DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.03.048
第23卷第3期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 3
352 2001年3月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Mar. 2001

论著

文章编号:1000-5404(2000)03-0352-04

MIP-1β, TGF-β抗体对人基质细胞支持的脐血CD34$^+$细胞扩增的作用

吴英理,张翼军,张林生 (第三军医大学附属西南医院血液内科,重庆 400038)

提 要:目的 研究MIP-1β,TGF-β抗体对人基质细胞支持的脐血CD34$^+$细胞扩增的作用。方法 免疫磁珠法分选脐血中CD34$^+$细胞,接种到预先照射的基质层上。分为4组:MIP-1β(300 ng/ml)组,TGF-β抗体(20 μg/ml)组,MIP-1β+TGF-β抗体(5 μg/ml)组和对照组(不加细胞因子)。第5天半换液并加入MIP-1β,TGF-β抗体(20μg/ml)和MIP-1β+TGF-β抗体(5 μg/ml)。第10天结束培养。第5、10天收获细胞分别做细胞计数,集落培养法检测造血祖细胞数量,流式细胞术检测CD34$^+$细胞数。结果 MIP-1β组第5、10天有核细胞数,造血祖细胞数,CD34$^+$细胞数与对照组相比差异无显著性($P>0.05$)。TGF-β抗体组(20μg/ml)及MIP-1β+TGF-β抗体(5μg/ml)组第5天有核细胞数与对照组相比差异无显著性($P>0.05$),第10天有核细胞数与对照组相比差异显著($P<0.05$)。第5、10天造血祖细胞数,CD34$^+$细胞数与对照组相比有显著性差异($P<0.05$)。结论 与对照组相比,MIP-1β对人基质细胞支持的脐血CD34$^+$细胞无明显的体外扩增作用。在TGF-β抗体(20μg/ml)或MIP-1β+TGF-β抗体(5 μg/ml)作用下,人基质细胞支持的脐血CD34$^+$细胞可在10 d内扩增1~3倍。MIP-1β和TGF-β抗体间存在协同或相加作用。

关键词:脐血;体外扩增;长期培养;巨噬细胞炎症蛋白-1β;CD34$^+$细胞;转化生长因子-β抗体
中图法分类号:R329.28;R392.11 文献标识码:A

Effects of MIP-1β and TGF-β antibody on the expansion of CD34$^+$ cells from cord blood in stroma-contact culture system

WU Ying-li, ZHANG Yi-jun, ZHANG Lin-sheng (Department of Hematology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the effects of MIP-1β and TGF-β antibody on CD34$^+$ cells from cord blood in stroma-contact culture system. Methods Immunomagnetic selected CD34$^+$ cells were inoculated onto the pre-established irradiated human stroma layer. MIP-1β, TGF-β antibody (20μg/ml) and MIP-1β+anti-TGF-β (5μg/ml) were added on day 0 and day 5. On day 5 and day 10, cell counting, hematopoietic progenitor cells count were made by semi-solid culture and CD34$^+$ cells were assayed by FACS. Results On day 5, no significant difference of total cell number was observed as compared with the control group ($P>0.05$), but the number of CD34+ cells, CFC, and HPP-CFC in TGF-β antibody and MIP-1β+ TGF-β antibody groups was significantly higher than that in the control ($P<0.05$). On day 10, the number of total cell, CD34$^+$ cells, CFC, and HPP-CFC in TGF-β antibody and MIP-1β+ TGF-β antibody groups was significantly higher than that in the control ($P<0.05$). No significant difference was observed between groups MIP-1β and control either on day 5 or day 10 ($P>0.05$). Conclusion MIP-1β has no significant effect on the CD34$^+$ cells as compared with the control while the CD34$^+$ cells can be expanded 1—3 folds with TGF-β antibody (20 μg/ml) or MIP-1β+ TGF-β antibody (5 μg/ml) in 10 days. There are synergic interactions between MIP-1β and TGF-β antibody.

Key words: macrophage inflammatory protein-1β; transforming growth factor-β antibody; long-term culture; cord blood; *ex vivo* expansion; CD34$^+$ cell

单份脐血造血干/祖细胞含量有限,限制了其临床应用。脐血CD34$^+$细胞体外扩增有望解决这一问题。一些报告表明,基质系统可显著改善扩增效果,短期内即可获取大量有重建造血能力的造血干/祖细胞[1~3]。巨噬细胞炎症蛋白-1α(MIP-1α),单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1),转化生长因子-β(TGF-β)均可由骨髓基质细胞产生,抑制早期造血干/祖细胞进入S期[4]。本实验以MIP-1β[5],TGF-β抗体作为造血负调控因子的拮抗剂,观察它们对有基质支持的脐血CD34$^+$细胞能否起到促进增殖和扩增的作用。

1 材料与方法

1.1 细胞来源

脐血标本来自本院。CPD抗凝,收集后4 h内分选CD34$^+$细胞。骨髓标本取自髂像正常的胸外科手术肋骨,或髂像正常的献血员,异基因骨髓移植供者。

1.2 主要试剂

MIP-1β购自PeproTech公司。TGF-β抗体购自Serotec公司。IL-3,IL-6,SCF,G-CSF,GM-CSF,EPO均为Kirin公司馈赠。CD34分选试剂盒购自Miltenyi Biotec公司。CD34-FITC,CD38-PE,IgG1-FITC,IgG1-PE购自Coulter公司。IMDM购自Gibco公司。明胶购自重庆皮胶厂。

1.3 脐血CD34$^+$细胞的分选

脐血用PBS稀释后,与3%明胶等比例混合,静置20 min,吸取血浆层,离心弃上清后悬浮于IMDM中。Ficoll梯度离心,2 000 r/min离心20 min,取界面层单个核细胞(MNC)。MNC悬浮于300μl缓冲液中(PBS中含2 mmol/L EDTA,0.5%BSA),加FcR封闭剂,磁珠标记的CD34单克隆抗体(QBEND10),混匀,6℃孵育30 min。用上述缓冲液洗两次后,通过磁场中(Vario MACS)分离柱,洗脱去除CD34$^-$细胞。将分离柱移出磁场,加压洗脱吸附细胞,收集组份为CD34$^+$细胞。

1.4 骨髓基质层的建立及实验分组

常规抽取骨髓,分离MNC,悬浮于完全培养体系中,种入25

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39600052)
作者简介:吴英理(1972—),男,河南省邓州市人,硕士,医师,主要从事造血干细胞移植方面的研究。电话:68754000-73059
收稿日期:2000-05-26;修回日期:2000-09-10

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

cm^2 组织培养瓶, 终浓度为 2×10^6/ml。5%CO_2, 37 ℃, 饱和湿度条件下培养至少两周, 每周半换液。待基质层基本铺满瓶底后, ^{60}Co 照射 20 Gy。用 0.25% 胰蛋白酶消化后接种于 24 孔培养板中。1~2 d后接种 $CD34^+$ 细胞, 每孔 5×10^4/ml, 分为 4 组。MIP-1β(300 ng/ml)组, TGF-β 抗体(20 μg/ml)组, MIP-1β(300 ng/ml)+ TGF-β 抗体(5 μg/ml)组, 对照组(不加细胞因子)。每组复种 3 孔。第 5 天半换液, 同时分别加入上述因子。第 10 天结束培养。第 5、10 天收获细胞分别进行细胞计数, 流式细胞仪检测 $CD34^+$ 细胞, 造血祖细胞集落培养。

1.5　造血祖细胞集落培养

将新分离 $CD34^+$ 细胞(终浓度 1×10^3/ml)或培养后细胞(终浓度 1×10^4/ml)种入半固体培养体系中。体系含 30% FBS, 0.9% 甲基纤维素, 2 mmol/L 谷氨酰胺, 100 U/ml 青霉素, 100 μg/ml 链霉素, 5×10^{-5}mol/L 2-巯基乙醇, 适量 IMDM, 及细胞因子 IL-3 20 ng/ml, IL-6 50 ng/ml, SCF50 ng/ml, G-CSF 20 ng/ml, GM-CSF50 ng/ml, EPO2 U/ml。种于 24 孔培养板中, 每孔 0.5 ml, 复种 3 孔。5%CO_2, 37 ℃, 饱和湿度条件下培养。分别于 14、28 d 倒置显微镜下计数造血祖细胞集落(CFC)和 HPP-CFC。

1.6　细胞表面标志的流式细胞检测

收获细胞一式两份, 一份加 FITC-CD34 抗体, PE-CD38 抗体(鼠抗人), 另一份加 IgG1-FITC, IgG1-PE(鼠抗人)作为阴性对照, 4 ℃孵育 30 min, 用 PBS 洗两遍后上机检测。每个样品分析细胞数> 5×10^3。

1.7　统计学分析

结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 采用 t 检验。

2　结果

2.1　脐血采集量, 分选后 $CD34^+$ 细胞数量及其亚群比例

单份脐血平均采集量为 80 ml(40~120 ml), 含有核细胞约 $(12.20\pm0.70)\times10^6$/ml, 经 3% 明胶, Ficoll 两步分离后可获得 MNC 1×10^7~1×10^8, 经 MACS 分选后, 可获得 $CD34^+$ 细胞 1×10^5~1×10^6, 流式细胞检测纯度为 0.93±0.05, 其中 $CD34^+CD38^+$ 约占 0.97±0.04, $CD34^+CD38^-$ 约占 0.02±0.01。

2.2　细胞生长情况

培养的第 2 天, 倒置显微镜下可见接种细胞单个散在贴附于基质层上, 上清中悬浮细胞稀少。第 5 天, 可见基质层上有较多鹅卵石样区域形成, 上清中细胞增多。第 10 天, 基质层表面细胞密集, 上清中出现云雾状细胞群。阴性对照没有接种 $CD34^+$ 细胞, 始终无造血细胞生长。

2.3　培养第 5、10 天各组细胞总数变化

第 5 天, 各组细胞总数与对照组相比差异无显著性($P>0.05$)。与最初加入细胞 5×10^4/ml 相比, 对照组总细胞数略有下降, MIP-1β 组、TGF-β 抗体组, MIP-1β+ TGF-β 抗体组总细胞数分别是最初加入细胞的(1.00±0.28)倍, (1.21±0.34)倍, (1.20±0.29)倍。第 10 天, MIP-1β 组细胞总数与对照组相比差异无显著性($P>0.05$)。TGF-β 抗体组, MIP-1β+ TGF-β 抗体组总细胞数与对照组相比有显著性差异($P<0.05$)。与最初加入细胞 5×10^4/ml 相比, 对照组、MIP-1β 组、TGF-β 抗体组、MIP-1β+ TGF-β 抗体组总细胞数分别是最初加入细胞的(14.12±5.20)倍, (16.00±6.29)倍, (23.50±8.61)倍, (23.02±8.14)倍, 见表 1。

表 1　脐血造血祖细胞培养后细胞总数变化($\times10^4$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Changes of total cell production of CBHPC after short term culture ($\times10^4$, $\bar{x}\pm s$)

	Control	MIP-1β	TGF-β antibody	MIP-1β+ TGF-β antibody
d 5	4.75±1.32	5.00±1.42	6.05±1.70	6.00±1.49
d 10	70.60±26.00	80.00±31.45	117.70±43.09 *	115.10±40.70 *

CBHPC: cord blood hematopoietic progenitor cell; *: $P<0.05$ *vs* control

2.4　培养第 5、10 天各组 $CD34^+$ 细胞数变化

随培养时间延长, 第 5、10 天 $CD34^+CD38+$ 细胞比例分别降至 0.55±0.06, 0.09±0.03, $CD34^+CD38^-$ 细胞比例分别降至 0.01±0.004, 0.0004±0.0002。$CD34^-CD38^+$ 细胞则分别升至 0.50±0.04, 0.92±0.04, 见图 1。第 5、10 天 MIP-1β 组 $CD34^+$ 细胞数与对照组相比差异无显著性($P>0.05$)。TGF-β 抗体组, MIP-1β+ TGF-β 抗体组 $CD34^+$ 细胞数与对照组相比差异显著($P<0.05$)。第 10 天, 与最初加入 $CD34^+$ 细胞数相比, 对照组、MIP-1β 组、TGFβ 抗体组, MIP-1β+ TGF-β 抗体组 $CD34^+$ 细胞数分别是最初加入细胞的(1.09±0.31)倍, (1.29±0.56)倍, (2.30±0.68)倍, (2.17±0.78)倍, 见表 2。

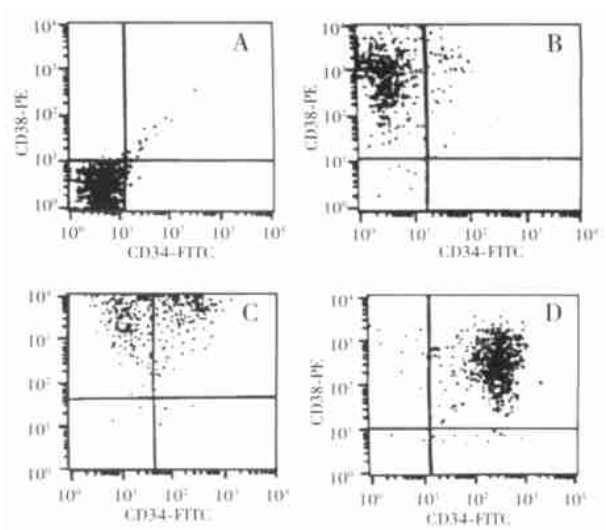


图 1　$CD34^+$ 细胞各亚群比例

Fig 1　Percentage of $CD34^+$ subsets

A: Negative control; B: Freshly isolated cord blood (CB); C: Cultured for 5 days; D: Cultured for 10 days

表 2　脐血造血祖细胞培养后 $CD34^+$ 细胞数变化($\times10^4$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Changes of $CD34^+$ cell number of CBHPC after short term culture ($\times10^4$, $\bar{x}\pm s$)

	Control	MIP-1β	TGF-β antibody	MIP-1β+ TGF-β antibody
d 5	2.42±0.67	2.55±0.77	3.82±1.09*	3.66±0.90 *
d 10	5.10±1.46	6.00±2.63	10.72±3.16*	10.10±3.65 *

*: $P<0.05$ *vs* control

2.5　培养第 5、10 天各组 CFC, HPP-CFC 数变化

本实验所用体系可支持多系集落生长。随培养时间延长, 集落总数增加, 但体积减小。HPP-CFC 集落形成较晚, 但直径较大, 有的可达 5 mm。肉眼可见, 外观为白色点状物, 镜下观集落颜色较暗, 细胞密集, 有一致密中心。第 5、10 天 MIP-1β 组

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

CFC, HPP-CFC 数与对照组相比差异不显著($P>0.05$)。第 5、10 天 TGF-β 抗体组, MIP-1β+ TGF-β 抗体组 CFC 数, HPP-CFC 数与对照组相比差异显著($P<0.05$), 见表 3、4。

表 3 脐血造血祖细胞培养后 CFC 变化($\times 10^{-4}$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 3 Changes of number of CFC in CBHPC after short term culture ($\times 10^{-4}$, $\bar{x}\pm s$)

	Control	MIP-1β	TGF-β antibody	MIP-1β+ TGF-β antibody
d 5	138.00±15.69	149.10±18.74	243.40±18.69*	275.00±34.11*
d 10	1203.70±108.79	1282.50±123.66	1462.80±109.70*	1485.70±78.61*

*: $P<0.05$ vs control

表 4 脐血造血祖细胞培养后 HPP-CFC 数变化($\times 10^{-4}$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 4 Changes of number of HPP-CFC of CBHPC after short term culture ($\times 10^{-4}$, $\bar{x}\pm s$)

	Control	MIP-1β	TGF-β antibody	MIP-1β+ TGF-β antibody
d 5	25.6±6.65	26.6±5.54	34.26±7.88*	34.22±8.65*
d 10	3.05±0.59	3.46±0.89	4.21±0.85*	4.50±1.01*

*: $P<0.05$ vs control

3 讨论

单纯用细胞因子往往难以避免造血干细胞的分化、成熟, 从而导致干细胞池的耗竭。研究表明, 基质系统的存在可显著改善扩增效果。基质系统通过分泌的负性调控因子如 TGF-β, MIP-1α, MCP-1, IFN-γ, TNF-α 等使早期的造血干/祖细胞处于静止状态。目前用于体外扩增的细胞因子组合大多是正性因子间的组合。从拮抗负调控因子入手是否同样可起到扩增作用?

本实验中所用 TGF-β 抗体对 TGF-β1, TGF-β2, TGF-β3, TGF-β1.2, TGF-β5 均可产生拮抗作用。MIP-1β 可解除 MIP-1α、MCP-1、AcSDKP 及某未知趋化因子对造血细胞的抑制作用。结果, MIP-1β 未能引起显著的扩增效果, 可能的原因是: (1)正常情况下, MIP-1α 及 MCP-1 在造血调控中不起主要作用。剔除 MIP-1α, MCP-1 基因的小鼠, 其外周血及骨髓各组份并无明显改变[6,7]。(2)趋化因子家族成员之间作用存在交叉和协同, 并不排除补偿机制的存在。实验中, TGF-β 抗体(20 μg/ml), MIP-1β+ TGF-β 抗体(5 μg/ml)可起到显著的扩增作用。5 μg/ml 的 TGF-β 抗体没有起到明显的扩增作用, 但 5 μg/ml 的 TGF-β 抗体与 MIP-1β 联合应用时则可起到明显的扩增作用。提示在有基质支持的扩增体系中, MIP-1β 与 TGF-β 抗体之间存在着相加或协同作用。

CD34 抗原为细胞表面的磷酸化糖蛋白, 无系特异性, 选择性的表达于早期造血干/祖细胞, 小血管内皮细胞和胚胎成纤维细胞, 能使造血祖细胞粘附于基质上。最早期的造血干/祖细胞 CD34 表达最高, 随着细胞分化成熟, CD34 抗原逐渐减少直至消失。CD38 抗原是造血干细胞向多系定向分化的标志之一, 并随分化过程其表达水平增高。$CD34^+CD38^-$ 细胞据认为是最早期的造血干细胞。$CD34^+$ 细胞几乎包含了所有造血干/祖细胞。最近有研究发现 $CD34^-$ 细胞中含有能够重建造血的造血干细胞, 但并不排斥 CD34 为早期造血干/祖细胞的重要标志。$CD34^+$ 细胞仍是大多数体外扩增研究的靶细胞。本实验采用免疫磁珠法分选脐血中的 $CD34^+$ 细胞, 结果发现, $CD34^+$ 细胞约占分离前有核细胞的 1%, 分离纯度可达到 90%以上, 其中, $CD34^+CD38^-$ 细胞约占 99%, 而 $CD34^+CD38^+$ 细胞约占 1%, 这与文献报道是一致的。

随脐血应用范围的逐渐扩大, 脐血库的建立事在必行。减小脐血体积最简单的方法是在冻存前去除红细胞。研究发现, 明胶沉降法的造血祖细胞回收率较高, 同时可去除超过 95%的红细胞。Pick 等[8]设计了一种新的两步法。第一步, 用明胶去除大部分红细胞, 第二步, 用 Ficoll 去除残余的红细胞和中性粒细胞。结果发现, 与单用明胶相比, 采用明胶+Ficoll 法在几乎完全去除红细胞的同时, 对 $CD34^+$ 细胞没有太大影响, 而且巨核系祖细胞得到了富集。本实验采用这种方法效果较好, 不足在于 $CD34^+CD38^-$ 比例较低。

经过 10 d 的培养, 对照组、MIP-1β 组、TGF-β 抗体组, MIP-1β+ TGF-β 抗体组 $CD34^+$ 细胞数分别是最初加入细胞的(1.09±0.31)倍, (1.29±0.56)倍, (2.30±0.68)倍, (2.17±0.78)倍。表明人骨髓基质层的存在可维持脐血 $CD34^+$ 细胞的存活和增殖, TGF-β 抗体可解除内源性 TGF-β 对造血干细胞的抑制作用, 使之进入分裂和增殖, 从而起到扩增作用。与文献报道的结果相比, 扩增效果不显著。主要原因是文献所用体系中, 均加有造血刺激因子如 TPO, SCF, FLT-3 等。负调控因子拮抗剂与正性刺激因子联合应用是否可进一步改善扩增效果, 有待进一步研究。本实验中, 随着培养时间延长, $CD34^+$ 细胞比例明显下降, $CD34^-CD38^+$ 细胞比例明显升高, 但在大量细胞分化成熟的同时, $CD34^+$ 细胞绝对值较最初增加了 1~3 倍, TGF-β 抗体的应用没有导致造血干/祖细胞的耗竭。

目前对造血干细胞还没有直接的检测方法, 大多要通过体外培养检测 CAFC, LTC-IC, CFU-BL, HPP-CFC 间接反映干细胞的数量和质量。本实验用含 6 种细胞因子的集落培养体系分别在 14 和 28 d 检测较晚期的造血祖细胞和较早期的 HPP-CFC。结果发现, 与骨髓造血祖细胞相比, 脐血造血祖细胞形成的集落体积较大, 其中大的 HPP-CFC 直径可达 5 mm, 提示其可能有更高的增殖潜能, 这与以往的报道是一致的[9,10]。TGF-β 抗体组(20 μg/ml), MIP-1β+ TGF-β 抗体(5 μg/ml)组 HPP-CFC 较对照组明显增加, 提示 TGF-β 抗体, MIP-1β+ TGF-β 抗体可作用于早期的造血干细胞。

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

上述结果表明,造血负调控因子拮抗剂可改善基质体系的扩增效果。造血负调控因子拮抗剂之间,造血负调控因子拮抗剂与正性因子之间的联合应用是脐血体外扩增的一条新的有效途径。

参考文献:

[1] Brandt J E, Bartholomew A M, Fortman J D, *et al*. *Ex vivo* expansion of autologous bone marrow CD34$^+$ cells with porcine microvascular endothelial cells results in a graft capable of rescuing lethally irradiated baboons[J]. Blood, 1999, 94(1): 106—113.

[2] Tsuji T, Itoh K, Nishmura-Morita Y, *et al*. CD34$^+$CD38$^-$ cells generated in a xenogenic coculture system are capable of both long-term hematopoiesis and multiple differentiation[J]. Leukemia, 1999, 13(9): 1 409—1 419.

[3] Kawada H, Ando K, Tauji T, *et al*. Rapid *ex vivo* expansion of human umbilical cord hematopoietic progenitors using a novel culture system[J]. Exp Hematol, 1999, 27(5): 904—915.

[4] Mayani H, Little M T, Dragowska W, *et al*. Differential effects of the hematopoietic inhibitors MIP-1α, TGF-β, and TNF-α on cytokine-induced proliferation of subpopulations of CD34$^+$ cells purified from cord blood and fetal liver[J]. Exp Hematol, 1995, 23(5): 422—427.

[5] Broxmeyer H E, Sherry B, Cooper S, *et al*. Macrophage inflammatory protein 1β abrogate the capacity of MIP-1α to suppress myeloid progenitor cell growth[J]. J Immunol, 1991, 147(8): 2 586—2 594.

[6] Cook D N, Beck M A, Coffman T M, *et al*. Requirement of MIP-1α for an inflammatory response to viral infection[J]. Science, 1995, 269(5 230): 1 583—1 585.

[7] Lu B, Rutledge B J, Gu L, *et al*. Abnormalities in monocyte recruitment and cytokine expression in monocyte chemoattractant protein1-deficient mice [J]. J Exp Med, 1998, 187(4): 601—608.

[8] Pick M, Nagler A, Grisaru D, *et al*. Expansion of megakaryocyte progenitors from human umbilical cord blood using a new two-step separation procedure[J]. Br J Haematol, 1998, 103(3): 639—650.

[9] McNiece I K, Stewart F M, Deacon D M, *et al*. Detection of a human CFC with a high proliferative potential[J]. Blood, 1989, 74(2): 609—612.

[10] Lu L, Xiao M, Shen R N, *et al*. Enrichment, characterization, and responsiveness of single primitive CD34 human umbilical cord blood hematopoietic progenitors with high proliferative and replating potential [J]. Blood, 1993, 81(1): 41—48.

(编辑 王 红)

文章编号: 1000-5404(2001)03-0355-01

经验与短篇

心脏不停跳 658 例体外循环临床分析

Management of the cardiopulmonary bypass for intracardiac operations on beating-heart in 658 cases

刘 梅,肖颖彬,彭 莉,胡 卫,王慧春,廖晓娅,陈 林,王学峰,钟前进,陈柏成,陈劲进 (第三军医大学附属新桥医院心血管外科,重庆 400037)

我院从 1997 年 11 月至 1999 年 12 月共施行心脏不停跳心内直视手术 658 例。现将我们的体外循环(Cardiopulmonary bypass, CPB)管理体会报告如下。

1 临床资料

一般资料:本组患者男性 320 例,女性 338 例,年龄 5 个月至 65 岁,平均(16.3±15.6)岁,体重 4.5~81 kg,平均(30.7±18.8)kg,其中儿童(14 岁以下)406 例,成人 252 例。病种包括房间隔缺损 103 例,室间隔缺损 267 例,法乐氏四联症 48 例,法乐氏三联症 13 例,瓣膜置换 153 例(其中二尖瓣置换 94 例,主动脉瓣置换 29 例,二尖瓣及主动脉瓣联合置换 30 例),右心室双出口 6 例,部分房室管畸形 14 例,三尖瓣下移 3 例,主动脉窦瘤破裂 3 例,单心房 2 例,三尖瓣闭锁 1 例,其它畸形 45 例。

体外循环方法:全部病例均在气管插管静脉复合麻醉下手术。常规建立 CPB。人工心肺机为 Polystan、Sarns-8000 和 Jostra。膜式氧合器使用 MAXIMA、Terumo 和 Avecor,鼓泡式氧合器为西京-87 型。本组患者使用膜式氧合器 246 例[其中儿童组 90 例(22.2%),成人组 156 例(61.9%)],鼓泡式氧合器 412 例。预充液以林格氏液为主,酌情加入全血、血浆及白蛋白,使晶体与胶体之比为 0.45~0.6:1,稀释后血球压积保持在 0.23~0.28。同时在预充液中加入 5%碳酸氢钠 2~4 mmol/kg,硫酸镁 0.5~1.0 g,氯化钾 0.01~0.07 g/kg,甘露醇 0.5 g/kg,地塞米松 20~30 mg。在 CPB 期间常规监测平均桡动脉压、中心静脉压、鼻温、肛温、尿量,并在转前、转中、停机时测定血气、血钾。心肺转流前以 30℃水温给预充液加温,建立 CPB 后先缓慢灌注温预充液 100~200 ml 后再开放上下腔,然后逐渐使灌注流量达到拟定水平。在鼻咽温度 32℃左右阻断上下腔静脉。若施行主动脉手术,则行冠状静脉窦氧合血逆行灌注保护心肌。并随机选取心脏停跳 CPB 患者 312 例,比较心脏停跳和心脏不停跳 CPB 管理的异同。

统计学处理:所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 χ^2 检验和 t 检验。

2 结果

全组死亡 18 例,占 2.7%(18/658)。其中儿童组死亡 15 例,占 3.7%(15/406)。原因包括 2 例呼吸功能衰竭,2 例家属喂养不当误吸,11 例严重低心排出量。成人组死亡3例,占

(下转 357 页)

作者简介:刘 梅(1963—),女,重庆市人,主管技师,主要从事体外循环病理生理方面的研究,发表论文 8 篇。电话:(023)68755156

收稿日期:2000-03-03;修回日期:2000-07-18

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