

· 基础研究 ·

## miR-23a-5p对脑缺血再灌注氧化损伤的抑制作用研究

黄荣<sup>1,2</sup>, 马娟<sup>3</sup>, 牛博<sup>1</sup>, 李晋<sup>1</sup>, 常剑<sup>1</sup>, 张岩睿<sup>1</sup>, 刘鹏<sup>1</sup>, 栾新平<sup>2\*</sup><sup>1</sup>新疆医科大学第五附属医院神经外科, 新疆 乌鲁木齐 830054; <sup>2</sup>新疆医科大学第二附属医院神经外科, 新疆 乌鲁木齐 830028; <sup>3</sup>新疆医科大学第一附属医院神经外科, 新疆 乌鲁木齐 830011

**[摘要]** 目的:探讨 miR-23a-5p 对大鼠脑缺血再灌注氧化应激反应的抑制作用。方法:应用 qPCR 技术检测大鼠中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)SD 大鼠模型中 miR-23a-5p 的表达水平。使用 miR-23a-5p 过表达慢病毒注射 MCAO 大鼠,设置假手术组、对照病毒组和 miR-23a-5p 病毒组。Berdron 评分与 2,3,5-三苯基氯化四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazolium-chloride, TTC)染色检测大鼠的神经损伤和脑梗死体积。化学比色法测定总超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)与锰超氧化物歧化酶(manganese superoxide dismutase, MnSOD)含量, ELISA 检测 3-硝基酪氨酸(3-nitrotyrosine, 3-NT)与一氧化氮(nitric oxide, NO)含量。采用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理大鼠中枢神经细胞 B35 细胞,构建氧化损伤模型。使用 miR-23a 模拟物转染细胞,设置对照组、miR-23a 组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + miR-23a 组。化学比色法检测总 SOD 与 MnSOD 含量, ELISA 检测 3-NT 与 NO 含量。结果: MCAO 大鼠缺血再灌注后, miR-23a-5p 的表达迅速降低,随后逐渐升高。miR-23a-5p 过表达后可降低 Berdron 评分与脑梗死体积,降低大鼠血清中 3-NT 与 NO 含量,提高总 SOD 和 MnSOD 含量。B35 细胞中 miR-23a-5p 过表达降低 3-NT 与 NO 胞内水平,上调总 SOD 和 MnSOD 水平。结论:miR-23a-5p 可以抑制脑缺血再灌注氧化损伤。

**[关键词]** 微小 RNA; 脑缺血再灌注; 氧化损伤**[中图分类号]** R363**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2020)11-1612-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20201107

## The inhibitory effects of miR-23a-5p on oxidative damage induced by cerebral ischemia and reperfusion

HUANG Rong<sup>1,2</sup>, MA Juan<sup>3</sup>, NIU Bo<sup>1</sup>, LI Jin<sup>1</sup>, CHANG Jian<sup>1</sup>, ZHANG Yanrui<sup>1</sup>, LIU Peng<sup>1</sup>, LUAN Xinping<sup>2\*</sup><sup>1</sup>Department of Neurosurgery, the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054;<sup>2</sup>Department of Neurosurgery, the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830028;<sup>3</sup>Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

**[Abstract]** **Objective:** This study aims to investigate the inhibitory effect of miR-23a-5p on oxidative stress in rats with cerebral ischemia-reperfusion. **Methods:** The expression of miR-23a-5p in middle cerebral artery occlusion(MCAO) rat model was detected by qPCR assay. MCAO rats were injected with miR-23a-5p lentivirus and 3 groups were seted: Sham group, NC virus group and miR-23a-5p virus group. The nerve damage were evaluated by Berdron score and cerebral infarction volume were evaluated by 2, 3, 5-triphenyltetrazoliumchloride (TTC) staining. The total superoxide dismutase (SOD) and manganese superoxide dismutase (MnSOD) contents were determined by chemical colorimetry. The contents of 3-nitrotyrosine (3-NT) and nitric oxide (NO) were detected by ELISA. B35 cells, the central nerve cells of rats, were treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to establish oxidative damage mode and 4 groups were seted: control group, miR-23a group, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+miR-23a group. The total SOD and MnSOD contents were detected by chemical colorimetry, and the contents of 3-NT and NO were detected by ELISA. **Results:** After ischemia-reperfusion in MCAO rats, the expression of miR-23a-5p decreased rapidly and then gradually increased. *In vivo*, the overexpression of miR-23a-5p reduced the Berdron score and cerebral infarction volume, decreased the 3-NT and NO levels in serum, increased the total SOD and MnSOD levels. In B35 cells, the overexpression of miR-23a-5p decreased the intracellular levels of 3-NT and NO whereas increased the levels of total SOD and MnSOD. **Conclusion:** miR-23a-5p can inhibit oxidative damage induced by cerebral ischemia and reperfusion.

**[Key words]** microRNA; cerebral ischemia reperfusion; oxidative stress

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(11): 1612-1616, 1627]

**[基金项目]** 新疆维吾尔自治区创新环境(人才、基地)建设专项(自然科学基金)联合基金(2018D01C302)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: luanxinping4324177@163.com

以缺血性脑卒中为代表的脑血管病已成为国民致残和死亡的首要原因<sup>[1]</sup>。对缺血性脑血管疾病抢救和治疗过程的研究发现,造成脑部组织损伤的主要原因并非缺血本身,而是血液恢复供应后,过量的自由基攻击组织细胞造成的缺血再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤<sup>[2-3]</sup>。I/R发生以后,脑细胞中线粒体会产生大量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)并迅速消耗内源性抗氧化剂,大量的ROS导致线粒体肿胀、细胞损伤和死亡<sup>[4-5]</sup>。此外活性氧还可通过消耗超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)导致抑制细胞凋亡的信号通路分子关闭,间接导致大脑损伤<sup>[6]</sup>。因此,对I/R氧化损伤调控机制的研究极为重要。

微小RNA(microRNA, miR)是一类长22~25个核苷酸的内源性非编码单链RNA,可通过与靶基因mRNA的3'-UTR区互补配对形成RNA诱导沉默复合体而抑制靶基因转录或导致靶mRNA降解,从而调控靶基因表达<sup>[7]</sup>。近来还有研究发现miR参与I/R氧化损伤调控过程,抑制氧化应激,减轻I/R损伤<sup>[8]</sup>, Zhang等<sup>[9]</sup>发现可通过下调Fas/FasL抑制I/R损伤诱导的细胞凋亡。课题组前期对Gene Expression Omnibus(GEO)数据库脑组织相关芯片GSE46269中的miR表达进行分析,结果表明miR-23a-5p在脑I/R损伤后表达有显著差异,因此本研究聚焦于miR-23a-5p在I/R损伤中的抑制作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

SD大鼠,雄性,体重180~220 g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司。实验操作符合3R原则,经新疆医科大学第五附属医院伦理委员会批准。

大鼠中枢神经细胞B35(ATCC细胞库,美国)。RPMI-1640培养基、DMEM培养基、胎牛血清(Gibco公司,美国)。miR-23a-5p模拟物(miR-23a-5p mimics)及对照模拟物(NC mimics)(上海吉玛制药技术有限公司);miR-23a过表达慢病毒(湖南沅睿生物技术有限公司);qPCR实验所用引物(长沙赢润生物技术有限公司);2,3,5-三苯基氯化四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazoliumchloride, TTC)染料、3-硝基酪氨酸(3-nitrotyrosine, 3-NT)和一氧化氮(nitric oxide, NO)检测试剂盒(上海生工生物工程股份有限公司),SOD和锰超氧化物歧化酶(manganese superoxide dismutase, MnSOD)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

实时荧光定量PCR(quantitative real-time PCR, qPCR)仪、电泳仪、电泳槽、标准湿式转膜装置(Bio-Rad公司,美国);RM6240生理记录仪(成都仪器厂);脑立体定位仪(Stoelting公司,美国)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 动物模型建立

取30只SD大鼠,随机分成5组:对照组、假手术组、I/R 1 h组、I/R 4 h组、I/R 24 h组,每组6只。后3组采用Ansari等<sup>[10]</sup>报道的不开颅的血管内栓线法构建大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型。对照组不做任何处理,假手术组只手术不栓塞血管。采用激光多普勒血流仪监测局部脑血流,术中红外线照射大鼠保暖并使用生理记录仪实时监测大鼠体温和生理指标。分别在I/R后1 h、4 h、24 h处死大鼠,采集各组脑组织,检测miR-23a-5p表达。

#### 1.2.2 慢病毒侧脑室注射

另取18只SD大鼠,随机分为3组:假手术组、MCAO+pLVX-NC组、MCAO+pLVX-miR-23a组,每组6只。后两组分别注射慢病毒pLVX-NC和pLVX-miR-23a。首先将麻醉后的大鼠头部在定位仪上固定,头部中央开一小口,参照bregma和lambda定位,染料定点、打孔后,注射2  $\mu$ L浓缩慢病毒。消毒后缝合。注射病毒后3 d进行MCAO造模,假手术组只手术不栓塞血管。分别在I/R后1、4、24 h检测大鼠神经功能评分。I/R 24 h后处死大鼠,采集各组脑组织,检测脑梗死体积、miR-23a-5p表达和氧化损伤指标。

#### 1.2.3 神经功能评分

参照Bederon评分方法<sup>[11]</sup>,对实验大鼠的神经功能进行评分。无任何损伤症状记“0”分;对侧前爪伸展障碍记“1”分;不转圈、伴有前爪屈曲对侧压抵抗记“2”分;向左转圈、伴有前爪屈曲对侧压抵抗记“3”分;行走中无自发活动或大鼠死亡记“4”分。

#### 1.2.4 脑梗死体积检测

断头法将大鼠头部剪断并取出大脑组织。置于-20  $^{\circ}$ C冰箱,速冻20 min,后行连续2 mm冠状切片,每只大鼠脑组织切成薄片,取6片使用质量分数2%的TTC溶液染色,剩余部分留作后续实验。37  $^{\circ}$ C孵育30 min后,使用4%的多聚甲醛对切片进行固定处理24 h。因TTC属于脂溶性光敏复合物,与脱氢酶反应而呈红色,缺血组织脱氢酶活性极低,染色后呈苍白色,通过图像分析软件Image J 1.41计算脑梗死区域。脑梗死体积比=[左侧大脑半球面积-

(右侧大脑半球面积-梗死部分面积)/左侧大脑半球面积×100%。

### 1.2.5 qPCR 实验

取 50 mg 大鼠脑组织块置于研钵中研磨,加入 1 mL TRIzol 提取总 RNA,其后使用 U6-R 与 miR-23a-RT 引物进行反转录获取 qPCR 检测的专用模板。严格遵从 SYBR green qPCR 检测试剂盒所需的步骤进行操作。使用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  的方法计算相对表达水平,实验涉及引物序列信息见表 1。

表 1 研究中所用的引物

Table 1 Primers used in this study	
名称	序列(5'→3')
rno-miR-23a-5p -RT	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGG-TATTCGCACTGGATACGACAAATCC
rno-miR-23a-5p -R	CAGTGCAGGGTCCGAGGT
rno-miR-23a-5p -F	GGGGTTCCTGGGGATG
U6-F	CTCGCTTCGGCAGCAC
U6-R	AACGCTTCACGAATTGCGT

### 1.2.6 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化损伤细胞模型

B35 细胞采用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基培养。使用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理细胞,模拟氧化损伤。将 B35 细胞接种至 6 孔板中,随机分为 4 组:对照组(转染 NC mimics)、miR-23a 组(转染 miR-23a-5p mimics)、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组(转染 NC mimics 后 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理细胞)、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+miR-23a 组(转染 miR-23a-5p mimics 后 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理细胞)。各组细胞转染 NC mimics 或 miR-23a-5p mimics 后培养 48 h。后 2 组细胞加入终浓度为 100 μmol/L 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 培养 4 h。收集各组细胞,检测氧化损伤指标。

### 1.2.7 3-NT、NO、总 SOD 和 MnSOD 含量测定

组织使用匀浆器研磨,离心后取上清液进行检测。细胞使用液氮反复冻融,离心后取上清进行检测。采用化学比色法测定脑组织和细胞中的总 SOD 与 MnSOD 含量,ELISA 检测 3-NT 与 NO 含量。

### 1.3 统计学方法

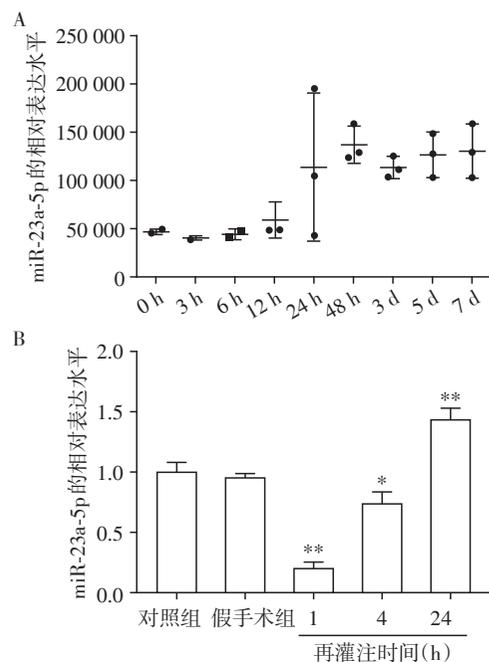
所有实验数据均以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,由 SPSS17.0 统计软件分析处理。格拉布斯准则去除逸出值后,行方差分析,两两比较使用 LSD-*t* 检验。对神经评分进行非参数统计。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 miR-23a-5p 在 MCAO 大鼠脑梗死核心中的表达

课题组前期对 GEO 数据库脑组织相关芯片

GSE46269 中的 miRNA 表达进行分析,分析结果表明在脑 I/R 损伤后 miR-23a-5p 表达有显著差异(图 1A)。采用 qPCR 检测 MCAO 大鼠模型脑梗死核心中 miR-23a-5p 的表达水平(图 1B)。假手术组和对照组脑梗死核心中 miR-23a-5p 的表达水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ );I/R 1 h 和 I/R 4 h 组中 miR-23a-5p 的表达水平出现显著下调( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ),I/R 24 h 组中 miR-23a-5p 则出现上调。以上结果表明 I/R 发生后 miR-23a-5p 先降低后回升。



A: GEO 数据库中 miR-23a-5p 脑 I/R 损伤表达分析;B: miR-23a-5p 在 MCAO 大鼠脑梗死核心中的表达水平变化。与对照组相比, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  ( $n=6$ )。

图 1 miR-23a-5p 在脑 I/R 损伤中的表达

Figure 1 Expression of miR-23a-5p in brain I/R injury

### 2.2 miR-23a-5p 对大鼠 I/R 神经功能评分及脑梗死体积比的影响

为探讨 miR-23a-5p 在脑 I/R 损伤中的作用,对实验大鼠行 miR-23a-5p 过表达慢病毒侧脑室注射,给药 3 d 后构建 MCAO 模型,再灌注 24 h 后通过 TTC 染色观察脑梗死体积,Bederson 评分法评价大鼠神经功能。结果显示注射 pLVX-miR-23a 的大鼠脑组织 miR-23a-5p 的表达水平显著高于注射对照慢病毒 pLVX-NC ( $P < 0.01$ , 图 2A)。图 2B 为 TTC 染色结果,红色为正常脑组织,白色为梗死脑组织。图 2C 为 TTC 染色的脑梗死体积定量分析,结果显示注射 pLVX-miR-23a 的 MCAO 大鼠脑梗死体积比为 36.5%,相比注射 pLVX-NC 的 MCAO 大鼠(58.8%)

明显降低。图2D为以上各组大鼠的神经功能评分结果,I/R后1、4、24 h,大鼠的神经功能评分均发生下降,并且注射pLVX-miR-23a可显著降低大鼠的神经功能评分。假手术组脑组织无梗死,梗死率为0%;神经无损伤,神经功能评分为0,未进行统计作图。以上实验结果提示miR-23a-5p过表达对神经功能产生了改善作用。

### 2.3 miR-23a-5p对大鼠氧化损伤的影响

氧化损伤是I/R发生后脑部组织受损的主要原因,而血清中NO与3-NT的水平可揭示I/R损伤中活性氮的活性强弱,总SOD与MnSOD的含量变化可反映脑组织氧化损伤的程度。注射pLVX-NC的MCAO模型大鼠相较于假手术组,NO与3-NT含量显著上升( $P$ 均 $< 0.01$ ,图3A、B),总SOD与MnSOD含量发生下调( $P$ 均 $< 0.01$ ,图3C、D);而注射pLVX-miR-23a的大鼠相较于注射pLVX-NC的大鼠,NO与3-NT含量显著下降( $P$ 均 $< 0.01$ ,图3A、B),总SOD与MnSOD含量发生上调( $P$ 均 $< 0.05$ ,图3C、D)。以

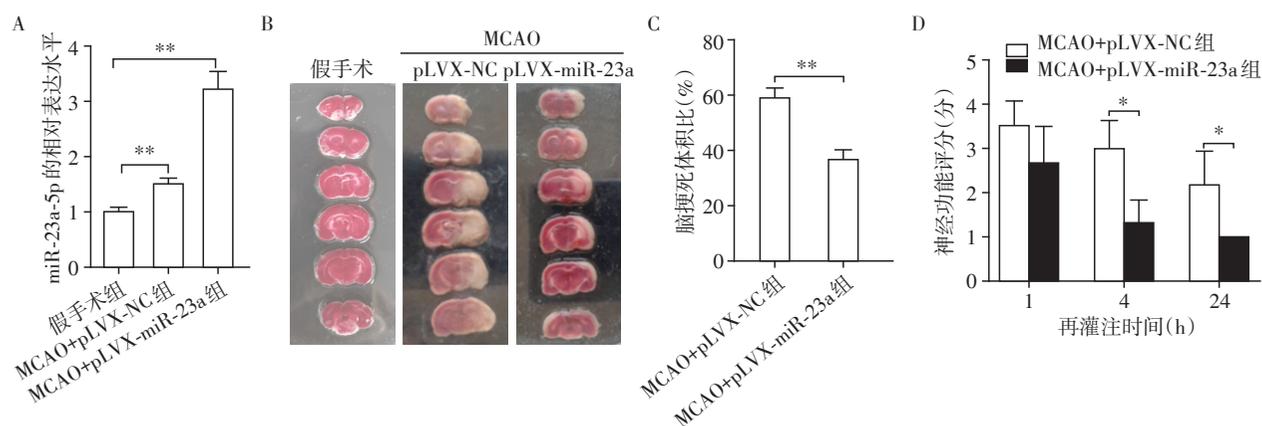
上结果表明与假手术组相比,MCAO模型大鼠氧化损伤程度加重,而miR-23a-5p过表达对氧化损伤有保护作用。

### 2.4 miR-23a-5p对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导的氧化损伤的影响

使用H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导B35细胞产生氧化损伤,观察miR-23a-5p mimics转染对B35氧化损伤的作用。如图4所示,miR-23a组相较于对照组,细胞内NO和3-NT水平下降( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),而总SOD和MnSOD水平升高( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ );H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组相较于对照组,细胞内NO和3-NT水平均升高( $P$ 均 $< 0.05$ ),而总SOD和MnSOD水平降低( $P$ 均 $< 0.01$ );H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+miR-23a组相较于H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组,细胞内NO和3-NT水平降低( $P$ 均 $< 0.01$ ),而总SOD和MnSOD水平升高( $P$ 均 $< 0.01$ )。结果表明miR-23a-5p过表达对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导的氧化损伤具有保护作用。

## 3 讨论

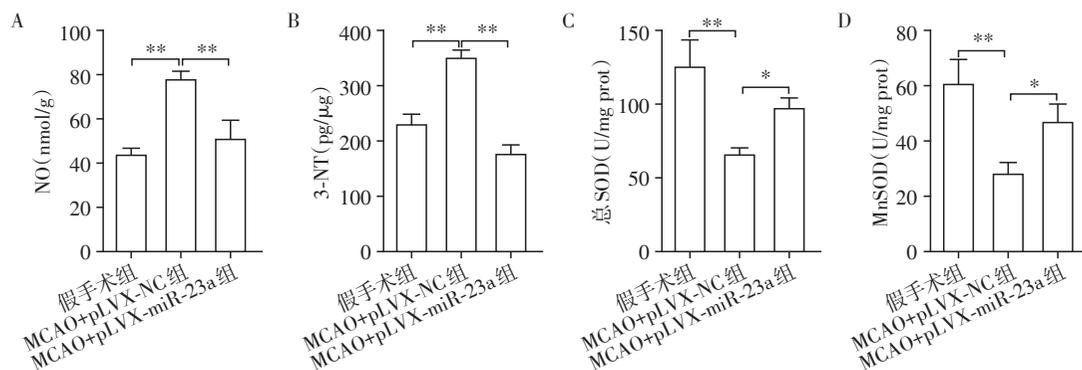
近几十年来对缺血性脑卒中的诊断和治疗取



A: pLVX-miR-23a过表达效率检测;B、C: TTC染色分析miR-23a-5p过表达对MCAO大鼠脑梗死体积比的影响;D: miR-23a-5p过表达对大鼠神经功能评分的影响。两组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ( $n=6$ )。

图2 miR-23a-5p过表达对I/R神经功能评分及脑梗死体积比的影响

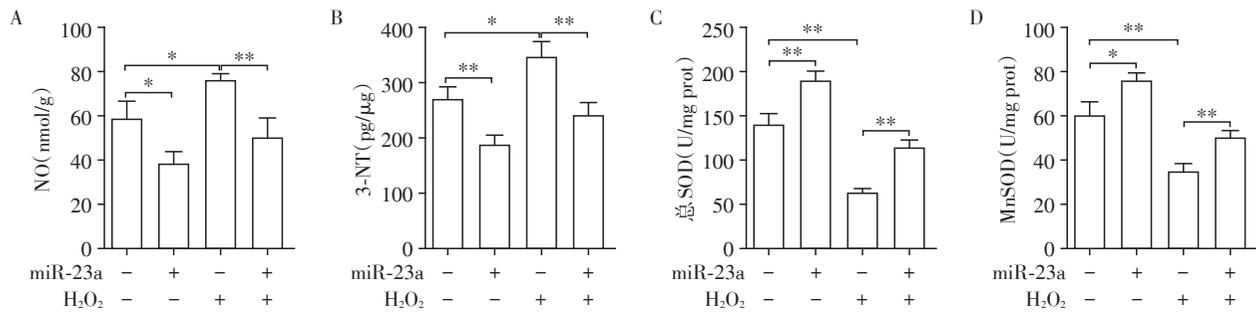
Figure 2 Effects of miR-23a-5p overexpression on I/R neural function score and cerebral infarction volume ratio



A: 各组NO水平比较;B: 各组3-NT水平比较;C: 各组总SOD水平比较;D: 各组MnSOD水平比较。两组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ( $n=6$ )。

图3 miR-23a-5p过表达对MCAO大鼠氧化损伤的影响

Figure 3 Effects of miR-23a-5p overexpression on oxidative damage in MCAO rats



A: 各组 NO 水平比较; B: 各组 3-NT 水平比较; C: 各组总 SOD 水平比较; D: 各组 MnSOD 水平比较。两组比较, \**P* < 0.05, \*\**P* < 0.01 (*n* = 6)。

图4 miR-23a-5p对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导的氧化损伤的影响

Figure 4 Effects of miR-23a-5p on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative damage

得了极大飞跃,在有效时间窗内采取溶栓或血管内治疗等再灌注治疗手段可挽救脑部缺血半暗带区细胞,减轻患者神经功能受损状况,提高患者生存率和预后,但血管再通导致的I/R损伤又将加剧患者脑组织损伤。随着近年来对I/R损伤机制研究的不断深入,现已发现氧化应激是I/R损伤的主要原因,过强的氧化应激可导致神经细胞细胞膜或膜上脂质、蛋白质、核酸变性,导致神经细胞凋亡。

miR已被证实可在中枢神经系统中表达,并具有维持神经细胞生长和神经系统发育的功能。如Weng等<sup>[12]</sup>研究发现脑组织中具有大量的miR-124、miR-219、miRNA-346,其中miR-124可介导神经生长、分化、发育,防止脑组织受损等功能。本研究借助qPCR验证miR-23a-5p在模型大鼠I/R后表达先下降,随着再灌注时间的延长,表达上升,同时前期通过分析GEO数据库脑组织相关芯片GSE46269,结果表明miR-23a-5p在脑I/R氧化损伤后表达有显著差异,这些结果表明miR-23a-5p可能参与I/R损伤。通过构建过表达慢病毒和侧脑室注射,使得miR-23a-5p在大鼠脑组织中高表达,然后行TTC染色和Bederon评分法研究该分子对大鼠I/R神经功能评分及脑梗死体积比的影响,结果显示注射pLVX-miR-23a的MCAO大鼠脑梗死体积比和神经功能评分均显著低于注射pLVX-NC组,提示miR-23a-5p过表达对神经功能产生了一定的改善作用。

脑I/R可产生大量的自由基,然而神经系统本身抗氧化物质相对匮乏,且含有大量对氧自由基敏感的多不饱和脂肪酸,因而脑细胞极易受氧自由基的侵袭<sup>[13]</sup>。以NO和3-NT为代表的活性氮是自由基的重要组成部分,它们可激活基质金属蛋白酶,破坏血脑屏障,是氧化应激检测的主要指标之一<sup>[14-15]</sup>,而抗氧化酶SOD是细胞内天然的氧自由基清除剂<sup>[16]</sup>,在

氧化应激失衡时总SOD和MnSOD含量降低,可由此反映脑组织受到氧化损伤的程度。相较于注射空载慢病毒组的大鼠,注射miR-23a-5p过表达慢病毒的大鼠NO与3-NT含量显著下降,而总SOD与MnSOD含量上调,以上结果表明miR-23a-5p可通过抑制氧化应激损伤减轻I/R引起的神经功能损伤。

在大鼠中枢神经B35细胞中进一步验证miR-23a-5p对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导的细胞氧化损伤的保护作用。通过构建体外氧化应激细胞模型,在细胞实验中发现miR-23a-5p过表达对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导的氧化损伤具有较好的保护作用。

综上所述,miR-23a-5p可有效地抑制氧化应激损伤,减轻I/R引起的神经功能损伤。这提示miR-23a有望成为脑I/R损伤的治疗靶点,为脑血管类疾病的治疗开辟新的方向。

[参考文献]

- [1] HU X, DE SILVA T M, CHEN J, et al. Cerebral vascular disease and neurovascular injury in ischemic stroke [J]. *Circ Res*, 2017, 120(3): 449-471
- [2] BACH D H, HONG J Y, PARK H J, et al. The role of exosomes and miRNAs in drug-resistance of cancer cells [J]. *Int J Cancer*, 2017, 141(2): 220-230
- [3] CADENAS S. ROS and redox signaling in myocardial ischemia - reperfusion injury and cardioprotection [J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 117(3): 76-89
- [4] HOLZE C, MICHAUDEL C, MACKOWIAK C, et al. Oxceptosis, a ROS-induced caspase-independent apoptosis-like cell-death pathway [J]. *Nat Immunol*, 2018, 19(2): 130-140
- [5] AN X, FU Z, MAI C, et al. Increasing the TRPM2 channel expression in human neuroblastoma SH-SY5Y cells augments the susceptibility to ROS-induced cell death [J].

(下转第1627页)

- [10] GUO H, LIU S, GUO J, et al. Rapid on-site evaluation during endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for the diagnosis of hilar and mediastinal lymphadenopathy in patients with lung cancer. *Cancer Lett*[J]. 2016,371(2):182-186
- [11] GRIFFIN A C, SCHWARTZ L E, BALOCH Z W. Utility of on-site evaluation of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration specimens [J]. *Cytojournal*, 2011,8(1):20
- [12] NAKAJIMA T, YASUFUKU K, SAEGUSA F, et al. Rapid on-site cytologic evaluation during endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for nodal staging in patients with lung cancer [J]. *Ann Thorac Surg*, 2013,95(5):1695-1699
- [13] TRISOLINI R, CANCELLIERI A, TINELLI C, et al. Randomized trial of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration with and without rapid on-site evaluation for lung cancer genotyping [J]. *Chest*, 2015, 148(6):1430-1437
- [14] JAIN D, ALLEN T C, AISNER D L, et al. Rapid on-site evaluation of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspirations for the diagnosis of lung cancer: a perspective from members of the pulmonary pathology society [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2018,142(2):253-262
- [15] SIMON M, POP B, TOMA I L, et al. The use of EBUS-TBNA and ROSE in the diagnosis of lung cancer [J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2017,58(1):79-87
- [16] YASUFUKU K, PIERRE A, DARLING G, et al. A prospective controlled trial of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration compared with mediastinoscopy for mediastinal lymph node staging of lung cancer [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2011, 142 (6) : 1393-1400
- [收稿日期] 2020-06-07

(上接第1616页)

- Cells, 2019,8(1):28
- [6] WEI L F, ZHANG H M, WANG S S, et al. Changes of MDA and SOD in brain tissue after secondary brain injury with seawater immersion in rats [J]. *Turk Neurosurg*, 2016,26(3):384-388
- [7] 仲 晨,朱 勤. miR-558 靶向 TNFAIP1 调控肝癌的生长 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2019,39(8): 1172-1176
- [8] 房裕钞,王黎洲,黄学卿,等. 微小RNA-155 通过 Notch 信号通路对脑缺血-再灌注损伤的影响 [J]. *介入放射学杂志*, 2019,28(7):661-668
- [9] ZHANG J F, SHI L L, ZHANG L, et al. MicroRNA-25 negatively regulates cerebral ischemia/reperfusion injury-induced cell apoptosis through Fas/FasL pathway [J]. *J Mol Neuro*, 2016,58(4):507-516
- [10] ANSARI S, AZARI H, MCCONNELL D J, et al. Intraluminal middle cerebral artery occlusion (MCAO) model for ischemic stroke with laser doppler flowmetry guidance in mice [J]. *J Visual Exp*, 2011,51(51):e2879-e2879
- [11] 乔 琳,胡 彬,常明则,等. 两种神经功能评分评价大鼠局灶性脑缺血模型的初步研究 [J]. *山西医科大学学报*, 2012,43(12):893-895
- [12] WENG H, SHEN C, HIROKAWA G, et al. Plasma miR-124 as a biomarker for cerebral infarction [J]. *Biomed Res*, 2011,32(2):135-141
- [13] SAKAYORI N, KIKKAWA T, TOKUDA H, et al. Maternal dietary imbalance between omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids impairs neocortical development via epoxy metabolites [J]. *Stem Cells*, 2016,34(2):470-482
- [14] WANG W, SHANG C, ZHANG W, et al. Hydroxytyrosol NO regulates oxidative stress and NO production through SIRT1 in diabetic mice and vascular endothelial cells [J]. *Phytomedicine*, 2019,52(1):206-215
- [15] AKSOY A, KURNAZ S. An investigation of oxidative stress and coenzyme Q10 levels in patients with head and neck squamous cell carcinomas [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2019,276(4):1197-1204
- [16] LEONG P K, CHEN J, CHAN W M, et al. Acute pre-/post-treatment with 8th day SOD-like supreme (a free radical scavenging health product) protects against oxidant-induced injury in cultured cardiomyocytes and hepatocytes *in vitro* as well as in mouse myocardium and liver *in vivo* [J]. *Antioxidants (basel)*, 2017,6(2):28
- [收稿日期] 2019-09-19