

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.30.038

NDRG2 在上皮性卵巢癌中的表达及与预后的关系*

张顺今 谭文华[△] 刘巍 李委佳 潘文婧

(哈尔滨医科大学附属第二医院 妇产科二病房 黑龙江 哈尔滨 150000)

摘要 目的:探讨 NDRG2 在上皮性卵巢癌中的表达及其与预后的关系。**方法:**收集新鲜的上皮性卵巢癌和正常卵巢组织各 15 例,采用 real-time PCR 检测和比较其 NDRG2 mRNA 的表达。收集上皮性卵巢癌病理切片 96 例进行免疫组化检测其 NDRG2 蛋白的表达,并收集患者的临床病理资料,随访患者的生存情况,分析 NDRG2 蛋白的表达与上皮性卵巢癌患者临床病理特征和预后的关系。**结果:**上皮性卵巢癌组织中 NDRG2 mRNA 和蛋白的表达均显著低于正常卵巢组织($P<0.05$)。NDRG2 在上皮性卵巢癌组织中的表达随着上皮性卵巢癌病理分期的升高而降低,而且其表达降低和患者不良预后显著相关($P=0.002$),但其表达和不同上皮性卵巢癌的病理类型、分化程度以及年龄均无明显相关性。去除手术病理分期的影响,NDRG2 表达下调和肿瘤细胞减灭术的满意程度以及术后规范化疗是三个影响上皮性卵巢癌预后的重要因素。**结论:**NDRG2 在上皮性卵巢癌中的表达下降,并与患者的不良预后呈显著正相关。

关键词:NDRG2;上皮性卵巢癌;预后

中图分类号:R737.31;R730.231 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)30-5967-04

Expression of NDRG2 in the Epithelial Ovarian Carcinoma and Its Influence on the Prognosis*

ZHANG Shun-jin, TAN Wen-hua[△], LIU Wei, LI Wei-jia, PAN Wen-jing

(The second unit of obstetrics and gynecology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150000, China)

ABSTRACT Objective: To study the expression of NDRG2 in epithelial ovarian cancer(EOC) and its correlation with the prognosis of EOC patients. **Methods:** 15 cases of fresh epithelial ovarian cancer and 15 cases of normal ovarian tissue were collected. The mRNA expression of NDRG2 were detected and compared by real-time PCR. 96 cases of epithelial ovarian cancer pathological sections were collected and the expression of NDRG2 protein was detected by immunohistochemistry, the clinicopathological characteristics and survival of patients were statistically analyzed. **Results:** The mRNA and protein expression of NDRG2 in the EOC tissue were significantly lower than those of the normal ovarian tissue ($P<0.05$). The protein expression of NDRG2 decreased with the increase of pathological staging of EOC and was significantly correlated with the poor prognosis of EOC patients ($P=0.002$). However, no obvious correlation was found of the protein expression of NDRG2 with pathological type, differentiated degree and age ($P>0.05$). Excluding the effect of surgical-pathological staging, decrease of NDRG2 expression, satisfaction of cytoreductive surgery and postoperative standard chemotherapy were influencing factors for the prognosis of EOC patients. **Conclusion:** The expression of NDRG2 was decreased in the EOC tissue and was positively correlated with the prognosis of EOC patients.

Key words: NDRG2; ovarian cancer; wnt signal pathway

Chinese Library Classification(CLC): R737.31; R730.231 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)30-5967-04

上皮性卵巢癌(epithelial ovarian cancer, EOC)是妇科肿瘤常见的死亡病因,其高致死率与其发展到晚期才被发现及预后不良等因素有关。NDRG2 基因属于 N-MYC 下游调节基因家族(N-myc downstream-regulated gene family),目前研究表明 NDRG2 广泛参与应激反应、细胞分化、增殖,并具有保持各组织或器官的稳态等作用^[1]。在乳腺癌^[2]、结肠癌^[3]及其他多种癌症中,NDRG2 基因均作为一种抑癌基因或肿瘤转移抑制基因存在^[4]。在结肠癌中,经典的 Wnt 通路可被 NDRG2 衰减从而达到

到抑癌作用^[5],而 Wnt 信号通路在卵巢癌的发生、发展和转移过程中起均起重要作用^[6]。而目前这种基因在上皮性卵巢癌中的作用尚不明确。本研究采用免疫组化和 real-timePCR 分析了该基因在上皮性卵巢癌中的表达及其和预后的关系,以期为上皮性卵巢癌的治疗和预后评估提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 标本采集

* 基金项目:黑龙江省卫生厅科研基金资助课题(2013145)

作者简介:张顺今(1987-),女,住院医师,研究方向:妇科肿瘤,E-mail: 115752461@qq.com

[△] 通讯作者:谭文华,教授,研究方向:妇科肿瘤,E-mail: tanwenhua1962@163.com

(收稿日期:2017-05-28 接受日期:2017-06-25)

取哈尔滨医科大学附属第二医院 2015 年 1 月至 2016 年 6 月经病理确诊的住院手术卵巢癌标本 15 例及正常卵巢 15 例进行 RT-PCR 检测。选取哈尔滨医科大学附属第二医院行手术治疗经病理证实为卵巢上皮性恶性肿瘤的患者 96 例, 所有患者术前未经化学治疗和放射治疗, 无其余系统疾病。患者年龄最小 35 岁, 最大 63 岁, 平均年龄 51.3 岁。按术后国际妇产科联盟 (FIGO)2012 版分期: I 期患者 25 例, II 期患者 16 例 III 期患者 47 例, IV 患者 8 例, 按术后病理类型分类: 96 例卵巢上皮性恶性肿瘤(包括卵巢浆液性腺癌 46 例, 卵巢黏液性腺癌 29 例, 卵巢子宫内膜样癌 13 例, 卵巢透明细胞癌 8 例)。全部病例均经随访, 随访时间最长 87.7 个月, 最短 0.79 个月, 中位随访时间 32.2 个月。

1.2 主要试剂与设备

TBS(大连宝生物公司); DEPC(大连宝生物公司); Trizol(美国 Invitrogen 公司); 低温高速离心机(美国 sigma 公司); PCR 仪(美国 sigma 公司); Realtime PCR 仪(美国 ABI 公司); 逆转录试剂盒: (大连宝生物公司); Realtime PCR 试剂盒 (大连宝生物公司); NDRG2 鼠抗人单克隆抗体(北京中杉金桥生物有限公司); DAB 显色试剂盒 (北京中杉金桥生物有限公司); PV 二步法试剂盒(北京中杉金桥生物有限公司); 抗体稀释液(北京中杉金桥生物有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 Real-time PCR 检测

1.3.1.1 RNA 的提取 将冻存于 -80 °C 的 Trizol+ 淋巴细胞液室温下完全化开, 加入 1/5 体积的氯仿(约 200 μ L), 剧烈震荡 15 s; 放置于室温下, 静置 5 分钟; 离心, 4 °C, 12000 $\times$ g, 15 min; 离心完后可见液体分层, RNA 存在于上层水相中, 将其取出(约 400 μ L)移入另一新的 Eppendorf 管中, 在其中加入等体积的异丙醇(约 400 μ L), 上下颠倒混匀, 室温静置 10 分钟, 使 RNA 沉淀; 离心, 4 °C, 1200 $\times$ g, 10 分钟; 离心完后, 可见管底有胶装沉淀, 弃上清, 取冰镇的用 DEPC 水配置的 85 %乙醇 1 mL(850 μ L 100 %乙醇 +150 μ L DEPC 水)上下颠倒洗涤一次, 离心, 4 °C, 7500 $\times$ g, 5 min; 弃掉上清, 用枪头吸尽管内的残存乙醇, 将打开管盖的 EP 管在试验台上放置 5-10 分钟, 让最后残存的乙醇挥发, 不要让 RNA 沉淀干透; 加入 20 μ L DEPC 水, 缓慢吹打将 RNA 完全溶解。

1.3.1.2 用紫外分光光度计检测 RNA 的浓度

1.3.1.3 逆转录 配置反应体系(20 μ L); 在 65 °C 条件下加热 5 分钟, 迅速置于冰上冷却, 短暂离心后加入 5 $\times$ Buffer (4 μ L)、0.1 MDTT (2 μ L); 上述混合液轻轻吹打混匀, 注意不要吹出气泡, 置于 37 °C 下 2 min; 在室温下再次加入 M-MLV 1 μ L, 轻轻吹打混匀; 37 °C 下 50 min, 70 °C 下 15 min, 终止反应。

1.3.1.4 Real-time RT-PCR 配置反应体系; 95 °C, 5 min (95 °C, 15 s; 60 °C, 60 s) $\times$ 40 个循环

1.3.1.5 Delta-delta CT 法分析目的基因的相对表达量

1.3.2 免疫组化 采用 PV 系列二步法免疫组化检测试剂将二抗抗体分子和酶聚合在葡聚糖大分子骨架上, 形成多聚体, 替代传统方法中的二抗以及三抗, 从而提高免疫组化制片的阳性率及扩大抗原抗体复合体的结合信号。

1.3.2.1 制备石蜡标本切片 10 %多聚甲醛固定标本, 进行常规的石蜡包埋; 将清洁的载玻片浸入浓硫酸过夜, 蒸馏水反复冲洗 3 次, 置入 100 %酒精内 24 h, 烘干。干燥后涂防脱片剂 APES, 再次干燥后装盒备用; 将石蜡包埋的标本连续切片成至 4 μ m 厚, 切片贴于涂有 APES 的载玻片上, 电热恒温干燥箱 65 度过夜。固定后备用。

1.3.2.2 免疫组化染色 试验采用采用 PV 二步法, 按试剂盒说明书进行。本实验采用已经阳性的卵巢癌切片作为阳性对照; 阴性对照组选用 0.01M PBS 缓冲液代替一抗, 其余步骤相同, 以便于除外假阳性结果。

1.3.2.3 设置对照 设置阴性和阳性对照, 以北京中杉金桥生物有限公司提供的阳性对照片作为阳性。以 PBS 置换一抗的结果作为阴性对照的标准。

1.3.2.4 阳性判定标准 NDRG2 阳性表达主要定位在胞质和核膜上, 免疫阳性的细胞百分比对应评分: 0(0%), 1(1-10 %), 2(11-50 %)及 3(50 %)。染色强度评分: 0(阴性)、1(弱)、2(中)、3(强)。最终的免疫组化评分(IRS)由两者共同决定。

1.4 统计学分析

采用 SPSS19.0 软件进行统计学分析, 计量资料数据采用均值 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 两组间的比较采用 t 检验。Spearman's rank 相关分析进行相关性检验, Kaplan-Meier 检验分析并绘制生存曲线, 以 P<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 正常卵巢组织和上皮性卵巢癌组织中 NDRG2 mRNA 的表达

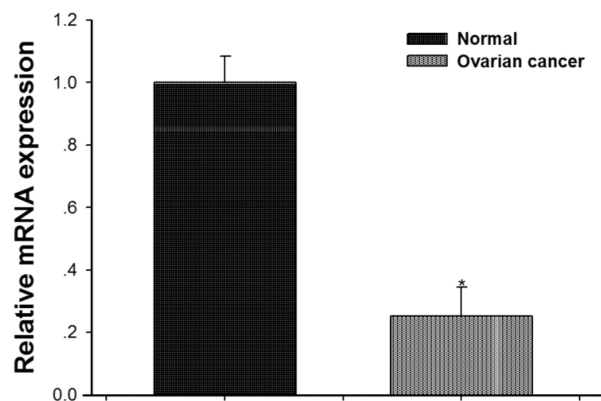


图 1 正常卵巢组织与上皮性卵巢癌组织中 NDRG2 mRNA 的表达比较(*P<0.01)

Fig.1 Comparison of the expression of NDRG2 mRNA between the normal ovarian tissue and epithelial ovarian cancer tissue

应用 Real time PCR 检测正常卵巢组织及上皮性卵巢癌组织中 NDRG2 的表达, 如图 1 所示, 上皮性卵巢癌组织中 NDRG2 mRNA 的表达显著低于正常卵巢组织, 差异有统计学意义(P=0.0025)。

2.2 正常卵巢组织和上皮性卵巢癌组织中 NDRG2 蛋白的表达

15 例正常卵巢组织中 NDRG2 蛋白表达的弱阳性 20 %, 中 - 强度阳性 73.33 %。96 例卵巢癌中, NDRG2 蛋白表达弱阳性 63.28 %, 中 - 强度阳性 8.59 %。正常卵巢组织的免疫组化评

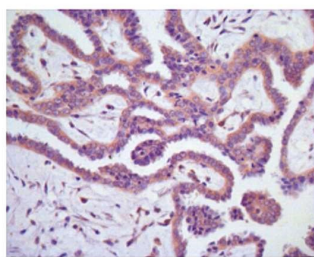


图2-1

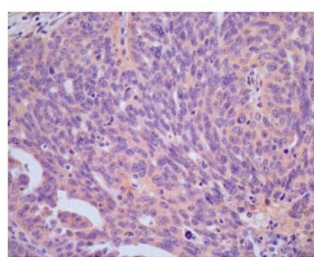


图2-2

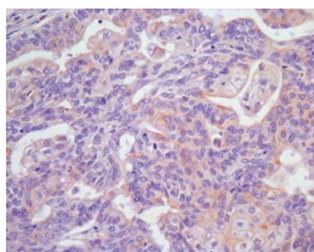


图2-3

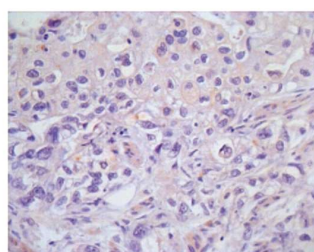


图2-4

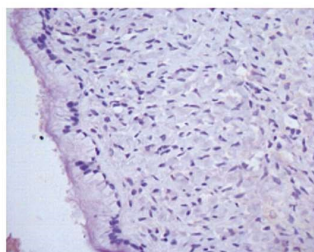


图2有代表性的免疫组化照片

Fig.2 Representative photographs

注:图2-1.正常卵巢组织;图2-2.I期;图2-3.II期;

图2-4.III期;图2-5.IV期

Note: 2-1 normal ovarian tissue; 2-2 grade I; 2-3: grade II;

2-4 grade III; 2-5 grade IV

分(IRS)是 12.83 ± 0.26 , I期是 5.29 ± 0.18 , II期是 3.71 ± 0.15 , I-II期是 2.57 ± 0.21 , WHO IV 1.05 ± 0.18 (见表1)。卵巢癌中位IRS值是 2.37 ± 0.19 , 较正常卵巢组织显著下降($P=0.008$), $IRS < 2.37$ 的卵巢癌恶性程度更高, 遂将卵巢癌标本由此值分为 $IRS < 2.37$ 、 $IRS > 2.37$ 两组。

2.3 NDRG2 的表达与上皮性卵巢癌临床病理特征的关系

NDRG2 的表达虽然随着肿瘤手术-病理分期的升高而降低($P < 0.05$)(见表1), 但与上皮性卵巢癌的病理类型($P=0.138 > 0.05$)及分化程度($P=0.067 > 0.05$)均无明显相关性。

2.4 NDRG2 的表达水平与上皮性卵巢癌患者预后的关系

Spearman's rank 相关分析显示 NDRG2 的表达和患者的生存率显著相关($r=0.89, P=0.01$), Kruskal-Wallis 检验显示 $IRS > 2.37$ 的患者的预后较好。两组的生存曲线(图4)提示 NDRG2 的表达水平不仅在期别晚的卵巢癌(FIGO III-IV)中有提示预后的作用, 在较早期别(FIGO I-II)中同样具有提示作用。

3 讨论

卵巢癌是妇科肿瘤最常见的死亡病因, 上皮性卵巢癌是卵巢癌的一种常见类型, 好发于 50-60 岁的妇女, 占卵巢恶性肿瘤的 85%-90%, 来源于卵巢表面的生发上皮。由于女性卵巢位于盆腔深部, 发生病变时不易早期发现, 发病隐匿, 进展迅速。目前, 对卵巢癌尚无成熟的早期诊断方法, 70%-80% 的卵巢癌患者发现时已为中晚期, 伴有广泛的盆腹腔转移治疗极其困难。虽然近年来随着手术及以铂类为主的化疗技术的成熟, 卵巢癌患者通过手术及化疗辅助获得无症状生存期明显升高, 由于反复化疗后化疗药物不敏感及耐药一直是卵巢患者最后死亡的重要原因。目前研究认为 EOC 的高致死率与其进展到晚期才被发现及其转移性病变、化疗耐药等因素有关。

NDRG2 基因隶属于 N-MYC 下游调节基因家族(N-myc downstream-regulated gene family), NDRG 基因家族包含四个

表1 NDRG2 的表达与上皮性卵巢癌临床病理特征的关系

Table 1 Correlation of the expression of NDRG2 with the clinicopathological features of patients with EOC

Clinical features	Quality	Positive rate(%)	IHC score
FIGO stages			
Normal	15	93.33	12.83 ± 0.26
I 期	26	69.23	5.29 ± 0.18
II 期	15	46.67	3.71 ± 0.15
III 期	47	36.17	2.57 ± 0.21
IV 期	8	25	1.05 ± 0.18
Pathological pattern			
Serous	46	53.33	2.63 ± 0.22
Mucinous	29	48.27	2.87 ± 0.17
Endometrioid	13	53.85	2.11 ± 0.15
Clear cell tumor	8	37.50	2.77 ± 0.25
Differentiation			
High	27	48.15	2.44 ± 0.19
Moderate-low	69	50.72	2.36 ± 0.24

成员: NDRG1、NDRG2、NDRG3 和 NDRG4。研究表明 NDRG1 广泛的表达于人体不同组织中^[7], 而 NDRG2-4 则只在某些特定的组织中表达, 例如心、脑等, 这说明 NDRG 家族成员间存在差异性, 也存在共同的联系。NDRG1 和 NDRG2 均包含几个潜在的 SGK1、PKC 和 AKT 磷酸化位点^[8], 但确切的 NDRG2 磷酸化的生理作用尚不清楚。NDRG 基因家族在人体多种其他正常组织中高表达, 在某些肿瘤组织中不表达或低表达。前期关于 NDRG 基因家族的研究发现, 该基因家族的表达可以抑制肿瘤细胞系的增殖和分化, 提示 NDRG 基因家族可能作为一种抑癌基因参与某些肿瘤的发生或发展。NDRG2 在糖皮质激素作用下的神经细胞分化、突触形成和轴突存活中起作用^[9]; 而其表达上调与阿尔茨海默病的发病率正相关^[7], 说明 NDRG2 可能广泛参与应激反应、细胞增殖、分化, 并具有保持各组织或器官的状态稳定性等功能。有研究报道 NDRG2 mRNA 在结肠与结肠癌组织、胃与胃癌组织之间的表达差异无统计学意义。但是最近有研究显示胃癌组织内的 NDRG2 表达明显低于正常胃组织, 且与胃癌的进展和预后密切相关。

肿瘤细胞的增殖、凋亡和迁移等过程的失衡将导致肿瘤的发生、进展。EOC 细胞的增殖和转移也包含这些过程^[10]。目前研究表明转移的发生和原发性肿瘤的生长是两个的独立过程, 细胞获得转移能力可以发生在肿瘤进展的早期阶段^[3]。然而, 在远端位点转移是一个复杂的过程, 包括细胞增殖、迁移, 肿瘤血管形成等; 上述过程是由其相关的基因和细胞内信号通路的调节失衡而实现。在诸多细胞内信号通路中, Wnt 信号通路的特征性改变不仅可致癌、同时也诱使癌症发生转移^[11]。Shin Yoshioka 等研究发现 Wnt 通路配体 Wnt7A 在 EOC 中过表达, 并能激活 Wnt 信号通路的经典途径, Wnt/ β -catenin 信号通路, 诱导靶基因 cyclin D1、MMP-7 等活化, 进而促进 EOC 生长和转移^[12]。研究表明 Wnt 信号通路在卵巢癌发生、发展和转移过程中起均起重要作用^[13], 上述研究提示 Wnt 信号通路很可能是卵巢癌发生和转移的一个关键分子。WNT/ β -catenin 通路的激活与 GSK3 β 失活, β -连环蛋白(β -catenin)的核转移, 核 β -catenin 与 T 细胞特异转录因子 / 淋巴细胞增强子结合因子(TCF/LEF)形成复合体有关。从而导致了 Wnt 通路下游靶基因, 如 n-myc、cyclinD1、MMP-7 等的激活^[14], 参与细胞增殖、分化, 促进肿瘤的发生和转移。

本实验结果为 NDRG2 蛋白在上皮性卵巢癌中表达下降, 且其表达量随着肿瘤分期的升高而降低, 这与之之前 NDRG2 在其他癌症中的抑癌作用相一致。在多种人类肿瘤中, NDRG2 的表达下调, 这也提示了他作为一个抑癌基因的作用。在肾细胞癌(RCC)中, NDRG2 的表达可以下调 EMT 相关基因的表达, 抑制 EMT, 并能恢复 E-cadherin 缺失的 RCC 细胞中 E-cadherin 的表达^[15]。在乳腺癌细胞中, NDRG2 可以通过产生 SOCS1(细胞因子信号 1)抑制 STAT3(转录因子 3)的活化^[16], 通过下调 TCF/ β -catenin 信号途径来对人类结肠癌的发生起抑制作用^[17]。基于现有研究, NDRG2 表达缺失非常显著而又独立的与不良预后密切相关, 可能是提示预后的一个重要标志^[18]。但在宫颈癌中, 当肿瘤细胞接受放 / 化疗或药物处理时 / 后, NDRG2 则可能提高某些癌细胞的耐受力, 增强其生存能力^[19]。Liu 等人证实宫颈癌 Hela 细胞中, 顺铂可以诱导 NDRG2 的表达, 敲除 NDRG2 后, Hela 细胞对顺铂敏感性增加^[20]; 但 Choi

则发现在胃癌细胞中抑制 NDRG2 的表达有诱导胃癌细胞对顺铂耐药的倾向^[21]。这说明 NDRG2 的功能可能具有组织和 / 或细胞特异性, 从而导致在两种不同癌细胞接受顺铂化疗时表现出了相反的作用。

研究显示 Wnt/TCF/ β -catenin 信号通路在结肠癌细胞 SW620 中可以被 NDRG2 衰减, 从而抑制肿瘤细胞侵袭^[22], 其机制可能与 NDRG2 调控 GSK3 β 的磷酸化有关。NDRG2 基因在卵巢中具有抑癌作用; NDRG2 过表达可能通过抑致 Wnt 通路下游靶基因包括 cyclinD1、MMP-2、MMP-7、MMP-9 等的活化及表达, 抑制 EMT 过程, 从而抑制上皮性卵巢癌细胞增殖、侵袭、迁移等过程; 同时, 低表达 NDRG2 的上皮性卵巢癌患者可能对化疗不敏感, 预后不良。本研究结果表明 NDRG2 基因在 EOC 组织中的表达较正常卵巢组织表达显著下调, 并且与患者的不良预后呈正相关。在此基础上, 我们将通过后续实验将进一步阐明 NDRG2 通过调控 Wnt/ β -catenin 通路下调 cyclinD1、MMP-2、-7、-9 等靶基因达到抑制 EOC 增殖、转移的作用及其机制; 分析 NDRG2 的表达与 EOC 临床变量、预后及化疗耐药等因素的相关性。为有效干预和抑制上皮性卵巢癌增殖、转移提供理论基础和潜在的药物治疗靶点, 并对评估上皮性卵巢癌患者的预后及化疗效果提供了理论依据。

参考文献(References)

- [1] Yoshioka S, King ML, Naim N, et al. WNT7A Regulates Tumor Growth and Progression in Ovarian Cancer through the WNT/ β -Catenin Pathway[J]. *Mol Cancer Res*, 2012, 10: 469-482
- [2] Kotipatruni RP, Ferraro DJ, Ren X, et al. NDRG4, the N-Myc downstream regulated gene, is important for cell survival, tumor invasion and angiogenesis in meningiomas [J]. *Integr Biol (Camb)*, 2012, 4(10): 1185-1197
- [3] Park KC, Lee DC, Yeom YI, et al. NDRG3-mediated lactate signaling in hypoxia[J]. *BMB Rep*, 2015, 48(6): 301-302
- [4] Yang B, Ni YF, Wang WC, et al. Melatonin attenuates intestinal ischemia-reperfusion-induced lung injury in rats by upregulating N-myc downstream-regulated gene 2 [J]. *J Surg Res*, 2015, 194(1): 273-80
- [5] Blaas J, Weiler M, Sahm F, et al. NDRG1 prognosticates the natural course of disease in WHO grade II glioma [J]. *J Neurooncol*, 2014, 117(1): 25-32
- [6] Liu XY, Fan YC, Gao S, et al. Hypermethylation of the N-Myc Downstream-Regulated Gene 2 Promoter in Peripheral Blood Mononuclear Cells is Associated with Liver Fibrosis in Chronic Hepatitis B[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2017, 241(2): 155-163
- [7] Cho Y, Cho EJ, Lee JH, et al. Fucoidan-induced ID-1 suppression inhibits the in vitro and in vivo invasion of hepatocellular carcinoma cells[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 83: 607-616
- [8] Ma J, Liu S, Zhang W, et al. High expression of NDRG3 associates with positive lymph node metastasis and unfavourable overall survival in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Pathology*, 2016, 48(7): 691-696
- [9] Lee GY, Chun YS, Shin HW, et al. Potential role of the N-MYC downstream-regulated gene family in reprogramming cancer metabolism under hypoxia[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(35): 57442-57451

(下转第 5975 页)

- [19] Ljungquist KL, Agnew SP, Huang JI. Predicting a safe screw length for volar plate fixation of distal radius fractures: lunate depth as a marker for distal radius depth [J]. *J Hand Surg Am*, 2015, 40(5): 940-944
- [20] 吴钦泉.经掌侧入路斜T形钢板内固定治疗桡骨远端不稳定骨折疗效[J].临床和实验医学杂志, 2014, 13(10): 824-826
Wu Qin-quan. The curative effect analysis of volar T-shaped plate internal fixation for unstable distal radius fracture[J]. *Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2014, 13(10): 824-826
- [21] 倪明,丁菊红,尹伟忠,等.掌侧入路掌桡侧双钢板内固定治疗桡骨远端不稳定骨折[J].中国骨与关节损伤杂志, 2014, 29(3): 253-254
Ni Ming, Ding Ju-hong, Yin Wei-zhong, et al. Primary analysis of double plate fixation via palmar approach in treatment of unstable radial fractures [J]. *Chinese Journal of Bone and Joint Injury*, 2014, 29(3): 253-254
- [22] 杨召,马信龙,马剑雄,等.动态外固定架与静态外固定架治疗不稳定桡骨远端骨折近期疗效的Meta分析[J].中国矫形外科杂志, 2014, 22(10): 880-885
Yang Zhao, Ma Xin-long, Ma Jian-xiong, et al. Long-term efficacy of dynamic external fixation versus static external fixation for unstable distal radius fractures: a meta-analysis[J]. *Orthopedic Journal of China*, 2014, 22(10): 880-885
- [23] Roh YH, Lee BK, Baek JR, et al. A randomized comparison of volar plate and external fixation for intra-articular distal radius fractures[J]. *J Hand Surg Am*, 2015, 40(1): 34-41
- [24] 陈居文,邵新中,王泳,等.闭合复位外固定架牵张固定治疗指骨Pilon骨折的疗效观察[J].中华手外科杂志, 2014, 30(6): 458-460
Chen Ju-wen, Shao Xin-zhong, Wang Yong, et al. Closed reduction and external fixator stretch fixation for treatment of Pilon fractures of the phalanx: a clinical observation [J]. *Chinese Journal of Hand Surgery*, 2014, 30(6): 458-460
- [25] Zhou Y, Wang Y, Liu L, et al. Locking compression plate as an external fixator in the treatment of closed distal tibial fractures [J]. *Int Orthop*, 2015, 39(11): 2227-2237
- [26] Qiu XS, Yuan H, Zheng X, et al. Locking plate as a definitive external fixator for treating tibial fractures with compromised soft tissue envelop[J]. *Arch Orthop Trauma Surg*, 2014, 134(3): 383-388
- [27] 赵铭,张月东,宁鹏,等.掌侧钢板结合外固定架治疗老年桡骨远端C3型骨折[J].实用骨科杂志, 2014, 20(8): 697-700
Zhao Ming, Zhang Yue-dong, Ning Peng, et al. A Comparative Study of Type C3 Distal Radius Fracture Treated by Volar Plate in Combination with External Fixator in Elderly Patients[J]. *Journal of Practical Orthopaedics*, 2014, 20(8): 697-700
- [28] 刘利民,沈惠良,王伟,等.桡骨远端骨质疏松骨折外固定架固定术的临床观察[J].北京医学, 2014, 36(5): 373-375
Liu Li-min, Shen Hui-liang, Wang Wei, et al. Treatment of osteoporotic fractures in the distal radius with external fixation for elderly patients[J]. *Beijing Medical Journal*, 2014, 36(5): 373-375
- [29] 王宏亮,干阜生,李立,等.动力型外固定架结合经皮穿针治疗桡骨远端C型骨折[J].临床骨科杂志, 2016, 19(5): 611-613
Wang Hong-liang, Gan Fu-sheng, Li Li, et al. Treatment of type C distal radius fracture with dynamic external fixation combined with per-cutaneous transfixation-pin fixation [J]. *Journal of Clinical Orthopaedics*, 2016, 19(5): 611-613
- [30] 吕兴元. 切开复位钢板内固定和闭合复位外固定架固定治疗不稳定型桡骨远端骨折的临床研究 [J]. *中国实用医药*, 2017, 12(3): 58-60
Lv Xing-yuan. Clinical research of open reduction plate internal fixation and closed reduction external fixator in the treatment of unstable distal radius fracture[J]. *China Practical Medical*, 2017, 12(3): 58-60

(上接第 5970 页)

- [10] Kang K, Nam S, Kim B, et al. Inhibition of osteoclast differentiation by overexpression of NDRG2 in monocytes[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 468(4): 611-616
- [11] Khatri N, Mudgil Y. Hypothesis. NDL proteins function in stress responses by regulating microtubule organization [J]. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 947
- [12] Zhu J, Zhang S, Li Lei, et al. Epigenetic silencing of DKK2 and Wnt signal pathway components in human ovarian carcinoma [J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(12): 2334-2343
- [13] Cho Y, Yoon JH, Yoo JJ, et al. Fucoidan protects hepatocytes from apoptosis and inhibits invasion of hepatocellular carcinoma by up-regulating p42/44 MAPK-dependent NDRG-1/CAP43 [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2015, 5(6): 544-553
- [14] Chen Z, Zhang D, Zhao XB, et al. The iron chelators Dp44mT and DFO inhibit TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition via up-regulation of N-Myc downstream-regulated gene 1 (NDRG1)[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(21): 17016-17028
- [15] Zhong C, Zhou YK, Yang SS, et al. Developmental expression of the N-myc downstream regulated gene (Ndr) family during *Xenopus tropicalis* embryogenesis[J]. *Int J Dev Biol*, 2015, 59(10-12): 511-517
- [16] Lv XH, Chen JW. N-myc downstream-regulated gene 1/Cap43 may function as tumor suppressor in endometrial cancer [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138: 1703-1715
- [17] Liang ZL, Kang K, Sun L, et al. NDRG2 Is Involved in the Oncogenic Properties of Renal Cell Carcinoma and Its Loss Is a Novel Independent Poor Prognostic Factor After Nephrectomy[J]. *Ann Surg Oncol*, 2012, 19(8): 2763-2772
- [18] Qu X, Li J, Baldwin HS, et al. Postnatal lethality and abnormal development of foregut and spleen in Ndr4 mutant mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 470(3): 613-619
- [19] Lv XH, Chen JW, Zhao G, et al. N-myc downstream-regulated gene 1/Cap43 may function as tumor suppressor in endometrial cancer[J]. *Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138: 1703-1715
- [20] Ding W, Zhang J, Yoon JG, et al. NDRG4 is downregulated in glioblastoma and inhibits cell proliferation[J]. *OMICS*, 2012, 16: 263-267
- [21] Ding W, Zhang J, Yoon JG, et al. NDRG4 is Downregulated in Glioblastoma and Inhibits Cell Proliferation[J]. *OMICS*, 2012, 16(5): 263-267
- [22] Li S, Yang B, Li G, et al. Downregulation of N-Myc downstream-regulated gene 4 influences patient survival in gliomas [J]. *Brain Tumor Pathol*, 2013, 30: 8-14