doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.10.025

胃癌组织中微小 RNA-375 基因甲基化及其表达与临床病理特征的关系研究

马晓颖[1] 陆 凯[2] 雷建园[3] 姬 乐[4] 史丽萍[1△]

(1 陕西省人民医院消化内二科 陕西 西安 710068;2 陕西省人民医院麻醉科 陕西 西安 710068;
3 陕西省人民医院病理科 陕西 西安 710068;4 陕西省人民医院骨科 陕西 西安 710068)

摘要 目的:研究胃癌组织中微小 RNA-375(miRNA-375)基因甲基化及其表达与临床病理特征的关系。**方法:**选择从 2015 年 9 月到 2017 年 6 月在我院接受手术治疗的胃癌患者 60 例纳入研究对象,将术中切除的癌组织标本 60 例作为观察组;另选同期在我院治疗的浅表性胃炎患者 60 例,将经内镜采集到的正常胃黏膜标本 60 例作为对照组。检测并对比两组患者 miRNA-375 基因甲基化及表达水平,分析胃癌患者的 miRNA-375 基因表达水平及甲基化与其病理特征的关系,并采用 Spearman 法分析 miRNA-375 基因表达水平、基因甲基化与其分化程度的相关性。**结果:**观察组 miRNA-375 基因的表达水平为(0.034± 0.021),明显低于对照组的(0.187± 0.104),差异有统计学意义(P<0.05)。miRNA-375 基因甲基化的阳性率为 61.67%(37/60),明显高于对照组的 20.00%(12/60),差异有统计学意义(P<0.05)。低分化胃癌患者的 miRNA-375 基因表达水平明显低于中、高分化者,差异有统计学意义(P<0.05)。低分化胃癌患者的 miRNA-375 甲基化阳性率明显高于中高分化者,差异有统计学意义(P<0.05)。根据 Spearman 相关性分析发现,胃癌患者的 miRNA-375 基因表达水平与其分化程度呈正相关(P<0.05),基因甲基化与其分化程度呈负相关(P<0.05)。**结论:**胃癌组织中的 miRNA-375 基因的表达水平明显下降,而基因甲基化的比例明显上升,且二者均与肿瘤的分化程度有关,可考虑在临床上将其作为监测靶点,从而更好地评价患者的病情及预后。

关键词:胃癌;微小 RNA-375;基因甲基化;病理特征;相关性

中图分类号:R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)10-1931-05

Expression of miRNA-375 Gene Methylation in Gastric Carcinoma and Its Relationship with Clinicopathological Features

MA Xiao-ying[1], LU Kai[2], LEI Jian-yuan[3], JI Le[4], SHI Li-ping[1△]

(1 Second Department of Gastroenterology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710068, China;
2 Department of Anesthesiology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710068, China;
3 Department of Pathology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710068, China;
4 Department of Orthopedics, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710068, China)

ABSTRACT Objective: To study the expression of miRNA-375 gene methylation in gastric carcinoma and its relationship with clinicopathological features. **Methods:** Sixty patients with gastric cancer, who received surgical treatment in Shaanxi Provincial People's Hospital during September 2015 to June 2017, were enrolled in the study; 60 cases of resected cancer tissues were taken as observation group. 60 cases of superficial gastritis treated in the hospital during the same period were selected, 60 cases of normal gastric mucosa collected by endoscopy were used as control group. The methylation and expression level of miRNA-375 gene in the two groups were detected and compared. The expression of miRNA-375 gene methylation in the patients with gastric carcinoma and its relationship with clinicopathological features was analyzed. The expression level of miRNA-375 gene and the correlation between gene methylation and its degree of differentiation were analyzed by Spearman. **Results:** The expression level of miRNA-375 gene (0.034± 0.021) of the observation group was significantly lower than that (0.187± 0.104) of the control group, the difference was statistically significant (P<0.05). The positive rate(61.67%)(37/60) of miRNA-375 gene methylation was significantly higher than that(20.00%)(12/60) of the control group, the difference was statistically significant(P<0.05). The expression level of miRNA-375 gene in the patients with poorly differentiated gastric cancer was significantly lower than that in the patients with middle and high differentiated gastric cancer, the difference was statistically significant (P<0.05). The positive rate of miRNA-375 methylation in the patients with poorly differentiated gastric cancer was significantly higher than that in the patients with middle and high differentiation, the difference was statistically significant(P<0.05). Spearman correlation analysis showed that the expression level of miRNA-375 gene was positively correlated with the degree of differentiation in gastric cancer patients (P<0.05), gene methylation was negatively correlated with its degree of differentiation (P<0.05). **Conclusion:** The expres-

作者简介:马晓颖(1984-),女,硕士,主治医师,从事肿瘤甲基化方面的研究,E-mail:masgox@163.com

△ 通讯作者:史丽萍(1966-),女,本科,主任医师,从事消化代谢方面的研究,E-mail:bgwoeg@163.com

(收稿日期:2017-07-31 接受日期:2017-08-25)

sion level of miRNA-375 gene in the gastric cancer tissue is obviously decreased, but the proportion of gene methylation is obviously increased, and the two indexes are related to the degree of tumor differentiation, which can be considered as a monitoring target in the clinic in order to better evaluate the patient's condition and prognosis.

Key words: Gastric carcinoma; Micro RNA-375; Gene methylation; Pathological features; Correlation

Chinese Library Classification(CLC): R735.2 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2018)10-1931-05

前言

胃癌为临床常见的恶性肿瘤类型之一，由于多数患者在初次确诊时已进入晚期，所以该病具有预后效果极差以及死亡率较高等特点[1]。近年来，胃癌在我国发病率不断上升，已成为威胁人们健康以及生命安全的重要杀手[2]。因此，深入研究该病发病机制，并努力提升早期临床诊断水平是提高患者生存率的关键。近期研究发现，微小 RNA 为一种非编码型单链 RNA，广泛存在于自然界动植物以及病毒体内，对细胞增殖、分化以及侵袭和凋亡等活动均有重要作用，并且在转录及翻译后的基因表达能够对生理功能调控产生影响[3-5]。相关报道表明，部分微小 RNA 在发生基因甲基化之后会出现表达异常，并与肿瘤发生发展直接相关，胃癌组织内的微小 RNA-375（Micro RNA-375，miRNA-375）基因能够直接参与胃癌发病过程，然而有关其甲基化以及表达机制目前尚不清楚，仍需要深入研究探讨[6-8]。本文通过研究胃癌组织中 miRNA-375 基因甲基化及其表达与临床病理特征的关系，旨在为临床治疗胃癌提供相应的监测靶点，现报道如下。

1 资料和方法

1.1 临床资料

选择 2015 年 9 月到 2017 年 6 月在我院接受手术治疗的胃癌患者 60 例纳入研究对象，将术中切除的癌组织标本 60 例作为观察组，纳入标准：（1）经病理组织学确诊；（2）年龄＞30 岁；（3）患者的病历检查资料均齐全，且对本次研究知情同意。排除标准：（1）其他种类的癌症患者；（2）无手术指征者。观察组患者男 41 例，女 19 例；年龄 32～79 岁，平均（57.24± 5.33）岁，≤ 60 岁 23 例，＞60 岁 37 例。癌症分化程度：中、高分化者 21 例，低分化者 39 例。淋巴结转移情况：无转移者 27 例，有转移者 33 例。TNM 分期：Ⅰ～Ⅱ期者 29 例，Ⅲ～Ⅳ期者 31 例。另选同期在我院治疗的浅表性胃炎患者 60 例，将经内镜采集到的正常胃黏膜标本 60 例作为对照组。对照组患者男 40 例，女 20 例；年龄 31～77 岁，平均（57.33± 5.29）岁，≤ 60 岁 21 例，＞60 岁 39 例。将两组的性别及年龄等临床资料实施对比后差异不显著（P＞0.05）。此次研究已经通过我院伦理委员会审批。

1.2 研究方法

1.2.1 **提取总 RNA 并制备 Cdna** 通过购自北京天根生化科技有限公司的 DNA/RNA 提取试剂盒对标本组织的总 RNA 进行提取，而后逆转录并制备 cDNA，选择购自北京全式金公司的反应体系进行操作，涉及的引物购自广州的锐博生物公司。在实施实时荧光定量的 PCR 操作时，选择 TransStart Green qPCR SuperMix 型反应体系，经 ABI7500 型 PCR 仪进行操作，结束后记录有关样本的 Ct 值和溶解、扩增曲线，再用 1%的琼脂糖凝胶进行电泳检测。

1.2.2 **检测 miRNA-375 的启动子 CpG 岛** 通过 UCSC 基因组数据库将其基因序列进行提取，同时预测基因调控区域，而后显示出基因的启动子区具有 CpG 岛，且表达受 DNA 甲基化过程的调控。通过 CpGplot 软件对调控区域的有关序列实施 CpG 岛预测，验证其确实存在。

1.2.3 **甲基化 PCR** 通过购自北京天根生化公司的 DNA/RNA 提取试剂盒对标本组织的 DNA 进行提取。DNA 样品给予亚硫酸氢盐修饰，在每 50 μL 的 DNA 体系中添加 5.5 μL 浓度为 3 mol/L 的氢氧化钠溶液，置于 37℃下水浴变性，再将液体添加 30 μL 浓度为 10 mmol/L 的对苯二醌以及 520 μL 浓度为 3.6 mol/L 的 $NaHSO_3$，放在 53℃的条件下避光水浴约 16 h。经购自北京天根生化科技有限公司的普通 DNA 纯化试剂盒实施纯化处理，再经 5.5 μL 浓度为 3mol/L 的氢氧化钠液行脱硫处理，使用无水乙醇将 DNA 沉淀出来。通过 MethPrimer 程序设计并合成出 miRNA-375 甲基化有关特异型引物的上游：5'-AGCGGCGTATAGTTTTTTTTATTC-3'，下游：5'-CGAACCTAAACGTTTTATTCGTT-3'，以及购自南京金斯瑞公司的非甲基化的特异型引物的上游：5'-TGGAGTGGTGTATAGTTTTTTTTATTT-3'，下游：5'-ACCAAACCTAAACATTTTATTCATT-3'。通过 2× Taq PCR MasterMix 型反应体系实施定性的 PCR 扩增，并用 2.5%的琼脂糖凝胶行电泳检测。

1.2.4 **结果评价** （1）经实时荧光定量法反转录 PCR：对各样本的 miRNA-375 和内参 U6 有关 Ct 值实施检测，对各组的 Δ Ct 实施 $2^{-\Delta Ct}$ 转化，得到线性关系，对比两组的差异情况。（2）甲基化：可从甲基化特异型引物中扩增到目的条带，但非甲基化的特异型引物则有或者无条带被扩增出。（3）非甲基化：可从非甲基化的特异型引物中扩增到目的条带，但甲基化特异型引物中则无条带可扩增出[4]。

1.3 观察指标

对比两组 miRNA-375 基因甲基化及表达水平，分析胃癌患者的 miRNA-375 基因表达水平及甲基化与其病理特征的关系，分析 miRNA-375 基因表达水平、基因甲基化与其分化程度的相关性。

1.4 统计学方法

数据通过 SPSS21.0 软件实施处理和分析，计数资料采用（n，%）表示，两组比较使用 x^2 检验。计量资料采用（$\bar{x}$± s）表示，两组比较使用 t 检验。相关性选择 Spearman 法进行评价，将 P<0.05 记作差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 miRNA-375 基因甲基化及表达水平的对比

观察组 miRNA-375 基因的表达水平为（0.034± 0.021），明

显低于对照组的(0.187± 0.104),差异有统计学意义(t=10.294,P=0.000)。观察组基因甲基化的阳性率为 61.67%(37/60),明显高于对照组的 20.00%(12/60),差异有统计学意义(x^2=21.558,P=0.000)。

2.2 胃癌患者的 miRNA-375 基因表达水平与其病理特征的关系分析

低分化胃癌患者的 miRNA-375 基因表达水平明显低于中高分化者,差异有统计学意义(P<0.05)。miRNA-375 基因表达水平与年龄、性别、淋巴结转移和 TNM 分期无关(P>0.05),见表 1。

表 1 胃癌患者的 miRNA-375 基因表达水平与其病理特征的关系分析($\bar{x}$± s)

Table 1 Relationship between miRNA-375 gene expression and clinicopathological features in patients with gastric cancer($\bar{x}$± s)

Clinicopathological features		n	Expression level of miRNA-375 gene	t	P
Age (years)	≤ 60	23	0.036± 0.021	0.381	0.705
	>60	37	0.032± 0.019		
Gender	Male	41	0.035± 0.023	0.965	0.338
	Female	19	0.032± 0.021		
Differentiation degree	Middle and high differentiation	21	0.038± 0.025	3.037	0.004
	Poorly differentiation	39	0.021± 0.018		
Lymphatic metastasis	No	27	0.036± 0.027	1.293	0.201
	Yes	33	0.029± 0.014		
TNM stage	Ⅰ～Ⅱ	29	0.039± 0.026	1.393	0.169
	Ⅲ～Ⅳ	31	0.031± 0.018		

2.3 胃癌患者的 miRNA-375 甲基化与其病理特征的关系分析

低分化胃癌患者的 miRNA-375 甲基化阳性率明显高于中高分化者,差异有统计学意义(P<0.05)。miRNA-375 甲基化阳性率与年龄、性别、淋巴结转移和 TNM 分期无关(P>0.05),见表 2。

表 2 胃癌患者的 miRNA-375 甲基化与其病理特征的关系分析(n,%)

Table 2 Relationship between miRNA-375 methylation and clinicopathological features in patients with gastric cancer(n, %)

Clinicopathological features		n	Positive rate of miRNA-375 methylation(n=37)	x^2	P
Age (years)	≤ 60	23	13(56.52)	0.418	0.518
	>60	37	24(64.86)		
Gender	Male	41	24(58.54)	0.537	0.464
	Female	19	13(68.42)		
Differentiation degree	Middle and high differentiation	21	9(42.86)	4.835	0.028
	Poorly differentiation	39	28(71.79)		
Lymphatic metastasis	No	27	18(66.67)	0.519	0.471
	Yes	33	19(57.58)		
TNM stage	Ⅰ～Ⅱ	29	17(58.62)	0.220	0.639
	Ⅲ～Ⅳ	31	20(64.52)		

2.4 胃癌患者的 miRNA-375 基因表达水平及甲基化与其病理特征的相关性分析

根据 Spearman 相关性分析发现,胃癌患者的 miRNA-375 基因表达水平与其分化程度呈正相关(r=0.694,P=0.000),基因甲基化与其分化程度呈负相关(r=-0.719,P=0.000)。

3 讨论

微小 RNA 可借助和靶标基因进行互补配对方式对靶标基因进行剪切或者对蛋白质翻译活动产生抑制作用,进而参与人体各项重要生理调控[9]。早期报道显示,肿瘤组织中存在微小 RNA,并且其可能与肿瘤发生直接相关[10]。微小 RNA 在肿瘤细胞自身增殖分化以及侵袭凋亡等过程中均有所参与,并且与疾病病理分期以及转移、浸润等密切相关,直接反映出患者疗效、复发及耐药等情况[11-13]。微小 RNA 异常调节会受到多种机制干扰,包括基因缺失、扩增或者突变等,研究报道显示,表观遗传学类修饰可为发病机制研究和分子靶向治疗等工作提供重要依据[14-16]。有报道指出,在大肠癌、肝癌等多类肿瘤组织内均发现微小 RNA-375 表达水平下降,并且其可作为抑癌基因对肿瘤形成进行负向调节,造成微小 RNA-375 表达下降的重要原因在于其在启动子区内发生基因甲基化[17-18]。临床研究证实胃

癌组织内微小 RNA-375 表达同样呈下降趋势，考虑可能与基因甲基化有关，而有关于其表达和患者临床病例特征之间关系，仍需深入研究[19,20]。

本文通过研究发现，观察组 miRNA-375 基因的表达水平明显低于对照组，且基因甲基化的阳性率明显高于对照组，提示胃癌患者组织中的 miRNA-375 基因的表达水平明显下降，但基因甲基化的比例明显增高。原因可能与 miRNA-375 基因的负向调节作用有关[21]。具体而言，微小 RNA-375 在多种癌组织内表达均呈下降趋势，可作为抑癌基因对肿瘤形成起到负向调节作用。基因甲基化会导致抑癌基因失活，胃癌组织内微小 RNA-375 出现基因甲基化，使得微小 RNA-375 基因表达下降[22,23]。本研究发现胃癌组织内，微小 RNA-375 因为启动子区内发生基因甲基化，其表达下降，并且其可能借助靶基因 Janus 激酶 2 以及 PDK1 和 14-3-3zeta 等完成参与肿瘤形成。其中 PDK1 是 AGC 激酶家族一员，其在胃癌组织内是微小 RNA-375 的一类基因靶蛋白。同时，本文发现，低分化胃癌患者的 miRNA-375 基因表达水平明显低于中、高分化者，且低分化胃癌患者 miRNA-375 甲基化阳性率明显高于中高分化者，进一步依照 Spearman 法分析相关性发现，患者的 miRNA-375 基因表达水平与其分化程度呈正相关，基因甲基化与其分化程度呈负相关（$P<0.05$），这提示了胃癌患者的组织分化程度与其 miRNA-375 基因表达水平及基因甲基化均存在紧密联系。笔者推测可能与 miRNA-375 基因及其甲基化参与胃癌组织分化进程有关。基因甲基化为表观遗传学类修饰关键内容，主要指通过基因甲基类转移酶的催化作用下，将基因的选择型胞嘧啶上增加甲基，尤其在启动子区 CpG 岛，使之成为 5- 甲基胞嘧啶，但基因结构顺序均不发生改变[24,25]。通常情况下，正常组织内甲基化 CpG 含量较低，但肿瘤组织内该模式会出现变化，表现为 CpG 岛基因甲基化，并参与肿瘤发生过程。据统计约半数微小 RNA 本身基因启动子区内存在 CpG 岛，并且基因甲基化可以对微小 RNA 表达情况进行直接调控[26,27]。研究证实，外源性 miRNA-375 能够对 PDK1 表达进行抑制[28]。但胃癌组织中 PDK1 蛋白表达显著上升，与 miRNA-375 基因甲基化检测阳性率呈显著正相关。因此，微小 RNA-375 基因于胃癌发病过程中起到抑癌基因效果，其基因甲基化会造成其表达降低，进而引发靶蛋白 PDK1 表达上升，致使肿瘤组织分化程度减弱，从而参与胃癌发病。这在陈飞等人[29,30]的报道中也有类似的结论可以证实。

综上所述，胃癌组织中的 miRNA-375 基因的表达水平明显下降，而基因甲基化的比例明显上升，且二者均与肿瘤的分化程度有关，可考虑在临床上将其作为监测靶点，从而更好地评价患者的病情及预后。

参 考 文 献(References)

[1] 殷骏,朱政,国凤,等.MiRNA-375 在腹腔镜胃旁路术治疗 2 型糖尿病疗效评估与预测中的作用[J].中华肥胖与代谢病电子杂志, 2016, 2(4): 213-218
Yin Jun, Zhu Zheng, Guo Feng, et al. Role of microRNA-375 in effcacy evaluation and prediction of laparoscopic gastric bypass in treating type 2 diabetes mellitus[J]. Chinese Journal of Obesity and Metabolic Disease (Electronic Edition), 2016, 2(4): 213-218

[2] 刘洋,尤振宇,苏晓辉,等.CAGE 基因 mRNA 水平表达与直肠癌关系的初步研究[J].现代生物医学进展, 2016, 16(18): 3443-3447
Liu Yang, You Zhen-yu, Su Xiao-hui, et al. A Preliminary Study on Relationship between the mRNA Expression of CAGE Gene and Rectal Cancer [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2016, 16 (18): 3443-3447

[3] Wang X, Chang X, Li J, et al. DNA methylation of microRNA-375 in impaired glucose tolerance[J]. Exp Ther Med, 2014, 8(3): 775-780

[4] Hu C, Lv L, Peng J, et al. MicroRNA-375 suppresses esophageal cancer cell growth and invasion by repressing metadherin expression[J]. Oncol Lett, 2017, 13(6): 4769-4775

[5] Wang L, Song G, Liu M, et al. MicroRNA-375 overexpression influences P19 cell proliferation, apoptosis and differentiation through the Notch signaling pathway[J]. Int J Mol Med, 2016, 37(1): 47-55

[6] Chen WJ, Gan TQ, Qin H, et al. Implication of downregulation and prospective pathway signaling of microRNA-375 in lung squamous cell carcinoma[J]. Pathol Res Pract, 2017, 213(4): 364-372

[7] Wei R, Yang Q, Han B, et al. microRNA-375 inhibits colorectal cancer cells proliferation by downregulating JAK2/STAT3 and MAP3K8/ERK signaling pathways[J]. Oncotarget, 2017, 8(10): 16633-16641

[8] Yonemori K, Seki N, Kurahara H, et al. ZFP36L2 promotes cancer cell aggressiveness and is regulated by antitumor microRNA-375 in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Cancer Sci, 2017, 108(1): 124-135

[9] Shafiee M, Aleyasin SA, Mowla SJ, et al. The Effect of MicroRNA-375 Overexpression, an Inhibitor of Helicobacter pylori-Induced Carcinogenesis, on lncRNA SOX2OT[J]. Jundishapur J Microbiol, 2016, 9(9): e23464

[10] Osako Y, Seki N, Kita Y, et al. Regulation of MMP13 by antitumor microRNA-375 markedly inhibits cancer cell migration and invasion in esophageal squamous cell carcinoma [J]. Int J Oncol, 2016, 49(6): 2255-2264

[11] Xu L, Wen T, Liu Z, et al. MicroRNA-375 suppresses human colorectal cancer metastasis by targeting Frizzled 8[J]. Oncotarget, 2016, 7(26): 40644-40656

[12] Harrandah AM, Fitzpatrick SG, Smith MH, et al. MicroRNA-375 as a biomarker for malignant transformation in oral lesions [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol, 2016, 122(6): 743-752

[13] Wu Y, Yu J, Ma Y, et al. miR-148a and miR-375 may serve as predictive biomarkers for early diagnosis of laryngeal carcinoma [J]. Oncol Lett, 2016, 12(2): 871-878

[14] Yang D, Yan R, Zhang X, et al. Deregulation of MicroRNA-375 inhibits cancer proliferation migration and chemosensitivity in pancreatic cancer through the association of HOXB3 [J]. Am J Transl Res, 2016, 8(3): 1551-1559

[15] Chen X, Li B, Luo R, et al. Analysis of the function of microRNA-375 in humans using bioinformatics [J]. Biomed Rep, 2017, 6(5): 561-566

[16] Gai Y, Zhang J, Wei C, et al. miR-375 negatively regulates the synthesis and secretion of catecholamines by targeting Sp1 in rat adrenal medulla[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2017, 312(5): C663-C672

[17] Lee SW, Park KC, Kim JG, et al. Dysregulation of MicroRNA-196b-5p and MicroRNA-375 in Gastric Cancer [J]. J Gastric Cancer, 2016, 16(4): 221-229

[18] Hao J, Lou Q, Wei Q, et al. MicroRNA-375 Is Induced in Cisplatin Nephrotoxicity to Repress Hepatocyte Nuclear Factor 1-β [J]. J Biol Chem, 2017, 292(11): 4571-4582

[19] De A, Powers B, De A, et al. Emblica officinalis extract downregulates pro-angiogenic molecules via upregulation of cellular and exosomal miR-375 in human ovarian cancer cells[J]. Oncotarget, 2016, 7 (21): 31484-31500

[20] Lassalle S, Zangari J, Popa A, et al. MicroRNA-375/SEC23A as biomarkers of the in vitro efficacy of vandetanib[J]. Oncotarget, 2016, 7(21): 30461-30478

[21] Zhou N, Qu Y, Xu C, et al. Upregulation of microRNA-375 increases the cisplatin-sensitivity of human gastric cancer cells by regulating ERBB2[J]. Exp Ther Med, 2016, 11(2): 625-630

[22] 徐明星,李曼,彭波,等.肿瘤标志物联检在胃癌早期诊断临床应用研究[J].中国实验诊断学, 2014, 18(6): 899-902
Xu Ming-xing, Li Man, Peng Bo, et al. The research on the clinical application of tumor markers combined detection in the early diagnosis of gastric cancer [J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2014, 18(6): 899-902

[23] Wang XZ, Hang YK, Liu JB, et al. Over-expression of microRNA-375 inhibits papillary thyroid carcinoma cell proliferation and induces cell apoptosis by targeting ERBB2[J]. J Pharmacol Sci, 2016, 130(2): 78-84

[24] Yang T, Zhao P, Rong Z, et al. Anti-tumor Efficiency of Lipid-coated Cisplatin Nanoparticles Co-loaded with MicroRNA-375[J]. Theranostics, 2016, 6(1): 142-154

[25] Zaharie F, Muresan MS, Petrushev B, et al. Exosome-Carried microRNA-375 Inhibits Cell Progression and Dissemination via Bcl-2 Blocking in Colon Cancer[J]. J Gastrointestin Liver Dis, 2015, 24(4): 435-443

[26] Jepsen RK, Novotny GW, Klarskov LL, et al. Intra-tumor heterogeneity of microRNA-92a, microRNA-375 and microRNA-424 in colorectal cancer[J]. Exp Mol Pathol, 2016, 100(1): 125-131

[27] Zhou N, Wu J, Wang X, et al. Low-level expression of microRNA-375 predicts poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. Tumour Biol, 2016, 37(2): 2145-2152

[28] Zhou N, Qu Y, Xu C, et al. Upregulation of microRNA-375 increases the cisplatin-sensitivity of human gastric cancer cells by regulating ERBB2[J]. Exp Ther Med, 2016, 11(2): 625-630

[29] 陈飞,刘文天.胃癌相关 microRNA 及其作用靶点的研究进展[J].国际消化病杂志, 2011, 31(1): 18-20, 27
Chen Fei, Liu Wen-tian. New advance in microRNA expression and its targets of gastric cancer [J]. International Journal of Digestive Diseases, 2011, 31(1): 18-20, 27

[30] 欧玉荣,康敏,周蕾,等.胃癌中幽门螺杆菌 L 型感染与 MIF、MMP9、VEGF 表达的关系[J].南方医科大学学报, 2014, (2): 180-187
Ou Yu-rong, Kang Min, Zhou Lei, et al. Infection with L-form of Helicobacter pylori and expressions of MIF, MMP9 and VEGF in gastric carcinoma [J]. Journal of Southern Medical University, 2014, (2): 180-187

(上接第 1947 页)

[18] Wang W, Zhou N, Wang C. Minimally invasive surgery for patients with hypertensive intracerebral hemorrhage with large hematoma volume: A retrospective study [J]. World Neurosurg, 2017, 8 (105): 348-358

[19] Su W, Gao C, Wang P, et al. Correlation of circulating T lymphocytes and intracranial hypertension in intracerebralhemorrhage [J]. World Neurosurg, 2017, 8(107): 389-395

[20] Herrera A G, Strong V E. Minimally Invasive Gastric Surgery[J]. Adv Surg, 2017, 51(1): 151-164

[21] Sang Y H, Liang Y X, Li Y, et al. A self-assembling nanomaterial reduces acute brain injury and enhances functional recovery in a rat model of intracerebral hemorrhage[J]. Nanomedicine Nanotechnology Biology & Medicine, 2015, 11(3): 611-620

[22] Cao Y, Tian M, Fang Q, et al. Joint effects of GWAS SNPs in coagulation system confer risk to hypertensive intracerebral hemorrhage[J]. Neuromolecular Med, 2017, 19(23): 395-405

[23] Liu H, Yang M, Pan L, et al. Hyperbaric oxygen intervention modulates early brain injury after experimental subarachnoid hemorrhage in rats: possible involvement of TLR4/NF-κ B-mediated signaling pathway[J]. Cellular Physiology & Biochemistry International Journal of Experimental Cellular Physiology Biochemistry & Pharmacology, 2016, 38(6): 2323-2336

[24] Hadanny A, Efrati S. Oxygen-a limiting factor for brain recovery[J]. Critical Care, 2015, 19(1): 1-2

[25] Aureli M, Mauri L, Ciampa M G, et al. GM1 ganglioside: past studies and future potential [J]. Molecular Neurobiology, 2016, 53 (3): 1824-1842

[26] Lan D B, Zou X J, Chen R. Clinical effect of hyperbaric oxygen therapy combined gangliosides on patients with hypertensive cerebral hemorrhage [J]. Neural Injury and Functional Reconstruction, 2016, 11(4): 309-311

[27] Schlunk F, Schulz E, Lauer A, et al. Warfarin pretreatment reduces cell death and MMP-9 activity in experimental intracerebral hemorrhage[J]. Translational Stroke Research, 2015, 6(2): 1-7

[28] Bu L L, Zhang Z B, Gao G Q, et al. Relationship of MMP-9 and cerebral hemorrhage [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2016, 16(4): 781-784

[29] Zhou S, Bao J, Wang Y, et al. S100β as a biomarker for differential diagnosis of intracerebral hemorrhage and ischemic stroke[J]. Neurological Research, 2016, 38(4): 327-332

[30] Wang Q, Zhao H, Zheng T, et al. Otoprotective effects of mouse nerve growth factor in DBA/2J mice with early-onset progressive hearing loss[J]. J Neurosci Res, 2017, 95(10): 1937-1950