

· 论 著 ·

人可诱导共刺激分子胞外片段和小鼠免疫球蛋白 Ig 融合基因的表达及生物学活性鉴定

王 健, 张 军, 张 燕, 沈 茜* (第二军医大学长海医院中心实验室, 上海 200433)

[摘要] **目的:**探讨用基因工程方法表达的人可诱导共刺激分子(ICOS)与小鼠免疫球蛋白的融合蛋白竞争抑制 ICOS-B7RP1 共刺激通路的作用。**方法:**以 RT-PCR 方法克隆编码人 ICOS 胞外片段,与编码小鼠免疫球蛋白 IgG 恒定片段(Ig)的基因融合,构建携带融合基因的高效真核表达载体 pcDNA4/HisMAX A-ICOS-Ig。采用脂质体法转染 CHO 细胞,用 Western 印迹法检测稳定表达细胞中融合基因的表达,流式细胞术检测重组蛋白的配体结合活性。以适当浓度的重组融合蛋白作为拮抗剂与 BALB/c 和 C57BL 小鼠脾单个核细胞进行混合培养,观察重组蛋白在体外抑制淋巴细胞增殖的效果。**结果:**构建了携带融合基因的高效真核表达载体 pcDNA4/HisMAX A-ICOS-Ig; Western 印迹法检测表明转染细胞有重组蛋白的表达;流式细胞术分析显示重组蛋白有配体表达细胞的结合活性;该重组融合蛋白作为拮抗剂可体外抑制混合淋巴细胞增殖。**结论:**构建并成功表达了 ICOS-Ig 融合基因高效真核表达载体;该重组蛋白具有配体结合活性,可在体外通过抑制 ICOS-B7RP-1 共刺激通路抑制淋巴细胞增殖。

[关键词] 可诱导共刺激分子;免疫球蛋白;融合基因;基因表达

[中图分类号] Q 784 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2005)03-0305-05

Fusion protein expression of extracellular portion of human inducible costimulator and Fc portion of mouse IgG2a and its bioactivity *in vitro*

WANG Jian, ZHANG Jun, ZHANG Yan, SHEN Qian* (Central Laboratory, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] **Objective:** To study the bioactivity of inducible costimulator Ig(ICOS-Ig) as an inhibitor of ICOS-B7RP-1 costimulatory pathway *in vitro*. **Methods:** cDNA encoding the extracellular domain of human ICOS was prepared by RT-PCR from the RNA of the stimulated human peripheral blood mononuclear cells. The Fc portion of mouse IgG2a was cloned by PCR from the vector containing the sequence-encoding Fc portion of mouse IgG2a. The above 2 PCR products were ligated into a clone vector: pGL-3-Basic. The fusion gene was then cloned and ligated into a mammalian expression vector: pcDNA4/HisMAX A. The recombined vector was transfected into CHO cells by Lipofectamine2000 and the expression of the fusion protein was identified by Western blot. The mixture lymphoproliferation reaction(MLR) of the lymphocytes derived from BALB/c and C57BL mice was used to detect the fusion protein function *in vitro*. **Results:** Western blot analysis showed the expression of fusion protein, with the molecular weight being 43 000-66 000. FACS analysis assured that expression products had ligand specific binding activity. MLR was inhibited by the fusion protein. **Conclusion:** The constructed recombinant fusion protein has ligand specific binding activity and can inhibit the lymphoproliferation.

[KEY WORDS] inducible costimulator; immunoglobulins; fusion gene; gene expression

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2005, 26(3):305-309]

T 淋巴细胞的完全活化需要两个信号的刺激: 抗原刺激信号和共刺激信号。可诱导共刺激分子(inducible costimulator, ICOS)是最新发现的 CD28 家族成员, T 细胞在双信号作用下活化, 进一步通过表达 ICOS 分子来维持活化 T 细胞的功能, 活化 T 细胞一旦缺乏 ICOS 共刺激信号会停止分化, 很快凋亡^[1~5]。

近年来的研究发现用基因工程重组的配受体蛋白可作为许多蛋白-蛋白间相互作用的拮抗剂, 具有阻断配受体相互作用的能力。基于阻断 CD28/B7 共

刺激通路的重组拮抗剂 CTLA4-Ig、B7 McAb 虽然已在多种免疫性疾病中成功诱导免疫耐受, 但存在疾病复发快、病情慢性迁延等缺点, 研究认为这是 ICOS 共刺激途径存在所致; 因而, 阻断 ICOS 共刺激通路成为诱导免疫耐受的一条新途径^[6]。本研究用基因工程方法克隆了人源 ICOS 分子的胞外片段, 成功进行了

[基金项目] 国家高新技术发展规划(“863”计划)课题(2002AA214091)。

[作者简介] 王 健(1972-), 女(汉族), 博士生。

* Corresponding author. E-mail: mingzlwj@163.com

真核细胞的高效表达并研究了此蛋白对混合淋巴细胞反应(MLR)中淋巴细胞增殖的影响。

1 材料和方法

1.1 试剂、质粒和细胞株 Lipofectamine2000 试剂购自 Invitrogen 公司;各种工具酶购自 TaKaRa 公司;HRP 标记马抗小鼠 IgG 购自 Vector Lab 公司;FITC 标记兔抗小鼠 IgG 购自 DAKO 公司;PE 标记抗 B7RP-1 购自 Ebioscience 公司;小鼠 IgG 纯品、人 IgG 纯品购自鼎国公司;zeocin 和 ECL 发光底物购自上海普飞生物技术公司;DNA 纯化回收试剂盒、质粒 DNA 提取试剂盒购自维特洁公司。细胞培养液购自 Gibco 公司。³H-TdR 购自中国科学院上海原子核研究所。pMD-18T 克隆载体购自 TaKaRa 公司,pcDNA4/HisMAX A 哺乳动物真核表达载体购自 Invitrogen 公司,pGL-3-Basic 克隆载体由本实验室保存,携带小鼠免疫球蛋白 Fc 段基因的质粒 pMD-18T-Ig 由本实验室保存,CHO 细胞购自中国科学院细胞学研究所。

1.2 ICOS 胞外段基因的扩增和克隆 根据人源 ICOS 分子胞外区序列,设计带酶切位点的引物(*Kpn* I):引物 P1:5'-GGT ACC GAA ATC AAT GGT TCT GCC AAT-3'; P2(*Sma* I):5'-TCT AGA CCC GGG CTT CAG CTG GCA ACA AAG TTG-3'。用终浓度为 20 ng/ml 的佛波醇(PMA)和 200 ng/ml 的离子霉素刺激人外周血单个核细胞 72 h,收集细胞。TRIzol 提取总 RNA,RT-PCR 法扩增 ICOS 胞外段基因 360 bp,装入 pMD-18T 克隆载体,获得携带 ICOS 基因的克隆载体 pMD-18T-ICOS。

1.3 小鼠 Ig 的 Fc 段基因的克隆 设计带酶切位点的引物:PFc1(*Sma* I):5'-GCC CGG GGA GCC CAG AGG GCC CAC AAT C-3';PFc2(*Xba* I):5'-GTC TAG ACT CGA GTC ATT TAC CCG GAG TCC GGG A-3'。以装有小鼠 Ig 基因的质粒为模板,扩增出其 Fc 段,装入 pMD-18T 克隆载体,获得携带 Ig 基因的克隆载体 pMD-18T-Ig。

1.4 pcDNA4/HisMAX A-ICOS-Ig 融合基因表达载体的构建 *Kpn* I、*Sma* I 双酶切 pMD18-T-ICOS 质粒,将切下的 ICOS 胞外段定向装入 pGL-3-Basic 克隆载体(pGL-3-Basic-ICOS)。*Sma* I、*Xba* I 双酶切 pMD-18T-Ig 质粒,将切下的 Fc 片段定向装入 pGL-3-Basic-ICOS 克隆载体(pGL-3-Basic-ICOS-Ig),完成 ICOS 胞外段与 Fc 段的连接。*Kpn* I、*Xba* I 双酶切 pGL-3-Basic-ICOS-Ig 质粒,

将切下的 ICOS-Ig 片段定向克隆入 pcDNA4/HisMAX A 质粒的 *Kpn* I、*Xba* I 位点中,获得携带融合基因的真核表达载体 pcDNA4/HisMAX A-ICOS-Ig。

1.5 融合基因 ICOS-Ig 的核苷酸序列测定 分别对 pMD18-T-ICOS、pMD18-T-Ig 进行正、反双向测序,测定所克隆的基因序列;同时对 pcDNA4/HisMAX A-ICOS-Ig 进行正向测序,检查融合基因的开放阅读框的正确性。测序由上海申友生物工程有限公司完成。

1.6 融合基因表达载体转染 CHO 细胞并建立稳定表达株 按说明书用 Lipofectamine2000 将 pcDNA4/HisMAX A-ICOS-Ig 融合基因表达载体转染 CHO 细胞。含 1 000 μg/ml 抗生素 zeocin 的选择培养液筛选受染细胞 14~20 d,挑选单克隆细胞培养后冻存。

1.7 表达产物的 Western 印迹法检测 阳性克隆细胞培养至 48~72 h 时,收集细胞,加入适量裂解液,冰浴裂解细胞,12 000 r/min 离心收集上清,进行聚丙烯酰胺凝胶电泳及 PVDF 膜电转移,以 HRP-马抗鼠 IgG 为检测抗体,ECL 发光底物显色。

1.8 融合蛋白 ICOS-Ig 配体结合活性的检测 1×10^6 Daudi 细胞用 PBS 洗涤 2 次后,加上 PE 标记的抗 B7RP-1 抗体,室温作用 30 min,PBS 洗涤 2 次后,用流式细胞仪检测,Cellquest 软件获取细胞并进行 Daudi 细胞 ICOS 配体分子表型分析。用兔血清封闭 Daudi 细胞表面非特异性结合位点后,加入经 Protein A 亲和柱纯化的 ICOS-Ig 表达细胞的裂解产物及空白对照,37℃ 孵育 1 h,用 FITC 标记的抗小鼠 IgG 为检测抗体,用流式细胞仪分析结合活性。

1.9 融合蛋白 ICOS-Ig 抑制混合淋巴细胞增殖反应及剂量效应关系实验 取 BALB/c 和 C57BL 小鼠脾单个核细胞(2×10^6 /ml)各 50 μl,加入细胞培养液稀释的纯化融合蛋白 ICOS-Ig 100 μl(终浓度为 200、100、50、25、12.5、6.25、0 μg/ml),在 96 孔板中混合培养 5 d,终止培养前 16~18 h 加入 ³H-TdR,计数 cpm 值(1 cpm=60 Bq);以小鼠 IgG(对照 Ig)作为对照;以相应浓度的纯化 ICOS-Ig 与 2×10^5 /孔 Raji 细胞按同样方法培养,计数 cpm 值作为 ICOS-Ig 的细胞毒性对照。

1.10 统计学处理 用 SPSS 10.0 统计软件,曲线拟合法推导回归方程,回归分析、方差分析法统计检验。

2 结 果

2.1 ICOS 胞外段基因的克隆及鉴定 RT-PCR 法从刺激后的人外周血单个核细胞总 RNA 中克隆出 ICOS 胞外段基因,凝胶电泳分离回收 360 bp 目的片段,将其连接至 pMD18-T 载体,以 PCR 法和 *Kpn* I、*Sma* I 双酶切法初步鉴定(图 1)。测序结果与 GenBank 公布结果相同。

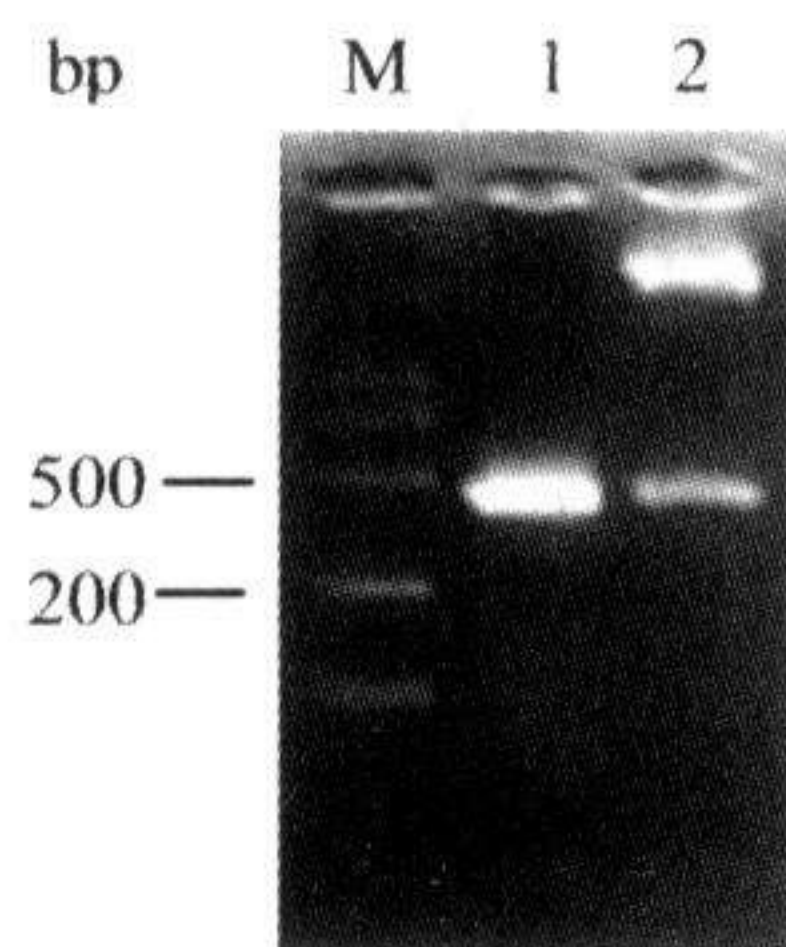


图 1 ICOS 胞外片段克隆入 pMD18-T 载体的 PCR 和双酶切鉴定

Fig 1 PCR and double restriction endonucleases digestion of pMD18-T-ICOS vector

M:DL2000 marker; 1:PCR product using pMD18-T-ICOS vector as template; 2:pMD18-T-ICOS vector double restriction endonucleases digestion

2.2 小鼠 IgG-Fc 段基因的克隆和鉴定 以携带小鼠 IgG-Fc 段基因的质粒为模板,以分别带有 *Sma* I、*Xba* I 位点的引物克隆小鼠 IgG-Fc 段凝胶电泳分离回收 702 bp 目的片段,将其连接至 pMD18-T 载体,以 PCR 法和 *Sma* I、*Xba* I 双酶切法初步鉴定(图 2),测序。测序结果与预期一致。

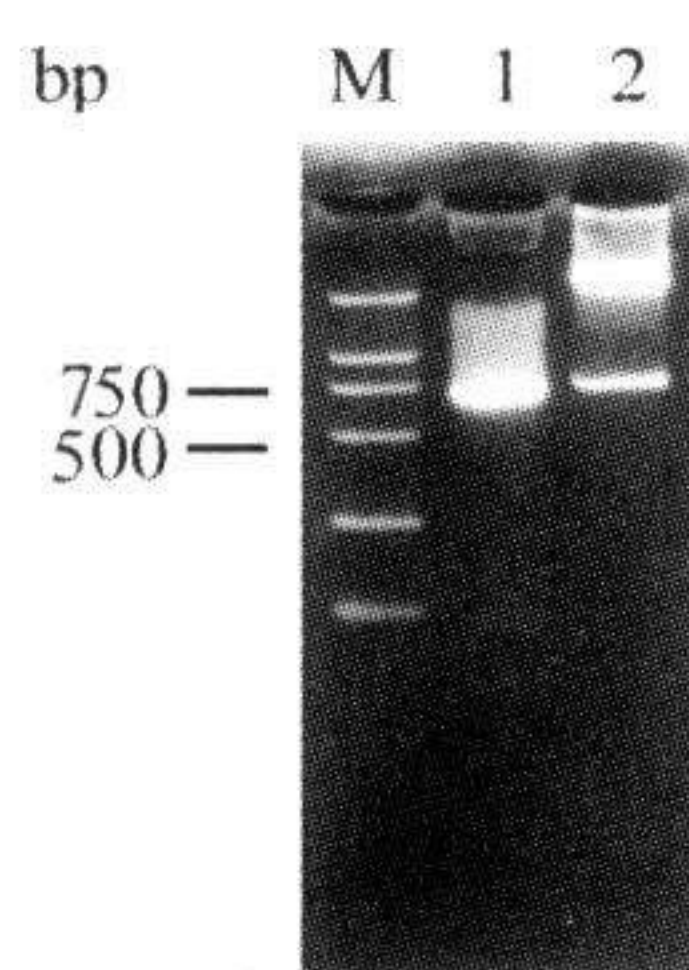


图 2 小鼠 IgG Fc 段克隆入 pMD18-T 载体的 PCR 和双酶切鉴定

Fig 2 PCR and double restriction endonucleases digestion of pMD18-T-Ig vector

M:DL2000 marker; 1:PCR product using pMD18-T-Ig vector as template; 2:pMD18-T-Ig vector double restriction endonucleases digestion

2.3 质粒 pcDNA4/HisMAX A-ICOS-Ig 的构建和鉴定 将 pMD18-T-ICOS 质粒以 *Kpn* I、*Sma* I 双酶切,分离回收长度为 360 bp 的目的片段,将其定向克隆入 pGL-3-Basic 载体的 *Kpn* I、*Sma* I 位

点中;将 pMD18-T-Ig 质粒以 *Sma* I、*Xba* I 双酶切,分离回收长度为 702 bp 的目的片段,将其定向克隆入 pGL-3-Basic 载体的 *Sma* I、*Xba* I 位点中;*Kpn* I、*Xba* I 双酶切质粒 pGL-3-Basic-ICOS-Ig,分离回收长度为 1 068 bp 的目的片段,将其定向克隆入 pcDNA4/HisMAX A 载体的 *Kpn* I、*Xba* I 位点中,PCR 和 *Kpn* I、*Xba* I 双酶切结果与预期相符合(图 3)。

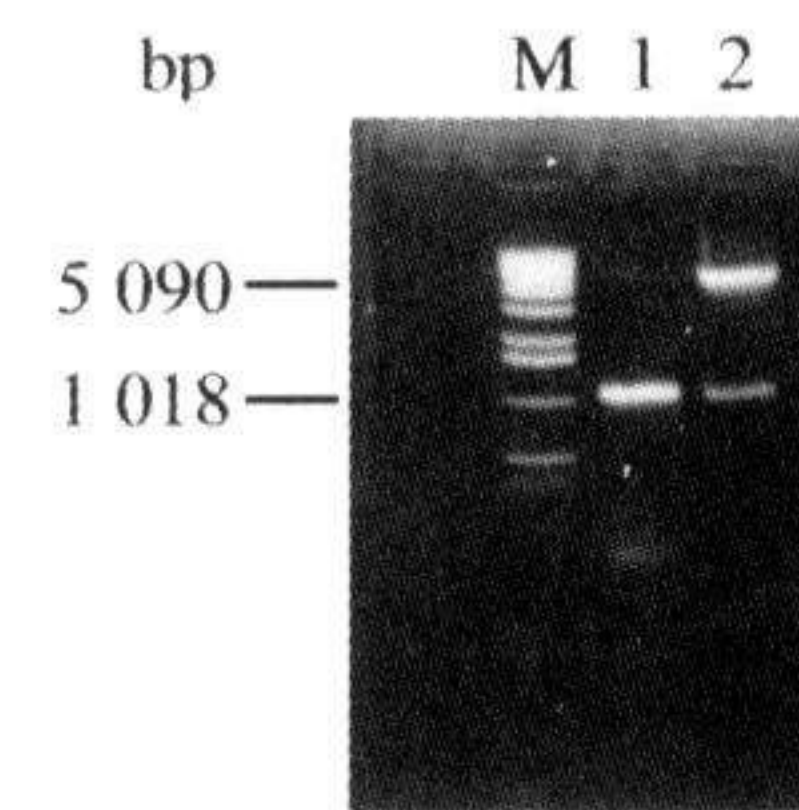


图 3 pcDNA4/HisMAX A-ICOS-Ig 的双酶切和 PCR 结果

Fig 3 PCR and double restriction endonucleases digestion of pcDNA4/HisMAX A-ICOS-Ig

M:1 kb marker; 1:PCR product using pcDNA4/HisMAX A-ICOS-Ig vector as template; 2:pcDNA4/HisMAX A-ICOS-Ig vector double restriction endonucleases digestion

2.4 融合基因 ICOS-Ig 在细胞中表达的鉴定

Western 印迹法结果显示,转染 pcDNA4/HisMAX A-ICOS-Ig 的 CHO 细胞裂解液有特异性条带,融合蛋白的相对分子质量大小在 43 000~67 000 之间(图 4)。

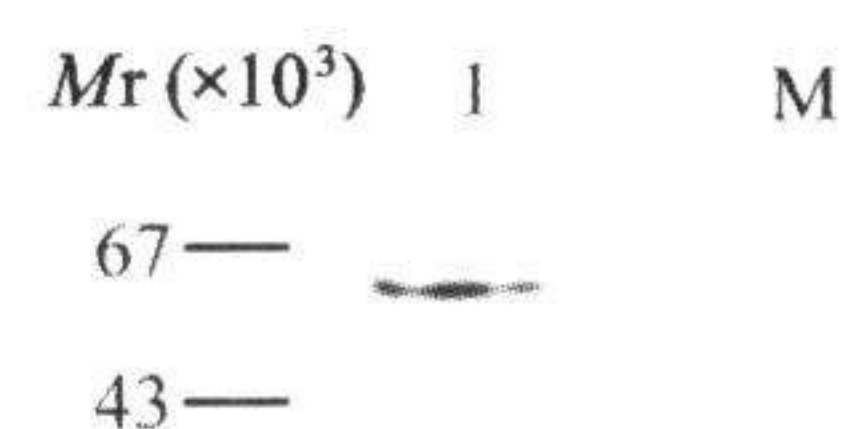


图 4 ICOS-Ig 融合蛋白的 Western 印迹结果

Fig 4 Western blot of ICOS-Ig in transfected CHO cells

1: ICOS-Ig; M: Marker

2.5 融合蛋白 ICOS-Ig 配体结合活性的检测 经流式细胞术检测,Daudi 细胞表面有 ICOS 配体分子 B7RP-1 的表达,阳性率可达 97.5%(图 5)。重组融合蛋白与配体表达细胞有结合活性(图 6)。

2.6 融合蛋白 ICOS-Ig 抑制混合淋巴细胞增殖反应及剂量效应关系实验 为研究重组融合蛋白 ICOS-Ig 竞争结合配体 B7RP-1 分子、阻断 ICOS 共刺激通路而对 MLR 中淋巴细胞增殖的抑制效果,我们用不同浓度重组融合蛋白与淋巴细胞混合培养,结果显示随着 ICOS-Ig 浓度增加,cpm 值相应下

降,两者拟合曲线方程为 $Y = 0.0565X^2 - 17.515X + 1333.15$ ($r=0.98, P=0.0004$);对照 Ig 组,随着小鼠 IgG 浓度增加, cpm 值无明显变化(图 7);细胞毒性对照组,随着 ICOS-Ig 浓度增加, cpm 值无明显变化(图略)。

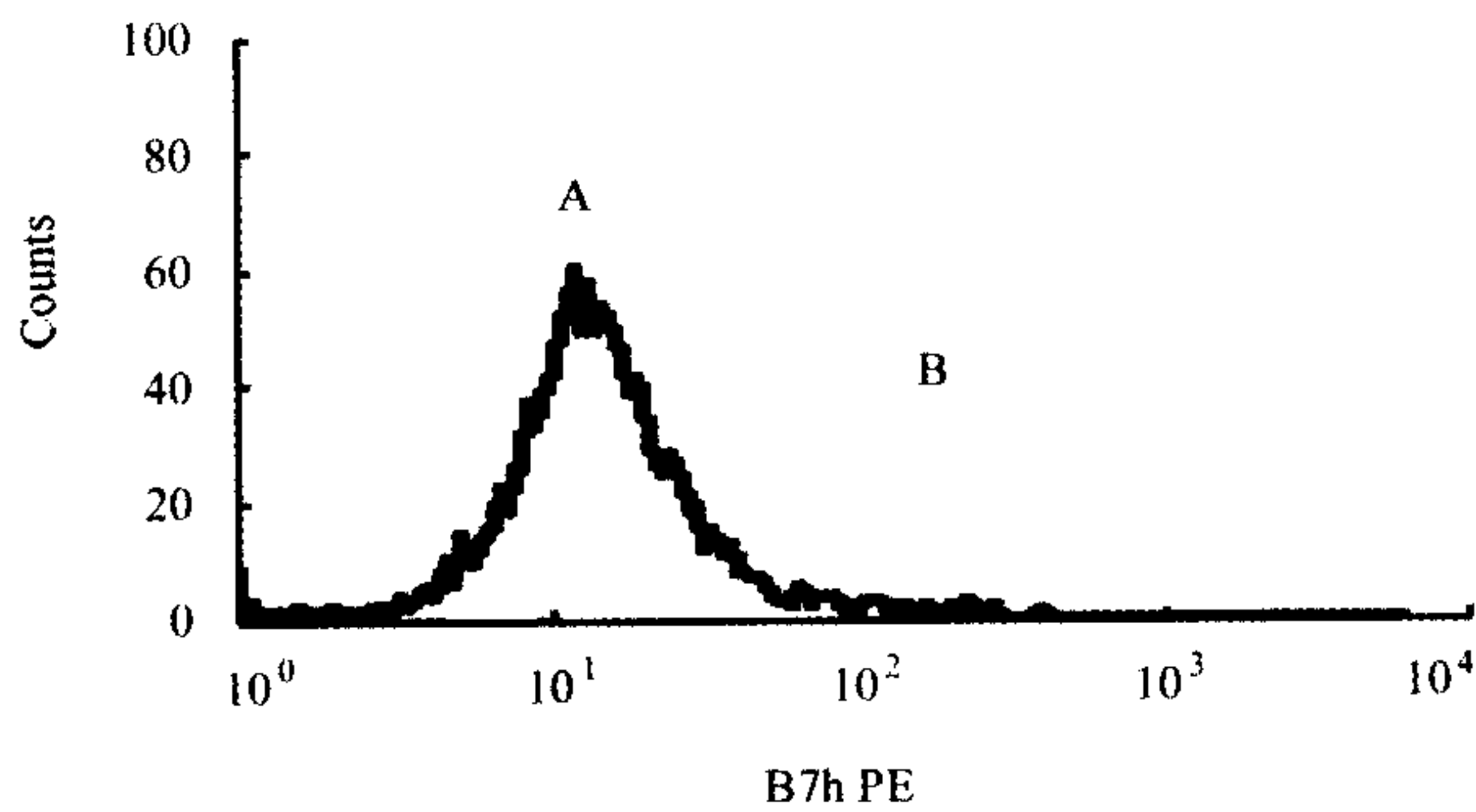


图 5 B7RP-1 在 Daudi 细胞的表达

Fig 5 Expression of B7RP-1 in Daudi cells

A: Unstained Daudi cells as background; B: Daudi cells were stained with PE-anti-B7RP-1 antibody and analyzed by flow cytometry

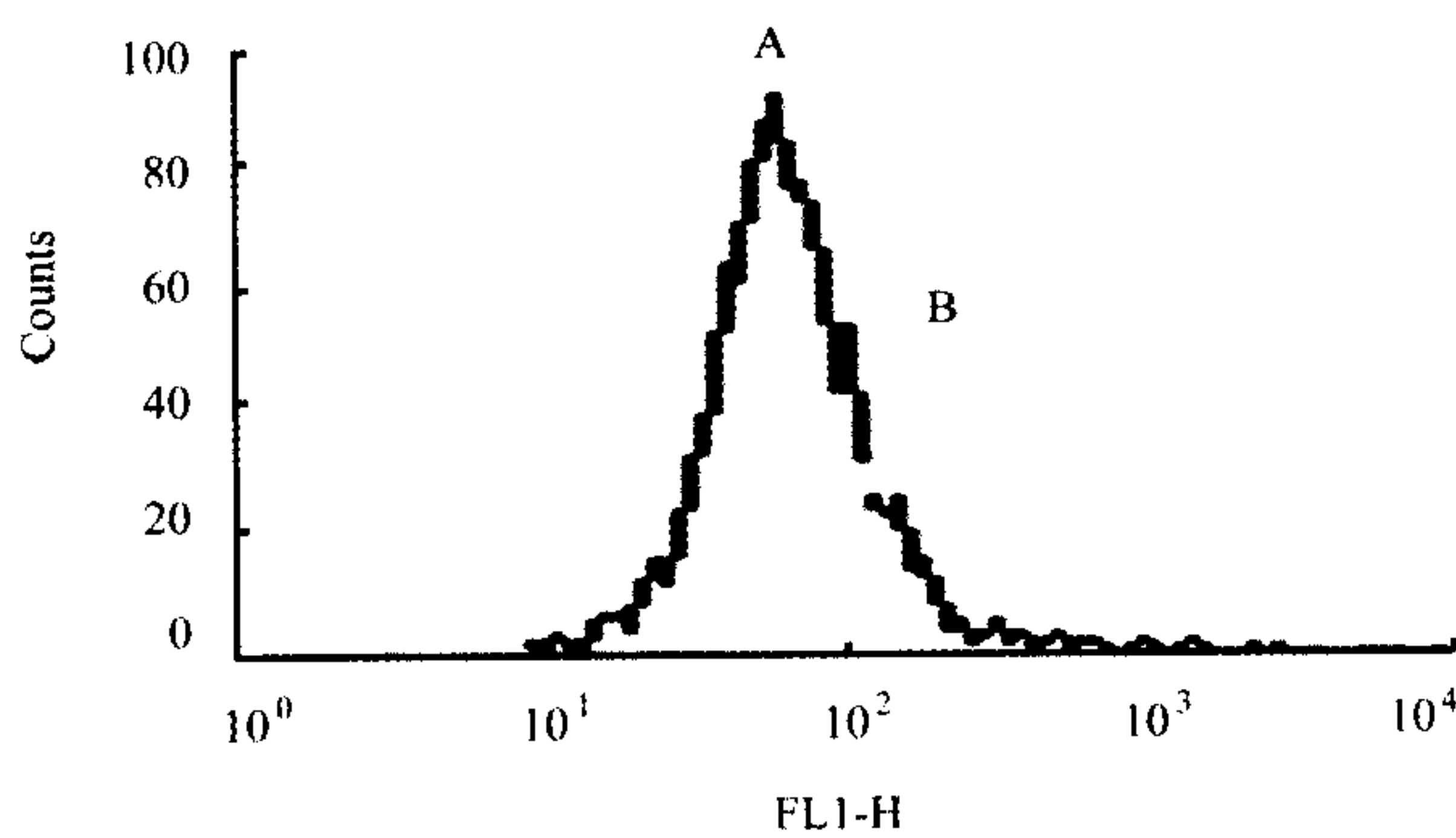


图 6 融合蛋白与 Daudi 细胞 B7RP-1 的结合

Fig 6 ICOS-Ig binding to Daudi cells expressing B7RP-1

A: Daudi cells precoated by rabbit serum were stained with FITC-anti-Ig antibody as background; B: Daudi cells bound by ICOS-Ig were stained with FITC-anti-Ig antibody and analyzed by flow cytometry

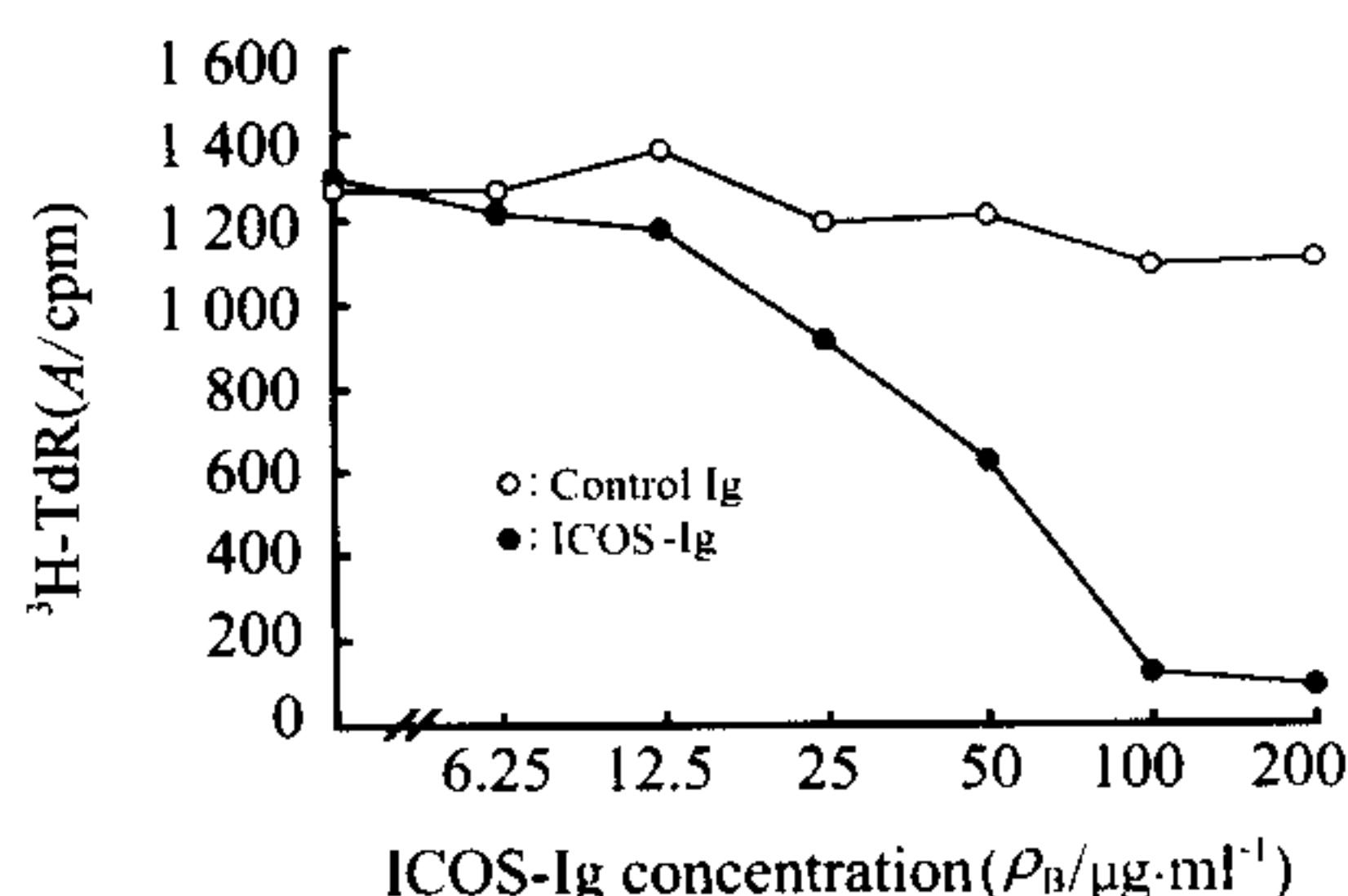


图 7 重组融合蛋白 ICOS-Ig 抑制 MLR 及其剂量效应关系

Fig 7 Fusion protein ICOS-Ig inhibiting MLR and its dosage response curves

3 讨论

ICOS/B7RP-1 是新的 T 细胞共刺激通路,对维

持记忆和效应 T 细胞功能至关重要,该通路的阻断会导致活化 T 细胞无功能并迅速凋亡。T 淋巴细胞受到特异性抗原刺激和 CD28/B7 共刺激信号的作用而活化,此时 T 细胞表达 ICOS 分子,由 ICOS 通路来完成效应 T 细胞所需要的共刺激信号,如果我们阻断 ICOS 通路诱导活化 T 细胞的无应答或凋亡,显然对于诱导特异性免疫耐受是有利的。根据上述理论和设想,我们克隆了人源的 ICOS 分子,构建了人源 ICOS 分子胞外段和小鼠 Ig 片段的融合基因真核表达载体,表达了融合蛋白并观察了该重组蛋白对 ICOS 共刺激途径的阻断和抑制淋巴细胞增殖的作用,为探讨 ICOS-Ig 诱导自身免疫性疾病的耐受和预防器官移植后慢性排斥反应的可行性提供了实验基础。

我们选用的 pcDNA4/HisMAX A 真核表达载体是一个高效的哺乳动物表达载体,选用该载体可以提高真核细胞的表达量至普通表达载体的 4~5 倍。该载体利用 CMV 启动子作为其真核表达启动子,据文献报道,CMV 启动子在 CHO 细胞中的表达效率可达 60%,因而本实验选用 CHO 细胞作为宿主细胞,以达到外源基因转染后高效表达的目的并且可以满足翻译后加工的要求。ICOS 分子的胞外段是与配体结合并引发效应功能的区域,编码该区域基因的克隆已可以满足阻断 ICOS 配受体途径的要求。融合小鼠 Ig 片段的作用是增加融合蛋白在动物实验中的稳定性及方便融合蛋白的检测和纯化^[7]。

从实验结果来看,我们成功地构建了人源 ICOS 分子胞外段和小鼠 Ig 片段的融合基因;重组融合蛋白可与 Daudi 细胞上 B7RP-1 相结合,表明重组 ICOS-Ig 有配体结合活性;当用不同浓度的融合蛋白作为拮抗剂与混合淋巴细胞共同反应,结果显示随融合蛋白浓度增加,淋巴细胞的增殖活性明显下降,彼此存在剂量效应关系,说明我们表达的重组 ICOS-Ig 能体外结合配体 B7RP-1 分子阻断 ICOS 共刺激通路,有效抑制异基因混合淋巴细胞的增殖反应。上述实验结果表明,基因工程重组的 ICOS-Ig 蛋白可以阻断 ICOS 共刺激通路,有望在免疫性疾病的治疗中发挥诱导特异性免疫耐受的作用。

[参考文献]

- [1] Hutloff A, Dittrich AM, Beier KC, et al. ICOS is an inducible T-cell co-stimulator structurally and functionally related to CD28[J]. *Nature*, 1999, 397(6716): 263-266.
- [2] Aicher A, Hayden LM, Brady WA, et al. Characterization of human inducible costimulator ligand expression and function [J]. *J Immunol*, 2000, 164(9): 4689-4696.

- [3] Mages HW, Hutloff A, Heuck G, *et al.* Molecular cloning and characterization of murine ICOS and identification of B7h as ICOS ligand[J]. *Eur J Immunol*, 2000, 30(4):1040-1047.
- [4] Khayyamian S, Hutloff A, Büchener K, *et al.* ICOS-ligand, expressed on human endothelial cells, costimulates Th1 and Th2 cytokine secretion by memory CD4⁺ T cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(9):6198-6203.
- [5] Beier KC, Hutloff A, Dittrich AM, *et al.* Induction, binding specificity and function of human ICOS[J]. *Eur J Immunol*, 2000, 30(12):3707-3717.
- [6] Guo L, Li XK, Funeshima N, *et al.* Prolonged survival in rat liver transplantation with mouse monoclonal antibody against an inducible costimulator (ICOS)[J]. *Transplantation*, 2002, 73(7):1027-1032.
- [7] Andrei IC, Gefeng Z, Lie PC, *et al.* Immunoglobulin fusion proteins as a tool for evaluation of T-cell costimulatory molecules [J]. *Mol Biotechnol*, 2002, 21(1):259-264.

[收稿日期] 2004-07-06

[修回日期] 2004-08-21

[本文编辑] 孙岩

• 个案报告 •

冠心病误诊为 Brugada 综合征一例报告

Coronary heart disease misdiagnosed as Brugada syndrome: a case report

游晓华, 郑兴(第二军医大学长海医院心血管内科, 上海 200433)

[关键词] 冠状动脉疾病; Brugada 综合征; 误诊

[中图分类号] R 541.4

[文献标识码] B

[文章编号] 0258-879X(2005)03-0309-01

1 临床资料 患者男性, 86岁, 因反复晕厥5个月于2004年5月12日入院。2003年12月27日患者劳累后出现胸闷, 休息时突发晕厥, 意识丧失, 小便失禁, 2min后自行清醒。2004年3月1日患者劳累后再次晕厥, 发作情形与第1次相似, 2min后清醒, 至外院就诊, 诊为 Brugada 综合征, 拟安装 ICD 治疗。患者及家属拒绝, 随后至我院进一步诊治。病程中患者无胸痛, 登5层楼时偶有胸闷不适。有高血压及高三酰甘油血症史10年, 长期口服降压、调脂药物治疗。兄弟姐妹及子女中无反复晕厥及猝死史。入院查体: 血压150/90 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa), 神志清楚, 颈静脉无怒张, 双肺呼吸音清, 未闻及干湿性啰音, 心界无扩大, 心率72次/min, 律齐, 胸骨左缘三、四肋间可闻及Ⅱ级SM, 腹平软, 无压痛, 肝脾肋下未及, 双下肢无水肿。胸片示两肺纹理增多, 心影不大, 主动脉钙化。心电图示: 窦性心律, 不完全性右束支传导阻滞合并左前分支阻滞, V₁~V₃导联ST段鞍形抬高0.10~0.15 mV。心脏彩超示: 左房增大(LA 58 ml), 余各房室大小正常, 室间隔上段厚13.0 mm, 中段厚11.7 mm, 左室后壁厚10.0 mm, 二、三尖瓣少量返流, 左室收缩功能正常(EF 55%)。Holter示: 窦性心律, 多发房早, 短阵房速, 室早, 偶见成对出现。2004年5月21日在局麻下行冠状动脉造影术, 术中见左前降支细小, 回旋支近中段多节段狭窄, 最严重处85%狭窄, 右冠近段97%狭窄, 中段两处95%狭窄, 遂对右冠狭窄处行PTCA并植入2根CYPHER支架。冠心病诊断明确, 排除 Brugada 综合征。

2 讨论 Brugada 综合征的临床特点为: 患者大多为男性, 发病年龄集中在40岁左右, 多有明确的晕厥、猝死家族史, 发作时心电图提示为室颤。心电图特点: (1) 心电图表现为完全或不完全右束支传导阻滞, 合并V₁至V₃导联ST段抬高(0.1 mV以上), 多有电轴左偏, 常合并左前分支阻滞; (2) ST段抬高, 呈下斜型或鞍型; (3) PR及QT间期正常。诊断 Brugada 综合征需除外其他心脏疾患。现认为其病理

基础为一种离子通道基因突变SCN5A导致右室心外膜某些部位的过早除极^[2]。Brugada 综合征一旦确诊, 目前临床惟一可能有效的治疗措施是安装ICD, 在室颤发作时自动除颤。本例患者病程中有反复晕厥史, 晕厥时无心电图资料, 平静心电图符合 Brugada 综合征的心电图特点。从病史特点分析, 患者晕厥原因主要可有3种: (1) Brugada 综合征。但患者系86岁男性, 发病年龄与 Brugada 综合征不符, 且患者家族中无晕厥及猝死史, 发病时无心电图资料, 故不能确定。(2) 冠心病致心律失常。患者系高龄男性, 有高血压史, 均为冠心病的易患因素, 病史中虽无明确胸痛史, 不能除外冠心病引起的心电图变化, 遂决定对患者行冠状动脉造影术, 从而明确了冠状动脉狭窄的情况。患者左右冠状动脉均有明显的狭窄, 心肌缺血可致心电不稳, 心律失常, 结合 Holter 中“多发房早, 短阵房速, 室早, 偶见成对出现”的结果, 冠心致心律失常引起晕厥的可能性很大。因考虑患者的安全未行运动平板试验诱发 AVB 或快速心律失常。(3) 脑源性晕厥。患者系老年男性, 冠状动脉病变严重, 不能排除脑血管病变所致晕厥, 可在进一步的随访中行相关检查。患者心电图特点与 Brugada 综合征相符, 但经过冠状动脉造影检查, 一方面排除了 Brugada 综合征的诊断, 不考虑安装 ICD, 排除了家族遗传性疾病的可能, 从某种程度上减轻了家属的心理负担; 另一方面明确了冠心病的诊断, 冠状动脉的严重狭窄得到了介入治疗, 并指导临床加强冠心病的治疗。心电图表现符合 Brugada 综合征的报道屡见不鲜, 但临床确诊 Brugada 综合征仍需慎重, 排除器质性心脏病尤为关键, 这对指导患者的进一步治疗及家族的疾病防治有重要意义。

[收稿日期] 2004-09-24

[修回日期] 2004-12-27

[本文编辑] 曹静

[作者简介] 游晓华(1975-), 女(汉族), 博士生, 讲师、主治医师。