DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.01.037
第24卷第1期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 1
86 2002年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)01-0086-04

人骨骼肌 TnI-fast 基因克隆和体外表达

熊光武[1,2],王世阆[2],杨 莉[1],魏于全[1],田 聆[1],雷 松[1],阚 兵[1],毛咏秋[1],王 玉[2],杨 佩[2],方 芳[2] ([1]四川大学华西医院肿瘤生物治疗研究中心;[2]四川大学华西第二医院妇产科;成都 610041)

提 要:目的 构建人骨骼肌 TnI-fast 基因分泌型真核表达载体,为利用 TnI-fast 基因进行抗肿瘤血管生成基因治疗奠定基础。方法 采用 PCR 和 RT-PCR 制备 TnI-fast cDNA,构建 TnI-fast 基因克隆质粒,测序证实后将 TnI-fast cDNA 插入到 pSecTag2 B 构建分泌型重组真核表达质粒。然后用 TnI-fast 基因重组表达质粒转染 COS-1 细胞,检测 TnI-fast 基因体外表达。结果 DNA 测序证实,我们从人骨骼肌总 RNA 和 cDNA 文库中扩增的 TnI-fast cDNA 序列与 NCBIGenebank TnI-fast cDNA 序列完全一致。ELISA 检测证实,TnI-fast/pSecTag2 B 转染后目的基因可在真核细胞中分泌表达。结论 本研究成功地构建了 TnI-fast 基因重组表达质粒,可进一步用于抗肿瘤血管生成基因治疗动物实验。

关键词:TnI-fast 基因,pSecTag2 B,克隆,真核表达。
中图法分类号:R322.74;R394-33 文献标识码:A

Cloning and *in vitro* expression of human fast-twitch skeletal muscle troponin I gene

XIONG Guang-wu, WANG Shi-lang, YANG Li, WEI Yu-quan, TIAN Ling, LEI Song, KAN Bing, MAO Yong-qiu, WANG Yu, YANG Pei, FANG Fang (Center of Biotherapy of Cancer, Huaxi Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: Objective To construct a recombinant eukaryotic expression plasmid encoding human fast-twitch skeletal muscle troponin I gene (TnI-fast) for anti-angiogenesis in tumor gene therapy. Methods The TnI-fast cDNA was amplified with standard PCR and RT-PCR by using the human adult normal skeletal muscle cDNA and total RNA as templates, respectively, and then cloned into vector pUC18. After being sequenced in both directions, the cDNA was cloned into the eukaryotic expression vector pSecTag2 B. The obtained recombinant plasmid was transferred to COS-1 cells with a lipofectamine method. The expression of TnI-fast in eukaryotic cells *in vitro* was examined with ELISA. Results DNA sequencing revealed that the PCR and RT-PCR amplified TnI-fast cDNA was identical to our objective. The recombinant TnI-fast/pSecTag2 B plasmid was constructed successfully, and the secreting expression of TnI-fast gene was detected in the transfected COS-1 cells. Conclusion Our results indicate that the recombinant TnI-fast/pSecTag2 B plasmid can be used for animal study of anti-angiogenesis in tumor gene therapy.

Key words: fast switch skeletal muscle troponin I; pSecTag2 B; cloning; eukaryotic expression

目前,采用抗血管生成阻断实体肿瘤的生长和转移已成为肿瘤生物治疗中一个重要的研究热点。最近,Moses 等[1]从牛软骨组织中纯化出一种新的对新生毛细血管生成具有抑制活性的蛋白,其氨基酸序列与人骨骼肌快纤维肌钙蛋白抑制亚单位(Fast-twitch skeletal muscle troponin I, TnI-fast)高度同源。TnI-fast 蛋白质是肌钙蛋白抑制亚单位三种异构体之一,是由 182 个氨基酸组成的碱性单链多肽,主要存在于骨骼肌快纤维,主要功能是抑制肌动球蛋白 Mg^{2+}-ATP 酶的活性[2~4]。天然纯化的 TnI-fast 蛋白在体外可抑制新生血管生成以及小鼠恶性黑色素瘤的肺转移。因此,作者认为 TnI-fast 蛋白可能是一种特异而有效的肿瘤新生血管生成抑制剂。本研究旨在对 TnI-fast 基因进行克隆和体外真核表达。为进一步研究和探讨 TnI-fast 对实体恶性肿瘤生长的抑制效应和利用 TnI-fast 基因进行肿瘤基因治疗奠定基础。

1 材料和方法

1.1 主要材料和试剂

人骨骼肌 cDNA 文库购自 BioChain 公司;正常骨骼肌组织取自妇科手术治疗患者腹直肌;pUC18 和 pSecTag2 B 购自 Invitrogen 公司;羊抗人 TnI-fast 抗体购自 Santa Cruz 公司;分子生物学试剂和试剂盒分别购自 TaKaRa、QIAGEN、Boehringer Mannheim 和 GIBICO 等公司。

1.2 实验方法

1.2.1 总 RNA 提取 采用 TriZOL™ 试剂盒提取人骨骼肌总 RNA,按说明书要求进行。

1.2.2 引物设计和合成 根据 NCBI genebank 中人 TnI-fast cDNA 序列[4]设计扩增人 TnI-fast cDNA 引物。在每一对引物 5′ 端加上合适的酶切位点序列,以利于目的基因片段的定向插入。其中,用于扩增 TnI-fast cDNA 第 25~575 位碱基序列和构建克隆载体的上游引物为:5′-GGA ATT CGG ATG GGA GAT GAG GAG A-3′,下游引物为:5′-CTC AAG CTT CTA GGA CTC GGA CTC

作者简介:熊光武(1966—),男,四川省自贡市人,博士,主治医师,讲师,主要从事妇科肿瘤临床和生物治疗研究,发表论文 7 篇。现在第三军医大学附属西南医院妇产科工作,重庆 400038。电话:(023)68754000-73145

收稿日期:2001-09-07;修回日期:2001-12-05

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

AAA C-3′, 下划线部分为 *Eco RI* 和 *Hind III* 酶切位点。用于 TnI-fast cDNA 第 30～575 位碱基序列和构建表达载体的上游引物为: 5′-AGA GGT ACC GGA GAT GAG GAG AAG CG-3′, 下游引物为: 5′-AAG GAA TTC TAG GAC TCG GAC TCA AA-3′, 下划线部分为 Kpn I 和 *Eco RI* 酶切位点。两对引物均交由 GIBCO BRL 公司合成。

1.2.3　扩增 TnI-fast cDNA　　采用 Boehringer Mannheim 公司的 TaqDNApol system。热循环参数设置: 95 ℃变性 30 s, 55 ℃退火 30 s, 72 ℃延伸 1 min, 共 30 个循环, 最后一个循环 72 ℃延伸 10 min。RT-PCR 扩增采用 TaKaRa 公司 One Step RNA PCR Kit (AMV), 按说明书要求操作。热循环参数设置: 50 ℃逆转录 30 min, 95 ℃变性 30 s, 55 ℃退火 30 s, 72 ℃延伸 1 min, 共 40 个循环, 最后一个循环 72 ℃延伸 10 min。

1.2.4　DNA 和 RNA 琼脂糖凝胶电泳、酶学反应、大肠杆菌的转化和重组质粒扩增、质粒的小量提取　　参考文献[5] 的方法进行。质粒大量提取采用 Qiagen Endofree™ plasmid Giga 试剂盒, 操作按手册进行。

1.2.5　cDNA 回收　　采用 QIAquick PCR purification Kit 和 QIAquick Gel Extraction kit, 按试剂盒操作手册的方法进行, －20 ℃保存备用。

1.2.6　cDNA 序列测定　　由北京赛百盛生物工程公司采用化学发光法测定。

1.2.7　细胞培养　　COS-1 细胞复苏、换液、传代和冻存均按常规细胞培养方法进行。

1.2.8　重组质粒 DNA 的体外暂时表达　　①脂质体共转染 COS-1 细胞 采用 GIBICO 公司的 Lipofectamine, 参考文献[5] 的方法和试剂盒说明书要求进行。转染 3 d 后收集培养液及细胞, 液氮反复冷冻制备细胞裂解液。②重组质粒 DNA 的体外暂时表达的检测-ELISA 法 100 μl 培养液及细胞裂解液 4 ℃包被过夜; 37 ℃封闭 2 h 后加入羊抗人 TnI-fast 抗体 100 μl, 37 ℃反应 30 min; 加入 HRP 标记的驴抗羊 IgG 100 μl, 37 ℃反应 30 min; 加入 100 μl 新鲜配制底物液(TMB 溶液), 室温、避光反应 20 min。加入 100 μl 1N H_2SO_4 终止反应, 置酶标仪上测定 D_{450} 值。

1.3　统计学处理

采用 *t* 检验。

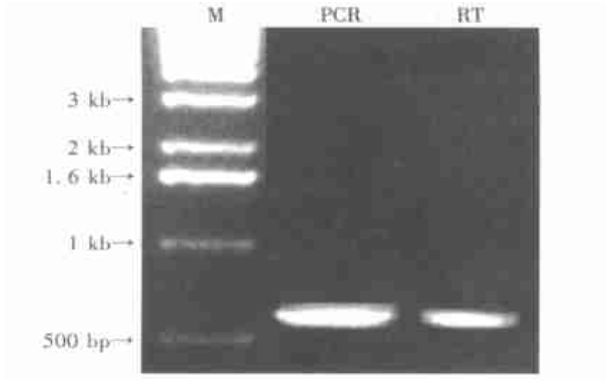
2　结果

2.1　总 RNA 提取和 PCR、RT-PCR 扩增 TnI-fast cDNA

人骨骼肌总 RNA 电泳显示 28S、18S 和 5S 条带, 表明 RNA 无明显降解。以人骨骼肌总 RNA 和 cDNA 文库为模板分别进行 RT-PCR 和 PCR 扩增, 均获得了 500$^+$ bp 的人 TnI-fast cDNA 特异性条带, 与预期结果一致, 见图 1。

2.2　克隆质粒 TnI-fast /pUC18 的构建及鉴定

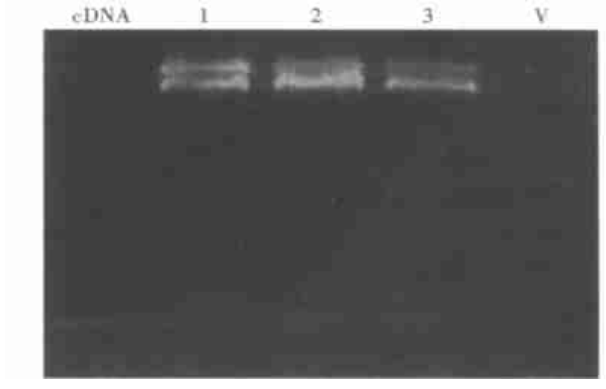
将分离纯化的 RT-PCR、PCR 扩增的人 TnI-fast cDNA 基因片段用 *Eco RI* 和 *Hind III* 两种限制性内切酶酶切, 制备具有粘性末端的 cDNA 和 pUC18 质粒片段, 通过定向连接分别插入到 pUC18 质粒。初步筛选出三个可能的 TnI-fast /pUC18 (clone 1、2、3) 重组子, 其中 clone 1 和 2 是用 PCR 扩增的人 TnI-fast cDNA 基因片段构建的, 而 clone 3 是用 RT-PCR 扩增的人 TnI-fast cDNA 基因片段构建的。然后根据载体和插入基因片段的酶切位点对筛选出的三个重组子进行双酶切鉴定, 结果见图 2。从图 2 可以看出: 三个可能的重组子被 *Eco RI* 和 *Hind III* 切成约 500$^+$ bp 和 2 69 kb 两条带, 与插入的 PCR 片段和 pUC18 空载体酶切片段大小一致。由于 TnI-fast cDNA 有一个 *Pst I* 酶切位点、没有 *Bam HI* 酶切位点, 所以, 我们选择 *Pst I* 和 *Bam HI* 分别进行单酶切。酶切结果显示我们所得到的 clone 1、2、3 均是插入了 TnI-fast cDNA 片段序列的 TnI-fast /pUC18 重组子。将 clone 2 和 3 制成甘油菌用于测序, 结果也证实两个克隆插入的 TnI-fast 基因序列均与基因库提供的原始序列完全一致。



M: Marker; PCR: PCR product; RT: RT-PCR product

图 1　人 TnI-fast cDNA PCR 和 RT-PCR 产物电泳(1% 琼脂糖凝胶)

Fig 1　PCR and RT-PCR products with electrophoresis on 1% agarose gel



cDNA: PCR product; 1～3: TnI-fast/pUC18 (556 bp+2 690 bp); V: pUC18

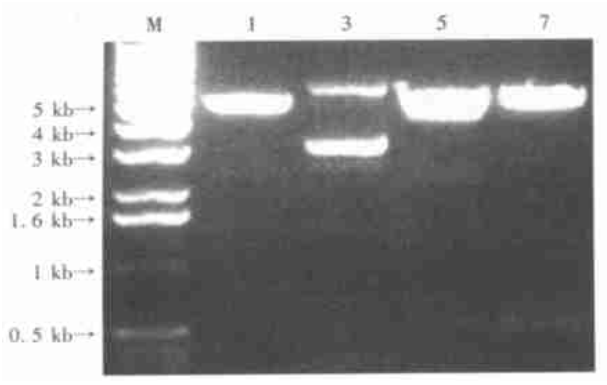
图 2　TnI-fast/pUC18 重组质粒双酶切产物电泳结果(1% 琼脂糖凝胶)

Fig 2　Electrophoresis of recombinant plasmid TnI-fast/pUC18 digested with *EcoR*Ⅰ and *Hind* Ⅲ on 1% agarose gel

2.3　表达质粒 TnI-fast /pSecTag2 B 的构建及鉴定

由于 TnI-fast 蛋白为细胞内结构蛋白, 为达到该蛋白分泌到细胞外发挥作用, 并根据基因读码框架, 我们选择了 pSecTag2 B 质粒载体。该载体具有真核基因表达调控序列: CMV 启动子、鼠的 Igκ 信号肽序列和牛生长因子加尾信号等, 使插入的目的基因能在真核细胞中分泌表达。我们以线性化后纯化的 TnI-fast/pUC18 质粒(clone 2) 为模板进行 PCR 扩增, 所得 TnI-fast cDNA 片段 5′ 和 3′ 端分别带有 *Kpn I* 和 *Eco RI* 酶切位点, 双酶切后与 pSecTag2 B 空质粒连接, 进而转化大肠杆菌 JM109。初步筛选出 4 个可能的 TnI-fast/pSecTag2 B 重组质粒。双酶切鉴定后得到 1 个 TnI-fast/pSecTag2 B 重组质粒, 见图 3。

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



M: Marker; 1, 3, 5, 7: TnI-fast/pSecTag2 B (500^{+} bp+5 200 bp)

图 3 TnI-fast/pSecTag2 B 重组质粒 *Kpn I* 和 *Eco RI* 双酶切产物电泳 (1%琼脂糖凝胶)

Fig 3 Electrophoresis of recombinant plasmid TnI-fast/pSecTag2 B digested with *Kpn* Ⅰ and *EcoR* Ⅰ

2.4 重组质粒 DNA 的体外暂时表达

ELISA 检测结果见表 1。TnI-fast/pSecTag2 B 重组质粒暂时表达产物 TnI-fast 主要存在于细胞培养液中, 而细胞裂解液中含量很低, 对照细胞及其培养液中未检测到 TnI-fast 的表达。表明我们构建的重组质粒 TnI-fast 能在真核细胞中正常分泌表达, 可以用于转染和动物实验。

表 1 TnI-fast 蛋白质表达的 ELISA 检测结果

Tab 1 Expression of TnI-fast protein detected with ELISA

Sample	OD of medium	OD of Cell lysis medium
C1	0.032±0.004	0.034±0.005
C2	0.031±0.005	0.034±0.005
C3	0.033±0.006	0.032±0.006
TnI-f1	0.416±0.019▲	0.190±0.014▲
TnI-f2	0.576±0.021▲*	0.189±0.011▲*

C1, COS-1 cell; C2, pCMVβ-transfected COS-1 cell; C3, COS-1 cell transfected only with lipofectamine. Compared among C1, C2 and C3, $P>0.05$; ▲: $P<0.05$ *vs* C1, C2 and C3; *: $P<0.05$ *vs* TnI-f1

3 讨论

3.1 TnI-fast 基因克隆

以血管生成为靶进行抗肿瘤治疗是非常有前途的生物治疗策略。各种新的血管生成调控因子的不断涌现, 使血管生成调控因子的研究成为了当今生物医学研究的热点。抗肿瘤血管生成治疗的策略有: ①阻断 VEGF 和 FGF 等主要的血管生成促进因子及其受体活性; ②增强 angiostatin 和 endostatin 等内源性抗血管生成因子活性; ③抑制整合素 αvβ3 等粘附分子活性; ④干扰血管基底膜形成和细胞外基质溶解, 如血管抑制性甾体激素、基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMP)抑制因子等; ⑤直接抑制血管内皮细胞生长, 如 TNP-470、酞胺哌啶酮、IL-12 等内皮细胞生长特异性抑制因子; ⑥其他调节血管生成的药物。其中, 研究最多的是阻断血管生成促进因子的作用和增强抑制因子效能两大类。VEGF 是研究最多、最深入、并且最受重视的血管生成促进因子。而 Angiostatin 和 endostatin 是近年来研究较多、作用较强的血管生成抑制因子。由于血管生成相关的因子实在太多, 针对哪一种因子的抗血管生成效能更强, 临床治疗效果更佳, 尚不清楚。

TnI-fast 蛋白质是由 182 个氨基酸组成的单链多肽, 主要存在于骨骼肌快纤维。编码 TnI-fast 蛋白质的 TNNI2 基因定位于人类染色体 11p15.5, 其 cDNA 序列由 701 个碱基组成。在人 TnI 的三种异构体中, TnI-fast 基因序列是最后一个被测定证实的[2~4]。并且, 最近才发现 TnI-fast 蛋白质具有抑制新生血管生成和恶性黑色素瘤的肺转移的作用。然而, 对于该基因产物的血管生成抑制作用才刚刚开始, 尚未见其他相关报道和进一步的研究, 更没有利用该基因进行基因治疗的报道。TnI-fast 蛋白是否抑制其他肿瘤的生长也未见报道。因此, 我们设想采用 TnI-fast 基因转移的方法研究抗血管生成基因治疗对恶性实体肿瘤的抑制作用。由于人 TnI-fast 基因 cDNA 和蛋白质氨基酸序列与小鼠 TnI-fast 的同源性最高, 分别为 90%和 91%, 因此, 我们首先选择克隆人 TnI-fast 基因。

根据 NCBI genebank 的 TnI-fast 基因序列, 我们首先设计了 PCR 引物, 然后成功地从骨骼肌总 RNA 和 cDNA 文库中分别扩增出 TnI-fast cDNA。DNA 测序证实我们所克隆的 TnI-fast cDNA 与 NCBI genebank 中的 TnI-fast cDNA 序列完全一致。在此基础上将目的基因片段成功地插入到带有分泌肽序列的真核表达载体 pSecTag2 B, 完成了 TnI-fast/pSecTag2 B 真核表达质粒的构建, 为下一步基因转染和动物实验研究奠定了基础。

3.2 重组质粒 DNA 的体外暂时表达

在进行基因转染和动物实验之前, 有必要通过暂时转染检测目的基因的暂时表达, 以确定我们所构建的重组真核表达质粒 pSecTag2 B TnI-fast 转染后是否能够按设计要求表达目的基因产物。我们用羊抗人 TnI-fast 抗体检测了被转染细胞培养上清液, 结果显示: TnI-fast/pSecTag2 B 转染组的 D_{450} 值明显高于对照组 C1、C2 及空白对照, 表明 TnI-fast 重组质粒 DNA 转染人肾细胞株 COS-1 后有相应的蛋白质表达。被转染细胞培养液中检测到的 TnI-fast 蛋白明显高于细胞裂解液, 说明转染表达的 TnI-fast 蛋白主要被分泌到细胞外, 与我们的设想一致。由此为基因转染和动物实验研究奠定了坚实的基础。

本研究利用基因克隆重组技术, 分别从人骨骼肌总 RNA 和 cDNA 文库中扩增出人 TnI-fast 基因全长

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

cDNA，通过测序进行了鉴定。然后用基因重组的方法，构建其分泌型真核表达载体，为利用 TnI-fast 基因进行抗肿瘤血管生成基因治疗和新药开发研究奠定了基础。

参考文献：

[1] Moses M A, Wiederschain D, Wu I, *et al*. Troponin I is present in human cartilage and inhibits angiogenesis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(6): 2 645—2 650.

[2] Perry S V. Troponin I. Inhibitor or facilitator[J]. Mol Cell Biochem, 1999, 190: 9—32.

[3] Tiso N, Rampoldi L, Pallavicini A, *et al*. Fine mapping of five human skeletal muscle genes: alpha-tropomyosin, beta-tropomyosin, troponin-I slow-twitch, troponin-I fast-twitch, and troponin-C fast[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1997 (Jun 13), 230(2): 347—350.

[4] Zhu L, Perez-Alvarado G, Wade R. Sequencing of a cDNA encoding the human fast-twitch skeletal muscle isoform of troponin I[J]. Biochim Biophys Acta, 1994, 1 217 (3): 338—340.

[5] 姜 泊，张亚历，周殿元主编. 分子生物学常用实验方法[M]. 北京：人民军医出版社，1996. 1—13, 47—50, 157—159

（编辑 王 红）

文章编号：1000-5404(2002)01-0089-01

个案与短篇

枕大池蛛网膜囊肿的诊治

Diagnosis and treatment of arachnoid cysts in cerebellomedullary cistern

刘 智，冯 华，周建军，吴国材，童建国，王宪荣 （第三军医大学附属西南医院神经外科，重庆 400038）

我科自 1986 年有 CT 诊断至今，共收治枕大池蛛网膜囊肿 8 例，手术治疗 8 例 9 次，术后死亡 2 例，现总结报告如下。

1 临床资料

一般资料：男 6 例，女 2 例，年龄 7～59 岁，病程半月至 2 年；入院前有误诊史 4 例，其中 1 例巨大枕大池蛛网膜囊肿误诊为椎动脉型颈椎病达 1 年半，直到出现明显小脑共济运动失调才经影像学确诊。

临床表现：病史中头痛头晕 6 例，恶心呕吐 2 例，双眼视力下降 1 例，右上肢震颤 1 例，左上下肢无力 1 例，癫痫发作 1 例；神经系统查体阴性者 4 例，小脑共济运动失调 3 例，双侧眼震 1 例，右上肢震颤 1 例，左侧面部浅感觉减退 1 例。

影像学资料：全组均经头颅 CT 和/或 MRT 确诊为枕大池蛛网膜囊肿，囊肿约 3 cm× 3 cm× 2 cm 至 6 cm× 4 cm× 3 cm 大小，均可见双侧小脑受压推移，其中 1 例见第四脑室以上梗阻性脑积水，1 例合并右颞叶球形病灶伴明显水肿带。

手术方式：除 1 例行右颞叶球形病灶开放式立体定向切除病理证实为结核球外，均行幕下开颅手术治疗，共计手术 9 例次，俯卧位手术 3 例次，坐位手术 6 例次，其中 1 例病人首次手术为俯卧位，1 年后复发再次手术为坐位；所有手术均采用气管插管全麻；手术方式为枕大池蛛网膜囊肿引流及后壁切除，使囊肿腔与蛛网膜下腔引流通畅，1 例合并第四脑室以上梗阻性脑积水的巨大枕大池蛛网膜囊肿加作囊肿-桥池分流。术后病理报告均为（枕大池）蛛网膜囊肿伴慢性炎。

治疗结果：术后症状明显缓解 6 例，复发头颅 CT 示囊肿明显缩小，小脑受压明显减轻。本组死亡 2 例，均为全麻坐位手术者，其余病人随访 1～6 年，恢复良好，无复发征象。

作者简介：刘 智（1969—），男，重庆市人，主治医师，主要从事颅脑损伤方面的研究，现在重庆市渝北区人民医院外二科，重庆 401120。电话：(023)67823991

收稿日期：2001-09-15；修回日期：2001-11-24

2 讨论

枕大池为后颅窝蛛网膜囊肿的好发部位，枕大池蛛网膜囊肿具有后颅窝蛛网膜囊肿共同的病理特点及临床特征[1]。随着影像技术的发展，诊断不难，但应注意到先天性巨枕大池与枕大池囊肿的界限，巨枕大池无小脑受压征象。手术指征为症状性枕大池蛛网膜囊肿，无症状及症状与囊肿无关者无须手术[2]。手术方式多采用枕大池蛛网膜囊肿引流及囊肿后壁切除，建立囊肿与蛛网膜下腔通畅引流。手术成功与否关键在于术后囊肿腔与蛛网膜下腔的通畅程度，有些巨大枕大池蛛网膜囊肿术中尚须作囊肿—脑池分流术[3]。本组 1 例合并第四脑室以上梗阻性脑积水的巨大枕大池蛛网膜囊肿手术中，引流囊液及切除囊壁后以 1 mm 直径软硅胶管作囊肿—桥池分流，术后小脑体征消失，复查 CT 示囊肿缩小，脑积水缓解，随访 2 年未见复发，已正常工作。

值得注意的是本组病例术后死亡 2 例，均为全麻坐位手术中突发动脉血氧分压及血氧饱和度下降，继而血压下降，经呼吸机正压给氧及血管活性药物等抢救治疗无效，综合分析考虑为术中空气栓塞，但因缺乏术中多普勒超声和/或术中动脉 Swan-Ganz 导管监测而难以肯定。其中 1 例复发性枕大池蛛网膜囊肿，首次手术为俯卧位，手术经过顺利，1 年后因囊肿复发行 2 次手术，为全麻坐位开颅，术中突发动脉血氧分压及血氧饱和度下降，术后复查头颅 CT 示广泛脑梗塞，抢救无效死亡。以上提示本组死亡病人明显与全麻坐位手术有关。全麻坐位手术之优点在于术区暴露好，手术失血少，手术时间短，缺点在于全座坐位下对病人呼吸循环功能有较大影响，有一定危险性[4,5]。国内外资料显示全麻坐位手术发生术中空气栓塞及术后张力性气颅等严重并发症者并非少见[6,7]。本组病例严重手术并发症明显与全麻坐位手术有关，术中切除囊肿后壁，引流囊液过快致颅内压急剧下降等因素更促成空气经手术面入血，而俯卧位及侧卧位手术相对较为安全，因此，我们建议尽量采取俯卧位及侧卧位手术。即使必须采取坐位时术者和麻师均

（下转 92 页）

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