DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.06.021
514 第25卷第6期 2003年3月 第三军医大学学报 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Vol. 25, No. 6 Mar. 2003

论著

文章编号:1000-5404(2003)06-0514-05

兔源内毒素结合蛋白的提取纯化及体外生物学活性研究

葛晓冬[1],刘友生[1],王晓东[1],潘 峰[2],周 萍[3] (第三军医大学:[1]附属西南医院病理学研究所;[2]高原军事医学系中心实验室,重庆 400038;[3]附属大坪医院野战外科研究所分子生物学中心,重庆 400042)

提 要:目的 从烧伤合并内毒素血症损伤兔的血清中分离纯化出内毒素结合蛋白(Lipopolysaccharide-Binding Protein LBP),以研究LBP在烧伤复合内毒素血症中的作用。方法 兔血清中蛋白质通过二步离子交换层析(Bio-Rex 70 Resin、Mono-Q)及凝胶过滤来分离纯化,并经流式细胞分析实验、绵羊红细胞凝聚实验、氨基末端氨基酸残基测序等方法鉴定,再将LBP作用于体外培养的人单核细胞(U937),观测其分泌TNFα等细胞因子的状况。结果 获得一种分子量为60×10^3蛋白质,其N端10个氨基酸序列为TNPGLITRIT,与NCBI蛋白质库中有关兔的氨基酸序列进行比较,发现其与LBP的序列相同,它能促进脂多糖(Lipopolysaccharide LPS)与外周血单核细胞(PBMC)结合,并能促进U937在极低浓度的LPS用下分泌TNFα。结论 从血清中分离纯化带有生物活性、全长LBP是可行的,LBP能促进极低浓度的LPS与单核细胞结合,介导炎性因子的分泌,从而促进炎症反应的发生。

关键词:内毒素结合蛋白;脂多糖;二步离子交换层析;凝胶过滤;肿瘤坏死因子α
中图法分类号:R392.11;R341;R446.1 文献标识码:A

A study of the extraction and purification of rabbit lipopolysaccharide-binding protein and its biological function *in vitro*

GE Xiao-dong, LIU You-sheng, WANG Xiao-dong, PAN Feng, ZHOU Ping (Department of Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To purify and extract the lipopolysaccharide-binding protein from the serum in rabbits inflicted with injury due to burn complicated with endotoxemia so as to study the principal biological function of the protein. Methods The protein of the rabbit serum was purified and extracted by two-step ion-exchange chromatography (Bio-Rex 70 Resin, Mono-Q) and gel chromatography, and was determined with fluorescence activated cell sorter (FACS) experiment, agglomerate experiment of sheep erythrocyte and NH_2-amino acid sequence determination. At last LBP was added to the culture of human monocyte (U937) to observe the changes of the tumor necrosis factor alpha (TNFα) in the culture. Results A kind of protein with molecular weight being 60kDa was acquired from the serum. Its NH_2-terminal amino acid sequence was TNPGLITRIT. After comparison with the rabbit amino acid sequence bank of NCBI (National Center for Biotechnology Information), it was proved to be the same sequence as that of LBP. The protein could promote the binding of LPS (lipopolysaccharide) with peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and accelerate the secretion of TNFα by U937 with low molarity of LPS. Conclusion It is feasible to acquire complete functional LBP from serum. LBP can promote the inflammatory response by the acceleration of the binding of LPS at low concentration with monocyte and induction of the secretion of inflammatory factor.

Key words: lipopolysaccharide binding protein; lipopolysaccharide; two-step ion-exchange chromatography; gel chromatography; tumor necrosis factor alpha

烧伤复合内毒素血症是常见的临床病症,在战时也多见,它是导致全身炎症反应综合征(SIRS)、多器官功能障碍综合征(MOFS)的重要原因之一,MOFS发生机制的研究已成为一个热点。现已知机体在多种损伤因素作用下,如G^-杆菌感染等,肝细胞能合成分泌内毒素结合蛋白(LBP),LBP能显著促进多聚酯多糖(Lipopolysaccharide, LPS)的单体化[1],并促进LPS与外周血单核细胞(PBMC),以及肝脏库普弗细胞(KC)等细胞膜面的CD14(mCD14)结合,形成LPS-LBP-mCD14复合

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39970757)
作者简介:葛晓冬(1971-),男,河北省保定市人,博士,讲师,主要从事创伤分子病理机制方面的研究。电话:(023)68752246
通信作者:刘友生,电话:(023)68754431
收稿日期:2002-01-03;修回日期:2002-06-10

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

物[2] (Ternary complex model), 经 TLR4-MD-2-MYD88 识别复合物向胞内传递信号, 再经 NF-Kappa B 向胞核内传递信号[3,4], 从而介导促炎细胞因子的分泌。

本研究以兔 20% 体表 III度烧伤合并腹腔 LPS 注入, 复制类似人体急性肝损害动物模型, 采用外周血多步离子交换层析、凝胶过滤层析等方法分离、纯化 LBP, 并初步研究了 LBP 的体外生物学活性。

1　材料与方法

1.1　实验动物致伤及处理过程

健康日本长耳兔 30 只, 雌雄不限, 体重(2.0±0.2) kg。随机抽出 5 只行备皮和腹腔注射生理盐水(1 ml/kg), 作为对照组. 余下动物为实验组, 体表致 20% III度烧伤, 并同时按 0.5 mg/kg LPS(*E. coli*, O111:B4, Sigma), 以 2.0 ml/mg 无菌生理盐水溶解稀释后腹腔注射[5], 动物于致伤后 6 h, 活杀, 颈总动脉取血, 全血于 37 ℃静置 1 h, 4 ℃过夜, 再取血清分离纯化蛋白质。

1.2　蛋白质的提取、纯化

1.2.1　Bio-Rex 70 Resin 离子交换层析　　Bio-Rex 70 Resin (美国 Bio-Rad Laboratories 143-5832)柱芯填料以 41 mmol/L NaCl PB-EDTA 液(50 mmol/L PB, 2 mmol/L EDTA, pH 7.3)浸泡过夜[6], 平衡后装柱, 并以低压层析系统(美国 BIO-RAD 公司, Biologic LP)上样, 再以 41 mmol/L NaCl PB-EDTA 洗柱, 待无蛋白质洗出后, 以含 NaCl: 220 mmol/L、350 mmol/L、500 mmol/L、1 mol/L 的 PB-EDTA 液依次梯度洗脱, 每个洗脱蛋白质峰单独收集并脱盐、浓缩、鉴定。

1.2.2　Mono-Q 柱离子交换层析　　Mono-Q 柱(Bio-Rad Laboratories HR 5/5)以 20 mmol/L 二乙醇胺液(pH 8.3)平衡, 以高压层析系统(美国 Waters 公司, Water 484 和 Water 510)加入经 Bio-Rex 70 Resin 离子交换层析获得的具有促进 FITC-LPS 与 PBMC 结合的蛋白质样品, 再逐步以 333 mmol/L 硫酸铵液(pH 8.3)进行线性洗脱(流速 1 ml/min), 每个洗脱蛋白质峰单独收集并脱盐、浓缩、鉴定。

1.2.3　葡聚糖凝胶 G-100(Sephadex G-100)(Pharmacia)过滤层析　　G-100 以 41 mmol/L NaCl PB-EDTA 液发胀、平衡 48 h 后装柱、压紧, 加入具有活性蛋白质峰后, 再以 41 mmol/L NaCl PB-EDTA 洗脱(流速 50 cm/h), 收集洗脱峰、脱盐、冻干并鉴定。

1.3　蛋白质鉴定

1.3.1　流式细胞分析实验(Flow cytometry analysis FACS)　　LBP 应具有促进荧光标记的 LPS(FITC-LPS, *E. coli*, 055:B5 Sigma)与外周血单核细胞膜相结合的能力, 因而用此方法来鉴定所分离的蛋白质是否具有与 LBP 相似的功能。人或兔外周抗凝全血以 Ficoll 液进行密度梯度离心, 取外周血单核细胞层细胞(PBMC), 以 10 mmol/L PBS 洗涤并调浓度至 4×10^6/ml; FITC-LPS (终浓度 2.5 μg/ml)与所分离蛋白(10 μg)共孵育 10 min 后, 再加入 2×10^5 PBMC, 37 ℃孵育 30 min, 此后以 10 mmol/L PBS 冲洗细胞两次, 最后 PBMC 用流式细胞仪(美国 ESP EPICS ELITE)检测其荧光强度, 并以 10 μg/mL 牛血清作为空白对照(不以正常兔血清为空白对照, 排除兔血清中的其它蛋白质干扰)。

1.3.2　ELISA 法检测实验　　根据 LBP 能与 LPS 特异性地结合, 来检测分离峰中新蛋白是否具有与 LBP 相似的功能。以分离峰蛋白质包板(每孔 50 μl)后, 每孔加入 LPS 50 μl (含 LPS 200 ng), 孵育、洗板, 再加抗 LPS 血清(鼠源), 再加入结合有 HRP-Avidin 的 Bio-羊抗鼠 IgG, DAB 显色(0.5 mg/ml, 0.02% H_2O_2), 并以 10 μg/ml 牛血清作为阴性对照。

1.3.3　绵羊红细胞凝聚实验　　绵羊抗凝外周全血, 水平离心取沉淀红细胞(RBC), 以 10 mmol/L PBS 洗涤, 将 0.2 ml 压积的 RBC 稀释至 2 ml 并与 0.4 mg Re LPS 共孵育 30 min(37 ℃), 凝聚板每孔加入 100 μl 孵育后的 RBC 细胞悬液, 再加入所分离的蛋白质(10 μg/孔), 37 ℃下静置, 观测 RBC 凝聚、沉积状态, 以 100 μg/ml 牛血清作为阴性对照。

1.3.4　聚丙烯酰胺凝胶蛋白质电泳(SDS-PAGE)　　SDS-PAGE 不连续电泳, 浓缩、分离胶浓度分别为 5%和 12%胶, 以 Bio-Rad Minigel device(胶厚 1 mm)进行垂直电泳, 蛋白质以考马斯蓝 R-250 染色, 以测定目的条带的分子量大小及其纯度。

1.3.5　氨基末端氨基酸残基测序鉴定　　将具有与 LBP 相似功能的蛋白质进行 SDS-PAGE 后, 立即半干电转入 PVDF 膜(20 V X 40 min), 以考马斯蓝 R-250 染色, 剪下 PVDF 膜上的目的条带, 寄北京大学生命科学院进行 N 端氨基酸残基测序, 并与蛋白库中已知氨基酸序列进行比较。

1.4　蛋白质体外生物学活性实验

TNFα 分泌实验, U937 细胞以佛波脂(PMA 10 ng/ml, Sigma)诱导分化成熟后, 以含 15%新生小牛血清的 RPMI 1640 培养基悬浮并调浓度为 1×10^6/ml, 24 孔板内加入 1×10^6/well U937 细胞及 LPS(10 ng/ml), 再加入纯化获得的蛋白质(3.3 μg/孔), 37 ℃、5% CO_2 孵育, 取 15 min、0.5、1、6、12、24 h 共 6 个时相点, 分别吸取培养上清, 放免法测 TNFα 含量, 反映蛋白质的生物学效应。

1.5　统计学分析

采用 χ^2 检验和 t 检验。

2　结果

2.1　蛋白质纯化

2.1.1　Bio-Rex 70 Resin 离子交换层析　　对照组兔血清和实验组兔血清分别经 Bio-Rex 70 Resin 离子交换层析梯度洗脱后, 获得 A 峰(一过性未吸附峰)、B 峰、C 峰、D 峰、E 峰, 实验组和对照组的峰形无显著差异($P>0.05$)。

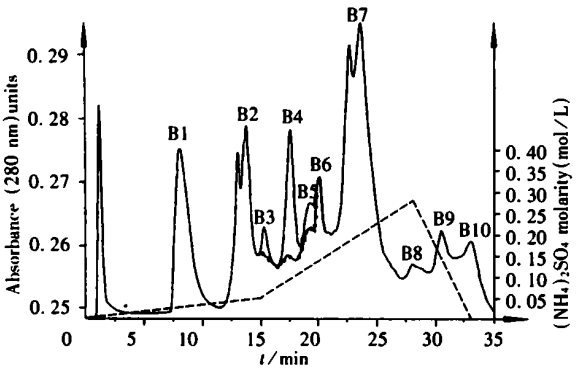
2.1.2　Mono-Q 柱离子交换层析　　将实验组和对照组经 Bio-Rex70 Resin 纯化获得的 B 峰蛋白质及 C 峰蛋白质分别以 Mono-Q 柱进行线性洗脱, 得到 B1～B10 峰和 C1～C5 峰, 实验组 B1～B10 峰与对照组 B1～B10 峰比较, 可见实验组拥有一个较大的 B4 峰, 而对照组的 B4 峰非常小, 见图 1。

2.2　蛋白质鉴定

2.2.1　FACS 实验　　用人 PBMC 进行 FACS 检测, 可见实验组 B、C 峰蛋白质以及进一步纯化获得的实验组 B4、C2 峰蛋白质均具有促进 FITC-LPS 与单核细胞结合的能力, 促进吸收峰上抬和部分右移, 其中 B 峰蛋白质的荧光强度为空白对照的 3.02 倍, B4 峰蛋白质的荧光强度为空白对照的 4.29 倍, C 峰蛋白质的荧光强度为空白对照的 2.7 倍, C2 峰蛋白质的荧光强度为

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

空白对照的3.5倍。并且由于B4峰蛋白质能促进FITC-LPS结合于PMNC膜上，所以在荧光显微镜下可见PBMC膜上带有明亮荧光，见图2。



—: A_{280} absorbance of test group fraction B; "B1、B2……B10: Mono-Q elute; — ·— ·—: difference of control group fraction B with test group fraction B in A_{280} absorbance; — — — —: molarity of $(HH_4)_2SO_4$

图1 Mono-Q柱对实验组和对照组兔B峰蛋白质的离子交换纯化结果

Fig 1 Ion-exchange chromatography of Test group fraction B and Control group fraction B on Mono-Q resin

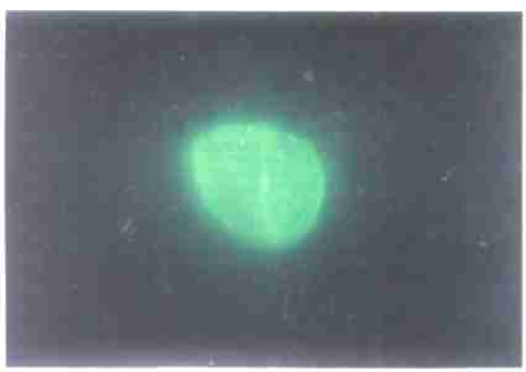


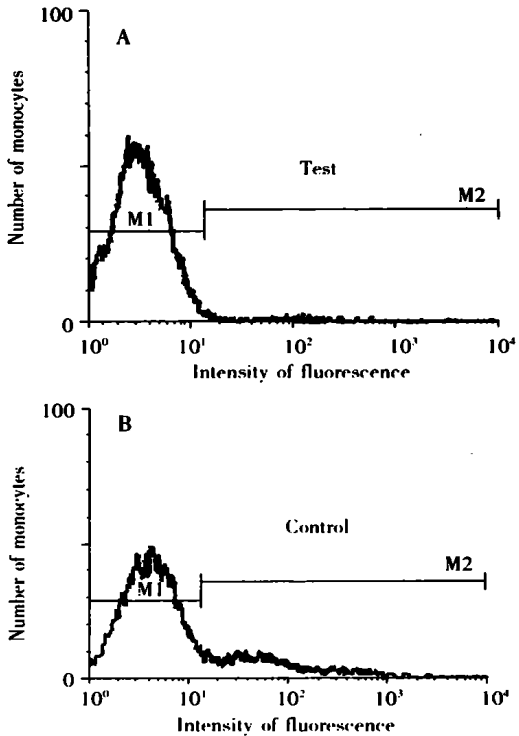
图2 人PBMC与FITC-LPS结合后荧光照片

Fig 2 Fluorescence photo of human PBMC with FITC-LPS

进一步用兔PBMC进行FACS实验，发现兔B4峰蛋白质能显著促进LPS与兔PBMC结合，出现一个明显上抬的吸收峰，其荧光强度为空白对照的9.55倍，见图3；而B4峰蛋白与人PBMC结合，其荧光强度仅为空白对照的4.29倍，说明兔B4峰蛋白质促进LPS与人的PBMC结合力相对较弱，提示兔B4峰蛋白质对人PBMC具有交叉作用，同时也具有一定的种属特性。

2.2.2 ELISA法检测和绵羊红细胞凝聚试验 B4峰蛋白质在1.25 μg/ml时可促进表面标记有ReLPS的RBC凝聚，C2峰蛋白质浓度在2.5 μg/ml时才能促进RBC凝聚；ELISA法检测发现只有B4峰C2峰蛋白质和C2峰蛋白质能与LPS结合。

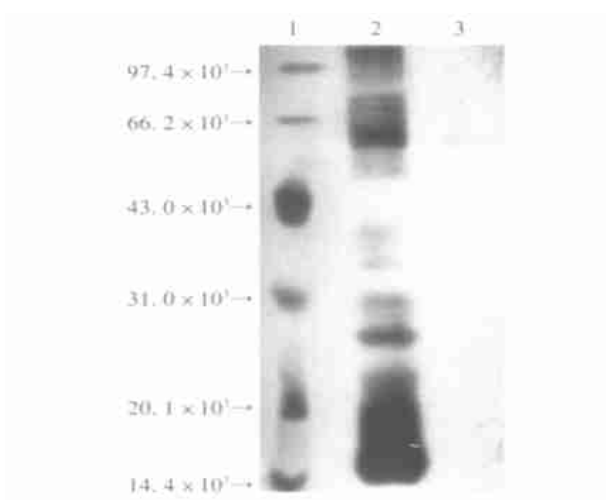
2.2.3 SDS-PAGE 实验组经Bio-Rex 70 resin分离获得的A、B、C、D、E峰进行SDS-PAGE，可见各个峰内蛋白质均较杂；实验组B4峰蛋白质以Sephadex G-100过滤脱盐及除杂质，得到较纯净的B4峰蛋白质，SDS-PAGE下见B4峰中含有分子量约60 kDa条带，见图4。



10 μg/ml bovine albumin in control group; 10 μg/ml fraction B4 in test group

图3 FITC-LPS与兔PBMC结合试验结果

Fig 3 Binding of FITC-LPS to rabbit PBMC(2×10^5) with 10 μg/ml



Lane 1: Molecular mass markers (97.4, 66.2, 43, 31, 20.1, 14.4×10^3); 2: Fraction B; 3: Fraction B4

图4 SDS-PAGE B峰和B4峰

Fig 4 SDS-PAGE analysis of fraction B and fraction B4

2.2.4 氨基末端氨基酸残基测序鉴定 将B4峰蛋白质电泳后电转入PVDF膜，测其N端10个氨基酸残基，获得序列为TNPGLITRIT，并与NCBI蛋白质库中的已知片段进行比较，见表1。发现B4的氨基酸序列与兔LBP的氨基酸序列相同。

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

表 1　兔已知能与 LPS 部分结合的蛋白质 N 端氨基酸序列和 B4、C2 的 N 端氨基酸序列

Tab 1　NH_2- Amino acid sequence of rabbit protein binding to LPS and C2/ B

Names	NH_2-terminal Amino acid sequences
Amylase	Met-Ala-Lys-Arg-Lys-Phe-Ser-Gly-Leu-Glu
BPI	Gln-Lys-Gly-Leu-Asp-Tyr-Ala-Cys-Gln-gln
CAP 18	Met-Lys-Thr-Gln-Arg-Asp-Gly-His-Ser-Leu
Lysozyme C	Lys-Ile-Tyr-Glu-Arg-Cys-Glu-Leu-Ala-Arg
Serum albumin	Met-Lys-Trp-Val-Thr-Phe-Ile-Ser-Leu-Leu
Transferrin	Met-Arg-Leu-Ala-Ala-Gly-Leu-Leu-Ala-Cys
LBP	Thr Asn-Pro-Gly-Leu-Ile-Thr-Arg-Ile-Thr
B4 (60× 10^3)	Thr Asn-Pro-Gly-Leu-Ile-Thr-Arg-Ile-Thr

The amino acid sequences are from protein bank of NCBI (except the sequence of B4)

2.3　蛋白质 B4 体外生物学活性

TNFα 分泌实验中, 在极低的 LPS 的作用下(0.5 ng/ml), 只有加入 B4 峰蛋白质的 U937 细胞才分泌 TNFα, 未加 B4 峰蛋白质的 U937 细胞在 5 ng/ml LPS 的作用下仍不分泌 TNFα; 在 10 ng/ml LPS 的作用下, B4 峰蛋白质能显著促进 U937 细胞分泌 TNFα, 见图 5, 与只用 LPS 的组相差显著($P<0.05$), 说明 B4 峰蛋白质能促进 LPS 作用于 PBMC, 激活 TNFα 等炎性因子的分泌, 参与炎症反应。在实验中还发现蛋白质 C2 的体外生物学活性也与 LBP 相似($P>0.05$)。

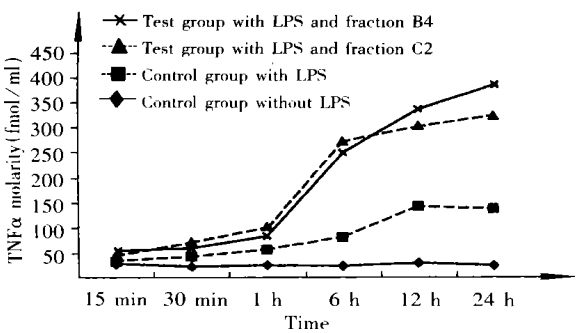


图 5　人 U937 细胞刺激后 TNFα 分泌实验

Fig 5　Secretion of TNFα by human U937 cells

3　讨论

实验采用二步离子交换层析及凝胶过滤法成功分离、纯化出较高纯度的兔 B4 蛋白质, 在第一步 Bio-Rex 70 Resin 交换层析中将 B4 浓缩了 7 467 倍, 在第二步 Mono-Q 交换层析中将 B4 浓缩了 79.1 倍(合计共浓缩 590 640 倍)。其 N 端氨基酸残基序列为 TNPGLITRIT, 将它与 NCBI 库中的氨基酸序列进行比较, 发现 B4 蛋白质的 N 端氨基酸序列与兔 LBP 的 N 端氨基酸序列相同, 并且在流式细胞分析实验、绵羊红细胞凝聚实验、ELISA 法检测实验和体外生物学活性实验中均证明 B4 蛋白质拥有与 LBP 相似的功能, 从而进一步证明 B4 可能为兔 LBP。

国外文献中均是从致伤后 24 ~ 48 h 动物血清中分离、纯化 LBP, 而此次实验从致伤后 6 h 兔血清中获得了较高纯度的 LBP, 充分证明 LBP 是一种急性炎症反应蛋白, 在炎症反应早期出现并参与反应, 在烧伤合并内毒素血症损伤中发挥作用。兔 LBP 能显著地促进 LPS 与兔 PBMC 结合, 而促进 LPS 与人 PBMC 结合力相对较弱, 说明 LBP 既具有种属间的交叉作用, 又具有种属的特殊性。

LBP 在机体内的生物学效应, 以及通过阻断它的生物学活性能否减轻机体的炎症反应已成为研究的热点。部分学者认为在炎症急性反应早期, 血清 LPS 浓度相对较低, 只有在微量 LBP 参与情况下机体才能对小剂量的 LPS 或细菌起反应, 从而 LBP 起保护作用[7], 但在急性炎症反应中后期, 当血清 LBP 量增大时, 它会导致单核/巨噬细胞过度活化, 大量分泌IL-1β、IL-6、TNFα 等细胞因子, 导致机体严重损害, 出现感染性休克、DIC、MOFS 等, 并且部分研究人员还发现新生儿发生败血症早期, 脐带血或外周血中 LBP 水平会升高显著, 可将 LBP 水平作为监测新生儿感染是否加重的指标[8], 因此主流观点认为应通过阻断 LBP 的生物学功能来减轻机体的炎症反应, 但近期 Le 等[4] 学者发现 LBP 的单抗可以推迟 TNFα 的分泌和减少 24 h 内的死亡率, 但不能改变 24 h 以后的动物死亡率, 抗 CD14/TLR4/MD-2 单抗也只能部分阻断 LPS 介导的IL-6、TNFα 等细胞因子的释放[9], 这提示还需要进一步详细研究 LBP 在机体内的变化规律和及其生物学效应。

获得具有生物学活性的 LBP, 结合即将完成的针对人源 LBP 的基因工程抗体制备, 在拥有全长 LBP 及其单抗的基础上, 可以详细研究 LBP 在动物和人体内的分布范围、变化规律, 了解其在炎症反应早、晚期的生物学效应, 探索 LBP 在何种水平下可导致过度炎症反应, 为临床抗炎治疗提供新的途径。

参考文献:

[1] Vesy C J, Kitchens R L, Wolfbauer G, *et al*. Lipopolysaccharide-binding protein and phospholipid transfer protein release lipopolysaccharides from gram-negative bacterial membranes[J]. Infect Immun, 2000, 68(5): 2410-2417.

[2] Schroedl W, Fuerll B, Reinhold P, *et al*. A novel acute phase Marker in cattle: lipopolysaccharide binding protein (LBP)[J]. J Endotoxin Res, 2001, 7(1): 49-52

[3] Berner R, Furll B, Stelter F, *et al*. Elevated Levels of Lipopolysaccharide-Binding Protein and Soluble CD14 in Plasma in Neonatal Early-Onset Sepsis [J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2002, 9(2): 440-445.

[4] Le R D, Di P, Adachi Y, *et al*. Critical role of lipopolysaccharide binding protein and CD14 in immune responses against gram-negative bacterial[J]. J Immunol, 2001, 167(5): 2759-2765

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

[5] 向德兵, 刘友生, 王水明, 等. TGF-β-1在烧伤合并内毒素血症骨髓粒单系造血变化中的作用[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(10): 1157—1160.

[6] Philippe G, Stefan C, Michel P G, *et al*. Purification and characterization of murine lipopolysaccharide-binding protein[J]. Infect Immunity, 1993, 61(2): 378—383.

[7] Gutsmann T, Muller M, Carroll S F, *et al*. Dual role of Lipopolysaccharide (LPS) binding protein in neutralization of LPS and enhancement of LPS-induced activation of mononuclear cells[J]. Infect Immun, 2001, 69(11): 6942—6950.

[8] Berner R, Furll B, Stelter F, *et al*. Elevated levels of lipopolysaccharide binding protein and soluble CD14 in plasma in neonatal early-onset sepsis [J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2002, 9(2): 440—445.

[9] Medvedev A E, Henneke P, Schromm A, *et al*. Induction of tolerance to lipopolysaccharide and mycobacterial components in Chinese hamster ovary/CD14 cells is not affected by overexpression of Toll-like receptors 2 or 4 [J]. J Immunol, 2001, 167(4): 2257—2267.

(编辑 张 宁)

个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2003)06-0518-01

肺错构瘤的诊断与外科治疗

Diagnosis and surgical treatment of pulmonary hamartoma

郭 伟, 范士志, 蒋耀光, 陈建明, 李志平, 牛会军, 何 勇 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所胸心外科, 重庆 400042)

错构瘤是一种肺部良性肿瘤, 其来源和发病机制不明。现就我院1985—2000年行手术治疗, 术后病理检查证实的肺错构瘤共15例进行分析, 讨论肺错构瘤的临床特点、诊断和外科治疗。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本组共15例, 其中男性10例(66%), 女性5例。年龄25~63岁, 平均47.8岁, 病程半个月至6年, 平均1.74年。

1.2 临床表现

1.2.1 症状及体征 本组15例中, 5例无明显症状, 10例有胸部症状, 如咳嗽、咳痰及胸痛。全部病人均无明显阳性体征。

1.2.2 X线影像及病理 15例病人中大多数病变X线影像表现为肺外周高密度结节影, 边界清楚, 密度均匀或不均匀。所有病人均行手术切除并经病检证实为肺错构瘤, 其中14例为软骨型肺错构瘤, 1例为腺样组织为主的肺错构瘤。

1.3 治疗方法

全部病人均采用手术治疗, 其中肿瘤摘除3例, 肺楔形切除7例, 肺段切除2例, 肺叶切除2例, 1例病人因肿瘤复发, 且体积巨大, 几乎无正常肺组织而行全肺切除术。

2 结果

本组15例病人中, 病变位于右肺者11例, 占73.3%; 位于左肺4例。本组病例术后恢复顺利, 均长期存活。1例病人术后当天右肺呼吸音消失, 急诊行纤支镜检查见血性分泌物阻塞右主支气管, 经吸痰后恢复。全组均随访2年, 1例因肿瘤复发3次行手术治疗, 本组未发现肺错构瘤伴发恶性病变。

3 讨论

3.1 肺错构瘤的临床特点

肺错构瘤主要在40~70岁病人中多见, 少数发生在青年甚至新生儿[1]。男女发病率之比为(2~3):1。本组男女之比为2:1。40~60岁9例, 仅1例年龄为25岁, 也提示肺错构瘤以中年多发。

Karasik等[2]根据52例肺错构瘤病人的手术结果(4例并发肺癌, 2例为与肺错构瘤同时发现), 认为肺错构瘤与肺癌之间的联系并非偶然, 肺错构瘤患者肺癌发病率是一般人群的6.3倍。Higashita等[3]报道1例病人手术楔形切除肺部病变后, 病检结果为右上肺腺癌合并肺错构瘤。本组1例男性病人, 25岁时因患肺错构瘤于外院行肿瘤摘除术, 病变位于右肺上叶, 病检证实为软骨病型肺错构瘤。术后9年内肺错构瘤复发并行手术治疗2次, 病变又出现于右肺中下叶, 由于病变巨大(有3个直径为8 cm以上的包块), 只有行右全肺切除才得以完全切除肿瘤, 证实肺错构瘤确可复发。

3.2 肺错构瘤的诊断

影像学诊断对于肺错构瘤病人有重要意义。本组胸片均表现为肺内肿块影, 全部病人肺部块影边缘均较清晰, 无胸膜凹陷征、分叶及毛刺。5例病人病灶中有钙化, 其中3例为特征性的爆米花样钙化, 其余2例钙化呈斑片状。不少学者认为病灶内钙化可作为肺错构瘤的特征性表现, 但钙化同样也可存在于肺癌和结核病变中, 故其并不能作为诊断肺错构瘤的惟一依据。

3.3 外科治疗方法

关于肺错构瘤的治疗原则, 我们的观点是, 类似的肺部包块在未明确诊断的情况下均需手术治疗。即使已确诊为肺错构瘤, 由于肺错构瘤确有增大倾向, 同时局部的慢性刺激可能

(下转521页)

作者简介: 郭 伟(1974—), 男, 贵州省贵阳市人, 硕士研究生, 医师, 主要从事肺癌的诊断及外科治疗方面的研究。电话: (023)68757241

收稿日期: 2002-03-15; 修回日期: 2002-10-21

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