

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.08.006

# miR-107 靶向细胞周期蛋白 E1 对人非小细胞肺癌 A549 细胞功能的影响研究

刘荷英,王 辉<sup>△</sup>,季洪健,姚秋菊

(上海解放军第 85 医院呼吸内科 200052)

**[摘要]** **目的** 探讨 miR-107 对非小细胞肺癌 A549 细胞功能的影响及可能的靶基因。**方法** 实验分为脂质体+miR-107 模拟物过表达组(OV-miR-107 组)、脂质体+miR-107 抑制模拟物下调组(KD-miR-107 组)和脂质体+阴性对照模拟物组(NC 组),siRNA 的细胞转染分别为 siRNA-1、siRNA-2、siRNA-3。MTT 法检测细胞增殖能力,流式细胞实验检测细胞周期,双荧光素酶报告基因实验检测 miR-107 下游靶基因,实时定量逆转录 PCR 和 Western blot 分别检测下游靶基因 mRNA 和蛋白表达。**结果** miR-107 呈时间和剂量依赖性地抑制 A549 细胞的增殖( $P<0.05$ );miR-107 阻滞更多 A549 细胞停留在 G<sub>0</sub>G<sub>1</sub> 期,而 S 期和 G<sub>2</sub>M 期占比下降( $P<0.05$ );miR-107 结合于细胞周期蛋白 E1(CCNE1)的 3'-UTR 区域 246~253 bp 位点,并降低 CCNE1 mRNA 和蛋白表达( $P<0.05$ );A549 细胞中下调 CCNE1 后,siRNA-2 抑制细胞增殖( $P<0.05$ )并阻滞细胞停留在 G<sub>0</sub>G<sub>1</sub> 期( $P<0.05$ )。**结论** miR-107 靶向调节 CCNE1 抑制人非小细胞肺癌 A549 细胞增殖和调控细胞周期。

**[关键词]** 微小 RNA-107;细胞周期蛋白 E1;细胞周期;癌,非小细胞肺

**[中图分类号]** R734.2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2018)08-1025-04

## Study on effect of miR-107 targeting CCNE1 on function of human non-small cell lung cancer cell line A549

LIU Heying, WANG Hui<sup>△</sup>, JI Hongjian, YAO Qiuju

(Department of Respiration, 85th Hospital of PLA, Shanghai 200052, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of miR-107 on the function of human non-small cell lung cancer cell line A549 and its possible target genes. **Methods** The experiment was divided into the liposome+miR-107 mimics overexpression group(OV-miR-107 group), liposome+miR-107 inhibiting mimics downregulation group(KD-miR-107 group) and liposome+negative control mimics group(NC group). The cell transfections of siRNA were siRNA-1, siRNA-2 and siRNA-3 respectively. The cellular proliferation capacity was detected by MTT assay. The cellular cycle was detected by flow cytometry. The dual luciferase reporter gene assay was performed to detect the downstream target gene of miR-107. The real time quantitative reverse transcription PCR and Western blot were respectively employed to examine mRNA and protein expression levels of downstream target gene. **Results** miR-107 inhibited the proliferation of A549 cells in a time-and dose-dependent manner( $P<0.05$ ). miR-107 arrested more A549 cells at the G<sub>0</sub>G<sub>1</sub> phase, and the proportions of S phase and G<sub>2</sub>M phase were decreased( $P<0.05$ ). miR-107 combined with the 246 bp-253 bp of CCNE1 3'-untranslated region, and decreased mRNA and protein expression of CCNE1( $P<0.05$ ); after down-regulating CCNE1 in A549 cells, siRNA-2 inhibited cellular proliferation ( $P<0.05$ ) and blocked the cells to stay at G<sub>0</sub>G<sub>1</sub> phase ( $P<0.05$ ). **Conclusion** miR-107 inhibits the proliferation of human non-small cell lung cancer cell line A549 and regulates the cellular cycle by targeting CCNE1.

**[Key words]** miR-107; CCNE1; cellular cycle; carcinoma, non-small cell lung

肺癌是对人类健康与生命危害最大的一种恶性肿瘤,也是恶性肿瘤的首位死因,约占恶性肿瘤死因的 30%<sup>[1]</sup>。其中,约 80% 的肺癌是非小细胞肺癌,尽管手术、放疗、化疗和靶向治疗技术在不断地提高,但是 NSCLC 的总体 5 年生存率仍小于 16%<sup>[2-3]</sup>。微小 RNAs (microRNAs, miRNAs) 是一类长 21~25 个核苷酸的具有非编码功能的小 RNA。miRNAs 通过降解靶基因 mRNA 或阻遏其转录后翻译在肿瘤形成和发展中发挥着重要的作用,其可能扮演着原癌基因、抑癌基因、肿瘤转移侵袭、凋亡和耐药调节等诸多角色<sup>[4]</sup>。

近年来对 miRNA 在肺癌中作用的研究逐渐成为了一个热点,这对未来肺癌的诊断和治疗带来了广阔的前景<sup>[5-7]</sup>。诸多研究表明,miR-107 在胶质瘤、乳腺癌、胃癌和肺癌中均表达下调<sup>[8-12]</sup>。同时研究还指出,过表达 miR-107 能够靶向脑源性神经营养因子(BDNF)间接调控 PI3K/AKT 信号通路,从而抑

制非小细胞肺癌细胞的增殖和侵袭<sup>[11]</sup>。也有研究<sup>[12]</sup>指出,miR-107 通过靶向 CDK8 增加非小细胞肺癌细胞对化疗药物顺铂的敏感性,但是对于 miR-107 调控非小细胞肺癌细胞周期的具体机制目前还尚未有文献详细报道。

本课题首先在非小细胞肺癌 A549 细胞株中上调 miR-107 水平研究其对细胞增殖和周期的影响,然后构建含预测靶基因 3'-非编码区(3'-untranslated region, 3'-UTR)的质粒行双荧光素酶报告基因实验检测 miR-107 与下游靶基因的结合位点,并用实时定量逆转录 PCR 和 Western blot 检测 miR-107 对靶基因的 mRNA 和蛋白表达的影响,最后检测在非小细胞肺癌细胞中沉默靶基因的表达后对 A549 细胞增殖和周期的影响。本课题初步探讨了 miR-107 在肺癌细胞生长中的可能作用及其机制,为后续基于 miRNA 的肺癌临床生物治疗的新靶点开发提供实验依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 人非小细胞肺癌 A549 细胞和 HEK293T 细胞购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心;miR-107 模拟物、抑制模拟物和阴性对照模拟物(上海吉玛公司);小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)和阴性对照 siRNA(上海锐博生物);DMEM 培养基和胎牛血清(美国 Gibco 公司);青-链霉素(上海吉诺生物科技有限公司);TRIzol 和 lipofectamine2000(美国 Invitrogen 公司);噻唑蓝(MTT)和碘化丙锭(PI,美国 Sigma 公司);二甲基亚砷和结晶紫(申能博彩生物技术有限公司);双荧光素酶报告基因检测试剂盒(美国 Promega 公司);抗体细胞周期蛋白 E1(CCNE1)和  $\beta$ -actin(美国 Abcam 公司);Synergy2 多功能酶标仪(美国 BioTek 公司);FCASCalibur 流式细胞仪(美国 BD 公司);7900HT 荧光定量仪(美国 ABI 公司);Odyssey 蛋白分析成像系统(美国 LICOR 公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养和转染实验** A549 和 HEK293T 细胞加含 10%胎牛血清和 1%青-链霉素的 DMEM 培养液,置于 37 °C、CO<sub>2</sub> 体积分数为 5%的培养箱中培养。在倒置光学显微镜下观察细胞生长情况,待单层细胞生长达到 80%融合时,用 0.25%胰蛋白酶消化传代,取对数生长期的细胞用于后续实验。将处于对数生长期的 A549 细胞按每孔  $3 \times 10^5$  接种到 6 孔板内,培养细胞融合度为 40%~50%时进行细胞转染,转染步骤参照 lipofectamine2000 转染试剂说明书,转染培养 5 h 后换成正常培养基。实验分组:脂质体+miR-107 模拟物过表达组(OV-miR-107 组),脂质体+miR-107 抑制模拟物下调组(KD-miR-107 组)和脂质体+阴性对照模拟物组(NC 组)。siRNA 的细胞转染方法同上,3 条 CCNE1 的 siRNA 靶序列分别为 siRNA-1:5'-CGC ACG AGA TCT ACG ACA T-3', siRNA-2:5'-ACA ATC GGA TGA TGA TTA A-3', siRNA-3:5'-GCA GCA GCA TCT AGT ACC T-3'。

**1.2.2 实时定量逆转录 PCR** 按照 Trizol 试剂说明书提取细胞中总 RNA。参照 Takara 公司 PrimeScript RT-PCR kit 说明书反转录成 cDNA,然后进行实时荧光定量 PCR 反应。CCNE1 上游引物 5'-TTT CAG GGT ATC AGT GGT G-3',下游引物 5'-ACA TGG CTT TCT TTG CTC-3';GAPDH 上游引物 5'-AAG GTC GGA GTC AAC GGA TT-3',下游引物 5'-CTG GAA GAT GGT GAT GGG ATT-3'。反应条件为:94 °C 5 min;94 °C 20 s,57 °C 45 s,72 °C 45 s,扩增 30 个循环;94 °C 绘制熔解曲线。实验设 3 个平行复孔,所有样品重复检测 3 次。

**1.2.3 MTT 检测细胞增殖** 实验组和对照组 A549 细胞消化重悬计数,以每孔 5 000 个分别接种入 96 孔板。然后分别于 24、48、72、96 和 120 h 进行如下操作:每孔加入 20  $\mu$ L MTT 溶液(5 mg/L),继续培养 4 h。吸弃上清,每孔加入 150  $\mu$ L 二甲基亚砷,置摇床上低速振荡 10 min,使结晶物充分溶解。在酶联免疫检测仪测量 490 nm 处各孔的光密度(OD)值。实验每组设 6 个复孔,重复 3 次。

**1.2.4 流式细胞实验检测细胞周期** 转染 36 h 后细胞消化重悬离心,每管计数  $1 \times 10^6$  个细胞, PBS 洗涤 2 次;加入预冷 70%乙醇 4 °C 固定过夜;离心去上清, PBS 清洗后加入 0.05 g/L PI 50  $\mu$ L,室温避光染色 30 min,流式细胞仪检测细胞周期。

**1.2.5 双荧光素酶报告基因实验** 应用在线生物信息预测软

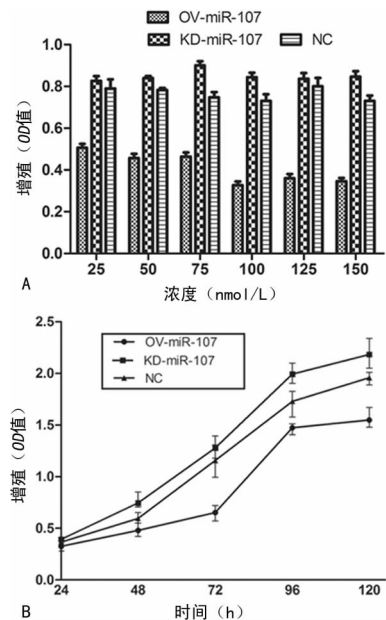
件对 hsa-miR-107 可能作用的靶基因进行预测,选择的原则是该基因具有物种保守性。预测结果显示,miR-107 靶向结合 CCNE1 3'-UTR。构建含有 CCNE1 3'-UTR 的 psiCHECK-2 载体质粒。将 HEK293T 细胞接种于 12 孔板上,细胞密度为 80%~90%进行转染。实验分组:质粒+miR-107 模拟物+脂质体(miR-107 组);质粒+NC 模拟物+脂质体(NC 组)。转染 30 h 后终止培养, PBS 洗 2 次,每孔细胞加入 100  $\mu$ L 的裂解缓冲液,室温轻微振荡 15 min,收集细胞裂解液于干净的 EP 管中;在白色不透光的 96 孔板加入 20  $\mu$ L 样品,加入 100  $\mu$ L 的 LARII 液,立刻测荧光值;将板拿出,继续在孔中加入 100  $\mu$ L Stop Glo Reagent 液,迅速吹打均匀,再测值。最后将所得到的数据标准化后进行分析。

**1.2.6 Western blot 检测 CCNE1 蛋白表达** 将细胞用预冷的 PBS 洗涤 2 次, RIPA 裂解液裂解细胞,用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒定量蛋白。取每孔 20  $\mu$ g 蛋白进行 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),将电泳分离后的蛋白转移到硝酸纤维素膜;5%脱脂奶粉溶液室温下封闭 1 h,加入 1:1 000 稀释的单克隆抗体 CCNE1 和  $\beta$ -actin(内参照)抗体,4 °C 反应过夜;PBST 洗膜 3 次,加入 1:1 000 稀释的二抗,室温反应 30 min;PBST 洗膜 3 次,应用 Odyssey 激光成像系统检测蛋白条带。实验重复 3 次。

**1.3 统计学处理** 应用 SPSS13.0 统计软件进行分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间的比较采用独立样本 *t* 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

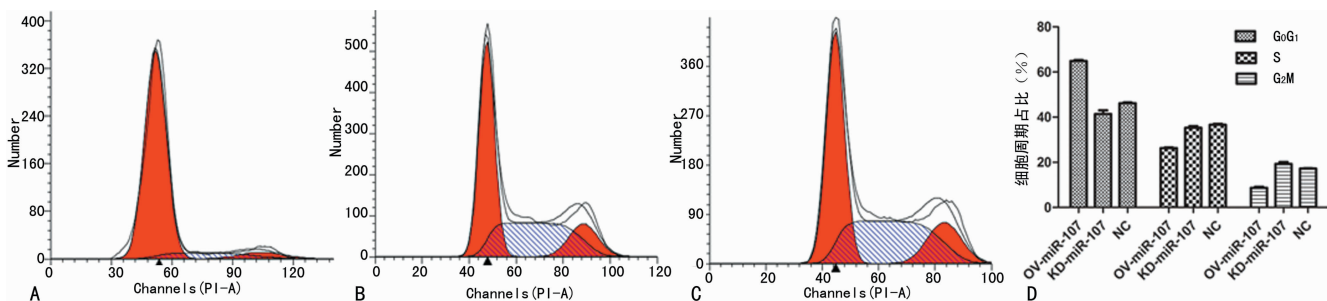
## 2 结果

**2.1 过表达 miR-107 对细胞增殖的影响** 转染 48 h 后, OV-miR-107 组较 KD-miR-107 组和 NC 组明显抑制细胞的增殖( $P < 0.05$ ),浓度 25~100 nmol/L 呈较为明显的剂量依赖性,浓度超过 100 nmol/L 后 OV-miR-107 对细胞增殖的抑制能力基本保持稳定,后续实验采用 100 nmol/L 的浓度。细胞经 100 nmol/L 浓度转染后,在不同时间点 OV-miR-107 组较 KD-miR-107 组和 NC 组对细胞增殖能力的抑制呈现明显的时间依赖性( $P < 0.05$ ),在 72 h 时抑制细胞增殖能力最明显,见图 1。



A:不同浓度模拟物转染 48 h 后各组 OD 值;B:miR-107 过表达模拟物转染浓度为 100 nmol/L 时,不同时间点 OD 值

图 1 过表达 miR-107 对细胞增殖的影响



A:OV-miR-107 组;B:KD-miR-107 组;C:NC 组;D:各组细胞周期占比情况

图 2 过表达 miR-107 对细胞周期的影响

**2.2 过表达 miR-107 对细胞周期的影响** 细胞转染 36 h 后,OV-miR-107 组、KD-miR-107 组和 NC 组细胞 G<sub>0</sub>G<sub>1</sub> 所占比例分别为 (68.880 ± 0.175) %、(40.830 ± 0.271) % 和 (46.160 ± 0.182) %, 差异有统计学意义 (P < 0.05)。OV-miR-107 组细胞 S 期及 G<sub>2</sub>M 期所占占比均少于 KD-miR-107 组和 NC 组 (P < 0.05), 见图 2。

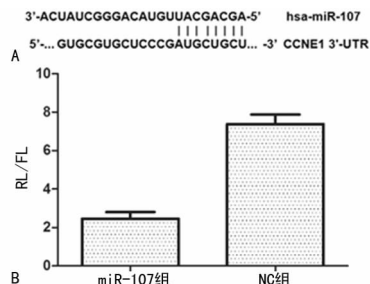
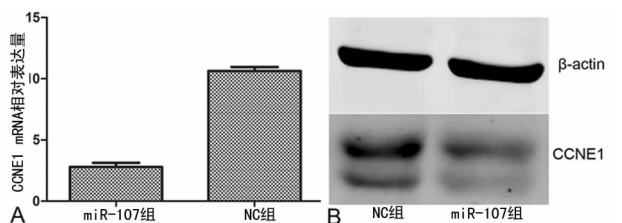


图 3 双荧光素酶报告基因检测 miR-107 与 CCNE1 3'-UTR 的结合位点

**2.3 过表达 miR-107 对细胞 CCNE1 mRNA 和蛋白表达的影响** 生物信息学网站显示 CCNE1 的 3'-UTR 区域 246~253 bp 是 miR-107 的结合位点,miR-107 组海肾荧光素酶 (RL)/萤火虫荧光素酶 (FL) 值小于 NC 组 (P < 0.05), 见图 3。miR-107 组 CCNE1 mRNA 和具体数值蛋白表达水平均较 NC 组低, 见图 4。

**2.4 siRNA 转染后细胞 CCNE1 mRNA 表达** siRNA 转染 36 h 后, 参照阴性对照组, 转染靶向 CCNE1 的 3 条 siRNA 的 CCNE1 mRNA 表达水平均明显降低 (P < 0.05)。3 条 siRNA 中, siRNA-2 的 siRNA 沉默效果最好, 其干扰效率达到 (82.0 ± 0.3) %, 后续实验采用 siRNA-2, 见图 5。



A:实时定量逆转录 PCR 检测 CCNE1 mRNA 表达;B:Western blot 检测 CCNE1 蛋白表达

图 4 过表达 miR-107 对细胞 CCNE1 mRNA 和蛋白表达的影响

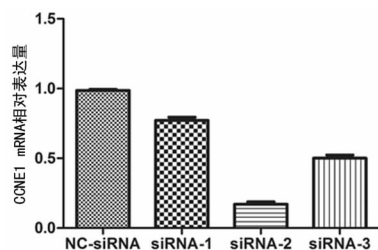


图 5 转染 siRNA 后各组细胞 CCNE1 mRNA 表达

**2.5 CCNE1 siRNA 对细胞增殖和周期的影响** siRNA 转染后 24 h, NC-siRNA 组和 siRNA-2 组对细胞的增殖抑制无明显区别, 但在 48、72 和 96 h, siRNA-2 组对细胞增殖的抑制明显强于 NC-siRNA 组 (P < 0.05)。siRNA 转染 36 h 后, siRNA-2 组细胞 G<sub>0</sub>G<sub>1</sub> 期所占比例明显高于 NC-siRNA 组, 而 siRNA-2 组细胞 S 期和 G<sub>2</sub>M 期细胞占比明显低于 NC-siRNA 组 (P < 0.05), 见图 6。

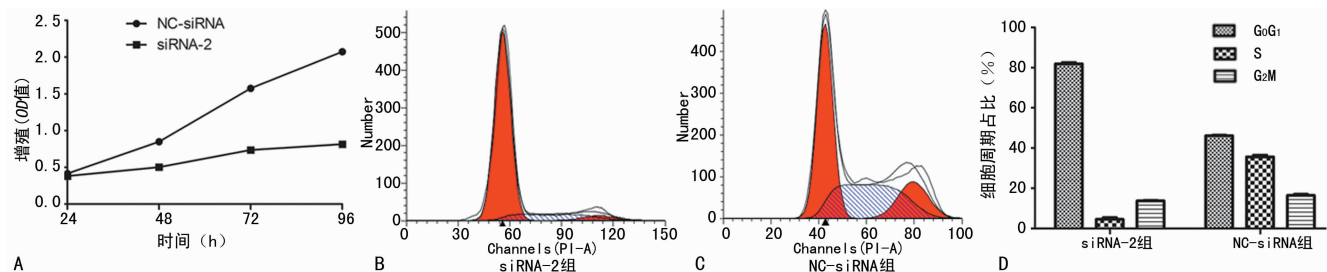


图 6 CCNE1 siRNA 对细胞增殖和周期的影响

3 讨论

非小细胞肺癌是最常见的肺癌类型, 但早期不易发现, 患者确诊时往往已经处于中晚期, 失去手术机会, 于是化疗和分子靶向治疗为其主要治疗手段。对于常规化疗无效或不能耐受联合化疗的晚期患者, 化疗的效果非常有限且疗效较差, 故

这部分患者的 5 年生存率非常低<sup>[2]</sup>。根据分子生物学的信号转导通路发现的靶向药物治疗非小细胞肺癌展现了一定的优越性, 如吉非替尼, 但是以往报道称吉非替尼只能抑制肿瘤的生长而不会使肿瘤最终得到缓解。这是因为肿瘤的发生和发展是一个非常复杂的过程, 吉非替尼仅针对酪氨酸激酶传导通

路,所起的治疗作用也就有一定的局限性。很多学者对非小细胞肺癌中的差异表达的 miRNAs 进行深入研究并探索其发生的机制,以期能够通过 miRNAs 检查筛选早期非小细胞肺癌和进一步指导靶向药物治疗的研发。

笔者通过查阅文献发现 miR-107 在多种肿瘤中呈低表达,如胃癌、乳腺癌、肺癌等<sup>[9-12]</sup>,在一定程度上说明 miR-107 的异常表达可能与这些肿瘤的发生和发展有关联。XIA 等<sup>[11]</sup>通过研究证实 miR-107 在 30 例非小细胞肺癌临床标本和细胞系中呈低表达,同时发现 miR-107 能靶向抑制 BDNF 表达,进一步阻滞 PI3K/AKT 信号通路,最终抑制非小细胞肺癌细胞的侵袭能力。ZHANG 等<sup>[12]</sup>发现 miR-107 靶向抑制 CDK8 后非小细胞肺癌细胞对化疗药物顺铂的敏感性增加。这些研究结果说明 miR-107 在非小细胞肺癌发生和发展中扮演着抑癌基因的作用。为证实这一结论,笔者在 A549 细胞中分别过表达和下调 miR-107 行细胞功能实验。MTT 实验结果显示过表达 miR-107 组细胞较下调 miR-107 组和阴性对照组明显抑制了细胞的增殖,流式细胞周期结果显示过表达组较下调 miR-107 组和阴性对照组明显阻滞了更多的细胞停留在 G<sub>0</sub>G<sub>1</sub> 期,细胞功能学实验证实 miR-107 在非小细胞肺癌中发挥着抑癌基因的作用。

为了探讨过表达 miR-107 能够抑制细胞增殖和阻滞细胞周期的具体机制,笔者通过 targetscan,miRanda 和 miRBase 生物信息学网站对 miR-107 下游靶基因进行预测,3 个数据库结果交集发现 CDK8 和 CCNE1 序列上均有 miR-107 明确的结合位点。因为 miRNA 通过其序列 5'-端的碱基可与多个基因的 mRNA 的靶点结合,即一个 miRNA 可与多个靶基因相结合。CDK8 是细胞周期的调控因子,可激活 Cyclin C,作用于 G<sub>1</sub>S 期,调控正常细胞周期,对于 CDK8 在肺癌组织中表达情况还未有大样本临床资料报道。CCNE1 属于细胞周期蛋白家族中的一员,细胞周期蛋白是调控细胞周期和变构激活周期蛋白依赖性激酶所必需的蛋白,是调控细胞从 G<sub>0</sub>G<sub>1</sub> 期到 S 期转换过程中最基本和最广泛的限速调节因子,CCNE1 通过特异性结合和激活 CDK2,正性调控使细胞从 G<sub>0</sub>G<sub>1</sub> 期进入到 S 期。文献报道在肺癌组织中 CCNE1 呈过表达状态<sup>[13]</sup>,同时在非小细胞肺癌中常常可以观察到细胞组织纺锤体和中心体异常,这是因为细胞中大量表达 CCNE1 引起的<sup>[14]</sup>。也就是说 CCNE1 在肺癌的发生、发展中可能扮演着促癌基因的角色。而且目前还没有文献报道 miR-107 对 CCNE1 基因的调控机制。笔者构建含有 CCNE1 基因 3'-UTR 片段的 psiCHECK-2/CCNE1 3'-UTR 质粒,转染 293T 细胞后行双荧光素酶报告基因实验,实验结果提示 miR-107 能直接结合质粒的 CCNE1 的 3'-UTR 片段。鉴于双荧光素酶实验只能验证外源 miRNA 和外源 CCNE1 3'-UTR 的结合位点,笔者检测了 miR-107 组和 NC 组 CCNE1 mRNA 和蛋白表达水平。本实验结果提示 miR-107 组细胞 CCNE1 mRNA 和蛋白表达水平较 NC 组明显下调,说明 miR-107 能直接结合 CCNE1 的 3'-UTR 区域,介导其 mRNA 的降解,并最终下调蛋白水平。

本文将 CCNE1 siRNA 转染至 A549 细胞,通过实时荧光定量 PCR 选择 siRNA-2 序列进行后续细胞功能实验。MTT 检测结果显示,转染 siRNA-2 的 A549 细胞增殖能力明显低于对照组,且其生长抑制随转染时间的延长而增加。流式周期显

示 siRNA-2 组较对照组阻滞更多细胞停留在 G<sub>0</sub>G<sub>1</sub> 期。细胞周期中 G<sub>1</sub>S 期转换的交界点是细胞生长调控的关键调控点,而 CCNE1 在非小细胞肺癌细胞高表达将会导致细胞的无限增殖。

综上所述,CCNE1 是细胞周期中重要的调节因子,miR-107 靶向调节 CCNE1 影响 A549 细胞的增殖和调控细胞周期,进一步证实 miR-107 是介导肺癌发生、发展的重要 miRNA,并可能起着抑癌基因的作用。但 miR-107 对 CCNE1 具体调控机制,以及在 CCNE1 调控的 G<sub>1</sub>/S 交界点是否有特定因子的失调、缺失或过表达,都有待于进一步探索。

## 参考文献

- [1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics,2012[J]. CA Cancer J Clin,2015,65(2):87-108.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics,2016[J]. CA Cancer J Clin,2016,66(1):7-30.
- [3] SCHABATH B, NGUYEN A, WILSON P, et al. Temporal trends from 1986 to 2008 in overall survival of small cell lung cancer patients[J]. Lung Cancer,2014,86(1):14-21.
- [4] BARTEL D P. MicroRNAs:genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell,2004,116(2):281-297.
- [5] MARCO G, JORGE C B, MARTA C, et al. Exosomal miRNA analysis in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients' plasma through qPCR: A feasible liquid biopsy Tool[J]. J Vis Exp,2016(111):e53900.
- [6] HU Z, CHEN J, TIAN T, et al. Genetic variants of miRNA sequences and non-small cell lung cancer survival[J]. J Clin Invest,2008,118(7):2600-2608.
- [7] LIN Y, YANG C. Circulating miRNA signature for early diagnosis of lung cancer[J]. EMBO Mol Med,2011,3(8):436-437.
- [8] CHEN L, LI Y, XU Y, et al. Upregulation of miR-107 inhibits glioma angiogenesis and VEGF expression[J]. Cell Mol Neurobiol,2016,36(1):113-120.
- [9] ZHANG L, MA P, SUN M, et al. MiR-107 down-regulates SIAH1 expression in human breast cancer cells and silencing of miR-107 inhibits tumor growth in a nude mouse model of triple-negative breast cancer[J]. Mol Carcinog,2016,55(5):768-777.
- [10] ZHANG M, WANG X, LI W, et al. miR-107 and miR-25 simultaneously target LATS2 and regulate proliferation and invasion of gastric adenocarcinoma (GAC) cells[J]. Biochem Biophys Res Commun,2015,460(3):806-812.
- [11] XIA H, LI Y, LV X H. MicroRNA-107 inhibits tumor growth and metastasis by targeting the BDNF-mediated PI3K/AKT pathway in human non-small lung cancer[J]. Int J Oncol,2016,49(4):1325-1333.
- [12] ZHANG Z, ZHANG L, YIN Y, et al. miR-107 regulates cisplatin chemosensitivity of A549 non small cell lung cancer cell line by targeting cyclin dependent kinase 8[J]. Int J Clin Exp Pathol,2014,7(10):7236-7241.

以早期发现缺血灶, 过高 b 值并不能显著区别缺血灶<sup>[11,16]</sup>。所以, 临床工作中, 有必要灵活采用不同 b 值 DWI 扫描, 互为补充, 取长补短, 选择使得 DWI 对病灶的检出率及图像质量达到最佳的效果<sup>[17]</sup>。ADC 能够客观、量化反映 DWI 发现的缺血灶, 由于其为 DWI 的量化指标, 在反映信号强度方面更加细化与准确。本实验数据表明病变区高 b 值 ADC 值较对侧正常脑组织有显著降低。在发现病灶能力方面高 b 值 (2 000、3 000 s/mm<sup>2</sup>) 则更具优势<sup>[18]</sup>。

总之, DWI 诊断急性脑缺血病变中具有较高的价值, 高 b 值能提高 DWI 对超急性脑缺血的检出率, 具有临床推广价值。

#### 参考文献

- [1] LLOYD-JONES D, ADAMS R, CARNETHON M, et al. Heart disease and stroke statistics-2008 update a report from the american heart association statistics committee and stroke statistics subcommittee[J]. *Circulation*, 2015, 117(4):25-146.
- [2] ALONSO A, SZABO K, WOLF M E, et al. Acute stroke syndromes with isolated hypoperfusion on MRI - a clinical and MRI study[J]. *Eur Neurol*, 2016, 75(1/2):27.
- [3] LIU Z H, LIU X W, HUI L H, et al. The appearance of ADCs in the non-affected areas of the patients with MELAS[J]. *Neuroradiol*, 2011, 53(4):227-232.
- [4] INOUE M, MLYNASH M, CHRISTENSEN S, et al. Early diffusion-weighted imaging reversal after endovascular reperfusion is typically transient in patients imaged 3 to 6 hours after onset[J]. *Stroke*, 2014, 45(4):1024-1028.
- [5] SAINI M, SUMINISTRADO M S, HILAL S, et al. Prevalence and risk factors of acute incidental infarcts [J]. *Stroke*, 2015, 46(10):2722-2727.
- [6] KRETZER L, GRÄBEL D, BOKEMEYER M A, et al. Effect of intravenous thrombolysis on the time course of the apparent diffusion coefficient in acute middle cerebral artery infarction[J]. *J Neuroimag*, 2015, 25(6):978-982.
- [7] KRANZ P G, EASTWOOD J D. Does Diffusion-weighted imaging represent the ischemic core? An evidence-based systematic review[J]. *Am J Neuroradiol*, 2009, 30(6):1206-1212.
- [8] 张顺, 张妍, 朱文珍. 急性缺血性脑卒中的磁共振研究进展[J]. *放射学实践*, 2013, 28(4):473-476.
- [9] LETTAU M, LAIBLE M. 3-T high-b-value diffusion-weighted MR imaging in hyperacute ischemic stroke[J]. *J Neuroradiol*, 2013, 40(3):149-157.
- [10] KIDWELL C S, WINTERMARK M, SILVA D A D, et al. Multiparametric MRI and CT models of infarct core and favorable penumbral imaging patterns in acute ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2013, 44(1):73.
- [11] PURROY F, BEGUE R, QUILEZ A, et al. Contribution of high-b-value diffusion-weighted imaging in determination of brain ischemia in transient ischemic attack patients [J]. *J Neuroimaging*, 2013, 23(1):33-38.
- [12] CHENG QG, XU XQ, ZU QQ, et al. High b value DWI in evaluation of the hyperacute cerebral ischemia at 3T; A comparative study in an embolic canine stroke model[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(2):951-956.
- [13] RACT I, FERRÉ J C, RONZIÈRE T, et al. Improving detection of ischemic lesions at 3 Tesla with optimized diffusion-weighted magnetic resonance imaging[J]. *J Neuroradiol*, 2014, 41(1):45-51.
- [14] 周林江, 沈天真, 陈星荣. 磁共振扩散加权成像在超急性期脑梗死诊断中的应用[J]. *中华放射学杂志*, 2002, 36(3):215-218.
- [15] KIM J H, NA D G, CHANG K H, et al. Serial MR analysis of early permanent and transient ischemia in rats; diffusion tensor imaging and high b value diffusion weighted imaging[J]. *Korean J Radiol*, 2013, 14(2):307-315.
- [16] MAKIKO K, KAZUAKI T, AKIKO M. Diffusionsgewichtete MRT - wie viele diffusionsfaktoren sind notwendig[J]. *Fortschr R? ntgenstr*, 2012, 184(4):303-310.
- [17] CHOU MC, TZENG WS, CHUNG HW, et al. T2-enhanced tensor diffusion trace-weighted image in the detection of hyper-acute cerebral infarction; Comparison with isotropic diffusion-weighted image [J]. *Eur J Radiol*, 2010, 74(3):90-95.
- [18] JIN H, ZHANG S, LIU S. Diagnosis value of several b-value diffusion-weighted MR imaging in acute cerebral infarction[J]. *J Clin Radiol*, 2012, 31(8):1091-1093.

(收稿日期:2017-10-17 修回日期:2017-12-29)

(上接第 1028 页)

- [13] HAN Z Y, ZHANG Y B, YANG Q Y, et al. miR-497 and miR-34a retard lung cancer growth by co-inhibiting cyclin E1 (CCNE1)[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(15):13149-13163.
- [14] KOUTSAMI M K, TSANTOULIS P K, KOULOOUSSA M, et al. Centrosome abnormalities are frequent-

ly observed in non-small-cell lung cancer and are associated with aneuploidy and cyclin E overexpression[J]. *J Pathol*, 2006, 209(4):512-521.

(收稿日期:2017-08-12 修回日期:2017-10-26)