

先天性小耳畸形 microRNA 及 mRNA 表达谱的变化及关键靶基因的筛选

宋宇鹏 杨庆华 林 琳 蒋海越 张 玲 潘 博 何乐人 赵延勇

摘 要 **目的** 筛查先天性小耳畸形患者整个基因组存在表达水平异常的 microRNAs(miRNAs)和 mRNAs,从中找出关键靶基因,进而探讨关键靶基因表达水平的异常及其调控网络与先天性小耳畸形发病之间的关系。**方法** 收集先天性小耳畸形患者的残耳软骨组织为研究对象,以同一患者的健侧正常耳软骨组织作为自身对照。选用 Exiqon miRCURY LNA™ microRNA Array 芯片及 Arraystar Human mRNA/LncRNA Microarray 芯片,对实验组 3 例及对照组 3 例样本的基因组 miRNAs 和 mRNAs 表达水平进行扫描,利用差异表达的倍数变化筛选存在表达水平差异的差异 miRNAs 和 mRNAs。通过 miRanda、miRDB、miRWalk、RNA22、Targetscan 这 5 个数据库进行检索,预测差异 miRNAs 调节的靶基因。将预测靶基因与差异 mRNAs 对应的基因进行交叉对比,寻找同时存在 miRNA 和 mRNA 表达水平差异的关键靶基因及其对应的关键 miRNAs。**结果** 本研究筛选出 24 个具有表达水平差异的 miRNAs,同时筛选出 515 个表达水平差异的 mRNAs;将预测到的 miRNAs 调节的靶基因与 mRNA 表达谱中的差异基因进行交叉对比,得到对应的 miRNA 和 mRNA 表达水平均存在显著性差异的关键靶基因 6 个(CAST、MLL、MMP13、OTUD4、PDE5A、TGOLN2)。**结论** 初步建立了先天性小耳畸形的 miRNA 表达谱和 mRNA 表达谱,找到了先天性小耳畸形表达异常的关键靶基因;初步建立了 1 个与 miRNA 以及 mRNA 表达水平相关的调控网络,有利于进一步探讨关键靶基因及其调控网络与先天性小耳畸形发病的关系。

关键词 先天性小耳畸形 microRNA mRNA 关键靶基因调控网络

中图分类号 R622 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.06.028

Screening the microRNA and mRNA Expression Profile of Congenital Microtia to Choose the Target Genes. Song Yupeng, Yang Qinghua, Lin Lin, et al. Plastic Surgery Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100144, China

Abstract **Objective** To screen the microRNA and mRNA expression profile of congenital microtia to identify the differential expression in microRNAs and mRNAs. Locking in key target genes to establish the key genes – microRNA control network and to discuss the relationship between differential expressed microRNAs and mRNAs and the etiology of congenital microtia. **Methods** We selected six samples from congenital microtia to study the microRNA and mRNA expression. We collected the residual ear cartilage of microtia as the research object; normal ear cartilage of patients without ear malformations as control. We Chosed Exiqon miRCURY LNA™ microRNA Array and Arraystar Human mRNA/LncRNA Microarray. Fold change of differential expression were applied to screen key miRNAs and mRNAs. miRanda,miRDB,miRWalk,RNA22 and Targetscan were used to predict target genes of key miRNAs. The predicted target genes and differential expressed genes were cross matched to find the key target genes and the corresponding key miRNAs with differential expression. **Results** There were 24 miRNAs and 515 mRNAs with differential expression between experimental group and control group. 6 key target genes (CAST,MLL,MMP13,OTUD4,PDE5A,TGOLN2) with significant difference in mRNA and corresponding miRNA expression levels were obtained by cross matching. **Conclusion** In this study we detected genome – wide mRNA and microRNA level of congenital microtia by epigenetics method, and preliminary established a key genes – microRNA control network. It is helpful to explore the further relationship between the key genes – microRNA control network and the molecular pathogenesis of congenital microtia.

Key words Congenital microtia; MicroRNA; mRNA; Key genes – microRNA control network

基金项目:北京协和青年基金资助项目(33320140171);中国医学科学院整形外科医院院所基金青年创新项目(Q2015011);整形外科医院优青计划接力项目

作者单位:100144 北京,中国医学科学院整形外科医院

通讯作者:林琳,副主任医师,副教授,电子信箱:18618446667@

163.com

先天性小耳畸形是由于胚胎时期第 1 鳃沟及其邻近的第 1、2 鳃弓的发育异常引起的 1 组颌面畸形;临床上常表现为耳廓畸形、外耳道闭锁和中耳畸形。先天性小耳畸形是我国重要体表缺陷之一,国外报道的发生率为 0.76/万人~4.34/万人,我国为 5.18/万人^[1]。小耳畸形有家族性发病,也有散发性发病,

但现在临床最常见的为散在性发病,其中最常见的是非综合征型先天性小耳畸形,这也为其发病机制的研究增加了难度。小耳畸形病因尚不明确,在以往遗传因素、环境因素研究的基础上,表观遗传学的研究为先天性小耳畸形病因学研究提供了新的思路。RNA 干扰是表观遗传调控的一种,对其研究集中在小 RNA,近年 microRNA (miRNA) 引起广泛关注,是继 siRNA 之后新的研究热点之一。miRNA 是一类大小为 22 个核苷酸左右的内源非编码小 RNA,广泛存在于动物、植物和病毒等多种有机体中^[2]。miRNA 通过作用于相应靶 mRNA,参与细胞增殖、凋亡、分化、代谢、发育、肿瘤转移等多种生物学过程^[3]。

本研究的目的是初步建立先天性小耳畸形 miRNA 和 mRNA 表达谱,找出其中的差异 miRNAs 和 mRNAs,并对其功能进行生物信息学分析,进一步找到关键靶基因及其对应的 miRNAs 及其调控关系,为下一步的干预实验筛选靶点。

材料与方法

1. 材料:来自于 2013 年 7 月~2014 年 12 月术中废弃的先天性小耳畸形患者残耳软骨组织及自身健侧耳软骨组织,与供者及其家属签订知情同意书。Exiqon's microRNA arrays 芯片及 Arraystar Human mRNA/LncRNA Microarray 芯片同时检测样本共 6 例,来源于 3 例患者,采取自身对照的研究方法,患侧残耳组织作为实验组,自身健侧耳软骨组织作为对照组。男性 3 例,患者年龄 9~19 岁(平均年龄 16 ± 10 岁)。患者 1 为 9 岁,患者 2 为 19 岁,患者 3 为 10 岁。Exiqon miRCURY LNATM microRNA Array 芯片及 Arraystar Human mRNA/LncRNA Microarray 芯片购自上海康成生物工程有限公司。

2. 方法:(1)标本取材:取材后 10min 内将软骨组织于液氮中保存,无菌操作。标本入选条件:切取的软骨组织量 >100mg;切取的软骨组织其周围软骨膜及其皮下组织量少于软骨量的 10%;选取的先天性小耳畸形患者为最常见的 II 度畸形;正常耳郭均无感染及软骨炎征象。(2)制备 Exiqon miRCURY LNATM microRNA Array 芯片及 Arraystar Human mRNA/LncRNA Microarray 芯片:将液氮保存的样本提交至上海康成生物技术公司,委托其进行 miRNA 及 mRNA 的提取,芯片的杂交、数据提取和正态化工作。(3)差异 miRNAs 的筛选及靶基因预测:两组样本间差异表达的 miRNAs 通过 Fold change 和 *P* 值进行筛选,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。差异倍数达

到 2 倍即为差异 miRNAs。在 miRanda、miRDB、miR-Walk、RNA22、Targetscan 这 5 个数据库进行检索,查找差异 miRNAs 调节的靶基因,对有 4 个以上数据库均显示调节的靶基因进行统计。(4)差异 mRNAs 的筛选:两组样本间差异表达的 mRNAs 通过 Fold change 和 *P* 值进行筛选,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。差异倍数达到 2 倍即为关键 mRNAs。(5)差异 miRNAs 和差异 mRNAs 的交叉对比:将“差异 mRNAs 的筛选及靶基因预测”中统计得到的靶基因与差异 mRNAs 进行交叉对比,筛选出同时有 mRNA 表达差异的关键靶基因。

结 果

1. 差异 miRNAs 和差异 mRNAs:通过对 miRNA 芯片扫描后输出的 Excel 表格初步分析,对比实验组及对照组软骨组织 miRNA 芯片杂交结果,其中表达倍数变化超过 2 倍的有 24 个,实验组相对于对照组上调 12 个,下调 12 个(表 1、表 2)。通过对 mRNA 芯片扫描后输出的 Excel 表格初步分析,对比实验组及

表 1 先天性小耳畸形实验组较对照组表达上调的 miRNAs

miRNA 名称	倍数变化	<i>P</i>
miR - 3613 - 3p	3.288	0.036
miR - 1255b - 2 - 3p	2.141	0.019
miR - 151a - 3p	3.103	0.035
miR - 4699 - 3p	2.327	0.039
miR - 4521	2.478	0.011
miR - 221 - 3p	2.446	0.024
miR - 320c	2.335	0.033
miR - 181a - 3p	2.882	0.023
miR - 222 - 3p	2.888	0.036
miR - 4324	3.068	0.037
miR - 4668 - 5p	3.148	0.029
miR - 301a - 3p	2.481	0.034

表 2 先天性小耳畸形实验组较对照组表达下调的 miRNAs

miRNA 名称	倍数变化	<i>P</i>
miR - 4309	0.398	0.001
miR - 345 - 3p	0.348	0.026
miR - 4491	0.452	0.043
miR - 4299	0.426	0.034
miR - 4469	0.239	0.022
miR - 3681 - 5p	0.377	0.023
miR - 148b - 5p	0.305	0.009
miR - 3118	0.351	0.043
miR - 4280	0.365	0.013
miR - 3122	0.316	0.042
miR - 4424	0.419	0.005
miR - 323b - 3p	0.363	0.034

对照组软骨组织 mRNA 芯片杂交结果,其中表达倍数变化超过 2 倍的有 515 个,实验组相对于对照组上调 101 个,下调 414 个(表 3、表 4)。

表 3 先天性小耳畸形实验组较对照组表达上调的 mRNAs(部分)

mRNA 名称	倍数变化	P
GPR132	2.018	0.012
DUSP5	3.694	0.050
TNFRSF11B	5.727	0.014
ACAN	5.486	0.012
ZWINT	3.498	0.043
FAM46A	2.472	0.014
ENHO	3.926	0.037
CRISPLD1	2.502	0.050
DGAT2	2.386	0.032
MMD	2.478	0.035

表 4 先天性小耳畸形实验组较对照组表达下调的 mRNAs(部分)

mRNA 名称	倍数变化	P
CAST	2.005	0.049
MLL	3.657	0.032
MMP13	6.500	0.035
OTUD4	2.126	0.020
PDE5A	2.074	0.045
TGOLN2	2.429	0.013
FEM1C	2.115	0.023
KCNAB1	4.655	0.002
CTNND1	2.027	0.022
STK38	3.027	0.024

2. miRNA 靶点预测:对筛选出的差异 miRNAs 进行靶点预测,差异 miRNAs 预测出的靶点均较多,提示其调节的细胞功能较广泛。在 miRanda、miRDB、miRWalk、RNA22、Targetscan 这 5 个数据库进行检索,查找差异 miRNAs 调节的靶基因,对有 4 个以上数据库均显示调节的靶基因进行统计。结果显示每个差异 miRNA 均可调节若干个靶基因。

3. 关键 miRNA 和关键靶基因的筛选:将差异 miRNAs 靶点预测得到的靶基因与差异 mRNAs 进行交叉对比,筛选出其中的重合靶基因,即同时有 mRNA 表达差异,又受到差异 miRNAs 调节的关键靶基因。初步得到 1 个基因网络调控图(图 1)。

讨 论

本研究首次明确了先天性小耳畸形疾病 miRNA 和 mRNA 表达谱的变化,并通过生物信息学分析,从中筛选出了 12 个差异表达倍数变化较大,而且存在

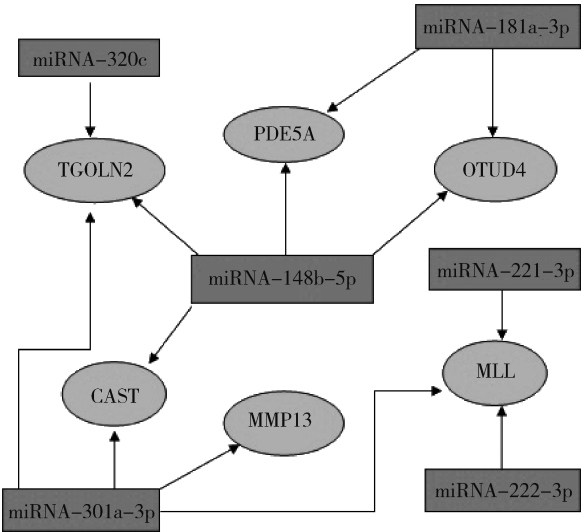


图 1 关键 miRNA 对关键 mRNA 的调控关系

相互调节作用的 miRNAs 和 mRNAs (miR - 181a - 3p、miR - 221/222 - 3p、miR - 301a - 3p、miR - 148b - 5p、miR - 301a - 3p、MMP13、CAST、MML、PDE5A、OTUD4、TGOLN2),并通过对这些关键 miRNA 调节的靶点进行生物信息学分析,明确了这些 miRNAs 可能调节的生理功能。成熟 miR - 181a 种子区与 C2H2 型锌指基因存在互补序列,研究表明 miR - 181a 可调节锌指蛋白的表达^[4]。miR - 181a 在肝脏发育过程中有重要作用,能与肝细胞分化的不同转录调节因子相互作用并且参与 WNT 信号通路^[5]。miR - 181a 在内耳的发育中也有一定的作用,可刺激基底乳突的增殖,导致新的毛细胞的生成^[6]。miR - 181a 通过靶向 HOX - A11 蛋白可以调节心脏的骨骼成肌细胞的分化^[7]。miR - 181a 在肺鳞癌、口腔鳞癌及胶质瘤中表达较正常组织低^[8]。生物信息学分析表明,miR - 181a - 3p 对 PDE5A 和 OTUD4 可能存在调控作用。

miR - 221/222 编码基因位于 X 性染色体 p11.3 附近位置,簇生于 X 染色体上同步表达,属于同一家族,调控相同的靶基因。miR - 221/222 在甲状腺癌、胶质瘤中表达上调^[9,10]。miR - 221/222 下调能够通过促进 p27^{kip1} 表达对内质网应激条件下肝癌细胞周期和凋亡起重要调控作用^[11]。miR - 221/222 还可以调节细胞功能。miR - 221/222 可以抑制内皮细胞增殖、迁移及毛细血管状结构形成^[12]。miR - 221/222 在冠心病患者中有抑制血管新生作用^[13]。生物信息学分析表明,miR - 221/222 - 3p 均对 MLL 存在调节作用。miR - 301a 在乳腺癌的表达明显高于癌

旁组织, miR-301a 可通过靶向抑制叉状头转录因子 (FOXF2)、前 II 型胶原 $\alpha 1$ 链 (COL2A1) 及第 10 号染色体上缺失与张力蛋白同源的磷酸酯酶基因 (PTEN) 促进乳腺增殖、侵袭及血管生长^[14]。miR-301a 在前列腺癌细胞中表达上调, miR-301a 介导高糖促进前列腺细胞周期 G_1/S 时相转换, 促进细胞增殖, 在高血糖促进前列腺癌细胞增殖作用中发挥重要作用^[15]。生物信息学分析表明, miR-301a-3p 对 CAST、MMP13、MML、TGOLN2 均存在调控作用。

Sandhu 等^[16]在乳腺癌细胞系中的研究显示 miR-148b 可通过转录后调控机制调节 DNMT3b (DNA 甲基转移酶 3b) 的表达, 从而影响 DNMT3b 介导的甲基化。miR-148 在黑色素瘤细胞可促进肿瘤的发生、发展, 并且通过调节转录因子 *Mif* 发挥生物学功能^[17]。miR-148b 在胃癌组织中表达较相应癌旁中显著下调, 并通过其可能的靶基因 CCKBR 发挥其抑制胃癌细胞增殖的作用^[18]。人肝癌组织中 miR-148b 表达下降, 且与不良的临床预后有关。miR-148b 能明显促进原代培养的施万细胞的增殖, 有可能通过对增殖相关靶基因的负调控来影响施万细胞的增殖能力, 从而促进周围神经损伤修复。生物信息学分析表明, miR-148b-5p 对 CAST、MMP13、MML、TGOLN2、PDE5A、OTUD4 均存在调控作用。miR-320 在结直肠癌、乳腺癌、膀胱癌和胆管癌等多种肿瘤中表达下调, 提示 miR-320 可通过抑制细胞增殖和侵袭等方式抑制肿瘤进展, 且在胰腺癌中与吉西他滨的耐药性有关。miR-320 与间充质干细胞向脂肪细胞的转化过程有关。生物信息学分析表明, miR-320cTGOLN2 存在调控作用。

MMP13 是基质金属蛋白酶 (MMP) 的一种, 属于胶原酶, 主要是降解 I、III 型间质胶原。MMP13 可通过分解细胞外基质 (ECM) 参与多个病理生理过程, 在成骨细胞的表达过程中发挥重要作用。MMP13 是 MMP 家族中惟一能够裂解胶原分子中三维螺旋结构的酶, 对胶原具有特异性, 在创伤性关节炎软骨破坏的病理过程中扮演重要角色。骨性关节炎患者滑膜细胞中也存在 MMP13 的 mRNA 表达, 对股骨头缺血性坏死患者血清 MMP13 水平监测表明 MMP13 水平可能与病情的恢复程度密切相关, MMP13 水平升高的患者, 应警惕其髌关节功能恢复不良的发生。有研究表明 MMP13 过表达参与大骨节病软骨破坏及其软骨细胞死亡过程。生物信息学分析表明, MMP13 可

受 miR-148b-5p 和 miR-301a-3p 的调控。CAST 基因是钙蛋白酶水解系统成员之一, 钙蛋白酶水解系统在细胞内普遍存在, 参与机体生长、代谢与各种各样的生理、生化过程, 主要作用于细胞骨架蛋白、蛋白激酶和磷酸酶, 还参与细胞内的信号传递, 例如成肌细胞和脂肪细胞的分化、肌动蛋白的重组、细胞周期、信号转导和凋亡等。生物信息学分析表明, CAST 可受 miR-148b-5p 和 miR-301a-3p 的调控。

混合谱系白血病 (mixed lineage leukemia, MLL) 基因至少包含 35 个外显子, 能够编码包含 3968 个氨基酸的蛋白, 主要在细胞核内, 且其广泛分布于人体组织中, 编码一种正向调节早期胚胎发育和造血分化的核蛋白。MLL 基因部分通过直接调节 HOX 基因的表达, 能够调控骨骼及造血系统的形成。除此之外 MLL 还参与染色体修饰和重组的蛋白复合体的形成, 是因为后者主要有组蛋白脱乙酰酶及 SWI/SNF 染色体重塑复合体的形成, MLL 还可参与肿瘤抑制及细胞周期的调控。生物信息学分析表明, MML 可受 mir-148b-5p、mir-301a-3p 和 miR-221/222-3p 的调控。PDE5A 是环核苷酸水解酶超家族的成员之一, 可以特异性水解细胞内第 2 信使 cGMP, PDE5A 主要分布于大脑、阴茎海绵体、血管平滑肌细胞、肺及血小板等, 是调控 cGMP 特定信号通路的关键酶, 主要是调节平滑肌的收缩, 同时在大脑内 cGMP 信号传递上起到重要的作用。国内外研究证实, PDE5A 在结肠癌、膀胱癌、肾癌及乳腺癌中高表达且活性增加。生物信息学分析表明 PDE5A 可受 miR-148b-5p 和 miR-181a-3p 的调控。OTUD4 基因编码的蛋白被认为在体外也具有催化去泛素化酶的活性, 有研究认为 OTUD4 在 DNA 烷基化损伤修复中起到了重要的作用。生物信息学分析表明 OTUD4 可受 miR-148b-5p 和 miR-181a-3p 的调控。TGOLN2 基因编码位于反面高尔基体网状蛋白上的 I 型跨膜整合蛋白, 这个蛋白在细胞外囊泡的形成中起到重要的作用。目前对于这个基因的研究很少, 有学者曾研究此基因对于自杀倾向的作用, 但未得出阳性结论。生物信息学分析表明, TGOLN2 可受 miR-148b-5p、miR-301a-3p 和 miR-320c 的调控。

本研究明确了先天性小耳畸形的 miRNA 表达谱和 mRNA 表达谱, 并结合生物信息学分析, 通过交叉对比, 得到 6 个存在显著性差异的 miRNAs 和 6 个存在显著性差异的 mRNAs, 它们之间存在着交叉的调

控关系,即每个 miRNA 均调控不止 1 个 mRNA,而每个 mRNA 均受到不止 1 个 miRNA 的调控。关键 miRNAs 中的 miR - 148b - 5p 可以调控这 6 个靶基因,另外有 5 个 miRNAs (miR - 181a - 5p、miR - 221 - 3p、miR - 222 - 3p、miR - 301a - 3p、miR - 320c) 分别交叉调控这 6 个关键靶基因。通过初步得到的数据,笔者推测这些 miRNAs 和 mRNAs 可能和先天性小耳畸形的发病存在某种联系,但这种联系到底是如何产生作用的,还需要对这些 miRNAs 和 mRNAs 进行进一步的研究。今后实验将针对筛选出来的具有差异表达的 miRNAs 和 mRNAs 在大样本中采取实时荧光定量 PCR 及 Western blot 法实验进一步验证,并采取进一步的动物实验验证这些 miRNAs 和 mRNAs 的生物意义及作用机制。

参考文献

- 1 陈佳鹏,张蕾,陈功,等. 中国 1993 - 1998 年出生缺陷检测能力分析[J]. 中华流行病学杂志,2006,27(5):392 - 395
- 2 Lim LP, Glasner ME, Yekta S, *et al.* Vertebrate microRNA genes[J]. Science,2003,299(5612):1540
- 3 Tavazoie SF, Alarcón C, Oskarsson T, *et al.* Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis[J]. Nature,2008,451(7175):147 - 152
- 4 Huang S, Wu S, Ding J, *et al.* MicroRNA - 181a modulates gene expression of zinc finger family members by directly targeting their coding regions[J]. Nucleic Acids Res,2010,38(20):7211 - 7218
- 5 Ji J, Yamashita T, Budhu A, *et al.* Identification of microRNA - 181 by genome - wide screening as a critical player in EpCAM - positive hepatic cancer stem cells[J]. Hepatology,2009,50(2):472 - 480
- 6 Pan Q, Luo X, Toloubeydokhti T, *et al.* The expression profile of micro - RNA in endometrium and endometriosis and the influence of ovarian steroids on their expression[J]. Mol Hum Reprod,2007,13(11):797 - 806
- 7 Li YG, Zhang PP, Jiao KL, *et al.* Knockdown of microRNA - 181 by lentivirus mediated siRNA expression vector decreases the arrhythmo-

genic effect of skeletal myoblast transplantation in rat with myocardial infarction[J]. Microvasc Res, 2009,78(3):393 - 404

- 8 Shin KH, Bae SD, Hong HS, *et al.* miR - 181a shows tumor suppressive effect against oral squamous cell carcinoma cells by downregulating K - ras[J]. Biochem Biophys Res Commun,2011,404(4):896 - 902
- 9 李丹,郑高明. MiR - 221/222 表达与甲状腺癌临床病理特征的关系[J]. 中国医师杂志,2015,17(7):981 - 983
- 10 王鹏飞,黎文汉,洪顺明,等. MiR - 221/222 激活 Akt 通路增加恶性胶质瘤的放射抗性[J]. 中华放射医学与防护杂志,2015,35(3):177 - 182
- 11 刘友平,段春燕,陈川宁,等. MiR - 221/222 在肝癌细胞抵抗内质网应激凋亡中的作用[J]. 中华肝脏病杂志,2015,19(3):191 - 195
- 12 Polisenio L, Tuccoli A, Mariani L, *et al.* MicroRNAs modulate the angiogenic properties of HUVECs[J]. Blood,2006,108(9):3068 - 3071
- 13 Minami Y, Satoh M, Maesawa C, *et al.* Effect of atorvastatin on microRNA 221/222 expression in endothelial progenitor cells obtained from patients with coronary artery disease[J]. Eur J Clin Invest,2009,39(5):359 - 367
- 14 Shi W, Gerster K, Alajez NM, *et al.* MicroRNA - 301 mediates proliferation and invasion in human breast cancer[J]. Cancer Res,2011,71:2926 - 2937
- 15 蔡皎,李小娟,朱宝益,等. 微小 RNA - 301 a 介导高糖促进前列腺癌细胞周期 G₁/S 时相转换[J]. 中华实验外科杂志,2013,30(9):1927 - 1929
- 16 Sandhu R, Rivenbark AG, Coleman WB. Loss of post - transcriptional regulation of DNMT3b by microRNAs: a possible molecular mechanism for the hypermethylation defect observed in a subset of breast cancer cell lines[J]. Int J Oncol,2012,41(2):721 - 732
- 17 Hafliadottir BS, Berqsteinsdottir K, Praetorius C, *et al.* MiR - 148 regulates Mitf in melanoma cells[J]. PLoS One,2010,5(7):e11574
- 18 郝余庆,蒋徐维,徐玉振. MicroRNA - 148b 在肝细胞癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中国临床医学,2015,22(4):471 - 474

(收稿日期:2016 - 12 - 17)

(修回日期:2016 - 12 - 27)

(上接第 101 页)

- 10 Douglas - Escobar M, Weiss MD. Biomarkers of brain injury in the premature infant[J]. Front Neurol,2012,3:185
- 11 陈惠金,魏克仑,姚裕家,等. 我国早产儿脑室周围白质软化发生率的多中心调查报告[J]. 中国当代儿科杂志,2008,10(6):686 - 692
- 12 姚裕家. 早产儿脑损伤的病因及病理生理机制研究进展[J]. 临床儿科杂志,2006,24(3):166 - 167
- 13 Hernández - Cabrera MA, Flores - Santos R, García - Quintanilla JF, *et al.* Periventricular leukomalacia prevalence in premature newborn[J]. Rev Med Inst Mex Seguro Soc,2009,47(2):147 - 150
- 14 方渝,徐志康,刘艳丽,等. 母血、脐血、羊水中激活素 A 水平对胎儿窘迫预测价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2011,25(6):560 - 561

- 15 田安好,赵薇,张蕾,等. 卵泡抑素、激活素 A 与 BMP - 4 在缺血缺氧性脑损伤大鼠脑组织中的表达[J]. 四川大学学报,2014,45(5):772 - 776
- 16 董燕,王临艳,何晓春,等. 激活素 A 预测急性胎儿窘迫的价值[J]. 中国妇幼保健,2016,31(5):1082 - 1083
- 17 孙荣青,史晓奕,杨宏富. 脑损伤程度与激活素 A 和 C - 反应蛋白表达的相关性研究[J]. 中华危重病急救医学,2013,25(11):682 - 684
- 18 Xu G, He J, Guo H, *et al.* Activin A prevents neuron - like PC12 cell apoptosis after oxygen - glucose deprivation[J]. Neural Regen Res, 2013,8(11):1016 - 1024
- 19 章易琳,倪观太. 激活素 A 与绒毛膜羊膜炎关系研究进展[J]. 医学综述,2010,16(8):1130 - 1133

(收稿日期:2016 - 10 - 26)

(修回日期:2016 - 11 - 05)