论著

文章编号:1000-5404(2009)18-1744-05

人脐血内皮祖细胞体外扩增、鉴定和生物学活性

王 博,王舒楠,张伟国,陈金华,李 雪 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所放射科,重庆 400042)

摘 要:目的 建立一种稳定的体外分离培养和鉴定人脐血内皮祖细胞(endothelial progenitor cells,EPCs)的方法,并探讨利于EPCs增殖的最佳接种浓度。**方法** 采用密度梯度离心法分离得到单个核细胞,制成1×10^6/ml、1.5×10^6/ml、2×10^6/ml、2.5×10^6/ml、3×10^6/ml、3.5×10^6/ml、4×10^6/ml 7个密度接种于铺被人纤维连接蛋白的培养瓶,比较各接种密度的贴壁细胞数和细胞集落形成情况,并采用激光共聚焦显微镜、流式细胞仪和免疫荧光鉴定EPCs。**结果** 不同接种密度得到的贴壁细胞数和细胞集落数有差别,在2.5×10^6/ml密度接种时得到的最佳贴壁细胞数和细胞集落数,与其他密度比较差异有统计学意义($P<0.05$);双染色阳性细胞为正在分化EPCs;流式细胞仪检测内皮祖细胞对CD34、AC133、VEGFR2的阳性表达率分别为(1.67±0.35)%、(12.63±9.70)%、(66.81±6.63)%;免疫荧光检测内皮祖细胞一致性表达CD34、AC133、VEGFR2;黏附能力和迁移能力检测结果分别为(33.7±1.6)、(29.2±1.2)。**结论** 采用Ficoll密度梯度离心法结合贴壁筛选法可以较好地分离人脐血EPCs,以2.5×10^6/ml的密度接种培养可获得良好的细胞分化和增殖。

关键词: 人脐血;内皮祖细胞;单个核细胞;接种密度;细胞培养
中图法分类号: R329-33;R329.21;R329.28 **文献标识码:** A

Cultivation, identification and biological characteristics of HUCB-derived endothelial progenitor cells *in vitro*

WANG Bo, WANG Shu-nan, ZHANG Wei-guo, CHEN Jin-hua, LI Xue (Department of Radiology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To investigate a stable method for the isolation, cultivation, identification of endothelial progenitor cells (EPCs) derived from human umbilical cord blood (HUCB) and the best concentration for the growth of EPCs. Methods EPCs were separated from HUCB by density gradient centrifugation, then the mononuclear cells at a density of 1×10^6/ml, 1.5×10^6/ml, 2×10^6/ml, 2.5×10^6/ml, 3×10^6/ml, 3.5×10^6/ml, or 4×10^6/ml were inoculated on culture plate coated with human fibronectin to observe cell adherence and colony. EPCs were characterized as adherent cells with double positive to DiI-acLDL uptake and lectin binding by direct fluorescent staining under a laser scanning confocal microscope. EPCs were documented by demonstrating the expression of cell surface makers with flow cytometry and immunofluorescence. Results The cell adherence and cell colony of every concentration group was different, and the best was at the density of 2.5×10^6/ml. EPCs were characterized as adherent cell with double positive to DiI-acLDL uptake and lectin binding by direct fluorescent staining under a laser scanning confocal microscope. The expression of CD34, VEGFR2 and AC133 with flow cytometry were (1.67±0.35)%, (12.63±9.70)%, and (66.81±6.63)% respectively. The results of EPCs migration and adhesion were (33.7±1.6) and (29.2±1.2) separately. Conclusion Combined Ficoll' density gradient centrifugation with adherence screening, we obtain optimal purity and survival rate of HUCB-derived EPCs. The optimal cell density for differentiation and proliferation is 2.5×10^6/ml inoculation concentration.

Key words: human umbilical cord blood; endothelial progenitor cell; mononuclear cell; inoculation concentration; cell culture

---

基金项目: 创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室开放基金(SKLKF200922);重庆市攻关课题(2007AC5014)
Supported by the Open Foundation of State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury (SKLKF200922), and the Tacking Program for Sci&Tech Research Project of Chongqing (2007AC5014)

作者简介: 王 博,女,河南省禹州市人,硕士研究生,医师,主要从事神经放射学方面的研究。E-mail:wangbo0374@yahoo.cn
通信作者: 张伟国,电话:(023)68757621

收稿日期: 2009-06-21;**修回日期:** 2009-07-06

缺血组织和器官的恢复依赖新的血管形成以供给氧分和营养,这已在肢体缺血、心肌梗死的动物模型中得到证实。既往认为,这种血管重建主要依靠原有的成熟内皮细胞的迁移、增殖和重塑,也称为血管新生。但是,1997 年 Asahara 等首次在成人外周血中发现循环内皮祖细胞(endothelial progenitor cells,EPCs),使血管形成的概念得到新的认识[1-3]。循环的 EPCs 依靠细胞因子趋化至缺血组织和器官,并在局部增殖、分化相互连接形成网状结构,这一过程称为血管发生。鉴于 EPCs 在血管发生过程中的重要作用,其在血管组织工程、冠心病、肿瘤、创伤愈合等方面具有广阔的应用前景[4-9]。因此 EPCs 要成为临床应用的种子细胞和示踪剂携带体,首先应摸索出一种稳定的细胞分离培养和体外扩增方法。本研究从人脐血中分离 EPCs,摸索 EPCs 的体外培养条件并比较不同接种密度对 EPCs 生长情况的影响,观察其生物活性,旨在为行细胞标记和 MRI 示踪研究奠定基础。

1　材料与方法

1.1　实验材料与试剂

脐血取自于第三军医大学大坪医院野战外科研究所妇产科正常健康产妇(均知情同意),EGM-2MV(Combrex 公司),Histopaque-1077(Sigma 公司),0.25% 胰酶(HyClone 公司),DPBS(HyClone 公司),VEGF(Sigma 公司),人纤维连接蛋白(HFN,Roche 公司),DiI-acLDL(Molecular Probe 公司),FITC-UEA-1(Sigma 公司),FITC 标记的 CD34 小鼠抗人单克隆 IG1 抗体(Chemicon 公司),PE 标记的 VEGFR2 小鼠抗人单克隆 IG1 抗体(R&D 公司),PE 标记的 AC133 小鼠抗人单克隆 IG1 抗体(BD 公司),FITC 标记的小鼠 IG1 抗体(北京晶美公司),PE 标记的小鼠 IG1 抗体(北京晶美公司)。

1.2　方法

1.2.1　脐血内皮祖细胞的分离　　取脐血 100 ml,与 DPBS 1∶1稀释,充分混匀;每管中 Histopaque-1077 分离液 4 ml,然后加血样 8 ml;将试管置于水平离心机,以 2 000 r/min 离心 20 min 后,可看到位于第 1 层与第 2 层之间的白膜层即单个核细胞层(MNCs);提取白膜层置于另一离心管中,依次以 1 500 r/min 离心 10 min、1 000 r/min 离心 8 min,弃上清,加入适量 EGM-2MV 培养基,吹打混匀,制成细胞悬液,进行计数。

1.2.2　脐血内皮祖细胞的培养

1.2.2.1　不同密度接种　　本实验以 1×10^6/ml、1.5×10^6/ml、2×10^6/ml、2.5×10^6/ml、3×10^6/ml、3.5×10^6/ml、4×10^6/ml 密度接种细胞,将 7 个密度的细胞悬液分别接种于铺被人纤维连接蛋白的 25 cm^2 培养瓶,每瓶含 EGM-2MV 培养基 2 ml,置于 37 ℃、5% CO_2 培养箱中培养。

1.2.2.2　筛选方法　　培养 3 d 后用 PBS 液洗掉非贴壁细胞,换培养液继续培养至第 7 天;每隔 3 天更换培养液,倒置相差显微镜下观察贴壁细胞生长情况。

1.2.3　贴壁细胞和细胞集落的计数及得率计算　　①贴壁细胞的计数及得率计算:于培养的第 7 天,以 0.25% 胰酶消化各接种密度各瓶中的细胞使成单个细胞悬液,用血球计数板计数各瓶的细胞数。贴壁细胞的得率计算公式为:每 1×10^6 单个核细胞得到的贴壁细胞数 = 每瓶贴壁的细胞数/接种的单个核细胞数(以 1×10^6 细胞为单位)。

②细胞集落的计数及得率计算:于培养的第 7 天用倒置荧光显微镜在培养瓶上下左右中 5 个固定方位各取 1 个视野(×100)计数各接种密度瓶中的细胞集落数。细胞集落得率计算公式为:每 1×10^6 单个核细胞得到的集落数 = 每瓶每个视野中的平均集落数/接种单个核细胞数(以 1×10^6 细胞为单位)。

1.2.4　EPCs 的鉴定

1.2.4.1　吞噬 DiI-acLDL 和结合 FITC-UEA-1 的能力　　培养 7 d 后,将细胞与 DiI-acLDL(2.4 μg/ml)在 37 ℃孵育 1 h,2% 多聚甲醛固定;将 FITC-UEA-1(10 μg/ml)滴加于上述标本中 37 ℃孵育 1 h,向已染色的标本上滴加 1 μg/ml 的 Hoechst33342,避光孵育;PBS 冲洗 3 次,蒸馏水振洗 1 次;向待检标本上滴加 50% 缓冲甘油封片,激光共聚焦检测。

1.2.4.2　流式检测细胞表面标志物　　培养 7 d 后,消化收集贴壁的 EPCs,调节细胞浓度为 1×10^7/ml;分别取 100 μl 细胞悬液置于 7 个 EP 管内,向管内分别加入 FITC-CD34、PE-CD31、PE-VEGFR2 抗体,再分别向对应的管内加入同型抗体 FITC-Mouse IG1、PE-Mouse IG1,一管细胞悬液作为阴性对照,混匀避光 4 ℃孵育;每管中加入固定液 500 μl,混匀,避光孵育 10 min;离心洗去未结合抗体,弃上清,加 PBS 重悬细胞,上机检测。

1.2.4.3　免疫荧光检测细胞表面标志物　　培养 7 d 后,用 4% 多聚甲醛固定生长于玻片上的细胞 20 min;依次加入 20 μl 阻断剂、80 μl 平衡液,再分别加 FITC-CD34、PE-AC133、PE-VEGFR2(KDR)抗体,4 ℃避光孵育 20 min;平衡液漂洗,荧光显微镜下观察结果。

1.2.5　EPCs 生物活性检测

1.2.5.1　EPCs 黏附能力实验　　消化、收集并计数贴壁细胞,调节细胞浓度为 1×10^4/ml,共 12 ml。取 500 μl 细胞悬液均匀接种在包被纤维连接蛋白的 24 孔培养板上,37 ℃培养。分别于 1、2、4、6、12、24 h,倒置显微镜下观察细胞黏附能力,并选择 3 个显微镜视野(×400)计算 24 h 时贴壁细胞数。

1.2.5.2　EPCs 迁移能力实验　　消化、收集并计数贴壁细胞;将 25 μl EGM 培养液和 VEGF(50 μg/ml)加入改良的 Boyden Chamber 的下室,盖上滤膜和趋化小室的上室;将含 2×10^4 EPCs 的 50 μl 培养液注入上室,盖以载玻片;放入培养箱中培养 24 h;刮去滤膜上面的未移动细胞,用 4% 多聚甲醛固定滤膜,Giemsa 染色,蒸馏水冲洗,干后镜检,随机选择 3 个显微镜视野(×400)计数迁移到低层的细胞数。

1.3　统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间资料比较行单因素方差分析和 t 检验。

2　结果

2.1　倒置显微镜下观察不同接种密度 EPCs 的培养结果

单个核细胞接种 1 d,细胞呈小圆形。培养 3 d 后贴壁细胞

变大并可见梭形细胞。至第7天，细胞数量增多，见较多的梭形细胞且多个细胞团呈集落样生长，中间为圆形细胞，贴壁梭形细胞从中央向周围呈“放射状”生长，与原始血岛相似，且有梭形细胞排列呈“线样”。至14 d后，细胞呈“铺路石”样排列。1.5×10^6/ml、1×10^6/ml 2个密度细胞生长缓慢，贴壁细胞分散，几乎见不到细胞集落，在7 d内仅有10%～20%融合，仅可见很少量的梭形细胞，细胞增殖不明显（图1A）。2.5×10^6/ml、2×10^6/ml 2个密度细胞生长良好，周边的贴壁细胞也较密集，可见细胞聚集所形成的集落，于7 d内达到40%～60%融合，有半数细胞分化为梭形（图1B）。4×10^6/ml、3.5×10^6/ml和3×10^6/ml 3种密度接种细胞可于7 d内达80%～90%融合，细胞呈集落生长，大多数细胞为梭形细胞，但有相当一部分细胞集落悬浮在培养液中未能贴壁（图1C）。

不同密度接种的细胞培养7 d后，得到的贴壁细胞数和细胞集落数有差别。计数各孔的贴壁细胞数和细胞集落数时，发现在接种密度为2.5×10^6/ml时达到最大值，与其他接种密度比较差异有统计学意义（$P<0.05$，图2）。

2.2　EPCs的鉴定

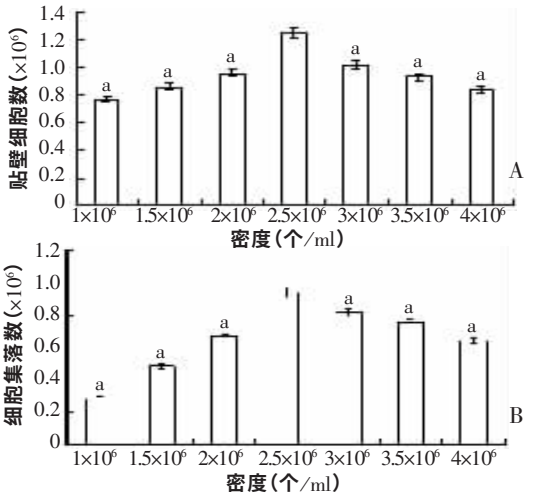
2.2.1　双荧光染色实验　　通过激光共聚焦显微镜鉴定，能摄取DiI-acLDL，并与凝集素UEA-1结合的细胞视为正在分化的内皮祖细胞（图3）。

2.2.2　流式细胞仪检测　　流式细胞仪检测结果显示，内皮祖细胞对CD34、AC133、VEGFR2的阳性表达率分别为（1.67±0.35）%、（12.63±9.70）%、（66.81±6.63）%。

2.2.3　免疫荧光染色　　经过培养的内皮祖细胞固定后进行免疫荧光染色，内皮祖细胞CD34、AC133、VEGFR2均呈阳性反应（图4）。

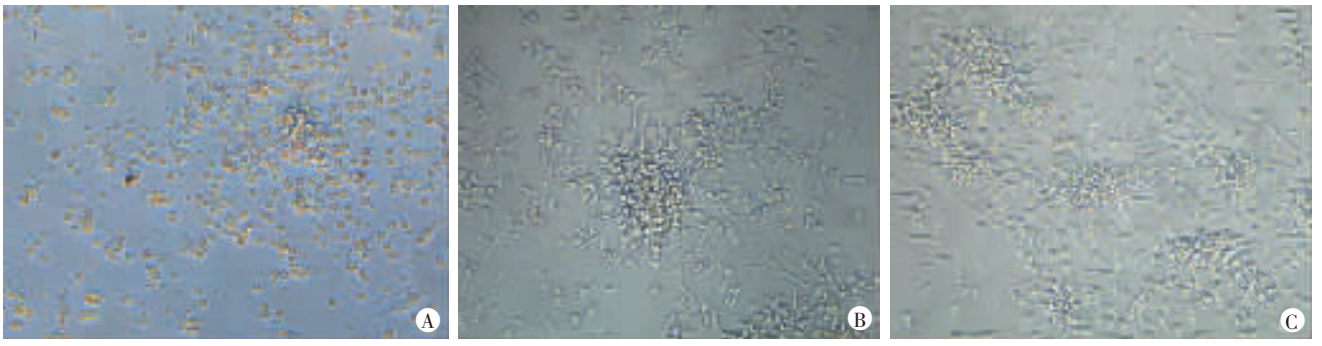
2.3　内皮祖细胞的生物活性

2.3.1　EPCs黏附能力实验　　分别于1、2、4、6、12 h及24 h倒置显微镜下观察细胞黏附能力。1 h时未见细胞贴壁，2 h时有个别细胞贴壁，4、6 h细胞贴壁数量增多，12 h大部分细胞贴壁，24 h几乎细胞全部贴壁且摇晃瓶壁细胞不脱落，24 h贴壁细胞数目为（33.7±1.6）。



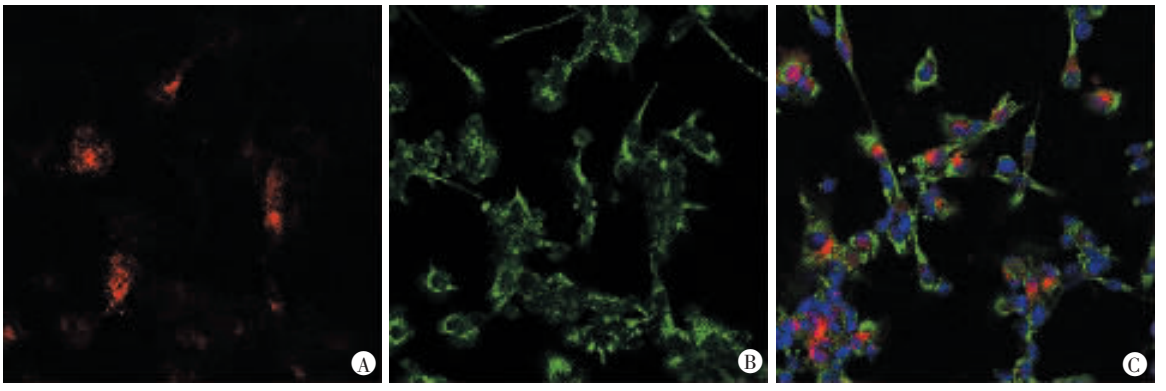
A：贴壁细胞得率；B：细胞集落得率　a：$P<0.05$，与2.5×10^6/ml密度比较

图2　不同接种密度对EPCs贴壁细胞数得率和细胞集落数得率的影响



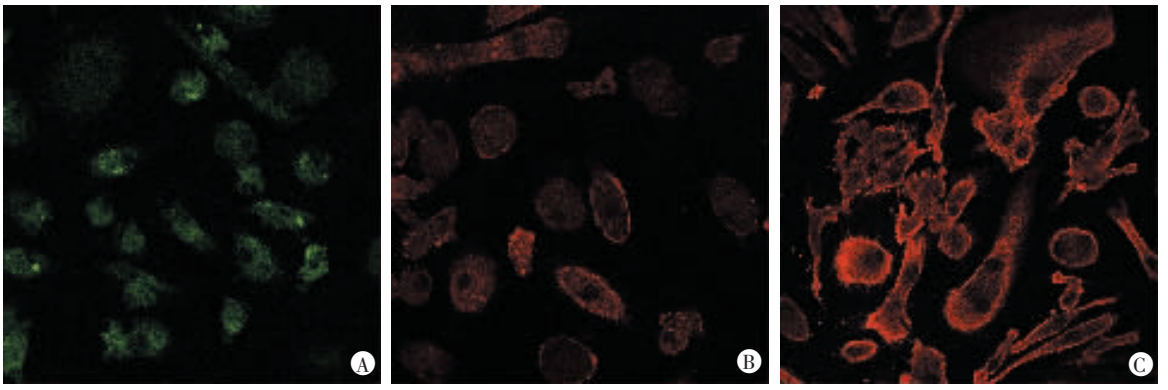
A：1×10^6/ml；B：2.5×10^6/ml；C：3×10^6/ml

图1　不同接种密度下培养第7天EPCs集落形成情况观察（倒置相差显微镜×200）



A：摄取DiI-acLDL；B：结合FITC-UEA-1；C：双染色阳性细胞为正在分化的EPCs

图3　双荧光染色鉴定EPCs（激光共聚焦显微镜×400）



A:FITC-CD34;B:PE-AC133;C:PE-VEGFR2

图 4　免疫荧光染色观察 EPCs 表面标志物阳性表达情况　(倒置荧光显微镜×400)

2.3.2　EPCs 迁移能力实验　　Boyden Chamber 小室测定细胞迁移能力可见未发生移行的细胞形态较小,生长较为紧密,而发生迁移的细胞形态较大且向 VEGF 侧伸展爬行,发生移行的细胞数目为(29.2±1.2)。

3　讨论

研究表明外周血、脐血和骨髓中均存在 EPCs,脐血取材无创伤,EPCs 含量丰富,并具有较强的增殖能力[10]。目前体外分离 EPCs 的方法有多种,主要有免疫磁珠和流式细胞术,虽可得到纯度高的细胞,但分离的细胞数较少,且单独培养时往往不增殖,操作复杂、费用昂贵。而密度梯度离心法则根据血液细胞成分比重的不同,采用淋巴细胞分离液提取单个核细胞,并利用细胞贴壁速度不同、时间不同的原理,进一步分离、纯化 EPCs,此法简单、经济,可获得较多的 EPCs,是目前最常用的培养手段。本研究采用 Ficoll 密度梯度离心法获得单个核细胞,将单个核细胞接种于完全培养液后,利用细胞贴壁时间不同来选择,一般认为 72 h 内的贴壁细胞为内皮祖细胞,于第 3 天换液后继续培养,同时通过 SingleQuots 因子(含 VEGF、IGF、hEGF、bFGF 等)诱导和预涂纤维连接蛋白促使贴壁细胞向内皮细胞分化。

内皮祖细胞的研究处于早期阶段,尚未发现特异性的细胞表面标志物。一般将同时具有 CD34、AC133、VEGFR2,且可吸收 acLDL 结合 UEA-1 的 EPCs 认为是正在分化的 EPCs[11]。本研究在单个核细胞贴壁生长后的第 7 天,进行 3 项鉴定,发现在第 7 天即有大量的细胞可摄取 DiI-acLDL 并结合 FITC-UEA-1;流式细胞仪检测第 7 天的 EPCs 表达 CD34、AC133、VEGFR2 的阳性率为(1.67±0.35)%、(12.63±9.70)%、(66.81±6.63)%,其中 EPCs 表达 CD34 的细胞含量较少,而 CD133、VEGFR2 的细胞含量与文献[12]报道相一致,提示诱导的细胞具有内皮细胞的特征。免疫荧光检测细胞表面标志物 CD34、AC133、VEGFR2 表达结果阳性,进一步表明此时的贴壁细胞为 EPCs。

接种密度过高或过低都不利于体外培养的 EPCs 的增殖,但以何种密度接种单个核细胞最适于 EPCs 的增殖鲜有详细报道。本研究比较 7 种接种密度对 EPCs 增殖的影响,4×10^6/ml、3.5×10^6/ml 和 3×10^6/ml 3 种密度接种细胞较快达到融合,但体外 EPCs 的诱导分化需要一定的时间(7~14 d),融合后细胞生长受抑制,不利于下一步的研究及进一步的诱导分化。2.5×10^6/ml、2×10^6/ml 2 种密度细胞生长速度虽不如前 3 种快,但在 7~14 d 内可达到 90% 融合,且在浓度为 2.5×10^6/ml 接种时可得到最佳的贴壁细胞数和细胞集落数,提示此种接种密度恰好适宜于各种细胞间发挥相互作用并促进 EPCs 增殖,能够满足诱导分化的需要和下一步实验研究的需求。1.5×10^6/ml、1×10^6/ml 2 种密度细胞生长速度较前 5 种密度慢,贴壁细胞较分散,几乎见不到细胞集落,不能满足基本的细胞生长密度,细胞旁分泌作用也难以起效,不适合进行研究。

本实验采用 Ficoll 密度梯度离心法结合贴壁筛选法体外分离培养 EPCs,结果表明在以 2.5×10^6/ml 的密度接种时适宜于各种细胞间发挥相互作用并促进 EPCs 增殖,有利于进行下一步实验研究,为 EPCs 相关实验研究和临床应用搭建平台。但 EPCs 的研究大都是先体外分离培养、增殖和分化,且不同培养条件下 EPCs 分化时间也有差别,所以对 EPCs 的体外分化和培养条件的控制及 EPCs 的在体实验研究值得深入研究。

参考文献:

[1] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, *et al*. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis[J]. Science, 1997, 275(5302): 964-967.

[2] Murohara T, Ikeda H, Duan J, *et al*. Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization[J]. J Clin Invest, 2000, 105(11): 1527-1536.

[3] Hill J M, Zalos G, Halcox J P, *et al*. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk[J]. N Engl J Med, 2003, 348 (7): 593 - 600.
[4] Frontczak-Baniewicz M , Gordon-Krajcer W, Walski M. The immature endothelial cell in new vessel formation following surgical injury in rat brain[J]. Neuro Endocrinol Lett, 2006, 27(4): 539 - 546.
[5] Miller-Kasprzak E, Jagodzinski P P. Endothelial progenitor cells as a new agent contributing to vascular repair[J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2007, 55(4): 247 - 259.
[6] Zampetaki A, Kirton J P, Xu Q. Vascular repair by endothelial progenitor cells[J]. Cardiovasc Res, 2008, 78(3): 413 - 421.
[7] Jujo K, Ii M, Losordo D W. Endothelial progenitor cells in neovascularization of infarcted myocardium[J]. J Mol Cell Cardiol, 2008, 45 (4): 530 - 544.
[8] Lee D Y, Cho T J, Kim J A, *et al*. Mobilization of endothelial progenitor cells in fracture healing and distraction osteogenesis[J]. Bone, 2008,42(5): 932 - 941.
[9] Yoder M C, Ingram D A. The definition of EPCs and other bone marrow cells contributing to neoangiogenesis and tumor growth: Is there common ground for understanding the roles of numerous marrow-derived cells in the neoangiogenic process? [J]. Biochim Biophys Acta, 2009, [Epub ahead of print].
[10] Fan C L, Li Y, Gao P J, *et al*. Differentiation of endothelial progenitor cells from human umbilical cord blood CD 34$^+$ cells *in vitro*[J]. Acta Pharmacol Sin, 2003, 24(3): 212 - 218.
[11] Pera M F, Reubinoff B, Trounson A. Human embryonic stem cells [J]. J Cell Sci, 2000, 113(Pt 1): 5 - 10.
[12] Bonello L, Basire A, Sabatier F, *et al*. Endothelial injury induced by coronary angioplasty triggers mobilization of endothelial progenitor cells in patients with stable coronary artery disease[J]. J Thromb Haemost, 2006, 4 (5): 979 - 981.

（编辑　王小寒）

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2009)18-1748-01

妊娠24周合并Ⅰ型夹层动脉瘤1例

王　琳[1],常　青[1],杨　康[2],廖克龙[2]　（第三军医大学西南医院:[1]妇产科,[2]胸心外科,重庆 400038）

1　临床资料

孕妇,26岁,G3P1,存1,孕23周,于2008年8月27日凌晨4时突发心前区疼痛,伴背部疼痛,疼痛呈撕裂样,感心累、胸闷、气促、大汗淋漓,在上海瑞金医院行心脏超声检查:①主动脉夹层Ⅰ型(从主动脉瓣口起撕裂至双侧髂总动脉);②左心增大伴中重度主动脉瓣关闭不全,轻中度二尖瓣关闭不全;③肺动脉高压伴轻度三尖瓣关闭不全。患者于2008年9月5日入住本院胸心外科,入院查体:血压120/80 mmHg, 身高1.72 m, 体格细高,四肢及手指和脚趾细长,关节增粗,心界向左扩大,心脏各听诊区均可闻及3/6级双期杂音,超声诊断结果与外院相似。入院诊断为马凡综合征:主动脉夹层瘤,心功能Ⅱ级;妊娠24^{+2}周,入院后出现左心功能衰竭,经积极治疗后于2008年9月9日在全麻、低温、体外循环下行Bentall术及二尖瓣、三尖瓣成型术,术中见主动脉根部及升主动脉瘤样扩张,最大径6.5 cm,外膜菲薄,扩张范围至无名动脉下2 cm。纵行切开升主动脉,见内膜破口位于主动脉根部前壁,2 cm大小,升主动脉全层分离。左右冠状动脉开口明显移位,经左、右冠状动脉开口插入冷灌针,灌注冷停搏液,心脏顺利停跳。切口右心房,三尖瓣重度关闭不全,瓣环扩张不明显,切开房间隔,见二尖瓣后内侧交界处返流,重度关闭不全。手术历时6 h 45 min,术中出血600 ml。体外循环转流时间217 min,停循环时间162 min。术后患者恢复顺利,术后心脏明显缩小,心功能显著改善。患者已有一子,要求行引产术,于术后30 d,孕30^{+2}周到产科行引产术,经阴道放置米索前列醇50 μg,6 h 1次,共2次,于2008年10月11日顺利娩出一男婴,患者产后3 d康复出院。

2　讨论

马凡综合征(Marfansyndrome)是人类第15号染色体上原纤维蛋白基因(fibrillin-1,FBN1)缺陷所致的遗传性结缔组织疾病,为常染色体显性遗传,有家族史,其患病率为(40～60)/100万。病变主要累及中胚叶的骨骼、心脏、肌肉、韧带和结缔组织。马凡综合征临床的主要表现为:躯体异常,如体格细高,四肢及指(趾)细长,称为蜘蛛样指(趾);眼晶状体脱位;关节松弛;心脏大血管病变,如主动脉根部及升主动脉瘤样扩张、急性或慢性主动脉内膜破裂,形成夹层动脉瘤。心脏可有二尖瓣关闭不全或脱垂,升主动脉瓣关闭不全,主动脉窦和瘤样扩张,病理改变是主动脉中层囊性坏死与弹力纤维的断裂,造成主动脉的薄弱、扩张形成菲薄的主动脉瘤。由于主动脉中层坏死,可致主动脉穿破或发生夹层动脉瘤,常为进行性发展。预后多数不良,成人多死于心血管破裂,如顽固性心衰、主动脉瘤和夹层动脉瘤破裂。该患者处于妊娠期,孕期雌激素水平增高,可抑制胶原蛋白和弹力纤维在主动脉壁沉积,而孕激素又加速非胶原蛋白在动脉壁沉积,致使动脉壁结构发生改变。加之孕期有效血容量增加,心脏负荷加重,血流动力学的改变增加了血流对主动脉壁的冲击,促使主动脉瘤样扩张,而诱发形成升主动脉根部夹层动脉瘤,成为Ⅰ型夹层动脉瘤。妊娠合并Ⅰ型主动脉夹层动脉瘤又称主动脉夹层,最多见于升主动脉和主动脉弓。该病临床上少见,生前确诊的更少。Ⅰ型夹层动脉瘤多表现为剧烈胸痛,呈撕裂样或刀割样。若夹层动脉瘤位于胸或腹主动脉,则为Ⅱ型夹层动脉瘤,Ⅱ型患者发病后以阵发性上腹痛、嗳气、不思饮食、恶心等胃肠道症状为主要表现,无典型的胸痛,无主动脉瓣关闭不全的表现,且四肢脉搏搏动正常,容易考虑到消

（下转1760页）

作者简介:王　琳,女,四川省巴中市人,博士,副主任医师,副教授,主要从事高危妊娠方面的研究。电话:(023)68765399

收稿日期:2009-04-03;修回日期:2009-05-01