

◇技术与方法◇

肝淀粉样变性的显微和超微结构观察

吴敏霞¹, 陈虹², 周琳瑛¹, 钟秀容¹

摘要 应用 HE 染色、刚果红染色、高锰酸钾氧化刚果红染色、透射式电子显微镜观察病肝组织的显微及超微结构变化。结果显示, 光镜下淀粉样物质可逐渐沉积于窦周间隙、肝细胞间、汇管区, 这些受累的区域无细胞或细胞过少; 电镜下观察肝细胞间沉着大量淀粉样物质, 肝细胞萎缩甚至崩解, 细胞器消失, 出现裸核。

关键词 淀粉样变性; 超微结构; 电镜观察

中图分类号 R 742.4

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2014)01-0113-02

淀粉样变性病是一组以细胞外淀粉样物质沉积为特征的系统性疾病。可溶性前体蛋白错误折叠成不溶性淀粉样纤维相对抵制蛋白酶的溶解、消化作用, 在组织、器官积聚, 干扰、破坏其功能与结构, 最终可导致死亡^[1]。该研究应用透射电镜结合光镜对肝淀粉样变性肝活检组织的超微结构进行观察, 以利于丰富临床肝淀粉样变性的诊断。

1 材料与方法

1.1 研究对象 患者男, 因反复腹胀痛 6 个月, 眼巩膜黄染、皮肤黄染 2 个月为主诉入院, 病程中出现发热、进行性纳差等症状。体检皮肤巩膜中度黄染, 可疑肝掌, 肝区叩痛, 移动性浊音阳性。辅助检查: 谷草转氨酶 262 U/L, 谷丙转氨酶 130 U/L, 谷氨酰转肽酶 454 U/L, 直接胆红素 146 $\mu\text{mol/L}$, 胆碱酯酶 2 460 U/L。

1.2 方法 实验室检查患者血、尿、粪及肾功、血脂、电解质、甲胎蛋白、癌胚抗原、凝血全套正常。B 超引导下经皮肝穿, 行右肝实质穿刺活检术, 取出组织送病检, 取部分标本用 10% 中性福尔马林固定、石蜡包埋 2 μm 厚切片, 行常规 HE 染色观察; 4 μm 厚切片行刚果红、高锰酸钾处理刚果红染色, 普通

光、偏振光观察; 取部分标本经 3% 戊二醛-1.5% 多聚甲醛混合液固定, 1% 锇酸后固定, 环氧树脂 618 包埋后, 超薄切片经醋酸铀和枸橼酸铅双染, Hu-12A 透射电镜观察。

2 结果

2.1 显微结构观察 光镜下淀粉样物质可沉积于肝细胞间、窦周间隙、汇管区, 肝细胞数量显著减少, 肝细胞萎缩, 体积变小, 窦周间隙明显增宽, 汇管区无细胞性增宽, 放射性肝板结构紊乱, 这些受累的区域无细胞或细胞过少; 刚果红染色显示肝细胞间、窦周间隙、汇管区可见大量特征性砖红色物质沉积, 氧化刚果红染色显示肝细胞间、窦周间隙、汇管区特殊物质未褪色, 仍显染色阳性结果, 见图 1。

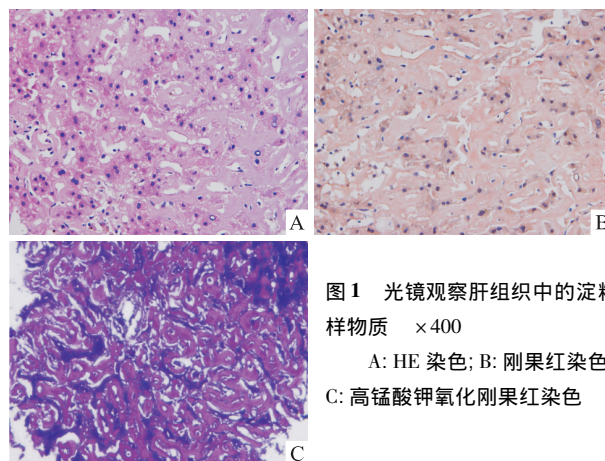


图 1 光镜观察肝组织中的淀粉样物质 $\times 400$
A: HE 染色; B: 刚果红染色;
C: 高锰酸钾氧化刚果红染色

2.2 超微结构观察 电镜下可见肝细胞间及肝窦周隙许多排列不规则的、直的、无分支的细纤维丝组成, 细纤维丝直径约 10 nm, 成球状或束状; 沉着在肝细胞间的淀粉样物质, 逐渐压迫肝细胞以致肝细胞逐渐萎缩, 肝细胞表面微绒毛减少, 后来细胞膜破裂, 肝细胞崩解, 线粒体、糖原颗粒等膜性细胞器游离乃至消失, 出现裸核, 部分肝细胞胞质内可见脂褐素颗粒沉积, 部分肝细胞内可见少量脂滴, 尚存的肝细胞结构基本正常, 残存毛细胆管未见扩张、淤胆及胆栓形成, 汇管区未见炎症细胞浸润, 小胆管正常, 未见破坏及淤胆; 淀粉样物质的团块, 没有界膜包裹, 符合肝淀粉样变性的病理改变, 见图 2。

2013-08-24 接收

基金项目: 福建医科大学苗圃科研基金(编号: 2010MP027); 福建省教育厅课题(编号: JA07105)

作者单位: 福建医科大学¹ 基础医学院病理学系电镜室、² 附属第一医院病理科 福州 350004

作者简介: 吴敏霞, 女, 助理研究员, 责任作者, E-mail: yuer408@163.com

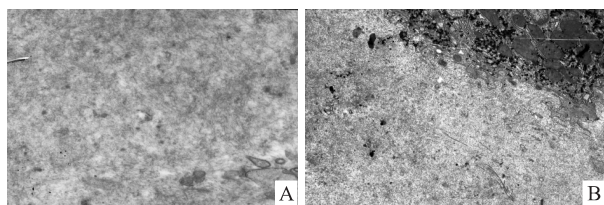


图2 电镜下观察肝组织中的淀粉样物质
A: 淀粉样物质 $\times 10\ 000$; B: 肝细胞萎缩 $\times 6\ 000$

3 讨论

淀粉样变性类型繁多^[2],根据沉积物生化成分不同,淀粉样肾病最常见的类型为免疫球蛋白轻链型(AL)和淀粉样蛋白A型(AA)。高锰酸钾处理刚果红染色可以鉴别AL和AA型。病肝组织在肝窦间隙、肝细胞间及汇管区广泛性刚果红染色阳性,导致肝细胞严重减少、萎缩,肝板结构紊乱、消失,汇管区缩小,表明淀粉样物质大量沉积,肝组织失去正常结构,病情严重;经高锰酸钾处理刚果红染色不褪色,仍显阳性结果,可以肯定是1例AL即原发型淀粉样变性病。

电镜下淀粉样物质呈现长短不一、 $\phi 8 \sim 10\ \text{nm}$ 、排列杂乱、僵硬、无分支细纤维状结构,每条纤维由2~5条以反平行或交叉 β 片层形式排列的纤维丝组成,这种三维结构与特殊染色及光学特性有关^[3]。淀粉样细丝与微管、微丝等细胞骨架成分结构不同,微管是中空直管状结构,外径约24 nm,内径约15 nm,管壁厚6~9 nm,长度在几微米至几厘米不等,微丝直径约6 nm,为纤细的螺旋状细丝结构,三者超微结构不同,在疾病的较早期即临床上肝功能未受损仅肝组织出现极少量的淀粉样细丝也能在电镜下明显区分。早期淀粉样物质先沉积于窦周间隙,使得肝细胞与血窦距离增加,肝细胞获取营养

物质困难,肝细胞功能受到一定影响,随着淀粉样物质的增多,逐渐沉积在肝细胞间,甚至挤压肝细胞,使其萎缩,微绒毛减少,病情进一步发展,肝细胞崩解,形成裸核,肝细胞失去正常功能。本例中可见肝细胞萎缩、减少、甚至消失,并出现裸核现象,说明病情发展到了较晚期,汇管区未见炎症细胞浸润,可以排除是炎症引起的或是本身就是一类炎症性的疾病。

淀粉样蛋白可沉积于不同的系统和器官,表现出复杂的临床症状,由于淀粉样蛋白极其稳定,清除极其困难,给淀粉样变性治疗带来了极大困难。因此,进行淀粉样变的早期诊断和正确分型非常重要。光镜下鉴定淀粉样物质的最好方法是用免疫组化或免疫荧光做特异性的抗淀粉样蛋白染色^[4],但由于早期淀粉样变性病变区域较小及免疫反应不可避免出现的假阴性,导致淀粉样变性疾病未能及时准确的诊断,故对怀疑的病例进行肝组织的电镜超微结构检查是一种早期发现和诊断淀粉样变性的有效手段。

参考文献

- [1] 邹万忠. 淀粉样变性和淀粉样变性病[M]//陈钦材,杨光华. 病理学进展. 北京: 人民卫生出版社, 1987: 182-91.
- [2] Katzmman J A, Abraham R S, Dispenzieri A, et al. Diagnostic performance of quantitative kappa and Lambda free light chain assays in clinical practice [J]. *Clin Chem*, 2005, 51(5): 878-81.
- [3] Merlini G. Treatment of primary amyloidosis [J]. *Semin Hematol*, 1995, 32(1): 60-79.
- [4] Lee D D, Huang C Y, Wong C K. Dermatopathologic findings in 20 cases of systemic amyloidosis [J]. *Am J Dermatopathol*, 1998, 20(5): 438-42.

Study of the hepatic amyloidosis by microscope

Wu Minxia¹, Chen Hong², Zhou Linying¹, et al

(¹Lab of Electron Microscope Dept of Pathology of Basic Medical, ²Dept of Pathology, The First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350004)

Abstract The microstructure and the ultrastructure of the hepatic amyloidosis were studied with HE stain, Congo red and its permanganate-oxygenated stain, as well as transmission electron microscope. The amyloid deposition was mainly located at sinusoids and portal area. Liver cells atrophied and were gradually replaced with amyloid material and appeared naked nucleus.

Key words amyloidosis; ultrastructure; transmission electron microscope