

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.16.021

长链非编码 RNA PVT1 在肝癌组织中的表达与临床意义

陈昌娜^{1,2} 龙武林³ 汪厚志³ 肖雄³ 于红刚^{1Δ}

(1 武汉大学人民医院消化内科 湖北 武汉 430060;

2 协和江北医院消化内科 湖北 武汉 430100; 3 协和江北医院泌尿外科 湖北 武汉 430100)

摘要 目的:探讨长链非编码 RNA PVT1 (lncRNA-PVT1)在肝癌组织中的表达以及在肝癌诊治中的临床意义。**方法:**采用 qRT-PCR 法检测肝癌组织和癌旁肝组织中 lncRNA-PVT1 的表达情况,通过 χ^2 检验分析 lncRNA-PVT1 的表达水平与肝癌患者临床病理指标之间的相关性,采用 Kaplan-Meier 法绘制患者术后生存曲线,Log-rank 检验比较生存率的差异,单因素和多因素分析评估影响肝癌患者预后的独立危险因素。**结果:**肝癌组织中 lncRNA-PVT1 的表达水平显著高于癌旁肝组织 ($P<0.05$)。肝癌组织 lncRNA-PVT1 的表达水平与其 Edmondson 分级、TNM 分期、分化程度和是否发生血管转移具有显著相关性($P<0.05$),而与患者的年龄、性别、血 AFP 水平、肿瘤直径、肿瘤数目以及是否有肝炎病史无关($P>0.05$)。lncRNA-PVT1 高表达组患者的术后生存率明显低于 lncRNA-PVT1 低表达组患者,高表达水平的 lncRNA-PVT1、Edmondson 分级、TNM 分期、分化程度和是否发生血管转移均是影响肝癌患者预后的独立危险因素。**结论:**lncRNA-PVT1 在肝癌组织中呈高表达,高表达水平的 lncRNA-PVT1 与肝癌患者的临床预后不良密切相关,有望成为今后肝癌治疗的新靶点。

关键词:肝癌;长链非编码 RNA;PVT1;临床预后

中图分类号:R735.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)16-3110-05

Expression and Clinical Significance of Long Non-Coding RNA PVT1 in the Hepatocellular Carcinoma

CHEN Chang-na^{1,2}, LONG Wu-lin³, WANG Hou-zhi³, XIAO Xiong³, YU Hong-gang^{1Δ}

(1 Department of Digestive Medicine, People's Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, 430060, China;

2 Department of Digestive Medicine, Union Jiangbei Hospital, Wuhan, Hubei, 430100, China;

3 Department of Urological Surgery, Union Jiangbei Hospital, Wuhan, Hubei, 430100, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of long non-coding RNA PVT1 (lncRNA-PVT1) in the hepatocellular carcinoma and its clinical significance in the diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods:** The expression level of lncRNA-PVT1 in the hepatocellular carcinoma tissue and adjacent hepatic tissue were detected by qRT-PCR. χ^2 test was used to analyze the correlation between lncRNA-PVT1 expression level and clinicopathological parameters of HCC patients. The postoperative survival curve was drawn by Kaplan-meier method and the comparison of survival rates was performed by Log-rank test. Univariate and multivariate analysis was carried out to assess the independent risk factors affecting the prognosis of HCC patients. **Results:** The expression level of lncRNA-PVT1 in hepatocellular carcinoma tissues was significantly higher than that of the adjacent hepatic tissue ($P<0.05$). High level of expression of lncRNA-PVT1 was associated with the Edmondson grading, TNM staging, degree of differentiation and vascular metastasis, and it showed no significant correlation with the age, sex, level of serum AFP, tumor diameter, the number of tumors and the history of hepatitis. The postoperative survival rate of patients with high expression of lncRNA-PVT1 was significantly lower than that in the patients with low expression of lncRNA-PVT1. High expression level of lncRNA-PVT1, Edmondson grading, TNM staging, the degree of differentiation and vascular metastasis are independent risk factors affecting the prognosis of HCC patients. **Conclusion:** LncRNA-PVT1 is highly expressed in hepatocellular carcinoma, and high expression level of lncRNA-PVT1 is closely related to the poor clinical prognosis of HCC patients, which is expected to be a new target for the treatment of hepatocellular carcinoma in the future.

Key words: Hepatocellular carcinoma; Long non-coding RNA; PVT1; Prognosis

Chinese Library Classification (CLC): R735.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)16-3110-05

作者简介:陈昌娜(1982-),医学硕士,主治医师,主要研究方向:消化道疾病的诊疗,

E-mail: 9083965@qq.com, 电话: 18971197061

Δ 通讯作者:于红刚(1968-),医学博士,主任医师,主要研究方向:消化道疾病的诊疗,

E-mail: yuhonggang1968@163.com, 电话: 13871281899

(收稿日期:2018-12-08 接受日期:2018-12-30)

前言

原发性肝癌包括肝细胞性肝癌和胆管细胞性肝癌等,以肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)最常见,其恶性程度较高,是导致我国患者死亡的主要恶性肿瘤类型^[1,2]。HCC 的病因及确切分子机制尚不完全清楚,一般认为其发病是多因素作用结果,环境、遗传、肝炎病毒感染、肝硬化、黄曲霉素、亚硝胺类物质等都与 HCC 的发病有关。HCC 早期症状常无特异性,无明显阳性体征或仅类似肝硬化体征,因而大多数患者错过了最佳的诊疗时机。HCC 缺乏有效的诊断与治疗靶点,是目前临床上的治疗难点^[3,4]。因此,寻找一种与 HCC 早期诊断、治疗以及预后相关的生物学标志物具有重要的意义。

长链非编码 RNA (long non-coding RNAs, lncRNAs) 虽不能编码蛋白质,但可通过多种方式参与到多种疾病的病理进程中,尤其是恶性肿瘤的发生发展,已成为肿瘤学方面基础和临床研究的热点^[5,6]。大量研究显示特定的 lncRNAs 在多种肿瘤中的表达异常,可调节肿瘤细胞的癌变、增殖、凋亡、迁移以及侵袭等过程,对肿瘤的发生发展具有重要的调节作用。例如,长链非编码 RNA HAND2-AS1 在子宫内膜样癌组织中的表达显著降低,可作为抑癌基因抑制癌细胞的侵袭和迁移^[7]。另一方面,长链非编码 RNA GPR65-1 在胃癌组织中的表达显著上调,可作为促癌基因,通过调节 PTEN-AKT-slug 信号通路促进肿瘤生长^[8]。此外,研究表明多种 lncRNAs 可作为预测恶性肿瘤患者预后的独立危险因素。例如, lncRNA AB073614 在胶质瘤组织中表达明显增高,并且随着肿瘤级别的增高而增高,高表达的 lncRNA AB073614 可作为预测胶质瘤患者不良预后的独立危险因素^[9]。 lncRNA-PVT1 已被证实在多种肿瘤中发挥重要的调节作用,但目前并没有文献报道 lncRNA-PVT1 与 HCC 患者预后的关系。因此,本研究主要检测了 lncRNA-PVT1 在 HCC 组织中的表达情况,并进一步分析了其在 HCC 诊治中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2010 年 1 月至 2013 年 3 月在协和江北医院消化内科确诊并行手术切除的 HCC 患者 72 例,包括男性患者 40 例,女性 32 例;年龄 37-70 岁,平均年龄 53.7 岁;TNM 分期:I-II 期 31 例,III-IV 期 41 例;Edmondson 病理分级:I-II 级 35 例,III-IV 级 37 例。按照世界卫生组织的诊断标准,选取病理检查确诊为 HCC 的组织标本,癌旁肝组织取自相应肿瘤组织的切缘外 3 cm 的肝组织。取一定量组织作为研究标本,并迅速放入 -80℃ 液氮中储存,以备后期分离提取 RNA。所有入选患者术前均未接受过放疗、化疗、介入、射频消融术等治疗,术后定期对入选患者进行跟踪随访,截止日期为 2018 年 3 月,本研究经过协和江北医院伦理委员会批准。

1.2 lncRNA-PVT1 提取及检测

肝癌组织和癌旁肝组织标本中总 RNA 采用 Trizol 法 (Invitrogen, CA, USA) 提取, RNA 反转录酶合成 cDNA, 然后以其为模板, GAPDH 为内参, 应用 qRT-PCR 法分别检测肝癌组织和癌旁肝组织标本中 lncRNA-PVT1 的表达情况。引物序列

如下: lncRNA-PVT1 上游引物正向: 5'-ATTGTTAGGAAAGGTTATAAAATTT-3'; 下游引物反向: 5'-ACCCAAACTATATAAAAAATTACAC-3'。GAPDH 上游引物正向: 5'-CGCTCTCTGCTCCTCTGTTT-3'; 下游引物反向: 5'-ATCCGTTGACTCCGACCTTCAC-3'。 lncRNA-PVT1 的表达量采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算, 所有实验操作至少重复 3 次。

1.3 统计学分析

应用 SPSS20.0 软件 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 对本研究中相关数据进行统计分析。比较肝癌组织和癌旁肝组织标本中 lncRNA-PVT1 的表达水平采用独立样本 t 检验, 结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。肝癌组织中 lncRNA-PVT1 的表达水平与患者临床病理特征之间的关系采用 χ^2 检验。Kaplan-Meier 法绘制患者的生存曲线, Log-rank 检验比较患者生存率的差异。采用单因素和多因素分析评估影响肝癌患者预后的独立危险因素, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌组织和癌旁肝组织中 lncRNA-PVT1 的表达情况

qRT-PCR 检测肝癌组织和癌旁肝组织中 lncRNA-PVT1 的表达情况, 结果显示: 肝癌组织中 lncRNA-PVT1 的表达明显高于癌旁肝组织, 且差异具有统计学意义 ($P=0.0077$), 见图 1。

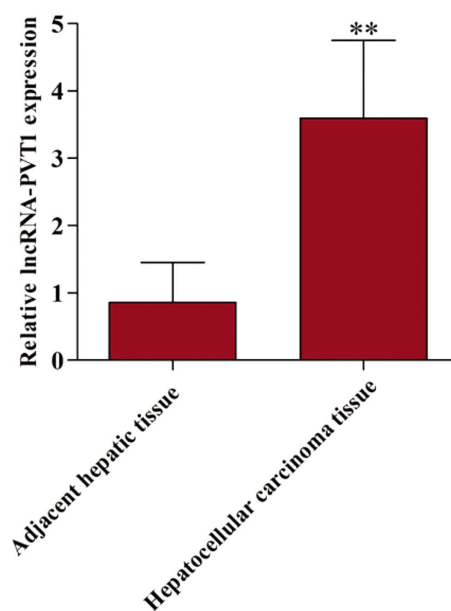


图 1 lncRNA-PVT1 在肝癌组织和癌旁肝组织中的表达 (** $P < 0.01$)

Fig. 1 The expression of lncRNA-PVT1 in the hepatocellular carcinoma tissue and adjacent hepatic tissue (** $P < 0.01$)

2.2 lncRNA-PVT1 的表达与肝癌患者临床病理特征之间的关系

入选的肝癌组织标本中 lncRNA-PVT1 的平均表达水平为 3.46 ± 0.66 , 组织中 lncRNA-PVT1 表达量高于平均水平的患者为高表达组 (39 例, 4.05 ± 0.31), 相应的低于平均水平的患者为低表达组 (33 例, 2.86 ± 0.42)。然后, 根据 lncRNA-PVT1 表达水平的高低, 采用 χ^2 检验分析其与患者临床病理特征之间的关系, 结果显示: 高表达水平的 lncRNA-PVT1 与肝癌组织的 Edmondson 分级 ($P=0.006$)、TNM 分期 ($P=0.006$)、分化程度 ($P=0$ 。

006)和是否发生血管转移($P=0.006$)具有相关性,而与患者的年龄、性别、血 AFP 水平、肿瘤直径、肿瘤数目以及是否有肝炎病史均无明显相关性($P=0.953, 0.866, 0.130, 0.626, 0.250$),见表1。

表 1 lncRNA-PVT1 的表达与肝癌患者临床病理特征的相关性

Table 1 Correlation of the expression level of lncRNA-PVT1 with the clinicopathological characteristics of hepatocellular carcinoma patients

Parameters	n	lncRNA-PVT1 expression		χ^2	P
		High (39)	Low (33)		
Gender					
Male	40	23	17	0.403	0.526
Female	32	16	16		
Age (years)					
< 50	31	17	14	0.010	0.921
≥ 50	41	22	19		
Edmondson grade					
I-II	35	12	23	10.834	0.001
III-IV	37	27	10		
TNM stage					
I-II	31	11	20	9.728	0.002
III-IV	41	29	11		
Histologic grade					
High	44	28	16	4.087	0.043
Low	28	11	17		
Vascular invasion					
Present	42	28	14	6.344	0.012
Absent	30	11	19		
AFP level (ng/mL)					
< 25	34	16	18	1.311	0.252
≥ 25	38	23	15		
Tumor size (cm)					
< 5	38	21	17	0.039	0.844
≥ 5	34	18	16		
Tumor number					
Solitary	42	23	19	0.014	0.905
Multiple	30	16	14		
HBsAg					
Positive	35	19	16	0.044	0.833
Negative	37	21	16		

2.3 lncRNA-PVT1 的表达水平与肝癌患者预后之间的关系

研究首先采用 Kaplan-Meier 法分别绘制 lncRNA-PVT1 高表达组和低表达组肝癌患者的生存曲线,然后采用 Log-rank 检验比较两组患者的术后生存率是否有差异。结果显示:lncRNA-PVT1 高表达组患者的术后生存率明显低于 lncRNA-PVT1 低表达组患者,差异有统计学意义 ($P=0.005$),见

图 2。

进一步将肝癌患者的相关临床病理指标作术后生存的单因素和多因素分析。单因素分析结果显示:高表达水平的 lncRNA-PVT1、Edmondson 分级、TNM 分期、分化程度和是否发生血管转移均是影响肝癌患者预后的因素,见表 2。随后的多因素 Cox 回归分析结果提示:高表达水平的 lncRNA-PVT1、

Edmondson 分级、TNM 分期、分化程度和是否发生血管转移均是影响肝癌患者预后的独立危险因素,见表 3。

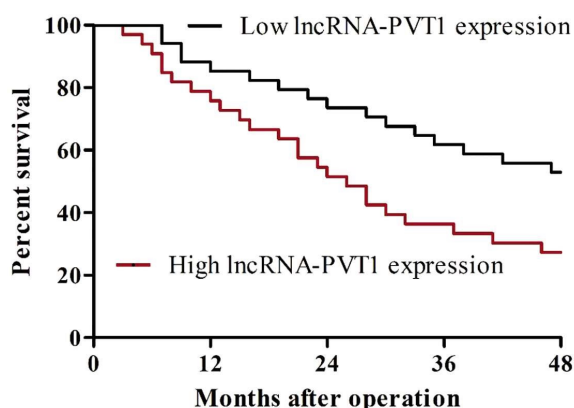


图 2 lncRNA-PVT1 高表达组和低表达组患者生存率的比较

Fig. 2 Comparison of the survival rates between glioma patients with high and low lncRNA-PVT1 expression

3 讨论

近年来,lncRNAs 在多种疾病特别是恶性肿瘤的发生、发展以及转移等中的重要作用已成为肿瘤学研究领域的重点和热点^[10]。研究证实异常表达的 lncRNAs 可通过多种途径和不同的分子机制广泛参与调控多种肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡、血管生成、迁移和侵袭,特异性 lncRNAs 作为肿瘤早期诊断、治疗和预测预后的生物学标志物,为恶性肿瘤的诊疗提供新策略^[11]。

随着现代医疗技术的快速发展,HCC 的诊疗手段也取得了一定的进步。临床上,手术切除仍然是 HCC 的首选治疗方法,也是最有效的治疗方法^[12,13]。其他治疗方法包括化学药物治疗、放射治疗、生物治疗以及中医中药治疗等^[14]。然而,HCC 患者的术后 5 年生存率只有 15%~40%^[15]。越来越多的研究证实某一特定的 lncRNA 可作为肿瘤病理进展过程中的抑癌或者

促癌基因,上调或下调该 lncRNA,可达到抑制肿瘤进展的作用,为肿瘤的治疗提供了新靶点。例如,Huang 等人的研究发现 lncRNA-TUG1 在肝细胞癌中表达明显增高,可作为一种促癌基因促进癌细胞的增殖、抑制其凋亡,并与肝细胞癌患者的临床不良预后密切相关^[16]。另外也有研究报道 lncRNA-SNHG14 的表达水平在胶质瘤组织和细胞中呈下降趋势,作为一种抑癌基因通过与 microRNA-92a-3p 的作用抑制胶质瘤细胞的增殖和侵袭,并促进细胞凋亡^[17]。大量的研究已经证实 lncRNA-PVT1 作为一种促癌基因在多种肿瘤中发挥重要的调节作用,例如,Chang 等发现 lncRNA-PVT1 在前列腺癌中表达水平显著升高,通过调节上皮-间质转化促进前列腺癌细胞的浸润和转移^[18]。Lan 的研究团队证实,lncRNA-PVT1 在肝癌组织中的表达明显增高,通过作用于下游的 microRNA-186-5p 促进肝癌细胞的增殖、侵袭和迁移^[19]。也有研究发现 lncRNA-PVT1 可作为预测肿瘤患者预后的生物标记物,与患者的临床预后密切相关。例如,Huang 的研究结果表明表达升高的 lncRNA-PVT1 与胰腺癌患者的不良预后密切相关^[20]。但是,lncRNA-PVT1 的表达水平的高低与 HCC 患者之间临床预后的关系尚未见研究报道,这也是本研究的重点。

本研究结果显示高表达的 lncRNA-PVT1 与肝癌组织的 Edmondson 分级、TNM 分期、分化程度和是否发生血管转移具有显著相关性,提示 lncRNA-PVT1 可能通过调控 HCC 细胞分化、侵袭等过程抑制肝癌的发生发展。进一步的研究显示 lncRNA-PVT1 的表达水平与患者术后生存率显著相关,且为影响预后的独立危险因素,提示其可用于肝癌患者预后的预测与评估,对癌组织中 lncRNA-PVT1 高表达患者应加强术后随访,监测复发,及时采取必要的干预手段。我们下一步的研究将重点探讨 lncRNA-PVT1 对调控 HCC 发生发展的分子机制和靶点。

综上所述,lncRNA-PVT1 在肝癌组织中呈高表达,高表达水平的 lncRNA-PVT1 与肝癌患者的不良临床预后密切相关,

表 2 肝癌患者不同临床病理变量和 lncRNA-PVT1 表达水平的单变量分析

Table 2 Univariate analysis of different clinicopathological variables and lncRNA-PVT1 expression in patients with hepatocellular carcinoma

Parameters	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	<i>p</i>	HR (95% CI)	<i>p</i>	
Gender (Male vs. Female)	0.178	1.367(0.774-2.436)	0.289	
Age (<50 vs. ≥ 50 years)	0.121	1.534(0.872-2.754)	0.176	
Edmondson grade (I-II vs. III-IV)	0.026	2.237(1.428-4.088)	0.009	
TNM stage (I-II vs. III-IV)	0.014	2.739(1.522-5.135)	<0.001	
Histologic grade (High vs. Low)	0.037	2.041(1.252-3.746)	0.017	
Vascular invasion (yes vs. no)	0.034	2.118(1.274-3.926)	0.013	
AFP level (<25 vs. ≥ 25 ng/mL)	0.524	1.128(0.639-1.957)	0.403	
Tumor size (<5 vs. ≥ 5 cm)	0.357	0.971(0.522-1.602)	0.594	
Tumor number (Solitary vs. Multiple)	0.411	1.462(0.924-2.553)	0.227	
HBsAg (Positive vs. Negative)	0.626	0.786 (0.465-1.221)	0.751	
lncRNA-PVT1 expression (High vs. Low)	0.009	2.828(1.635-5.227)	<0.001	

Note: AFP, alpha-fetoprotein; HR, hazard ratio; CI, confidence interval.

有望成为今后肝癌治疗的新靶点。

参考文献(References)

- [1] 胡伟卓, 刘忠虎, 秦红娟, 等. 不同分化程度的原发性肝癌 MRI 初步临床研究[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(26): 5074-5078
- [2] 刘炯, 万云燕, 高义, 等. 手术切除与介入栓塞治疗肝癌术后复发患者的临床对比研究 [J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(17): 3325-3327
- [3] 谭顺顺, 国娇, 何雨, 等. 血清 Dickkopf1 蛋白水平对原发性肝癌的诊断价值[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(13): 2422-2425
- [4] 王晓伟, 赵詹东, 张勇. 肿瘤标志物在肝癌早期诊断中的联合应用 [J]. 河北医药, 2013, (06): 821-822
- [5] 杨峰, 易凡, 曹慧青, 等. 长链非编码 RNA 研究进展 [J]. 遗传, 2014, (05): 456-468
- [6] 樊莉, 魏子湘, 杨希蕊, 等. LncRNA 与肝疾病的研究现状 [J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(09): 1794-1797
- [7] Yang X, Wang C C, Lee W, et al. Long non-coding RNA HAND2-AS1 inhibits invasion and metastasis in endometrioid endometrial carcinoma through inactivating neuromedin U[J]. Cancer Lett, 2018, 413: 23-34
- [8] Li Y, Shen Z, Wang B, et al. Long non-coding RNA GPR65-1 is up-regulated in gastric cancer and promotes tumor growth through the PTEN-AKT-slug signaling pathway[J]. Cell Cycle, 2018: 1-7
- [9] Hu L, Lv Q L, Chen S H, et al. Up-Regulation of Long Non-Coding RNA AB073614 Predicts a Poor Prognosis in Patients with Glioma [J]. Int J Environ Res Public Health, 2016, 13(4): 433
- [10] Dianatpour A, Ghafouri-Fard S. Long Non Coding RNA Expression Intersecting Cancer and Spermatogenesis: A Systematic Review[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2017, 18(10): 2601-2610
- [11] He J H, Han Z P, Li Y G. Association between long non-coding RNA and human rare diseases (Review)[J]. Biomed Rep, 2014, 2(1): 19-23
- [12] 郑惊雷, 王在国, 陈刘镇, 等. 肝癌手术患者应用快速康复外科措施的效果分析[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2016, (01): 16-19
- [13] 曾新桃, 杨培, 罗华, 等. 手术切除联合术中射频在多发性肝癌患者中的应用[J]. 现代肿瘤医学, 2017, (01): 82-86
- [14] 孙劲松, 陈桂明, 龙志雄, 等. 原发性肝癌综合治疗进展[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2005, (05): 468-470
- [15] 王鹤, 何蕾, 董家鸿. 原发性肝癌手术治疗的预后因素分析 [J]. 海军医学杂志, 2017, (01): 43-45
- [16] Huang M D, Chen W M, Qi F Z, et al. Long non-coding RNA TUG1 is up-regulated in hepatocellular carcinoma and promotes cell growth and apoptosis by epigenetically silencing of KLF2 [J]. Mol Cancer, 2015, 14: 165
- [17] Wang Q, Teng Y, Wang R, et al. The long non-coding RNA SNHG14 inhibits cell proliferation and invasion and promotes apoptosis by sponging miR-92a-3p in glioma [J]. Oncotarget, 2018, 9 (15): 12112-12124
- [18] Chang Z, Cui J, Song Y. Long noncoding RNA PVT1 promotes EMT via mediating microRNA-186 targeting of Twist1 in prostate cancer [J]. Gene, 2018, 654: 36-42
- [19] Lan T, Yan X, Li Z, et al. Long non-coding RNA PVT1 serves as a competing endogenous RNA for miR-186-5p to promote the tumorigenesis and metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. Tumour Biol, 2017, 39(6): 1393384326
- [20] Huang C, Yu W, Wang Q, et al. Increased expression of the lncRNA PVT1 is associated with poor prognosis in pancreatic cancer patients [J]. Minerva Med, 2015, 106(3): 143-149
- [22] Wang Z, Chen Y, Chen C, et al. Pain management of surgical abortion using transcutaneous acupoint electrical stimulation: An orthogonal prospective study [J]. J Obstet Gynaecol Res, 2018, 44(7): 1235-1242
- [23] Moon YK, Kim MH, Nam HJ. Comparison of the effectiveness between transcutaneous electrical nerve stimulation, manual acupuncture, and electroacupuncture on tinnitus: study protocol for a randomized controlled trial[J]. Trials, 2018, 19(1): 342
- [24] 路楷, 查海峰, 徐彬彬, 等. 电针刺激对急性脑损伤昏迷患者早期促醒的作用[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2016, 23(1): 27-30
- [25] Lv Y, He H, Xie J, et al. Effects of transcutaneous acupoint electrical stimulation combined with low-dose sufentanil pretreatment on the incidence and severity of etomidate-induced myoclonus: A randomized controlled trial[J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(23): e10969
- [26] Cai RL, Shen GM, Wang H, et al. Brain functional connectivity network studies of acupuncture: a systematic review on resting-state fMRI[J]. J Integr Med, 2018, 16(1): 26-33
- [27] Huang L, Pan Y, Chen S, et al. Prevention of propofol injection-related pain using pretreatment transcutaneous electricalacupoint stimulation[J]. Turk J Med Sci, 2017, 47(4): 1267-1276
- [28] Bai WY, Yang YC, Teng XF, et al. Effects of Transcutaneous Electrical Acupoint Stimulation on the Stress Response During Extubation After General Anesthesia in Elderly Patients Undergoing Elective Supratentorial Craniotomy: A Prospective Randomized Controlled Trial[J]. J Neurosurg Anesthesiol, 2018, 30(4): 337-346
- [29] Hsu YC, Liang IT, Huang SY, et al. Transcutaneous electrical acupoint stimulation (TEAS) treatment improves pregnancy rate and implantation rate in patients with implantation failure [J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2017, 56(5): 672-676
- [30] Qu F, Wang FF, Wu Y, et al. Transcutaneous Electrical Acupoint Stimulation Improves the Outcomes of In Vitro Fertilization: A Prospective, Randomized and Controlled Study [J]. Explore (NY), 2017, 13(5): 306-312

(上接第 3097 页)