

狭叶重楼甾体皂苷类化学成分 PS II 体外抗肿瘤作用的观察*

肖雪¹, 杨媚¹, 白鹏², 陈新莲³, 刘珊玲¹, 邹娟⁴, 王和^{1,3△}

1. 四川大学华西第二医院 妇产科(成都 610041); 2. 四川大学华西基础医学与法医学院 法医物证学教研室(成都 610041);
3. 四川大学华西第二医院 遗传实验室(成都 610041); 4. 四川大学华西第二医院 病理科(成都 610041)

【摘要】 目的 研究狭叶重楼甾体皂苷类化学成分(PS II)的抗肿瘤活性及机制。方法 分离纯化狭叶重楼主要化合物 PS II, 根据理化性质、波谱数据鉴定其结构。体外实验中采用 MTT 法评价 PS II 对肿瘤细胞株 SKOV3 的毒性及时效和量效关系, 并以化疗药物依托泊苷(VP16)为对照; 通过流式技术和缺口末端标记(TUNEL)技术探讨 PS II 对 SKOV3 细胞凋亡的影响。采用免疫印迹技术探讨药物对丝裂原激活蛋白酶(MAPKs)和线粒体信号通路的影响。结果 PS II 对 SKOV3 细胞株的 50% 生长抑制浓度(IC₅₀)为 4.81 μmol/L。流式细胞和 TUNEL 技术进一步证实了 SKOV3 细胞经 PS II 干预后凋亡率增加, 并有剂量和时间依赖性(P<0.05)。PS II 抑制细胞外信号调节蛋白激酶(ERK)1/2 的活性并促进凋亡蛋白 Bid、Bax 表达增加, 下游蛋白 procaspase-3 以及 procaspase-9 的表达下调。结论 PS II 通过影响 MAPKs 信号传导途径靶蛋白, 特别是对起始因子 ERK1/2 活性的抑制, 激活线粒体凋亡通路, 促进肿瘤细胞的凋亡。

【关键词】 PS II 凋亡 线粒体通路 丝裂原激活蛋白酶通路

Observation on Anticancer Function of PS II Isolated from Rhizoma Paridis XIAO Xue¹, YANG Mei¹, BAI Peng², CHEN Xin-lian³, LIU Shan-ling¹, ZOU Juan⁴, WANG He^{1,3△}. 1. Department of Gynaecology and Obstetrics, West China Second Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Forensic Sciences, West China School of Preclinical and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. Lab of Genetics, West China Second Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 4. Department of Pathology, West China Second Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: wanghe_cd@126.com

【Abstract】 **Objective** To isolate compound Paris saponin II (PS II) from Rhizoma Paridis and observe its antitumor activity. **Methods** PS II was isolated and determined by electrospray ionization-mass spectrometry, ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance spectral analysis. PS II was used to treat cancer cells to analyze the toxicity and relative time- and dose-dependent manner. Apoptosis of cells were investigated by flow cytometry and TUNEL assay. Western blotting was used to analyze the effects of PS II to MAPKs and mitochondrial apoptotic pathway. **Results** The anti-tumor activities of PS II on ovarian carcinoma cell line SKOV3 were investigated. The IC₅₀ of PS II to SKOV3 was 4.81 μmol/L. Increased apoptosis rate in a dose- and time-dependent manner was observed by Flow cytometry and TUNEL. The activity of ERK1/2 was inhibited by PS II and increased expression of cytochrome c, caspase-3 and caspase-9 was also noticed after the treatment of PS II. **Conclusion** PS II can inhibit the growth of ovarian cancer cells SKOV3 through affecting the key proteins on MAPKs pathway and inhibiting the activity of ERK1/2 and eventually eliciting programmed cell death of SKOV3. The mitochondrial apoptotic pathway may be involved in the PS II induced apoptosis.

【Key words】 Paris saponin II Apoptosis Mitochondrial pathway MAPKs pathway

中药重楼, 又名七月一枝花, 产于欧亚大陆的热带至温带地区, 为延龄草科重楼属植物华重楼和滇重楼的干燥根茎^[1]。药理实验发现重楼皂苷具有止血、抑菌、抗微生物、调节免疫及镇痛和镇静等多种

生理活性^[2]。前期实验^[3]发现重楼皂苷有抗肿瘤作用, 其中抗肿瘤活性最强的单体重楼皂苷 II (PS II) 对包括 SKOV3 细胞株等多种肿瘤细胞株有显著的细胞毒性, 而对源于内胚层、中胚层和外胚层的正常细胞未见明显抑制作用, 提示 PS II 可以作为抗肿瘤的潜在药物进行研究和开发。本研究探讨了 PS II 对卵巢癌细胞株 SKOV3 的增殖抑制作用及其作用

* 国家自然科学基金(No. 81001159)资助

△ 通讯作者, E-mail: wanghe_cd@126.com

机制。

1 材料与方法

1.1 材料

狭叶重楼干燥根茎来源于四川大学华西药学院重楼种植中心。DMEM 培养基、胰蛋白酶购自美国 Hyclone 公司,胎牛血清购自 Gibco 公司,二甲基亚砜(DMSO)、噻唑蓝(MTT)、4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)、Etoposide(VP16)和 β -actin 抗体均购自美国 Sigma 公司,细胞外信号调节蛋白激酶(ERK)1/2、phospho-ERK1/2(Thr202/Tyr204)、Bcl-2、Bax、Bid、procaspase-3、procaspase-9、聚腺苷酸二磷酸核糖转移酶(PARP)和 Cleaved-RARP 抗体购自美国 Santa Cruz 公司,Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒购自南京凯基生物技术有限公司。

1.2 PS II 的提取

狭叶重楼干燥根茎 15 kg,粉碎后用 70%乙醇反复渗滤提取,石油醚脱脂,乙酸乙酯萃取。乙酸乙酯萃取部位经反复硅胶柱层析(氯仿-甲醇梯度洗脱)并结合重结晶得白色针晶后分别上反相硅胶 RP-C18 中压液相柱层析最终获得化合物 PS II。经过结构鉴定后,药物溶解于无血清培养基中,制备为储存液,稀释液中的 DMSO 浓度不超过 0.1%。

1.3 细胞株和细胞的培养

人卵巢癌细胞株 SKOV3 由四川大学华西第二医院分子生物实验室馈赠,复苏培养于含有 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养基中,于 37℃、5%CO₂ 饱和湿度孵箱内常规培养。每次药物干预前更换新鲜培养基。

1.4 MTT 法检测 PS II 对 SKOV3 细胞增殖抑制的影响

采用 MTT 法检测 PS II 不同浓度作用不同时间对 SKOV3 细胞增殖抑制的作用。将 SKOV3 细胞株按照 5000/孔密度接种于 96 孔板,并孵育 24 h 使其同步化,然后加入药物 PS II (5、10、15、20 μ mol/L),化疗药物依托泊苷(VP16)相同浓度作为实验对照,空白对照组不加入任何处理药物,溶剂对照组仅加 DMSO,各设 3 个复孔。PS II 干预后 1、3、5、7 d,在每个干预时段结束后每孔分别加入 MTT 溶液(5 mg/mL)10 μ L,37℃放置 4 h 后,弃上清,每孔加入 DMSO 150 μ L 溶解结晶物,用酶联免疫检测仪在 470 nm 波长处测定其光密度(OD)值。计算细胞增殖抑制率。细胞抑制率(%)=1-(实验组

OD 值-空白对照 OD 值)/(溶剂对照 OD 值-空白对照 OD 值)×100%。并根据剂量-反应曲线和时间-反应曲线计算出 50%生长抑制浓度(IC₅₀)。实验重复 3 次,取其均值。

1.5 PS II 对 SKOV3 细胞凋亡和细胞周期的影响

1.5.1 流式细胞仪检测细胞凋亡和细胞周期 收集 PS II 不同浓度(1、5、10、20 μ mol/L)和作用不同时间(0 h, 24 h, 48 h, 72 h)的 SKOV3 细胞,对照组不加入任何处理药物(含等量的 DMSO),用冰乙醇重悬细胞并固定。用流式细胞仪检测 DNA 含量,并利用 CellQuest 软件和 ModFit 软件(Verity Software House, Topsham, USA)分析细胞凋亡和细胞周期分布的变化。重复实验 3 次,取平均值。

1.5.2 TUNEL 技术检测细胞凋亡 PS II 不同浓度(1、5、10、20 μ mol/L)作用 24 h 的 SKOV3 细胞爬片,经多聚甲醛固定后,置于含 1 g/L Triton X-100 的 1g/L 枸橼酸钠穿透液中。采用原位末端标记试剂盒进行检测。检测结果以核阳性为判定标准,结合 HE 染色,对 HE 染色证实为坏死的细胞不记数。随机移动细胞爬片进行计数,选择相邻的 10 个视野,排除有严重的炎症反应和坏死灶的区域。TUNEL 标记指数(TUNEL LI)是计数每张细胞爬片中至少 3000 个细胞核中出现的凋亡细胞数。

1.6 Western blot 检测 PS II 对 SKOV3 细胞线粒体通路中蛋白含量的影响

10 μ mol/L PS II 干预 SKOV3 细胞 10、20、30、60、120、240 min 之后,经过裂解液作用后提取上清液,检测上清液的蛋白浓度。1、5、10、20 μ mol/L PS II 分别干预 SKOV3 细胞 24 h,经过裂解液作用后提取上清液,检测上清液的蛋白浓度。等量的上清液蛋白煮沸 10 min 后,通过 ADA-PAGE 电泳分离,转入 PVDF 膜。经过 3% BSA 室温下封闭 1 h 后,加入一抗 4℃过夜。次日漂洗后加入 1:500 二抗室温平摇 1 h。洗膜 3 次,加入发光底物,可见显色的条带。ERK1/2、细胞凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2、Bid、procaspase-3、procaspase-9、PARP 和 Cleaved-RARP 各蛋白与 β -actin 的积分光密度(OD)比值为蛋白的相对表达量。

1.7 统计学方法

多组间比较采用单因素方差分析,组间比较用 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PS II 的结构特点

通过对狭叶重楼的化学成分研究,分离得到多

个甾体皂苷类化合物, 其中 PS II 的结构式为 (3 β , 25R)-Spirost-5-en-3-yl-O-6-deoxy-alpha-L-mannopyranosyl-(1-2)-O-[O-6-deoxy-alpha-L-mannopyranosyl-(1-4)-6-deoxy-alpha-L-mannopyranosyl-(1-4)]-beta-D-glucopyranoside, 见图 1。

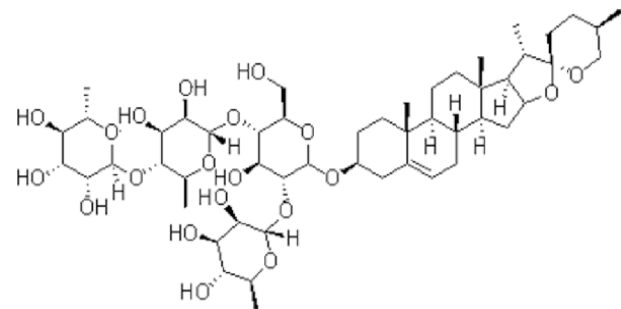
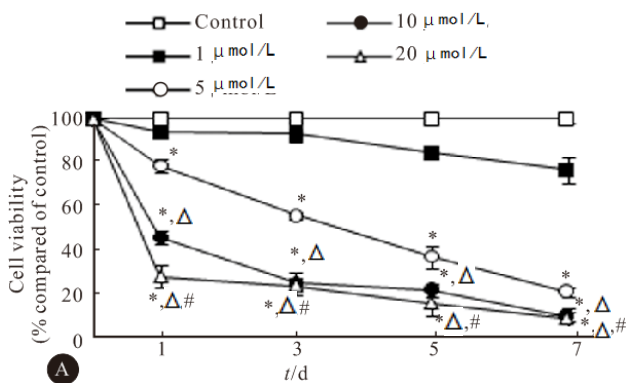


图 1 PS II 的化学结构示意图

Fig 1 The structure of Paris saponin II

2.2 PS II 对卵巢癌细胞 SKOV3 的生长抑制作用

PS II 对卵巢癌细胞 SKOV3 的生长存在明显抑制, 且随着 PS II 浓度的增高以及干预时间的延长,



对 SKOV3 生长的抑制作用增强 ($P < 0.05$)。SKOV3 对 PS II 和 VP16 敏感性不一, PS II 对 SKOV3 细胞的 IC₅₀ (24 h) 为 4.81 μmol/L, 低于 VP16 组的 13.52 μmol/L。10 μmol/L PS II 和 VP16 分别干预 SKOV3 细胞到第 5 d, 对 SKOV3 的抑制率分别为 80.1% 和 60.1% ($P < 0.05$); 20 μmol/L PS II 和 VP16 分别干预 SKOV3 细胞到第 7 d, 对 SKOV3 的抑制率分别为 90.0% 和 70.4% ($P < 0.05$), PS II 总体抗肿瘤活性强于 VP16 (图 2)。

2.3 PS II 对 SKOV3 细胞凋亡和细胞周期的影响

荧光显微镜下观察 TUNEL 染色, 结果显示 (图 3), PS II 干预后的 SKOV3 细胞随着浓度的升高, 阳性信号逐渐增加, 甚至可见成簇分布的黄绿色或黄色荧光阳性 TUNEL 信号。高浓度 PS II 干预组 TUNEL LI 值 (10 μmol/L, 82.6%) 高于低浓度干预组 (1 μmol/L, 10.8%, 5 μmol/L, 53.2%) 和对照组 (0 μmol/L, 3.7%), 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

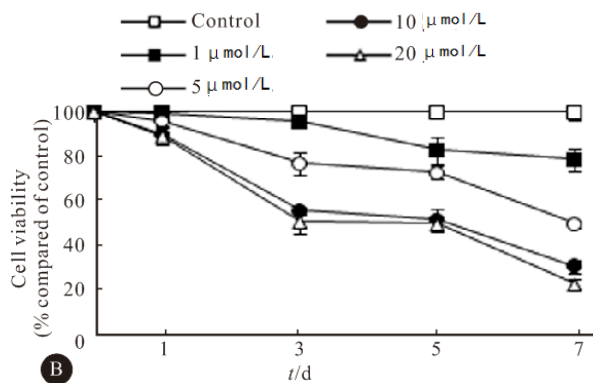


图 2 不同浓度 PS II 对 SKOV3 细胞生长的抑制 ($n=3$)

Fig 2 Inhibit effect of PS II on tumor cell proliferation with different concentrations ($n=3$)

* $P < 0.05$, vs. control and 1 μmol/L PS II groups; Δ $P < 0.05$, vs. 5 μmol/L PS II group; # $P < 0.05$, vs. VP16 group in same concentration. A: PS II; B: VP16

流式细胞结果显示 10 μmol/L PS II 干预 SKOV3 细胞 0、24、48 和 72 h 后凋亡率分别为 2.2%、4.5%、22.1% 和 60.0% ($P < 0.05$), 1、5、10、20 μmol/L PS II 干预 SKOV3 细胞 24 h 后凋亡率分别为 1.4%、2.0%、5.7% 和 46.1% ($P < 0.01$), 凋亡率的上升有剂量和时间的依赖性。同时发现干预后的 SKOV3 细胞存在 G₂/M 期的阻滞。在浓度为 10 μmol/L 时, G₂/M 期的细胞达到 31.4%, 凋亡峰可见 (图 4)。

2.4 PS II 对 SKOV3 细胞线粒体通路中各种蛋白含量的影响

PS II 对 ERK1/2 的抑制作用在 PS II 干预 SKOV3 细胞 30 min 后就出现, 此后随着时间的延

长, 抑制作用逐渐减弱。提示 PS II 能够通过损伤或

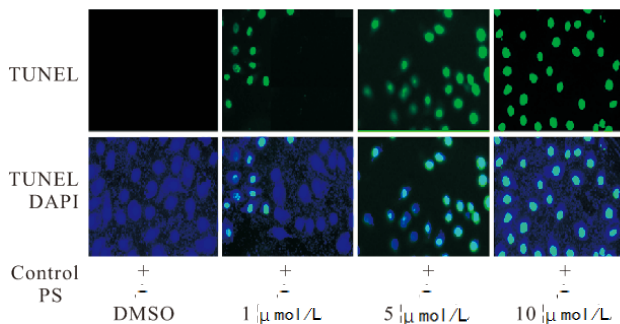


图 3 不同浓度 PS II 对 SKOV3 细胞的凋亡作用。TUNEL $\times 400$

Fig 3 SKOV3 cells were treated with different concentration of PS II and labeled with TUNEL and DAPI after 24 hours to analyze the apoptosis. TUNEL $\times 400$

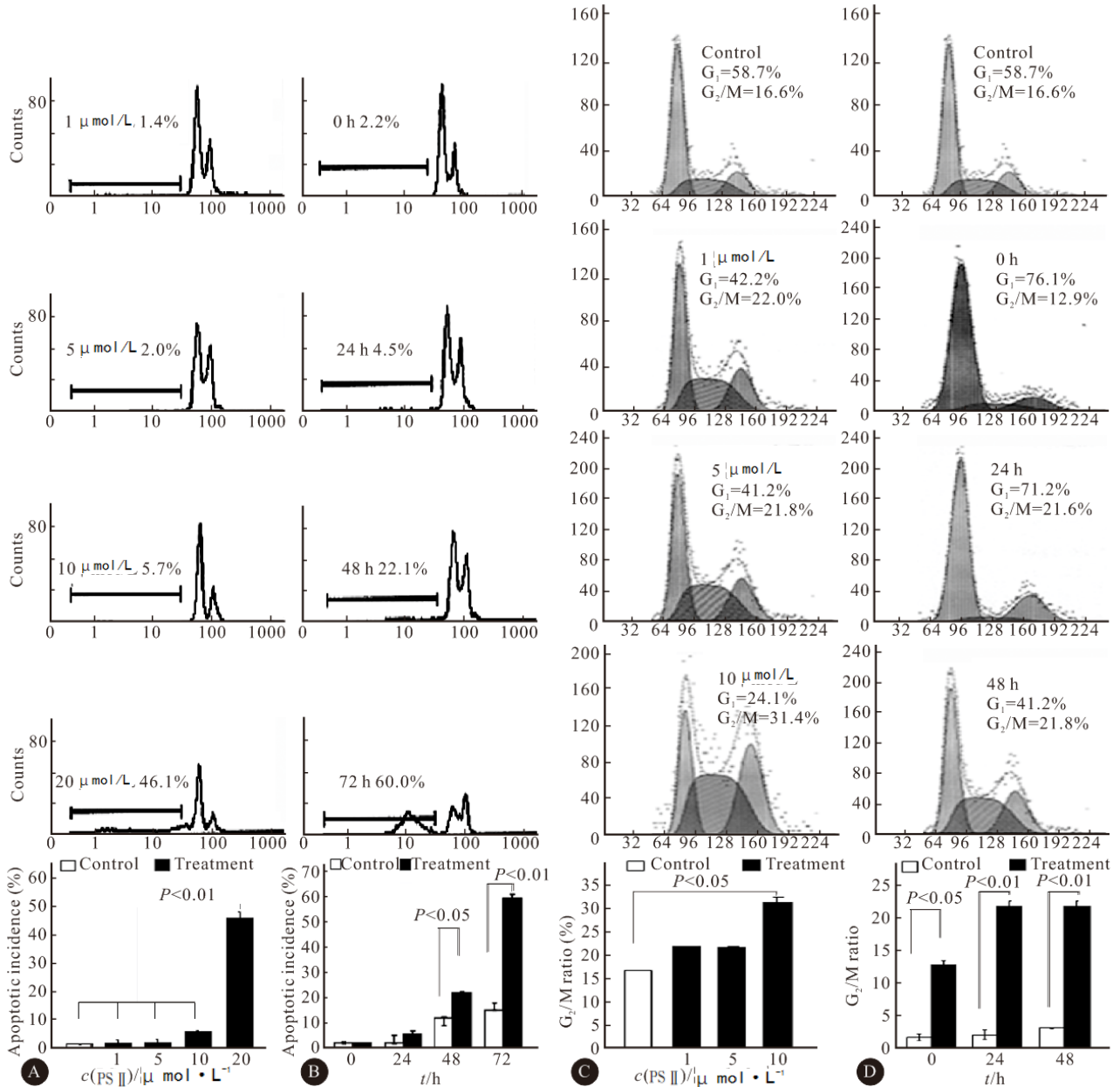


图 4 流式细胞仪分析凋亡率和细胞周期

Fig 4 FACS analysis for apoptotic incidence

A: SKOV3 cells treated with different concentrations of PS II for 24 h; B: SKOV3 cells treated with PS II (10 $\mu\text{mol/L}$) and were analyzed for percentage of apoptotic incidence at different time point; C: PS II induces G_2/M phase arrest in SKOV3 cells in a dose-dependent manner; D: PS II induces G_2/M phase arrest in SKOV3 cells in a time-dependent manner

破坏 ERK1/2 活性,抑制细胞增殖,促进其凋亡。

PS II 干预 SKOV3 细胞后 24 h,促凋亡蛋白 Bid、凋亡前蛋白 Bax 的表达增强,抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达降低,下游的活化前凋亡蛋白 procaspase-3 以及 procaspase-9 表达下调。PARP 酶随着 PS II 浓度的增高表达增强(图 5)。

3 讨论

重楼属植物是重要的中药材,是民间治疗炎症

的一种安全有效的药物,但国内外迄今为止鲜见对其甾体皂苷类化学成分抗癌作用机制的报道。仅康利平和 Vassilopoulos 等^[1,2]提出 PS I 通过干预线粒体通路诱导肝癌细胞 HepG₂ 和耐 Dox 的 R-HepG₂ 细胞凋亡。本研究显示,重楼另一重要化学单体 PS II 具有更强的抗肿瘤活性。PS II 对妇科肿瘤细胞株有较强的毒性。通过细胞毒性实验比较^[4,5],PS II 比临床常用化疗药物 VP16 具有更强的抗肿瘤活性并且具有剂量依赖效应,其潜在优势

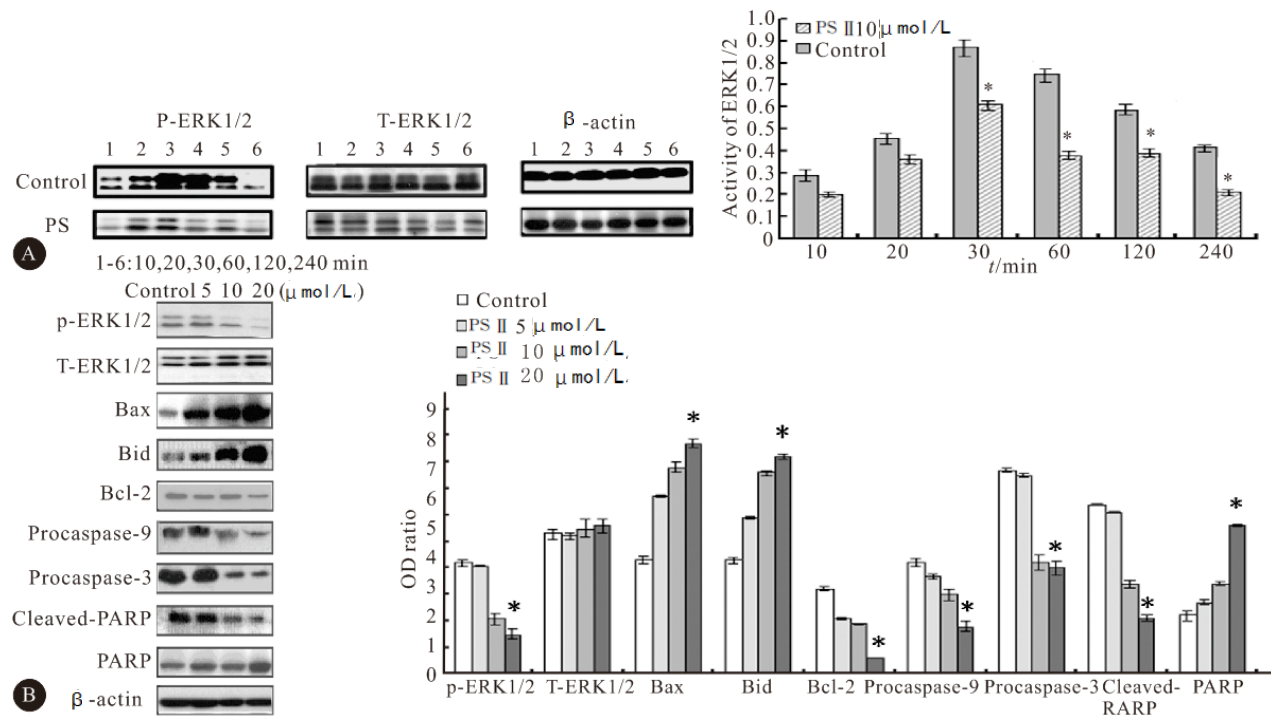


图 5 重要信号传导通路靶蛋白的表达改变

Fig 5 The effects of PS II on the activation of signal pathway through key proteins

p-ERK1/2; Phospho-ERK1/2; T-ERK1/2; Total ERK1/2; * $P < 0.05$, vs. control group; A: Effect different time; B: Effect different concentrations

已见端倪。其临床意义在于通过天然药物重楼有效成分的研发,对卵巢癌的治疗提供新选择。

文献认为正常的细胞凋亡在维持生物机体细胞死亡与增殖的平衡过程中起关键作用。恶性肿瘤细胞的产生是丧失自发凋亡能力的后果,因此最有效的抗癌治疗可能是诱导肿瘤细胞的凋亡,而不仅是抑制其增殖,因此利用药物诱导肿瘤细胞恢复凋亡能力对治疗肿瘤疾病具有重要意义^[6-8]。PS II 干预后的细胞显示出典型的凋亡特征。线粒体通路参与了 PS II 促 SKOV3 细胞凋亡的过程。PS II 作用于细胞膜受体 Ras 蛋白后,使磷酸化 ERK1/2 表达降低,影响 ERK1/2 活性。同时,由于 Bcl-2 和 Bax 的失衡引发线粒体功能的破坏^[9,10],释放 cytochrome c 至细胞浆,导致下游 caspase 因子的激活,产生凋亡,这一过程同 PS I 抗肿瘤机制类似^[3]。国外报道称线粒体破坏过程中有膜电位的变化,认为产生的活性氧(ROS)及随之 cytochrome c 和凋亡诱导因子(AIF)的释放参与了整个过程^[11,12]。不仅如此,后期实验也预示扭转线粒体的失活能缓解 PS II 所致的细胞毒性,反向证实了 PS II 通过损伤线粒体诱导卵巢癌细胞 SKOV3 的凋亡^[13]。本研究还发现随着 PS II 剂量逐渐增大,G₂/M 期 SKOV3 细胞比例逐渐升高,至 10 μmol/L 时 G₂/M 期

SKOV3 细胞达到 31.4%,出现了明显的 G₂/M 期阻滞,细胞不能增殖。由此可见,PS II 干预 SKOV3 的过程中,丝裂原激活蛋白酶(MAPKs)加上各种上游影响因子和下游作用底物,构成了功能多样的信号网络。其中各通路之间是协同抑或叠加作用,都有待进一步的实验研究才能阐述。

综上所述,重楼皂苷中的有效成分 PS II 在 SKOV3 细胞株表现出很强的细胞毒性。其诱导细胞凋亡和 G₂/M 期阻滞可能是抗卵巢癌作用的主要机制^[14]。MAPKs/ERK 通路可作为卵巢癌治疗的新的作用靶点,PS II 可以作为卵巢癌治疗的重要药物。

参 考 文 献

- 1 康利平, 马百平. 重楼中甾体皂苷的分离与结构鉴定. 中国药物化学杂志, 2005; 15(1): 25-31.
- 2 Vassilopoulos Y. Paris Polyphylla in Medicine. A literary favour to world culture. Newsfinder, 2007; 9(5): 102-118.
- 3 Xiao X, Bai P, Bui Nguyen TM, et al. The antitumoral effect of Paris Saponin I associated with the induction of apoptosis through the mitochondrial pathway. Mol Cancer Ther, 2009; 8(5): 1179-1188.
- 4 Vermes I, Haanen C, Steffens-Nakken H, et al. A novel assay for apoptosis. Flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using fluorescein labelled

- Annexin V. *J Immunol Methods*, 1995; 184(1): 39-51.
- 5 Park JK, Kang MY, Kim YH, *et al.* PKC delta in preeclamptic placentas promotes Bax dissociation from 14-3-3 zeta through 14-3-3 zeta phosphorylation. *Placenta*, 2008; 29(7): 584-592.
 - 6 Cheung JY, Ong RC, Suen YK, *et al.* Polyphyllin D is a potent apoptosis inducer in drug-resistant HepG2 cells. *Cancer Lett*, 2005; 217(2): 203-211.
 - 7 Liu B, Jian Z, Li Q, *et al.* Baicalein protects Human melanocytes from H₂O₂-induced apoptosis via inhibiting mitochondria-dependent caspase activation and the p38 MAPK pathway. *Free Radic Biol Med*, 2012; 3(4): 1101-1110.
 - 8 Lin JW, Chen JT, Hong CY, *et al.* Honokiol traverses the blood-brain barrier and induces apoptosis of neuroblastoma cells via an intrinsic bax-mitochondrion-cytochrome c-caspase protease pathway. *Neuro Oncol*, 2012; 14(3): 302-314.
 - 9 Tan H, Ling H, He J, *et al.* Inhibition of ERK and activation of p38 are involved in diallyl disulfide induced apoptosis of leukemia HL-60 cells. *Arch Pharm Res*, 2008; 31(6): 786-793.
 - 10 Lee SR, Lo EH. Interactions between p38 mitogen-activated protein kinase and caspase-3 in cerebral endothelial cell death after hypoxia-reoxygenation. *Stroke*, 2003; 34(11): 2704-2709.
 - 11 Yan F, Wang M, Li J, *et al.* Gambogin acid induced mitochondrial-dependent apoptosis and referred to phospho-Erk1/2 and phospho-p38 MAPK in human hepatoma HepG2 cells. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2012; 33(2012): 181-190.
 - 12 Lee MS, Yuet-Wa JC, Kong SK, *et al.* Effects of polyphyllin D, a steroidal saponin in Paris polyphylla, in growth inhibition of human breast cancer cells and in xenograft. *Cancer Biol Ther*, 2005; 4(11): 1248-1254.
 - 13 朱丽丽, 李惠芬. 重楼皂苷对 SGC-7901 细胞增殖抑制及诱导凋亡的实验研究. *时珍国医国药*, 2009; 20(6): 1501-1502.
 - 14 刘永萍, 凌 杨. 重楼复方与氟尿嘧啶对胃癌细胞的体外协同作用研究. *现代肿瘤医学*, 2010; 18(3): 442-445.

(2012-04-11 收稿, 2012-06-18 修回)

编辑 沈 进

· 个案报告 ·

腹膜透析患者合并腹膜炎和感染性心内膜炎 1 例报告

张紫媛, 钟 慧[△]

四川大学华西医院 肾脏内科 (成都 610041)

【关键词】 腹膜透析 感染性心内膜炎 抗中性粒细胞胞浆抗体 (ANCA) 相关性血管炎

患者男, 44 岁, 因“发现肌酐升高 6 月, 维持性腹膜透析 5 月, 腹痛 1 d”入院。查体: T 38 °C, BP 120/70 mmHg (1 mmHg = 0.1333 kPa), 四肢及腹部有散在出血点, 双肺未闻及干湿啰音, 心律齐, 主动脉瓣区可闻 4/6 收缩期杂音, 腹平软, 有压痛, 无反跳痛, 双下肢轻度水肿。既往诊断“风湿性心脏病”7 年。6 月前心脏彩超提示主动脉瓣 (中度) 狭窄 (中度) 返流, 肌酐 498 μmol/L, 予对症治疗。5 月前肌酐升高至 698 μmol/L, 开始腹膜透析。3 月前因四肢关节肌肉疼痛查胞浆型抗中性粒细胞胞浆抗体 (c-ANCA) 1 : 10 阳性, 抗蛋白酶 3 (ANCA-PR3) 阳性, 肾穿提示新月体肾小球肾炎。给予甲强龙冲击后改为口服强的松及环磷酰胺, 因白细胞下降停用环磷酰胺, 1 周后发生腹膜炎, 抗感染治疗 2 周痊愈。此次患者因腹痛入院。

入院查: 血红蛋白 75 g/L, 白细胞 5.83 × 10⁹/L, 中性粒细胞比率 84.6%, 肌酐 324.1 μmol/L, C 反应蛋白 35.4 mg/L, 类风湿因子 34.4 IU/mL, c-ANCA 1 : 10, ANCA-PR3 阳性, 腹透液培养出热带念珠菌, 心电图: 预激综合征。

心脏彩超: 感染性心内膜炎, 主动脉瓣右冠瓣赘生物形成, 继发狭窄 (中度) 伴返流 (重度), 二尖瓣返流 (轻度)。两次血培养阴性, 予及时行腹膜透析拔管术, 并予氟康唑、去甲万古霉素抗感染等对症治疗, 后复查肌酐 360 μmol/L, 心脏彩超示主动脉瓣赘生物机化。

讨论 既往有关慢性肾脏病合并感染性心内膜炎的报道大多出自血液透析, 本例腹膜透析的 ANCA 相关性血管炎患者合并腹膜炎及感染性心内膜炎尚属首次报道。

慢性透析的患者存在心血管钙化、钙磷代谢紊乱、尿毒症慢性微炎症环境、长期留置导管, 这些都增加了感染性心内膜炎的发生率, 本例患者既往有风湿性心脏病基础, 长期透析并留置腹透管, 近期一直服用激素及免疫抑制剂, 反复发生腹膜透析相关性腹膜炎而广泛使用抗生素, 均是其发生真菌性心内膜炎的高危因素, 其腹透液也培养出热带念珠菌, 但多次血培养阴性, 使得我们难以鉴别此心内膜炎为细菌性抑或真菌性。感染性心内膜炎死亡率较高, 影响其预后的主要因素包括: 病情特征、是否有并发症、病原微生物种类、超声心动图征象、左室功能不全、持续感染、肾功能衰竭等, 普遍认为药物 + 手术治疗可降低死亡率。但此患者肾功能不全, 腹透拔管后肌酐仍在 360 μmol/L 左右, 心脏外科会诊后暂不行手术, 经验性抗感染治疗 6 周, 随访直至目前未出现感染性心内膜炎的不良并发症。因 ANCA 相关性血管炎本身的预后较差, 又合并感染性心内膜炎, 该患者预后有待继续观察和随访。

(2012-02-20 收稿, 2012-05-30 修回)

编辑 吕 熙