论著

文章编号:1000-5404(2011)03-0294-05

# 肽核酸体外抑制铜绿假单胞菌 PAO1 生物膜形成的研究

胡建娥,夏 云 (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院检验科)

【摘要】 **目的** 研究肽核酸(peptide nucleic acid,PNA)对铜绿假单胞菌生物膜形成的抑制作用,探讨其潜在的抗铜绿假单胞菌生物膜形成的应用价值。**方法** 采用计算机软件设计和斑点杂交联合筛选出能与铜绿假单胞菌 PAO1 早期生物膜形成关键基因 motA mRNA 结合紧密的反义寡核苷酸序列,根据其序列合成肽核酸(PNA)并连接穿膜肽(cell penetrating peptide ,CCPs)$(KFF)_3K$ 形成 CCPs-PNA,分别采用不同浓度的 CCPs、PNA 和 CCPs-PNA 处理铜绿假单胞菌 PAO1,定量测定并用显微镜观察其对生物膜形成的抑制作用。**结果** PNA 和 CCPs-PNA 对铜绿假单胞菌 PAO1 生物膜的早期形成都有抑制作用,并且随着浓度的增加,其抑制作用也增加,但 CCPs-PNA 对生物膜形成的抑制明显优于 PNA 组。1、5、10 μmol/L 的$(KFF)_3K$-PNA 对 PAO1 生物膜形成的抑制率分别约为 30%、50%、70%。而 1 μmol/L 的 PNA 对 PAO1 生物膜形成基本没有影响,5、10 μmol/L 的 PNA 对 PAO1 生物膜形成的抑制率却分别为 3% 和 10% 左右。各个浓度的 CCPs 对细菌生物膜的形成都没有影响。与对照组相比,CCPs-PNA 处理之后的 PAO1,其运动能力明显下降,PAO1 处理组与对照组在运动培养基上的扩散直径之比约为 3∶5。**结论** 针对 motA 基因的 PNA 通过抑制 PAO1 的运动能力、降低吸附,从而对铜绿假单胞菌 PA01 起始阶段的生物膜形成产生抑制作用,穿膜肽$(KFF)_3K$ 大大增强了此作用。推测铜绿假单胞菌的 motA 基因或其编码产物可能是一个良好的抗铜绿假单胞菌生物膜形成的靶点。

【关键词】 肽核酸;铜绿假单胞菌;生物膜
【中图法分类号】 R372;R378.991;R394.3 【文献标志码】 A

# Inhibitory effect of peptide nucleic acid on biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 *in vitro*

Hu Jian'e, Xia Yun (Department of Laboratory Medicine, First Affiliated Hospital , Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

【**Abstract**】 **Objective** To study the inhibitory effect of peptide nucleic acid (PNA) on biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 *in vitro*. **Methods** Sequences of antisense oligonucleotide binding closely to the key gene motA for the early biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 were designed using Mfold software and dot hybridization. PNA was synthesized according to the sequences of antisense oligonucleotide which was linked to the cell penetrating peptide (CCPs) $(KFF)_3K$ to form CCPs-PNA. *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 was treated with CCPs, PNA and CCPs-PNA at different concentrations, and the inhibitory effect of PNA on biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 was quantitatively detected and observed under a microscope. **Results** PNA and CCPs-PNA inhibited the biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 in a dose-dependent manner. The inhibitory effect of CCPs-PNA was better than that of PNA on biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. The inhibitory rate of $(KFF)_3K$-PNA was 30%, 50% and 70%, respectively, for the biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 at the concentration of 1, 5, and 10 μmol/L. The inhibitory rate of PNA was 3% and 10%, respectively, for the biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 at the concentration of 5 μmol/L and 10 μmol/L. No effect of CCPs at different concentration was observed on the biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. The motility of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 was significantly decreased after treated with CCPs-PNA. The PAO1 radial diameter ratio was 3∶5 between $(KFF)_3K$-PNA treatment group and control group. **Conclusion** The PNA targeting motA gene can inhibit the biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 at the initial stage by suppressing its motility and adsorption, which can be greatly increased by $(KFF)_3K$, suggesting that the motA

【基金项目】 重庆市自然科学基金(CSTC2008BB5218)
【通信作者】 夏 云,E-mail:xiayun12cn@yahoo.com.cn

gene or its encoded product can be used a good target to prevent biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1.

**[Key words]** PNA; *Pseudomonas aeruginosa*; biofilm

Supported by the Natural Science Foundation of Chongqing(CSTC2008BB5218), Corresponding author: Xia Yun, E-mail: xiayun12cn@yahoo.com.cn

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*,PA)是引起严重院内获得性感染最常见的条件致病菌,在各种侵入性检查和体内人工置留物的使用过程中极易聚集形成生物膜而导致临床上抗生素治疗失败[1],目前迫切需要研发出一些新型药物,或者是采用一些新型治疗方式来治疗铜绿假单胞菌生物膜形成引起的难治性感染。近年来的研究发现,位于铜绿假单胞菌膜表面的蛋白调节子 MotA,其功能是固定鞭毛和产生扭力以驱动鞭毛反转[2],其编码基因 motA 不仅参与铜绿假单胞菌生物膜形成过程中可逆黏附过程,而且还参与了接下来的不可逆黏附过程[3],在 PA 生物膜起始形成过程中起关键的调节作用,而且 motA 基因序列在假单胞菌属和一些革兰阴性杆菌中高度保守[4],因此,motA 是反义抑制的良好靶标。本实验通过计算机软件 Mfold 和 RNA Structure 4.6 初步设计出反义寡核苷酸序列,然后通过斑点杂交进一步筛选出与 PAO1 motA 基因 mRNA 结合较好的反义寡核苷酸序列,根据其碱基序列合成 PNA 和 CCPs-PNA,抑制 motA 基因的表达,进而抑制铜绿假单胞菌 PAO1 生物膜的形成。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验菌株

铜绿假单胞菌 PAO1,由重庆医科大学附属儿童医院余加林教授惠赠。

### 1.2 主要试剂

肽核酸、CCPs、CCPs-肽核酸(PANAGENE, Sothern Korean 公司)。实验中的所用的引物和寡核苷酸序列均有上海 Invitrogen 公司合成。细菌基因组提取试剂(Biospin Bacteria Genomic DNA Extraction Kit)购自 Bioflux 公司,PCR 扩增试剂购自 TaKaRa 公司,T-A 克隆载体(pGEM-T Easy Vector)、质粒提取试剂(Wizard Plus SV minipreps DNA purification system)、体外转录试剂(Riboprobe Systems-T7)均购自 Promega 公司,斑点杂交检测试剂盒(DIG Luminescent Detection Kit)购自 Roche 公司。运动培养基的配方为(1 L):胰蛋白胨 10 g,氯化钠 5 g,琼脂 0.325%(质量体积比)。

### 1.3 反义寡核苷酸序列的筛选

采用计算机软件 Mfold 和 RNA Structure 4.6,根据最小自由能的原理,预测 motA 基因 mRNA 的二级结构,根据 RNA 局部杂交松弛区,如发卡、颈-环等结构区域、Overall $\triangle G_{37}$ 值,Tm 值,Break targ $\triangle G_{37}$ 值,Oligo-self $\triangle G_{37}$ 值,Oligo-Oligo $\triangle G_{37}$ 值设计反义寡核苷酸,综合 2 种软件的设计结果,挑选参数较好的 6 条寡核苷酸序列用作进一步的斑点杂交,如表 1 所示。PCR 扩增 motA 基因全长,T-A 克隆至 pGEM-T Easy Vector,选取合适的限制性酶切位点,Spe Ⅰ线性化载体作为体外转录的模板,在体外转录过程中掺入 dig-UTP。体外转录产物与计算机软件初步筛选出的寡核苷酸斑点杂交,进一步筛选出结合较好的寡核苷酸序列作为合成 PNA 的碱基序列的依据,其序列为 GGCTCTTGTTGA。在氨基末端连接上穿膜肽$(KFF)_3K$,即是$(KFF)_3K$-PNA。

**表 1 应用于筛选 motA 反义寡核苷酸的探针序列**

| 序号 | 探针序列(5′→3′) | 靶点 |
|---|---|---|
| 1 | ATGCCGATGATTTTTGACAT | 1~20 |
| 2 | CGGGTTGGACTGGAGGAACG | 131~151 |
| 3 | CCACCATGAACGTGCTGCCC | 150~170 |
| 4 | GGTTCAACTCTTCCTTGGCA | 690~710 |
| 5 | TTCGCGCCGGCTCTTGTTGA | 254~273 |
| 6 | TCATCCTTCAGCACACCGGG | 337~356 |
| 7 | TGCCAAGGAAGAGTTGAACC | 阴性对照 |
| 8 | CACAGGCATGATGACTTGCT | 阴性对照 |

### 1.4 铜绿假单胞菌生物膜模型的建立和检测方法

参考 O'Toole 等[5]介绍的方法,其具体步骤如下:①PVC 多孔培养板中形成细菌生物膜:PAO1 37 ℃过夜摇菌培养,生理盐水稀释菌液到适当浓度,根据实验需要加入不同的试剂处理调节好浓度的菌液,100 μl 的菌液分别加入到培养孔中,放入 37 ℃孵箱中静止培养不同的时间段,酶标仪检测生物膜的形成能力,显微镜下观察生物膜的形成状况。②生物膜的检测:吸去多孔培养板中的浮游菌,并用生理盐水轻柔冲洗使浮游菌充分脱落,待其自然干燥后,加入 100 μl 结晶紫室温染色 10 min,冲洗未结合的染液,然后加入 100 μl 95% 的酒精溶解结合染液的细菌,室温放置 15 min 后,采用酶标仪检测 $D(570)$ 值。为在显微镜下观察生物膜形成的状态,于 24 孔培养板中加入玻片,然后加入稀释的菌液,培养方法同前,在采用结晶紫染色后,室温干燥,玻片置于显微镜下观察生物膜的形成状况。

### 1.5 PNA 和 CCPs-PNA 的抑制实验

LB(Luria-Bertani)液 37 ℃过夜摇菌,生理盐水调至菌液浓度为 0.5 MCF,96 孔板中分别加入 100 μl 的生理盐水调好浓度的菌液,同时分别加入$(KFF)_3K$,PNA 或者$(KFF)_3K$-PNA,使其终浓度分别为 1、5、10 μmol/L,未加入$(KFF)_3K$,PNA 和$(KFF)_3K$-PNA 的菌液设为对照组。4 ℃放置 4 h 让$(KFF)_3K$、PNA 和$(KFF)_3K$-PNA 充分进入细菌体内,然后静止放置于 37 ℃孵箱中,分别于 0.5、1、2、4、8 h 取出,测定 $D(570)$ 值,计算$(KFF)_3K$、PNA 和 CCPs-PNA 对 PAO1 生物膜形成的抑制率,抑制率的计算方法为:[对照组 $D(570)$ 值 - 实验组 $D(570)$ 值]/对照组 $D(570)$ 值。每个浓度重复 3 个复孔。

### 1.6 PAO1 生物膜形成的显微镜观察

根据 1.5 中实验结果的 D(570)值,我们采用 10 μmol/L 的$(KFF)_3K$,PNA 和$(KFF)_3K$-PNA 分别处理 0.5 MCF 浓度的菌

液，未加入$(KFF)_3K$、PNA和$(KFF)_3K$-PNA的菌液设为对照组。4 ℃放置4 h让$(KFF)_3K$、PNA和$(KFF)_3K$PNA充分进入细菌体内，然后静止放置于37 ℃孵箱中，分别于0.5、4 h取出，结晶紫染色干燥后置于显微镜下观察生物膜形成情况。

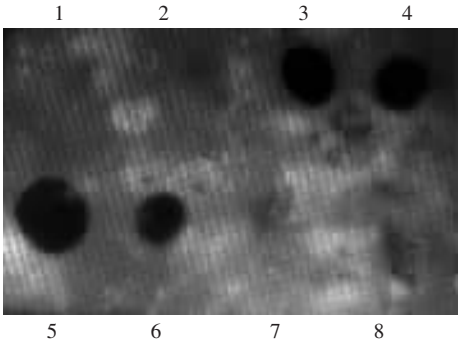
### 1.7 PAO1运动能力的观察

肉汤液37 ℃过夜摇菌，生理盐水调至菌液浓度为0.1 MCF，加入$(KFF)_3K$-PNA至终浓度为10 μmol/L，4 ℃静止放置4 h，然后点样于运动培养基上，30 ℃培养20 h，以PAO1在培养基上扩散的直径(mm)衡量其扩散能力。

## 2 结果

### 2.1 斑点杂交

计算机软件Mfold和RNA Structure 4.6所设计的6条反义寡核酸序列，其中4条显示出了杂交信号，而第5条的杂交信号最强，所以PNA的碱基序列就是按照第5条寡核苷酸的碱基序列合成的(图1)。




1~6：计算机设计的反义寡核苷酸序列；7~8：对照序列

**图1 反义寡核苷酸序列与体外转录的motA mRNA斑点杂交**

### 2.2 PAO1生物膜抑制率的测定

结果显示，1 μmol/L的$(KFF)_3K$-PNA作用的菌液对生物膜形成的抑制率在30%左右，1 μmol/L的PNA作用的菌液对生物膜形成基本上没有抑制。10 μmol/L的$(KFF)_3K$-PNA作用的菌液对生物膜形成的抑制率在70%左右，10 μmol/L PNA作用的菌液对生物膜形成的抑制率在10%左右。各个浓度的$(KFF)_3K$对菌液生物膜的形成没有影响。结果如图2、3所示。

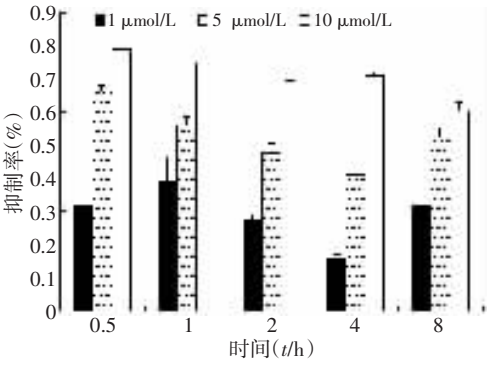



**图2 不同浓度的$(KFF)_3K$-PNA对PAO1生物膜形成的抑制率的影响**

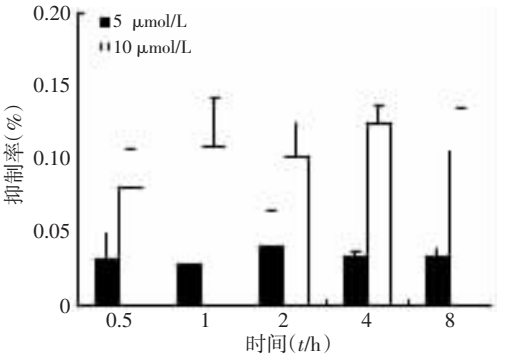
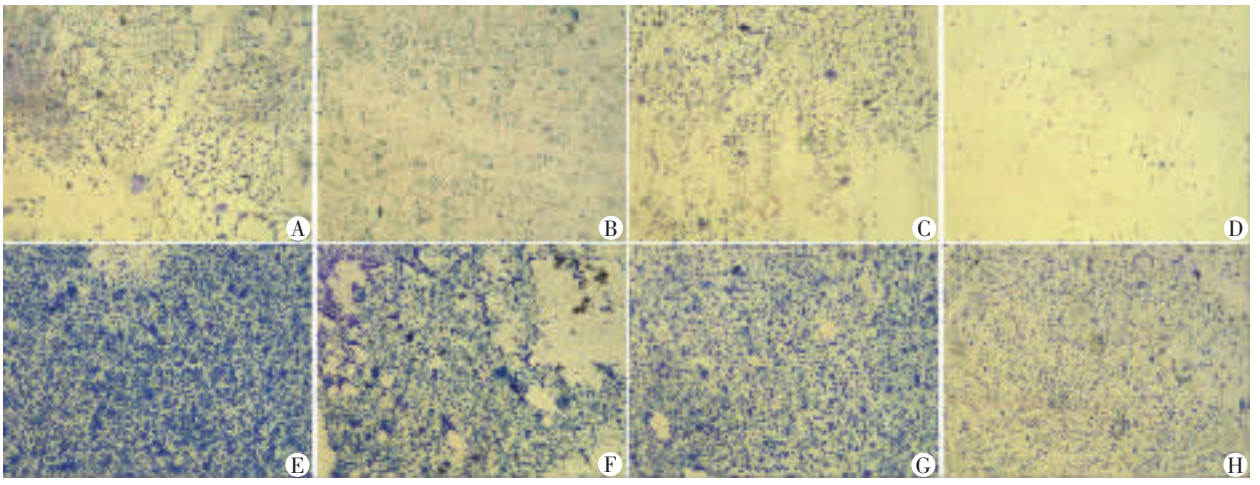



**图3 不同浓度的PNA对PAO1生物膜形成的抑制率的影响**

### 2.3 显微镜观察PAO1生物膜的形成

与对照组相比，PNA处理和CCPs-PNA处理的菌液生物膜形成能力都有所下降，10 μmol/L的$(KFF)_3K$-PNA处理菌液生物膜形成能力最差，抑制效果明显优于PNA处理组。而$(KFF)_3K$处理组的生物膜形成能力及细菌活力与对照组相比，基本上没有受到影响(图4)。

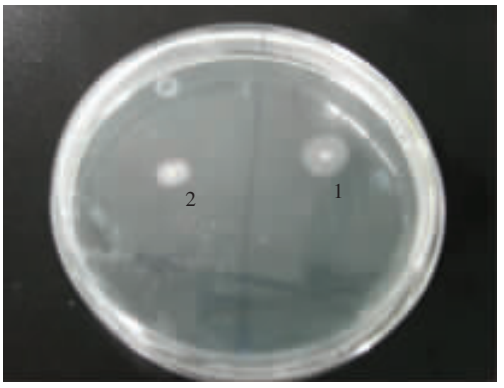



A：对照组0.5 h；B：$(KFF)_3K$处理组0.5 h；C：PNA处理组0.5 h；D：$(KFF)_3K$-PNA处理组0.5 h；E：对照组4 h；F：$(KFF)_3K$处理组4 h；G：PNA处理组4 h；H：$(KFF)_3K$-PNA处理组4 h

**图4 不同处理对铜绿假单胞菌PAO1生物膜形成的影响** (结晶紫染色×400)

### 2.4 $(KFF)_3K$-PNA 处理后 PAO1 运动能力

针对 motA 基因的 $(KFF)_3K$-PNA(10 μmol/L)对 PAO1 的运动能力有明显的抑制作用,对照组与实验组的扩散直径之比约为5:3(图5)。




1:对照组 2:10μmol/L $(KFF)_3K$-PNA 处理组

**图5 10 μmol/L 的 $(KFF)_3K$-PNA 对 PAO1 运动能力的抑制作用**

## 3 讨论

铜绿假单胞菌生物膜形成是引起难治性感染的一个重要原因[6],生物膜形成后,其胞外多糖协助生物膜逃避宿主免疫系统[7],阻止抗生素的渗透,导致生物膜对杀菌剂的顽强抵抗。抑制生物膜形成和打破已形成的生物膜是治疗成功的关键。新近的研究显示,细菌的鞭毛是铜绿假单胞菌的动力"器官",在生物膜的形成过程中,鞭毛不仅介导细菌与介质,细菌与细菌之间的粘附过程,而且鞭毛产生的推动力是生物膜形成过程中的一个重要因素[2]。铜绿假单胞菌的鞭毛合成涉及40多个基因,但 motA 基因在生物膜的发展形成过程中发挥关键的调节作用[3]。采用反义技术特异抑制 motA 基因的表达可望从起始终阶段抑制铜绿假单胞菌 PAO1 生物膜的形成。

有效序列的选择是反义技术的一大难点,由于 mRNA 二级结构的存在所导致的空间位阻使大部分位点并不能高效地同反义核酸结合,因此 mRNA 二级结构是反义寡核苷酸能否有效与 mRNA 靶点结合的关键[8]。有研究显示计算机软件预测二级结构是设计反义寡核苷酸的有效方法,预测的靶位点与其他验证实验的结果相符[9-10]。但是也有研究者指出,根据最小自由能不能准确预测出二级结构和模拟大分子之间的相互作用[11],尤其是 RNA 片段较长的时候[12],所以对于计算机软件预测二级结构而设计出的反义寡核苷酸序列是否能有效地与目的分子结合,需要进一步的验证。本研究首先联合采用计算机软件 Mfold 和 RNA structure 4.6,模拟 motA 基因 mRNA 的二级结构,根据最小自由能的原理,挑选出6条参数最好的反义寡核苷酸序列,然后斑点杂交进一步验证反义寡核苷酸的有效性,选取杂交信号最好的一条寡核苷酸序列作为合成 PNA 的碱基序列基础。从而减少了随机合成反义寡核苷酸的盲目性,提高了效率。

肽核酸(peptide nucleic acid)是人工合成的 DNA 类似物,以肽键(NH-CO)代替核酸天然骨架 3′,5′-磷酸二酯键,除了具有核酸的基本特性外,还具有高水溶性、高稳定性、与碱基配对的特异性高等特点[13]。然而,肽核酸比常用药物的相对分子质量要大很多,导致其难以顺利地通过细菌的外膜渗透进入菌体内[13],除此之外,PNA 的长度也影响 PNA 的穿膜能力,研究显示 PNA 在 9~12 mer 时,尤其是 PNA 与穿膜肽 $(KFF)_3K$ 连接时,既能发挥其序列特异性的反义抑制作用,同时有效提高了反义抑制的效率,提高 PNA 穿透细胞膜的能力[14]。因此,本研究选用了 12mer 长的 PNA 序列,共价连接上穿膜肽 $(KFF)_3K$。结果显示 $(KFF)_3K$-PNA 在 1 μmol/L 时,抑制率在30%左右,1 μmol/L 的 PNA 作用的菌液对生物膜形成基本上没有抑制;$(KFF)_3K$-PNA 在 10 μmol/L 时,抑制率在70%左右,10 μmol/L PNA 作用的菌液对生物膜形成的抑制率在10%左右。$D$(570)值和显微镜下的观察结果都显示穿膜肽 $(KFF)_3K$ 对 PAO1 的生物膜形成能力和活力都没有影响,从而可以排除细菌生物膜形成能力的下降是由于穿膜肽对细菌的毒力作用引起的。

运动能力是细菌适应环境而生存的重要因素,而细菌生物膜的形成是细菌适应环境最为主要的生存方式[15]。研究发现细菌鞭毛的运动对细菌生物膜的形成及其结构有重要的影响。铜绿假单胞菌的鞭毛运动调节系统受 motAB、motCD 和 motY 等基因的调控[2]。本实验中使用连接穿膜肽 $(KFF)_3K$ 的肽核酸针对 motA 基因进行反义抑制,PAO1 的运动能力有所下降,但并不能使其完全缺失。这与 Doyle 等[2]的实验结果相符,推测 motAB、motCD、motY 非同系之间能够协同调节细菌的运动能力,当其中一个成分部分缺失或者完全丧失功能的时候,其他的组分代偿调节细菌的运动能力,从而有利于铜绿假单胞菌在不同环境中实行运动与固定状态之间的转变,使其能够向有利于自身生存的环境靠近。推测联合抑制调控铜绿假单胞菌鞭毛动力系统的两套基因如 motA 和 motC,其生物膜的形成能力下降更为明显。

本研究结果显示抑制铜绿假单胞菌生物膜的形成必需基因 motA 的表达,从而在生物膜形成的早期抑制其形成,揭示了针对 motA 基因的 $(KFF)_3K$-PNA 作为抑制 PAO1 生物膜形成治疗手段的可能性,从而恢复铜绿假单胞菌对抗生素的敏感性,这为临床上治疗细菌生物膜感染提供了实验依据。

## 参考文献:

[1] Greenberg E P. Bacterial communication: tiny teamwork[J]. Nature,

2003, 424(6945): 134.
[2] Doyle T B, Hawkins A C, McCarter L L. The complex flagellar torque generator of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Bacteriol, 2004, 186(19): 6341 - 6350.
[3] Toutain C M, Caizza N C, Zegans M E, *et al*. Roles for flagellar stators in biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Rec Microbiol, 2007, 158(5): 471 - 477.
[4] Toutain C M, Zegans M E, O'Toole G A. Evidence for two flagellar stators and their role in the motility of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Bacteriol, 2005, 187(2): 771 - 777.
[5] O'Toole G A, Pratt L A, Watnick P I, *et al*. Genetic approaches to study of biofilms [J]. Methods Enzymol, 1999, 310: 91 - 109.
[6] Bauer T T, Torres A, Ferrer R, *et al*. Biofilm formation in endotracheal tubes. Association between pneumonia and the persistence of pathogens [J]. Monaldi Arch Chest Dis, 2002, 57(1): 84 - 87.
[7] 柴栋, 王睿, 裴斐, 等. 铜绿假单孢菌生物被膜相关大鼠肺慢性感染免疫逃逸的研究 [J]. 中国抗生素杂志, 2003, 28(9): 562 - 565.
[8] Schubert S, Grunweller A, Erdmann V A, *et al*. Local RNA target structure influences siRNA efficacy: systematic analysis of intentionally designed binding regions [J]. J Mol Biol, 2005, 348(4): 883 - 893.
[9] Lagana A, Forte S, Russo F, *et al*. Prediction of human targets for viral-encoded microRNAs by thermodynamics and empirical constraints [J]. J RNAi Gene Silencing, 2010, 6(1): 379 - 385.
[10] Tafer H, Ameres S L, Obernosterer G, *et al*. The impact of target site accessibility on the design of effective siRNAs [J]. Nat Biotechnol, 2008, 26(5): 578 - 583.
[11] Lu Z J, Mathews D H. Efficient siRNA selection using hybridization thermodynamics [J]. Nucleic Acids Res, 2008, 36(2): 640 - 647.
[12] Doshi K J, Cannone J J, Cobaugh C W, *et al*. Evaluation of the suitability of free-energy minimization using nearest-neighbor energy parameters for RNA secondary structure prediction [J]. BMC Bioinformatics, 2004, 5: 105.
[13] Oh S Y, Ju Y, Kim S, *et al*. PNA-based antisense oligonucleotides for microornas inhibition in the absence of a transfection reagent [J]. Oligonucleotides, 2010, 20(5): 225 - 230.
[14] Good L, Awasthi S K, Dryselius R, *et al*. Bactericidal antisense effects of peptide-PNA conjugates [J]. Nat Biotechnol, 2001, 19(4): 360 - 364.
[15] Karatan E, Watnick P. Signals, regulatory networks, and materials that build and break bacterial biofilms [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2009, 73(2): 310 - 347.

(收稿: 2010-09-21 修回: 2010-11-08)
(编辑 张 维)

# 个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2011)03-0298-01

## 经颞下入路显微手术切除大脑后动脉 P2 段动脉瘤 2 例

耿 鑫, 余化霖, 刘文春, 孙 涛, 马以骝, 李经辉, 白 鹏, 于 晓, 天晓燕 (650032 昆明, 昆明医学院第一附属医院微创神经外科)

【关键词】 动脉瘤; 大脑后动脉; 显微外科手术
【中图法分类号】 R651.12 【文献标志码】 B

发生于大脑后动脉 P2 段的动脉瘤占颅内动脉瘤的比例不到 1%[1], 其治疗仍为难点。我科收治 2 例, 治疗效果满意, 报告如下。

### 1 资料与方法

#### 1.1 病例资料

例 1, 女性, 32 岁, 因"突发剧烈头痛伴左侧肢体活动不灵 6 h"入院。查体: 左侧肢体肌力Ⅳ级。头颅 CT 示: 右侧环池有一约 1.0 cm×1.5 cm 类圆形高密度影, 头颅 CTA 及 3D-DSA 示: 右侧大脑后动脉 P2 段见一约 1.3 cm×0.76 cm×1.0 cm 大小动脉瘤, 有穿支动脉(图 1)。

例 2, 女性, 51 岁, 因"意识障碍 1 h, CT 发现蛛网膜下腔出血 1 d"入院。查体: 颈抵抗(+), 左侧肢体肌力Ⅳ级。头颅 CT 示: 右侧环池高密度影, 头颅 CTA 及 3D-DSA 示: 右侧大脑后动脉 P2 段见一约 1.2 cm×0.8 cm×0.6 cm 大小动脉瘤, 有穿支动脉。

#### 1.2 治疗方法

术前腰穿置管释放脑脊液, 全麻下经右颞下入路, 抬起颞叶, 打开环池, 探查并游离 P2 段载瘤动脉, 临时阻断近端载瘤动脉, 夹闭供应动脉瘤的分支血管后, 切除动脉瘤, 瘤体直径约 1.0 cm。以尼莫地平林格氏液(1 ml∶10 ml)局部灌洗术野血管 10 min, 并以经颅多普勒观测动脉瘤、瘤颈及脑干方向穿通支情况。

例 1 患者术后左侧肢体轻偏瘫, 经功能锻炼、高压氧治疗后偏瘫恢复, 随访 1 年, 已恢复工作。例 2 患者术后发现右侧内囊后支小梗死灶, 左上肢肌力Ⅱ级, 左下肢肌力Ⅲ级, 经功能锻炼、高压氧治疗后遗留有轻偏瘫, 随访 3 个月, 能胜任简单工作。2 例患者术后 CT 均显示动脉瘤消失(图 2)。

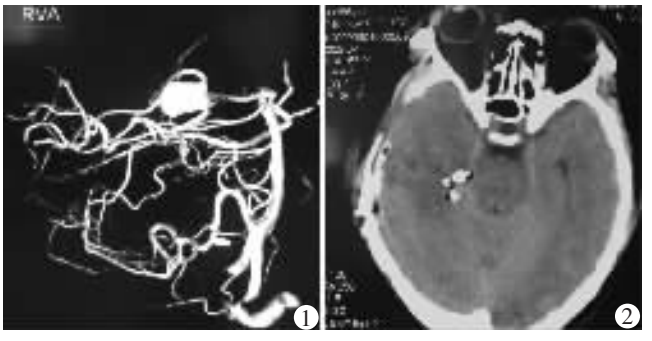



**图 1 大脑后动脉 P2 段动脉瘤患者头颅 3D-DSA 表现**
**图 2 大脑后动脉 P2 段动脉瘤患者术后 CT 表现**

【通信作者】 余化霖, 电话: (0871)5324888 - 2459, E-mail: yuh1308@126.com

(下转 302 页)