

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.27.021

GRIM-19 在子宫腺肌病中的表达及促进疾病发展的机制研究

蒋 静, 陈 燕, 吴 宏

(川北医学院附属医院妇产科, 四川南充 637000)

[摘要] **目的** 研究诱导细胞凋亡相关基因-19(GRIM-19)在子宫腺肌病患者子宫内膜组织中的表达水平,并探讨其在疾病发生发展中的分子机制。**方法** 取 30 例子宫腺肌病患者异位和在位内膜组织,采用免疫组织化学和 Western blot 检测内膜组织中 GRIM-19、磷酸化信号转导及转录激活蛋白 3(pSTAT3)和内皮生长因子(VEGF)的表达水平。采用 TUNEL 检测内膜组织凋亡,CD34 抗体直接检测内膜组织新生血管形成。构建 GRIM-19 siRNA 和重组质粒,转染 Ishikawa 细胞后检测下游信号分子 pSTAT3、信号转导和转录激活因子 3(STAT3)和 VEGF 的变化。**结果** 与对照组相比,子宫腺肌病患者在位内膜和异位内膜组织中 GRIM-19 表达水平降低。在位内膜和异位内膜组织中细胞凋亡减少,微血管密度、pSTAT3 和 VEGF 表达水平升高。转染 Ishikawa 细胞,下调 GRIM-19 表达可显著激活 pSTAT3 和 VEGF。**结论** GRIM-19 通过抑制细胞凋亡和增加新生血管形成,促进子宫腺肌病的发生发展。

[关键词] 凋亡诱导因子;子宫腺肌病;凋亡;血管生成**[中图分类号]** R711**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)27-3811-05**Expression of GRIM-19 in adenomyosis and its mechanism for promoting disease progress**

Jiang Jing, Chen Yan, Wu Hong

(Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Hospital of Chuanbei Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China)

[Abstract] **Objective** To study the expression level of GRIM-19 in endometrial tissue of the patients with adenomyosis and to investigate its molecular mechanism during disease occurrence and progress process. **Methods** The ectopic and eutopic endometrial tissues were obtained from 30 patients with adenomyosis. Immunohistochemistry and Western blot were performed to detect the expression of GRIM-19, pSTAT3 and VEGF. The endometrial tissue apoptosis was assayed by TUNEL. Immunohistochemistry with anti-CD34 antibody was performed to detect angiogenesis in endometrial tissue. GRIM-19 small interfering RNA(siRNA) and recombinant GRIM-19 plasmid were constructed and transfected into Ishikawa cells for detecting the change of downstream signal molecules pSTAT3, STAT3 and VEGF. **Results** The expression level of GRIM-19 was decreased in the ectopic and eutopic endometrial tissues of patients with adenomyosis compared with control group. Apoptosis in ectopic and eutopic endometrial tissues was reduced; the microvessel density and expression levels of pSTAT3 and VEGF were increased. Transfecting Ishikawa cells and down-regulating GRIM-19 expression could significantly activate pSTAT3 and VEGF. **Conclusion** GRIM-19 promotes the occurrence and development of adenomyosis by inhibiting apoptosis and angiogenesis.

[Key words] apoptosis inducing factor; adenomyosis; apoptosis; angiogenesis

子宫腺肌病是育龄女性常见的妇科疾病,由子宫内膜腺体和间质侵袭至子宫肌层,并引起肌层显著增厚。目前子宫腺肌病的病因及发病机制尚未完全明确。诱导细胞凋亡相关基因(GRIMs)是一种近年来研究发现的由干扰素/维甲酸合并诱导的细胞凋亡基因编码,通过反义 RNA 敲除技术筛选出的凋亡蛋白^[1]。诱导细胞凋亡相关基因-19(GRIM-19)是 GRIMs 家族成员之一,在多种正常组织中表达,而在肿瘤如肾透明细胞癌和前列腺癌中 GRIM-19 表达明显降低^[2]。GRIM-19 可与信号转导和转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)结合并抑制其转录活性^[3]。持续活化的 STAT3 可抑制细胞凋亡,并直接上调血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达,刺激新生血管形成^[4]。研究 GRIM-19 在子宫腺肌病患者内膜组织中的表达水平,并探索其在疾病发生发展过程中的作用及机制,可能为子宫腺肌病的治疗提高新的靶点。

1 材料与方**1.1 标本收集** 子宫内膜标本选取本院 2014 年 1 月至 2015

年 12 月经腹或腹腔镜子宫切除术患者中经病理证实的 30 例子宫腺肌病患者(年龄 31~41 岁,体质量指数 17.66~29.4 kg/m²,增殖期子宫内膜 17 例,分泌期子宫内膜 13 例),10 例非子宫腺肌病患者(年龄 33~39 岁,体质量指数 18.8~26.8 kg/m²,增殖期子宫内膜 6 例,分泌期子宫内膜 4 例)。本研究获得本院伦理委员会批准,纳入研究的患者均签署知情同意书。排除标准:近 3 个月口服避孕药或其他激素药物;子宫内膜癌;盆腔子宫内膜异位症;子宫肌瘤;卵巢囊肿。收集的子宫内膜标本分别保存于液氮和 4%甲醛固定。

1.2 TUNEL 法检测细胞凋亡 制备内膜组织石蜡包埋切片,利用 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(Roche)进行脱蜡、漂洗、蛋白酶 K 处理、固定和封闭。设置阳性对照和阴性对照,配置 DnaseI 反应液,孵育并滴加 100 μL TdT 酶反应液标记,避光孵育 60 min 后滴加 DAB 显色液,漂洗后中性树脂胶封片。在 400 倍光学显微镜下随机选择 5 个视野计数 TUNEL 染色阳性细胞。

1.3 免疫组织化学 收集内膜组织甲醛溶液固定,石蜡包埋

切片,脱蜡后加入定量 pH6.0 柠檬酸盐缓冲液和 3% H₂O₂,用血清封闭后滴加一抗,GRIM-19 单抗 (Abcam, 1 : 500)、pSTAT3 单抗 (Abcam, 1 : 100)、VEGF 抗体 (Abcam, 1 : 150)、CD34 单抗 (Zhongshan, 1 : 100),4 °C 孵育过夜。冲洗后滴加二抗,孵育 30 min 后冲洗显色,复染后封片。采用 Image Pro-plus 进行免疫组织化学吸光度测量。

1.4 蛋白提取及 Western blot 使用 Tissue Protein Extraction Reagent(Cwbio)提取内膜组织蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,50 μg/孔上样,十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)转膜封闭,孵育抗体并显色。抗体稀释浓度如下:GRIM-19 (Abcam : mAb, 1 : 1 000),pSTAT3 (Abcam : mAb, 1 : 5 000),STAT3 (Abcam : mAb, 1 : 1 000),VEGF (Abcam : pAb, 1 : 1 500),GAPDH (Abcam : mAb, 1 : 3 000)。

1.5 细胞培养及细胞转染 Ishikawa 细胞购自中国科学院上海生物科学院细胞资源中心,采用 DMEM 培养基和 10% FBS 培养。pEGFP-N1、GRIM-19 重组质粒(pEGFP-N1-GRIM-19)和 FAM-siRNA、GRIM-19-siRNA (5'-GGAUUGGAAC-CCUGAUCUATT-3')均由上海吉凯基因合成及鉴定。采用 Lipofectamine 2000(Invitrogen)转染细胞,转染后 6 h 更换培养基,荧光显微镜下检测转染效率。转染后 48 h 提取细胞蛋白进行 Western blot 检测。

1.6 统计学处理 用 SPSS20.0 对数据进行统计分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用 Student *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA)。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

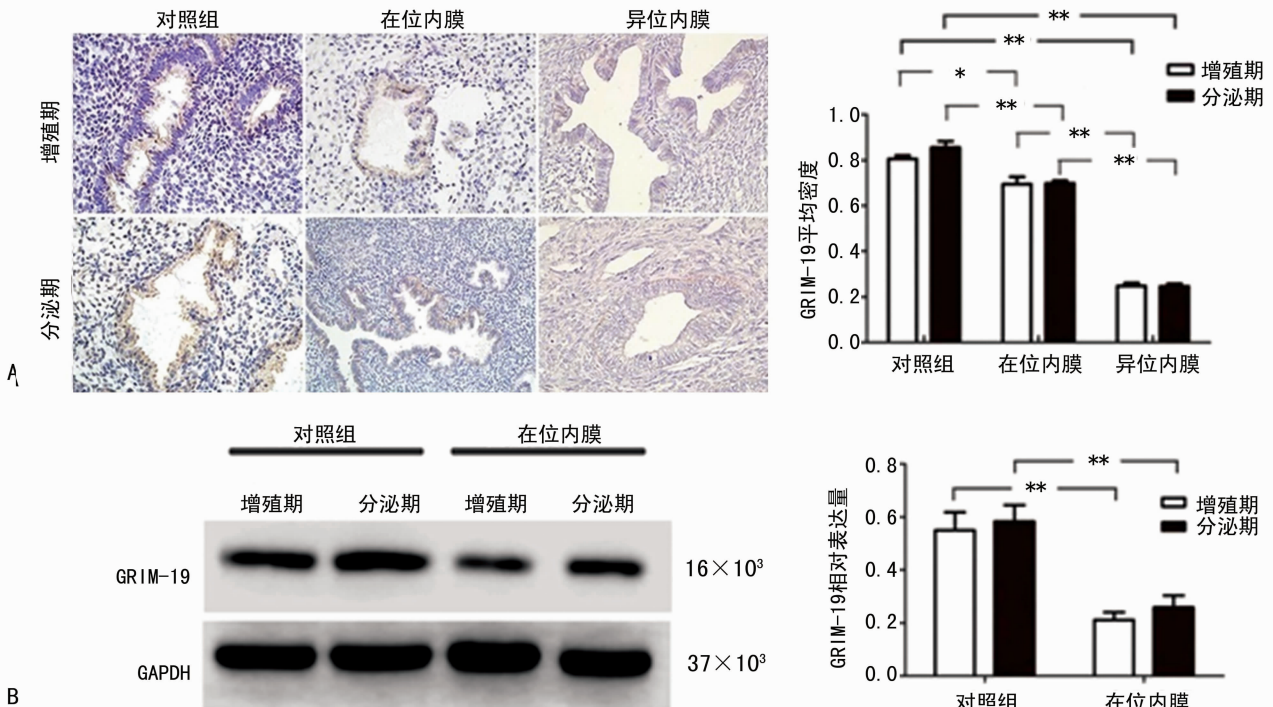
2.1 子宫腺肌病患者内膜组织中 GRIM-19 的表达 采用免疫组织化学方法检测子宫腺肌病患者在位内膜和异位内膜组

织以及对照组子宫内膜中 GRIM-19 表达水平。结果显示 GRIM-19 染色主要位于子宫内膜腺上皮细胞,子宫腺肌病患者内膜组织中 GRIM-19 表达明显低于对照组($P < 0.05$),并且子宫腺肌病患者异位内膜组织中 GRIM-19 表达低于在位内膜组织,差异具有统计学意义,见图 1A。Western blot 检测发现:子宫腺肌病患者在位内膜 GRIM-19 蛋白表达较对照组明显降低($P < 0.05$),见图 1B。

2.2 子宫腺肌病患者内膜组织中细胞凋亡情况 采用 TUNEL 实验检测子宫腺肌病患者内膜组织细胞凋亡情况。与对照组内膜组织相比,子宫腺肌病患者在位和异位内膜组织中凋亡细胞数明显减少($P < 0.05$),其中异位病灶内膜组织中凋亡细胞数少于在位内膜组织,见图 2。不同内膜组织中凋亡细胞数不随月经周期而改变,增殖期和分泌期子宫内膜凋亡细胞数差异无统计学意义($P > 0.05$)。

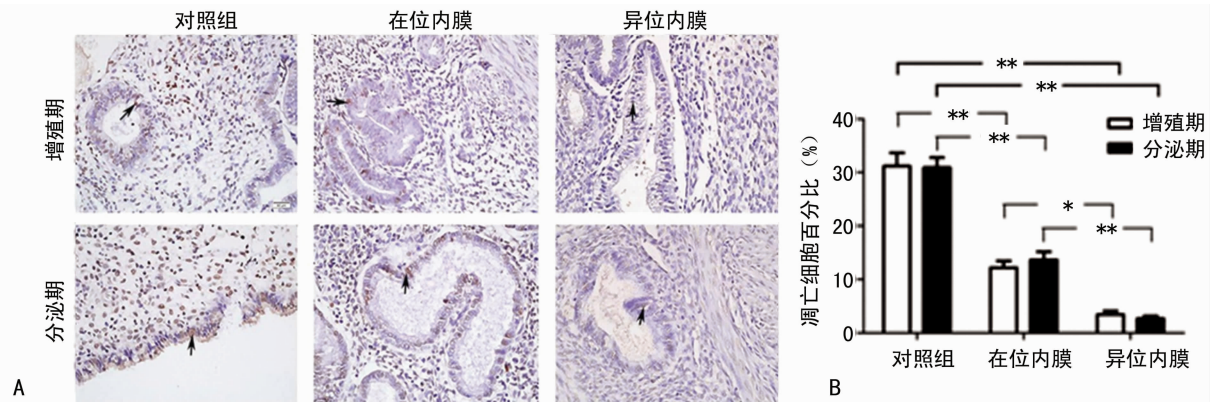
2.3 子宫腺肌病内膜组织 VEGF 表达和新生血管形成 疾病发生发展过程中,VEGF 通过刺激血管内皮细胞增生促进血管新生。本实验中采用免疫组织化学法检测内膜组织中 VEGF 的表达,通过检测新生血管内皮细胞标志物 CD34 表达来确定内膜组织中微血管密度。结果显示,增殖期和分泌期子宫内膜组织中染色的 VEGF 主要位于腺上皮细胞内。与对照组内膜组织相比,子宫腺肌病患者在位和异位内膜组织中 VEGF 表达明显升高($P < 0.05$),其中异位病灶内膜组织中 VEGF 表达量最高,见图 3A。3 组内膜组织中,增殖期与分泌期子宫内膜 VEGF 表达无明显统计学差异。Western blot 检测发现:子宫腺肌病患者在位内膜 VEGF 蛋白表达较对照组明显升高($P < 0.05$),见图 3B。与对照组内膜相比,子宫腺肌病患者异位内膜组织中微血管密度明显升高,见 3C。

2.4 GRIM-19 通过 STAT3 调控 VEGF 表达 采用免疫组织化学法检测内膜组织中 pSTAT3 表达。结果显示对照组内膜



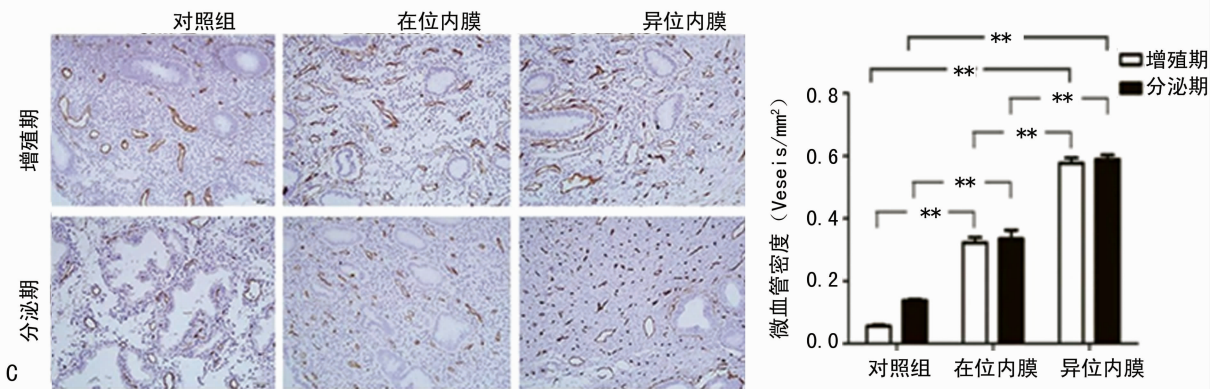
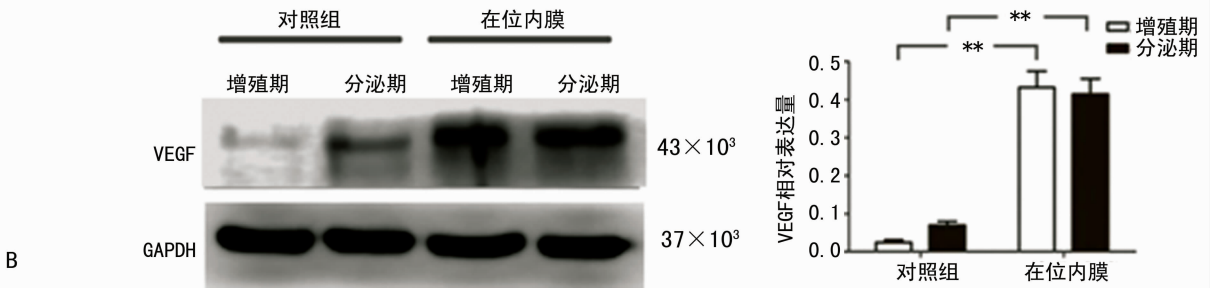
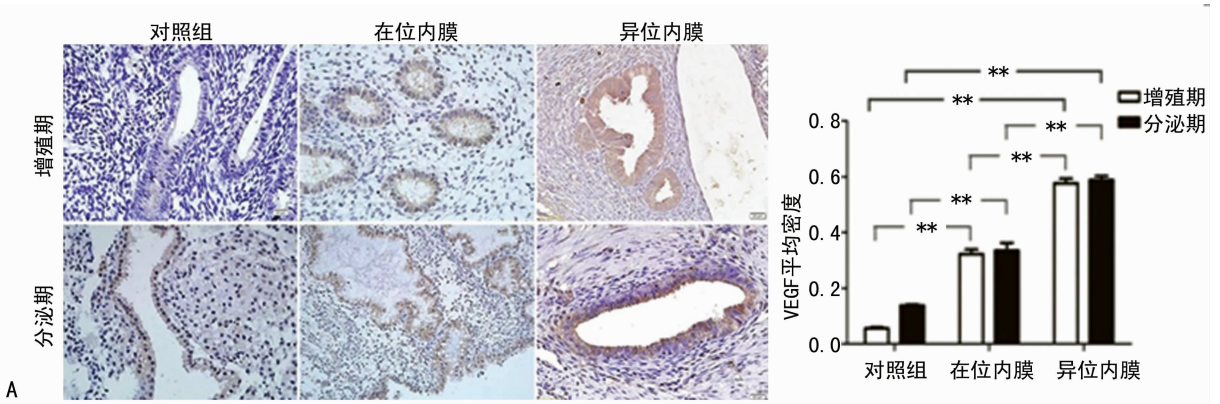
A: 子宫腺肌病患者在位、异位内膜组织和对照组正常内膜组织中 GRIM-19 免疫组织化学染色 $\times 400$ 光镜图及染色阳性细胞平均密度分数; B: 子宫腺肌病患者在位内膜组织和对照组正常内膜组织中 GRIM-19 蛋白表达及蛋白相对表达量柱状图。* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$

图 1 子宫腺肌病患者内膜组织中 GRIM-19 的表达情况



A: 子宫腺肌病患者内膜组织和对照组内膜组织 TUNEL 凋亡染色($\times 400$), 黑色箭头所示为凋亡细胞 TUNEL 染色阳性。B: 不同组织中 TUNEL 染色阳性细胞数。*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$

图 2 子宫腺肌病患者内膜组织细胞凋亡情况

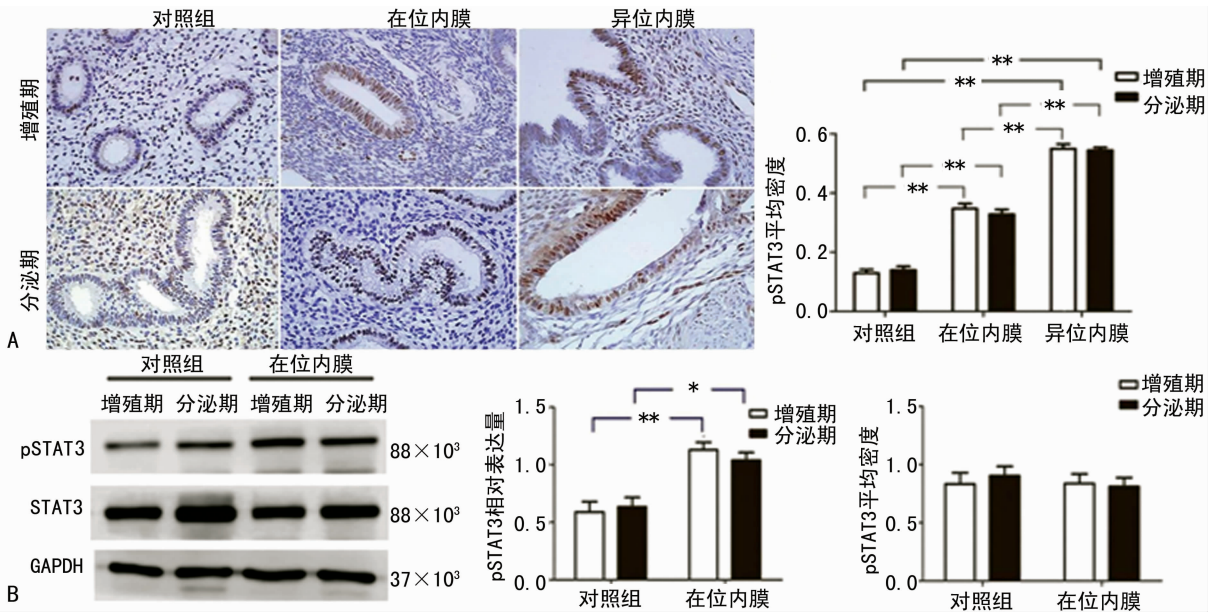


A: 子宫腺肌病患者内膜组织和对照组内膜组织 VEGF 免疫组织化学染色($\times 400$)和染色阳性细胞平均密度分数; B: 子宫腺肌病患者在位内膜组织和对照组正常内膜组织中 VEGF 蛋白表达及蛋白相对表达量柱状图; C: 子宫腺肌病患者内膜组织和对照组内膜组织 CD34 免疫组织化学染色($\times 200$)和微血管密度统计分析柱状图。*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$

图 3 子宫腺肌病患者内膜组织 VEGF 表达和微血管密度分析

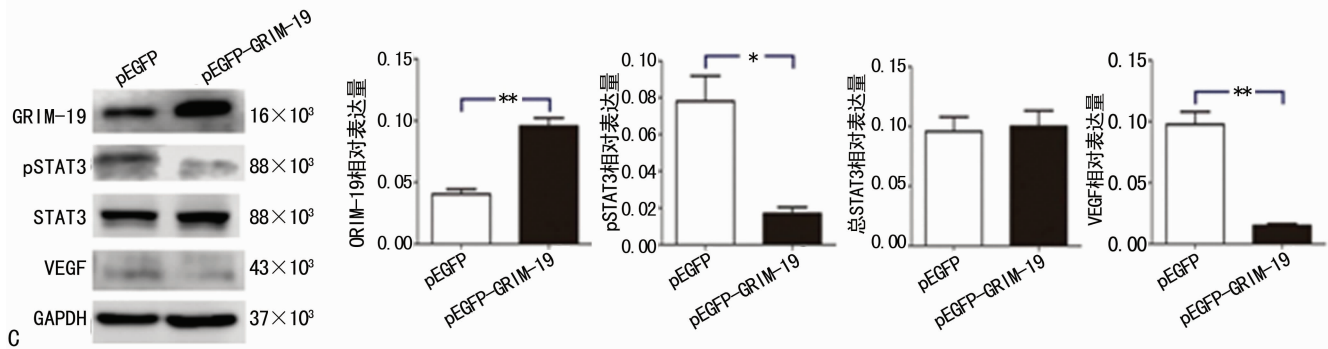
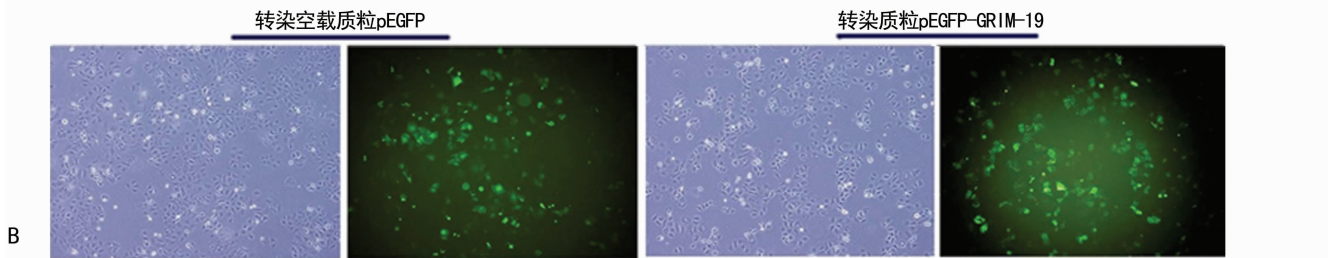
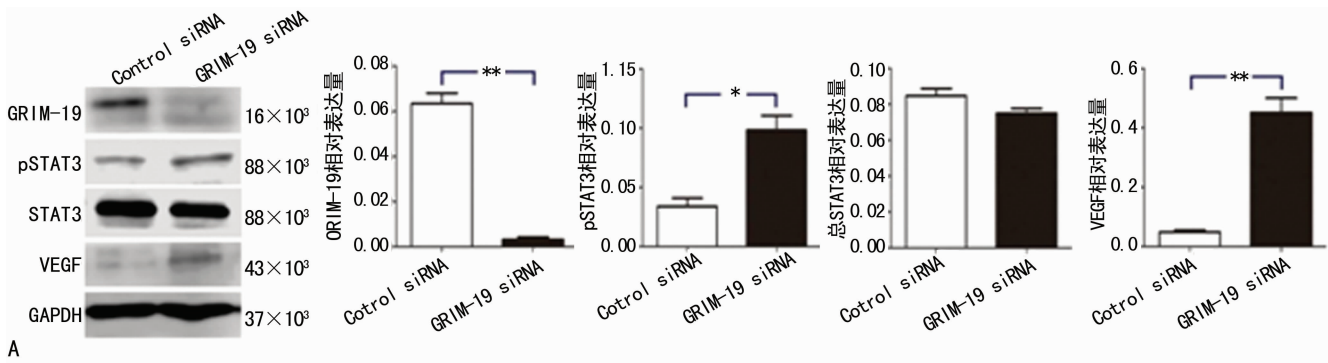
组织中 pSTAT3 主要位于子宫内腺上皮细胞和间质细胞, 子宫腺肌病患者在位内膜和异位内膜组织中 pSTAT3 主要位于腺上皮细胞。在位内膜和异位内膜组织中 pSTAT3 表达明

显高于对照组($P < 0.05$), 见图 4A。Western blot 检测发现: 子宫腺肌病患者在位内膜 pSTAT3 蛋白表达较对照组明显升高($P < 0.05$), 而两组总 STAT3 蛋白差异无统计学意义, 见图 4B。



A: 子宫腺肌病患者在位、异位内膜组织和对照组正常内膜组织中 pSTAT3 免疫组织化学染色($\times 400$)及染色阳性细胞平均密度分数; B: 子宫腺肌病患者在位内膜组织和对照组正常内膜组织中 pSTAT3 和总 STAT3 蛋白表达及蛋白相对表达量柱状图。*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$

图 4 子宫腺肌病患者内膜组织中 pSTAT3 的表达情况



A: Ishikawa 细胞转染 GRIM-19 siRNA 和 Control siRNA 48 h 后 GRIM-19、pSTAT3、STAT3 和 VEGF 蛋白表达及蛋白相对表达量柱状图; B: Ishikawa 细胞转染 pEGFP-GRIM-19 和空载 pEGFP 后 $\times 400$ 荧光和普通光学镜图; C: Ishikawa 细胞转染 pEGFP-GRIM-19 和空载 pEGFP 48 h 后 GRIM-19、pSTAT3、STAT3 和 VEGF 蛋白表达及蛋白相对表达量柱状图。*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$

图 5 上调和下调 GRIM-19 对 pSTAT3 和 VEGF 表达的影响

小干扰 RNA (GRIM-19 siRNA 和 Control siRNA) 转染 Ishikawa 细胞。Western blot 结果显示相较于空白对照组, 转染 GRIM19 siRNA 后 Ishikawa 细胞表达 GRIM-19 明显减少 ($P < 0.05$), 而 pSTAT3 及其下游 VEGF 表达明显增加 ($P < 0.05$), 见图 5A。Ishikawa 细胞转染 pEGFP-GRIM-19 上调 GRIM-19 表达, 荧光显微镜下评估转染效率, 见图 5B。与空载质粒相比, 转染 pEGFP-GRIM-19 后细胞表达 GRIM-19 明显增加 ($P < 0.05$), pSTAT3 和 VEGF 表达减少 ($P < 0.05$); 总 STAT3 表达在两组细胞内差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 5C。

3 讨论

子宫腺肌病的发病机制较为复杂。解剖上子宫内层基层缺乏黏膜下层, 使得子宫内层腺体和间质易于侵入子宫肌层, 并在肌层内形成异位病灶。然而, 触发子宫内层“侵袭”子宫肌层的具体机制尚未完全明确。Chen 等^[5]研究发现在异位病灶组织内存在一系列形态功能改变, 包括细胞增殖、细胞凋亡和新生血管的形成等。这些功能改变增强了异位病灶内腺上皮细胞和间质细胞的侵袭能力, 使得异位的内膜组织更易在子宫肌层内“扩散转移”。研究发现, Ki-67 是一种细胞增殖常用标记蛋白, 在子宫腺肌病内膜间质细胞内呈高表达^[6]。因此, 子宫内层细胞异常的细胞增殖和细胞凋亡可能明显影响子宫腺肌病的发展过程。同时, 异位内膜病灶的建立需要新生血管形成并供给血液^[7]。在本研究中, 笔者检测了子宫腺肌病患者内膜组织中 GRIM-19 的表达以及细胞凋亡和新生血管形成情况, 发现 GRIM-19 通过调控细胞凋亡和血管形成, 在子宫腺肌病的发病机制中起着重要作用。

本研究中, 笔者发现子宫腺肌病患者在位内膜和异位内膜组织中细胞凋亡数量显著减少, 这与 Taguchi 等^[8]的研究结果一致。这些结果提示抑制细胞凋亡可能是子宫腺肌病发生过程中一个重要的步骤。有研究发现高表达 GRIM-19 可增强 IFN- γ 介导的细胞凋亡过程。众多研究提示 GRIM-19 对细胞凋亡和细胞生长有重要影响。另外, GRIM-19 在抑制肿瘤生长的过程中也起着关键作用, GRIM-19 等位基因的缺失可增加活体细胞肿瘤易感性^[9]。Hao 等^[10]研究发现低表达 GRIM-19 可显著增强肝癌细胞黏附和侵袭能力, 而 Huang 等^[11]的研究结果提示上调 GRIM-19 表达可抑制胃癌细胞 SGC-7901 的黏附、迁移和侵袭过程。本研究中, 子宫腺肌病患者在位内膜和异位内膜组织中 GRIM-19 表达显著减少。这些结果提示, 内膜腺上皮细胞低表达 GRIM-19 可介导细胞凋亡减少, 从而诱导腺体和间质侵袭至内膜肌层交界区甚至子宫肌层, 导致子宫腺肌病的发生。

为了进一步探讨 GRIM-19 介导细胞凋亡的分子机制, 笔者检测了 GRIM-19 相关基因 STAT3 的表达。Bu 等^[3]发现 GRIM-19 通过下调细胞增殖和凋亡相关基因表达, 抑制 STAT3 介导的细胞转化和有丝分裂等过程。本实验中, 子宫腺肌病患者在位内膜和异位内膜组织中存在 STAT3 的异常激活, 且 GRIM-19 呈相应的低表达。同本研究结果一致, Yue 等^[12]发现在宫颈癌细胞中 GRIM-19 低表达与 pSTAT3 的过度活化密切相关。pSTAT3 在肿瘤生长和转移过程中具有重要作用。STAT3 的磷酸化过程主要受上游酪氨酸激酶调控,

包括细胞因子、生长因子、非受体酪氨酸激酶等。GRIM-19 通过介导 v-Src 可显著减少 pSTAT3 及下游相关基因的表达, 如 c-myc、cyclin B1 和 cyclin D1 等^[13]。这些结果提示, GRIM-19 可通过抑制 pSTAT3 活化, 从而减少子宫腺肌病内膜细胞凋亡和生长。

VEGF 作为新生血管形成过程中重要的因子, 也是 STAT3 下游靶基因蛋白。有研究发现在子宫腺肌病患者在位内膜和异位内膜组织中 VEGF 水平显著升高^[14], 同本研究结果一致。组织芯片研究发现, 在胃癌细胞中 pSTAT3 与 VEGF 的表达存在相关性, 高表达的 pSTAT3 通过介导 VEGF 启动子活性影响 VEGF 的表达^[15]。本实验中, 下调 GRIM-19 的表达可激活 pSTAT3, 促进其下游 VEGF 表达。

综上所述, 低表达的 GRIM-19 可能通过调节 GRIM-19-STAT3-VEGF 信号通路, 抑制细胞凋亡, 加快新生血管形成, 从而促进子宫腺肌病发生发展。GRIM-19 可能成为子宫腺肌病的治疗新靶点。

参考文献

- [1] Hao M, Shu Z, Sun H, et al. GRIM-19 expression is a potent prognostic marker in colorectal cancer [J]. *Hum Pathol*, 2015, 46(12): 1815-1820.
- [2] Toshio K, Takuo H, Keiko M, et al. Characterization of pulmonary cysts in Birt-Hogg-Dubé syndrome: histopathological and morphometric analysis of 229 pulmonary cysts from 50 unrelated patients [J]. *Histopathology*, 2014, 65(1): 100-110.
- [3] Bu X, Zhao C, Wang W, et al. GRIM-19 inhibits the STAT3 signaling pathway and sensitizes gastric cancer cells to radiation [J]. *Gene*, 2013, 512(2): 198-205.
- [4] Ferguson SD, Srinivasan VM, Heimberger AB. The role of STAT3 in tumor-mediated immune suppression [J]. *J Neurooncol*, 2015, 123(3): 385-394.
- [5] Chen YZ, Wang JH, Yan J, et al. Increased expression of the adult stem cell marker Musashi-1 in the ectopic endometrium of adenomyosis does not correlate with serum estradiol and progesterone levels [J]. *Euro J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2014, 173(2): 88-93.
- [6] Xu H, Yang Y, Zhou C, et al. Increased endometrial expression of CC-chemokine receptor-1 in women with adenomyosis. [J]. *Histol Histopathol*, 2014, 29(9): 1153-1160.
- [7] Song WW, Lu H, Hou WJ, et al. Expression of vascular endothelial growth factor C and anti-angiogenesis therapy in endometriosis [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(11): 7752-7759.
- [8] Taguchi A, Koga K, Kawana K, et al. Resveratrol enhances apoptosis in endometriotic stromal cells [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2016, 75(4): 486-492.
- [9] Kalakonda S, Nallar SC, Jaber S, et al. Monoallelic loss of tumor suppressor GRIM-19 promotes tumorigenesis in mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, (下转第 3818 页)

善吞咽功能是提高生活质量的工作重点。进食方式这一因素的相关度高表明:虽然经口进食可能造成患者对误吸的恐惧感,并在食物的选择和进食时间都受到很大地制约,但患者从心理上会认为这样的方式更接近于正常状态,而且可以避免因鼻饲管造成整体外在形象的负面影响和对患者味觉享受的剥夺。

因此,对吞咽障碍患者的临床干预应该是多方面的,包括功能评估、康复治疗、心理疏导、营养管理及护理干预等^[14],尤其是患者的心理问题需要特别关注,患者往往会产生焦虑、悲观、恐惧及依赖等心理问题,如果能及时加强与患者的沟通,强化支持系统,对改善患者的生活质量有很大的帮助。而生活质量属于个人对生活的满意程度,它与个体本身的人生观、价值观、心态、看待事物的角度及处理问题的方法等主观因素也有着密不可分的联系,这些主观因素是否受患者本人的成长环境、教育背景及人生阅历这些客观因素的影响值得思考,主观因素对生活质量的影晌程度及主、客观因素之间的关系还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 卒中患者吞咽障碍和营养管理的中国专家组. 卒中患者吞咽障碍和营养管理的中国专家共识[J]. 中国卒中杂志, 2013, 8(12): 974-984.
- [2] 杨玲, 黄科源, 王娟. 不同方法治疗急性脑卒中后吞咽障碍的疗效比较[J]. 重庆医学, 2015, 44(22): 3063-3067.
- [3] 中华医学会神经病学分会神经康复学组, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组, 卫生部脑卒中筛查与防治工程委员会办公室, 等. 中国脑卒中康复治疗指南(2011 完全版)[J]. 中国康复理论与实践, 2012, 18(4): 301-318.
- [4] 王晓明, 王镜雯. 康复护理对依达拉奉治疗脑卒中后吞咽障碍患者功能恢复及生活质量的影响[J]. 中国药业, 2015, 24(23): 234-236.
- [5] Mchorney CA, Bricker DE, Robbins J, et al. The SWAL-QOL outcomes tool for oropharyngeal dysphagia in a-

dults: II. Item reduction and preliminary scaling[J]. Dysphagia, 2000, 15(3): 122-133.

- [6] 董昱婕, 张向博, 杨建新, 等. 针刺干预治疗对急性脑梗死吞咽障碍患者吞咽功能及生活质量的影响[J]. 河北中医, 2016, 38(4): 588-590.
- [7] 中华神经科学会, 中华神经外科学会. 各类脑血管疾病诊断要点[J]. 中华神经科杂志, 1996, 29(5): 379-380.
- [8] 孙启良. 正确理解和应用临床饮水试验[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2013, 35(2): 81.
- [9] Vasant DH, Mistry S, Michou E, et al. Transcranial direct current stimulation reverses neurophysiological and behavioural effects of focal inhibition of human pharyngeal motor cortex on swallowing[J]. J Physiol, 2014, 592(4): 695-709.
- [10] 全莉娟, 黄经纬, 覃波, 等. Vitalstim 吞咽障碍理疗仪治疗脑卒中真、假性球麻痹的临床研究[J]. 南昌大学学报(医学版), 2012, 52(4): 31-34.
- [11] Teguh DN, Levendag PC, Ghidry W, et al. Risk model and momogram for dysphagia and xerostomia prediction in head and neck cancer patients treated by radiotherapy and/or chemotherapy[J]. Dysphagia, 2013, 28(3): 388-394.
- [12] 尹丽丽. 针刺配合康复治疗治疗中风后吞咽障碍 57 例临床研究[J]. 中医杂志, 2013, 54(9): 766-768.
- [13] Michou E, Raginis-Zborowska A, Watanabe M, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation: a novel approach for treating oropharyngeal dysphagia [J]. Curr Gastroenterol Rep, 2016, 18(2): 10.
- [14] 王爱丽, 徐正梅. 舒适护理对 126 例急性脑卒中后吞咽障碍患者吞咽功能恢复的影响研究[J]. 重庆医学, 2014, 43(16): 2105-2106.

(收稿日期: 2016-11-24 修回日期: 2017-04-12)

(上接第 3815 页)

2013, 110(45): E4213-E4222.

- [10] Hao H, Liu J, Liu G, et al. Depletion of GRIM-19 accelerates hepatocellular carcinoma invasion via inducing EMT and loss of contact inhibition[J]. J Cell Physiol, 2012, 227(3): 1212-1219.
- [11] Huang Y, Yang M, Yang H, et al. Up regulation of the GRIM-19 gene suppresses invasion and metastasis of human gastric cancer SGC-7901 cell line[J]. Exp Cell Res, 2010, 316(13): 2061-2070.
- [12] Yue X, Zhao P, Wu K, et al. GRIM-19 inhibition induced autophagy through activation of ERK and HIF-1 α not STAT3 in Hela cells[J]. Tumour Biol, 2016, 25(1): 1-8.

- [13] Wang GM, Ren ZX, Wang PS, et al. Plasmid-based Stat3-specific siRNA and GRIM-19 inhibit the growth of thyroid cancer cells in vitro and in vivo[J]. Oncol Rep, 2014, 32(2): 573-580.

- [14] Huang TS, Chen YJ, Chou TY, et al. Oestrogen-induced angiogenesis promotes adenomyosis by activating the Slug-VEGF axis in endometrial epithelial cells[J]. J Cell Mol Med, 2014, 18(7): 1358-1371.
- [15] Deng J, Cui J, Jiang N, et al. STAT3 regulation the expression of VEGF-D in HGC-27 gastric cancer cell[J]. Am J Transl Res, 2014, 6(6): 756-767.

(收稿日期: 2016-12-16 修回日期: 2017-05-14)