文章编号:1000-5404(2007)18-1737-05

论著

GALV致融性糖蛋白转导肺腺癌细胞的抗肿瘤实验研究

朱 冰[1],杨建茹[2],付新平[1],江跃全[1] ([1]重庆医科大学附属第二医院心胸外科,重庆 400010;[2]邯郸市第六医院中心实验室,邯郸 056800)

提 要:目的 探讨特异性启动子控制下嗜肿瘤Ⅰ型单纯疱疹病毒(HSV-Ⅰ)载体介导的长臂猿白血病病毒致融性外膜糖蛋白(GALV.fus)基因转导肺腺癌细胞的抗肿瘤作用。**方法** 将重组HSV-Ⅰ载体质粒通过脂质体导入非洲绿猴肾细胞(Vero)中包装制备重组HSV-Ⅰ病毒,用来转染肺腺癌细胞(A549)和正常人胚胎成纤维细胞(HFL-Ⅰ GNHu 5)及裸鼠皮下肺癌转移模型,观察其体外及体内抗肿瘤作用及细胞毒性作用。统计学方法采用t检验。**结果** 成功包装重组HSV-Ⅰ病毒,BALB/c裸鼠皮下接种A549细胞2周后均有肿瘤生长,成瘤率为100%。重组单纯疱疹病毒能特异性转染A549细胞,治疗组及对照组细胞存活率分别为20%及70%,病毒对A549细胞有明显的杀灭作用且对裸鼠皮下肺癌转移灶抑制明显。**结论** GALV.fus基因对肺癌细胞有强效的抗肿瘤作用,为临床肺癌治疗探索出一种新型基因治疗方法。

关键词: Ⅰ型嗜肿瘤单纯疱疹病毒;肺腺癌;长臂猿白血病病毒致融性外膜糖蛋白

中图法分类号: R73-362;R734.2;R730.54 **文献标识码:** A

Antitumor effect of GALV membrane fusion glycoprotein on lung adenocarcinoma *in vivo* and *in vitro*

ZHU Bing[1], YANG Jian-ru[2], FU Xin-ping[1], JIANG Yue-quan[1] ([1]Department of Cardiothoracic Surgery, Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010; [2]Central Laboratory, Sixth Hospital of Handan, Handan 056800, China)

Abstract: Objective To investigate the antitumor effect of special promoter-controlled Gibbon ape leukemia virus membrane fusion glycoprotein (GALV.fus) mediated by type Ⅰ herpes simplex virus (HSV-Ⅰ) on lung adenocarcinoma. Methods Recombinant HSV-Ⅰ plasmids encoding GALV.fus was introduced into green monkey kidney cells(Vero) by liposome to amplify the virus, and then the virus was transfected into lung adenocarcinoma (A549), human fetal fibroblasts (HFL-Ⅰ GNHu 5) and human lung adenocarcinoma xenografts which were established in nude mice subcutaneously to observe antitumor and cytotoxic effect *in vitro* and *in vivo*; Recombined cytomegalovirus (CMV) containing GALV.fus or enhanced green fluorescence protein were served as control. Results Recombinant HSV-Ⅰ virus were packed successfully. Heterotransplantative tumourigenicity of the tumour was 100% in nude mice after A549 cells were inoculated. Recombinant HSV-Ⅰ virus exerted obvious antitumor effects *in vitro*, with relative survival rate of 23%, while for CMV virus containing GALV.fus, the rate was 20%, and for CMV virus encoding EGFP, the rate was 68%. Recombinant HSV-Ⅰ virus also showed striking antitumor effect on the implanted tumor. Conclusion GALV.fus has powerful effect against lung cancer *in vitro* and *in vivo* and maybe a promising candidate for gene therapy.

Key words: type Ⅰ herpes simplex virus; lung adenocarcinoma; Gibbon ape leukemia virus membrane fusion glycoprotein

近年来,随着以重组病毒载体为代表的病毒介导的基因转移技术的发展,人类疾病的基因治疗研究获得重大进展。长臂猿白血病病毒致融性外膜糖蛋白(Gibbon ape leukemia virus membrane fusion glycoprotein, GALV.fus)具有强烈的多细胞融合作用,Ⅰ型单纯疱疹病毒载体可将治疗基因转移到广泛的细胞类型[1-3]。本研究采用不同启动子控制嗜肿瘤HSV-Ⅰ

基金项目:国家自然科学基金(30471984);重庆市卫生局资助项目(06-2-001) Supported by the National Natural Sciences Foundation of China (30471984) and the Foundation of Bureau of Public Health of Chongqing(06-2-001)

作者简介:朱 冰(1974-),男,河北省承德市人,博士研究生,主治医师,主要从事胸部肿瘤基因治疗的基础及临床方面的研究。电话:(023)62762132,E-mail:drzhb@hotmail.com

通讯作者:付新平,电话:(023)63693551,E-mail:Xinpingf@hotmail.com

收稿日期:2007-03-07;修回日期:2007-04-27

载体介导 GALV. fus 基因，探讨其多细胞膜融合机制对肺癌细胞的抗肿瘤作用和应用安全性，为临床肺癌治疗探索出一种新型的基因治疗方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 重组嗜肿瘤 HSV-Ⅰ载体质粒及对照质粒[4-6] 均由本室构建、保存。①对肿瘤特异性启动子(HSV-Ⅰ晚期表达基因-UL38 启动子)调控 GALV. fus 质粒，命名为 Synco-2；②无肿瘤特异性巨细胞病毒启动子(CMVP)GALV. fus 质粒作为对照，命名为 Synco-1；③增强型绿色荧光蛋白(EGFP)基因片段取代 GALV. fus 基因片段，由 CMVP 驱动，构建成不具有细胞膜融合作用的病毒载体作为治疗对照，命名为 Baco-1。

1.1.2 细胞及主要试剂 非洲绿猴肾细胞、肺腺癌细胞和人胚胎成纤维细胞均购自中科院上海细胞所，在 DMEM 完全培养基(含 10 % 胎牛血清 FBS 及青、链霉素各 100 μg/ml)，37 ℃，5% CO_2 条件下置于恒温箱中培养，胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(天津 TBD)，真核细胞转染试剂 Lipofectamine 2000(美国 Invitrogen)。

1.1.3 小鼠 SPF 级 BALB/c 雄性裸小鼠 20 只，4 ~ 6 周龄，体质量 18 ~ 20 g，由中国科学院上海实验动物中心提供，饲养于重庆医科大学实验动物中心。

1.2 方法

1.2.1 组装对肿瘤特异性启动子 GALV. fus 基因 DNA 质粒及对照质粒病毒

1.2.1.1 重组单纯疱疹病毒及对照质粒病毒在 VERO 细胞中的包装 Vero 细胞用含 10% FBS 的 DMEM 培养液培养及传代。转染前将 Vero 细胞按 2×10^5/ml 接种于 6 孔板，10% FBS 培养基 2 ml 培养过夜，80% ~ 90% 汇片时进行转染。按转染试剂盒 Lipofectamine 2000 使用说明将载体质粒导入 Vero 细胞。

1.2.1.2 重组单纯疱疹病毒及对照质粒病毒的获得 转染后 48 ~ 72 h，70% 左右的 Vero 细胞出现肿胀、变圆、脱落、凝聚成团等典型的病变效应(cytopathic effect, CPE)时收获细胞。干冰及 37 ℃水浴箱反复冻融 4 次，破坏细胞，10 000 r/min 离心 2 min，收取病毒上清。对照质粒病毒转染 24 h 后荧光显微镜下观察为绿色荧光蛋白表达。

1.2.1.3 重组单纯疱疹病毒的扩增、纯化及滴度测定 用无血清 DMEM 稀释重组单纯疱疹病毒病毒上清，采用 0.01 空斑形成单位(pfu)/细胞感染 Vero 细胞，加入 Vero 细胞中培养 2 h 后，加入 DMEM 完全培养液继续培养 2 ~ 3 d，待 80% 左右的细胞出现病变效应，离心收集细胞，反复冻融后收取病毒上清，反复感染扩增直至获得足够量病毒。扩增后用氯化铯梯度离心纯化，用微量全 CPE 法进行滴度的测定[7]，病毒采用 PBS 液稀释，储存于 -80 ℃冰箱备用。

1.2.2 GALV. fus 体外肿瘤细胞杀伤实验

1.2.2.1 嗜肿瘤 HSV-Ⅰ病毒载体对肿瘤细胞的致融性鉴定 通过嗜肿瘤 HSV-Ⅰ载体在 A549 细胞的直接感染，证明 GALV. fus 通过多细胞融合机制杀死肺癌细胞的能力。分别采用 0.01 pfu 致融病毒载体 Synco-1、Synco-2 和非致融病毒载体 Baco-1 感染 A549 细胞。感染 24 h 后，在倒置显微镜下观察及照相。

1.2.2.2 体外不同致融病毒载体嗜肿瘤 HSV-Ⅰ载体对肿瘤细胞的杀伤效率研究 A549 细胞分别用 0.1 pfu 病毒单位的 Baco-1、Synco-1 和 Synco-2 感染 48 h。用 trypan blue 染色后，镜下计数活细胞数。

1.2.3 体外细胞毒性实验 选用 HFL-Ⅰ GNHu 5 细胞作为实验对象，采用非致融性或致融性载体感染。感染后，采用 3 种方法维持细胞生长：①10% 胎牛血清 DMEM 维持，使细胞处于旺盛生长状态；②无血清 DMEM 维持，使细胞处于分裂静止状态；③无血清 DMEM 联合细胞分裂抑制药物洛伐他汀[8,9]，使细胞处于完全分裂抑制状态。24、48 h 观察不同载体对正常细胞的影响。

1.2.4 GALV. fus 体内肿瘤杀伤实验 建立皮下肺癌动物模型，通过肿瘤内注射携带 GALV. fus 基因载体，观察GALV. fus 体内抑制肿瘤的有效性。动物模型：选用 4 ~ 6 周裸鼠 20 只，取对数生长期的 A549 细胞，PBS 清洗后制成 1×10^{10}/L 细胞悬液，每只小鼠右侧背腹部皮下注射 2×10^6 A549 细胞。接种第 7 天开始测量肿瘤的最大直径(a)和最大横径(b)，计算肿瘤的体积($V = ab^2/2$)。细胞种植 2 周后，肿瘤约长至5 mm × 5 mm 时，将实验鼠随机分成 4 组，每组 5 只，肿瘤内注射100 μl 1×10^7 pfu 嗜肿瘤病毒载体或 PBS。病毒注射后 1 周，再次同样剂量注射。每周观察肿瘤生长情况 2 次，连续观察 4 周。实验分组：Synco-1、Synco-2、Baco-1 和 PBS，肿瘤生长比率 = 各实验组体积变化/治疗前体积($\bar{x} \pm s$)，绘制生命曲线。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 10.0 统计软件行 t 检验和 χ^2 检验。

2 结果

2.1 组装具有肿瘤组织特异性启动子 GALV. fus 重组嗜肿瘤 HSV-Ⅰ

本实验室保存的重组嗜肿瘤 HSV-Ⅰ载体质粒包装成病毒后经测定病毒滴度为 1.0×10^9 pfu/ml，可满足实验要求。对照质粒 Baco-1 转染率为 60%。

2.2 嗜肿瘤 HSV-Ⅰ病毒载体对肺癌细胞的致融性鉴定和体外肿瘤杀伤效率实验

2.2.1 嗜肿瘤 HSV-Ⅰ病毒载体对肺癌细胞的致融性鉴定

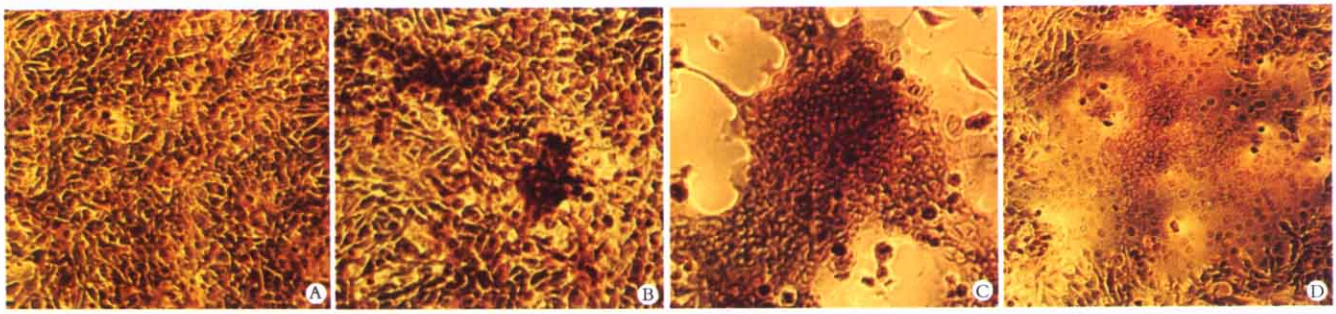
各种 GALV. fus 嗜肿瘤 HSV-Ⅰ载体在肺癌细胞内引起强烈的细胞膜融合，数十至数百细胞融合形成巨大细胞融合斑。而非致融病毒载体 Baco-1 仅引起病毒细胞毒性效应，细胞呈圆形，镜下未见细胞融合斑。见图 1。

2.2.2 嗜肿瘤 HSV-Ⅰ病毒载体对肺癌细胞的体外杀伤效率实验 结果显示，致融病毒载体 Synco-1 组与 Synco-2 组 A549 细胞存活率分别为 23% 及 20%，对肺癌细胞的体外杀伤效率明显优于非致融病毒载体 Baco-1 组(细胞存活率为 68%，$P < 0.01$)。而 Synco-1 组与 Synco-2 组间无统计学差异

（$P>0.05$）。

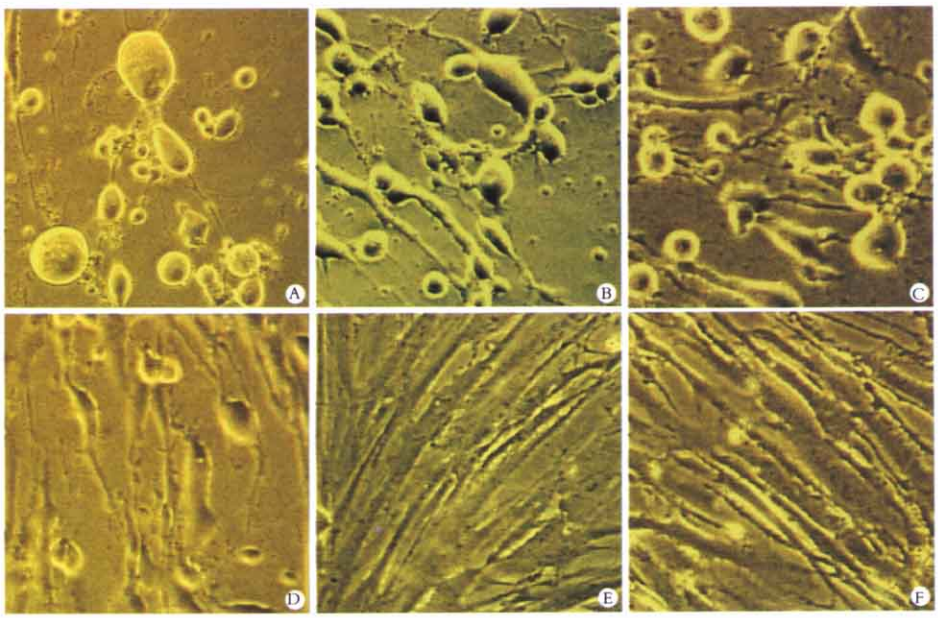
2.3　嗜肿瘤 HSV-Ⅰ病毒载体对体外细胞的特异性鉴定实验

选用非特异性的 CMVP 调控的嗜肿瘤 HSV-Ⅰ载体 Synco-1 在细胞生长静止抑制状态均引起细胞膜融合，与 Synco-1 显著不同的是，受 UL38p 调控的嗜肿瘤 HSV-Ⅰ载体 Synco-2 仅在细胞生长状态导致细胞膜融合；而细胞处于静止和抑制状态时，不引起细胞膜融合以及任何细胞病理改变。见图 2。



A：对照组；B：Baco-1 组；C：Synco-1 组；D：Synco-2 组

图 1　GALV. fus 病毒系列在 A549 细胞内致融表型观察　（倒置显微镜 ×200）

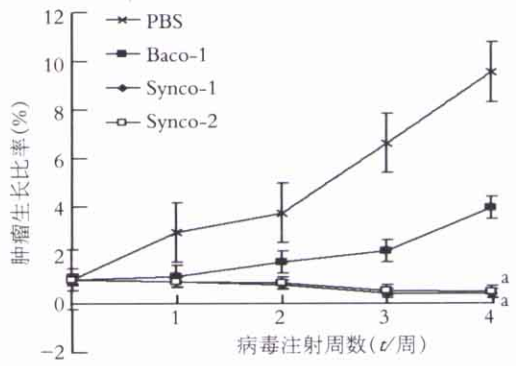


A：Synco-1 组 10% FBS/DMEM（×400）；B：Synco-1 组 0% FBS/DMEM（×400）；C：Synco-1 组 0% FBS/DMEM，20 μmol/L Lovastatin（×400）；D：Synco-2 组 10% FBS/DMEM（×400）；E：Synco-2 组 0% FBS/DMEM（×200）；F：Synco-2 组 0% FBS/DMEM，20 μmol/L Lovastatin（×200）

图 2　GALV. fus 病毒在 HFL-1 GNHu 5 细胞致融表型倒置显微镜观察

2.4　体内嗜肿瘤 HSV-Ⅰ病毒载体对实体肿瘤的治疗效果评定

采用细胞种植法接种 2 周后，裸小鼠右背侧皮下均可见 0.6 cm 左右的肿瘤，成瘤率达 100%，且动物生长状态良好。结果显示（图 3）：在肺癌 A549 细胞中，GALV. fus 致融病毒载体 Synco-1、Synco-2，治疗实体瘤的效果明显优于非致融病毒载体 Baco-1（$P<0.01$）。GALV. fus 致融病毒载体组，50% ~ 70% 的肿瘤完全消失；而无 GALV. fus 基因的非致融病毒载体 Baco-1 抑制肿瘤的效果较差。



a：$P<0.01$，与 Bao-1 比较

图 3　GALV. fus 病毒治疗小鼠 A549 荷瘤的效果

3 讨论

肺癌是最常见导致人类死亡的病因之一，治疗肺癌的常用方法包括手术治疗、化学和放射治疗，疗效不乐观，因而肺癌的基因治疗越来越备受世人的关注。通过直接对肿瘤细胞的毒性和杀伤作用而到达抗肿瘤的基因治疗主要有通过基因改良能直接杀死肿瘤细胞的溶瘤病毒和通过病毒载体介入肿瘤细胞后表达基因产物干扰肿瘤细胞代谢合成的介入自杀基因治疗。这些方法在动物实验广泛应用并取得了一定的抗肿瘤疗效，但仍存在种种不足，如溶瘤病毒经基因改良后病毒复制能力减弱而影响其抗肿瘤能力；自杀基因表达产物激活后干扰肿瘤细胞代谢合成的同时也对病毒本身的 DNA 合成产生抑制作用，以致治疗肿瘤的效果大大减弱。因此，有必要提高或改进基因治疗对肿瘤细胞的杀伤能力，以及病毒的扩散能力。

研究表明，长臂猿白血病病毒致融性外膜糖蛋白具有强烈的多细胞融合作用，通过其与细胞受体结合造成感染的细胞和未感染的周边细胞形成广泛的多细胞融合而致死，对人类许多肿瘤如脑、肝、乳腺、前列腺和卵巢癌有致融性，可通过多细胞融合机制有效地杀死这些肿瘤细胞，并且通过旁杀伤效应破坏临近周围的肿瘤细胞，可作为一种有效的抗肿瘤基因治疗方法。Higuchi 等[1]研究表明，GALV. fus DNA 转化入 7% 的肝癌细胞，却导致 70% 的细胞死亡，充分显示其强大的旁杀伤效应，其杀肿瘤细胞的强度至少 10 倍于 Tk 基因或 CD 基因治疗。其多细胞融合杀死肿瘤细胞的机制可能是 GALV. fus 通过生物化学机制导致肿瘤细胞坏死和凋亡，ATP 减少所致[10]。HSV-1 具有基因组庞大且已全部测序且宿主范围广、病毒杀伤靶细胞效应明显强和快于其他病毒等有利条件可供用于构建载体，本研究采用构建成功的重组嗜肿瘤 HSV-Ⅰ载体介导 GALV. fus 基因。与以上研究相似，各种 GALV. fus 嗜肿瘤 HSV-Ⅰ载体在肺癌细胞内引起强烈的细胞膜融合，数十至数百细胞融合形成巨大细胞融合斑。而非致融病毒载体 Baco-1 仅引起病毒细胞毒性效应，细胞呈圆形，镜下未见细胞融合斑(图 1)。本实验中，致融病毒载体 Synco-1、Synco-2 杀伤肺癌细胞的效率达到 70% ~80%，明显优于非致融病毒载体 Baco-1，两者比较，差异明显，表明 GALV. fus 基因在重组嗜肿瘤 HSV-Ⅰ载体介导下对肺癌细胞有强效的抗肿瘤作用。

GALV. fus 与宿主细胞表面结合的受体为 Pit-1，一个Ⅲ型钠依赖磷酸运输介体，广泛分布于大多数哺乳动物细胞膜表面。GALV. fus 基因表达无细胞选择性，不仅可通过多细胞融合机制杀死肿瘤细胞，也可在正常细胞内造成多细胞融合形成。本实验采用对肿瘤特异性启动子 UL38[11,12]控制 GALV. fus 基因的表达，UL-38P 是 HSV-Ⅰ绝对晚期基因表达基因启动子，由于嗜肿瘤 HSV-Ⅰ载体具有仅在肿瘤细胞复制的特异性，受 UL-38P 调控的 GALV. fus 基因仅在 GALV. fus 基因肿瘤细胞的表达，使 GALV. fus 仅对肿瘤组织有破坏作用，而对正常细胞无损害作用，确保其应用的安全性。脂溶性他汀类药物可抑制血管平滑肌细胞、肾小球系膜细胞及多种肿瘤细胞的增殖，使细胞滞留在 G_0/G_1 期。本研究采用无血清 DMEM 联合洛伐他汀，使细胞处于完全分裂抑制状态。结果显示正常人胚胎成纤维细胞在细胞分裂完全抑制，细胞分裂静止和细胞分裂旺盛 3 种情况下，作为对照的非特异性的 CMV-P 调控的嗜肿瘤 HSV-Ⅰ载体 Synco-1 均引起细胞膜融合，显示无特异性致融表型。与 Synco-1 显著不同的是，受 UL38p 调控的嗜肿瘤 HSV-Ⅰ载体 Synco-2 仅在细胞生长状态导致细胞膜融合；而细胞处于静止和抑制状态时，不引起细胞膜融合以及任何细胞病理改变，从而表明 UL38p 在嗜肿瘤 HSV-Ⅰ载体内的肿瘤特异性，以及在正常组织细胞的安全性。

本实验成功建立人肺腺癌肿瘤裸鼠模型进行 GALV. fus 的体内治疗实验研究，成瘤率达 100%，且动物生长状态良好。GALV. fus 致融病毒载体组在治疗 4 周后，50% ~ 70% 的肿瘤完全消失；而无 GALV. fus基因的非致融病毒载体 Baco-1 抑制肿瘤的效果差($P<0.01$)，提示 GALV. fus 基因可有效的应用于实体肿瘤的体内治疗，本实验并未检测重组嗜肿瘤 HSV-Ⅰ载体的体内毒性作用，而体内肺部转移模型亦未完成，有待进一步研究。

因此，本研究通过已构建的采用不同启动子的重组嗜肿瘤 HSV-Ⅰ载体质粒及对照质粒观察其体外及体内抗肿瘤作用及细胞毒性作用。GALV. fus 基因在重组嗜肿瘤 HSV-Ⅰ载体介导下可成功转染肺腺癌细胞，并产生强效的杀伤肿瘤作用。受 UL-38P 调控的 GALV. fus 基因仅在肿瘤细胞的表达，使 GALV. fus 仅对肿瘤组织有破坏作用，而对正常细胞无损害作用，确保其应用的安全性为临床肿瘤治疗提供一种有效的治疗方法。

参考文献：

[1] Higuchi H, Bronk S F, Bateman A, *et al*. Viral fusogenic membrane glycoprotein expression causes syncytia formation with bioenergetic cell death: implications for gene therapy[J]. Cancer Res, 2000, 60(22): 6396 - 6402.

[2] Burton E A, Wechuck J B, Wendell S K, *et al*. Multiple applications for replication-defective herpes simplex virus vectors[J]. Stem Cells, 2001, 19(5): 358-377.

[3] Faith S A, Sweet T J, Bailey E, *et al*. Resveratrol suppresses nuclear factor-kappaß in herpes simplex virus infected cells[J]. Antiviral Res, 2006, 72(3): 242-251.

[4] Wang H, Fu X, Zhang X. Isomerization of a uniquely designed amplicon during herpes simplex virus-mediated replication[J]. J Virol, 2001, 75(21): 10505-10510.

[5] Fu X, Wang H, Zhang X. High-frequency intermolecular homologous recombination during herpes simplex virus-mediated plasmid DNA replication[J]. J Virol, 2002, 76(12): 5866-5874.

[6] Nakamori M, Fu X, Meng F, *et al*. Effective therapy of metastatic ovarian cancer with an oncolytic herpes simplex virus incorporating two membrane fusion mechanisms[J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(7): 2727-2733.

[7] 斯佩克特 D L, 戈德曼 R D, 莱因万德 L A. 细胞实验指南[M]. 黄培堂, 译. 北京: 科学出版社, 2001: 830-831.

[8] Rao S, Lowe M, Herliczek T W, *et al*. Lovastatin mediated G1 arrest in normal and tumor breast cells is through inhibition of CDK2 activity and redistribution of p21 and p27, independent of p53[J]. Oncogene, 1998, 17(18): 2393-2402.

[9] Rao S, Porter D C, Chen X, *et al*. Lovastatin-mediated G1 arrest is through inhibition of the proteasome, independent of hydroxymethyl glutaryl-CoA reductase[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96(14): 7797-7802.

[10] Zhang J, Frolov I, Russell S J. Gene therapy for malignant glioma using Sindbis vectors expressing a fusogenic membrane glycoprotein[J]. J Gene Med, 2004, 6(10): 1082-1091.

[11] Fu X, Meng F, Tao L, *et al*. A strict-late viral promoter is a strong tumor-specific promoter in the context of an oncolytic herpes simplex virus[J]. Gene Ther, 2003, 10(17): 1458-1466.

[12] Martin E T, Koelle D M, Byrd B, *et al*. Sequence-based methods for identifying epidemiologically linked herpes simplex virus type 2 strains[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(7): 2541-2546.

（编辑 王 红）

文章编号：1000-5404(2007)18-1741-04

个案与短篇

以下肢静脉血栓、乳糜腹、双侧胸腔积液及肺栓塞为主要表现的胃癌1例

肖天英[1]，李 琦[2]（[1]重庆市永川区652医院呼吸内科，重庆 402160；[2]第三军医大学西南医院全军呼吸内科研究所，全军呼吸病研究重点实验室，重庆 400037）

胃癌及其他恶性肿瘤的临床表现多种多样，常常给诊断造成很大困难。对累及多系统的疑难病例，应考虑恶性肿瘤的可能。现将我科最近收治的以下肢静脉血栓、乳糜腹、双侧胸腔积液及肺栓塞为主要表现的胃癌1例报告如下。

1 临床资料

患者，男性，43岁，因双下肢水肿、气促2个月入院。患者入院前2个月无明显诱因出现双下肢水肿，当地县医院下肢彩超诊断为“右下肢静脉血栓”，3d后出现气促、腹胀，症状进行性加重，“第三军医大学西南医院下肢彩超提示”右髂前静脉、股浅静脉血栓形成，右侧胭静脉未见血流信号”；B超示“双侧胸腔积液，腹腔积液”，肺部CT扫描提示“左下叶前内基底段血液灌注明显减低，考虑局部肺栓塞可能”；D-二聚体阳性。当时诊断为“右下肢静脉血栓形成；右下肺栓塞”，口服溶栓、抗胸腹水等治疗后症状一度减轻并出院。2006-05-05患者上述症状加重，即到我院就诊，于当日入双侧胸腔积液收入我科。查体：全身浅表淋巴结未大，口唇紫绀，气管右移，双下肺呼吸音消失，叩呼音减弱，双肺未闻及干湿性啰音，心脏(-)，腹上隆，全腹无压痛，肝脏未触及，移动性浊音阳性，双下肢中度水肿，以右下肢明显。

作者简介：肖天英(1969-)，女，四川省合川市人，主治医师，主要从事呼吸内科专业研究。电话：13436033458

收稿日期：2007-05-08；修回日期：2007-05-28

急查血常规：WBC 7.86×10⁹/L，HGB 134 g/L，RBC 4.12×10¹²/L，PLT 468×10⁹/L；血流 38 mm/h，D-二聚体 0.52 mg/L；肝功：总蛋白 41.6 g/L，白蛋白 23 g/L，球蛋白 18.6 g/L，血沾 LDH 119 U/L，AFP<25 μg/L，CEA 15.0 μg/L；胸片：双肺纹理增多，双中下肺可见片状高密度影，双膈显示不清，肋膈角消失；胸部B超：双侧胸腔积液(BPE)；腹部B超：腹腔积液，左肾结石；腹部CT平扫：腹腔及胸腔积液，双肾盂内点状高密度影。入院后多次胸穿及腹穿抽液，右侧胸腔抽出血性胸腔积液，比重1.014，WBC 280×10⁹/L，多核细胞82%，蛋白质27.1 g/L，LDH 252 U/L；右侧胸腔抽出淡黄色胸腔积液，比重1.014，WBC 1.160×10⁹/L，单核细胞70%，多核细胞10%，蛋白质33.0 g/L，LDH 304 U/L；CEA 8.0 ng/ml；腹穿抽出淡红色渗液体，比重1.014，WBC 650×10⁹/L，单核细胞6%，多核细胞76%，蛋白质92.4 g/L，LDH 141 U/L；CEA 8.0 ng/ml，16.14.71 mmol/L，IC 2.97 mmol/L，乳糜试验(+)；胸腔积液多次检未查见抗酸杆菌及癌细胞；后从腹水中查见少量可疑癌细胞。但该患者无自觉症状改变，主要以下肢静脉血栓、乳糜腹、双侧胸腔积液及肺栓塞为临床表现，考虑下述综合征状不能用良性病变解释，血乳糜腹查见上腹腔恶性肿瘤，故进一步行胃镜检查提示：上、后胃体小弯、贲门口大小胃壁、黏膜下层增厚，管腔狭窄，表面凹凸不平，质硬，易出血，胃窦部小弯侧见一大小约3.0 cm×2.5 cm溃疡，表面覆白苔，周围黏膜皱襞中断，胃镜诊断为：胃体癌，胃窦溃疡。病理学检查：胃窦部浅表组织见印戒细胞癌，最后确诊为胃癌晚期伴乳糜腹、双侧胸腔积液、下肢静脉血栓及肺栓塞。

（下转1745页）