DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.03.005

论著

文章编号:1000-5404(2004)03-0196-05

洛伐他汀对乳腺癌细胞 Rho GTPases 活性及细胞骨架形成的影响

韦 娜,糜漫天,张乾勇,周 永 (第三军医大学预防医学系营养卫生学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 探讨胆固醇合成抑制剂洛伐他汀对MCF-7乳腺癌细胞 Rho GTPases 活性及细胞骨架形成的影响。方法 采用逆转录-PCR 检测 Rho、Rac2 和 RhoGDI mRNA 的表达水平,放射自显影方法分析 Rho GTPases 活性,激光共聚焦和透射电镜观察微丝和中间丝的形成。结果 4~16 μmol/L 的 LOV 处理MCF-7细胞 48~72 h 后,RhoA mRNA 表达均无明显变化,而 Rac2 mRNA 和 RhoGDI mRNA 随洛伐他汀的处理,各剂量组 mRNA 表达均呈增加趋势;放射自显影结果发现,LOV 处理细胞 72 h 后,各处理组 Rho GTPases 结合的 GTP 量明显低于对照组;此外,LOV 能明显促进MCF-7 细胞微丝和中间丝的形成,该作用有一定剂量-效应和时间依赖关系。结论 洛伐他汀处理MCF-7乳腺癌细胞,因妨碍 Rho GTPases 蛋白转录后的香叶酯焦磷酸活化修饰而导致 Rho GTPases 活性降低,但它却能明显促进MCF-7细胞骨架的形成。

关键词:洛伐他汀;Rho GTPases;香叶酯焦磷酸;细胞骨架

中图法分类号:R737.905;R979.1 文献标识码:A

Effects of cholesterol inhibitor lovastatin on Rho GTPases activity and cytoskeleton formation in MCF-7 breast cancer cells

WEI Na, MI Man-tian, ZHANG Qian-yong, ZHOU Yong (Department of Nutrition and Food Hygiene, College of Preventive Medicine, Third Military University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of lovastatin (LOV) on Rho GTPases activity and cytoskeleton organization in MCF-7 cells. Methods Expression levels of RhoA, Rac2, and RhoGDI mRNA were determined by RT-PCR analysis. GTP-binding activity of Rho GTPases was detected by autoradiography. Microfilament and intermediate filament reformations were observed by confocal laser microscopy and electron microscopy. Results After treatment of MCF-7 cells with 4—16 μmol/L LOV for 48—72 h, the expression levels of Rac2 mRNA and RhoGDI mRNA were up-regulated, but the binding abilities of Rho GTPases and GTP decreased AT 72 h after treatment. There was no obvious change in the expression of RhoA mRNA. In addition, LOV obviously accelerated the reformation of microfilament and intermediate filament in dose- and time-dependent manners in MCF-7 cells. Conclusion LOV can inhibit the activation of Rho GTPases through blocking the post-translational geranylgeranylpyrophosphate of Rho GTPases, but can obviously promote the cytoskeleton reorganization in MCF-7 cells.

Key words: lovastatin; Rho GTPases; geranylgeranylpyrophosphate; cytoskeleton

洛伐他汀(lovastatin, LOV)等他汀类降血脂药物是羟甲基戊二酰单酰辅酶A(3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA, HMG-CoA)还原酶的抑制剂,它能降低细胞内源性胆固醇合成,并阻滞 HMG-CoA 的甲羟戊酸(mevalonate, MVA)代谢途径,从而影响细胞膜脂质、电子传递、Ras超家族的蛋白活化修饰等[1]。由于恶性增殖的肿瘤细胞需要不断合成内源性胆固醇,近年有研究发现 LOV 具有抗肿瘤特性。它能抑制多种肿瘤细胞增殖,诱导其分化成熟或凋亡的发生[2]。由微丝(microfilament)、微管(microtubule, MT)和中间丝(intermediate filament, IF)共同构成的细胞骨架参与细胞运动、细胞分裂、胞内物质运输、信息传递等多项活动。细胞骨架的分布及完整对维持细胞的正常表型及功能具有重要意义,且恶性细胞内常见异常的细胞骨架形成和分布。作为 Ras 超家族成员之一的小 G 蛋白 Rho GTPases (RhoA、B、C, Rac1、2 和 Cdc42),证实是细胞骨架肌动蛋白的重要调节子,能调节细胞骨架的形成而影响脊椎动物的细胞形态[3]。我们选用低浸润性的MCF-7乳腺癌细胞株,通过观察不同浓度的 LOV 对细胞 Rho GTPases 活性、细胞骨架分布及完整性的影响,来深入探讨 LOV 抗肿瘤作用的分子机制。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30271128)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30271128)
作者简介:韦 娜(1973—),女,重庆市人,博士研究生,实验师,主要从事营养与肿瘤方面的研究 电话:(023)68752291
通信作者:糜漫天,电话:(023)68752292, E-mail: mimt@sina.com
收稿日期:2003-03-19;修回日期:2003-09-28

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1　材料与方法

1.1　细胞株的培养

MCF-7 乳腺癌细胞株由中国科学院上海细胞所提供。细胞在含 10 ml/L 热灭活小牛血清的 DMEM 高糖培养基中常规传代培养。

1.2　实验试剂

洛伐他汀(lovastatin, LOV)购自 Fluka 公司, 溶于二甲亚砜(DMSO), 储存浓度为 3.2×10^4 μmol/L, −20 ℃保存, LOV 处理细胞终浓度分别为 4、8、16 μmol/L。Tripure™ 分离试剂、RT-PCR 试剂购自 Promega 公司。RT-PCR 引物由上海生物工程技术服务有限公司合成。蛋白提取液各组分、异硫氰酸荧光素标记的鬼笔环肽(FITC-phalloidin)购自 Sigma 公司。[α-^{32}P] GTP 购自北京亚辉生物医学工程公司。

1.3　实验方法

1.3.1　RT-PCR 检测 RhoA、Rac2 和 RhoGDI mRNA 的表达

1.3.1.1　提取总 RNA　　将 MCF-7 细胞分为 5 组, 即空白对照、溶剂对照(加入 0.05% DMSO)及 LOV 处理各组, 处理 48 h 和 72 h 后, 用 1 ml TripureTM 分离试剂提取细胞总 RNA, 详细步骤参见试剂盒说明书。以紫外分光光度计检测 RNA 含量及 D_{260}/D_{280} 比值, 并保存于−80 ℃备用。

1.3.1.2　逆转录　　取 3 μg 总 RNA, 65 ℃孵育 5 min 后加入 RNA 酶抑制剂、dNTP、Oligod(T)18 及逆转录酶, 反应体积为 20 μl, 37 ℃、1 h 进行逆转录, 70 ℃、10 min 灭活逆转录酶。

1.3.1.3　PCR 扩增引物[4]　　RhoA: 上游引物为 5′-GATTCGTTGCCTGAGCATTG, 下游引物为 5′-GCGATCATAATCTTC CTGCC-3′, 扩增片段为 221 bp; Rac2: 上游引物为 5′-ACCGTGTTT GACAACTATTCAG-3′, 下游引物为 5′-ACGGCCCGGATGGCCTCG-3′, 扩增片段为 425 bp; RhoGDI: 上游引物为 5′-CATCCAGGAGATCCAGGAGC-3′, 下游引物为 5′-GACTTGATGCTGTAGCTGCC-3′, 扩增片段为 435 bp; 内参照人 β_2-Microglubulin 扩增引物: 上游引物为 5′-ACCCCCACTGAAAAAGATGA-3′, 下游引物为 5′-ATCTTCAAACCTCCATGATG-3′, 扩增片段为 120 bp。

1.3.1.4　PCR 扩增条件　　反应总体积 50 μl, 加入模板 DNA 0.75 μg, 扩增片段上游和下游引物终浓度为 0.3 μmol/L, 待 95 ℃变性 5 min 后加入 5.0 U *Taq* DNA 聚合酶。扩增 RhoA、Rac2 和 β_2-Microglubulin 的反应参数为 94 ℃、1 min, 61 ℃、1 min, 72 ℃、1 min 共 35 个循环, 扩增 RhoGDI 反应参数为 94 ℃、1 min, 70 ℃、1 min, 72 ℃、1 min 共 40 个循环, 最后一个循环后均 72 ℃延伸 10 min。取 4 μl 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳, 紫外灯下观察并照相。

1.3.2　膜上 Rho GTPases 与 GTP 结合活性的分析[5]

1.3.2.1　细胞蛋白的提取　　以 2.5×10^5/ml 细胞数密度接种, 处理 48 h 和 72 h 后, 常规收获各组细胞, 在 1×10^7 细胞数中加入 100 μl 预冷至 0 ℃的 NP-40 裂解液(50 mmol/L、pH 8.0 的 Tris-Cl, 150 mmol/L NaCl, 25 mmol/L NaF, 5 mmol/L $Na_4P_2O_7$, 0.1% NP-40, 10 μg/ml Aprotinin, 10 μg/ml leupeptin, 1 mmol/L PMSF)裂解, 冰上放置 30 min, 4 ℃、12 000× *g* 离心 15 min, 将上清收集至另一微量离心管。

1.3.2.2　蛋白质浓度测定　　按 Lowry 比色法, 以 BSA 为标准蛋白, 用 Eppendorf Biophotometer 仪测定样品蛋白浓度。

1.3.2.3　GTP 结合活性的分析　　15 μl 样品(60 μg 细胞蛋白)中加入 15 μl 2× SDS 加样缓冲液, 沸水中煮沸 5 min, 经 15% SDS-PAGE 电泳后电转移至 NC 膜, 而后在缓冲液(25 mmol/L Tris/192 mmol/L 甘氨酸)中复性并孵育过夜, 换成结合缓冲液(50 mmol/L Tris pH 7.5, 0.3% Tween-20, 5 mmol/L $MgCl_2$, 1 mmol/L EGTA)室温孵育 20 min 后, 加入[α-^{32}P] GTP (1 μCi/ml)室温孵育 90 min, 用结合缓冲液洗 NC 膜 3× 10 min, 最后放置于−80 ℃ 2 d 放射自显影观察定位于膜上的 Rho GTPases 与[^{32}P] GTP 的结合。

1.3.3　细胞骨架结构的观察

1.3.3.1　激光共聚焦扫描技术观察细胞内微丝的变化　　将处于对数生长期的 MCF-7 细胞接种于有盖玻片的 12 孔培养板, 过夜贴壁后按上述不同浓度的 LOV 处理细胞, 分别于 48 h 和 72 h 取出载有细胞的盖玻片, 用 0.01 mol/L PBS 去除细胞表面的残渣和杂质后, 直接采用异硫氰酸荧光素标记的鬼笔环肽(1∶100)染色。鬼笔环肽可特异性地与纤维状肌动蛋白结合, 直接显示细胞内的微丝束。于 Leica TCS NT 激光共聚焦显微镜下观察细胞内微丝的变化并摄像。

随后每组选择不同视野的 3 个单细胞, 用激光共聚焦显微镜的图像分析系统(TCS-Tools)分析整个胞内的荧光强度。

1.3.3.2　透射电镜观察细胞内中间丝的变化　　按前述方法处理细胞后, 0.25% 胰酶消化, 0.1 mol/L PBS pH 7.4(低温离心 10 min, 4 ℃, 2 000 r/min)洗涤细胞 2 次后, 于 1 000 r/min、4 ℃、离心 10 min 轻弃上清, 加入 3%戊二醛固定细胞, 常规电镜包埋, 超薄切片, 于 TECNAI10 PHILIPS 透射电镜下观察细胞内中间丝的变化。

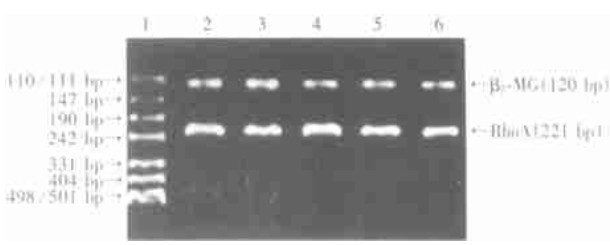
1.4　统计学处理

数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 采用 SPSS10.0 软件对实验结果进行重复测量资料的方差分析。

2　结果

2.1　LOV 对 MCF-7 细胞 RhoA、Rac2 和 RhoGDI mRNA 表达的影响

RT-PCR 结果显示, 空白对照组与溶剂对照组(加入 0.05% DMSO)mRNA 表达均无显著性差异。LOV 以 4、8、16 μmol/L 不同剂量处理 MCF-7 细胞 48 h 和 72 h 后, 各处理组 RhoA mRNA 表达与对照组比较无明显变化; 而各剂量组 Rac2 mRNA 表达均明显强于对照组; 在 48 h, 8、16 μmol/L 处理组 RhoGDI mRNA 表达强于 4 μmol/L 剂量组和对照组, 72 h 后各剂量组 RhoGDI mRNA 表达均强于对照组, 见图 1~3。

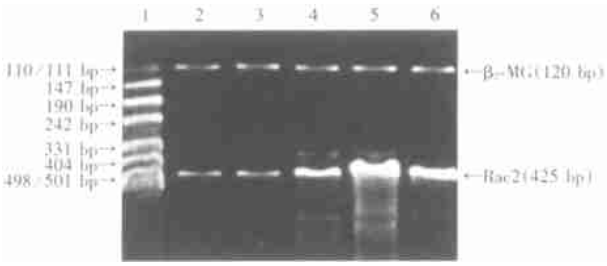


1: PCR marker; 2: Control; 3: Solvent control; 4: 4 μmol/L; 5: 8 μmol/L; 6: 16 μmol/L

图 1　LOV 处理 MCF-7 细胞 72 h 对 RhoA mRNA 表达的影响

Fig 1　Effect of LOV on the expression of RhoA mRNA in MCF-7 cells at 72 h

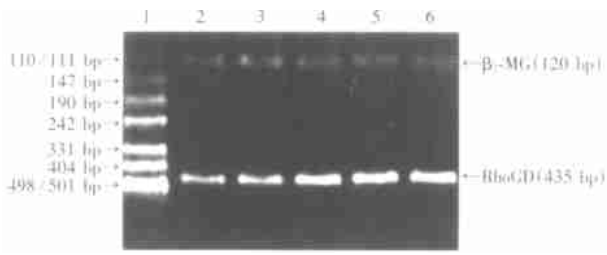
?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net



1: PCR marker; 2: Control; 3: Solvent control; 4: 4 μmol/L; 5: 8 μmol/L; 6: 16 μmol/L

图2 LOV处理MCF-7细胞72h对Rac2 mRNA表达的影响

Fig 2 Effect of LOV on the expression of Rac2 mRNA in MCF-7 cells at 72 h



1: PCR marker; 2: Control; 3: Solvent control; 4: 4 μmol/L; 5: 8 μmol/L; 6: 16 μmol/L

图3 LOV处理MCF-7细胞72 h对RhoGDI mRNA表达的影响

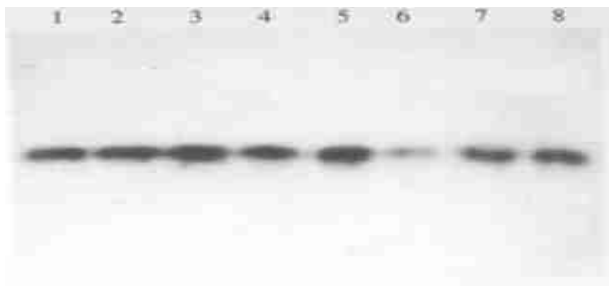
Fig 3 Effect of LOV on the expression of RhoGDI mRNA in MCF-7 cells at 72 h

2.2 LOV对MCF-7细胞膜Rho GTPases与GTP结合活性的影响

放射自显影结果显示，LOV以不同剂量处理细胞48 h，各处理组Rho GTPases结合的GTP量与对照组比较无明显差异；72 h后各处理组Rho GTPases结合的GTP量明显低于对照组，但其中8和16 μmol/L剂量组Rho GTPases结合的GTP量高于4 μmol/L剂量组，我们重复此实验3次也得到相同的结果，推测这可能与细胞的反馈性调节机制有关。以上结果提示LOV处理细胞72 h可明显诱导Rho GTPases与GTP结合能力的下降，见图4。

2.3 LOV对MCF-7细胞骨架的影响

2.3.1 激光共聚焦显微镜观察细胞内微丝的变化 对照组只在相互粘附的细胞胞膜上可见少许微丝，胞浆内几乎无微丝表达，荧光强度弱；经不同剂量的LOV处理MCF-7细胞48 h和72 h后，细胞内微丝表达逐渐增多，从胞膜至胞浆均可见明显的束状平行或交叉分布的微丝，荧光强度也随之增强，且随剂量的增加及时间延长此作用越明显，见图5。而用共聚焦显微镜的图像分析系统对其胞内的荧光强度进行分析的结果表明，见表1，对照组与各剂量组比较荧光强度有明显变化（$P<0.01$），且各剂量组间荧光强度也有显著性差异（$P<0.05$和$P<0.01$），提示LOV可促进MCF-7细胞微丝的重新形成，此作用呈剂量-效应和时间-依赖关系。



1—4: 48 h; 5—8: 72 h; 1, 5: Control; 2, 6: 4 μmol/L; 3, 7: 8 μmol/L, 4, 8: 16 μmol/L

图4 LOV对MCF-7细胞膜Rho GTPases与GTP结合活性的影响 放射自显影法

Fig 4 Effect of LOV on the GTP-binding activity of Rho GTPases in MCF-7 cells

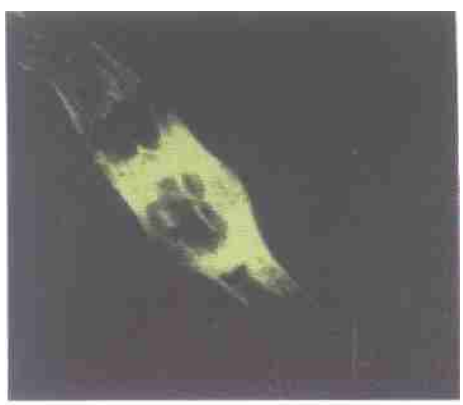


图5 16 μmol/L LOV处理72 h MCF-7细胞微丝表达的变化 （Confocal× 900）

Fig 5 Changes of expression of microfilament in MCF-7 cells at 72 h after treatment with 16 μmol/L LOV （Confocal× 900）

表1 LOV对MCF-7细胞微丝表达荧光强度的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

Tab 1 Effect of LOV on the fluorescent intensity of microfilament expression in MCF-7 cells（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

Group	Fluorescent intensity of microfilament expression	
	48 h	72 h
Control	127.063±2.350	27.063±2.350
4 μmol/L	34.663±4.056 *	40.910±3.030 *
8 μmol/L	39.940±0.522 *△	47.790±3.330 *△
16 μmol/L	61.523±1.992 *△△★	92.967±1.518 *△△★
	$F=137.467$, $P=0.000$	$F=428.157$, $P=0.000$

*: $P<0.01$, *vs* control; △: $P<0.05$, *vs* 4 μmol/L; △△: $P<0.01$, *vs* 4 μmol/L; ★: $P<0.01$, *vs* 8 μmol/L

2.3.2 透射电镜观察细胞内中间丝的变化 对照组MCF-7细胞核膜附近只见极少量的中间丝表达，经16 μmol/L LOV处理48 h后，细胞内中间丝表达逐渐增多，可见明显的束状平行呈发丝状，提示LOV可促进MCF-7细胞中间丝的重新形成，见图6。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



图 6　16 μmol/L LOV 处理 48 h MCF-7 细胞中间丝表达的变化 (TEM× 27 000)

Fig 6　Changes of expression of intermediate filament in MCF-7 cells at 48 h after treatment with 16 μmol/L LOV (TEM× 27 000)

3　讨论

HMG-CoA 甲羟戊酸代谢途径的重要产物香叶酯焦磷酸(GGPP)参与 Rho GTPases 蛋白翻译后的活化修饰[1], 使其能与膜结合进而发生 GDP/GTP 交换而被活化, 因此这种脂质化修饰对 Rho GTPases 与膜的结合及活化过程非常重要[6]。研究表明, G 蛋白偶联受体可经其自身变构形成鸟苷酸交换因子 (GEFs), 在 Gα12/13 亚单位上催化 GDP/GTP 交换而快速活化 Rho GTPases[7], 且不同的 Rho GTPases 有着特异的 GEF, 可调节相应的 Rho GTPases 活化。本实验 RT-PCR 观察结果显示, LOV 能诱导 Rac2 mRNA 表达增加, 但对 RhoA mRNA 表达无明显影响, 这可能与 LOV 改变膜脂质结构, 激活 Gα12/13 及 Rac2 特异的 GEF 来上调 Rac2 mRNA 表达有关。同时本研究观察到 LOV 能引发 MCF-7 细胞膜电位发生改变, 进一步证实 LOV 对 MCF-7细胞膜功能的影响是显著的。放射自显影结果显示, LOV 处理 MCF-7 细胞 72 h 可明显诱导 Rho GTPases 与 GTP 结合能力的下降, 且能增加 RhoGDI mRNA 表达, 这可能与 LOV 抑制 Rho GTPases 蛋白的 GGPP 活化修饰、上调 RhoGDI mRNA 表达, 导致胞浆中 Rho GTPases 的非活性 (GDP 结合)形式富集而降低膜上 Rho GTPases 与 GTP 的结合能力有关。上述结果提示, LOV 虽能影响细胞膜脂质结构而上调 Rho GTPases mRNA 表达, 但因阻止其翻译后的 GGPP 活化修饰, 最终导致 Rho GTPases 活性降低。

用激光共聚焦显微镜和透射电镜观察的结果表明, 不同剂量的 LOV 能诱导 MCF-7 细胞骨架表达逐渐增多, 从胞膜至胞浆内均可见明显的束状平行或交叉分布的微丝和核周束状平行呈发丝状的中间丝, 此作用呈剂量-效应和时间-依赖关系, 且在 72h 出现的微丝荧光染色斑点可暗示微丝构成的完整性[6]。有报道指出, 抑制细胞 Rho GTPases 的 GGPP 修饰可诱导晶体上皮细胞骨架改变[8], 且降低该蛋白的活性是 LOV 诱导肿瘤细胞凋亡、细胞骨架断裂及细胞圆化的主要原因[9]。本研究表明 LOV 诱导 Rho GTPases 活性降低但促进 MCF-7 细胞骨架形成, 此结果与先前报道不相一致, 原因可能是 LOV 抑制 MVA 途径对不同种系来源的肿瘤细胞株敏感性和反应性不一所致。如我们以往的研究发现, 相同剂量的 LOV 作用下, HL-60 细胞出现显著的细胞凋亡特征, 而 MCF-7 细胞则被阻滞于 G_0/G_1 期, 未出现凋亡性变, 并有向正常细胞分化的趋势[10]。Denoyelle 等[11] 也发现他汀类药物能抑制高浸润性的 MDA-MB-231 乳腺癌细胞株转移, 对低侵润性的 MCF-7 乳腺癌细胞株作用不明显。越来越多的研究显示, 细胞骨架的形成还受多种 Rho GTPases 相关因素的调节, 如 Rho 激酶[12]、定位于膜上的 RhoGEF[13]、胞内酪氨酸和丝/苏氨酸蛋白激酶[14]、原肌球蛋白、动力蛋白及骨架系统内的相互调节等。或许在本研究中 LOV 对 MCF-7 细胞骨架形成的影响与 LOV 诱导 MCF-7 细胞分化而非诱导细胞凋亡有密切关系, 但其确切机制尚需进一步探讨。

参考文献:

[1] Wang I K, Lin-Shiau S Y, Lin J K. Suppression of invasion and MMP-9 expression in NIH 3T3 and v-H-Ras 3T3 fibroblasts by lovastatin through inhibition of ras isoprenylation[J]. Oncology, 2000, 59(3): 245—254.

[2] Kusama T, Mukai M, Iwasaki T. 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme a reductase inhibitors reduce human pancreatic cancer cell invasion and metastasis[J]. Gastroenterology, 2002, 122(2): 308—317.

[3] Van Aelst L, D' Sonza-Schorey C. Rho GTPases and signaling networks [J]. Genes Dev, 1997, 11(18): 2295—2322.

[4] Kasper B, Tidow N, Grothues D, *et al*. Differential expression and regulation of GTPases(RhoA and Rac2) and GDIs(LyGDI and RhoGDI) in neutrophils from patients with severe congenital neutropenia[J]. Blood, 2000, 95(9): 2947—2953.

[5] Gnad R, Aktories K, Kaina B, *et al*. Inhibition of protein isoprenylation impairs rho-regulated early cellular response to genotoxic stress[J]. Mol Pharmacol, 2000, 58(6): 1389—1397.

[6] Shah V, Bharadwaj S, Kaibuchi K, *et al*. Cytoskeletal organization in tropomyosin-mediated reversion of ras-transformation: Evidence of Rho kinasa pathway[J]. Oncogene, 2001, 20(17): 2112—2121.

[7] Whitehead I P, Zohn I E, Der C J. Rho GTPase-dependent transformation by G protein-coupled receptors[J]. Oncogene, 2001, 20(13): 1547—1555.

[8] Maddala R L, Reddy V N, Rao P V. Lovastatin-induced cytoskeletal reorganization in lens epithelial cells: role of Rho GTPases[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2001, 42(11): 2610—2615.

[9] Dimitroulakos J, Marhin W H, Tokunaga J, *et al*. Microarray and bio-

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

chemical analysis of lovastatin-induced apoptosis of squamous cell carcinomas[J]. Neoplasia, 2002, 4(4): 337—346.

[10] 周 永, 糜漫天, 韦 娜, 等. 细胞内 Ca^{2+} 在HMG-COA还原酶抑制剂抑制MCF-7细胞增殖中的作用[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(2): 151—154.

[11] Denoyelle C, Vasse M, Korner M, *et al*. Cerivastatin, an inhibitor of HMG-CoA reductase, inhibits the signaling pathway involved in the invasiveness and metastatic properties of highly invasive breast cancer lines: an *in vitro* study[J]. Carcinogenesis, 2001, 22(8): 1139—1148.

[12] Pawlak G, Helfman D M. Post-transcriptional downregulation of ROCK1/Rho-kinase through an MEK-dependent pathway leads to cytoskeleton disruption in Ras-transformed fibroblasts[J]. Mol Biol Cell, 2002, 13(1): 336—347.

[13] Krendel M, Zenke F T, Bokoch G M, *et al*. Nucleotide exchange factor GEF-H1 mediates cross-talk between microtubules and the actin cytoskeleton[J]. Nat Cell Biol, 2002, 4(4): 294—301.

[14] Pedersen S F, Hoffman E K, Mills J W. The cytoskeleton and cell volume regulation[J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 2001, 130(3): 385—399.

（编辑 薛国文）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2004)03-0200-01

机械通气过程中呼吸机报警的常见原因及处理方法

Causes of warning from respirator during mechanical ventilation and management

王领会 （解放军总医院胸外科，北京 100853）

呼吸机所实施的机械通气作为一种替代患者肺通气的有效手段，广泛地应用于重症监护、急救复苏和手术麻醉过程等领域[1]。因此作为胸外科的医护人员很有必要了解呼吸机的有关知识和掌握机械通气的临床应用，尤其要熟悉呼吸机报警的常见原因及处理方法。现对我科1995年8月至2001年3月的病例作回顾性分析83例临床应用机械通气，以及探讨呼吸机报警的常见原因和处理方法。

1 临床资料

1995年8月至2001年3月应用呼吸机患者83例，男65例，女18例，年龄12～86岁，其中经鼻气管插管67例，经口气管插管13例，进行气管切开应用呼吸机3例。83例患者进行机械通气后全部脱机，存活81例，死亡2例。机械通气时间最短1 h，最长60 d。

2 讨论

在施行机械通气过程中，呼吸机可能出现各种故障对病人造成危害，故应及时发现，尽快处理。如果出现高压报警，在未查到报警原因之前，应断开呼吸机，将气管插管接简易呼吸器进行人工呼吸。

2.1 高压报警最常见的原因

2.1.1 人机对抗 发生在自主呼吸较强的病人，自主呼吸与机械通气不协调而发生，这样不仅增加呼吸功耗，不能缓解缺氧和二氧化碳潴留，而且加重缺氧导致窒息，应采取措施使其协调。常用办法是打掉其自主呼吸，随呼吸机呼吸。改变呼吸机模式或条件，观察患者有无突然病情变化导致的人机对抗。若有病情突变应及时处理。

2.1.2 咳嗽 观察是否因痰潴留所致，此时应及时、彻底地吸痰，不能敷衍了事，当痰不易吸出时应给予支气管灌洗(5% $NaHCO_3$ 150 ml＋生理盐水100 ml，5～10 ml)，这样既能刺激咳嗽反射，又能稀释痰液，有利于吸痰。吸痰不彻底，对病人的氧合不利，报警将不能解除。

2.1.3 气管插管的位置改变 在固定气管插管时应测量外露长度并认真交接班，在给病人翻身时应放开呼吸机管路，翻身后调整呼吸机的机械臂，以免呼吸机管路牵拉气管插管，造成病人咳嗽而引起高压报警。

2.1.4 气道湿化情况的变化 在湿化不足的情况下会刺激呼吸道，使支气管痉挛引起咳嗽，所以应加强湿化，湿化温度32～36 ℃，湿度100%，一般24 h湿化液应不少于250 ml。

2.1.5 呼吸机管道内有积水 冷凝水应及时倾倒，清除管道内的积水时应断开呼吸机，以免积水进入气管插管。

2.1.6 患者想交谈、烦躁引起高压报警 由于人工气道造成病人不能发音，失去了正常的语言交流能力，当病人的需要或感受不能得到理解时，病人会出现烦躁不安的表现，引起呼吸机高压报警，所以对机械通气病人的心理护理非常重要。对于有书写能力的病人，可给予纸和笔，让他们把要说的话写在纸上。若无书写能力的或较衰弱的病人，医生或护士可以对病人问话，只让病人点头或摇头。

2.2 低压报警常见原因

2.2.1 气囊漏气 表现为呼吸急促，可听到咽部漏气声或患者能发音。处理方法：每日4～6 h检查一次气囊压力。为了防止气囊压迫气管壁，应每6 h放气5 min，放气前要充分吸痰，并吸净气囊上滞留物，充气时压力为23～25 cmH_2O。若气囊漏

（下转207页）

作者简介：王领会(1976—)，女，河北省石家庄市人，护师，主要从事胸外科护理方面的研究。电话：(010)64785699

收稿日期：2003-10-08；修回日期：2003-12-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net