

EGFR 对博来霉素诱导小鼠肺纤维化中上皮-间质转分化的影响*

蔡琳¹ 李理² 方春生¹ 冯娟¹ 余永红¹ 石茗¹

(1 广东食品药品职业学院 广东 广州 510520 2 广州军区广州总医院呼吸内科 广东 广州 510010)

摘要 目的 探讨表皮生长因子受体(EGFR)在肺内的表达对博来霉素(BLM)诱导小鼠肺纤维化中上皮-间质转分化的影响。方法:将40只4~6周龄C57BLB/c雄性小鼠随机分为正常对照组(气管滴入PBS),纤维化组(气管滴入BLM 3 mg/kg),EGFR RNAi组(气管滴入BLM 3 mg/kg+气管滴入siRNA 20 μ l)和RNAi阴性对照组(气管滴入BLM 3 mg/kg+气管滴入siRNA阴性对照20 μ l)。实验第10天处死小鼠,收获肺组织,检测羟脯氨酸含量,采用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法检测EGFR和 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)mRNA的表达,肺组织切片行HE染色观察肺组织病理改变,免疫组化染色检测EGFR和 α -SMA表达。结果:纤维化组EGFR和 α -SMA两者的mRNA和蛋白表达均较正常对照组显著增加,RNAi组肺病理损伤较纤维化组减轻,气道上皮下游胶原沉积及肺羟脯氨酸含量减少($P<0.05$),肺组织EGFR和 α -SMA两者的mRNA和蛋白表达均较纤维化组显著下降($P<0.05$)。结论:在博来霉素诱导的肺纤维化中EGFR RNAi抑制EGFR活化,下调 α -SMA的表达,减轻了博来霉素诱导的肺纤维化病理改变。其抑制肺纤维化病理过程可能与其抑制上皮-间质转分化(EMT)有关。

关键词 肺纤维化;博来霉素;表皮生长因子受体; α -平滑肌肌动蛋白;上皮-间质转分化

中图分类号 Q95-3 R563 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2012)04-638-04

The Effects of EGFR on Epithelial to Mesenchymal Transition in Bleomycin Induced Pulmonary Fibrosis in Mice*

CAI Lin¹, LI Li², FANG Chun-sheng¹, FENG Juan¹, YU Yong-hong¹, SHI Ming¹

(1. Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou, Guangdong 510520, China; 2. Department of Respiratory Medicine, Guangzhou Military General Hospital, Guangzhou, Guangdong 510010, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of epidermal growth factor receptor (EGFR) expression on epithelial to mesenchymal transition (EMT) in bleomycin induced pulmonary fibrosis in mice. Methods: Forty 4~6 week aged C57BL/c male mice were randomly divided into control group, bleomycin group, bleomycin plus EGFR RNAi groups and RNAi negative control group. Bleomycin group were treated with bleomycin (3 mg/kg) by injection on day 0, control group were treated with PBS. And bleomycin plus EGFR RNAi group were received EGFR siRNA plus bleomycin intratracheal administration. RNAi negative control group were received negative EGFR siRNA plus bleomycin intratracheal administration. Mice were sacrificed 10 days after the treatments. Hydroxyproline (HYP) assay was performed in the lung tissue. And α -SMA and EGFR mRNA expression were detected by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) technique. The lung tissue slides were examined pathologically with HE staining, and immunohistochemistry were performed to identify the protein level of EGFR and α -SMA. Results: The mRNA and protein expression of EGFR and α -SMA in BLM group were significantly increased as compared with control group. Histological examination of lung specimens demonstrated that EGFR siRNA administration lessened lung fibrosis induced by bleomycin and significantly reduced HYP content ($P<0.05$) and lung collagen accumulation. The both EGFR and α -SMA mRNA and protein expression in siRNA-treated mice was significantly lessened compared with BLM group ($P<0.05$). Conclusions: EGFR RNAi lessened the BLM-induced lung fibrosis by inhibiting EGFR expression and this process also downregulated the expression of α -SMA. The inhibition of pulmonary fibrosis may be related to lighten the process of EMT.

Key words: Pulmonary fibrosis; Bleomycin; Epidermal growth factor receptor; α -smooth muscle actin; Epithelial to mesenchymal transition

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3 R563 Document code: A

Article ID:1673-6273(2012)04-638-04

前言

肺纤维化是以大量的成纤维细胞聚集、细胞外基质沉积并

伴有炎症反应的组织结构破坏为特征的一种病理变化,其发病原因和病理机制现在仍未明确,临床治疗效果亦不理想。目前较多的资料提示反复原因不明的刺激导致了持续性肺上皮细

* 基金项目 广东省食品药品职业学院院级课题(2009YZ001)

作者简介:蔡琳(1978-),女,呼吸内科博士,讲师,主要研究方向 肺纤维化疾病病理机制

Tel 020-28854366 E-mail lin_cai@126.com

(收稿日期 2011-08-10 接受日期 2011-09-04)

胞的损伤与修复,改变了正常的愈合机制,使间充质细胞异常的活化与增生。其中上皮细胞-间质转分化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)是肺间质纤维化关键的病理改变。

表皮生长因子受体(EGFR)属于受体型酪氨酸蛋白激酶,是细胞内段具有酪氨酸激酶活性的一类跨膜受体^[1]。目前许多研究表明 EGFR 在纤维化的肺组织中过度表达,参与了 EMT 的过程^[2]。而平滑肌动蛋白(α -SMA)是 EMT 的重要标志,因此我们推测 EGFR 可能通过对 α -SMA 表达的影响参与了肺纤维化形成的病理程度。

在本研究中我们以气道给予博来霉素(Bleomycin, BLM)构建小鼠肺纤维化模型,通过 RNAi 抑制肺组织内 EGFR 的表达,观察对肺上皮细胞和间质细胞中 α -SMA 表达的影响,以探讨 EGFR 在 BLM 诱导的肺纤维化上皮间质转分化中的作用,为治疗肺纤维化探索新的途径。

1 材料与方法

1.1 实验动物和试剂

4~6 周龄野生型 C57BL/c 品系雄性小鼠 40 只,无特殊病原(SPF)级(购自中山医科大学动物中心),寄养于广州中医药大学实验动物中心。博来霉素 15 mg/支(1mg = 1 U, 日本化药株式会社);EGFR siRNA siRNA 阴性对照(美国 SANTA CRUZ 公司);羟脯氨酸检测试剂盒(南京建成生物工程研究所);即用型快速免疫组化 MaxVision 试剂盒(鼠)(福州迈新生物技术公司);鼠抗鼠 EGFR EGFR 单克隆抗体(Cell Signalling 公司);鼠抗人 α -SMA 单克隆抗体(Sigma 公司)。

1.2 实验方法和步骤

1.2.1 肺纤维化动物模型的建立、分组和标本处理 实验小鼠随机分为 4 组,每组 10 只。所有实验小鼠经 1%戊巴比妥腹腔注射麻醉后,切开皮肤暴露气管。①纤维化组:气管灌注 BLM (3 mg/kg);②EGFR RNAi 组:气管灌注博来霉素 3 mg/kg 并且于实验的第 2、5、8 天经气管滴入 siRNA 20 μ l;③RNAi 阴性组:气管灌注博来霉素 3 mg/kg 并且于实验的第 2、5、8 天经气管滴入 siRNA 阴性对照 20 μ l;④正常对照组于同样的时间点气管滴入等量 PBS。于实验第 10 天以过量巴比妥处死小鼠。

1.2.2 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR) 根据 GenBank 中的 EGFR 和 α -SMA 核酸序列设计引物序列,分别为:EGFR 上游 5'-agaagatggcatccgcaagt-3',下游 5'-attgggtgtcccgaaagatt-3',长度 499 bp; α -SMA 上游 5'-accagattatgttgagacc-3',下游 5'-ccgtcagcagcttcgtag-3',长度 377bp;管家基因 β -actin 上游 5'-cgttgacatccgtaagacc-3',下游 5'-aacagtcgcctagaagcac-3',长度 281 bp。所有引物序列均采用序列局部相似性查询系统(BLAST)软件分析,并由上海生工生物工程技术有限公司合成。Trizol 提取小鼠肺组织总 RNA,按逆转录试剂盒说明书(Takara)合成 cDNA。PCR 反应条件:94℃预变性 5 min,94℃变性 40sec,55℃退火 40 sec,72℃延伸 40 sec,72℃最后延伸 10min,30 个循环。PCR 产物 4 μ l 琼脂糖凝胶电泳,采用 KON-DA2000 凝胶成像系统成像。

1.2.3 HE 染色 小鼠右肺以 10%甲醛过夜固定后,制成组织切片,常规 HE 染色,观察肺组织病理变化。

1.2.4 免疫组化检测肺组织 α -SMA、EGFR 和磷酸化 EGFR 蛋

白表达 即用型快速免疫组化 Max Vision 试剂盒(鼠)免疫组化染色试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司,测定方法和步骤严格按说明书进行。用 PBS 代替一抗进行免疫细胞化学染色,结果作为阴性对照。免疫组化结果以细胞中出现棕黄色颗粒为阳性显色,并用 Image-pro plus5.0 专业图像分析软件系统采集肺组织免疫组化图像,将肺组织各切片随机取染色区域 5 个高倍视野($\times 400$),测量并记录每个视野阳性染色的平均积分光密度(OD)值。

1.2.5 肺组织羟脯氨酸(Hydroxyproline, HYP)的测定 用羟脯氨酸的含量反映肺组织胶原含量,从而作为肺纤维化程度的指标。羟脯氨酸含量以微克/每克肺组织(μ g/g)表示。操作过程严格按说明书进行操作,在 550nm 测吸光值,根据公式得到 HYP 含量。

1.2.6 统计学处理 运用 SPSS11.5 软件进行统计分析。实验数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{X} \pm S$)表示。计量资料符合正态分布者通过单因素方差分析进行总体均数比较,两组间均数比较用 t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$,P 值 <0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HE 染色小鼠肺脏病理改变 正常对照组第 10 天,肺组织结构清晰,无炎症细胞浸润;纤维化组第 10 天肺泡间隔内成纤维细胞明显增多,上皮下成肌纤维细胞活化,纤维组织增生,肺泡间隔破坏,纤维组织成斑片状分布;RNAi 阴性对照组表现与纤维化组类似;EGFR RNAi 组上皮下肺间质的炎症较纤维化组明显减轻,肺泡间隔增厚不明显。气道上皮结构趋于正常,肺纤维化范围较纤维化组减少(见图 1)。

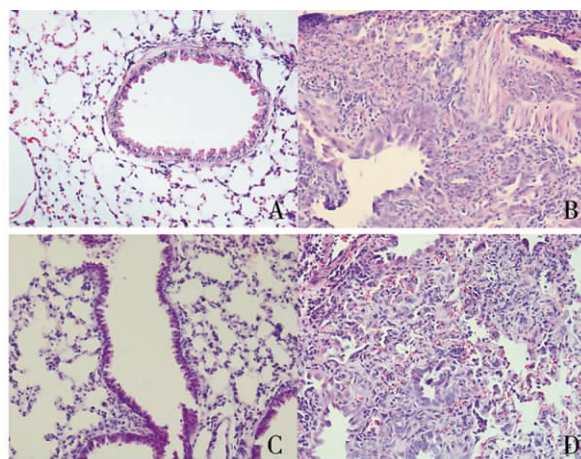


图 1 小鼠肺组织 HE 染色(200 $\times$)

A 正常对照组 B 纤维化组 C RNAi 组 D RNAi 阴性对照组

Fig.1 HE staining of mice lung tissue slices(200 $\times$)

A: control group B: BLM group C: RNAi group D: negative control group

2.2 α -SMA 和 EGFR 在肺内基因水平的改变

RT-PCR 检测结果显示,纤维化组小鼠肺组织中 α -SMA 和 EGFR mRNA 表达较正常对照组明显增加;RNAi 组 EGFR mRNA 表达较纤维化组明显减少,说明 EGFR siRNA 有效降低了 EGFR 在鼠肺中的表达;RNAi 干预有效;RNAi 组 α -SMA mRNA 表达较纤维化组也明显减少,和 EGFR 的改变互相平

行 RNAi 阴性对照组 α -SMA 和 EGFR mRNA 表达与纤维化组无明显差异,说明阴性对照 siRNA 片段对 EGFR 和 α -SMA 的表达无特异干扰(见图 2)。

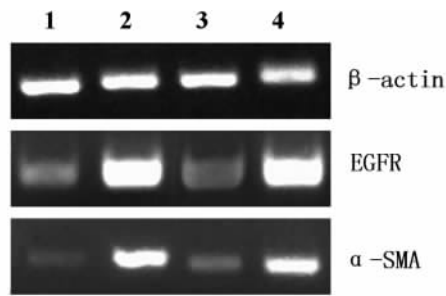


图 2 鼠肺组织 EGFR 和 α -SMA 基因 RT-PCR 结果

1: 正常对照组 2: 纤维化组 3: RNAi 组 4: RNAi 阴性对照组

Fig.2 RT-PCR of EGFR and α -SMA gene in mice lung tissue

1: control group 2: BLM group 3: RNAi group 4: negative control group

2.3 小鼠肺组织免疫组化

免疫组化结果显示各组肺组织中 EGFR 主要表达在气道上皮细胞和间质细胞,这与既往文献报道一致(见图 3)。纤维化组中肺组织 EGFR 和 α -SMA 蛋白表达较正常对照组明显增多,EGFR 主要定位在上皮细胞和间质细胞成纤维细胞/成纤维样细胞中, α -SMA 蛋白表达明显增多,定位在上皮间质细胞胞浆和平滑肌(见图 4)。RNAi 组 EGFR 蛋白表达较纤维化组明显减少($P < 0.05$),说明 RNAi 有效降低了 EGFR 蛋白在小鼠肺组织内的表达, α -SMA 蛋白表达亦较纤维化组明显减少($P < 0.05$),两者的改变互相平行。RNAi 阴性对照组 α -SMA 和 EGFR 蛋白表达与纤维化组无明显差异($P > 0.05$),说明阴性对照 siRNA 片段对 EGFR 和 α -SMA 的表达无特异干扰(见图 3 和图 4 统计结果见表 2)。

2.4 肺组织 HYP 含量测定

纤维化组小鼠肺组织 HYP 含量与正常对照组比较明显升高($P < 0.05$),说明 BLM 诱导的小鼠肺纤维化模型构建成功,纤维化组有较多胶原沉积,RNAi 组小鼠肺组织 HYP 含量与纤维化组比较均明显下降($P < 0.05$),说明 EGFR RNAi 有效降低

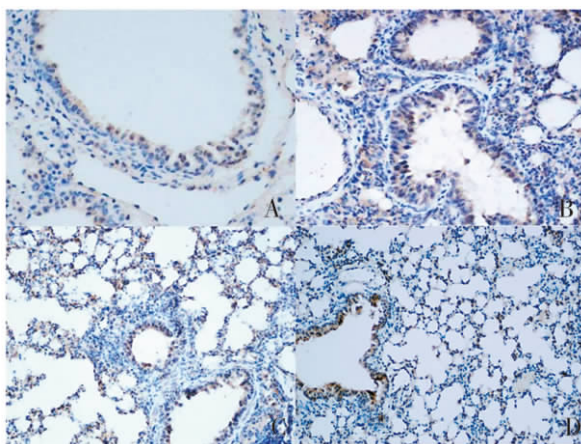


图 3 鼠肺组织 EGFR 免疫组化结果(200 $\times$)

A: 正常对照组 B: 纤维化组 C: RNAi 组 D: RNAi 阴性对照组

Fig. 3 The immunohistochemical staining result of EGFR in mice lung tissue

1: control group 2: BLM group 3: RNAi group 4: negative control group

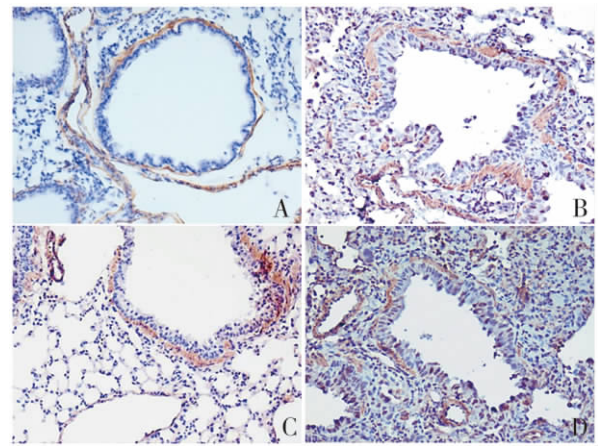


图 4 鼠肺组织 α -SMA 免疫组化结果(200 $\times$)

A: 正常对照组 B: 纤维化组 C: RNAi 组 D: RNAi 阴性对照组

Fig. 4 The immunohistochemical staining result of α -SMA in mice lung tissue

1: control group 2: BLM group 3: RNAi group 4: RNAi negative control group

了肺组织中的胶原沉积,纤维化病变明显改善。RNAi 阴性对照组与纤维化组比较差异无显著($P > 0.05$),说明阴性对照 siRNA 片段对实验无特异干扰,结果见表 2。

表 1 小鼠肺组织 α -SMA 和 EGFR 蛋白表达水平(IOD 值 $n=10, \bar{x} \pm s$)

Table 1 The protein expression of α -SMA and EGFR in mice lung tissue

组别 Group	α -SMA 蛋白 α -SMA protein	EGFR 蛋白 EGFR protein
对照组 Control group	8.32 $\pm$ 1.21*	9.37 $\pm$ 1.48*
纤维化组 BLM group	14.23 $\pm$ 2.02	16.61 $\pm$ 2.17
RNAi 组 RNAi group	9.67 $\pm$ 1.66*	11.42 $\pm$ 1.77*
RNAi 阴性对照组 RNAi negative control group	13.44 $\pm$ 1.02 $\blacktriangle$	17.51 $\pm$ 1.03 $\blacktriangle$

Note: $\blacktriangle P > 0.05$ RNAi negative control group compared with control group; * $P < 0.05$ control group, RNAi group compared with BLM group.

表 2 小鼠肺组织 HYP 含量测定($n=10, \mu\text{g/g}, \bar{x} \pm s$)

Table 2 The HYP content in mice lung tissue

组别 Group	HYP
对照组 Control group	145.22 $\pm$ 10.71*
纤维化组 BLM group	630.42 $\pm$ 15.35
RNAi 组 RNAi group	400.86 $\pm$ 21.78*
RNAi 阴性对照组 RNAi negative control group	614.77 $\pm$ 24.36 $\blacktriangle$

Note: $\blacktriangle P > 0.05$ RNAi negative control group compared with control group; * $P < 0.05$ control group, RNAi group compared with BLM group.

3 讨论

上皮细胞-间质转分化(EMT)是上皮细胞在与周围间质的相互作用过程中逐渐获得了某些间质细胞特有性状的现象。EMT是肺纤维化过程中关键的一环,肺泡上皮细胞在促纤维化因素作用下向间质细胞转分化,并表现出成纤维细胞样的功能^[3]。活化的成肌纤维细胞是纤维化中最主要的效应细胞,表达 α -SMA是成纤维细胞或上皮细胞转分化为成肌纤维细胞的特征性标志,也是成肌纤维细胞具有收缩活性及迁徙能力的结构基础^[4,5]。我们在前期工作中采用 α 平滑肌肌动蛋白Cre重组酶转基因小鼠(α -SMA-Cre/R26R双转基因鼠)为实验动物,在博来霉素诱导的肺纤维化小鼠模型中观察到EMT现象,发现气道上皮细胞和肺泡上皮细胞能向间充质细胞转化,表达 α -SMA,参与肺纤维化病理过程^[6]。

EGFR广泛存在于大多数上皮细胞和神经外胚层来源的细胞膜上,由细胞外配体连接区、跨膜区及细胞内酪氨酸激酶活性区组成。主要位于细胞质膜上,受到配体激活后通过二聚化引发胞内域形成酪氨酸激酶活性,并进一步激活下游的细胞信号转导通路,完成跨膜信号转导过程^[7]。EGFR的配体系列可由气道上皮或邻近的间(充)质细胞产生,在上皮细胞、成纤维细胞、肌成纤维细胞和平滑肌细胞启动了大量的表型改变,包括上皮黏液细胞组织变形,间(充)质细胞过度增殖、分化,细胞外基质产生等,从而导致上皮间质化^[8]。

目前许多研究表明EGFR与肺纤维化过程中成纤维细胞/肌纤维母细胞过度活化、增殖相关^[1,9-10]。最近有报道表明,EGFR磷酸化与活化下游与EMT胶原蛋白合成的基因相关,促进肺纤维化发展^[10]。有研究表明EGFR的活化有助于促使肺泡上皮细胞发生EMT转分化为表达 α -SMA的成肌纤维细胞^[11]。

在本研究中,我们通过EGFR试剂盒提供的EGFR siRNA,采用RNAi抑制EGFR在鼠肺组织中的表达和活化后观察肺纤维化的病理改变情况。纤维化组较正常对照组EGFR表达水平明显增多,这与既往研究结果一致。RT-PCR和免疫组化评分结果分别显示RNAi组EGFR基因水平和蛋白水平的表达均较纤维化组明显减少($P<0.05$),说明RNAi有效干预了EGFR在鼠肺的表达,使EGFR在鼠肺的表达明显下调。RNAi阴性对照组EGFR表达与纤维化组类似,差异无显著性($P>0.05$),说明阴性对照siRNA片段对EGFR的表达无特异干扰。纤维化组EGFR和 α -SMA的表达明显增加,两者的改变互相平行。在EGFR RNAi组EGFR表达减少,同时 α -SMA的基因水平和蛋白水平的表达均明显降低,胶原沉积等肺组织纤维化改变明显减轻。

免疫组化的结果显示纤维化组上皮细胞中EGFR表达明显增多,这些细胞中同时出现了 α -SMA的表达;而在RNAi组,EGFR表达有效下调之后,上皮细胞中EGFR表达减少,这些细胞中 α -SMA的表达也随之减少,提示EGFR RNAi通过抑制EGFR活化减少成肌纤维细胞的活化,减轻了纤维化的病理改变,这一过程可能与抑制 α -SMA表达相关。这说明在博来霉素诱导的肺纤维化中,EGFR的活化和 α -SMA的表达是紧密相关的。

综上所述,我们推测EGFR RNAi通过降低气道上皮和肺间质细胞中EGFR活化,减少了肺组织损伤诱导的EMT,抑制

了BLM诱导的肺纤维化中这些细胞 α -SMA的表达,从而减轻了肺纤维化的病理损害。因此,通过抑制EGFR活化减轻肺纤维化的病理改变,可能成为治疗肺纤维化的新靶点。

参考文献(References)

- [1] Rho JK, Choi YJ, Lee JK, et al. Epithelial to mesenchymal transition derived from repeated exposure to gefitinib determines the sensitivity to EGFR inhibitors in A549, a non-small cell lung cancer cell line[J]. Lung Cancer, 2009, 63(2): 219-226
- [2] Docherty NG, O'Sullivan OE, Healy DA, et al. TGF- β 1-induced EMT can occur independently of its proapoptotic effects and is aided by EGF receptor activation [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2006, 290: F1202-1212
- [3] Kevin K Kim, Matthias C Kugler, Paul J Wolters, et al. Alveolar epithelial cell mesenchymal transition develops in vivo during pulmonary fibrosis and is regulated by the extracellular matrix [J]. PNAS, 2006, 103(35): 13180-13185
- [4] Zavadi J, Bottinger EP. TGF-beta and epithelial-to-mesenchymal transitions [J]. Oncogene, 2005, 24(37): 5764-5774
- [5] Sem H Phan. The myofibroblast in Pulmonary Fibrosis [J]. Chest, 2002, 122 (6): 286-289
- [6] Zhang H, Gharaee-Kermani M, Zhang K, et al. Lung fibroblast contractile and α -smooth muscle actin phenotypic alterations in bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. Am J Pathol 1996, 148: 527-537
- [7] Darby I, Skalli O, Gabbiani G. α -smooth muscle actin is transiently expressed by myofibroblasts during experimental wound healing [J]. Lab Invest, 1990, 63(1): 21-29
- [8] Schelling JR, Sinha S, Konieczkowski M, et al. Myofibroblast differentiation: plasma membrane microdomains and cell phenotype [J]. Exp Nephrol 2002, 10(5-6): 313-319
- [9] Desmouliere A, Chaponnier C, Gabbiani G. Tissue repair, contraction, and the myofibroblast [J]. Wound Repair Regen, 2005, 13(1): 7-12
- [10] Grinnell F, Zhu M, Carlson MA, et al. Release of mechanical tension triggers apoptosis of human fibroblasts in a model of regressing granulation tissue [J]. Exp Cell Res, 1999, 248(2): 608-619
- [11] 蔡琳, 吴壮. 博来霉素诱导 α 平滑肌肌动蛋白Cre重组酶转基因小鼠肺纤维化上皮细胞-间质转分化的研究[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2009, 8(1): 52-56
CAI Lin, WU Zhuang, XU Jun. Detection of Epithelial to Mesenchymal Transition in Airways of a Bleomycin Induced Pulmonary Fibrosis Model Derived From α -Smooth Muscle Actin-Cre Transgenic Mouse [J]. Chin J Respir Crit Care Med, January, 2009, 8(1): 52-56
- [12] Wu Z, Yang L, Cai L, et al. Detection of epithelial to mesenchymal transition in airways of a bleomycin induced pulmonary fibrosis model derived from an alpha-smooth muscle actin-Cre transgenic mouse [J]. Respir Res, 2007, 8(1): 1-11
- [13] Lu Z, Jiang G, Blume-Jensen P, et al. Epidermal growth factor-induced tumor cell invasion and metastasis initiated by dephosphorylation and downregulation of focal adhesion kinase[J]. Mol Cell Biol, 2001, 21(12): 4016-4031
- [14] Krause D S, Van Etten R A. Tyrosine kinases as targets for cancer therapy [J]. New England Journal of Medicine, 2005, 353 (2): 172-187

(下转第 709 页)

者,术后 52 周随访结果满意,仅有 5 例患者出现复发。

随着腹腔镜手术技术的不断成熟和完善,以及手术器械的日益改进,腹腔镜下妇科卵巢囊肿手术的适应症范围有所扩大^[1,10-11]。如大直径囊肿、盆腔粘连甚至早期恶性肿瘤等已不再是手术的禁忌症^[1,12]。这对更好更有效的进行妇科卵巢囊肿的治疗无疑是个福音。Fulvio Tagliabue 等最近报道^[11],该院为 1 名 21 岁女性成功实施了腹腔镜下手术切除 $20 \times 10 \times 25$ cm 巨大卵巢囊肿,极大地避免了患者手术风险和手术并发症。腹腔镜手术治疗妇科囊肿具有术后恢复快、住院时间短、微创、并发感染率低及其他并发症少、安全有效等明显优势^[1,7,11,13-14]。本研究所处理的 57 例患者,均未发生皮下气肿、气体栓塞、大出血、脏器损伤和感染等手术并发症。大部分患者体温在 37.5°C 以下,个别患者体温达 38°C ,持续 1 天后降至正常。我们体会到只要规范操作过程,熟练掌握操作技巧,此术式是安全有效的。对于盆腔粘连严重、手术创面较大的病例,及时排出渗出物,可以减少术后发病率,提高手术质量。同时术中肠管不与空气接触,无纱布、橡胶手套等刺激,故减少了术后发热及不良反应。

随着腹腔镜手术的普及,随之而来的腹腔镜的并发症的问题便具有了临床意义,有些并发症是因为该技术目前的缺陷所致,有些是术者的经验不足及主观失误所造成。但研究表明,许多腹腔镜手术并发症主要是 CO_2 及其产生的腹腔内高压对机体生理功能的影响,对于病情复杂或手术时间较长的患者尤为明显,表现在心血管、呼吸、中枢神经和消化等各个系统。部分患者可能在腹腔镜手术中出现失代偿状态,临床上出现一系列并发症,甚至威胁患者的生命。我们实践体会,注重术前的心肺功能检查及术中的严密监测,并维持气腹压在 $12 \text{ mmHg} \sim 15 \text{ mmHg}$,才能使末梢循环灌注满意,从而避免并发症的发生。

总之,腹腔镜的广泛应用可以使妇科手术更加精确更加完美。它已成为一种理想的术式越来越受到医师们的青睐,是目前手术治疗妇科卵巢囊肿的首选术式。

参考文献(References)

- [1] Hong JH, Lee JK, Song SH, et al. Unilateral ovarian dermoid cyst accompanied by an ipsilateral paratubal cyst in a girl with Proteus Syndrome discovered by laparoscopic surgery [J]. J Pediatr Adolesc Gynecol, 2010, 23(3): e107-110
- [2] Fromholt Larsen J, Due Pedersen O, Gregersen E. Ovarian cyst fenestration via the laparoscope. A laparoscopic method for treatment of non-neoplastic ovarian cysts[J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 1986,

65(6): 539-542

- [3] Reif P, Scholl W, Klaritsch P, et al. Rupture of endometriotic ovarian cyst causes acute hemoperitoneum in twin pregnancy[J]. Fertil Steril, 2011, 95(6): 2125 e2121-2123
- [4] Kafali H, Eser A, Duvan CI, et al. Recurrence of ovarian cyst after sclerotherapy[J]. Minerva Ginecol, 2011, 63(1): 19-24
- [5] Coccia ME, Rizzello F, Bracco GL, et al. Seven-liter ovarian cyst in an adolescent treated by minimal access surgery: laparoscopy and open cystectomy[J]. J Pediatr Surg, 2009, 44(6): E5-8
- [6] Campo S, Campo V. A modified technique to reduce spillage and operative time: laparoscopic ovarian dermoid cyst enucleation 'in a bag'[J]. Gynecol Obstet Invest, 2011, 71(1): 53-58
- [7] Fagotti A, Fanfani F, Marocco F, et al. Laparoendoscopic single-site surgery (LESS) for ovarian cyst enucleation: report of first 3 cases[J]. Fertil Steril, 2009, 92(3): 1168 e1113-1166
- [8] Zhang J, Zhou YF, Li B, et al. Influence of various hemostatic methods on ovarian reserve function in women with ovarian endometriotic cyst treated by laparoscopic cystectomy[J]. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi, 2009, 44(8): 583-587
- [9] Politylo P, Zaparackaite I, Khan K, et al. Ovarian reconstitution following laparoscopic decapsulation of congenital cyst [J]. J Laparoendosc Adv Surg Tech A, 2008, 18(6): 895-897
- [10] Szylo K, Kolasa F. Laparoscopic Ovarian Cyst Surgery [J]. J Am Assoc Gynecol Laparosc, 1996, 3(4, Supplement): S48-49
- [11] Tagliabue F, Acquaro P, Confalonieri G, et al. Laparoscopic approach for very large benign ovarian cyst in young woman [J]. J Minim Access Surg, 2009, 5(3): 75-77
- [12] Akagi T, Yamamoto S, Kobayashi Y, et al. A case of endometriosis of the appendix with adhesion to right ovarian cyst presenting as intussusception of a mucocoele of the appendix [J]. Surg Laparosc Endosc Percutan Tech, 2008, 18(6): 622-625
- [13] Vecchio R, Leanza V, Genovese F, et al. Conservative laparoscopic treatment of a benign giant ovarian cyst in a young woman [J]. J Laparoendosc Adv Surg Tech A, 2009, 19(5): 647-648
- [14] Alborzi S, Foroughinia L, Kumar PV, et al. A comparison of histopathologic findings of ovarian tissue inadvertently excised with endometrioma and other kinds of benign ovarian cyst in patients undergoing laparoscopy versus laparotomy [J]. Fertil Steril, 2009, 92(6): 2004-2007

(上接第 641 页)

- [15] Bazley LA, Gullick WJ. The epidermal growth factor receptor family [J]. Endocr Relat Cancer. 2005, 12(1): S17-27
- [16] Ingram JL, Bonner JC. EGF and PDGF receptor tyrosine kinases as therapeutic targets for chronic lung diseases [J]. Curr Mol Med, 2006, 6(4): 409-421
- [17] Waheed S, D'Angio CT, Wagner CL, et al. Transforming growth factor alpha (TGF-alpha) is increased during hyperoxia and fibrosis [J]. Exp Lung Res. 2002, 28(3): 361-372
- [18] Docherty, NG, O'Sullivan, OE, Healy, DA, et al. TGF- β 1-induced

EMT can occur independently of its proapoptotic effects and is aided by EGF receptor activation[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2006, 290(5): F1202-212

- [19] Lee E, Yi JY, Chung E, et al. Transforming growth factor beta(1) transactivates EGFR via an H (2)O (2)-dependent mechanism in squamous carcinoma cell line[J]. Cancer Lett, 2009, 290(1): 43-8
- [20] Seijitsu Ando, Hitomi Otani, Yasuhiro Yagi, et al. Proteinase-activated receptor 4 stimulation-induced epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells [J]. Respiratory Research 2007, 8:31