DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.01.005
第26卷第1期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 1
10 2004年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2004

论著

文章编号:1000-5404(2004)01-0010-05

大剂量辐射诱导IEC-6细胞差异表达基因消减cDNA文库的构建

王锋超,高京生,粟永萍,徐 辉,王军平,艾国平,苑晓燕,楼淑芬,刘晓宏,章 波,黄跃生,蒋建新 (第三军医大学预防医学系全军复合伤研究所,创伤烧伤复合伤国家重点实验室,重庆 400038)

提 要:目的 克隆和鉴定大剂量辐射前后大鼠空肠上皮细胞IEC-6差异表达基因,为探索肠上皮细胞辐射损伤修复的分子机制提供线索。方法 IEC-6细胞经35 Gyγ射线照射后由抑制性消减杂交(SSH)方法和T/A克隆技术进行差异表达基因消减cDNA文库的构建,用反向Northern杂交法对库中的EST序列进行筛选,挑取阳性克隆测序,和GenBank比对后挑选有限克隆进行正向Northern杂交进行验证。结果 扩增消减杂交cDNA文库得到约2 000个克隆,随机选取96个白色克隆进行PCR扩增,用反向Northern杂交法对库中的EST片段进行筛选得到15个阳性克隆,代表12个基因的转录产物,部分基因功能已经明确,涉及细胞骨架、细胞应激、细胞周期、信号转导等多方面,另外还获得一新的cDNA序列。结论 SSH法建立了IEC-6细胞差异表达基因消减cDNA文库,一次获得多条差异显示EST片段,基因种类涉及细胞骨架,细胞应激、细胞周期、信号转导等多方面,这些基因可能在肠上皮细胞的辐射损伤反应中起重要作用。

关键词:IEC-6;大剂量辐射;抑制性消减杂交;基因文库
中图法分类号:Q755;Q781;R339.57 文献标识码:A

Construction of subtractive cDNA library for differentially expressed genes in rat intestinal epithelial cells exposed to high-dose radiation by suppression subtractive hybridization

WANG Feng-chao, GAO Jing-sheng, SU Yong-ping, XU Hui, WANG Jun-ping, AI Guo-ping, YUAN Xiao-yan, LOU Shu-fen, LIU Xiao-hong, ZHANG Bo, HUANG Yue-sheng, JIANG Jian-xin (State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Combined Injury, College of Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To clone and identify the differentially expressed genes of rat intestinal epithelial cell line (IEC-6) before and after exposure to high-dose radiation so as to provide proof for the investigation of the molecular mechanisms in the repair of radiation damage of intestinal epithelial cells. Methods A subtractive cDNA library for differentially expressed genes was constructed by suppression subtractive hybridization (SSH) and T/A cloning technique after IEC-6 cells were exposed to radiation at the dose of 35 Gy γ ray. The expressed sequence tag (EST) library was screened by reverse Northern hybridization. Positive clones were sequenced and the similarity was searched against the DNA database in GenBank. Limited clones were identified by Northern hybridization. Results More than 2 000 white clones were harvested after the library amplification. Ninety-six of them were randomly picked out for PCR amplification, and 15 positive clones which corresponded to 12 individual genes were identified by reverse Northern hybridization. These genes were involved in cell skeleton, cell stress, cell cycle control, and signal transduction, etc. In addition, a novel cDNA sequence was also obtained. Conclusion A subtractive cDNA library for differentially expressed genes in IEC-6 cells exposed to the radiation at the dose of 35 Gy γ ray has been successfully constructed with SSH and T/A clone techniques. Several positive ESTs which correspond to genes involving in cell skeleton, cell stress, cell cycle control, and signal transduction are identified. These genes may play important roles in the process of the damage and repair of the intestinal epithelial cells exposed to radiation.

Key words: IEC-6; high-dose radiation; suppression subtractive hybridization; library

小肠上皮细胞是辐射敏感细胞。细胞接受电离辐射后,某些基因表达会上调或者下调,实现对细胞辐射反应分子调控[1,2]。对这些差异表达基因功能群体表达谱的改变以及个体表达差异在整个细胞辐射反应中的贡献进行研究,不仅有助于系统了解细胞辐射反应分子调控网络,也为干预细胞的损伤修复途径提供线

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39970232,30230360)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (39970232, 30230360)
作者简介:王锋超(1977—),男,河北省安平县人,硕士,助教,主要从事小肠的辐射损伤与修复的分子机制方面的研究。电话:(023)68752355
通信作者:粟永萍,电话:(023)68752009;E-mail:suyping@yahoo.com
收稿日期:2003-02-17;修回日期:2003-05-20

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

索和基础。抑制消减杂交法是一种简便而高效的寻找差异表达基因的新方法[3,4]。该方法通过减数杂交和差异基因均衡化, 可使低丰度的差异 mRNA 得以显现。本研究探讨利用抑制消减杂交法构建大剂量辐射前后大鼠空肠上皮细胞 IEC-6 差异表达基因的消减 cDNA 文库。

1　材料与方法

1.1　细胞培养

大鼠空肠上皮细胞株 IEC-6(本所由美国波士顿综合医院引进), 培养至对数增长期, 分为照射组和对照组, ^{60}Co 为辐射源, 35 Gy 一次性照射, 照射距离 0.9 m, 照射剂量率为 4.375 Gy/min, 照后继续培养 24 h。

1.2　总 RNA 分离

照射组和对照组 IEC-6 细胞, 用 Tripure 试剂(Roch), 提取细胞总 RNA。操作按提供手册进行。通过紫外分光光度仪检测和 1% 琼脂糖甲醛变性凝胶电泳对总 RNA 进行定量定性分析。

1.3　抑制消减杂交

照射组 IEC-6 来源总 RNA 为实验方(tester), 对照组 IEC-6 来源总 RNA 为驱动方(driver), 参照 Clontech 公司产品 SMART™ PCR DNA Synthesis Kit 以及 PCR-Select™ cDNA Subtraction Kit 说明书进行操作。

1.3.1　双链 cDNA 的合成　　用 MuMLV 反转录酶合成 cDNA 第一链, 并使其 3′末端合成 SMART Ⅱ Oligo 序列的互补序列。再通过 Advantage 2 Polymerase Mix 以确定最佳循环数的 LDPCR 方法合成双链 cDNA。反应终止后用酚氯仿法纯化 cDNA。

1.3.2　*Rsa* Ⅰ 酶切　　*Rsa* Ⅰ 酶切实验方和驱动方 cDNA, 产生大小合适的平头末端 cDNA 片段, 酚氯仿法纯化后, 各自溶于 5.5 μl 水中。

1.3.3　连接接头　　取 1 μl 实验方 cDNA, 加入 5 μl 无菌水, 均分成两份, 分别与接头 1 和接头 2R 连接反应; 杂交反应:

1.3.4　两次杂交　　连接上接头 1 和接头 2R 的实验方 cDNA 分别与过量的驱动方 cDNA 变性、退火、杂交 8 h, 使实验方中差异表达基因的目标 cDNA 得到大量富集, 然后让两份杂交反应液同时和快速加入的新变性驱动方 cDNA 混合, 再次杂交过夜后加入 200 μl 稀释液, 作为 PCR 模板。

1.3.5　PCR 反应　　取 1 μl 模板 cDNA, 在 PCR 反应体系中先填平接头粘末端, 用接头外侧引物进行第 1 轮 PCR, 再用内侧巢式引物进行第 2 轮 PCR 扩增, 此时获得差异显示 EST 片段。

1.4　消减 cDNA 文库的构建

PCR 纯化试剂盒(clontech)纯化第 2 次 PCR 产物, 取 1 μl(90 ng)和 pGEM® -T easy Vector 1 μl(50 ng)混合, 在 1 μl T4 连接酶的作用下 4 ℃16 h。－20 ℃保存。

1.5　消减 cDNA 文库的扩增和鉴定

乙醇沉淀法纯化连接产物, 取 1 μl 稀释液和 30 μl 感受态大肠杆菌 DH5α 混匀, 电穿孔法转化细菌, X-gal/IPTG 蓝白筛选, 挑取白色菌落接种于 96 孔板, 每孔盛有含氨苄青霉素的 LB 培养基 100 μl, 过夜摇菌后, 取 1 μl 菌液作模板用接头内侧序列巢式引物进行 PCR 扩增, 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定插入片段大小。将具有插入片段的阳性克隆编号保存。

1.6　反向 Northern 杂交

用 PCR 法扩增插入 cDNA 片段, 碱变性后, 点样于尼龙膜上, 用紫外交联法固定, ^{32}P-dCTP 随机引物法标记 cDNA 探针, 经纯化后与膜进行杂交, 放射自显影法显示差异片段。Northern 杂交操作参照文献[5]介绍的方法。

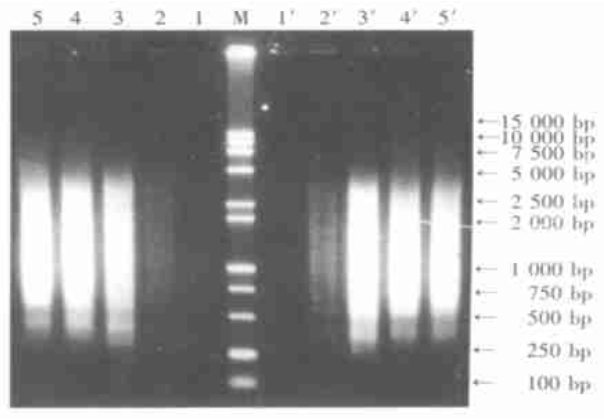
2　结果

2.1　总 RNA 的提取

IEC-6 细胞中提取的总 RNA 溶于 DEPC 水中, 其紫外吸光度值比值 A_{260}/A_{280} 为 1.85～2.1, 表明所提总 RNA 纯度较好。总 RNA 经甲醛变性琼脂糖凝胶电泳, 可见 28、18 S rRNA 对应的条带及 5S rRNA 小分子对应的微弱条带, 说明所提总 RNA 较完整无明显降解。受辐射动物来源的总 RNA 将在抑制消减杂交(SSH)中作为实验方, 而未受辐射的对照组动物来源总 RNA 将为驱动方。

2.2　抑制消减杂交(SSH)

2.2.1　SMART　　cDNA 合成方法指数扩增实验方、驱动方 cDNA 双链。实验方、驱动方总 RNA 各 1 μg 反转录成 cDNA, 进而 PCR 扩增, 15～24 循环数 cDNA 处于指数扩增(图 1), 因此选择 PCR 循环数为 21, 如此获得实验方、驱动方大于 2 μg 的双链 cDNA。



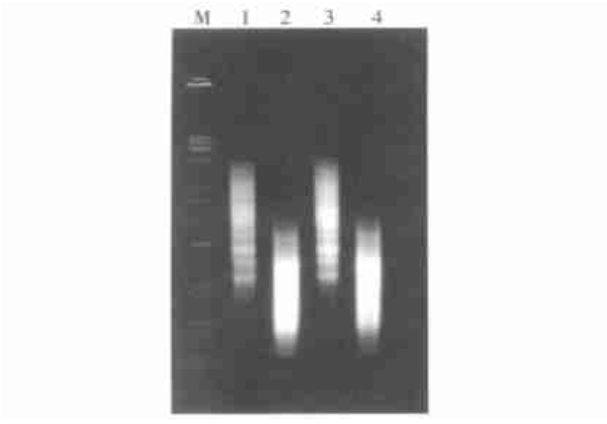
1－5: LD PCR products of the driver cDNA synthesis, cycle numbers 15, 18, 21, 24, and 27; 1′－5′: LD PCR products of the tester cDNA synthesis, cycle numbers 15, 18, 21, 24, and 27; M: DL15 000＋DL2 000 marker

图 1　Smart cDNA 合成中 PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳

Fig 1　Agarose gel electrophoresis of the PCR products in Smart cDNA synthesis

2.2.2　双链 cDNA 反转录和 *Rsa* Ⅰ 酶切效率的分析　　Tester 和 Driver 双链 cDNA, 经 *Rsa* Ⅰ 酶切 3 h 后, 于 1% 的琼脂糖/EtBr 凝胶上电泳分析酶切效果, 结果表明酶切后片段大小分布在 $(0.1\sim2.5)\times10^3$(图 2), 较未经酶切是 Smear 条带发光中心明显前移, 说明酶切较完全。

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

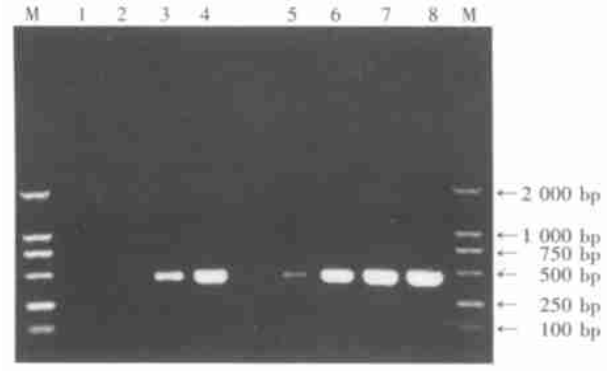


M: DL15 000+DL2 000 marker; 1: Driver ds cDNA before *Rsa* Ⅰ digestion; 2: Driver after *Rsa* Ⅰ digestion; 3: Tester ds cDNA before *Rsa* Ⅰ digestion; 4: Tester after *Rsa* Ⅰ digestion

图 **2** 实验方和驱动方双链 **cDNA *Rsa* Ⅰ** 酶切结果

Fig 2 Tester and driver ds cDNA synthesis before and after *Rsa* Ⅰ digestion

2.2.3 消减效率的分析 与不同接头连接的实验方 cDNA 酶切片段与驱动方 cDNA 酶切片段进行两次消减杂交: 利用与接头序列互补的引物对杂交产物进行两次 PCR 扩增, 连有两种接头、并被驱动方 cDNA 酶切片段消减杂交的实验方 cDNA 片段被有效扩增, 得到消减杂交产物, 从而使大剂量辐射后 IEC-6 细胞中表达上调的差异表达 EST 序列得到富集。PCR 扩增消减产物与未消减对照中的看家基因 G3PDH 对比发现前者在 28 个循环才有明显扩增产物, 而后者在 18 个循环左右就有明显的 G3PDH 扩增产物出现, 表明实验方、驱动方的共有序列被有效消减(图 3)。



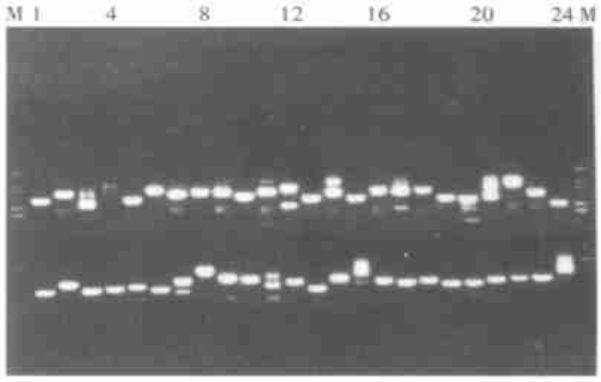
M: DL2000 marker; 1—4: G3PDH products from the subtracted sample, cycle numbers: 18, 23, 28, and 33; 5—8: G3PDH products from the unsubtracted sample, cycle number: 18, 23, 28, and 33

图 **3** **PCR** 扩增看家基因 **G3PDH** 分析消减效率

Fig 3 Reduction of G3PDH abundance by PCR-select subtraction

2.3 克隆到 pGEM® -T easy 质粒中差异片段的 PCR 扩增

消减杂效产物克隆到 pGEM® -T easy 质粒中, 挑取 96 克隆进行 PCR 扩增, 扩增阳性率为 96% 以上, 插入的差异片段大小为 250~1 500 bp, 与酶切和第 2 次 PCR 产物的结果相符(图 4)。



M: DL2 000 marker; 1—24: PCR products of different clones using the nested primers of adaptors

图 **4** 菌落 **PCR** 筛选结果

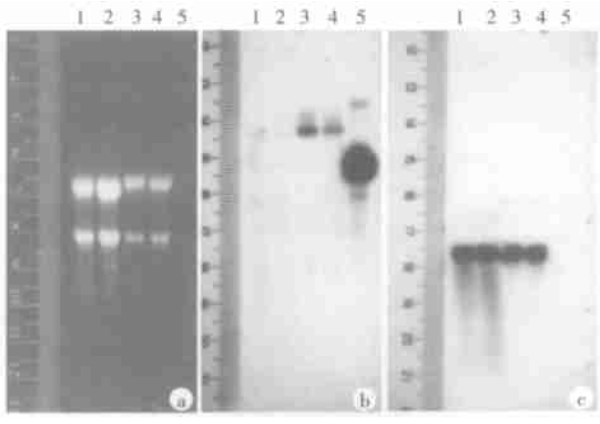
Fig 4 Results of colony by PCR amplification

2.4 反向 Northern 杂交初筛结果

初筛鉴定选用向 Northern 杂交方法, PCR 扩增转化克隆中重组粒的插入片段 cDNA, 用打点转印法, 同样的样品 cDNA 制作两套膜, 分别用正常及辐射细胞 cDNA 探针, 进行杂交, 信号有差异的即为辐射诱导 ST 片段。一共在 160 个克隆中找到 90 个信号有显差别的 cDNA 克隆, 继续进一步的测序工作。

2.5 Northern 杂交鉴定

以 A10 号(未知功能的 EST 序列)为模板标记探针, 与固定于膜上的离体和在体的正常和受照细胞总 RNA 进行 Northern 印迹杂交。图 5 显示, 基因 A10 在离体受照 IEC-6 细胞所表达水平升高, 在离体正常对照 IEC-6 细胞表达弱, 在体洗脱细胞来源的 RNA 泳道上未见明显阳性条带。



1: Total RNA from the intestinal epithelium of the irradiated rat; 2: Total RNA from the intestinal epithelium of the normal rat; 3: Total RNA from the irradiated IEC-6; 4: Total RNA from the normal IEC-6; 5: The plasmid of the T/A clone of the A10 EST. a: Electrophoretic map of total RNA on formaldehyde/agarose/EtBr gel; b: A10 probe hybridized with the nylon membrane containing immobilized RNA; c: G3PDH probe hybridized with the same nylon membrane from A10-stripped probe

图 **5** 克隆 **A10** 的正向 **Northern** 杂交结果

Fig 5 Identification of clone A10 by Northern hybridization

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

3 讨论

抑制性消减杂交法是近两年来兴起的通过差异表达寻找重要功能基因的新方法, 它通过单链 Tester cDNA的消减均等化, 以及两轮抑制性 PCR 使高低丰度的差异表达基因能有效的进行分离, 而且可同时得到多条片段, 通过 T/A 克隆建立差异显示 EST 文库, 从而方便以后的筛选、鉴定等研究工作, 这些都是其它分离差异基因方法(如 mRNA 差异显示法等)所不具备的优势[6]。从mRNA 水平研究差异表达基因实验中较关键的步骤是总 RNA 和 mRNA 的分离纯化, 由于 SSH 需要大量完整性好, 高浓度的 mRNA, 这不仅需要足量(毫克级)的总 RNA, 费时费力, 而且重复困难, 低丰度 mRNA 损失大。作者采用 SMART cDNA 合成的方法对由少量(1 μg)总 RNA 合成的第一链 cDNA 进行指数扩增循环数 PCR, 采用循环数监控得方法保持所得 cDNA 的代表性[7]。通过抑制消减杂交(SSH)和 T/A 克隆等技术, 构建了大剂量照射后大鼠空肠上皮细胞株(IEC-6)差异表达基因的消减 cDNA 文库, 采用正向消减和反向消减的 PCR 产物为探针进行了反向 Northern 筛选, 根据相同拷贝克隆的不同得曝光点吸光度值差异挑选了 15 个阳性克隆进行测序, 将测序结果和基因库进行比对, 有 14 个序列和已知的人类、小鼠和大鼠的 mRNA 序列有 95%以上的同源性匹配, 其中包含 cDNA 已经克隆但功能未知的基因, 另一个为未克隆的 EST 序列。基因种类涉及细胞骨架, 细胞应激、细胞周期、信号转导等多方面。

靶学说认为辐射生物效应是由于电离粒子包括电磁波击中了某些分子或细胞内的特定结构(靶)的结果。γ 射线电离辐射对细胞的作用中, 基因组 DNA 和生物膜是主要的生物效应靶。电离辐射后的 DNA 可以表现为碱基损伤、糖基破坏、DNA 断裂、交联等多种复杂变化, 影响染色体、染色质的结构和功能, 并影响到DNA 的复制、转录等方方面面。电离辐射对生物膜的影响包括膜脂质的过氧化, 蛋白质和糖的辐解, 导致生物膜的微粘度, 流动性、脆性、通透性等物理化学因素的改变, 对膜的转运功能、信号传递、膜蛋白和膜结合蛋白的生物功能等产生直接影响, 使内膜系统的细胞器如细胞核、线粒体、内质网、细胞骨架和细胞连接等出现可逆或不可逆的结构和功能的损伤。这些靶分子、靶器官的直接和间接损伤可以作为信号分子, 通过转录和转录后机制, 诱导一系列基因表达和生化级联反应, 呈现出辐射损伤和修复两方面的抗衡, 最终引起细胞结构和功能的改变, 导致细胞凋亡、修复、存活、转化等改变[8]。

小肠上皮的辐射损伤反应的表现和机制都十分复杂[8]。隐窝区未分化的、具有再生能力的细胞是辐射损伤的主要靶细胞。但是局限范围内(从隐窝纵轴第 4、5 个细胞到第 15、16 个细胞)的细胞辐射敏感性却不同, 很小的剂量(1 ~5 cGy), 很短的时间(几小时)就能引起部分细胞的凋亡细胞。凋亡在一定剂量范围(0.1 ~1 Gy)内呈线性增长, 高于此剂量(1 ~ 15 Gy)呈现平台期, 提示隐窝干细胞对辐射的反应有差异, 存在高度辐射敏感的细胞。它们是隐窝中最初级的干细胞群还是次级的子代细胞, 还是两者都有, 仍不能定论。因此肠上皮隐窝具有一定辐射抗性的, 有克隆形成能力的干细胞的凋亡、存活是胃肠综合征发病、转归的关键[9, 10]。隐窝干细胞相对于其它组织来说, 位置相对明确, 但是没有明确的分子标记, 进行分选富集十分困难。所以对组成单一的隐窝干细胞进行辐射诱导的差异表达基因分析还面临很多技术障碍。离体的大鼠空肠上皮细胞株来源于小肠隐窝, 具有肠上皮细胞的特性, 如有微绒毛, 有相似的细胞因子表达谱等等, 虽然缺乏肠道微环境的刺激, 会有辐射敏感性增强等多种生物学性状的改变, 但在一定程度上可以模仿在体细胞的辐射反应。较大剂量(35 Gy)的辐射对离体的肠上皮细胞具有明显的损伤效应[11, 12]。我们通过倒置显微镜观察, 流式细胞仪检测, TUNLE 试验和克隆形成试验等多种手段(本研究所未发表数据)认识到细胞可表现为坏死、凋亡、细胞周期阻滞、细胞应激、细胞损伤修复等多方面。大剂量辐射(35 Gy)诱导 IEC-6 细胞差异表达基因的筛选的实验结果也初步说明了这一问题。在应激环境下 HSP70 诱导性的表达增高, 提高细胞应付非折叠或变性蛋白增高等多种情况的能力。它可以在 caspase 和非 caspase 依赖性的细胞凋亡中通过影响凋亡相关的线粒体事件的上游和下游事件来抑制凋亡的发生[13]。CDC42 是 GTP 结合蛋白 Ras 超家族(Rho 亚家族)的一员, 是影响多种生物学反应的分子开关。可以在细胞内运输中, 如受体内吞水平、高尔基体转运水平发挥作用[14]。另外还包括细胞骨架分子 moesin、生长因子 kit ligand 等。这些分子在肠上皮细胞的离体在体辐射反应模型中的作用还需进一步的验证、研究。

作者对实验结果中有一条和已经克隆但功能未知的基因的 mRNA 序列有 90%以上的同源性的 EST 序列进行正向 Northern 验证, 结果显示其分子量大小和已报道的未知功能基因不一致, 一个是 3×10^3 左右, 一个大于 10×10^3, 另外在离体照射的细胞株中有表达, 但是在体提取的肠上皮细胞中却没有。分析认为, IEC-6 是隐窝来源的细胞, 而洗脱法获得的在体肠上皮细胞以柱状细胞和杯状细胞等绒毛细胞为主, 具有增

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

殖能力的隐窝细胞数量较少,因此其 RNA 在洗脱细胞总 RNA 只占很小一部分,以致不能由 Northern 检测到靶基因的表达,提示此基因为隐窝细胞特异表达。动物肠道隐窝细胞对射线的细胞毒作用十分敏感,而绒毛分化成熟细胞辐射敏感性不高,在隐窝受损,细胞增殖抑制时,仍能维持一定的吸收分泌功能。此 EST 代表的基因可能在隐窝细胞特异表达,并具有辐射诱导的特性,其在隐窝干细胞的数目维持、增殖分化和辐射敏感性中的意义如何,有待进一步研究。

作者应用 SSH 法建立了 IEC-6 细胞差异表达基因消减 cDNA 文库,一次获得多条差异显示 EST 片段,对库中基因的研究目的更为明确,为下一步进行肠上皮细胞辐射损伤修复的分子机制研究提供了更多的靶点。本实验只进行了一个剂量、一个时相点的诱导库的建立,今后将继续对所克隆基因的功能研究,并且对其他剂量和时相点反应和在体分离辐照前后的隐窝细胞等方面进行探索。

参考文献:

[1] Mayer C, Popanda O, Zelezny O, *et al*. DNA repair capacity after gamma-irradiation and expression profiles of DNA repair genes in resting and proliferating human peripheral blood lymphocytes[J]. DNA Repair (Amst), 2002, 28(3): 237—250.

[2] 夏寿萱. 放射生物学[M]. 北京:军事医学科学出版社, 1998. 153—177.

[3] Diatchenko L, Lau Y F, Campbell A P, *et al*. Suppression subtractive hybridization: a method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996, 93(12): 6025—6030.

[4] Diatchenko L, Lukyanov S, Lau Y F, *et al*. Suppression subtractive hybridization: a versatile method for identifying differentially expressed genes [J]. Methods Enzymol, 1999, 303: 349—380.

[5] Russell S. Molecular Cloning: A Laboratory Manual[M]. Cold Spring Harber Laboratory Press, 2001. 644—648.

[6] 李 靖,韩本立,黄桂君,等. 应用抑制减杂交技术构建肝癌差异表达消减 cDNA 文库[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(6): 689—701.

[7] Von Stein O D, Thies W G, Hofmann M. A high throughput screening for rarely transcribed differentially expressed genes[J]. Nucleic Acids Res, 1997, 25(13): 2598—2602.

[8] Carr K E. Effects of radiation damage on intestinal morphology[J]. Int Rev Cytol, 2001, 208(1): 1—119.

[9] Potten C S. A comprehensive study of the radiobiological response of the murine(BDF1) small intestine[J]. Int J Radiat Biol, 1990, 58(6): 925—973.

[10] Potten C S. Stem cells in gastrointeristinal epithelium: numbers, characteristics and death[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 1998, 353 (1370): 821—830.

[11] QUaroni A, Wands J, Trelstad R L, *et al*. Epithelioid cell cultures from rat small intestine. Characterization by morphologic and immunologic criteria[J]. J Cell Biol, 1979, 80(2): 248—265.

[12] Wroblewski R, Jalnas M, Van Decker G, *et al*. Effects of irradiation on intestinal cells *in vivo* and *in viotro*[J]. Histol Histopathol, 2002, 17(1): 165—177.

[13] Arnaud Parcellier, Sandeep Gurbuxani, Elise Schmitt, Heat shock proteins, cellular chaperones that modulate mitochondrial cell death pathways [J]. Biochem Biophys Res Com, 304 (2003) 505—512.

[14] Erickson J W, Cerione B A. Multiple roles for Cdc42 in cell regulation [J]. Curr Opin Cell Biol, 2001, 13(2): 153—157.

(编辑 张大春)

个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2004)01-0014-01

12 例乳糜腹水的病因分析

Analysis of the causes of chylous ascites in 12 cases

何治军, 吴 涛, 周子成 (第三军医大学西南医院全军消化内科中心, 重庆 400038)

1 临床资料

一般资料: 12 例患者均由实验室检查确诊为真性乳糜腹水(乳糜试验及苏丹Ⅲ染色均阳性),其中男性 8 例,女性 4 例,男女之比为2∶1,年龄 25~63 岁,平均为 51 岁,病程 3 个月~2 年,平均为 9 个月。

临床表现: 12 例均有腹胀痛,乏力 10 例,纳差 8 例,腹泻 4 例,厌油 7 例,活动后气促、呼吸困难 7 例,双下肢浮肿 5 例,发热 5 例,合并右侧胸水 1 例。

腹水检查: 12 例腹水外观均为黄白色乳糜状。乳糜试验阳性。苏丹Ⅲ染色阳性。腹水比重 1.010~1.026。蛋白定量为 2.4~38 g/L,≥25 g/L 9 例。细胞总数(1.92~4.2)×10^9/L。其中 3 例腹水甘油三酯分别为 3.81、2.82、3.31 mmol/L,腹水胆固醇为 0.6、0.82、0.96 mmol/L。

病因诊断: 12 例中肝硬变 6 例,原发性肝癌 3 例,结核性腹膜炎 2 例,肾病综合征 1 例。

治疗: 12 例患者均针对原发病,予低脂饮食、间断输注白蛋

(下转 17 页)

作者简介: 何治军(1966—),男,重庆市人,主治医师,现在重庆市第五人民医院内一科。电话: (023)62879457

收稿日期: 2003-04-28; 修回日期: 2003-08-20

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