论著

文章编号:1000-5404(2008)11-1066-05

可溶性人 TRAIL 诱导胃癌细胞 BGC-823 凋亡的研究

李 彦[1],姜 政[1],向廷秀[2],曾 波[1],陶小红[1],王丕龙[1] (重庆医科大学附属第一医院:[1] 消化内科,[2] 实验研究中心,重庆 400016)

摘 要:目的 通过构建 pBud-EGFP-TRAIL 质粒体外观察可溶性人 TRAIL 蛋白(sTRAIL)对胃癌细胞 BGC-823 的作用。**方法** 以 EFGP 基因为报告基因,sTRAIL 为目的基因,构建 pBud-EGFP-TRAIL 双表达质粒,鉴定酶切和测序重组体。经脂质体转染法转染体外培养的胃癌细胞 BGC-823,用荧光显微镜观察 EGFP 的表达,RT-PCR 及 Western blot 进一步检测 sTRAIL mRNA 及其蛋白的表达,MTT 法检测转染后对胃癌细胞的生长抑制率,TUNEL 法观察细胞的凋亡情况,流式细胞仪分析转染后胃癌细胞的凋亡率。**结果** 测序结果证实 pBud-EGFP-TRAIL 载体构建成功,质粒经脂质体转染后,通过表达 sTRAIL 蛋白对胃癌细胞发挥作用。MTT 法显示转染该质粒的细胞的生长抑制率明显高于对照组,TUNEL 法显示细胞核固缩,核染色质聚集或断裂,形成凋亡小体。流式细胞仪结果表明转染该质粒的细胞的的凋亡率明显高于对照组。**结论** 在体外初步证实 TRAIL 能诱导胃癌细胞 BGC-823 凋亡。

关键词:胃肿瘤 肿瘤坏死因子 肿瘤坏死因子相关诱导凋亡配体 细胞凋亡 BGC-823 细胞
中图法分类号:R394.3;R730.23;R735.2 **文献标识码:**A

Soluble human TRAIL induces apoptosis of BGC-823 cells

LI Yan[1], JIANG Zheng[1], XIANG Ting-xiu[2], ZENG Bo[1], TAO Xiao-hong[1], WANG Pi-long[1] ([1]Department of Gastroenterology, [2]Experiment Research Center, The First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To study the effect of soluble TRAIL protein (sTRAIL) on the gastric cancer cell line BGC-823. Methods EGFP as report gene and sTRAIL as the target gene, a double expression plasmid of pBud-EGFP-TRAIL was constructed. After identified by restriction digestion and sequencing, pBud-EGFP-TRAIL was transfected into gastric cancer cell line BGC-823 by Lipofectamine™2000. The expression of EGFP was observed by fluorescent microscope. The mRNA and protein expressions of sTRAIL were detected by RT-PCR and Western blot. The proliferation of BGC-823 cells was examined by MTT method, and the apoptosis of BGC-823 cells was examined by TUNEL method and flow cytometry. Results Sequencing result showed that the recombinant plasmid of pBud-EGFP-TRAIL had been constructed successfully. After transfected with pBud-EGFP-TRAIL, BGC-823 cells expressed sTRAIL protein and their apoptosis was induced. The inhibition rate of proliferation of BGC-823 cells transfected with pBud-EGFP-TRAIL was higher than that of the control by MTT, and the apoptosis rate was also higher by flow cytometry. Karyopycnosis, nuclear chromosome condensation and nuclear segmentation were observed by TUNEL. Conclusion It is proved that sTRAIL can cause apoptosis of gastric cancer cell line BGC-823.

Key words: stomach neoplasms; tumor necrosis factor; TNF-related apoptosis-inducing ligand; apoptosis; BGC-823 cells

肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand,TRAIL)是近年来发现的 TNF 超家族新成员,亦称 Apo-2L,由 Wiley 等[1]于 1995 年首次搜索 EST 时发现并克隆成功,为继 TNF、FasL 之后发现的第 3 个 TNF 超家族中的凋亡分子。人 TRAIL 基因定位于 3 号染色体的 3q26,含有一个开放读码框,编码由 281 个氨基酸组成的前体蛋白,为典型的Ⅱ型跨膜糖蛋白,在金属蛋白酶作用下,其胞外区 C 末端的 114~281 氨基酸可形成同源三聚体结构,为可溶型蛋白(soluble TRAIL,sTRAIL)。

基金项目:国家自然科学基金(30500234)
Supported by the National Natural Science Foundation of China(30500234)
作者简介:李 彦,女,重庆市人,硕士研究生,主要从事消化系统肿瘤方面的研究。电话:13220363451,E-mail:liyan_cy1982@126.com
通信作者:向廷秀,电话:13062315759
收稿日期:2007-10-31 修回日期:2007-12-17

TRAIL 最主要的生物学特点为选择性细胞毒作用,即仅诱导肿瘤细胞、转化细胞或病毒感染细胞凋亡,而不能诱导正常细胞凋亡,从而在正常机体起免疫监视作用。

因此,本实验以增强型绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescence protein,EGFP)为报告基因,sTRAIL 基因为目的基因,构建 pBud-EGFP-TRAIL 双表达质粒,探讨其在体外对胃癌细胞的作用,为研究 TRAIL 对胃癌的基因治疗提供了方向。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　细胞系　人低分化胃腺癌细胞系 BGC-823 由本实验室保存。

1.1.2　主要材料　pBud-EGFP 质粒已由本室构建好,pBudCE4.1 质粒及 Zeocin 购自 Invitrigen 公司。大肠杆菌 JM109、DH5α 由本实验室保存。内切酶 *Xba* Ⅰ、*Xho* Ⅰ和 *Bgl* Ⅱ以及 T_4DNA 连接酶、RT-PCR 试剂盒均购自 TaKaRa 公司。小量质粒提取试剂盒,胶回收试剂盒购自 Omiga 公司。Lipofectamine 2000 购自 Invitrogen 公司。胎牛血清及小牛血清购自杭州四季青公司。RPMI-1640 为美国 GIBCO 公司产品。鼠抗人 TRAIL 多抗为美国 Santa Crutz 公司产品。HRP 标记的羊抗鼠二抗购自北京中山生物技术公司。TUNEL 试剂盒购自 Roche 公司。ANNEXIN V-PE 及 TAAD 凋亡检测试剂购自 Bennder 公司。

1.2　方法

1.2.1　细胞培养　胃癌细胞株 BGC-823 在含 10% 小牛血清的 1640 培养液,37℃,5% CO_2孵箱中培养,2 ~ 3 d 传代 1 次。

1.2.2　pBud-EGFP 的构建　用 *Xba* Ⅰ酶切 pEGFP 和 pBudCE4.1,回收 767 bp 的 EGFP 片断和线性化载体大片断后,T_4DNA 连接酶 16 ℃连接过夜,转化 *E. coli* DH5α 感受态细胞($CaCl_2$方法制备),将转化的细菌涂布 LB 固体培养基(含 100 mg/ml Zeocin),37 ℃倒置培养,挑取 3 ~ 4 个单克隆菌落,接种于 3.0 ml 含 100 mg/ml Zeocin 的 LB 液体培养基中,37 ℃,280 r/min 振荡过夜,用小抽抽提质粒,将获得的质粒用 *Xba* Ⅰ酶切,1.5% 琼脂糖凝胶电泳分析以及测序鉴定其方向正确性。

1.2.3　pBud-EGFP-TRAIL 的构建　①TRAIL 的引物设计 根据 GenBank 中报道的 cDNA 序列(NM 005345),参考引物设计原则,利用引物设计软件 Primer 设计 TRAIL 的引物,上游引物 5′-GCCCTCGAGAATGAACGCTCTCCAAGAA-3′(加入酶切位点 *Xho* Ⅰ),下游引物 5′-GCCAGATCTCAGTCTTATACGCCTTCT-3′(加入酶切位点 *Bgl* Ⅱ)。利用 BLAST 进行查询,确定其序列特异性。②取人外周血,分离出淋巴细胞,用 Trizol 提取总 RNA,RT-PCR 扩增目的基因 sTRAIL。③用 *Xho* Ⅰ和 *Bgl* Ⅱ酶切 pBud-EGFP,将 sTRAIL 基因与所得的线性化载体大片断进行连接,转化 *E. coli* JM109,筛选阳性菌落及抽提质粒步骤同前。将所得的质粒进行酶切,电泳及测序鉴定。

1.2.4　质粒转染　应用 Lipofectamine™2000 脂质体转染法。将培养的 BGC-823 细胞用胰酶消化,离心,去上清,沉淀用不含抗生素的 RPMI1640 培养液重悬,调整细胞数为 $7 \times 10^5 \cdot ml^{-1}$,以 1 ml/孔接种于 6 孔培养板中,再补加培养液 1 ml,置 37 ℃孵箱培养至细胞生长到约 80% ~ 90% 融合时,用无抗菌素无血清的 RPMI1640 洗 3 次,用 pBud-EGFP-TRAIL 转染 BGC-823 细胞(操作见试剂盒说明书),设 pBud 空载体组和只接种细胞,不作处理的空白对照组。在 37 ℃,5% CO_2无血清、无抗生素的培养液培养 5 h 后换新鲜含 10% 小牛血清的 1640 培养基,继续培养 48 h 后检测各指标。

1.2.5　MTT 检测 pBud-EGFP-TRAIL 对细胞生长的抑制　分组同前,每组设 3 个复孔。转染后分别继续培养 24、48、72 h,每孔加入 5 mg/ml 灭菌 MTT 液 20 μl,37℃,5% CO_2的培养箱继续孵育 4 h 后,吸去培养液,加入 DMSO 150 μl/孔,振荡 10 min,用酶标仪分析在 490 nm 处的光密度值[D(490)],计算细胞生长抑制率。

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{\text{比色对照组 } D(490) \text{ 平均值} - \text{实验组 } D(490) \text{ 平均值}}{\text{比色对照组 } D(490) \text{ 平均值}} \times 100\%$$

1.2.6　RT-PCR 检测 TRAIL mRNA 的表达　收集转染 24 h 后 BGC-823 细胞及对照组细胞,用 Trzol 提取总 RNA,分光光度计检测 RNA 纯度和浓度,各组 $D(260)/D(280)$ 均在 1.8 ~ 2.0 之间,按 RT-PCR 试剂盒操作说明进行逆转录,PCR 扩增 sTRAIL,同时扩增 GAPDH 作为内参照,GAPDH 的上游引物:5′-ACGGATGTCGTATTGGC-3′,下游引物:5′-TGATTTTG-GAGEGATCTCGC-3′,大小为 821 bp。逆转录反应条件为:42 ℃ 20 min,99 ℃ 5 min,4 ℃ 5 min,1 个循环。PCR 反应条件为:94 ℃ 2 min,1 个循环;94 ℃ 30 s,53 ℃ 30 s,72 ℃,40 s,30 个循环。PCR 产物经 0.8% 琼脂糖电泳分离。

1.2.7　Western blot 检测 TRAIL 蛋白表达　分别收集对照组和转染 pBud-EGFP-TRAIL 质粒 48 h 的 BGC-823 细胞的细胞培养液的上清液,离心去除沉淀后,取上清液加 1 × 蛋白上样缓冲液 100 μl,100 ℃煮 5 min;取每份样品上清 10 μl 上样行聚丙烯酰胺凝胶电泳(5% 积层胶,10% 分离胶),90 V 恒压电泳约 120 min。电泳完毕后取出凝胶,4 ℃、12 V 恒压电转过夜。次晨取出 NC 膜,加 1∶300 稀释的一抗,1∶1 000 的辣根过氧化物酶标记稀释二抗溶液,37 ℃,振荡孵育 2 h。用化学发光试剂盒显色,照相。同时,收集各组细胞,以相同方法提取蛋白。

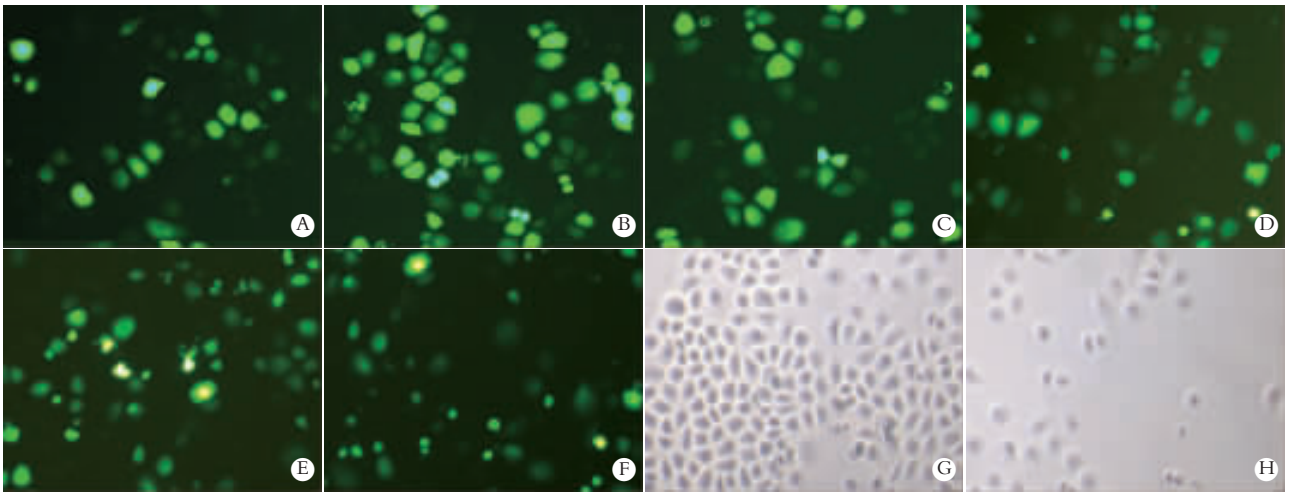
1.2.8　TUNEL 法检测细胞凋亡　在 24 孔板各孔内放置一张经高压蒸汽灭菌的盖玻片,选取对数生长期 BGC-823 细胞,每孔接种 2×10^5 个细胞,转染 48 h 后,吸尽孔内培养液,用 4% 多聚甲醛固定 30 min,PBS 浸洗 3 次,5 min/次,用镊子小心夹出,固定在滴有中性树脂的载玻片上,按 TUNEL 试剂盒操作说明进行下一步操作。判定标准为:TUNEL 阳性物质位于细胞核,呈黄核色或黄棕色。

1.2.9　流式细胞仪分析细胞凋亡率　转染 48 h 后,用胰酶消化,将细胞制成单细胞悬液,ANNEXIN V-PE 及 TAAD 染色(操作步骤按试剂盒说明书进行),送流式细胞仪检测凋亡。

2　结果

2.1　重组质粒载体鉴定

质粒 pBud-EGFP 和空质粒 pBud 经 *Xba* Ⅰ酶切后,1.5% 琼脂糖电泳,pBud 空质粒呈单一条带,大小约 4 600 bp,而 pBud-EGFP 则为约 4 600 bp 和 700 bp 两条带。将 pBud-EGFP-TRAIL 和 pBud-EGFP 用 *Xho* Ⅰ和 *Bgl* Ⅱ酶切后,经 1.5% 琼脂糖电泳,pBud-EGFP 呈单条带,大小约 5 300 bp,pBud-EGFP-TRAIL 为 5 300 bp 的载体大片断和约为 521 bp 的目的片断。



A－C：荧光显微镜下观察 pBud-EGFP 转染 BGC-823 细胞 24、48、72 h 结果；D－F：荧光显微镜下观察 pBud-EGFP-TRAIL 转染 BGC-823 细胞 24、48、72 h 结果；G－H：普通光镜下分别观察 pBud-EGFP 及 pBud-EGFP-TRAIL 转染 BGC-823 细胞 72 h 时结果

图1 镜下观察 pBud-EGFP-TRAIL 及 pBud-EGFP 转染 BGC-823 细胞 24 h，48 h，72 h 结果（×200）

将 pBud-EGFP-TRAIL 和 pBud-EGFP 送重庆医科大学分子生物学重点实验室测序，结果证实插入片断方向正确，重组质粒构建成功。

2.2 重组质粒体外转染结果

胃癌细胞 BGC823 转染 pBud-EGFP 及 pBud-EGFP-TRAIL 后，在荧光显微镜下均可见到绿色荧光蛋白的表达，pBud-EGFP 组细胞贴壁，生长状态良好，未见明显细胞死亡，细胞内荧光逐渐增多增强，在 48 h 时达高峰，72 h 后开始衰减。pBud-EGFP-TRAIL 组细胞在转染后 24 h 开始出现少量细胞变圆，皱缩，并悬浮于培养液中，在 48 h 时，可见到悬浮细胞明显增多，荧光显微镜下可见到较多散在的荧光碎片，在 72 h 时可见少量残余的荧光碎片（图 1）。

2.3 MTT 结果

与 pBud-EGFP 组相比，pBud-EGFP-TRAIL 组细胞的生长受到明显抑制，对于转染 pBud-EGFP-TRAIL 组的细胞，其在 48 h 的细胞生长抑制率较 24 h 明显增高，在 72 h 亦有所增高，但不如 48 h 明显，说明 sTRAIL 在 48 h 时对 BGC-823 细胞的增殖抑制作用达到高峰（表 1）。

表1 sTRAIL 对 BGC-823 细胞的增殖抑制率（%，$\bar{x} \pm s$）

组别	24 h	48 h	72 h
pBud-EGFP	7.52 ± 0.11	6.98 ± 0.15	6.35 ± 0.08
pBud-EGFP-TRAIL	28.12 ± 1.24[a]	56.20 ± 1.35[ab]	57.30 ± 1.95[abc]

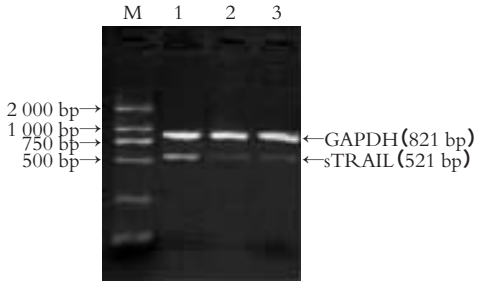
a：$P<0.01$，与 pBud-EGFP 组比较；b：$P<0.01$，与 24 h 组比较；c：$P<0.05$，与 48 h 组比较

2.4 RT-PCR 结果

以 GAPDH 作为内对照，电泳结果显示，在未转染的胃癌细胞 BGC-823 中，TRAIL 呈低表达，pBud-EGFP 组细胞的 TRAIL 的表达也较低，而在 pBud-EGFP-TRAIL 组的细胞的 TRAIL 表达明显增强，结果见图 2。未转染的胃癌细胞组及 pBud-EGFP 组相对 GAPDH 的百分数分别为（10% ± 2.1%），（9.0% ± 1.3%），二者相比较，差别无显著性（$P>0.05$），pBud-EGFP-TRAIL 组相对 GAPDH 的百分数为（57% ± 1.6%），与前两者相比，差别有显著性（$P<0.01$）。

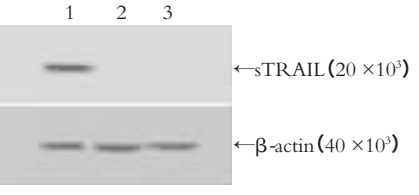
2.5 Western blot 结果

经 Wertern blot 发现，pBud-EGFP-TRAIL 组在约 20×10^3 处有明显条带，其大小与 sTRAIL 大小相符。而在未转染组及 pBud-EGFP 组未见有该大小的条带。同时，作为内参照的三组细胞均有 β-actin 蛋白表达，且亮度一致（图 3）。



M：DL2000 标准；1：pBud-EGFP-TRAIL；2：pBud-EGFP；3：对照组

图2 sTRAIL mRNA RT-PCR 检测

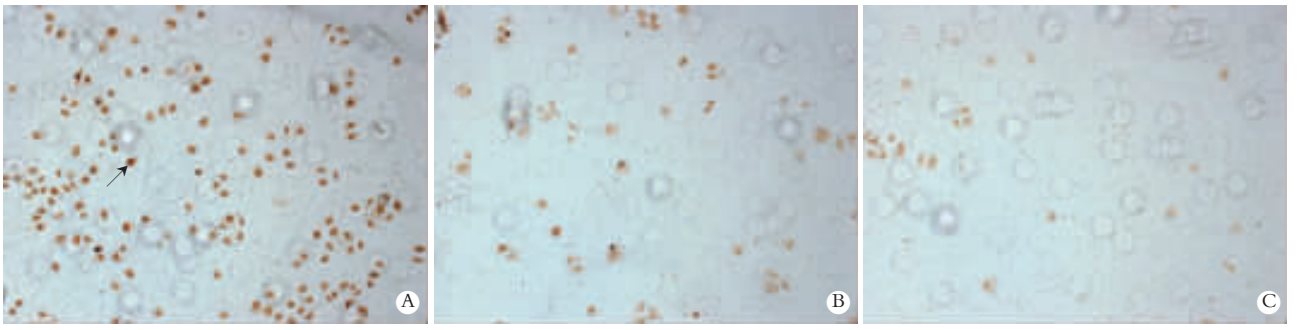


1：pBud-EGFP-TRAIL；2：pBud-EGFP；3：对照组

图3 sTRAIL 蛋白表达 Western blot 分析

2.6 TUNEL 结果

转染 pBud-EGFP-TRAIL 48 h 的细胞，经 TUNEL 染色可见较多散在分布的细胞的胞核被染成棕黄色，核固缩成团，核染色质边集成半月型，部分细胞核断裂成碎片，另外可见到深染、圆形的凋亡小体。而未转染细胞组及 pBud-EGFP 组的细胞，经 TUNEL 染色后仅见少量阳性细胞及凋亡小体形成（图 4）。



A:pBud-EGFP-TRAIL;B:pBud-EGFP;C:对照组　　→ 凋亡细胞

图 4　TUNEL 法检测 BGC-823 细胞的凋亡　(×100)

2.7　流式细胞仪检测结果

转染 pBud-EGFP-TRAIL 48 h 的细胞,其凋亡率为(51.2 ± 0.85)%,pBud-EGFP 组与未转然组分别为(16.2 ± 0.78)%、(10.19 ± 0.51)%,pBud-EGFP-TRAIL 组与另两组相比,差别均有显著性($P < 0.01$)。而未转然组及 pBud-EGFP 组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3　讨论

增强型绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein, EGFP)是在绿色荧光蛋白基础上改进所得,通过将 64 位苯丙氨酸,65 位丝氨酸突变为亮氨酸和苏氨酸,使其荧光强度明显增强,且发光时间延长。在本实验中,选择 EGFP 作为报告基因,与目的基因 sTRAIL 一起,在双表达载体 pBudCE4.1 基础上,成功构建出重组载体 pBud-EGFP-TRAIL,在荧光显微镜下,通过观察 EGFP 在细胞内的表达来间接反映 sTRAIL 的转录表达情况,以了解该目的基因的表达、细胞内定位及功能情况,对研究 sTRAIL 对胃癌细胞 BGC-823 的促凋亡作用有重要意义。

TRAIL 蛋白具有膜结合型(即全长 TRAIL)和可溶型(sTRAIL)两种形式,在体内仅有膜结合型存在。二者都能与细胞膜上的特异受体结合,通过胞内信号转导,迅速诱导表达 TRAIL 特异受体的细胞发生凋亡[2]。其原核表达载体早已成功构建[3],在本研究中,选择了双启动子真核表达载体 pBudCE4.1,该双表达载体是通过两个独立的启动子控制两个外源基因,转录成两个 mRNA 分子并翻译产生各自的蛋白。将 EGFP 置于巨细胞病毒(CMV)强启动子下表达;将 sTRAIL 基因插入 Ef-1a 启动子下游,构建能同时表达两种基因的真核表达质粒 pBud-EGFP-TRAIl。利用脂质体转染技术,将 pBud-EGFP-TRAIl 转染入胃癌细胞 BGC-823,经 RT-PCR 和 Western blot 证实转染质粒 pBud-EGFP-TRAIl 的细胞中 TRAIL mRNA 表达增加,培养上清液中有目的蛋白 sTRAIL 的表达。本研究结果进一步表明,转染了 sTRAIL 基因的胃癌细胞 BGC-823 的生长较对照组受到明显抑制,以 48 h 最明显;TUNEL 法示有较多散在的凋亡细胞;流式细胞仪检测结果显示其凋亡率明显高于对照组。上述结果证实了 sTRAIL 在体外能促进胃癌细胞 BGC-823 凋亡,为下一步对 sTRAIL 的体内效应观察奠定了基础。

TRAIL 受体(TRAIL-receptor)共 5 种,分别为 TRAIL-R1、R2、R3、R4 及 OPG(osteoprote-gerin)受体。其中 TRAIL-R1,R2 为死亡受体(death receptor),含有胞内死亡结构域和依赖胱天蛋白酶(caspase)途径的凋亡信号的识别结构。TRAIL 受体途径诱导的基本凋亡通路为:死亡受体 TRAIL-R1 或 TRAIL-R2 先通过胞外区与 TRAIL 结合并活化,然后其胞内的死亡结构域相互聚集,并与接头蛋白(adaptor)结合,引发胱天蛋白(pro-caspase)在其末端的局部募集和串联结合,胱天蛋白酶原再通过自身水解成为有活性的胱蛋白酶,进一步激活胱天蛋白酶级联反应诱发细胞凋亡。对凋亡通路中的接头蛋白存在较多争议,迄今为止的证据仍未确定该蛋白是 FADD(Fas-associated death domain)还是有其他的接头分子[2,4]。在胱天蛋白酶级联反应中,首先被激活的是胱天蛋白酶-8,它与胱天蛋白酶-10 一起级联式水解激活下游的信号传导酶,如胱天蛋白酶-7,最后激活效应物胱天蛋白酶-3[5-7]。但在甲状腺癌 TRAIL 诱导的凋亡中,首先被激活的是胱天蛋白酶-10,随后才是胱天蛋白酶-8[2]。总之,TRAIL 的凋亡信号通路较复杂,其具体调控机制,将有待于进一步证实[8]。肿瘤不仅是细胞增殖和分化异常的疾病,同时也是调亡异常的疾病。人们逐渐认识到肿瘤的生成是细胞增殖和凋亡平衡失调的结果,细胞周期失控导致细胞过度增殖,但更重要的是细胞凋亡受阻,直接导致了衰老、受损及异常细胞的生命延长。因此,通过诱导肿瘤细胞凋亡来消除肿瘤也是一种应该考虑的新的治疗方法。TRAIL 作为一种能选择

性杀伤肿瘤细胞的促凋亡基因,将有望成为一种新型有效的抗癌药物应用于临床。

参考文献:

[1] Wiley S R, Schooley K, Smolak P J, *et al*. Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis [J]. Immunity, 1995, 3(6): 673 - 682.

[2] Mitsiades N, Poulaki V, Tseleni-Balafouta S, *et al*. Thyroid carcinoma cells are resistant to FAS-mediated apoptosis but sensitive to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand [J]. Cancer Res, 2000, 60(15): 4122 - 4129.

[3] 李小安,房殿春,杨仕明,等. TRAIL 蛋白的表达、纯化和抗肿瘤活性[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(9): 1058 - 1060.

[4] Miyazaki T, Reed J C. A GTP-binding adapter protein couples TRAIL receptors to apoptosis-inducing proteins [J]. Nat Immunol, 2001, 2(6): 493-500.

[5] Mitsiades N, Poulaki V, Mitsiades C, *et al*. Ewing's sarcoma family tumors are sensitive to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand and express death receptor 4 and death receptor 5 [J]. Cancer Res, 2001, 61(6): 2704 - 2712.

[6] Menoret E, Gomez-Bougie P, Geffroy-Luseau A, *et al*. Mcl-1L cleavage is involved in TRAIL-R1- and TRAIL-R2-mediated apoptosis induced by HGS-ETR1 and HGS-ETR2 human mAbs in myeloma cells [J]. Blood, 2006, 108(4): 1346 - 1352.

[7] Mitsiades N, Mitsiades C S, Poulaki V, *et al*. Intracellular regulation of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis in human multiple myeloma cells [J]. Blood, 2002, 99(6): 2162 - 2171.

[8] Petak I, Vernes R, Szucs K S, *et al*. A caspase-8-independent component in TRAIL/Apo-2L-induced cell death in human rhabdomyosarcoma cells [J]. Cell Death Differ, 2003, 10(6): 729 - 739.

(编辑 郭建秀)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2008)11-1070-01

非离子型造影剂在静脉尿路造影中过敏反应的观察和急救

马琼英, 戚跃勇, 靖开渝, 张吉川 (第三军医大学新桥医院放射科,重庆 400037)

静脉尿路造影(intravenous pyelgraphy, IVP),又称排泄性尿路造影(excretory urography)检查系利用含碘造影剂经静脉注射法注入体内,通过尿路生理的排泄作用,将尿路器官自上而下全部或部分顺序显示,用以观察尿路的病变与功能。对有碘过敏试验阳性,严重的心、肝、肾功能不全及其他严重的全身性疾病患者禁忌,随着非离子型造影剂的普及对尿路疾病的造影检查过敏反应明显减少,但仍有少数患者出现过敏反应[1]。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集我科 2005 年 1 月至 2006 年 1 月,进行 IVP 患者 698 例,其中男性 419 例,女性 279 例,年龄 2 ~ 83 岁,平均 42.5 岁,受检者为结石、积水、肿瘤、血尿、腰痛待查患者。

1.2 方法

患者准备 检查前 1 周内行碘过敏试验为阴性者方可进行造影。患者于造影前 2 ~ 3 d 禁用不透 X 线药物,前 1 d 进少渣饮食,服缓泻剂自然排泄法清洁肠道,造影前 6 h 禁食、禁水 造影前排空尿液。患者仰卧于检查床上,伸直双下肢,常规腹部平片拍摄后,在两侧髂骨上棘连线水平利用肾盂造影压迫器呈倒'八'字放置加压腹带,对下段输尿管进行压迫,压力为 14 kPa 左右。经肘静脉缓慢注入非离子型造影剂(优维显 300)40 ml,边注射边观察询问病人有无不适,注射完后于 5、15、30 min 摄片,视病情可延长至 60、120、180 min 摄片。

2 结果

698 例 IVP 者均能获得临床诊断的图像,其中结石 247 例,积水 251 例,肿瘤 101 例,正常 99 例,发生过敏反应 7 例(占 1%),其中轻度 4 例:出现喷嚏、结膜充血、面部红肿一般无须特别处理,但须严密观察。中度反应 2 例(其中迟发反应 1 例):面色苍白,呕吐,气促、胸闷等,立即静脉推注地塞米松 20 mg,同时吸氧,密切观察血压。重度反应 1 例:患者有呼吸困难,血压下降,休克。立即解除压迫压带,并立即皮下注射 0.1% 肾上腺素 0.5 ~ 1 ml,同时通知急诊科医生来协同抢救,以上抢救均获成功。

3 讨论

非离子型造影剂成本高,但在嗅觉、视觉、味觉上无特别感受,能集中检查目标器官,导入迅速而容易,使受检器官蓄积而有充分浓度,检查结束后能迅速排出体外。与离子型造影剂相比具有过敏反应少,不受年龄限制,注射前无须加热,使用方便的优点。本组病例过敏反应发生率较文献[2,3]报道的应用离子型造影剂明显低。

IVP 检查具有占机时间长、患者空腹、卧位加压、1 个技师操作等特点,故检查技师在检查过程中务必严密观察患者,严

(下转 1074 页)

作者简介:马琼英,女,四川省自贡市人,技师,主要从事影像检查技术方面的研究。电话:(023)68774676
通信作者:戚跃勇,电话:(023)68774676
收稿日期:2008-01-09 修回日期:2008-03-20