文章编号:1000-5404(2012)05-0373-05

论著

DCs和NSPCs共培养促进NSPCs增殖及其机制的初步研究

王永飞[1],赵建华[1],晁 瑞[1],陈太邦[1],郭乔楠[2] (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所脊柱外科[1];400038 重庆,第三军医大学西南医院病理学研究所[2])

[摘要] **目的** 观察体外Transwell共培养系统中树突状细胞(dendritic cells,DCs)对神经干/前体细胞(neural stem/progenitor cells,NSPCs)增殖的影响,初步探讨神经营养因子-3(neurotrophin-3, NT-3)在DCs调控NSPCs中的作用机制。**方法** 根据是否采用Transwell小室将DCs和NSPCs共培养分为分隔培养(DCs/NSPCs组)和混合培养(DCs+NSPCs组),ELISA法测定DCs组、NSPCs组、DCs+NSPCs组、DCs/NSPCs组共培养48 h上清中的NT-3的含量。为观察NT-3在DCs调控NSPCs中的作用及可能的机制,成球法检测NSPCs组、NSPCs/DCs+K252a组、NSPCs+DCs组、NSPCs+NT-3组的NSPCs增殖,免疫细胞荧光法和Western blot法检测各组NSPCs表面酪氨酸激酶受体C(TrkC)的表达。**结果** ELISA实验结果显示,Transwell共培养48 h上清NT-3的含量,NSPCs/DCs组较DCs组和NSPCs组明显升高($P<0.05$)。镜下观察、测量结果显示NSPCs/DCs组和NSPCs+NT-3组神经球数量增多,平均直径明显增大($P<0.05$)。免疫细胞荧光和Western blot检测结果表明,NSPCs+DCs组和NSPCs+NT-3组中NSPCs的TrkC表达较NSPCs组和NSPCs/DCs+K252a组高($P<0.05$)。**结论** 体外DCs与NSPCs共培养,促进NSPCs增殖、NT-3的分泌及TrkC的表达,NT-3可能是通过TrkC受体参与NSPCs增殖的调控。

[关键词] 神经干细胞;树突状细胞;神经营养素-3;酪氨酸激酶受体C
[中图法分类号] R329-33;R329.28;R338.1 [文献标志码] A

Dendritic cells promote neural stem/progenitor cells proliferation *in vitro* when cocultured

Wang Yongfei[1], Zhao Jianhua[1], Chao Rui[1], Chen Taibang[1], Guo Qiaonan[2] ([1]Department of Spinal Surgery, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042; [2]Institute of Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of dendritic cells (DCs) coculture on the proliferation of neural stem/progenitor cells (NSPCs) *in vitro*, and explore the role of TrkC receptor and neurotrophin-3 (NT-3) in the process. **Methods** According to whether to adopt the Transwell chamber, the DCs and the NSPCs were co-cultured and divided into separate culture (DCs/NSPCs group) and mixed culture (DCs+NSPCs group, without the use of Transwell chamber). ELISA was used to detect neurotrophin-3 (NT-3) protein in the supernatant in 48 h after culture in NSPCs+DCs group (mixed culture), DCs group, NSPCs group, and NSPCs/DCs group (only cells separated by Transwell chamber). Tyrosine kinase receptors C (TrkC) proteins on the surface of NSPCs were detected by immunofluorescence staining and Western blotting analysis in NSPCs group, NSPCs/DCs+K252a group (TrKC blocker), NSPCs+DCs group, and NSPCs+NT-3 group. **Results** The levels of NT-3 in the supernatant were significantly higher in 48 h after culture in NSPCs/DCs group than in DCs group and NSPCs group ($P<0.05$). And microscopy showed significantly increases in the number and the average diameter of neurospheres in NSPCs/DCs group ($P<0.05$). Immunofluorescence staining and Western blotting indicated that the expression level of TrkC were significantly higher in NSPCs/DCs group and NSPCs+DCs group than in NSPCs group and NSPCs/DCs+K252a group ($P<0.05$). **Conclusion** DCs in coculture promotes NSPCs proliferation *in vitro*, which might be through TrkC-NT-3 signal pathway.

[**Key words**] neural stem/progenitor cells; dendritic cells; neurotrophin-3; tyrosine kinase receptors C

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81070981). Corresponding author: Zhao Jianhua, E-mail:zhaojianhua1964@yahoo.com

[基金项目] 国家自然科学基金(81070981)
[通信作者] 赵建华,E-mail:zhaojianhua1964@yahoo.com

自成熟的中枢神经系统中发现神经干/前体细胞(neural stem/progenitor cells, NSPCs)以来[1], NSPCs的研究给治疗脊髓损伤带来希望;活化内源性NSPCs促使损伤的脊髓修复是研究方向之一[2]。近年来,研究发现树突状细胞(dendritic cells, DCs)也具有神经保护作用[3]。DCs联合NSPCs移植能改善大鼠脊髓损伤后后肢的运动功能,并且能促进NSPCs的存活[4]。这些实验提示DCs可能以直接或间接方式对NSPCs发挥调控作用,但具体机制仍不清楚。本课题组[4]及Mikami等[5]均研究发现局部移植了DCs后损伤区域神经营养素-3(neurotrophin-3, NT-3)的表达增加。本实验采用体外在特异性酪氨酸激酶抑制剂K252a阻断Trk家族受体及添加NT-3蛋白等实验因素作用下两种细胞共培养,观察共培养各组NSPCs增殖情况,培养上清NT-3表达变化, NSPCs表面TrkC受体表达的变化,旨在明确NT-3在DCs调控NSPCs中可能的作用。

1 材料与方法

1.1 未成熟骨髓源性DCs的原代培养

未成熟DCs培养参照Hauben等[6]的方法。取SD大鼠(4~6周,第三军医大学大坪医院野战外科研究所动物实验中心提供)的股骨和胫骨,无菌条件下分离并计数骨髓细胞,浓度(2~5)×10⁶/ml,每皿10 ml加入100 mm培养皿中,培养基中含GM-CSF(Perprotech公司,美国)20 ng/ml和IL-4(Perprotech公司,美国)20 ng/ml。在培养第2、4、6天每皿吸出5 ml上清,并补加5 ml新鲜含GM-CSF和IL-4的培养基,经诱导分化培养7 d后细胞收集备用。

1.2 NSPCs的原代培养

NSPCs来源普通新生SD大鼠(1~3 d,第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供)全脑,参照Mistry等[7]培养方法并改良,用新生SD大鼠(1~3 d)全脑分离,增殖培养7 d后收集细胞备用。

1.3 DCs和NSPCs共培养

根据是否采用Transwell小室将DCs和NSPCs共培养分为分隔培养和混合培养:用ELISA法检测NT-3的表达时分为DCs组、NSPCs组、DCs + NSPCs(混合)组、DCs/NSPCs(分隔)组,用免疫荧光和Western blot方法检测时分为NSPCs组、DCs/NSPCs +K252a组、DCs/NSPCs组和NSPCs + NT-3组。共培养的细胞比例、细胞总数、培养基及培养皿均相同。为观察DCs对NSPCs增殖的影响是否有同NT-3相似的作用,在DCs/NSPCs培养中加入Trk受体阻断剂K252a(1.0 μmol/L Santa Cruze),在NSPCs培养中加入NT-3(100 ng/ml abcam, UK),具体分组:NSPCs组、DCs/NSPCs + K252a组、DCs/NSPCs组和NSPCs + NT-3组。详细培养方法:将培养第7天的NSPCs和DCs按1×10⁵/ml, 2.5 ml(下室)和1×10⁶/ml,1.5 ml(上室,上下室接种密度比10:1)接种于6孔培养板的Transwell(Millipore公司)共培养系统中,膜孔径为0.4 μm上下室的培养液能相互通融。第3天换液1次,在倒置显微镜下观察NSPCs形态变化,第7天拍摄神经球图片,用于神经球直径分析,收集神经球备用。

1.4 ELISA法检测NT-3的表达

取各组48 h上清,使用NT-3 ELISA检测试剂盒(武汉博士德,中国)测定NT-3的含量。

1.5 细胞免疫荧光染色

将NSPCs组、DCs/NSPCs + K252a组、DCs/NSPCs组、NSPCs + NT-3组的神经球收集于离心管中,4%多聚甲醛固定15 min;PBS漂洗,5 min×3次;加0.3% Triton X-100打孔,15 min, PBS漂洗,5 min×3次,1% BSA室温下封闭15 min,加按1:500稀释的抗TrkC一抗(兔抗大鼠多克隆抗体Abcam, UK),4 ℃过夜,常温复温2 h,PBS漂洗,5 min×3次,CY3山羊抗兔IgG(碧云天,江苏)按1:100稀释后37 ℃,孵育90 min, PBS漂洗,5 min×3次,hoechst33342避光染核5 min;PBS漂洗后中性树胶封片,激光共聚焦下观察细胞形态和Image Pro Plus 6.0图像处理软件分析TrkC荧光表达强度(荧光值范围70~250)。

1.6 Western blot检测NSPCs表达TrkC的情况

将NSPCs组、DCs/NSPCs + K252a组、DCs/NSPCs组、NSPCs + NT-3组培养的神经球收集于离心管后,1 000 r/min, 5 min,弃上清,各加入细胞裂解液300 μl,冰上裂解45 min,高速低温离心(12 000 r/min,10 min)取上清液,获得各组的总蛋白与上样缓冲液混匀煮沸加热5 min。取蛋白样品品进行SDS-PAGE,电泳结束后将蛋白转印到PVDF膜上,封闭后加兔抗鼠TrkC IgG(1:2 000, Santa Cruz),4 ℃过夜,复温,PBS-T洗膜,5 min×3次。辣根过氧化物酶耦联的二抗室温孵育1 h, PBS-T漂洗膜3次, 5 min×3次,设β-actin为内参照。

1.7 统计学处理

数据以$\bar{x} \pm s$表示,采用SPSS 18.0统计软件行单因素方差分析。

2 结果

2.1 神经干细胞成球情况

倒置显微镜观察各组NSPCs成球情况,发现神经球直径和数量在各组之间存在着显著差异,DCs/NSPCs组和NSPCs + NT-3组神经球数量增多,且平均直径与DCs/NSPCs + K252a组和NSPCs组的比较明显增大(表1)。

表1 各组共培养后神经球直径测量($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

组别	神经球直径(μm)	神经球的数量(个)
NSPCs组	41.31 ± 11.90	31.67 ± 4.73
DCs/NSPCs + K252a组	65.33 ± 22.29	26.00 ± 7.55
DCs/NSPCs组	94.41 ± 38.61[ab]	50.00 ± 7.21[ab]
NSPCs + NT-3组	97.95 ± 39.80[ab]	55.67 ± 12.06[ab]

a:$P<0.05$,与NSPCs组比较; b:$P<0.05$,与DCs/NSPCs + K252a组比较

2.2 ELISA 检测共培养上清中 NT-3 的含量

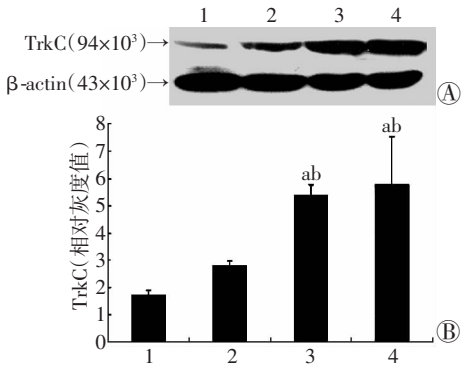
DCs + NSPCs、DCs、NSPCs、DCs/NSPCs 组 48 h 上清 NT-3 的表达量总体差异有显著性（$P < 0.05$）。DCs/NSPCs 组（32.25 ± 5.87）和 DCs + NSPCs 组（30.44 ± 3.85）上清中检测出的 NT-3 含量较 DCs 组（23.37 ± 1.72）和 NSPCs 组（24.64 ± 2.00）差异明显。DCs/NSPCs 组和 DCs + NSPCs 组间比较无显著差异（$P > 0.05$）。

2.3 细胞免疫荧光染色检测 NSPCs 细胞表面 TrkC 的表达情况

NSPCs 组、DCs/NSPCs + K252a 组、DCs/NSPCs 组、NSPCs + NT-3 组在培养 7 d 后 NSPCs 表面 TrkC 均有阳性表达（CY3 红色荧光），但是表达的量以及荧光强度有差异，DCs/NSPCs 组和 NSPCs + NT-3 组明显高于 NSPCs 组和 DCs/NSPCs + K252a 组（图 1）。

2.4 Western blot 检测 NSPCs 表达 TrkC 的情况

各组中 NSPCs 细胞表面表达的 TrkC 的量按 NSPCs 组、DCs/NSPCs + K252a 组、DCs/NSPCs 组、NSPCs + NT-3 组逐渐增强（图 2）。TrkC 的表达量（条带灰度值）与内参（β-actin）表达量的比值之间的差异有显著性（$P < 0.05$）。表明在共培养体系中随着 NT-3 量的增加，其受体 TrkC 在 NSPCs 的表达也升高。



1：NSPCs 组；2：DCs/NSPCs + K252a 组；3：DCs/NSPCs 组；4：NSPCs + NT-3 组；A：Western blot 检测 TrkC 表达；B：TrkC 相对灰度值 a：$P < 0.05$，与 NSPCs 组比较；b：$P < 0.05$，与 DCs/NSPCs + K252a 组比较

图 2 Western blot 检测各组培养 7 d 的 NSPCs 的 TrkC 表达

3 讨论

NSPCs 具有高度的增殖和自我更新能力，并能向神经元、星形胶质细胞和少突细胞分化[8]。DCs 是一类抗原提呈细胞，研究发现其具有神经保护的作用[5]。

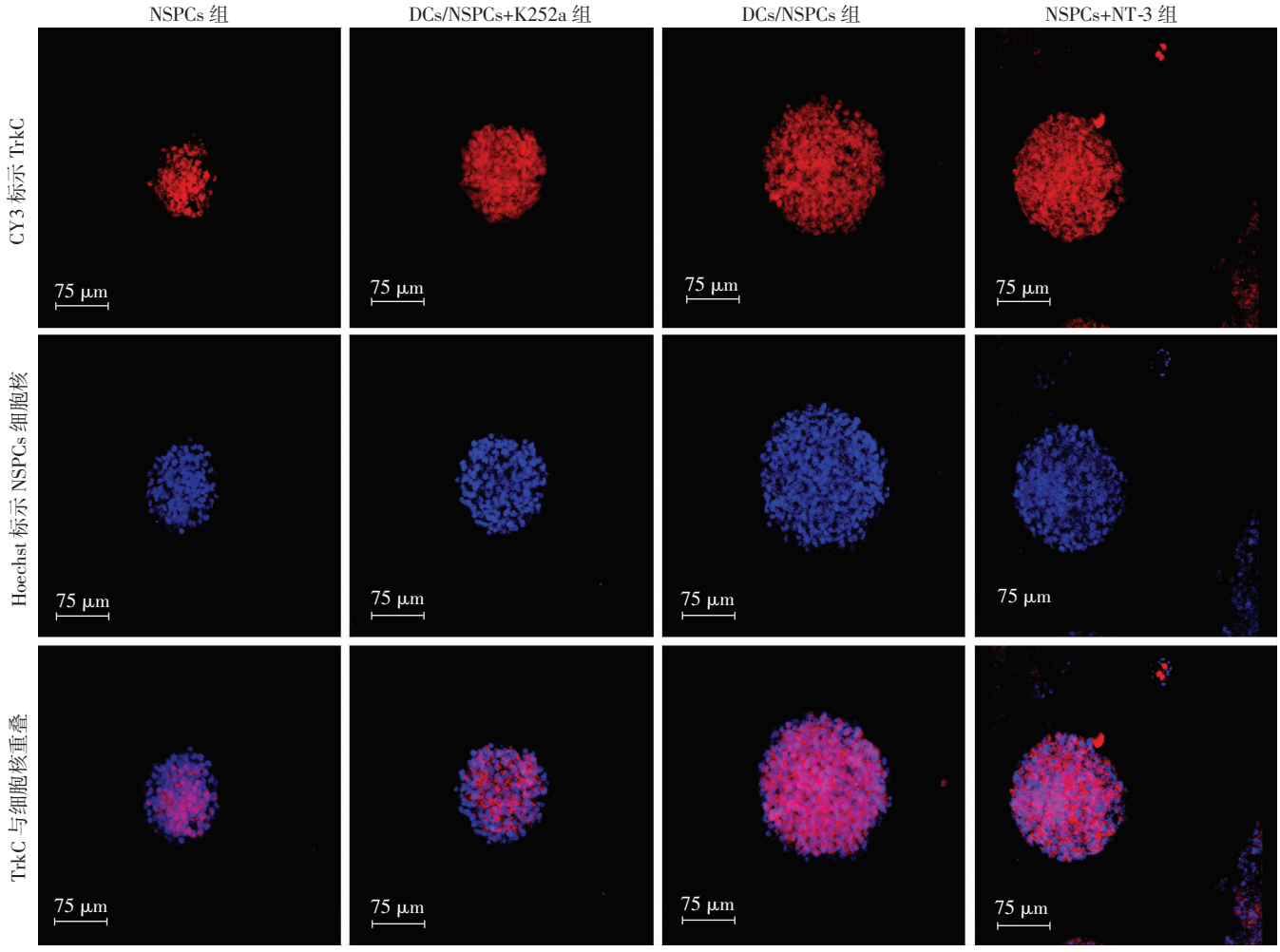


图 1 共培养 7 d 激光共聚焦显微镜观察各组 NSPCs 球表面 TrkC 的表达

本课题组前期研究发现 DCs 与 NSPCs 联合移植治疗大鼠脊髓损伤能明显促进后肢运动功能恢复,且联合移植能促进 NSPCs 的存活[4],但两细胞间相互作用的机制不明。本实验通过体外培养探讨两种细胞间的相互作用,为调控 NSPCs 增殖寻找可能的理论依据。Mikami 等[5]研究发现,将脾来源的 DCs 移植到 SD 大鼠的不全性脊髓损伤局部,DCs 能够活化内源性 NSPCs,促进新生神经元的形成,而在体外,DCs 与 NSPCs 共同培养可以促进 NSPCs 的增殖。本实验发现,骨髓源性 DCs 能够促进 NSPCs 球直径的增加,而且 NSPCs 球的数量也明显增加。其机制可能是神经营养因子的作用或是两种细胞通过接触作用,但实验中 DCs/NSPCs 组和 DCs + NSPCs 组比较,NSPCs 球的数量和直径无显著差异($P > 0.05$)。而有实验发现未成熟的 DCs 能够分泌 NT-3、BDNF、NGF 等神经营养因子[9],NSPCs 自身也能分泌包括 NT-3 在内的多种神经营养因子[10]。所以我们推测骨髓源性 DCs 促进 NSPCs 增殖的机制可能是通过神经营养因子的作用。

前期实验发现用脊髓匀浆蛋白处理过的 DCs 移植到脊髓损伤局部时 NT-3 水平明显高于其他对照组[11]。并且,通过 ELISA 实验,DCs 组和 NSPCs 组的上清中均检测有 NT-3 蛋白的表达,进一步证实了 DCs 和 NSPCs 均能自身分泌 NT-3。本实验结果显示,各组间 NT-3 的表达量总体差异有显著性($P < 0.05$)。DCs/NSPCs 组和 DCs + NSPCs 组上清中 NT-3 含量较 DCs 组和 NSPCs 组明显增多,显然两种细胞共培养后 NT-3 表达上调。所以我们推测可能是两种细胞在共培养时其局部的微环境均发生了变化,通过 NT-3 表达或者释放的上调来维持微环境的平衡状态。同时 DCs 作为抗原提呈细胞,在受到抗原刺激后,可能进一步促进了 NT-3 的表达、释放[8,12]。无论是内环境发生了变化还是 DCs 的提呈作用,NT-3 的表达量在共培养中显著升高。

众所周知,NT-3 是神经营养因子,对于神经的存活、分化和功能修复发挥着重要的作用,尤其是在轴突再生修复中[13]。在对大鼠脊髓损伤治疗中,NT-3 促进轴突的再生以及促进大鼠后肢运动功能的恢复已有报道[14]。而 NT-3 是通过 TrkC-NT-3 信号传导通路二聚化和磷酸化发挥作用。Castellanos 等[15]发现在大鼠脊髓损伤的局部 TrkC 的过表达能够改善内源性 NSPCs 的存活,而促进 Trk 受体的磷酸化主要是通过募集相应的信号转导蛋白后发生二聚化和活化细胞质中额外储存的酪氨酸来激活[16],因此当 NT-3 的表达升高时细胞表面上激活的 TrkC 受体的表达量随之增多。所以,本实验采取在 DCs 促进 NSPCs 增殖中加入特异性酪氨酸酶抑制剂 k252a,发现,DCs/NSPCs + K252a 组较 DCs/NSPCs 组在 NSPCs 成球的直径和数量上明显减少,提示 k252a 能够有效地阻断包括 TrkC-NT-3 在内的大多数信号传导通路[17-18]。通过细胞免疫荧光和 Western blot 检测发现 DCs/NSPCs + K252a 组 NSPCs 球上 TrkC 的表达量较 DCs/NSPCs 组也显著减少。因此,推测神经球的直径和数量的变化可能与 NT-3 和 TrkC 受体结合量多少有关。

本实验结果显示,共培养中 DCs/NSPCs 组与 NSPCs + NT-3 组神经球的直径和数量比较差异不明显($P > 0.05$),细胞免疫荧光和 Western blot 检测发现 TrkC 在 NSPCs 表面表达的阳性率也无显著差异,推测 DCs 的作用可能同 NT-3 的功能有相似性。本实验同时证明 DCs 和 NSPCs 共培养中 NT-3 的分泌量显著升高。因此,进一步推断在 DCs 与 NSPCs 共培养促进 NSPCs 增殖的过程中可能是 NT-3 参与并发挥了重要作用,DCs 可能是通过共培养中 NT-3 分泌量的增加,促使 TrkC-NT-3 信号传导通路二聚化和磷酸化作用的增加,进而激活 NSPCs 表面 TrkC 的表达来进一步促进 NSPCs 的增殖。

本实验证实,体外 DCs 与 NSPCs 共同培养可以促进 NSPCs 的显著增殖,在 NSPCs 增殖过程中,可能是通过两种细胞共培养时 NT-3 分泌量发生改变而促使 TrkC-NT-3 信号传导通路二聚化和磷酸化发挥作用。但实验中未能采用 TrkC 受体特异性阻断剂,故不能充分证明阻断是 NT-3 发挥的作用。此外,NT-3 的产生主要来源于哪种细胞,在增殖中是否为主要调控作用,下游的信号分子是否活化都还需要进一步探讨。

参考文献:

[1] Johansson C B, Lothian C, Molin M, *et al*. Nestin enhancer requirements for expression in normal and injured adult CNS[J]. J Neurosci Res, 2002, 69(6): 784-794.

[2] Ohori Y, Yamamoto S, Nagao M, *et al*. Growth factor treatment and genetic manipulation stimulate neurogenesis and oligodendrogenesis by endogenous neural progenitors in the injured adult spinal cord[J]. J Neurosci, 2006, 26(46): 11948-11960.

[3] Hayashi K, Ohta S, Kawakami Y, *et al*. Activation of dendritic-like cells and neural stem/progenitor cells in injured spinal cord by GM-CSF[J]. Neurosci Res, 2009, 64(1): 96-103.

[4] 晁瑞, 赵建华, 刘明永, 等. 树突细胞及神经干细胞/前体细胞联合移植促进脊髓损伤大鼠运动功能恢复[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(10): 998-1002.

[5] Mikami Y, Okano H, Sakaguchi M, *et al*. Implantation of dendritic cells in injured adult spinal cord results in activation of endogenous neural stem/progenitor cells leading to de novo neurogenesis and functional recovery[J]. J Neurosci Res, 2004, 76(4): 453-465.

[6] Hauben E, Gothilf A, Cohen A, *et al*. Vaccination with dendritic cells pulsed with peptides of myelin basic protein promotes functional recovery from spinal cord injury [J]. J Neuiosci, 2003, 23(25): 8808-8819.

[7] Mistry S K, Keefer E W, Cunningham B A, *et al*. Cultured rat hipp-

ocampal neural progenitors generate spontaneously active neural networks[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(3): 1621 - 1626.
[8] Kornblum H I. Introduction to neural stem cells[J]. Stroke, 2007, 38 (2 Suppl): 810 - 816.
[9] Ohta S, Ueda Y, Yaguchi M, *et al*. Isolation and characterization of dendritic cells from common marmosets for preclinical cell therapy studies[J]. Immunology, 2008, 123(4): 566 - 574.
[10] Kamei N, Tanaka N, Oishi Y, *et al*. BDNF, NT-3, and NGF released from transplanted neural progenitor cells promote corticospinal axon growth in organotypic cocultures[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2007, 32(12): 1272 - 1278.
[11] 王科, 赵建华, 梁华平. 吴茱萸碱刺激的负载脊髓匀浆蛋白 DCs 促进小鼠脊髓损伤的修复[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(3) 269 - 273.
[12] Noga O, Peiser M, Altenahr M, *et al*. Selective induction of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor by LPS and allergen in dendritic cells[J]. Clin Exp Allergy, 2008, 38(3): 473 - 479.
[13] Kusano K, Enomoto M, Hirai T, *et al*. Transplanted neural progenitor cells expressing mutant NT3 promote myelination and partial hindlimb recovery in the chronic phase after spinal cord injury[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 393 (4): 812 - 817.
[14] Lu P, Jones L L, Snyder E Y, *et al*. Neural stem cells constitutively secrete neurotrophic factors and promote extensive host axonal growth after spinal cord injury[J]. Exp Neurol, 2003, 181(2): 115 - 129.
[15] Castellanos D A, Tsoulfas P, Frydel B R, *et al*. TrkC overexpression enhances survival and migration of neural stem cell transplants in the rat spinal cord[J]. Cell Transplant, 2002, 11(3): 297 - 307.
[16] Ye H, Kuruvilla R, Zweifel L S, *et al*. Evidence in support of signaling endosome-based retrograde survival of sympathetic neurons[J]. Neuron, 2003, 39(1): 57 - 68.
[17] Roux P P, Dorval G, Boudreau M, *et al*. K252a and CEP1347 are neuroprotective compounds that inhibit mixed-lineage kinase-3 and induce activation of Akt and ERK[J]. J Biol Chem, 2002, 277 (51): 49473 - 49480.
[18] Serres F, Carney S L. Nicotine regulates SH-SY5Y neuroblastoma cell proliferation through the release of brain-derived neurotrophic factor [J]. Brain Res, 2006, 1101 (1): 36 - 42.

(**收稿**:2011-11-30;**修回**:2011-12-02)
(编辑 龙 亮)

文章编号:1000-5404(2012)05-0377-01

个案与短篇

卵巢卵黄囊瘤弥漫性肝转移 1 例

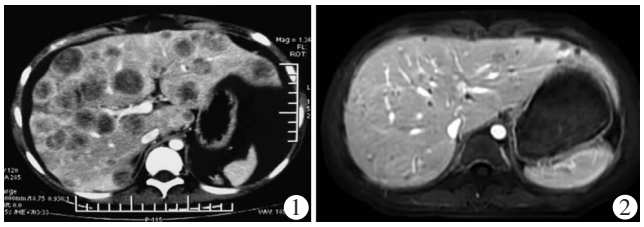
李颖姗,令狐华,梅耀宇 (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院妇产科)

[**关键词**] 卵黄囊瘤;肝转移
[**中图法分类号**] R782.12 [**文献标志码**] B

卵黄囊瘤来源于胚外结构卵黄囊,又名内胚窦瘤,约占卵巢恶性肿瘤的 3% ~5%,恶性程度高,直接蔓延及腹腔种植是其主要的转移途径,晚期可发生血行播散,以肝、肺为常见[1-2]。本研究拟通过我院近期收治的 1 例卵巢卵黄囊瘤发生弥漫性肝转移的危重患者的诊治经过,探讨对此类患者的诊断与治疗。

1 临床资料

患者,女性,16 岁,未婚。13 岁月经初潮,规律。因"腹胀 11 d,加重 7 d"于 2011 年 5 月入院。查体:被动体位(半卧位),全腹膨隆,脐周测腹围 85 cm(体质量 45 kg,身高 155 cm),全腹压痛,无反跳痛及肌紧张,移动性浊音阳性,下腹部可及约 15 cm 大小包块。CT 提示下腹部及盆腔巨大不规则肿块影,约 22 cm × 15 cm × 13 cm,部分囊性变,增强后呈明显不均匀强化;肝内弥漫分布多发大小不等类圆形结节影,增强后呈环形强化(图 1);右侧膈下、右下腹及盆腔腹膜上多发结节影,大网膜增厚伴结节影,腹盆腔大量积液;右侧髂动脉旁淋巴结增大。实验室检查:血清 AFP:410 087 ng/ml,CA125: > 601 U/L,血 HCG:(-),肝功和凝血象明显异常。入院后患者腹胀进行性加重,伴呼吸急促,双侧季肋部皮下瘀斑出现且面积逐渐扩大,动态测定肝功及凝血象异常较入院时进行性加重,ALB 由 25 g/L 降至 18 g/L,ALT 由 192 U/L 升至 532 U/L,AST 由 497 U/L 升至 1114 U/L,PT 由 17.9 s 延长至 21.9 s。



A:化疗前;B:化疗后
图 1 肝脏转移病灶的 CT 表现

为缓解腹压增高所致呼吸困难,行腹腔穿刺放液见血性腹水,腹水涂片找到可疑恶性细胞。结合病史、CT 报告及血清 AFP 值,临床诊断盆腔恶性肿瘤弥漫性肝脏转移(卵巢来源,内胚窦瘤可能),具有剖腹探查指征。但因肝功能损害严重、凝血功能明显异常,手术风险极高,经讨论后决定行 B 超引导下腹腔包块穿刺活检术寻找病理依据,结果提示卵黄囊瘤。入院第 5 天予以 BEP 方案(博来霉素 + 依托泊苷 + 奥沙利铂)化疗。化疗过程中曾出现三系降低并伴有肺部感染,经积极对症处理后好转。化疗后 10 d,患者一般情况逐渐好转,腹胀完全缓解,复查电解质、肝功及凝血象明显好转出院。以后如期(化疗间隔时间为3周)返院行化疗。化疗2次后,行剖腹探查术 + 左

(下转 382 页)

[**通信作者**] 令狐华,电话:(023)89011090,E-mail:linghu_hua@163.com