技术用于哺乳类细胞[8]。与传统反义干扰技术(如反义核苷酸)相比,RNAi有明显放大作用,其抑制作用更强。而与传统基因敲除相比,RNAi显效更快,其将具有反向重复序列的模板克隆至聚合酶Ⅲ(pol Ⅲ)转录单位中,以质粒DNA为载体转染哺乳动物细胞,利用细胞中聚合酶持续转录合成RNA,这种内部互补折叠形成的短发卡样dsRNA被酶样物质(dicer)切割形成21或23个碱基的双链,即siRNA[9]。目前已广泛应用于基因功能研究及基因治疗的研究。

本实验已经成功构建了阻断p27Kip1基因表达的RNAi序列,并克隆至pGenSil-1质粒中,通过转染至bCEC,初步证实其可降低p27Kip1表达并起到促bCEC增殖作用,为今后进一步研究p27Kip1-shRNA对角膜内皮细胞功能影响的研究奠定实验基础。

参考文献:

[1] Fire A, Xu S, Montgomery M K, *et al*. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in Caenorhabditis elegans[J]. Nature, 1998, 391(6669): 806-811.
[2] Bonanno J A, Srinivas S P, Brown M. Effect of acetazolamide on intracellular pH and bicarbonate transport in bovine corneal endothelium[J]. Exp Eye Res, 1995, 60(4): 425-434.
[3] 覃跃龙, 舒茂琴, 江明宏. ORC1基因RNA干扰对大鼠血管平滑肌细胞增殖的影响[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(11): 1161-1163.
[4] Kuo M Y, Hsu H Y, Kok S H, *et al*. Prognostic role of p27(Kip1) expression in oral squamous cell carcinoma in Taiwan[J]. Oral Oncol, 2002, 38(2): 172-178.
[5] Joyce N C. Proliferative capacity of the corneal endothelium[J]. Prog Retin Eye Res, 2003, 22(3): 359-389.
[6] Lee H T, Kay E P. Regulatory role of PI 3-kinase on expression of Cdk4 and p27, nuclear localization of Cdk4, and phosphorylation of p27 in corneal endothelial cells[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003, 44(4): 1521-1528.
[7] 张红旭, 张明昌. 细胞周期依赖性激酶抑制剂P27、P21在人角膜上皮的表达研究[J]. 临床眼科杂志, 2004, 12(3): 195-197.
[8] Elbashir S M, Harborth J, Lendeckel W, *et al*. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells[J]. Nature, 2001, 411(6836): 494-498.
[9] Sui G, Soohoo C, Affiar el B, *et al*. A DNA vector-based RNAi technology to suppress gene expression in mammalian cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(8): 5515-5520.

(编辑 汪勤俭)

文章编号:1000-5404(2007)22-2151-01

个案与短篇

急腹症腹腔镜探查100例诊治体会

王立明,杨 华,张朝军,陈组林,程应东,马 丹,蔡瑜娇,肖卫东,马小干,罗云生 (第三军医大学新桥医院普通外科,重庆 400037)

急腹症是普通外科的常见病和多发病,发病率约占普通外科疾病的1/4。腹腔探查是明确急腹症的重要诊断手段之一,随着腹腔镜技术的发展,运用腹腔镜行腹腔探查术将在临床应用中逐步普及。本科自2002年9月至2006年3月运用腹腔镜行腹腔探查术100例,现总结报告如下。

1 材料与方法

1.1 临床资料

本组100例中男性58例,女性42例,年龄18~74岁,平均44岁。全部患者均以急腹症入院,发病时间4~48 h,平均6.8 h。其中有腹部既往手术史11例,其余均为首次发病。

1.2 腹腔镜检查方法

常规建立气腹。根据体查发现可疑病变部位,确立观察孔和操作孔的位置,腹腔镜进腹后探查顺序与剖腹探查原则相同,首先进行全腹腔观察,根据术中所见如腹腔积液、积脓、积血或消化液外溢及纤维素附着等情况,多可发现病变来源。在外伤或未发现明确病变而行全面探查时,应先探查实质性脏器,再探查空腔脏器,肠管等空腔脏器因其游离性较大,故可在最后探查。

2 结果

2.1 诊断

100例患者均采用腹腔镜探查最终以明确诊断,其中急性阑尾炎34例(34%),消化道穿孔20例(20%),腹腔肿瘤18例(18%),腹腔粘连12例(12%),妇科疾病10例(10%)(卵巢囊肿蒂扭转4例、急性盆腔炎4例、黄体破裂1例、宫外孕破裂1例),急性肠系膜淋巴结炎2例(2%),原发性腹膜炎2例(2%),急性坏死性小肠炎1例(1%),结核性腹膜炎1例(1%)。诊断正确率达100%。

2.2 治疗结果

所有患者在入院后2 h内在全麻下行腹腔镜腹腔探查术。34例急性阑尾炎行腹腔镜阑尾切除术;20例消化道穿孔,其中

(下转2155页)

作者简介:王立明(1965-),男,湖北省武汉市人,博士,副主任医师,副教授,主要从事消化道肿瘤发病机制方面的研究,发表论文30篇。电话:(023)68774405

收稿日期:2007-04-19;修回日期:2007-06-12

的价值，为今后进一步研究膀胱癌的基因治疗提供一定的实验基础。

参考文献：

[1] Ambrosini G, Adida C, Altieri D C. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma[J]. Nat Med, 1997, 3(8): 917 - 921.

[2] Fire A, Xu S, Montgomery M K, *et al*. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in Caenorhabditis elegans[J]. Nature, 1998, 391(6669): 806 - 811.

[3] Zhang Y C, Taylor M M, Samson W K, *et al*. Antisense inhibition: oligonucleotides, ribozymes, and siRNAs [J]. Methods Mol Med, 2005, 106: 11 - 34.

[4] Chiou S K, Jones M K, Tarnawski A S. Survivin--an anti-apoptosis protein: its biological roles and implications for cancer and beyond [J]. Med Sci Monit, 2003, 9(4): PI25 - PI29.

[5] Elbashir S M, Harborth J, Lendeckel W, *et al*. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells [J]. Nature, 2001, 411 (6836): 494 - 498.

[6] Carvalho A, Carmena M, Sambade C, *et al*. Survivin is required for stable check point activation in taxol-treated HeLa cells[J]. J Cell Sci, 2003, 116(Pt 14): 2987 - 2998.

[7] Williams N S, Gaynor R B, Scoggin S, *et al*. Identification and validation of genes involved in the pathogenesis of colorectal cancer using cDNA microarrays and RNA interference[J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(3): 931 - 946.

[8] 苟　欣，何卫阳，肖朝明，等. Survivin 在膀胱癌中的表达及其与癌细胞增殖关系的研究[J]. 第三军医大学学报，2006，28(4)：377 - 378.

[9] Yonesaka K, Tamura K, Kurata T, *et al*. Small interfering RNA targeting survivin sensitizes lung cancer cell with mutant p53 to adriamycin [J]. Int J Cancer, 2006, 118(4): 812 - 820.

[10] Fuessel S, Herrmann J, Ning S, *et al*. Chemosensitization of bladder cancer cells by survivin-directed antisense oligodeoxynucleotides and siRNA[J]. Cancer Lett, 2006, 232(2): 243 - 254.

[11] 何卫阳，苟　欣，祝海洲，等. 凋亡抑制基因 survivin 在膀胱移行细胞癌中表达的初步研究[J]. 重庆医科大学学报，2004，29(1)：41 - 44，50.

[12] Shariat S F, Casella R, Khoddami S M, *et al*. Urine detection of survivin is a sensitive marker for the noninvasive diagnosis of bladder cancer[J]. J Urol, 2004, 171(2 Pt 1): 626 - 630.

[13] Luo K Q, Chang D C. The gene-silencing efficiency of siRNA is strongly dependent on the local structure of mRNA at the targeted region[J]. Biochem Bioph Res Commun, 2004, 318(1): 303 - 310.

（编辑　薛国文）

（上接 2151 页）

4 例穿孔小于 1 cm，于腹腔镜下行单纯修补术，其余患者明确诊断后即中转开腹手术；18 例腹腔肿瘤发现病变即用活检钳取活检，明确诊断后 16 例中转开腹行相应根治手术，2 例因肿瘤广泛转移于腔镜下行单纯造瘘姑息手术；12 例腹腔黏连均采用腔镜行黏连分解术；10 例妇科疾病术中请妇科专家会诊做相应妇科处理；急性坏死性小肠炎探查明确即转开腹行坏死小肠切除、肠吻合术；急性肠系膜淋巴结炎及原发性腹膜炎探查明确行保守治疗；结核性腹膜炎利用腔镜抽取腹水明确诊断后保守抗痨治疗。除 2 例晚期肿瘤腹腔广泛转移外，其余患者手术后均顺利康复。

3　讨论

用腹腔镜行腹腔探查其优点主要体现在对急腹症极其准确的诊断率，尤其对确定是否需要开腹手术准确率达 100%；或确定开腹手术的切口位置，决定手术内容，避免延误诊治或作不必要的剖腹探查[1]。我们认为，腹腔镜行急腹症腹腔探查术，关键要掌握正确探查的顺序。若疑有某些用腹腔镜探查困难的部位有病变（如肝脏和脾脏膈面深部、胰腺、胃的后壁等）应立即开腹探查[2]，避免延误疾病的诊治。

采用腔镜行黏连分解术，应首先探查黏连的部位，而腹腔黏连大部分是网膜或肠管的黏连。用腔镜探查肠管应从腔镜较易发现的回盲部开始。在探查肠管时应注意如下几点：①应该用无损伤抓钳抓持肠管探查，避免肠管的副损伤。②掌握探查进度，抓钳要均匀移动，距离大致相等。③发现肠管病变要及时标记，若病情允许，可探查完全程肠管后再作相应处理。④在探查肠管的同时应观察系膜可能存在的病变[3]。我们从本组病例观察到，对常见腹腔黏连而导致的急腹症，采用腔镜行黏连分解术确实是一种行之有效的治疗方法。

越来越多的急腹症是由腹腔肿瘤导致的并发症，本组 100 例急腹症中有 18 例是由腹腔各种肿瘤引发的并发症，其中肠道肿瘤引起的梗阻或穿孔最常见。采用腔镜探查时，最大的优势是可以提取少量病灶明确病变的性质，对不明原因的腹水也可抽取少量以明确诊断。当需要用腹腔镜取活检时，要在比较明显的病变部位进行，同时要注意防止腹腔内副损伤，尽量采用活检钳在病变处多处活检，钳取的活组织应用隔离袋移出，防止脱落引起的腹腔内医源性播散。

关键词：急腹症；腹腔镜；腹腔探查术

中图法分类号：R572.04　　**文献标识码**：B

参考文献：

[1] 万德礼，刘树清，司亚卿，等. 腹腔镜在 208 例急腹症中的应用[J]. 郑州大学学报：医学版，2004，39(1)：135 - 136.

[2] 赵　挺，裘华森，刘金明，等. 腹腔镜在外科急腹症诊治中的应用评价[J]. 中国普通外科杂志，2002，11(12)：753 - 754.

[3] 张伟强，刘宁青，吕鹏飞，等. 用腹腔镜行腹腔探查的方法及注意事项[J]. 中国实用外科杂志，2002，22(10)：625 - 626.

（编辑　陈聪连）