论著

文章编号:1000-5404(2011)13-1342-04

GW3965在Raji细胞中对BLyS表达的影响

黄 艳[1],黄 刚[2],胡长江[2],曾益军[2],许志臻[2],陈岑曦[2],何凤田[2],宋方洲[1] (400016 重庆,重庆医科大学分子医学与肿瘤研究中心[1];400038 重庆,第三军医大学基础医学部生物化学与分子生物学教研室[2])

【摘要】 目的 探讨肝X受体(liver X receptors, LXRs)的特异性激动剂GW3965在Raji细胞中对B淋巴细胞刺激因子(B lymphocyte stimulator, BLyS)表达的影响。**方法** MTT法检测不同浓度的GW3965(浓度分别为0.5、5、10 μmol/L)对Raji细胞活性的影响,观察时间为加入GW3965共孵育后24 h。用LXR的特异性激动剂GW3965刺激人B细胞淋巴瘤株Raji细胞,经RT-PCR检测LXR特异性靶基因三磷酸腺苷结合盒A1(ATP-binding cassette,ABCA1) mRNA的表达;经RT-PCR和Western blot检测BLyS的表达。**结果** 对照组1‰DMSO *D*(492)为(0.632±0.055),0.5、5 μmol/L和10 μmol/L的GW3965 *D*(492)为(0.609±0.073)、(0.612±0.052)和(0.628±0.055)。LXR的特异性配体GW3965对细胞活性无影响($P>0.05$)。GW3965作用于Raji细胞后,ABCA1 mRNA表达剂量依赖性上调,LXR活化后可在转录和翻译水平剂量依赖性下调抑制BLyS的表达。**结论** LXR在Raji细胞中可抑制BLyS的表达。

【关键词】 GW3965;B淋巴细胞刺激因子;Raji细胞

【中图法分类号】 R394;R73-362;R730.263 **【文献标志码】** A

Role of liver X receptor in expression of B lymphocyte stimulator in Raji cells

Huang Yan[1], Huang Gang[2], Hu Changjiang[2], Zeng Yijun[2], Xu Zhizhen[2], Chen Lingxi[2], He Fengtian[2], Song Fangzhou[1] ([1]Center of Molecular Medicine and Tumor Research, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016; [2]Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Basic Medical Sciences, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

【Abstract】 **Objective** To determine the effect of liver X receptor (LXR) specific agonist, GW3965 on the expression of B lymphocyte stimulator (BLyS) in human B-cell lymphoma Raji cells. **Methods** Cell viability of Raji cells exposure to GW3965 at concentrations of 0.5, 5 and 10 μmol/L for 24 h was detected by MTT assay. Then the expression of ATP-binding cassette (ABCA1, the specific target gene of LXR) mRNA and LXR mRNA was detected by RT-PCR and the expression of BLyS at mRNA and protein levels were measured by RT-PCR and Western blotting. **Results** The level of 1‰ DMSO OD(492 nm) was(0.632±0.055), and 0.5, 5 and 10 μmol/L GW3965 resulted in the levels of OD(492nm) were (0.609±0.073),(0.612±0.052) and(0.628±0.055) respectively, indicating that GW3965 had no effect on the viability of Raji cells ($P>0.05$). Exposure to 0.5 and 5 μmol/L GW3965 results in an increase in the level of ABCA1 mRNA in a dose-dependent manner, suggesting LXR was functional in Raji cells. The expression of BLyS were down-regulated in both mRNA and protein levels after LXR activation. **Conclusion** LXR decreases the expression of BLyS in Raji cells.

【Key words】 GW3965; B lymphocyte stimulator; Raji cells

Supported by the National Nature Science Foundation of China (81001302). Corresponding author: Song Fangzhou, E-mail: fzsongcq@163.com

B淋巴细胞刺激因子(B lymphocyte stimulator)(BLyS)是肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor,TNF)超家族成员之一,又称为B细胞激活因子(B cell activating factor,BAFF),也被称为TNF及凋亡配体相关白细胞表达配体1(TNF and apoptosis ligand-related leukocyte-expressed ligand 1, TALL-1)、激活细胞凋亡核因子κB和c-Jun氨基端激酶的TNF同源因子[TNF homologue that activates apoptosis, nuclear factorκB (NF-κB), and c-Jun NH2-terminal kinase, THANK],它是Ⅱ型跨膜蛋白,N末端在胞内无信号肽,C末端为胞外区,其中47-73位氨基酸为跨膜区,74-285位氨基酸为胞外区,133-285位氨基酸为其发挥功能的主要区域,128-285位氨基酸残基区域含有与受体结合的结构域[1-2]。BLyS是B细胞存活的关键因子,BLyS缺陷的小鼠表现出外周B细胞数目减少和免疫反应降低,与此相反,提高BLyS水平则可以增强免疫反应,这些证据表明BLyS可能作为自身免疫性疾病的潜在治疗目标[1]。研究证实BLyS过表达将导致B细

【基金项目】 国家自然科学基金(81001302)

【通信作者】 宋方洲,E-mail:fzsongcq@163.com

胞增生和体内自身抗体的产生进而诱发多种自身免疫疾病,如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、干燥综合征等[3-4]。由于 BLyS 的表达水平与炎症的发生密切相关,因此抑制 BLyS 的过表达对治疗类风湿性关节炎等自身免疫性疾病有重要的作用[5]。

肝 X 受体(LXRs)是核受体超家族的成员,包括 2 种亚型 LXRα(NR1H3)和 LXRβ(NR1H2)。LXRs 被配体激活后,与类固醇 X 受体(RXRs)形成异源二聚体,再与其靶基因的 LXR 调控元件结合,通过调节靶基因的转录,调控机体的代谢和炎症反应[6-7]。在 Raji 细胞中 LXR 和 BLyS 都有高表达,且都紧密的参与免疫反应,LXR 对 BLyS 的表达是否具有调控作用,目前尚少见报道,本研究以 B 淋巴细胞系 Raji 为模型初步探讨 LXR 的特异性激动剂 GW3965 对 BLyS 表达的影响,结果显示 GW3965 可剂量依赖性的抑制 BLyS 的表达。表明在 B 细胞系中 LXR 的活化可明显下调 BLyS 的水平。

1 材料与方法

1.1 材料

人 B 细胞淋巴瘤株 Raji 细胞由第三军医大学基础医学部微生物教研室惠赠;GW3965 和 DMSO(美国 Sigma 公司);胎牛血清和 1640 细胞培养基(美国 Gibco 公司);琼脂糖及 M-MLV 反转录酶(美国 Invitrogen 公司);细胞裂解液和 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天生物技术公司);动物 RNA-out(北京天净沙生物技术公司);随机引物 Oligo d(T)$_{18}$、r-*Taq* DNA 聚合酶(大连宝生物工程有限公司);dNTPs(美国 Promega 公司);蛋白酶抑制剂(Roche 公司);鼠抗人 BLyS 抗体(美国 Santa 公司);羊抗鼠二抗(广州中杉公司);化学发光底物试剂盒和 PVDF 膜(美国 Thermo 公司);封闭蛋白干粉(武汉博士德生物工程有限公司)。引物用 Primer Premier 3.0 设计后,经上海 Invitrogen 公司合成。其余试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养、分组和给药方法 采用含 10% 胎牛血清、6.1 mmol/L 葡萄糖的 1640 培养基,于 37 ℃、5 % 的 CO_2 培养箱内培养,并常规换液和传代后,待细胞进入对数生长期,进行实验。将 GW3965 以 DMSO 作为溶剂溶解,用溶剂 DMSO 为对照(浓度 1‰),给药浓度分别是 0.5 μmol/L 和 5 μmol /L。

1.2.2 MTT 法检测 GW3965 对细胞增殖的影响 将对数生长期 Raji 细胞接种于 96 孔培养板中,调整细胞数为 5×10^3/ml,每孔 150 μl,4 h 后分别加入 1‰ DMSO 和不同浓度的 GW3965(0.5、5、10 μmol/L),每孔总体积 200 μl,设 3 复孔,阴性对照孔只加无糖 RPMI1640 培养基,继续培养 24 h。每孔中加入 5 mg/ml 的 MTT 20 μl,继续培养 4 h,小心吸去上清液,加入 DMSO 150μl,振荡培养板 10 min,使每孔中沉淀完全溶解。将 96 孔板放置在酶标仪上,以 492 nm 为检测波长,测定各孔的光密度值[*D*(492)]。

1.2.3 细胞总 RNA 的提取和 RT-PCR 以 5.0×10^5/孔的密度将 Raji 细胞接种于 12 孔板中,隔夜后以溶解 GW3965 的溶剂 DMSO(终浓度为 1‰)作对照,在各孔内分别加入含 GW3965(终浓度分别为 0.5 μmol/L 和 5 μmol/L)的 1640 培养基培养;药物处理 24 h 后,按动物 RNA-out 试剂操作说明提取 Raji 细胞总 RNA。反转录反应按照 MMLV 的操作说明书进行一下实验:总 RNA 2 ~ 2.5 μg,随机引物 Oligo d(T)18 (50 ng/μl) 1 μl,2.5 mmol/L dNTPs 4 μl,加 DEPC(浓度为 1‰)水至 13 μl,65 ℃放置 5 min,冰上放置 2 min 后加入 5 × first buffer 4 μl,0.1 mol/L DTT 2 μl, M-MLV 反转录酶 0.3 μl,使总反应体系为 20 μl。混匀后,37 ℃反转录 50 min,70 ℃灭活 15 min 后 -20 ℃保存。

PCR 反应按照 r-*Taq* 酶的操作说明书进行一下实验:引物序列如下:β-actin(大小为 252 bp):正义链 5′-CCATGTACGTTGCTATCCAGG-3′,反义链 5′-TCTCCTTAATGTCACGCACGA-3′;ABCA1(大小为 538 bp):正义链 5′-CTGGGCATTTCTAGTTATGG-3′,反义链 :5′-CTTTGGTGAGGGCGTTTA-3′;BLyS(大小为 253 bp):正义链 5′-CAACTGATTGCAGACAGTGAAAC-3′,反义链 5′-GGTATTGCAAGTTGGAGTTCATC-3′。取反转录而来的 cDNA 各 1 μl,20 pmol/L 上下游引物各 0.5 μl,2.5 mmol/L dNTPs 2 μl,10 × buffer(Mg^{2+} free) 2.5 μl, 2.5 mmol/L Mg^{2+} 2 μl,r-*Taq* DNA 聚合酶 0.2 μl,加水至 25 μl。PCR 反应条件,β-actin 94 ℃预变性 5 min (94 ℃变性 45 s ,60 ℃退火 45 s,72 ℃ 延伸 45 min),扩增 25 个循环。ABCA1 :94 ℃预变性 5 min (94 ℃变性 45 s,55 ℃退火 45 s ,72 ℃延伸 45 min),扩增 28 个循环。BLyS:94 ℃预变性 5 min (94 ℃变性 45 s,56 ℃ 退火 45 s,72 ℃延伸 45 s),扩增 28 个循环。反应完成后,取 PCR 产物 5μl 以 1 % 琼脂糖凝胶电泳后于凝胶成像仪上观察结果。

1.2.4 通过 Western blot 检测 LXR 在蛋白水平上对 BLyS 表达的影响 细胞培养于 6 孔板中,实验组和对照组处理条件按照 1.2.3。

1.2.4.1 膜蛋白的提取 收集细胞悬液于 10 ml 离心管中,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液。每管以 6∶1 的比例加入细胞裂解液和 Roche 蛋白酶抑制剂各 90 μl 和 15 μl 后,置于冰浴中 30 min,接着 12 000 r/min 离心 5 min,取上清于另一新的离心管中,用 BCA 法测量蛋白浓度。

1.2.4.2 Western blot 检测 取 50 μg 膜蛋白加入 5 × SDS 上样缓冲液中,用 12% 聚丙烯酰胺凝胶进行电泳分离后 ,用湿转的方法将蛋白转至 PVDF 膜上。用含 5% 封闭蛋白干粉的封闭液将 PVDF 膜于 37 ℃孵箱封闭 1 h,然后用封闭液以 1∶300 稀释鼠抗人 BLyS 一抗,4 ℃孵育 10 ~ 18 h,接着用 PBST 洗 5 次,每次 10 min。洗后将 PVDF 膜用封闭液以 1∶10 000 稀释羊抗鼠二抗,于 37 ℃孵箱孵育 1 h,PBST 洗 5 次,每次 10 min。最后在暗室中,用化学发光底物法将 PVDF 膜对 X 线片曝光。

1.3 统计学方法

实验数据采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用方差分析。用 SPSS 13.0 软件进行统计学处理。

2 结果

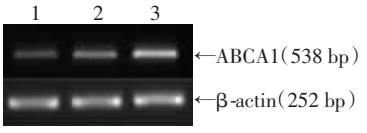
2.1 MTT 法检测 GW3965 对细胞增殖的影响

对照组 1‰ DMSO *D*(492) 为(0.632 ± 0.055),0.5、5 μmol/L 和 10 μmol/L 的 GW3965 *D*(492) 为(0.609 ± 0.073)、(0.612 ± 0.052)和(0.628 ± 0.055)。与对照组比较,3 种浓度的 GW3965 对 Raji 细胞活性没有影响($P>0.05$),因此,

我们将GW3965的工作浓度确定为0.5 μmol/L和5 μmol/L。纵坐标为D(492)的吸光度值,横坐标为不同浓度的GW3965处理组。

2.2 LXR可在转录水平促进Raji细胞中ABCA1的表达

ABCA1是LXR特异的靶基因之一,通过检测ABCA1的表达情况,即可反映LXR在Raji细胞中是否被活化,进而可知LXR在Raji细胞中是否具有功能活性。如图1所示,GW3965作用于Raji细胞后,可以明显促进ABCA1 mRNA的表达,表明LXR在Raji细胞中具有功能活性。

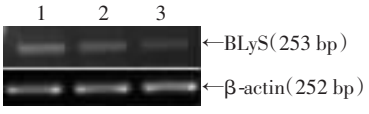


1-3:Raji经含1‰ DMSO、GW3965 0.5μmol/L和5 μmol/L的1640培养基处理24 h后

图1 RT-PCR检测LXR对ABCA1 mRNA表达的影响

2.3 LXR可在转录水平抑制Raji细胞中BLyS表达

用含GW3965(终浓度分别为0.5 μmol/L和5 μmol/L)的1640培养基处理Raji细胞,与对照组(1‰ DMSO)相比BLyS mRNA表达明显被抑制。如图2所示,LXR可在转录水平抑制Raji细胞中BLyS的表达。

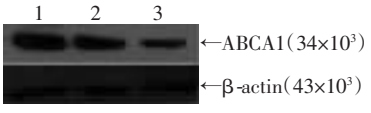


1-3:Raji经含1 ‰DMSO,GW3965 0.5μmol/L和5 μmol/L的1640培养基处理24 h后

图2 RT-PCR检测LXR下调BLyS的mRNA水平

2.4 LXR可在Raji细胞中抑制BlyS蛋白表达

在保证每孔上样量一致的情况下,通过Western blot可知,GW3965 0.5 μmol/L和5 μmol/L均可剂量依赖性的明显抑制BLyS蛋白的表达。如图3所示,在Raji细胞中LXR可在蛋白水平上抑制BLyS的表达。



1-3:Raji经含1‰ DMSO、GW3965 0.5 μmol/L和5 μmol/L的1640培养基处理24 h后

图3 Western blot检测LXR抑制BLyS蛋白的表达水平

3 讨论

BLyS在单核细胞、巨噬细胞、还有T细胞和树突细胞中表达,能特异地与B细胞结合,对B细胞的存活、增殖、发育和分化起着关键的作用[8-10]。它作为B淋巴细胞的一种共刺激分子,在体液免疫中也具有重要的作用[11]。同时它作为一种细胞因子,在体内的异常表达水平与某些疾病有密切关系。如其低表达将导致机体免疫功能的缺陷,而其过表达将导致B细胞增生和体内自身抗体的产生进而诱发多种自身免疫性疾病,如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、干燥综合症等[12]。关于BLyS表达调节的研究目前是BLyS表达研究的热点之一。目前已报道的关于BLyS的调节因素有细胞因子,如IFN-γ,它主要是通过在转录水平完成对BLyS的调控的。

核受体(nuclear receptor,NR)是一类在生物体内广泛分布的,配体依赖的转录因子,其成员众多,构成了一个大家族,可分为3大类:类固醇激素受体、非类固醇激素受体和孤儿核受体。核受体与相应的配体及其辅调节因子相互作用,调控基因的协调表达,在机体的生长发育、新陈代谢、细胞分化及体内许多生理过程中发挥重要作用[13-14]。核受体的功能障碍将导致一系列疾病如炎症、癌症、不育、肥胖、糖尿病。LXR是一种典型的抗炎核受体,它发挥了重要的抗炎功能,LXR可抑制多种炎性介质,如环氧化酶-2(cycloxygenase-2,COX-2)、白介素-1(interleukin-1,IL-1)、IL-6、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase,MMP-9)、髓过氧化物酶(myeloperoxidase,MPO)和一些细胞因子如单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1,MCP-1)和MCP-3、巨噬细胞炎性蛋白-1(macrophage inflammatory protein-1β,MIP-1β)、干扰素诱生蛋白-10(interferon inducible protein-10,IP-10)、前列腺素E_2(prostaglandin E_2,PGE_2)等[15-16],LXR与BLyS与炎症等自身免疫性疾病密切相关且都高表达于B淋巴细胞,但是到目前为止两者之间的关系尚少见报道。

本研究利用LXR的特异性激动剂GW3965在转录和翻译水平可以剂量依赖性的明显抑制BLyS的表达,表明LXR的活化能明显下调BLyS的水平。该研究结果提示,在淋巴细胞中LXR可能是调节BLyS表达的新靶点,也就是说提过活化LXR可能对于防治BLyS过表达相关疾病可能具有重要意义。

参考文献:

[1] 郑召岭,蔡 辉. BAFF在自身免疫性疾病中的作用[J]. 重庆医学,2009,38(3):359-361.

[2] Woodland R T, Schmidt M R, Thompson C B. BLyS and B cell homeostasis[J]. Semin Immunol, 2006, 18(5):318-326.

[3] Yang J, Pospisil R, Ray S, *et al*. Investigations of a rabbit (Oryctolagus cuniculus) model of systemic lupus erythematosus (SLE), BAFF and its receptors[J]. PLoS One, 2009, 4(12):e8494.

[4] Katsenelson N, Kanswal S, Puig M, *et al*. Synthetic CpG oligodeoxynucleotides augment BAFF- and APRIL-mediated immunoglobulin secretion[J]. Eur J Immunol, 2007, 37(7):1785-1795.

[5] Xue, X, Wang Z, Yan Z, *et al*. Production and purification of recombinant human BLyS mutant from inclusion bodies[J]. Protein Expr Purif, 2005, 42(1):194-199.

[6] Treml J F, Hao Y, Stadanlick J E, *et al*. The BLyS family:toward a molecular understanding of B cell homeostasis[J]. Cell Biochem Biophys, 2009, 53(1):1-16.

[7] Ansell S M, Novak A J, Ziesmer S, *et al*. Serum BLyS levels increase

after rituximab as initial therapy in patients with follicular Grade non-Hodgkin lymphoma[J]. Am J Hematol, 2009, 84(2): 71 - 73.
[8] Scholz J L, Crowley J E, Tomayko M M, *et al*. BLyS inhibition eliminates primary B cells but leaves natural and acquired humoral immunity intact [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(40): 15517 - 15522.
[9] Stohl W. Therapeutic targeting of B lymphocyte stimulator (BLyS) in the rheumatic diseases[J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2006, 6(4): 351 - 358.
[10] Ju S, Zhang D, Wang Y, *et al*. Correlation of the expression levels of BLyS and its receptors mRNA in patients with systemic lupus erythematosus[J]. Clin Biochem, 2006, 39(12): 1131 - 1137.
[11] Stohl W. BlySfulness does not equal blissfulness in systemic lupus erythematosus: a therapeutic role for BLyS antagonists[J]. Curr Dir Autoimmun, 2005, 8: 289 - 304.
[12] Merrill J T. BLyS antagonists and peptide tolerance induction[J]. Lupus, 2005, 14(3): 204 - 209.
[13] Lavie F, Miceli-Richard C, Quillard J, *et al*. Expression of BAFF (BLyS) in T cells infiltrating labial salivary glands from patients with Sjogren's syndrome[J]. J Pathol, 2004, 202(4): 496 - 502.
[14] He B, Chadburn A, Jou E, *et al*. Lymphoma B cells evade apoptosis through the TNF family members BAFF/BLyS and APRIL[J]. J Immunol, 2004, 172(5): 3268 - 3279.
[15] Hase H, Kanno Y, Kojima M, *et al*. BAFF/BLyS can potentiate B-cell selection with the B-cell coreceptor complex[J]. Blood, 2004, 103 (6): 2257 - 2265.
[16] Cancro M P. The BLyS family of ligands and receptors: an archetype for niche-specific homeostatic regulation[J]. Immunol Rev, 2004, 202: 237 - 249.

(收稿:2010-11-22 修回:2011-01-02)
(编辑 王 红)

(上接 1337 页)

管,顺导丝置入胆道支架推送器,透视下调整位置,使两侧推送器上的标记均越过狭窄两端,缓慢释放支架,见膨胀良好(单个支架长度不够时可置双支架),再插入 PTCD 管行胆道造影,造影剂可经扩张之狭窄段胆管顺利进入胆道,示支架安放成功。术后地塞米松 5 mg 静脉推注,抗感染、止血、保肝等治疗。外引流管保留 3 ~ 5 d,期间间断夹闭,待支架完全复张且无移位后拔出。

1.3 统计学处理

患者术前、后生化指标资料进行 t 检验分析,软件为 SPSS 13.0。

2 结果

本组 60 例中单支架 13 例(21.7%),双支架 39 例(65.0%),三支架 8 例(13.3)。穿刺左肝管 15 例(25.0%),右肝管 11 例(18.3%),双侧肝管 34 例(56.7%)。一次手术成功 47 例(78.3%),二次手术成功 13 例(21.7%)。术后外引流管留置时间最短 3 d,最长 9 个月。术后并发症有胆管炎 13 例,胆道出血 11 例,肝功能衰竭 3 例。胆管炎经抗感染治疗均好转;胆道出血经夹闭引流管、止血等保守治疗也均好转;3 例肝功能衰竭者均为肿瘤晚期导致恶病质以及多器官功能障碍。全组患者术前术后肝功能综合变化情况见表 1。

表 1 恶性梗阻性黄疸患者 PTCD 联合胆道支架置入术前后肝功能综合变化情况($n = 60, \bar{x} \pm s$)

时间	白蛋白 (g/L)	碱性磷酸酶(U/L)	丙氨酸转氨酶(U/L)	总胆红素 (μmol/L)	直接胆红素 (μmol/L)	间接胆红素 (μmol/L)
术前	30.3 ± 10.5	623.0 ± 286.2	137.0 ± 74.6	449.6 ± 189.1	254.2 ± 127.3	195.4 ± 61.8
术后 1 周	27.8 ± 5.2[a]	390.0 ± 94.5[a]	105.5 ± 18.7[a]	213.6 ± 43.7[a]	142.1 ± 28.6[a]	71.5 ± 15.1[a]
术后 1 个月	29.3 ± 4.6	0.2 ± 0.1	85.4 ± 15.4	174.2 ± 51.5	102.3 ± 32.6	71.9 ± 18.9

a: $P < 0.05$,与术前比较

3 讨论

恶性胆道梗阻对肝脏的病理改变为使肝细胞肿胀、肝功能进行性受损,出现高胆红素和胆酸盐血症、内毒素血症、肠道菌群移位等全身性病理生理学改变[1],因此解除梗阻、恢复胆管通畅具有重要的临床价值。以往一般实施胆肠吻合术,创伤大、花费高,远期效果不乐观。引流因其安全、有效、简便、可重复操作的特点已成为恶性胆道梗阻姑息治疗的首选方法[2]。引流又分为外引流与内引流,外引流也就是行 PTCD 后,长期带管生活,这样会使患者生活不便,而且往往不慎会使引流管脱出,或者剧烈活动后,引流管内端损伤胆管壁或肿瘤组织,造成出血,危及生命。在这种情况下,内引流无疑是广大普外科医生和患者最好的选择。PTCD 联合胆道金属支架置入术是姑息性治疗恶性梗阻性黄疸常用方法之一[3-4],适用于不宜手术者,对于解除晚期恶性胆道梗阻性黄疸、缓解症状、提高患者生存质量具有满意疗效。这种内引流方法近似生理性胆汁引流,不引起水电解质紊乱[5]。也为术后行动脉途径局部灌注化疗以提高生存期提供方便[6]。

本组并发症发生率为 38.3% (23/60)。肝内血管损伤性出血为该术较为严重的并发症,包括胆道出血和腹腔出血。前者经止血、夹闭引流管等保守措施一般可治愈,但后者应急诊剖腹探查止血,甚至结扎肝动脉。其次,造影剂注入引流不充分的肝段、外引流导管细菌导致反流性胆管炎[7],胆道上皮损伤容易受细菌污染,以及支架引流不畅导致胆汁淤积。另外肝脓肿、胆心反射综合征等也偶尔可见。技术上最难解决的是支架脱落、移位或晚期的支架堵塞。前者与支架大小不合适,多支架释放顺序不合理有关。后者系因肿瘤继续生长,堵塞支架腔所致,此时只有再次放置外引流。

参考文献:

[1] 黄志强. 胆道外科手术学[M]. 济南:山东科学技术出版社, 1998: 168 - 170.
[2] 刘素丽, 张月寒, 王鼎鑫, 等. 恶性胆道梗阻内镜介入治疗的临床应用价值[J]. 实用肿瘤杂志. 2008, 23(1): 46 - 48.
[3] 郑家平, 张远, 邵国良, 等. 恶性梗阻性黄疸介入治疗进展[J]. 肿瘤学杂志, 2009, 15(7): 678 - 682.
[4] 谢宗贵, 张希全, 李凡东, 等. 胆道支架技术 5 年回顾(213 例随访报道)[J]. 中华肝胆外科杂志, 2002, 8(10): 595 - 597.
[5] 黄跃, 蒋义贵. 胆道支架置入术姑息性治疗恶性梗阻性黄疸[J]. 中国医药指南, 2010, 8(16): 121 - 122.
[6] 许庆华, 刘鹏飞, 项斌, 等. 胆道金属支架治疗恶性梗阻性黄疸的预后因素分析[J]. 南京医科大学学报:自然科学版, 2009, 29(8): 1185 - 1187.
[7] 查勇, 寸英丽, 黄云超, 等. 经皮金属支架置入治疗恶性高位胆道梗阻[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(20): 2034.

(收稿:2010-12-23 修回:2011-01-24)
(编辑 龙 亮)