论著

文章编号:1000-5404(2007)11-1046-04

5-氨基乙酰丙酸光动力杀伤人鼻咽癌耐药/非耐药细胞株的实验研究

杨小民[1],罗荣城[1],马红京[2],李黎波[1],丁雪梅[1],严 晓[1],吕成伟[1] ([1]南方医科大学南方医院肿瘤治疗中心,广州 510515;[2]解放军534医院肿瘤科,洛阳 471003)

提 要:目的 观察5-氨基乙酰丙酸(5-aminolevulinic acid, 5-ALA)光动力学效应对体外培养人鼻咽癌细胞株CNE2及其顺铂耐药株CNE2/DDP的生物作用,探讨光动力治疗多药耐药鼻咽癌的可行性。**方法** 对CNE2与CNE2/DDP分别加入不同浓度的5-ALA(0.01、0.05、0.10、0.25、0.5、1.0、2.0、4.0 mmol/L)孵育4 h,予波长为630 nm的半导体激光进行照射,能量密度分别为2、5、10、20 J/cm^2,继续孵育24 h,用四唑盐比色法测定细胞存活率;两株细胞与2.0 mmol/L浓度的5-ALA溶液共孵育4 h后,用流式细胞仪检测细胞内生性光敏剂原卟啉Ⅸ的荧光强度。**结果** 5-ALA光动力对体外培养的CNE2和CNE2/DDP细胞均有杀伤作用,表现为对5-ALA浓度、激光剂量的量-效依赖关系。激光能量为20 J/cm^{2}时,5-ALA对CNE2和CNE2/DDP细胞的半数杀伤浓度分别为0.07 mmol/L与0.375 mmol/L,二者比较差异显著($P<0.01$);不同5-ALA浓度、不同激光剂量条件下CNE2细胞存活率显著低于CNE2/ DDP ($P<0.05$);CNE2和CNE2/DDP的细胞内荧光强度分别为(197.33±1.45)、(106.36±2.31),相差非常显著($P<0.01$)。**结论** 5-ALA-PDT对CNE2和CNE2/DDP均有杀伤作用,但CNE2/DDP对其敏感性低于CNE2,表明CNE2/DDP对5-ALA-PDT存在一定程度的交叉抗性,增加5-ALA浓度和/或增大激光剂量可以在一定程度上克服这种抵抗。

关键词: 鼻咽癌;5-氨基乙酰丙酸;光动力学疗法;CNE2;CNE2/DDP;多药耐药

中图法分类号: R73-36;R739.6;R914.4 **文献标识码:** A

Effect of 5-aminolevulinic acid mediated photodynamic therapy on human nasopharyngeal carcinoma cell line CNE2 and CNE2/DDP *in vitro*

YANG Xiao-min[1], LUO Rong-cheng[1], MA Hong-jing[2], LI Li-bo[1], DING Xue-mei[1], YAN Xiao[1], LU Cheng-wei[1] ([1]Oncotherapy Center, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, [2]Tumor Department, The 534th Hospital of PLA, Luoyang 471003, China)

Abstract: Objective To investigate the potential use of 5-aminolevulinic acid (5-ALA) for photodynamic therapy (PDT) of nasopharyngeal carcinoma (NPC) cell line CNE2 and CNE2/DDP cultured *in vitro*. **Methods** CNE2 and CNE2/DDP cells were incubated in a medium containing 5-ALA (0.01, 0.05, 0.10, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mmol/L) for 4 h and illuminated with different light doses (2, 5, 10, 20 J/cm^2) using a semiconductor laser at 630 nm. After 24-hour incubation with 5-ALA-PDT, the survival rate of CNE2 and CNE2/DDP cells were analyzed by MTT assay. The intracellular fluorescence of PpIX generated by 5-ALA of each cell was determined by flow cytometry after incubation with 2.0 mmol/L 5-ALA for 4 h. **Results** 5-ALA-PDT could effectively kill CNE2 and CNE2/DDP cells cultured *in vitro*. The killing degree was positively correlated with the concentration of 5-ALA and the dosage of radiation. Exposed to 20 J/cm^2, the IC_{50} of CNE2 and CNE2/DDP was 0.07 mmol/L and 0.375 mmol/L respectively ($P<0.01$). The survival rate of CNE2/DDP was higher than that of CNE2 under the same 5-ALA concentration and radiation dosage ($P<0.05$). The intracellular fluorescence of PpⅨ in CNE2 and CNE2/DDP was (197.33±1.45) and (106.36±2.31) respectively ($P<0.01$). **Conclusion** 5-ALA-PDT can effectively kill CNE2 and CNE2/DDP cells cultured *in vitro*, though CNE2/DDP cells are less sensitive to 5-ALA-PDT than CNE2 cells. The cross-resistance of CNE2/DDP might be overcome through increasing 5-ALA concentration and radiation dosage.

Key words: nasopharyngeal carcinoma; 5-aminolevulinic acid; photodynamic therapy; CNE2; CNE2/DDP; multidrug resistance

基金项目: 中国临床肿瘤学科学基金(Y-2005-0013)

Supported by the Clinical Oncology Science Foundation of China(Y-2005-0013)

作者简介: 杨小民(1959-),男,河南省洛阳市人,博士研究生,副主任医师,主要从事内镜及肿瘤光动力治疗方面的研究。电话:(020)61641659,E-mail:xiaominyang@163.com

通讯作者: 罗荣城,电话:(020)87640966,E-mail:lrc@nfhoc.com

收稿日期: 2006-12-04;**修回日期:** 2007-02-18

鼻咽癌是东南亚及我国南方各省常见的恶性肿瘤。化疗是鼻咽癌最主要的辅助治疗手段，然而癌细胞对药物产生多药耐药（multidrug resistance，MDR），造成化疗效果下降或失败。目前解决 MDR 的方法主要集中在药物逆转和基因治疗等方面，但实际效果还不满意。肿瘤光动力治疗（photodynamic therapy，PDT）是近年迅速发展的一种新的治疗肿瘤的方法，我们采用 MTT 法从细胞水平对比研究 5-氨基乙酰丙酸（5-aminolevulinic acid，5-ALA）介导的 PDT 对人鼻咽癌顺铂耐药细胞株 CNE2/DDP 和亲本敏感细胞 CNE2 的杀伤效应，为 PDT 治疗耐药鼻咽癌提供实验依据。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　主要试剂　　DMEM 高糖培养基，小牛血清，美国Gibco 公司产品；胰蛋白酶，四甲偶氮唑盐，美国 Sigma 公司产品；二甲基亚砜，北京亚太精细化工公司产品。实验用光敏剂：5-氨基乙酰丙酸（5-ALA），美国 Sigma 公司产品，规格：500 mg/瓶，批号：060202。

1.1.2　主要设备和仪器　　CO_2 恒温培养箱；超净工作台；倒置显微镜；DIOMED 630 型半导体激光器，英国 DIOMED 公司产品；LM 93Ⅱ型激光功率计，中国计量院生产；2010 MC 型酶标仪，博赛公司生产；FACSCalibur 流式细胞仪，美国 BD 公司生产。

1.2　方法

1.2.1　细胞培养　　人鼻咽癌细胞株 CNE2 细胞及其顺铂耐药株 CNE2/DDP 细胞（购自军事医学科学院附属医院肿瘤分子生物室）。培养条件：DMEM 高糖培养基，10% 小牛血清，含 1% 青霉素及链霉素双抗，置于 37 ℃、5% CO_2 的培养箱中，常规细胞培养、3 ~ 5 d 传代 1 次，选择对数生长期细胞用于实验。

1.2.2　实验分组　　分为 PDT 处理实验组及实验对照组。实验对照组分为不加光敏剂的单纯照光对照组、只加光敏剂不照光的光敏剂对照组和既不加光敏剂又不照光的空白对照组，均设 7 个复孔。PDT 处理实验组分为 8 组，依据预实验结果，各组 5-ALA 终浓度设定为 0.01、0.05、0.10、0.25、0.5、1.0、2.0、4.0 mmol/L 共 8 个浓度点，每个组设 7 个复孔。实验重复 3 次。

1.2.3　光敏剂准备　　光敏剂 5-ALA 于实验前在避光条件下，使用不含血清 DMEM 培养液将其溶解稀释成为所需浓度的工作液，过虑除菌后避光 4 ℃冰箱保存备用。

1.2.4　细胞的光敏剂处理　　选择培养处于对数生长期的 CNE2 及 CNE2/DDP 细胞，分别用含 0.2% EDTA 的 0.25% 胰蛋白酶消化、吹打，制成单细胞悬液。调整细胞密度为 5×10^4/ml，每孔 200 μl 接种于 96 孔培养板上，置于 37 ℃、5% CO_2 恒温培养箱中培养。培养 24 h 待细胞贴壁后弃去培养液，按实验设计加入用 DMEM 稀释配制不同浓度的 5-ALA 溶液，在严格避光的条件置于 37 ℃、5% CO_2 的恒温培养箱中继续孵育 4 h，然后照光。

1.2.5　细胞的照光处理　　用波长为 630 nm 的半导体激光进行照射，以激光功率计监测，得到功率密度为 20 mW/cm^2 的光斑，光束均匀地垂直照射到 96 孔培养板上，照射时间分别为 1 000、500、250、100 s，分别得到能量密度为 20、10、5、2 J/cm^2，照光处理后置于 37 ℃、5% CO_2 的培养箱中继续孵育 24 h，然后在酶标仪上测细胞存活率。

1.2.6　不照光细胞处理　　空白对照组和光敏剂对照组，接种另一块 96 孔培养板避光处理，每个条件设 7 个复孔，除不照光外，其他处理与实验组相同，在酶标仪上测细胞存活率。

1.2.7　细胞存活率的测定　　照光后 24 h 用 MTT 法检测细胞的存活率。每孔中加入 20 μl MTT，继续孵育 4 h 后终止培养，弃上清，每孔中加入 150 μl DMSO，振荡 10 min，使紫色结晶物充分溶解。选择 570 nm 波长，在酶标仪上检测各孔的光密度值，以与实验孔平行的不加细胞只加 DMSO 的空白孔调零，记录吸光度值[D(570)]，根据以下公式计算细胞存活率。每次实验重复 3 次，取平均值。

细胞存活率(%) = [实验组 D(570)/空白对照组D(570)] ×100%

1.2.8　流式细胞仪检测 CNE2 与 CNE2/DDP 细胞内生性光敏剂原卟啉（PpIX）的荧光强度　　取对数生长期 CNE2 与 CNE2/DDP 细胞，以 5×10^5/ml 细胞密度接种培养瓶。实验分为只加培养基的空白对照组和加 5-ALA 溶液的实验组，每组平行设 3 瓶。细胞培养 24 h 待细胞贴壁生长，弃去培养液，空白对照组每瓶加入新鲜培养基；实验组加入终浓度为 2 mmol/L 的5-ALA，孵育 4 h，弃去培养液，加入 0.25% 胰蛋白酶消化 3 min，吹打制成单细胞悬液，离心去上清，用 PBS 液洗 2 遍，以 500 μl PBS 液重悬细胞，用流式细胞仪检测各组细胞内 PpIX 荧光强度，激发波长 488 nm，检测用 FL3，波长为 670 nm。所有检测用相同工作条件，每份样本检测细胞数为 1×10^4。

1.3　统计学方法

采用 SPSS 10.0 统计软件进行 t 检验，单因素方差分析和相关性分析。

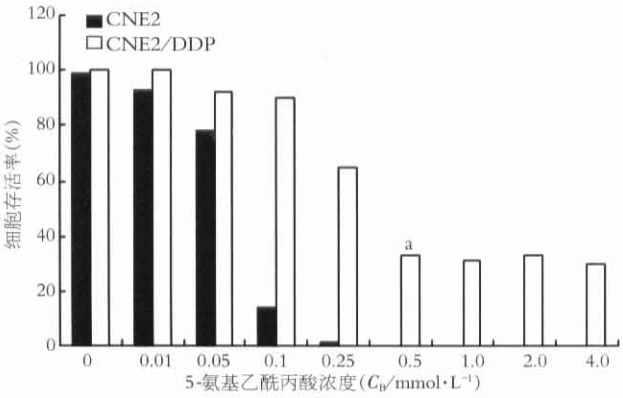
2　结果

2.1　5-ALA-PDT 对 CNE2 及 CNE2/DDP 细胞存活率的影响

在相同实验条件下，5-ALA-PDT 对 CNE2 及 CNE2/DDP 均可产生杀伤效应。两株细胞的存活率均表现出对 5-ALA 浓度的量-效依赖关系（CNE2：$r=-1.000$，$P<0.01$；CNE2DDP：$r=-0.979$，$P<0.01$），但两株细胞的存活率曲线存在不同，见图 1。当 5-ALA 浓度达到 0.25 mmol/L 时，CNE2 细胞已被完全杀伤，而当 5-ALA 浓度达到 0.50 mmol/L 时，CNE2/DDP 细胞存活率约为 30% 并出现平台期，再增加 5-ALA 浓度至 4.0 mmol/L，CNE2/DDP 存活率仍无明显降低（$P>0.05$）。当 5-ALA 浓度为 0.1、0.25 mmol/L 时，CNE2 细胞存活率显著低于 CNE2/DDP（$P<0.01$），当 5-ALA 浓度为 0.5、1.0、2.0、4.0 mmol/L 时，两株细胞的存活率之间也存在显著性差异（$P<0.05$）。根据曲线估算 5-ALA 对两种细胞的 IC_{50} 分别为 0.07 mmol/L 与 0.375 mmol/L，相差非常显著（$P<0.01$）。

2.2　不同激光剂量对 CNE2 及 CNE2/DDP 细胞存活率的影响

5-ALA 为 0.5 mmol/L 时，CNE2 细胞生存率与激光剂量成负相关（$r=-0.987$，$P<0.01$），CNE2/DDP 细胞生存率与激光剂量之间也存在一定量-效依赖关系（$r=-0.988$，$P<0.05$），但 5-ALA-PDT 对 CNE2 及 CNE2/DDP 细胞的杀伤效应存在差异，激光剂量为 10、20 J/cm^2 时，CNE2 细胞生存率明显低于 CNE2/DDP（$P<0.01$），见表 1。其他 5-ALA 浓度时，不同激光剂量对 CNE2 及 CNE2/DDP 细胞存活率的影响与此类似。



a：$P<0.01$，与 CNE2 比较

图1 5-氨基乙酰丙酸介导的光动力对 CNE2 和 CNF2/DDP 细胞的作用

表1 不同激光剂量对 CNE2 和 CNE2/DDP 细胞存活率的影响(%，$\bar{x}\pm s$)

激光剂量(J/cm^2)	细胞存活率	
	CNE2	CNE2/DDP
0	0.99±0.04	0.98±0.02
2	0.97±0.08	0.98±0.01
5	0.76±0.10	0.88±0.11
10	0.38±0.05	0.79±0.15[a]
20	0.01±0.00	0.39±0.12[a]

a：$P<0.01$，与 CNE2 比较

2.3 CNE2 与 CNE2/DDP 细胞内 PpⅨ荧光强度检测

2 mmol/L 浓度的 5-ALA 与 CNE2 和 CNE2/DDP 细胞共孵育 4 h 后，用流式细胞仪检测 CNE2 及 CNE2/DDP 细胞内 PpIX 的荧光强度，分别为(197.33±1.45)和(106.36±2.31)，相差非常显著($t=33.474$，$\nu=4$，$P<0.01$)。

3 讨论

PDT 是近年迅速发展的一种新的肿瘤治疗方法，目前认为肿瘤组织或细胞能够较多摄取和较长时间潴留光敏剂物质，在特定波长激光激发下，引发一系列光化学和光生物学反应，产生单线态氧及其他一些形式的活性氧，引起细胞器的破坏，导致细胞死亡。由于光敏剂优先积聚在肿瘤部位，并且 PDT 产生的活性氧在细胞内的杀伤位点比较广泛，可非特异性地作用在多种细胞器、细胞膜乃至核内 DNA 等多位点上[1]，有可能杀伤多药耐药的肿瘤细胞或调节多药耐药细胞的表型，对于多药耐药肿瘤是一种可供选择的治疗手段。

近年来研究表明，鼠骨肉瘤多药耐药细胞株与敏感的亲本细胞株对丫啶橙介导的光动力均同样敏感[2]。用紫外线 A 辐射治疗多药耐药白血病细胞时，观察到 P-糖蛋白似乎是氧化损伤的靶点，因此，当光动力与化疗联合应用时，光动力可能对多药耐药表型具有调节作用[3]。另外有研究表明某些化疗药物对 PDT 具有增效作用[4]。虽然上述结果令人鼓舞，但文献[5]报道乳腺癌耐药细胞株 MCF-7/ADR 对 5-氨基乙酰丙酸介导的 PDT 不敏感。研究结果的差异可能与选用的光敏剂种类及肿瘤细胞生物特性有关。一些 MDR 肿瘤细胞可能通过膜转运蛋白将光敏剂外排，另外光敏剂进入细胞后在不同细胞器中分布蓄积，也可能对 PDT 效果产生影响[6]，其具体机制尚不清楚。

PDT 已用于治疗鼻咽癌[7]，但能否杀伤已经对化疗药物产生耐药的鼻咽癌细胞的研究少见。CNE2 为一种低分化鼻咽鳞癌细胞系，其生物学行为具有低分化鼻咽鳞癌的共同特点。CNE2/DDP 具有多药耐药的特征，是研究耐药鼻咽癌的良好模型[8]。5-ALA 是一种体内血红素合成的前体物，它由甘氨酸、琥帕酸、辅酶 A 在 ALA 合成酶作用下合成，本身不产生光敏性，在 ALA 脱水酶等一系列酶促作用下生成具有强光敏作用的 PpⅨ。经波长 600～800 nm 激光照射后可发生光动力学反应。研究证明 5-ALA 进入体内后 1～3 h，组织中 PpⅨ的含量达高峰，6 h 后逐渐下降，24 h 后组织中测不到 PpⅨ[9]。5-ALA 作为第二代光敏剂，与第一代光敏剂比较具有光敏活性高，体内清除速度快，应用后避光时间短等优点。

通过观察 5-ALA-PDT 对 CNE2 和 CNE2 /DDP 细胞的作用，发现 CNE2/DDP 对 5-ALA -PDT 的敏感性低于 CNE2，虽然两株细胞的存活率均表现出对 5-ALA 浓度的量-效依赖关系，但在相同 5-ALA 浓度下，CNE2/DDP 细胞存活率显著高于 CNE2。提高 5-ALA 浓度可以降低 CNE2/ DDP 细胞存活率，但 5-ALA 浓度达 0.50 mmol/L 后再增加其浓度，CNE2-DDP 存活率无明显降低。同样，CNE2 和 CNE2/DDP 细胞存活率与激光剂量之间也存在量-效依赖关系，但相同激光剂量及 5-ALA 浓度条件下，CNE2/DDP 细胞存活率显著高于 CNE2 细胞。

细胞内光敏剂含量是影响光动力疗效最主要的因素，5-ALA 与细胞共孵育后，CNE2/DDP 细胞内 PpⅨ荧光含量显著低于 CNE2 细胞，说明在 CNE2/DDP 细胞内蓄积低于 CNE2，两株细胞内光敏剂含量的差异是导致它们对光动力治疗反应不同的重要原因。最近有研究表明，高表达三磷酸腺苷结合转运蛋白 G 超家族成员 2 (ATP-binding cassette transporters G2, ABCG2)的细胞对光动力治疗产生抵抗，ABCG2 是膜转运蛋白家族成员，其跨膜转运需 ATP 水解产生能量，可将包括 PpⅨ在内多种光敏剂“泵”出细胞[10]。已知 ABCG2 在消化道腺癌、肺癌及黑色素瘤中高表达，CNE2/DDP 是否表达 ABCG2 尚不清楚，其他膜转运蛋白如 P 糖蛋白等是否参与光敏剂外排有待进一步研究。

本研究结果说明，5-ALA-PDT 对 CNE2 和 CNE2/DDP 均有杀伤作用，但对 CNE2 的杀伤作用大于

CNE2/DDP，表明CNE2/DDP对5-ALA-PDT存在一定程度的交叉抗性，增加5-ALA浓度和/或增大激光剂量可以在一定程度上克服这种抵抗，为5-ALA-PDT用于临床治疗耐药鼻咽癌提供参考。

参考文献：

[1] Lagerberg J W, Uberriegler K P, Krammer B, *et al*. Plasma membrane properties involved in the photodynamic efficacy of merocyanine 540 and tetrasulfonated aluminum phthalocyanine[J]. Photochem Photobiol, 2000, 71(3): 341-346.

[2] Kusuzaki K, Minami G, Takeshita H, *et al*. Photodynamic inactivation with acridine orange on a multidrug-resistant mouse osteosarcoma cell line [J]. Jpn J Cancer Res, 2000, 91(4): 439-445.

[3] Trindade G S, Capella M A, Capella L S, *et al*. Differences in sensitivity to UVC, UVB and UVA radiation of a multidrug-resistant cell line overexpressing P-glycoprotein [J]. Photochem Photobiol, 1999, 69(6): 694-699.

[4] 廖新华，陈祖林，葛海燕，等，低浓度的丝裂霉素对结肠癌光动力增效作用研究[J]. 第三军医大学学报，2005，27(20)：2054-2056.

[5] Tsai T, Hong R L, Tsai J C, *et al*. Effect of 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy on MCF-7 and MCF-7/ADR cells [J]. Lasers Surg Med, 2004, 34(1): 62-72.

[6] Merlin J L, Gautier H, Barberi-Heyob M, *et al*. The multidrug resistance modulator SDZ-PSC 833 potentiates the photodynamic activity of chlorin e6 independently of P-glycoprotein in multidrug resistant human breast adenocarcinoma cells [J]. Int J Oncol, 2003, 22(4): 733-739.

[7] Yow C M, Mak N K, Szeto S, *et al*. Photocytotoxic and DNA damaging effect of temoporfin (mTHPC) and merocyanine 540 (MC540) on nasopharyngeal carcinoma cell [J]. Toxicol Lett, 2000, 115(1): 53-61.

[8] 姜润德，张立新，岳 文，等. 人鼻咽癌顺铂耐药细胞系(CNE2/DDP)的建立及耐药相关基因的筛选[J]. 癌症，2003，22(4)：337-345.

[9] Rick K, Sroka R, Stepp H, *et al*. Pharmacokinetics of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin Ⅸ in skin and blood[J]. J Photochem Photobiol B, 1997, 40(3): 313-319.

[10] Robey R W, Steadman K, Polgar O, *et al*. ABCG2-mediated transport of photosensitizers: potential impact on photodynamic therapy [J]. Cancer Biol Ther, 2005, 4(2): 187-194.

（编辑 陈聪连）

文章编号：1000-5404(2007)11-1049-01

个案与短篇

重度气管狭窄端端吻合1例

周雪琴 （第三军医大学新桥医院耳鼻咽喉科，重庆 400037）

患者，女性，20岁，因"有机磷中毒"行气管插管抢救好转出院，此后常感声音嘶哑，吸气性呼吸困难，感冒后加重，纤支镜检查：声门下3~4 cm瘢痕狭窄 三维CT重建：气管局限性狭窄 狭窄长度为15 mm，最狭窄的前后径为5~6 mm，横径3~4 mm，从狭窄起始部位到声门距离是3.25 cm，狭窄部位距胸骨上缘为3.5 cm 患者在局麻下于胸骨上窝一横指处行横行切口，在第5,6气管环做气管切开，改为静脉复合麻醉 沿气管切口向上扩大游离皮下组织及颈前带状肌，暴露环状软骨和第1~4气管环，见：狭窄主要位于第3气管环，上波及第2环下缘，下波及第4环下缘，狭窄部位长1.5 cm，上端狭窄口宽3 mm，下端狭窄口宽1.5 cm，气管环内环状瘢痕纤维增生，将狭窄部份气管切除，根据临床经验，气管切除范围在1.5~6.5 cm，吻合气管 术后恢复好，无呼吸困难，声音质量提高。

讨论

任何造成喉气管软组织和软骨支架结构损伤和(或)缺失的因素均可导致喉气管狭窄的发生[1] 常见原因：①喉外伤：喉部挫伤，挤压，切割伤，火器伤，化学性烧伤等 ②医源性损伤：气管切开，插管性损伤，带气囊插管人工呼吸 ③喉部手术后遗症：各种半喉切除术，声带肿瘤手术 ④颈部肿瘤手术；患者主要是呼吸困难，声嘶和喘鸣 喉气管狭窄的治疗非常棘手，常被称为顽固性喉气管狭窄，不只治疗困难，而且时间较长 其方法有[2]：①气管切开：主要是解决患者的呼吸困难，并非是根本治疗 ②扩张疗法：经口腔在直达喉镜下或经气管切口逆行向上，用不同型号的扩张子逐步扩张狭窄部位，一般7~10 d扩张1次 此法仅适用于狭窄程度较轻，无软骨支架变形，移位或缺损者 ③喉气管成形术：常规切开喉和/或气管，根据瘢痕形成情况，可黏膜下切除瘢痕，置入硅橡胶"T"形管支撑 如狭窄程度不很重，瘢痕时间较长又较稳定者，也可不触动瘢痕，而仅切开喉或气管，然后嵌入带蒂舌骨，带软骨膜肋软骨，气道腔内填入有碘仿纱条的指套支持(一般10 d左右可拔除支持物) 放置硅橡胶"T"形管支撑者往往需戴管数月至2年 此患者狭窄部位在第3环位置，狭窄长度为15 mm，该患者是由于留置气管插管的时间过长，插管压迫气管壁，引起黏膜增生，引起重度狭窄 一般说来，气管留置时间超过24 h，应行常规气管切开术，对于重度狭窄患者，切除狭窄段气管行端口吻合术是简捷的，也是最好的办法 切除后患者要保持头低位，避免气管切除部位断裂。

关键词：气管狭窄；端端吻合
中图法分类号：R767.91 文献标识码：B

作者简介：周雪琴(1984-)，女，重庆市人，医师，主要从事耳鼻喉科方面的研究 电话：(023)68774027

收稿日期：2007-04-10；修回日期：2007-04-25

参考文献：

[1] 牟 永. 后天性喉气管狭窄的诊断与治疗(Ⅰ诊断与术前评估)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂，2006，41(4)：315-318.

[2] 牟 永. 后天性喉气管狭窄的诊断与治疗(Ⅱ诊断与术前评估)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志，2006，41(5)：395-398.

（编辑 郭建秀）