂静脉处。支架置入术后8周行双侧髂静脉造影,同时处死实验猪取出支架及血管行组织病理、形态学测量及分析。结果8只实验猪中,裸支架组血管平均管腔面积为25.37 \pm 3.77mm 2 >2;自体静脉支架组血管平均管腔面积为31.95 \pm 2.39mm 2 >2,自体静脉支架组管腔面积大于裸支架组($P<0.01$)。裸支架组血管假性内膜平均增生面积为18.76 \pm 1.31mm 2 >2;自体静脉支架组平均假性内膜增生面积为11.90 \pm 2.57mm 2 >2,自体静脉支架组假性内膜平均面积明显小于裸支架组($p<0.01$)。结论:自体静脉支架可以显著抑制血管内膜的增生,是防治血管再狭窄的有效方法。

8. 期刊论文 石红建, 滕皋军, 曹爱红, 陈骏, 邓钢, SHI Hong-jian, TENG Cao-jun, CAO Ai-hong, CHEN Jun, DENG Gang

内皮祖细胞种植支架在经颈静脉肝内门体分流术中的应用的实验研究 -中华放射学杂志2009, 43(11)

目的 评价内皮祖细胞(EPC)种植支架在经颈静脉肝内门腔分流(TIPS)家猪动物模型中减少分流道再狭窄的疗效。方法 体外分离、培养、鉴定家猪外周血内皮祖细胞,并构建内皮祖细胞种植支架。15头家猪行TIPS介入手术,采用随机区组设计分为EPC种植支架组9头(实验组),裸支架组6头(对照组)。术后14 d行直接门静脉造影,然后处死动物,作病理分析及免疫组织化学检查,记录分流道狭窄及阻塞率,并用图像处理软件计算TIPS分流道假性内膜厚度及面积。计数资料用Fisher精确概率法,计量资料行t检验,作统计学分析。结果 15头猪TIPS手术均成功。实验组分流道通畅5头,狭窄2头(狭窄率50%、70%),阻塞2头(共9头)。对照组狭窄1头(狭窄率80%),阻塞5头(共6头)。2组通畅率差异有统计学意义($P=0.03$)。实验组假性内膜增生的厚度(肝静脉、肝实质、门静脉段)显著小于对照组[分别为(1.0 \pm 0.6)、(0.9 \pm 0.5)、(1.0 \pm 0.4)mm和(1.2 \pm 0.4)、(1.3 \pm 0.5)、(1.5 \pm 0.4)mm, P 值均 <0.05]。免疫组织化学显示实验

组中通畅的分流道有完整的内皮形成;再狭窄分流道的假性内膜主要由胶原纤维组成,而通畅分流道的假性内膜主要由细胞成分组成. 结论 体外构建EPC种植支架是可行的,置入后促进了家猪模型TIPS分流道内皮化形成,可以提高分流道的通畅性.

9. 会议论文 [程永德 覆膜支架在外周血管中的应用](#) 2007

覆膜支架在外周血管内主要用于各种原因引起的动脉瘤、假性动脉瘤和其它动脉畸形,最近有人将其应用于创伤性病变和PTA、TIPS等介入操作之中,效果显著,但是术后内皮化进程较长以及较高的再狭窄率仍是困扰覆膜支架临床应用进一步发展的主要原因.

10. 会议论文 [卢勤. 滕皋军 TIPS术中胆汁漏出对内皮细胞生长及功能的影响](#) 2002

目的:经颈静脉肝内门腔分流术(TIPS)中胆汁漏出是引起术后支架再狭窄的重要因素.本研究意在探讨胆汁对离体培养的内皮细胞生长及功能的影响,进一步了解胆汁对支架内皮化的影响.方法:取人脐静脉内皮细胞进行体外培养,加入不同浓度胆汁5%、10%、15%、20%、25%干预,观察内皮细胞生长状况,收获的细胞测总蛋白,MTT吸光度值,条件培养液测vWF行内皮细胞鉴定及功能测定.结果:含5%、10%、15%胆汁的细胞生长状况与不含胆汁者相似,含20%、25%胆汁的细胞明显减少并显幼稚;含20%以上浓度胆汁的细胞MTT吸光度值及总蛋白较不含胆汁者降低,差异有统计学意义;含20%以上浓度胆汁的细胞条件培养液中vWF含量也明显降低.所收获的细胞vWF测定均阳性.结论:一定浓度的胆汁抑制内皮细胞的生长及分泌vWF的功能.

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfsxzz200506020.aspx

授权使用: qkxb11(qkxb11), 授权号: 090f76fd-446c-4d0f-843c-9e2f014fea5c

下载时间: 2010年11月15日