论著

文章编号:1000-5404(2014)13-1408-05

实验性自身免疫性脑脊髓膜炎小鼠中 IL-27 对 CCL5 表达的影响

燕伟平[1],秦新月[1],黄 琦[2],程 创[1] (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院神经内科,重庆市神经病学重点实验室[1];215400 江苏 太仓,太仓市第一人民医院神经内科[2])

[摘要] **目的** 探讨白介素-27(interleukin-27,IL-27)对中枢神经系统(central nervous system,CNS)炎性趋化因子(chemokine RANTES,CCL5)的调节作用,以及在小鼠实验性自身免疫性脑脊髓膜炎(experimental autoimmune encephalomyelitis,EAE)中的治疗效果。**方法** 40 只雌性 C57BL/6 小鼠建模后,分别于第0、7、14、21 天用 Western blot 检测 CNS 中 IL-27 和 CCL5 的变化。另将 50 只小鼠随机分为正常组、EAE 组、EAE + IL-27 组、EAE + SC144(IL-27 受体抑制剂)组和 EAE + PBS 组,定期观察动物行为变化,并在建模后21 d 检测 CCL5 的表达。**结果** 建模后,IL-27 在 CNS 中的表达随时间逐渐升高,而 CCL5 的表达随时间先升高后下降。经 IL-27 干预后,小鼠神经功能缺损较对照减轻($P<0.05$),而 SC144 组小鼠神经功能缺损较其他组加重($P<0.05$)。在 21 d,CCL5 在 IL-27 干预组的表达较 EAE 模型组明显降低($P<0.05$),而在 SC144 组较 EAE 模型组显著增高($P<0.05$)。**结论** 在 EAE 模型中,IL-27 抑制 CCL5 的表达,从而发挥抗炎作用减轻小鼠神经功能缺损。

[关键词] IL-27;CCL5;EAE 模型
[中图法分类号] R-332; R392.11; R515.2 [文献标志码] A

Effect of IL-27 on CCL5 expression in experimental autoimmune encephalomyelitis mice

Yan Weiping[1], Qin Xinyue[1], Huang Qi[2], Cheng Chuang[1] ([1]Department of Neurology, Chongqing Key Laboratory of Neurology, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016; [2]Department of Neurology, First People's Hospital of Taicang City, Taicang, Jiangsu Province, 215400, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine regulating effect of interleukin-27 (IL-27) on the expression of central nervous system (CNS) chemokine RANTES (CCL5), and investigate its therapeutic effect on experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in mice. **Methods** EAE models were established in 40 female C57BL/6 mice by inoculating homogenate containing myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG_{31-55}) and complete Freund's adjuvant (CFA), and then the rabbits were killed in 0, 7, 14 and 21 d later for the expression of IL-27 and CCL5 in the CNS by Western blotting. Another 50 female C57BL/6 mice were randomly divided into normal control group, EAE group, EAE + IL-27 group, EAE + SC144 (IL-12 receptor inhibitor) group and EAE + PBS group. The behavior changes were observed. The expression of CCL5 at protein and mRNA levels was detected in the CNS by Western blotting and real-time PCR in 21 d after EAE model establishment. **Results** After EAE model was established, the expression of IL-27 in the CNS was increased with time elapse, while the expression of CCL5 was reduced with time. IL-27 intervention resulted in milder injury in neural function ($P<0.05$), while SC144 treatment enhanced the injury ($P<0.05$). In 21 d after EAE model establishment, the mRNA and protein expression of CCL5 was significantly decreased in the IL-27 intervention group than the EAE model group ($P<0.05$), while the expression was increased significantly in SC144 group ($P<0.05$). **Conclusion** In EAE mice, IL-27 suppresses the expression of CCL5 at protein and mRNA levels, and thus exerts an anti-inflammatory effect to reduce the nerve function, which might provide a new drug target for CNS autoimmune inflammatory disease.

[**Key words**] IL-27; CCL5; experimental autoimmune encephalomyelitis

Corresponding author: Qin Xinyue, Tel: 86-23-89012008, E-mail: qinxinyue@yahoo.com

[通信作者] 秦新月,电话:(023)89012008,E-mail:qinxinyue@yahoo.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140126.1056.021.html(2014-01-26)

多发性硬化(multiple sclerosis,MS)是一种中枢神经系统自身免疫性疾病,是中青年人群中最常见的神经系统疾病之一。由于MS病程反复,炎症反应对MS的发生、发展起重要作用[1]。因此,减少炎症细胞向中枢神经系统(central nervous system,CNS)的浸润具有重要的临床意义。

白介素-27(interleukin-27,IL-27)是近年来新发现的IL-12家族成员,主要由激活的抗原递呈细胞、巨噬细胞和树突状细胞产生,在自身免疫疾病和宿主抗感染过程中起着重要作用[2]。炎性趋化因子(chemokine RANTES,CCL5)是T淋巴细胞产生的炎性趋化因子之一,可以诱导白细胞黏附并穿过血脑屏障进入CNS,从而引起一系列的炎症反应和继发病变[3]。在缓解-复发型MS中,抑制CCL5受体的表达可以预防疾病的复发[4]。目前,有很多国内外研究及报道提示,在炎症性疾病中,IL-27和CCL5存在一定的相关性,但其之间相互影响尚不清楚。本研究探讨IL-27对CCL5的作用,旨在为预防MS患者的复发提供新的药物靶点。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

兔抗小鼠IL-27多克隆抗体(武汉三鹰生物技术有限公司);兔抗小鼠CCL5多克隆抗体(北京博奥森生物有限公司);SABC免疫组化检测试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司);鼠β-actin单克隆IgG、山羊抗兔IgG-HRP(Santa Cruz公司);小鼠IL-27重组蛋白(ProSpec公司);SC144(Selleckchem公司);少突胶质细胞髓鞘糖蛋白MOG_{31-55}多肽(Sigma公司);所有引物由上海生物工程技术服务有限公司合成,卡介苗购自中国生物制品研究所;弗氏完全佐剂(CFA)购自美国Sigma公司;百日咳菌液由重庆市渝中区疫病预防与控制中心赠送。

1.2 实验动物

90只雌性C57BL/6小鼠(8~10周),购自重庆医科大学动物实验中心,饲养于重庆医科大学附属第一医院动物实验中心空气层流饲养室(不限食物与水摄入)。所有小鼠在相同环境下喂养,饲养环境温度18~28 ℃,相对湿度40% ~80%,每天喂养正常鼠粮。饲养以及实验过程符合《实验室动物饲养和使用条例》。

1.3 实验性自身免疫性脑脊髓膜炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)的建立

MOG_{31-55}多肽用PBS(0.01 mol/mL,pH 7.2)稀释(MOG31-55多肽:3.0 mg/mL)后与CFA等体积混合成乳浊液,于小鼠四肢皮下注射(0.2 mL/只)。分别于免疫后0 h和48 h腹腔注射百日咳菌稀释液(15 μg/kg)。观察小鼠体质量、症状及中枢神经系统病理改变,评估EAE建模情况[2]。

1.4 神经功能评分

观察正常对照组、EAE组、EAE+IL-27组、EAE+SC144组和EAE+PBS组动物每日体质量变化及活动情况,参照Kono等[5]提出的标准进行神经功能评分:0分:正常,无发病;1分:动物尾部无力;2分:双后肢无力;3分:双后肢麻痹;4分:双后肢加前肢瘫痪;5分:濒死或死亡。症状介于两级之间取均值,达到或超过1级为临床发病。

1.5 动物处理及标本采集

40只雌性C57BL/6小鼠建模后,分别于0、7、14、21 d麻醉(水合氯醛0.3 g/kg,腹腔注射)处死,取脑白质、脊髓腰膨大和颈膨大段组织,冷PBS清洗后,分作两份,一份液氮速冻后,保存于-70 ℃,另一份固定于4%多聚甲醛。将50只实验组动物随机分为正常对照组、EAE组、EAE+IL-27组、EAE+SC144组和EAE+PBS组,IL-27组自MOG免疫第0天开始腹腔注射IL-27(25 mg/kg)[6],SC144组自MOG免疫第0天开始腹腔注射SC144(25 mg/kg),PBS组免疫第0天开始腹腔注射PBS(25 mL/kg),直至21 d处死为止。

1.6 Western blot检测IL-27和CCL5的表达

取新鲜脑白质和脊髓组织经RIPA裂解液(碧云天)裂解提取全蛋白,4 ℃离心(12 000×*g*,5 min),取上清,BCA法测定蛋白浓度,加入5×Loading buffer,95 ℃变性10 min后,取等量蛋白行10%十二烷基磺酸-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)电泳后,转移到PVDF膜上;5%脱脂奶粉37 ℃封闭1 h。加入IL-27、CCL5或β-actin一抗(1∶500),4 ℃孵育过夜;TBST洗涤10 min×3次,加入二抗(山羊抗兔)37 ℃孵育1 h,TBST洗涤10 min×3次,加入ECL显影液(碧云天),凝胶成像仪成像,Quantity One软件分析蛋白表达水平。

1.7 免疫组化检测CCL5的表达

将固定好的脑组织常规脱水、浸蜡、包埋,5 μm连续切片黏附在防脱载玻片上,60 ℃恒温干燥箱中烘烤过夜(>12 h);再经脱蜡、水化后,0.01 mol/L枸橼酸盐溶液微波抗原修复15 min,自然冷却至室温;3% H_2O_2液和山羊血清先后于室温封闭15 min;甩去多余封闭液,加入CCL5多抗(1∶100),湿盒中4 ℃过夜;滴加兔SABC试剂盒检测试剂,37 ℃孵育30 min;DAB显色,苏木精复染3 min,中性树胶封片,光镜下观察,以细胞膜或细胞质出现棕黄色颗粒为阳性着色,结果用Neat Image Pro+软件进行分析。

1.8 实时定量聚合酶链反应(Real-time PCR)

组织加液氮研碎,总RNA提取使用TRIzol提取试剂,严格按说明书步骤操作提取总RNA,在紫外分光光度仪上于260 nm波长下检测浓度。引物通过Primer Premier5设计,GAPDH为内参(上游:5′-CCTACCCCCAATGTATCCGTTGTG-3′,下游:5′-GGAGGAATGGGAGTTGCTGTTGAA-3′,产物长度100 bp);鼠CCL5(上游:5′-AGCCCTCGCTGTCATCCT-3′,下游:5′-CACTTGGCGGTTCTTTCG-3′,产物长度200 bp)。逆转录制备cDNA及RT-qPCR反应均在PCR System 7500中进行。按照逆转录试剂盒说明书固定地每20 μL体系将0.9 μg总RNA逆转录为cDNA。取逆转录的产物c DNA 2 μL、上下游引物各0.5 μL、SYBR Green PCR master mix 10 μL、ddH_2O 7 μL,共20 μL加入扩增反应体系。反应条件:94℃预变性5 min,94 ℃ 30 s,57 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s,40个循环,最后72 ℃延伸10 min。参照内参GAPDH的表达进行相对定量分析,计算出CCL5 mRNA在脑组

织中的相对表达量。每个样本重复3次。

1.10 统计学分析

采用SPSS 16.0统计软件，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间参数比较行单因素方差分析。

2 结果

2.1 神经行为学改变

EAE组小鼠最早在免疫后10 d开始发病，大多数集中在12～16 d发病，并于2～4 d后达到疾病高峰。EAE＋PBS组小鼠临床神经行为学评分与EAE组小鼠评分一致。与EAE模型组相比，IL-27干预组小鼠神经功能评分明显降低，发病开始时间相对延后，并很快恢复正常；而SC144组小鼠开始发病时间相对提前，神经功能评分维持在较高水平（图1）。

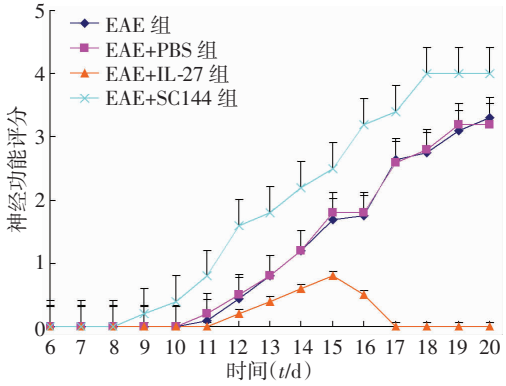
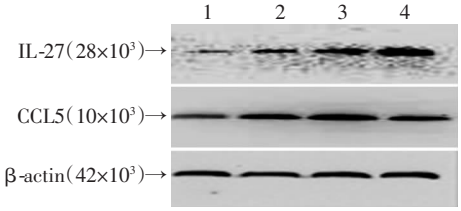


图1 免疫后不同时间各组小鼠神经功能评分

2.2 EAE疾病不同阶段脑白质中IL-27和CCL5表达

Western blot检测结果（图2）显示，在EAE疾病的过程中，EAE小鼠脑白质中IL-27的表达量逐渐增高：0 d（0.05±1.87），7 d（0.35±2.17），14 d（0.82±1.65），21 d（1.23±2.23）；而CCL5的表达表现为先升高后降低：0 d（0.30±2.26），7 d（0.82±1.76），14 d（1.05±1.99），21 d（0.43±2.14）。



1：0 d；2：7 d；3：14 d；4：21 d

图2 Western blot检测不同病程小鼠脑白质IL-27和CCL5的表达变化

2.3 病理学观察

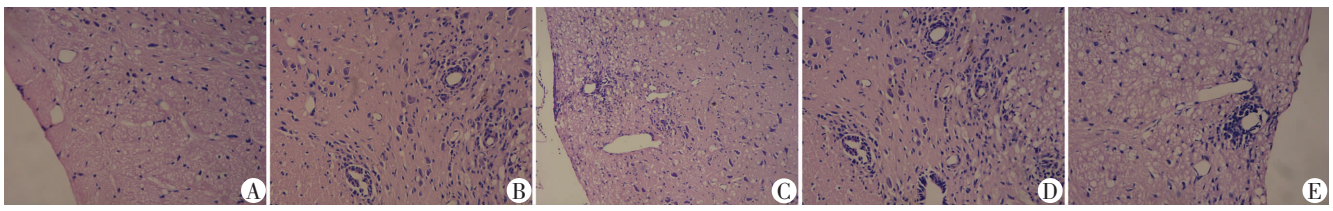
HE染色示正常组小鼠脊髓无明显炎性细胞浸润；EAE组血管周围有明显炎性细胞浸润，呈典型“血管袖套样”改变，且实质内亦有明显炎症细胞浸润，以淋巴细胞为主，少见胶质细胞；EAE＋IL-27组小鼠炎性浸润较EAE组有明显减轻，但血管周围仍有炎性细胞；EAE＋ SC144组炎性浸润程度最重，较多“血管袖套样”改变；EAE＋PBS组炎症较EAE组无明显改善（图3）。

2.4 IL-27干预后脑白质中CCL5蛋白的表达

CCL5经免疫组化染色，光镜下观察可见疏松的小鼠脑白质中阳性表达呈棕黄色。光密度分析结果显示，与正常组（5.30±3.14）相比，EAE组（33.60±7.64）、EAE＋SC144组（58.37±2.16）和EAE＋PBS组（30.23±5.12）小鼠的CCL5表达明显上调（$P<0.05$）；与EAE组相比，EAE＋IL-27组（10.80±2.17）小鼠的CCL5表达显著降低（$P<0.05$），EAE＋SC144组小鼠的CCL5表达明显增高（$P<0.05$，图4）。Western blot检测结果（图5）与免疫组化结果一致。

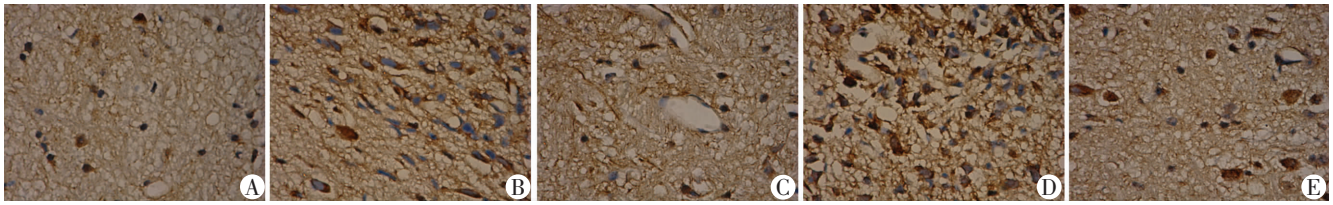
2.5 IL-27干预后脑白质中CCL5 mRNA的表达

Real-time PCR检测结果显示CCL5 mRNA水平与蛋白水平表达基本一致：与正常组相比，EAE组、SC144组和PBS组小鼠的CCL5 mRNA表达明显上调（$P<0.05$）；与EAE组相比，IL-27组小鼠的CCL5表达显著降低（$P<0.05$），SC144组小鼠的CCL5表达明显增高（$P<0.05$，图6）。



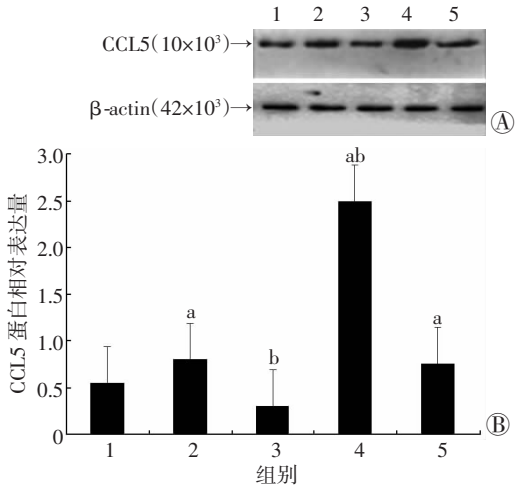
A：正常组；B：EAE组；C：EAE＋IL-27组；D：EAE＋ SC144组；E：EAE＋PBS组 ↑：示“血管袖套样”改变

图3 光镜观察各组脑组织炎症浸润情况 （HE ×200）



A：正常组；B：EAE组；C：EAE＋IL-27组；D：EAE＋ SC144组；E：EAE＋PBS组 ↑：示CCL5主要定位于浸润性淋巴细胞的细胞质

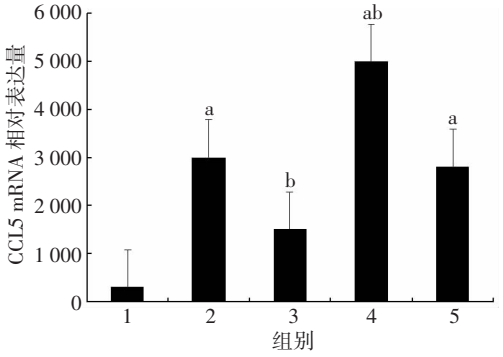
图4 免疫组化观察各组小鼠脑组织中CCL5的表达水平 （IHC ×200）



1:正常组;2:EAE 组;3:EAE + IL-27 组;4:EAE + SC144 组;5:EAE + PBS 组

A:Western blot 检测结果;B:半定量分析结果 a:$P<0.05$,与正常组比较;b: $P<0.05$,与 EAE 组比较

图 5 Western blot 检测组 CCL5 蛋白水平的变化



1:正常组;2:EAE 组;3:EAE + IL-27 组;4:EAE + SC144 组;5:EAE + PBS 组;a:$P<0.05$,与正常组比较;b: $P<0.05$,与 EAE 组比较

图 6 Real-time PCR 检测各组小鼠脑白质 CCL5 mRNA 的表达

3 讨论

实验性自身免疫性脑脊髓膜炎是特异性致敏 $CD4^+$ T 细胞介导的,中枢神经系统内小血管周围单核细胞浸润以及髓鞘脱失的自身免疫性病变。本研究证明,在 EAE 脊髓病变区,血管周围有明显炎性细胞浸润,呈典型“血管袖套样”改变[7]。CCL5(RANTES)诱导炎症细胞进入中枢神经系统、激活 T 细胞,并可使这些细胞分化为 Th1/Th17,从而诱发炎症反应。在 MOG_{35-55}诱导的 EAE 小鼠中, CCL5 的表达与小鼠脑部单核细胞的黏附和浸润高度相关[7],并与多发性硬化 MS 患者的病损程度相关联。在 MS/EAE 疾病的 CNS 中,浸润性炎症细胞包括血管周围和脑实质巨噬细胞、小胶质细胞和 T 淋巴细胞[8]。这些细胞显示出炎症相关的细胞因子的显著上调,如 IL-1、TNF-α、巨噬细胞集落刺激因子、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、IL-12 和 IL-23 及 IL-27。

IL-27 由两个不同亚基组成:即 p28 亚基和可溶性细胞因子受体 EB 诱导基因[9],主要由激活的抗原递呈细胞、巨噬细胞和树突状细胞产生。自 IL-27 被发现以来,已显示出在免疫反应调控中的独特作用:诱导 Th1 细胞的分化,抑制 Th2 细胞和 Th17 细胞的发育,同时具有促炎与抗炎的双重特征。在高度 Th1 极化时,IL-27 的主要作用是限制 Th1 型免疫反应的强度和持续时间,从而保护机体免受过度的免疫反应的损伤[10]。IFN-γ 由自我激活的 Th1 细胞分泌,是 EAE 疾病过程中的关键炎症性细胞因子,体外培养的少突胶质细胞中加入 IFN-γ 后,CCL5 的表达明显增加[11]。

本实验显示,IL-27 的表达表现出逐渐增高的趋势,与 Li 等[12]的结果一致,说明 IL-27 在 EAE 疾病的整个过程中都发挥着重要作用,尤其是在疾病高峰期,Th1 细胞高度极化的情况下,逐渐发挥其抗炎作用;而 CCL5 的表达量在 EAE 早期升高,在疾病高峰期又逐渐降低,跟 Dos-Santos 等[13]报道的结果一致。这是因为 CCL5 是一种炎性趋化因子,在脱髓鞘疾病的起始和复发阶段发挥着重要的作用[14]。我们推测,在疾病高峰期,CCL5 的表达量的降低是受 IL-27 的抑制作用影响。所以,我们对正常组、EAE 组、EAE + IL-27 组、EAE + SC144 组和 EAE + PBS 组小鼠 CNS 进行 CCL5 的检测,通过免疫组化和 Western blot 可看出,与 EAE 模型组相比,IL-27 干预组 CCL5 蛋白表达显著降低($P<0.05$),而 SC144 组 CCL5 蛋白表达明显增多($P<0.05$);通过 PCR 发现 IL-27 可诱导 CCL5 在 mRNA 表达水平明显受抑制($P<0.05$)。通过对 5 组小鼠神经行为学的评分可以看出,IL-27 可以明显延缓 EAE 小鼠的起病时间并减轻其病损程度。在 MS 中,抑制 CCL5 受体的表达可以减轻疾病的严重程度并预防疾病的复发[5]。

综上所述,本研究表明 IL-27 可抑制 EAE 小鼠中枢神经系统中 CCL5 的表达,从而起到对 EAE 小鼠的保护作用,降低疾病的严重程度和复发率。因此,IL-27 为治疗多发性硬化提供了一个新的治疗靶点。但本实验的结果尚不能明确提示 CCL5 表达的抑制是在启动子水平还是在 mRNA 水平,抑或在启动子水平和 mRNA 水平共同存在阻断抑制,尚待进一步的研究与探讨。

参考文献:

[1] Proudfoot A E, de-Souza A L, Muzio V. The use of chemokine antagonists in EAE models[J]. J Neuroimmunol, 2008, 198 (1/2) : 27 - 30.

[2] Xiao Y, Xu J, Wang S, *et al*. Genetic ablation of steroid receptor co-

activator-3 promotes PPAR-beta-mediated alternative activation of microglia in experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. Glia, 2010, 58(8): 932-942.

[3] Kan Q C, Zhu L, Liu N, *et al*. Matrine suppresses expression of adhesion molecules and chemokines as a mechanism underlying its therapeutic effect in CNS autoimmunity[J]. Immunol Res, 2013, 56(1): 189-196.

[4] Van-Veen T, Nielsen J, Berkhof J, *et al*. CCL5 and CCR5 genotypes modify clinical, radiological and pathological features of multiple sclerosis[J]. J Neuroimmunol, 2007, 190(1/2): 157-164.

[5] Chong W P, Horai R, Mattapallil M J, *et al*. IL-27p28 inhibits central nervous system autoimmunity by concurrently antagonizing Th1 and Th17 responses[J]. J Autoimmun, 2014, 50: 12-22.

[6] Moraes A S, Paula R F, Pradella F, *et al*. The suppressive effect of IL-27 on encephalitogenic Th17 cells induced by multiwalled Carbon nanotubes reduces the severity of experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. CNS Neurosci Ther, 2013, 19(9): 682-687.

[7] Teixeira M M, Vilela M C, Soriani F M, *et al*. Using intravital microscopy to study the role of chemokines during infection and inflammation in the central nervous system[J]. J Neuroimmunol, 2010, 224(1/2): 62-65.

[8] Lassmann H, Bruck W, Lucchinetti C F. The immunopathology of multiple sclerosis: an overview[J]. Brain Pathol, 2007, 17(2): 210-218.

[9] Pot C, Apetoh L, Awasthi A, *et al*. Molecular pathways in the induction of interleukin-27-driven regulatory type 1 cells[J]. J Interferon Cytokine Res, 2010, 30(6): 381-388.

[10] Mascanfroni I D, Yeste A, Vieira S M, *et al*. IL-27 acts on DCs to suppress the T cell response and autoimmunity by inducing expression of the immunoregulatory molecule CD39[J]. Nat Immunol, 2013, 14(10): 1054-1063.

[11] Balabanov R, Strand K, Goswami R, *et al*. Interferon-gamma-oligodendrocyte interactions in the regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. J Neurosci, 2007, 27(8): 2013-2024.

[12] Li J, Gran B, Zhang G X, *et al*. IL-27 subunits and its receptor (WSX-1) mRNAs are markedly up-regulated in inflammatory cells in the CNS during experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. J Neurol Sci, 2005, 232(1/2): 3-9.

[13] Dos-Santos A C, Barsante M M, Arantes R M, *et al*. CCL2 and CCL5 mediate leukocyte adhesion in experimental autoimmune encephalomyelitis--an intravital microscopy study[J]. J Neuroimmunol, 2005, 162(1/2): 122-129.

[14] Di-Prisco S, Merega E, Milanese M, *et al*. CCL5-glutamate interaction in central nervous system: Early and acute presynaptic defects in EAE mice[J]. Neuropharmacology, 2013, 75: 337-346.

(**收稿**:2013-11-04;**修回**:2014-01-03)

(编辑 王小寒)

(上接1407页)

塞发生率为11%~46%[1-3]。随着PCI技术的推广应用,冠脉穿孔发生率呈增加趋势。冠脉穿孔按国际Ellis分型:Ⅰ型,造影剂突出血管腔之外形成龛影,但无外漏;Ⅱ型,心外膜或者心肌造影剂染色,但并无造影剂喷射样外泄,破孔直径<1 mm;Ⅲ型,造影剂经破口喷射样外泄,进入心包腔或者冠状静脉窦,破孔直径>1 mm[4]。Ellis分型类别与穿孔后急性心包填塞的发生率、病死率密切相关。Ⅰ或Ⅱ型冠脉穿孔心包填塞发生率约为0.4%和3.3%,而Ⅲ穿孔心包填塞发生率高达45.7%[5]。

由于前瞻性研究和相关指南的缺乏,处理PCI过程中出现的冠脉穿孔有多种方法。较传统的方法是迅速应用鱼精蛋白逆转或中和肝素,起到封堵破孔的作用,但由于其可能导致大量血小板聚集、支架内血栓形成、过敏反应、心脏骤停,所以目前不推荐应用该方法[6]。长时间球囊封堵由于其可以在导管室迅速实施,在带膜支架出现前被广泛应用,但长时间球囊封堵可能会造成支架内血栓及远端支配的心肌缺血加重[7]。由于可能带来远端血管丢失及随之而来的心肌梗死的风险,弹簧圈栓塞被列入治疗方法[7]。越来越多的研究显示,应用带膜支架植入封堵破孔能达到较好的近期及远期效果[1,8]。

本例患者发生冠脉穿孔原因有:①患者年龄大,冠脉弥漫钙化;②支架中段残余狭窄较重,后扩压力偏大。通过造影确诊为Ⅲ型冠脉穿孔,迅速于穿孔处植入1枚带膜支架,成功封堵穿孔,并迅速予以心包穿刺解除心包填塞。术后应用IABP及大剂量升压药物稳定血压,根据血压情况撤除IABP及调节升压药物剂量。病情平稳后复查心脏彩超未见心包积液征象。

总之,冠脉穿孔是PCI少见而严重的并发症,心脏导管室应常备带膜支架、灌注球囊等器材,并应有具备冠状动脉搭桥术条件的心脏外科支持,及时正确地处理是减少恶性心脏事件的关键。

参考文献:

[1] Shimony A, Joseph L, Mottillo S, *et al*. Coronary artery perforation during percutaneous coronary intervention: a systematic review and meta-analysis[J]. Can J Cardiol, 2011, 27(6): 843-850.

[2] Georgiadou P, Karavolias G, Sbarouni E, *et al*. Coronary artery perforation in patients undergoing percutaneous coronary intervention: a single-centre report[J]. Acute Card Care, 2009, 11(4): 216-221.

[3] Kini A S, Rafael O C, Sarkar K, *et al*. Changing outcomes and treatment strategies for wire induced coronary perforations in the era of bivalirudin use[J]. Catheter Cardiovasc Interv, 2009, 74(5): 700-707.

[4] Ellis S G, Ajluni S, Arnold A Z, *et al*. Increased coronary perforation in the new device era. Incidence, classification management, and outcome[J]. Circulation, 1994, 90(6): 2725-2730.

[5] Cevik C, Wilborn T, Corona R, *et al*. Post-cardiac injury syndrome following transvenous pacemaker insertion: A case report and review of the literature[J]. Heart Lung Cire, 2009, 18(6): 379-383.

[6] Levy J H, Adkinson N F Jr. Anaphylaxis during cardiac surgery: implications for clinicians[J]. Anesth Analg, 2008, 106(2): 392-403.

[7] Pershad A, Yarkoni A, Biglari D. Management of distal coronary perforations[J]. J Invasive Cardiol, 2008, 20(6): E187-E191.

[8] 王耿, 韩雅玲, 荆全民, 等. 带膜支架对老年冠状动脉介入治疗术中冠状动脉穿孔患者的疗效[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2013, 12(3): 172-175.

(**收稿**:2014-03-31;**修回**:2014-05-08)

(编辑 王 红)