

miR-200c 对颅咽管瘤侵袭性的影响及作用机制

张道宝^{1,2}, 徐建国¹

(1.四川大学华西医院神经外科, 四川 成都 610000;

2.乐山市人民医院脑血管病科, 四川 乐山 614000)

摘要:目的 探讨 miR-200c 对颅咽管瘤侵袭性的影响,并阐述其作用机制。方法 选择造釉细胞型及鳞状上皮乳头型颅咽管瘤原代细胞为对象,研究 miR-200c 在原代细胞中的表达情况。通过对造釉细胞型颅咽管瘤原代细胞过表达和敲低 miR-200c,研究 miR-200c 对造釉细胞型颅咽管瘤侵袭性的影响及作用机制。结果 与鳞状上皮乳头型颅咽管瘤原代细胞组相比,造釉细胞型颅咽管瘤原代细胞组中 miRNA-200c 的表达下降,统计学意义极显著($P<0.001$);与对照组相比,miR-200c mimics 组结晶紫染色细胞数量减少($P<0.05$),而 miR-200c inhibitor 组结晶紫染色细胞数量增加($P<0.05$),miR-200c inhibitor 组细胞数多于 miR-200c mimics 组,统计学意义显著($P<0.01$)。结论 miRNA-200c 在造釉细胞型颅咽管瘤原代细胞中表达明显减少,促进了 EMT 的发生,导致造釉细胞型颅咽管瘤的侵袭性增加。

关键词: 颅咽管瘤;侵袭性;miRNA-200c;E-cadherin; β -catenin

中图分类号:R739.41

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2023.02.011

文章编号:1006-1959(2023)02-0054-07

The Effect and Mechanism of miR-200c on the Invasiveness of Craniopharyngioma

ZHANG Dao-bao^{1,2}, XU Jian-guo¹

(1.Department of Neurosurgery, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610000, Sichuan, China;

2.Department of Cerebrovascular Disease, Leshan People's Hospital, Leshan 614000, Sichuan, China)

Abstract: Objective To explore the effect of miR-200c on the invasiveness of craniopharyngioma and clarify its mechanism of action. **Methods** The primary cells of adamantinomatous craniopharyngiomas and papillary craniopharyngiomas were selected to study the expression of miR-200c in primary cells. Through overexpression and knockdown of miR-200c in primary cells of adamantinomatous craniopharyngiomas, the effect of miR-200c on the invasiveness of adamantinomatous craniopharyngiomas and its mechanism were studied. **Results** Compared with the primary cell group of squamous papillary craniopharyngioma, the expression of miRNA-200c in the primary cell group of adamantinomatous craniopharyngioma decreased significantly ($P<0.001$). Compared with the control group, the number of crystal violet staining cells in the miR-200c mimics group decreased ($P<0.05$), while the number of crystal violet staining cells in the miR-200c inhibitor group increased ($P<0.05$), and the number of cells in the miR-200c inhibitor group was more than that in the miR-200c mimics group ($P<0.01$). **Conclusion** The expression of miRNA-200c in primary cells of adamantinomatous craniopharyngioma is significantly reduced, which promotes the occurrence of EMT and increased the invasiveness of adamantinomatous craniopharyngioma.

Key words: Craniopharyngioma; Invasive; miRNA-200c; E-cadherin; β -catenin

颅咽管瘤(craniopharyngioma, CP)是常见的中枢神经系统肿瘤,任何年龄均可发病,但其常见的发病年龄呈双峰分布,主要有6~14岁和50~70岁2个高发年龄段,同时颅咽管瘤是儿童最常见的鞍区占位性病变。该病可分为2种亚型,造釉细胞型颅咽管瘤(adamantinomatous craniopharyngioma, ACP)和鳞状上皮乳头型颅咽管瘤(papillary craniopharyngioma, PCP)。颅咽管瘤虽为良性肿瘤,但有着与恶性肿瘤相似的临床特征。术后易复发是颅咽管

瘤,特别是造釉细胞型颅咽管瘤的一个重要特点。microRNAs(miRNAs)是一类广泛存在于动植物等真核生物中的非编码RNA。microRNAs的长度一般为21~23个核苷酸,因不含有开放式阅读框架,不能翻译成蛋白质进行基因表达。他们通过碱基对互补的方式与靶基因结合,可以在转录和转录后水平调节靶基因表达。miRNA-200家族在许多肿瘤的侵袭、转移等环节起到了重要作用。据目前的文献报道,在卵巢癌、乳腺癌、脑膜瘤等多种肿瘤中,miRNA-200家族的表达明显低于其在正常组织中的表达。在一些肿瘤中,miRNA-200家族的下调还预示患者的总体生存率降低及对化疗反应不敏感^[1]。2010年四川大学华西医院徐建国等^[2]利用原代培养建立了能稳定传代的颅咽管瘤细胞系,为开展颅咽管瘤的基础研究提供了新的方法。本研究拟初步探讨 miRNA-200

作者简介:张道宝(1984.12-),男,山东临沂人,博士,副主任医师,主要从事颅内肿瘤的基础与临床研究

通讯作者:徐建国(1971.12-),男,四川泸州人,博士,主任医师,主要从事颅内肿瘤的基础与临床研究

家族在颅咽管瘤中的作用,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 原代细胞培养所需标本来自 2017 年 6 月-2018 年 12 月在四川大学华西医院神经外科手术切除的无菌新鲜颅咽管瘤组织各 5 例。

1.2 主要实验材料 SYBR Green PCR 试剂盒(Thermo, F-415XL), 逆转录试剂盒(Thermo, #K1622), β -actin (abcam, ab8226), E-cadherin (abcam, ab1416), β -catenin (abcam, ab32572), HRP 标记山羊抗兔(武汉三鹰, SA00001-2), HRP 标记山羊抗小鼠(武汉三鹰, SA00001-1), Transwell (BD Biosciences, 353097), SYBR Green PCR 试剂盒(Thermo, F-415XL), 逆转录试剂盒(Thermo, #K1622)。

1.3 方法 PCP 组为正常培养的鳞状上皮乳头型颅咽管瘤原代细胞。ACP 组为正常培养的造釉细胞型颅咽管瘤原代细胞。

1.3.1 Q-PCR 检测原代细胞的 miRNA-200 家族各亚型表达 先行 miRNA 的引物设计, 再行 RNA 提取, 在细胞中加入 0.25% 胰蛋白酶 1 ml 收集沉淀。分别加入相应量的 Trizol 裂解液在沉淀细胞中裂解细胞, 向离心管中加入预冷的氯仿(200 μ l 氯仿/1 ml Trizol), 离心机离心(4 $^{\circ}$ C, 12000 g) 15 min; 用 20 μ l DEPC 处理水溶解 RNA, 放在-20 $^{\circ}$ C 冰箱中保存待用。按照试剂盒操作说明书进行逆转录 cDNA、PCR 扩增。

1.3.2 Transwell 检测原代细胞的侵袭能力 先用 0.25% 胰酶消化收集, 用离心机离心, PBS 液润洗; 用无血清的 1640 培养基重悬细胞; 预先将 800 μ l 含 10% FBS 的 DMEM 培养基(含双抗)加入 24 孔板中, 将其放入 Transwell 小室, 等 Matrigel 干成胶状后, 依次接入 200 μ l 各组细胞悬液在 Transwell 上室。对于上室一侧未迁移的细胞, 用干净的棉球将其擦干净, 然后用浓度为 10% 的甲醇溶液固定细胞 30 min。小心切下膜, 在膜上滴一滴 5% 结晶紫染液, 室温中放置 20 min, PBS 清洗后显微镜下观察拍照。

1.3.3 免疫荧光及 WB 检测原代细胞中 β -catenin 和 E-cadherin 的表达 第 1 天: 固定爬片 15 min(4% 的多聚甲醛), 0.5% Triton X-100(PBS 配制)在室温通透, 时间控制在 20 min 左右; 在玻片上滴加正常山羊血清, 室温下封闭, 时间约 30 min; 将足量稀释好的一抗滴加在每张玻片上, 将所有玻片放入湿盒, 将温度调至 4 $^{\circ}$ C, 孵育过夜。第 2 天: 加荧光二抗: PBST 重复浸洗爬片, 滴加稀释好的荧光二抗, 将玻

片放入湿盒中, 在 20 $^{\circ}$ C~37 $^{\circ}$ C 的温度下孵育 1 h, 再次用 PBST 浸洗切片。复染核: 滴加 DAPI 在黑暗处孵育, 对标本进行染核; 用含抗荧光淬灭剂的封片液封片, 荧光显微镜下观察采集图像。

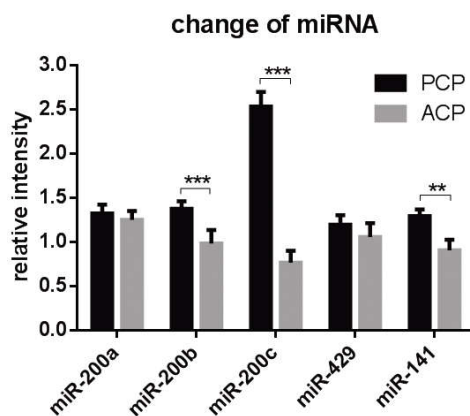
1.3.4 造釉细胞型颅咽管瘤细胞检测 通过对造釉细胞型颅咽管瘤原代培养细胞过表达和敲低 miR-200c, 研究 miR-200c 对造釉细胞型颅咽管瘤侵袭性的影响及作用机制: A: 造釉细胞型颅咽管瘤细胞+miRNA control; B: 造釉细胞型颅咽管瘤细胞+miR-200c mimic; C: 造釉细胞型颅咽管瘤细胞+miR-200c inhibitor。Q-PCR 检测各组造釉细胞型颅咽管瘤细胞中的 miRNA-200c 表达差异, Transwell 检测 miR-200c 对造釉细胞型颅咽管瘤细胞侵袭能力的影响; 免疫荧光及 WB 检测各组细胞 E-cadherin 和 β -catenin 的表达, 操作步骤同原代细胞检测。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析, 所有数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 不同组间两两比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)中的 LSD 法(最小显著性法), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 表示统计学意义显著, $P < 0.001$ 表示统计学意义极显著。

2 结果

2.1 miR-200 家族在颅咽管瘤原代培养细胞的表达情况

2.1.1 Q-PCR 检测两组原代细胞的 miRNA-200 家族各亚型表达 与鳞状上皮乳头型颅咽管瘤原代细胞相比, 造釉细胞型颅咽管瘤组中 miRNA-200 家族表达呈整体下降趋势, 其中 miRNA-200c 的下降最为明显, 统计学意义极显著($P < 0.001$), 见图 1。



注: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

图 1 造釉细胞型颅咽管瘤及鳞状上皮乳头型颅咽管瘤原代细胞各亚型 miRNA 的表达水平

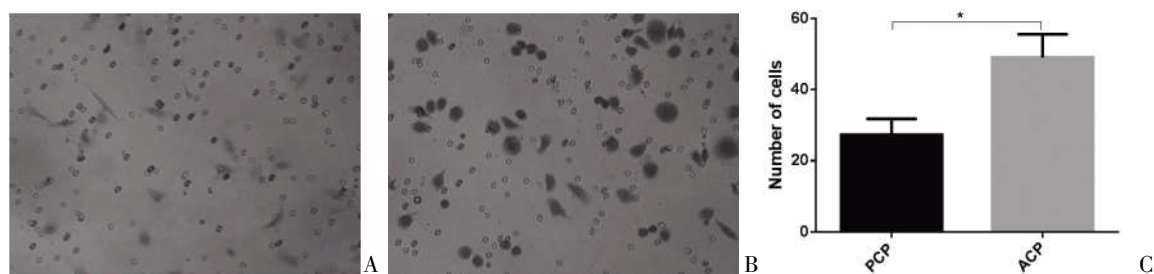
2.1.2 Transwell 检测两组原代细胞的侵袭能力 结晶紫的染色结果可以看到造釉细胞型颅咽管瘤中穿过膜的细胞远远多于鳞状上皮乳头型颅咽管瘤的细胞,见图 2A、图 2B;造釉细胞型颅咽管瘤穿过膜的细胞远远多于鳞状上皮乳头型颅咽管瘤的细胞,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 2C,说明造釉细胞型颅咽管瘤的细胞比鳞状上皮乳头型颅咽管瘤的细胞更有侵袭性。

2.1.3 免疫荧光检测两组原代细胞中 β -catenin 的表达差异 以 DAPI 染核进行定位。从 Merge 的结果来看, β -catenin 在鳞状上皮乳头型颅咽管瘤中的表达

主要在细胞膜上,而造釉细胞型颅咽管瘤中的表达主要在细胞核中,见图 3。

2.1.4 免疫荧光检测两组原代细胞中 E-cadherin 的表达 以 DAPI 染核进行定位,从 Merge 的结果来看,E-cadherin 在鳞状上皮乳头型颅咽管瘤中的表达高于造釉细胞型颅咽管瘤,见图 4。

2.1.5 WB 检测两组原代细胞中 E-cadherin 和 β -catenin 的表达 与鳞状上皮乳头型颅咽管瘤原代细胞相比,造釉细胞型颅咽管瘤的细胞中 E-cadherin 表达下调,而 β -catenin 表达上调,见图 5。



注:A:PCP;B:ACP;C:ACP 穿过膜的细胞与 PCP 比较,* $P<0.05$

图 2 Transwell 检测 ACP 和 PCP 原代细胞的侵袭能力

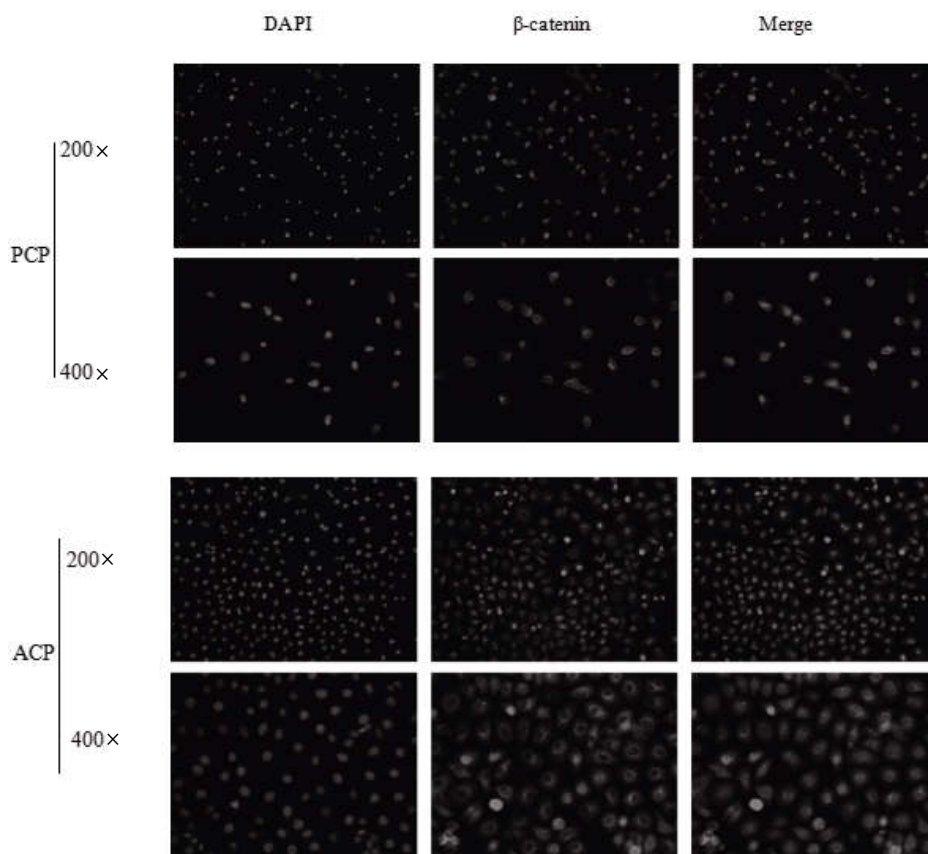


图 3 免疫荧光检测 ACP 和 PCP 原代细胞 β -catenin 的表达

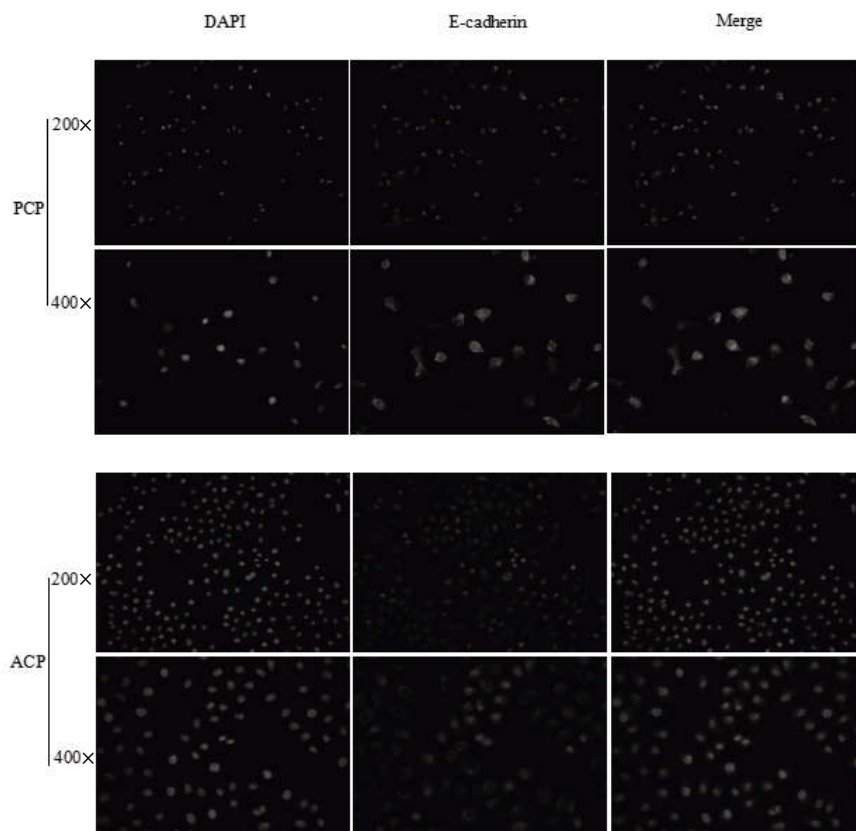


图 4 免疫荧光检测 ACP 和 PCP 原代细胞 E-cadherin 的表达

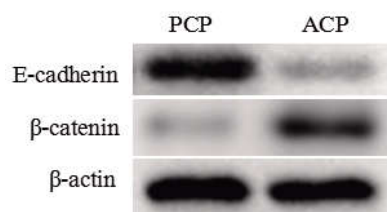


图 5 WB 检测 ACP 和 PCP 原代细胞 E-cadherin 和 β -catenin 的表达

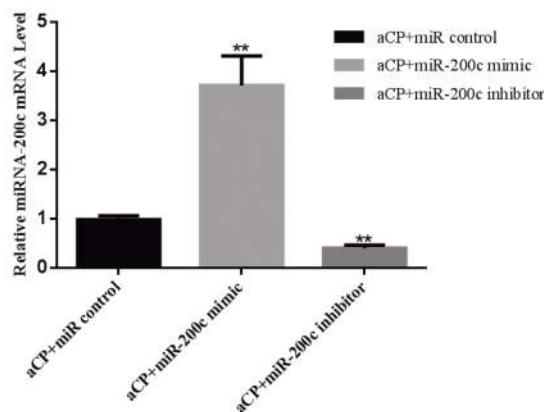
2.2 对造釉细胞型颅咽管瘤原代培养细胞过表达和敲低 miR-200c 对其侵袭性的影响

2.2.1 Q-PCR 检测各组造釉细胞型颅咽管瘤细胞中的 miRNA-200c 表达差异 与对照组相比, 经 mimic, miRNA-200c 表达水平明显升高 ($P<0.01$), 而 inhibitor 干预后 miRNA-200c 表达水平明显下降 ($P<0.01$), 见图 6。

2.2.2 Transwell 检测 miR-200c 对造釉细胞型颅咽管瘤细胞侵袭能力的影响 与对照组相比, 在 miR-200c mimics 组, miR-200c 结晶紫染色细胞数量减少; 而在 miR-200c inhibitor 组, miR-200c 结晶紫染色细胞数量增加, 见图 7A~图 7C。从细胞数量的统计结果来看, 与对照组相比, miR-200c mimics

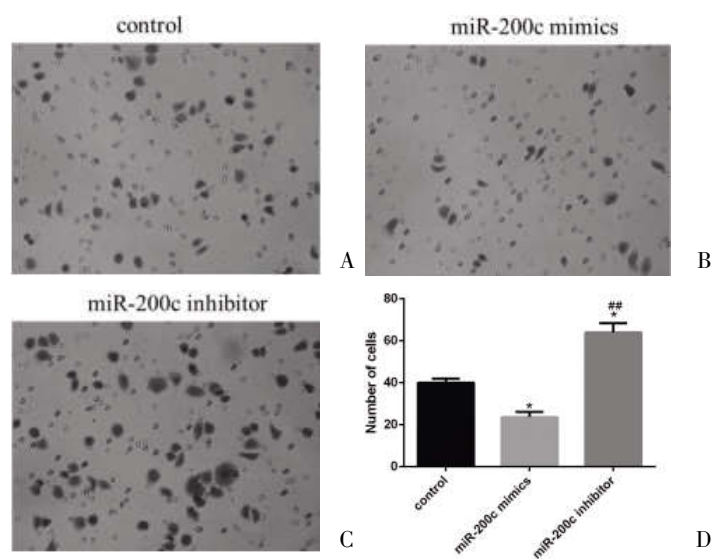
组结晶紫染色细胞数量减少 ($P<0.05$), 而 miR-200c inhibitor 组结晶紫染色细胞数量增加 ($P<0.05$)。miR-200c inhibitor 组细胞数显著多于 miR-200c mimics 组 ($P<0.01$), 见图 7D。

2.2.3 免疫荧光检测 miR-200c 对造釉细胞型颅咽管瘤原代细胞中 β -catenin 和 E-cadherin 的表达影响 过表达 miR-200c 能促进 E-cadherin 的表达, 而抑制 β -catenin 的表达; 抑制 miR-200c 的表达能抑制 E-cadherin 的表达, 促进 β -catenin 的表达, 见图 8。



注: ** $P<0.01$

图 6 各组 miR-200c 表达情况



注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图 7 Transwell 检测细胞侵袭性

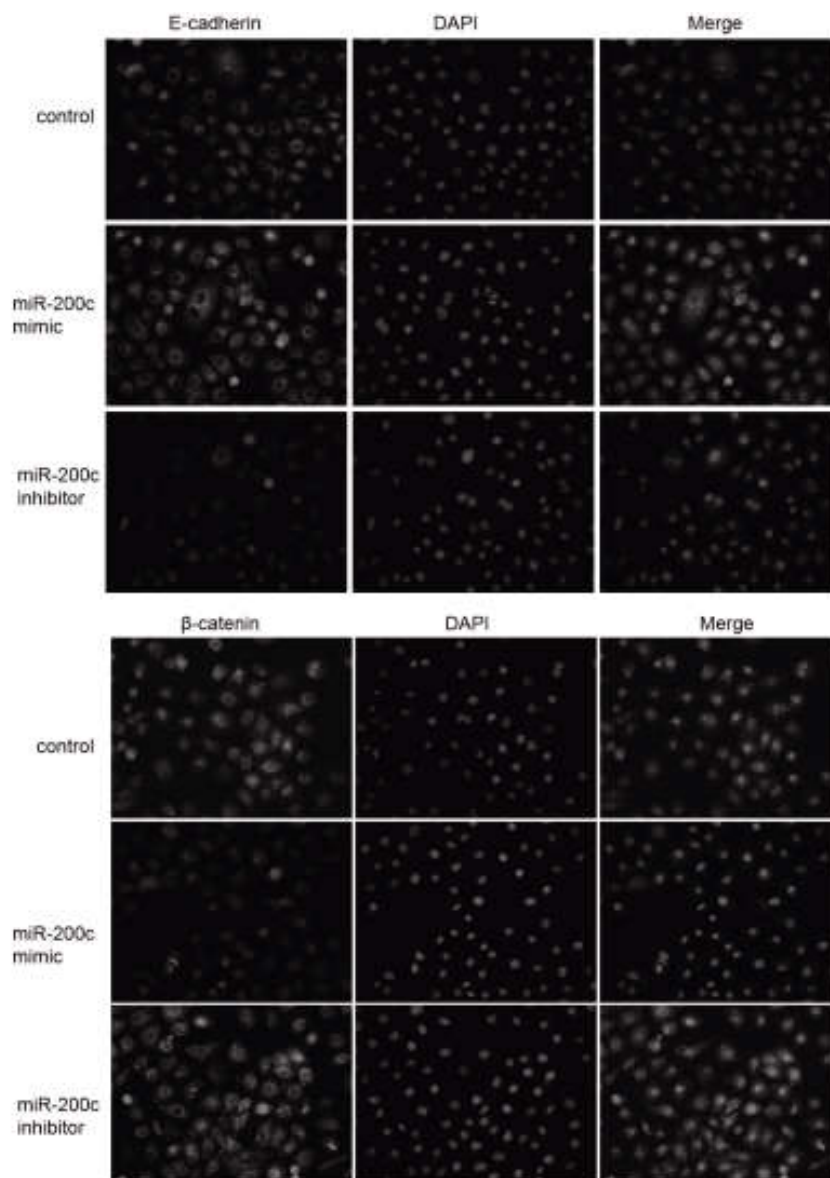


图 8 免疫荧光检测各组 β -catenin 和 E-cadherin 表达情况

2.2.4 Western blot 检测各组细胞 E-cadherin 和 β -catenin 的表达差异 β -catenin 在 miRNA-200c 增高后表达下调, 被抑制后又有恢复性表达, E-cadherin 则相反, 见图 9。

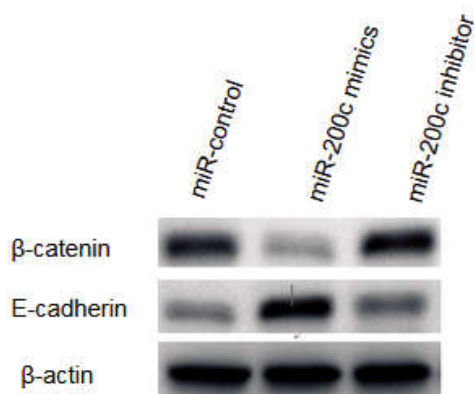


图 9 Western blot 检测各组 β -catenin 和 E-cadherin 表达情况

3 讨论

miRNA-200 家族共有 5 个成员组成, 根据其“种子序列”不同又可分为 2 个亚族: miRNA-200c、miRNA-141 和 miRNA-200a、miRNA-200b 及 miRNA-429, 前者共同序列为 AAUACU, 后者为 AACACU。两者之间相差一个核苷酸(C 和 U), 因它们拥有不同的种子序列, 所以具有不同的结合特异性, 调节的靶基因也有细微的差别, 但它们仍有许多共同的靶基因。miRNA-200c 是 miRNA-200 家族中的一员, 其编码基因位于 12 号染色体上。国内外学者们通过大量研究发现, miRNA-200c 在多种恶性肿瘤中的表达量与正常组织或者癌旁组织有明显差异, 目前已在乳腺癌^[3]、卵巢癌^[4-6]、肝癌^[7,8]、肠癌^[9]、胶质瘤^[10]、胃癌^[11]、肺癌^[12]、胰腺癌^[13]、膀胱癌^[14]等恶性肿瘤中证实。

本课题通过原代细胞培养技术, 分别培养出鳞状上皮乳头型颅咽管瘤及造釉细胞型颅咽管瘤的原代细胞, 利用 qRT-PCR 测定各组 miRNA-200 家族的表达水平发现, 与鳞状上皮乳头型颅咽管瘤相比, 造釉细胞型颅咽管瘤组中 miRNA-200 家族表达整体呈下降趋势, 其中 miRNA-200c 的下降最为明显, 统计学意义极显著 ($P < 0.001$), 因此可能是影响两种不同类型颅咽管瘤侵袭差异的主要原因。

上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT) 是上皮特性的细胞通过一系列的生物学转变

过程后, 细胞极性和粘附性丢失或减弱, 而细胞的迁移能力及细胞的侵袭性明显增强^[15,16]。EMT 是上皮性肿瘤发生迁移和侵袭的重要原因。EMT 的特征性改变包括: E-cadherin 表达降低, 波形蛋白表达升高。E-cadherin 是一种钙依赖性的跨膜糖蛋白, 它能介导同种细胞间相互粘合, 主要分布于上皮细胞的表面, 在维持上皮细胞表型、细胞骨架的稳定性、细胞极型、组织结构的完整性中有重要作用^[17,18]。E-cadherin 表达下降是发生 EMT 的关键一步。本实验中 Western blot 结果显示, 与鳞状上皮乳头型颅咽管瘤原代细胞相比, 造釉细胞型颅咽管瘤的原代细胞中 E-cadherin 表达下调。 β -catenin 是一种多功能、高度保守的细胞骨架蛋白, 由 CTNNB1 编码。 β -catenin 可以存在细胞质、细胞膜和细胞核中, 研究发现正常神经细胞中的 β -catenin 存在于细胞膜中表达, 而造釉细胞型颅咽管瘤中 β -catenin 在细胞膜低表达, 在细胞质及细胞核内过表达, 并且这些细胞多位于实体瘤边缘浸润性较强的位置。本实验通过免疫荧光检测及 Western blot 实验显示, 与鳞状上皮乳头型颅咽管瘤原代细胞相比, 造釉细胞型颅咽管瘤的细胞中 β -catenin 表达上调, 并进入细胞核。E-cadherin/ β -catenin 复合物可使 E-cadherin 集中定位于细胞间的接触部位, 维持细胞的连接及细胞极性^[19]。 β -catenin 可与细胞膜上的 E-cadherin 结合形成复合物, 从而增强细胞间的粘附作用。在造釉细胞型颅咽管瘤原代细胞中, β -catenin 主要分布在细胞质或者细胞核内, 使 E-cadherin/ β -catenin 复合物的形成减少, 进而导致细胞-细胞黏附减弱, 促进肿瘤细胞向周围组织侵袭性生长^[20]。Transwell 实验结果证实与鳞状上皮乳头型颅咽管瘤原代细胞相比, 造釉细胞型颅咽管瘤的原代细胞具有更强的侵袭性。

本实验通过 mimic 过表达或 inhibitor 抑制造釉细胞型颅咽管瘤原代细胞中 miRNA-200c 的表达后发现, 经 mimic 干预后, miRNA-200c 表达水平明显升高; 而经 inhibitor 干预后 miRNA-200c 表达水平明显下降, 出现的表达情况符合预期, 表明可以通过人为干预, 过表达或抑制 miRNA-200c 的表达, 这为后续实验奠定了基础。EMT 使细胞间粘附降低, 增加了细胞的运动性和播散能力。miRNA-200c 在肿瘤上皮间质转化, 进而促进肿瘤侵袭转移过程中起到重要作用^[21]。经免疫荧光检测及 Western blot 检测

发现,过表达 miR-200c 后 E-cadherin 的表达明显增加, β -catenin 的表达明显降低;而抑制 miR-200c 后 E-cadherin 的表达明显降低, β -catenin 的表达升高,且导致 β -catenin 进入细胞核, β -catenin 入核后,E-cadherin/ β -catenin 复合物将会相应减少。E-cadherin 或者 β -catenin 的表达降低,均会影响 E-cadherin/ β -catenin 复合物的形成,使得细胞间的粘附作用降低,细胞极性消失,可能因此增加了细胞的侵袭性。从 Transwell 的实验结果来看,与对照组相比,miR-200c mimics 组结晶紫染色细胞数量减少,而 miR-200c inhibitor 组结晶紫染色细胞数量增加,miR-200c inhibitor 组细胞数显著多于 miR-200c mimics 组,说明过表达 miR-200c 后能够抑制造釉细胞型颅咽管瘤细胞的侵袭性。

综上所述,在造釉细胞型颅咽管瘤中,可能存在这样一个通路,随着造釉细胞型颅咽管瘤 miRNA-200c 表达明显下调,使 E-cadherin 的表达受到了明显抑制,而 β -catenin 则表达增加并入核。E-cadherin 的表达下调,促进了 EMT 的发生, β -catenin 入核后在细胞膜的低表达通过影响 E-cadherin/ β -catenin 复合物的形成,也促进了 EMT 的发生,导致了造釉细胞型颅咽管瘤的侵袭性增加。

参考文献:

- [1]Koutsaki M,Libra M,Spandidos DA,et al.The miR-200 family in ovarian cancer[J].Oncotarget,2017,8(39):66629-66640.
- [2]徐建国,刘亮,饶正西,等.颅咽管瘤细胞系的初步建立[J].四川大学学报(医学版),2011,42(3):417-421.
- [3]Bian X,Liang Z,Feng A,et al.HDAC inhibitor suppresses proliferation and invasion of breast cancer cells through regulation of miR-200c targeting CRKL[J].Biochem Pharmacol,2018,147:30-37.
- [4]魏绮琪,张颖.miR-200c 与卵巢癌关系的研究[J].医学信息,2020,33(3):53-55.
- [5]Pendlebury A,Hannan NJ,Binder N,et al.The circulating microRNA-200 family in whole blood are potential biomarkers for high-grade serous epithelial ovarian cancer [J].Biomed Rep,2017,6(3):319-322.
- [6]张宝玺,刁海丹,李江宁.lncRNAMALAT1 和 miR-200c 在卵巢癌中的表达关系及临床意义 [J].河北医药,2019,41(4):489-493.
- [7]王晓露,张纓,江龙委,等.肝癌组织 miR-200 家族的表达水平及其与免疫检查点分子 PD-L1 的关系 [J].医学研究生学报,2021,34(2):166-170.
- [8]Zhu SH,He XC,Wang L.Correlation analysis of miR-200b, miR-200c, and miR-141 with liver metastases in colorectal cancer patients [J].Eur Rev Med Pharmacol Sci,2017,21(10):2357-2363.
- [9]陈建梅.血浆 miRNAs 预测结肠癌远处转移和化疗耐药性研究[D].长沙:中南大学,2014.
- [10]卢恒聪,李镇宇,邓敏峰,等.复发胶质瘤组织中 miRNA-200c 的表达及作用机制研究[J].中国医学创新,2020,17(12):1-5.
- [11]冯浪.IV 期胃癌肿瘤组织 miR-200c 表达水平与含铂方案化疗疗效及预后的相关性[J].实用癌症杂志,2019,34(5):710-713.
- [12]梁广霞,覃喜团,谢维,等.莱菔硫烷下调 miR-200c 启动子甲基化水平抑制肺腺癌干细胞的干性特征[J].肿瘤防治研究,2021,48(10):934-940.
- [13]马超,丁月超,张锴,等.微小 RNA-200c 对人胰腺癌干细胞上皮-间充质转化的作用[J].中华实验外科杂志,2021,38(3):465-467.
- [14]杨成迪,李鹏,杨潇,等.微小 RNA-200c 对膀胱癌 T24 细胞增殖和细胞周期的影响[J].中华实验外科杂志,2017,34(10):1625-1627.
- [15]Marconi GD,Fonticoli L,Rajan TS,et al.Epithelial-mesenchymal transition (EMT):The type-2 EMT in wound healing,tissue regeneration and organ fibrosis[J].Cells,2021,10(7):1587.
- [16]彭君,彭家清,秦鹏,等.miR-27a-3p 靶向 SnoN 抑制高糖诱导的人近端肾小管上皮细胞 EMT 的作用[J].免疫学杂志,2020,36(1):45-51.
- [17]秦雯,陈泰文,郑海平,等.胰腺腺组织中 SOX4 和 E-cadherin 的表达及临床意义[J].临床与实验病理学杂志,2021,37(10):1160-1165.
- [18]Sommariva M,Gagliano N.E-cadherin in pancreatic ductal adenocarcinoma: a multifaceted actor during EMT [J].Cells,2020,9(4):1040.
- [19]Li S,Liu J,Zheng X,et al.Tumorigenic bacteria in colorectal cancer: mechanisms and treatments[J].Cancer Biol Med,2021,19(2):147-162.
- [20]王佳俐,闫庆涵,陈李鑫,等.PCNP 和 β -catenin 在涎腺腺样囊性癌中的表达及临床意义 [J].临床肿瘤学杂志,2022,27(1):21-25.
- [21]李涛,牛丽娟,李曼,等.肝细胞癌患者血清 miRNA-200c 表达变化及其临床意义[J].山东医药,2017,57(8):67-69.

收稿日期:2022-02-28;修回日期:2022-04-02

编辑/肖婷婷