论著

文章编号:1000-5404(2012)16-1608-05

# hsa-miR-200a 对 HEC-1B 人子宫内膜腺癌细胞系增殖与凋亡的影响

杨德辉,陈雪梅,何俊琳,王应雄,丁裕斌,李 荣,刘学庆 (400016 重庆,重庆医科大学公共卫生学院生殖生物学研究室)

[摘要] **目的** 探讨 hsa-miR-200a 对人子宫内膜腺癌 HEC-1B 细胞增殖与凋亡的影响及其作用机制。**方法** 应用荧光实时定量 PCR(FQ-PCR)法检测 hsa-miR-200a 在人子宫内膜腺癌细胞 HEC-1B 中的表达水平;人工合成 hsa-miR-200a 模拟物、抑制剂,分别转染 HEC-1B 细胞;采用 MTT 法、流式细胞仪检测上调及抑制 hsa-miR-200a 的表达对 HEC-1B 细胞增殖活性与凋亡的影响;运用生物信息学分析 hsa-miR-200a 指向的与增殖和凋亡相关的靶基因;Western blot、FQ-PCR 检测转染前后靶蛋白及其 mRNA 的表达水平。**结果** 子宫内膜腺癌细胞 HEC-1B 表达 hsa-miR-200a;FQ-PCR 检测 hsa-miR-200a 模拟物、抑制剂转染 HEC-1B 细胞成功;MTT 法检测结果表明 hsa-miR-200a 抑制剂转染组中细胞增殖抑制明显;流式细胞仪检测结果表明 hsa-miR-200a 抑制剂转染组中细胞凋亡增加;生物信息学分析结果表明 hsa-miR-200a 调控的靶基因是 SON、Pdcd4、磷酸酶-张力蛋白同源基因(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten,PTEN);靶蛋白 PTEN 在转染模拟物组表达下调,抑制剂组中表达上调,且转染前后靶基因 mRNA 水平无显著变化,而蛋白 SON、Pdcd4 的表达量没有显著变化。**结论** HEC-1B 细胞中 hsa-miR-200a 表达与 PTEN 蛋白表达呈负相关,表明 hsa-miR-200a 可能通过调节 PTEN 蛋白表达水平从而影响 HEC-1B 细胞的增殖与凋亡。

[关键词] 子宫内膜癌;hsa-miR-200a;PTEN;增殖与凋亡

[中图法分类号] R394.2;R730.23;R737.33 [文献标志码] A

# Effect of hsa-miR-200a on proliferation and apoptosis in human endometrium adenocarcinoma cell line HEC-1B

Yang Dehui, Chen Xuemei, He Junlin, Wang Yingxiong, Ding Yubin, Li Rong, Liu Xueqing (Laboratory of Reproductive Biology, School of Public Health, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of hsa-miR-200a on the proliferation and apoptosis in human endometrium adenocarcinoma cell line HEC-1B and the potential mechanisms. **Methods** The expression of hsa-miR-200a in HEC-1B cell line was measured by real-time fluorescence quantitative PCR (FQ-PCR). The hsa-miR-200a mimics and inhibitor were synthesized and transferred into HEC-1B cell line by lipofectamine, respectively, and the cell proliferation and apoptosis were detected by methyl-thiazolyl-tetrazolium (MTT) assay and flow cytometry (FCM). Bioinformatics analysis was used to predict the target genes of has-miR-200a on cell proliferation and apoptosis. Western blotting and FQ-PCR were used to determine the protein and mRNA expression of phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN). **Results** Hsa-miR-200a expression was observed in HEC-1B cells. The hsa-miR-200a mimics and inhibitor were successfully transferred into HEC-1B cells, and the expression of hsa-miR-200a was significantly changed after the transfection. Compared with those of the blank control group and negative control group, HEC-1B cell proliferation was significantly inhibited in the miR-200a inhibitor group. The FCM results showed that the apoptotic rate increased in the hsa-miR-200a inhibitor group. The bioinformatics analysis results showed that SON, Pdcd4 and PTEN were the target genes of has-miR-200a. PTEN protein expression significantly decreased in the HEC-1B cells transfected with hsa-miR-200a mimics, and significantly increased in the HEC-1B cells transfected with hsa-miR-200a inhibitor. SON and Pdcd4 protein expression did not change before and after transfection. **Conclusion** Hsa-miR-200a is negatively correlated with PTEN protein expression in HEC-1B cell line, indicating that hsa-miR-200a may affect the proliferation and apoptosis in HEC-1B cells by regulating PTEN protein expression.

[**Key words**] endometrial carcinoma; hsa-miR-200a; PTEN; cell proliferation; apoptosis

Supported by the Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC2008BB5232). Corresponding author: Liu Xueqing, E-mail: a68733172@online.cq.cn

[基金项目] 重庆市自然科学基金(CSTC2008BB5232)

[通信作者] 刘学庆,E-mail: a68733172@online.cq.cn

microRNA 是一类普遍存在于细胞中的长度为18～25个核苷酸的内源性非编码单链小分子 RNA，通过与靶 mRNA 特异性的碱基配对，即完全配对引起靶 mRNA 的降解；而不完全配对则抑制其翻译，从而对基因进行转录后表达的调控[1-2]。在哺乳动物体内主要以不完全配对抑制靶 mRNA 翻译的形式发挥转录后表达调控的功能。miRNAs 的表达具有时空特异性，即在生物发育的不同阶段表达不同的 miRNAs；在不同组织中表达不同的 miRNAs[3]。研究表明 miRNAs 的异常表达与肿瘤的发生密切相关。

子宫内膜癌（endometrial carcinoma，EC）是妇科三大恶性肿瘤之一，占女性生殖道恶性肿瘤的 20%～30%，其发病率近年呈上升趋势[4]，严重威胁着女性的健康和生命。但其发病机制目前尚不完全明了。随着对子宫内膜癌的研究从蛋白质层面转到基因水平，越来越多的研究[5-9]证实 miRNAs 在子宫内膜癌中扮演了重要角色。近年研究[10-14]表明，miRNAs 在肿瘤发生过程中起癌基因或抑癌基因的作用。Hiroki 等[6]报道子宫内膜腺癌组织中 hsa-miR-200a 表达与癌旁正常组织相比明显增高，提示其可能参与肿瘤的发生发展过程。本研究旨在分析 hsa-miR-200a 对人子宫内膜腺癌 HEC-1B 细胞增殖与凋亡的影响，并探讨其机制，为子宫内膜腺癌的诊断和治疗奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

HEC-1B（人子宫内膜腺癌细胞）购自上海中科院细胞库，DMEM/F-12 培养基（Hyclone 公司），胎牛血清（杭州四季青公司），DMSO（Sigma 公司），Trizol Reagent（Invitrogen 公司），Lipofectamine™ 2000（Invitrogen 公司），PCR 试剂（TaKaRa 公司），GFP 标记的 hsa-miR-200a 模拟物、抑制剂及其阴性对照（广州锐博公司），张力蛋白同源的基因（phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten，PTEN）抗体（Santa Cruz 公司）。

### 1.2 方法

1.2.1 RT-PCR 及实时荧光定量 PCR（FQ-PCR） 用 Trizol Reagent 抽提子宫内膜或细胞总 RNA，逆转录成 cDNA，用 SYBR green PCR 混合物完成实时定量 PCR 反应，采用 U6 作为内参，进行归一化。所用引物（Invitrogen）序列见表1。

**表1 基因引物序列**

| 基因 | | | 引物序列（5′→3′） |
|---|---|---|---|
| hsa-miR-200a | 逆转录引物 | | GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGA |
| | | | GGTATTCGCACTGGATACGACACATCG |
| | PCR 引物 | 上游 | GGCTAACACTGTCTGGTAACGATG |
| | | 下游 | GTGCAGGGTCCGAGGT |
| U6 | PCR 引物 | 上游 | GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT |
| | | 下游 | CGCTTCACGAATTTGCGTGTCAT |
| PTEN | PCR 引物 | 上游 | CCGTTACCTGTGTGTGGTGATATC |
| | | 下游 | GAATGTATTTACCCAAAAGTGAAACATT |

1.2.2 Western blot 检测 细胞裂解液抽提细胞总蛋白，8%～10% SDS-PAGE 分离蛋白，转至 PVDF 膜，与一抗和辣根过氧化物酶标记的二抗结合，ECL 法显色。

1.2.3 细胞培养及转染 HEC-1B 细胞用 DMEM/F12 培养基＋10% 胎牛血清，于 37 ℃、5% $CO_2$ 培养箱中培养。接种 5 000个细胞/孔于96孔板中，次日转染：配制 hsa-miR-200a 模拟物-Lipofectamine™ 2000 混合液（终浓度 20 nmol/L）、hsa-miR-200a 抑制剂-Lipofectamine™ 2000 混合液（终浓度 100 nmol/L）及其阴性对照，室温孵育 20 min 加入细胞中，将各转染组及未处理组细胞分别培养 24、48、72、96 h 收获。

1.2.4 MTT 法 HEC-1B 细胞接种于96孔板中，次日转染 miR-200 模拟物、抑制剂及其阴性对照，分别于转染后 24、48、72、96 h 加入 MTT 和 DMSO，酶联免疫检测仪 570 nm 波长处测定各孔光吸收值。实验重复3次。

1.2.5 流式细胞仪检测细胞周期和凋亡 取对数生长期细胞，转染 48 h 后，PBS 润洗，分别置 70% 冰乙醇或 PBS 中制备浓度 $10^6$/ml 单细胞悬液，应用流式细胞技术分析各组细胞周期时相分布或凋亡比例。实验重复3次，计算均值。

1.2.6 生物信息学分析 对 Pictar、MirGen、Targetscan 3 个预测 miRNAs 靶标的数据库进行比对[15-17]，找出交集，再筛选出与增殖或凋亡相关的基因作为研究对象。

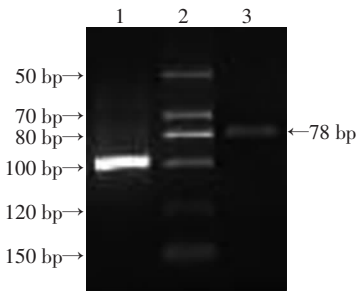
### 1.3 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 17.0 统计软件行 $t$ 检验。

## 2 结果

### 2.1 HEC-1B 细胞中 hsa-miR-200a 的表达水平

运用 RT-PCR 法检测 hsa-miR-200a 在 HEC-1B 中的表达水平，显示 hsa-miR-200a 在 HEC-1B 中存在表达（图1）。




1：U6；2：标准；3：hsa-miR-200a

**图1 hsa-miR-200a 在 HEC-1B 细胞中的表达**

### 2.2 细胞转染效率的检测

HEC-1B 细胞转染 miRNAs 阴性对照 24 h 后，荧光显微镜可见细胞内有荧光分布，转染效率达 90% 以上（图2）。

### 2.3 FQ-PCR 检测转染后各组 hsa-miR-200a 的表达量

转染模拟物组中 hsa-miR-200a 表达显著升高，而抑制剂组则显著降低（$P<0.05$），阴性对照组与未处理组无明显变化，表明转染成功（图3）。

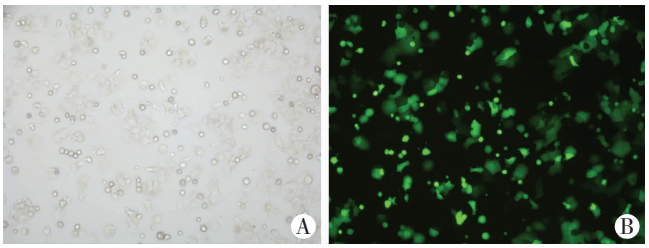
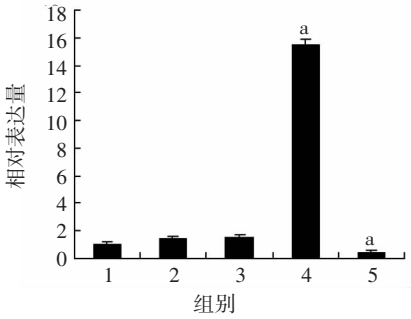


**图2　普通光镜(A)荧光显微镜(B)观察转染 miRNAs 阴性对照的 HEC-1B 细胞**（×100）




1:未处理组;2:模拟物阴性对照组;3:抑制剂阴性对照组;4:模拟物组;5:抑制剂组;a:$P<0.05$,与未处理组和对应阴性对照组比较

**图3　转染后各组 hsa-miR-200a 的表达水平**

## 2.4　hsa-miR-200a 对 HEC-1B 细胞增殖凋亡的影响

2.4.1　MTT 法检测细胞增殖活性　　转染抑制剂组的 HEC-1B 细胞的增殖活性较未处理组及阴性对照组明显降低,抑制效应在转染 48 h 后出现,并持续 48 h 以上;而转染模拟物组的 HEC-1B 细胞增殖活性无显著变化($P>0.05$,表2)。表明下调 hsa-miR-200a 的表达可影响 HEC-1B 细胞增殖活性。

**表2　转染 hsa-miR-200a 抑制剂、模拟物对 HEC-1B 细胞增殖活性的影响**（$n=3, \bar{x}\pm s$）

| 组别 | 24 h | 48 h | 72 h | 96 h |
|---|---|---|---|---|
| 未处理组 | 0.201±0.004 | 0.404±0.026 | 0.613±0.040 | 0.794±0.010 |
| 阴性对照组 | 0.203±0.004 | 0.411±0.035 | 0.582±0.020 | 0.811±0.025 |
| 抑制剂组 | 0.201±0.005 | 0.321±0.035[a] | 0.410±0.020[b] | 0.601±0.025[b] |
| 模拟物组 | 0.202±0.004 | 0.407±0.016 | 0.598±0.021 | 0.803±0.020 |

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$,与未处理组及阴性对照组比较

2.4.2　流式细胞仪分析细胞周期　　转染 48 h 后,抑制剂组中 $G_1$ 期细胞数占总细胞数的比例明显高于未处理组和抑制剂阴性对照组;S 期细胞数占总细胞数的比例明显低于未处理组和抑制剂阴性对照组,组间差异有统计学意义($P<0.05$,图4)。表明下调 hsa-miR-200a 的表达诱导细胞周期停滞在 $G_1$ 期,促进细胞凋亡。而转染模拟物组的 HEC-1B 细胞周期无显著变化($P>0.05$,图4、表3)。

**表3　不同处理组的细胞周期和凋亡率分析结果**［$n=3$, $(\bar{x}\pm s)\%$］

| 组别 | $G_1$期 | S 期 | $G_2$期 | 凋亡率(%) |
|---|---|---|---|---|
| 未处理组 | 52.13±2.31 | 36.92±2.60 | 10.95±3.08 | 7.47±0.66 |
| 抑制剂阴性对照组 | 52.37±3.10 | 36.08±2.45 | 11.55±1.79 | 7.13±0.57 |
| 抑制剂组 | 67.22±1.85[a] | 22.68±2.77[a] | 10.10±2.75 | 18.97±1.12[a] |
| 模拟物阴性对照组 | 59.87±3.25 | 31.62±3.23 | 8.51±2.23 | 15.19±1.85 |
| 模拟物组 | 61.41±2.71 | 34.09±2.87 | 4.50±2.25 | 13.86±1.32 |

a: $P<0.05$,与未处理组和对应阴性对照组比较

2.4.3　流式细胞仪分析细胞凋亡　　转染 48 h 后,抑制剂组中凋亡细胞数占总细胞数的比例明显高于未处理组和抑制剂阴性对照组,组间差异有统计学意义($P<0.05$)。而转染模拟物组的 HEC-1B 细胞凋亡无显著变化($P>0.05$,表3)。表明下调 hsa-miR-200a 的表达促进细胞凋亡。

## 2.5　生物信息学预测 has-miR-200a 的靶基因

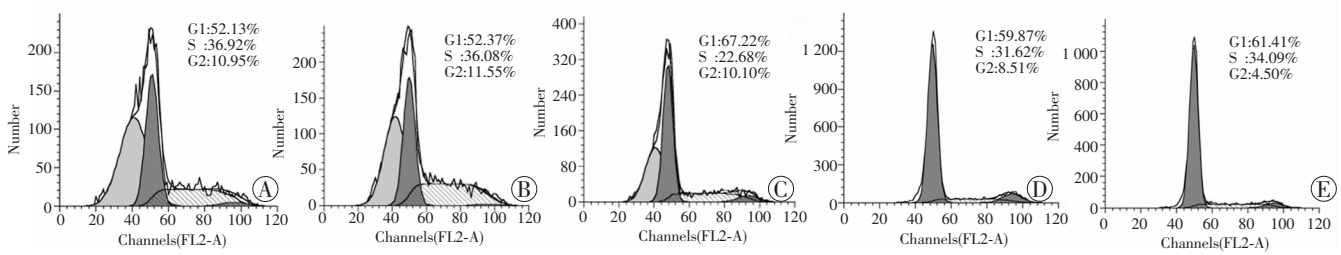
Targetscan 数据库中 hsa-miR-200a 在靶基因的 3'UTR 区的结合位点及序列配对见表4。

**表4　Targetscan 数据库中 hsa-miR-200a 的靶基因及结合位点**

| 靶基因 | 结合位点 |
|---|---|
| SON DNA 结合蛋白 (SON DNA binding protein, SON) | 5' ...GGACAGAUAAUGGGCCAGUGUUA... 3' UGUAGCAAUGGUCUGUCACAAU |
| 程序性细胞死亡基因4 (programmed cell death 4, Pdcd4) | 5' ...CCUUUCUUUCAAGGACAGUGUUU... 3' UGUAGCAAUGGUCUGUCACAAU |
| 磷酸酶-张力蛋白同源基因 (phosphatase and tensin homolog, PTEN) | 5' ...AACCCUUUAUCUCUUAGUGUUAU... 3' UGUAGCAAUGGUCUGUCACAAU |

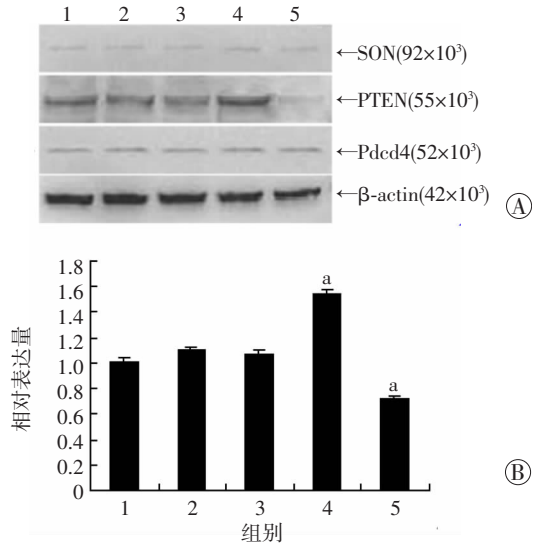
## 2.6　HEC-1B 细胞中 has-miR-200a 负性调控 PTEN

将 has-miR-200a 的模拟物和抑制剂分别转染进入 HEC-1B 细胞中,用 Western blot 检测转染前后靶蛋白 SON、Pdcd4、PTEN 的表达水平(图5),转染前后 HEC-1B 细胞中蛋白 SON、Pdcd4 的表达量没有明显改变,仅蛋白 PTEN 的表达发生改变,即模拟物组中 PTEN 的表达量下调,而抑制剂组中 PTEN 的表达量是上调的($P<0.05$)。运用 FQ-PCR 检测了转染前后细胞 PTEN mRNA 水平,发现转染前后细胞中 PTEN mRNA 水平没有显著变化($P>0.05$)。该结果符合 miRNAs 对基因转录后调控的功能。




A:未处理组;B:抑制剂阴性对照组;C:抑制剂组;D:模拟物阴性对照组;E:模拟物组

**图4　流式细胞仪分析各组细胞周期变化**




1:未处理组;2:抑制剂阴性对照组;3:模似物阴性对照组;4:抑制剂组;5:模似物组;A:Western blot 检测结果;B:半定量分析 a: $P<0.05$,与未处理组及对应阴性对照组比较

**图 5 转染前后 HEC-1B 细胞中 PTEN 蛋白的表达**

## 3 讨论

本研究通过对人子宫内膜腺癌细胞系 HEC-1B 的检测,发现其中有 hsa-miR-200a 表达。通过上调和抑制 HEC-1B 细胞中 hsa-miR-200a 的表达,并对其作用进行相关研究发现下调 hsa-miR-200a 的表达使 HEC-1B 细胞增殖活性降低,促进细胞凋亡。说明 hsa-miR-200a 在 HEC-1B 细胞的表达促进细胞增殖、抑制细胞凋亡,起着致癌基因的作用。而上调 hsa-miR-200a 的表达 HEC-1B 细胞增殖活性无明显改变。以前对癌症形成的研究[18-19]主要集中在致癌基因和抑癌基因方面,新的研究表明癌症的形成还与 miRNAs 对致癌基因或抑癌基因的调控有关。Myatt 等[8]证明在子宫内膜癌中 miRNAs 调控抑癌基因 FOXO1 的表达;Yu 等[20]证明在鳞癌上皮中 miR-205 通过调控抑癌基因 SHIP2 的表达影响肿瘤的发生或进程。

由于哺乳动物细胞中的 miRNAs 具有抑制靶基因翻译的功能。hsa-miR-200a 是如何调控 HEC-1B 细胞的增殖与凋亡呢?本实验结果表明 hsa-miR-200a 调控的靶基因为人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及 PTEN。PTEN 是一种抑癌基因,在细胞生长、凋亡、黏附、迁移、浸润等方面具有重要作用,尤其在肿瘤的发生发展过程中发挥着重要作用[20-27]。它的突变或转录水平降低常见于多种原发性恶性肿瘤,如脑胶质瘤、乳腺癌、肺癌、结肠癌、子宫内膜癌和恶性黑色素瘤等,表明 PTEN 基因与肿瘤的形成与发展密切相关[28]。Yang 等[25]证实在卵巢癌中 miR-214 负性调控 PTEN 的表达,促进卵巢癌细胞的增殖,因此我们推测 hsa-miR-200a 在子宫内膜癌中也有类似的作用。本研究通过人工合成 hsa-miR-200a 的模拟物、抑制剂,上调和抑制 hsa-miR-200a 的表达,发现 PTEN 蛋白与 hsa-miR-200a 的表达呈负相关。hsa-miR-200a 表达被抑制,PTEN 表达量的上调导致 HEC-1B 细胞增殖活性降低,凋亡增加。由此表明 hsa-miR-200a 影响了 HEC-1B 细胞的增殖、凋亡。在本研究中,PTEN 的表达量受模拟物、抑制剂的影响发生改变,而模拟物却不影响 HEC-1B 细胞的增殖活性,我们推测这是因为 HEC-1B 细胞中 hsa-miR-200a 的表达水平已较高,且 hsa-miR-200a 起着致癌基因的作用,上调其表达量但不增加其致癌作用。

综上所述,hsa-miR-200a 在 HEC-1B 细胞增殖凋亡过程中扮演了重要角色,其生物学功能的发挥是通过对靶基因 PTEN 的翻译水平的调控实现的。

## 参考文献:


[1] Stark A, Brennecke J, Bushati N, *et al*. Animal MicroRNAs confer robustness to gene expression and have a significant impact on 3'UTR evolution[J]. Cell, 2005, 123(6): 1133-1146.

[2] Lee D Y, Jeyapalan Z, Fang L, *et al*. Expression of versican 3'-untranslated region modulates endogenous microRNA functions[J]. PLoS ONE, 2010, 5(10): e13599.

[3] Bartel D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297.

[4] 乐杰. 妇产科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 272.

[5] Lee J W, Park Y A, Choi J J, *et al*. The expression of the miRNA-200 family in endometrial endometrioid carcinoma[J]. Gynecol Oncol, 2011, 120(1): 56-62.

[6] Hiroki E, Akahira J, Suzuki F, *et al*. Changes in microRNA expression levels correlate with clinicopathological features and prognoses in endometrial serous adenocarcinomas[J]. Cancer Sci, 2010, 101(1): 241-249.

[7] Pan Q, Chegini N. MicroRNA signature and regulatory functions in the endometrium during normal and disease states[J]. Semin Reprod Med, 2008, 26(6): 479-493.

[8] Myatt S S, Wang J, Monteiro L J, *et al*. Definition of microRNAs that repress expression of the tumor suppressor gene FOXO1 in endometrial cancer[J]. Cancer Res, 2010, 70(1): 367-377.

[9] Ohlsson-Teague E M, Van-der-Hoek K H, Van-der-Hoek M B, *et al*. MicroRNA-regulated pathways associated with endometriosis[J]. Mol Endocrinol, 2009, 23(2): 265-275.

[10] Croce C M, Calin G A. miRNAs, cancer, and stem cell division[J]. Cell, 2005, 122(1): 6-7.

[11] Negrini M, Ferracin M, Sabbioni S, *et al*. MicroRNAs in human cancer: from research to therapy[J]. J Cell Sci, 2007, 120(Pt 11): 1833-1840.

[12] Kutay H, Bai S, Datta J, *et al*. Downregulation of miR-122 in the rodent and human hepatocellular carcinomas[J]. J Cell Biochem, 2006, 99(3): 671-678.

[13] Tricoli J V, Jacobson J W. MicroRNA: potential for cancer detection, diagnosis, and prognosis[J]. Cancer Res, 2007, 67(10): 4553-4555.

[14] Gaur A, Jewell D A, Liang Y, *et al*. Characterization of microRNA expression levels and their biological correlates in human cancer cell lines[J]. Cancer Res, 2007, 67(6): 2456-2468.

[15] Megraw M, Sethupathy P, Corda B, *et al*. miRGen: a database for the study of animal microRNA genomic organization and function[J]. Nucleic Acids Res, 2007, 35(Database issue): D149-D155.

[16] Lewis B P, Burge C B, Bartel D P. Conserved seed pairing, often

flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets[J]. Cell, 2005, 120(1): 15-20.
[17] Krek A, Grun D, Poy M N, *et al*. Combinatorial microRNA target predictions[J]. Nat Genet, 2005, 37(5): 495-500.
[18] Croce C M. Oncogenes and cancer[J]. N Engl J Med, 2008, 358(5): 502-511.
[19] Osborne C, Wilson P, Tripathy D. Oncogenes and tumor suppressor genes in breast cancer: potential diagnostic and therapeutic applications[J]. Oncologist, 2004, 9(4): 361-377.
[20] Yu J, Ryan D G, Getsios S, *et al*. MicroRNA-184 antagonizes microRNA-205 to maintain SHIP2 levels in epithelia[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(49): 19300-19305.
[21] Schondorf T, Ebert M P, Hoffmann J, *et al*. Hypermethylation of the PTEN gene in ovarian cancer cell lines[J]. Cancer Lett, 2004, 207(2): 215-220.
[22] Trotman L C, Wang X, Alimonti A, *et al*. Ubiquitination regulates PTEN nuclear import and tumor suppression[J]. Cell, 2007, 128(1): 141-156.
[23] Wang X, Trotman L C, Koppie T, *et al*. NEDD4-1 is a proto-oncogenic ubiquitin ligase for PTEN[J]. Cell, 2007, 128(1): 129-139.
[24] Zbuk K M, Eng C. Cancer phenomics: RET and PTEN as illustrative models[J]. Nat Rev Cancer, 2007, 7(1): 35-45.
[25] Yang H, Kong W, He L, *et al*. MicroRNA expression profiling in human ovarian cancer: miR-214 induces cell survival and cisplatin resistance by targeting PTEN[J]. Cancer Res, 2008, 68(2): 425-433.
[26] Blumenthal G M, Dennis P A. PTEN hamartoma tumor syndromes[J]. Eur J Hum Genet, 2008, 16(11): 1289-1300.
[27] Yan X, Fraser M, Qiu Q, *et al*. Over-expression of PTEN sensitizes human ovarian cancer cells to cisplatin-induced apoptosis in a p53-dependent manner[J]. Gynecol Oncol, 2006, 102(2): 348-355.
[28] Salmena L, Carracedo A, Pandolfi P P. Tenets of PTEN tumor suppression[J]. Cell, 2008, 133(3): 403-414.

(**收稿**:2012-03-09;**修回**:2012-04-13)
(编辑 汪勤俭)

# 个案与短篇

**文章编号**:1000-5404(2012)16-1612-01

## 内科胸腔镜诊治胸膜腔疾病的围术期护理

王 苇,周泽云 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院全军呼吸内科研究所,全军呼吸病研究重点实验室)

[**关键词**] 内科胸腔镜;胸腔积液;诊断;护理
[**中图法分类号**] R473.5 [**文献标志码**] B

近年来,内科胸腔镜手术因其创伤小、痛苦少、术后恢复快等优点而广泛开展[1-2]。我们采用日本 OLYMPUS LTF240 型软硬结合可弯曲电子内科胸腔镜对 231 例胸腔积液患者行内科胸腔镜检查,早期明确诊断,取得满意效果。报告如下。

### 1 资料与方法

#### 1.1 一般资料

2009 年 12 月至 2011 年 8 月对本院 231 例胸膜腔疾病患者进行了诊断性内科胸腔镜检查,其中男性 159 例,女性 72 例,年龄 13~89(50.18±15.88)岁,有胸水的患者行胸穿常规检查均为渗出液。胸腔镜下胸膜活检病理结果:结核 119 例,腺癌 66 例,鳞癌 3 例,小细胞癌 6 例(含神经内分泌癌 1 例),肺癌未分型 4 例,胸膜间皮瘤 3 例,淋巴瘤 3 例,病理结果提示慢性炎症而随后经肺穿或临床诊断肺癌 9 例,嗜酸性粒细胞增多症 4 例,气胸 1 例,结缔组织疾病 1 例,乳糜胸 1 例,取异物 1 例,镜下见胸膜无异常未取活检 10 例。患者均顺利手术,术后胸痛 157 例,发热 6 例,复张性肺水肿 2 例,咳嗽 3 例,术中出血 1 例;未发生皮下气肿、血胸、气胸、气体栓塞等并发症,无手术死亡,术后拔管后肺膨胀恢复良好。

#### 1.2 围术期护理

1.2.1 术前准备 术前耐心细致地与患者及家属进行交谈、沟通。讲解内科胸腔镜的原理、目的、方法、效果、安全性、检查的必要性,告之该手术的优点:无需开胸、费用低、术后恢复快、痛苦小[3]。可以有效消除其紧张、恐惧心理,积极配合治疗。

常规器械准备及消毒。术前 15 min 肌注咪哒唑仑 5 mg、盐酸哌替啶 100 mg,缓解患者紧张情绪、减轻疼痛;协助患者取舒适体位勿随意活动,嘱其不要剧烈咳嗽,同时给予氧气吸入,心电监护。铺无菌操作台,备灭菌胸腔闭式引流包,一次性 trocar套管,一次性吸引管,一次性空针抽吸 2% 利多卡因 5~10 ml,另备无菌标本容器 1 个留取活检标本。

1.2.2 术中护理 术中密切观察生命体征,尤其是血氧饱和度,根据血氧饱和度调节吸氧流量。严格无菌操作,清洗腔镜器械及机器维护[4]。少数患者由于肌注咪哒唑仑、盐酸哌替啶后处于嗜睡状,容易出现不自主活动,必要时予轻度约束,以保证手术顺利进行。注意观察抽吸的胸水量,避免大量胸水患者因一次性抽吸胸水过多出现急性肺水肿。熟练配合医师行壁层胸膜活检术,一般考虑结核的患者胸膜活检组织质地较松软易活检,考虑癌症的患者胸膜活检困难,组织质地硬,需要准备齿钳,活检时缓慢钳取,同时观察患者的反应及出血情况。

1.2.3 术后护理 术后除常规护理外,加强呼吸道的护理:①对于存在术后低氧的患者,予中低流量(3~5 L/min)氧气吸入,维持血氧饱和度在 95% 以上。②对于咳痰困难的患者,鼓励其深呼吸及有效咳嗽;协助其翻身叩背、体位引流;必要时给予雾化吸入或应用支气管扩张药和祛痰药。并观察患者伤口及疼痛情况,根据疼痛程度,对伤口疼痛轻微的患者鼓励其思想放松,分散注意力,增加其舒适感;对于胸痛和疼痛较重的患者,遵医嘱酌情予口服止痛药或肌注曲马多。并密切观察术后并发症,及时报告医师并及时处理。对于术后留置胸腔闭式引流管的患者,做到妥善固定引流管,观察水封瓶内水柱波动情况,保持引流通畅,记录引流液的颜色、性质和数量,必要时调整引流管位置或方向。夹管 24 h 证实无气胸或血胸发生时,可拔除引流管;拔管后仍需继续观察呼吸、切口渗液等情况。

[**通信作者**] 周泽云,E-mail:zizhu05@126.com

(下转 1616 页)