

Jurkat 细胞 TCR 基因重排对 BV CDR3 的影响

邹红云¹, 马 骊¹, 姚新生¹, 温 茜¹, 罗 微¹, 王小宁²(¹南方医科大学生物技术学院分子免疫研究所, 广东 广州 510515; ²华南理工大学生物科学与工程学院, 广东 广州 510641)

摘要:目的 探讨 Jurkat 细胞 TCR BD2-BJ2 基因重排对 TCR β 链可变区互补决定区 3 (BV CDR3) 可能产生的影响, 为深入研究 TCR 基因重排奠定实验基础。方法 RT-PCR 扩增 TCR BV 26 个亚家族 CDR3 区, 结合 TCR 基因扫描 (GeneScan) 和基因测序技术, 监测 Jurkat 细胞在增殖传代过程中以及在 T 细胞激活剂和超抗原 SEA 等刺激诱导后 TCR BV CDR3 谱系漂移及长度和序列变化。结果 表达 TCR BV8 家族的单克隆细胞株 Jurkat, 在增殖传代过程中, 以及经刺激诱导 48 或 72 h 后, 未监测到有 TCR BV8 以外的新的 BV 亚家族出现, BV8 CDR3 长度和一级核苷酸序列也未发生变化。结论 Jurkat 细胞发生的 TCR 基因重排可能不引起 TCR BV CDR3 改变, 因而对 TCR BV CDR3 区抗原识别特异性 (即抗原特异性漂移) 并未产生影响, 但并不排除 TCR 发生改变的可能性。

关键词: Jurkat 细胞; 基因重排; 基因扫描; TCR BV CDR3

中图分类号: R338 文献标识码: A 文章编号: 1673-4254(2006)07-0939-05

Effects of T cell receptor gene rearrangement on BV CDR3 in Jurkat cells

ZOU Hong-Yun¹, MA Li¹, YAO Xin-sheng¹, WEN Qian¹, LUO Wei¹, WANG Xiao-Ning²

¹Institute of Molecular Immunology, School of Biotechnology, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; ²School of Bioscience and Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of T cell receptor (TCR) BD2-BJ2 gene rearrangement on the complementary-determining region (CDR) 3 of TCR β chain (TCR BV CDR3) in Jurkat cells. **Methods** TCR BV gene subfamilies were detected by RT-PCR in Jurkat cells during proliferation and after induction with non-specific T cell activators and SEA, respectively. To determine the clonality of TCR BV subfamilies and the lengths of CDR3, the PCR products were analyzed by TCR GeneScan technique, and the sequences of CDR3 were further analyzed by DNA sequencer. **Results** No new TCR BV subfamilies were found in Jurkat cells, a monoclonal BV8⁺ cell line, either during cell proliferation or after stimulation with different treatments, nor were any differences found in CDR3 size or sequences. **Conclusions** TCR BD2-BJ2 rearrangement in Jurkat cells may not play a role in modification of TCR BV CDR3 domains or the consequent antigen immunorecognition of BV CDR3, but the possibility of TCR modification can not be excluded.

Keywords: Jurkat cells; gene rearrangement; genescan; T cell receptor β chain complementary-determining region; 3

TCR β 链可变区互补决定区 3 (TCR BV CDR3) 是 TCR β 链胚系基因片段重排过程中, 由 BV 末端、BD 片段、BJ 前端以及重排时 V-D 与 D-J 之间的插入序列组成 (V_ND_NJ), 对抗原的特异性识别发挥主要作用^[1,2]。不同克隆 T 细胞 TCR CDR3 长度及序列有所不同。目前报道, TCRBV 基因有 26 个亚家族, 通过设计各家族上游引物和 TCR BC 下游引物, 利用 RT-PCR 可扩增出特异性 TCR $\alpha\beta$ 细胞的 BV CDR3 区, 结合 GeneScan 和基因测序技术可以分析 TCRBV CDR3 谱系、CDR3 长度和序列特点^[3-4]。

我们发现代表 T 细胞发育成熟阶段的人 T 细胞

白血病细胞株 Jurkat (TCR- $\alpha\beta$ +CD3⁺CD4⁺CD8⁻CD2⁺CD7⁺) 同时表达重组激活基因 RAG1 和 RAG2, 并且证实 Jurkat 细胞有 TCR BD2-BJ2 基因重排的发生^[5,6]。本研究监测了 Jurkat 细胞在自身增殖传代过程中以及经不同因素刺激诱导后其 TCR BV CDR3 谱系及长度和序列变化情况, 初步探讨 Jurkat 细胞 TCR 基因重排对其 TCR CDR3 区可能产生的影响作用, 为进一步深入研究 TCR 基因重排奠定实验基础。

1 材料与方法

1.1 细胞株与主要试剂

人 T 淋巴细胞白血病细胞株 Jurkat 购自上海细胞生物研究所, 分泌抗 CD3 单克隆抗体 (anti-CD3 mAb) 的杂交瘤细胞株 12F6 与 Burkitt's 淋巴瘤细胞株 Raji 由本实验室保存; PBMC (peripheral blood mononuclear cell) 由健康正常人静脉血分离。

RPMI 1640 培养基 (美国 GIBCO 公司); 胎牛血清 (杭州四季青生物工程公司); 植物血凝素 (PHA),

收稿日期: 2005-11-12

基金项目: 国家重点基础研究发展规划“973”项目 (2001CB510008)

Supported by the Key State Basic Research Development Program (973) of China (2001CB510008)

作者简介: 邹红云 (1970-), 女, 在读博士研究生, 主治医师, 研究方向: T 细胞免疫识别与活化, 电话: 020-61648322

通讯作者: 马 骊, 女, 副教授, 电话: 020-61648322, Email: maryhmz@126.com; 王小宁, 男, 教授, 电话: 020-87114240, Email: xnwang@21cn.net

广东医药工业研究所产品;全反式维甲酸(retinoic acid, RA)、佛波醇-12-豆蔻酰-13-乙酸酯(phorbol 12-myristate 13-Acetate, PMA)、钙离子载体 A23187、内毒素(LPS), 均为 Sigma 产品;葡萄球菌 A 蛋白(SPA)购自北京本元正阳基因技术股份有限公司;重组葡萄球菌肠毒素 A (recombinant Staphylococcal enterotoxin A, rSEA), 军事医学科学院制备产品;rhGM-CSF, 北京瑞得合通药业有限公司;柱离心式 RNA 抽提试剂盒(安徽优品生物工程有限公司);RNA 逆转录试剂盒(日本 TOYOBO 公司)。rTaq DNA 聚合酶(MBI Fermentas 公司);DL2000 DNA Marker (TaKaRa 大连宝生物有限公司);去离子甲酰胺;Sigma 产品;GeneScan-500-TAMRA(500 ROX)标准品: Applied Biosystems, USA。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 细胞用含有 10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养基于 37 °C、50 ml/L CO₂ 条件下培养;将 Jurkat 细胞批量扩增冻存, 首批作为“标准株”, 后续实验以此作标准参照;以人外周血 PBMC 为研究对照。PBMC 采用 Ficoll 淋巴细胞分离液密度梯度法离心。

1.2.2 Jurkat 细胞的刺激诱导 取对数生长期 Jurkat

细胞, 按 5×10⁵/孔的浓度加于 12 孔细胞培养板(复孔数为 2), 分别加入: ① PHA (20 μg/ml); ② PMA(40 ng/ml)+A23187(0.5 μmol/L); ③ 抗 CD3 mAb (1:100); ④ rGM-CSF (2000 U/ml); ⑤ SPA (100 μg/ml); ⑥ LPS (1 μg/ml); ⑦ RA(10 μmol/L); ⑧ SEA(1 μg/ml); ⑨ SEA+Raji (Jurkat:Raji 细胞数=1:10;SEA 1 μg/ml); 同时设⑩ 不加任何处理因素的对照组。平板置于 37 °C、5%CO₂ 孵箱培养。①、②、③组于培养的第 48 h 收集各组细胞;其余各组于第 48 h 换液, 补加相应浓度的各种刺激剂, 于培养的第 72 h 收集细胞。

1.2.3 总 RNA 提取与 RNA 逆转录 收集各组细胞, PBS 洗涤 2~3 次后采用试剂盒提取细胞总 RNA, 在核酸蛋白分析仪 (BECKMAN DU530) 上鉴定 RNA 纯度和浓度, -70 °C 保存备用; 取样品总 RNA 约 1 μg, 加到 20 μl 反应体系中按试剂盒说明进行逆转录。

1.2.4 PCR 扩增 TCR BV 基因 26 个亚家族 参照文献 [3,4,7] 合成 TCR BV 基因家族上游引物 26 条, TCR BC 下游 5' 端带 FAM 标记引物 1 条, TCR BC 对照引物 2 条;引物由 Invitrogen 上海英骏生物技术有限公司合成, 引物序列见表 1。

表 1 TCR BV 26 家族、TCR BC-FAM 及 TCR BC 对照引物序列

Tab.1 Primer sequences of TCR BV 26 families, TCR BC-FAM and TCR BC control

TCRBV primers	Sequences(5'-3')	TCRBV primers	Sequences(5'-3')
TCR BV1S1A1N1	GCACAACAGTTCCTGACTTGAC	TCR BV13S2A1T	GGTGAGGGTACAACCTGCC
TCR BV2S1	TCATCAACCATGCAAGCCTGACCT	TCR BV14S1	GTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAAT
TCR BV3S1	GTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGC	TCR BV15S1	AGTGTCTCTCGACAGGCACAGGCT
TCR BV4S1A1T	ACATATGAGAGTGGATTGTGTCATT	TCR BV16S1A1N1	AAAGAGTCTAAACAGGATGAGTCC
TCR BV5S1A1T	ATACTTCAGTGAGACACAGAGAAAC	TCR BV17S1A1T	CAGATAGTAAATGACTTTCAG
TCR BV5S2	TTCCCTAACTATAGCTCTGAGCTG	TCR BV18S1	GATGAGTCAGGAATGCCAAAGGAA
TCR BV6S1A1N1	AGGCCTGAGGGATCCGTCTC	TCR BV19S1P	CAATGCCCAAGAATGCCAACCTGC
TCR BV7S1A1N2T	CCTGAATGCCCAACAGCTCTC	TCR BV20S1A1N2	AGCTCTGAGGTGCCCCAGAACTCTC
TCR BV8S1	ATTTACTTTAACAACAACGTTCCG	TCR BV21S1	GATTCACAGTTGCCTAAGGA
TCR BV9S1A1T	CCTAAATCTCCAGACAAAGCTCAC	TCR V22S1A2N1T	CAGAGAAGTCTGAAATATTCGA
TCR BV10S1P	CTCCAAAACTCATCCTGTACCTT	TCR BV23S1A2T	GATCGATTCTCAGCTCAACAG
TCR BV11S1A1T	TCAACAGTCTCCAGAATAAGGACG	TCR BV24S1A3T	AAAGATTTTAAACAATGAAGCAGAC
TCR BV12S1A1N2	AAAGGAGAAGTCTCAGAT	TCR BC-FAM	TTCTGATGGCTCAAACAC
TCR BV13S1	CAAGGAGAAGTCCCAAT	TCR BC sense	GTCGCTGTGTT GAGCCATCAGAA
		TCR BC anti-sense	GTG CAC CTC CTT CCC ATT

PCR 反应总体系 50 μl, 含 2 μl cDNA 模板, 5 μl 10 × PCR buffer, 10 mmol/L dNTP 1 μl, 25 mmol/L MgCl₂ 3 μl, 10 μmol/L 的上、下游引物各 2 μl, 1 U/μl 的 rTaq 酶 1 μl, 去离子水 34 μl。循环条件为: 94 °C 预变性 3 min, 主循环(94 °C 1 min、60 °C 1 min、72 °C 1 min)35 个循环, 72 °C 延伸 10 min。扩增产物经 1.5 %琼脂糖凝胶电泳分析, 发现阳性带者进一步作 TCR GeneScan 分析。

1.2.5 TCR GeneScan 分析 取 TCR BV 阳性家族 PCR 产物 2 μl(下游引物带 FAM 荧光标记), 分别加入 0.5 μl GeneScan-500-TAMRA(其中含有不同大小的荧光素 Tamra 标记的 DNA 片段), 2 μl 去离子甲

酰胺, 0.5 μl 变性胶上样缓冲液 (25 mmol/L EDTA, 50 mg/ml blue dextran), 94 °C 变性 4 min 后, 每管取 2 μl 于 6%聚丙烯酰胺凝胶, 373 DNA 序列分析仪(ABI, PerkinElmer 公司)中电泳, 通过分析软件 672 分析结果, 计算机收集电泳过程中不同时间所出现的不同颜色和强度的荧光素, 以显示出不同的位置、高度、颜色和形态的峰。

1.2.6 核苷酸序列分析 TCR GeneScan 分析发现单克隆或寡克隆的产物, 进一步进行测序分析 TCR BV CDR3 的一级核苷酸序列。

2 结果

2.1 Jurkat 细胞 TCR BV CDR3 谱系

RT-PCR 产物凝胶电泳图显示,“标准株”Jurkat 细胞 TCR BV 家族中,仅 BV8 家族显出一条特异性条带(图 1)。经不同因素刺激诱导后的 Jurkat 细胞 TCR BV 家族均只显出 BV8 特异性条带(结果未显示)。而正常人 PBMC TCR BV 家族 RT-PCR 产物在 1.5%琼脂糖凝胶上电泳,各家族均显出一条特异性条带(图 2)。

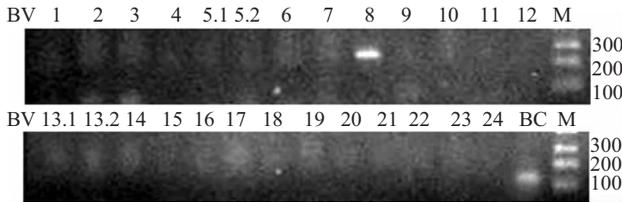


图 1 Jurkat TCR BV 家族 RT-PCR 产物琼脂糖凝胶电泳图

Fig.1 1.5% agarose gel electrophoresis of RT-PCR products of TCR BV families of Jurkat cells

Lanes: 1-24: 24 TCR BV1 families; BC: BC control; M: DNA marker

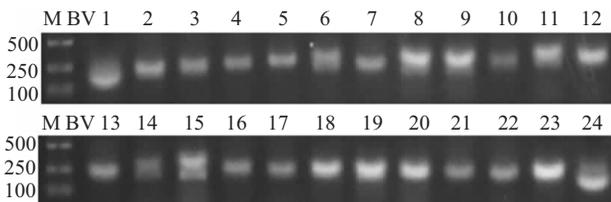


图 2 正常人 PBMC TCR BV 家族 RT-PCR 产物琼脂糖凝胶电泳图

Fig.2 1.5% agarose gel electrophoresis of RT-PCR product of TCR BV families of normal human PBMC

Lanes 1-24: 24 TCR BV1 families. * TCR BV5.2, 13.2 families and BC control is not shown

2.2 TCR GeneScan 结果

“标准株”以及不同因素作用组的 Jurkat 细胞 TCR BV8 产物在 6%变性聚丙烯酰胺凝胶电泳上基因扫描结果显示,各组 BV8 家族均只出现一条带,利用

1ATGATT CAGGGATGCCCGAGGATCGATTCTCAGTAAGATGCCTAATGCATCATTCTCCA60
1 D S G M P E D R F S A K M P N A S F S T 20
61CTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCAGGACTCAGCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGTT120
21 L K I Q P S E P R D S A V Y F C A S S F 40
121TCTCGACCTGTTCCGGCTAACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTG180
41 S T C S A N Y G Y T F G S G T R L T V V 60
181TAGAGGACCTGAACAAGGTGTTCCACCCGAGGTCGCTGTGTTGAGCCATCAGAAGCAG240
61 E D L N K V F P P E V A V F E P S E A E 80
241AGATCTCCACACCCAAAAA260
81 I S H T Q K

C A S S 至 F G 之间的序列即为 Jurkat TCRBV8 CDR3 序列。以此序列作为 Jurkat TCR BV8 CDR3 标准参照序列。

对 Jurkat 在培养传代过程中以及经刺激诱导后

GeneScan 672 软件对基因扫描图的峰型自动分析表明 PCR 产物均呈单峰,即为单克隆家族;而正常人 PBMC TCR BV 各家族在 6%变性聚丙烯酰胺凝胶电泳基因扫描结果显示均为多条条带,峰型自动分析,各家族均呈多峰,显示为多克隆家族。“标准株”Jurkat 和 PBMC TCR BV8 RT-PCR 产物 GeneScan 峰型分析结果见图 3。

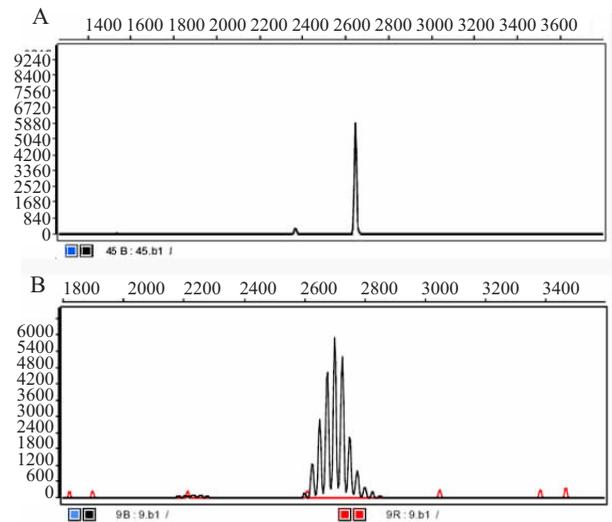


图 3 Jurkat、PBMC TCR BV8 家族 RT-PCR 产物基因扫描峰型分析

Fig.3 TCR BV8 β chain VDJC junction (CDR3 size) distribution profiles in Jurkat cells (A) and PBMCs (B)

The X axis of each plot corresponds to the number of nucleotides, and the Y axis to fluorescence intensity.

2.3 TCR BV8 CDR3 区序列分析

对“标准株”Jurkat TCR BV8 RT-PCR 产物(不带荧光标记)进行序列测定,分析和确定其 CDR3 区核苷酸(和相应的氨基酸)序列,以及 BD 及 BJ 所属片段,结果表明:Jurkat TCR β 链 CDR3 区为 BV8S1NBD1NBJ1S2。序列测定结果如下:

各组 Jurkat 细胞 TCR BV8 RT-PCR 产物进行序列分析,结果表明:各组 TCR BV8 CDR3 区长度和序列均与“标准株”一致,表明 CDR3 长度和序列未发生变化(测序结果资料未显示)。

3 讨论

本研究结果表明, Jurkat 细胞是表达 TCR BV8 家族的单克隆细胞株, Jurkat TCR BD2-BJ2 重排可能是一“无效”过程, 重排过程并不能产生 BV8 以外的新的 TCR BV 亚家族而引起 BV CDR3 谱系漂移, 且对 CDR3 长度和一级核苷酸序列也未产生影响。结果提示, 重排对 BV CDR3 区抗原识别特异性并未产生影响, 但尚不能排除重排引起 TCR 改变的可能性。

淋巴细胞抗原受体基因的重排受多因素调控, 包括重组酶的表达、重组酶固有的生化特性、重组中 DNA 的识别和切割、DNA 修复连接以及重组底物的易接近性等^[8], 其中重组底物的易接近性又要受到重组酶的转录、甲基化作用以及染色质结构的影响^[9-11]。据报道, 顺式作用元件对 BV 片段易接近性的调节作用有别于对 BD/BJ 片段易接近性的调节作用^[12]。即便是在重组酶重组活性非常活跃并且 BV 基因片段易接近性较好的情况下, 某些反式作用元件可能会调整重组酶的作用性能, 使其利用和识别特殊的重组信号序列 (recombination signal sequence, RSS) 而阻止 BV-BDJ 重排事件^[13,14]。这样, 在 Jurkat 中, 当 BD2-BJ2 重排开始启动, 而 BD1-BJ1 或者 BV-BDJ 重排可能由于易接近性不够或其他一些抑制因素而受抑制, 正是由于这种部分片段的重排作用而未能改变 TCR BVCDR3 区。

目前, 虽未发现 Jurkat 细胞在 TCR BD2-BJ2 重排过程中 BV CDR3 区变化, 但 Jurkat 细胞发生的 BD2-BJ2 重排是否对 BVCDR3 区以外的其它区域的结构或功能产生了影响作用? 此外, 重排过程中是否出现 BV8 家族以外的其他 BV 亚家族的前体 mRNA, 但由于其表达的一过性特点, 而未能被现有实验监测到? Jurkat 细胞发生的 TCR BD2-BJ2 重排在 Jurkat 细胞中的功能和意义究竟如何, 对 TCR 具有何种影响, 这些都需要作进一步探讨和研究。

有丝分裂原 PHA、蛋白激酶 C 活化剂 PMA 和钙离子载体 A23187、抗 -CD3 mAb 以及超抗原 SPA 均为经典的 T 细胞活化剂; rhGM-CSF 是与造血细胞增殖和分化相关的细胞因子, 也是多效的免疫刺激因子, 具有扩大 T 细胞增殖等作用; LPS 也是 T 细胞增殖活化和产生淋巴因子的一种潜在诱导剂^[15]; SEA 则是一种受到广泛研究的超抗原分子, 以 MHC II 类分子依赖或非依赖的方式与 T 细胞 TCR β 链 V 区结合, 从而激活大量 T 细胞并释放一系列细胞因子, 具有强大的刺激免疫活性。SEA 具有超抗原的一般特点, 其递呈不需要 APC 的加工处理,

可通过两条途径递呈给 T 细胞, 一是 MHC II 类分子依赖途径, 需要表达 MHC II 类分子的辅佐细胞参与。二是 MHC II 类分子非依赖途径, 不需要 MHC II 类分子参与^[16]。本研究中, 我们采用了 SEA 单独诱导 Jurkat 细胞和以表达 MHC II 类分子的 Raji 细胞作为辅佐细胞的两种作用方式; 维甲酸是迄今研究的最强的分化诱导剂之一, 近年研究表明 RA 能抑制多种癌细胞的生长增殖, 诱导癌细胞分化维甲酸 (并诱导部分细胞向良性分化)^[17,18]。

本研究中我们以上述具有 T 细胞活化和增殖作用或具有分化诱导作用的若干因素刺激和诱导 Jurkat 细胞。根据预实验观察结果, 在保证诱导细胞的活细胞百分数大于 90% 前提下尽可能选取最长作用时间, 我们针对不同作用因素分别选取了 48 和 72 h 的作用时间。结果未发现不同诱导后的 Jurkat TCR CDR3 家族谱系及 CDR3 长度和序列变化, 表明通过 T 细胞活化和增殖途径以及分化诱导作用并不能引起 TCR CDR3 的改变。本研究目前未筛选出诱导 Jurkat TCR CDR3 变化的“阳性”诱导因素, 但尚不能排除 Jurkat 在“适当”刺激诱导作用下 TCR CDR3 发生变化的可能性。据 Pam Fink 等报道, $\nu\beta 5$ 转基因小鼠的外周 CD4⁺ T 细胞在内源性 Mtv-8 (Mammary tumor virus) 编码的一种外周耐受原的作用下发生 T 细胞受体的改变^[19]。因此, 利用一些特异性抗原的刺激诱导作用, 或通过内源性抗原提呈途径来进一步筛选“阳性”诱导因素仍然具有一定可能性。

参考文献:

- [1] Davis MM, Bjorkman PJ. T-cell antigen receptor genes and T-cell recognition [J]. *Nature*, 1988, 334(6181): 395-402.
- [2] Bentley GA, Boulot G, Karjalainen K, et al. Crystal structure of the beta chain of a T cell antigen receptor [J]. *Science*, 1995, 267(5206): 1984-7.
- [3] Sensi M, Parmiani G. Analysis of TCR usage in human tumors: a new tool for assessing tumor-specific immune responses [J]. *Immunol Today*, 1995, 16(12): 588-95.
- [4] Pannetier C, Even J, Kourilsky P. T-cell repertoire diversity and clonal expansions in normal and clinical samples [J]. *Immunol Today*, 1995, 16(4): 176-81.
- [5] 邹红云, 马 骊, 姚新生, 等. T 细胞激活剂对 Jurkat 细胞重组激活基因表达的影响 [J]. *第四军医大学学报*, 2006, 27(14): 1286-8.
- [6] 邹红云, 马 骊, 姚新生, 等. 人 T 细胞白血病细胞株 Jurkat TCR 基因重排的研究 [J]. *癌症 (待发表)*
- [7] Puisieux I, Even J, Pannetier C, et al. Oligoclonality of tumor infiltrating lymphocytes human melanomas [J]. *J Immunol*, 1994, 153(6): 2807-18.
- [8] Hesse JE, Lieber MR, Gellert M, et al. Extrachromosomal DNA substrate in pre-B cells undergoes inversion or deletion at immunoglobulin V-(D)-J joining signals [J]. *Cell*, 1987, 49: 775-83.

- [9] Hessiei DG, Schatz DG. Factors and forces controlling V(D)J recombination [J]. *Adv Immunol*, 2001,78: 169-232.
- [10] Sleckman BP, Gorman JR, Alt FW. Accessibility control of antigen-receptor variable-region gene assembly: role of cis-acting elements [J]. *Annu Rev Immunol*, 1996, 14: 459-81.
- [11] Krangel MS. V(D)J recombination becomes accessible [J]. *J Exp Med*, 2001, 193: F27-F30.
- [12] Mathieu N, Hempel WM, Spicuglia S, et al. Chromatin remodeling by the T cell receptor (TCR)-gene enhancer during early T cell development: implications for the control of TCR-locus recombination [J]. *J Exp Med*, 2000, 192: 625-36.
- [13] Bassing CH, Alt FW, Hughes MM, et al. Recombination signal sequences restrict chromosomal V (D)J recombination beyond the 12/23 rule [J]. *Nature*, 2000, 405: 583-6.
- [14] Khor B, Sleckman BP. Allelic exclusion at the TCR β locus [J]. *Curr Opin Immunol*, 2002, 14: 230-4.
- [15] Ulmer AJ, Flad H, Rietschel T, et al. Induction of proliferation and cytokine production in human T lymphocytes by lipopolysaccharide (LPS) [J]. *Toxicology*, 2000, 152(1-3): 37-45.
- [16] 薛华, 何生. 超抗原 SEA 研究进展 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2001, 8(2): 153-44.
- [17] 汪进, 曾志雄, 黄明辉, 等. 全反式维甲酸诱导人急性早幼粒白血病 HL-60 细胞分化的机制 [J]. *药学报*, 2004, 39(1): 22-8. Wang J, Zeng ZX, Huang MH, et al. Molecular mechanism of granulocytic differentiation of human promyelocytic leukemia HL-60 cells induced by all-trans retinoic acid [J]. *Acta Pharm Sin*, 2004, 39(1): 22-8.
- [18] 杨敏, 赵泳, 林晓. 全反式维甲酸对人卵巢癌细胞株 COC1 增殖分化的影响 [J]. *重庆医科大学学报*, 2005, 30(1): 12-5.
- [19] McMahan CJ, Fink PJ. Receptor revision in peripheral T cells creates a diverse V β repertoire [J]. *J Immunol*, 2000, 165(12): 6902-7.

腹腔镜在腹透植管中的临床研究

章俊¹, 汤珣¹, 范应方², 方驰华² (南方医科大学珠江医院¹ 肾内科, ² 普通外科, 广东 广州 510282)

摘要:目的 总结腹腔镜外科技术在腹膜透析植管方面的临床应用经验。方法 选择 18 例慢性肾功能衰竭患者, 其中 9 例曾腹部多次手术、2 例腹膜透析后因反复感染致腹透管拔除、3 例腹膜透析导管移位, 在腹腔镜引导下进行腹膜透析植管术或再植管术和将移位的 Tenckhoff 卷曲腹透管末端重新植入膀胱直肠窝或子宫直肠窝。结果 18 例患者腹透管均放植成功, 手术时间 30~45 min, 均成功进行了腹膜透析, 患者术后 1 周内出院。结论 腹腔镜引导下放植和复位移位的 Tenckhoff 卷曲腹透管具有创伤小、对腹腔及大网膜情况了解清楚、腹透管放置定位准确等优点, 值得推广应用。

关键词: 腹腔镜; 腹膜透析; 腹膜透析管

中图分类号: R692.5 **文献标识码:** B **文章编号:** 1673-4254(2006)07-0943-02

腹膜透析(腹透)是治疗肾功能衰竭的重要手段之一, 腹透治疗常规需要行腹膜透析植管手术, 既往植放腹膜透析管需要在腹壁做一小切口, 经这一小切口观察腹腔视野有限, 难以确定导管的正确位置, 术后少数患者可能发生导管移位, 尤其 Tenckhoff 卷曲腹透管, 常规方法不能纠正其移位的位置, 常须拔管后再植管; 另外, 曾腹部多次手术后植管或腹腔反复感染后再植管, 经这一小切口对是否存在腹膜广泛性粘连或腹膜纤维化等了解很困难, 植管失败率很高^[1]。本研究尝试在腹腔镜引导下放植或复位移位的 Tenckhoff 卷曲腹透管, 无需手术切口, 导管放置位置准确, 取得了满意效果, 现总结如下。

1 临床资料

1.1 一般资料

本研究 18 例慢性肾功能衰竭患者接受了腹腔镜引导下的腹膜透析管植放或复位术, 其中男 7 例、女 11 例, 年龄

35~80 岁。病因包括: 慢性肾炎 15 例, 狼疮性肾炎 2 例, 梗阻性肾病 1 例。腹膜透析前血清尿素氮为 (39.7±12.1) mmol/L; 血清肌酐为 (1621±422) μ mol/L; CO₂CP 为 (15±3) mol/L; 血红蛋白为 (56±25) g/L。10 例合并高钾血症。

1.2 治疗方法

患者取头低平卧位, 采用气管插管, 静脉复合麻醉。于正中线脐上 1 cm 处做穿刺孔, 使用美国 Olympus 公司全套腹腔镜手术设备, 刺入气腹针, 经套管注入 CO₂, 建立 CO₂ 气腹, 维持腹内压 13~15 mmHg。拔除气腹针刺入 10 mm 穿刺器, 置入 30° 腹腔镜进行腹腔观察: (1) 在脐水平右侧 2 cm、左侧 2 cm 分别切开 1 cm、0.5 cm 穿刺孔, 置入操作钳; 自右侧穿刺孔将 Tenckhoff 卷曲腹透管 (Quinton 腹膜透析管全长 62 cm, 卷曲部分 20.5 cm, 直径 5 mm, 其上有两个涤纶卡夫) 引入腹腔; 由左侧操作钳将腹透管末端置入盆腔膀胱直肠窝或子宫直肠窝; (2) 在曾腹部多次手术和腹膜透析后因反复感染致腹透管拔除的患者, 腹腔镜观察可见腹膜与大网膜在脐周、脐与耻骨联合间有程度不同的粘连。经穿刺孔分别置入无损伤抓钳、操作钳和超声刀, 用超声刀将粘连分离, 未发现明显出血, 大网膜色泽良好, 经腹透管向腹腔内已分离粘连的创面位覆盖几丁糖; (3) 在腹膜透析导管移位的患者, 腹腔镜观察可见腹透

收稿日期: 2006-04-25

作者简介: 章俊 (1965-), 男, 医学博士, 副教授, 电话: 020-61643185, E-mail: gzhzhangjun@yahoo.com.cn