论著

文章编号:1000-5404(2011)15-1606-04

槲皮素联合顺铂对人卵巢癌SKOV-3细胞增殖及凋亡的影响

彭慧霞[1],潘艳艳[2],邢兰瑛[1],王艳华[1],蔡东阁[1],杨雪梅[1],李 虹[1] (710004 西安,西安交通大学医学院第二附属医院妇产科[1];710003 西安,陕西省妇幼保健院超声科[2])

[摘要] **目的** 探讨槲皮素单独及联合顺铂对人卵巢癌SKOV-3细胞增殖与凋亡的影响,并初步探讨其作用机制。**方法** 选取对数生长期的卵巢癌SKOV-3细胞作为研究对象,实验分6组:阴性对照组(生理盐水),槲皮素低(25 μmol/L)、中(50 μmol/L)、高剂量组(100 μmol/L),顺铂组(10 μmol/L),联合组(槲皮素50 μmol/L+顺铂10 μmol/L)。采用MTT法检测不同浓度槲皮素单独及联合顺铂对SKOV-3细胞的增殖抑制作用;流式细胞仪检测细胞周期分布及细胞凋亡率;免疫细胞化学法检测槲皮素作用于SKOV-3细胞Bcl-2及MtP53蛋白表达水平的变化。**结果** 与阴性对照组相比,槲皮素可明显抑制SKOV-3细胞的增殖,并具有显著的时间和剂量依赖关系,槲皮素高剂量组在72 h的抑制率可达63.49%($P<0.05$);流式细胞仪分析发现槲皮素可使G_0/G_1期细胞明显增多,S期细胞明显减少($P<0.05$),提示其将细胞周期阻滞于G_1期;槲皮素还可明显诱导SKOV-3细胞凋亡,高剂量组的凋亡率可达29.51%;槲皮素作用后,Bcl-2及MtP53表达则明显降低($P<0.05$)。**结论** 槲皮素在体外可抑制SKOV-3细胞增殖,阻滞细胞周期,诱导细胞凋亡,其机制可能与降低凋亡相关蛋白MtP53和Bcl-2的蛋白表达水平有关;槲皮素与顺铂联用有协同作用。

[关键词] 槲皮素;顺铂;卵巢癌;增殖;凋亡
[中图法分类号] R737-31; R73-361; R979.11 [文献标志码] A

Quercetin combined with cisplatin on proliferation and apoptosis in human ovarian cancer SKOV-3 cells

Peng Huixia[1], Pan Yanyan[2], Xing Lanying[1], Wang Yanhua[1], Cai Dongge[1], Yang Xuemei[1], Li Hong[1] ([1]Department of Gynaecology and Obstetrics, Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi Province, 710004; [2]Maternal and Child Health Hospital of Shaanxi Province, Xi'an, Shaanxi Province, 710003, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effect of quercetin combined with cisplatin on the proliferation and apoptosis in SKOV-3 ovarian cancer cells. **Methods** Ovarian cancer SKOV-3 cells at the logarithmic growth phase were treated with quercetin at 25, 50, or 100 μmol/L respectively, with 10 μmol/L DDP, or with 50 μmol/L quercetin and 10 μmol/L DDP together, respectively for 24, 48 and 72 h. The cell proliferation was evaluated by MTT assay, the rate of cell apoptosis and the cell-cycle distribution was detected by flow cytometry, and the expression of P53 and Bcl-2 were analyzed by immunocytochemical assay. **Results** Quercetin resulted in an decreased of the proliferation in SKOV-3 cells in a dose- and time-dependent manner, and the inhibitory rate in the 100 μmol/L quercetin for 72 h was 63.49% ($P<0.05$). Flow cytometry showed that the proportions of G_0/G_1 phase and of S phase were reduced after quercetin exposure ($P<0.05$). Quercetin also increased the apoptotic rate of SKOV-3 cells significantly and the highest apoptotic rate was 29.51% ($P<0.05$). Immunocytochemical assay showed that the expression of MtP53 and Bcl-2 proteins in the treated cells was significantly decreased compared with the control ($P<0.05$). **Conclusion** Quercetin, especially combined with cisplatin, significantly inhibits the proliferation and induces apoptosis of cervical cancer cells, which might be due to the down-regulation of Bcl-2 and MtP53.

[**Key words**] quercetin; cisplatin; ovarian cancer; proliferation; apoptosis

Corresponding author: Xing Lanying, E-mail: Fang990@people.com.cn

卵巢癌的发病率居妇科恶性肿瘤第3位,死亡率则高居首位。该病起病隐匿,约2/3的患者初诊时已到中晚期,出现局部或远处转移,手术及化疗效果欠佳,部分患者因无法耐受化疗毒副作用而失去积极治疗的机会[1-2]。因此,寻找新型的毒副作用小的抗癌药成为卵巢肿瘤的研究热点。槲皮素(quercetin)是一类天然黄酮类的化合物,化学名称是3,3',4',5',5,7-五羟基黄酮,在许多植物的花、叶、果实中广泛分布,其毒性小,具有多种生物学活性和抗感染、抗氧化、抗

[通信作者] 邢兰瑛,E-mail:Fang990@people.com.cn

过敏、扩张冠状动脉、降血脂等多种药理作用[3]。近年来,其抗肿瘤作用逐渐引起人们的广泛重视[4-5],诸多研究发现,槲皮素对多种肿瘤有预防及治疗作用,能够显著抑制多种恶性肿瘤细胞的生长[6],而其对卵巢癌细胞的作用尚少见研究报道。本实验采用体外实验方法,旨在观察槲皮素对人卵巢癌 SKOV-3 细胞增殖与凋亡的影响,为其临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

人卵巢癌细胞株 SKOV-3(由西安交通大学医学院国家重点实验室提供),槲皮素(Sigma 公司,纯度 >95%),顺铂(Sigma 公司);四甲基偶氮唑盐溶液(MTT)、碘化丙啶(PI)(Sigma 公司),二甲基亚砜(DMSO)、RPMI1640 培养基(GIBCO 公司),SP 试剂盒、鼠抗人单克隆抗体(mAb)P53、BCl-2:北京中杉金桥生物技术有限公司,311 型二氧化碳恒温孵育箱(美国 Thermo 公司);流式细胞仪(美国 FACSCAN Becton Dickison),BIO-TEK Elx800 全自动酶标仪(美国宝特公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 将人卵巢癌 SKOV-3 细胞株生长于含 10% 小牛血清的 RPMI1640 + 双抗(青霉素 100 IU/ml、链霉素 100 μg/ml)培养液中,放置在 37 ℃、5% CO_2、100% 湿度的二氧化碳孵育箱中进行培养,每 1 ~ 2 天换液 1 次,每 2 ~ 3 天传代 1 次,每次实验时采用处于对数生长期的细胞。

1.2.2 实验分组 实验设有对照组(只包含生长状态良好的 SKOV-3 细胞),实验组有 5 组(分别经槲皮素终浓度为 25、50、100 μmol/L,顺铂 10 μmol/L,50 μmol/L 槲皮素 + 10 μmol/L 顺铂处理的 SKOV-3 细胞组),每组设 5 个复孔,所用的药物浓度均用无血清培养基稀释到实验用的各种浓度。另外设加培养液而不加细胞的空白孔以调零。

1.3 实验指标的检测

1.3.1 MTT 法测定细胞的生长抑制率 取对数生长期的 SKOV-3 细胞,胰蛋白酶消化、离心后用含有 10% 小牛血清的 RPMI1640 培养液制成浓度为 5×10^4/ml 的单细胞悬液,将细胞接种于 96 孔培养板内,每孔 200 μl;37.0 ℃、5% CO_2 及饱和湿度的培养箱中孵育到细胞单层铺满孔底时,将实验组中加入不同浓度的槲皮素溶液(终浓度分别为 25、50、100 μmol/L)、顺铂(10 μmol/L)及槲皮素 + 顺铂(50 μmol/L 槲皮素 + 10 μmol/L 顺铂)进行干预;对照组加入等量的培养液不加药物,继续培养分别至 24、48、72 h,每孔中加入 5 mg/ml MTT 溶液 20 μl,继续培养 4 h 后,终止培养,吸去培养液,每孔加入 150 μl DMSO,微量振荡仪低速振荡 10 min,选择 490 nm 波长,在酶联免疫检测仪上测定各孔的光密度值[D(490)];实验重复 3 次;计算生长抑制率(IR),公式为 IR = [1 - 实验组 D(490)/对照组 D(490)] × 100%。

1.3.2 流式细胞仪检测细胞周期 将对数生长期的 SKOV-3 细胞制成浓度 1×10^6/ml 的单细胞悬液,接种于 50 ml 培养瓶,置 37.0 ℃、5% CO_2 培养箱中培养 24 h;在实验组中加入上述浓度的药液进行干预,对照组不加药物,继续培养 24 h,收集细胞;PBS(pH 7.4)洗涤后,加入预冷过的 70% 乙醇 2 ml 固定,4 ℃ 储存,过夜;离心弃去固定液,PBS 液洗涤 2 遍,重悬细胞 5 min;加入 200 μl PI 混合液(含 100 μg/ml 的 PI、500 mg/L 的 RNase 酶)室温下避光孵育 30 min;PBS 液洗涤,400 目滤网过滤,1 h 内上流式细胞仪检测。实验重复 3 次。

1.3.3 流式细胞仪检测细胞凋亡 将对数生长期的 SKOV-3 细胞制成浓度 1×10^6/ml 的单细胞悬液,接种于 50 ml 培养瓶中,按上述浓度培养 24 h 后,收集细胞,用 Annexin V-FITC 和 PI 双染法做流式细胞仪染色分析检测细胞凋亡率。实验重复 3 次。

1.3.4 细胞免疫化学法检测 MtP53、Bcl-2 表达量的变化 将干燥的无菌盖玻片放入 3 个 6 孔板中,每孔加入 3 ml 含对数生长期的细胞数为 3×10^6/ml 的培养液,放入培养箱中培养 24 h 后加 0、50 μmol/L 槲皮素、10 μmol/L 顺铂以及槲皮素 50 μmol/L + 顺铂 10 μmol/L 处理 24 h,每个浓度设 3 个复孔;取出小玻片,PBS 洗 3 次 × 5 min;4% 多聚甲醛固定 30 min(4 ℃ 冰箱中);3% H_2O_2 封闭内源性过氧化物酶,室温下 10 min;PBS 洗 3 次 × 3 min;10% 动物血清封闭,室温下 10 min;甩去血清,滴加适当比例稀释的一抗放到 4 ℃ 冰箱中过夜,对照组使用 PBS 液来代替一抗;PBS 洗 3 次 × 3 min;滴加生物素化二抗工作液室温下或 37 ℃ 孵育 10 ~ 15 min;PBS 冲洗 3 次 × 3 min;滴加辣根素酶标记链霉卵白素工作液室温下或 37 ℃ 孵育 10 ~ 15 min;PBS 冲洗 3 次 × 3 min;DAB 显色剂显色;镜下观察,自来水充分冲洗终止;中性树胶封固;镜检;根据细胞质、细胞核和核仁内颜色深浅变化判断 MtP53、Bcl-2 表达量的变化。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 16.0 统计软件,数据符合正态分布并经方差齐性检验,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 槲皮素对卵巢癌细胞 SKOV-3 增殖的影响

如表 1 所示,低中高剂量组槲皮素处理 SKOV-3 细胞 24、48、72 h 后,在同一时间点不同浓度组随着用药浓度的增加,细胞增殖抑制率逐渐升高;在同一浓度下随着槲皮素作用时间的延长,细胞的增殖抑制率逐渐升高;联合组细胞的增殖抑制率随着时间的延长而增高;在同一时间内,联合组作用于 SKOV-3 细胞的增殖抑制率较单用顺铂及单用槲皮素时高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。槲皮素对 SKOV-3 细胞的增殖抑制作用呈时间-剂量依赖性,且槲皮素对顺铂有协同作用。

表 1 槲皮素处理不同时间对卵巢癌 SKOV-3 细胞增殖的影响

组别	24 h		48 h		72 h	
	D(490) ($\bar{x} \pm s$)	增殖抑制率(%)	D(490) ($\bar{x} \pm s$)	增殖抑制率(%)	D(490) ($\bar{x} \pm s$)	增殖抑制率(%)
对照组	0.796 ± 0.016	0	0.878 ± 0.007	0	0.901 ± 0.008	0
槲皮素 25 μmol/L 组	0.661 ± 0.008[a]	16.96	0.599 ± 0.037[a]	31.78	0.504 ± 0.013[a]	44.06
槲皮素 50 μmol/L 组	0.533 ± 0.009[ab]	33.04	0.477 ± 0.014[abe]	45.67	0.414 ± 0.011[abef]	54.05
槲皮素 100 μmol/L 组	0.473 ± 0.016[abc]	40.58	0.352 ± 0.009[abce]	59.95	0.329 ± 0.012[abce]	63.49
顺铂 10 μmol/L 组	0.467 ± 0.011[ac]	42.78	0.427 ± 0.007[ace]	51.37	0.389 ± 0.017[acef]	56.83
联合组	0.356 ± 0.016[acd]	55.27	0.317 ± 0.008[acde]	63.89	0.280 ± 0.017[acdef]	68.92

a:$P < 0.05$,与对照组比较;b:$P < 0.05$,与低剂量组比较;c:$P < 0.05$,与中剂量组比较;d:$P < 0.05$,与顺铂组比较;e:$P < 0.05$,与 24 h 比较;f:$P < 0.05$,与 48 h 比较

2.2 槲皮素对卵巢癌 SKOV-3 细胞周期和凋亡的影响

如表 2 所示,不同浓度的槲皮素作用卵巢癌 SKOV-3 细胞 24 h 后,与阴性对照组比较,G_0/G_1 期细胞明显增多,而 S 期细胞则明显减少,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。各组药物干预

卵巢癌SKOV-3细胞24 h后,槲皮素低、中、高剂量组,顺铂组,联合组的凋亡率与对照组相比,差异具有统计学意义($P<0.05$),且槲皮素3组间随着浓度的增加,凋亡率逐渐增加;联合组与槲皮素单药组及顺铂组相比,凋亡率也明显增加($P<0.05$)。

表2 槲皮素对卵巢癌SKOV-3细胞周期分布及细胞凋亡的影响($\%, \bar{x}\pm s$)

组别	细胞周期			细胞早期
	G_0/G_1	S	G_2/M	凋亡率
对照组	30.68±3.13	62.46±3.11	9.61±0.52	1.65±0.68
槲皮素25 μmol/L组	37.64±3.06[a]	60.03±4.86[a]	1.27±0.68[a]	4.82±0.79[a]
槲皮素50 μmol/L组	60.23±1.69[ab]	30.91±3.65[ab]	6.43±0.57[ab]	14.08±0.88[ab]
槲皮素100 μmol/L组	73.68±3.95[abc]	24.05±2.03[abc]	0.92±0.39[ab]	29.51±1.95[abc]
顺铂10 μmol/L组	64.71±3.63[ab]	26.95±2.25[ab]	0.66±0.30[ac]	18.74±1.45[abc]
联合组	77.50±3.52[acd]	18.51±1.49[acd]	0.19±0.07[cd]	30.65±1.88[acd]

a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与低剂量组比较;c:$P<0.05$,与中剂量组比较;d:$P<0.05$,与顺铂组比较

2.3 槲皮素对卵巢癌SKOV-3细胞MtP53及Bcl-2表达的影响

如表3所示,槲皮素中剂量组及联合组作用于卵巢癌SKOV-3细胞24 h后,突变P53及Bcl-2的表达水平明显下降,与阴性对照组相比,差异有统计学意义($P<0.05$);联合组与槲皮素中剂量组及顺铂组相比,差异亦具有统计学意义($P<0.05$)。

表3 槲皮素对卵巢癌SKOV-3细胞内MtP53、Bcl-2蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	MtP53	Bcl-2
对照组	0.477±0.016	0.616±0.245
槲皮素50 μmol/L组	0.236±0.007[a]	0.317±0.024[a]
顺铂10 μmol/L组	0.205±0.009[ab]	0.269±0.032[ac]
联合组	0.108±0.007[abd]	0.173±0.024[abd]

a:$P<0.01$,与对照组比较;b:$P<0.01$,c:$P<0.05$,与槲皮素组比较;d:$P<0.01$,与顺铂组比较

3 讨论

槲皮素是一种天然黄酮类化合物,毒性小、资源丰富易得,且具有很强的生物学活性和多种药理作用。近年来,其抗肿瘤作用逐渐为人们所认识并引起了广泛重视。诸多研究发现,槲皮素对许多肿瘤具有预防及治疗作用,可显著抑制多种恶性肿瘤细胞的生长。Parka等[7]研究发现槲皮素可通过β-catenin通路抑制结肠癌细胞增殖。罗进勇等[8]报道槲皮素可呈时间-剂量依赖性地抑制人肺腺癌A549细胞增殖,作用机制可能是其能够上调促凋亡蛋白P53的表达和下调凋亡抑制蛋白Bcl-2的表达;Vidya-Priyadarsini等[9]研究发现槲皮素可通过作用细胞周期来抑制细胞增殖,同时诱导P53及抑制NF-kappa B促进宫颈癌细胞凋亡。Chien等[10]发现槲皮素可通过Caspase-3途径诱导乳腺癌细胞凋亡。而其在卵巢癌中的研究尚少见报道。

本实验体外培养卵巢癌SKOV-3细胞,采用不同剂量槲皮素并联合顺铂进行干预。结果显示槲皮素在25~100 μmol/L浓度间,对SKOV-3细胞的生长具有明显抑制作用,且随着干预剂量的增加以及干预时间的延长,抑制效应明显增强,在72 h后,100 μmol/L槲皮素的增殖抑制率高达63.49%,高于10 μmol/L的顺铂干预效果,两者联合应用可明显增强抑癌效应。进一步细胞周期的检测中,我们发现随着槲皮素浓度的增加,S期细胞比例逐渐减低,G_1期逐渐增高,表明槲皮素可能使SKOV-3细胞发生G_1期阻滞,使细胞停滞于DNA合成前期,阻止受损基因被复制,使细胞无法进入下一个周期,不能进行分裂增殖,从而抑制肿瘤生长。因此,我们推断,槲皮素是通过将细胞周期阻滞于G_1期而达到抑制癌细胞增长的,这与Jeong等[11]的研究结果一致。

除了对卵巢细胞增殖的影响,Annexin V-FITC和PI双染法鉴别早期凋亡细胞实验中,发现随着槲皮素浓度的增加,SKOV-3细胞的凋亡呈现增强的趋势,两药联合作用24 h后凋亡率也显著高于两药单独处理。研究表明,肿瘤的发生发展很大程度上是细胞增殖和凋亡失衡所致,而细胞凋亡异常是造成无数恶性肿瘤发病的主要原因之一。凋亡的发生是一个复杂的多种基因调控的过程,其中P53[12]和Bcl-2[13]是2个经典的参与细胞凋亡的蛋白,且与卵巢癌发生发展关系密切[14]。研究表明,槲皮素可通过下调Bcl-2和突变P53的表达来诱导肺癌、宫颈癌、乳腺癌细胞的凋亡,本实验通过细胞免疫化学实验发现,槲皮素作用24 h后,槲皮素组与对照组相比、联合组与单用顺铂或者单用槲皮素组及对照组相比,MtP53和Bcl-2的表达均有一定程度的降低,这与Shen等[15]报道一致,这也许是槲皮素诱导SKOV-3细胞凋亡及增加顺铂对SKOV-3细胞敏感性的原因之一。

综上所述,本研究发现植物药槲皮素在体外可以通过干预细胞周期来抑制细胞增殖,同时通过逆转P53突变、下调Bcl-2表达来诱导SKOV-3细胞凋亡。表明槲皮素作为一种分布广、价格低廉的天然药物在体外具备一定的抗卵巢癌活性,且联合顺铂可起到协同抗癌的作用。但槲皮素体内抗癌活性如何,对卵巢癌转移是否有抑制作用,对机体免疫有无影响,其抗癌作用的具体机理如何,更重要的是,槲皮素体内应用是否安全,这些问题都需要以后不断深入的研究。

参考文献:

[1] McGuire W P, Hoskins W J, Brady M F, *et al*. Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage Ⅲ and stage Ⅳ ovarian cancer[J]. N Engl J Med, 1996, 334(1): 1-6.

[2] Ozols R F, Bundy B N, Greer B E, *et al*. Phase Ⅲ trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage Ⅲ ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study[J]. J Clin Oncol, 2003, 21(17): 3194-3200.

[3] Middleton E Jr, Kandaswami C, Theoharides T C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer[J]. Pharmacol Rev, 2000, 52(4): 673-751.

[4] Reiterer G, Toborek M, Hennig B. Quercetin protects against linoleic

acid-induced porcine endothelial cell dysfunction[J]. J Nutr, 2004, 134(4): 771-775.
[5] Kang T B, Liang N C. Studies on the inhibitory effects of quercetin on the growth of Hl-60 Leukemia cells[J]. Biochem Pharmacol, 1997, 54(9): 1013-1018.
[6] Robaszkiewica A, Balcerczyk A, Bartosz G. Antioxidative and prooxidative effects of quercetin on A549 cells[J]. Cell Biol Int, 2007, 31(10): 1245-1250.
[7] Park C H, Chang J Y, Hahm E R, *et al*. Quercetin, a potent inhibitor against beta-catenin/Tcf signaling in SW480 colon cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 328(1): 227-234.
[8] 罗进勇, 李林, 尹一兵. 槲皮素对人肺腺癌A549细胞增殖和凋亡的影响[J]. 重庆医学, 2005, 34(4): 551-552.
[9] Vidya-Priyadarsini R, Senthil-Murugan R, Maitreyi S, *et al*. The flavonoid quercetin induces cell cycle arrest and mitochondria-mediated apoptosis in human cervical cancer (HeLa) cells through p53 induction and NF-kappaB inhibition[J]. Eur J Pharmacol, 2010, 649(1/3): 84-91.
[10] Chien S Y, Wu Y C, Chung J G, *et al*. Quercetin-induced apoptosis acts through mitochondrial- and caspase-3-dependent pathways in human breast cancer MDA-MB-231 cells[J]. Hum Exp Toxicol, 2009, 28(8): 493-503.
[11] Jeong J H, An J Y, Kwon Y T, *et al*. Effects of low dose quercetin: cancer cell-specific inhibition of cell cycle progression[J]. J Cell Biochem, 2009, 106(1): 73-82.
[12] Otsuka J, Okuda T, Sekizawa A, *et al*. Detection of p53 mutations in the plasma DNA of patients with ovarian cancer[J]. Int J Gynecol Cancer, 2004, 14(3): 459-464.
[13] Jin L F, Chen T Y. Proteinum Family of Bcl-2 gene and apoptosis[J]. Med Recapitul, 2005, 11(5): 446-447.
[14] 王英芳. 上皮性卵巢癌组织中P53和Survivin蛋白的表达[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2007, 42(5): 935-937.
[15] Shen S C, Chen Y C, Hsu F L, *et al*. Differential apoptosis-inducing effect of quercetin and its glycosides in human promyeloleukemic Hl-60 cells by alternative activation of the caspase 3 cascade[J]. J Cell Biochem, 2003, 89(5): 1044-1055.

(**收稿**:2011-02-17;**修回**:2011-03-06)
(编辑 汪勤俭)

文章编号:1000-5404(2011)15-1609-01

经验交流

经十二指肠镜治疗小儿先天性胆总管末端囊肿3例

闫 勇,田伏洲,汪 涛,汤礼军,戴睿武,王 华,叶明辉 (610083 成都,成都军区总医院肝胆科)

[**关键词**] 先天性胆总管末端囊肿;十二指肠镜;手术;疗效
[**中图法分类号**] R726.574 [**文献标志码**] B

胆总管囊肿又称先天性胆总管扩张症,好发于婴幼儿,男女比为1:4~5,治疗以手术切除囊肿加胆肠吻合术为首选[1]。胆总管末端囊肿发生率较少,手术难度大。本研究报告我科自2005年以来收治3例胆总管末端囊肿患儿,经十二指肠镜直视下切开囊肿内引流治疗,效果好。现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

患儿中男性1例,女性2例,年龄分别为6、9、10岁,主要症状上腹部疼痛,伴恶心呕吐,2例初次发病,另1例发作4次,病程6个月。入院诊断:胆总管囊肿。

影像及检查:仅1例巩膜黄染、总胆红素为52.4 mmol/L,其余肝肾功能指标均正常,血常规正常。3例患儿均经B超、CT和MRCP检查,发现胆总管下端囊样扩张,大小1.2~4.6 cm,肝内胆管无异常,胰管无异常(图1)。十二指肠镜检查发现十二指肠乳头正常,乳头旁黏膜半圆型向腔内凸起,占据肠腔1/3~1/2,黏膜表面光滑、色泽红润(图2)。

诊断:上腹疼痛反复发作,B超、CT和MRCP均发现胆总管下端囊样扩张,排除胰腺炎,十二指肠镜检查未发现溃疡,发现十二指肠降乳头旁黏膜半圆型向腔内凸起。

1.2 治疗

本组3例使用Pentax公司的ED-3440T纤维十二指肠镜,



图1 小儿先天性胆总管末端囊肿患儿MRCP表现



图2 小儿先天性胆总管末端囊肿患儿十二指肠镜观察

患者左侧卧位,十二指肠镜进入十二指肠降段可见凸向肠腔内组织,于凸起中央部位穿刺抽出胆汁,确认凸出组织是囊状扩张之胆管,用Olympus公司的一次性三腔乳头切开刀沿穿刺点上下纵向切开胆管壁约1.0 cm,见胆汁涌出,切缘电凝止血,囊肿内壁取活检,内壁逐一针刀烧灼囊壁,沿切口上缘找到胆管开口并插入三腔导管,注入造影剂,显示肝内外胆管无异常,胆管囊肿消失,胆管下端排空通畅,拔出三腔导管。检查囊肿切口无出血,退出十二指肠镜。患儿禁食48 h,抗生素使用3 d,48 h后进流食。1周后复查B超和MRCP。

2 结果

3例无出血、胰腺炎和其他不适。活检病理报告:未见肿瘤细胞。1周后B超、MRCP显示原胆管末端囊肿消失,肝内外胆管、胰管无异常,治愈出院。随访时间分别为半年、3年和5年,

(下转1614页)

[**通信作者**] 闫 勇,E-mail:yanyong1961@gmail.com