论著

文章编号:1000-5404(2013)18-1910-05

TRPM7对dHL-60细胞极性化的影响

吴娴波,邹文英,蔡春青,陈新宏,邹 飞,孟晓静 (510515 广州,南方医科大学公共卫生与热带医学学院)

[摘要] **目的** 探讨瞬时受体电位M7(transient receptor potential melastatin 7,TRPM7)对dHL-60细胞极性化的影响及可能的分子机制。**方法** 通过siRNA技术下调dHL-60细胞TRPM7蛋白表达,分为转染无义干扰片段的对照组和TRPM7干扰组,用Zigmond小室观察细胞极性化的变化,采用Western blot检测TRPM7和磷酸化AKT的表达,并用细胞免疫荧光方法观察磷酸化AKT的定位情况。**结果** 与转染无义干扰片段的对照组相比,转染TRPM7靶向siRNA的dHL-60细胞中,TRPM7蛋白表达水平明显降低($P<0.05$);干扰TRPM7后dHL-60细胞的极性化率与对照组相比显著增加($P<0.05$);磷酸化AKT表达明显上调,并从细胞质转向了细胞膜,呈极性分布在细胞质膜上,而总AKT的表达则无明显变化。AKT的特异性抑制剂Triciribine可使dHL-60细胞在fMLP刺激下的磷酸化AKT的极性分布消失。**结论** TRPM7通过AKT信号通路调控细胞极性相关分子,进而影响dHL-60细胞的极性化能力。

[关键词] 瞬时受体电位M7;dHL-60细胞;极性化;AKT
[中图法分类号] R392.12;R394-33;R394.3 [文献标志码] A

siRNA-medicated silencing of TRPM7 promotes polarization in differentiated HL-60 cells

Wu Xianbo, Zou Wenying, Cai Chunqing, Chen Xinhong, Zou Fei, Meng Xiaojing (School of Public Health and Tropical Medicine, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong Province, 510515, China)

[**Abstract**] Objective To determine the effect of silencing transient receptor potential melastatin 7 (TRPM7) gene on the polarization of differentiated HL-60 (dHL-60) cells. Methods Small interfering RNA (siRNA) targeting TRPM7 or targeting nonsense codons were used to transfected dHL-60 cells, and then cell polarization was observed in Zigmond chamber. Western blotting was used to examine the expression of TRPM7 and phosphorylated AKT in the transfected cells. Immunofluorescence staining was used to detect the location of phosphorylated AKT. Results Compared with the control cells transfected with nonsense codons, the dHL-60 cells transfected with TRPM7-specific siRNA significantly decreased the protein expression of TRPM7 ($P<0.05$), increased cell polarization and expression of phosphorylated AKT significantly ($P<0.05$), and translocated the phosphorylated AKT from the cytoplasm to cell membrane in a polarized distribution, though no change was found in total AKT. The polarized distribution of AKT disappeared when the fMLP-stimulted dHL-60 cells were pretreated with triciribine, an AKT specific inhibitor. Conclusion TRPM7 regulates the dHL-60 cell polarization probably by AKT pathway.

[**Key words**] transient receptor potential melastatin 7; dHL-60 cells; polarization; AKT

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30971193, 81071611, 30800438). Corresponding author: Meng Xiaojing, E-mail: xiaojing-meng@163.com

中性粒细胞发生极性化在机体抵御外来微生物病原体尤其是化脓性细菌入侵中起着关键性的作用。为了发挥杀菌抗炎的作用,中性粒细胞在趋化因子的作用下首先发生极性化,即形成头部宽大尾部狭窄的极性形态,进而定向迁移到炎症部位[1-3]。在细胞建立极性化过程中,信号分子的调控失败会导致中性粒细胞的异常激活,从而导致机体多种疾病病理,如败血症、哮喘、慢性阻塞性肺气肿、缺血/再灌注损伤等的发生。因此,研究中性粒细胞的极性化的分子机制,对防治中性粒细胞功能异常导致的组织损伤具有重要意义。钙信号在中性粒细胞的极性化、趋化和迁移等功能中起着关键性作用[4-5],瞬时受体电位通道(transient receptor potential,TRP)作为受体操纵性通道是中性粒细胞和上皮细胞等非兴奋性细胞介导钙离子内流

[基金项目] 国家自然科学基金(30971193, 81071611, 30800438)
[通信作者] 孟晓静,E-mail: xiaojing-meng@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130516.1138.010.html(2013-05-16)

的重要通道。瞬时受体电位M7(transient receptor potential melastatin 7,TRPM7)是TRP的重要成员,研究[6-7]发现TRPM7参与调节细胞的黏附和迁移,但TRPM7在中性粒细胞的极性化中的作用尚不清楚。由于中性粒细胞为外周分化的终末血液细胞,无法进行基因操作,因此,为阐明TRPM7在中性粒细胞极性化中的作用,本研究选择目前最常用的替代中性粒细胞的模型——分化的HL-60(differentiated HL-60,dHL-60)细胞为受试细胞,通过siRNA干扰下调其内源性TRPM7基因的转录和蛋白表达,探讨对dHL-60在趋化肽甲酰基甲硫氨酰-亮氨酰-苯丙氨酸(n-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine, fMLP)刺激下的细胞极性化作用的影响,为进一步研究TRPM7基因功能及中性粒细胞极性化的机制提供新的研究依据。

1 材料与方法

1.1 材料

人类早幼粒白血病细胞株HL-60购自中科院上海典型细胞保藏库,TRPM7干扰序列(siRNA序列1:正义链5′-GUCUUGCCAUGAAAUACUCTT-3′,反义链5′-GAGUAUUUCAUGGCAAGACTT-3′;siRNA序列2:正义链5′-AGGAGAAGAUGCAAUUAAATT-3′,反义链5′-UUUAAUUGCAUCUUCUCCUAG-3′)由上海吉诺公司合成;胎牛血清、RPMI1640和OPTI-MEMI培养基购自Gibco公司;TRPM7抗体购自Acris公司;磷酸化AKT抗体购自SAB公司;总AKT抗体、GAPDH抗体和FITC标记的二抗购自Santa Cruz公司;fMLP和DMSO购自Sigma公司;Triciribine购自德国Darmstadt公司;Zigmond迁移小室购自Neuro Probe公司。

1.2 方法

1.2.1 HL-60细胞的诱导分化 人类早幼粒白血病细胞HL-60接种于含10%胎牛血清及2 mmol/L谷胺酰胺的RPMI1640培养液中,于37 ℃、5% CO_2的培养箱中培养。收集对数生长期的HL-60细胞,加入终浓度为1.3%(体积比)的二甲基亚砜进行诱导分化4 d,期间不换液。诱导分化成熟后的dHL-60细胞,采用低速离心的方法去除死细胞,之后行电穿孔干扰等实验。

1.2.2 细胞电穿孔实验 收集DMSO诱导分化4 d的dHL-60细胞,用无血清培养液洗涤,离心重悬后用OPTI-MEMI洗涤,调整细胞密度至8×10^6/mL。加入400 μL含干扰片段(干扰片段终浓度为100 nmol/L)的细胞悬液,冰上放置10 min。设置参数电压295 V、电容1 180 μF、电阻500 Ω,进行电穿孔。电穿孔完毕后,电击杯再次冰上放置30 min后将细胞悬液转移到含有10%胎牛血清的RPMI1640完全培养基中(不含DMSO)继续培养2d,期间不换液。

1.2.3 细胞极性化实验 在高分辨率的光学显微镜下,Zigmond小室可用于观察细胞的迁移和形态变化,所以我们用Zigmond迁移小室进行dHL-60细胞定向极性化实验。电穿孔转染的dHL-60细胞重悬于无血清培养基中,取适量细胞悬浮液滴于盖玻片上,室温下静置10 min,倒扣于Zigmond迁移小室上,在两小室的一边加入无血清培养基,另一边加入含100 nmol/L fMLP的无血清培养基,以形成0~100 nmol/L梯度浓度的fMLP。在倒置显微镜(OLYMPUS 1×51 Microscope)下观察细胞的极性化和趋化运动情况并进行拍照,每15~30 s拍1次,共观察30 min。转染无义干扰片段的对照组和TRPM7干扰组均采用梯度浓度fMLP处理30 min的细胞进行细胞定向极性化率统计,其中发生定向极性形态变化并拖了长尾足被定义为定向极性化趋化细胞[8]。

1.2.4 Western blot 提取各组细胞的细胞总蛋白,Bradford DC法测定蛋白浓度。取40 μg蛋白进行SDS-PAGE凝胶电泳,转膜后用5% BSA室温封闭1 h,一抗4 ℃封闭过夜,TBST洗膜后加入二抗室温孵育1 h,辣根过氧化物酶-ECL法,用X光胶片曝光显影。

1.2.5 细胞免疫荧光测定 dHL-60细胞分为6组,分别为对照组、fMLP刺激组、fMLP刺激的Triciribine组、转染无义干扰片段的对照组、fMLP刺激的无义干扰片段对照组和fMLP刺激的TRPM7干扰组;各组dHL-60细胞离心后去上清,4%的多聚甲醛室温固定20 min,0.2% Triton X-100冰上穿透5 min,3% BSA/PBS孵育细胞2 h以封闭非特异结合位点,分别加入兔Thr308-pAKT(1∶100)和Ser473-pAKT(1∶50)抗体4 ℃下孵育过夜。加入荧光素标记羊抗兔二抗(1∶200)37 ℃暗湿盒内孵育1 h,PBS洗2遍,悬于100 μL PBS后将细胞悬浮液移入共聚焦皿上。最后加入细胞核标记染料DAPI室温下孵育5 min,PBS洗2遍,加入50 μL PBS和50 μL抗淬灭剂,于Olympus FV 1000激光共聚焦显微镜、油镜(×60)下观察dHL-60细胞内的各荧光标记情况。

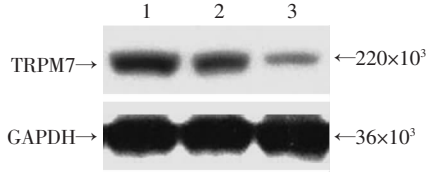
1.3 统计学分析

采用SPSS 13.0统计软件,实验数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 siRNA干扰对dHL-60细胞TRPM7蛋白表达的抑制作用

本实验设计了2条特异针对TRPM7靶点的干扰片段,TRPM7 siRNA1和TRPM7 siRNA2,采用电穿孔的方法对dHL-60细胞进行TRPM7基因干扰,用Western blot检测其蛋白表达,发现TRPM7干扰组细胞中的TRPM7蛋白表达量明显低于转染无义干扰片段的对照组(图1),TRPM7-1和TRPM7-2两个片段的干扰效率分别约为40%和60%。结果表明,TRPM7干扰有效降低了dHL-60细胞中内源性TRPM7蛋白的表达。

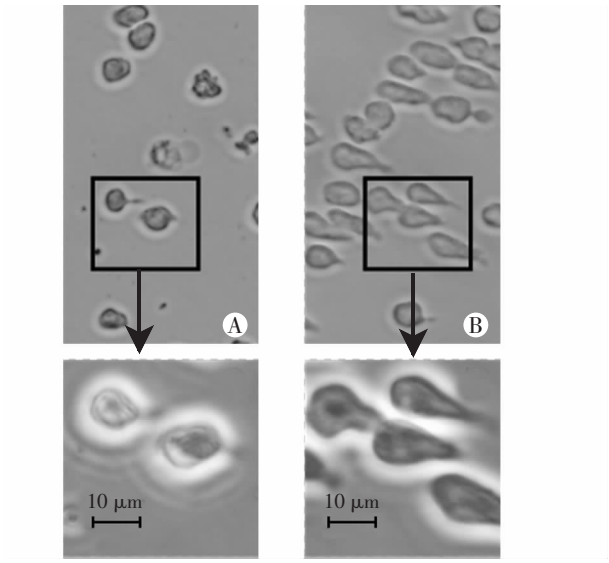


1:无义干扰片段对照组;2:TRPM7-1干扰组;3:TRPM7-2干扰组

图1 Western blot检测siRNA干扰抑制dHL-60细胞TRPM7蛋白表达

2.2 TRPM7基因干扰对fMLP刺激的dHL-60细胞定向极性化的影响

由于TRPM7-2片段的干扰效率优于TRPM7-1，所以采用TRPM7-2片段进行dHL-60细胞定向极性化实验。其中的趋化肽fMLP可诱导dHL-60细胞极性化的形成。给予梯度浓度为0～100 nmol/L的fMLP刺激后，转染了无义干扰片段的对照组细胞发生极性形态变化和趋化性运动，30 min后大多数细胞可以发生明显的定向极性化，其中典型的定向极性化细胞呈现为一种头部朝fMLP浓度高的方向并在fMLP浓度低的方向呈现尾足的形状。而转染了TRPM7的干扰组细胞则对外界炎症刺激物fMLP的敏感性更强，尾足更显著，在梯度浓度为0～100 nmol/L的fMLP刺激下发生极性形态变化的细胞数量显著增加（图2）。通过对2个细胞处理组在梯度浓度fMLP暴露30 min时的极性化细胞数进行统计分析，转染了无义干扰片段的对照细胞的定向趋化极性化率为（46.50±5.63）%，而TRPM7干扰组的dHL-60细胞的定向趋化极性化率为（93.50±8.75）%，差异有统计学意义（$P<0.05$），说明TRPM7基因干扰后显著增强了fMLP刺激的dHL-60细胞的定向极性化运动。

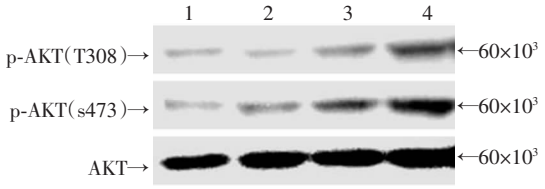


A：无义干扰片段对照组；B：TRPM7干扰组

图2 TRPM7基因干扰后对梯度浓度fMLP刺激的dHL-60细胞极性化形态改变的影响 （×20）

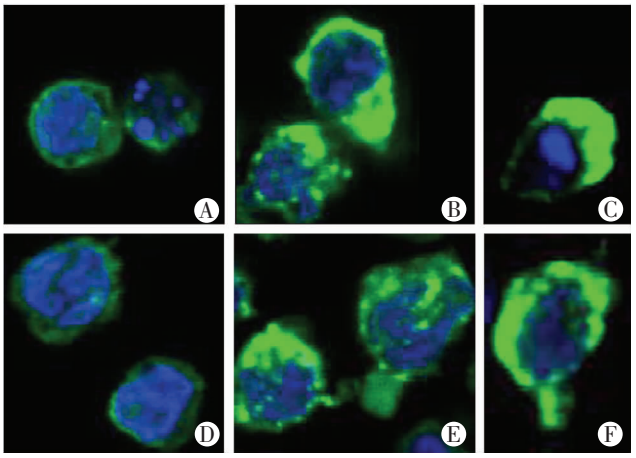
2.3 TRPM7基因干扰对dHL-60细胞极性化过程中磷酸化AKT的影响

如图3所示，电穿孔转染无义干扰片段的对照细胞在均匀浓度fMLP刺激1 min后，2个AKT磷酸化位点的水平出现轻微上调，而转染TRPM7的dHL-60细胞在fMLP刺激后，与无义干扰片段的对照相比，2个AKT磷酸化位点的水平明显上调，fMLP上调的AKT磷酸化水平在TRPM7 siRNA干扰后升高了55%左右（$P<0.05$），而总的AKT蛋白水平没有明显改变。为进一步说明AKT磷酸化水平的变化，我们用激光共聚焦显微镜观察了均匀浓度fMLP刺激dHL-60细胞后磷酸化AKT在细胞上的分布和转位情况，结果发现，在静息状态时，dHL-60细胞苏氨酸和丝氨酸位点的磷酸化AKT均匀分布在细胞质内和胞质膜上，且荧光量比较弱。用均匀浓度为100 nmol/L的fMLP刺激后，dHL-60细胞发生极性形态变化，2个位点的磷酸化AKT标记的绿色荧光增强，并从胞质转向了细胞膜，呈极性分布在质膜上，TRPM7 siRNA干扰后，磷酸化AKT标记的绿色荧光增强更加明显（图4）。以上结果说明TRPM7基因干扰后会增强fMLP对AKT依赖通路的激活。



1：无义干扰片段对照组；2：fMLP刺激的无义干扰片段对照组；3、4：fMLP刺激的TRPM7干扰组

图3 Western blot检测TRPM7基因干扰对fMLP刺激的dHL-60细胞磷酸化AKT蛋白表达的影响

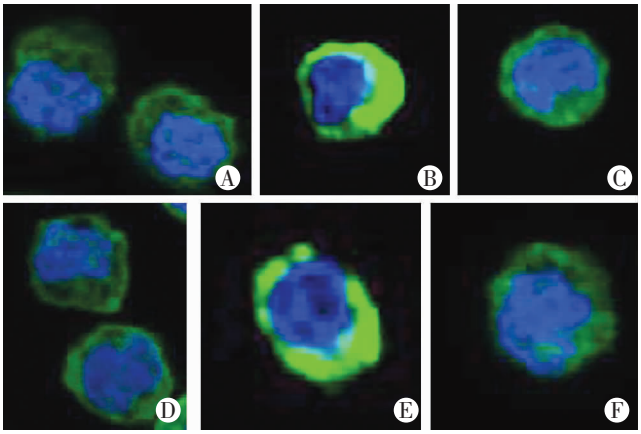


A：无义干扰片段对照组的p-AKT(T308)；B：fMLP刺激的无义干扰片段对照组的p-AKT(T308)；C：fMLP刺激TRPM7干扰组的p-AKT(T308)；D：无义干扰片段对照组的p-AKT(s473)；E：fMLP刺激的无义干扰片段对照组的p-AKT(s473)；F：fMLP刺激TRPM7干扰组的p-AKT(s473)

图4 细胞免疫荧光检测磷酸化AKT的定位情况 （×60）

2.4 AKT抑制剂对dHL-60细胞极性化过程中磷酸化AKT的影响

为进一步说明AKT在细胞极性化中的作用，我们用激光共聚焦显微镜观察均匀浓度fMLP刺激AKT特异性抑制剂Triciribine预处理的dHL-60细胞后磷酸化AKT在细胞上的分布和转位情况，结果发现，在静息状态时，dHL-60细胞苏氨酸和丝氨酸位点的磷酸化AKT均匀分布在细胞质内和细胞质膜上，且荧光量比较弱。用均匀浓度为100 nmol/L的fMLP刺激后，dHL-60细胞发生极性形态变化，2个位点的磷酸化AKT标记的绿色荧光增强，并从细胞质转向了细胞膜，呈极性分布在质膜上，Triciribine抑制AKT活性后，磷酸化AKT标记的绿色荧光减弱（图5）。



A:对照组的 p-AKT(T308);B:fMLP 刺激组的 p-AKT(T308);C:fMLP刺激的 Triciribine 组 p-AKT(T308);D:对照组的 p-AKT(s473);E:fMLP 组的 p-AKT(s473);F:fMLP 刺激的 Triciribine 组 p-AKT(s473)

图 5 激光共聚焦显微镜下观察 AKT 抑制剂 Triciribine 对 fMLP 刺激的磷酸化 AKT 定位的影响 (×60)

3 讨论

中性粒细胞在机体抵抗外来微生物感染及其炎症中发挥着重要作用,而细胞形成极性形态对于其发挥生理作用和导致组织慢性损伤至关重要,因此,探讨中性粒细胞极性的分子机制具有重要意义。由于中性粒细胞无法进行基因干扰方面的操作,因此,我们采用经典的替代细胞模型——经二甲亚砜(DMSO)诱导分化的具有中性粒细胞功能的类中性粒 dHL-60 细胞[9],在趋化肽 fMLP 的刺激下进行极性化实验并探讨其中的机制。

TRPM7 是一种非选择性阳离子通道,对包括 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 在内的众多二价和单价阳离子有通透性;另外 TRPM7 还具有蛋白激酶功能,可使自身或底物磷酸化[10-11]。TRPM7 在机体多种器官和组织中广泛表达,参与细胞内 Mg^{2+} 平衡的调节[12],并在细胞的黏附和迁移等重要生理过程中发挥重要作用[6-7]。本研究通过将 TRPM7 的靶向 siRNA 转染至 dHL-60 细胞中,经 Western blot 检测,发现与转染了无义干扰片段的对照相比,TRPM7 蛋白表达水平明显受到抑制,该结果表明:TRPM7 干扰能有效降低 dHL-60 细胞中内源性 TRPM7 蛋白的表达,为后续实验提供了研究基础。在细胞极性化方面,dHL-60 细胞转染 TRPM7 的干扰片段后,通过 Zigmond 小室方法检测,结果发现下调 TRPM7 蛋白后,细胞的极性化明显升高。

PI3K 依赖的信号转导通路广泛存在于细胞极性和迁移中,是经典的细胞极性信号转导通路。大量研究表明 PI3K 在 fMLP 诱导的中性粒细胞趋化和迁移中发挥着重要作用[13-16]。在 PI3K 依赖通路中,包括 fMLP、IL-8 等在内的刺激物,通过激活胞膜上的 G 蛋白偶联受体,释放亚单位 $G_{\beta}\gamma$,进一步激活 PI3K,活化的 PI3K 可以将磷脂酰肌醇二磷酸(phosphatidylinositol 3,4-bisphosphate, PIP_2)磷酸化成磷脂酰肌醇三磷酸(phosphatidylinositol 3,4,5-bisphosphate, PIP_3),聚集于极性化细胞的前极,并在这个新重组的肌动蛋白(F-actin)处招募丝氨酸/苏氨酸激酶 AKT,使其丝氨酸 308(threonine 308, T308)和苏氨酸 473(serine 473, ser473)2 个位点发生磷酸化[2, 17]。因此 PI3K 依赖通路又称 PI3K-AKT 通路,AKT 的磷酸化通常被作为 PI3K 依赖通路激活化的指标[14, 18]。本研究用 AKT 的特异性抑制剂 Triciribine 处理 dHL-60 细胞后,发现 Triciribine 可使磷酸化 AKT 的极性化分布消失,提示 AKT 活化在细胞极性机制的形成中的占有重要的作用[19]。为了进一步探讨 TRPM7 通道如何实现其对中性粒细胞极性的调节,我们检测了 TRPM7 下调后在 dHL-60 细胞中的丝氨酸/苏氨酸激酶 AKT 的活性,结果表明 dHL-60 细胞中磷酸化 AKT 蛋白呈现显著性增高,而总 AKT 蛋白没有明显改变。以上结果提示 TRPM7 蛋白在调节中性粒细胞极性的过程中可能是通过磷酸化 PI3K 的下游分子 AKT 来介导的。AKT 的活化在 dHL-60 细胞和中性粒细胞的极性化过程中可受钙库操纵的钙内流(store-operated calcium entry, SOCE)调节,研究发现基质相互作用分子(stromal interaction molecule, STIM)在其中起着重要的作用[20],在这个过程中是否 TRPM7 分子也参与其中,或通过调节 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 单独起作用,或由于其蛋白激酶的功能发挥作用? 这些问题需要进一步探索。

综上所述,本研究发现 TRPM7 在 dHL-60 细胞中可能通过 AKT 通路参与对细胞极性化的调控,为进一步明确中性粒细胞极性化的发生及其调控的分子机制提供了新的科学依据。

参考文献:

[1] Kantari C, Pederzoli-Ribeil M, Witko-Sarsat V. The role of neutrophils and monocytes in innate immunity[J]. Contrib Microbiol, 2008, 15: 118-146.

[2] Onsum M, Rao C V. A mathematical model for neutrophil gradient sensing and polarization[J]. PLoS Comput Biol, 2007, 3(3): e36.

[3] van-Faassen H, KuoLee R, Harris G, *et al*. Neutrophils play an important role in host resistance to respiratory infection with Acinetobacter baumannii in mice[J]. Infect Immun, 2007, 75(12): 5597-5608.

[4] Marks P W, Maxfield F R. Transient increases in cytosolic free calcium appear to be required for the migration of adherent human neutrophils

[J]. J Cell Biol, 1990, 110(1): 43 – 52.
[5] Steinckwich N, Frippiat J P, Stasia M J, *et al*. Potent inhibition of store-operated Ca^{2+} influx and superoxide production in HL60 cells and polymorphonuclear neutrophils by the pyrazole derivative BTP2[J]. J Leukoc Biol, 2007, 81(4): 1054 – 1064.
[6] Chakrabandhu K, Herincs Z, Huault S, *et al*. Palmitoylation is required for efficient Fas cell death signaling[J]. EMBO J, 2007, 26(1): 209 – 220.
[7] Kuras Z, Yun Y H, Chimote A A, *et al*. KCa3. 1 and TRPM7 channels at the uropod regulate migration of activated human T cells[J]. PLoS One, 2012, 7(8): e43859.
[8] Magalhaes M A, Sun C X, Glogauer M, *et al*. The major outer sheath protein of Treponema denticola selectively inhibits Rac1 activation in murine neutrophils[J]. Cell Microbiol, 2008, 10(2): 344 – 354.
[9] Hauert A B, Martinelli S, Marone C, *et al*. Differentiated HL-60 cells are a valid model system for the analysis of human neutrophil migration and chemotaxis[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2002, 34(7): 838 – 854.
[10] Bates-Withers C, Sah R, Clapham D E. TRPM7, the Mg^{2+} inhibited channel and kinase[J]. Adv Exp Med Biol, 2011, 704: 173 – 183.
[11] Paravicini T M, Chubanov V, Gudermann T. TRPM7: a unique channel involved in magnesium homeostasis[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2012, 44(8): 1381 – 1384.
[12] Chokshi R, Matsushita M, Kozak J A. Detailed examination of Mg^{2+} and pH sensitivity of human TRPM7 channels[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2012, 302(7): C1004 – C1011.
[13] Yoo S K, Deng Q, Cavnar P J, *et al*. Differential regulation of protrusion and polarity by PI3K during neutrophil motility in live zebrafish [J]. Dev Cell, 2010, 18(2): 226 – 236.
[14] Inoue T, Meyer T. Synthetic activation of endogenous PI3K and Rac identifies an AND-gate switch for cell polarization and migration[J]. PLoS One, 2008, 3(8): e3068.
[15] Hannigan M O, Huang C K, Wu D Q. Roles of PI3K in neutrophil function[J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2004, 282: 165 – 175.
[16] Andrews S, Stephens L R, Hawkins P T. PI3K class IB pathway in neutrophils[J]. Sci STKE, 2007, 2007(407): cm3.
[17] Kandel E S, Hay N. The regulation and activities of the multifunctional serine/threonine kinase Akt/PKB[J]. Exp Cell Res, 1999, 253(1): 210 – 229.
[18] Li Z, Dong X, Wang Z, *et al*. Regulation of PTEN by Rho small GTPases[J]. Nat Cell Biol, 2005, 7(4): 399 – 404.
[19] Zou W, Chu X, Cai C, *et al*. AKT-mediated regulation of polarization in differentiated human neutrophil-like HL-60 cells[J]. Inflamm Res, 2012, 61(8): 853 – 862.
[20] Zou W, Meng X, Cai C, *et al*. Store-operated Ca^{2+} entry (SOCE) plays a role in the polarization of neutrophil-like HL-60 cells by regulating the activation of Akt, Src, and Rho family GTPases[J]. Cell Physiol Biochem, 2012, 30(1): 221 – 237.

(**收稿**:2013-03-12;**修回**:2013-04-26)
(编辑 张 维)

(上接1906页)

2 讨论

肾上腺出血在胎儿期发生率极低,病因尚不清楚。文献报道称可能与解剖有关[1]:胎儿肾上腺体积较大,在妊娠中晚期与肾脏体积接近,在新生儿期约为肾脏的1/3,毛细血管丰富,血管壁菲薄;供给肾上腺血液的3条动脉中只有1条肌层纤维束能产生较大血流阻力的中央静脉引流肾上腺,故任何导致肾上腺静脉压力增高的因素都致毛细血管超负荷产生出血。右侧肾上腺静脉较短,长约4 mm,直接汇入下腔静脉;左侧肾上腺静脉长2~4 cm,与左膈下静脉汇合后注入左肾静脉,故右侧发病率是左侧的3~4倍[2]。另外,围产期胎儿窒息缺氧、酸中毒、应激、凝血机制障碍及维生素K缺乏都可能使血液在新生儿体内向心、脑、肾上腺重新分布,导致出血[1],而胎儿AH高危诱因尚需进一步研究。本组2例均为产前超声诊断病例,出生后进一步检查并长期随访观察,均为女性,右侧单发,与文献报道一致。

胎儿AH常因常规产前超声检查被发现,孕妇无特殊不适,胎儿各超声生物物理指标无特殊,可随访观察或出生后行超声、CT及MRI进一步明确,非手术对症治疗效果好。AH超声声像图有特征性改变:新鲜出血时可表现为囊性团块,随病情病程进展至血凝块形成后可表现为混合性团块,无血流,随访观察可见团块进行性缩小,并产生强回声钙化线或钙化环,直至肾上腺恢复正常形态[3]。本组2例胎儿AH均首次以囊性团块被超声发现,随病情进展二维超声表现为囊实性至不均质实性,彩色多普勒超声均表现为内部无血流,周边有或无血流。产前超声诊断AH需与肾上腺单纯囊肿、肾上腺肿瘤相鉴别,胎儿期单纯囊肿也可在新生儿期演变为肾上腺出血,需长期动态观察以提高诊断准确率[4]。彩色多普勒超声因其简便、无创、无辐射、可重复、实时动态等优点,是新生儿AH诊断的首选影像学检查[5],并在其动态监测中发挥重要作用。

参考文献:

[1] 朱雪萍, 肖志辉, 丁晓春, 等. 新生儿肾上腺出血5例[J]. 实用儿科临床杂志, 2012, 27(2): 94,152.
[2] Wang C H, Chen S J, Yang L Y, *et al*. Neonatal adrenal hemorrhage presenting as a multiloculated cystic mass[J]. J Chin Med Assoc, 2008, 71(9): 481 – 484.
[3] 赵雅萍, 邹春鹏, 许崇永, 等. 超声诊断新生儿肾上腺出血的意义[J]. 中华超声影像学杂志, 2010, 19(11): 963 – 965.
[4] 张超, 黄品同, 王亮, 等. 胎儿肾上腺囊性病变的超声观察[J]. 中华超声影像学杂志, 2009, 18(4): 323 – 325.
[5] Schrauder M G, Hammersen G, Siemer J, *et al*. Fetal adrenal haemorrhage-two-dimensional and three-dimensional imaging[J]. Fetal Diagn Ther, 2008, 23(1): 72 – 75.

(**收稿**:2013-05-01;**修回**:2013-07-28)
(编辑 吴培红)