论著

文章编号:1000-5404(2011)23-2490-05

重组人内皮抑素对人肝癌细胞SMMC-7721增殖及凋亡的影响

宋立文,王洪林,刘 波 (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院肝胆外科)

[摘要] **目的** 初步研究Wnt通路在重组人血管内皮抑素(rh-Endostatin, ES)诱导人肝癌细胞SMMC-7721增殖、凋亡过程中的作用及可能机制。**方法** 分别以50、100、200、400 μg/ml ES体外处理人肝癌细胞株SMMC-7721,利用MTT比色法检测不同浓度、时间ES作用下的细胞增殖状态;利用流式细胞仪检测细胞周期及凋亡;Western blot检测β连环蛋白(β-catenin)、糖原合酶激酶3β(GSK-3β)表达;应用RT-PCR检测Wnt信号通路下游基因survivin及cyclin D1 mRNA表达情况。**结果** 不同浓度的ES对人肝癌细胞SMMC-7721具有不同程度的生长抑制作用,且存在时间剂量效应,ES作用48 h和72 h后,SMCC-7721细胞抑制率分别为(10.45±0.73)%和(21.81±0.55)%(50 μg/ml);(15.42±1.91)%和(27.81±0.92)%(100 μg/ml);(23.64±0.43)%和(31.07±0.13)%(200 μg/ml);(28.88±0.63)%和(43.76±0.55)%(400 μg/ml)。与24 h各浓度组相比差异有统计学意义($P=0.000$)。各浓度ES处理后,SMMC-7721细胞G_1期细胞比例与对照组比较差异有统计学意义($P=0.00$);SMMC-7721细胞经ES作用72 h后,随ES浓度升高,细胞凋亡率增加,与对照组相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。ES能显著降低细胞β-catenin蛋白表达($P=0.000$),但对GSK-3β蛋白表达无明显影响。ES能下调Wnt信号通路下游转录因子survivin及cyclin D1 mRNA水平。**结论** ES通过促进β-catenin蛋白降解,降低Wnt信号通路下游癌基因survivin及cyclin D1 mRNA的转录,从而抑制SMMC-7721细胞增殖,并诱导细胞凋亡。ES抑制增殖、诱导凋亡的作用与GSK-3β蛋白表达无关。

[关键词] 重组人血管内皮抑素;增殖及凋亡;Wnt信号通路;人肝癌细胞SMMC-7721
[中图法分类号] R73-362; R730.23; R735.7 [文献标志码] A

Effect of rh-endostatin on proliferation and apoptosis in hepatocellular carcinoma cell SMMC-7721

Song Liwen, Wang Honglin, Liu Bo (Department of Hepatobiliary Surgery, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of Wnt signal pathway on proliferation and apoptosis of rh-endostatin (ES) induced hepatocellular carcinoma cell SMMC-7721 and the possible mechanism. **Methods** Hepatocellular carcinoma cell SMMC-7721 was treated with different concentrations of rh-endostatin (50, 100, 200 and 400 μg/ml, respectively) *in vitro*. MTT assay was used to detect cell proliferation in ES treatment at different concentrations and different time intervals. Flow cytometry was used to detect effect of ES on cell cycle and apoptosis. Protein contents of β-catenin and glycogen synthase kinase-3β (GSK-3β) were determined by Western blotting. mRNA expressions of Wnt signaling pathway downstream genes survivin and cyclin D1 were determined by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** ES significantly inhibited the growth of SMMC-7721 cells in a time and dose dependent manner. After ES treatment for 48 and 72 h, the inhibition rates of SMCC-7721 cell were (10.45±0.73)% and (21.81±0.55)% (50 μg/ml), (15.42±1.91)% and (27.81±0.92)% (100 μg/ml), (23.64±0.43)% and (31.07±0.13)% (200 μg/ml) and (28.88±0.63)% and (43.76±0.55)% (400 μg/ml), respectively, which were significantly different from that of 24 h treatment ($P=0.000$). The proportion of SMMC-7721 cells arrested in G_1 phase after ES treatment was significantly different from that of the control ($P=0.000$). After ES treatment for 72 h, SMMC-7721 cell apoptosis rate increased in a dose dependent manner and was significantly different from that of the control ($P<0.05$). Western blotting showed that protein expression of β-catenin in SMMC-7721 cells was significantly inhibited by ES, but GSK-3β protein expression was not affected. mRNA expressions of Wnt signal pathway downstream genes survivin and cyclin D1 decreased after ES treatment. **Conclusion** ES can inhibit proliferation and induce apoptosis in hepatocellular carcinoma cell SMMC-

[通信作者] 王洪林,电话:(023)89011015

7721 by inhibiting protein expression of β-catenin and mRNA expressions of survivin and cyclin D1. The inhibitory effect of ES on cell proliferation and apoptosis is not related to protein expression of GSK-3β.

[**Key words**] rh-Endostatin; proliferation and apoptosis; Wnt signal pathway; hepatocellular carcinoma cell SMMC-7721

Corresponding author: Wang Honglin, Tel: 86-23-89011015

重组人内皮抑素(rh-Endostatin, ES)是一种特异的内皮细胞增殖抑制剂,具有很强的血管生成抑制作用。体外实验中发现重组人内皮抑素能够诱导内皮细胞凋亡,并抑制内皮细胞迁移;体内研究表明内皮抑素通过抑制肿瘤表面血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)的表达,多靶点抑制血管内皮细胞的生长,从而导肿瘤的休眠或退缩[1]。ES 通过抑制血管内皮细胞达到抗肿瘤作用的机制已被广泛证实[2]。近年来,实验表明重组人内皮抑素(rhES)不仅对血管内皮细胞有抑制作用,对多种肿瘤同样具有诱导凋亡,抑制增殖的作用。人肝癌细胞 SMMC-7721 具有较高增殖能力,本实验利用流式细胞术,RT-PCR 及 Western blot 检测 ES 对肝癌细胞株 SMMC-7721 增殖、细胞周期及凋亡的影响,并探讨其可能的作用机制,为肝癌的化疗提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

SMMC-7721 人肝癌细胞株购自中国科学院上海细胞生物学研究所。重组人血管内皮抑素注射液(rh-Endostatin, ES)15 mg/3 ml 每支,购于山东先声麦得津生物制药有限公司。鼠抗人 β-catenin 及 GSK-3β 单克隆抗体及 HRP 标记的第二抗体(羊抗鼠 IgG)购自 Santa Cruz Technology。ECL 发光试剂购自 Pierce 公司。RT-PCR 试剂盒购自 TaKaRa 公司,PCR 引物由上海生工合成。噻唑蓝(MTT)、二甲基亚砜(DMSO)、碘化丙啶(PI)购自上海生工公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及处理 SMMC-7721 细胞接种于 50 ml 培养瓶,培养液为含 10% 胎牛血清的 RPMI1640,置于 37 ℃、5% CO_2、饱和湿度细胞培养箱中培养,0.25% 胰蛋白酶(含 0.02% EDTA)消化传代,倒置显微镜下观察细胞的生长状态。取对数生长期细胞进行实验。

1.2.2 MTT 法检测细胞增殖 将处于对数生长期的 SMMC-7721 细胞以 0.25% 胰酶消化,细胞计数,用细胞培养基稀释单细胞悬液至所需细胞浓度 1×10^4/孔,每孔 100 μl,接种于 96 孔细胞培养板,根据文献进行药品稀释[3],按终浓度将 50、100、200、400 μg/ml 人血管内皮抑素(ES)加入各孔,同时设空白对照组、溶剂对照组和调零孔,每组设重复孔 6 孔。37 ℃、5% CO_2 细胞培养箱内培养,分别作用 24、48、72 h,除去培养基,加入现配置噻唑蓝(MTT,10 μl/孔),37 ℃、5% CO_2 培养 4 h,吸出 MTT,加入二甲基亚砜(DMSO,120 μl/孔),微孔板振荡器振荡 10 min,570 nm 波长酶标仪下测光密度值。实验重复 3 次。分别计算 ES 对 SMMC-7721 的 24、48、72 h 增殖抑制率。

增殖抑制率 = (1 − 实验组平均光密度值/对照组平均光密度值) × 100%。

1.2.3 流式细胞仪检测细胞周期 取对数生长期的 SMMC-7721 细胞,以浓度 1×10^6/ml 接种于 6 孔板,每孔 1 ml,37 ℃、5% CO_2 培养过夜。按终浓度分别为 50、100、200、400 μg/ml 加入样品,同时设立对照组。37 ℃、5% CO_2 继续培养 24 h,胰酶消化,PBS 洗涤 2 次,1 000 r/min 离心 5 min 收集细胞,70% 乙醇 4 ℃ 固定过夜,加入 RNAase A 3 μl 至终浓度 50 μg/ml,37 ℃ 恒温水浴 1 h,碘化丙啶(PI)避光染色,流式细胞仪测定细胞周期变化。实验重复 3 次。

1.2.4 流式细胞术测定细胞凋亡 细胞处理及分组同细胞周期检测实验。细胞培养 72 h 后收集细胞,将细胞悬浮于 500 ml 的 BindingBuffer 中,加入 FITC 标记的 Annexin2V (20 μg/ml) 5 μl 以及 PI 染液(50 μg/ml)10 μl,轻轻混匀;室温、避光、孵育 10 min。在 1 h 内,进行流式细胞仪检测。实验重复 3 次。

1.2.5 Western blot 检测 取 ES 处理前及 72 h 后的 SMMC-7721 细胞,用 1 × SDS 裂解,提取细胞总蛋白,BCA (Pierce)法进行蛋白定量,取等量蛋白(50 μg),经 SDS-PAGE 电泳分离,将蛋白转移到 PVDF 膜上。5% 脱脂奶粉(TBS,0.1% Tween-20)封闭 1 h,分别加入 β-catenin、GSK3β 单克隆抗体(1∶500)。4 ℃过夜,1 × TBST(0.1% Tween-20,TBS)漂洗 3 次,10 min/次;分别加 HRP 标记的第二抗体(羊抗鼠 IgG,1∶1 000),室温孵育 2 h。GAPDH 作为内参照。ECL 化学发光剂温育,Bio-Rad 凝胶成像系统采集图片,结果采用 Quantity One 软件进行灰度值分析,实验重复 3 次。

1.2.6 RT-PCR 检测 survivin、cyclin D1 基因表达 cyclin D1 基因引物序列:上游引物 5′-CTGTCCCACTCCTACGATACGC-3′,下游引物 5′-ACTTGCCTCAAAGTCCTGCTTG-3′,退火温度 56 ℃,产物长度 338 bp。survivin 基因引物序列:上游引物 5′-CTGGCGTAAGATGATGGATTTG-3′,下游引物 5′-CGGTAGGGACATGCTAAGTAGA-3′,退火温度 56 ℃,产物长度 465 bp。GAPDH 基因序列:上游引物 5′-AGAAGGCTGGGGCTCATTTG-3′,下游引物 5′-AGGGGCCATCCACAGTCTTC-3′,退火温度 59 ℃,产物长度 258 bp。β-actin 基因引物序列:上游引物 5′-CTACAATGAGCTGCGTGTGG-3′,下游引物 5′-AAGGAAGGCTGGAAGAGTGC-3′,退火温度 60.6 ℃,产物长度 527 bp。取对数生长期细胞,rh-Endostatin 不同浓度组处理 72 h 后,按 Trizol RNA 抽提试剂盒说明书分别提取各组细胞总 RNA。用紫外分光光度计测 $D(260)$、$D(280)$。琼脂糖凝胶电泳提示 RNA 完整。逆转录条件为 37 ℃反应 15 min,85 ℃反应 5 s 合成 cDNA。PCR 反应条件为 94 ℃预变性 3 min,然后 94 ℃变性 30 s,按各自退火温度退火 30 s,72 ℃ 延伸 30 s,扩增 36 个循环,最后 72 ℃ 延伸 5 min,PCR 扩增产物取 3 μl,2% 琼脂糖凝胶电泳。实验重复 3 次。

1.3 统计学方法

结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 SPSS 19.0 统计软件,组间多重比

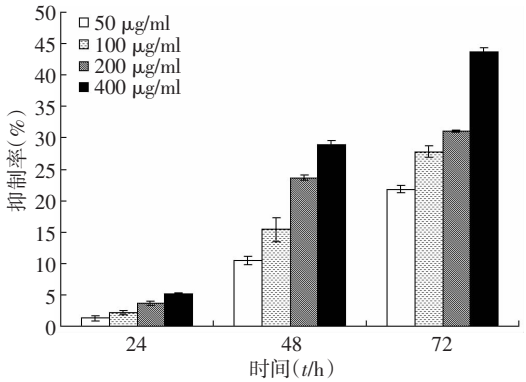
较采用 LSD2t 检验。经过不同药物浓度、处理不同时间的细胞增殖资料采用析因分析。方差不齐采用 Games-Howell 检验。

2 结果

2.1 rh-Endostatin 对 SMMC-7721 细胞生长的抑制作用

不同浓度的 ES 对人肝癌细胞 SMMC-7721 具有不同程度的生长抑制作用。且随剂量增加和时间延长,抑制效果有增强趋势,不同浓度和时间组的细胞存活率有显著性差异。ES 药物浓度在 50～400 μg/ml 之间作用 48 h 和 72 h,与 24 h 各浓度组相比生长抑制作用明显加强。

ES 对 SMCC-7721 细胞作用的浓度和时间存在交互效应显著,单独效应分析:SMCC-7721 细胞分别经过 ES 处理 24、48、72 h 后,各浓度组间比较有统计学差异($P=0.000$);分别经 50、100、200、400 μg/ml ES 处理后,不同时间组间比较有统计学差异($P=0.000$,图 1)。



$P<0.05$, 同一时间不同浓度之间比较;$P<0.01$, 同一浓度不同时间之间比较

图 1 rh-Endostatin 对 SMMC-7721 细胞生长的抑制作用

2.2 rh-Endostatin 影响 SMMC-7721 细胞周期分布

随 rh-Endostatin 浓度升高,SMMC-7721 细胞处于 G_1 期比例增加,S 期比例逐渐减少。实验各组 50、100、200、400 μg/ml 处理细胞后,SMMC-7721 细胞 G_1 期细胞比例与对照组比较差异显著($P=0.00$)。400 μg/ml 细胞处理组 S 期比例与对照组比较差异显著($P=0.00$)(图 2)。

2.3 rh-Endostatin 诱导 SMMC-7721 细胞凋亡

SMMC-7721 细胞经 ES 作用 72 h 后,随 ES 浓度升高,细胞凋亡率增加。与对照组相比,实验各组 50、100、200、400 μg/ml 处理细胞后,SMMC-7721 细胞细胞凋亡率呈上升趋势($P<0.05$)(图 3)。

2.4 rh-Endostatin 下调 SMMC-7721 细胞 β-catenin 蛋白的表达

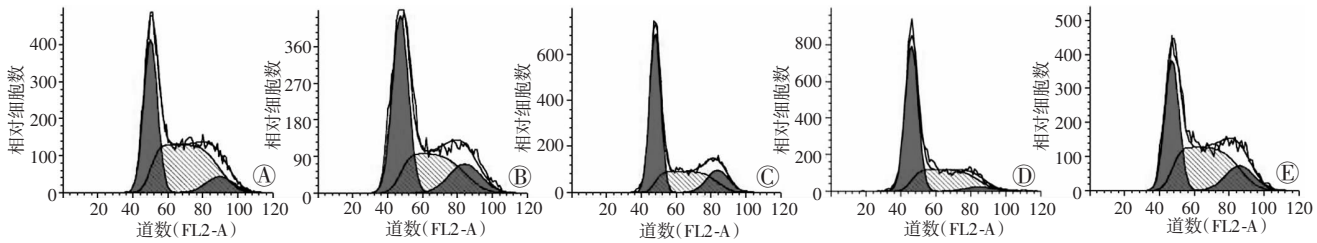
SMMC-7721 细胞经 ES 作用 72 h 后,Western blot 结果显示,随着 ES 浓度逐渐升高(50～400 μg/ml),β-catenin 蛋白表达量与对照组相比明显下降($P=0.000$)。β-catenin 蛋白表达在组内比较的结果显示,50 μg/ml 处理组与对照组相比无统计学意义($P=0.095$)。而 100、200、400 μg/ml 各组与对照组相比均有统计学意义($P=0.000$)。处理组各组间数据有统计学意义($P=0.000$)(图 4)。

2.5 rh-Endostatin 对 SMMC-7721 细胞 GSK-3β 蛋白的表达无作用

SMMC-7721 细胞经 ES 作用 72 h 后,Western blot 结果显示,随着 ES 浓度逐渐升高(50～400 μg/ml),GSK-3β 蛋白表达并无明显改变($P=0.395$),其组间数据无统计学意义($P>0.05$)(图 4)。

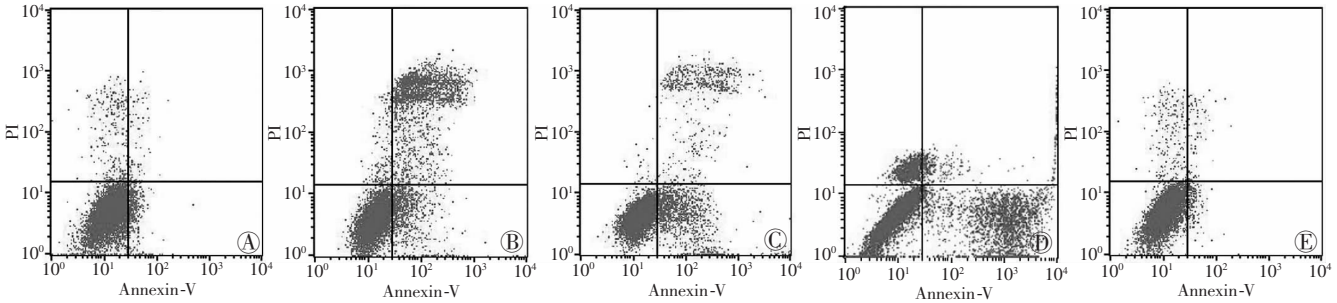
2.6 rh-Endostatin 下调 SMMC-7721 细胞 survinin 及 cyclin D1 mRNA 表达

SMCC-7721 细胞经不同浓度 ES 作用 72 h 后,RT-PCR 结果显示,随着 ES 浓度逐渐升高(50～400 μg/ml),survinin 及 cyclin D1 的 mRNA 表达均有显著下降($P<0.05$)。其中 400 μg/ml 组与对照组相比 survinin 和 cyclin D1 基因表达差异显著($P=0.00$)(图 5)。



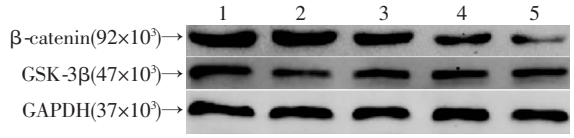
A:50 μg/ml 浓度组;B:100 μg/ml 浓度组;C:200 μg/ml 浓度组;D:400 μg/ml 浓度组;E:对照组

图 2 rh-Endostatinon 处理 72 h 时 SMMC-7721 细胞周期的流式细胞仪检测结果



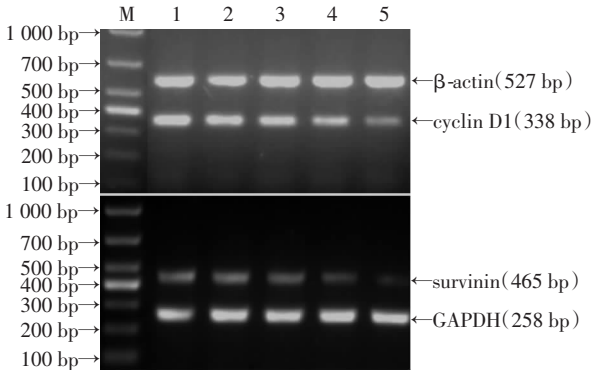
A:50 μg/ml 浓度组;B:100 μg/ml 浓度组;C:200 μg/ml 浓度组;D:400 μg/ml 浓度组;E:对照组

图 3 rh-Endostatinon 处理 72 h 时 SMMC-7721 细胞凋亡的 MTT 检测结果



1:对照组;2:50 μg/ml 浓度组;3:100 μg/ml 浓度组;4:200 μg/ml 浓度组;5:400 μg/ml 浓度组

图 4 Western blot 检测 ES 对 SMMC-7721 细胞 β-catenin 及 GSK-3β 蛋白表达的影响



M: 标准;1:对照组;2: 50 μg/ml 浓度组;3: 100 μg/ml 浓度组;4: 200 μg/ml 浓度组;5: 400 μg/ml 浓度组

图 5 RT-PCR 检测 ES 下调 SMMC-7721 细胞 survinin 及 cyclin D1 mRNA 表达

3 讨论

ES 是细胞外基质胶原Ⅻ羧基末端片段,由 O'Reilly 等[4]在体外培养小鼠内皮细胞瘤的培养基中发现的一种内源性血管生成抑制因子,是对血管内皮细胞的生长增殖抑制力度最大的一种内源性肿瘤血管生成抑制剂。Jiang 等[5]证实了 rh-Endostatin 在体外直接抑制人卵巢细胞株 SKOV3 的生长,并诱导其凋亡。杨珉等[6]发现 rh-Endostatin 使 Wnt 信号通路中的关键蛋白 β-catenin 降解,从而抑制 cyclin D1 的转录。这提示了 ES 不仅对血管内皮细胞有抑制作用,对肿瘤细胞同样具有抑制作用。

Wnt 信号通路是一条对胚胎发育起重要作用的信号转导通路,它的异常活化参与包括肝癌在内的多种癌症的发生、发展[7]。在 Wnt 信号被激活时,APC-Axin-GSK-3β 复合体不易形成,无法使 β-catenin 磷酸化,无法将其泛素化降解,从而使大量的 β-catenin 存积在细胞中并使其转入细胞核内,与核转录因子 TCF/LEF 结合,形成异源二聚体,介导下游靶基因的转录。目前已知的靶基因有 c-myc、cyclin D1、survivin 等[8]原癌基因。包括肝癌在内的多种肿瘤均有 β-catenin 胞浆、胞核阳性表达[9],说明 β-catenin 作为 Wnt 信号通路一个转录调控因子。因此,通过降低 β-catenin 蛋白的胞浆含量,干预 Wnt 信号通路的转导,对抑制肿瘤细胞增殖,诱导肿瘤细胞凋亡,降低肿瘤侵袭、转移能力等,具有重要意义。

本实验以人肝癌细胞株 SMMC-7721 作为研究对象,发现随着 ES 的浓度升高和作用时间的延长,Western blot 结果显示肿瘤细胞质内 β-catenin 蛋白含量明显降低,说明 ES 能够降低肿瘤细胞内 Wnt 信号通路中关键蛋白 β-catenin 的含量,与 Hanai 等[10]的研究结果一致。我们进一步利用 RT-PCR 技术检测了 Wnt 下游凋亡相关的 2 个转录因子的表达,发现 survinin 和 cyclin D1 mRNA 转录水平有显著降低,说明 ES 通过降低肝癌细胞内 β-catenin 胞浆蛋白表达,从而降低了该蛋白进入胞核内与 TCF/LEF 的结合,减少转录二聚体的生成,因此导致了下游癌基因 mRNA 水平下降,从而使细胞增殖降低,诱导细胞凋亡。同时,本实验发现不同浓度的 ES 对 SMMC-7721 细胞增殖、细胞周期和细胞凋亡方面均有显著作用。进一步说明了 ES 能够通过降低 β-catenin 蛋白胞浆表达,阻滞了 Wnt 信号通路的转导,从而影响 SMMC-7721 细胞的增殖、细胞周期和凋亡。survivin 基因在有丝分裂的过程中与周期蛋白依赖激酶 P34cdc2 相连,与 cyclin B1 共同作用由始至终发挥凋亡作用。survivin 蛋白具有控制纺锤体检查和凋亡检查点的双重作用,肿瘤组织过表达 survivin 可以避开凋亡检查点,使已转化的细胞进行异常的有丝分裂,从而使 survivin 丧失抑制细胞凋亡的功能。本实验结果说明,与对照组相比,ES 作用 72 h 后的 SMMC-7721 细胞 survinin 转录水平下调,并具有显著的时间效应和剂量效应,说明 ES 通过下调 β-catenin 胞浆蛋白表达,使 Wnt 信号通路下游 survinin 基因 mRNA 水平下调,从而使 survivin 蛋白量减少,最终肿瘤细胞恢复凋亡检查功能,表现出增殖抑制状态;cyclin D1 是作用于 G_1 期的重要细胞周期蛋白,可以促进 G_1/S 期转换而加速细胞周期的进程。本实验结果表明 SMMC-7721 细胞的细胞周期发生了明显变化,由于 ES 使 β-catenin 蛋白胞浆表达下调,其下游靶基因 cyclin D1 的转录减少,细胞 G_1 期增加,S 期减少,细胞周期阻滞于 G_1 期;随 ES 浓度的增加,诱导 SMMC-7721 细胞凋亡作用增强。其中 400 μg/ml ES 组的细胞凋亡率可达 29.19%。

为了探讨 ES 抑制肝癌 SMMC-7721 细胞增殖和诱导凋亡的机制,本实验检测了糖原合酶激酶-3β(GSK-3β)。GSK-3β 蛋白是 Wnt 信号通路的负向调节蛋白,磷酸化后可以促进 β-catenin 的泛素化降解,从而调控 Wnt 下游基因的表达。Farago 等[11]发现通过降低 GSK-3β 的活性,乳腺癌细胞中 Wnt 信号通路异常激活,β-catenin 在细胞胞浆中的含量增加,并且下游 cyc-

lin D1 表达增加。本实验发现,ES 作用前后,Western blot 结果显示 GSK-3β 蛋白并无明显变化(P = 0.395),这提示 ES 所引起的 β-catenin 蛋白含量下调和 survinin、cyclin D1 mRNA 转录水平下调与 GSK-3β 蛋白胞浆含量并无相关性。因此,ES 抑制 SMMC-7721 细胞增殖、诱导细胞凋亡的作用机制并不是通过改变细胞内 GSK-3β 蛋白量实现的。

分析上述实验结果,rh-Endostatin 通过下调 β-catenin 蛋白表达,从而使 Wnt 信号通路下游转录因子 survinin 和 cyclin D1 mRNA 水平降低,使肝癌细胞阻滞于 G_1 期,阻断细胞的复制增殖,导致细胞凋亡。综上所述,rh-Endostatin 不仅可通过抗血管生成而抑制肝癌细胞的生长和转移,还可通过下调 Wnt 信号通路中的关键蛋白 β-catenin,降低该信号通路下游癌基因的转录,起到诱导细胞凋亡和直接抗肿瘤的作用。这为 rh-Endostatin 抗肿瘤机制进行了补充,也为今后 rh-Endostatin 临床运用于抗肝癌治疗提供理论基础。

参考文献:

[1] Ling Y, Yang Y, Lu N, *et al*. Endostar, a novel recombinant human endostatin, exerts antiangiogenic effect *via* blocking VEGF-induced tyrosine phosphorylation of KDR/Flk-1 of endothelial cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 361(1): 79 – 84.

[2] Watorek E, Paprocka M, Dus D, *et al*. Endostatin and vascular endothelial growth factor: potential regulators of endothelial progenitor cell number in chronic kidney disease[J]. Pol Arch Med Wewn, 2011, 121(9): 296 – 302.

[3] 张鹏海, 覃晶, 李爱民, 等. 重组人血管内皮抑素体外对肝癌 HCCLM6 细胞转移侵袭的影响[J]. 南方医科大学学报, 2008, 28(4): 658 – 661.

[4] O'Reilly M S, Boehm T, Shing Y, *et al*. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth[J]. Cell, 1997, 88(2): 277 – 285.

[5] Jiang J, Chen W, Zhuang R, *et al*. The effect of endostatin mediated by human mesenchymal stem cells on ovarian cancer cells *in vitro*[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2010, 136(6): 873 – 881.

[6] 杨珉, 牛洪泉, 郭东升, 等. 内皮抑素对人脑胶质瘤 GL15 细胞株 β-catenin 和 Cyclin D1 表达的影响[J]. 临床外科杂志, 2008, 16(12): 823 – 825.

[7] Coombs G S, Covey T M, Virshup D M. Wnt signaling in development, disease and translational medicine [J]. Curr Drug Targets, 2008, 9(7): 513 – 531.

[8] Katoh M, Katoh M. WNT signaling pathway and stem cell signaling network [J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(14): 4042 – 4045.

[9] Monga S P. Role of Wnt/beta-catenin signaling in liver metabolism and cancer [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2011, 43(7): 1021 – 1029.

[10] Hanai J, Gloy J, Karumanchi S A, *et al*. Endostatin is a potential inhibitor of Wnt signaling[J]. J Cell Biol, 2002, 158(3): 529 – 539.

[11] Farago M, Dominguez I, Landesman-Bollag E, *et al*. Kinase-inactive glycogen synthase kinase 3beta promotes Wnt signaling and mammary tumorigenesis[J]. Cancer Res, 2005, 65(13): 5792 – 5801.

(**收稿**:2011-06-16;**修回**:2011-09-23)

(编辑 邓强庭)

(上接 2489 页)

2 讨论

心脏原发肿瘤通常为良性肿瘤,以心脏黏液瘤常见,其次为横纹肌瘤,而平滑肌瘤、纤维瘤相当罕见[1-2]。心脏平滑肌瘤常继发于静脉或子宫平滑肌,子宫平滑肌瘤可以沿下腔静脉到达右心房[3-5],而原发性心脏平滑肌瘤相当罕见[2,4,6]。心脏平滑肌瘤的症状随病变位置、大小、栓塞情况而有所不同,可出现心力衰竭,心律失常,肺动脉高压、瘤体脱落等[6]。尽管心脏肿瘤多数情况下是良性的,但由于其导致的恶性后果,早期发现显得尤为重要。

彩色多普勒超声检查不仅可以发现心室内占位性病变,还能显示其血供情况,常用于心脏疾病的检查,但受操作者技术影响较大,而且不能完全显示肿瘤引起的其他继发性改变。随着多层螺旋 CT 特别是 64 层螺旋 CT 的广泛应用,其对于心脏疾病的诊断优势越来越明显。CT 平扫可以显示心室内肿瘤大小及形态。增强扫描不仅可以更清楚的显示肿瘤边界和肿瘤的血供情况,还能清晰显示肿瘤与周围血管、心室之间的关系。后处理重建中,VR 图像可以直观、立体地显示肿瘤与心室、心房的关系,MPR 能从多个平面显示肿瘤与周围组织的关系及冠状动脉受压情况,为临床的进一步治疗提供了非常重要的依据。64 层螺旋 CT 避免了由于操作者的主观原因而引起的漏诊及对病变显示不全面,为临床医师的进一步治疗提供更全面的资料。

本例心脏平滑肌瘤的 CT 表现为边界清楚的软组织块影,内见点状钙化灶,无侵袭性,提示其为良性肿瘤。通过 VR 图像显示了左右心室受压的表现,MPR 重建显示肿瘤推移了右冠状动脉,但其无明显狭窄,为临床手术提供了帮助。

参考文献:

[1] 陈玉龙, 杜建侠. 心脏横纹肌瘤一例报告[J]. 中外医疗, 2010, (17): 100.

[2] 陈林, 肖颖彬, 陈柏成, 等. 129 例原发心脏肿瘤的临床分析[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(7): 712 – 714.

[3] Yu L, Shi E, Gu T, *et al*. Intravenous leiomyomatosis with intracardiac extension: a report of two cases[J]. J Card Surg, 2011, 26(1): 56 – 60.

[4] Sun C, Wang X M, Liu C, *et al*. Intravenous leiomyomatosis: diagnosis and follow-up with multislice computed tomography[J]. Am J Surg, 2010, 200(3): e41 – e43.

[5] 张超纪, 苗齐, 刘兴荣. 静脉内平滑肌瘤病延伸至右侧心腔的诊断和外科治疗[J]. 中国心血管病研究杂志, 2007, 5(3): 170 – 172.

[6] Qin C, Chen L, Xiao Y B, *et al*. Giant primary leiomyoma of the right ventricle[J]. J Card Surg, 2010, 25(2): 169 – 171.

(**收稿**:2011-08-04;**修回**:2011-09-21)

(编辑 汪勤俭)