论著

文章编号:1000-5404(2011)15-1610-05

丹参素对PDGF-BB刺激下肝星状细胞的抑制作用

吴琳琳,戴立里,唐 静 (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院消化内科)

[摘要] **目的** 观察丹参素对PDGF-BB刺激下大鼠肝星状细胞活化增殖,Ⅰ、Ⅲ型胶原合成与分泌,ERK1/2和PI3K通道蛋白表达的影响,探讨丹参素抑制肝纤维化的分子机制。**方法** 用不同浓度丹参素(0.250、0.125、0.062 mmol/L)、ERK通道特异性抑制剂UO126(20 nmol/L)和PI3K通道特异性抑制剂LY294002(20 nmol/L)分别作用于经血小板衍生生长因子PDGF-BB(10 ng/ml)处理的大鼠肝星状细胞(HSC)48 h,CCK8法检测HSC增殖活性,免疫化学染色法测定Ⅰ、Ⅲ型胶原合成,酶联免疫吸附法观察Ⅰ、Ⅲ型胶原分泌,Western blot测定ERK1/2、p-ERK1/2、AKT和p-AKT蛋白表达。**结果** PDGF-BB 10 ng/ml处理后,HSC增殖明显增加(0.139±0.009),丹参素能抑制PDGF-BB刺激大鼠HSC增殖的作用,并随丹参素浓度增加(0.062、0.125、0.250 mmol/L)细胞增殖受到的抑制作用越强(0.102±0.008、0.083±0.007、0.066±0.014,$P<0.05$),Ⅰ、Ⅲ型胶原合成及分泌均显著减少($P<0.05$),p-ERK1/2和p-AKT蛋白表达均显著降低($P<0.05$)。**结论** 丹参素可通过抑制PDGF-BB诱导的HSC增殖和活化,同时抑制与肝纤维化密切相关的MAPK、PI3K途径中ERK、AKT蛋白的磷酸化,负性调控肝纤维化过程,其机制可能与抑制ERK1/2和PI3K信号转导通路有关。

[关键词] 丹参素;肝星状细胞;血小板衍生生长因子-BB;胶原

[中图法分类号] R285.5; R322.47; R329.28 [文献标志码] A

Salvianic acid A (Danshensu) inhibits proliferation and activation in rat hepatic stellate cells induced by platelet derived growth factor-BB

Guo Linlin, Dai Lili, Tang Jing (Department of Gastroenterology, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the inhibitory role of salvianic acid A (Danshensu) in the proliferation, collagen type Ⅰ and Ⅲ synthesis and secretion, and ERK1/2 and PI3K expression in rat hepatic stellate cells (HSCs) stimulated by platelet derived growth factor-BB (PDGF-BB). **Methods** After rat HSCs were isolated and primarily cultured, they were treated with Danshensu at different concentration (0.250, 0.125, and 0.062 mmol/L), a potent tyrosine kinase inhibitor UO126 (20 nmol/L), or PI3K channel specific inhibitor LY294002 (20 nmol/L) for 1 h. After which, 10 ng/ml PDGF-BB was added into the culture medium. After 48 h treatment, cell proliferation was evaluated by cell counting Kit-8. Synthesis and secretion of collagen Ⅰ and Ⅲ were detected by quantitative immunocytochemical assay and ELISA respectively. Expression of ERK1/2, p-ERK1/2, AKT and p-AKT in the cells was detected by Western blotting. **Results** After treated by PDGF-BB, the proliferation of HSCs was significant increased. Danshensu inhibited proliferation in HSC stimulated by PDGF-BB in a dose-dependent manner($P<0.05$). Danshensu treatment resulted in significant decrease of synthesis and secretion of collagen Ⅰ and Ⅲ, and so did expression of p-ERK1/2 and p-AKT were decreased significantly($P<0.05$). **Conclusion** Danshensu inhibits proliferation and activation of HSCs possibly by suppressing ERK1/2 and PI3K signal transduction pathway, which are involved in hepatic fibrosis.

[**Key words**] Danshensu; hepatic stellate cells; platelet derived growth factor-BB; collagen

Corresponding author: Dai Lili, E-mail: dli@cqums.edu.cn

丹参素是丹参的水溶性有效成分。研究证明丹参素能够有效抑制肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化增殖和胶原的表达,改善实验动物的纤维化程度,但丹参素抑制肝纤维化有多途径、多环节、多靶点的作用特点[1-2]。血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor-BB, PDGF-BB)是促进HSC增殖的丝裂原,通过激活HSC细胞外信号调节激酶1/2(extracellularsignal-regulated kinase 1/2, ERK1/2)和磷

[通信作者] 戴立里,E-mail:dli@cqums.edu.cn

脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K),促使HSC增殖、胶原表达增加[3-4]。UO126和LY294002分别是ERK1/2和PI3K信号通路的特异性抑制剂,能够有效拮抗PDGF-BB的促纤维化效应。本研究观察丹参素对PDGF-BB刺激大鼠肝星状细胞的增殖活化的抑制作用以及ERK1/2和PI3K通路表达变化,深入了解丹参素抗肝纤维化作用的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

Wistar大鼠350~450 g(购于第三军医大学实验动物中心),抗ERK1/2、p-ERK1/2、AKT和p-AKT抗体(美国Santa Cruz公司),PDGF-BB(美国PeproTech公司),抗大鼠Ⅰ、Ⅲ型胶原ELISA试剂盒(美国R&D公司),CCK-8试剂盒、UO126和LY294002(江苏碧云天),抗α-SMA,抗Ⅰ、Ⅲ型胶原抗体(武汉博士德),丹参素(四川省药品检验所)。

1.2 方法

1.2.1 大鼠HSC的分离、培养、鉴定 参照王文兵等[5]的方法,用抗α-SMA免疫细胞化学染色对活化的HSC进行鉴定。

1.2.2 药物浓度的选择、分组及预处理 选取传3代的HSC,根据预实验丹参素浓度(0.032、0.062、0.125、0.250、0.5、1.0 mmol/L)作用于HSC后24 h和48 h,得到丹参素抑制肝星状细胞的IC_{50}分别为0.403 mmol/L和0.386 mmol/L,故实验选用不大于2/3 IC_{50}浓度的丹参素即0.062、0.125、0.250 mmol/L。实验分空白对照组,PDGF-BB刺激组(终浓度为10 ng/ml的大鼠重组PDGF-BB),PDGF-BB+丹参素联合处理组(按终浓度0.062、0.125、0.250 mmol/L分别加入丹参素工作液,1 h后加入终浓度为10 ng/ml的PDGF-BB),PDGF-BB+UO126处理组(加入终浓度为20 nmol/L的UO126,1 h后加入终浓度为10 ng/ml的PDGF-BB),PDGF-BB+LY294002处理组(加入终浓度为20 nmol/L的LY294002,1 h后加入终浓度为10 ng/ml的PDGF-BB),PDGF-BB+双阻断剂组(分别加入终浓度为20 nmol/L的UO126和LY294002,1 h后加入终浓度为10 ng/ml的PDGF-BB)。

1.2.3 丹参素对PDGF-BB刺激肝星状细胞增殖的影响 HSC按1×10^5/孔接种于96孔板,生长至70%融合度时同步化处理,按实验分组,分别加入各处理因素作用48 h,各组置6复孔,加入CCK-8共同培养2 h后用酶标仪在450 nm波长测定光密度值[$D(450)$]。

1.2.4 丹参素对PDGF-BB刺激肝星状细胞Ⅰ、Ⅲ型胶原合成的影响 HSC接种于24孔板(已爬片),生长至70%融合度时同步化处理,实验分组同1.2.2,加入处理因素作用24 h,各组6复孔。用免疫细胞化学染色法测定Ⅰ、Ⅲ型胶原的合成。

1.2.5 丹参素对PDGF-BB刺激肝星状细胞Ⅰ、Ⅲ型胶原分泌的影响 实验分组同1.2.2,各细胞组加入处理因素作用24 h取上清液,各组设6复孔,用酶联免疫吸附法(ELISA)测定各组Ⅰ、Ⅲ型胶原的分泌。

1.2.6 丹参素对PDGF-BB刺激肝星状细胞ERK1/2、p-ERK1/2、AKT和p-AKT表达的影响 实验分组同1.2.2,各细胞组加入处理因素培养15 min后立刻提取细胞蛋白进行Western blot测定。采用Santa Cruz公司方案提取细胞总蛋白。采用Quantity one图像分析软件,以β-actin作为内参对各样本蛋白进行标准化定量,蛋白表达水平以(磷酸化蛋白/β-actin)与(非磷酸化蛋白/β-actin)的平均灰度比值(相对灰度值)表示,即(p-ERK/β-actin)/(ERK/β-actin)和(p-AKT/β-actin)/(AKT/β-actin),用A和B表示。

1.3 统计学处理

数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 13.0统计软件,进行方差分析和SNK-q检验。

2 结果

2.1 细胞提取及鉴定

提取的大鼠肝星状细胞(HSC)表达α-平滑肌动蛋白(α-SMA)阳性,细胞质染色呈棕黄色,见图1。

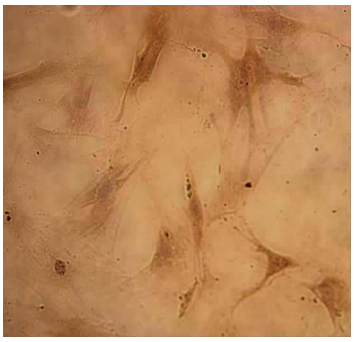


图1 α-SMA免疫化学染色阳性大鼠HSC观察 (SABC ×400)

2.2 丹参素对PDGF-BB刺激肝星状细胞增殖的影响

与空白对照组比较,PDGF-BB刺激后HSC增殖明显;丹参素、UO126和LY294002均能抑制PDGF-BB诱导的HSC增殖,随丹参素浓度增加,细胞增殖受到的抑制作用越强($P<0.01$,表1)。据此选择0.250 mmol/L丹参素作为后续实验的最佳浓度。

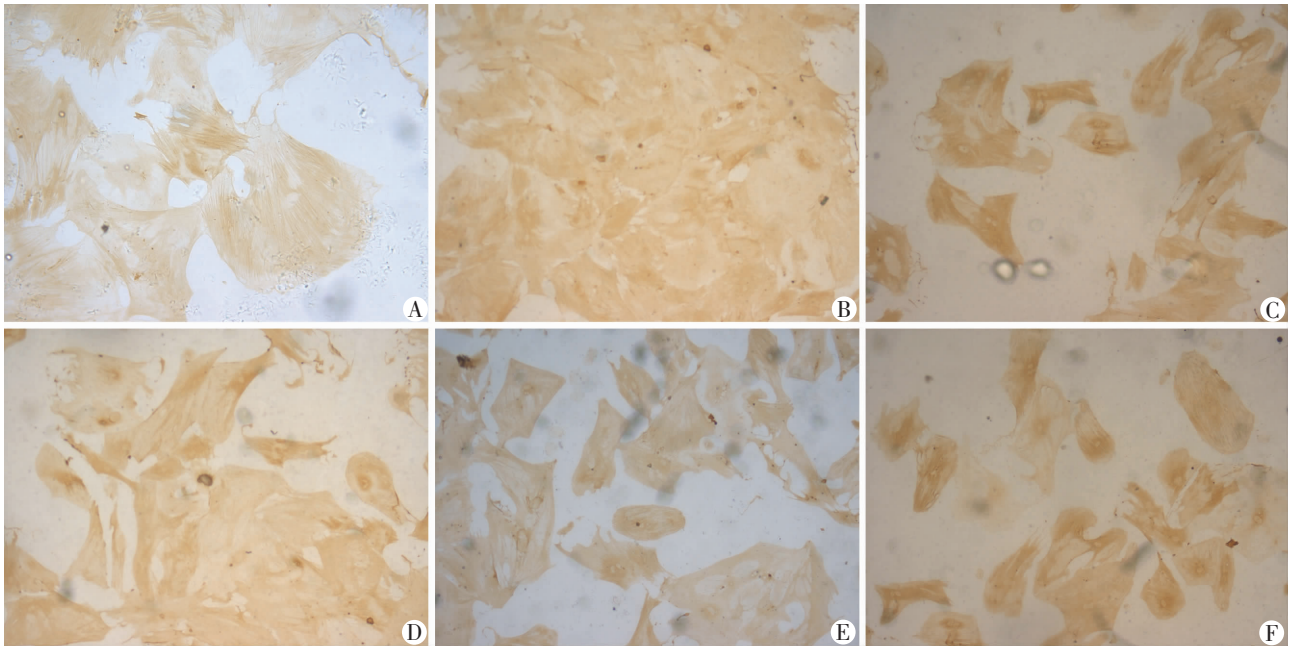
表1 丹参素对PDGF-BB刺激HSC增殖的影响($n=6,\bar{x}\pm s$)

组别	光密度值
空白对照组	0.052±0.012
PDGF-BB刺激组	0.139±0.009[a]
PDGF-BB+丹参素0.062 mmol/L组	0.102±0.008[abc]
PDGF-BB+丹参素0.125 mmol/L组	0.083±0.007[abc]
PDGF-BB+丹参素0.250 mmol/L组	0.066±0.014[ab]
PDGF-BB+UO126组	0.124±0.010[abc]
PDGF-BB+LY294002组	0.122±0.012[abc]
PDGF-BB+双阻断剂组	0.110±0.009[abc]

a:$P<0.01$,与空白对照组比较;b:$P<0.05$,与PDGF-BB刺激组比较;c:$P<0.05$,与PDGF-BB+丹参素0.250 mmol/L组比较

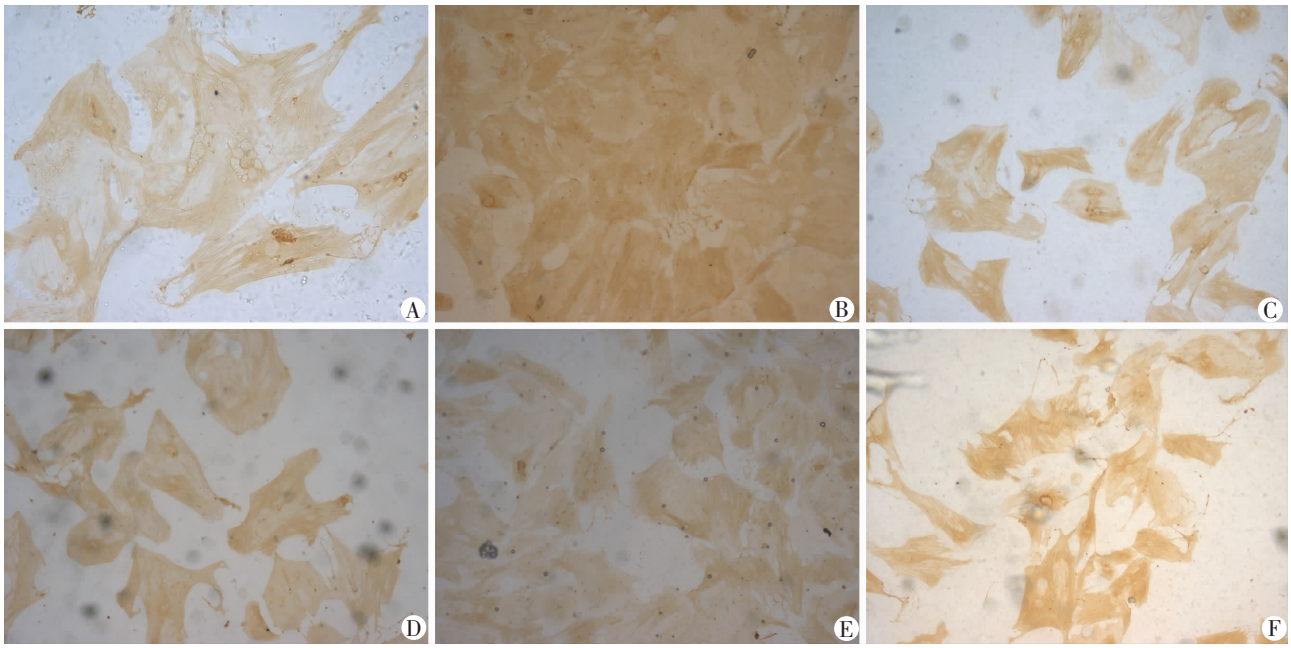
2.3 丹参素对PDGF-BB刺激肝星状细胞Ⅰ、Ⅲ型胶原合成的影响

正常传代的HSC已有较强的合成Ⅰ、Ⅲ型胶原的能力,经PDGF-BB刺激后HSC合成Ⅰ、Ⅲ型胶原明显增加($P<0.01$);丹参素、UO126和LY294002均能抑制PDGF-BB刺激的HSC合成Ⅰ、Ⅲ型胶原($P<0.05$)。见图2、3,表2。



A:空白对照组;B:PDGF-BB 刺激组;C:PDGF-BB + 丹参素组;D:PDGF-BB + UO126 组;E:PDGF-BB + LY294002 组;F:PDGF-BB + 双阻断剂组

图2 HSC Ⅰ型胶原合成免疫化学染色观察 (SABC ×400)



A:空白对照组;B:PDGF-BB 刺激组;C:PDGF-BB + 丹参素组;D:PDGF-BB + UO126 组;E:PDGF-BB + LY294002 组;F:PDGF-BB + 双阻断剂组

图3 HSC Ⅲ型胶原合成免疫化学染色观察 (SABC ×400)

表2 丹参素对 PDGF-BB 刺激 HSC 合成Ⅰ、Ⅲ型胶原的影响($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	Ⅰ型	Ⅲ型
空白对照组	0.048 ± 0.012	0.051 ± 0.009
PDGF-BB 刺激组	0.142 ± 0.009[a]	0.128 ± 0.006[a]
PDGF-BB + 丹参素 0.250 mmol/L 组	0.071 ± 0.007[ab]	0.065 ± 0.010[ab]
PDGF-BB + UO126 组	0.125 ± 0.010[abc]	0.113 ± 0.007[abc]
PDGF-BB + LY294002 组	0.122 ± 0.012[abc]	0.115 ± 0.009[abc]
PDGF-BB + 双阻断剂组	0.102 ± 0.009[abc]	0.098 ± 0.013[abc]

a:$P<0.01$,与空白对照组比较;b:$P<0.01$,与 PDGF-BB 刺激组比较;c:$P<0.05$,与 PDGF-BB + 丹参素 0.250 mmol/L 组比较

2.4 丹参素对 PDGF-BB 刺激大鼠肝星状细胞Ⅰ、Ⅲ型胶原分泌的影响

与空白对照组相比,PDGF-BB 明显刺激 HSC 分泌Ⅰ、Ⅲ型胶原蛋白($P<0.01$),而丹参素、UO126 和 LY294002 均能明显抑制细胞Ⅰ、Ⅲ型胶原蛋白的分泌($P<0.05$)。见表3。

2.5 丹参素对 PDGF-BB 刺激大鼠肝星状细胞 ERK1/2、p-ERK1/2、AKT 和 p-AKT 表达的影响

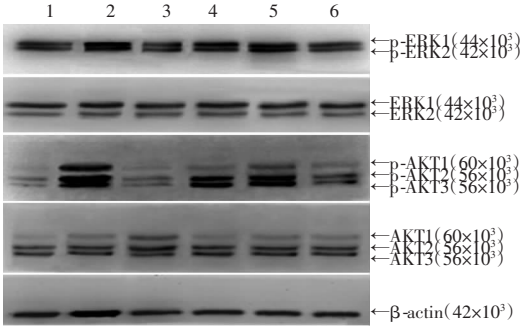
PDGF-BB 可明显刺激 HSC 中 ERK1/2 和 AKT 的磷酸化,

与空白对照组相比，磷酸化 ERK 蛋白质密度和磷酸化 AKT 蛋白质密度均显著增加（$P<0.05$），丹参素对 PDGF-BB 刺激的 HSC 内 ERK1/2 和 AKT 的磷酸化都有抑制作用（$P<0.05$）。见图 4、表 4。

表 3　丹参素对 PDGF-BB 刺激 HSC 分泌Ⅰ、Ⅲ型胶原的影响（$n=6, \bar{x}\pm s$）

组别	Ⅰ型	Ⅲ型
空白对照组	0.573 ± 0.201	0.657 ± 0.008
PDGF-BB 刺激组	1.361 ± 0.213[a]	1.096 ± 0.013[a]
PDGF-BB + 丹参素 0.25 mmol/L 组	0.687 ± 0.129[ab]	0.556 ± 0.029[ab]
PDGF-BB + UO126 组	1.116 ± 0.144[abc]	0.880 ± 0.012[abc]
PDGF-BB + LY294002 组	1.101 ± 0.156[abc]	0.910 ± 0.020[abc]
PDGF-BB + 双阻断剂组	0.900 ± 0.132[abc]	0.668 ± 0.019[abc]

a：$P<0.01$，与空白对照组比较；b：$P<0.01$，与 PDGF-BB 刺激组比较；c：$P<0.05$，与 PDGF-BB + 丹参素 0.25 mmol/L 组比较



1：对照组；2：PDGF-BB 组；3：丹参素 + PDGF-BB 组；4：UO126 + PDGF-BB 组；5：LY294002 + PDGF-BB 组；6：双阻断剂 + PDGF-BB 组

图 4　丹参素对 PDGF-BB 刺激 HSC 内 ERK1/2、p-ERK1/2、AKT 和 p-AKT 蛋白表达的影响

表 4　丹参素对 PDGF-BB 刺激 HSC 内 ERK 和 PI3K 通道的影响（$n=6, \bar{x}\pm s$）

组别	A	B
空白对照组	0.716 ± 0.067	0.659 ± 0.009
PDGF-BB 刺激组	1.499 ± 0.262[a]	1.381 ± 0.012[a]
PDGF-BB + 丹参素 0.25 mmol/L 组	0.604 ± 0.142[ab]	0.559 ± 0.024[ab]
PDGF-BB + UO126 组	1.108 ± 0.210[abc]	0.852 ± 0.012[abc]
PDGF-BB + LY294002 组	1.120 ± 0.148[abc]	0.912 ± 0.021[abc]
PDGF-BB + 双阻断剂组	0.821 ± 0.179[abc]	0.778 ± 0.019[abc]

a：$P<0.01$，与空白对照组比较；b：$P<0.01$，与 PDGF-BB 刺激组比较；c：$P<0.05$，与 PDGF-BB + 丹参素 0.25 mmol/L 组比较

3　讨论

肝星状细胞（HSC）的激活是肝纤维化发生、发展的中心环节[6]，在各类刺激因子的作用下 HSC 被激活并分泌大量细胞外基质，形成肝纤维化，故抑制肝星状细胞活化增殖和细胞外基质分泌是国内外抗肝纤维化研究关注的焦点。在肝纤维化的进程中，PDGF 发挥着促使 HSC 增殖、胶原表达增加的重要作用。PDGF 是机体重要的促分裂因子，有多种结合形式，通过与靶细胞上的受体结合而发挥生物学效应。ERK 信号通道和 PI3K 信号通道是 HSC 活化过程中非常重要的部分，PDGF-BB 正是通过激活 HSC 内的 ERK1/2 和 PI3K 信号转导通路，促使 HSC 增殖、胶原表达增加[3-4]。UO126 和 LY294002 分别是 ERK 和 PI3K 信号通道的特异性阻断剂，通过降低 ERK 蛋白和 AKT 蛋白的磷酸化来降低 HSC 活性，从而达到减轻肝纤维化的作用[3-4,7-8]。研究表明，不同浓度的 UO126 和 LY294002 均能抑制 HSC 的活化，并随着浓度增加抑制作用增强，但浓度超过 20 nmol/L 后可见核固缩和核碎裂增加，悬浮细胞增多[8-9]，故本实验选取 20 nmol/L UO126 和 LY294002 研究其对 HSC 活化的抑制作用。

实验选取丹参素的 6 个不同浓度来观察其对肝星状细胞增殖的影响，发现低于 0.062 mmol/L 浓度的丹参素组细胞增殖无明显变化，而 0.50 mmol/L 及以上浓度的丹参素组可见悬浮细胞增多，核碎裂和核固缩增加，细胞损伤严重，故选用 0.062、0.125、0.250 mmol/L 浓度做后续实验。随丹参素浓度增加，细胞的增殖受到明显抑制，据此选择 0.250 mmol/L 丹参素作为实验的最佳浓度。此前有研究表明，丹参素能够抑制 HSC 的生长，并增加其凋亡的数量[10]。本实验中，与空白对照组比较，在 PDGF-BB 刺激下 HSC 增殖能力明显提高；而丹参素、UO126 和 LY294002 处理组中 PDGF-BB 诱导的 HSC 增殖均受到不同程度的抑制，并且在丹参素的 3 个不同浓度组中，丹参素组 HSC 的增殖能力均弱于 UO126、LY294002 处理组及双阻断剂组，由此说明丹参素对 HSC 增殖的抑制作用更强。同时还发现丹参素对 PDGF-BB 诱导的 HSC 增殖的抑制作用随着丹参素浓度增加而增加。

Qiang 等[11]研究发现以 RNA 干扰技术抑制 ERK1 的表达，可引起 HSC 增殖活性降低，凋亡增加并伴随Ⅰ、Ⅲ型胶原的表达减少。乙醛诱导的 HSC 增殖、Ⅰ型胶原的表达也可被 ERK1/2 的特异性抑制剂 PD98059 所阻断[12]。实验中，正常传代的 HSC 已有较强的合成Ⅰ、Ⅲ型胶原的能力，经 PDGF-BB 刺激后 HSC 合成Ⅰ、Ⅲ型胶原明显增加；而丹参素、UO126 和 LY294002 组中Ⅰ、Ⅲ型胶原的合成相对于 PDGF-BB 刺激组明显减弱，且丹参素组中Ⅰ、Ⅲ型胶原的合成量明显小于 UO126、LY294002 处理组及双阻断剂组。在检测丹参素对 PDGF-BB 刺激 HSC 分泌Ⅰ、Ⅲ型胶原的影响时发现，相对于细胞对照组，PDGF-BB 刺激组中Ⅰ、Ⅲ型胶原的分泌量增加显著，而丹参素、UO126 和 LY294002 处理组中胶原的分泌均受到不同程度的抑制，并且丹参素组的分泌量明显小于 UO126、LY294002 处理组及双阻断剂组。由此说明丹参素对于 HSC 合成和分泌Ⅰ、Ⅲ型胶原均具有很强的抑制作用。

实验结果显示，与对照组相比，PDGF-BB 可明显刺激 HSC 中 ERK1/2 和 AKT 的磷酸化，磷酸化 ERK 蛋白质密度和磷酸化 AKT 蛋白质密度均显著增加[8]，丹参素组灰度值相对于 UO126、LY294002 处理组及双阻断剂组明显减小，由此可知丹参素对经 PDGF-BB 刺激的 HSC 内 ERK1/2 和 AKT 的磷酸化的抑制作用最强。而此前的研究也证实丹参素抑制

蛋白磷酸化作用最强[13]。

综上所述,丹参素具有较强的抑制肝星状细胞增殖及抑制其合成和分泌Ⅰ、Ⅲ型胶原的作用,且抑制能力大于同时加入双阻断剂的抑制作用。此前的研究发现丹参素对HSC发挥作用是通过多个靶点来实现的,而特异性抑制剂对人体有较强毒副作用不能用于临床,发现一种既能有效抑制HSC活化又能减少胶原的合成及分泌的临床药物就具有重要的意义,丹参素以多靶点、多途径、多环节的作用特点,在治疗肝纤维化方面有明显的优势,具有广阔的开发和应用前景。

参考文献:

[1] 郑元义, 戴立里, 王文兵, 等. 丹参素治疗肝纤维化及其作用机制研究[J]. 中华肝脏病杂志, 2003, 11(5): 288-290.

[2] 李欣, 戴立里, 张文利, 等. 四种中药单体的抗肝纤维化作用及其机制[J]. 中华肝脏病杂志, 2008, 16(3): 193-197.

[3] Bridle K R, Li L, O'Neill R, *et al*. Coordinate activation of intracellular signaling pathways by insulin-like growth factor-1 and platelet-derived growth factor in rat hepatic stellate cells[J]. J Lab Clin Med, 2006, 147(5): 234-241.

[4] Pinzani M. PDGF and signal transduction in hepatic stellate cells[J]. Front Biosci, 2002, 7: d1720-d1726.

[5] 王文兵, 戴立里, 郑元义. 改良原位循环灌流法大鼠肝星状细胞分离培养及鉴定[J]. 中华肝脏病杂志, 2004, 12(10): 629-630.

[6] Marra F, Delogu W, Petrai I, *et al*. Differential requirement of members of the MAPK family for CCL2 expression by hepatic stellate cells[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2004, 287(1): G18-G26.

[7] Wang Y, Jiang X Y, Liu L, *et al*. Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway regulates hepatic stellate cell apoptosis[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(33): 5186-5191.

[8] 李金星, 朱贤立, 李玉, 等. 大鼠弥漫性脑损伤阻滞ERK通路下调脑组织MMP-9 mRNA的表达[J]. 中国临床神经外科杂志, 2006, 11(5): 288-291.

[9] 管洪庚, 徐永峰, 兰晶. 血小板源生长因子通过P13K/AKT途径促肝星状细胞增殖与Ⅰ型胶原合成[J]. 中华实验外科杂志, 2007, 24(11): 1332-1334.

[10] 李冬, 戴立里, 余斌斌, 等. 丹参素对大鼠肝星状细胞增殖、凋亡及NF-κB活性的影响[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(8): 724-728.

[11] Qiang H, Lin Y, Zhang X, *et al*. Differential expression genes analyzed by cDNA array in the regulation of rat hepatic fibrogenesis [J]. Liver Int, 2006, 26(9): 1126-1137.

[12] 解方为, 蒋明德, 欧阳学农, 等. 阻断细胞外信号调节激酶活性对乙醛刺激的大鼠肝星状细胞功能的影响[J]. 中华肝脏病杂志, 2006, 14(5): 386-387.

[13] Lv Z, Song Y, Xue D, *et al*. Effect of salvianolic-acid B on inhibiting MAPK signaling induced by transforming growth factor-β1 in activated rat hepatic stellate cells[J]. J Ethnopharmacol, 2010, 132(2): 384-392.

(**收稿**:2011-01-25;**修回**:2011-03-18)

(编辑 龙 亮)

(上接1609页)

随访方法是复查B超、CT和MRCP,结果显示肝内外胆管、胰管均无异常,无腹痛症状,日常生活正常。

3 讨论

胆管囊肿发病原因尚不清楚,多为先天性[1]。研究认为可能与以下因素有关:①先天性胆胰管汇合部异常致胰液反流入胆管,造成胆管炎症和黏膜破坏,胆管内压力增高,管壁逐渐向外扩张,形成胆管囊肿。②胚胎发育时,由于胆管细胞增殖速度不一致,胆管管化时远端管化不完全、狭窄,近端扩张形成囊肿。③胆道的神经发育不良,发现胆总管囊状扩张其远端胆管壁明显缺乏神经节细胞。根据囊肿发生的部位不同分为5型。本组病例为Ⅲ型胆管囊肿,较少见,樊献军等[2]报道52例胆管囊肿仅1例为Ⅲ型。研究发现,先天性胆管囊肿有癌变趋向,发生率为16.2%,与年龄和病程密切关系。所以囊肿切除,胆管-空肠Roux-en-y吻合术被许多学者认为是治疗先天性胆管囊肿的最佳方式,尤其是Ⅰ型和Ⅳ型胆管囊肿[3]。

由于Ⅲ型胆总管囊肿发生的部位靠近胆胰汇合部,切除囊肿难度大,极易损伤胰管,有学者提出行胰十二指肠切除。但术后易发生胆管狭窄、胰瘘、胰腺炎等严重并发症[4],特别是患儿做大创伤手术的利弊值得评价。鉴于上述原因,我们对3例确诊凸向十二指肠腔内的胆总管末端囊肿,采用内镜直视下切开囊壁全层,达到内引流的目的。该方法未切除囊肿,有囊壁癌变的潜在危险,但我们认为:①患儿年龄小、癌变率极低。胆管囊肿上皮癌变与年龄和病程密切相关,年龄越大,病程越长,癌变率越高,反之,癌变率越小。刘全述等[5]报道185例先天性胆管囊肿,各年龄段癌变分别为0~9岁为0%,10~19岁为5.1%,20~29岁为9.1%,30~39岁为16.2%,40~49岁为26.7%,50~59岁为33.3%,≥60岁为50%。②损伤小、操作简单、时间短。该方法在纤维十二指肠镜直视下完成,患者无需全麻和开腹手术,10~20 min完成操作,机体损伤小,恢复快。③囊肿内壁防癌变处理。电凝烧灼能直接破坏囊肿内壁上皮细胞、降低癌变率。研究报道,胆管囊肿的癌变与胰液反流、胆汁淤积、反复胆管炎及次级胆酸作用有关[6]。凸向十二指肠肠腔内囊肿切开后,上述异常都得到改善,癌变率也将大大缩小。本组病理报告未见肿瘤细胞。④并发症少,疗效好。本组3例未发生出血、漏胆、感染或十二指肠穿孔等并发症,全部治愈出院。随访半年至5年未发现异常和胆管癌变迹象,临床疗效好。但本组病例少、随访时间不长,对胆总管末端囊肿的治疗方法还需进一步探讨。

参考文献:

[1] 张军. 先天性胆总管囊肿诊治进展[J]. 肝胆外科杂志, 2007, 15(6): 477-478.

[2] 樊献军, 耿协强, 陈辉, 等. 不同类型胆管囊肿的手术治疗[J]. 中国普通外科杂志, 2004, 13(7): 489-491.

[3] Aspelund G, Ling S C, Ng V, *et al*. A role for laparoscopic approach in the treatment of biliary atresia and choledochal cysts [J]. J Pediatr Surg, 2007, 42(5): 869-872.

[4] 宋军民, 邢宝才. 胰腺手术后出血危险因素分析: 附236例报告[J]. 中国实用外科杂志, 2010, 30(2): 108-110, 121.

[5] 刘全述、周宁新、黄志强, 等. 先天性胆管囊肿癌变的诊断与治疗[J]. 中华外科杂志, 2005, 43(13): 839-841.

[6] 闫勇, 蔡忠红, 田伏洲, 等. 胰胆管合流异常致胆总管扩张症的诊断治疗[J]. 中华肝胆外科杂志, 2005, 11(5): 302-303.

(**收稿**:2011-02-12;**修回**:2011-03-11)

(编辑 王 红)