

大黄素对 K562 细胞长链非编码 RNA 表达谱的影响

郑利华 孙士鹏 程 实 安 成 侯雪筠 叶红蕾 庞 博 刘贵建 吴志奎

摘 要 **目的** 研究大黄素作用 K562 细胞后长链非编码 RNA (lncRNA) 表达谱的变化, 筛选并验证差异 lncRNA。方法利用 lncRNA 芯片技术检测大黄素作用 K562 细胞后长链非编码 RNA (lncRNA) 表达谱, 通过对原始数据进行处理, 筛选出差异表达 lncRNA 并进行分析, 挑选差异较大的 4 个 lncRNA 进行荧光定量 PCR 验证。**结果** 与 DMSO 对照组作用 K562 细胞后 lncRNA 表达谱相比, 大黄素作用 K562 细胞后变化 4 倍以上 lncRNA 共 11 条。经过荧光定量 PCR 检测, 大黄素作用 K562 细胞后 CDR1AS 和 PROX1 - AS1 表达上调与芯片结果一致。**结论** 大黄素作用 K562 细胞后 CDR1AS 和 PROX1 - AS1 等 lncRNA 表达的上调, 为进一步深入研究大黄素抑制 K562 细胞增殖和促进 K562 细胞红细分化的分子机制打下基础。

关键词 大黄素 长链非编码 RNA CDR1AS PROX1 - AS1

中图分类号 R9 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.03.010

Effect of Emodin on Long Non - coding RNA Expression of K562 Cell. Zheng Lihua, Sun Shipeng, Cheng Shi, et al. Clinical Laboratories, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China

Abstract **Objective** To analyze the expression profile of long non - coding RNA (lncRNA) in K562 cells after treatment of Emodin. **Methods** The technique of lncRNA microarray was used to inspect the lncRNA expression profile in K562 cells after treatment of Emodin. The lncRNA was screened out and analyzed by analyzing the original data of lncRNA microarray. Four lncRNAs with large differences were selected for Real - time quantitative PCR analysis. **Results** 11 lncRNAs were in K562 cells of emodin group which had more than 4 - fold variation than DMSO group. The expression of CDR1AS and PROX1 - AS1 was up - regulated in K562 cells of emodin group by real - time quantitative PCR analysis. **Conclusion** Upregulation of CDR1AS and PROX1 - AS1 in K562 cells induced by the emodin was the basis for further study of the molecular mechanism of inhibiting K562 cell proliferation and promoting K562 cells to erythropoiesis process.

Key words Emodin; Long non - coding RNAs; CDR1AS; PROX1 - AS1

大黄素(1,3,8 - 三羟基 - 6 - 甲基蒽醌)是从大黄、芦荟、何首乌等中药植物的根茎中分离出来, 还具有抗菌、抗炎、免疫抑制和抗癌作用的单体药物^[1]。大黄素能够诱导人肺腺癌细胞凋亡、在乳腺癌、结直肠癌、头颈部鳞状细胞癌和卵巢癌等中抑制肿瘤细胞迁移和侵袭^[2]。人红白血病细胞系(K562 细胞系)具有向红系分化的能力, 是研究红系分化的良好细胞模型^[3]。作为骨髓生血颗粒主要活性成分之一的大黄素能够诱导 K562 细胞向红系分化, 提高珠蛋白基因的表达水平^[4]。笔者推论大黄素可能通过对一些 lncRNA 的调控, 在抑制肿瘤细胞生长和诱导 K562 细胞向红系分化等过程中起到重要作用。

本研究以人红白血病 K562 细胞系研究对象, 对

大黄素作用 K562 细胞系后细胞的差异表达的 lncRNA 进行初步筛选, 并通过荧光定量 PCR 对筛选出 lncRNA 进行验证, 为进一步深入研究大黄素抑制 K562 细胞增殖和促进 K562 细胞红细分化的分子机制打下基础。

材料与方法

1. 材料: 二甲基亚砷(DMSO, 购自美国 Sigma - Aldrich 公司)、Trizol(购自美国 Thermo Fisher 公司)、大黄素(购自美国 Sigma - Aldrich 公司, 货号 E7881, 用 DMSO 将大黄素溶解配置成 100mmol/L 的溶液)、DMPI - 1640 培养基购自美国 Gibco 公司、胎牛血清购自杭州四季青公司、人红白血病 K562 细胞株为本实验室保存、CCK8 试剂盒购自日本同仁化学(Dojindo)、PrimeScript™ RT reagent Kit(购于日本 TaKaRa 公司)、SYBR Premix Ex Taq II(Tli RNaseH Plus, 购于日本 TaKaRa 公司)、PROX1 - AS1、LINC00441 和 LINC01344 引物采用 Primer Blast 在线设计(<https://>

基金项目: 国家重点基础研究发展计划“973”计划项目(2010CB530406); 国家自然科学基金青年基金资助项目(81403192)

作者单位: 100053 北京, 中国中医科学院广安门医院

通讯作者: 孙士鹏, 电子信箱: sunshipeng@gamyy.cn

www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/); 所有引物由上海生工生物工程有限公司合成(PEG 纯化, 表 1)。

表 1 引物及序列

名称	序列(5'→3')	参考文献
GAPDH	上游引物 GGTGAAGCAGGCGTCGGAGG	[5]
	下游引物 GAGGGCAATGCCAGCCCGAG	[5]
CDR1as	上游引物 TCTGCTCGTCTCCAAACATC	[5]
	下游引物 AGATCAGCACACTGGAGACG	[5]
PROX1-AS11	上游引物 CTACTGAAGTCCACCTGCCC	
	下游引物 GTGGCCTGAGCTTTGTCAGA	
LINC00441	上游引物 CTCCAAGTGGGGACAACGAA	
	下游引物 CAATGCTGGGGTCTGGTCAA	
LINC01344	上游引物 TTTGGGGATGCCCATCTCTCTC	
	下游引物 AGTGGCATCTTCAAAGCACG	

2. 仪器:五分类的血液分析仪(Sysmex, XS-800i)、LC480 荧光定量 PCR 仪(瑞士 Roche 公司)、多功能酶标仪(Multiskan MK3, 美国 Thermo 公司)、CO₂ 培养箱 MC0-15AC 型(日本 SANYO 公司)。

3. 研究方法:(1) K562 细胞的培养与传代:在 37℃、5% CO₂ 孵箱中用含 10% 胎牛血清的 DMPI-1640 培养基培养。采用离心方法传代时将细胞连同培养液一起转移到离心管内, 800~1000r/min, 5min 离心, 然后去除上清, 经 PBS 清洗 2 次后, 加新的培养液到离心管内, 用吸管吹打使之形成细胞悬液, 使用 XS-800i 五分类的血液分析仪细胞计数后传代接种, 按 5×10^5 个/毫升传代。(2) 细胞增殖实验:取对数生长期的 K562 细胞, 调整细胞悬液浓度约为 5×10^5 个/毫升, 向 96 孔培养板每孔加入 100 μ l 细胞悬液(含一系列浓度的大黄素的培养基稀释得到), 每个浓度设 1 个复孔, 置于 37℃、5% CO₂ 孵箱中培养。将细胞板继续置于培养箱中孵育, 在 0、24、48 和 72h 分别向每孔加入 10 μ l CCK-8 试剂, 培养 3h 后用酶标仪测定各孔在 450nm 的 A 值。实验中同时设立正常细胞对照(细胞、相同浓度的药物溶解介质、培养液和 CCK-8)和空白对照(无细胞、加培养基和 CCK8)。(3) lncRNA 芯片检测:取对数生长期的 K562 细胞, 调整细胞悬液浓度约为 5×10^5 个/毫升, 取 10ml 加入 10cm 培养皿中, 分别在各皿中加入终浓度为 10 μ mol/L 的大黄素, 同时设立加入等体积 DMSO 的 K562 细胞对照。将细胞继续置于培养箱中孵育, 在 48h 后采用离心方法将细胞连同培养液一起转移到离心管内, 800~1000r/min, 5min 离心, 然后

去除上清, 经 PBS 清洗 2 次后, 加 1ml Trizol 到离心管内。将 Trizol 试剂收集的细胞样品转入 1.5ml 离心管中, 12000 $\times g$ 离心 15min, 收集上清至新离心管中, 室温放 5min, 加入 0.2ml 氯仿, 涡旋 15s, 室温放置 3min, 12000 $\times g$ 离心 10min, 收集上清, 加两倍上清体积的异丙醇, -20℃ 沉淀 20min, 12000 $\times g$ 离心 10min, 去上清, 加 1ml 含有 DEPC 水的 75% 乙醇(预冷), 8000 $\times g$ 离心 10min, 吸弃上清液, 轻微离心, 除去管底残液, 自然干燥 5min, 沉淀重溶于 50 μ l 的 DPEC 水中。样品总 RNA 的质量检测用紫外分光光度计分别测定波长为 230、260、280nm 处吸光度值(A 值), 确定总 RNA 样品的纯度和浓度; 甲醛变性琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 样品中 28S 和 18S 的比例, 以评估其纯度及完整性。使用双链 cDNA 合成试剂盒进行反转录, 合成双链互补 cDNA; 使用北京博奥晶典生物技术有限公司 DNA 标记试剂盒进行双链互补 DNA 的标记, 使用分光光度计检测荧光标记效率, 以保证后续芯片实验结果的可靠性。使用博奥公司将双链 cDNA 与人 lncRNA 芯片进行杂交。杂交后清洗, 使用 Agilent G2565CA 芯片扫描仪进行扫描。扫描数据使用 Genespring GX11 软件进行处理(Agilent 公司产品)。不同表达基因使用随机变量模型进行处理。扫描后的 tiff 格式图片数据采用 Feature Extraction 提数软件进行预处理分析, 然后采用 GeneSpring GX 软件计算基因表达差异。常规差异 lncRNA 筛选:挑取差异倍数在 4 倍以上进行筛选。(4) 荧光定量 PCR 检测 lncRNA:收集 10 μ mol/L 和 25 μ mol/L 大黄素作用 24、48 和 72h 的 K562 细胞, 提取 RNA, 使用 PrimeScript™ RT reagent Kit 反转录成 cDNA 第 1 链进行内参基因和目的基因的扩增, 扩增条件如下:95℃ 30s, 1 个循环; 95℃ 5s, 60℃ 30s 共 40 个循环, 溶解曲线设为 95℃, 5s 60℃, 1min 95℃, 1 个循环。反应体系 20 μ l。所得结果以 GAPDH 为内标计算出各被测基因与 GAPDH 的 Δ Ct 值, 再以未加药组为参照进行归一化处理, 并计算出各被测基因的 $\Delta\Delta$ Ct 值, 最后经指数转换计算出各基因用药后的表达变化值($2^{-\Delta\Delta Ct}$)。

结 果

1. 大黄素作用后 K562 细胞增殖实验:使用多功能酶标仪(Multiskan MK3, 美国 Thermo 公司)对终浓度为 2、10、25、50 和 100 μ mol/L 的大黄素含药培养基作用的 K562 细胞进行吸光度检测(检测波长 450nm, 参考波长 650nm)。10 μ mol/L 的大黄素对

K562 细胞生长有抑制作用,25 μ mol/L 以上浓度的大黄素在 24h 对 K562 细胞增殖有明显抑制作用,且随着时间的延长而更为明显(图 1)。

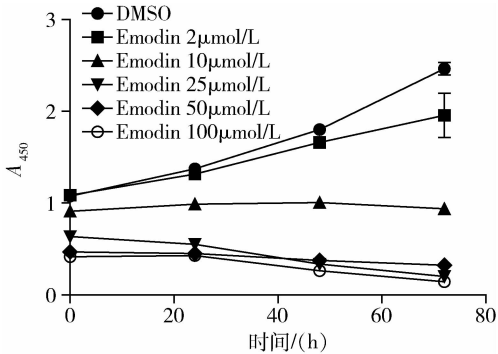


图 1 不同浓度大黄素作用后 K562 细胞的生长曲线

2. 总 RNA 样本质量分析: DMSO 对照组作用 48h 的 K562 细胞总 RNA 的 A_{260}/A_{280} 为 1.98,10 μ mol/L 大黄素作用 48h 的 K562 细胞总 RNA 的 A_{260}/A_{280} 为 1.94,总量均远 >1 μ g。提取 RNA 经甲醛变性琼脂糖凝胶电泳检测,28S:18S rRNA 条带亮度 >2:1,RNA 完整性好,满足芯片检测要求,结果见图 2。

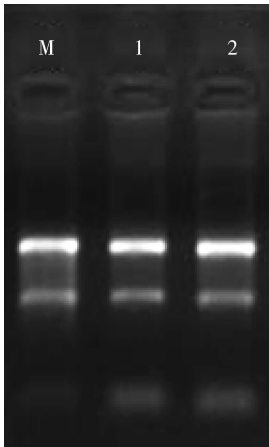


图 2 甲醛变性琼脂糖凝胶电泳检测 RNA
M. HeLa Cell Control RNA;1. DMSO 对照组作用 48h 的 K562 细胞 RNA;2. 10 μ mol/L 大黄素作用 48h 的 K562 细胞 RNA

3. lncRNA 表达谱芯片筛选大黄素作用 K562 细胞 48h 后的差异 lncRNA:lncRNA 表达谱芯片只对大黄素作用 K562 细胞 48h 后的 RNA 和 DMSO 对照组进行比对分析,无法采用 T-test unpair 方法计算 P 值。对两组的差异倍数进行分析,归一化后的信号值相减得到的以 2 为底的对数差异倍数,正值表明在 A 组样品比 B 组样品高表达,负值表明在 A 组样品比 B 组样品低表达,筛出 4 倍以上 lncRNA 共 11 条,对差

异 lncRNA 的探针序列同 BLSAT 数据库选择 Human genomic + transcript 进行比对分析,详见表 2。

表 2 益髓生血颗粒作用后红细胞(含网织红细胞)的差异 lncRNA (6 个)

表达情况	对数差异倍数	lncRNA ID	种类	BLAST 比对结果转录本
上调	6.5	CDR1AS	antisense	CDR1AS
上调	5.2	ENST00000579975.1	intronic	NC_018928.2
上调	4.9	ENST00000599566.1	antisense	MUC20
下调	-4.8	ENST00000449842.1	intergenic	LINC01344
上调	4.7	XR_426898.1		PROX1 - AS1
下调	4.6	TCONS_00003611	intergenic	LOC105374378
上调	4.5	TCONS_00019246	intergenic	NC_018922.2
上调	4.5	ASO3704	Intergenic	NT_187678.1
上调	4.5	ENST00000562681.1	intronic	THSD4
上调	4.4	ENST00000416190.1	intergenic	NC_018931.2
上调	4.4	ENST00000608342.1	intronic	LINC00893

4. 荧光定量 PCR 验证筛选的差异 lncRNA:选取 CDR1AS、PROX1 - AS1、LINC01344、LINC00441 进行荧光定量 PCR 验证。取 10、25 μ mol/L 大黄素分别作用 24、48 和 72h 后提取总 RNA,反转录成 cDNA 第 1 链进行内参基因和目的基因的扩增。LINC01344、LINC00441 含量较低,低于检测下限。CDR1AS 在 10 μ mol/L 大黄素作用 24h 后表达上调 2 倍左右,在 48h 和 72h 表达上调。25 μ mol/L 大黄素作用 K562 细胞 24h 后开始上调,48h 后表达量上调 4 倍左右。荧光定量 PCR 结果证实大黄素能够诱导 CDR1AS 表达上调。在 10 μ mol/L 大黄素作用 K562 细胞 24h 和 48h 时 PROX1 - AS1 表达水平无变化,在 72h 表达微上调。25 μ mol/L 大黄素在作用 K562 细胞 24h 时 PROX1 - AS1 表达水平无变化,在 48h 表达明显上调。荧光定量 PCR 结果显示 25 μ mol/L 大黄素能够诱导 PROX1 - AS1 表达上调(图 3)。

讨 论

大黄素有多种生物活性,包括诱导细胞凋亡、细胞周期阻滞、抑制细胞增殖、抗血管生成和抗氧化作用^[6]。在抗癌领域,大黄素还能够通过诱导人胰腺癌 Panc-1 细胞,乳腺癌细胞 BCap-37,肝癌细胞 HepG₂、Huh7, Hep3B, 肺癌细胞 A549,宫颈癌细胞 Bu25TK,和结肠癌 HCT116 等肿瘤细胞发生凋亡来抑癌^[7-13]。较高浓度的大黄素(25 μ mol/L 以上)能够抑制 K562 细胞增殖,使细胞周期阻滞在 G₀/G₁ 期,并能通过激活 caspase-3,caspase-8 和 caspase-

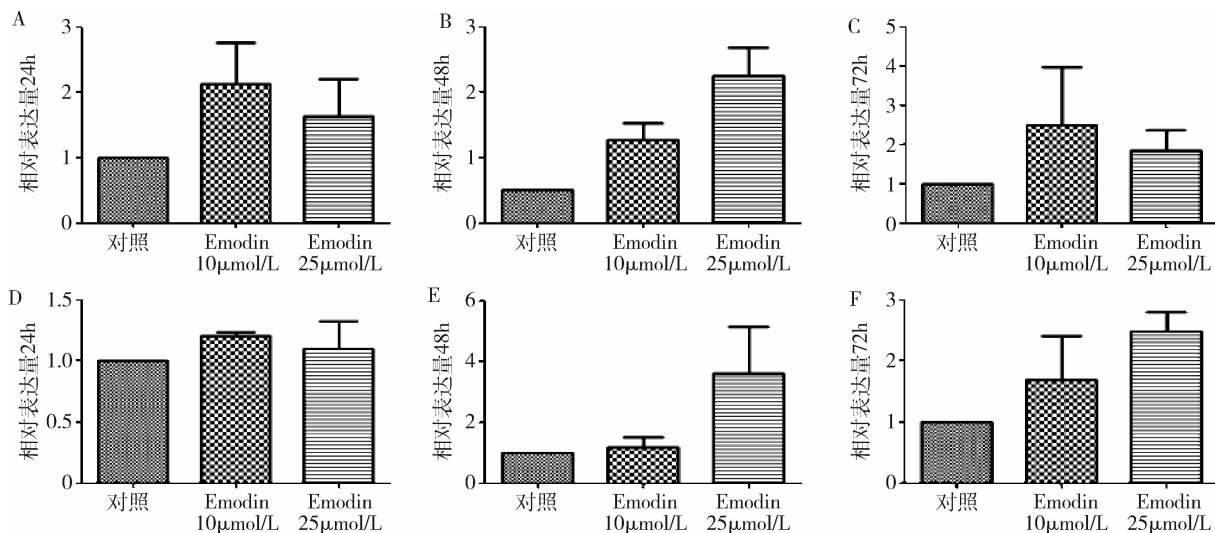


图3 荧光定量 PCR 验证筛选的差异 lncRNA

A ~ C. CDR1AS; D ~ F. PROX1 - AS1; A、D. 24h; B、E. 48h; C、F. 72h

9 诱导 K562 凋亡, K562 细胞接种裸鼠后, 用 Emodin 处理的裸鼠肿瘤体积和肿瘤重量与对照组相比也明显下降^[14]。本研究细胞增殖实验研究也证实了较高浓度的大黄素 (25 μmol/L 以上) 能够抑制 K562 细胞增殖 (图 1)。

长链非编码 RNA (lncRNA) 是一类转录本长度超过 200nt 的 RNA 分子, 功能主要是通过修饰染色质、提高转录、促进 mRNA 降解和其他尚未阐明的方式来调节基因表达, 少部分 lncRNAs 还能够上调基因表达。lncRNA 在红细胞分化成熟及凋亡等方面也发挥着重要作用^[15]。环状 RNA (circRNA) 是一种内源性的非编码 RNA, 通过头尾剪切连接的方式形成的环状的 RNA, 主要功能是参与细胞内的转录后调控。CDR1as 是哺乳动物细胞中第 1 个被证实存在生物学功能的环状 RNA, 人 CDR1as 位于染色体 Xq27.1, 是小脑变性相关蛋白 1 (CDR1) 基因的反义链转录后通过反式剪切而形成的 1 种 circRNA, 长度约为 1.5kb。人 CDR1as 含有 74 个 miR-7 的结合位点, 可充当 miR-7 海绵, 从而有效影响 miR-7 靶基因活性^[16]。CDR1as 通过 miR-7 的功能调控, 在肿瘤的发生、发展、心肌梗死损伤、胰岛素分泌等生理和病理过程中起到重要调控作用^[16-18]。大黄素诱导 K562 细胞 CDR1as 表达上调通过 miR-7 的功能调控下游靶基因在 K562 细胞功能调控中的作用还需要进一步研究。

综上所述, PROX1 是 T 细胞中干扰素-γ 表达的负调节因子, 其表达并且还缓解卡波西肉瘤等血管肿瘤的进展^[19]。PROX1-AS1 是 PROX1 mRNA 的

反义链, 其功能研究较少, 但是 GWAS 分析显示其基因位点多态性与 2 型糖尿病关系密切, 其功能与胰岛素分泌参与的血糖调控有关。大黄素诱导 K562 细胞 CDR1as 和 PROX1-AS1 可能与细胞糖代谢有关, 相信随着 lncRNA 等研究的深入, 很有可能为肿瘤、贫血等相关疾病的治疗带来新的思路和突破。

参考文献

- Huang Q, Lu G, Shen HM, *et al.* Anti-cancer properties of anthraquinones from rhubarb [J]. *Med Res Rev*, 2007, 27(5): 609-630
- Lu J, Xu Y, Zhao Z, *et al.* Emodin suppresses proliferation, migration and invasion in ovarian cancer cells by down regulating ILK in vitro and in vivo [J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10: 3579-3589
- 程艳玲, 马艳妮, 周亚丽, 等. 益髓生血颗粒含药血清对 K562 细胞向红系分化的影响 [J]. *华南国防医学杂志*, 2015, 11(29): 807-813
- Ma YN, Chen MT, Wu ZK, *et al.* Emodin can induce K562 cells to erythroid differentiation and improve the expression of globin genes [J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 382(1-2): 127-136
- Zhang Y, Sun L, Xuan L, *et al.* Reciprocal changes of circulating Long Non-coding RNAs ZFAS1 and CDR1AS predict acute myocardial infarction [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 22384
- 林玩福, 汪晨, 凌昌全. 大黄素抗肿瘤作用研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(20): 3937-3940
- 刘岸, 邓姿峰, 胡金喜, 等. 大黄素对人胰腺癌 Panc-1 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *中草药*, 2011, 42(4): 756-759
- Huang Z, Chen G, Shi P. Effects of emodin on the gene expression profiling of human breast carcinoma cells [J]. *Cancer Detect Prev*, 2009, 32(4): 286-291
- 党中峰, 党雅梅, 陈城, 等. 大黄素诱导对内质网应激相关蛋白表达及肝癌 HepG2 细胞凋亡的影响 [J]. *兰州大学学报: 医学版*, 2015, 41(2): 50-54

(下转第 177 页)

位在家长的位置上可以深刻体会到当一个家庭面临孩子被确诊为恶性疾病时所遭受的毁灭性的打击,理解身为父母的心痛,了解家庭所面临的困难。参加过心理小组的学生对于家长的态度都有所改变,在实习期间向家长交待病情时语气更加轻柔,不会任意夸大疾病的不可治愈性,愿意给家长以信心,也更愿意耐心解答家长的提问。

(3) 公益活动激发职业自豪感: 两组学生均作为志愿者参加为血液肿瘤患儿举办的各种公益活动,在老师的带领下积极参与活动的策划,组织和实施。由于平时更多接触了患儿和家长,对于自己熟悉的患者更有感情,有些学生会主动提出在活动时照顾病情较重的患儿。学生亲眼看到自己熟悉的孩子可以战胜肿瘤参加活动,而家长和孩子对志愿者们的感激之情又增加了学生的职业自豪感。通过这样的实践,大大激发了医学生内心深处对儿童,对生命的关爱,他们觉得自己对孩子有了更多了解,更喜欢孩子,也更愿意成为一名儿科血液肿瘤医生。

儿童血液肿瘤患者是一群特殊的群体,医务人员面对的是儿童患者及其家属,因此塑造其人文精神就显得更为重要^[16]。医学人文关怀更深层次地反应医患彼此间的平等、尊重,即是对自己的尊重,又尊重自己的职业,同时又尊重患者^[17]。医学生是肩负着未来的医疗事业,在血液肿瘤临床教学中,通过实践活动可以有效提高医学生们的人文关怀理念,为他们最终成长为有强烈同情心和社会责任感的优秀医生打下基础。

参考文献

- 1 于海燕,许晓晴,于森,等. 人本主义视阈下医学生职业价值观教育的反思与优化[J]. 医学与社会,2014,27(8):91-93

(上接第 36 页)

- 10 Hsu CM, Hsu YA, Tsai Y, *et al.* Emodin inhibits the growth of hepatoma cells: finding the common anti - cancer pathway using Huh7, Hep3B, and HepG₂ cells[J]. Biochem Biophys Res Commun,2010,392(4):473-478
- 11 Lai JM, Chang JT, Wen CL, *et al.* Emodin induces a reactive oxygen species - dependent and ATM - p53 - Bax mediated cytotoxicity in lung cancer cells[J]. Eur J Pharmacol,2009,623(1-3):1-9
- 12 Srinivas G, Anto RJ, Srinivas P, *et al.* Emodin induces apoptosis of human cervical cancer cells through poly(ADP - ribose) polymerase cleavage and activation of caspase - 9[J]. Eur J Pharmacol,2003,473(2-3):117-125
- 13 Xie MJ, Ma YH, Miao L, *et al.* Emodin - provoked oxidative stress induces apoptosis in human colon cancer HCT116 Cells through a p53 - mitochondrial apoptotic pathway[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014,15(13):5201-5205
- 14 Chun - Guang W, Jun - Qing Y, Bei - Zhong L, *et al.* Anti - tumor activity of emodin against human chronic myelocytic leukemia K562

- 2 李晓农. 对医学生进行人文教育的几点思考[J]. 北京教育:德育,2016,9:37-38
- 3 黄海珊,张静平,贺达仁. 从对乳腺癌患者的人文关怀看护理模式的转变[J]. 医学与社会,2005,18(9):12-14
- 4 吴冰. 医学人文关怀的制约因素分析[J]. 医学与社会,2011,24(1):56-58
- 5 关欣,李琦,樊立华. 新世纪医学人文关怀的意义与培养[J]. 医学与社会,2011,24(4):32-34
- 6 董菲,景红梅. 血液科见习教学中融入医学人文教育的探讨[J]. 中国高等医学教育,2017,2:33-34
- 7 马玲,王强,单莉. 浅谈心理学与人文关怀在临床肿瘤学教学中的意义[J]. 中国老年保健医学,2013,11(5):85-87
- 8 徐文兰. 儿科护理教学中护生人文关怀理念的培养[J]. 安徽卫生职业技术学院学报,2012,11(4):94-95
- 9 包丽娟,张芳,杨翠玲,等. 医学生人文素养现状调查[J]. 甘肃科技,2012,28(2):79-80
- 10 李丽,杨智鸿,雷荣浩. 医学院校学生人文关怀能力现状及相关因素分析[J]. 医学理论与实践,2016,29(23):3298-3300
- 11 高涌,刘瑞林. 重视临床教学中医学生人文关怀意识的培养[J]. 中国医药指南,2012,10(4):297-298
- 12 孙曙青,朱碧华,曹梅娟. 在内科护理教学中培养学生人文关怀能力的实践[J]. 中华护理教育,2014,11(3):190-192
- 13 袁月红,许嘉桐,付小达. 护理英语教学中融入人文关怀教育的效果研究——以牡丹江医学院为例[J]. 中国医学伦理学,2015,1:64-66
- 14 曾丽娟. 儿科护理教学中护生人文关怀理念的培养[J]. 中国卫生产业,2015,12(1):24-25
- 15 李斌,肖平. 癌痛规范化诊治提高临床肿瘤学教学的人文素质教育[J]. 中国医学创新,2014,12:128-130
- 16 孙悦,尹梅. 儿童疾病诊治中的人文关怀[J]. 医学与社会,2015,3:69-71
- 17 郭伟,邱小建,王磊,等. 培养医学生以人文关怀为基础的医患沟通技能教学模式[J]. 西北医学教育,2014,4:642-644

(收稿日期:2017-05-21)

(修回日期:2017-05-28)

cell lines in vitro and in vivo. [J]. Eur J Pharmacol,2010,627(1-3):33-41

- 15 孙士鹏,刘贵建. 红细胞生成相关长链非编码 RNA 的研究进展[J]. 医学研究杂志,2016,45(6):6-8
- 16 Hansen B, Kjems J, Damgaard CK. Circular RNA and miR - 7 in cancer[J]. Cancer Res,2013,73(18):5609-5612
- 17 Geng HH, Li R, Su YM, *et al.* The circular RNA Cdr1as promotes myocardial infarction by mediating the regulation of miR - 7a on its target genes expression[J]. PLoS One,2016,11(3):e0151753
- 18 Xu H, Guo S, Li W, *et al.* The circular RNA Cdr1as via miR - 7 and its targets, regulates insulin transcription and secretion in islet cells [J]. Sci Rep,2015,5:12453
- 19 Herbeck JT, Gottlieb GS, Winkler CA, *et al.* Multistage genomewide association study identifies a locus at 1q41 associated with rate of HIV - 1 disease progression to clinical AIDS [J]. J Infect Dis,2010,201(4):618-626

(收稿日期:2017-08-30)

(修回日期:2017-09-04)