

[24] Rogers HM, Yu X, Wen J, et al. Hypoxia alters progression of the erythroid program[J]. Exp Hematol, 2008, 36(1): 17-27.

[25] Hattangadi SM, Lodish HF. Regulation of erythrocyte lifespan: do reactive oxygen species set the clock[J]. Clin Invest, 2007, 117(8): 2075-2077.

[26] Nemeth E. Iron regulation and erythropoiesis[J]. Curr Opin Hematol, 2008, 15(3): 169-175.

[27] de Domenico I, Ward DM, Kaplan J. Hepcidin regulation: ironing

out the details[J]. Clin Invest, 2007, 117(7): 1755-1758.

[28] Tsiftoglou AS, Tsamadou AI, Papadopoulou LC, et al. Heme as key regulator of major mammalian cellular functions: molecular, cellular, and pharmacological aspects[J]. Pharmacol Ther, 2006, 111(2): 327-345.

(收稿日期: 2011-01-05)

• 综 述 •

端粒、端粒保护蛋白与动脉粥样硬化的研究进展*

张艳波 综述, 王 军 审校
(广西壮族自治区南溪山医院神经内科, 桂林 541002)

关键词: 端粒; 动脉粥样硬化; 端粒保护蛋白
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 10. 029 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2011)10-1078-04

端粒是真核细胞染色体末端的 1 段特殊 DNA-蛋白质复合体结构,它在维持细胞稳定,稳定染色体功能,防止染色体 DNA 降解、末端融合,保护染色体结构基因,调节正常细胞生长中具有重要作用^[1]。近年来的研究表明,端粒与一些年龄相关疾病(如动脉粥样硬化)的形成及冠心病有关^[2-4]。端粒保护蛋白(POT1)是结合于富含 G 的端粒单链重复序列,广泛存在于各种真核生物细胞中的 1 种蛋白家族。目前的研究均表明,POT1 蛋白在细胞分裂、端粒长度调控、末端保护、端粒功能维持以及染色体的稳定方面有着非常重要的作用,并且表达水平的变化与动脉粥样硬化的发生、发展有密切关系^[5-7]。近年来人们逐渐认识到端粒、端粒保护蛋白与动脉粥样硬化之间的关系有着重要意义,本文就此作一综述。

1 端粒的结构和功能

早在 20 世纪 30 年代有学者在果蝇实验中发现,经 X 线照射的果蝇染色体极不稳定,易产生染色体断裂,而且断裂产生的染色体片段可相互连接、融合,但在天然染色体末端则不能与其他片段发生连接,说明天然染色体末端有某种特殊结构将其封闭。Blackburn^[8]首次阐明了四膜虫 rDNA 分子的末端结构,他们发现这种 rDNA 每条链的末端均含有大量的重复片段,并且这些大量重复的片段多是由富含 G、C 的脱氧核苷酸形成的简单序列串联而成。因此,将这种可使染色体保持稳定的末端称之为端粒。

1.1 端粒的结构 端粒位于真核细胞染色体末端 1 段特殊的 DNA-蛋白质复合体,真核细胞端粒 DNA 很相似,由短串联重复序列(TTAGGG)_n 组成,四膜虫端粒的重复序列为(5'-TTGGGG-3'),人类染色体端粒的重复序列为(5'-TTAGGG-3'),数量有几千个拷贝。不同物种的染色体端粒 DNA 的长度不同,平均 5~15 kb,人类端粒 DNA 由 7 000~10 000 bp 的双链区和约几百个核苷酸组成的富含鸟苷酸的单链 DNA 3'突出末端组成^[9]。但是 3'端并不悬挂在端粒末端,而是与 POT1 和 TRF2 等端粒相关蛋白协同作用,折回到端粒内部双链重复序列的某一区域,并将该区域的 1 段自身链置换出来,取而代之与互补链配对,形成的 1 个环称为 T 环(端粒环),3'最末端单

链区反转探入端粒的双链区再形成 D 环(替代环)^[10]。这样,位于染色体末端富含 G 的端粒 DNA 突出链就在 Watson-Crick 碱基配对的 G-G 连接下,能够形成分子内或分子间鸟嘌呤四联体(G 四联体)的二级结构,该结构有很大的动力学稳定性,形成 1 种分子内折叠的稳定性结构^[11-12]。

1.2 端粒的功能 端粒的功能就如同是给染色体末端加 1 个保护性的“帽子”,完成染色体末端的复制,维持细胞稳定,稳定染色体的功能,防止染色体 DNA 降解、末端融合,保护染色体结构基因,维持染色体的稳定性,在有丝分裂后期染色体的分离、减数分裂时染色体的重组以及 DNA 双链损伤后的修复都有重要作用。端粒的位置和长度的改变是细胞衰老的信号。因为 DNA 聚合酶并不能完全复制 3'的单链 DNA,故端粒随着细胞分裂而渐进性缩短,一般丢失速度为 50~200 bp/次。当端粒缩短到一定程度,其末端功能丧失,染色体失稳,细胞进入老化期并随后死亡。在许多细胞类型中,衰老及后来的细胞死亡常常在端粒长度缩短达到 1 个关键值时发生^[10,13]。

1.3 端粒相关蛋白 端粒相关蛋白通过与端粒 DNA 相互作用,阻止端粒被核酸酶、解旋酶等因子破坏,从而调节端粒的长度,影响端粒的功能,对细胞的癌变、永生化、衰老起重要作用。迄今为止已经从包括人在内的多种生物中分离提纯了数十种与端粒作用相关的蛋白,已经克隆的与人类端粒相关的蛋白有 TRF1、TRF2、POT1、Tankyrase、TIN2 和 UP1 等。目前的研究发现,POT1 是调节端粒的重要蛋白之一。研究发现,若敲除 POT1 基因,端粒序列快速丢失,染色体端-端融合,细胞死亡,可见,POT1 最重要的功能是对端粒有直接而重要的保护作用^[14]。POT1 能直接与端粒 DNA 富含 G 单链结合,似“帽子”戴在染色体两端,防止端粒 DNA 序列丢失、降解、重组,人们形象地称 POT1 为“端粒保镖”。因此, POT1 也一直是研究的焦点之一。

2 POT1 的结构和功能

POT1 是 Baumann 等^[15]于 2001 年在人类和裂殖酵母细胞中发现的端粒单链结合蛋白,这些蛋白结合于富含 G 的端粒单链重复序列,对染色体的末端有直接的保护作用,因此将

* 基金项目: 广西省桂林市科技开发项目基金(20100315-9)。

其命名为 POT1 蛋白。

2.1 POT1 的结构 POT1 蛋白普遍存在于真核细胞中,其近氨基端有一高度保守区域,该区由约 120 个氨基酸组成。hPOT1 蛋白全长 634 个氨基酸,具有 2 个重要结构域:一个是其 N 端的 DNA 结合结构域 OB-fold,用以识别、结合端粒单链 DNA,可以和寡核苷酸、寡糖或多肽特异结合。每个 OB-fold 是 1 个小结构域,该结构域包括由 5 条链组成的高度弯曲的反向平行 β -barrel, β -barrel 的侧面和 2 个突出环 L12、L45 构成一发夹状或沟状结构,单链端粒 DNA 就嵌于其中^[5,16]。OB-fold 是单链端粒结合蛋白家族共有的结构域,具有保守性,是其特异地、高亲合性地结合端粒单链 DNA 的结构基础,可以特异地识别单链端粒 DNA 特定序列。尽管 POT1 蛋白进化保守,但不同物种的 POT1 蛋白其氨基酸序列、蛋白结构还是有所不同。因 POT1 蛋白结构和端粒 DNA 序列的差异,不同物种中, POT1 蛋白的端粒 DNA 结合位点也有所不同。在人类细胞, POT1 的最小结合位点 (MBS) 是 (5'-TTAGGGTTA G-3'), 最适底物是 (TTAGGG)_n^[17]。在鸡细胞, POT1 的最小结合位点是 (5'-GGT TAG GGT TAG-3'), 最适底物是 (GGT-TAGGGTTAG)_n。而酿酒酵母的 POT1 蛋白最小结合位点仅为 6 个核苷酸。

另一个是 C 端的蛋白相互作用结构域,与 TRF1 相互作用蛋白结构域。通过 C 端的蛋白相互作用结构域, POT1 与其他的端粒相关蛋白协同作用,发挥生理功能。对人类 POT1 蛋白 C 端结构域的研究发现, POT1 蛋白由 C 端的 312~634 位氨基酸残基组成蛋白作用结构域,直接与 PTOP 结合,通过 PTOP/PIP1 与其他端粒相关蛋白相互作用,传递细胞的调控信息,调控端粒的结构和功能状态。

2.2 POT1 对端粒功能的维持及可能的作用机制 POT1 的主要作用是维持端粒的正常功能,保持基因组的稳定性。研究发现,敲除裂殖酵母 *POT1* 基因将直接导致严重的生长缺陷、端粒序列丢失以及细胞凋亡,抑制人类细胞 POT1 蛋白的表达,导致染色体环化、基因不稳、细胞衰老和凋亡^[5,18]。POT1 蛋白表达缺失所导致的细胞生物学行为改变,主要是由端粒功能异常而引起。

2.2.1 POT1 蛋白通过染色体末端加帽,保护染色体末端。在真核细胞的间期, POT1 和 TRF2 等端粒相关蛋白协同作用,端粒 3' 突出单链反向折回,形成 T 环和 D 环^[19]。形成的 T-loop 结构,能隐藏 DNA 末端,从而起到保护作用。然而 T 环通常只包括端粒的重复序列,而且常常涵盖整个 10~20 kb 的端粒重复序列。所以,重复序列长的端粒形成的 T 环大,重复序列短的端粒形成的 T 环小,如果端粒序列太短,则无法形成 T 环结构。如 *O. nova* 大分子的端粒双链区不到 50 bp,酵母只有 300~400 bp,都无法形成 T 环结构,但是其仍有功能性的端粒,这说明 POT1 与端粒 3' 悬突的结合也能直接提供有效的末端保护。无论 POT1 直接结合端粒单链 DNA,还是形成 T-loop 结构,结合于 D 环,它都像 1 个帽子,与其他端粒结合蛋白共同覆盖于端粒末端,使其区别于一般的双链断裂,免受 DNA 修复酶的作用,防止核酸降解和末端融合,保护染色体末端^[5,19]。当 POT1 蛋白表达降低时,端粒加帽因子减少, T 环不稳,末端融合,引发 DNA 损伤修复应答,从而导致细胞基因不稳、染色体畸变、细胞衰老和凋亡^[20-21]。过度活化的 DNA 损伤修复系统,可使部分细胞染色体重排,导致细胞的恶性转化。

2.2.2 POT1 对端粒长度的调控及可能的作用机制 端粒需要维持一定的长度才具有正常的生物学功能,其长度的维持机制目前有两种学说:正调控机制和负调控机制。Kelleher 等^[22]研究发现, hPOT1 在体内负性调控端粒酶的活性,其对端粒 3' 单链的结合阻碍了端粒酶对端粒的延长。他们认为端粒酶阳性的细胞,端粒长度主要被端粒双链结合蛋白 TRF1 影响和调控,端粒越长 TRF1 结合越多, TRF1 通过 TIN2→PIP/PTOP→hPOT1 途径将大量的 hPOT1 募集于端粒处。由于 hPOT1 蛋白对端粒 3' 突出有优先结合权,大量的 hPOT1 蛋白与端粒末端单链 DNA 的结合,封闭了 3' 末端,阻止了端粒对端粒的延长^[22-23]。因此认为, hPOT1 是 TRF1 复合物对端粒长度负反馈调节的信息传递者,是 1 种端粒长度的负性调控因子。Loayza 和 de Lange^[23]研究也发现,当 hPOT1 蛋白覆盖端粒 DNA 3' 末端时,可能抑制端粒酶的活性,或使端粒酶无法接近端粒而阻止端粒延长。因此,当端粒足够长时,单链端粒 DNA 3' 末端的 hPOT1 蛋白增多,端粒延长受抑制。反之,当端粒的长度太短时,很少甚至没有 hPOT1 蛋白转移到 3' 末端,从而促进端粒延长。他们因此提出, hPOT1 蛋白是端粒长度的负调节因子。与上述 POT1 蛋白是端粒长度的负调节因子的观点不同,有学者用反义寡核苷酸抑制 MKN28 胃癌细胞 POT1 蛋白表达后发现,宿主细胞的端粒和 3' 单链都明显缩短^[24]。还有学者发现,稳定过表达 hPOT1 变异体蛋白 1、2、3 的人纤维肉瘤 HT1080 细胞与转染空载体对照组端粒的平均长度分别为 14.6 kb,而该 2 组细胞中的端粒酶活性并没有差别^[25]。此外,稳定过表达 hPOT1 蛋白的端粒酶阴性细胞端粒长度没有延长。因此,提出 POT1 蛋白对端粒长度延长的正调节作用。对于 POT1 蛋白对端粒长度调控何以出现两种截然相反的结果,目前没有满意的解释,也可能 POT1 本身具有双重的作用,在细胞周期的不同阶段,行使不同的功能。

2.2.3 与其他蛋白协同作用,维持端粒功能 POT1 对染色体的末端保护和端粒长度的调控,是与其他端粒结合蛋白协同完成的。除 POT1 外,目前发现的端粒结合蛋白有 TRF1、TRF2、PTOP/PIP1、TIN2、RAP1、Tankyrase 等,这些蛋白分别以 TRF1 和 TRF2 为核心形成两大功能网。POT1 通过 POT1→PTOP/PIP1→TIN2→TRF1 途径,形成 TRF1 复合物,调控端粒长度,还可能通过 TRF1 复合物与 PINX1 相互作用,调节端粒酶的活性。研究发现, TRF1 介导 POT1 的核内定位, RNAi 干扰抑制 TRF1 表达后,导致与端粒结合的 POT1 减少。POT1 通过 POT1→PTOP/PIP1→TIN2→TRF2 途径,形成 TRF2 复合物,促使 T 环形成和保护端粒末端,共同维持端粒的完整^[26]。体外实验表明,抑制 POT1 或者抑制 TRF2 蛋白表达后,细胞出现同样的 cut-like 表型, POT1 还可能通过 TRF2、RAP1 与 RAD50/MER11/NBS1、KU86、ERCC1/XPF 蛋白相互作用,参与 DNA 的损伤修复应答。

3 POT1、端粒与动脉粥样硬化之间的关系

近年来,关于端粒与动脉粥样硬化发生、发展的关系是 1 个新的研究方向。目前有多项研究表明,端粒与一些年龄相关的疾病(如动脉粥样硬化)形成及冠心病有关。Huzen 等^[27]研究指出,在活体中,淋巴细胞端粒长度在动脉粥样硬化患者较无动脉粥样硬化对照组短,动脉粥样硬化斑块端粒长度同斑块的特点及发展与心血管事件相关。Scott 等^[28]研究也提示,心血管疾病中的端粒缩短可能是冠心病的新的、独立的危险因素。在近期的研究中也提出,发展成动脉粥样硬化血管组织中

的端粒长度,较没有发展成动脉粥样硬化的血管组织中的端粒长度短。以上多项研究均表明,动脉粥样硬化的发生、发展与端粒长度的变化有明显关系。最近几年对 POT1 研究取得很大进展,其结构功能不断得以被了解。POT1 蛋白对端粒长度的调控、端粒功能的维持以及染色体的稳定有着非常重要的作用;同时,POT1 蛋白对端粒酶依赖的端粒长度的调控、端粒功能的维持以及染色体的稳定有着非常重要的作用,其表达水平的变化与动脉粥样硬化的发生、发展有密切的关系。但关于 POT1 蛋白通过调节端粒长度而影响动脉粥样硬化的发生、发展方面的研究目前国内、外均未见报道,需要进一步的研究来进行解释,本课题组目前正致力于此方面的研究。

4 展 望

研究提示,端粒与动脉粥样硬化有着密切的关系,并且端粒长度在动脉粥样硬化中是缩短的。但目前的问题是在动脉粥样硬化中,端粒长度缩短是动脉粥样硬化独立的危险因素,还是动脉粥样硬化引起端粒的消耗,即端粒的消耗是动脉粥样硬化的原因还是结果。另外,端粒长度的耗损对于动脉粥样硬化的其他危险因素的影响是主要的还是次要的,假如是主要影响,那么,平均白细胞端粒长度是否为动脉粥样硬化的 1 个独立预测因子,目前关于这方面的研究还处在 1 个空白阶段。假如这方面的研究能够成立,那么就能代表 1 种基本的机制,它将对于动脉粥样硬化遗传病因学的理解和动脉粥样硬化的发病机制有重要的意义,至少提供了对于临床结局发生的年龄变化及个体差异的部分解释。

POT1 是染色体末端保护及端粒长度调控的重要因子,这一点已得到多项研究的证实。目前对 POT1 蛋白的结构与功能的了解尚未完全清楚,关于其与动脉粥样硬化之间确切关系的机制,在动脉粥样硬化中的确切表达情况,人 POT1 蛋白能否通过调节端粒长度影响动脉粥样硬化的发生、发展,是否能为动脉粥样硬化治疗提供有前景的治疗方法,这些都是有待深入研究的问题。本课题组目前已成功提取了动脉粥样硬化的 POT 蛋白,且完成了 POT 蛋白表达与动脉粥样硬化之间的关系,下一步将更深入地研究 POT1、端粒长度、动脉粥样硬化之间的关系。

参考文献

- [1] Zipser Y, Piade A, Kosower NS. Erythrocyte thiol status regulates band 3 phosphotyrosine level via oxidation/reduction of band 3-associated phosphotyrosine phosphatase[J]. FEBS Lett, 1997, 406 (122): 126-130.
- [2] Nzietchueng R, Elfarra M, Nloga J, et al. Telomere length in vascular tissues from patients with atherosclerotic disease[J]. J Nutr Health Aging, 2011, 15(2): 153-156.
- [3] Huzen J, vander Harst P, de Boer RA, et al. Telomere length and psychological well-being in patients with chronic heart failure[J]. Age Ageing, 2010, 39(2): 223-227.
- [4] Huzen J, de Boer RA, van Veldhuisen DJ, et al. The emerging role of telomere biology in cardiovascular disease[J]. Front Biosci, 2010, 15(1): 35-45.
- [5] Baumann P, Cech TR. POT1 the putative telomere end-binding protein in fission yeast and humans[J]. Science, 2001, 292(5519): 1171-1175.
- [6] Cifuentes-Rojas C, Kannan K, Tseng L, et al. Two RNA subunits and POT1a are components of arabidopsis telomerase[J]. Proc Natl Acad Sci, 2011, 108(1): 73-78.

- [7] Surovtseva YV, Shakirov EV, Vespa L, et al. Arabidopsis POT1 associates with the telomerase RNP and is required for telomere maintenance[J]. EMBO J, 2007, 26(15): 3653-3661.
- [8] Blackburn EH. Structure and function of telomeres[J]. Nature, 1991, 350(6319): 569-573.
- [9] Britt-compton B, Rowson J, Locke M, et al. Structural stability and chromosome-specific telomere length is governed by cis-acting determinants in humans[J]. Hum Mol Genet, 2006, (15): 725-733.
- [10] Zvereva MI, Shcherbakova DM, Dontsova OA. Telomerase: structure, functions, and activity regulation[J]. Biochemistry (Mosc), 2010, 75(13): 1563-1583.
- [11] Bilaud T, Brun C, Ancelin K, et al. Telomeric localization of TRF2, a novel human telobox protein[J]. Nature Genet, 1997, 17 (2): 236-239.
- [12] Chen Z, Xiu MH, Li SF, et al. The biological functions of G-quadruplex[J]. Sheng Li Ke Xue Jin Zhan, 2010, 41(5): 329-334.
- [13] Nguyen BN, Elmorel LW, Holt SE. Mechanism of dominant-negative telomerase function[J]. Cell Cycle, 2009, 8(19): 3227-3233.
- [14] Giannone RJ, McDonald HW, Hurst GB, et al. The protein network surrounding the human telomere repeat binding factors TRF1, TRF2, and POT1[J]. PLoS One, 2010, 5(8): e12407.
- [15] Baumann P, Podell E, Cech TR. Human POT1 (protection of telomeres 1) protein: cytolocalization, gene structure, and alternative splicing[J]. Mol Cell Biol, 2002, 22: 8079-8087.
- [16] Wang H, Nora GJ, Ghodke H, et al. Single molecule studies of physiologically relevant telomeric tails reveal POT1 mechanism for promoting G-quadruplex unfolding[J]. J Biol Chem, 2011, 286 (9): 7479-7489.
- [17] Loayza D, Parsons H, Donigian J, et al. DNA binding features of human POT1: a nonamer 5'-TAGGGTTAG-3' minimal binding site, sequence specificity, and internal binding to multimeric sites [J]. J Biol Chem, 2004, 279(13): 13241.
- [18] Flynn RL, Centore RC, O'Sullivan RJ, et al. TERRA and hnRNP-A1 orchestrate an RPA-to-POT1 switch on telomeric single-stranded DNA[J]. Nature, 2011, 471(7339): 532-536.
- [19] de Lange T, Cell B. Telomere capping—one strand fits all[J]. Science, 2001, 292(5519): 1075.
- [20] Veldman T, Etheridge KT, Counter CM. Loss of hPOT1 function leads to telomere instability and a cut-like phenotype[J]. Curr Biol, 2004, 14: 2264-2270.
- [21] Pitt CW, Cooper JP. POT1 inactivation leads to rampant telomere resection and loss in one cell cycle[J]. Nucleic Acids Res, 2010, 38 (20): 6968-6975.
- [22] Kelleher C, Kurth I, Lingner J. Human protection of telomeres 1 (POT1) is a negative regulator of telomerase activity in vitro[J]. Mol Cell Biol, 2005, 25(2): 808-818.
- [23] Loayza D, de Lange T. POT1 as a terminal transducer of TRF1 telomere length control[J]. Nature, 2003, 423: 1013-1018.
- [24] Smogorzewska A, de Lange T. Regulation of telomerase by telomeric proteins[J]. Annu Rev Biochem, 2004, 73: 177-208.
- [25] Evans SK, Lundblad V. Est1 and Cdc13 as comediators of telomerase access[J]. Science, 1999, 286: 117-120.
- [26] Ye JZ, Hockemeyer D, Krutchinsky AN, et al. POT1-interacting protein PIP1: a telomere length regulator that recruits POT1 to the TIN2/TRF1 complex[J]. Genes Dev, 2004, 18(14): 1649-1654.
- [27] Huzen J, Peeters W, de Boer RA, et al. Circulating leukocyte and

carotid atherosclerotic plaque telomere length; interrelation, association with plaque characteristics, and restenosis after endarterectomy[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(5): 1219-1225.

[28] Scott WB, Jasbir SM, Alex D, et al. Telomere length, risk of coro-

nary heart disease, and statin treatment in the west of Scotland primary prevention study: a nested case-control study[J]. Lancet, 2007, 369(9556): 107-114.

(收稿日期: 2011-04-16)

• 综 述 •

儿童肝衰竭的研究进展

黄翩翩 综述, 朱朝敏 审校

(重庆医科大学附属儿童医院感染消化科/重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地 400014)

关键词: 儿童; 诊断; 肝移植; 病因; 肝衰竭

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.10.030

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)10-1081-03

儿童肝衰竭因其病情进展快、病情重、病死率高成为儿科医师最具挑战性的疾病之一。目前在世界范围内对儿童肝衰竭的研究仍然有限,无统一的命名、分类及诊断标准;强调内科综合治疗,大大提高肝衰竭儿童生存率;预后因病情、干预措施等因素而异。因此,儿童肝衰竭的研究进展对该病的认识及控制有重要意义。

1 儿童肝衰竭的定义及诊断标准

1.1 在国内,儿童肝衰竭又有儿童重症肝炎、小儿爆发性肝炎之称,《肝衰竭诊疗指南》将肝衰竭定义为多种因素引起的严重肝脏损害,导致其合成、解毒、排泄和生物转化等功能发生严重障碍或失代偿,出现以凝血机制障碍和黄疸、肝性脑病、腹水等为主要表现的 1 组临床症候群。国外文献则以 PALF 多见。PALF 定义为原先无肝脏损害,8 周内突发严重肝功能障碍,不出现肝性脑病而注射维生素 K₁,无法纠正的凝血障碍,PT>20 s 或 PT(INR)>2.0;或肝性脑病合并凝血障碍,PT>15 s 或 PT(INR)>1.5^[1]。目前国内较公认的说法是 2009 年中国儿科肝病学术会议提出的儿童肝衰竭定义:无已知慢性肝病的患儿出现严重急性肝功能受损的多系统紊乱,伴或不伴与肝细胞坏死有关的脑病。该定义不再将肝性脑病作为诊断的必要条件,与国外文献所提及的定义有相似之处。

1.2 诊断标准 目前国内对儿童肝衰竭无明确及统一的诊断标准,2006 年国内制定的《肝衰竭诊疗指南》遵守了循证医学原则,依据病史、临床表现和辅助检查等综合分析,将肝衰竭分为急性、亚急性、慢加急性(亚急性)及慢性肝衰竭,根据临床表现及黄疸加深程度、凝血酶原活动度及肝性脑病的出现进行临床分期。上述方案及指南均为成人制定,而儿童肝衰竭的病因及临床表现与成人有较大差别,国内肝衰竭的诊断标准中,均将肝性脑病列为诊断的必要条件,但肝性脑病在肝衰竭患儿中出现比较晚甚至不出现,并且诊断较为困难。因此,肝性脑病在儿童肝衰竭的诊断中是否作为必要因素、儿童肝衰竭的临床分期、实验室诊断标准等是否有别于成人仍待进一步研究。

2 儿童肝衰竭的病因及病理分析

2.1 儿童肝衰竭与成人肝衰竭不同,从病程上看,成人以慢性肝衰竭多见,儿童以急性、亚急性肝衰竭多见,从病因上比较,国内成人以乙型肝炎病毒引起的肝衰竭多见,国外以对乙酰氨基酚过量导致肝衰竭多见,而儿童则大多数原因不明。

中国人民解放军第三〇二医院收治的 120 例儿童肝衰竭的临床资料显示,儿童肝衰竭病因与年龄有较大的关系。在婴儿组中,肝衰竭主要是由巨细胞病毒感染引起的,但 40.6%病

因不能明确;年长儿组在已知病因中以 HBV、HAV 感染为主,但在引起肝衰竭的其他因素中,肝豆状核变性是最常见的原因^[2]。该研究临床与病理的诊断符合率 88.9%。另外,Robert 等^[3]报道,儿童急性肝衰竭研究小组对 348 例不同种族的儿童进行研究(以白人为主),结果显示 49%病因不能明确,对乙酰氨基酚中毒占 14%,排第 2 位。在已知引起肝衰竭的病因中,包括病毒性肝炎、中毒性肝病、遗传代谢性肝病、肝内、外胆道闭锁和 Caroli 综合征及淤血性肝病等,国内以嗜肝病毒感染多见,国外则以对乙酰氨基酚中毒为首因。

2.2 肝衰竭病理诊断 肝脏病理活检是肝病诊断的金标准,通过肝脏细胞坏死、水肿程度及再生情况可明确肝衰竭的分型,通过各种组织化学及原位分子杂交技术又可明确肝衰竭的病因。《肝衰竭诊疗指南》中根据显微镜下肝细胞坏死的程度、残留肝细胞再生的程度及有无肝纤维化等综合因素将肝衰竭(病理分型)分为急性肝衰竭、亚急性肝衰竭、慢加急性(亚急性)肝衰竭及慢性肝衰竭。

中国人民解放军第三〇二医院对住院的 1 020 例进行肝脏穿刺的肝病儿童进行研究,其中只有 2%的儿童在肝穿后仍然病因不明,由此可见,肝脏病理活检对于肝衰竭的病因分析及治疗方案有很大帮助。

3 儿童肝衰竭的治疗进展

肝衰竭至今无特效治疗方法,目前仍强调综合治疗,在密切监护的基础上,加强基础支持治疗,及早诊断,进行多环节阻断和治疗,积极防止各种并发症。如内科综合治疗效果不佳,则应尽快行人工肝及肝移植治疗。

3.1 内科综合治疗 内科综合治疗包括一般支持治疗、针对病因和发病机制的治疗及防治并发症。如卧床休息,加强监护,保证热量,积极纠正低蛋白血症,补充清蛋白或新鲜血浆等,并针对病因行特异性治疗。防治并发症包括去除诱因,限制蛋白质饮食,促进氨的排出,减少肠源性毒素吸收及纠正氨基酸失衡。

3.2 人工肝 人工肝是指通过体外的机械、物理、化学或生物装置,清除各种有害物质,补充必需物质,改善内环境,暂时替代衰竭肝脏部分功能的治疗方法,能为肝细胞再生及肝功能恢复创造条件或等待机会进行肝移植。浙江大学附属第一医院对 400 例行人工肝治疗(包括血浆置换、血液灌流、持续血液滤过透析)的肝衰竭患者进行研究,与 400 例行内科综合治疗的肝衰竭患者比较,人工肝组治愈率为 78.9%,早期肝衰竭治愈率又占 76.5%,内科综合治疗治愈率只有 11.9%^[4]。Hes-