

短篇论著

文章编号:1000-5404(2014)16-1754-04

Colo205 来源的大肠癌始动细胞锌指蛋白表达谱变化分析

岳昌武^{1*}, 吕玉红^{2*}, 周昕³, 王苗¹, 曾庆良³, 李园园¹, 邵美云¹ (563003 贵州 遵义, 遵义医学院: 医学与生物学研究中心¹, 基础医学院组胚教研室², 附属医院胃肠外科³)

[摘要] 目的 分析大肠癌始动细胞群锌指蛋白表达谱变化信息。方法 采用无血清悬浮培养结合 CD133 抗体标记磁珠分选获得 Colo205 来源大肠癌始动细胞, 高通量测序分析 180 个锌指蛋白基因 mRNA 表达谱变化, 并筛选差异表达基因, 利用荧光定量 PCR 技术对部分差异表达基因进行表达变化验证。结果 与 CD133⁻ 细胞群相比, CD133⁺ 细胞群有 56 个锌指蛋白基因表达下调, 42 个锌指蛋白表达上调; 与 Colo205 细胞群相比, CD133⁺ 细胞群有 58 个锌指蛋白基因表达下调, 40 个锌指蛋白表达上调; 与 Colo205 细胞群相比, CD133⁻ 细胞群有 79 个锌指蛋白基因表达下调, 46 个锌指蛋白表达上调, 定量 PCR 检测结果与表达谱测序数据表现出趋势一致性。CD133⁻ 细胞群与 Colo205 细胞群相比, 在 CD133⁺ 细胞群中有 29 个基因的表达均表现出了较大幅度的改变, 其中有 11 个基因在前两种细胞群中表现为表达上调, 13 个基因表现为下调。结论 无血清培养基培养结合 CD133 磁珠分选 Colo205 细胞获得的 CD133⁺ 细胞亚群中众多与肿瘤发生、发展有关的锌指蛋白基因在 CD133⁺ 细胞群中的表达发生改变。

[关键词] 大肠癌始动细胞; 锌指蛋白; 基因差异表达分析

[中图分类号] R341; R394-33; R735.34

[文献标志码] A

锌指蛋白与肿瘤的发生、发展及转移有着密切的联系^[1-3]。大肠癌的发病是一个涉及多个癌基因激活和抑癌基因失活渐变的过程^[4-5]。人 CD133 抗原为 5 次跨膜 (5-transmembrane, 5-TM) 糖蛋白, 在多种肿瘤干细胞表达^[6-8]。研究大肠癌始动细胞锌指蛋白基因表达谱变化对于其后续的生物特性分析、大肠癌诊断及综合防治措施的制定等具有极为重要的意义^[9]。本研究采用无血清体外球培养富集、CD133 标记免疫磁珠分选肠癌 Colo205 细胞株来源大肠癌始动细胞 (CD133)、CD133⁻ 细胞群及 Colo205 大肠癌细胞株, 经体外分化实验和裸鼠成瘤实验对分选的大肠癌始动细胞进行验证, 并用 RNA-seq 研究了肠癌 Colo205 细胞株来源不同细胞群基因表达变化, 利用定量 PCR 技术对差异基因表达变化结果进行验证, 以期发现差异表达锌指蛋白, 为深入理解大肠癌的发病机制和临床治疗提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 人大肠癌 colo205 细胞株购于中国科学院上海生命科学院细胞库, colo205 来源的大肠癌 CD133⁺ 细胞群/ colo205 来源的大肠癌 CD133⁻ 细胞群为本课题组利用无血

清培养基富集、经体外分化及裸鼠成瘤实验验证。

1.1.2 主要试剂及仪器 TRIzol[®] Reagent 购自 Invitrogen 公司; Truseq[™] RNA sample prep Kit, Dynabeads[®] mRNA Purification Kit, TBS380 (Picogreen), Certified Low Range Ultra Agarose, cBot Truseq PE Cluster Kit v3-cBot-HS, HiSeq2000 Truseq SBS Kit v3-HS(200cycles) 等 RNA 纯化、无差异表达谱文库构建、高通量测序试剂盒及磁力架及 HiSeq 2500 高通量测序平台等购自 Illumina 公司。B27 添加剂 (B27)、重组人碱性成纤维生长因子 (bFGF)、重组人表皮细胞生长因子 (EGF) 及重组人白血病抑制因子 (LIF) 购自 Invitrogen 公司; 二甲基亚砜 (DMSO)、胰蛋白酶粉购自 Sigma 公司; DMEM/F12 培养基和 RPMI1640 培养基购自 Gibco 公司; 胎牛血清购自杭州四季青公司; CD133 细胞分选试剂盒 (CD133 Cell Isolation Kit) 购自 Miltenyi 公司。常规细胞培养等无酶耗材均购自杭州爱思进公司。无血清培养基 (serum free medium, SFM) 为本实验新鲜配制 (98 mL DMEM/F12 培养基含 2.0 mL B27, 0.2 μg bFGF, 0.2 μg LIF, 0.2 μg EGF, 加超纯水定容到 100 mL, 过滤灭菌, -20 °C 保存, 备用)。倒置荧光显微镜、低温离心机、CO₂ 细胞培养箱、磁珠细胞分选仪等仪器由遵义医学院提供。

1.2 方法

1.2.1 Colo205 始动细胞磁珠分选、体外分化及裸鼠成瘤实验

取 SFM 中处于对数增长期的 Colo205 细胞, 按 10⁵/mL 接种至 SFM 中培养成结肠癌干细胞球, 10 d 后用酶消化法及机械分离法将 colo205 干细胞球分离成单细胞悬液, 单细胞悬液传代后重新形成结肠癌干细胞球。将形态稳定的 colo205 干细胞球分离成单细胞悬液, 悬浮细胞中加入 100 μL FcR blocking 及 100 μL CD133 免疫磁珠, 选择 MS 柱及匹配的分选器, 收集流过柱子的 CD133⁻ 细胞和 CD133⁺ 阳性细胞。将分选所得 CD133⁺ 与 CD133⁻ 细胞调整至 10⁵/mL 分别接种 SFM 中,

[基金项目] 贵州省社会发展科技攻关计划 (黔科合 SY 字 [2009] 3068)

*: 同等贡献者

[通信作者] 岳昌武, E-mail: changwuyue@126.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140417.1543.002.html> (2014-04-17)

37 °C、5% CO₂ 恒温箱中培养,每 2~3 天加入 2 mL SFM 培养基,每天观察细胞在 SFM 中形态变化。10 d 后向 SFM 中加入胎牛血清(SFM 与胎牛血清的体积比为 9:1),继续 37 °C、5% CO₂ 恒温箱中培养,每天观察细胞形态变化。将分选得到 CD133⁺、CD133⁻ 细胞及未分选的 colo205 细胞以生理盐水稀释将 CD133⁺、CD133⁻ 细胞及未分选的 colo205 细胞分别以 1 × 10³、1 × 10⁴、1 × 10⁵ 细胞数量接种至同只 BABL/c 裸鼠左右腋下和右侧腹股沟后养于 SPF 动物房,观察并记录肿瘤生长情况。

1.2.2 测序文库构建及高通量测序 利用 TRIzol® 总 RNA 提取试剂盒提取总 RNA,利用 Dynabeads® mRNA 试剂盒分离纯化 mRNA,离子打断后利用 Truseq™ RNA 纯化试剂盒合成双链 cDNA 合成、补平、3' 端加 A、连接 index 接头构建文库。利用接头引物 PCR 扩增富集文库并用 2% 琼超纯低熔点琼脂糖回收扩增文库,利用 TBS380 (Picogreen) 定量试剂盒定量回收的富集文库 cDNA,按数据比例混合上,cBot 上进行桥式 PCR 扩增长成 clusters 后利用 Hiseq2000 测序平台,进行 1 × 50 bp 测序,每个测序样品重复 3 次,取平均值。

1.2.3 测序原始数据处理及生物信息学分析 利用 SeqPrep 和 sickle 等软件去除 reads 中的 adaptor 序列,去除测序质量较低的 reads,去除含 N 较多的 reads,去除经过以上步骤长度小于 20 nt 的序列后得到高质量测序数据,统计后与 GenBank 上人基因组比对 mapping;利用 tophate 软件比对结果及参考人基因组构建转录本,Cuffcompare 比较两个或多个转录本集合中转录本相似情况,cuffmerge 将多个转录本集合合并成一套转录本集合,去除冗余,cuffdiff 衡量两个或多个样本间差异表达的基因来估计基因的表达水平。依据所有样本与参考基因组比对的结果,计算每个基因/转录本在样本中的 FPKM(每 1 百万个 map 上的 reads 中 map 到外显子的每 1K 个碱基上的 reads 个数)值,以该值作为基因/转录本在样本中的表达量。以 P < 0.05 和 q < 0.05 和表达变化差异为 -2 和 2 倍为差异表达基因筛选标准,筛选 CD133⁺ 组/Colo205 组/CD133⁻ 等 3 组样品间两两样品的转录本的表达量变化差异显著基因,利用 R 软件中的“noiseq”进行差异基因聚类分析。

1.2.4 差异基因定量 PCR 验证 随机选取锌指蛋白 zfp1 和 基因,以 β-actin 作为内参,进行定量 PCR 验证。zfp1 引物上游:5'-GAGGAATGGGAACAACCTGGACC-3',下游:5'-ATTGCCTCGCCTGCTCGTC-3';引物上游:5'-GACAGGGTGCTCGGTTGA-3',下游:5'-GGCTTGCTACCTGGCTGGAA-3';β-actin 引物上游:5'-TGGCACCCAGCCAATGAA-3',下游:5'-CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA-3'。反应条件为:95 °C 预变性 2 min,40 个热循环扩增(95 °C 变性 10 s,60 °C 退火扩增 20 s)。每轮热循环结束后采集荧光信号,扩增结束后采集荧光信号绘制溶解曲线,以 2^{-ΔΔCt} 法分析表达变化。

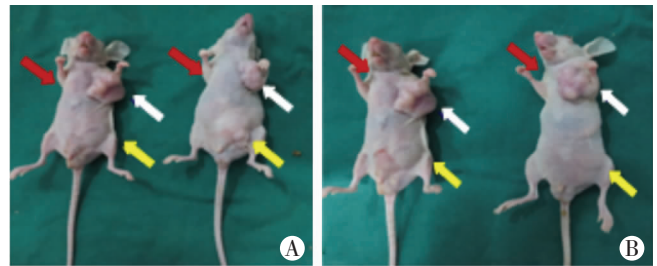
2 结果

2.1 大肠癌始动细胞体内成瘤能力

将分选得到的 CD133⁺ 与 CD133⁻ 细胞在 SFM 中培养,1 d 后 CD133⁺ 细胞成团并悬浮生长,4 d 可见典型肿瘤细胞球;CD133⁻ 细胞则未见肿瘤细胞球生成。在 SFM 中加入胎牛血清,1 d 后 CD133⁺ 细胞所形成肿瘤干细胞球全部贴壁生长,3 d

见细胞球周边出现大量分化细胞。

第 15 天 10⁵ 个 CD133⁺ 细胞接种处见肿瘤生长,第 20 天 10⁴ 个 CD133⁺ 细胞接种处见肿瘤生长,第 30 天 10³ 个 CD133⁺ 细胞接种处见肿瘤生长;接种第 35 天 10⁵ 个 colo205 细胞接种处见肿瘤生长,第 40 天 10⁴ 个和 10³ 个 colo205 细胞及 CD133⁻ 细胞接种处均未见肿瘤生长。到 42 d 观察期结束,仅需接种 10³ 个 CD133⁺ 细胞即可在裸鼠皮下形成肿瘤(图 1);而 colo205 细胞需接种 10⁵ 个才能在第 35 天形成肿瘤。CD133⁻ 细胞接种处均未见肿瘤生长。CD133⁺ 细胞内成瘤能力明显强于 CD133⁻ 细胞及 colo205 细胞(P < 0.05);而 CD133⁻ 及 colo205 细胞间成瘤能力无明显差异。



A: 培养 4 d; B: 培养 42 d; 红色箭头示 CD133⁺ 细胞注射部位; 黄色箭头示 Colo205 细胞注射部位; 白色箭头示 CD133⁻ 细胞注射部位

图 1 裸鼠成瘤情况观察

2.2 大肠癌 Colo205 来源细胞群转移相关基因表达变化

文库构建和高通量测序结果见表 1。并对 3 种细胞群中 180 个锌指蛋白编码基因的 mRNA 表达水平进行聚类分析(图 2)。与 CD133⁻ 相比,CD133⁺ 细胞群有 56 个锌指蛋白基因表达发生下调,42 个锌指蛋白表达发生上调,分别占全部锌指蛋白的 31.1% 和 23.3%;与 Colo205 细胞群相比,CD133⁺ 细胞群有 58 个锌指蛋白基因表达发生下调,40 个锌指蛋白表达发生上调,分别占全部锌指蛋白的 32.2% 和 22.2%;与 Colo205 细胞群相比,CD133⁻ 细胞群有 79 个锌指蛋白基因表达发生下调,46 个锌指蛋白表达发生上调,分别占全部锌指蛋白的 43.9% 和 25.6%。与 CD133⁻ 和 Colo205 细胞群相比,CD133⁺ 细胞群有 29 个基因(表 2)的表达出现了较大幅度的改变,其中有 12 个基因在前两种细胞群中表现为表达上调,19 个基因表现为下调。与 CD133⁺ 细胞群相比,锌指蛋白 zfpbc11a 和锌指蛋白 zfp350 在 colo205 细胞群表现为表达上调,而在 CD133⁻ 细胞群中表现为表达下调。锌指蛋白 zfp969p 则表现出与之相反的表达变化趋势。CD133⁺ 细胞群中发生表达改变的这 29 个锌指蛋白中,有 21 个为 KRAB 型锌指蛋白,7 个为 H2C2 型锌指蛋白。与未分选的 colo205 细胞群和 CD133⁻ 细胞群相比,绝大部分(30/29)差异表达锌指蛋白的表达变化在 2~4 倍之间。

表 1 不同细胞群数字表达谱测序数据统计

细胞群	高质量数据		基因组 mapping 比率	
	序列数(条)	碱基数(bp)	序列数(条)	百分比
CD133 ⁻	136 141 51	664 239 924	129 157 38	87.07%
CD133 ⁺	174 952 51	845 819 897	161 182 58	85.93%
Colo205	207 198 18	100 043 479 6	193 046 05	84.11%



图2 锌指蛋白表达模式聚类

表2 colo205来源细胞群差异表达锌指蛋白表达变化

基因	CD133 ⁺ /colo205	CD133 ⁺ /CD133 ⁻	colo205/CD133 ⁻
BCL11A	0.149 702	2.951 067	0.050 728
ZFP1	2.120 497	5.270 160	0.402 359
ZFP101P2	3.703 687	0.260 875	14.197 18
ZFP141	3.937 888	2.655 429	1.482 957
ZFP20	2.121 769	3.532 669	0.600 614
ZFP219	2.515 451	2.533 245	0.992 976
ZFP345	0.219 654	0.139 126	1.578 818
ZFP347	5.867 710	2.540 882	2.309 320
ZFP83	2.777 775	2.806 655	0.989 710
ZFP112	0.461 528	0.480 000	0.961 516
ZFP132	0.345 362	0.382 872	0.902 030
ZFP148	0.477 894	0.441 697	1.081 95
ZFP192	0.441 733	0.419 322	1.053 446
ZFP234	0.404 465	0.413 813	0.977 410
ZFP281	0.453 456	0.498 095	0.910 38
ZFP529	0.324 884	0.334 123	0.972 347
ZFP567	0.346 491	0.309 145	1.120 803
ZFP568	2.314 281	5.103 410	0.453 477
ZFP575	2.009 368	2.522 353	0.796 625
ZFP621	0.480 863	0.472 718	1.017 231
ZFP652	2.040 483	2.366 213	0.862 341
ZFP658	0.539 261	0.422 907	1.275 130
ZFP780B	0.361 301	0.411 807	0.877 355
ZFP788	0.088 512	0.002 195	40.331 590
ZFP826	0.411 521	0.091 454	4.499 770
ZFP83	2.777 775	2.806 655	0.989 710
ZFP878	0.171 279	0.362 851	0.472 036
ZFP90	2.240 445	4.305 470	0.520 372
ZFP969	2.469 117	0.311 849	7.917 662

表达变化以 fold change >2 或 fold change <0.5 为判定标准

3 讨论

为了筛选与大肠癌诊断密切且相关的基因,本研究对裸鼠成瘤验证的磁珠筛选的 colo205 来源的不同细胞群进行表达谱测序分析,并利用定量 PCR 技术对随机选取的 2 个锌指蛋白表达进行验证,结果这 2 个基因的表达变化趋势与表达谱测序结果一致。本研究

中 zfp652 在 CD133⁺ 细胞群中的表达明显高于未分选的细胞群和 CD133⁻ 细胞群。研究报道该蛋白可以通过 C-末端的 109 个氨基酸残基与和 ETO 肿瘤抑制蛋白家族的 CBFA2T3 共同作用(与 CBFA2T1 和 CBFA2T2 也发生较弱的相互作用),抑制癌基因的表达^[10-11]。Zfp281 在大肠癌里高表达,其直接活化胚胎干细胞中的核心调控网络中的调控细胞分化的 Nanog、Oct4、Sox2 等基因在内的调控蛋白在内的 2 417 个基因的表达,对干细胞的调控发挥重要作用^[12]。本研究中该基因在 CD133⁺ 细胞中的低表达,可能和 CD133⁺ 细胞群维持为分化的始动细胞状态有关。作为一种肿瘤抑制因子,锌指蛋白 zfp148 表达水平和大肠癌的转移及预后密切相关,zfp148 在转移性肿瘤的表达明显低于在原发性肿瘤,ZNF148 高表达肠癌患者术后预后乐观,可能作为肠癌患者手术后一种重要的预后因素^[13]。本研究中该基因在 CD133⁺ 细胞中的低表达,可能是该蛋白在促进肠癌细胞分化等方面发挥一定作用。Zfp132 蛋白参与前列腺癌中启动子的异常甲基化,与正常人相比,前列腺癌患者的 zfp132 表达水平显著降低,早期的转移瘤的 zfp132 的表达水平明显降低,该基因的表达水平变化与癌症的发展及预后有着密切的关系^[14],同 zfp148 一样,本研究中 zfp132 基因在 CD133⁺ 细胞中的低表达,可能是该蛋白在促进肠癌细胞转移、浸润等方面发挥一定作用。本研究显示,与 CD133⁻ 细胞群或未分选 colo205 细胞株比较,CD133⁺ 细胞群中有 29 个锌指蛋白在表达发生显著的改变,且表达变化趋势一致。

参考文献:

- [1] 赵楠,赵飞,李玉花. 锌指蛋白结构及功能研究进展[J]. 生物技术通讯, 2009, 20(1): 131-134.
- [2] 马占福,杨冬,贺福初,等. KRAB 型锌指蛋白在高等脊椎动物胚胎发育和肿瘤发生、发展中的调控功能[J]. 遗传, 2010, 32(5): 431-436.
- [3] Piganeau M, Ghezraoui H, De-Cian A, et al. Cancer translocations in human cells induced by zinc finger and TALE nucleases[J]. Genome Res, 2013, 23(7): 1182-1193.
- [4] Goecks J, Nekrutenko A, Taylor J, et al. Galaxy: a comprehensive approach for supporting accessible, reproducible, and transparent computational research in the life sciences[J]. Genome Biol, 2010, 11(8): R86.
- [5] Maher CA, Kumar-Sinha C, Cao X, et al. Transcriptome sequencing to detect gene fusions in cancer[J]. Nature, 2009, 458(7234): 97-101.
- [6] Galli R, Binda E, Orfanelli U, et al. Isolation and characterization of tumorigenic, stem-like neural precursors from human glioblastoma[J]. Cancer Res, 2004, 64(19): 7011-7021.

- [7] Yin S, Li J, Hu C, *et al.* CD133 positive hepatocellular carcinoma cells possess high capacity for tumorigenicity[J]. *Int J Cancer*, 2007, 120(7): 1444 - 1450.
- [8] O'Brien C A, Pollett A, Gallinger S, *et al.* A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice [J]. *Nature*, 2007, 445(7123): 106 - 110.
- [9] Willis N D, Przyborski S A, Hutchison C J, *et al.* Colonic and colorectal cancer stem cells: progress in the search for putative biomarkers [J]. *J Anat*, 2008, 213(1): 59 - 65.
- [10] Kumar R, Manning J, Spendlove H E, *et al.* ZNF652, a novel zinc finger protein, interacts with the putative breast tumor suppressor CBFA2T3 to repress transcription[J]. *Mol Cancer Res*, 2006, 4(9): 655 - 665.
- [11] Kumar R, Cheney K M, McKirdy R, *et al.* CBFA2T3-ZNF652 corepressor complex regulates transcription of the E-box gene HEB[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(27): 19026 - 19038.
- [12] Wang Z X, Teh C H, Chan C M, *et al.* The transcription factor Zfp281 controls embryonic stem cell pluripotency by direct activation and repression of target genes [J]. *Stem Cells*, 2008, 26(11): 2791 - 2799.
- [13] Gao X H, Liu Q Z, Chang W, *et al.* Expression of ZNF148 in different developing stages of colorectal cancer and its prognostic value: a large Chinese study based on tissue microarray [J]. *Cancer*, 2013, 119(12): 2212 - 2222.
- [14] Abildgaard M O, Borre M, Mortensen M M, *et al.* Downregulation of zinc finger protein 132 in prostate cancer is associated with aberrant promoter hypermethylation and poor prognosis [J]. *Int J Cancer*, 2012, 130(4): 885 - 895.
- (收稿:2014-01-20;修回:2014-02-19)
(编辑 汪勤俭)

文章编号:1000-5404(2014)16-1757-01

个案与短篇

头颅 CT 诊断不明确的 3 例蛛网膜下腔出血临床分析

张 珊,马勋泰 (646000 四川 泸州,泸州医学院附属医院神经内科)

[关键词] 蛛网膜下腔出血;全脑血管造影

[中图分类号] R743.35 [文献标志码] B

1 临床资料

病例 1:患者,女性,62 岁,因“反复发作性头痛 6 个月,再发加重 5 d”入院。查体:意识清楚,左上眼睑下垂,双瞳孔等大圆直径约 2.5 mm,左侧鼻唇沟浅,余颅神经检查阴性,病理征、脑膜刺激征阴性。入院当天头颅 MRI:双侧脑室旁及半卵圆中心多发腔梗及缺血灶,初步诊断为血管性头痛,经相关治疗后第 4 天,患者头痛明显,伴有呕吐,呈喷射状,查体:双瞳孔不等大,左侧 D: 4.0 mm,右侧 D: 3.0 mm,双侧瞳孔对光反射灵敏,急查头颅 CT,印象诊断:鞍上池及环池消失,考虑结核性脑膜炎可能,给予脱水降颅压、抗结核等治疗。第 6 天,患者仍头痛及呕吐,左侧瞳孔 D: 5.0 mm,右侧瞳孔 D: 2.0 mm,对光反射均迟钝,左上眼睑明显下垂,左眼内收受限,右眼眼外肌未见异常,颈阻(±),Kerning 征(+)。结合患者病情变化、查体及头颅 CT 拟诊断为蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage, SAH)。当日行腰穿示:肉眼 3 杯脑脊液均成均匀一致的红色,浑浊,红细胞计数 $270\ 000 \times 10^6/L$,蛋白 1.103 g/L,糖、氯化物正常,未查见抗酸杆菌、真菌及隐球菌,由此 SAH 诊断明确。次日头颅 CTA 示:左侧后交通动脉起始处动脉瘤(颈部宽约 4.6 mm,体部约为 $11.0\text{ mm} \times 4.9\text{ mm}$)。遂转入神经外科行动

脉瘤栓塞术。

病例 2:患者,男性,37 岁,因“突发头痛、腰痛 1 d,会阴部疼痛 9 h”入院。查体:左肾及 $L_1 \sim S_1$ 棘突叩痛,余内科系统查体无特殊。神经系统:意识清楚,颅神经(-),肛周及腹股沟区痛刺激减退,病理征、颈阻、脑膜刺激征(-)。院外头颅 CT 及 MRI 示:枕大池内形态不规则及不均匀异常信号影。入院后当日复查 CT 示:枕大池及四脑室内斑点状高密度影,少量出血?拟诊断为 SAH,立即进行防止脑血管痉挛、再出血、脱水降颅压等处理。行腰穿肉眼 3 杯脑脊液均成均匀一致的红色,浑浊,红细胞计数 $380\ 000 \times 10^6/L$,蛋白 1.874 g/L,葡萄糖 1.52 mmol/L,氯化物正常,未查见抗酸杆菌、真菌及隐球菌。头颅 CTA、DSA 及脊髓 CTA 均未见异常,经内科保守治疗 36 d 后症状缓解出院。

病例 3:患者,女性,49 岁,因“头痛伴恶心、呕吐 4 d”入院。查体:意识清楚,颅神经检查(-),颈阻(+),Brudzinski 征(+)。入院当日头颅 CT 示:右侧枕顶交界区高密度小片影(少量出血?),拟诊断为脑出血,立即给予防止脑血管痉挛、再出血、脱水降颅压等处理,并行腰穿肉眼 3 杯脑脊液均成均匀一致的红色,浑浊,红细胞计数 $220\ 000 \times 10^6/L$,蛋白 0.451 g/L,糖、氯化物正常,未查见抗酸杆菌、真菌及隐球菌。头颅 CTA 示:右侧颈内动脉交通段动脉瘤,左侧椎动脉细小,右侧顶枕叶交界处稍高密度影。遂转入神经外科手术行动脉瘤夹闭术并好转出院。

[通信作者] 马勋泰, E-mail: maxuntai2002@126.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140717.1655.007.html> (2014-07-17)

(下转 1760 页)