DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.23.006
第26卷第23期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 23
2004年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2004

文章编号:1000-5404(2004)23-2097-05

论著

反义p38α基因转染对缺氧复合烧伤血清处理心肌细胞炎性因子的表达

郑 军[1],黄跃生[1],黄晓元[2],范鹏举[1],贺伟峰[1],张小容[1],蒋建新[1],粟永萍[1] (1第三军医大学西南医院全军烧伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400038;2中南大学湘雅医院烧伤整形外科,长沙 430008)

提 要:目的 探讨反义p38α基因转染对缺氧复合烧伤血清处理心肌细胞炎性因子的表达。方法 建立缺氧复合烧伤血清培养心肌细胞模型,分对照组、缺氧复合烧伤血清组(非转染组)和反义p38α基因转染组(转染组)。烧伤血清采自40%TBSA Ⅲ度烧伤Wistar大鼠;采用含1%O_2的混合气体造成缺氧模型;采用基因重组技术构建反义p38α基因重组体;用免疫印迹法和RT-PCR法分别检测不同时相点p38α激酶蛋白及TNFα、IL-1β mRNA表达变化,并作统计学分析。结果 成功构建反义p38α基因重组体;缺氧复合烧伤血清迅速、持续激活心肌细胞p38α激酶,心肌细胞TNFα、IL-1β表达增多;反义p38α基因显著抑制p38α激酶过度活化($P<0.01$),下调TNFα、IL-1β表达($P<0.01$)。结论 p38α激酶途径介导了缺氧和烧伤血清所致心肌细胞损伤,抑制p38α激酶的持续活化能有效下调炎性因子TNFα、IL-1β表达,减轻该条件下心肌细胞损害。

关键词:反义p38α基因;心肌细胞;缺氧;烧伤血清;细胞因子
中图法分类号:R322.11;R392.13;R644.02 文献标识码:A

Effects of antisense p38α gene transfection on expressions of inflammatory factors in cardiomyocytes following hypoxia and burn serum treatment

ZHENG Jun[1], HUANG Yue-sheng[1], HUANG Xiao-yuan[2], FAN Peng-ju[1], HE Wei-feng[1], ZHANG Xiao-rong[1], JIANG Jian-xin[1], SU Yong-ping[1] ([1]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Burns, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038; [2]Department of Plastic Surgery, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, 430008, Hunan Province, China)

Abstract: Objective To explore the effects of antisense p38α gene transfection on the expressions of inflammatory factors in cardiomyocytes following hypoxia and burn serum treatment. Methods Primary neonatal rat cardiomyocytes were cultured *in vitro* with hypoxia and burn serum treatment and divided into there groups: control group, hypoxia and burn serum treatment group (non-transfected group); antisense p38α gene transfection group (transfected group). Burn serum was collected from Wistar rats with 40% total body surface area (TBSA) Ⅲ degree burn. Cardiomyocytes inhaling mixed gas containing 1% O_2 were used as the hypoxia model. The antisense p38α gene recombinant was constructed by genetic recombination technique. p38α protein kinase expression level and mRNA level of TNFα and IL-1β were determined respectively at different time points by Western blot and RT-PCR. The results were processed statistically. Results The antisense p38α gene recombinant was constructed successfully. Hypoxia and burn serum induced rapid and long time activation of p38α kinase and up-regulated mRNA levels of TNFα and IL-1β in cardiomyocytes. Antisense p38α gene decreased p38α activity significantly ($P<0.01$) and down-regulated TNFα and IL-1β mRNA expressions ($P<0.01$). Conclusion These data suggest that p38α kinase pathway may play an important role in cardiomyocyte damage induced by hypoxia and burn serum. The inhibition of p38α kinase activation can down-regulate TNFα and IL-1β expressions and attenuate injury of cardiomyocytes exposed to burn and hypoxia.

Key words: antisense p38α gene; cardiomyocyte; hypoxia; burn serum; cytokine

---

基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目("973"项目)(G1999054202);国家杰出青年科学基金资助项目(30125040)
Supported by the National Key Basic Research and Development Plan of China ("973" Projects) (G1999054202) and the National Science Fund for Young Distinguished Scholars (30125040)

作者简介:郑 军(1971-),男,湖南省邵阳市人,博士研究生,讲师,主要从事烧伤基础与临床方面的研究,现在中南大学湘雅医院攻读博士。电话:(0731)4488874
通信作者:黄跃生,电话:(023)68754173,E-mail:yshuang@public.cta.cq.cn

收稿日期:2004-02-14;修回日期:2004-08-12

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

严重烧伤早期即有心肌损害及其导致的心功能减退,并可诱发或加重烧伤休克及全身其他脏器功能损害,这一现象称为"休克心"[1]。研究表明,缺血缺氧及细胞因子在"休克心"的发生发展中扮演着重要角色[1~3]。

p38MAPK 激酶属丝裂素活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)家族的一员,已发现有 p38α、p38β_1、p38β_2、p38γ、p38θ 5 种亚型,其中 p38α 激酶主要调控炎症、凋亡等反应,参与介导组织损伤。据文献[4]报道,p38α 激酶信号途径在严重烧伤后早期心肌损伤中起重要作用。为寻找防治"休克心"的新策略,本实验通过构建反义 p38α 基因重组体,转染心肌细胞,再对心肌细胞进行缺氧复合烧伤血清处理,通过观察心肌细胞炎性因子表达情况来探索反义 p38α 基因重组体转染与心肌细胞炎性因子表达之间的关系及对其表达的影响,希望为严重烧伤心肌损害的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 乳鼠心肌细胞培养

取 1~2 d Wistar 乳鼠心脏,PBS 液冲洗 3 次,留心尖部剪碎,移入盛有磁力棒的高压灭菌玻璃瓶内,置于磁力搅拌器上,加 0.1%胰蛋白酶 37 ℃消化,每次 8~10 min,收集消化液并用小牛血清终止反应(弃第 1 次消化液),重复消化 6~7 次至组织消化完全。200 目滤网过滤消化液,1 000 r/min 离心 5 min,用含 10%胎牛血清和 Brdu 的 DMEM-F12 培养基重悬细胞,置 37 ℃、5%CO_2 孵箱中差速贴壁 1 h,使成纤维细胞贴壁与心肌细胞分离,将含有心肌细胞的悬液转移接种于 6 孔细胞培养板和/或培养瓶,在上述条件孵箱中培养。

1.2 实验分组

实验分正常大鼠血清对照组;缺氧复合烧伤血清组(非转染组):10%烧伤血清+缺氧(1%O_2);反义 p38α 基因转染组(转染组):先转染反义基因重组体,然后 10%烧伤血清+缺氧(1%O_2)。

1.3 正常及烧伤血清制备

Wistar 大鼠 30 只大鼠(第三军医大学实验动物中心),雌雄不拘,体质量 200~280 g,实验前 12 h 禁食,异戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉,背部 92 ℃烫伤 18 s,造成 40%TBSA Ⅲ度烫伤,伤后按 Parkland 公式补液。6 h 后在无菌操作下抽取腹主动脉血,室温凝血,4 ℃过夜,使血凝块尽量收缩。吸出血清,4 ℃离心(3 000 r/min)15 min,取上清,56 ℃加热 30 min 以灭活补体。上清分装,-20 ℃冻存备用。

1.4 缺氧培养装置及混合气体配置

缺氧培养是依靠在密闭容器中冲入预先配制好的混合气体进行。密闭容器作为缺氧培养装置。混合气体配方为:95%N_2,5%CO_2,由重庆朝阳气体有限公司配制。将混合气体以 10 L/min 流量充入密闭容器,按照先充气 5 min,再夹闭进出口 5 min,最后再充气 5 min、关闭进气口和出气口的程序制造缺氧条件,这时容器内的终氧浓度为 1%(测氧仪检测)。

1.5 主要试剂与仪器

T4 Ligase、InsT/AcloneTM PCR Product Cloning Kit(T 载体试剂盒)购自 MBI 公司;pAdtrack-CMV vector, pAdEasy-1 Vector 购自美国 Stratagene 公司;限制性内切酶 *Kpn* Ⅰ、*Hind* Ⅲ及 RT-PCR 试剂盒购自 TaKaRa 公司;*Pme* Ⅰ、*Pac* Ⅰ 购自 New England 公司;质粒提取试剂盒、凝胶 DNA 片段回收试剂盒、PCR 回收试剂盒购自美国 Omega 公司;总 RNA 提取试剂 Tripure Isolation Reagent 购自美国 Roche 公司;BCA-200 Protein Assay Kit 购自美国 PIERCE 公司;抗 p38α 激酶抗体购自美国 CHEMICON 公司;电泳仪、电转仪(北京六一仪器厂);SX-100 凝胶成像仪(上海四星公司);CO_2 细胞培养箱(Heraeus 公司,德国);PE9600PCR 扩增仪(Perkin Elmer, USA);DU-7 紫外分光光度计(Beckman 公司,美国)。

1.6 反义 p38α 基因重组体构建

1.6.1 p38α 目的基因片段的扩增及 pT- p38α 载体构建、鉴定

采用 RT-PCR 法扩增 p38α 目的基因片段,并和 T 载体连接(记为 pT- p38α)(按 InsT/Aclone™ PCR Product Cloning Kit 说明书操作),重组质粒用 *Kpn* Ⅰ 和 *Hind* Ⅲ内切酶进行双酶切鉴定,并将阳性克隆送上海申友公司测序和鉴定反义 p38α 基因。

1.6.2 pAdtrack-cmv-p38α 载体构建及筛选、鉴定

使用 *Kpn* Ⅰ 和 *Hind* Ⅲ双酶切 pAdtrack-cmv vector 获得 pAdtrack-cmv 片段,同时用这两种酶双切 pT- p38α 反义基因,而后将两者用 T4 连接酶连接,获得 pAdtrack-cmv-p38α 载体。最后再用上述两种酶进行酶切鉴定,应有 0.38 kb 目的片段。

1.6.3 pAd-p38α 腺病毒载体构建、鉴定

将 pAdtrack-cmv-p38α 载体用 *Pme* Ⅰ 酶切线性化后,回收片段与 pAdEasy-1 载体在 BJ5183-AD-1 细胞中进行同源重组得到线性化的 pAd-p38α 重组体,用 *Pac* Ⅰ 单酶切鉴定,应有大小分别为 33.3 kb 和 4.5 kb 片段。

1.7 蛋白免疫印迹化学发光法检测 p38α 激酶蛋白表达

1.7.1 细胞总蛋白提取与定量

参照分子克隆实验指南(第 2 版)相关步骤提取正常及转染和非转染组缺氧 1、3、6、12 h 心肌细胞总蛋白,用 BCA 法测定蛋白含量(按 BCA-200 Protein Assay Kit 说明书操作)。

1.7.2 Western blot 蛋白免疫印迹分析

取各时相点 30 μg 细胞总蛋白与上样缓冲液混合行 SDS-PAGE 凝胶电泳,完毕后将蛋白转移至硝酸纤维素膜,将膜置于含质量浓度 5%脱脂奶粉的 TBST 中振摇 1 h,再分别与 p38α 抗体混合液(1∶1 000)、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG(1∶1 500)杂交,最后加化学发光底物孵育并于暗室中用感光胶片感光、冲洗,常规拍照。

1.8 RT-PCR 扩增 p38α 基因并检测心肌细胞 TNFα、IL-1β mRNA 表达

1.8.1 RNA 提取

参照美国 Roche 公司 Tripure Isolation Reagent 说明书提取正常及转染和非转染组缺氧 1、3、6、12 h 心肌细胞总 RNA,DEPC-H2O(25 μl)重新溶解 RNA。在 DU-7 紫外分光光度计上测定样本 A_{260}、A_{280} 值,计算 RNA 浓度及纯度(各样本 A_{260}/A_{280} 比值均>1.80)。

1.8.2 引物设计与合成

采用 Primer5.0 设计引物序列:β-

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

actin: 上游 5′ CAGTAACAGTCCGCCTAGAA3′, 下游 5′ GATTACTGCTCTGGCTCCTA3′; TNFα: 上游 5′GGTAATCGGTCCCAACAA3′, 下游5′ GGTATGAAGTGGCAAATCG3′; IL-1β: 上游 5′TTGTGGCTGTGGAGAAGCTG3′, 下游 5′ GCCGTCTTTCATACACAGG3′; p38α: 上游 5′TGGCTGAGCTGTTGACC3′, 下游 5′ CAGGCTCTTCCATGCGT3′。预扩增产物长度分别为 175、335、377、383 bp。引物由大连 Takara 公司合成。

1.8.3　RT-PCR 反应条件及扩增程序　　见表 1, 按试剂盒说明书加入试剂、引物及 0.9μg 样本总 RNA, 反应总体积为 50μl。

表 1　RT-PCR 反应条件及扩增程序

Tab 1　Conditions for RT-PCR reaction and amplification procedure

Gene	Reverse transcription condition	Denature	Heat cycle				Extension
			Denature	Annealing time	Extension	Cycle	
β-actin	50 ℃	95 ℃	94 ℃	59 ℃, 30 s	72 ℃, 45 s	30	72 ℃
TNFα	30 min	3 min	30 s	57 ℃, 30 s			10 min
IL-1β				59 ℃, 30 s			
p38α				56 ℃, 30 s			

取 10μl PCR 产物在 1.5% 琼脂糖凝胶(含 0.5μg/ml 溴化乙锭)中电泳(100 V), 电泳缓冲液为 0.5% TAE(Tris-乙酸), 凝胶扫描成像。

1.8.4　扩增产物半定量分析　　以β-actin 为内参照, 四星图像分析软件分别计算 TNFα、IL-1β 和β-actin 带的光密度值, 计算目的条带和β-actin 带光密度值比值, 比值大小代表目的基因表达水平。

1.9　统计学分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用 SPSS10.0 统计软件进行方差分析及组间多重比较。

2　结果

2.1　p38α RT-PCR 产物电泳分析

以正常大鼠心肌细胞总 RNA 为模板进行 p38α 扩增, PCR 产物在 1.5% 琼脂糖凝胶上电泳, 在 0.38 kb 左右可见一清晰条带, 与预计片段相符(另文报告)。

2.2　pT-p38α 载体的鉴定及反义鉴定

经申友公司测序确定 pT-p38α 中目的基因核苷酸序列与基因库公布的序列完全一致, 且鉴定出反义 p38α 基因, 取反义 p38α 重组质粒用 *Kpn* Ⅰ 和 *Hind* Ⅲ双酶切鉴定, 得到 0.38 kb 片段(另文报告)。

2.3　pAdtrack-cmv-p38α 载体的鉴定

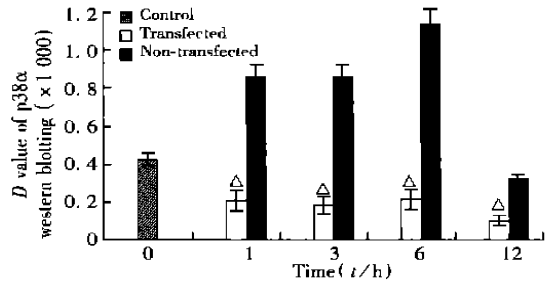
将获得的 pAdtrack-cmv-p38α 载体使用 *Kpn* Ⅰ 和 *Hind* Ⅲ双酶切鉴定, 得到 0.38 kb 目的片段, 该重组质粒构建成功。

2.4　pAd-p38α 腺病毒载体的鉴定

Pac Ⅰ 单酶切 pAd-p38α 重组腺病毒载体, 0.6% 琼脂糖凝胶电泳可见大小分别为 33.3 kb 和 4.5 kb 片段, 与预测结果完全相符(另文报告)。

2.5　p38α 激酶蛋白 Western blot 检测结果

缺氧复合烧伤血清刺激 1h, 非转染组大鼠心肌细胞 p38α 激酶蛋白表达显著增强, 6 h 达高峰, 12 h 活化仍明显; 转染组表达不明显, 显著低于非转染组($P<0.01$)(图 1)。



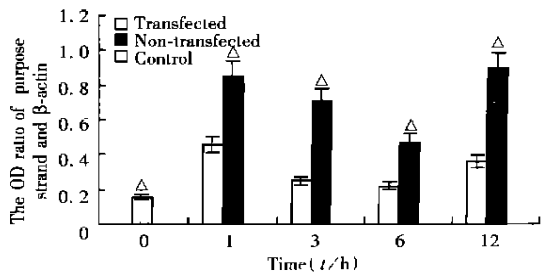
△: $P<0.01$, *vs* non-transfected

图 1　p38α 激酶蛋白 Western blot 检测结果

Fig 1　Results by Western blotting of p38α protein kinase

2.6　心肌细胞 TNFα mRNA 表达

非转染组心肌细胞 TNFα mRNA 水平在缺氧复合烧伤血清刺激后 1 h 即明显升高, 伤后 12 h 仍维持在较高水平。转染组较之非转染组各时相点 TNFα 表达显著降低($P<0.01$)(图 2)。



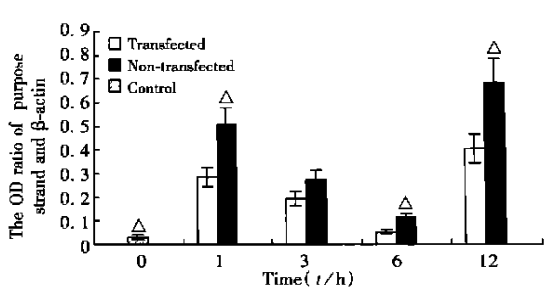
△: $P<0.01$, *vs* transfected

图 2　烧伤后心肌细胞 TNFα mRNA 的变化

Fig 2　Postburn changes of TNFα mRNA in cardiomyocytes

2.7　心肌细胞 IL-1βmRNA 表达

RT-PCR 分析结果显示, 非转染组心肌细胞 IL-1βmRNA 水平也在缺氧复合烧伤血清刺激后 1 h 即明显升高, 伤后 12 h 仍维持在较高水平。同时转染组较之非转染组各时相点 IL-1β 表达也显著降低(图 3)。



△: $P<0.01$, *vs* transfected

图 3　烧伤后心肌细胞 IL-1β mRNA 的变化

Fig 3　Postburn changes of IL-1β mRNA in cardiomyocytes

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3 讨论

丝裂原活化蛋白激酶，属丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，是真核细胞转导胞外信号到胞内引起细胞反应的4大信号系统之一[5,6]，参与介导细胞形成、生长、增殖、分化、转化及运动、凋亡等多种生理过程。MAPK家族主要包括ERK、JNK和p38激酶3个成员，其中，p38激酶又分为p38α(p38)，p38β1，p38β2，p38γ和p38δ5种亚型。p38激酶与JNK通路属"应激激活"的蛋白激酶，许多细胞外刺激如紫外线、脂多糖、缺血缺氧和细胞因子、生长因子、高渗透压等，均可通过细胞内信号传递通路激活p38MAPK和JNK[7,8]。普遍认为该类信号途径的持续过度活化将最终导致细胞损害，过度活化的p38激酶可导致细胞因子表达、细胞生长阻滞甚至死亡等[9]。

在p38MAPK参与调控的诸多反应中，炎症、凋亡等反应主要由p38α亚型介导。p38α在心肌细胞等多数细胞中均有表达。许多研究表明，p38α激酶途径参与了细胞多种促炎因子的生成调控，是已知信号途径中与炎症关系最为密切的细胞信号转导通路。Hale等[10]报道，在LPS刺激的巨噬细胞内，p38α被强烈激活，引起TNFα合成和释放，导致失控性炎症反应甚至致死性休克。本研究结果表明，p38α激酶在烧伤后1 h即迅速而明显地激活且在观察的12 h期间保持较高水平的表达，与文献[4]报道一致，提示p38α激酶途径在烧伤后炎症反应中有重要作用并参与介导心肌细胞损伤。

TNFα、IL-1β是两个具有多种重要生物学活性的促炎细胞因子，在多种疾病引发的心肌损害中发挥重要作用[11,12]。大量产生的TNFα、IL-1β除可直接抑制心肌收缩[13,14]外，还可通过旁分泌、自分泌作用触发其它炎症细胞因子释放，同时对心肌细胞具有直接毒性作用及诱导心肌细胞凋亡等[13,15]，导致心肌器质性损害。研究表明，烧伤后心肌细胞产生大量TNFα，是TNFα的重要来源。心肌组织表达的TNFα参与了早期心肌收缩和舒张功能降低的过程，心肌细胞促炎因子表达上调是烧伤后休克心的重要因素[2]。本研究也表明，心肌细胞在缺氧和烧伤血清刺激下，合成、释放TNFα、IL-1β明显增多且持续时间长。以上提示烧伤早期心肌细胞TNFα、IL-1β的大量表达可能是导致心功能下降及心肌损害的重要因素之一。

鉴于心肌细胞在缺氧和烧伤血清刺激下，p38α及TNFα、IL-1β表达均增多，本研究中，我们构建了p38α反义基因重组体并将之转染入心肌细胞，来观察其对缺氧复合烧伤血清刺激后大鼠心肌细胞p38α蛋白表达及促炎因子TNFα、IL-1β分泌的抑制作用及p38α对TNFα、IL-1β分泌的影响。结果表明，转染组大鼠心肌细胞p38α及TNFα、IL-1β表达均较非转染组明显下降($P<0.01$)，说明p38α反义重组体成功转染进入心肌细胞，并能有效抑制p38α的表达和降低缺氧复合烧伤血清刺激后心肌细胞TNFα、IL-1β等细胞因子的表达水平；p38α激酶介导炎症因子TNFα、IL-1β的表达上调，在烧伤后炎症反应和心肌损伤中起重要作用，抑制其表达起到保护心肌细胞的作用。

细胞因子是烧伤早期心肌损害的主要因素之一。许多细胞因子的过度释放，均有赖于相应的炎症相关基因以及酶的上调表达和/或活化。本研究结果表明烧伤后心肌细胞炎性细胞因子TNFα、IL-1β的过度表达是由于p38α激酶的活化。目前，抑制过度活化的p38α激酶被认为是颇具效果的抗炎抗损伤策略[16]。本研究采用基因克隆技术，通过将反义p38α基因片段构建于腺病毒载体，导入心肌细胞，使其在基因转录、翻译等水平阻止心肌细胞p38α的表达，使心肌细胞合成分泌p38α减少或消失，从而明显减弱促炎因子TNFα、IL-1β的表达，有效保护了心肌细胞。因此，从p38α信号转导水平进行干预，在信号通路水平阻断和调控p38α表达和活性，有可能成为减轻烧伤后炎症反应、防止烧伤后心肌细胞细胞损伤、治疗"休克心"的一条新途径。

参考文献：

[1] 黄跃生，杨宗城，迟路湘，等. 烧伤后"休克心"的研究[J]. 中华烧伤杂志，2000，16(5)：275－278.

[2] 黄跃生，李志清，吴庆云，等. 缺血缺氧在大鼠烧伤后"休克心"中的作用及其机制探讨[J]. 中华创伤杂志，2002，18(4)：205－209.

[3] 黄跃生. 重视缺血缺氧与细胞因子在"休克心"发生机制中的作用[J]. 中华烧伤杂志，2002，18(5)：261－262.

[4] 张家平，黄跃生，刘 敬，等. 烫伤大鼠心肌细胞丝裂素活化蛋白激酶的活化及胞内分布规律的研究[J]. 中华烧伤杂志，2003，19(3)：137－140.

[5] Herlaar E，Brown Z. p38 MAPK signalling cascades in inflammatory disease[J]. Mol Med Today，1999，5(10)：439－447.

[6] Johnson G L，Lapadat R. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK，JNK，and p38 protein kinases[J]. Science，2002，298(5600)：1911－1912.

[7] Davis R J. Signal transduction by the JNK group of MAP kinases[J]. Cell，2000，103(2)：239－252.

[8] Ellington J K，Elhofy A，Bost K L，*et al*. Involvement of mitogen-activated protein kinase pathways in staphylococcus aureus invasion of normal osteoblasts[J]. Infect Immun，2001，69(9)：5235－5242.

[9] 张 璐，姜 勇，张 琳. 丝裂素活化蛋白激酶信号转导通路研究

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

进展[J]. 国外医学: 生理、病理与临床分册, 1999, 19(2): 84—87.

[10] Hale K K, Trollinger D, Rihanek M, *et al*. Differential expression and activation of P38 mitogen-activated protein kinase alpha, beta, gamma and dalta in inflammatory cell ineages[J]. J Immunol, 1999, 162(7): 4246—4252.

[11] Tracey K J, Cerami A. Tumor necrosis factor: a pleiotropic cytokine and therapautic target[J]. Annu Rev Med, 1994, 45(2): 491—503.

[12] Cain B S, Meldrum D R, Dinarello C A, *et al*. Adenosine reduces cardiac TNF-alpha production and human myocardial injury following ischemia-reperfusion[J]. J Surg Res, 1998, 76(2): 117—123.

[13] Meldrum D R. Tumor necrosis factor in the heart[J]. Am J physiol, 1998, 274(3 Pt 2): R577—595.

[14] Cain B S, Harken A H, Meldrum D R. Therapeutic strategies to reduce TNFα mediated cardiac contractile depression following ischemia and reperfusion[J]. J Mol Cell Cardiol, 1999, 31(5): 931—947.

[15] Klein J B, Wang G W, Zhou Z, *et al*. Inhibition of tumor necrosis factor-alpha-dependent cardiomyocyte apoptosis by metallothionein[J]. Cardiovasc Toxicol, 2002, 2(3): 209—218.

[16] Hommes D W, Peppelenbosch M P, van Deventer S J. Mitogen activated protein (MAP) kinase signal transduction pathways and novel anti-inflammatory targets[J]. Gut, 2003, 52(1): 144—151.

(编辑 汪勤俭)

文章编号: 1000-5404(2004)23-2101-01

个案与短篇

急诊胸腺切除术治疗重症肌无力危象合并糖尿病和甲亢 1 例

Emergency thymectomy for myasthenic crisis associated with hyperthyroidism and diabetes mellitus: a case report

龚太乾, 蒋耀光, 王如文 (第三军医大学大坪医院全军胸外科中心, 重庆 400042)

临床资料: 患者, 女, 41 岁, 双上睑下垂 3 个月, 全身无力 1 个月入院。3 个月前因尿频在当地医院诊断为糖尿病, 在住院治疗期间出现双侧上睑下垂, 行新斯的明试验阳性, 诊断为重症肌无力, 给予口服新斯的明 60 mg, 每日 3 次症状缓解。1 个月前患者出现四肢无力, 吞咽、咀嚼和呼吸困难, 心慌不适, 查甲亢全套检查诊断为甲状腺功能亢进症, 胸部 CT 检查发现前纵隔肿瘤, 考虑为胸腺瘤, 为进一步治疗住院入我科。入院时查: 双上睑下垂, 双侧眼球水平运动受限, 眼球突出明显, 双手水平震颤, 查空腹血糖: 9.6 mmol/L, AchRAb: 2.0 ng/L, 甲亢全套 T3: 4.8 nmol/L, T4: 221 nmol/L, TSH: 0.15 uIU/ml, 口服溴吡斯的明 60 mg, 每日 6 次, 能维持正常生活, 诺和灵皮下注射维持血糖 7.8 mmol/L, 尿糖一到+, 口服丙基硫氧嘧啶 100 mg 每日 3 次, 心得安 10 mg 每日 3 次维持基础代谢和症状稳定。入院后患者重症肌无力症状进行性加重, 溴吡啶斯的明剂量增加至 120 mg, 每日 6 次后症状仍不能缓解, 出现四肢无力, 吞咽困难, 呼吸困难, 瞳孔偏大, 诊断为重症肌无力危象急诊行手术治疗。术中见左侧胸腺有一 6 cm× 5 cm× 4 cm 大小的肿瘤, 侵犯左侧纵隔胸膜和膈神经, 完整切除胸腺瘤和胸腺, 清扫纵隔脂肪组织, 术后病理诊断为左侧恶性胸腺瘤, 右侧胸腺淋巴滤泡增生。术后预防性气管切开, 呼吸机辅助呼吸, 继续治疗糖尿病和甲状腺功能亢进症, 调整溴吡啶斯的明剂量, 术后呼吸机辅助 10 d 后脱机, 口服溴吡啶斯的明 60 mg, 每日 6 次能维持日常生活, 术后 18 d 拔除气管导管出院。

讨论

重症肌无力是一种自身免疫性疾病, 常常并发其它自身免疫性疾病。本例患者在重症肌无力合并恶性胸腺瘤发生重症肌无力危象的同时合并有糖尿病和甲状腺功能亢进症, 临床上较为少见, 治疗上极为困难。我们在以前急诊胸腺切除术治疗重症肌无力危象取得较好效果的基础上[1], 对该例患者在积极控制糖尿病和甲状腺功能亢进症的同时采取急诊手术, 术后用呼吸机支持, 严密监护, 根据病情随时调整抗胆碱酯酶药和治疗甲亢、糖尿病的药物, 患者顺利恢复。采用危象期手术可大大缩短重症肌无力危象患者住院和病情缓解时间, 但危险性较大, 一定要作好充分的病情估计和术前准备。

关键词: 胸腺切除术; 重症肌无力
中图法分类号: R746.1 文献标识码: B

参考文献:

[1] 周德韶, 蒋耀光. 重症肌无力危象期中手术的体会[J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 1998, 5(1): 43.

(编辑 薛国文)

作者简介: 龚太乾(1972—), 男, 四川省泸州市人, 博士研究生, 主治医师, 主要从事重症肌无力的外科治疗和肺外科临床方面的研究, 发表论文 8 篇。电话: (023)68757241

收稿日期: 2004-02-13; 修回日期: 2004-05-27

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net