

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.36.018

## miRNA-126-3p 与先天性心脏病肺动脉高压发病机制相关性的临床研究

成力<sup>1</sup>,李小庆<sup>2</sup>,陈文江<sup>1</sup>,陈灿<sup>3△</sup>

(1. 广东医学院研究生学院,广东湛江 524023;2. 第三军医大学新桥医院心血管内科,重庆 400037;

3. 广东医学院附属医院心血管内科,广东湛江 524001)

**[摘要]** **目的** 探讨 miRNA-126-3p 与肺动脉高压(以下简称肺高压)发病机制的相关性。**方法** 选取 25 例先天性心脏病患者,其中,肺高压患者 11 例,对照组 14 例,采用 qRT-PCR 法检测其肺组织 miRNA-126-3p 的表达,并采用 starBase 进行靶基因预测,并从 mRNA 水平和蛋白水平进行验证。**结果** 肺高压患者与对照组在年龄、性别、生化指标检查等方面比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );肺高压患者 miRNA-126-3p 表达水平与对照组比较差异有统计学意义( $P<0.01$ );生物信息学预测发现 miRNA-126-3p 的生物学功能主要与结合蛋白、信号转导、细胞分化、调控细胞形态、调控 MAPK 和胰岛素受体信号通路等有关,其靶基因主要有 VEGFA、SPRED1、PIK3R2 等;肺高压组的 VEGFA 表达在 mRNA 水平和蛋白水平与对照组比较差异有统计学意义( $P<0.01$ );miRNA-126-3p 与 VEGFA 呈现正相关( $P<0.01$ )。**结论** miRNA-126-3p 可能通过调控 VEGFA 参与先天性心脏病相关性肺动脉高压发病。

**[关键词]** miRNA-126-3p;高血压,肺性;;血管内皮生长因子 A;信号通路**[中图分类号]** R541.9**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)36-5103-04**The clinical study on the relationship between mechanism of miRNA-126-3p and pulmonary hypertension**Cheng Li<sup>1</sup>, Li Xiaoqing<sup>2</sup>, Chen Wenjiang<sup>1</sup>, Chen Can<sup>3△</sup>

(1. Graduate College of Guangdong Medical College, Zhanjiang, Guangdong 524023, China; 2. Department of Cardiovascular, Xinqiao Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400037, China; 3. Department of Cardiovascular, the Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang, Guangdong 524001, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the correlation between miRNA-126-3p and pathogenesis of pulmonary hypertension. **Methods** Totally 25 patients with congenital heart disease, including 11 cases with pulmonary hypertension and 14 control cases, were recruited. The expression of miRNA-126-3p was detected by qRT-PCR, and we used starBase to predict the biological information miRNA-126-3p, and then verified it by the level of mRNA and protein. **Results** There was no statistical difference in age, gender, and biochemical examination ( $P>0.05$ ); the expression of miRNA-126-3p in the pulmonary hypertension cases was significantly higher ( $P<0.01$ ); starBase found that miRNA-126-3p may participate in binding protein, signal transduction, cell differentiation and regulation of cell morphology, the regulation of MAPK and insulin receptor signaling pathways, etc. Its target genes mainly contain VEGFA, SPRED1, PIK3R2, etc; the mRNA and protein level of VEGFA in PH group were statistically significantly than control group ( $P<0.01$ ); the miRNA-126-3p and VEGFA showed positive correlation ( $P<0.01$ ). **Conclusion** miRNA-126-3p may participate in the occurrence of pulmonary hypertension by regulating VEGFA.

**[Key words]** miRNA-126-3p; hypertension, pulmonary; vascular endothelial growth factor A; signaling pathways

肺动脉高压(pulmonary hypertension, PH)是一种临床越来越常见的病理生理综合征,主要累及肺小动脉,并使肺血管阻力增加,血管病变,是继冠状动脉粥样硬化性心脏病、高血压之后的第 3 个常见的心血管疾病,其特征性病理改变主要是中膜增厚、内膜增殖和闭塞、血栓形成、血管肌化、血管收缩、外膜增厚、血管及周围炎症细胞浸润等。其病因复杂,可由单一或多种心脏、肺部或肺血管疾病引起,其临床特征为右心室后负荷增加,严重者可因右心衰竭而死亡。其发病机制可能与遗传、药物毒性、内皮细胞功能障碍、血栓形成等有关,但还有待进一步研究<sup>[1]</sup>。最近研究证实一部分微小 RNA(microRNA, miRNA)可能与 PH 发病机制有关,如 miRNA-1、miRNA-21、miRNA-34、miRNA-133、miRNA-204、miRNA-208 等<sup>[2-5]</sup>都可能参与了 PH 的发病及病理生理过程。miRNA-126-3p 存在于哺乳动物内血管丰富的组织中,是一种内皮细胞特异性表达 miRNA,主要调控内皮细胞的生物合成、血管发育和维持血管的完整性,是血管生成的关键调节因子<sup>[6-8]</sup>。而动脉性肺动脉

高压(pulmonary arterial hypertension, PAH)的发病机制主要与内皮细胞功能障碍有关<sup>[9-11]</sup>。因此,本研究设想 miRNA-126-3p 与先天性心脏病导致的 PH 有关,从基因、蛋白等水平对 miRNA-126-3p 与先天性心脏病导致的 PH 的发病机制进行研究。

**1 资料与方法**

**1.1 一般资料** 选取 2014 年 1 月至 2015 年 1 月入院的先天性心脏病患者 25 例作为研究对象,其中,PH 患者 11 例(PH 组),非 PH 患者 14 例(对照组)。患者入院后进行右心导管检查测压。25 例患者均取肺组织进行病理检查,心外科行手术治疗取下组织后,留取少量组织于 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱内冻存,以备后续实验。两组患者年龄比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),且两组患者在性别、病史、生化检查结果方面比较差异无统计学意义,而肺动脉压力方面比较差异有统计学意义( $P<0.0001$ ),PH 组患者肺动脉压力最小为 30 mm Hg,最大为 45 mm Hg,而对照组患者肺动脉压力全部小于 25 mm Hg。两组

**作者简介:**成力(1982—),主治医师,硕士,主要从事心血管疾病预防与临床研究。△ **通讯作者:** Tel: 13902502296; E-mail: chencan-21@163.com。

患者一般资料比较见表 1。

表 1 两组患者一般资料比较

项目	PH 组(n=11)	对照组(n=14)	P
年龄(岁)	25±11	26±13	>0.05
性别(男/女)	6/5	7/7	>0.05
收缩压(mm Hg)	128±21	120±19	>0.05
吸烟史(n)	2	3	>0.05
血糖(mmol/L)	5.64±0.25	5.58±0.51	>0.05
总胆固醇(mmol/L)	4.01±0.11	4.73±0.12	>0.05
三酰甘油(mmol/L)	1.32±0.12	1.29±0.17	>0.05
高密度脂蛋白( $\mu$ mmol/L)	1.31±0.10	1.42±0.09	>0.05
低密度脂蛋白( $\mu$ mmol/L)	2.29±0.12	2.48±0.15	>0.05
肺动脉压力(mm Hg)	36.82±1.31	18.93±0.71	<0.01

**1.2 miRNA 实时荧光定量检测** miRNA 提取(miRcute miRNA 提取分离试剂盒, DP501)、逆转录(miRcute miRNA cDNA 第一链合成试剂盒, KR201)、荧光定量(miRcute miRNA 荧光定量检测试剂盒 SYBR Green, FP401)、miRNA-126-3p(UCG UAC CGU GAG UAA UAA UGC G)荧光定量上游引物(hsa-miR-126-3p qPCR Primer, CD201-0058)、下游通用引物等试剂盒均由广州真知生物有限公司提供,实验方法皆按照试剂盒说明书进行。荧光定量检测步骤:94℃变性 2 min;PCR 循环中模板 94℃变性 20 s;60℃退火、延伸 34 s;共 30 个循环,U6 为内参。本研究采用  $2^{-\Delta Ct}$  相对定量方法对数据进行分析: $\Delta Ct(\text{PH 组}) = Ct(\text{实验组目标基因}) - Ct(\text{实验组内参基因})$ ;  $\Delta Ct(\text{对照组}) = Ct(\text{对照组目标基因}) - Ct(\text{对照组内参})$ 。

**1.3 miRNA-126-3p 生物信息学预测** 采用生物信息学软件 starBase<sup>[12-13]</sup>(http://starbase.sysu.edu.cn)预测 miRNA-126-3p 的生物学功能、靶基因、KEGG (kyoto encyclopedia of genes and genomes)信号通路和其长链非编码 RNA(long non-coding, lncRNA)、竞争性内源 RNA(competing endogenous RNA, ceRNA)、环状 RNA(circular RNA, circRNA)。

**1.4 qRT-PCR** 首先,用 TRIZOL 试剂(Invitrogen, 美国)按照说明书提取所获取肺组织的总 RNA,按照逆转录试剂盒(宝生物工程大连有限公司)说明书将所提取 RNA 进行逆转录,然后按照实时荧光定量 PCR 试剂盒(宝生物工程大连有限公司)说明书进行荧光定量:95℃预变性 30 s;95℃扩增、延伸 15 s;60℃退火 30 s;共 40 个循环。血管内皮生长 A(vascular endothelial growth factor A, VEGFA)PCR 引物由英潍捷基上海贸易有限公司合成。其上游引物:AAT CCC GGT ATA AGT CCT G,下游引物:AAA TGC TTT CTC CGC TCT,产物片段大小为 112 kb,以  $\beta$ -actin 作为内参。采用  $2^{-\Delta Ct}$  相对定量方法进行数据分析: $\Delta Ct(\text{实验组}) = Ct(\text{实验组目标基因}) -$

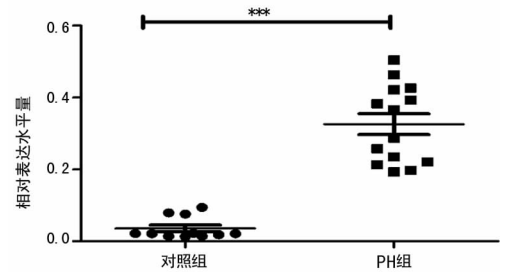
$Ct(\text{实验组内参基因})$ ;  $\Delta Ct(\text{对照组}) = Ct(\text{对照组目标基因}) - Ct(\text{对照组内参})$ 。

**1.5 Western blot 检测** 首先,将所获取的组织取约 50 mg 提取其蛋白质,采用 BCA 法测量其蛋白浓度,继而进行蛋白电泳、转膜、VEGFA 一抗(购自武汉博士德生物有限公司)孵育、二抗孵育、杂交、显影、曝光。VEGFA 稀释比例 1:400,内参选用  $\beta$ -actin(稀释比例 1:1 000,购自武汉博士德生物有限公司),其余相关试剂和材料均购自碧云天生物技术研究所。结果分析用 Image J 图像分析软件计算条带灰度值,最后结果为目的条带灰度值/内参条带灰度值。

**1.6 统计学处理** 采用 GraphPad Prism 5(GraphPad Software Inc, CA, USA)进行数据分析,所有定性资料采用  $\chi^2$  检验或 Fisher 检验;计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用  $t$  检验进行分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 肺组织中 miRNA-126-3p 实时荧光定量结果** 经过肺组织 miRNA 提取、逆转录,并行实时荧光定量检测,发现 PH 组 miRNA-126-3p 的表达水平( $0.325 \pm 0.028$ )与对照组( $0.036 \pm 0.009$ )比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见图 1。



\*\*\*:  $P < 0.01$ .

图 1 miRNA-126-3p 实时荧光定量结果分析

**2.2 miRNA-126-3p 生物信息学分析** 采用 starBase 生物信息学软件预测 miRNA-126-3p 的生物学功能、靶基因及 KEGG 信号通路,见表 2。从预测结果可知:miRNA-126-3p 的生物学功能主要与结合蛋白、信号转导、细胞分化、调控细胞形态、调控 MAPK 和胰岛素受体信号通路等有关;其 KEGG 信号通路主要是胰岛素受体信号通路和 Jak-STAT 信号通路;PANTHER 预测其主要功能是促进血管生成。miRNA-126-3p 靶基因(至少有 2 个在线软件得到同一结果,共 73 个预测靶基因)主要有:VEGFA、SPRED1、PIK3R2、PARP16、TNFRSF11B、ADAM9、SLC7A5、AKAP13 等。结合其生物学功能及靶基因,本研究假定 VEGFA 为其靶基因,进行后续验证实验。

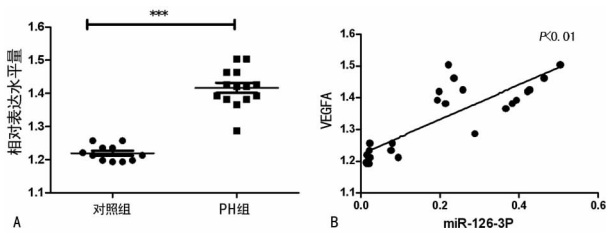
表 2 miRNA-126-3p 的 KEGG 信号通路预测

ID 号	名称	靶基因	P	Bonferroni P
GO 分子功能				
GO:0005515	protein binding	ADAM9, AKAP13, CDKN2AIP, CRK, GNA13, KANK2, PEX5, PIK3R2, PLK2, PLXNB2, SPRED1	0.0001	0.002
GO:0004871	signal transducer activity	AKAP13, GNA13, PLK2	0.0001	0.004
GO 生物过程				
GO:0030154	cell differentiation	GNA13, SLC7A5	0.039	0.469
GO:0008360	regulation of cell shape	GNA13, PLXNB2	0.003	0.040

续表 2 miRNA-126-3p 的 KEGG 信号通路预测

ID号	名称	靶基因	P	Bonferroni P
GO:0000186	activation of MAPKK activity	ADAM9,CRK	0.000 1	0.007
GO:0051056	regulation of small GTPase mediated signal transduction	AKAP13,PIK3R2	0.006	0.077
GO:0008286	insulin receptor signaling pathway	CRK,PIK3R2	0.006	0.079
KEGG Pathway				
hsa04910	Insulin signaling pathway	CRK,PIK3R2	0.006	0.067
hsa04810	Regulation of actin cytoskeleton	CRK,GNA13,PIK3R2	0.000 1	0.008
hsa04062	Chemokine signaling pathway	CRK,PIK3R2	0.010	0.123
hsa04630	Jak-STAT signaling pathway	PIK3R2,SPRED1	0.007 2	0.087
PANTHER Pathways				
P00005	Angiogenesis	CRK,PIK3R2	0.006	0.013

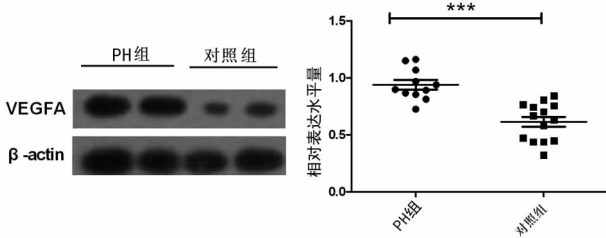
**2.3 VEGFA mRNA 表达结果及相关性分析** 提取两组患者肺组织的总 RNA, 然后进行逆转录及荧光定量检测 VEGFA 在两组样本的表达水平(图 2A), PH 组患者 VEGFA 的表达水平与对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。miRNA-126-3p 与 VEGFA 相关性分析发现, 二者呈正相关(图 2B), 相关度为 0.702 1, Pearson 相关系数为 0.837 9, 95% CI 为 (0.661 9~0.926 4),  $P < 0.000 1$ 。



\*\*\*:  $P < 0.01$ 。

图 2 VEGFA 实时荧光定量结果分析及相关性分析

**2.4 PH 组与对照组肺组织 VEGFA 蛋白表达情况比较** 对所收集患者的肺组织进行蛋白定量分析, 结果提示 PH 组患者 VEGFA 蛋白的表达水平较对照组明显升高, 见图 3。



\*\*\*:  $P < 0.01$ 。

图 3 两组患者肺组织 VEGFA 蛋白表达结果及定量统计分析

### 3 讨论

PH 是临床越来越常见的一种疾病, 其类型众多, 而且其发病机制尚未明确。目前研究表明 PH 发病机制可能与遗传、血管内皮功能障碍、平滑肌细胞功能紊乱等有关。关于遗传机制, 目前多认为骨形成蛋白 II 型受体 (BMPR2)、激活素受体样激酶 1 (ALK1) 等基因可能通过遗传方式导致 PH 发生, 而且主要是导致 PAH 的发生。目前, 大多数研究较为认可的主要发病机制是各种原因导致的血管内皮功能障碍和(或)平滑肌细胞功能紊乱而导致 PH 发生<sup>[14]</sup>。miR-126-3p 被认为是内皮细胞特异性表达 miRNA, 与血管生成等有关, 可能参与血管内皮生长因子信号通路的调控<sup>[15-16]</sup>。本研究通过对 PAH 患者

的 miRNA 水平、mRNA 水平、蛋白等水平研究发现, 先天性心脏病 PH 患者肺组织的 miR-126-3p 的表达较对照组有明显差异; 通过对 miR-126-3p 的生物学功能及靶基因等预测发现, miR-126-3p 可能参与血管形成, 并调控靶基因 VEGFA 的表达; 后续基因水平和蛋白水平试验发现 PH 组 VEGFA 的 mRNA 及蛋白都较对照组有明显差异。各水平研究表明, miR-126-3p 可能通过调控 VEGFA 而导致 PH 的发生。

本研究只是 miR-126-3p 与 PH 发病机制的一个初步研究, 其具体调控机制还有待后续细胞实验及动物实验等验证, 而且本研究样本量较少, 还有待大样本研究进行验证及筛选相关标志物。本研究在进行生物信息学分析时, 还对 miR-126-3p 的 ceRNA、circRNA、lncRNA 都进行了分析, ceRNA 可与 miR-126-3p 共同结合 miRNA 作用元件<sup>[17]</sup>, 可以联合分析 miRNA 的具体作用机制; miRNA 和 circRNA 由于其稳定、特异、高丰度的表达特性<sup>[18]</sup>, 都可以作为疾病标志物研究, 在先天性心脏病相关性 PH 研究可以相辅相成; lncRNA 也可以作为标志物而进行相关研究<sup>[19]</sup>。分析发现 miR-126-3p 的 lncRNA 为 XIST(X inactive specific transcript, non-protein coding), 其 circRNA 为 PLXNB2 (Plexin B2), 其 ceRNA 有 PLXNA3、FNDC3B、RBM33、SS18L1、ZNF326、CRAMP1L、ZNF292、YEATS2、NOM1、SIN3B、ZC3H11A、CPOX、ZSWIM4、BHLHE40、ZNF532、YOD1、SLC2A3、USP31。如果后续研究从 ceRNA、circRNA、lncRNA、基因、蛋白等多个水平进行研究, 可以为 PH 的发病机制进行详细阐述, 为其实验研究和临床诊治提供理论支持。

### 参考文献

- [1] Paulin R, Michelakis ED. The metabolic theory of pulmonary arterial hypertension [J]. Circ Res, 2014, 115(1): 148-164.
- [2] Potus F, Graydon C, Provencher S, et al. Vascular remodeling process in pulmonary arterial hypertension, with focus on miR-204 and miR-126 (2013 Grover Conference series) [J]. Pulm Circ, 2014, 4(2): 175-184.
- [3] Wang S, Aurora AB, Johnson BA, et al. The endothelial-specific microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis [J]. Dev Cell, 2008, 15(2): 261-271.
- [4] Urbich C, Kuehbach A, Dimmeler S. Role of microRNAs in vascular diseases, inflammation, and angiogenesis [J]. Cardiovasc Res, 2008, 79(4): 581-588.
- [5] Lei W, Li G, Zheng J, et al. Roles of microRNA in vascular diseases in cardiac and pulmonary systems [J].

Pharmazie, 2014, 69(9):643-647.

- [6] Fish JE, Santoro MM, Morton SU, et al. miR-126 regulates angiogenic signaling and vascular integrity[J]. *Dev Cell*, 2008, 15(2):272-284.
- [7] Kim GH, Ryan JJ, Marsboom G, et al. Epigenetic mechanisms of pulmonary hypertension[J]. *Pulm Circ*, 2011, 1(3):347-356.
- [8] Ge HY, Han ZJ, Tian P, et al. VEGFA expression is inhibited by Arsenic trioxide in HUVECs through the up-regulation of Ets-2 and miRNA-126[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8):e0135795.
- [9] Zhang HD, Zhang R, Jiang X, et al. Effects of oral treatments on clinical outcomes in pulmonary arterial hypertension: a systematic review and meta-analysis[J]. *Am Heart J*, 2015, 170(1):96-103.
- [10] Parikh KK. Use of outcome measures in pulmonary hypertension clinical trials[J]. *Am Heart J*, 2015, 170(3):419-429.
- [11] Vaidya B, Gupta V. Novel therapeutic approaches for pulmonary arterial hypertension: Unique molecular targets to site-specific drug delivery[J]. *J Control Release*, 2015, 211(1):118-133.
- [12] Li JH, Liu S, Zhou H, et al. starBase v2.0: decoding miRNA-ceRNA, miRNA-ncRNA and protein-RNA interaction networks from large-scale CLIP-Seq data[J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(Database issue):D92-D97.
- [13] Yang JH, Li JH, Shao P, et al. starBase: a database for exploring microRNA-mRNA interaction maps from argonaute CLIP-Seq and Degradome-Seq data[J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(Database issue):D202-D209.
- [14] Bienertova-Vasku J, Novak J, Vasku A. MicroRNAs in pulmonary arterial hypertension: pathogenesis, diagnosis and treatment[J]. *J Am Soc Hypertens*, 2015, 9(3):221-234.
- [15] Zhou G, Chen T, Raj JU. MicroRNAs in pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2015, 52(2):139-151.
- [16] Meloche J, Pflieger A, Vaillancourt M, et al. miRNAs in PAH: biomarker, therapeutic target or both? [J]. *Drug Discov Today*, 2014, 19(8):1264-1269.
- [17] Salmena L, Poliseno L, Tay Y, et al. A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language? [J]. *Cell*, 2011, 146(3):353-358.
- [18] Jeck WR, Sorrentino JA, Wang K, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats[J]. *RNA*, 2013, 19(2):141-157.
- [19] Brosnan CA, Voinnet O. The long and the short of non-coding RNAs[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21(3):416-425.

(收稿日期:2015-06-28 修回日期:2015-08-19)

(上接第 5102 页)

师如何因时、因地、因人采取个体化的治疗方案以期达到最佳效果才是追求的目标。

#### 参考文献

- [1] Troisi E, Matteis M, Silvestrini M, et al. Altered cerebral vasoregulation predicts the outcome of patients with partial anterior circulation stroke[J]. *Eur Neurol*, 2012, 67(4):200-205.
- [2] Harmsen P, Lappas G, Rosengren A, et al. Long-term risk factors for stroke: twenty-eight years of follow-up of 7457 middle-aged men in Goteborg, Sweden[J]. *Stroke*, 2006, 37(7):1663-1667.
- [3] 朱成明, 姚文华, 王贵富, 等. 颅骨钻孔尿激酶溶解引流术与小骨窗开颅血肿清除术治疗高血压脑出血的比较分析[J]. *重庆医学*, 2011, 40(13):1318-1320.
- [4] 覃川, 晏怡, 陈勇, 等. 微创血肿碎吸术与开颅血肿清除术治疗高血压脑出血的疗效比较[J]. *重庆医学*, 2012, 41(13):1257-1259.
- [5] Zhao X, Wang Y, Wang C, et al. Quantitative evaluation for secondary injury to perihematoma of hypertensive cerebral hemorrhage by functional Mr and correlation analysis with ischemic factors[J]. *Neurol Res*, 2006, 28(1):66-70.
- [6] 韦茂军. 开颅术与微创钻孔引流治疗高血压脑出血的效果比较[J]. *中国现代医生*, 2014, 52(8):143-145.
- [7] Wang YF, Wu JS, Mao Y, et al. The optimal time-window for surgical treatment of spontaneous intracerebral hemorrhage: result of prospective randomized controlled trial of 500 cases[J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2008, 105:141-145.
- [8] 梁学军, 王兴军, 何睿瑜, 等. 神经内窥镜下微创手术治疗高血压脑出血的疗效观察[J]. *中国医学创新*, 2013, 10(14):11-13.
- [9] 魏雪鸿, 李育荣. 368 例脑出血发病因素分析[J]. *临床医药实践杂志*, 2007, 16(10):1025-1026.
- [10] Kanno T, Nagata J, Nonomura K, et al. New approaches in the treatment of hypertensive intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 1993, 24(12 Suppl):S96-100.
- [11] 朱湘华, 鞠连英. 超早期小骨窗治疗高血压脑出血 51 例临床效果分析[J]. *中国医学创新*, 2013, 10(13):25-26.
- [12] 杨理媛, 孙晓川. 治疗高血压脑出血 3 种术式疗效和预后研究[J]. *中国全科医学*, 2012, 15(9):1040-1042.
- [13] 梁柱楼, 陈学华, 胡振华, 等. 不同手术方法治疗高血压脑出血的对照研究[J]. *中国当代医药*, 2012, 19(30):41-42.
- [14] 谢振都. 高血压脑出血手术时机与术后再出血相关性研究[J]. *当代医学*, 2012, 18(14):85-86.
- [15] 徐辉. 不同手术方法治疗高血压脑出血的疗效比较[J]. *中国基层医药*, 2014, 21(4):497-498.

(收稿日期:2015-06-15 修回日期:2015-08-04)