文章编号:1000-5404(2013)14-1475-05

论著

MCF-7细胞他莫昔芬耐药过程中F-actin细胞骨架的重构促进细胞迁移

李振华,涂 刚,李维东,莫志强,杨光伦,罗浩军,柳满然 (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院内分泌乳腺外科)

[摘要] **目的** 研究人乳腺癌细胞MCF-7获得他莫昔芬(tamoxifen,TAM)耐药过程中发生的肌动蛋白细胞骨架重构及其对细胞迁移能力的影响,并探讨相关分子机制。**方法** 采用高浓度短时间4-羟基他莫昔芬(4-hydroxytamoxifen,OHT)冲击法诱导人乳腺癌MCF-7/TAM耐药细胞株(Tam-R)。运用FITC标记的鬼笔环肽染色观察纤维状肌动蛋白(F-actin)动态变化,免疫荧光分析E-钙粘蛋白在野生型MCF-7细胞(MCF-7W)及Tam-R细胞中的表达及分布,pull-down和Western blot检测小GTP酶Rac1活性,Transwell细胞迁移实验评估F-actin骨架重构对Tam-R细胞迁移能力的影响。**结果** MCF-7W细胞中F-actin富集于毗邻细胞膜周边,呈典型鹅卵石形态,E-钙粘蛋白分布与F-actin相似,可在毗邻细胞膜周边形成完整的黏附连接;而Tam-R细胞中F-actin纤维出现板状伪足和应力纤维两种异常形态,细胞外围不能通过E-cadherin与周围细胞形成完整的黏附连接。在Tam-R细胞中,PI3K抑制剂Wortmannin(WM)可抑制OHT引起的F-actin骨架重构、Rac1的活化和细胞迁移($P<0.05$),而ERK1/2抑制剂U0126对OHT引起的F-actin骨架重构无明显影响。**结论** OHT可能激活PI3K,促进Rac1活化,通过诱导F-actin骨架重构促进Tam-R细胞迁移。

[关键词] 乳腺癌; 他莫昔芬; 肌动蛋白; 迁移
[中图法分类号] R737.9;R966;R969.3 [文献标志码] A

Rearrangement of filament actin cytoskeleton promotes cell migration in MCF-7 cells during tamoxifen-induced resistance

Li Zhenhua, Tu Gang, Li Weidong, Mo Zhiqiang, Yang Guanglun, Luo Haojun, Liu Manran (Department of Endocrine Breast Surgery, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the rearrangement of filament actin(F-actin) cytoskeleton during the development of tamoxifen resistance in human breast cancer MCF-7 cells. **Methods** MCF-7 tamoxifen-resistant (Tam-R) cells were derived from wild-type MCF-7 (MCF-7W) cells by exposure to a high concentration of 4-hydroxytamoxifen (OHT) for a short period. The dynamic change of F-actin was visualized by FITC-Phalloidin staining. Immunofluorescence staining was used to evaluate the expression and distribution of E-cadherin in MCF-7W and Tam-R cells. Pull-down assay and Western blot analysis were utilized to analyze the activity of small GTPases Rac1. Transwell assay was used to evaluate the effects of F-actin cytoskeleton rearrangement on migratory ability of Tam-R cells. **Results** In MCF-7W cells, F-actin concentrated along the cell membrane like pebbles, and E-cadherin, distributed like F-actin, formed strong intercellular adhesion junction. In contrast, abnormal lamellipodia, stress fiber and reduced E-cadherin-mediated cell-cell adhesion were observed in Tam-R cells. Additionally, the PI3K inhibitor Wortmannin (WM) attenuated the activity of Rac1, rearrangement of actin cytoskeleton and cell migration($P<0.05$) induced by tamoxifen in Tam-R cells. The inhibitor of ERK, U0126, had few effects on the actin cytoskeleton rearrangement induced by OHT. **Conclusion** OHT probably activates PI3K and promotes Rac1 activation, and to promote the migration in Tam-R cells by inducing the rearrangement of actin cytoskeleton.

[**Key words**] breast cancer; tamoxifen; actin; migration

Supported by the General Program of National Nature Science Foundation of China (81072149). Corresponding author: Yang Guanglun, Tel: 86-23-89011191, E-mail: guanglunyang@163.com

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81072149)
[通信作者] 杨光伦,电话:(023)89011191,E-mail:guanglunyang@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130228.1714.010.html(2013-02-28)

他莫昔芬(tamoxifen,TAM)是乳腺癌内分泌治疗中最常使用的抗雌激素药物,但其长期使用所引起的继发耐药仍是严重的临床问题。本课题组前期研究证实通过高浓度短时间4-羟基他莫昔芬(4-hydroxytamoxifen, OHT)冲击法能成功诱导出TAM耐药的人乳腺癌MCF-7细胞株(tamoxifen-resistant MCF-7 cell line,Tam-R),与野生型MCF-7细胞(wild-type MCF-7 cells,MCF-7W)相比,其形态发生了明显改变[1]。细胞形态的改变对细胞迁移能力具有一定的影响,目前研究认为雌激素受体α(estrogen receptorα,ERα)信号下调[2-3]和非受体酪氨酸激酶Src活性升高[4]对乳腺癌细胞获得TAM耐药后的形态改变和迁移能力增强起着重要作用。纤维状肌动蛋白(filament actin,F-actin)在细胞的形态改变和迁移中具有重要作用,但有关F-actin骨架重构对Tam-R细胞的迁移作用尚不清楚。Zhou等[2]运用蛋白质组学分析表明大量与F-actin骨架重构相关的蛋白表达水平在MCF-7细胞获得TAM耐药前后发生了显著改变,提示在乳腺癌细胞获得TAM耐药的过程中发生了F-actin骨架重构。但目前尚缺乏MCF-7W细胞在获得TAM耐药过程中F-actin骨架重构及其对细胞迁移能力影响的直接证据。本实验旨在观察在OHT长期作用下,MCF-7细胞中的F-actin骨架重构的动态变化及其对细胞迁移能力的影响,并初步探讨其内在机制,以期为临床克服TAM等内分泌治疗药物耐药提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 细胞株、药物与主要试剂

人乳腺癌MCF-7细胞系购于中国科学院上海细胞生物所;DMEM培养液、胎牛血清购于Gibco公司;4-羟基他莫昔芬(OHT)、FITC标记的鬼笔环肽购于Sigma公司;Transwell小室、免疫印迹化学发光剂ECL购于Millipore公司;SDS配胶试剂购于碧云天生物技术有限公司;Rac1GTPase Pull-Down分析试剂盒及鼠抗人Rac1单抗购于Thermo scientific公司;兔抗人E-Cadherin多抗购于ABCAM inc公司。

1.2 实验方法

1.2.1 MCF-7细胞株的培养 含5%胎牛血清的DMEM培养液、37 ℃、5% CO_2饱和培养箱中培养MCF-7细胞,0.125%胰蛋白酶消化传代。每次实验取处于对数生长期的细胞(MCF-7W细胞)。

1.2.2 TAM耐药细胞株的诱导 MCF-7/TAM耐药细胞株按照我们前期报道的高浓度短时间OHT冲击法诱导获得[1]。即先将MCF-7W细胞暴露于1 μmol/L OHT中1个月,通过有限稀释法获得单克隆的TAM耐药细胞,并于0.5 μmol/L的OHT、5%胎牛血清的DMEM培养液中长期培养,每3天换液1次,每次换液后加入等浓度的OHT(Tam-R细胞)。

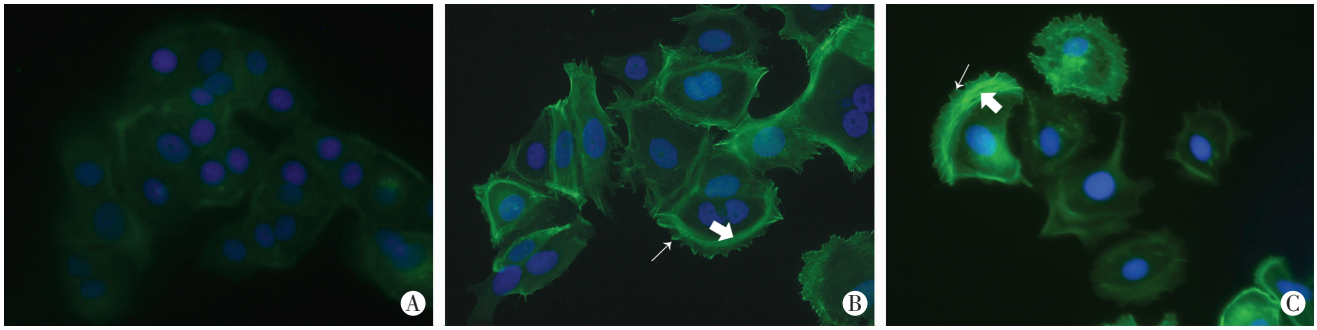
1.2.3 免疫荧光 分别选取未经OHT处理,或经OHT处理1、3个月的细胞按实验要求接种于10 mm×10 mm玻片上,磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatei-dylinositol 3 kinase,PI3K)抑制剂Wortmannin(WM)和细胞外信号调节激酶1/2(extracellular signal regulated kinase 1/2,ERK1/2)的抑制剂U0126在干扰OHT诱导F-actin骨架重构时所用浓度分别为0.1 μmol/L和0.5 μmol/L,与OHT同时加入,均作用48 h;细胞经相应处理后,固定和封闭均在室温下进行,用4%多聚甲醛固定15 min,0.1% Triton X-100透膜5 min,PBS洗3次,10%山羊血清封闭30 min,E-钙粘蛋白(E-Cadherin)抗体4 ℃孵育过夜,PBS洗3次,FITC标记的荧光二抗或FITC标记的鬼笔环肽(5 μg/mL)室温下孵育1 h,PBS洗3次,DAPI染核5 min,PBS洗3次,封片,荧光显微镜下观察。

1.2.4 pull-down和Western blot检测Rac1活性 将Tam-R细胞预先去除OHT培养3 d,用胰酶将MCF-7和Tam-R细胞消化后以40% ~50%的密度接种于培养皿中,待细胞贴壁后,加入药物处理(1 μmol/L OHT和1 μmol/L OHT+0.1 μmol/L WM的细胞设置为实验组,1 μmol/L乙醇溶剂的细胞设置为对照组)24 h后,加入裂解液(25 mmol/L Tris-HCl, pH 7.2, 150 mmol/L NaCl,5 mmol/L $MgCl_2$,1% Np-40 and 5% glycerol)于冰上裂解5 min。收集细胞并立即于4 ℃ 12 000 r/min离心15 min,BCA法测定蛋白浓度。将含有人Pak1激酶p21结合位点(p21-binding domain,PBD)的GST融合蛋白用谷胱甘肽-琼脂糖珠固定(GST-PBD),将离心收集的细胞悬液与GST-PBD于4 ℃孵育1 h,6 000 r/min离心30 s,无活性的Rac1(Rac1-GDP)随着细胞裂解液被离下,活化的Rac1(Rac1-GTP)则结合于GST-PBD上。用Wash Buffer(25 mmol/L Tris-HCl,pH 7.2, 150 mmol/L NaCl,5 mmol/L $MgCl_2$,1% Np-40 and 5% glycerol)洗涤GST-PBD琼脂糖珠3次,加入50 μL 2×SDS样本缓冲液于室温下孵育2 min,6 000 r/min离心2 min,活化的Rac1被从GST-PBD琼脂糖珠上洗脱下来。将分别含有Rac1-GTP和Rac1-GDP的样本于100 ℃加热5 min,12% SDS-PAGE电泳,Western blot检测分析Rac1的活性,一抗为Rac1鼠单抗,经辣根过氧化物酶(HRP)标记二抗孵育后,按ECL试剂盒说明书进行曝光。

1.2.5 Transwell细胞迁移实验 将Tam-R细胞预先去除OHT培养3 d,并于无血清培养基中饥饿24 h,胰酶消化收集细胞并计数,将药物实验组细胞重悬于终浓度为1 μmol/L OHT或1 μmol/L OHT+0.1 μmol/L WM的5%胎牛血清的DMEM培养液中,对照组重悬于终浓度为1 μmol/L乙醇溶剂的5%胎牛血清的DMEM培养液中,向Transwell小室下层中加入500 μL 5%胎牛血清的DMEM培养液,调整细胞数为5×10^5/mL,向Transwell小室上层中加入5×10^4细胞,将Transwell小室置于37 ℃、5% CO_2饱和培养箱中36 h,取出Transwell小室,用棉棒将上室中未迁移的细胞擦去,甲醇固定15 min,0.2%结晶紫染色5 min,显微镜下随机计数3个低倍镜视野中的细胞。

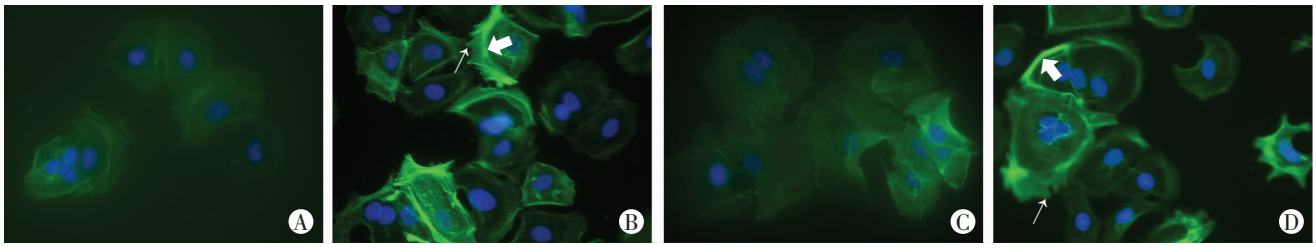
1.3 统计学方法

数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 13.0统计软件,实验重复3次,两组样本的均数比较采用t检验。



A:诱导前;B:诱导1个月;C:诱导3个月 ↑:板状伪足;⬆:应力纤维

图1 MCF-7细胞获得TAM耐药伴随着F-actin骨架重构 (荧光显微镜 ×400)



A:对照组;B:OHT组;C:OHT+WM组;D:OHT+U0126组 ↑:板状伪足;⬆:应力纤维

图3 阻断PI3K后抑制OHT引起的F-actin骨架重构 (荧光显微镜 ×400)

2 结果

2.1 MCF-7细胞获得TAM耐药伴随着F-actin骨架重构

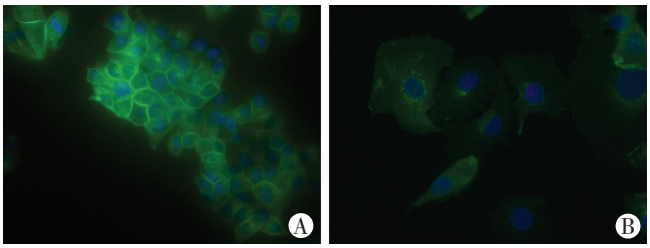
MCF-7W细胞相互镶嵌、团簇生长,F-actin表达较低,主要富集于毗邻细胞膜的周边,形成典型的鹅卵石形态,细胞大小均匀,外围光滑,几乎无突起或伪足形成(图1A)。经过1 μmol/L OHT处理1个月后,细胞间的黏附连接逐渐被破坏,在细胞毗邻的侧缘出现了缝隙,F-actin表达增多并向细胞周边转移,致使细胞体积变大,F-actin的纤维形态和排列出现异常,出现板状伪足和应力纤维(图1B)。经0.5 μmol/L OHT继续处理2个月后,细胞间的黏附连接被破坏,细胞分散生长,F-actin表达进一步增多,大量应力纤维形成,板状伪足呈卫星状分布于细胞边缘,部分细胞的F-actin分布出现极性(图1C)。

2.2 E-cadherin蛋白表达的差异

在MCF-7W细胞中,E-cadherin表达水平较高,分布与F-actin相似,主要富集在毗连细胞膜周边,细胞外围可通过E-cadherin与周围细胞形成完整的黏附连接(图2A)。而在Tam-R细胞中,E-cadherin随着F-actin细胞骨架的伸展而向细胞质里弥散,且细胞外围不能通过E-cadherin与周围细胞形成完整的黏附连接(图2B)。

2.3 OHT引起的F-actin骨架重构受PI3K调节

将Tam-R细胞预先去除OHT培养1周,可见细胞中的F-actin表达降低,应力纤维和板状伪足也相应减少(图3A),当加入1 μmol/L的OHT 48 h后F-actin骨架重新伸展变大,应力纤维和板状伪足也相应增多(图3B),加入PI3K的抑制剂WM阻止了这一变化(图3C),而ERK1/2的抑制剂U0126对OHT引起的F-actin骨架重构并未产生明显影响(图3D),表明在Tam-R细胞中F-actin骨架的重构受PI3K激酶调控。

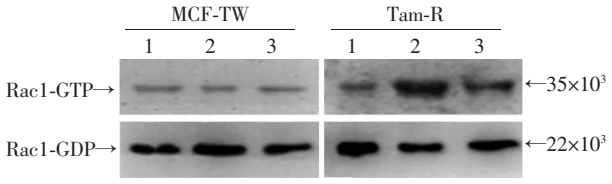


A:MCF-7W; B: Tam-R

图2 MCF-7W和Tam-R细胞中的E-cadherin表达
(荧光显微镜 ×400)

2.4 OHT能激活Tam-R细胞中的Rac1且受PI3K调节

在MCF-7W中,1 μmol/L OHT几乎不能激活Rac1;而在F-actin高表达的Tam-R细胞中,1 μmol/L OHT使Rac1的活性明显升高,加入0.1 μmol/L WM抑制了OHT对Rac1的激活(图4)。



1:对照组; 2:OHT组; 3: OHT+WM组

图4 OHT能激活Tam-R细胞中的Rac1且受PI3K调节

2.5 OHT对Tam-R细胞迁移的影响

Tam-R细胞经过36 h的迁移后,从Transwell小室上层迁移到膜背面的每个低倍镜视野中的平均细胞数为:对照组(50.0±4.0)个,OHT组(112.3±7.1)个,OHT+WM组(61.7±7.8)个;对照组与OHT组相比具有显著性差异($P<0.05$),OHT组与OHT+WM组相比具有显著性差异($P<0.05$)。实

验结果表明 OHT 能促进 Tam-R 细胞的迁移,且 PI3K 激酶能调节 OHT 对 Tam-R 细胞的促迁移效应。

3 讨论

TAM 在 ERα 阳性的乳腺癌治疗中具有显著的疗效,且明显降低了乳腺癌患者的病死率[5],然而 TAM 治疗的乳腺癌最终都会获得耐药[6],TAM 耐药后常常出现肿瘤的复发和远处转移。因此,TAM 的耐药机制及耐药性的逆转一直是研究的热点。Zhou 等[2]运用蛋白质组学分析得出,大量与 F-actin 骨架重构相关的蛋白表达水平在 MCF-7W 细胞获得 TAM 耐药前后发生了显著改变。本研究将 MCF-7W 细胞长期暴露于 OHT 下,用 FITC 标记的鬼笔环肽检测了不同时间段的 F-actin 骨架改变情况,为 MCF-7W 细胞在获得 TAM 耐药过程中发生的 F-actin 骨架重构提供了直接证据。结果显示,与 MCF-7W 细胞相比,Tam-R 细胞中的 F-actin 骨架发生了明显改变,表现为 F-actin 表达增多,大量应力纤维及与细胞运动密切相关的板状伪足形成。肿瘤细胞获得耐药后常常伴随着上皮间质转化,其特征之一是 E-cadherin 介导的细胞与细胞间的黏附连接减少,可导致肿瘤细胞的侵袭和迁移能力增强[7]。由于 E-cadherin 的胞内部分通过连环素与 F-actin 相连,所以 F-actin 骨架重构对 E-cadherin 介导的细胞间的黏附连接也有重要的影响[8]。本研究表明,随着 Tam-R 细胞中 F-actin 骨架伸展变大,E-cadherin 在细胞膜毗连区的表达降低,同时向细胞质里弥散,其介导的细胞间的黏附连接也明显减少。Rac1 是小 G 蛋白家族中的重要成员,常以 GTP 结合的活化形式和 GDP 结合的非活化形式存在,其活化型能使游离态的肌动蛋白聚合成多聚体形式的 F-actin,使细胞形态发生极性改变及在细胞的前缘形成板状伪足,从而促进细胞高效运动[9-10]。在本实验中,OHT 显著激活 Tam-R 细胞中的 Rac1,并伴随着 F-actin 表达升高及大量板状伪足呈卫星状分布于细胞边缘,且部分细胞的 F-actin 骨架出现极性分布。然而研究表明 Rac1 被激活后除了能使 F-actin 骨架重构引起细胞间的黏附连接减少外,还可使 F-actin 和 E-cadherin 重新富集于细胞膜毗连区,增加细胞间的黏附连接,从而减弱癌细胞的运动能力,目前认为 Rac1 这种既能增加上皮细胞间的黏附连接又能促进上皮细胞迁移的矛盾效应可能与细胞类型有关[8]。

目前研究认为 PI3K/丝苏氨酸蛋白激酶和 ERK1/2 两条信号通路在 TAM 耐药中发挥着重要作用[11]。然而本研究显示只有 PI3K 的抑制剂 WM 对 OHT 引起的 F-actin 骨架重构产生了抑制作用;相应地,WM 还抑制了 OHT 对 Rac1 的活化和促细胞迁移效应,与 Kim 等[12]报道的 PI3K 能调节 Rac1 的活性一致。但 PI3K 作为一个联系胞外信号与细胞应答的桥梁,往往在一系列上游或旁路信号分子的影响下作用于下游信号分子,因此 TAM 可能并不直接作用于 PI3K 而使 Rac1 活化。Flamini 等[13]在子宫内膜癌细胞中研究发现 TAM 和 E2 引起的 F-actin 骨架重构具有明显的相似性,它们均能引起子宫内膜癌细胞中的应力纤维快速解聚并组装成一个运动表型的 F-actin 细胞骨架,且 E2 对 F-actin 骨架重构是由膜结合型 ERα 介导的。虽然 TAM 和 E2 引起的细胞骨架重构表现出一定的相似性,但鉴于 TAM 是 ERα 阻断剂这一事实,其能否像 E2 一样通过膜结合型 ERα 调节 F-actin 骨架重构尚需进一步研究,但不能排除它们通过作用于 ERα 外的受体引起 F-actin 骨架重构。

本研究证实了人乳腺癌细胞 MCF-7 在获得 TAM 耐药的同时发生的 F-actin 骨架重构能促进其迁移,其机制可能是 TAM 激活了 PI3K/Rac1 信号通路。尽管 F-actin 骨架重构在细胞的生命活动中发挥着广泛而重要的作用,包括细胞与细胞之间的黏附,细胞内吞,胞内转运,细胞器的功能、基因转录及细胞分裂等[14-15],但目前尚未清楚其在乳腺癌细胞获得 TAM 耐药过程中是否发挥着作用,所以还需进一步研究。我们的研究为 TAM 引起乳腺癌细胞的迁移提供了有力的证据,将有助于进一步阐明 TAM 耐药的机制,为临床克服 TAM 等内分泌治疗药物耐药提供新的靶点。

参考文献:

[1] 莫志强, 涂 刚, 罗浩军, 等. 人乳腺癌 MCF-7 他莫昔芬耐药细胞株的建立及鉴定[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(21): 2256-2259.

[2] Zhou C, Zhong Q, Rhodes L V, *et al*. Proteomic analysis of acquired tamoxifen resistance in MCF-7 cells reveals expression signatures associated with enhanced migration[J]. Breast Cancer Res, 2012, 14(2): R45.

[3] Huderson B P, Duplessis T T, Williams C C, *et al*. Stable inhibition of specific estrogen receptor α (ERα) phosphorylation confers increased growth, migration/invasion, and disruption of estradiol signaling in MCF-7 breast cancer cells[J]. Endocrinology, 2012, 153(9): 4144-4159.

[4] Morgan L, Gee J, Pumford S, *et al*. Elevated Src kinase activity attenuates Tamoxifen response *in vitro* and is associated with poor prognosis clinically[J]. Cancer Biol Ther, 2009, 8(16): 1550-1558.

[5] Jordan V C. A century of deciphering the control mechanisms of sex steroid action in breast and prostate cancer: the origins of targeted therapy and chemoprevention[J]. Cancer Res, 2009, 69(4): 1243-1254.

[6] Bedard P L, Freedman O C, Howell A, *et al*. Overcoming endocrine resistance in breast cancer: are signal transduction inhibitors the answer? [J]. Breast Cancer Res Treat, 2008, 108(3): 307-317.

[7] Nurwidya F, Takahashi F, Murakami A, *et al*. Epithelial mesenchymal

transition in drug resistance and metastasis of lung cancer[J]. Cancer Res Treat, 2012, 44(3): 151-156.
[8] Menke A, Giehl K. Regulation of adherens junctions by Rho GTPases and p120-catenin[J]. Arch Biochem Biophys, 2012, 524(1): 48-55.
[9] Insall R H, Machesky L M. Actin dynamics at the leading edge: from simple machinery to complex networks[J]. Dev Cell, 2009, 17(3): 310-322.
[10] Leve F, Morgado-Diaz J A. Rho GTPase signaling in the development of colorectal cancer[J]. J Cell Biochem, 2012, 113(8): 2549-2559.
[11] Ghayad S E, Vendrell J A, Larbi S B, *et al*. Endocrine resistance associated with activated ErbB system in breast cancer cells is reversed by inhibiting MAPK or PI3K/Akt signaling pathways[J]. Int J Cancer, 2010, 126(2): 545-562.
[12] Kim E K, Yun S J, Ha J M, *et al*. Synergistic induction of cancer cell migration regulated by Gβγ and phosphatidylinositol 3-kinase [J]. Exp Mol Med, 2012, 44(8): 483-491.
[13] Flamini M I, Sanchez A M, Goglia L, *et al*. Differential actions of estrogen and SERMs in regulation of the actin cytoskeleton of endometrial cells[J]. Mol Hum Reprod, 2009, 15(10): 675-685.
[14] Rathinam R, Berrier A, Alahari S K. Role of Rho GTPases and their regulators in cancer progression[J]. Front Biosci, 2011, 17: 2561-2571.
[15] Wertheimer E, Gutierrez-Uzquiza A, Rosemblit C, *et al*. Rac signaling in breast cancer: a tale of GEFs and GAPs[J]. Cell Signal, 2012, 24(2): 353-362.

(**收稿**:2012-12-17;**修回**:2013-01-23)
(编辑 汪勤俭)

文章编号:1000-5404(2013)14-1479-01

经验交流

263例儿童传染性单核细胞增多症的临床分析

常 琴,赵雪晴,吕奎林,王丽雁,张雨平 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院儿科)

[**关键词**] 儿童;传染性单核细胞增多症;异形淋巴细胞
[**中图法分类号**] R725.11 [**文献标志码**] B

传染性单核细胞增多症(infectious mononucleosis,IM)是一种单核-巨噬细胞系统急性增生性传染病,主要由EB病毒(Epstein-Barr virus,EBV)感染引起[1-2],临床表现多种多样,易出现误诊、误治。我们分析了263例IM患儿的临床表现及实验室检查特点,以提高对IM的诊断及重症判别能力,减少误诊。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集2009年1月至2012年1月在本科住院治疗的263例IM患儿,参照《血液病诊断及疗效标准》中IM诊断标准。其中男性170例,女性93例;发病年龄6个月至13岁,其中6个月至1岁43例(16.35%),>1~3岁98例(37.26%),>3~6岁75例(28.52%),>6~13岁47例(17.87%);发病季节:夏秋季(6~11月)占58.17%,高于冬春季(12月~次年5月)。

1.2 方法

对263例IM患儿的病史、体格检查、辅助检查及疾病演变过程进行回顾性分析。

计数资料采用SPSS 13.0统计软件行χ^2检验。

2 结果

2.1 临床症状与体征特点

263例患儿中发热242例(92.02%),体温多在38.2~41 ℃,以不规则发热、弛张热型为主,以婴幼儿期病例发热较为常见;咽峡炎239例(90.87%),其中扁桃体膜性分泌物108例(41.07%),以学龄前期儿童病例较为常见;鼻塞49例(18.63%);淋巴结肿大226例(85.93%);肝肿大85例(32.32%);脾肿大39例(14.83%)。见表1。

表1 不同年龄组患儿主要临床表现[例数(%)]

组别	n	发热	咽峡炎	淋巴结肿大	肝肿大	脾肿大
6个月至1岁	43	41(95.35)	38(88.37)	28(65.12)	12(27.91)	2(4.65)
>1~3岁	98	92(93.89)	90(91.84)	86(87.76)	33(33.67)	8(8.16)
>3~6岁	75	68(90.67)	71(94.67)	69(92.00)	21(28.00)	19(25.33)
>6~13岁	47	41(87.23)	40(85.11)	43(91.49)	19(40.43)	10(21.28)

2.2 实验室检查特点

263例患儿血常规检查显示白细胞$<4\times10^9$/L 51例(19.39%),$(4\sim10)\times10^9$/L 133例(50.57%),$>10\times10^9$/L 79例(30.04%)。236例患儿异形淋巴细胞≥10% 236例(89.73%)。162例(61.60%)EBV IgM抗体(EBV-VCA-IgM)阳性。86例(37.70%)出现肝功能异常。17例出现心肌酶谱异常。不同异淋百分比患儿各项临床指标见表2。

表2 不同异淋百分比患儿的各项临床指标比较[例数(%)]

异形淋巴细胞	n	肝功能异常	心肌酶谱异常	EBV-VCA-IgM(+)	肝肿大
<10%	27	9(33.33)	0(0)	27(100.00)	0(0)
10%~20%	155	25(16.13)	12(7.74)	77(49.68)	46(29.68)
>20%~40%	62	38(61.29)	5(8.06)	39(62.90)	28(45.16)
>40%	19	14(73.68)	0(0)	19(100.00)	11(57.90)
合计	263	86	17	162	85
P值		<0.001	0.277	<0.001	<0.001

[**通信作者**] 张雨平,E-mail:zhangyp99@yahoo.com.cn
[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130428.0820.012.html(2013-04-28)

(下转1484页)