

姜黄素诱导人黑色素瘤 A375 细胞凋亡以及对 c-myc、caspase-3 表达的影响

邱实¹, 谭升顺¹, 张江安¹, 刘安¹, 袁景奕¹, 饶国洲², 王文勇³(西安交通大学¹第二医院皮肤科,²口腔医院医学实验中心, 陕西西安 710004;³第四军医大学基础部病理学教研室, 陕西西安 710032)

摘要: 目的 探讨姜黄素诱导人黑色素瘤 A375 细胞凋亡及其对 c-myc、Caspase-3 表达的影响。方法 姜黄素处理 A375 细胞, MTT 法检测细胞的生长活性, 应用倒置显微镜和透射电镜进行形态学观察, 采用 Annexin V/PI 双染法和 DAN 片段化分析检测细胞凋亡, SABC 免疫组化法和原位杂交检测细胞内 c-myc、Caspase-3 表达水平。结果 姜黄素能抑制 A375 细胞增殖, 并呈剂量和时间依赖性。经 30 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素处理 A375 细胞 48 h, 细胞呈现凋亡形态学改变; DAN 片段化分析可见到明显的 DNA 梯带形成; 流式细胞仪定量检测出 20 $\mu\text{mol/L}$ 以上浓度姜黄素诱导细胞凋亡的发生率较对照组有显著性差异。c-myc 表达水平减少, 而 Caspase-3 表达增加。结论 姜黄素能抑制 A375 细胞增殖和诱导其凋亡, c-myc 和 Caspase-3 基因可能参与凋亡过程。

关键词: 姜黄素; 黑色素瘤; c-myc; Caspase-3; 凋亡

中图分类号: Q255; R739.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-2588(2005)12-1517-05

Apoptosis induced by curcumin and its effect on c-myc and caspase-3 expressions in human melanoma A375 cell line

QIU Shi¹, TAN Sheng-shun¹, ZHANG Jiang-an¹, LIU An¹, YUAN Jing-yi¹, RAO Guo-zhou², WANG Wen-yong³
Department of Dermatology, Second Hospital¹, Central Laboratory, Hospital of Stomatology², Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China; ³Department of Pathology, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

Abstract: Objective To investigate the effect of curcumin on cell apoptosis and c-myc and caspase-3 expressions in human melanoma A375 cell line. **Methods** A375 cells were exposed to curcumin treatment and growth inhibition of the cells was examined by MTT assay. Annexin V/propidium iodide double staining and DNA fragmentation analysis were employed for assay of the cell apoptosis and morphological changes of the cells were observed with inverted microscopy and transmission electron microscopy, respectively. *In situ* hybridization and SABC immunohistochemistry were performed for detection of the expressions of c-Myc and caspase-3 in the A375 cells. **Results** Curcumin inhibited the growth of A375 cells in both time- and concentration-dependent manners. After treatment with 30 $\mu\text{mol/L}$ curcumin for 48 h, apoptotic morphological changes were observed in the cells and an oligonucleosomal DNA ladder was clearly visualized in DNA fragmentation analysis. The apoptotic rates of the cells treated with curcumin at the concentration above 20 $\mu\text{mol/L}$ were significantly higher than that of the control cells. c-myc expression level was decreased whereas caspase-3 expression increased with the increase in curcumin concentrations. **Conclusion** Curcumin can inhibit the proliferation and induce apoptosis of A375 cells *in vitro*, and the genes encoding c-myc and caspase-3 may play a role in the process.

Key words: curcumin; melanoma; c-myc; caspase-3; apoptosis

黑色素瘤恶性度高, 转移早, 对常规放疗和化疗不敏感, 因此目前紧迫的研究工作是寻找有效的治疗药物。自 1983 年姜黄素首次在人肿瘤活组织中进行体外软琼脂克隆分析以来, 其抗肿瘤活性得到了广泛的研究及肯定^[1-3]。中药姜黄素是从草本植物姜黄的根茎中提取出来的一种酚类色素, 是姜黄的主要有效成分, 具有抗炎、抗氧化及抗肿瘤等作用, 它在不同的细胞中诱导凋亡的能力显示出发展姜黄素作为癌症预防剂的可能性。国内尚未见姜黄素对恶性黑色素瘤的作用研究报道, 本文观察了姜黄素抑制人黑色素瘤细胞株 A375 的增殖和诱导其凋亡以及对 c-myc 和 Caspase-3 表达水平的影响, 现报道如下。

收稿日期: 2005-05-13

作者简介: 邱实(1970-), 男, 主治医师, 博士研究生, E-mail: qsh0322@163.com

1 材料与方法

1.1 材料

人黑色素瘤细胞株 A375 由第四军医大学动物实验中心提供, 培养于含 10% 小牛血清的 RPMI 1640 中, 内含 1×10^5 U/L 的青霉素及 100 mg/L 的链霉素, 置 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中孵育, 0.25% 胰酶和 0.02% EDTA 消化传代。姜黄素购自 Sigma 公司, MTT、碘化丙啶(PI)均购自 Sigma 公司, RPMI 1640 购自 Gibco 公司, c-myc、Caspase-3 单克隆抗体均购自北京中山生物技术有限公司, 原位杂交检测试剂盒购于武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞毒性试验(MTT 法) 1×10^6 /L 细胞悬液接种于 96 孔板, 每孔 200 μl , 待细胞贴壁 6 h 后加入 10、20、30、40、50 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素, 对照组加等量培养

液,每个浓度设 3 个复孔。分别孵育 24,48,72 和 96 h,实验结束前 4 h 加入 20 μ l 的 MTT,继续培养 4 h,终止培养弃培养液,每孔加入 150 μ l 的 DMSO,振荡 15 min,酶标仪于波长 490 nm 处测吸光度 A 值。以上实验重复 3 次,绘制细胞增殖曲线。

1.2.2 细胞凋亡的形态学观察 取对数生长期细胞以 2×10^5 /ml 浓度接种于 6 孔培养板,每孔接种 2 ml,待细胞贴壁后加入不同浓度姜黄素,对照组加等量培养液。孵育 48 h,弃掉培养液,PBS 清洗后置倒置显微镜下活体观察。收集细胞于离心管中,以 800~1000 r/min 的转速离心 10 min,PBS 清洗后立即置于 25 g/L 戊二醛中固定,4 $^{\circ}$ C 过夜,10 g/L 四氧化锇固定 2 h,梯度乙醇脱水,Epon812 环氧树脂浸透、包埋,半超薄切片,醋酸铀、柠檬酸铅双染,于日立 H-600 型透射电镜下观察、摄片。

1.2.3 Annexin V FITC/PI 双标记法检测早期凋亡细胞 将对数生长期的 A375 细胞以 4×10^4 /ml 浓度接种于 24 孔培养板,每孔 1 ml,加入不同浓度的姜黄素,对照组加等量培养液。每个浓度设 3 个复孔。共孵育 48 h 后,离心收集细胞,用 2.5 ml PBS 洗涤 2 次,加稀释 Binding 缓冲液调细胞浓度为 $10^5 \sim 10^6$ /ml,加入 FITC 标记的 Annexin V 10 μ l 和 PI 5 μ l,轻轻混匀,4 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min,立即在流式细胞仪(美国 BD 公司)上检测,采用 CELL Quest 软件分析细胞凋亡率。

1.2.4 DNA 片段化分析 收集 48 h 孵育的细胞,经 PBS 缓冲液漂洗 1 次,离心弃上清。加入 800 μ l DNazol 轻轻吹散细胞,4 $^{\circ}$ C 下 10 000 r/min 离心 15 min,将离心后所得到的上清液转移至另一干净试管,加入 400 μ l 无水乙醇,充分混合,10 000 r/min 离心 10 min,弃上清,用 75% 乙醇洗 2 次,加入 20 μ l TE 溶液溶解沉淀,再加 5 μ l (1 g/L) RNase A 消化 30 min,-20 $^{\circ}$ C 放置过夜。1.8% 琼脂糖凝胶电泳分离样本 DNA,5 V/cm 条件下电泳 1.5 h,1% 溴化乙锭染色,紫外灯下观察并摄影。

1.2.5 免疫组化检测 c-myc、Caspase-3 蛋白表达 免疫组化采用 SABC 法。经各浓度姜黄素处理 48 h 的细胞爬片用 0.1 mol/L PBS 液清洗,立即放入无水乙醇 30 min,中性树胶将玻片固定、凉干,3% H_2O_2 室温孵育 5 min,蒸馏水冲洗,正常兔血清工作液室温下封闭 30 min。加入 c-myc、Caspase-3 单克隆抗体和生物素标记的羊抗小鼠抗体及 ABC 复合物,DAB 显色,镜下观察。PBS 替代一抗作空白对照。结果判定以细胞质或胞核内出现棕黄色颗粒定为阳性,结果采用多媒体彩色病理图像分析仪进行图像分析,系统在显微镜下随机观察 5 个区域进行积分吸光度测定。

1.2.6 原位杂交检测 c-myc mRNA 和 Caspase-3 mRNA 针对人 c-myc 靶基因的 mRNA 序列为:5'-

CTTCA CCAAC AGGAA CTATG ACCTC GACTA CGACT-3';Caspase-3 mRNA 序列为:5'-CGT CA GCTCC ACTGT CTGTC TCAAT ACCGC AGTCC。原位杂交检测试剂盒购于武汉博士德生物工程有限公司,5'末端地高辛标记。细胞在多聚赖氨酸处理的盖玻片上进行培养,待细胞孵育良好后用 0.1 mol/L PBS 清洗 3 \times 2 min,立即放入 4% 多聚甲醛-0.1 mol/L PBS (含有 0.1% DEPC) 中室温固定 30 min,蒸馏水充分洗涤 3 \times 2 min,30% H_2O_2 + 纯甲醇(1:50)室温处理 30 min,蒸馏水洗涤 3 次。滴加胃蛋白酶 37 $^{\circ}$ C 消化 90 s,PBS 洗 3 \times 5 min,置 1% 多聚甲醛/0.1 mol/L PBS 中室温固定 10 min,蒸馏水洗涤 3 次。加预杂交液 20 μ l 置 42 $^{\circ}$ C 恒温箱 4 h,立即加杂交液,42 $^{\circ}$ C 恒温箱中杂交过夜。37 $^{\circ}$ C 水浴的 2 \times SSC 洗涤 2 \times 5 min,0.5 \times SSC 洗涤 1 \times 15 min,0.2 \times SSC 洗涤 1 \times 15 min。滴加封闭液 37 $^{\circ}$ C 30 min,滴加生物素化鼠抗地高辛 37 $^{\circ}$ C 60 min,PBS 洗涤 4 \times 5 min。加 SABC 37 $^{\circ}$ C 20 min,滴加生物素化过氧化物酶 37 $^{\circ}$ C 20 min,DAB 显色,充分水洗。以不加 c-myc 和 Caspase-3 探针的 2 \times SSC 缓冲液作为阴性对照。结果用德国 Leica 公司 MD20 型真彩色图像分析仪进行图像分析,测定阳性反应细胞的积分光密度。

1.3 统计学方法

采用 *t* 检验,应用 SPSS10.0 统计软件包进行统计学分析。

2 结果

2.1 姜黄素对 A375 细胞的抑制作用

对照组 A375 细胞体外生长活跃,经 10、20、30、40、50 μ mol/L 的姜黄素处理 24~96 h 细胞生长均不同程度地减慢,并呈时间、浓度依赖性。与对照组相比,各浓度姜黄素作用 48 h 后 A375 细胞生长抑制率在 62.05~89.24% 之间,不同浓度姜黄素与不同时间组之间均有显著性差异($P < 0.01$,图 1)。

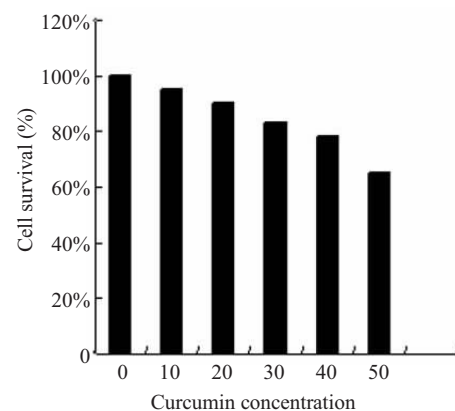


图 1 不同浓度姜黄素对 A375 细胞存活率的影响
Fig.1 Effect of curcumin treatment at various doses for 48 h on cell survival rate of A375 cells

2.2 形态学观察结果

倒置显微镜观察显示细胞贴壁性降低,细胞间隙增大,梭形细胞变圆,并有大量漂浮细胞,对照组未见明显变化(图 2)。姜黄素 30 μmol/L 以上浓度处理 A375 细胞 48 h 后,即出现细胞体积缩小,胞浆浓缩致密,细胞表面形成大量泡状突起并可见脱落形成有膜包绕的内含细胞器结构及核成分的凋亡小体,染色质浓缩聚集、核溶解碎裂等。随着姜黄素浓度的加大,凋亡细胞的比例增高,凋亡细胞的形态呈多样化。而对照组细胞形态规则、胞膜完整、核染色质分布均匀,未出现凋亡小体(图 3)。

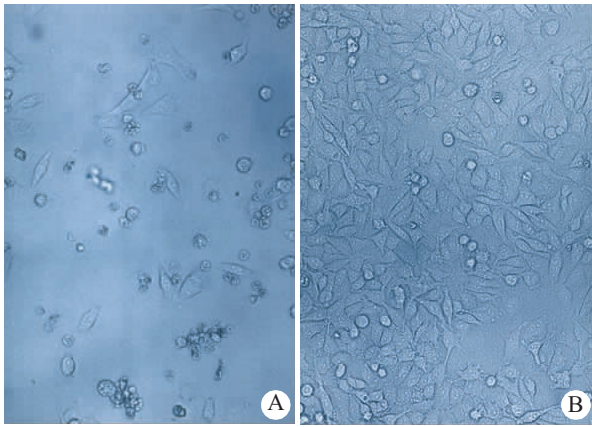


图 2 倒置显微镜下观察 A375 细胞凋亡的形态学变化

Fig.2 Morphological changes of curcumin-treated A375 cells undergoing apoptosis observed by inversed microscopy (Original magnification: ×200)

A: Curcumin group; B: Control group

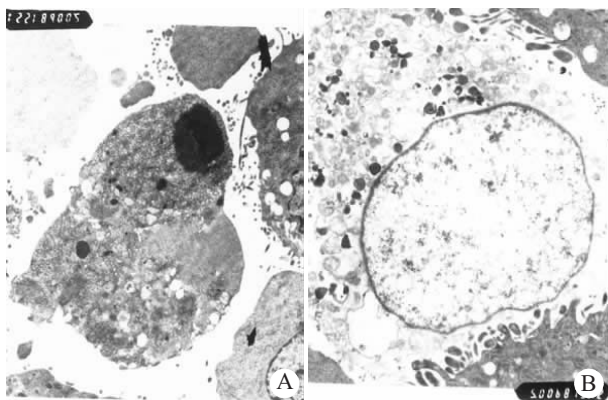


图 3 透射电镜下观察 A375 细胞凋亡

Fig.3 Morphology of curcumin-treated A375 cells showing apoptotic changes under transmission electron microscopy

(Original magnification: ×8000)

A: Curcumin group; B: Control group

2.3 AnnexinV/PI 双标记法

姜黄素作用 48 h,30 μmol/L 浓度即出现凋亡细

胞,达 28.6%,与透射电镜观察结果吻合。与对照组相比,凋亡细胞增加,且呈剂量依赖性($P<0.001$)。随着药物浓度增高,双阳性细胞增加,提示高浓度姜黄素的直接毒性可使 A375 细胞死亡。

2.4 DNA 琼脂糖凝胶电泳分析

经姜黄素作用 48 h 后,A375 细胞的 DNA 在凝胶电泳时均出现凋亡细胞典型的 DNA 梯状条带(DNA ladder),随着顺铂作用浓度的增加,梯状条带逐渐变得清晰,条带越明显,而对照组细胞的 DNA 提取物则未出现 DNA 梯状条带(图 4)。

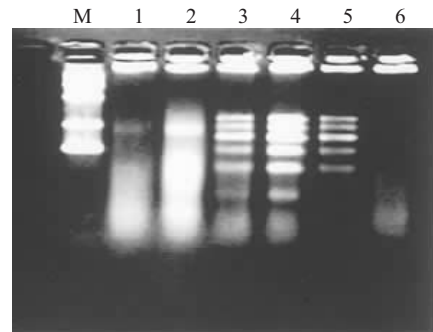


图 4 姜黄素诱导 A375 细胞凋亡的 DNA 片断化分析

Fig.4 Curcumin-induced DNA fragmentation in A375 cells

M: Marker; 1-6: Curcumin concentration of 0, 10, 20, 30, 40, 50 μmol/L, respectively

2.5 c-myc 和 Caspase-3 蛋白的表达

免疫组化检测结果显示,5 种不同浓度的姜黄素作用 A375 细胞 48 h,A375 细胞 c-myc 蛋白表达水平均较对照组明显降低,而 Caspase-3 显著升高,并呈时间和浓度依赖性。两种蛋白的表达率与对照组比较均有显著差异($P<0.05$,表 1)。

表 1 免疫组化检测各浓度姜黄素对 c-myc、Caspase-3 表达率的影响

Tab.1 Effect of curcumin at various concentrations on c-Myc and caspase-3 expressions detected by immunohistochemistry (Mean±SD)

Group	c-myc	Caspase-3
Control	0.38±0.04	0.07±0.06
10 μmol/L	0.33±0.05*	0.18±0.03*
20 μmol/L	0.31±0.07*	0.21±0.07*
30 μmol/L	0.26±0.09*	0.25±0.06*
40 μmol/L	0.24±0.09*	0.34±0.08*
50 μmol/L	0.21±0.06*	0.37±0.09*

* $P<0.05$ compared with control group

2.6 c-myc mRNA 和 Caspase-3 mRNA 的表达

光镜下见棕黄色的标记物分布于 A375 细胞的细胞浆或细胞核,经姜黄素处理细胞 48 h 后,细胞形

态发生变化,变圆或不规则,核变小偏于一侧,胞质浓缩,阳性表达颗粒减少,c-myc mRNA 表达较对照组明显减弱。相反,处理组 Caspase-3 mRNA 表达较对照组增强,对照组阳性表达颗粒较弱,表达的细胞较稀疏。且两者在 A375 细胞中的表达均呈剂量依赖性。图像分析结果显示,c-myc mRNA 与 Caspase-3 mRNA 在二组细胞中的表达显示出显著的统计学差异($P<0.01$),结果与免疫组化检测一致。

3 讨论

姜黄素既能直接抑制肿瘤细胞的生长,又能诱导细胞发生凋亡,其作用机制主要是调控癌基因和抑癌基因,下调 NF- κ B 的活性,影响 EGFR、PKC 信号传导通路,诱导细胞周期停滞和细胞凋亡^[4,5]。Odot 等^[6]对耐阿霉素的 B16-R 黑色素瘤进行了体内和体外研究,结果表明姜黄素具有抑制黑色素瘤细胞生长和细胞毒作用。本实验结果表明,姜黄素在一定剂量范围内对细胞株 A375 具有明显生长抑制作用,并呈时间和剂量依赖性。通过不同浓度姜黄素处理细胞,并观察其在不同时间的作用效果,我们发现姜黄素确实能够诱导人黑色素瘤细胞 A375 的凋亡,从形态学观察和 DNA 片段化分析均定性地显示出明显的凋亡特征,即细胞体积缩小,形态不规则,染色质高度凝聚,凋亡小体出现以及 DNA 的梯度条带。而 AnnexinV/PI 双染法定量地反映了姜黄素与其诱导的凋亡细胞间一定的量效关系,进一步证实了姜黄素具有诱导 A375 细胞发生凋亡的能力。

细胞、组织功能的正常维持,依赖于明确的多信号传导通路的控制、细胞的增殖和分化、凋亡的诱导等。c-myc 参与增殖、分化和转导等多细胞程序过程,通过上调它的目的基因来诱导凋亡,c-myc 的过表达或低表达都会诱导凋亡^[7]。c-myc 启动细胞凋亡的机制可能包括:(1) c-myc 表达推动细胞进入细胞周期,但在缺乏刺激因子条件下,细胞周期完成受阻,从而进入细胞死亡;(2) c-myc 通过某些“存活因子”的作用而推动细胞进入细胞周期,而“存活因子”是某些细胞因子或抑制凋亡的基因产物,能抑制凋亡或导致凋亡。在原发性及继发性人黑色素瘤中,c-myc 被发现是一个独立的预后标志物^[8],c-myc 在调控黑色素瘤生长及肿瘤对化疗药物敏感性方面,具有重要性意义^[9]。c-myc 蛋白几乎在所有正常的增殖细胞中均有表达,而当细胞终末分化时,表达下调。本实验原位杂交和免疫组化结果表明,姜黄素处理 A375 细胞后,c-myc 基因 mRNA 和蛋白表达水平均降低,且随着作用时间的延长,这种变化愈趋明显,说明 c-myc 基因表达水平降低与姜黄素诱导 A375 细胞的凋亡密切相关。

Caspase-3 是 Caspase 家族中在细胞凋亡过程中起着核心作用的关键酶,当凋亡过程被启动后凋亡信号可传导至 Caspases 酶原,使其部分肽连发生水解,形成具有活性的 Caspases。其中 Caspase-3 在级联下游操作底物酶切中发挥重要效应性,当被激活后可裂解产生 17 kU 的活性亚单位,后者可进一步激活 DNase、酶切 PARP 片段化、降解细胞骨架蛋白及一些癌蛋白等机制,最终导致细胞凋亡。Caspase-3 既是凋亡信号的接受者,又是凋亡的执行者,通过放大细胞内的级联反应,水解各种成分,使细胞解体,凋亡小体形成。作为凋亡过程中的效应分子,Caspase-3 既是线粒体途径又是死亡受体途径两条信号途径的共同通道^[10],二者一旦启动,必然引起的 Caspase-3 级联反应并使其活化,引起细胞凋亡。因此,Caspase-3 的表达增加标志着细胞内的凋亡机制已经启动。经姜黄素处理 A375 细胞,结果显示在凋亡过程中 Caspase-3 的表达显著升高,说明 Caspase-3 参与了姜黄素诱导 A375 细胞凋亡的发生和发展,同时再一次佐证了姜黄素具有诱导人黑色素瘤 A375 细胞凋亡的能力及其对 Caspase-3 表达的显著作用,与 Bush 等^[11]研究结果一致。

肿瘤化疗药物及化学抑制剂,都是通过引发凋亡细胞死亡或细胞周期发生改变而发挥它们的药理特性,对肿瘤细胞凋亡的诱导已经成为治疗肿瘤反应的一个预测信号^[12]。由姜黄素诱导的人黑色素瘤细胞凋亡可能涉及多个途径。Bush 等^[11]发现姜黄素诱发突变型 p53 黑色素瘤凋亡,是通过活化死亡受体 Fas 触发的 FADD/Caspase-8 的独立途径,而不依赖于 p53 和 Bcl-2 家族。而我们的研究结果提示 c-myc 表达的减少和 Caspase-3 表达的增加可能与姜黄素诱导黑色素瘤 A375 细胞的凋亡有着密切关系,同时也说明姜黄素可以作为一个有效的化疗药物,为对传统化疗药物不敏感的恶性黑色素瘤的治疗提供了新的途径。

参考文献:

- [1] Jiang TL, Salmon SE, Liu RM. Activity of camptothecin, harringtonin, cantharidin and curcuma in the human tumor stem cell assay [J]. *Eur J Cancer Clin Oncol*, 1983, 19(2): 263-70.
- [2] Han R. Highlight on the studies of anticancer drugs derived from plants in China [J]. *Stem Cells*, 1994, 12(1): 53-63.
- [3] Aggarwal BB, Kumar A, Bharti AC. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies [J]. *Anticancer Res*, 2003, 23 (1A): 363-98.
- [4] Duvoix A, Morcau F, Delhalles, et al. Induction of apoptosis by curcumin: mediation by glutathione S-transferase P1-1 inhibition [J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 66(8): 1475-83.
- [5] Leu TH, Maa MC. The molecular mechanisms for the antitumorigenic effect of curcumin [J]. *Curr Med Chem Anti-Canc Agents*,

- 2002, 2(3): 357-70.
- [6] Odot J, Albert P, Carlier A, *et al.* *In vitro* and *in vivo* anti-tumoral effect of curcumin against melanoma cells[J]. *Int J Cancer*, 2004, 111(3): 381-7.
- [7] Biroccio A, Benassi B, Filomeni G, *et al.* Glutathione influence c-Myc-induced apoptosis in M14 human melanoma cells[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(46): 43763-70.
- [8] Grover R, Pacifico MD, Wilson GD, *et al.* Use of oncogene expression as an independent prognostic marker for primary melanoma [J]. *Ann Plast Surg*, 2003, 50: 183-87.
- [9] Chana JS, Grover R, Tulley P, *et al.* The c-myc oncogene: use of a biological prognostic marker as a potential target for gene therapy in melanoma[J]. *Br J Plast Surg*, 2002, 55: 623-27.
- [10] Fehlberg S, Trautwein S, Goke A, *et al.* Bisphenol A diglycidyl ether induces apoptosis in tumor cells independently of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, in caspase-dependent and-independent manners [J]. *Biochem J*, 2002, 362: 573-8.
- [11] Bush JA, Cheung KJ Jr, Li G. Curcumin induces apoptosis in human melanoma cells through a Fas receptor / caspase-8 pathway independent of p53[J]. *Exp Cell Res*, 2001, 27(2): 305-14.
- [12] Ko WG, Kang TH, Kim NY, *et al.* Lavandulylflavonoids: a new class of *in vitro* apoptogenic agents from *Sophora flavescens* [J]. *Toxicology in Vitro*, 2000, 14: 429-33.

(责任编辑:陈望忠)

河豚鱼中毒致呼吸麻痹的临床实质与抢救措施

刘贵真¹, 车嘉琳², 肖明², 方座华²⁽¹⁾ 广州开发区医院呼吸内科, 广东 广州 510730; ² 东莞市虎门医院, 广东 东莞 511700)

摘要:目的 探讨河豚鱼中毒致呼吸麻痹的临床实质与抢救措施。方法 总结分析 33 例诊断明确的河豚鱼中毒患者采取不同抢救方法与效果。结果 使用阿托品解毒及应用呼吸兴奋剂者无明确的药物治疗作用, 及时建立人工气道维持有效呼吸与生命支持等综合措施抢救, 轻、中症患者在 10~14 h 左右痊愈, 极重症患者也可在 19~24 h 内恢复自主呼吸。结论 河豚毒选择阻断神经与肌肉的电生理活动, 呈非去极化型箭毒碱样作用, 致呼吸动力障碍, 与呼吸中枢无关。M 胆碱能受体阻滞剂阿托品及中枢兴奋剂均无明确使用指征, 维持有效通气等综合治疗可达到满意疗效。

关键词: 河豚鱼; 中毒; 呼吸麻痹

中图分类号: R595.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-2588(2005)12-1521-03

Clinical nature of tetrodotoxin intoxication and the measures for emergency rescue

LIU Gui-zhen¹, CHE Jia-lin², XIAO ming², FAN Zuo-hua²

¹Department of Respiratory Diseases, Hospital of Guangzhou Economic-Technological Development Area, Guangzhou 510730, China; ²Humen Hospital, Dongguan 511700, China

Abstract: **Objective** To define the clinical nature of tetrodotoxin intoxication and explore the measures for its emergency rescue. **Methods** The emergency rescue measures and outcomes of 33 cases tetrodotoxin intoxication were reviewed. **Results** No obvious effects were observed in these patients after administration of atropine or application of respiratory stimulant, but implementation of mechanical ventilation and comprehensive life support measures resulted in successful rescue of mild to moderate cases within 10 to 14 h, and recovery of spontaneous respiration was achieved in critical cases in 19-24 h. **Conclusion** Tetrodotoxin selectively blocks the neuromuscular electrical activity, producing the effect of nondepolarizing curine and leading to failure of the respiratory drive without compromising the respiratory center. Atropine, a M- cholinergic receptor blocker, or central stimulants may fail to produce obvious effects, but comprehensive treatments including maintenance of effective ventilation can bring satisfactory effects.

Key words: tetrodotoxin; intoxication; respiration paralysis

近年来沿海地区食用或误食河豚鱼中毒仍经常发生, 抢救不及时或措施不力, 死亡率仍较高。河豚体

内含有较氰化钠毒性还要大 1 000 倍的河豚毒 (TTX), 对人体致死量约为 7 μg/kg·b.w.^[1], 主要存在于河豚鱼的内脏、鱼籽及血液中, 毒性稳定, 经炒、煮不能被破坏, 迄今为止尚无特效解毒剂。TTX 吸收快, 病情发展迅速, 重者全身瘫痪及呼吸肌麻痹, 最后

收稿日期: 2005-05-11

作者简介: 刘贵真, 男(1957-), 1984 年毕业于第一军医大学军医系, 副主任医师, 电话: 020-61647377