

· 论著 ·

存活素反义寡脱氧核苷酸对人恶性黑色素瘤细胞增殖和凋亡的影响

曾永倩 王法刚 霍然 蔡景龙 冯永强 李强 王一兵



【摘要】 目的 了解存活素反义寡脱氧核苷酸(ASODN)对人恶性黑色素瘤细胞(hMMC)增殖和凋亡的影响。方法 取对数生长期 hMMC 株 A375,按随机数字表法分为对照组(不转染)、正义链组(转染 600 nmol/L 存活素正义寡脱氧核苷酸)、错义链组(转染 600 nmol/L 存活素错义寡脱氧核苷酸)、脂质体组(仅用脂质体处理)、反义链组(转染存活素 ASODN,根据转染物浓度再分为 200、400、600 nmol/L 3 个亚组),倒置荧光显微镜下观察转染效果。采用噻唑蓝法测定细胞存活情况并计算细胞增殖抑制率,双变量流式细胞仪检测细胞凋亡率及细胞周期,蛋白质印迹法检测存活素蛋白的表达,激酶法检测半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(caspase-3)的活性。对数据进行方差分析。结果 (1)正义链组、错义链组、反义链 600 nmol/L 组细胞转染率均大于 80%。(2)反义链 200、400、600 nmol/L 组转染后 24 h 细胞增殖抑制率[(10.30 ± 0.56)%、(16.69 ± 0.58)%、(24.67 ± 0.67)%]较正义链组[(5.23 ± 0.25)%]、错义链组[(5.09 ± 0.13)%]、脂质体组[(4.70 ± 0.45)%]显著增加($F = 746.91$, P 值均小于 0.05),且随转染时间延长,增殖抑制率增加明显。(3)反义链 200、400、600 nmol/L 组转染后 24 h 细胞凋亡率分别为(13.5 ± 1.9)%、(20.1 ± 1.5)%、(32.1 ± 2.9)% ,显著高于对照组、正义链组、错义链组、脂质体组的(6.5 ± 0.6)%、(5.6 ± 0.7)%、(6.4 ± 1.0)%、(6.5 ± 1.3)% ($F = 139.9$, P 值均小于 0.05),细胞被阻滞在 G2/M 期。(4)与对照组比较,反义链各浓度组存活素蛋白表达量减少,caspase-3 活性明显增高($F = 63.1$, P 值均小于 0.05);正义链组、错义链组、脂质体组 caspase-3 活性与对照组比较,差异无统计学意义($F = 0.512$, P 值均大于 0.05)。结论 存活素 ASODN 能够呈浓度-时间依赖性抑制 hMMC 株 A375 增殖,诱导 G2/M 期阻滞,促进其凋亡。

【关键词】 寡核苷酸类,反义; 黑色素瘤; 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3; 存活素

Effect of survivin antisense oligodeoxynucleotide on proliferation and apoptosis of human malignant melanoma cells CAO Yong-qian, WANG Fa-gang, HUO Ran, CAI Jing-long, FENG Yong-qiang, LI Qiang, WANG Yi-bing. Department of Burns and Plastic Surgery, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Ji'nan 250021, China

Corresponding author: WANG Yi-bing, Email: wyb0616@163.com, Tel: 13805310029

【Abstract】 Objective To investigate the effect of survivin antisense oligodeoxynucleotide (ASODN) on proliferation and apoptosis of human malignant melanoma cells. **Methods** hMMC A375 colonies in log growth phase were collected and divided into control group (C, without transfection), sense chain group [SC, transfected with 600 nmol/L survivin sense oligodeoxynucleotide (ODN)], mismatch chain group (MC, transfected with 600 nmol/L survivin mismatch sense ODN), liposome group (L, treated with liposome), antisense chain group (AC, transfected with survivin ASODN, and subdivided into AC 200, 400, 600 nmol/L subgroups) according to the random number table. Transfection result was observed under inverted fluorescence microscope. Inhibition rate of cell proliferation was calculated after determination of cell viability with MTT method. Cell cycle and apoptosis rate were detected with bi-variable flow cytometry. Expression of survivin protein was determined with Western blot. Activity of caspase-3 was assessed with kinase method. Data were processed with analysis of variance. **Results** (1) Cell transfection rates in SC, MC, AC 600 nmol/L groups were all above 80%. (2) Compared with those in SC group [(5.23 ± 0.25)%], MC group [(5.09 ± 0.13)%] and L group [(4.70 ± 0.45)%], inhibition rates of cell proliferation in AC 200, 400, 600 nmol/L groups 24 hours after transfection [(10.30 ± 0.56)% , (16.69 ±

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2010.02.013

基金项目:国家高技术研究发展计划(2007AA021802);山东省科学技术发展计划(2007GG20002044)

作者单位:250021 济南,山东大学附属省立医院烧伤整形科(曾永倩、王法刚、霍然、冯永强、李强、王一兵);

中国医学科学院整形外科医院十六科(蔡景龙)

通信作者:王一兵,Email:wyb0616@163.com,电话:13805310029

0.58)%, (24.67 ± 0.67)%] were significantly increased ($F = 746.91$, and P values all below 0.05). As time after transfection went on, proliferation inhibition rate was increased obviously. (3) Apoptosis rate in AC 200, 400, 600 nmol/L groups 24 hours after transfection was respectively (13.5 ± 1.9)%, (20.1 ± 1.5)%, (32.1 ± 2.9)%, which were significantly higher than those in C, SC, MC, and L groups [(6.5 ± 0.6)%, (5.6 ± 0.7)%, (6.4 ± 1.0)%, (6.5 ± 1.3)%, $F = 139.9$, P values all below 0.05]. Cells in AC group were blocked in G2/M stage. (4) Compared with those in C group, expression amount of survivin protein decreased, and caspase-3 activity obviously increased ($F = 63.1$, P values all below 0.05) in AC group. No significant difference in caspase-3 activity between SC, MC, L groups and C group was observed ($F = 0.512$, P values all above 0.05). **Conclusions** Survivin ASODN can inhibit the proliferation of hMMC A375 in a concentration-time dependant manner, and it induces G2/M stage block and promotes its apoptosis.

【Key words】 Oligonucleotides, antisense; Melanoma; Caspase-3; Survivin

存活素在肿瘤的发生发展中起重要作用,其反义寡脱氧核苷酸(ASODN)转染人结肠癌细胞后能抑制细胞增殖,促进其凋亡^[1]。存活素基因可作为基因治疗人恶性黑色素瘤的一个重要靶点。本研究以人恶性黑色素瘤细胞(hMMC)株 A375 为对象,利用 ASODN 技术研究存活素与 A375 细胞增殖及凋亡的关系,进一步了解存活素的功能,为存活素基因的靶向治疗提供实验依据。

1 材料与与方法

1.1 主要试剂与仪器

DMEM/F12 培养基购自美国 Hyclone 公司,无血清 Opti-MEM 培养基购自美国 Gibco 公司,绿色荧光蛋白购自上海生工生物工程技术有限公司,阳离子脂质体 Lipofectamine™2000 购于美国 Invitrogen 公司,膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素(FITC)凋亡检测试剂盒购于深圳晶美生物工程有限公司北京分公司,兔抗人存活素多克隆抗体购于英国 Abcam 公司,肌动蛋白抗体购于美国 Santa Cruz 公司,山羊抗兔 IgG 抗体购于北京中杉金桥生物技术有限公司,半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(caspase-3)活性检测试剂盒购于上海碧云天生物技术有限公司。双变量流式细胞仪购于美国贝克曼库尔特有限公司,酶标仪购于美国 Molecular Devices 公司, Laser-4000 型化学发光仪显影系统购于日本富士公司。

1.2 细胞培养

将 A375 细胞(中国医学科学院皮肤病研究所提供)接种于含体积分数 10% FBS 的 DMEM/F12 培养液中,置于 37 ℃、体积分数 5% CO₂ 培养箱中培养,2.5 g/L 胰蛋白酶隔日消化传代,取对数生长期细胞进行实验。

1.3 寡脱氧核苷酸序列的设计与合成

选择存活素 mRNA 232 ~ 251 的模板区序列 3'-GGGTCGGAAGGTCCAGGAAC-5'作为靶位点,合成

ASODN 链序列:5'-CCCAGCCTTCCAGCTCCTTG-3';另设正义寡脱氧核苷酸(SODN)链(5'-CAAGGAGCTGGAAGGCTGGG-3')与错义寡脱氧核苷酸(MSODN)链(5'-GCCACTCCTCGACTCTCGTC-3')作为对照。寡脱氧核苷酸的碱基均进行全硫代修饰,5'端标记绿色荧光蛋白。

1.4 细胞分组及转染

将细胞以 3×10^4 个/孔接种于 24 孔培养板中培养 24 h,按随机数字表法分为 5 组:(1)对照组,不予转染;(2)正义链组,转染 600 nmol/L 存活素 SODN;(3)错义链组,转染 600 nmol/L 存活素 MSODN;(4)脂质体组,仅用脂质体处理;(5)反义链组,转染存活素 ASODN,并根据转染物浓度再分为 200、400、600 nmol/L 3 个亚组。转染方法:按照阳离子脂质体 Lipofectamine™2000 说明书,以无血清 Opti-MEM 培养液配制各组转染(复合)物,孵育 4 h 后换用含血清培养液培养。

1.5 检测指标

1.5.1 转染效果 于倒置荧光显微镜下观察转染效果,计算转染率。

1.5.2 细胞增殖抑制率 将实验细胞以 5×10^3 个/孔接种于 96 孔板。按照 1.4 步骤分组、转染后培养 24、48、72 h(每组每时相点设 4 个复孔,各组于培养结束前 4 h 每孔加入 5 g/L 噻唑蓝 20 μL,继续孵育至培养结束)。吸弃孔内上清液,每孔加入 200 μL 二甲亚砷,振荡 15 min,用酶标仪于 490 nm 波长下检测各孔细胞吸光度值。以对照组细胞活力为 100%,各组细胞增殖抑制率 = (1 - 各组吸光度值 ÷ 对照组吸光度值) × 100%。

1.5.3 细胞凋亡率及细胞周期 采用双变量流式细胞仪检测。将细胞以 8×10^4 个/孔接种于 6 孔板,按照 1.4 步骤分组、转染后培养 24 h。将各组细胞分成 2 份,PBS 洗涤后,一份加入 100 μL 结合缓冲剂、5 μL 膜联蛋白 V-FITC 和 10 μL 碘化丙啶

(PI),混匀避光室温反应 15 min,再加 500 μL 结合缓冲剂后上机检测细胞凋亡率;另一份加入 80 μL 打孔剂,550 μL PI 混匀,4 ℃ 反应 30 min 后上机检测细胞周期。每组 4 个样本。

1.5.4 存活素蛋白表达 采用蛋白质印迹法检测。将细胞接种于直径 10 cm 培养皿中,按照 1.4 步骤分组、转染。转染结束后 24 h 取各组细胞样本,离心收集细胞,加入细胞裂解液,提取胞内总蛋白。灌制十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶,常规电泳、转膜,50 g/L 脱脂奶封闭。加入 1:5000 稀释的兔抗人存活素多克隆抗体,4 ℃ 孵育过夜,漂洗后加入山羊抗兔 IgG 抗体,室温孵育 1 h,漂洗后加入显影剂,利用化学发光仪显影系统显像。

1.5.5 caspase-3 活性 另取细胞,按 1.4 步骤分组、转染。按 1.5.4 步骤提取转染后 24 h 各组细胞内总蛋白。按 caspase-3 活性检测试剂盒说明书加入含 Ac-DEVD-pNA 的反应液,各组总蛋白终浓度为 0.8 g/L。37 ℃ 孵育 4 h,酶标仪检测各组细胞在波长 405 nm 处的吸光度值。以各组吸光度值减去对照组吸光度值表示 caspase-3 相对活性。

1.6 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件行方差分析。

2 结果

2.1 转染效果

反义链各浓度组细胞转染后大部分形态基本正常、贴壁良好,部分细胞变圆、皱缩,悬浮细胞增多,胞内可见大小不一的颗粒(图 1a);其余各组细胞形态变化不明显。正义链组、错义链组、反义链各浓度组细胞内均可见清晰绿色荧光,且反义链组荧光强度随转染物浓度的增高而增强(图 1b,c);对照组、脂质体组细胞内未见绿色荧光。正义链组、错义链组、反义链 600 nmol/L 组细胞转染率均大于 80%

(图 a,b),反义链 200、400 nmol/L 组细胞转染率约为 30%、50%。

2.2 细胞增殖抑制率

反义链各浓度组转染后,各时相点细胞增殖抑制率较正义链组、错义链组、脂质体组明显增高(P 值均小于 0.05)。随着转染时间的延长,反义链各浓度组的细胞增殖抑制率均增高明显。见表 1。

表 1 各组 A375 细胞转染后增殖抑制率的变化(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	转染后时间		
	24 h	48 h	72 h
正义链组	5.23 ± 0.25	5.99 ± 0.12	8.01 ± 0.14
错义链组	5.09 ± 0.13	6.04 ± 0.65	7.14 ± 0.47
脂质体组	4.70 ± 0.45	5.32 ± 0.38	7.80 ± 0.15
反义链组			
200 nmol/L 组	10.30 ± 0.56*	28.50 ± 0.67*	30.28 ± 0.72*
400 nmol/L 组	16.69 ± 0.58*	36.94 ± 0.93*	42.47 ± 0.57*
600 nmol/L 组	24.67 ± 0.67*	54.40 ± 0.79*	61.48 ± 0.62*
<i>F</i> 值	746.91	3588.17	4195.34

注:各组样本数均为 12;与正义链组、错义链组、脂质体组比较,* $P < 0.05$

2.3 细胞凋亡率及细胞周期

反义链各浓度组细胞凋亡率明显高于对照组(P 值均小于 0.05),且随转染物浓度增加而增加;其余各组与对照组比较,差异无统计学意义($F = 4.2, P$ 值均大于 0.05)。与对照组比较,反义链各浓度组 G0/G1 期细胞比例明显减少(P 值均小于 0.05),G2/M 期细胞比例明显增加(P 值均小于 0.05),出现 G2/M 期阻滞。见表 2。

2.4 存活素蛋白表达

反义链各浓度组细胞存活素蛋白的表达量较对照组减少,并随转染物浓度增加逐渐下降。见图 2。

2.5 caspase-3 活性

对照组及反义链 200、400、600 nmol/L 组转染后 24 h,吸光度值分别为 0.11 ± 0.09、0.16 ± 0.16、0.22 ± 0.21、0.28 ± 0.16,反义链各浓度组 caspase-3 活性均较对照组明显增高($F = 63.1, P$ 值均小于

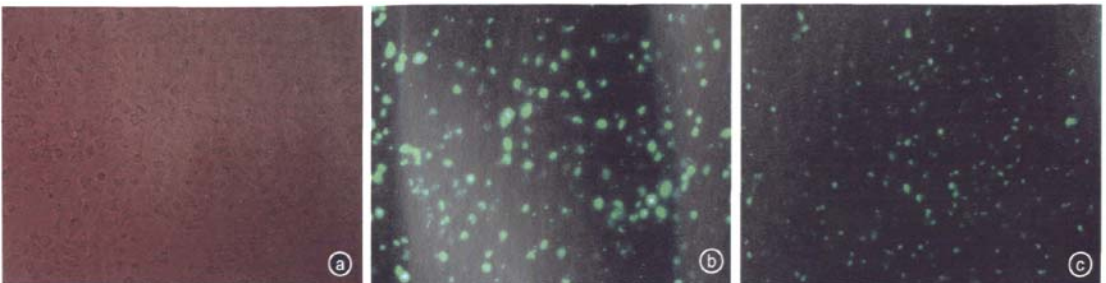


图 1 反义链 A375 细胞转染结果 倒置相差显微镜 × 100。a. 600 nmol/L 组大部分 A375 细胞形态基本正常,细胞内可见大小不一的颗粒,部分细胞变圆、皱缩;b. 与 a 相同视野下 600 nmol/L 组 A375 细胞内可见较强绿色荧光;c. 200 nmol/L 组 A375 细胞内绿色荧光清晰可见

0.05),并随转染物浓度增加而递增。正义链组、错义链组和脂质体组的 caspase-3 活性(吸光度值分别为 0.11 ± 0.05 、 0.10 ± 0.05 、 0.11 ± 0.10)与对照组比较,差异无统计学意义($F = 0.512$, P 值均大于 0.05)。

表 2 各组 A375 细胞转染后 24 h 细胞周期及凋亡率的变化 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	G0/G1 期	S 期	G2/M 期	细胞凋亡率
对照组	68.3 ± 3.0	21.6 ± 0.9	4.6 ± 1.0	6.5 ± 0.6
正义链组	67.2 ± 5.2	24.7 ± 2.1	5.4 ± 1.2	5.6 ± 0.7
错义链组	66.3 ± 3.8	24.2 ± 1.2	4.7 ± 1.5	6.4 ± 1.0
脂质体组	66.3 ± 4.2	22.4 ± 2.2	6.0 ± 0.9	6.5 ± 1.3
反义链组				
200 nmol/L 组	56.1 ± 2.9 ^a	18.8 ± 2.2	15.8 ± 3.3 ^a	13.5 ± 1.9 ^a
400 nmol/L 组	45.7 ± 3.0 ^a	16.3 ± 3.1 ^a	28.2 ± 2.5 ^a	20.1 ± 1.5 ^a
600 nmol/L 组	41.0 ± 2.1 ^a	14.7 ± 3.9 ^a	37.1 ± 2.6 ^a	32.1 ± 2.9 ^a
F 值	173.8	40.3	741.7	139.9

注:各组样本数均为 4;与对照组比较,^a $P < 0.05$

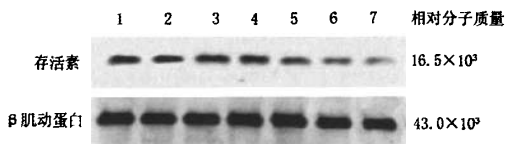


图 2 转染后 24 h 各组 A375 细胞内存活素的蛋白质印迹法检测结果。1. 对照组;2. 正义链组;3. 错义链组;4. 脂质体组;5. 反义链 200 nmol/L 组;6. 反义链 400 nmol/L 组;7. 反义链 600 nmol/L 组

3 讨论

存活素在成人正常组织中不表达(胸腺除外),但可广泛表达于大多数肿瘤组织,是迄今发现最强的凋亡抑制因子之一^[2],具有促进细胞增殖和转化,抑制细胞凋亡并且参与细胞有丝分裂、血管生成和肿瘤细胞耐药性的产生等作用。Mesri 等^[3]采用突变腺病毒介导的存活素基因 pAd-T34A 转染多种癌细胞(乳腺癌、前列腺癌、肺癌、大肠癌等),证明转染后癌细胞会发生自发性凋亡,但该基因对正常细胞如 Fb、上皮细胞、平滑肌细胞等的增殖无影响。

存活素与人恶性黑色素瘤的发生、发展及预后密切相关。Gradilone 等^[4]证实恶性黑色素瘤患者哨兵淋巴结内存活素的表达与其预后相关。Liu 等^[5]的研究证实,存活素突变体在 3 种黑色素瘤细胞中均可促进细胞凋亡。应用存活素突变体可阻止免疫缺陷大鼠接种 YUSAc2 黑色素瘤细胞后形成黑色素瘤,且对已形成的黑色素瘤肿瘤生长抑制率为 60% ~ 70%,可见控制由存活素调节的抗凋亡途径对治疗恶性黑色素瘤是有益的。

存活素在大多数正常组织中不表达,这使其成为肿瘤基因治疗的较佳靶点。ASODN 技术是根据 Watson-Crick 碱基互补配对规律和核酸杂交原理,将人工或生物合成的针对特异靶序列的 ASODN 导入靶细胞,与靶基因(如 DNA)或 mRNA 的特定序列相结合,影响靶基因的表达、抑制其功能^[6]。该技术已成为近年来基因功能分析及基因治疗中不可缺少的重要技术手段。本研究观察到,ASODN 可有效抑制存活素蛋白表达,诱导 A375 细胞凋亡并抑制其增殖。在脂质体安全有效的浓度范围内,ASODN 的浓度越高,转染效率越高,细胞增殖抑制率相应增高。正义链组、错义链组及脂质体组 A375 细胞凋亡率与对照组无明显差别,说明了 ASODN 作用于目的基因的高特异性。

细胞凋亡通路的异常在恶性肿瘤中很常见,导致细胞逃脱正常的监控机制,发生分裂异常。存活素的表达具有细胞周期的特异性^[7],选择性高表达在细胞周期的 G2/M 期,这可能使得 A375 细胞更易越过 G2/M 期的限制点(checkpoint)完成异常有丝分裂,不发生凋亡。本实验反义链组 A375 细胞转染后被阻滞在 G2/M 期,不能完成有丝分裂,ASODN 负向调节细胞的快速增殖状态,进而诱导细胞凋亡。其他各组细胞周期进程没有明显改变。

本实验反义链各浓度组存活素蛋白的表达量较其他各组少,且随转染物浓度增高而减少,说明存活素 ASODN 能够特异性抑制存活素蛋白的表达,证明 ASODN 技术能够在翻译水平抑制目的基因表达,降低目的蛋白含量,促进肿瘤细胞凋亡。

caspase-3 是经典的细胞凋亡级联反应中最关键的效应蛋白酶,是内源性和外源性凋亡途径共同的下游分子,通常以酶原的形式存在。该分子一旦被激活,能够通过酶解其特异性底物,介导细胞核片段化并参与凋亡小体的形成,使细胞发生凋亡^[8]。在结构上,存活素通过杆状病毒细胞凋亡蛋白抑制因子重复序列中的氨基酸残基 Trp67、Pro33、Cys84、caspase-3,与 caspase-7 等结合,从而抑制 caspase 的活性^[9]。我们利用存活素 ASODN 转染 A375 细胞,通过降低存活素的表达减少对 caspase-3 活性的抑制。存活素作为一种凋亡抑制蛋白,能减轻 A375 细胞中 caspase-3 介导的细胞凋亡作用,两者表达的负相关性对 A375 细胞的增殖及抗凋亡能力起着重要作用。抑制 caspase-3 的活性是存活素抑制 A375 细胞凋亡的重要途径之一。

瘢痕增生是深度烧伤创面愈合的严重后遗症之

一,常规治疗方法如压力治疗、手术、放射治疗、激光、外用硅凝胶膜等效果欠佳。由于增生性瘢痕的生物学行为类似肿瘤,因此针对瘢痕增生过程中过度表达的基因,利用 ASODN 转染技术调控 Fb 的增殖、加速细胞凋亡,是瘢痕基因治疗的新方法。

参考文献

[1] Rödel F, Frey B, Leitmann W, et al. Survivin antisense oligonucleotides effectively radiosensitize colorectal cancer cells in both tissue culture and murine xenograft models. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2008,71(1):247-255.

[2] Yamamoto H, Ngan CY, Monden M. Cancer cells survive with survivin. *Cancer Sci*, 2008,99(9):1709-1714.

[3] Mesri M, Wall NR, Li J, et al. Cancer gene therapy using a survivin mutant adenovirus. *J Clin Invest*, 2001,108(7):981-990.

[4] Gradilone A, Gazzaniga P, Ribuffo D, et al. Survivin, bcl-2, bax, and bcl-x gene expression in sentinel lymph nodes from melanoma

patients. *J Clin Oncol*, 2003,21(2):306-312.

[5] Liu T, Brouha B, Grossman D. Rapid induction of mitochondrial events and caspase-independent apoptosis in Survivin-targeted melanoma cells. *Oncogene*, 2004,23(1):39-48.

[6] Miyake H, Hara I, Fujisaw M, et al. Antisense oligodeoxynucleotide therapy for bladder cancer: recent advances and future prospects. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2005,5(6):1001-1009.

[7] Mita AC, Mita MM, Nawrocki ST, et al. Survivin: key regulator of mitosis and apoptosis and novel target for cancer therapeutics. *Clin Cancer Res*, 2008,14(16):5000-5005.

[8] Tan M, Gallegos JR, Gu Q, et al. SAG/ROC-SCF beta-TrCP E3 ubiquitin ligase promotes pro-caspase-3 degradation as a mechanism of apoptosis protection. *Neoplasia*, 2006,8(12):1042-1054.

[9] Colnaghi R, Connell CM, Barrett RM, et al. Separating the anti-apoptotic and mitotic roles of survivin. *J Biol Chem*, 2006,281(44):33450-33456.

(收稿日期:2009-10-27)
(本文编辑:谢秋红)

· 经验交流 ·

大面积烧伤后应用悬浮床治疗出现不适三例

潘文东 陈永新 吴婷 黄芳 王娅

1998 年 12 月—2009 年 10 月,笔者单位采用悬浮床治疗大面积烧伤患者 50 余例,其中 3 例出现运动病样悬浮床不适症状,现报告如下。

1 临床资料及治疗情况

3 例患者均为男性,年龄 25 ~ 38 岁。烧伤总面积为 40% ~ 60% TBSA,为 II ~ III 度。患者入院后给予抗休克、抗感染治疗。均于伤后 3 d 行悬浮床治疗。在使用悬浮床 1 ~ 2 d 后,患者出现不同程度的晕车样不适。表现为头昏、心慌、眩晕、恶心、呕吐、出汗、心率增快、精神不振、无力等。关闭悬浮床动力系统,检查患者血流动力学指标,排除休克因素导致的可能。在关闭悬浮床动力系统后患者上述不适逐渐缓解或消失,重新启动悬浮床时上述症状再次出现。考虑患者可能为运动病样悬浮床不适应症。给予心理护理,盐酸异丙嗪 25 mg 肌肉注射,2 次/d。2 例患者症状逐渐缓解,2 d 后适应悬浮床治疗,未再用药。1 例患者素来晕车症状强烈,用悬浮床治疗后反应剧烈,经上述措施处理未能缓解,改用氯丙嗪 + 异丙嗪治疗。但药效消除后患者再次出现不适,随即停止悬浮床治疗,改用普通翻身床。

2 讨论

悬浮床用于大面积烧伤治疗的优势已得到认同^[1]。美国 Hill-Rom 公司 Cliniro II 流体悬浮床的工作原理为:通过加

热的空气驱动微颗粒产生管状的、由下而上单一方向的气泡,使人体达到悬浮目的,中央控制面板计算机可调节床温且可保持恒温。该床利用干热空气提供动力,促使舱内陶瓷砂由下而上循环运动,使卧床患者避免创面受压,促使创面干燥、结痂,并有抑菌、抗菌功能,有效防止受压创面加深,从而达到治疗目的。由于流沙的悬浮作用,患者身体与床体接触面积增加,压强减小,机体浮动使受压创面重心不停变化,这种漂浮感及重心不断变换可能使患者前庭器官受到较强刺激。笔者认为,悬浮床这种漂浮的感觉对前庭器官的刺激是引起运动病样不适的原因。研究表明,当前庭器官的刺激超过前庭器官的耐受限度或某些内耳前庭器官与半规管高度敏感者,会引起前庭神经核和小脑等有关中枢的过强反应,出现“运动病”表现^[2]。成人运动病发生率随着运动经历的增多而下降^[3]。3 例患者虽属成人,但平时生活环境为边境地区,交通不便,乘坐车船机会少,前庭器官适应性差,可能是发生悬浮床不适应的原因。2 例患者经过心理护理、配合药物及适应性治疗,最后完成治疗也说明了这一点。

参考文献

[1] 解伟光,姜会庆,胡心宝,等. 悬浮床治疗大面积烧伤的临床研究. *医学研究生学报*, 2008,21(3):331-332.

[2] 马文锁,郑璇,郭俊生. 运动病神经生物学机制研究进展. *中国公共卫生*, 2007,23(3):307-309.

[3] 吴青,孔维佳,刘波,等. 运动病易感性量表(MSSQ)筛选运动病易感人群. *中华耳科学杂志*, 2008,6(2):180-185.

(收稿日期:2009-11-11)
(本文编辑:张红)