文章编号:1000-5404(2007)23-2207-05

论著

BC047440-siRNA 对肝癌 HepG2 细胞增殖抑制及其分子机制的初步探讨

刘世呈,李 靖,黄小兵,杨彤翰,梁 平,郑 璐,赵弘智 (第三军医大学新桥医院肝胆外科,重庆 400037)

提 要:目的 利用小干扰 RNA(small interfering RNA,siRNA)抑制肝癌相关基因 BC047440 的表达,观察其受抑制后对细胞增殖能力的影响并初步分析其抑制增殖的分子机制。**方法** 设计针对 BC047440 基因的 siRNA,构建 pGenSil-1-BC047440-siRNA 真核表达载体。分别用脂质体法将介导 siRNA 的真核绿色荧光表达载体 pGenSil-1-BC047440-siRNA、空载体质粒 pGenSil-1 转染人肝癌 HepG2 细胞建立稳定细胞株;随后实验分为3组:转染 siRNA 表达载体组(PP_2)、转染空质粒组(PP_1)和未处理的亲本 HepG2 细胞组(PP_0)。采用荧光定量 PCR 检测 BC047440 mRNA 表达变化;CCK-8 分析细胞增殖活性;平板克隆形成实验检测单个细胞的增殖能力;最后选取 NF-κB 下游增殖相关基因 c-myc、bcl-2、cyclin D_1,用荧光定量 PCR 检测其 mRNA 水平的变化。**结果** 成功转染并获得 PP_1、PP_2组抗性克隆,PP_2组与 PP_0组比较,BC047440 mRNA 水平明显降低,抑制率约为75%;细胞增殖实验中 PP_2组细胞增殖能力明显降低,平板克隆形成实验结果显示 PP_2组克隆形成率为(8.42±0.82)%,明显低于 PP_1组[(39.31±5.39)%]和 PP_0组[(40.96±3.21)%]($P<0.01$)。检测 NF-κB 下游增殖相关的几个基因时发现 PP_2组 c-myc mRNA 表达明显降低,约为 PP_0组的 12/25;其余基因无明显变化。**结论** 干扰 BC047440 基因表达可以抑制肝癌细胞的增殖,初步揭示 BC047440 基因可以对 c-myc 起正向调控作用,从而促进肝癌细胞的增殖,提示抑制 BC047440 基因可能成为控制人肝癌细胞生长的有效靶点。

关键词:BC047440;HepG2;c-myc;人肝癌细胞;siRNA
中图法分类号:R394.2;R73-362;R735.7 **文献标识码**:A

siRNA-mediated silencing of BC047440 gene inhibits proliferation of human HepG2 cell

LIU Shi-cheng, LI Jing, HUANG Xiao-bing, YANG Tong-han, LIANG Ping, ZHENG Lu, ZHAO Hong-zhi (Department of Hepatobiliary Surgery, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To observe the effect on the proliferation of HepG2 cell by inhibiting the expression of BC047440 gene. **Methods** Small interfering RNAs for BC047440 gene were designed using Ambion software and synthesized. The recombinant plasmid pGenSil-1-BC047440-siRNA was constructed with the smRNAs and pGenSil-1. The vacant vector pGenSil-1 and pGenSil-1-BC047440-siRNA vector were transfected into HepG2 cells by Lipofectamine™ 2000 and the positive clones were screened by G418, then identified by detecting green fluorescence. BC047440 mRNA expression was detected by real-time PCR. The cell proliferation rate was analysed by CCK-8. The cell colony formation rate was measured by plate colony formation assay. The proliferaion-related genes such as c-myc, bcl-2, cyclin D_1 were detected by real-time PCR. **Results** We obtained stable transfectants. Endogenous BC047440 expression could be efficiently down-regulated by transfection of siRNA BC047440 gene in cultured HepG2 cell, and the cell proliferation rate of HepG2 transfected with pGenSil-1-BC047440-siRNA vector (PP_2) was significantly inhibited as compared to that in untreated parental HepG2 cells (PP_0) and in HepG2 transfected with vacant vector pGenSil-1 (PP_1). The cell colony formation rate was statistically decreased in siRNA, which was respectively (8.42±0.82)% in PP_2, (39.31±5.39)% in PP_1 and (40.96±3.21)% in PP_0($P<0.01$). The expressions of c-myc gene were down-regulated in PP_2 as compared to those in PP_0 and PP_1, and the expression levels of c-myc gene in PP_2 was about 12/25 of

基金项目:国家自然科学基金(30570843)
Supported by the National Natural Science Foundation of China(30570843)
作者简介:刘世呈(1981-),男,四川省自贡市人,硕士研究生,主要从事肝胆外科方面的研究。电话:(023)68774606
通讯作者:李 靖,电话:(023)68774606
收稿日期:2007-09-12;**修回日期**:2007-10-15

that in PP_0. There was no significant changes in other proliferation-related genes. **Conclusion** BC047440 siRNA could inhibit the cell proliferation of HepG2 cell and be used as a novel method to inhibit the proliferation of hepatoma carcinoma cell. Our study reveals the relationship between BC047440 and c-myc gene.

Key words: BC047440; HepG2; c-myc; hepatoma carcinoma cell; siRNA

原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma)是我国高发的恶性肿瘤之一,严重威胁人们的身体健康,手术切除率低。目前研究表明,肝癌的发生是一个多基因参与,通过不同基因在不同差异表达进行调控的复杂过程[1]。近年来,随着对肿瘤生物学行为的不断深入研究,肿瘤基因治疗给人们带来了新的希望,并越来越受人们重视[2,3]。先前的研究表明 BC047440 基因染色体定位于 20q(11;22),并在人肝癌细胞中高表达[4,5]。目前国内外学者初步证实该基因为 NF-κB 的上游基因,可以调控 NF-κB[6]。本实验通过 BC047440 基因的 siRNA 使 BC047440 基因表达降低,观察 BC047440 基因表达受抑制对人肝癌细胞系 HepG2 细胞增殖的抑制影响,并选取 NF-κB 下游增殖相关基因[7],通过荧光定量 PCR 观测这些基因在 mRNA 水平的变化,从而初步探讨其增殖抑制的分子基础。

1 材料与方法

1.1 材料

DMEM/H 培养基(HyClone 公司)、标准胎牛血清(TBD 公司)、Lipofectamine™2000(Invitrogen 公司)、CCK-8(同仁化学研究所)、G418(Sigma 公司)、M-MLV 反转录酶(TaKaRa 公司)、RNAout(天泽基因)、2 × *Taq* Mix(天根)、SYBR 荧光定量 PCR Mix(TOYOBO 公司)。人肝癌细胞系 HepG2 细胞由本校基础医学部微生物学教研室惠赠。

1.2 实验方法

1.2.1 pGenSil-1-BC047440-siRNA 质粒的构建 该重组质粒为前期我室构建完成,简要过程如下:利用 Ambion 公司提供的 RNA 干扰设计软件(siRNA Target Finder)设计针对人 BC047440 基因的 RNAi 发夹结构序列,在合成 DNA 的末端设计 *Bam*H Ⅰ 和 *Hind* Ⅲ 酶切位点。具体序列为:正义链:5′-GATCCGCTCTGGGTCTTAGTGAGGATTCAAGACGTCCTCACTAA-GACCCAGAGTTTTTTGTCGACA-3′;反义链:5′-AGCTTGTCGA-CAAAAAACTCTGGGTCTTAGTGAGGACGTCTTGAATCCTCACT-AAGACCCAGAGCG-3′,将其变性退火后与 pGenSil-1 连接,转化入感受态 DH5α 大肠杆菌中,Kana^r 抗性筛选, *Sal* Ⅰ 酶切鉴定,测序结果符合要求后,大量提取转染级质粒备用。

1.2.2 细胞的转染与筛选鉴定 用含 10% 标准胎牛血清的 DMEM/H 培养基(不含抗生素),于 37 ℃、5% CO_2 的培养箱中培养,取对数生长期细胞用于实验。采用 Lipofectamine™2000 脂质体介导的转染技术。用 Lipofectamine™2000 脂质体包裹重组质粒(质粒:脂质体 = 1:2.5),转染前 24 h 接种细胞至 3 个 6 孔板,第 1 个 6 孔板转染 pGenSil-1-BC047440-siRNA 重组质粒,第 2 个 6 孔板转染 pGenSil-1 空白质粒,第 3 个 6 孔板为空白对照(用无血清 DMEM/H 培养液代替质粒,其他步骤均相同)。待细胞融合度达 60% ~70% 后吸弃上清液,将质粒-脂质体复合物室温孵育 30 min 后,轻轻混匀后加到 6 孔板的 1 个孔中的待转染细胞,共 6 孔。于 37 ℃、5% CO_2 孵箱下培养 6 h,倒掉含 Lipofectamine™2000 脂质体的培养基,加入含 10% 胎牛血清的 DMEM/H 培养基培养 48 h。在倒置荧光显微镜下初步计数细胞内绿色荧光表达数检测瞬时转染情况,然后用 400 mg/L G418 对转染细胞株进行筛选并收集 G418 抗性细胞,待 2 周抗性克隆形成后,将 G418 浓度降为 200 mg/L,开始扩大培养。将转染 pGenSil-1-BC047440-siRNA 后形成抗性克隆的细胞组命名为 PP_2 组(干扰组);将转染空白 pGenSil-1 质粒后形成抗性克隆细胞组命名为 PP_1 组;亲本细胞组命名为 PP_0 组。

1.2.3 荧光定量 PCR 检测抑制效果 PP_2 组中 BC047440 mRNA 表达改变,以 PP_0 组为对照。各组细胞总 RNA 提取按 RNAout 操作说明进行。提取的总 RNA 经琼脂糖凝胶电泳分析完整度,以及 DU-800 紫外分光光度计定量后,将其调整为相同浓度,按 M-MLV 反转录酶说明书逆转录成相应 cDNA,冻存备用。荧光定量 PCR 反应采用 20 μl 体系,各组细胞 cDNA 1 μl,2 对引物各 0.6 μl,ddH_2O 7.8 μl,SYBR 荧光定量 PCR Mix 10 μl。β-actin 基因作为内参,β-actin 上游引物:5′-CCAACCGCGAGAAGATGA-3′,下游引物:5′-CCAGAGGCGTA-CAGGGATAG-3′,序列长度为 98 bp。根据 BC047440 基因 cDNA 序列设计 181 bp 片段引物:上游引物:5′-GGAAAGATTTCT-GGCTCAGCTC-3′,下游引物:5′-AGTGGCTTTCTCCTCACTA-AGACC-3′,引物序列合成由上海 Invitrogen 公司完成。反应条件:94 ℃ 5 min;94 ℃ 30 s,65 ℃ 30 s,72 ℃ 45 s,45 个循环,每份标本均行 3 复孔检测,取其循环阈值(CT)均值。$\Delta\Delta CT = (CT_{BC047440} - CT_{\beta\text{-actin}})_{实验组} - (CT_{BC047440} - CT_{\beta\text{-actin}})_{对照组}$,$2^{-\Delta\Delta CT}$ 为两者模板中 BC047440 mRNA 含量的相对比值。

1.2.4 CCK-8 测定转染细胞生长曲线 取各组细胞按 1.00×10^3/孔接种于 96 孔板上,每 6 孔为 1 组共接种 4 板,每日取出 1 板,采用 CCK-8 测定波长 460 nm 的吸光度值[$D(460)$],绘制生长曲线。

1.2.5 细胞平板克隆形成实验 取各组细胞用 0.25% 胰蛋白酶消化制备单个细胞悬液,调整细胞密度,接种到 6 孔板中,每组细胞接种 3 孔,300 /孔,十字方向轻轻晃动 6 孔板使细胞分散均匀。于 37 ℃、5% CO_2 孵箱中,静置培养约 10 d,出现肉眼可见克隆,弃去培养液,PBS 小心冲洗细胞 2 次,加甲醇10 ml 固定 15 min。弃去固定液,加适量姬姆萨液,染色 30 min,然后用流水缓慢洗去染色液,室温空气干燥。普通光镜下计数各组大于 50 个细胞的克隆数,并计算克隆形成率。

克隆形成率 = (克隆数/接种细胞数) × 100%

1.2.6 荧光定量 PCR 检测 NF-κB 下游几个增殖相关基因变化 取适量的各组细胞总 RNA 的提取及逆转录方法同前。选取 c-myc、cyclin D_1、bcl-2 基因。内参使用 β-actin 基因,引物

同 1.2.3。c-myc 基因上游引物：5′-TGCCACGTCTCCACACATCA-3′，下游引物：5′-CCTGGGGCTGGTGCATTTT-3′，序列长度为 141 bp；cyclin D_1 基因上游引物：5′-GATGCCAACCTCCTCAACGAC -3′，下游引物：5′-CTCCTCGCACTTCTGTTCCTC-3′，序列长度为 171 bp；Bcl-2 基因上游引物：5′-CTGGTGGGAGCTTGCATCAC-3′，下游引物：5′-ACAGCCTGCAGCTTTGTTTC-3′，序列长度为 149 bp。所有引物由上海 Invitrogen 公司合成。采用 20 μl 体系扩增，反应体系：各组 cDNA 1 μl（模板），两对引物各 0.6 μl，ddH_2O 7.8 μl，SYBR 荧光定量 PCR Mix 10 μl，终体积20 μl。反应条件：94 ℃ 5 min；94 ℃ 30 s，65 ℃ 30 s，72 ℃ 45 s，45 个循环，每份标本均行 3 复孔检测，以 PP_0 组为对照，采用相对定量公式 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算各下游基因 mRNA 表达情况。

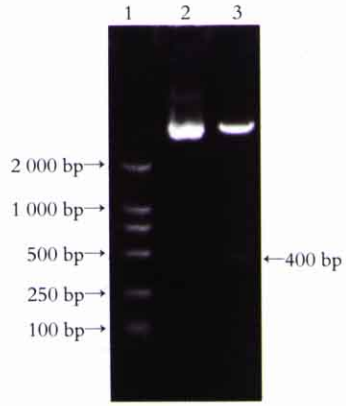
1.3　统计学处理

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 11.0 统计软件行单因素方差分析。

2　结果

2.1　质粒表达载体的酶切及其鉴定

插入质粒的 DNA 模版结构为 *Bam*H Ⅰ + 正义链 + Loop + 反义链 + 终止信号 + *Sal* Ⅰ + *Hind* Ⅲ。质粒 pGenSil-1 在插入的目的基因片段里设计了 1 个 *Sal* Ⅰ 的酶切位点，插入质粒 pGenSil-1 的 *Bam*H Ⅰ 和 *Hind* Ⅲ 之间，如若插入正确，就能被 *Sal* Ⅰ 酶切出 1 条 400 bp 的 DNA 小带，经酶切鉴定分析正确，转化菌液送上海 Invitrogen 公司测序，测序结果完全符合设计要求。见图 1。



1：DNA 标准（DL 2000）；2：pGenSil-1-BC047440-siRNA 质粒载体；3：pGenSil-1-BC047440-siRNA 质粒载体以 *Sal* Ⅰ 酶切

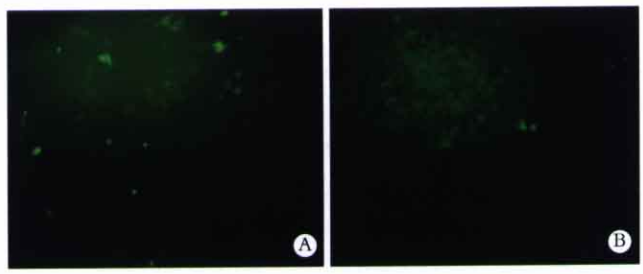
图 1　质粒载体 *Sal* Ⅰ 酶切鉴定电泳图

2.2　瞬时转染及筛选后细胞绿色荧光的表达

成功转染 24 h 后在倒置荧光显微镜下观察瞬时转染细胞以及成功筛选抗性克隆形成后的绿色荧光表达，证明用 Lipofectamine™2000 脂质体介导的转染技术成功地将带有目的基因的重组质粒转染入 HepG2 细胞，并成功筛选出抗性克隆。见图 2。

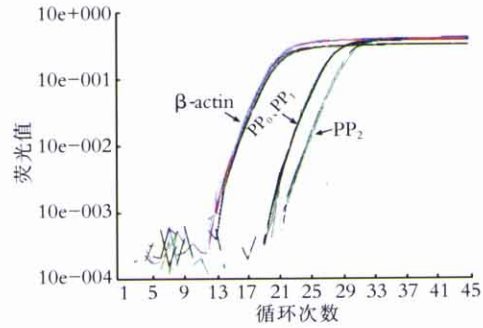
2.3　荧光定量 PCR 检测 BC047440 基因水平

荧光定量 PCR 检测 BC047440 基因干扰后该基因的相对含量，PP_2 组中 BC047440 基因 CT 为（24.99 ± 0.07），β-actin 基因 CT 为（16.33 ± 0.09）；PP_0 组 BC047440 基因 CT 为（22.80 ± 0.05），β-actin 基因 CT 为（16.08 ± 0.03）。根据公式计算 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 为 $2^{-2.04}$，故 PP_2 组模板 BC047440 基因的含量约为 PP_0 组的 1/4，抑制率约为 75%（图 3）。BC047440 基因及 β-actin 基因熔解曲线只有单峰值，排除了非特异性扩增（图 4）。



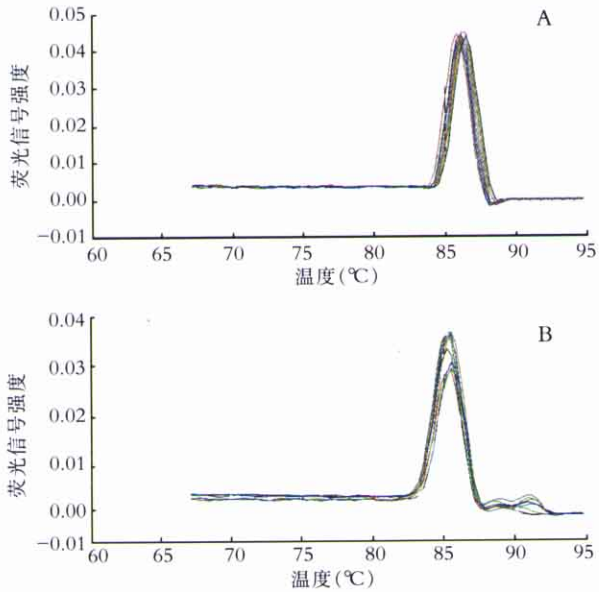
A：转染 24 h 后；B：稳定筛选后抗性克隆形成

图 2　瞬时转染 HepG2 细胞及筛选后绿色荧光的表达　（倒置荧光显微镜 ×200）



β-actin：内参基因的扩增曲线；PP_0、PP_1：亲本细胞组、空白质粒转染组的扩增曲线；PP_2：干扰组扩增曲线

图 3　β-actin、BC047440 基因在各组中荧光定量 PCR 图



A：BC047440 基因；B：β-actin 基因

图 4　β-actin、BC047440 基因熔解曲线分析

2.4　检测细胞活性并绘制生长曲线

将各组细胞接种于 96 孔板中，24 h 后开始检测，每 24 小时检测 1 次，共 4 次。细胞活性以吸光度值［D(460)］表示，结果见表 1。通过重复测量设计资料统计学分析并以每组细胞每

天平均吸光度值为纵坐标，以时间为横坐标绘制生长曲线。结果显示：PP_2组较 PP_1、PP_0组细胞的活性明显下降，PP_1、PP_0 组生长曲线一致，第 2 天 PP_2组细胞的生长速度明显减慢，说明干扰 BC047440 基因的 HepG2 细胞生长明显受到抑制。

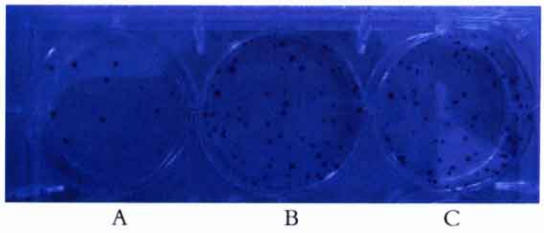
表 1　3 组中 BC047440 基因对 HepG2 细胞生长速度的影响比较[$D(460)$，$\bar{x}\pm s$]

组别	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
亲本细胞组	0.240 ± 0.051[a]	0.807 ± 0.108[a]	1.330 ± 0.084[a]	2.668 ± 0.172[a]
空白质粒转染组	0.239 ± 0.032[a]	0.763 ± 0.100[a]	1.175 ± 0.145[a]	2.456 ± 0.217[a]
干扰组	0.139 ± 0.020	0.455 ± 0.056	0.584 ± 0.135	1.880 ± 0.181

a：$P<0.01$，与干扰组比较

2.5　细胞平板克隆形成实验

取 PP_0、PP_1组及 PP_2组各 300 个细胞，分别接种于 6 孔板中。培养 10 d 后观察结果，PP_0、PP_1组克隆形成率分别为(40.96 ± 3.21)% 和(39.31 ± 5.39)%，PP_2组克隆形成率为(8.42 ± 0.82)%，PP_2 组形成率明显低于 PP_1、PP_0 组($P<0.01$)(图 5)。提示 BC047440 基因沉默后，HepG2 单个细胞的增殖能力下降。

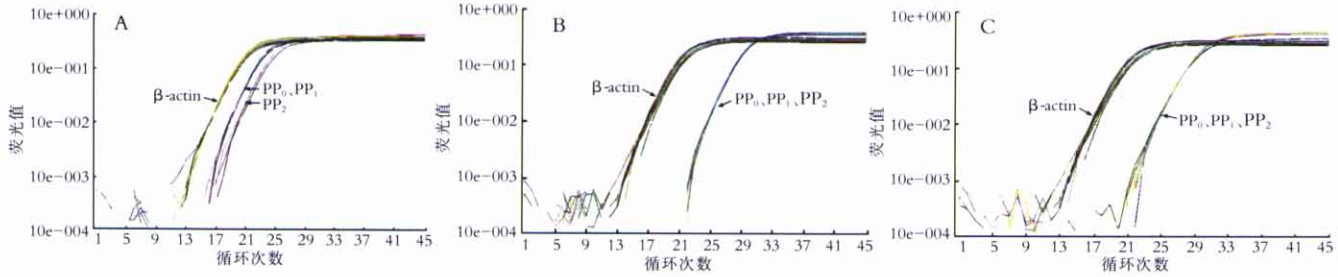


A：干扰组；B：空白质粒转染组；C：亲本细胞组

图 5　实验各组平板克隆形成实验结果

2.6　荧光定量 PCR 检测 BC047440 基因相关基因

取 PP_0、PP_1组及 PP_2组适量细胞，成功提取总 RNA 后，逆转录获得相应 cDNA，分别就 c-myc、cyclin D_1、bcl-2 基因进行相对荧光定量 PCR，以 β-actin 基因为内参。结果显示 PP_2组 c-myc mRNA 表达较 PP_0组明显下降，约为 PP_0组的 12/25，表达下降了约52%；而 cyclin D_1、bcl-2 基因就其 CT 值按 $2^{-\Delta\Delta CT}$公式进行组间比较无明显差异(图 6)。各组基因及 β-actin 内参基因熔解曲线中只有单峰值，排除了非特异性扩增。



β-actin：内参基因的扩增曲线；PP_0：亲本细胞组；PP1：空白质粒转染组；PP_2 干扰组

A：c-myc 基因；B：bcl-2 基因；C：cyclin D_1基因

图 6　β-actin、c-myc、bcl-2、cyclin D_1基因在各组中的荧光定量 PCR 图

3　讨论

在前期的研究中，我们已经利用抑制消减杂交技术分离出在肝癌组织中高表达的 EST 片段[8,9]。进一步用 cDNA 末端快速扩增方法(RACE)获得了 1 条长为 1 476 bp 的全长基因 cDNA，检索 GenBank，发现其与近期公布的 1 条新的但功能未知的基因(登录号 BC047440)同源。运用多组织 Northern 杂交证实 BC047440 基因表达总趋势是在肿瘤组织中增强。此外，用 RT-PCR 方法已证明其在肝癌组织中表达强度明显高于相对应的正常组织。从而证实 BC047440 基因是一个与肝癌的发生、发展相关的基因。在目前国内外的相关研究中初步证实 BC047440 是 NF-κB 的上游基因，它主要通过该途径实现其生物学特性。我们通过 CCK-8、平板克隆形成实验证明干扰 BC047440 基因后肝癌 HepG2 细胞增殖受到抑制，提示 BC047440 基因参与了肝癌的发生过程。

国外相关研究[6]以及我们先前实验均初步证实 BC047440 基因与 NF-κB 传导通路有关。许多炎性因子、致癌剂、相关基因均可以激活 NF-κB 从而引发肿瘤的发生及肿瘤细胞的增殖、抗凋亡。本实验中选取受 NF-κB 调控的与增殖相关的 c-myc、bcl-2、cyclin D_1 基因，用荧光定量 PCR 检测其 mRNA 水平的变化，发现 BC047440 基因表达下调后 c-myc mRNA 明显下调，从另一个侧面证实 BC047440 基因可能通过 NF-κB 信号传导通路行使其生物学特性。NF-κB 受外界不同影响因子的活化后，其抑制因子被磷酸化，NF-κB 随之暴露出核定位信号并进入细胞核内，与特定基因的启动子区域结合，启动特定基因的转录，从而看出 NF-κB 转导途径有其特异性[10]，不同的影响因子启动特定基因的转录。从本实验可以看出 BC047440 基因正向调控 c-myc 基因，而对 bcl-2、cyclin D_1 基因无明显影响。因为上述基因在促进肿瘤细胞发生、发展中起着各自不同的作用，从而为下一步探讨下调 BC047440 基因后主要是通过促进肿瘤细胞凋亡或通过阻滞肿瘤细胞周期，还是抑制肿瘤倍增时间的方式抑制肝肿瘤生长提供线索。

c-myc 是一种核内基因，受到 NF-κB 的调控，具有促进细胞分裂并获得永生化的功能[11,12]；正常情况下 c-myc 基因不显示转录活性或呈低表达水平。当 c-

myc 基因被激活后，P62 c-myc 过度表达而堆积在细胞内，使细胞获得永生化，降低细胞对生长因子的需求，当与其他活性癌基因协同作用时可致细胞发生恶性转化。本研究显示 BC047440-siRNA 作用于 HepG2 细胞后 c-myc 基因表达明显下调，约 52%，可见 BC047440 是 c-myc 基因表达的重要调控基因。另外，本实验显示干扰 BC047440 基因后 c-myc 基因表达仍可为 48% 左右，即 c-myc 基因表达未被完全抑制，表明干扰 BC047440 基因只能下调 c-myc 基因表达，并不能完全封闭该基因，这一结果进一步证明 BC047440 基因对 c-myc 基因的调控不是唯一的影响。

本实验再次证明 BC047440 基因可能是一个肝癌相关基因，在肝癌中的差异高表达及和 c-myc 基因的联合作用可能对肝癌的发生发展具有一定的促进作用。但肝癌的发生发展是多基因多阶段的复杂过程，究竟还有多少基因参与，它们在不同时相的作用如何，特别是在蛋白层面的变化都有待进一步探讨。

参考文献：

[1] Ozturk M. Genetic aspects of hepatocellular carcinogenesis[J]. Semin Liver Dis, 1999, 19(3): 235 - 242.
[2] Stevenson M. Therapeutic potential of RNA interference[J]. N Engl J Med, 2004, 351(17): 1772 - 1777.
[3] Kang C S, Pu P Y, Li Y H, *et al*. An *in vitro* study on the suppressive effect of glioma cell growth induced by plasmid-based small interference RNA (siRNA) targeting human epidermal growth factor receptor[J]. J Neurooncol, 2005, 74(3): 267 - 273.
[4] 郑　璐，李　靖，杨彤翰，等. BC047440 基因在肝细胞癌中的表达及及意义[J]. 中国普通外科杂志，2006，15(8)：582 - 585.
[5] 周建波，李　靖，赵弘智，等. 肝癌相关新基因 BC047440 反义真核表达载体构建及鉴定[J]. 第三军医大学学报，2005，27(15)：1607 - 1609.
[6] Burstein E, Hoberg J E, Wilkinson A S, *et al*. COMMD proteins, a novel family of structural and functional homologs of MURR1[J]. J Biol Chem, 2005, 280(23): 22222 - 22232.
[7] 严　明，陈万涛. NF-κB 信号转导通路和肿瘤发生、转移关系的研究进展[J]. 北京口腔医学，2007，15(1)：53 - 55.
[8] 何天霖，吴志勇，罗　蒙，等. 应用抑制消减杂交和 cDNA 表达谱芯片筛选肝星形细胞持续活化的相关基因[J]. 外科理论与实践，2006，11(3)：208 - 211.
[9] 叶方鹏，李荣洲，肖　冰，等. 应用抑制消减杂交技术筛选大肠癌新相关基因[J]. 现代消化及介入诊疗，2006，11(3)：133 - 135，191.
[10] Bharti A C, Aggarwal B B. Nuclear factor-kappa B and cancer: its role in prevention and therapy[J]. Biochem Phamacol, 2002, 64(5 - 6): 883 - 888.
[11] Osada H, Tatematsu Y, Yatabe Y, *et al*. Frequent and histological type-specific inactivation of 14-3-3sigma in human lung cancers[J]. Oncogene, 2002, 21(15): 2418 - 2424.
[12] Yin X Y, Grove L, Datta N S, *et al*. Inverse regulation of cyclin B1 by c-Myc and p53 induction of Tetraploidy by cyclin B1 overexpression[J]. Cancer Res, 2001, 61(17): 6487 - 6493.

（编辑　汪勤俭）

文章编号：1000-5404(2007)23-2211-01

个案与短篇

腔镜辅助乳房皮下切除假体植入乳房成形术的护理

王寅欢，陈显春，钟　玲　（第三军医大学西南医院乳腺中心，重庆 400038）

乳腺肿瘤发病率呈逐年增高趋势，居女性恶性肿瘤发病率的第 2 位。随着社会的进步、审美观念的不断提高，乳腺肿瘤患者不仅满足于疾病本身的医治，更要求改善乳房外观，提高生活质量[1]。腔镜辅助手术已成为乳腺外科技术的又一重要进展，它能保留功能且注重美容效果，颇受患者的青睐。我院 2006 年 1 - 12 月对 18 例患者行腔镜辅助下皮下乳房切除加假体植入乳房成行术，效果满意。现将其护理措施及体会报告如下。

1　临床资料

1.1　一般资料

本组 18 例均为女性，年龄 29 ~ 50 岁，平均 38.6 岁。经彩超、乳腺钼靶摄片、穿刺活检病理结果确诊为双乳多发性纤维腺瘤、双乳多发性囊性增生、乳腺癌等。其中乳腺良性肿瘤 7 例，乳腺癌 11 例。

1.2　手术方式

以腋前线上平乳头处取一纵切口，于皮肤皮下组织与乳腺腺体之间游离皮瓣，在切口上方另作一长约 1 cm 的小切口，置入 10 mm 的 30 度带光源内镜镜头，采用牵拉法建立操作空间，用超声刀及电凝钩在腺体表面游离，于胸大肌表面游离乳房后间隙，完整切除乳房皮下腺体。将相应型号的硅胶假体（容积为 180 ~ 240 ml，上海市信晟医疗制品有限公司产品）植入其中。调整好假体位置后缝合，于胸大肌表面原乳房腔内置入引流管，从伤口或伤口下方引出并固定[2]。

2　护理

2.1　术前护理

2.1.1　心理护理　根据患者的年龄、文化程度及对疾病的认知程度，讲解有关乳腺肿瘤疾病方面的知识、手术的方式、手术

（下转 2218 页）

作者简介：王寅欢（1981 - ），女，重庆市人，主要从事乳腺疾病临床护理方面的研究。电话：(023)68773075

收稿日期：2007-03-13；修回日期：2007-04-16