

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.22.005

慢病毒介导 MicroRNA-376b-3p 对垂体腺瘤细胞增殖和凋亡的影响及机制探究*

孙凯颀 褚冬 王敏磊 仇诚 李英斌[△]

(南京医科大学第二附属医院神经外科 江苏 南京 210000)

摘要 目的:探究慢病毒介导 MicroRNA-376b-3p 对垂体腺瘤增殖和凋亡的影响及其可能的机制。**方法:**以体外培养的人垂体腺瘤细胞系为研究对象,分别设立为 MicroRNA-376b-3p mimics 组(对照组)和慢病毒 lenti-sh MicroRNA-376b-3p 组(药物组),采用 MTT 法检测 MicroRNA-376b-3p 对垂体腺瘤细胞增殖的影响,AnnexinV-FITC/PI 双染法检测 MicroRNA-376b-3p 对垂体腺瘤细胞凋亡率的影响,Western blot 法检测 MicroRNA-376b-3p 对高迁移率蛋白 A2(HMGA2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)蛋白表达的影响。**结果:**(1)慢病毒介导 MicroRNA-376b-3p 能够显著抑制垂体腺瘤细胞的增殖($P<0.05$);(2)在 MicroRNA-376b-3p 干预后 12 h、24 h 以及 48 h,垂体腺细胞的凋亡率均明显升高($P<0.05$);(3)经 MicroRNA-376b-3p 转染后,Bax 蛋白表达升高,Bcl-2、Caspase-3、Survivin 以及 HMGA2 蛋白表达降低($P<0.05$)。**结论:**慢病毒介导 MicroRNA-376b-3p 能够明显抑制垂体腺瘤细胞增殖,诱导其凋亡,分析其作用机制可能与下调 HMGA2 和 Survivin 表达及上调 Bax 蛋白表达有关。

关键词:MicroRNA-376b-3p;靶向;HMGA2;垂体腺瘤;生长

中图分类号:R-33;R736.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)22-4225-04

Effect of Lentivirus-mediated MicroRNA-376b-3p on the Proliferation and Apoptosis of Pituitary Adenoma Cells and the Mechanism*

SUN Kai-jie, CHU Dong, WANG Min-lei, QIU Cheng, LI Ying-bin[△]

(Department of Neurosurgery, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu, 210000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of lentivirus-mediated microRNA-376b-3p on the proliferation and apoptosis of pituitary adenomas and its possible mechanism. **Methods:** Taking human pituitary adenoma cell lines cultured in vitro as the research object, the microRNA-376b-3p mimics group (control group) and lenti-sh MicroRNA-376b-3p group (drug group) were established respectively, and the MTT method was used to detect MicroRNA-376b-3p on the proliferation of pituitary adenoma cells, the AnnexinV-FITC/PI double staining method was used to detect the effect of MicroRNA-376b-3p on the apoptosis rate of pituitary adenoma cells, and the Western blot method was used to detect the effect of MicroRNA-376b-3p on HMGA2, Bax, Caspase-3 protein expression. **Results:** (1) Lentivirus-mediated MicroRNA-376b-3p could significantly inhibit the proliferation of pituitary adenoma cells ($P<0.05$). (2) At 12, 24 and 48 h after microRNA-376b-3p intervention, the apoptosis rate of pituitary gland cells in the control group was significantly lower than that in the drug group ($P<0.05$). (3) After transfection with microRNA-376b-3p transformation, the expression of Bax protein increased, and the expression of Bcl-2, Caspase-3, Survivin and HMGA2 protein decreased ($P<0.05$). **Conclusion:** Lentivirus-mediated MicroRNA-376b-3p could significantly inhibit the proliferation of pituitary adenoma cells and induce apoptosis. The mechanism of microRNA-376b-3p may be related to its targeted down-regulation of HMGA2 expression, up-regulation of Bax protein expression and regulation of survivin protein expression.

Key words: MicroRNA-376b-3p; Targeting; HMGA2; Pituitary adenoma; Growth

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R736.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)22-4225-04

前言

垂体腺瘤是一种起源于蝶鞍内脑垂体细胞的肿瘤,多发生于垂体前叶、后叶以及颅咽管上皮残余细胞内,发病率较高,约占颅内肿瘤的 10%~25%左右,多为良性,仅有约 0.1%~0.2%

具有侵袭性。中年人为该病的高发群体,男女患病率并无明显差异^[1-3]。流调学显示美国每年约有 2500 万新发垂体瘤病患,全球的垂体瘤患病率约为 19.9/10 万,总体发病率较高^[4,5]。临床研究显示垂体瘤主要通过影响激素分泌水平以及对周围组织结构产生压迫影响个体健康。随着垂体瘤的生长,正常的垂体组

* 基金项目:江苏省中医药科技项目(YB2017093)

作者简介:孙凯颀(1995-),男,本科,研究方向:神经外科,电话:15257712112, E-mail:sunkaijie199506@163.com

[△] 通讯作者:李英斌(1965-),男,博士,主任医师,研究方向:神经内镜,电话:18951727389, E-mail:yingbinli65@sina.com

(收稿日期:2020-06-23 接受日期:2020-07-18)

织会因受压而萎缩,使个体垂体促激素分泌减少以及靶腺萎缩,导致闭经、不孕不育、阳痿等症;体积较大的肿瘤还会引起周围组织压迫症状,产生神经刺激症状、视神经压迫症;最后激素分泌的异常可使个体出现巨人症、甲状腺功能亢进等症^[6-9]。

临床上建议对垂体腺瘤及早开展干预治疗。近些年,分子生物学的发展使基因治疗成为各类肿瘤治疗热门方向,特别是靶向治疗具有针对性强、安全性高等特点^[10,11]。MicroRNA-376b-3p 属于 Mir-376 家族的一员,该家族成员广泛参与诸如细胞自噬、心肌保护、红细胞分化等众多生物学过程^[12,13],但关于 MicroRNA-376b-3p 对于垂体腺瘤细胞生长的影响目前尚不完全明确。本研究主要探讨了慢病毒介导 MicroRNA-376b-3p 对垂体腺瘤细胞生长的影响,以期对垂体腺瘤患者的临床治疗提供更为详实的理论依据,现详述如下。

1 材料与方法

1.1 材料

HGMA2 质粒(采购自北纳生物科技有限公司)、空载体(pcdNA3.1)(采购自北京博迈德基因技术有限公司)、DMEM 高糖培养基(采购自上海联硕生物科技有限公司)、胎牛血清(采购自索莱宝科技有限公司)、0.25%胰酶(采购自上海康朗生物科技有限公司)、羟乙基哌嗪乙硫磺酸(采购自苏州亚科科技有限公司)、转染试剂(采购自金传科技有限公司)、HGMA2 一抗(采购自艾美捷科技有限公司)、山羊抗兔 IgG(采购自上海善然生物科技有限公司)、CKK-8 细胞增殖检测试剂盒(采购自翊圣生物科技有限公司)、细胞周期检测试剂盒(采购自南京恩晶生物科技有限公司)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(采购自碧云天生物技术有限公司)。

1.2 方法

实验分组及干预 将选择的细胞系置于 DMEM 培养液中,于培养箱(37℃、5% CO₂)中常规培养,并根据细胞代谢情况进行换液和消化传代;而后取对数期的垂体腺瘤细胞经胰酶消化后,调整为 1×10^4 个/mL 细胞浓度,每孔 100 μ L 接种于 96 孔板中;将其均分为对照组和药物组,每组设置 6 个复孔;对照组接受 MicroRNA-376b-3p mimics 干预,而药物组则接受慢病毒 lenti-sh MicroRNA-376b-3p 转染;两组转染后培养时间均为 48 h。

1.3 观察指标

1.3.1 细胞存活率 培养结束后加入 MTT 并孵育 4 h,而后加入 DMSO,于 570 nm 条件下测定每孔的 OD 值,计算细胞存活率,细胞存活率计算公式为:细胞存活率(%)=(对照孔吸光度 - 实验孔吸光度)/对照孔吸光度 $\times 100\%$ ^[14,15]。

1.3.2 细胞凋亡率 采用 AnnexinV-FITC/PI 双染法检测 MicroRNA-376b-3p 转染后的细胞凋亡情况,取对数生长期的垂体腺瘤细胞,以 5×10^5 个/mL 的密度接种于 6 孔板中,每孔板放置 2 mL 细胞液,使用 AnnexinV-FITC/PI 试剂盒对两组细胞的凋亡情况进行检测,于流式细胞仪中对早期细胞凋亡率进行计算,并开展组间差异性分析,注意每个指标检测 3 次取平均值作为最终结果。

1.3.3 蛋白表达 选择抗体为兔抗人 HMGA2 抗体(货号:25810002)、兔抗人 Bax 抗体(货号:H00000581-K)、兔抗人

Caspase-3(货号:AF-0012),均购自上海越研生物科技有限公司,严格按照说明书操作,使用 Western blot 法就 MicroRNA-376b-3p 转染对垂体腺瘤细胞中 HMGA2、Bcl-2、Bax 以及 Caspase-3 蛋白表达影响进行分析,取对数期生长的垂体腺瘤细胞,以 5×10^5 个/mL 的密度接种于 6 孔板中,每孔板放置 1 mL 细胞液,孵育后使用 PBS 洗涤 3 次,加入裂解液后取上清,开展蛋白定量以及免疫标记,蛋白浓度的计算按照蛋白浓度测定试剂盒说明进行。

1.4 统计学方法

将采集的数据录入 SPSS 22.0 数据软件中进行处理,计量资料应用($\bar{x} \pm s$)的形式表示,组间及组内对比采用 t 检验,计数资料采用[n(%)]的形式来表示,组间差异性对比采用卡方检验,连续变量的前后差异性分析采用 Student's t test 检验,取 $P < 0.05$ 为差异存在统计学意义。

2 结果

2.1 两组垂体腺瘤细胞增殖的影响

MTT 检测结果显示慢病毒介导 MicroRNA-376b-3p 对垂体腺瘤细胞增殖具有明显的抑制效果,药物组细胞增殖度为 $(41.22 \pm 4.55)\%$,对照组细胞增殖度为 $(101.22 \pm 5.22)\%$,两组间细胞增殖相比差异明显($P < 0.05$),具体数据如图 1 所示。

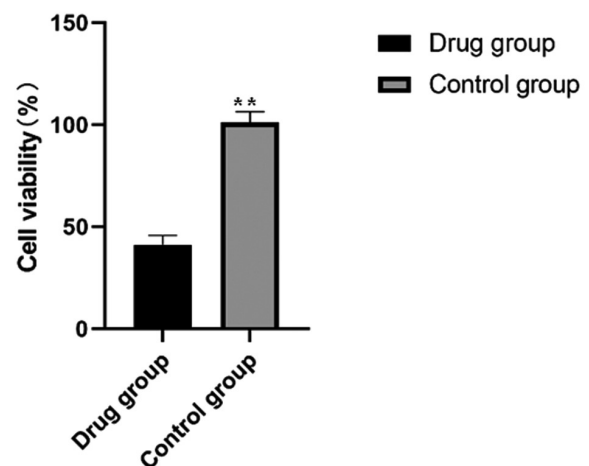


图 1 两组对垂体腺瘤细胞增殖影响分析

Fig.1 Analysis of the effect of the proliferation of pituitary adenoma cells of the two groups

2.2 两组垂体腺瘤细胞凋亡影响分析

将 MicroRNA-376b-3p 作用于垂体腺瘤细胞,通过 AnnexinV-FITC/PI 双染法检测发现,作用后 12 h、24 h 和 48 h 三个时间点时,药物组的细胞凋亡率明显均高于对照组细胞,组间比较差异明显($P < 0.05$),具体数据如图 2 所示。

2.3 两组对 HMGA2、Bcl-2、Bax 及 Caspase-3 蛋白表达影响

使用 MicroRNA-376b-3p 对垂体腺瘤细胞开展干预后,应用 Western blot 就 MicroRNA-376b-3p 对 HMGA2、Bcl-2、Bax 及 Caspase-3 蛋白表达影响进行分析,结果显示,经干预后 BAX 蛋白表达升高,Bcl-2、Caspase-3 以及 HMGA2 蛋白表达降低,药物组与对照组细胞组间上述蛋白表达差异明显($P < 0.05$),如图 3 所示。

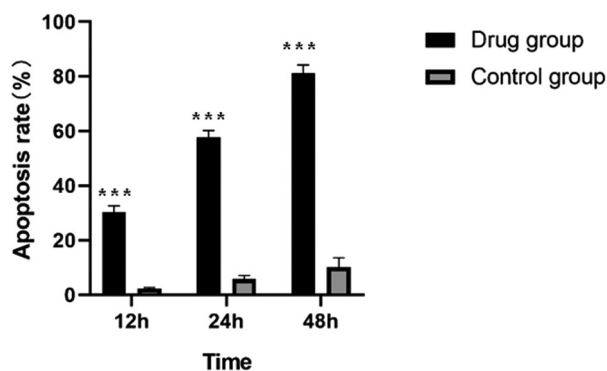


图2 两组对垂体腺瘤细胞凋亡的影响

Fig.2 Effect of the apoptosis of pituitary adenoma cells of the two groups

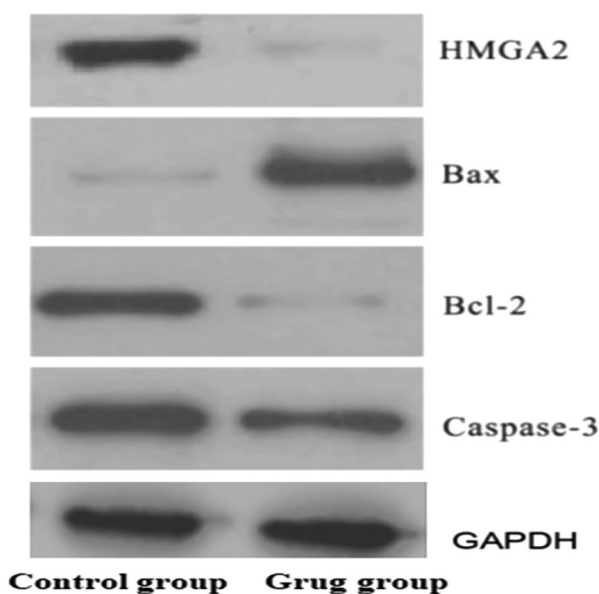


图3 两组对 HMGA2、Bcl-2、Bax 及 Caspase-3 蛋白表达影响

Fig.3 Effect of protein expression of HMGA2, Bcl-2, Bax and Caspase-3 of the two groups

2.4 两组对 Survivin 蛋白表达影响

接受干预后, 对照组 Survivin 蛋白表达显著高于药物组 Survivin 蛋白表达, 蛋白印迹显示两组间差异明显 ($P < 0.05$), 具体数据如图4所示。

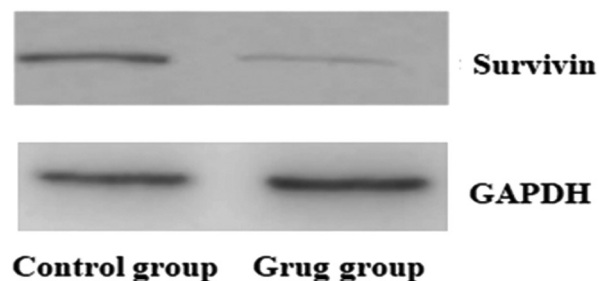


图4 两组对 Survivin 蛋白表达影响

Fig.4 Effect on Survivin protein expression of the two groups

3 讨论

脑垂体是人体中最重要且较为复杂的内分泌腺, 能够分泌多种具有重要生理作用的激素, 同时还具有调控其他内分泌腺分泌的作用, 在神经系统与内分泌腺的相互作用中处于重要地

位。垂体瘤是常见颅内良性肿瘤之一, 其主要临床症状为颅内压迫症状, 诸如头痛、视力下降、视野缺损等, 部分功能性垂体腺瘤还会因类型差异而表现出不同的内分泌失调症状, 诸如停经、泌乳、肢端肥大、甲亢、性功能减退、代谢紊乱等, 随着垂体腺瘤的生长患者还会出现一系列神经及脑损害症状^[16,17]。垂体腺瘤好发于青壮年, 会对个体的生长、发育以及劳动能力产生明显影响, 部分患者还会因症状明显进而影响其社会活动、心理功能等, 降低患者的生存质量, 因而临床上建议及早实施干预^[18,19]。

临床研究发现, 垂体腺瘤多数为单个、瘤体可大可小, 一般临床上将直径小于 10 mm 的垂体腺瘤称为微小腺瘤, 将大于 10 mm 的垂体腺瘤称为大腺瘤, 垂体腺瘤多表面光滑且有完整包膜, 偶尔会出现侵蚀蝶骨长入鼻咽部的情况^[20,21]。当前临床上对垂体腺瘤的治疗措施多依赖手术治疗, 主要为经额开颅肿瘤切除术或经口鼻蝶入路显微切除, 无论何种治疗手段, 均会对患者造成一定的创伤^[22,23]。随着近些年分子生物学的进展, 基因干预成为垂体腺瘤治疗新的研究方向, 多项研究显示, 许多药物都是通过抑制肿瘤细胞的增殖以及诱导细胞凋亡从而发挥抗肿瘤作用的^[24]。MicroRNA-376b-3p 属于 Mir-376 家族的一员, Mir-376 家族共有 3 个成员, 即 miR-376a (-3p 与 -5p)、miR-376b (-3p 与 -5p) 和 miR-376c (-3p 与 -5p), 有调研发现, Mir-376 在诸如细胞自噬、红细胞分化等多种进程中发挥重要作用, 同时也有多项研究指出, miR-367 在诸如子宫内膜癌、肝癌等多类肿瘤中呈现异常表达态, 提示该 miRNA 可以作为评估肿瘤发生发展, 以及患者预后的重要指标来应用^[25,26]。

本研究结果显示相比于应用 MicroRNA-376b-3p mimics 干预的对照组细胞, 选择慢病毒 lenti-sh MicroRNA-376b-3p 干预的药物组细胞增殖明显下降, 而细胞凋亡率显著升高, 与沈云龙^[27]等学者的研究有相似之处, 该学者观察慢病毒介导 shRNA 沉默 PTTG 基因表达对人生长激素型垂体腺瘤细胞生长的影响, 结果显示实验组细胞转染 PTTG-shRNA 慢病毒载体后, PTTG mRNA 和蛋白表达显著下降, 细胞生长显著变慢, G0/G1 期细胞比例显著增高, 凋亡率明显增加。本研究结果提示慢病毒 lenti-sh 介导 MicroRNA-376b-3p 的干预明显抑制了细胞的增殖, 加速了细胞的凋亡进程。一项针对人乳腺癌 MCF-7 细胞的研究结果显示, 对人乳腺癌 MCF-7 细胞应用 miR-367 转染, 可以有效促进 MCF-7 细胞增殖、侵袭和迁徙, 其机制分析与 miR-367 能够抑制 KLF-4 的表达有关^[28,29]。细胞的增殖和凋亡是维持自身正常发育成长的重要途径, 当前研究发现的细胞凋亡通路主要可分为内质网途径、内源性线粒体途径以及外源性死亡配体途径等, 其中线粒体途径主要通过调控凋亡信号通路上游的 Bcl-2 家族蛋白表达来控制细胞色素 C 的释放以及线粒体膜电位的改变, 最终激活下游的 Caspase 蛋白酶家族, 产生级联反应, 最终影响细胞凋亡进程^[30,31]。经 MicroRNA-376b-3p 的干预后, 细胞的凋亡率出现了明显的升高, 提示慢病毒介导 MicroRNA-376b-3p 有加快细胞凋亡的作用。而进一步通过对对照组和药物组细胞表达蛋白的分析对比发现, 药物组细胞中 HMGA2、Bcl-2 以及 Caspase-3 蛋白表达量明显要低于对照组细胞, 这与上文中的论据相印证。一项针对垂体瘤开展的体外培养试验结果显示, 相比于正常的垂体细

胞, HMGA2 在垂体瘤细胞中呈现异常的高表达态, 同时与临床实践结合可以发现 HAGM2 表达越高, 往往患者预后越差。回到文章中, 文中通转染干预, 药物组细胞 HMGA2 表达出现了明显的降低, 再结合对干预细胞凋亡率的观察, 这进一步印证了 HMGA2 在垂体腺瘤细胞中的表达意义。

综上所述, 慢性病毒介导 MicroRNA-376b-3p 能够明显抑制垂体腺瘤细胞增殖, 诱导其凋亡, 分析其作用机制可能与 MicroRNA-376b-3p 能够靶向下调 HMGA2 表达、上调 Bax 蛋白表达, 以及调控 Survivin 蛋白表达有关。

参考文献(References)

- [1] L Lv, S Yin, P Zhou. Clinical and pathological characteristics predicted the postoperative recurrence and progression of pituitary adenoma: a retrospective study with 10 years follow-up [J]. World Neurosurgery, 2018, 118: e428-e435
- [2] Li C, Zhu H, Zong X, et al. History, Current Situation, and Future Development of Endoscopic Neurosurgery in China [J]. World Neurosurgery, 2018, 110: 270-275
- [3] Hong Y, Fang Y, Wu Q, et al. Ganglioglioma of the adenohypophysis mimicking pituitary adenoma[J]. Medicine, 2018, 97(30): 1-6
- [4] Michael K, Bowers CA, Jonathan S, et al. Evaluation of Complications and Costs During Overlapping Transsphenoidal Surgery in the Treatment of Pituitary Adenoma[J]. Neurosurgery, 2019, 84(5): 1104-1111
- [5] Pala A, Awad F, Braun M, et al. Value of whole-body low-dose computed tomography in patients with ventriculoperitoneal shunts: a retrospective study[J]. J Neurosurgery, 2018, 129(6): 1598-1603
- [6] Jian LS, Rui WZ, Lei C, et al. Pituitary Tumor Suppression by Combination of Cabergoline and Chloroquine [J]. J Clinical Endocrinology Metabolism, 2017, 102(10): 3692-3703
- [7] Bengtsson D, Joost P, Aravidis C, et al. Corticotroph pituitary carcinoma in a patient with Lynch syndrome (LS) and pituitary tumors in a nationwide LS cohort [J]. J Clinical Endocrinology Metabolism, 2017, 102(11): 3928-3932
- [8] Elshazly K, Kshetry VR, Farrell CJ, et al. Clinical Outcomes After Endoscopic Endonasal Resection of Giant Pituitary Adenomas [J]. World Neurosurgery, 2018, 114: e447-e456
- [9] DW Wang, YQ Wang, HS Shu. MiR-16 inhibits pituitary adenoma cell proliferation via the suppression of ERK/MAPK signal pathway[J]. European Review Medical Pharmacological Sciences, 2018, 22 (5): e1241
- [10] PY Chen, HJ Tien, SF Chen. Response of Myeloid Leukemia Cells to Luteolin is Modulated by Differentially Expressed Pituitary Tumor-Transforming Gene 1 (PTTG1) Oncoprotein [J]. International J Molecular Sciences, 2018, 19(4): 1-9
- [11] Huang S, Liu Q, Liao Q, et al. IL-6/STAT3 promotes prostate cancer resistance to androgen deprivation therapy via regulating PTTG1 expression[J]. Cancer Science, 2018, 109(3): 678-687
- [12] Lu T, Yu C, Ni H, et al. Expression of the long non-coding RNA H19 and MALAT-1 in growth hormone-secreting pituitary adenomas and its relationship to tumor behavior[J]. Internat J Developmental Neuroscience, 2018, 67: 46-50
- [13] Ji-Hu Y, Guo-Dong H, Tao J, et al. Endoscopic endonasal surgery treatment strategies for invasive pituitary adenoma: analysis of four approaches[J]. World Neurosurgery, 2018, 115: 5-13
- [14] Ilda, Patrícia, Ribeiro, et al. Genomic and epigenetic signatures associated with survival rate in oral squamous cell carcinoma patients [J]. J Cancer, 2018, 9(11): 1885-1895
- [15] Tamada S, Iguchi T, Yasuda S, et al. The difference in the survival rate of patients with metastatic renal cell carcinoma in the intermediate-risk group of the Memorial Sloan Kettering Cancer Center criteria [J]. Oncotarget, 2018, 9(45): 27752-27759
- [16] Aleksandra, Radojicic, Vlasta. Predictive role of presenting symptoms and clinical findings in idiopathic intracranial hypertension[J]. J Neurological Sciences, 2019, 399(15): 89-93
- [17] Andreas F, Jiabao H, Laura M, et al. Intracranial compliance is associated with symptoms of orthostatic intolerance in chronic fatigue syndrome[J]. Plos One, 2018, 13(7): e0200068
- [18] Caimari F, Laura Cristina Hernández-Ramírez, Dang MN, et al. Risk category system to identify pituitary adenoma patients with AIP mutations[J]. J Medical Genetics, 2018, 55(4): e104957
- [19] Akbari H, Malek M, Ghorbani M, et al. Clinical outcomes of endoscopic versus microscopic trans-sphenoidal surgery for large pituitary adenoma[J]. British J Neurosurgery, 2018, 32(2): 206-209
- [20] Richard SA, Zheng S, Lei C, et al. Refractory Transposing Hyperthyroid Disorder Inducing Tsh-secreting Pituitary Adenoma: A Case Report and Literature Review [J]. Advances Bioscience Clinical Medicine, 2019, 7(2): 64-68
- [21] Yan, Cai, Zhou, et al. Comparison of vancomycin penetration into cerebrospinal fluid in postoperative intracranial infection and community-acquired meningitis patients [J]. J Clinical Pharmacy Therapeutics, 2019, 44(2): 216-219
- [22] Michael K, Bowers CA, Jonathan S, et al. Evaluation of Complications and Costs During Overlapping Transsphenoidal Surgery in the Treatment of Pituitary Adenoma [J]. Neurosurgery, 2019, 84 (5): 1104-1111
- [23] Chhabra R, Singh A, Virk RS. Prospective Comparative Study of Endoscopic versus Microscopic Transsphenoidal Surgery for Nonfunctional Pituitary Adenoma [J]. J Neurological Surgery Part B Skull Base, 2019, 80(S01): 22-28
- [24] 武晓瑛, 汤敏, 缪星宇. 神经内镜经蝶手术三维可视化模型的构建及术前规划作用的研究[J]. 川北医学院学报, 2015, 4: 72-74+89
- [25] Guo Z, Liu C, Hou H, et al. Preoperative Computed Tomography (CT) Evaluation of Anatomical Abnormalities in Endonasal Transsphenoidal Approach in Pituitary Adenoma[J]. Medical Science Monitor International Medical J Experimental Clinical Research, 2018, 24: 1268-1275
- [26] Zihao, Wang, Xiaopeng. Delayed Remission of Growth Hormone-Secreting Pituitary Adenoma After Transsphenoidal Adenectomy [J]. World Neurosurgery, 2019, 122: e1137-e1145
- [27] 沈云龙, 崔玉婷, 朱剑峰, 等. 慢病毒介导的 shRNA 沉默 PTTG 基因表达对人生长激素型垂体腺瘤细胞生长的影响[J]. 中国微侵袭神经外科杂志, 2012, 17(8): 376-378
- [28] Mahmoud M, Moussa AA, Abokresha AE, et al. Postoperative Use of Dopamine Agonist in Controlling the Residual Mass in Non Functioning Pituitary Adenoma[J]. Open Journal of Modern Neurosurgery, 2020, 10(2): 267-274

- [13] 刘同帅. 脑源性神经营养因子介导的突触形态改变在 POCD 中的作用[D]. 山东, 青岛大学, 2018
- [14] 邓炎尧, 侯德仁, 田密, 等. AD 模型小鼠海马和小脑 A β 的沉积与相关 miRNAs 表达的变化 [J]. 南方医科大学学报, 2014, 34(03): 323-328
- [15] 王冬婷, 杨彪. 老年患者术后认知功能障碍发生率及相关因素的多中心分析[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2019, 7(21): 59
- [16] 刘克猛, 陈志强, 李大喜, 等. 不同年龄髋关节置换术患者术后谵妄与认知功能障碍发生情况及相关性研究 [J]. 临床医学工程, 2017, 24(07): 973-974
- [17] Lee BH, Chan JT, Kraeva E, et al. Isoflurane exposure in newborn rats induces long-term cognitive dysfunction in males but not females [J]. Neuropharmacology, 2014, 83: 9-17
- [18] Mason SE, Noel-Storr A, Ritchie CW. The Impact of General and Regional Anesthesia on the Incidence of Post-Operative Cognitive Dysfunction and Post-Operative Delirium: A Systematic Review with Meta-Analysis[J]. Journal of Alzheimers Disease, 2010, 22 Suppl 3(3): 67-79
- [19] 陈万里, 曲宁. 不同麻醉方式以及麻醉药物对 POCD 的影响及新进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(98): 110-111+114
- [20] Zhang B, Tian M, Zhen Y, et al. The Effects of Isoflurane and Desflurane on Cognitive Function in Humans [J]. Anesthesia & Analgesia, 2010, 114(2): 410-415
- [21] Belrose Jillian C, Noppens Ruediger R. Anesthesiology and cognitive impairment: a narrative review of current clinical literature [J]. BMC Anesthesiol, 2019, 19(1): 1-12
- [22] Hong-Qiang H, Mang-Qiao S, Fen X, et al. Sirt1 mediates improvement of isoflurane-induced memory impairment following hyperbaric oxygen preconditioning in middle-aged mice[J]. Physiol Behav, 2018, 195: 1-8
- [23] 张贵星, 王胜, 殷姜文, 等. 异氟醚后处理对局灶性脑缺血 - 再灌注大鼠海马神经损伤的影响 [J]. 临床麻醉学杂志, 2019, 35(01): 66-71
- [24] 滕培兰, 贾敏, 李斌, 等. 海马 RhoA-ROCK2 通路在老年小鼠术后认知功能障碍中的作用 [J]. 临床麻醉学杂志, 2018, 34(06): 574-578
- [25] 王晨, 张宏, 沈浩. 麻醉药导致术后认知功能障碍的海马内机制研究进展[J]. 中国当代医药, 2018, 25(13): 20-23
- [26] Michan S, Li Y, Chou MM-H, et al. SIRT1 Is Essential for Normal Cognitive Function and Synaptic Plasticity [J]. Journal of Neuroscience the Official Journal of the Society for Neuroscience, 2010, 30(29): 9695-9707
- [27] Corpas R, Revilla S, Ursulet S, et al. SIRT1 Overexpression in Mouse Hippocampus Induces Cognitive Enhancement Through Homeostatic and Neurotrophic Mechanisms [J]. Mol Neurobiol, 2016, 54(7): 5604-5619
- [28] Wu J, Zhang M, Li H, et al. BDNF pathway is involved in the protective effects of SS-31 on isoflurane-induced cognitive deficits in aging mice[J]. Behav Brain Res, 2016, 305: 115-121
- [29] 孙虎, 陈晓芳, 王涛, 等. 异氟醚吸入麻醉对大鼠认知功能及海马组织中 BDNF、MMP-9、炎症因子表达的影响[J]. 山东医药, 2019, 59(26): 38-41
- [30] 陈怡霏, 段晓霞, 张官鹏, 等. 体外循环术 POCD 患者血清 GDNF、S100 β 和 A β 含量检测对病情评估的价值 [J]. 临床和实验医学杂志, 2017, 16(01): 47-49
- [31] 闫光. 血管性痴呆模型大鼠海马中 GAP-43、GDNF 表达与学习记忆关系的研究[D]. 河南, 郑州大学, 2014

(上接第 4228 页)

- [29] Lin L, Jiang QP, Lin D. Expression of phosphoglycerate kinase 1 in endometrial carcinoma and its association with patients' outcome[J]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2018, 38(4): 471-476
- [30] Aggelis, Stavropoulos, Michail, et al. Expression of p53 and PTEN in human primary endometrial carcinomas: Clinicopathological and immunohistochemical analysis and study of their concomitant expression[J]. Oncology letters, 2019, 17(5): 4575-4589
- [31] Yanping L, Han S, Hongju M, et al. Expression of tumor suppressor programmed cell death 4 in endometrioid endometrial carcinomas and clinicopathological significance [J]. Oncology Letters, 2018, 15(6): 9369-9376