

MicroRNA-141 在上皮性卵巢癌患者组织和血清中的表达
及临床意义的探讨

吕 腾 姚 勤 戴淑真[△] 王 丽 李 燕

(青岛大学医学院附属医院妇科 山东 青岛 266003)

摘要 目的 探讨微小 RNA-141 (miR-141) 在卵巢癌患者组织和血清中的表达情况并初步探讨其作为肿瘤标记物早期诊断上皮性卵巢癌的可行性。方法 采用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应 (real-time RT-PCR) 检测 16 例上皮性卵巢癌患者和 4 例正常人卵巢组织及血清标本中 miR-141 的表达 检测 4 例良性卵巢肿瘤血清中 miR-141 的表达。结果 miR-141 在卵巢癌患者组织中相对表达量分别为 (72.846±76.671) 显著高于正常人 (2.869±3.201) ($P<0.05$) ;miR-141 在卵巢癌患者血清中相对表达量 (31.581±52.885) 显著高于良性卵巢肿瘤患者 (0.668±1.196) 和正常人 (1.690±1.697) ($P<0.05$) ,后两组间表达无差异 ($P>0.05$) ;miR-141 表达随卵巢癌临床分期的进展呈上升趋势 ($P<0.01$) ,在无淋巴结转移组明显高于有淋巴结转移组 ($P<0.05$) ,与组织分级和 CA125 的升高无关 ($P>0.05$) 。在组织中 miR-141 表达水平与上皮性卵巢癌临床病理特征均未见明显差异 ($P>0.05$) 。结论 miR-141 可能在上皮性卵巢癌的发生发展中发挥癌基因的作用 ;miR-141 用于检测上皮性卵巢癌敏感性和特异度较高,有望成为上皮性卵巢癌早期诊断的新指标。

关键词 微小 RNA 微小 RNA-141 肿瘤 ;上皮性卵巢癌 实时定量 RT-PCR

中图分类号 R737.31 **文献标识码** A **文章编号** :1673-6273 (2011) 13-2511-05

Expression of MicroRNA-141 in Tissue and Serum of Patients with Ovarian Epithelial Carcinoma and Its Clinical Significance

LV Teng, YAO Qin, DAI Shu-zhen[△], WANG Li, LI Yan

(Department of Gynecology, Qingdao University Medical College Affiliated Hospital Qingdao Shandong 266003.China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of microRNA-141 (miR-141) in epithelial ovarian cancer samples and to investigate the possibility of serum miR-141 used as biomarker for epithelial ovarian cancer. **Methods:** The expression of miR-141 in tissues and serum from 16 cases of epithelial ovarian cancer and 4 cases of normal persons and in serum from 4 cases of benign epithelial ovarian tumor was detected by real-time RT-PCR. **Results:** The expression of miR-141 in epithelial ovarian cancer tissues was significantly higher than those in normal persons ($P<0.05$). The expression of miR-141 in epithelial ovarian cancer serum was significantly higher than those in benign epithelial ovarian tumor and normal persons ($P<0.05$), but there was no difference between the latter two groups. The expression of miR-141 increased with the progression of the clinical stages ($P<0.01$),but it had not correlation with histological grading and the increasing of CA125 ($P>0.05$). There was no difference for miR-141 expression with clinicpathologic features in tissues of patient of epithelial ovarian cancer ($P>0.05$). **Conclusion:** MiR-141 might play a role as an oncogene in the occurrence and development of ovarian epithelial carcinoma. MiR-141 has higher sensibility and specificity, and it is expected to become a new target of early diagnosis of ovarian cancer .

Key words: MicroRNAs; MicroRNA-141; Carcinoma; Epithelial ovarian cancer; Real time RT-PCR

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

Article ID:1673-6273 (2011) 13-2511-05

前言

卵巢癌是一种隐匿性恶性肿瘤,仅有 20%诊断时为 I 期^[1]。卵巢癌预后较差原因是多方面的,包括缺乏早期诊断方法以及症状不明显。虽然肿瘤标记物的检测使其诊断水平大为提高,但其应用仍然受到很多限制,尤其对于早期诊断。因此亟需寻找一种新型的标记物用于肿瘤的早期诊断。MicroRNAs (miR-

NAs) 是近年来研究发现的一类长度约 19-25 个核苷酸的非编码小分子 RNA,是非编码小 RNA(non-coding small RNA)家族中迄今研究最多的成员^[2]。目前认为 miRNA 能调控多种病理生理过程,包括细胞周期、凋亡、分化、发育和新陈代谢,大量研究表明,miRNA 表达异常在肿瘤发生发展中起着调控的枢纽作用^[3]。最近研究表明肿瘤患者血清中含有大量稳定的 miRN-As,miRNAs 在肿瘤中的表达异常预示着它有可能成为一类新型的肿瘤标记物^[4]。miR-141 属于 miRNAs 进化保守家族的一员,是一种上皮相关的 miRNA 表达于几种人类常见的恶性肿瘤,如乳腺癌、鼻咽癌^[5]。目前,尚未见上皮性卵巢癌组织和血清标本中同时检测的报道,并探讨其与卵巢癌临床病理特征之间的关系。本研究采用 real-time RT-PCR 方法检测 miR-141 在上

作者简介:吕腾(1985-)男,硕士,医师,妇科肿瘤,
电话:13386483195,E-mail:13386483195@189.cn
[△]通讯作者:戴淑真(1951-)女,教授,博导,妇科肿瘤
电话:13506399890 E-mail:qddaishuzhen@163.com
(收稿日期 2011-01-06 接受日期 2011-01-30)

皮性卵巢癌患者与正常人血清及卵巢组织中的表达量是否存在差异,分析 miR-141 和卵巢癌临床病理特征的关系,并探讨其作为肿瘤标记物早期诊断卵巢癌以及卵巢癌预后评估中的意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料

16 例血清和组织标本取自 2009 年 9 月至 2010 年 3 月,青岛大学医学院附属医院妇科上皮性卵巢癌患者行手术或化学治疗前,标本采集征得病人及家属同意。分期参照国际妇产科联盟 (FIGO) 的手术 - 病理分期标准。I 期 3 例,II 期 3 例,III 期 10 例。G1 级 1 例,G2 级 3 例,G3 级 12 例。其中粘液性腺癌 2 例,浆液性腺癌 13 例,透明细胞癌 1 例。良性卵巢肿瘤病人血清 4 例、正常人组织血清标本 4 例作为对照。血液离心取血清和组织标本离体后 10min 内置于液氮迅速冻存于 -70℃超低温冰箱。

1.2 方法

1.2.1 实验试剂 Trizol 试剂购自 Invitrogen 公司,miScript RT Kit,miScript SYBR Green PCR Kit,miScript Primer Assay 均购自 QIAGEN。

1.2.2 总 RNA 提取 取冰冻保存的血清 500μl,加入 Trizol500μl;取卵巢组织 50mg,加入 Trizol1000μl,按照 Trizol 试剂说明书

提取总 RNA,DEPC 处理过的蒸馏水溶解。采用 BECKMAN COULTER 公司 DU800 核酸蛋白分析仪检测 RNA 溶液 D₂₆₀/D₂₈₀ 光密度 (D) 值,计算 RNA 浓度和纯度,1.8<D₂₆₀/D₂₈₀<2.3 方可用于进一步检测。

1.2.3 MiR-141 表达分析 RT-PCR 方法是目前检测基因表达最灵敏、可靠的方法,但是 MicroRNA 分子太小,不能采用常规的 RT-PCR 检测,需要特殊的设计的茎环 RT 引物。本试验所用方法:首先在 miRNA 分子末端加 poly(A)尾,再用 5'端带有延伸序列的Olig-dT 引物进行反转录,得到约 80nt 的 cDN-A,然后用特异引物进行 SYBRGreen 实时定量 PCR 扩增。mi-RNA RT 反应体系见表 1。将上述逆转录反应体系混匀置冰上。37℃孵育 60min:poly(A)加尾及逆转录反应。95℃孵育 5min 灭活逆转录酶后置冰上,或 -20℃冰箱贮存备用。miRNA q-PCR 反应体系见表 2。q-PCR 反应条件:预变性 95℃ 15min,变性 94℃ 15sec,退火 55℃ 30sec,延伸 + 采集荧光信号 70℃ 30sec,血清 50 循环,组织 40 循环。Real time 定量 PCR 使用 Rotor-Gene 3000 仪器进行。记录每个反应管中的荧光信号到达所设定的域值时所经历的循环数即 Ct 值,以 RNU6B 作为内参照,采用定量 PCR 中的相对定量法进行分析,采以 2^{-ΔΔct} 表示卵巢癌患者血清中 miR-141 表达量相对于对照组血清的变化倍数。其中 ΔΔct=(Ct-CtU6) 癌 - (Ct-CtU6) 正常。

表 1 MiRNA RT 反应体系
Table1 Reverse-transcription reaction components

Component	Volume/reaction
miScript RT buffur,5×	4 μl
miScript RT Mix	1μl
Template RNA	≤1 μg
Raze-free water	up to 20μl
Total volume	20μl

表 2 MiRNA q-PCR 反应体系
Table2 q-PCR reaction components

Component	Volume/reaction
2*SYBR Green PCR Master Mix	4 μl
10* miScript Universal Primer	2μl
10*miScript Primer Assay	2μl
cDNA	2μl
RNase-free water	up to 20μl
Total volume	20μl

1.2.4 统计学处理 miR-141 的表达数据以均数±标准差表示。采用 SPSS 13.0 统计软件的 t 检验进行统计处理,取 P<0.05 为假设检验有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 卵巢癌患者及对照组血清中 miR-141 表达水平 Real-time

RT-PCR 的检测

本试验溶解曲线 (图 1) 变化率呈单峰,说明无非特异性荧光产生,定量准确。扩增曲线 (图 2) 可见卵巢癌血清中 miR - 141 的 Ct 值明显低于正常人血清,说明其表达高于正常人。卵巢癌患者组织和血清 miR-141 相对表达量分别为 72.846±76.671 和 31.581±52.88,明显高于正常人 (2.869±3.201 和

1.690±1.697) 组织和血清,差异有统计学意义(P<0.05) 同时高于良性肿瘤患者血清 miR-141 的表达(0.668±1.196) 良性肿瘤患者和正常人血清中 miR-141 的表达无明显差异 (P>0.05)。(表 3,表 4)

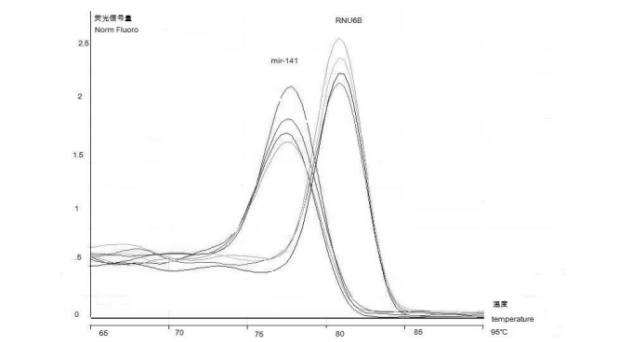


图 1 上皮性卵巢癌患者血清标本中内参 RNU6B 和 miR- 141 real-time PCR 溶解曲线

Fig.1 Dissociation curve of real-time PCR for RNU6B and miR-141 in serum of epithelial ovarian cancer

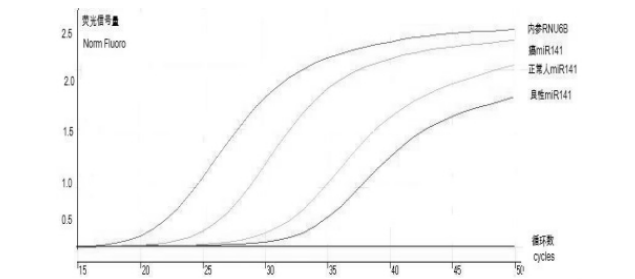


图 2 Real-time PCR 扩增曲线分析 miR-141 和内参 RNU6B 在不同血清标本中的表达

Fig.2 Expression of RNU6B and miR - 141in different serum by real-time PCR amplification curve

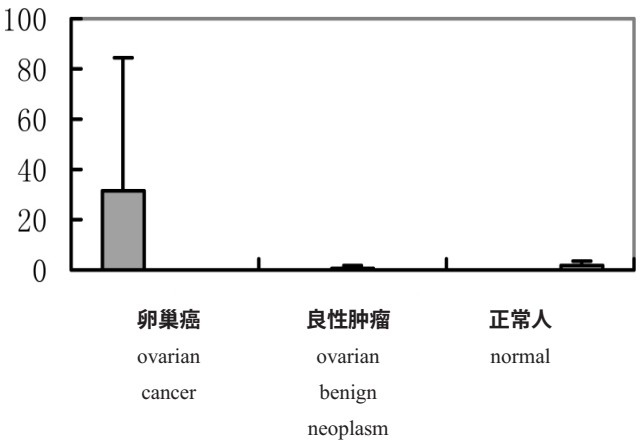


图 3 miR-141 在不同血清标本中的表达
Fig.3 Expression of miR - 141in different serum samples

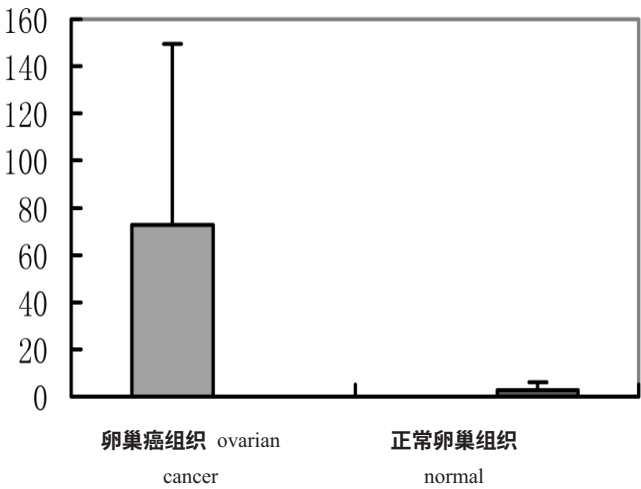


图 4 miR-141 在不同组织标本中的表达
Fig.4 Expression of miR - 141in different tissues samples

表 3 不同血清标本中 miR -141 的表达情况
Table 3 Expression of miR -141 in different serum (means± s)

Group	△ct	△△ct	2 ^{-△△ct}	P 值
Normal persons (n=4)	14.445± 1.821	0.001± 1.821	1.690± 1.697	
Ovarian benign neoplasm (n=4)	15.725± 6.259	1.280± 6.259	0.668± 1.196	P<0.05
Ovarian epithelial carcinoma (n=16)	11.024± 3.929	-3.421± 3.929	31.581± 52.885	P<0.05

表 4 不同组织标本中 miR -141 的表达情况
Table 4 Expression of miR -141 in different tissues (means± s)

Group	△ct	△△ct	2 ^{-△△ct}	P 值
Normal persons serum (n=4)	21.183± 3.381	0.003± 3.381	2.869± 3.201	
Ovarian epithelial carcinoma (n=16)	16.020± 2.805	-5.161± 2.805	72.846± 76.671	P<0.05

2.2 卵巢癌血清和组织中 miR-141 表达与多种临床病理特征的关系

由表 5 可见,随着卵巢癌临床分期的进展,血清中 miR-141 表达水平逐渐增高。其中Ⅲ期 miR-141 的相对表达量为 44.752±63.578,Ⅰ期、Ⅱ期为 9.706±14.828,两者比较具有统计学意义 (P<0.01) 在低分化癌组织中相对表达量为 37.832±

59.742,中高分化癌组织为 12.942±17.945,两者统计学无明显差异 (P>0.05)。在粘液性腺癌,浆液性腺癌及透明细胞癌中 miR-21 表达水平无明显差异 (P>0.05)。有淋巴结转移的患者中 miR-141 表达量为显著低于无淋巴结转移的患者 (P<0.05)。miR-141 表达与 CA125 的高低无关 (P>0.05)。但表 6 可见,在组织中 miR-141 表达水平与卵巢癌临床分期,分级,分类,淋巴

结转移及 CA125 的高低均未见明显差异。

表 5 卵巢癌血清中 miR-141 表达和临床病理因素的相关性

Table 5 The correlation of miR-141 overexpression with clinicpathologicfeatures in patients'serum of ovarian cancer

Clinicopathological features	n	miR-141 相对表达量 (2 ^{-△△△})	P
Clinical stage			
I, II	6	9.706± 14.828	
III	10	44.752± 63.578	P<0.01
Histological grade			
G1 G2	4	12.942± 17.945	
G3	12	37.832± 59.742	P>0.05
Histological classification			
Mucus adenocarcinoma	2	9.540± 2.065	
Serous adenocarcinoma	13	29.898± 55.272	P>0.05
Clear cell carcinoma	1		
Lymph node metastasis			
YES	4	9.668± 8.059	
NO	12	38.924± 59.789	P>0.05
CA125			
≤200U/ml	3	19.327± 17.014	
>200U/ml	13	34.444± 58.415	P>0.05

表 6 卵巢癌组织中 miR-141 表达和临床病理因素的相关性

Table 6 The correlation of miR-141 expression with clinicpathologicfeatures in patients'tissues of ovarian

Clinicopathological features	n	miR-141 相对表达量 (2 ^{-△△△})	P
Clinical stage			
I, II	6	89.873± 53.149	
III	10	62.630± 88.988	P>0.05
Histological grade			
G1 G2	4	102.54± 63.551	
G3	12	62.949± 80.543	P>0.05
Histological classification			
Mucus adenocarcinoma	2	120.46± 98.373	
Serous adenocarcinoma	13	71.063± 75.682	P>0.05
Clear cell carcinoma	1		
Lymph node metastasis			
YES	4	66.060± 76.724	
NO	12	75.108± 79.927	P>0.05
CA125			
≤200U/ml	3	115.44± 70.101	
>200U/ml	13	63.016± 77.271	P>0.05

3 讨论

卵巢癌是妇科肿瘤中致死率最高的恶性肿瘤,70%诊断时已为晚期病例,虽然经过系统的手术和化学治疗,其5年生存率仍不超过45%,故一直被认为是一个“沉默杀手”。血清肿瘤标记物的探索是肿瘤研究中发展最迅速的领域^[6]。虽然已被广泛应用于肿瘤早期检测中,但是仍然受到很大限制^[7]。现在几乎所有的常规使用的血清标记物是蛋白质,并且使用传统方法检测工作强度较大。卵巢癌常用的肿瘤标记物是糖链抗原,但在卵巢癌早期诊断及复发检测等方面其特异性和敏感性仍不理想^[8,9]。寻找新的特异性和敏感性均较高的肿瘤标记物,或者多种诊断方法的结合,会有较高的临床意义。

卵巢癌的发生、发展是一个多基因改变的过程,多种癌基因和抑癌基因的表达失常或失衡,导致细胞失控增殖,在肿瘤发生、发展和转归上起关键作用。以往的研究大都集中在编码蛋白的癌基因或抑癌基因上,而近年来研究发现的MicroRNAs不编码蛋白质,但却能高效的调控癌基因或抑癌基因的表达而在肿瘤的发生发展中起着调控的枢纽作用。miRNAs是一类在动植物中广泛存在、高度保守的小分子非编码RNA。Calin GA等发现约有50%的miRNAs基因位于人类染色体与肿瘤相关的区域内^[10],提示miRNA基因的表达可能与肿瘤发生相关,甚至参与肿瘤的浸润和转移。因此,研究肿瘤患者与正常人血清中miRNA的表达差异将对于恶性卵巢癌早期诊断、生物学行为评估、随访监测等具有重要意义。

恶性肿瘤病人中miRNAs的表达常表现出组织特异性^[11]。miR-141是一种具有上皮组织细胞特异性的微小RNA,在上皮性肿瘤细胞中该微小RNA的表达水平明显高于非上皮性肿瘤细胞^[12,13]。Hsa-miR-141(miR-141)作为miR-200家族的成员之一,在乳腺癌、结直肠癌和前列腺癌中表达增高,而在肝细胞肝癌和胰腺癌中表达降低^[13]。异常表达的miR-141参与了胆管癌细胞的增殖和肾癌细胞的侵袭活动,提示miR-141与多种肿瘤的发病机制相关。

目前有关MiR-141的研究表明,其功能类似于癌基因,BRD3,UBAP1 and PTEN是其主要的作用靶点,BRD3,UBAP1主要与鼻咽癌的发生发展密切相关而PTEN是许多肿瘤的主要抑癌基因^[14],提示miR-141可能通过改变细胞的增殖和侵袭特征参与了肿瘤的发生和发展过程。在人类肿瘤疾病中miR-141的高表达以及针对多种重要抑癌基因的调节作用表明miR-141有望成为新的肿瘤标记物。Eun JN等研究表明包括miR-21、miR-125、miR-100 and miR-145在上皮性卵巢癌中表达具有明显差异,而miR-21、miR-200、miR-141、miR-18a、miR-93 and miR-429的高表达与浆液性卵巢癌的预后较差密切相关^[15]。本研究的结果证明,miR-141在上皮性卵巢癌患者血清及卵巢组织中较之正常人均过表达。该结果与报道相吻合,说明miR-141可能通过发挥癌基因的作用参与上皮性卵巢癌的发生发展的过程。

miR-141在不同的肿瘤中生物学行为却不尽相同。研究表明在胰腺癌和肝癌中miR-141明显下调,说明miR-141的表达具有明显的组织特异性^[13]。Wienholds E等通过斑马鱼同源染色体原位杂交试验证明miR-141主要局限在各种上皮组织中^[16]。本实验结果证明miR-141在上皮性卵巢癌组织中过表达,表明

其与上皮性卵巢癌的发生发展密切相关,可能成为上皮性卵巢癌早期诊断较好的生物学指标。

MiRNAs表达上调或下调,可能在肿瘤的发生发展中通过调节某一种或几种抑癌基因或癌基因,从而影响肿瘤组织的生物学特性,增加肿瘤细胞的侵袭、转移能力,从而发生盆腹腔及淋巴结转移。本研究中,随着卵巢癌临床分期的进展,miR-141表达水平逐渐增高,miR-141表达水平与上皮性卵巢癌分化程度及组织学类型无关,有淋巴结转移的患者中miR-141表达量显著低于无淋巴结转移的患者,其影响淋巴结转移的机制尚不明确,miR-141表达与CA125的高低无关,可能与CA125的低特异性、低敏感性和低准确性有关。但由于本实验所取样本均来自近期手术的上皮性卵巢癌患者,尚不能完整评估miR-141表达水平对术后生存率的影响。所以,miR-141表达能否应用于预后评估尚需进一步研究。

有研究发现,人类血浆中的miRNAs不被内源性RNase酶分解,以非常稳定的形势存在^[17]。与正常人群对照,转移的前列腺癌患者肿瘤组织和血清中miR-141的表达水平均有显著的升高。以血清miR-141水平作为诊断标记物,可以达到60%的敏感性和100%的特异性。本研究结果显示miRNA在血清中表达稳定。miRNA稳定的存在于血清和血浆中,可以作为上皮性卵巢癌诊断新的标记物。单一血清肿瘤标记物例如AFP诊断肝癌,CA125诊断卵巢癌等虽然在临床上使用多年,但缺点在于缺乏敏感性、特异性和精确性。相比之下,一组肿瘤标记物对于肿瘤的早期诊断具有较高的敏感性、特异性和精确性。miR-141或者与其他miRNA结合可能作为一种新型的检测上皮性卵巢癌的外周血生物学标志物,尤其有助于对早期无明显临床症状的上皮性卵巢癌患者进行筛选。miR-141等miRNA与卵巢癌的发生、发展和预后的关系以及在肿瘤的诊断和治疗中的作用的研究尚属起步阶段,还有待于进一步扩大样本进行深入的研究及随访。

参考文献 (References)

- [1] Cannistra SA. Cancer of the ovary [J]. N Engl J Med, 2004,351(24): 2519-2529
- [2] Esquela KA, Slack FJ. Oncomirs microRNAs with a role in cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2006,6:259-269
- [3] Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers[J].Nat Rev Cancer, 2006,6:857-866
- [4] Chen X, Ba Y, Ma LJ, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases [J]. Cell Research, 2008,18:997-1006
- [5] Griffiths Jones. Tools for microRNA genomics [J]. Nucleic Acids Res, 36: 154-158
- [6] Duffy MJ. Clinical uses of tumor markers: a critical review [J]. Crit Rev Clin Lab Sci, 2001,38:225-262
- [7] Thomas CM, Sweep CG. Serum tumor markers: past, state of the art, and future[J]. Int J Biol Markers, 2001, 16:73-86
- [8] Duffy MJ. Role of tumor markers in patients with solid cancers: a critical review[J]. Eur J Intern Med, 2007, 18:175-184
- [9] Roulston JE. Limitations of tumour markers in screening[J]. Br J Surg, 1990,77:961-962
- [10] Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(9) 2999-3004

(下转第 2466 页)

的发生,术后一周观察动物,均生存状况良好,说明在方舱内的操作安全可靠。

微创介入方舱内临时起搏术由 1 名术者、1 名助手、一名器械护士和一名巡回护士协同完成。为了保证手术的高效快速展开,方舱内的物品器械由专人负责,手术过程中,按照物品使用的过程,和医生的医嘱,将物品分级分类,依次按顺序准备好,一线物品如 4-6 F 起搏电极导管,无菌器械包,消毒盘,0.9 %氯化钠,注射器,无菌手套等在接到医嘱后首先准备好,二线物品如起搏器,电池等在医生定位消毒时准备好。最后在操作时,同时准备好除颤器,等急救设备物品,以应付意外情况的发生^[16]。

由于动物实验,动物依从性差,在麻醉时选择静脉全身麻醉,丙泊酚静脉持续注射维持 14 ml/h,在行伤员抢救的时候,可用利多卡因局部麻醉,缩短抢救准备的时间。

总之,在方舱内进行心脏内电极导管临时起搏,安全,高效,而且可以将急救延伸到战场或者灾害一线条件下进行,对外界条件依赖性小,减少了急重症伤员在后送过程中发生意外的可能性,为抢救成功赢得了时间。必然会在伤员心肺复苏救治中发挥重要作用。

参考文献 (References)

- [1] 程相文,杨碧青,梁碧霞,等. 现代高技术局部战争中战伤特点与急救[J]. 创伤外科杂志,2002,4(增刊):61-62
CHENG Xiang-wen, YANG Bi-qing, LIANG Bi-xia, et al. Wound characteristics and first aid in the modern local war [J]. J Trauma Surg, 2002,4(suppl):61-62
- [2] Murty OP. Tyre-blast injuries [J]. J Forensic Leg Med,2009,16(4): 224-227
- [3] Wolf SJ, Beberta VS, Bonnett CJ, et al. Blast injuries[J]. Lancet, 2009, 374(9687) 405-415
- [4] Champion HR, Bellamy RF, Roberts CP, Leppaniemi A. A profile of combat injury[J]. J Trauma,2003,54(5 Suppl):S13-19
- [5] 王正国. 战伤研究进展[J] 解放军医学杂志,2004, 29(6):465-467
WANG Zheng-guo. Wound research development [J]. Med J Chin PLA, 2004,29(6):465-467
- [6] 王合金,朱平先,黄战军,等. 心脏临时起搏在急诊抢救中的应用[J]. 中国全科医学,2004,7 (19) :1417-1418
WANG He-jin, ZHU Ping-xian, HUANG Zhan-jun, et al. The Application of Temporary Cardiac Pacing in Emergency Rescue[J]. Chinese General Practice, 2004,7 (19) :1417-1418
- [7] 刘荫秋,李曙光,赖西南,等. 现代武器发展对战伤救治的新启示[J].

人民军医,1994,37 (4) :8 - 10

- LIU Yin-qiu, YANG Bi-qing, Liang Bi-xia, et al. New revelation of wound treat and cure by modern weapon development[J]. People's Military Surg, 1994, 37 (4) :8 - 10
- [8] 郑晓东. 战役卫勤支援保障系统在“5. 12”抗震救灾中的应用[J]. 解放军医院管理杂志,2008,15(6):p.508-509
ZHENG Xiao-don. Application of Campaign Medical Support System in the Rescue of Heavy Earthquake[J]. Hosp Admin J Chin PLA,2008, 15(6):508- 509
- [9] 吴恒义. 地震伤的特点和救治策略[J]. 创伤外科杂志. 2008, 10(5) : 413-415
WU Heng-yi. Characteristics and treatment strategies of the wound in earthquake[J]. J Trauma Surg. 2008, 10(5) 413-415
- [10] 陈建林, 李广怡. 心脏紧急临时起搏术在抢救心脏骤停中的应用[J]. 岭南急诊医学杂志,2004,9(4): 282-283
CHEN Jian-lin, LI Guang-yi. Application of Emergency Temporary Endocardium Pacing in Cardiac Arrest[J]. Lingnan Journal of Emergency Medicine, 2004,9(4): 282-283
- [11] 马发钰. 临时起搏器在外科手术中应用的临床研究 [J]. 四川医学, 2009,30(10):1613-1614
MA Fa-yu. Clinic application of temporary pacemaker in surgical operation[J]. Sichuan Medical Journal, 2009,30(10):1613-1614
- [12] Murka wa T, Ishihara H, Matsuki A. Marked bradycardia during anesthetic induction treated with temporary cardiac pacing in a patient with latent sinus syndrome[J]. Masui,2001,50(1):65
- [13] 范斌,樊毫军,侯世科,等. 国内外野战医院的研究进展[J]. 医疗卫生装备,2010,31(5):28-30
FAN Bin,FAN Hao-jun,HOU Shi-ke, et al.Study of Field Hospital at Home and Abroad [J]. Chinese Medical Equipment Journal, 2010,31 (5):28-30
- [14] Sketch, M.J., et al. Mobile cardiac catheterization laboratories increase use of cardiac care in women and African Americans [J]. Am Heart J, 2007. 154(3): 532-538
- [15] Peterson, L.F. and L.R. Peterson, The safety of performing diagnostic cardiac catheterizations in a mobile catheterization laboratory at primary care hospitals. Angiology, 2004. 55(5): 499-506
- [16] 马芙蓉,贺春峰,张锡,等. 床旁临时起搏器安置术中的物品摆放[J]. 介入放射学杂志,2004,12 (增刊) 226
MA Fu-rong, HE Chun-feng, ZHANG Xi,et al. Instrument placed in temporary pacing at bedside, 2004,12 (suppl) 226

(上接第 2515 页)

- [11] Lu J. microRNA expression profiles classify human cancer [J]. Nature,435:834-838
- [12] Griffiths JS, Saini HK, van Dongen S, et al. miRBase: tools for microRNA genomics[J]. Nucleic Acids Res, 2008, 36: 154-158
- [13] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(30): 10513-10518
- [14] Zhang L, Deng T, Li X, et al. MicroRNA-141 is involved in a nasop-

haryngeal carcinoma related genes network,2010,31(4):559-566

- [15] Eun JN, Heejei Y, Sang WK, et al. MicroRNA Expression Profiles in Serous Ovarian Carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2008,14(9):2690-2695
- [16] Wienholds E, Kloosterman WP, Miska E, et al. MicroRNA expression in zebrafish embryonic development[J]. Science, 309:310-311
- [17] Mithell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection[J]. proeNatlAeadSciUSA,2005,105(30):10513-10515