论著

文章编号:1000-5404(2014)23-2380-05

肝细胞生长因子促进骨形态发生蛋白9诱导小鼠骨髓间充质干细胞C3H10成骨分化的研究

惠 慧,罗 聪,毕 杨 (400014 重庆,重庆医科大学附属儿童医院儿科研究所干细胞实验室,儿童发育疾病研究教育部重点实验室,儿科学重庆市重点实验室,重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地)

[摘要] **目的** 探讨肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor,HGF)联合骨形态发生蛋白9(bone morphogenetic protein 9,BMP9)诱导小鼠骨髓间充质干细胞(C3H10)成骨分化的影响,并探讨其可能的分子机制。**方法** 用重组腺病毒介导BMP9在C3H10细胞中过表达,同时联用20 ng/mL肝细胞生长因子HGF诱导C3H10细胞,Real-time PCR检测C3H10成骨分化相关基因骨钙蛋白(osteocalcin,OC)及骨桥蛋白(osteopontin,OPN)基因mRNA水平的表达变化;Western blot检测OC、OPN的蛋白表达水平;ALP染色及ALP读数分析C3H10细胞碱性磷酸酶(alkaline phosphatase,ALP)活性的变化;茜素红S染色检测细胞的钙盐沉积;Real-time PCR检测经典信号通路Smad1/5/8在此诱导过程中的表达水平。**结果** BMP9单独作用能诱导C3H10细胞向成骨方向分化,并增强细胞ALP活性,单独HGF有较弱的成骨诱导作用,但与BMP9联用可显著增强C3H10细胞成骨特异性标志物OC与OPN的mRNA及蛋白表达水平($P<0.05$),促进ALP活性,及晚期的钙盐沉积;HGF能刺激Smad1/5/8信号通路mRNA表达水平显著增高($P<0.05$)。**结论** 肝细胞生长因子可显著增强BMP9诱导C3H10细胞成骨分化的作用,可能是通过激活Smad经典信号通路来实现的。

[关键词] 骨形态发生蛋白9;肝细胞生长因子;骨髓间充质干细胞;成骨分化
[中图法分类号] R322.47; R322.71; R329.2 [文献标志码] A

HGF promotes osteogenic differentiation in mesenchymal stem cells induced by bone morphogenetic protein 9

Hui Hui, Luo Cong, Bi Yang (Laboratory of Stem Cells, Key Laboratory of Child Development and Disorders of Ministry of Education, Chongqing Institute of Pediatrics, Chongqing International Science and Technology Cooperation Base for Child Development and Disorders, the Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400014, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effect of hepatocyte growth factor (HGF) combined with bone morphogenetic protein 9 (BMP9) on the induced osteogenic differentiation of mesenchymal stem cell (MSC) line C3H10 and investigate the possible underlying mechanism. **Methods** C3H10 cells were treated by recombinant adenovirus expressing Ad-BMP9 infection and HGF (20 ng/mL) induction. The expression of osteocalcin (OC) and osteopontin (OPN) at mRNA and protein levels were determined by real-time PCR and Western blot analysis respectively. The activity of alkaline phosphatase (ALP) was detected by ALP staining and activity assay. Calcium deposition was detected by Alizarin Red S staining. At last, the mRNA expression of Smad1/5/8 was analyzed by real-time PCR. **Results** BMP9 alone induced the osteogenic differentiation of C3H10 cells and increased the ALP activity. HGF alone slightly induced osteogenic differentiation, while significantly promoted the BMP9-induced OC and OPN expression ($P<0.05$), ALP activity, and calcium deposition. Furthermore, HGF induction resulted in significant increase in the transcription levels of Smad1/5/8 ($P<0.05$). **Conclusion** HGF synergistically promotes the effect of BMP9 on induction of osteogenic differentiation of C3H10 cells, and this effect maybe due to the activation of Smad signaling pathways.

[**Key words**] bone morphogenetic protein 9; hepatocyte growth factor; mesenchymal stem cells; osteogenic differentiation

Supported by the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (81100309). Corresponding author: Luo Cong, Tel: 86-23-63630314, E-mail: luocong919@sohu.com

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金(81100309)
[通信作者] 罗 聪,电话:(023)63630314,E-mail:luocong919@sohu.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20141106.1610.020.html (2014-11-06)

骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSCs)是一类具有自我更新能力和多向分化潜能的多能干细胞,作为骨组织工程中的种子细胞被广泛研究[1-2],然而在治疗骨科疾病中MSCs分化为成骨细胞的能力仍不足,限制了其临床应用;因此利用各种诱导条件提高MSCs的分化能力是目前的研究热点。骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)是转化生长因子β(transforming growth factor-β, TGF-β)超家族成员,其成骨作用明确,具有较好的临床应用前景[3]。其中BMP9目前被认为是成骨效应较强的BMPs之一,被广泛应用于体内外诱导成骨的研究[4-5]。尽管目前对于BMP9在骨骼系统中的作用仍有待进一步深入研究,但其强有力的成骨活性已表明BMP9可能是一种有效的骨再生介质。肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)作为一种强效的促血管生长因子,可促进多种细胞的迁移、增殖及分化。由于单一生长因子对MSCs成骨分化诱导的有限作用,近年来有不少研究转向对细胞因子联合作用的探讨。目前HGF与BMP9联合诱导MSCs成骨分化的效应还没有报道。本研究探讨HGF与BMP9联合作用对MSCs成骨分化的诱导效应,并初步分析其可能的机制,为MSCs更加有效地应用于骨组织工程损伤修复奠定重要基础。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

小鼠骨髓来源的间充质干细胞株C3H10、HEK293细胞由重庆医科大学附属儿童医院儿科研究所干细胞实验室保存,表达BMP9的腺病毒Ad-BMP9、对照腺病毒Ad-GFP均由芝加哥大学医学中心何通川教授惠赠,HGF购自美国Sigma公司。

DMEM Basic培养基、澳洲血清购自美国Gibco公司;细胞裂解液购自美国Promega公司;碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)定量检测试剂盒、Naphthol AS-MXphosphate alkaline solution和Fast Blue BB Salt、茜素红S、肝细胞生长因子、病毒作用增强剂polybrene均购自美国Sigma公司;高纯总RNA快速提取试剂盒(离心柱型)、PCR试剂盒、反转录试剂盒和DNA marker均购自北京百泰克生物技术有限公司;小鼠来源的β-actin一抗、OPN一抗、羊抗鼠二抗、羊来源OC一抗、驴抗羊二抗均购自美国Santa cruz公司,PCR引物由华大基因公司合成。

1.2 实验分组

将C3H10以1×10^5/孔的密度接种于24孔板,培养过夜,设计分组及相应处理方法如下:①GFP组:加入对照腺病毒Ad-GFP;②BMP9组:加入腺病毒Ad-BMP9;③HGF组:加入HGF(20 ng/mL)及对照腺病毒Ad-GFP;④BMP9+HGF组:加入腺病毒Ad-BMP9及HGF(20 ng/mL)。每组加入病毒作用增强剂polybrene(最终浓度10 μg/mL),每3 d进行一次半量换液,每组均设3个复孔。

1.3 Real-time PCR检测外源性BMP9、成骨相关蛋白及Smad信号分子mRNA水平的表达

C3H10细胞诱导分化第3天及第10天,用高纯总RNA快速提取试剂盒提取各组细胞总RNA,反转录合成cDNA,以诱导3 d的样本为模板,扩增外源性BMP9(上游引物:5′-GACGCCTATGAGTGTAAAGG-3′,下游引物:5′-TCCCCTCATAGTGGTACTTG-3′)、Smad信号通路(Smad1上游引物:5′-AAGCTGTGGACGCTTTGG-3′,下游引物:5′-ATCCAGGGAGCGAGGAAT-3′;Smad5上游引物:5′-TTCCATCCCCTGCCAGTA-3′,下游引物:5′-GCCTCTCGGTGCTCTCTG-3′;Smad8上游引物:5′-ACCAGGAGGCACATTGGA-3′,下游引物:5′-AGCCGTGCTGGTAGTTGC-3′)等相关基因,以诱导10 d的样本为模板,扩增成骨相关蛋白的基因(OC上游引物:5′-CCTTCATGTCCAAGCAGGA-3′,下游引物:5′-GGCGGTCTTCAAGCCATAC-3′;OPN上游引物:5′-CCTCCCGGTGAAAGTGAC-3′,下游引物:5′-CTGTGGCGCAAGGAGATT-3′)。以β-actin(上游引物:5′-AGGGAAATCGTGCGTGAC-3′,下游引物:5′-CGCTCGTTGCCAATAGTGA-3′)为内参标化模板。反应体系为:cDNA 2 μg,上下引物各10 ng/μL各1 μL,2XSYBR Green反应液7.5 μL,加水至20 μL。反应条件为:72 ℃ 3 min;94 ℃ 3 min;94 ℃ 10 s,55 ℃ 20 s,72 ℃,20 s,共40个循环;溶解曲线65~95 ℃,每5 s增加0.5 ℃,读板。

1.4 碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)活性的定量检测

各组C3H10细胞诱导分化第7天,吸弃培养基,PBS轻洗3遍,每孔加100 μL细胞裂解液裂解5 min后,15 500×*g*离心3 min,取上清5 μL至EP管,加入1×LUPO buffer 15 μL,ALP底物5 μL,共25 μL混合体系,均匀混合后,室温下避光孵育30 min,单管式发光检测仪读数。采用BCA法检测细胞内总蛋白含量,校正ALP活性的定量结果。

1.5 碱性磷酸酶染色

C3H10细胞诱导分化第7天,弃去培养基,PBS洗涤3次,加入萘酚AS-MX碱性磷酸盐溶液和快速蓝重氮盐混合染液250 μL,37 ℃避光孵育30 min;PBS洗涤,在光镜下观察并成像。阳性染色呈蓝紫色。

1.6 茜素红S染色检测钙盐沉积

C3H10细胞诱导分化21 d,吸弃孔内培养基,用PBS洗涤3次,每孔加入200 μL 4%的甲醛固定10 min;弃去甲醛,PBS洗涤3次,每孔加入250 μL 2%的茜素红S,37 ℃孵育30 min。显微镜下观察,出现红色沉淀时将染液弃去,PBS洗涤后,镜下观察并成像。

1.7 Western blot检测OC、OPN蛋白水平的表达

C3H10诱导10 d后提取各组细胞总蛋白,用BCA法测定蛋白浓度,取20 μg经10% SDS-PAGE蛋白电泳分离后,以250 mA恒电流转至PVDF膜上,室温下5%脱脂牛奶封闭1~2 h、TBST洗膜3次、加入小鼠抗β-actin(1∶1 000稀释)、小鼠抗OPN(1∶200稀释)、山羊抗OC(1∶200稀释),4 ℃过夜;洗膜分别加入HRP标记的羊抗鼠或驴抗羊IgG(1∶1 000稀释),室温孵育

1 h,ECL 发光。应用 Image J 软件分析个条带的灰度值,以 OC 及 OPN 与 β-actin 灰度值的比值为 OC 及 OPN 的相对表达量。

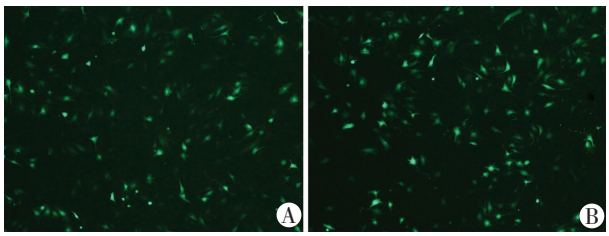
1.8 统计学分析

应用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两两组间比较采用 LSD-t 检验,多组之间采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 BMP9 感染效率及表达情况

细胞经腺病毒感染后,生长状态良好,感染 3 d 荧光观察 BMP9 感染组细胞的荧光表达率均为 60% ~70%(图 1);Real-time PCR 结果显示:BMP9 在 BMP9 组及 BMP9 + HGF 组均有高表达,且表达量较一致[BMP9 组:(14.39 ± 0.11),BMP9 + HGF 组:(15.46 ± 0.16),$P < 0.05$]。因此保证了后续实验结果的可信性及组间数据的可比性。



A:BMP9 组;B:BMP9 + HGF 组

图 1 重组腺病毒 BMP9 感染 C3H10 3d 的荧光显微镜观察 (×100)

2.2 各诱导组成骨蛋白 OC、OPN 的表达情况

C3H10 诱导分化 10 d,Real-time PCR 结果显示:HGF 与 BMP9 单独作用均可诱导 OC 及 OPN 基因的表达增高($P < 0.05$),BMP9 的作用强于 HGF,BMP9 + HGF 联合组 OC 及 OPN 的表达显著高于单独诱导组($P < 0.05$)。OC mRNA 表达量:GFP 组(1.01 ± 0.14),BMP9 组(8.59 ± 0.95),HGF 组(3.43 ± 0.37),BMP9 + HGF 组(38.00 ± 1.86);OPN mRNA 表达量:GFP 组(1.01 ± 0.13),BMP9 组(10.36 ± 0.87),HGF 组(3.85 ± 0.26),BMP9 + HGF 组(43.72 ± 0.93)。Western blot 检测蛋白水平的表达,趋势一致[OC 蛋白表达:GFP 组(0.13 ± 0.03),BMP9 组(0.91 ± 0.05),HGF 组(0.42 ± 0.04),BMP9 + HGF 组(1.39 ± 0.05);OPN 蛋白表达量:GFP 组(1.15 ± 0.05),BMP9 组(0.70 ± 0.03),HGF 组(0.37 ± 0.04),BMP9 + HGF 组(1.16 ± 0.01),$P < 0.05$]。见图 2。

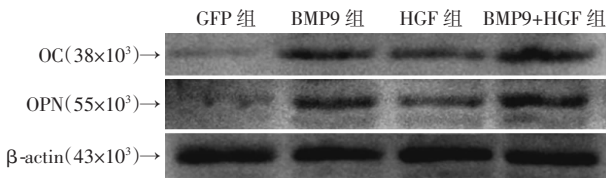
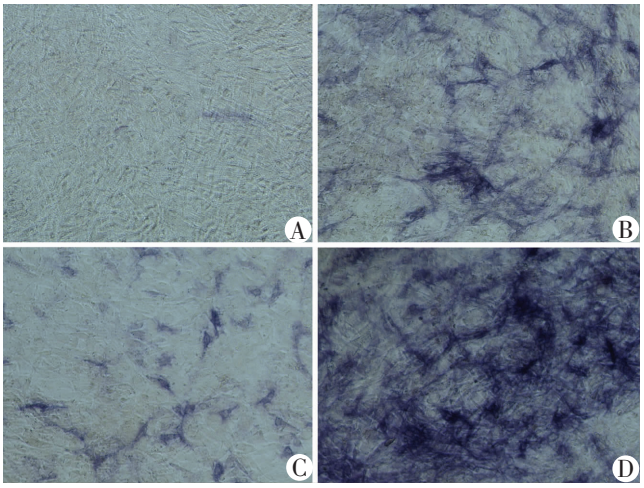


图 2 不同处理组 OC 及 OPN 蛋白表达情况

2.3 HGF 促进 BMP9 诱导 C3H10 细胞早期成骨分化

碱性磷酸酶活性是最常用的早期成骨指标。C3H10 细胞诱导分化 7 d,ALP 染色显示:BMP9 单独诱导的 C3H10 蓝染细胞增多,而 HGF 与 BMP9 共同作用组蓝染细胞显著增加(图 3)。ALP 活性定量检测结果表明:BMP9 组 ALP 活性增强,而与 BMP9 组相比,HGF 单独作用组对 ALP 活性的影响较弱,BMP9 与 HGF 联合作用组的 ALP 活性较其他组明显增强($P < 0.05$)[ALP 活性:GFP 组(2 205.33 ± 273.50),BMP9 组(5 726.00 ± 593.97),HGF 组(2 793.33 ± 285.03),BMP9 + HGF 组(14 781.00 ± 1 537.19),$P < 0.05$]。实验结果表明 HGF 对 BMP9 诱导的 C3H10 细胞早期成骨分化具有促进作用。

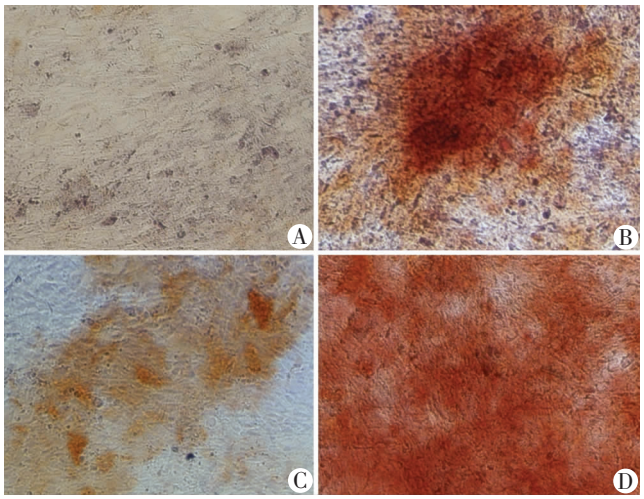


A:GFP 组;B:BMP9 组;C:HGF 组;D:BMP9 + HGF 组

图 3 ALP 染色观察不同处理组碱性磷酸酶活性变化 (LM ×100)

2.4 HGF 促进 BMP9 诱导 C3H10 细胞晚期成骨分化

钙盐沉积是细胞成骨分化的较晚期的检测指标,不同因素处理细胞 21 d 后通过茜素红 S 染色发现(图 4):与 HGF、BMP9 单独处理组相比,BMP9 + HGF 组的钙盐结节明显增加,提示 HGF 促进 BMP9 诱导的 C3H10 细胞的晚期成骨分化。

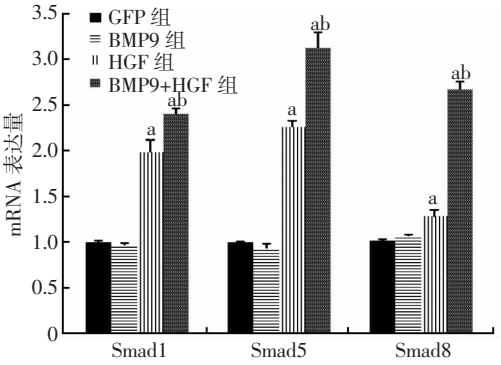


A:GFP 组;B:BMP9 组;C:HGF 组;D:BMP9 + HGF 组

图 4 茜素红 S 染色观察不同处理组钙盐沉积 (LM ×100)

2.5 HGF 促进了 BMP9 诱导的 Smad 经典信号通路

C3H10 诱导处理 3 d,Real-time PCR 结果显示:HGF 与 BMP9 联合处理组的 Smad 经典信号通路 mRNA 表达显著增加($P < 0.05$),而 BMP9 单组作用组无明显增高(图 5)。



a:$P<0.05$ 与 GFP 组比较;b:$P<0.05$,与 HGF 组比较

图 5 Real-time 检测 Smad1/5/8 mRNA 表达情况

3 讨论

MSCs 具有强大的多向分化潜能和增殖能力,在细胞组织修复领域中具有很好的发展前景,一直是组织工程学领域的研究热点,而 MSCs 在成骨分化过程中受 Wnt、TGFβ 及 BMPs 等多种信号通路调控[6]。

BMPs 属于 TGF-β 细胞因子超家族,是一种多功能的细胞生长因子。BMPs 是目前公认最强的、且唯一能够诱导异位成骨的细胞因子,临床上可用于骨组织再生和重建,促进骨折愈合等[7],有学者发现 BMP9 作为 BMPs 家族成员之一,具有很强的诱导 MSCs 成骨分化的能力,且成骨效应优于其他 BMPs 成员[4,8]。然而,BMP9 诱导成骨分化的效应还有待进一步的提高,促进 MSCs 更好的用于骨组织工程修复。研究证明,BMP9 控制着一套独特的下游靶点,这对其诱导间充质干细胞的成骨分化起到重要的作用 ,其他信号分子在 BMP9 诱导的成果过程中可能起到协同的作用[9-10]。

HGF 是一种主要由间充质细胞分泌的多功能细胞因子,可以促进有丝分裂及营养物质的吸收,还可以通过自分泌或旁分泌的形式促进肝脏、心脏、及肌肉组织的修复,Wen 等[11] 发现,高浓度 HGF 能够促进 MSCs 的增殖能力, MSCs 在成骨分化过程中分泌 HGF,诱导新血管生成,且低浓度的 HGF(20 ng/mL)可促进 MSCs 的成骨分化;还有研究者发现 HGF 常由骨髓瘤细胞合成并在多发骨髓瘤病人的骨髓中浓度较高[12],因此我们认为 HGF 在成骨分化过程中起着某种重要的作用。

本研究利用 HGF 与 BMP9 单独或联合作用于 C3H10,结果显示:在体外 HGF 单独作用于 C3H10,碱性磷酸酶活性、骨钙蛋白、骨桥蛋白表达量及细胞外基质矿化的检测等成骨指标均是少量增高,且成骨作用较 BMP9 单独作用弱,而 HGF 与 BMP9 联合作用能够显著促进 C3H10 细胞各时期成骨指标的表达,这说明 HGF 能够促进 BMP9 在 C3H10 中的成骨分化效应,并且 HGF 与 BMP9 在成骨分化的协同作用超过累积效应。

BMPs-Smad 信号通路是 BMPs 诱导成骨分化的重要方式,其中 Smad1/5/8 与 BMPs 的作用尤为密切。Smad1/5/8 属于 TGFβs 家族中 AMH 和 BMPs 的通路受体底物[13],属于受体激活型 Smad 蛋白。BMP 结合在Ⅰ和Ⅱ型丝氨酸/苏氨酸受体可以诱导 Smad1/5/8 磷酸化进而活化下游的靶基因[14],同时 Smad 蛋白能够通过汇合其他信号通路共同调节细胞功能。而我们的结果显示 Smad1/5/8 在 C3H10 中的基础表达较高,BMP9 过表达并不刺激 Smad1/5/8 分子的 mRNA 水平表达,而同一研究小组赵丹等[15]报道 BMP9 诱导成骨分化可激活 Smad1/5/8 信号途径,其磷酸化活性形式显著增高,提示 BMP9 作为配体,仅刺激 Smad 信号激活而不直接调控其转录表达。HGF 诱导组的 Smad1/5/8 信号分子的表达显著增高,BMP9 + HGF 组表达更高;因此我们推测 HGF 能够有效地增加 Smad1/5/8 的表达量,而其作为 BMPs 在细胞中的关键作用靶点,能够显著增强 BMP9 的成骨作用,BMP9 与 Smad 分子结合,进一步反馈刺激 HGF 增强 Smad 表达的作用,这一效应可能是 HGF 促进 BMP9 诱导 C3H10 细胞成骨分化的重要分子机制。

综上所述,本研究展示了肝细胞生长因子协同 BMP9 促进成骨分化的作用,并初步探讨了 HGF 可能是通过上调 Smad1/5/8 的表达量进而增强 BMP9 的成骨效应。下一步,我们将深入探讨 HGF 调控 Smad 信号的具体分子机制。

参考文献:

[1] Augello A, Kurth T B, De-Bari C. Mesenchymal stem cells: a perspective from *in vitro* cultures to in vivo migration and niches[J]. Eur Cell Mater, 2010, 20: 121-133.

[2] Deschaseaux F, Pontikoglou C, Sensebe L. Bone regeneration: the stem/progenitor cells point of view[J]. J Cell Mol Med, 2010, 14(1/2): 103-115.

[3] Ronga M, Fagetti A, Canton G, *et al*. Clinical applications of growth factors in bone injuries: experience with BMPs[J]. Injury, 2013, 44(Suppl 1): S34-S39.

[4] Kang Q, Sun M H, Cheng H, *et al*. Characterization of the distinct orthotopic bone-forming activity of 14 BMPs using recombinant adenovirus-mediated gene delivery[J]. Gene Ther, 2004, 11(17): 1312-1320.

[5] Lv Z, Yang D, Li J, *et al*. Bone morphogenetic protein 9 overexpression reduces osteosarcoma cell migration and invasion[J]. Mol Cells, 2013, 36(2): 119-126.
[6] Augello A, De-Bari C. The regulation of differentiation in mesenchymal stem cells[J]. Hum Gene Ther, 2010, 21(10): 1226-1238.
[7] Chen G, Deng C, Li Y P. TGF-beta and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation[J]. Int J Biol Sci, 2012, 8(2): 272-288.
[8] Li X, Chen L, Ke Z Y, *et al*. BMP9-induced osteogenetic differentiation and bone formation of muscle-derived stem cells[J]. J Biomed Biotechnol, 2012: 610952.
[9] Zhang W, Deng Z L, Chen L, *et al*. Retinoic acids potentiate BMP9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal progenitor cells[J]. PLoS One, 2010, 5(7): e11917.
[10] Tang N, Song W X, Luo J, *et al*. BMP-9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal progenitors requires functional canonical Wnt/beta-catenin signalling[J]. J Cell Mol Med, 2009, 13(8B): 2448-2464.
[11] Wen Q, Zhou L, Zhou C, *et al*. Change in hepatocyte growth factor concentration promote mesenchymal stem cell-mediated osteogenic regeneration[J]. J Cell Mol Med, 2012, 16(6): 1260-1273.
[12] Standal T, Abildgaard N, Fagerli U M, *et al*. HGF inhibits BMP-induced osteoblastogenesis: possible implications for the bone disease of multiple myeloma[J]. Blood, 2007, 109(7): 3024-3030.
[13] Wiegman E M, Blaese M A, Loeffler H, *et al* TGFbeta-1 dependent fast stimulation of ATM and p53 phosphorylation following exposure to ionizing radiation does not involve TGFbeta-receptor I signalling[J]. Radiother Oncol, 2007, 83(3): 289-295.
[14] Gilboa L, Nohe A, Geissendorfer T, *et al*. Bone morphogenetic protein receptor complexes on the surface of live cells: a new oligomerization mode for serine/threonine kinase receptors[J]. Mol Biol Cell, 2000, 11(3): 1023-1035.
[15] 赵丹, 罗进勇. BMP9促进间充质干细胞C3H10T1/2成骨分化的研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2011, 10(16): 1225-1226, 1230.

(**收稿**:2014-06-22;**修回**:2014-09-19)
(编辑 黄 超)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2014)23-2384-01

腹部增强CT图像显示腹腔从属性静脉对比剂淤积征1例

曹 晖,陈金华 (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所放射科)

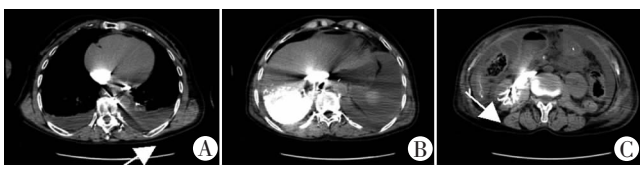
[**关键词**] 腹腔从属性静脉;对比剂淤积征;腹部增强CT
[**中图法分类号**] R604 [**文献标志码**] B

危重患者接受增强CT检查有利于明确诊断,然而正在接受CT检查的患者可能发生心脏骤停、急性心功能不全以及心源性休克,该类患者的增强CT影像有其显著特点,即"从属性静脉对比剂淤积征"(dependent venous contrast pooling)[1],及时识别该征象可以争取抢救时机,否则会影响患者预后,我们在工作中遇到1例,现报告如下。

1 临床资料

患者,女性,70岁,发病前1 d无明显诱因出现腹痛、腹胀。在当地医院治疗后病情加重,由当地医院于2013年8月11日转入我院急诊科。转运途中患者出现呼吸困难,意识障碍。入院查体:体温37 ℃,心率123 /min,血压77/56 mmHg。在我院急诊科给予气管插管,呼吸机辅助通气,胸外心脏按压,补液,血管活性药物维持血压等处理后转入我院ICU进一步诊治。转入ICU后医师给予患者补液、升压等处理,同时给予心电监护。因患者病情无缓解,血压不能维持到正常范围,遂由ICU医师陪同患者来放射科进行全腹部增强CT检查。CT检查时间为18:40,检查过程中发现"从属性静脉对比剂淤积征",立即结束检查返回ICU。19:46患者突发心脏骤停,立即心肺复苏,心跳恢复,但患者仍处于休克状态,意识丧失,腹腔穿刺抽出黄色脓性液体,诊断:①感染性休克,②急性心力衰竭,③消化道穿孔。CT检查当天患者家属放弃治疗出院,出院后患者死亡。

扫描CT机为GE公司64排VCT,扫描参数120 kV,360 mA。造影剂浓度350 g/L,造影剂速率3.5 mL/s,动脉期延时24 s。CT增强图像显示患者心脏内无造影剂,下腔静脉造影剂淤积(图1A),肝静脉、门静脉及肝右叶对比剂淤积(图1B)右肾静脉造影剂淤积,腹腔内大量积液(图1C)。



A:CT增强显示患者心脏内无造影剂,下腔静脉造影剂淤积;B:肝静脉、门静脉及肝右叶对比剂淤积;C:右肾静脉造影剂淤积,腹腔积液 ↑:示观察点

图1 从属性静脉对比剂淤积征患者胸腹部CT表现

[**通信作者**] 陈金华, E-mail:13908391746@163.com
[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20141120.1001.001.html(2014-11-20)

(下转2388页)