DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.17.010

应[7]。Kluck等用C螯合剂EGTA、EDTA、BAPTA-AM等处理NS-1鼠骨髓瘤细胞系,发现细胞内钙离子浓度和整个细胞内钙含量都下降,但细胞仍可进行凋亡,因而其认为不只是细胞内钙离子浓度的升高或下降引发细胞凋亡反应,而起决定作用的因素可能在于维系某一细胞生存的钙离子浓度的失衡[8]。Stewart等[9]也发现神经酰胺(C2-ceramide)可通过诱导酪氨酸激酶活性增加——不通过钙离子动员,来诱导细胞凋亡,他们认为可能是通过Raf激酶信号传导途径诱导了细胞凋亡。

本研究用3个不同的实验方法均未发现THH碱诱导后胞内游离钙离子浓度发生变化,因此THH碱诱导Jurkat细胞凋亡可能是通过另外的途径。许多实验显示,线粒体膜通透性转变孔道(Permeability transition pore, PTP)开放可造成线粒体膜电位的消散,引起线粒体内的高浓度钙离子外逸,进而造成胞内游离钙离子浓度增高[10],然而本课题的另外的试验显示THH碱确实可以诱导线粒体膜电位降低,对这一非常有兴趣的问题值得进一步研究。

(感谢新桥医院临床药理基地徐颖硕士在昆明山海棠碱制取工作中给予的热情帮助。)

参考文献:

[1] 郑 倩,骆云鹏. 钙稳态紊乱和细胞凋亡[J]. 川北医学院学报,2001,16(4):142-144.
[2] 杨录军,敖 琳,Nuesse Michael,等. 昆明山海棠碱诱导Jurkat淋巴瘤细胞膜磷脂酰丝氨酸外翻及瘤细胞超微结构改变的研究[J]. 第三军医大学学报,2003,25(17):1501-1504.
[3] 敖 琳,曹 佳,孙华明,等. 昆明山海棠诱导HL-60细胞凋亡的初步研究[J]. 中草药,2001,32(4):913-916.
[4] Grundler W, Dirscherl P, Beisker W, *et al*. Early functional apoptotic responses of thymocytes induced by Tri-n-butyltin[J]. Cytometry, 2001, 44(1):45-56.
[5] 程锦轩. 钙的代谢及生理功能[A]. 见:刘景生 主编. 细胞信息与调控[M]. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1998. 356-363.
[6] 敖 琳,曹 佳. 细胞凋亡中Ca^{2+}昆的分子靶点[J]. 癌变·畸变·突变,2001,13(3):196-199.
[7] 彭黎明,王曾礼. 细胞凋亡的基础与临床[M]. 北京:人民卫生出版社,2000. 41-43.
[8] Kluck R M, McDougall C A, Harmon B V, *et al*. Calcium chelators induce apoptosis-evidence that raised intracellular ionised calcium is not essential for apoptosis[J]. Biochim Biophys Acta (BBA) - Molecular Cell Research, 1994, 1223(2): 247-254.
[9] Stewart C E H, Mihai R, Holly J M P. Increased Tyrosine Kinase Activity but Not Calcium Mobilization Is Required for Ceramide-Induced Apoptosis[J]. Exp Cell Res, 1999, 250(2): 329-338.
[10] Francois Ichas, Jean-Pierre Mazat. From calcium signaling to cell death: two conformations for the mitochondrial permeability transition pore. Switching from low- to high-conductance state[J]. Biochim Biophys Acta, 1998, 1366(1): 33-50.

(编辑 汪勤俭)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2003)17-1520-01

小儿颈部结核冷脓肿误诊为甲状舌骨囊肿2例

Tuberculous abscess of the neck in children misdiagnosed as thyro hyoid cyst: Report of 2 cases

王 进[1],柯振武[2] (成都军区总医院:[1]耳鼻咽喉科;[2]放射科,成都 610083)

患者,女性,汉族,13岁,发现颈前区中下部包块1月,无发热,无咽喉疼痛及声音嘶哑。当患者后仰及扭颈时疼痛,且包块有渐增大趋势。入院查体:颈前正中环状软骨下可触及一包块,质中,约2.5 cm×2.5 cm大小,可推动,无压痛。彩超示甲状腺峡部上份一肿物,与甲状腺无明确关系。诊断为甲状舌骨囊肿。准备后局麻下行甲状舌骨囊肿摘除术,术中舌骨无关,在剥离囊肿时有白色稠状液体流出;吸净后,将囊肿摘除送病检。报告为炎性病变,后行PCR检测,证实为结核。后再次查体,又发现患者左侧胸锁乳突肌上段深面有一包块,约2.5 cm×2.5 cm,质中等硬,表面光滑,可移动。鼻咽顶壁有一分叶状、凸凹不平物,活检示结核性肉芽肿。后患者转院行抗结核治疗。

患者,女性,汉族,6岁,15 d前某晚发现颈正中一包块,质软,疼痛拒触摸。患儿昼夜哭闹不止,伴咳嗽,但无发热及盗汗。查体:颈正中甲状舌骨膜处有一包块,约2 cm×2 cm大小,质软,穿刺抽出白色液体25 ml,培养未见细菌生长,初步诊断甲状舌骨囊肿,术前心电图、胸片、血常规、肝、肾功检查未见异常,在全麻下手术,术中剥离囊肿时囊壁破裂,有白色液体溢出,吸净后摘除囊肿,发现与舌骨无关。术后伤口愈合差,一直有脓液流出,再次于2月16日取伤口内脓液培养未见细菌,血常规复查无异常,血沉:29 mm/h,抗酸刮片染色未见抗酸杆菌。后将脓液进行PCR检测,发现TB-DNA阳性特异片段,确定为

(下转1523页)

作者简介:王 进(1972-),男,四川省遂宁市人,硕士,主治医师,主要从事耳鼻喉科方面的研究,发表论文13篇。电话:(028)6570392
收稿日期:2002-09-01;修回日期:2003-01-05

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

且毒副作用最小,因此研究其药理作用具有更为重要的实际意义[3]。本研究用 Annexin V/PI 双标记法[3]同样证实了 THH 碱具有很强的诱导 Jurkat 细胞凋亡的能力,呈明显的剂量和时间依赖性,且引起的细胞死亡具有不可逆性。

现认为凋亡蛋白酶通过两条途径被激活:受体介导途径(FasL 或 TNFα 介导)和线粒体途径[5],在受体介导途径中,Fas 配体与细胞膜上的 Fas 受体结合,受体-配体聚合后,死亡适配分子(Death adapter molecule)在细胞膜内面聚集形成聚合物,pro-caspase-8 随后也集聚在此聚合物上,并同时被激活。激活的 caspase-8 可剪切激活 caspase-3、caspase-7、Bid 蛋白等凋亡相关分子。Caspase-7 和 caspase-3 一样是主要的效应凋亡蛋白酶,它们剪切激活细胞内多种凋亡相关分子,包括依赖 caspase 激活的 DNA 酶[6],caspase-8 也可通过水解活化 Bid 蛋白作用于线粒体,诱导线粒体释放多种凋亡因子。

Fas 与 FasL 相结合是细胞凋亡的一条重要途径,已经发现,FasL 在淋巴系细胞中呈广泛表达,用临床治疗剂量的抗癌药物可诱导 FasL 的表达,FasL 通过与 Fas 受体交联以自分泌或旁分泌的方式介导细胞凋亡[7]。Fas 受体寡聚化可以诱导其与调节分子如 FADD 和 Pro-cspase-8 形成死亡诱导效应复合体(DISC),DISC 诱导 Pro-caspase-8 发生构象改变,引起 caspase-8 的自主水解激活,启动凋亡的蛋白酶级联[8]。

本研究结果显示,THH 碱在诱导 Jurkat 细胞凋亡的早期阶段(6 h),FasL 蛋白表达和 caspase-8 剪切激活均开始增加,说明 THH 碱诱导 Jurkat 淋巴瘤细胞凋亡中通过了 Fas/L、caspase-8 途径。

在 THH 生物碱诱导 Jurkat 细胞后 6 h,caspase-7 与 caspase-8 同期开始剪切激活;且于 12 h 与 caspase-8 同期达高峰,揭示 caspase-7 也被 caspase-8 剪切激活并参与其凋亡过程。Caspase-7 于 12 h 后呈降低趋势,这主要是由于随着凋亡的进一步发展,坏死细胞的数量增加所致。然而不同的是 Pro-caspase-7 蛋白的表达量并没有随着活性剪切形式 caspase-7 的上升而下降,推测 THH 可能通过别的途径诱导 Pro-caspase-7 蛋白的转录或翻译过程所致。

Caspase-8 也可通过水解活化 Bid 蛋白作用于线粒体从而激活线粒体途径。本研究结果显示,随着凋亡细胞比例的增加,Bid 酶原表达量明显地降低而 Bid 剪切激活则明显增加;12 h 后 Bid 开始激活,较 caspase-8 的激活启动延迟一个实验时间间隔 6 h;其剪切在 18 h 达到高峰并维持至 24 h。我室前期的结果也发现 THH 碱诱导 Jurkat 细胞凋亡的过程中线粒体参与了调控。

综上所述,THH 碱首先通过 Fas/L、caspase-8 途径启动 Jurkat 淋巴瘤细胞株的凋亡机制,随后 caspase-8 剪切激活凋亡效应蛋白酶 caspase-7 和线粒体凋亡途径的前期蛋白 Bid,Bid 参与启动线粒体凋亡途径。

参考文献:

[1] 敖　琳, 曹　佳, 徐　颖, 等. 昆明山海棠总生物碱诱发 HL-60 细胞凋亡的观察[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(11): 1273－1275.

[2] Inayat-Hussain S H, Osman A B, Din L B, *et al*. Caspase-3 and -7 are activated in goniothalamin-induced apoptosis in human Jurkat T-cells[J]. FEBS Letter, 1999, 456(1): 379－383.

[3] 舒尚义. 昆明山海棠的毒性及毒性成分的研究[J]. 云南中医杂志, 1983, 4(6): 43－44.

[4] Vermes I, Haanen C, Steffens-Nakken H, *et al*. A novel essay for apoptosis. Flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using fluorescein labelled Annexin V[J]. J Immunol Methods, 1995, 184(1): 39－51.

[5] Gottlieb R A. Mitochondria: execution central[J]. FEBS Lett, 2000, 482(1－2): 6－12.

[6] Liu X, Zou H, Slaughter C, *et al*. DFF, a heterodimeric protein that functions downstream of caspase-3 to trigger DNA fragmentation during apoptosis[J]. Cell, 1997, 89(2): 175－184.

[7] Friesen C, Herr I, Krammer P H, *et al*. Involvement of the CD95(APO-1/FAS) receptor /ligand system in drug-induced apoptosis in leukemia cells[J]. Nat Med, 1996, 2(5): 574－577.

[8] Hengartner M O. The biochemistry of apoptosis[J]. Nature, 2000, 407(6085): 770－776.

(编辑　汪勤俭)

(上接 1520 页)

颈部结核冷脓肿,后出院行抗结核治疗。

讨论

儿童颈部正中出现结核性冷脓肿很少见。从我科收治的小儿颈部包块来看,甲状舌骨囊肿最多见[1],次为甲状腺囊肿,最后为颈部结核脓肿。甲状舌骨囊肿最常见的部位在舌骨附近。有时上端借小管通向舌盲孔,下端延伸到甲状腺,通过 B 超及同位素扫描不难作出诊断。但要确诊为颈部结核性冷脓肿却相当有难度。首先,耳鼻咽喉结核发生率低,原发性甚少,多继发于较严重的肺结核或其它器官的结核,通过接触,血行或淋巴途径传播。仔细询问患者病史(均无卡介苗接种,无盗汗)及胸片,均未提示结核感染;其次:只有条件比较好的医院才能进行聚核酶链反应(PCR)扩增筛选 TB-DNA,快速诊断结核,因为 PCR 具有极高敏感性和特异性。

从这两例病例,我们认识到近几年耳鼻咽喉结核发病率有上升趋势,遇到小儿颈部包块应详细体检(局部病变、耳、鼻、咽喉),进行胸片、PPD、血沉、痰及穿刺抽脓培养查找抗酸杆菌检查,B 超、同位素扫描,必要时利用 PCR 技术高度特异性排除 TB－DNA 存在,避免误诊误治,减轻患者身体、精神及经济损失。

关键词:结核冷脓肿;误诊;骨囊肿;舌骨
中图法分类号:R529.8　　文献标识码:B

参考文献:

[1] 黄选兆, 汪吉宝. 实用耳鼻咽喉科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1998. 40－42.

(编辑　王　红)

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