

NUMB 调控肿瘤增殖的机制研究^{*}

俞 谦, 邵喜明, 李华顺[△]

四川大学华西第二医院 出生缺陷与相关妇儿疾病教育部重点实验室(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨膜相关蛋白 NUMB 调控肿瘤增殖的机制。方法 构建 NUMB 基因敲除载体,转染 HeLa 细胞后,经抗性筛选获得稳定细胞株,通过实时定量 PCR(qRT-PCR)和 Western blot 检测 NUMB 基因和蛋白表达,验证 NUMB 基因敲除效果。采用裸鼠成瘤实验研究 NUMB 基因敲除对肿瘤增殖的影响;利用流式细胞术和 Brdu 标记实验检测 NUMB 缺失对细胞周期的影响;在体外模型中检测细胞周期各个时期多种调控蛋白的表达水平。**结果** Western blot 及 qRT-PCR 结果表明 NUMB 基因敲除的体外模型构建成功;裸鼠成瘤实验显示 NUMB 基因敲除促进肿瘤增殖;流式细胞术和 Brdu 标记实验表明 NUMB 基因缺失加速细胞周期 G₁/S 期转换,促进肿瘤细胞增殖;Western blot 检测发现 NUMB 基因敲除组细胞周期调控蛋白 Cyclin-E 的表达增加,而 P27 的表达降低。**结论** NUMB 通过调控 Cyclin-E 以及 P27 的蛋白水平影响细胞周期,进而调控肿瘤增殖。

【关键词】 肿瘤增殖 NUMB 细胞周期 Cyclin-E

The Mechanism of NUMB Regulate Tumor Proliferation YU Qian, SHAO Xi-ming, LI Hua-shun[△]. *Key Laboratory of Birth Defects and Related Diseases of Women and Children, Ministry of Education, West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China*

[△] Corresponding author, E-mail: huashunli2011@163.com

【Abstract】 **Objective** To study the specific mechanism of NUMB regulate tumor proliferation. **Methods** A stable cell line by knocking down NUMB in HeLa was established and the Western blot and qRT-PCR was applied to confirm the knocking out of NUMB. The effect on tumor proliferation in the absence of NUMB was investigated by observing tumor growth in nude mice. The effect on the cell cycle in the absence of NUMB was detected by flow cytometry and Brdu assay. Finally, differential expression profiles of various cell cycle regulatory proteins was detected by using Western blot analysis. **Results** Western blot and qRT-PCR results indicated that NUMB was specifically and efficiently knocked down in the HeLa stable cell line. Tumor growth experiments demonstrated that NUMB depletion significantly promoted the tumor proliferation. Flow cytometry and Brdu assay indicated that NUMB depletion significantly promoted the G₁/S transition and enhanced the cell proliferation. Western blot results demonstrated that Cyclin-E protein level was increased in NUMB depletion cell, whereas expression of P27 protein was decreased. **Conclusion** NUMB might be involved in cell cycle process by regulating Cyclin-E and P27 protein level and thereby has an effect on tumor proliferation.

【Key words】 Tumor proliferation NUMB Cell cycle Cyclin-E

膜相关蛋白 NUMB 是第一个在多细胞生物中发现的具有决定细胞不对称分裂功能的内源性因子。对 NUMB 功能的了解最早始于对果蝇周围感觉器官前体细胞分裂过程的研究。与果蝇中只有一个 NUMB 基因相比,哺乳动物中的 NUMB 基因通过选择性剪切能够编码 4 种 NUMB 蛋白,即 NUMB 65、NUMB 66、NUMB 71 和 NUMB 72^[1]。研究发现 NUMB 蛋白广泛分布于成熟组织器官,能够参与调节细胞内吞、细胞迁移、细胞连接、细胞凋亡、细胞增殖以及肿瘤发生等^[2,3]。细胞内基因

的异常表达是肿瘤发生的分子基础,近年研究发现 NUMB 蛋白在肿瘤形成、浸润与转移中具有重要作用^[4-7]。如 NUMB 蛋白可能具有抑制乳腺癌增殖的功能^[4,5],小脑颗粒细胞前体细胞来源的肿瘤细胞中 NUMB 水平下调^[6,7]。然而 NUMB 调控肿瘤的具体机制并不是十分清楚。

我们前期的研究发现,NUMB 蛋白水平在细胞周期中有较大的波动,提示 NUMB 可能对细胞周期具有调控作用。Amel 等^[8]研究结果也表明 NUMB 在细胞周期中具有重要功能。众所周知,细胞周期的改变是细胞增殖调控的根本原因。那么,NUMB 调控肿瘤的具体机制是否可能通过调控细胞周期进行?因此,本研究通过构建 NUMB 基因

^{*} 国家自然科学基金(No. 30771102)资助

[△] 通讯作者, E-mail: huashunli2011@163.com

敲除体外模型,主要从细胞周期的方向探讨 NUMB 在肿瘤发生发展中的作用和调控机制。

1 材料与方法

1.1 材料

琼脂糖凝胶回收试剂盒、质粒小量提取试剂盒均购自 OMEGA。Plko. 1 shRNA 克隆载体购自 Addgene。各种限制性内切酶及 T4 连接酶购自 NEB。人子宫颈癌细胞系 Hela 细胞和人胚肾上皮细胞系 293T 细胞购自 ATCC。DMEM 培养基和胎牛血清购自 Hyclone。转染试剂购自 Origene (megatran1.0),细胞系筛选抗生素 puromycin 购自 Invitrogen。实时定量 PCR (qRT-PCR) 所需的 TransZol 和 One-step gDNA Removal and cDNA synthesis SuperMix 试剂盒购自 TransGen Biotech, SsoFast Era Green Supermix 购自 Bio-Rad。BrdU 染料和碘化丙啶染料购自 Sigma。其他生化试剂均为国产分析纯。抗体: NUMB、Cyclin A、Cyclin B、CDK1、p-H3、pRb 购自 CST, β -actin、BrdU 购自 Santacruz, Cyclin-E、DAPI 购自 Invitrogen, CDK2、CDK4、CDK6 购自 Proteintech, P21、P27、SKP2 购自 Gbico。

裸鼠由四川大学华西第二医院 SPF 级动物房提供。

1.2 方法

1.2.1 plko-NUMB shRNA 载体的构建 plko-NUMB shRNA 载体的构建方法参照 Addgene Plko. 1 shRNA 克隆载体的标准方法。参考文献^[9]报道,设计引物, NUMB 基因上游引物: 5'-CCG GATTACATTTTCAGTAAATGTGCCTCGAGGC ACATTTACTGAAATGTAATTTTTTTG-3', 下游引物: 5'-AATTCAAAAAATTACATTTTCAGT AAATGTGCCTCGAGGCACATTTACTGAAAT GTA AT-3', 上述序列由上海生工公司合成, 然后退火形成带有 EcoR I 和 Age I 酶切位点的双链, 同时用 EcoR I 和 Age I 双酶切 Plko. 1 shRNA 克隆载体, 利用 T4 连接酶连接后转化, 挑克隆, 提质粒, EcoR I 和 Nco I 双酶切鉴定, 选择一个阳性克隆测序鉴定。

1.2.2 细胞培养 常规复苏培养 Hela 细胞、293T 细胞。

1.2.3 稳定细胞株的构建与转染 成功构建 plko-NUMB shRNA 敲除载体后, 利用慢病毒包装体系在 293T 细胞中生产包含 NUMB 基因敲除序列的

慢病毒及对照病毒, 病毒上清悬液经超速离心纯化后溶于 PBS; 然后转染 Hela 细胞, 以转染空载体 (plko-empty) 为对照, 细胞转染试剂 (Megtran1.0) 与载体比例为 $3 \mu\text{L} : 1 \mu\text{g}$, 按标准方法操作。48 h 后换成含 $2 \mu\text{g/mL}$ puromycin 的筛选培养基, 筛选培养 1 周左右即可获得稳定细胞株; 稳定细胞株经 qRT-PCR 和 Western blot 检测 NUMB 的 mRNA 和蛋白质表达鉴定。

1.2.4 qRT-PCR 分析 使用 TransZol 从细胞中提取总 mRNA, 然后经 One-step gDNA Removal and cDNA synthesis SuperMix 试剂盒反转录生成 cDNA, 最后使用 CFX96 real-time PCR 检测系统 (Bio-Rad) 进行 qRT-PCR 反应。PCR 引物: β -actin (5'-CTCCTCCCTGGAGAAGAGCTA-3', 5'-CCT TCTGCATCCTGTCTGGCAA-3'); NUMB (5'-ACTTTTGTATGCTAGTCGGACC-3', 5'-GAAG TAGGAGAGGTGGGAGAG-3')。目的基因的表达采用相对定量法, 即以 β -actin 作为内参, 计算 ΔCt , 以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 表示目的基因 mRNA 的相对表达量。

1.2.5 Western blot 转染 NUMB 基因敲除和转染空载体的 Hela 细胞用胰酶消化, 收集细胞, 然后用蛋白裂解液 (RIPA) 裂解提取蛋白悬液, 4°C , $10\,000\times g$ 离心 15 min, 取上清即为提取的总蛋白悬液; BCA 法测量蛋白浓度后, 沸水煮 5 min, 即可进行 SDS-PAGE 电泳; 电泳完成后转印到 PVDF 膜 (200 mA , 2 h); 用 30 g/L BSA 封闭液室温孵育 1 h; 4°C 一抗过夜, 然后 TBST 清洗 3 次, 每次 10 min; 二抗室温孵育 1 h, 然后 TBST 清洗 3 次, 每次 10 min; 加 ECL 后在暗室进行胶片显色。用凝胶成像仪拍照并测定各显色条带的灰度值, 以目的条带与 β -actin 灰度值的比值为目的蛋白的相对含量。

1.2.6 流式细胞分析 细胞培养于 10 cm 平皿, 汇合度达到 80% 左右时用胰蛋白酶消化收集细胞; $1\,000\times g$ 离心 5 min, 去上清液, 细胞用冷的 PBS 清洗两次, 冷的 750 mL/L 乙醇重悬固定, 4°C 固定过夜; 离心去固定液, $50\text{ }\mu\text{g/mL}$ 碘化丙啶染液 (含 $200\text{ }\mu\text{g/mL}$ RNaseA) 室温孵育 30 min, 注意避光; 转移到流式细胞检测管中, 流式细胞仪检测。

1.2.7 BrdU 标记实验 细胞接种于 24 孔板爬片。待细胞完全贴壁且处于对数分裂期时, 在培养基中加入 BrdU (终浓度为 $20\text{ }\mu\text{mol/mL}$), 继续培养 2 h, 然后终止培养, 进行 BrdU 免疫荧光染色。免疫荧光检测步骤如下, 固定: 细胞爬片用 PBS 清洗 3 次, 每次 5 min, 40 g/L 多聚甲醛固定 15 min; 变性: 固

定完成后,PBS 洗 3 次,每次 5 min,使用 2 mol/L 浓度的盐酸室温变性 1 h;中和:0.1 mol/L 硼酸钠 (pH8.5)中和 10 min,PBS 洗 3 次,每次 10 min;一抗:Brdu 抗体 1 : 1 000 稀释,室温孵育 90 min,PBS 洗 3 次,每次 10 min;二抗:1 : 1 000 稀释的荧光二抗室温孵育 1 h,PBS 洗 3 次,每次 10 min,注意避光;染核:1 : 1 000 稀释 DAPI 抗体,室温孵育 10 min,PBS 洗 3 次,每次 5 min;封片:使用无色指甲油封片,然后荧光显微镜照相。

1.2.8 裸鼠成瘤实验 采用裸鼠成瘤实验研究 *NUMB* 基因敲除对肿瘤细胞增殖、生长的影响。体外模型建立后,将正常 *Hela*、转染空载体 *Hela* 以及 *NUMB* 基因敲除的 *Hela* 细胞培养至 80% 左右汇合度,胰酶消化后离心去除培养基,加 PBS 重悬成 1×10^7 /mL 细胞悬液,接种于裸鼠背部。1 周后即可观察到肿瘤生长,两周后断颈法处死裸鼠,剥离肿瘤组织,称瘤重并记录。

1.2.9 统计学方法 计量资料服从正态分布以 $\bar{x}\pm s$ 表示。采用 *t* 检验进行统计分析, $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 NUMB 基因敲除体外模型的建立

构建的 plko-*NUMB* shRNA 敲除载体,用慢病毒包装体系在 293T 细胞中生产包含 *NUMB* 敲除序列的慢病毒,转染 *Hela* 细胞后,经 puromycin 抗性筛选获得稳定细胞株。qRT-PCR 和 Western blot 检测结果显示,稳定细胞株 *NUMB* 的 mRNA (相对表达为 0.122 ± 0.037 ,转染空载体对照组为 1.000 ± 0.000)和蛋白质表达丰度(图 1)都明显下调。表明 *NUMB* 敲除体外模型成功建立。

2.2 NUMB 基因敲除对肿瘤增殖的影响

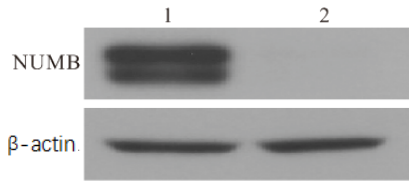


图 1 Western blot 检测 NUMB 蛋白表达
Fig 1 Western blot assay of NUMB protein level
1: plko-empty vector; 2: plko-*NUMB* shRNA vector

见图 2。结果显示,正常 *Hela*、转染空载体 *Hela* 以及 *NUMB* 基因敲除的 *Hela* 细胞形成的肿瘤组织质量分别为 (0.186 ± 0.055) g、 (0.218 ± 0.081) g、 (0.918 ± 0.106) g,前 2 组与 *NUMB* 基因敲除组肿瘤质量差异有统计学意义 ($P<0.01$)。表明 *NUMB* 敲除促进肿瘤的增殖,提示 *NUMB* 可能对肿瘤发生发展具有抑制作用。

2.3 NUMB 基因敲除对细胞周期的影响

通过碘化丙啶染色,流式细胞仪检测转染空载体对照组和 *NUMB* 基因敲除组的细胞周期,获得细胞周期分布图(图 3A)。统计分析结果显示:转染空载体对照组和 *NUMB* 基因敲除组的 S 期分别为 $19.99\%\pm0.06\%$ 和 $39.64\%\pm0.05\%$,相应的 G_1

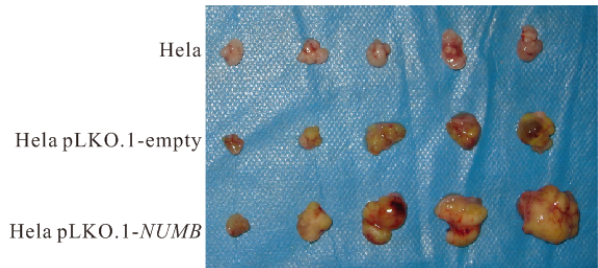


图 2 NUMB 敲除促进肿瘤增殖
Fig 2 NUMB depletion significantly promote the tumor proliferation

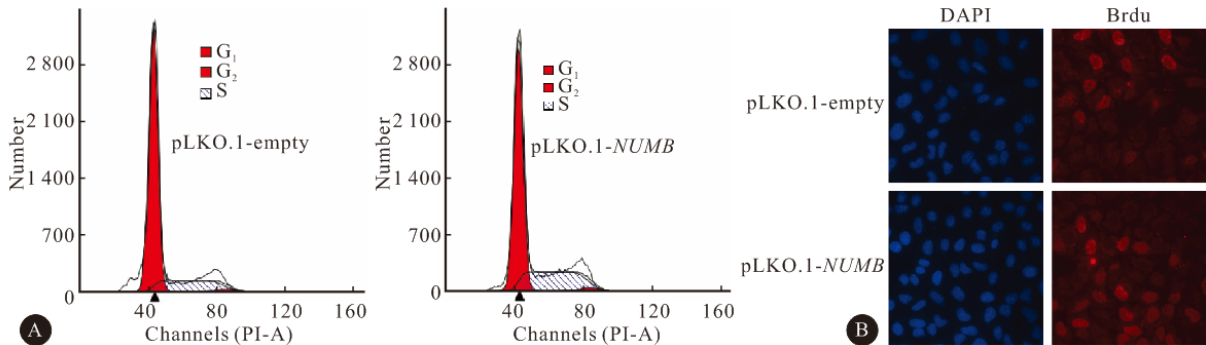


图 3 NUMB 敲除对细胞周期的影响
Fig 3 NUMB depletion significantly promote the cell proliferation

A: Control and *NUMB* depleted *Hela* cells were stained with PI then analyze by flow cytometry; B: Control and *NUMB* depleted *Hela* cells were incubated with BrdU ($20\text{ }\mu\text{mol/mL}$) for 30 min, then stained with DAPI and BrdU antibodies

期分别是 $74.46\% \pm 0.11\%$ 和 $52.66\% \pm 0.09\%$, 差异均有统计学意义 ($P < 0.001$); G_2/M 期差异无统计学意义 ($P > 0.185$)。

BrdU 标记细胞增殖实验结果显示, 对照组和 *NUMB* 敲除组 S 期细胞分别为 $19.34\% \pm 0.08\%$ 和 $33.20\% \pm 0.09\%$, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$, 图 3B)。

2.4 NUMB 基因敲除对细胞周期调控蛋白表达的影响

Western blot 检测结果显示, 在 *NUMB* 基因敲除组细胞中, Cyclin-E 的表达 (1.322 ± 0.012) 增加 (转染空载体对照组为 0.254 ± 0.008 , $P < 0.001$), 而 P27 的表达 (0.231 ± 0.006) 降低 (转染空载体对照组为 0.546 ± 0.009 , $P < 0.001$), 见图 4。提示 *NUMB* 可以调控细胞周期 G_1/S 期的转换, 影响细胞增殖速率, 从而调控肿瘤增殖。

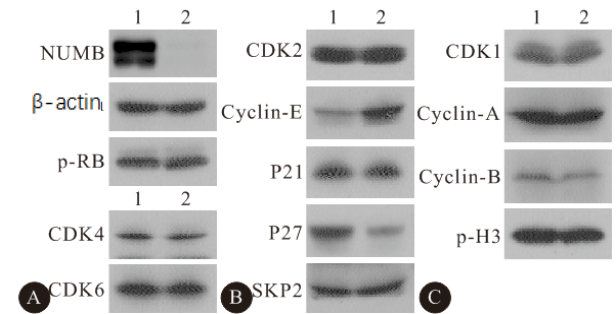


图 4 *NUMB* 基因敲除对细胞周期各个时期调控蛋白表达水平的影响

Fig 4 Differential expression profiles of various cell cycleregulatory proteins in the absence of *NUMB*

A: Cell cycle G_1 ; B: Cell cycle G_1/S ; C: Cell cycle G_2/M ; 1: plko-empty vector; 2: plko-*NUMB* shRNA vector

3 讨论

众所周知, 肿瘤的发生发展与癌症相关基因的异常表达密切相关, 而针对癌症相关基因表达的靶向治疗已逐渐成为全球的研究热点。越来越多的研究显示, 调控肿瘤基因的靶向治疗在肿瘤治疗中不仅具有高度的特异性, 更在肿瘤的个体化治疗中扮演着极为重要的角色。因此, 深入系统地研究肿瘤基因调控机制, 对肿瘤个体化靶向治疗的推进具有重大而深远的意义。已有的研究表明 *NUMB* 蛋白在肿瘤形成、浸润与转移中具有重要作用, *NUMB* 基因可能是一个潜在的抑癌基因。目前的研究显示 *NUMB* 在肿瘤中的作用机制可能有几个方面: 调控 *P53* 肿瘤抑制基因的含量和活性; 通过拮抗 Notch

信号通路影响细胞的增殖和分化平衡, 这种平衡的异常会导致肿瘤形成; 拮抗与肿瘤发生密切相关的 Hedgehog 信号通路; 通过抑制上皮间质转化 (epithelial mesenchymal transitions, EMT), 维持细胞极性和介导细胞不对称分裂影响肿瘤的发生^[10]。

但是 *NUMB* 调控肿瘤的具体作用机制尚未完全研究清楚。我们首先构建 *NUMB* 基因敲除的体外模型, 通过裸鼠成瘤实验发现 *NUMB* 敲除促进肿瘤增殖, 与以往的研究相吻合。进一步的研究发现 *NUMB* 敲除可以加速 G_1 到 S 期的转换, 从而促进细胞增殖。为了研究这一过程的分子机制, 我们在体外模型中检测细胞周期各个时期调控蛋白的表达水平, 发现 *NUMB* 敲除特异性的增加细胞周期 G_1/S 期调控因子 Cyclin-E 的表达水平, 同时发现 Cyclin-E 相关蛋白 P27 表达水平减少。我们知道, Cyclin-E 是调控细胞周期 G_1 期到 S 期转换的关键蛋白, 而 G_1 期到 S 期的转换会直接影响细胞增殖的速率。研究证实 Cyclin-E 的失调与肿瘤发生关系密切, 这种失调在恶性肿瘤细胞中经常存在, 并且往往与肿瘤的侵袭性和不良的预后相关^[11]。这主要是由于 Cyclin-E 的过度表达会加速细胞周期, 而异常提高的细胞增殖能力造成肿瘤发生。另外, P27 与肿瘤的关系也已经有很多研究, 在多种肿瘤, 包括淋巴瘤、前列腺癌、肝癌以及乳腺癌等, 都发现了 P27 的低水平表达^[12]。而且, 在这些癌症中, 确实发现了 P27 表达量降低促进 G_1 期向 S 期转换, 增加细胞增殖速度的现象。

综上所述, 本研究结果提示 *NUMB* 通过调控 Cyclin-E 以及 P27 的表达水平影响细胞周期, 进而调控肿瘤增殖。我们的研究证实了 *NUMB* 在肿瘤增殖调控中的一种具体作用机制, 虽然这可能不是 *NUMB* 对肿瘤调控的唯一方式。在以后的研究中, 我们将继续探讨 *NUMB* 调控 Cyclin-E 以及 P27 表达水平的具体分子机制, 全面了解 *NUMB* 在肿瘤发生发展中的作用。

参 考 文 献

- 1 Dho SE, French MB, Woods SA, et al. Characterization of four mammalian NUMB protein isoforms. J Biol Chem, 1999; 274 (46): 33097-33104.
- 2 钱文雨, 李华顺. Numb 与神经发育. 中国细胞生物学学报, 2010; 32(1): 1-16.
- 3 Alberto G, Lucia Di M, Isabella S. The multiple functions of Numb. Exp Cell Res, 2010; 316(6): 900-906.

- 4 Pece S, Serresi M, Santolini E, *et al.* Loss of negative regulation by NUMB over Notch is relevant to human breast carcinogenesis. *J Cell Biol*, 2004; 167(2): 215-221.
- 5 Jhappan C, Gallahan D, Stahle C, *et al.* Expression of an activated Notch-related int3 transgene interferes with cell differentiation and induces neoplastic transformation in mammary and salivary glands. *Genes Dev*, 1992; 6(3): 345-355.
- 6 Gallahan D, Jhappan C, Robinson G, *et al.* Expression of a truncated Int3 gene indeveloping secretory mammary epithelium specifically retardslobular differentiation resulting in tumorigenesis. *Cancer Res*, 1996; 56(8): 1775-1785.
- 7 Marcotullio L, Ferretti E, Greco A, *et al.* NUMB is a suppressor of Hedgehog signalling andtargets Gli1 for Itch-dependent ubiquitination. *Nat Cell Biol*, 2006; 8(12): 1415-1423.

- 8 Amel K, Christine J, Adele T, *et al.* Numb is required for the production of terminal asymmetric cell divisions in the developing mouse retina. *J Neurosci*, 2012; 32(48): 17197-17210.
- 9 Ivan NC, Daniela T, Paolo N, *et al.* NUMB controls p53 tumour suppressor activity. *Nature*, 2008; 451(3): 76-80.
- 10 盛伟伟, 董 明. Numb 在肿瘤中作用机制的研究现状. *中华外科杂志*, 2012; 50(2): 184-186.
- 11 Hwang HC, Clurman BE. Cyclin E in normal and neoplastic cell cycles. *Oncogene*, 2005; 24(17): 2776-2786.
- 12 Slingsand J, Pagano M. Regulation of the CDK inhibit or P27 and its deregulation in cancer. *J Cell Physiol*, 2000; 183(1): 10-17.

(2014-02-17 收稿, 2014-05-19 修回)

编辑 沈 进

· 个案报告 ·

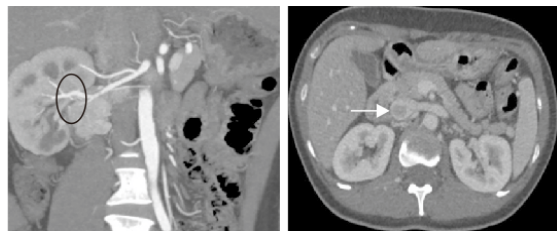
异位嗜铬细胞瘤合并下腔静脉瘤栓 1 例报告

陈力博¹, 胡 蓉², 董 强¹, 卢一平¹, 王显丁^{1△}

1. 四川大学华西医院 泌尿外科(成都 610041); 2. 四川大学华西医院 影像科(成都 610041)

【关键词】 异位嗜铬细胞瘤 下腔静脉瘤栓

患者,女,31岁,因“反复心慌、多汗伴血压升高2月”入院。血压最高时约 210/140 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa),无头痛、眩晕、乏力、晕厥、视物模糊、胸前区疼痛等不适。实验室检查:血去甲肾上腺素 2 874 ng/L,肾上腺素 127 ng/L,肾素、血管紧张素、醛固酮、促肾上腺皮质激素、皮质醇水平均在正常范围内。腹部彩超:右肾门区实性占位,大小约 4.2 cm×3.2 cm,与右肾血管分界不清。CT 血管成像:右肾门内前方分叶状肿块,大小约 4.2 cm×3.0 cm×2.4 cm,浸润肾门血管,下腔静脉内可见直径约 2 cm 瘤栓(附图)。



附图 CT 腹部血管成像可见肿瘤与右肾血管、下腔静脉联系紧密(圆圈),腔静脉内可见瘤栓形成(箭头)

初步诊断为右肾门异位嗜铬细胞瘤合并下腔静脉瘤栓。在口服盐酸酚苄明控制血压2周后,于全身麻醉下行“右肾门异位嗜铬细胞瘤切除术、右肾切除术、下腔静脉瘤栓取出术”。术中见:右肾门直径约 4.5 cm 包块,包绕右肾血管,呈浸润性生长;下腔静脉内见一直径约 1.5 cm 瘤栓。术中血压波动于 80~170/60~110 mmHg,术后 3 d 血压即降至正常范围内。术后切除包块组织免疫组化染色:嗜铬素 A

(CgA)(+)、上皮膜抗原(EMA)(-),诊断为嗜铬细胞瘤。术后半年复查血压、血肾上腺素及去甲肾上腺素均处于正常范围,影像学检查亦未见肿瘤的复发和转移。

讨论 发生于肾上腺外的交感神经系统部位的嗜铬细胞瘤,称为异位嗜铬细胞瘤或副神经节瘤。在异位嗜铬细胞瘤中,恶性比例达 30% 以上。根据 Thompson 提出的嗜铬细胞瘤量化评分系统(PASS),本例患者评分≥4,提示其为恶性嗜铬细胞瘤。临床上,嗜铬细胞瘤合并下腔静脉瘤栓很少见,国内外仅有不到 30 例报道。

患者有阵发性高血压、头痛、心悸、出汗等临床症状可以为嗜铬细胞瘤的定性诊断提供线索。更准确的定性和定位诊断则依赖血、尿儿茶酚胺的测定和影像学检查。其中全身系统性影像学检查对于定位诊断,尤其是对异位嗜铬细胞瘤的诊断显得尤为重要,对于与大血管相邻的嗜铬细胞瘤(如本例),可行 CT 血管成像或者血管造影检查。

经复习文献,嗜铬细胞瘤合并下腔静脉瘤栓者源自右肾上腺或右侧腹膜后常见,可能是因为右肾上腺静脉、右肾静脉较短且直接汇入下腔静脉,瘤栓易通过并进入下腔静脉。合并下腔静脉瘤栓的患者临床可以存在下肢浮肿、静脉曲张或 Budd-Chiari 综合征,但可能不明显,如本例仅表现为嗜铬细胞瘤的一般特点,故我们认为对于较大的右侧肾上腺或肾门区嗜铬细胞瘤,可常规行腹部血管彩超或 CT 血管成像以了解有无下腔静脉瘤栓,以对手术提供帮助。

嗜铬细胞瘤应首选手术治疗。并发下腔静脉瘤栓者的具体手术方式取决于瘤栓水平及下腔静脉壁是否侵犯,同时术前安置下腔静脉滤网可避免瘤栓脱落引起的肺栓塞。对于已有广泛远处转移的患者,不建议手术取栓,因为手术风险高于对于患者预后的改善。但是国外有文献指出恶性嗜铬细胞瘤伴腔静脉瘤栓者通常预后不良,手术切除后的 5 年生存率<40%;若出现转移,绝大多数患者的生存期低于 3 年。所以可考虑术后化疗,经常采用 CVD 方案(环磷酰胺+达卡巴嗪+长春新碱)。本例患者,由于术后病理提示切缘均未见肿瘤侵犯,影像学也未提示存在附近淋巴结增大或远处转移,因而术后没有采取化疗,仅长期观察随访。

(2014-02-07 收稿, 2014-05-12 修回)

编辑 沈 进