p53 基因在膀胱肿瘤中的研究进展

刘彦慧, 罗春丽

(重庆医科大学检验系实验诊断教研室, 重庆 400016)

摘要: p53 基因与膀胱肿瘤相关性研究很多, 绝大多数研究认为 p53 的突变与膀胱肿瘤的发生有关。为对其做进一步深入研究, 本文综述了近 3 年有关化学致癌物质引起 p53 基因突变机制、p53 基因的分子生物学行为以及用于膀胱肿瘤基因治疗的最新研究进展。

关键词: 肿瘤; 膀胱; p53; 化学致癌物; 基因治疗

中图分类号: Q754; R737.14 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2003)01-0037-04

Progress in research on p53 gene in bladder cancer

LIU Yan-hui, LUO Chun-li

(Department of Laboratory Diagnosis, Faculty of Laboratory Examinations, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: A lot of researches on the relationship between p53 gene and bladder cancer have been reported and most of their results suggested that mutation of p53 gene was frequently found in bladder cancer. In order to further understand the progress in it, researches on the mechanism of mutation of p53 gene caused by chemical carcinogen, molecular biological behavior of p53 gene, as well as its application in gene therapy for bladder cancer during the recent three years were reviewed in this article.

Key words: Bladder cancer; p53 gene; Chemical carcinogen; Gene therapy

膀胱肿瘤是泌尿系统中最常见的恶性肿瘤, 随着工业发展, 环境中致癌因素增多, 其发生率有上升趋势。近年来, 大量的分子生物学研究认为它的发生、发展涉及多基因、多因素, 是致癌物质引起基因异常表达的结果。研究各种化学致癌物质的作用机制, 寻找敏感、特异的生物学标志物对指导临床诊断、治疗和预后观察极为重要。目前研究认为, 膀胱肿瘤中突变最广泛、最频繁的抑癌基因是 p53, 在有致癌环境时它的突变或失活可能引起细胞恶性转化。

p53 基因于 1979 年首次在结肠癌患者中发现时被认为是一个癌基因。随着研究的深入, 发现 p53 分两型, 即野生型和突变型, 并证实当时检测到的是一种突变型 p53 (mt-p53)。野生型 (wt-p53) 基因并不转化细胞, 而且是调节正常细胞周期循环所必不可少的。有学者将其功能称为基因卫士 (guardian of gene), 时刻监视着基因的完整性, 可分别与 DNA、RNA 聚合酶连接, 作为核转录子调节基因的表达。它可抑制 DNA 的合成, 参与 DNA 的修复, 诱导细胞周期生长停止于 G₁ 期, 在 DNA 损伤后诱导细胞程序性死亡, 维持细胞的正常生长, 抑制恶性繁殖。

进一步的分子生物学研究证明 p53 定位于 17q13.1, 全长近 20 kb, 共有 11 个外显子和 10 个内含子, 内含子较大, 占据 p53 基因组约半数序列; 有 2 个启动子, 不含有常见的 CAAT 盒、TATA 盒及 GC 盒; 转录产物为 2.5 kb 的 mRNA, 编码一个 53 KD 含有 393 个氨基酸的蛋白, 其基因结构在动物界高度保守, 不同动物来源的 p53 都含有 11 个外显子, 且外显

子 1 常不编码, 外显子 2、4、5、7、8 分别编码 5 个进化上高度保守的区域。

1 化学致癌物质

化学致癌物质对 DNA 的攻击具有一定的专一性, 不同的致癌物质具有不同的基因突变谱。p53 蛋白对维持细胞正常生长及分化起到核心作用, 也是化学致癌物质攻击的主要靶基因, 从而成为肿瘤中发生突变的常见基因。其突变热点存在于第 5、7、8 外显子等片段。

1.1 引起 p53 基因突变的主要化学致癌物质研究进展

氨基二酚 (4-aminobiphenyl, 4-ABP) 在体内与 DNA 共价结合形成 4-ABP-DNA 加合物, 后者引起 p53 基因突变而启动致癌作用^[1]。研究认为 4-ABP 的致癌作用是其中间代谢产物 N-OH-4-ABP 首先与 p53 基因中第 285 个密码子 (膀胱肿瘤中非 C₁G 的突变热点) 结合, 同时 C₅ 的甲基化也极大地增加了 N-OH-4-ABP 与 C₁G 位置的两个突变热点 (175 和 248) 结合, 最终导致 p53 基因发生突变。砷 (Arsenic) 进入机体后, 通过代谢转变为其他化合物发挥致癌作用, 其中二甲基亚砷酸 (dimethylarsinic acid, DMA) 是其代谢物, DMA 作用于嘌呤形成 8-羟基-2-脱氧鸟嘌呤 (8-hydroxy-2-deoxyguanosine, 8-OH-dG), 而取代部分正常嘌呤碱^[2]。Brandar^[3] 等研究发现常吸烟者体内 α-萘胺 (naphthylamine-α) 含量显著增高, α-萘胺可促使 G:C→T:A 和 G:C→C:G 易位发生。氨基甲酸 (ethyl carbamate) 乙酯属于亚硝酸类, 进入机体后, 通过脱氨基和氧化作用, 生成亲电子环氧化物而具有致癌性, 后者引起 p53 基因突变, 使小鼠的抑癌作用减弱, 肿瘤细胞增生过程失控^[4]。类似的研究还有 N-丁基-4-羟基-亚硝酸 [(N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine, BBN)] 和 二氧嘧啶等。其共同特点

收稿日期: 2002-07-30; 修回日期: 2002-10-14

作者简介: 刘彦慧 (1970-), 男, 医学检验硕士, 研究方向为膀胱肿瘤的基因诊断与治疗。

是化学致癌物质进入机体与 DNA 形成加合物, 产生一些异常碱基, 进而取代 DNA 序列中某些正常碱基, 最终导致 *p53* 基因突变而引起膀胱肿瘤的发生。

1.2 致癌物质的作用机制

人类膀胱肿瘤的主要突变热点位于 *p53* 基因的 CpG 序列^[5], 一般认为这些位点的大多数突变来源于甲基化胞嘧啶的内源性脱氨基, 其中较多地发生在密码子 175、248、273、280 和 285 部位, 而致癌物质则优先与这些部位结合。

CpG 位点的甲基化胞嘧啶改变了鸟嘌呤双核苷酸序列的主题结构, 在有致癌物质持续作用下, 这些变化可促进鸟嘌呤与 CpG 位点上的其他较大化学物质的相互作用, 同时, 对远离 CpG 位点鸟嘌呤的烷基化具有较大影响, 这样, 致癌物质就可极大地增强 *p53* 基因中所有 CpG 位点鸟嘌呤的烷基化^[5]。表明 *p53* 基因中甲基化和 CpG 序列的突变热点, 可能是由于致癌物质优先与这些位点结合的结果。

此外, French^[6] 等报道了另一些化学致癌物质, 如苯和酚酞等, 可能通过不同的机制发挥致癌作用。French 采用苯和酚酞诱导小鼠膀胱肿瘤, 并检测到有 *p53* 基因突变, 但 SSCP 所进行的杂合性分析发现, 在 CpG 序列的突变热点并无密码子发生突变。研究认为, 苯和酚酞的致癌机制可能通过以下途径: (1) *p53* 无活性; (2) 突变发生在其他外显子; (3) *p53* 的突变为其他癌基因提供了一个致癌环境。因此, 可通过对 *p53* 进行杂合性分析, 初步判断致癌物质类型。

2 *p53* 在膀胱肿瘤中的生物学行为

2.1 *p53* 与膀胱肿瘤发生发展的关系

wt *p53* 与细胞核有高度的亲合性, 能抑制 DNA 合成、复制和增殖。从近几年文献来看, 膀胱肿瘤中 *p53* 的突变率为 30%~60%^[7]。绝大多数研究认为 *p53* 突变和膀胱肿瘤的发生发展密切相关。这是因为当 wt *p53* 发生突变后, 因其构象发生改变, 对 DNA 抑制的作用下降, 使恶性细胞逃避 *p53* 的调节而得以永生。有研究显示, 膀胱肿瘤组织 *p53* 蛋白免疫组化检测阳性者, 其术后复发率 (78%) 显著高于阴性者 (36%), 故我们可以根据 *p53* 在组织中的表达情况对膀胱肿瘤患者进行预后判断。另有少部分研究发现膀胱肿瘤有无转移其组织 *p53* 阳性表达率均约为 50%, 认为 *p53* 基因与膀胱肿瘤的进展无相关性^[1]。出现上述相反结果的可能原因有: (1) 各种检测方法敏感性和阳性标准的差异性; (2) 所使用的抗 *p53* 抗体识别位点的差异性; (3) *p53* 在个体肿瘤发展中因受影响因素不同而差异性表达。

2.2 *p53* 基因与肿瘤细胞凋亡

以前对 *p53* 基因与肿瘤生长关系的研究结果不尽一致, 其矛盾焦点主要集中于 *p53* 基因的作用点是抑制肿瘤细胞增殖, 还是促进细胞凋亡, 或二者兼备。近 3 年研究认为 *p53* 基因与细胞凋亡密切相关, 主要是调节细胞周期, 促进肿瘤细胞凋亡, 并且是通过很多相关基因来发挥其调节功能的。主要的相关因子如 *Bcl-2*、*Bax*、*mdm2*、*PCNA* 和 *p16* 等。

2.2.1 *p53* 和 *Bcl-2*、*Bax* *Bcl-2* 起初是在人 B 细胞淋巴瘤中

分离出来的, 其基因位于 18q21, 编码产物为 26 KD 蛋白, 该蛋白定位于线粒体、内质网膜和核膜上, 是一种特异地抑制细胞凋亡的所谓存活基因 (survival gene)。转基因实验证明 *Bcl-2* 具有致癌性, 且致癌性并非通过细胞增殖而引起, 而是增加细胞对多种凋亡因素的对抗性, 使细胞凋亡受抑所致。因此, 其主要作用机制是通过抗氧化作用, 中和机体代谢产生的自由基对 DNA、类脂及代谢酶的破坏, 而阻止细胞凋亡。*Bcl-2* 的这种作用受 *p53* 基因的调节, 在 *Bcl-2* 启动子区存在一个受 *p53* 间接调控的位点, *p53* 的高表达可以间接地导致 *Bcl-2* mRNA 及其水平的下降, 阻止肿瘤细胞生长, 若 *p53* 发生突变, 则因失去对 *Bcl-2* 的控制作用, 肿瘤细胞可以继续生长, 这是肿瘤发生的一个重要原因^[8]。另有研究是在用顺铂治疗膀胱肿瘤的同时, 分别转染 wt *p53* 或 *Bcl-2*。结果发现, 共转染 wt *p53* 和 *Bcl-2* 组和单独转染其一者相比, 细胞凋亡率显著下降。提示 *p53* 对 *Bcl-2* 抑制细胞凋亡功能存在着负调控作用^[9]。

Bax 同属 *Bcl-2* 家族, 但功能截然相反。它是凋亡家族的核心成员之一, *Bax* 在组织中广泛表达, 是一种可溶性蛋白, 具有疏水性羧基末端, 可与 *Bcl-2* 基因构成异二聚体, 也可以自身形成同源二聚体。实验证明当 *Bcl-2* 与 *Bax* 结合点断裂时, 则 *Bcl-2* 对细胞的保护性消失, 提示 *Bcl-2* 必须结合 *Bax* 才能发挥作用。*Bax/Bcl-2* 比值决定了细胞在受到凋亡信号刺激时是否发生凋亡。比率增高, 诱导细胞进入死亡程序, 降低则抑制凋亡。*p53* 可直接激活 *Bax* 基因, 使之表达增加。这样, *p53* 通过分别调节二者的表达而影响 *Bax/Bcl-2* 比率, 控制细胞周期^[10]。

2.2.2 *p53* 与鼠源双微体基因 (murine double minute-2 *mdm2*)

mdm2 是首次从鼠 BALB/c3T3 细胞系中分离出来的。该基因在培养细胞中具有增加致癌作用, 使原始鼠胚胎成纤维细胞永久生长。*mdm2* 蛋白对 *p53* 基因核苷酸链末端具有较高的亲合性, 可以和 *p53* 蛋白形成一个复合物, 而阻滞 *p53* 介导的转录活性使 *p53* 失去正常调节功能; 或 *mdm2* 与 *p53* 竞争作用于 DNA, 致使细胞周期失调, 这也是细胞异常增殖导致恶性肿瘤的一个重要原因, 故认为 *mdm2* 是 *p53* 的负调控因子之一^[11]。同时, *p53* 又可与 *mdm2* 基因中的第一个内含子相互作用, 促进 *mdm2* 基因产物的表达。因此, 认为 *mdm2* 的扩增或高表达是通过影响 *p53* 的调节功能促进肿瘤细胞生长的。

此外, 在细胞周期中, 增殖细胞核抗原 (PCNA) 是 DNA 复制所必须的调节蛋白, 其合成和表达与细胞增殖状态密切相关。它在细胞周期 G₁ 期开始增加, S 期达到高峰, G₂/M 期开始减少, 在各种肿瘤中有过表达现象。wt *p53* 基因及其蛋白可通过多种相关因子抑制细胞周期蛋白依赖性激酶 4 (cyclin-dependent kinase-4 CDK4) 致使细胞生长停滞于 G₁ 期。而 *p16* 蛋白可与 Cyclin D 竞争结合 CDK4, 而抑制 CDK 活性, 也限制细胞从 G₁ 期进入 S 期。提示 *p53* 和 *p16*、*PCNA* 之间可能存在一系列内在关系。Plastiras^[12] 等研究表明 *p53* 和 *PCNA* 的表达情况与浅表性膀胱肿瘤高度相关, 同时检测二者可更加准确地对肿瘤的大小、预后进行判断。*p53* 基因表达缺陷的

肿瘤中又往往伴有 *p16* 基因表达的缺失, 在高度恶性肿瘤的组织中可见 *p53* 和 *p16* 共同失活。因此可推断 *p16*、*PCNA* 的功能有赖于 *p53* 基因的调节。

综上所述, 细胞周期以 *p53* 为核心形成一个复杂的环路。首先, 当 DNA 受到外界因素如化学致癌物质影响而损伤时, 信号将传到 *p53*。随后, *p53* 基因接受刺激, 其蛋白急剧增加, 并在细胞中聚集。在此基础上 *p53* 发挥各种调节作用而激活上述各个靶基因, 启动修复机制, 试图修复 DNA 损伤, 诱导细胞生长停止于 G_2 期。如果成功, *p53* 的负调控因子 *mdm2* 可通过与 *p53* 结合或竞争作用于 DNA, 使 *p53* 修复 DNA 的功能减弱或消失, 使细胞得以继续进入细胞周期。如果修复失败, 在各种相关因子协同作用下, 使细胞进入死亡程序。

3 *p53* 与膀胱肿瘤治疗

3.1 wt *p53* 对基因损伤修补作用的研究

4-ABP 的主要代谢物是人类膀胱肿瘤致癌物质, 在体内可与 DNA 形成加合物, 而使 *p53* 发生突变, 用 P^{32} 标记探针检测, 确定这种加合物是 dG-C8-ABP。为研究 *p53* 对化学致癌物质所引起的 DNA 损伤是否有修补作用, 体外建立含有 dG-C8-ABP 膀胱肿瘤细胞系 TCC10, 并转染 wt-*p53*。48 h 后, dG-C8-ABP 被消除。而在 *p53* 突变的另一膀胱肿瘤细胞系 TDM143-TCC10 中, 仍可检测到 dG-C8-ABP 的存在, 提示 *p53* 对 DNA 损伤有较强的修补作用^[13]。而 *p53* 发生突变后, 损伤的 DNA 未能及时得到修补, 突变累积增加了基因的不稳定性和肿瘤细胞的增生。

3.2 *p53* 与膀胱肿瘤细胞的放射反应性以及多药耐受 (MDR)

有关 *p53* 基因和肿瘤细胞放射治疗敏感性的报道尚不一致。通过放疗前后测定 *p53* 的表达及细胞凋亡率发现, 部分 *p53* 突变的细胞对放射敏感, 而另一部分显示耐受。也有研究显示, 膀胱肿瘤中有无 *p53* 突变, 其放射敏感性并无明显差异^[14]。其原因可能有: (1) 检测方法的不稳定性, *p53* 免疫组化阳性反映 *p53* 突变不十分可靠; (2) *p53* 的功能受很多因素影响, 影响因素不同其表达存在差异性; (3) 细胞凋亡不只 *p53* 一条途径, 尚有 PI3K/AKT 和 CD95/Fas 途径, 它们都不受 *p53* 基因调节的影响, 激活不同凋亡途径由不同的细胞来完成。因此, *p53* 对放射的敏感性仍须进一步研究。

已知膀胱肿瘤容易获得 MDR, 是导致临床化疗失败的重要原因之一。由 *MDR1* 基因表达的蛋白产物属于 ABC (ATP-binding cassette) 族的转运因子, 是一种跨膜糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp)。P-gp 介导的肿瘤细胞内药物外排所致的化疗抵抗是目前发现引起 MDR 的最主要途径^[14]。P-gp 具有复杂的膜转运功能, ATP 与 P-gp 结合并水解, 其构象发生改变, 将细胞浆内的化疗药物泵出到细胞间隙, 降低了胞内药物浓度和药物对肿瘤细胞的毒性, 表现出耐药性。近年来的研究发现 *p53* 与 MDR 表达密切相关。*MDR1* 基因下游启动子有 *p53* 特异结合位点, 抑制各种载体的表达, wt-*p53* 失活可阻断 *MDR1* 下游启动子, 从而上调 *MDR1* 表达水平, 进一步使其蛋白 P-gp 高表达^[15]。因此, wt-*p53* 功能丧失引起基因组的不稳

定, 这种内在特异性可能就是 *MDR1* 在高度恶性细胞内扩增, 最终表现为 MDR 的原因。

3.3 *p53* 与膀胱肿瘤的基因治疗

p53 基因治疗策略很多, 目前有反转录病毒载体、脂质体载体和腺病毒载体等基因导入载体。本文主要综述腺病毒 (adenovirus Ad) 做为载体所构建的 Ad-CMV-*p53* 基因治疗系统用于膀胱肿瘤的最新研究进展。

wt-*p53* 具有调节细胞周期和抑制肿瘤细胞生长的功能, 这是人们早期将 *p53* 重组腺病毒载体用于肿瘤基因治疗的理论基础。并且也在肺癌、肝癌和头颈癌的研究中取得一定效果。将之引入膀胱肿瘤治疗的研究发现, Ad-CMV-*p53* 基因治疗系统对耐药肿瘤细胞系比对化疗药物敏感的肿瘤细胞系更敏感^[15]。实验发现, Ad-CMV-*p53* 导入后, *Bax* 基因和 *p53* 的下游作用基因 *p21* 均有高表达。它们共同作用于肿瘤细胞, 使细胞停止在 G_1 期, 促进细胞凋亡。另有研究证明 Ad-CMV-*p53* 联合肿瘤化疗药物对肿瘤细胞抑制更明显, 这是因为 Ad-CMV-*p53* 能降低化疗药物的有效药物浓度并增加了肿瘤化疗药物的细胞毒性, 加上由 *p53* 诱导所产生的对细胞周期调节的作用, 可有效地抑制肿瘤细胞生长^[16]。

基因治疗的关键问题是输送治疗基因进入肿瘤组织, 使治疗基因借助病毒的复制而在肿瘤组织高表达, 从而发挥调节和抑制肿瘤细胞生长的功能。但由于膀胱上皮组织可能存在某些自我保护机制及肿瘤免疫反应, 阻止了病毒载体的侵入^[17]。为此, 有研究采用卡介苗 (bacillus calmette guerin, BCG) 作为免疫剂, 通过 BCG 诱导人外周血单个核细胞, 提高机体免疫力, 从而使治疗基因 *p53* 的表达率提高了 38% ~ 68%^[18]。但仍有 30% 以上的病人对此无反应。Kuball^[18] 采用膀胱局部滴注, 大剂量的 Ad-CMV-*p53* 溶液沿膀胱壁缓慢长时间持续流入膀胱, 逐渐渗入肿瘤组织中。实验结果证明整个膀胱上皮组织及肿瘤细胞都可见 *p53* 基因的高表达, 并且未发现任何细胞毒性反应及其他不良反应, 因此认为膀胱滴注法是一种安全、有效、实用的基因治疗方案。

4 *p53* 的应用前景

对 *p53* 的研究仍在深入地进行着, 但纵观大量研究, 可认为 *p53* 的突变与否及有无表达或表达程度与膀胱肿瘤的发生发展密切相关, 很有可能成为膀胱肿瘤诊断、指导治疗以及病情预后的一个独立的、特异的、有效的生物学标志物。

关于 *p53* 基因治疗研究, 主要难题仍是输送 *p53* 基因到肿瘤组织的高效病毒载体。诸如载体的安全性、可靠性、可控性、载容量及有效性等方面是当前关注的焦点问题。目前, Ad-CMV-*p53* 的治疗研究已进入 II 期临床, 但最近的研究对此又提出异议^[19]。因此, *p53* 的基因治疗须进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Feng Z, Hu W, Rom WN, et al. N-hydroxy-4-aminobiphenyl-DNA binding in human *p53* gene: sequence preference and the effect of C5 cytosine methylation[J]. Biochemistry, 2002, 41(20): 6414-6421.
- [2] Wei M, Wanibuchi H, Morimura K, et al. Carcinogenicity of dimethylarsinic acid in male F344 rats and genetic alterations in

- induced urinary bladder tumors [J] . *Carcinogenesis*, 2002, 23 (8): 1387-1397.
- [3] Brandau S, Bihle A. Bladder cancer. I. Molecular and genetic basis of carcinogenesis [J] . *Eur Urol*, 2001, 39 (5): 491-497.
- [4] Balansky RM, DeFloras. Chemoprevention by *N*-acetylcysteine of urethane induced clastogenicity and lung tumors in mice [J] . *Int J Cancer*, 1998, 77: 302-304.
- [5] James X Chen, Zhang YI, Melissa West, et al. Carcinogens preferentially bind at methylated CpG in the *p53* mutational hot spot [J] . *Cancer Res*, 1998, 58: 2070-2075.
- [6] French JE, Lacks GD, Trempus C, et al. Loss of heterozygosity frequency at the *Trp53* locus in *p53* deficient O mouse tumors is carcinogen and tissue dependent [J] . 2001, 22 (1): 99-106.
- [7] Rebassa Liull M, Guillemezanz Gadea C, Munoz Velez D, et al. Protein *p53* en carcinomas transicionales vesicales superficiales con distinta evolucion [J] . *Arch Esp Urol*, 1999, 52 (10): 1061-1064.
- [8] Ong F, Ioonen LI, Gallee IP, et al. Prognostic factors in transitional cell cancer of the bladder: an emerging role for *Bcl-2* and *p53* [J] . *Radiother Oncol*, 2001, 61(2): 169-175.
- [9] Miyake H, Hara I, Yamanaka K, et al. Synergistic enhancement of resistance to cisplatin in human bladder cancer by overexpression of mutant type *p53* and *Bcl-2* [J] . *J Urol*, 1999, 162 (6): 2176-2181.
- [10] Shiina H, Igawa W, Shigeno K, et al. Clinical significance of *mdm2* and *p53* expression in bladder cancer. A comparison with cell proliferation and apoptosis [J] . *Oncology*, 2000, 59 (1): 43-45.
- [11] Plastiras D, Ioutzounis G, Barbatis G, et al. Can *p53* nuclear overexpression, *Bcl-2* and *PCNA* status be of prognostic significance in highrisk superficial and invasive bladder tumour [J] . *Eur J Surg Oncol*, 1999, 25 (1): 61-65.
- [12] 陈修 来茂德. *p53* 突变、微卫星不稳定性与多药耐药 [J] . 国外医学遗传学分册, 1999, 22 (3): 137-142.
- [13] Torino JL, Burger MS, Reznikoff CA, et al. Role of TP53 in repair of *N*-(deoxyguanosin-8-yl)-4-aminobiphenyl adducts in human transitional cell carcinoma of the urinary bladder [J] . *Carcinogenesis*, 2001, 22 (1): 147-154.
- [14] Zhivolovsky B, Joseph B, Orrenius S. Tumour radiosensitivity and apoptosis [J] . *Exp Cell Res*, 1999, 248: 10-17.
- [15] Chen Z, Zhang Y, Zhang J, et al. Expression of multi drug-associated protein, glycoprotein, *p53* and Bcl-2 proteins in bladder cancer and clinical implication [J] . *J Tongji Med Univ*, 2001, 21 (1): 56-58.
- [16] Shirakawa T, Sasaki R, Gardner TA, et al. Drug-resistant human bladder cancer cells are more sensitive to adenovirus-mediated wild-type *p53* gene therapy compared to drug-sensitive cells [J] . *Int J Cancer*, 2001, 94 (2): 282-289.
- [17] Miyake H, Hara I, Hara S, et al. Synergistic chemosensitization and inhibition of tumour growth and metastasis by adenovirus-mediated *p53* gene transfer in human bladder cancer model [J] . *Urology*, 2000, 56 (2): 332-336.
- [18] Kuball J, Wen SF, Leissner J, et al. Successful adenovirus-mediated wild-type *p53* gene transfer in patients with bladder cancer by intravesical vector instillation [J] . *J Clin Oncol*, 2002, 20 (4): 957-965.
- [19] Wada Y, Gotoh A, Shirakawa T, et al. Gene therapy for bladder cancer using adenoviral vector [J] . *Mol Urol*, 2001, 5 (2): 47-52.

静脉补钙抢救氢氟酸中毒 1 例报告

A case of hydrofluoric acid poisoning treated by venous injecting of calcium gluconate

宋振涛¹, 张博¹, 关颖²

(1. 武警辽宁总队医院烧伤科, 辽宁 沈阳 110034; 2. 沈阳市第九人民医院, 辽宁 沈阳 110024)

患者,男,35岁,某仪器制造厂工人。工作中因制氢氟酸管道闸门破裂,含90%的氢氟酸气体喷出。患者吸入该气体数分钟后,出现呼吸困难、胸闷,并致面、颈、右前臂、双手氢氟酸灼伤,伴头晕、恶心、呕吐,2h后急诊入院。查体:T 36.4℃,P 120次/分,R 30次/分,BP 120/80 mmHg(16/10.6 kPa)。患者躁动不安,意识清楚,口腔粘膜苍白,局部见水疱,双肺呼吸音粗,心脏各瓣膜区听诊无病理性杂音,生理反射存在,病理反射未引出。专科情况:面、颈、右前臂、双手可见8%烧伤创面,其中面颈部皮肤红肿,表面有散在斑点状黑色坏死灶,右前臂、双手皮肤苍白,呈皮革样改变。入院诊断:(1)面颈、右前臂、双手氢氟酸烧伤(8%),Ⅲ度4%,深Ⅱ度4%。(2)急性氢氟酸气体中毒。

入院后立即补液、预防感染;静脉滴注10%葡萄糖酸钙10ml,超声雾化吸入(庆大霉素8万单位、地塞米松10mg、 α -糜蛋白酶4000u+20ml生理盐水);行右前臂、双手切开减张引流;创面依次用10%氯化钙、10%硫酸镁、1.25%碳酸氢钠溶液

湿敷,以减轻中毒症状和中和酸对局部的损伤。入院实验室检查:血清 Ca^{2+} 1.12 mmol/L,血清 F^{-} 694.7 μ mol/L,诊断为氢氟酸中毒。入院2h后予大剂量静脉补钙,10%葡萄糖酸钙40ml,每小时1次静脉滴注,共6次。伤后10h患者出现呼吸困难、躁动、心率160次/分,呼吸60次/分,双肺可闻及湿啰音,心尖部可闻及舒张期奔马律,考虑为中毒性肺水肿。给予西地兰0.4mg、地塞米松20mg、氨茶碱250mg、速尿60mg静脉注射及吸氧治疗,症状逐渐好转。伤后12h共补钙36g,复查血清 Ca^{2+} 2.65 mmol/L,血清 F^{-} 14.6 μ mol/L,给予红细胞悬液及能量合剂支持治疗。后经两次植皮手术,住院60d痊愈出院。

讨论 氢氟酸烧伤除有强烈的腐蚀性外,还因 F^{-} 强大的渗透性,可引发进行性组织液化、骨质脱钙。 F^{-} 吸收后,与 Ca^{2+} 结合,形成不溶性氟化钙,使血 Ca^{2+} 浓度迅速降低,可引发低钙血症。

接触氢氟酸的人员宜穿戴防护衣裤、口罩、手套和眼镜。在使用氢氟酸的地方应备有水源以及含钙的外用溶液。一旦致伤在现场急救处理后,应立即送专科医院及时诊治。