

维生素 D 受体基因多态性与慢性丙型肝炎 抗病毒疗效的相关性研究*

王聪¹, 吴琴², 韦秀甜², 李珍珍³, 雷学忠^{2△}

1. 四川大学华西医院 护理部(成都 610041); 2. 四川大学华西医院 感染性疾病中心(成都 610041);

3. 四川大学华西临床医学院(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨汉族人维生素 D 受体(vitamin D receptor, VDR)基因 *Bsm I*、*Fok I*、*Taq I*、*Apa I* 位点基因多态性与慢性丙型肝炎(简称丙肝)抗病毒治疗效果的相关性。方法 应用聚合酶链反应-MassARRAY (PCR-MassARRAY)基因型分析技术检测 VDR 基因 *Bsm I*、*Fok I*、*Taq I* 及 *Apa I* 的多态性在 71 例获得持续性病毒学应答(SVR)患者(SVR 组)及 53 例非 SVR(non-SVR)患者(non-SVR 组)中的分布,并进行基因型分析。结果 VDR 基因(*Bsm I*、*Fok I*、*Taq I*、*Apa I*)频率分布符合 Hardy-Weinberg 平衡,具有群体代表性。其中 *Fok I*、*Taq I* 以及 *Apa I* 的等位基因和基因型频率在两组患者间差异无统计学意义。*Bsm I* 基因型频率在两组间分布差异有统计学意义,GA 基因型在 SVR 组患者中频率更高($\chi^2=3.967, P=0.046$)。*Bsm I*、*Taq I* 和 *Apa I* 位点基因之间存在连锁不平衡。*Bsm I* 与 *Taq I* 的连锁不平衡系数(D')=1.000,相关系数(r^2)=0.741;*Bsm I* 与 *Apa I* 的 $D'=1.000, r^2=0.082$; *Taq I* 与 *Apa I* 的 $D'=0.829, r^2=0.076$ 。各单倍型的组间差异无统计学意义。结论 VDR *Bsm I* 基因突变可能与慢性丙肝抗病毒治疗效果相关。

【关键词】 慢性丙型肝炎 维生素 D 受体 单核苷酸多态性

Association of Vitamin D Receptor Polymorphisms with Response to Antiviral Therapy in Patients with Chronic Hepatitis C WANG Cong¹, WU Qin², WEI Xiu-tian², LI Zhen-zhen³, LEI Xue-zhong^{2△}. 1. Nursing Department, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Infectious Diseases, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. West China School of Clinical Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: lxzy1117@sina.com

【Abstract】 Objective To assess the influence of vitamin D receptor (VDR) gene *Bsm I*, *Fok I*, *Taq I* and *Apa I* polymorphisms on the response to antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C (CHC). **Methods** There were total 124 patients with CHC treated with pegylated interferon plus ribavirin. VDR gene *Bsm I*, *Fok I*, *Taq I* and *Apa I* polymorphisms were analyzed in 71 patients with sustained virological response (SVR) and 53 patients without SVR (non-SVR) by polymerase chain reaction-MassARRAY (PCR-MassARRAY). **Results** The distributions of VDR genotype met Hardy-Weinberg equilibrium (all $P>0.05$). There were no significant differences in VDR *Fok I*, *Taq I*, *Apa I* allele and genotype frequencies between SVR and non-SVR patients (all $P>0.05$). The *Bsm I* (GA) genotype was significant higher in the patients with SVR compared to those with non-SVR ($\chi^2=3.967, P=0.046$). Three SNPs at VDR gene (*Bsm I*, *Taq I* and *Apa I*) were in strong linkage disequilibrium. Linkage disequilibrium coefficient (D') between *Bsm I* and *Taq I* was 1.000 and the correlation coefficient (r^2) was 0.741. D' between *Bsm I* and *Apa I* was 1.000 and r^2 was 0.082. D' between *Taq I* and *Apa I* was 0.829 and r^2 was 0.076. No relation existed between haplotypes and response to therapy ($P>0.05$). **Conclusion** Vitamin D receptor gene *Bsm I* polymorphism may be associated with the therapeutic response to antiviral therapy with pegylated interferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients.

【Key words】 Chronic hepatitis C Vitamin D receptor Single nucleotide polymorphism

近年来,不断有研究报道维生素 D 具有免疫调节作用,并认为其可以作为一种新型的免疫调节剂运用到抗丙型肝炎(简称丙肝)病毒(HCV)

的治疗中^[1, 2]。大量研究表明维生素 D 缺乏与抗丙肝治疗病毒学反应低下密切相关^[3]。维生素 D 受体(vitamin D receptor, VDR)是介导 1,25(OH)₂D₃ 发挥生物效应的核内生物大分子,为类固醇激素/甲状腺激素受体超家族的成员,其在机体许多组织中表达,与类维生素 AX 受体形成二聚体,经维生素 D

* 四川省卫生和计划生育委员会科研课题(No. 150122)资助

△ 通讯作者, E-mail: lxzy1117@sina.com

激活与靶基因启动区结合而介导各种生理学反应。其相关生物学功能均通过 VDR 基因转录调节来实现。VDR 基因位于人类 12 号染色体(q12-14)上,具有基因多态性。VDR 基因多态性在抗丙肝病毒治疗中的作用,我国目前尚未见报道。本研究应用聚合酶链反应-MassARRAY (PCR-MassARRAY) 基因型分析技术,探讨 VDR 基因多态性对慢性丙肝抗病毒疗效的影响。

1 对象和方法

1.1 研究对象

前瞻性纳入 2012 年 8 月至 2014 年 11 月于四川大学华西医院门诊就诊的慢性丙肝患者,均为汉族,诊断符合欧洲肝病学会 2011 年丙型肝炎诊治指南,血清抗-HCV 阳性且时间超过 6 个月,血清 HCV RNA 阳性。排除下列情况:共感染乙型肝炎病毒等其他病毒;酒精性肝病、药物性肝病、自身免疫性肝病;未控制的抑郁精神疾病患者;失代偿性肝硬化、肝细胞癌或者任何一种恶性肿瘤。共纳入均有完善的门诊随访资料和检测报告的患者 124 例,男性 55 例,女性 69 例。

1.2 治疗方案

入组患者均完成以下基线检测:血常规、肝肾糖脂酶、甲状腺功能、自身免疫抗体、HCV 抗体、HCV RNA 水平、病毒基因型。聚乙二醇化干扰素(PEG IFN)- α -2a 180 μ g 每周 1 次或 PEG-IFN- α -2b 1.5 μ g/kg 每周 1 次,联合利巴韦林 800~1 200 mg/d (患者体质量 \leq 65 kg 则 800 mg/d; $>$ 65 kg 且 $<$ 75 kg 则 1 000 mg/d; \geq 75 kg 则 1 200 mg/d),共计 48 周。疗程中第 4、12、24、36、48 周监测患者 HCV RNA 水平、血常规、肝肾功、免疫功能、甲状腺功能。治疗结束后第 4、12、24 周,监测患者 HCV RNA 水平。以上检测均由四川大学华西医院实验医学科测定。

1.3 抗病毒应答类型

①早期复发:患者停止治疗时(48 周时)病毒转阴,但在其后 6 个月随访期间内出现病毒检测阳性;②快速病毒学应答(rapid virological response, RVR):抗病毒治疗 4 周时即无法检测出病毒($<$ 50 IU/mL);③完全早期病毒学应答(completely early virological response, cEVR):治疗 4 周时病毒检测仍为阳性,但至 12 周时病毒检测为阴性($<$ 50 IU/mL);④部分早期病毒学应答(partly early virological response, pEVR):治疗 12 周时病毒检

测阳性,但较治疗前病毒载量下降 \geq 2 log₁₀;⑤无应答:治疗 12 周时病毒学下降较治疗前病毒载量下降 $<$ 2 log₁₀ 或治疗 24 周时病毒检测仍为阳性;⑥持续病毒学应答(sustained virological response, SVR):治疗结束后 6 个月内持续病毒检测阴性。若未达到 SVR,则均被认为是非持续病毒学应答(non-SVR)。

1.4 DNA 的提取

取受试者外周血 2 mL,EDTA 抗凝,按全基因组 TIANamp Blood DNA Kit 试剂盒(天根公司)说明书提取基因组 DNA,分光光度计和电泳检测 DNA 的纯度和浓度, -20 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.5 基因多态性检测

利用 dbSNP 数据库检索候选基因上的单核苷酸多态性(SNPs),结合文献并使用 Assay design 3.1 软件设计 PCR 反应引物和单碱基扩展引物。引物由北京华诺时代科技有限公司合成。VDR 各基因座引物序列及扩增位点见表 1。①PCR 扩增:反应体系为 5 μ L,其中含有 1.8 μ L 水(HPLC 级), $10\times$ PCR Buffer 0.5 μ L, MgCl₂ 0.4 μ L, dNTP 0.1 μ L,引物 1.0 μ L, HotStarTaq 0.2 μ L,模板基因组 DNA 1.0 μ L。反应条件:预变性阶段 94 $^{\circ}$ C 15 min;扩增阶段 94 $^{\circ}$ C 20 s,56 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 60 s,共 45 个循环;继续延伸阶段 72 $^{\circ}$ C 3 min;在 4 $^{\circ}$ C 中进行冷却。PCR 结束后,配置 10 g/L 琼脂糖凝胶,将 2 μ L Loading Buffer、1 μ L PCR 产物混匀,设定电压 110 V,电流 75 mA,电泳 40 min,如结果良好可继续专一扩增多态性(SAP)反应。②SAP 消化:反应体系为 2 μ L。将加入 SAP 酶反应混合物的 SAP 反应体系在普通 PCR 仪中处理(37 $^{\circ}$ C 40 min,85 $^{\circ}$ C 5 min,4 $^{\circ}$ C 冷却),以降解多余的 dNTP 和引物,确保后续反应只延伸一个碱基。③iPLEX 反应体系(2 μ L):进行单碱基延伸反应。④树脂纯化去盐:在 384/6 MG Dimple 板里进行,脱盐反应后 4 000 r/min 离心 4 min 使树脂沉淀备用。⑤质谱进行基因分型:将脱盐制备的待测产物转移到 MassARRAY Spectrochip 芯片上与芯片基质共结晶,利用 MassARRAY Compact System 质谱检测仪进行检测,Typer 4.0 软件分析结果,并根据质谱峰图判读各样本 SNPs 的基因型。

1.6 统计学方法

计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,2 组间比较采用两独立样本 t 检验,3 组间比较采用 ANOVA 方差分析;计数资料用例数和(或)百分比表示,采用 χ^2 检验或

Fisher 确切概率法。用 Haploview 4.2 软件进行连锁不平衡和单倍型分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 性别及年龄分布

SVR 组 71 例患者, 男性 35 例, 女性 36 例, 平均年龄(43.8 ± 11.0)岁。Non-SVR 组 53 例患者, 男性 20 例, 女性 33 例, 平均年龄(48.5 ± 11.6)岁。两组间性别分布比较差异无统计学意义, 但 non-SVR 组年龄大于 SVR 组($P = 0.024$)。

2.2 VDR 基因型和等位基因频率分布

VDR *Bsm* I、*Fok* I、*Taq* I、*Apa* I 在汉族人群中基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡($P > 0.05$), 具有群体代表性。上述 4 个位点基因型和等位基因频率分布见表 2。SVR 组与 non-SVR 组之间 *Fok* I、*Apa* I 以及 *Taq* I 的等位基因和基因型频率分布差异均无统计学意义, SVR 组中 *Bsm* I GA 基因型频率更高($\chi^2 = 3.967, P = 0.046$)。

表 2 VDR 基因 *Bsm* I、*Fok* I、*Taq* I 以及 *Apa* I 位点基因型和等位基因频率分布 [例数(%)]

Table 2 The distribution of VDR polymorphisms and allele frequencies between non-SVR and SVR patients [case (%)]

Gene	Non-SVR group (n=53)	SVR group (n=71)	P
<i>Bsm</i> I (rs1544410;G>A)			
G/A allele	105 (99.1)/1 (0.9)	134 (94.4)/8 (5.6)	0.051
GG	52 (98.1)	63 (88.7)	0.046
GA	1 (1.9)	8 (11.3)	
AA	0	0	
<i>Fok</i> I (rs2228570;A>G)			
A/G allele	53 (50.0)/53 (50.0)	68 (47.9)/74 (52.1)	0.742
AA	14 (26.4)	14 (19.7)	0.559
AG	25 (47.2)	40 (56.3)	
GG	14 (26.4)	17 (23.9)	
<i>Taq</i> I (rs731236;T>C)			
T/C allele	102 (96.2)/4 (3.8)	134 (94.4)/8 (5.6)	0.499
TT	49 (92.5)	63 (88.7)	0.488
TC	4 (7.5)	8 (11.3)	
CC	0	0	
<i>Apa</i> I (rs7975232;A>C)			
A/C allele	34 (32.1)/72 (67.9)	44 (31.0)/98 (69.0)	0.855
AA	8 (15.1)	9 (12.7)	0.909
AC	18 (34.0)	26 (36.6)	
CC	27 (50.9)	36 (50.7)	

表 3 VDR 各单倍型在 SVR 组与 non-SVR 组中的分布 [例数(%)]

Table 3 The distribution of frequencies of VDR haplotype between non-SVR and SVR patients [case (%)]

Haplotype	Non-SVR group	SVR group	Odds ratio	95% confidence interval	P
ACA	1 (0.9)	8 (5.6)	0.164	0.028-0.950	0.076
ACC	0	0	—	—	—
GTA	31 (29.2)	36 (25.4)	1.281	0.728-2.255	0.389
GTC	71 (67.0)	98 (69.0)	0.986	0.570-1.704	0.959
GCA	2 (1.9)	0	—	—	—
GCC	1 (0.9)	0	—	—	—

2.3 VDR 各单倍型分布

结果见表 3。*VDR Bsm* I、*Taq* I 和 *Apa* I 之间存在连锁不平衡。*Bsm* I 与 *Taq* I 的连锁不平衡系数(D')=1.000, 相关系数(r^2)=0.741; *Bsm* I 与 *Apa* I 的 D' =1.000, r^2 =0.082; *Taq* I 与 *Apa* I 的 D' =0.829, r^2 =0.076。共构建 6 种单倍型, 其中 SVR 组和 non-SVR 组中 ACC、GCA 和 GCC 单倍型的频率同时 < 0.03 , 故不进行进一步统计学分析。SVR 组和 non-SVR 组中频率最高的单倍型均为 GTC。单倍型 ACA、GTA 和 GTC 的组间差异均无统计学意义。

表 1 各基因引物序列

Table 1 Primer sequences

Gene	Primer sequence (5'-3')
<i>Bsm</i> I (rs1544410)	F: ACGTTGGATGGAGGAAGCTAGATAAGCAGGG
	R: ACGTTGGATGAGAGCAGAGCCTGAGTATTG
<i>Fok</i> I (rs2228570)	F: ACGTTGGATGGTTCCGGTCAAAGTCTCCAG
	R: ACGTTGGATGTGGCCTGCTTGCTGTTCTTA
<i>Taq</i> I (rs731236)	F: ACGTTGGATGTGTACGTCTGCAGTGTGTTG
	R: ACGTTGGATGTTCTTCTCTATCCCCGTGCC
<i>Apa</i> I (rs7975232)	F: ACGTTGGATGTAGAGAAGAACGCACAGGAG
	R: ACGTTGGATGTTGAGTGTCTGTGTGGGTG

3 讨论

维生素 D 经典作用是参与血钙及骨骼稳态的调节。近年来,维生素 D 的骨骼外作用越发受到重视。有研究表明维生素 D 通过减少炎症因子的生成促进先天性免疫反应从而起到免疫调节作用,并以直接或间接的形式控制人体近 200 个基因,这些基因调节血管生成,细胞凋亡、生长、增殖和分化^[4]。维生素 D 缺乏在慢性丙肝患者中十分常见,这可能是导致聚乙二醇化干扰素联合利巴韦林抗病毒治疗效果不理想的影响因素之一^[5],但也有研究并不认同这一结论^[6, 7]。维生素 D 吸收进入人体后,经过一系列的修饰加工,需与 VDR 结合形成高度亲和力的激素-受体复合物,该复合物作用于某些基因上特定 DNA 序列,从而调节结构基因的表达,发挥其生物学效应。研究发现,VDR 基因多态性与肿瘤、1 型糖尿病、牙周炎、结核等免疫性及感染性疾病有明显的相关性。

VDR 基因多态性在肝脏疾病的作用也日益受到关注。乙肝感染患者中,HBeAg 活跃与 *Bsm I*、*Apa I* 和 *Taq I* 等位基因有关^[8, 9];肝细胞癌患者中 VDR 的 *Bsm I*、*Apa I* 及 *Taq I* 等位基因与肝癌的进展相关联^[10]。Baur 等^[11]对 166 例患者进行研究,认为 *Apa I* (CC) 以及 *Taq I* (TT) 基因型与抗丙肝治疗失败密切相关。García-Martín 等^[12]对 238 例患者进行研究,认为 *Fok I* (rs2228570)T 等位基因与治疗失败相关。然而,Framarin 等^[13]在对 212 例慢性丙肝患者的研究中发现,VDR 基因多态性在患者 SVR 的获取中并无影响作用。本研究对所有纳入患者进行 *Bsm I*、*Fok I*、*Taq I*、*Apa I* 4 个 VDR SNPs 位点检测,位点筛选自 Hapmap 数据库,测序结果等位基因位点为 *Bsm I* (rs1544410)AG、*Apa I* (rs7975232)AC、*Taq I* (rs731236)CT 以及 *Fok I* (rs2228570)AG。既往报道中,*Fok I* (rs2228570)等位基因常见为 TC,但本研究中该 SNP 测序位点显示为 AG,无 TC 基因型。这与该位点存在 4 种突变方式有关,且可能与入种差异、遗传背景不同具有相关性^[14]。本研究结果显示,non-SVR 组患者平均年龄大于 SVR 组,提示丙肝患者接受抗病毒治疗时间越早疗效越好。VDR 3 个 SNPs(*Fok I*、*Apa I* 和 *Taq I*)的突变等位基因和基因型频率在 SVR 组与 non-SVR 组之间差异均无统计学意义,与 Framarin 等^[13]的研究结果基本一致。*Bsm I* 多态性可以改变 mRNA 的稳定性导致

VDR 氨基酸序列受影响。SVR 组中 *Bsm I* GA 基因型较 non-SVR 组频率更高,提示 VDR SNP *Bsm I* (rs1544410)可能为慢性丙肝抗病毒治疗中的影响因素,等位基因 GA 型患者更有可能获取持续性病毒学应答。

对以上数据进一步分析,VDR SNPs 位点之间存在连锁不平衡,且所构成的单倍型可能影响 VDR mRNA 稳定性及蛋白表达水平。有数据表明由 *Bsm I* (CC) *Apa I* (CC) *Taq I* (TT)组成的基因单倍型与抗病毒疗效相关($P=0.009$, 比值比=2.66)^[11]。García-Martín 等^[12]数据支持 VDR 基因 (rs1544410, rs7975232 与 rs731236)存在强烈的连锁不平衡,其中 CCA 单倍型基因预示着抗病毒治疗失败(比值比=2.743,95%可信区间:1.313~5.731, $P=0.007$)。其原因可能是 VDR 基因 3'非翻译端内存在其他功能性位点与 *Bsm I*、*Apa I*、*Taq I* 这 3 个 SNPs 位点连锁,可能影响 VDR 基因转录、mRNA 稳定性、mRNA 转录效率及 VDR 蛋白水平表达。在本研究中,我们同样检测到 VDR *Bsm I*、*Apa I* 和 *Taq I* 之间存在强烈的连锁不平衡(D'取值范围在 0~1 之间,当在检测位点间观察不到任何重组事件时取最大值 1),但未发现影响抗病毒疗效的单倍型。分析研究结果差异的原因可能在于:①本研究纳入的样本量较小,需要进一步扩大样本以明确研究结果的准确性。②遗传因素中 *IL28B* 基因型等已证实对抗丙肝病毒疗效影响显著,与其他基因相比,VDR 基因的微效作用太小。③研究对照人群不同,存在种族差异。④可能存在其他基因与 VDR 基因连锁不平衡所致假关联。

综上所述,VDR *Bsm I* (rs1544410)可能是慢性丙肝抗病毒疗效的影响因素,未发现 *Fok I*、*Apa I* 和 *Taq I* 基因多态性对疗效的影响。由于 VDR 信号通路的影响因素及其对机体免疫系统的调控作用十分复杂,VDR 基因在丙肝抗病毒治疗中所起的真正作用还需进一步研究确定。

参 考 文 献

- 1 Wang TT, Nestel FP, Bourdeau V, et al. Cutting edge: 1, 25-dihydroxyvitamin D3 is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *J Immunol*,2004;173(5):2909-2912.
- 2 Chen S, Sims GP, Chen XX, et al. Modulatory effects of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation. *J Immunol*,2007;179(3):1634-1647.
- 3 Petta S, Cammà C, Scazzone C, et al. Low vitamin D serum level is related to severe fibrosis and low responsiveness to

- interferon-based therapy in genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology*,2010;51(4):1158-1167.
- 4 Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr Rev*,2005;26(5):662-687.
 - 5 Gutierrez JA, Parikh N, Branch AD. Classical and emerging roles of vitamin D in hepatitis C virus (HCV) infection. *Semin Liver Dis*,2011;31(4):387-398.
 - 6 Kitson MT, Dore GJ, George J, *et al.* Vitamin D status does not predict sustained virologic response or fibrosis stage in chronic hepatitis C genotype 1 infection. *J Hepatol*,2013;58(3):467-472.
 - 7 Bitetto D, Bortolotti N, Falletti E, *et al.* Vitamin A deficiency is associated with hepatitis C virus chronic infection and with unresponsiveness to interferon-based antiviral therapy. *Hepatology*,2013;57(3):925-933.
 - 8 Huang Y, Liao Y, Chen W, *et al.* Vitamin D receptor gene polymorphisms and distinct clinical phenotypes of hepatitis B carriers in Taiwan. *Genes Immun*,2010;11(1):87-93.
 - 9 Suneetha PV, Sarin SK, Goyal A, *et al.* Association between vitamin D receptor, CCR5, TNF- α and TNF- β gene polymorphisms and HBV infection and severity of liver disease. *J Hepatol*,2006;44(5):856-863.
 - 10 Falletti E, Bitetto D, Fabris C, *et al.* Vitamin D receptor gene polymorphisms and hepatocellular carcinoma in alcoholic cirrhosis. *World J Gastroenterol*,2010;16(24):3016-3024.
 - 11 Baur K, Mertens JC, Schmitt J, *et al.* Therapy response in chronic hepatitis C patients is affected by common Vitamin D Receptor (NR 1/1) polymorphisms. *Z Gastroenterol*,2010;52(1):S404.
 - 12 García-Martin E, Agúndez JA, Maestro ML, *et al.* Influence of vitamin D-related gene polymorphisms (CYP27B and VDR) on the response to interferon/ribavirin therapy in chronic hepatitis C. *PLoS One*,2013;8(9):e74764. doi: 10.1371/journal.pone.0074764.
 - 13 Framarin L, Tarabra E, Ciancio A, *et al.* Vitamin D receptor polymorphisms and response to treatment in chronic hepatitis C. *Digest Liver Dis*,2011;43(11):S213.
 - 14 Hughes DJ, McManus R, Neary P, *et al.* Common variation in the vitamin D receptor gene and risk of inflammatory bowel disease in an Irish case-control study. *Eur J Gastroenterol Hepatol*,2011;23(9):807-812.

(2015-06-02 收稿,2015-09-15 修回)

编辑 余琳

· 个案报告 ·

麻醉中发生恶性高热症 1 例报告

林怡伶, 廖尤瑛, 蔡采玲

台湾大学医学院附设医院 云林分院

【关键词】 麻醉 恶性高热

患者,男,42岁,患恶性肝脏肿瘤,既往抽烟、嚼槟榔、酒精成瘾及肝硬化病史。2013年9月12日全身麻醉行肿瘤无线频率电热疗法,麻醉诱导使用 Fentanyl 100 μ g、Lidocaine 50 mg、Propofol 100 mg、Relaxin 80 mg,维持使用吸入性 Sevoflurane 及松弛剂 Nimbox 8 mg。气管内管置入时咀嚼肌僵直,诱导后 10 min,呼气末二氧化碳分压 (EtCO₂) 45 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)升至 71 mmHg,体温 36.7 $^{\circ}$ C 升至 38.7 $^{\circ}$ C,心率 77 次/min 升至 130 次/min,全身肌肉僵硬,考虑恶性高热症。予关停麻醉气体,更换蛇管及二氧化碳吸收剂,改用 2% Propofol 440 mg/h 全静脉麻醉,动脉导管监测血压,血液气体分析结果示 pH 7.1、二氧化碳分压 (pCO₂) 73.8 mmHg、HCO₃⁻ 23.5 mmol/L、碱剩余 (BE) -7.4 mmol/L、K⁺ 5.45 mmol/L。患者血压偏低、少尿,予升压剂、液体输注及利尿剂,体温仍在 38.2~38.6 $^{\circ}$ C 间。予全身酒精、冰水擦拭,使用冰枕及冰毯,冰水胃部灌洗,监测尿量。紧急商借特效药 Dantrolene,2 h 后药物尚未取得,EtCO₂ 39 mmHg,体温 37 $^{\circ}$ C,予停止降温及 Propofol 输注。患者醒后可依口令移动肢体,生命征象趋于

稳定,拔除气管内管转加护病房,征求患者同意抽取血液检测基因,发现 19 号染色体发生突变。除了主诉全身酸痛外,患者生命征象稳定,9 月 14 日转病房,9 月 20 日出院。

讨论 恶性高热是一种显性遗传体质,第 19 号染色体发生突变,该染色体与骨骼肌发展有关。此类患者平时无特异表现,但接触麻醉药(如去极化肌肉松弛剂或麻醉气体)可能引发恶性高热,肌肉不正常高代谢,体温异常升高,肌肉僵直、EtCO₂ 异常上升、心跳速率及节律异常,后续发生低血氧、血压不稳,最后严重高热、肌肉崩解、肾衰竭、心衰竭、肺水肿、脑障碍、昏睡、呼吸停止、瞳孔放大甚至死亡。文献报导 1:15 000 的幼儿及 1:50 000 的成人麻醉时会发生恶性高热,死亡率约 5%。治疗原则为移除可能引发之物质、针对症状治疗及尽速给予缓解药 Dantrolene。尽早发现并采取适当的治疗是降低死亡率最有效的方法。本例幸及早发现及团队积极处理,在尚未注射 Dantrolene 前高温症状就渐趋缓解。因该症具遗传性,若患者本人或家属曾有发生,麻醉前务必主动告知医师,可使用替代麻醉药,以减少发生的机率。该患者基因检测证实为恶性高热体质,故制作警示卡随身携带,提醒就医时务必主动告知,并建议家属检测基因,降低出现恶性高热的几率。

(2015-03-07 收稿,2015-07-09 修回)

编辑 汤洁