

# miR-21 及其靶基因 RECK、Smad7 在心脏性猝死心肌组织中的表达及其意义

杨彦华<sup>1</sup> 杨呈伟<sup>2</sup> 韩增磊<sup>1</sup> 徐晓娜<sup>3</sup> 张鹏<sup>4</sup> 张七一<sup>5</sup> 刘德衍<sup>6</sup>

(1 青岛市市立医院病理科, 山东 青岛 266011; 2 上海德达医院医学影像与介入治疗科; 3 青岛市市立医院中心实验室;  
4 青岛大学附属医院消化内科; 5 青岛市市立医院心内科; 6 青岛万方司法鉴定所)

**[摘要]** 目的 观察微小 RNA-21(miR-21)与伴有 Kazal 基序富含半胱氨酸的逆转诱导蛋白(RECK)、Smad7 在心脏性猝死(SCD)心肌组织中的表达水平,并探讨其意义。方法 选择因 SCD 的 20 例心脏标本作为 SCD 组;选取 20 例死因为非心脏疾患的心脏标本作为对照组。应用免疫组织化学染色方法分别检测两组心肌组织中 RECK 和 Smad7 表达,采用荧光定量 PCR 方法检测两组心肌组织中 miR-21、RECK 和 Smad7 的表达。结果 免疫组化染色结果显示,两组心肌组织中 RECK、Smad7 的表达比较,差异均有统计学意义( $Z = -4.008, -2.939, P < 0.05$ );两组心肌组织中 RECK 与 Smad7 的表达水平呈正相关( $r = 0.706, P < 0.05$ )。荧光定量 PCR 方法检测结果显示,SCD 组心肌组织中 miR-21 与 RECK、Smad7 相对表达量均呈负相关( $r = -0.608, -0.681, P < 0.05$ )。结论 SCD 心肌组织中 miR-21 高表达,RECK、Smad7 低表达,miR-21 与 RECK、Smad7 联合应用有望作为诊断 SCD 较为客观的指标。

**[关键词]** 微 RNAs;富含半胱氨酸的逆转诱导蛋白;Smad7 蛋白质;猝死,心脏;心肌;免疫组织化学

**[中图分类号]** R541;R446.6

**[文献标志码]** A

**EXPRESSION AND SIGNIFICANCE OF MICRORNA-21 AND ITS TARGET GENES RECK AND SMAD7 IN MYOCARDIAL TISSUE IN SUDDEN CARDIAC DEATH** YANG Yanhua, YANG Chengwei, HAN Zenglei, XU Xiaona, ZHANG Peng, ZHANG Qiyi, LIU Deyan (Department of Pathology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266011, China)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the expression and significance of microRNA-21 (miR-21), RECK, and Smad7 in myocardial tissue in sudden cardiac death (SCD). **Methods** A total of 20 heart specimens from patients with SCD as SCD group, and 20 cardiac specimens from patients without heart disease were selected as control group. Immunohistochemical staining was used to measure the protein expression of RECK and Smad7 in myocardial tissue, and quantitative real-time PCR was used to measure the mRNA expression of miR-21, RECK, and Smad7 in myocardial tissue. **Results** Immunohistochemical staining showed that there was a significant difference in the expression of RECK and Smad7 in myocardial tissue between the two groups ( $Z = -4.008, -2.939, P < 0.05$ ), and there was a positive correlation between RECK and Smad7 in myocardial tissue ( $r = 0.706, P < 0.05$ ). Quantitative real-time PCR showed that in the SCD group, the relative expression of miR-21 was negatively correlated with that of RECK and Smad7 ( $r = -0.608, -0.681, P < 0.05$ ). **Conclusion** There is high expression of miR-21 and low expression of RECK and Smad7 in myocardial tissue in SCD, and combined measurement of miR-21, RECK, and Smad7 can be used as an objective indicator for the diagnosis of SCD.

**[KEY WORDS]** MicroRNAs; Reversion inducing cysteine rich protein with kazal motifs; Smad7 protein; Death, sudden, cardiac; Myocardium; Immunohistochemistry

目前心血管系统疾病仍然是影响人类健康的主要的疾病之一,由于心血管疾病引起的心脏性猝死(SCD)同样也是法医学检案中常见的重点与难点。现实生活中多见于冠状动脉狭窄导致的急性心肌缺血、缺氧所致的 SCD。miRNA 通过全部或非全部互补配对的方式结合于 mRNA 的 3'非翻译区(3'UTR),从而造成基因降解或者抑制蛋白质翻译,进一步调控基因转录后的表达。研究结果证实,微小 RNA-21(miR-21)不仅参与心血管系统的正常发

育,还参与了心肌肥厚、心律失常、心肌凋亡等多个病理生理进程。当心肌细胞缺血缺氧时,miR-21 表达水平会升高<sup>[1]</sup>,但目前相当多的实验都仅仅局限于动物细胞实验领域,尚缺乏联合检测伴有 Kazal 基序且富含半胱氨酸的逆转诱导蛋白(RECK)、Smad7 在人 SCD 心肌组织中的研究,本研究通过分析尸检标本,探讨 miR-21 以及其靶基因 RECK、Smad7 在心肌组织中表达的差异及相互之间的关系,为临床上 SCD 病人寻找新的精准诊断客观指标以及治疗的靶点,同时也为法医学领域寻找 SCD 早期诊断的生物标志物提供一定的基础。现将研究结果报告如下。

**[收稿日期]** 2019-09-29; **[修订日期]** 2019-10-27

**[基金项目]** 青岛市科技计划基础研究项目(13-1-4-129-jch)

**[通讯作者]** 刘德衍, Email:14570245@qq.com

## 1 材料与方法

### 1.1 材料来源

选取青岛市立医院病理科 2013 年—2018 年尸检标本 40 例,根据死者疾病史、大体解剖情况和病理学检查结果分为两组:①SCD 组 20 例,均为首次发病,为急性发病 24 h 内猝死,经全面系统尸检,每例至少 1 支冠状动脉粥样硬化病变程度达Ⅲ级或Ⅳ级,在充分排除中毒死、电击死、暴力死及其他系统疾病后,经病理学鉴定为 SCD;②正常心肌组织 20 例作为对照组,病人无任何心血管疾病,且死因均被明确为道路交通事故死亡或暴力死亡。本实验所取标本均事先取得家属的知情同意,并且经过医疗机构伦理委员会审核通过。

### 1.2 主要试剂

兔抗人 RECK 多克隆抗体、兔抗人 Smad7 多克隆抗体(北京博奥森生物技术有限公司);MaxVision 检测试剂盒、DAB 显色试剂盒(福州迈新生物技术开发公司);U6 RNA 引物(北京六合华大基因科技有限公司);miRNAPrep Pure FFPE Kit(离心柱型)、miRcute 增强型 miRNA 荧光定量检测试剂盒(SYBR Green)、miRcute miRNA cDNA 第一链合成试剂盒(天根生化科技(北京)有限公司)。

### 1.3 方法

**1.3.1 标本采集** 尸检均在 48 h 内完成,每例标本均选取心室肌组织部分,并置于 40 g/L 甲醛溶液中固定。

**1.3.2 心肌组织染色** 采用自动脱水机对心肌组织梯度乙醇脱水,常规石蜡包埋,5  $\mu\text{m}$  厚切片,分别进行苏木精-伊红(HE)染色及 RECK、Smad7 免疫组织化学染色,操作按照试剂盒说明书要求的步骤进行。免疫组织化学染色结果判断标准:①按照切片中阳性细胞数量占总细胞数量的比例,将阳性细胞占比分为 5 个级别:阴性计 0 分,阳性细胞比例 1%~10%计 1 分,阳性细胞比例 11%~50%计 2 分,阳性细胞比例 51%~75%计 3 分,阳性细胞比例 >75%计 4 分。②结合阳性细胞的染色程度进行分级:不着色计 0 分,淡黄色计 1 分,棕黄色计 2 分,棕褐色计 3 分。采用两项指标计分相乘,对染色结果进行判断:0~2 分为阴性(-),3~4 分为弱阳性(+),6~8 分为阳性(++);9~12 分为强阳性(+++)。

**1.3.3 心肌组织中 miRNA 提取** 石蜡标本行 8  $\mu\text{m}$  厚切片,共 2 张,并迅速置于 1.5 mL RNase-Free 离心管中,二甲苯脱蜡,加无水乙醇洗去二甲

苯。加入裂解液 RF 150  $\mu\text{L}$ 、Proteinase K 10  $\mu\text{L}$  于沉淀中。55  $^{\circ}\text{C}$  孵育 15 min 后,80  $^{\circ}\text{C}$  孵育 15 min。离心后转移上清液至 RNase-Free 离心管中。加入 RDD buffer 16  $\mu\text{L}$ 、DNase I 溶液 10  $\mu\text{L}$  除去 RNA 样品中污染的基因组 DNA。然后加入 RB 缓冲液 320  $\mu\text{L}$ ,涡旋混匀。加入无水乙醇 1 200  $\mu\text{L}$ 。将 700  $\mu\text{L}$  溶液和沉淀加入吸附柱 CR3 中,离心后弃掉废液。将 500  $\mu\text{L}$  漂洗液加入吸附柱 CR3 中,离心后弃废液,将吸附柱 CR3 放回管中。将 CR3 置于室温数分钟,晾干残余漂洗液。将吸附柱 CR3 转入一个新的 RNase-Free 离心管中,向吸附膜的中间部位悬空滴加 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 50  $\mu\text{L}$ ,离心后将收集得到的纯净 miRNA 于 -20  $^{\circ}\text{C}$  保存。

**1.3.4 miRNA 纯度的检测** 取 1 mL 溶解好了的 miRNA,利用紫外分光光度计测定  $A_{260}/A_{280}$  的吸光度,对符合  $A_{260}/A_{280}$  比值 1.80~2.20 的总 RNA 进行下一步逆转录反应。

**1.3.5 miRNA 的逆转录、RT-qPCR 及标准曲线制作** miRcute miRNA cDNA 第一链合成试剂盒采用加 A 尾法进行 miRNA 第一链 cDNA 的逆转录,合成的 cDNA 保存于 -20  $^{\circ}\text{C}$  备用。应用 miRcute 增强型 miRNA 荧光定量检测试剂盒进行相关 RT-qPCR 检测。按照试剂盒说明书配制成 20  $\mu\text{L}$  反应体系,并应用 Prism<sup>®</sup> 7300 型荧光定量 PCR 仪进行扩增。选择 U6 作为内参照。miR-21 上游引物序列:5'-TAGCTTATCAGACTGAT-3',U6 上游引物序列:5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'。扩增条件设置为:94  $^{\circ}\text{C}$  15 min 循环 1 次;94  $^{\circ}\text{C}$  20 s,60  $^{\circ}\text{C}$  34 s,循环 45 次。RT-qPCR 结果计算方法:每个样品设置 3 个复孔,最后采用软件分析  $C_t$  值。本实验中所选择目标基因为 miR-21、RECK、Smad7。用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算相对表达量。

## 2 结果

### 2.1 总 RNA 纯度

所有标本不同条件下抽提的总 RNA(含 miRNA)  $A_{260}/A_{280}$  值为 1.89~2.18。

### 2.2 心肌组织中 RECK、Smad7 免疫组化表达比较

对照组心肌组织 RECK、Smad7 为阳性表达,心肌细胞呈棕黄色(图 1A、B);而 SCD 组心肌组织 RECK 及 Smad7 为阴性表达,心肌细胞不着色(图 1C、D)。两组心肌组织 RECK 及 Smad7 的表达比较,差异均有显著意义( $Z = -4.008, -2.939, P < 0.05$ )。见表 1。

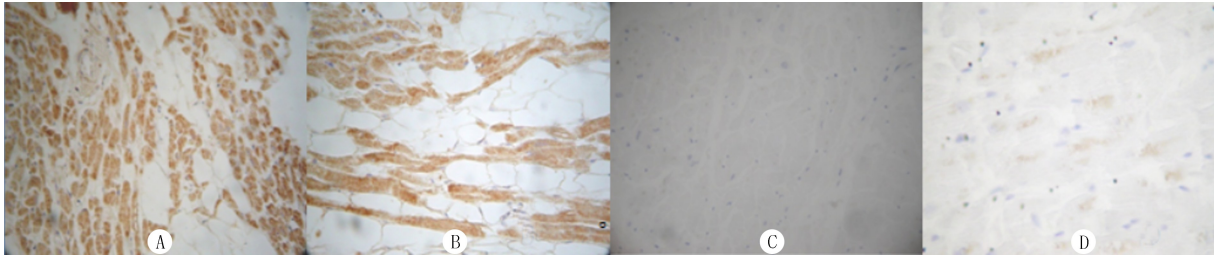
2.3 miR-21、RECK、Smad7 基因在两组心肌组织中的表达情况

RT-qPCR 检测结果显示,以对照组心肌组织中 miR-21、RECK、Smad7 表达水平为 1,SCD 组心肌组织中 miR-21、RECK、Smad7 的表达水平分别为  $10.17 \pm 3.12$ 、 $1.29 \pm 0.18$ 、 $1.10 \pm 0.14$ ,两组心肌组织中 miR-21、RECK、Smad7 表达比较,差异

均有统计学意义( $t = -8.218 \sim -7.152, P < 0.05$ )。

表 1 两组心肌组织中 RECK 及 Smad7 表达比较 (n = 20,例)

组别	RECK 表达				Smad7 表达			
	—	+	++	+++	—	+	++	+++
对照组	3	2	3	12	4	3	4	9
SCD 组	17	1	1	1	15	3	1	1



A、B:对照组心肌组织 RECK、Smad7 为阳性表达,心肌细胞呈棕黄色;C、D:SCD 组心肌组织 RECK、Smad7 为阴性表达,心肌细胞不着色。苏木精染色,400 倍

图 1 对照组及 SCD 组心肌组织中 RECK、Smad7 表达情况

2.4 SCD 组心肌组织中 miR-21 与 RECK、Smad7 的相关性分析

对 SCD 组 miR-21 与 RECK、Smad7 相对表达量进行相关性分析,RT-qPCR 结果显示 miR-21 与 RECK、Smad7 相对表达量呈负相关( $r = -0.608$ 、 $-0.681, P < 0.05$ );免疫组化染色方法结果显示,两组心肌组织中 RECK 与 Smad7 的表达呈正相关关系( $r = 0.706, P < 0.05$ )。

3 讨论

miR-21 作为 miRNA 家族中的一员,可参与多种心血管疾病的发生、发展<sup>[2]</sup>。研究显示,miR-21 在几乎所有的心血管细胞,包括心肌细胞、心肌成纤维细胞、血管平滑肌细胞及内皮细胞中均有表达<sup>[3]</sup>,而且在心肌成纤维细胞中的表达明显高于心肌细胞<sup>[4]</sup>。当心肌受到机械性、缺血性或炎症性损伤时,成纤维细胞被激活,产生过量的细胞外基质,继而导致心肌纤维化形成<sup>[5]</sup>。研究发现,miR-21 在心肌成纤维细胞和纤维化组织中的表达均增加<sup>[6]</sup>。miRNA 在心脑血管疾病、肿瘤、血液系统疾病、肝脏疾病以及代谢性疾病等的发生发展中发挥着关键作用<sup>[7-11]</sup>。余信强等<sup>[12]</sup>研究证实,人 miR-21 基因在心血管系统高度表达,与心室重构过程中心肌细胞凋亡和心肌纤维化的发生相关。

RECK 是新发现的一种膜表面糖蛋白,该基因位于 9p13~p12。RECK 与组织金属蛋白酶抑制剂 (TIMPs)有结构上的同源性。RECK mRNA 在人

正常组织细胞中表达非常广泛,但在癌细胞中表达下调<sup>[13-14]</sup>。目前研究证实,miR-21 在多种实体肿瘤及非实体肿瘤中均呈现高表达,在乳腺癌中也不例外<sup>[15-16]</sup>。郑志伟等<sup>[17]</sup>研究发现,miR-21 可以抑制乳腺癌 MCF-7 细胞 RECK 表达,可能成为判断乳腺癌患者预后的评价指标及肿瘤治疗的新靶点。张佑民<sup>[18]</sup>研究结果证实,miR-21 可通过抑制靶基因 RECK,来促进巨噬细胞中 MMP-9 的表达和分泌,从而导致斑块不稳定。于岚等<sup>[19]</sup>研究发现,miR-21 可以抑制 RECK 的表达,并可以通过两者之间的相互作用,参与胆管癌细胞系 QBC939 的体外侵袭调控,抑制 miR-21 的功能从而抑制胆管癌的进展。闫杨等<sup>[20]</sup>研究证实,甲醛染毒可以升高 miR-21 在肝脏中的表达,并且呈浓度依赖关系,同时可降低 TIMP-3 和 RECK 蛋白的表达,亦呈浓度依赖关系。

李斌等<sup>[21]</sup>研究发现,miR-21 通过对肺癌细胞中 Smad7 表达的靶向调控,进而影响肺癌 A549 细胞活化增殖。WANG 等<sup>[22]</sup>研究发现,过表达 miR-21 可以明显激活成纤维细胞的增殖和分化。薛贻敏等<sup>[23]</sup>研究证实,miR-21 可促进慢性病毒性心肌炎(CVMC)小鼠心肌纤维化,这一作用可能是通过 TGF-β1/Smad7 信号通路介导的。郭东等<sup>[24]</sup>研究证实,miR-21 通过抑制 Smad7 基因表达,激活成纤维细胞,进而促进其增殖与分化。Smad7 基因能抑制 TGF-β 信号转导通路,通过与细胞膜上的 TGF-β 受体竞争性结合,阻断 TGF-β 信号在细胞质内的传导<sup>[25]</sup>。抑制 TGF-β/Smads 信号通路可减轻糖尿病



导致的心肌纤维化<sup>[25]</sup>。郭东等<sup>[24]</sup>研究表明,miR-21 表达在心肌梗死交界区明显上调,通过抑制靶基因 *Smad7* 表达,进而促进 TGF- $\beta$  介导的成纤维细胞增殖与分化,最终促进梗死心肌组织的修复。HE 等<sup>[26]</sup>对心肌纤维化疾病研究发现,给予 TGF- $\beta$ 1 刺激之后,miR-21 表达增多,而 *Smad7* 表达减少,并进一步验证出 *Smad7* 是 *miR-21* 的一个靶基因,而且 TGF- $\beta$ 1 可以通过上调 miR-21 的表达并进而下调 *Smad7* 蛋白的表达,导致 TGF- $\beta$ 1/*Smads* 通路过度活化,从而促进心肌纤维化的发生发展。

本实验以尸检标本为研究对象,探讨了 RECK、*Smad7* 在 SCD 心肌组织中的表达水平,打破了既往以动物模型为研究对象的片面性。已有研究通过生物信息学 targetsan、pictar 及 miRbase 3 个 miRNA 靶基因预测网站获悉 RECK、*Smad7* 是 *miR-21* 的功能性靶基因<sup>[13,14-22]</sup>。本实验通过免疫组织化学染色方法检测了 RECK、*Smad7* 在 SCD 心肌组织的蛋白质表达水平,通过逆转录 cDNA 及 RT-qRNA 验证了 *miR-21*、RECK、*Smad7* 在 SCD 组、对照组的表达水平的差异性。本研究发现对照组心肌组织中 miR-21 表达水平降低,但是 SCD 组心肌组织中 miR-21 表达水平明显升高,相反 RECK、*Smad7* 在对照组表达水平较高,而 RECK、*Smad7* 在 SCD 组表达水平降低。本研究将 miR-21 与 RECK、*Smad7* 的表达进行差异性分析后发现,miR-21 与 RECK、*Smad7* 在 SCD 组、对照组心肌组织中表达均呈负相关,RECK、*Smad7* 在各组中的表达呈正相关。且伴随着心肌组织中 miR-21 表达水平的提高,RECK、*Smad7* 表达水平显著下降。

管文娟等<sup>[27]</sup>研究发现,冠心病患者外周血中 miR-21 高表达,AMI 组血浆 miR-21 表达水平显著高于心绞痛组,且与冠脉病变的严重程度呈正相关。郝谦等<sup>[28]</sup>研究发现,miR-21 参与了冠脉动脉粥样硬化过程,与调控炎症因子、促进炎症反应来影响斑块稳定性有关,miR-21 增高导致冠心病患者心血管事件发生风险增高。多项实验研究证实 miR-21 参与了心血管系统疾病的病理生理进程,在冠心病的病程演变中作用尤其显著,将会成为心血管系统疾病精准诊断与治疗的新靶点。现阶段关于 miR-21 实验研究大多集中在其对功能性靶基因如 TGF- $\beta$ 、MMPs 以及 *Smad* 等的调控上,而上游长链非编码 RNA、环状 RNA 对于 *miR-21* 的表达调控机理、作用机制尚需深入研究<sup>[29]</sup>。

综上所述,miR-21 与 RECK、*Smad7* 三者联合

检测在法医学领域有望作为早期诊断 SCD 生物标志物,同样,在心血管系统疾病的早期诊断和疗效评估等方面可能会有广阔的应用前景。

## [参考文献]

- [1] 刘杰,赵玲琼. MicroRNA-21 的生理作用及其在缺血性心脏病中的研究进展[J]. 西部医学, 2017,29(11):1621-1625.
- [2] DONG S, MA W, HAO B, et al. microRNA-21 promotes cardiac fibrosis and development of heart failure with preserved left ventricular ejection fraction by up-regulating Bcl-2[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014,7(2):565-574.
- [3] ZHANG X Y, SHEN B R, ZHANG Y C, et al. Induction of thoracic aortic remodeling by endothelial-specific deletion of microRNA-21 in mice[J]. PLoS One, 2013,8(3):e59002.
- [4] 唐艳,王梦洪. 微小 RNA-21 对乳鼠心肌细胞凋亡及磷脂酶-张力蛋白同源物/丝氨酸/苏氨酸激酶/叉头蛋白 3a 信号传导通路的影响[J]. 中华心血管病杂志, 2013,41(2):135-142.
- [5] SPRONK H M, DE JONG A M, VERHEULE S, et al. Hypercoagulability causes atrial fibrosis and promotes atrial fibrillation[J]. Eur Heart J, 2017,38(1):38-50.
- [6] CAO W, SHI P, GE J J. miR-21 enhances cardiac fibrotic remodeling and fibroblast proliferation via CADM1/STAT3 pathway[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2017,17(1):88.
- [7] ZHANG Y, LIU Y J, LIU T, et al. Plasma microRNA-21 is a potential diagnostic biomarker of acute myocardial infarction [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2016,20(1):323-329.
- [8] LUO G, LUO W, SUN X, et al. MicroRNA21 promotes migration and invasion of glioma cells via activation of sox2 and betacatenin signaling[J]. Mol Med Rep, 2017,15 (1):187-193.
- [9] SHU X L, FAN C B, LONG B, et al. The anti-cancer effects of cisplatin on hepatic cancer are associated with modulation of miRNA-21 and miRNA-122 expression [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2016,20 (21):4459-4465.
- [10] LI J, ZHAI X W, WANG H S, et al. Circulating microRNA-21, microRNA-23a and microRNA-125b as biomarkers for diagnosis and prognosis of burkitt lymphoma in children[J]. Med SciMonit, 2016,22:4992-5002.
- [11] COSTANTINO S, PANENI F, LUSCHER T F, et al. MicroRNA profiling unveils hyperglycaemic memory in the diabetic heart[J]. Eur Heart J, 2016,37(6):572-576.
- [12] 余信强,张苏川,刘敏,等. 缺血性心脏病患者血浆 miR-21 和 miR-214 的表达及其意义[J]. 东南大学学报(医学), 2017,36 (2):136-141.
- [13] 王金淼,姜涛,戚峰,等. 抑制 microRNA-21 表达降低 HCT-116 细胞侵袭转移能力的实验研究[J]. 天津医科大学学报, 2016,22(1):13-16.
- [14] 广维,尹新江,何春涤. MicroRNA-21 在皮肤鳞状细胞癌中的研究现状[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2014,30(2):87-91.
- [15] PTROVIC N. miR-21 might be involved in breast cancer promotion and invasion rather than in events (下转第 536 页)

并其他部位的子宫内膜异位症且同时具有包括经期尿频、尿痛、血尿等相关泌尿系症状的膀胱结节,应考虑到膀胱子宫内膜异位症的可能。

### [参考文献]

- [1] LEONE ROBERTI MAGGIOR E U, FERRERO S, CANDIANI M, et al. Bladder endometriosis: A systematic review of pathogenesis, diagnosis, treatment, impact on fertility, and risk of malignant transformation[J]. Eur Urol, 2017,71(5):790-807.
- [2] FERNANDESR P, CENTINI G, AFORS K, et al. Standard approach to urinary bladder endometriosis[J]. J Minim Invasive Gynecol, 2018,25(6):955-956.
- [3] GUERRIERO S, AJOSSA S, MINGUEZJ A, et al. Accuracy of transvaginal ultrasound for diagnosis of deep endometriosis in uterosacral ligaments, rectovaginal septum, vagina and bladder: Systematic review and meta-analysis[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2015,46(5):534-545.
- [4] AGARWAL S, KUMAR M, SHARMA A, et al. Deep infiltrating endometriosis of the uterus involving the urinary bladder[J]. BMJ Case Rep, 2018,11(1):e226927.
- [5] 罗勇,赵建华,王晨宇. 10 例膀胱子宫内膜异位症的临床诊疗分析[J]. 国际泌尿系统杂志, 2017,37(6):887-889.
- [6] 梁博,刘晓强,王一,等. 膀胱子宫内膜异位症的诊断与治疗[J]. 中华泌尿外科杂志, 2012,3(12):922-924.
- [7] 赵路阳,胡凌云,黄柯,等. 膀胱子宫内膜异位症诊疗分析[J]. 军医进修学院学报, 2014,35(6):568-570.
- [8] 荣建红,张岩,李学松,等. 泌尿系子宫内膜异位症的诊断及治疗(附 22 例报告)[J]. 北京大学学报(医学版), 2010,42(4):461-464.
- [9] of breast cancer development[J]. Mol Diagn Ther, 2016,20(2):97-110.
- [16] ZHANG C, LIU K, LI T, et al. miR-21: A gene of dual regulation in breast cancer [J]. Int J Oncol, 2016,48(1):161-172.
- [17] 郑志伟,赵树林,杨钰贤,等. 微小核糖核酸-21 对乳腺癌 MCF-7 细胞反转录富含半胱氨酸蛋白表达的调节研究[J]. 转化医学杂志, 2016,5(4):198-202.
- [18] 张佑民. microRNA-21 逆向调控 RECK 促进乳腺癌细胞侵袭转移的研究[J]. 中国实用医药, 2016,11(16):283-286.
- [19] 于岚,刘卫,陈松森,等. MiR-21 通过抑制 RECK 表达促进胆管癌细胞 QBC939 的侵袭[J]. 基础医学与临床, 2012,32(5):510-515.
- [20] 闫杨,孙学国,陈力,等. 甲醛对肝脏 miRNA-21 及其下游 TIMP-3 和 RECK 蛋白的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2016,24(14):2143-2151.
- [21] 李斌,潘跃银,杜瀛瀛. microRNA-21 对肺癌 A549 细胞增殖和 Smad7 表达的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2015,50(12):1766-1769.
- [22] WANG T, ZHOU XT, YU Y, et al. Inhibition of corneal fibrosis by Smad7 in rats after photorefractive keratectomy[J].

- [9] MARCELLIN L, SANTULLI P, BORTOLATO S, et al. Anterior focal adenomyosis and bladder deep infiltrating endometriosis: Is there a link? [J]. J Minim Invasive Gynecol, 2018,25(5):896-901.
- [10] SACCARDI C, VITAGLIANO A, LITTA P. Bladder endometriosis: A summary of current evidence[J]. Minerva Gynecol, 2017,69(5):468-476.
- [11] YILDIRIM D, TATAR C, DOGAN O, et al. Post-cesarean scar endometriosis[J]. Turk J Obstet Gynecol, 2018,15(1):33-38.
- [12] HUDELIST G, TAMMAA A, AAS-ENGM K, et al. Outcome of sonography-based minimally invasive surgery for deep infiltrating endometriosis of the ureter and urinary bladder——A retrospective cohort study[J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 2018,97(3):277-284.
- [14] KERC R, LINK L, LONGC Y. Intravesical endometriosis mimicking bladder cancer[J]. Int Urogynecol J, 2016,27(10):1605-1606.
- [15] YARING Y, VILGELMII A. An interdisciplinary approach to the management of bladder endometriosis[J]. Urologia, 2018(4):118-121.
- [16] GUPTA A, BHATNAGAR A, SETHB N, et al. Bladder endometriosis mimicking TCC——A case report[J]. J Clin Diagn Res, 2016,10(2):PD12-PD13.
- [17] FAUCONNIER A, AUBRY G, FRITEL X. Bladder endometriosis: A rare but challenging condition[J]. Eur Urol, 2017,71(5):808-810.
- [18] SOBOWALE O, RILEY K, RAMAN J, et al. A multi-disciplinary approach for the surgical management of bladder endometriosis[J]. J Minim Invasive Gynecol, 2015,22(6S):S130-S131.

(本文编辑 耿波 厉建强)

(上接第 532 页)

- [23] 薛贻敏,陈明光,陈德伟,等. 微小 RNA-21 在鼠慢性病毒性心肌炎心肌纤维化中的作用[J]. 中华心血管病杂志, 2018,46(6):450-457.
- [24] 郭东,张闰红,肖清萍,等. microRNA-21 通过促进成纤维细胞的增殖和分化调节心肌梗死后的心脏重塑[J]. 天津医药, 2014,42(5):447-450.
- [25] XIN X, LI XH, WU JZ, et al. Pentamethylquercetin ameliorates fibrosis in diabetic Goto-Kakizaki rat kidneys and mesangial cellswith suppression of TGF-beta/Smads signaling[J]. Eur J Pharmacol, 2013,713(1-3):6-15.
- [26] HE X, ZHANG K, GAO X, et al. Rapid atrial pacing induces myocardial fibrosis by down-regulating Smad7 viamicroRNA-21 in rabbit[J]. Heart Vessels, 2016,31(10):1696-1708.
- [27] 管文娟,牛锁成. 冠心病患者外周血 miR-21 的表达及与冠状动脉病变程度的关系[J]. 中国老年学杂志, 2017,37(2):376-378.
- [28] 郝谦,吴慧琴,杨捍卫. microRNA-21 对急性心肌梗死早期诊断及短期预后判断的价值[J]. 西部医学, 2018,30(9):1356-1358.
- [29] 张倩,宋林声,赵新湘,等. MicroRNA-21 与冠心病相关性的研究进展[J]. 心血管病学进展, 2018,39(4):598-601.

(本文编辑 厉建强)