

MicroRNA-21 调控口腔鳞癌细胞顺铂耐药及其作用机制

陈建萍¹ 王萍² 杨庚萍² 欧阳少波³ 黄自坤⁴

(1 江西省萍乡市湘东区人民医院口腔科 萍乡 337055; 2 江西省萍乡市湘东区中医院口腔科 萍乡 337016; 3 南昌大学附属口腔医院修复科 江西南昌 330006; 4 南昌大学第一附属医院检验科 江西南昌 330006)

摘要:目的:探讨 microRNA-21(miRNA-21)在口腔鳞癌顺铂耐药细胞中的表达及其作用机制。方法:采用实时荧光定量 PCR (RT-PCR) 法检测 miRNA-21 在口腔鳞癌细胞株 Tca8113 及顺铂耐药细胞株 Tca8113/DDP 的表达;采用体外转染法将 miRNA-21 模拟物 (mimics) 或抑制物 (inhibitor) 分别转染 Tca8113 和 Tca8113/DDP 细胞,采用 RT-PCR 检测转染前后细胞中 miRNA-21 的表达情况;采用 CCK8 实验检测转染前后细胞对顺铂敏感性的变化;并用 Western blot 检测转染前后细胞中 PTEN 的表达变化。采用双荧光素酶报告基因验证 miRNA-21 是否作用于 PTEN 基因的 3'-UTR 区预测靶位。结果:miRNA-21 在 Tca8113/DDP 细胞中的表达水平是 Tca8113 细胞的 (8.26± 1.37)倍 ($P<0.01$)。Tca8113 细胞转染 miRNA-21 mimics 后,细胞中 miRNA-21 表达水平是转染前的 (10.51± 2.18)倍 ($P<0.01$),顺铂对 Tca8113 细胞增殖的抑制率较转染前明显下降 ($P<0.05$),细胞内 PTEN 表达水平较转染前明显下降 ($P<0.05$)。Tca8113/DDP 细胞在转染 miRNA-21 inhibitor 后,细胞中 miRNA-21 表达水平是转染前的 (0.32± 0.14)倍 ($P<0.01$),顺铂对 Tca8113/DDP 细胞增殖的抑制率与转染前比较明显增加 ($P<0.05$),细胞内 PTEN 表达水平较转染前明显增高 ($P<0.05$)。经双荧光素酶报告基因验证 PTEN 是 miRNA-21 的靶基因。结论:miRNA-21 在口腔鳞癌顺铂耐药细胞 Tca8113/DDP 中异常高表达,下调其表达可部分逆转细胞耐药性,miRNA-21 可能通过作用于 PTEN 参与口腔鳞癌细胞顺铂耐药的发生和发展。

关键词: 口腔鳞癌;微小 RNA-21;顺铂;耐药;人第 10 号染色体缺失的磷酸酶

Expressions of MicroRNA-21 in Oral Squamous Cell Carcinoma and Its Correlation with Drug Resistance by Targeting PTEN

CHEN Jian-ping¹, WANG Ping², YANG Gen-ping², OUYANG Shao-bo³, HUANG Zi-kun⁴

(1Department of Stomatology, the People's Hospital of Xiangdong District of Pingxiang City, Jiangxi337055; 2Department of Stomatology, the TCM Hospital of Xiangdong District of Pingxiang City, Jiangxi337016; 3Affiliated Oral Hospital of Nanchang University, Jiangxi330006; 4Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Jiangxi330006)

Abstract: Objective: To investi gate the expression of microRNA-21 (miRNA-21) in cisplatin-resistant oral squamous cell carcinoma cells and its mechanism. Methods: Real-time PCR (RT-PCR) was used to detect the expression of miRNA-21 in cisplatin-resistant oral squamous cell carcinoma cell line Tca8113/DDP and its parent cell line Tca8113. miRNA-21 mimics and miRNA-21 inhibitor in vitro was transiently transferred into Tca8113 and Tca8113/DDP cells respectively. The expression level of miRNA-21 was detected by RT-PCR. Cell viability was analyzed by CCK8 assay. Expression of epithelial membrane protein-1 (PTEN) protein was detected by Western blot. Bioinformatics software predicted the potential target genes of miRNA-21 and dual luciferase reporter gene was used to analyze the binding between miRNA-21 and 3'-UTR of PTEN. Results: The expression level of miRNA-21 was up-regulated in Tca8113/DDP cells as compared with Tca8113 cells ($P<0.01$). The relative expression level of miRNA-21 in miRNA-21 mimics-transfected Tca8113 was significantly increased. Over-expression of miRNA-21 inhibited cisplatin chemosensitivity ($P<0.05$), and the up-regulation of miRNA-21 led to a significant decrease in the PTEN protein levels ($P<0.05$). The relative expression level of miRNA-21 in miRNA-21 inhibitor-transfected Tca8113/DDP was significantly decreased. Low-expression of miRNA-21 promoted cisplatin chemosensitivity ($P<0.05$), and the down-regulation of miRNA-21 led to a significant increase in the PTEN protein levels ($P<0.05$). Dual luciferase reporter gene assay indicated that miRNA-21 regulated PTEN expression by binding to the 3'-UTR of PTEN mRNA. Conclusions: The expression of miRNA-21 was up-regulated in Tca8113/DDP cells. Down-regulation the expression of miRNA-21 could partially reverse the cisplatin-resistance. miRNA-21 may play a vital role in oral squamous cell carcinoma drug resistance by targeting PTEN.

Key words: Oral squamous cell carcinoma; MicroRNA-21; Cisplatin; Drug resistance; PTEN

中图分类号: R739.8 文献标识码: B doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2015.12.006

口腔鳞癌 (Oral Squamous Cell Carcinoma, OSCC) 是头颈部最常见的恶性肿瘤之一,近年来其发病率有逐年增高的趋势^[1]。尽管近年来新的抗肿瘤药物不断出现,多数患者仍不能够获得有效地控制,这其中一个重要原因是口腔鳞癌细胞对化疗药

物产生了耐药^[2]。因此研究口腔鳞癌耐药性产生的机制及寻找逆转耐药的途径是目前亟待解决的问题。

MicroRNA (miRNA) 是一种内源性的非编码的 RNA 序列,一般由 21~23 个核苷酸组成小 RNA 分

子,广泛存在于各种生物体中,可在转录后水平负性调控基因的表达,miRNA 不仅参与细胞增殖、分化、凋亡、周期调控等,对肿瘤的化疗耐药也具有重要作用^[3-4]。而在业已发现的众多 miRNA 中,miRNA-21 被认为是调控肿瘤恶性生物学行为的重要基因之一,而且还参与调控肿瘤细胞的多重耐药,下调 miRNA-21 可明显增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感性^[5-7]。但是 miRNA-21 是否参与了口腔鳞癌细胞顺铂耐药的调节及其调控机制如何,目前尚未有相关文献报道。本研究以顺铂敏感口腔鳞癌亲本细胞株 Tca8113 及顺铂耐药细胞株 Tca8113/DDP 为细胞模型,探讨 miRNA-21 是否参与调节口腔鳞癌顺铂耐药及其可能的分子机制,为临床口腔鳞癌化疗药物耐药的防治提供新的治疗策略。

1 材料与方法

1.1 主要试剂 口腔鳞癌亲本细胞株 Tca8113 和耐顺铂细胞株 Tca8113/DDP 均购自中国典型培养物保藏中心。RPMI 1640 及胎牛血清购自美国 Gibco 公司;顺铂购自美国 Sigma 公司;蛋白裂解液 RIPA 购自碧云天公司; β -actin 抗体和兔抗人 PTEN 单抗购自美国 Abcam 公司,HRP 标记的二抗购于 Sigma 公司;ECL 化学发光试剂盒购自美国 Pierce 公司。Lipofectamine2000 Transfection Reagent 购自 Life Technologies 公司;Prime-script™ 逆转录试剂盒和 miRNA 定量 PCR 试剂盒购自 TaKaRa 公司;CCK-8 试剂盒购自南京凯基生物科技公司。双荧光素酶报告基因检测试剂盒和 pGL 载体购于美国 Promega 公司。miRNA-21 mimics、miRNA-21 inhibitor 及相应对照均由上海 GenePharma 公司合成。

1.2 细胞培养 亲本细胞株 Tca8113 和耐顺铂细胞株 Tca8113/DDP 分别于含 10%胎牛血清、100 U/ml 青霉素、100 mg/ml 链霉素的 RPMI 1640 培养基中,在 37℃、5%CO₂ 饱和湿度的细胞培养箱中培养。向 Tca8113/DDP 细胞培养液中将加入终浓度为 5 μ mol/L 的顺铂以维持细胞耐药性。

1.3 细胞转染 实验设置空白对照组、阴性对照组(仅含无义序列)和实验组(miRNA-21 mimics 或 miRNA-21 inhibitor)。取对数生长期细胞进行细胞转染,细胞转染按照 Lipofectmine 2000 试剂盒说明书操作,将 10 nmol/L miRNA-21 mimics 或 miRNA-21 inhibitor 分别转染至 Tca8113 和 Tca8113/DDP 细胞中。

1.4 实时荧光定量 PCR(RT-PCR)法检测 miRNA-

21 的表达 用 Trizol 试剂提取对数生长期的细胞总 RNA,使用分光光度计测定提取的 RNA 吸收值,并计算 RNA 浓度。按照 TaKaRa 公司的 Prime-script™ 逆转录试剂盒说明书逆转录成 cDNA,反应条件:30℃ 8 min,40℃ 25 min,-80℃ 保存备用。RT-PCR 按照 SYBR Green 说明书配制反应体系(25 μ l 体系)。以 U6 作为 miRNA-21 内参。取 cDNA 进行 RT-PCR,定量 PCR 条件如下:95℃ 预变性 10 s,然后进行 40 个循环;95℃ 8 s,65℃ 10 s,然后 70℃ 延伸 10 s,绘制扩增曲线,反应结束后得到各反应管循环阈值(Ct),miRNA-21 的相对表达量采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法对基因表达量进行相对定量。

1.5 CCK8 检测转染前后细胞对顺铂敏感性变化 按照 CCK8 试剂盒说明书进行实验。转染 24 h 后,取对数期 Tca8113 或 Tca8113/DDP 细胞进行消化及收集,以 5 $\times$ 10³ 个细胞接种到 96 孔培养板中,每孔接种体积为 100 μ l,并设仅含培养基的空白对照。细胞贴壁后,分别加入不同浓度的顺铂,每孔加入 100 μ l。细胞培养 48 h 后,每孔 CCK8 与培养液以 1:10 加入,继续孵育 2 h,在酶标仪上采用 450 nm 波长测量每孔吸光度(Optical Density, OD)值。根据数据绘制细胞生长抑制率曲线,并计算顺铂对细胞的半数抑制浓度(half Inhibition Concentration, IC₅₀)。抑制率计算公式为:生长抑制率=(1-OD 用药组/OD 对照组) $\times$ 100%,以最小二乘法进行曲线拟合,得到 IC₅₀ 值,实验重复 3 次。

1.6 Western blot 检测细胞中 PTEN 的含量 收集转染前后细胞,PBS 洗涤 2 次,RIPA 裂解液提取细胞总蛋白,加 SDS-PAGE 上样缓冲液,煮沸 5 min 离心,并用 BCA 法测定蛋白含量。按每孔 20 μ l 上样,于 10%聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳,转膜 1 h 至 PVDF 膜上,5%脱脂奶粉室温封闭 2 h。分别加入兔抗人 PTEN 抗体(1:2 000)、鼠抗人 β -actin 抗体(1:500),4℃ 孵育过夜。TBST 洗 3 次,每次 10 min,分别加入 HRP 标记的羊抗兔二抗(1:1 000)和羊抗鼠二抗(1:4 000),室温孵育 1 h 洗膜,加入 ECL 发光液显影,用 Image J 图像分析系统扫描图像的光密度,以各组目的蛋白条带光密度值与 β -actin 光密度值计算相对比值。

1.7 双荧光素酶报告基因检测 化学合成包含有与相应 miRNA-21 互补结合的靶基因 PTEN 3'-UTR 序列片段和突变的 PTEN 3'-UTR 序列片段,将包含预测 miRNA-21 结合位点的 PTEN 3'-UTR 和突变的 PTEN 3'-UTR (mutant) 的片段克隆到

pGL3- Luciferase 基因下游的多克隆位点中。正常培养的 Tca8113 细胞, 以 4×10^5 个/ml 均匀接种于 6 孔培养板, 每孔体积 1 ml。共转染包含 PTEN 3'-UTR 或突变的 PTEN 3'-UTR (mutant) 的荧光素酶质粒, 以及 miRNA-21 mimics 或 miRNA-21 mimics control。转染 48 h 后收集细胞, 按照 Promega 提供的方法进行双荧光素酶活性检测。

1.8 统计学方法 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析, 计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间分析用单因素方差分析, 当 $P < 0.05$ 时表示差异有统计学意义。

2 结果

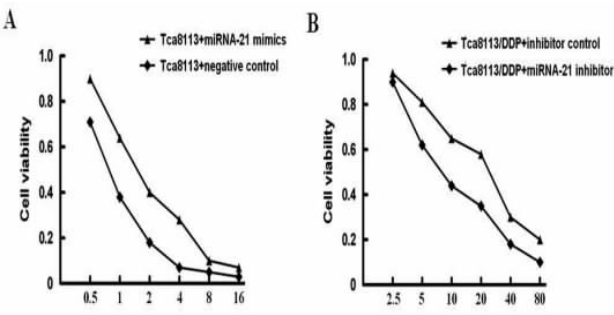
2.1 耐药细胞株与亲本细胞株对顺铂的敏感性 经不同浓度的顺铂作用 48 h 后, Tca8113/DDP 及 Tca8113 两株细胞的存活率不同; Tca8113/DDP 及 Tca8113 对 DDP 的 IC₅₀ 分别为 $(22.37 \pm 3.55) \mu\text{mol/L}$ 、 $(0.82 \pm 0.16) \mu\text{mol/L}$ ($P < 0.01$), 前者是后者的 27.28 倍。

2.2 耐药细胞株与亲本细胞株 miRNA-21 的表达 RT-PCR 检测结果显示, miRNA-21 在耐药细胞株 Tca8113/DDP 中的表达水平显著升高, 与口腔鳞癌亲本细胞株 Tca8113 相比, 表达升高 (8.26 ± 1.37) 倍, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.3 转染 miR-21 mimics 或 inhibitor 后 miRNA-21 表达变化 Tca8113 细胞转染 miRNA-21 mimics 后, 细胞中 miRNA-21 表达水平明显增高, 是转染前的 (10.51 ± 2.18) 倍 ($P < 0.01$)。而 Tca8113/DDP 细胞在转染 miRNA-21 inhibitor 后, 细胞中 miRNA-21 表达水平明显下降, 是转染前的 (0.32 ± 0.14) 倍 ($P < 0.01$)。

2.4 转染 miR-21 mimics 或 inhibitor 后口腔鳞癌细胞对顺铂敏感性变化 我们进一步检测了 miRNA-21 改变异常是否能够影响口腔鳞癌细胞对顺铂敏感性。在 Tca8113 细胞中分别转染 miRNA-21 mimics 和 mimics control, 在 Tca8113/DDP 细胞中分别转染 miRNA-21 inhibitor 和 inhibitor control。CCK8 结果显示, 转染 miRNA-21 mimics 后 Tca8113 细胞存活率随顺铂浓度的增加明显升高, 顺铂对细胞增殖的抑制率较转染前明显下降, 转染 miRNA-21 mimics 前顺铂对 Tca8113 细胞的 IC₅₀ 为 $(0.78 \pm 0.11) \mu\text{mol/L}$; 转染 miRNA-21 mimics 后顺铂对 Tca8113 细胞的 IC₅₀ 为 $(1.64 \pm 0.18) \mu\text{mol/L}$, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1A。Tca8113/DDP 细胞转染 miRNA-21 inhibitor 后, 顺铂对其增殖的抑制率与转染前比较

明显增加, 转染 miRNA-21 inhibitor 前顺铂对 Tca8113/DDP 细胞的 IC₅₀ 为 $(26.56 \pm 4.67) \mu\text{mol/L}$; 转染 miRNA-21 inhibitor 后顺铂对 Tca8113/DDP 细胞的 IC₅₀ 为 $(8.17 \pm 2.05) \mu\text{mol/L}$, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1B。

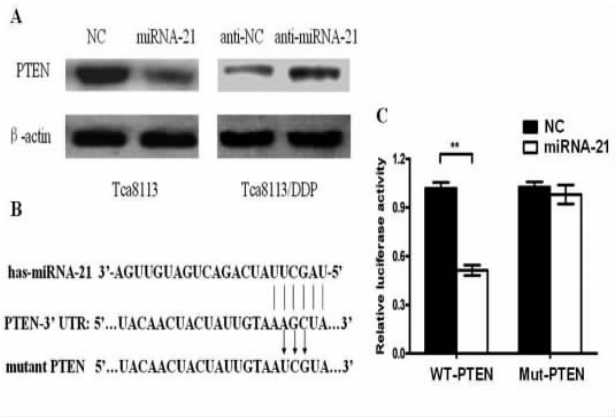


A: Tca8113 细胞转染 miRNA-21 mimics 和 negative control;
B: Tca8113/DDP 细胞转染 miRNA-21 inhibitor 和 inhibitor control。
图 1 Tca8113 细胞和 Tca8113/DDP 细胞分别转染 miRNA-21 mimics 和 miRNA-21 inhibitor 后顺铂对细胞的抑制率变化

2.5 口腔鳞癌细胞中 PTEN 是 miRNA-21 调节的下游靶基因 为了确定 miRNA-21 在口腔鳞癌细胞中调节的下游靶基因, 我们利用在线生物信息学软件 miRanda 预测发现 PTEN 的 mRNA 的 3'-UTR 含有能和 miRNA-21 成熟序列结合的位点, 提示 PTEN 可能是 miRNA-21 的靶基因。为了进一步证实 miRNA-21 对口腔鳞癌细胞 PTEN 表达的调节, 我们检测了口腔鳞癌细胞中 miRNA-21 和 PTEN 表达水平之间的关系。Western blot 检测结果显示, 在 Tca8113 细胞中转染 miRNA-21 mimics 增加 miRNA-21 的表达水平后, 细胞内 PTEN 表达水平明显下降, 与 mimics 阴性对照组和空白对照组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 在 Tca8113/DDP 细胞中转染 miRNA-21 inhibitor 降低 miRNA-21 的表达水平后, 细胞内 PTEN 表达水平明显升高, 与 inhibitor 阴性对照组和空白对照组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 2A。这一结果表明 miRNA-21 抑制了口腔鳞癌细胞中 PTEN 的表达。

为了进一步明确 miRNA-21 通过与 3'-UTR 结合调节 PTEN 表达, 我们构建了含有 PTEN 的 3'-UTR 序列的荧光素酶报告基因表达载体 WT-PTEN, 同时构建了 PTEN 3'-UTR 区 miRNA-21 结合种子序列突变的载体 Mut-PTEN。见图 2B。Tca8113 细胞中, 表达野生型 PTEN 的 3'-UTR 序列的细胞中, 转染 miRNA-21 mimics 上调 miRNA-21 的水平与转染 miRNA 对照组相比荧光素酶活性明显下降 ($P < 0.01$), 说明 miRNA-21 抑制

了荧光素酶的表达。转染突变型 PTEN 的 3'-UTR 序列的细胞中,miRNA-21 mimics 上调 miRNA-21 的水平与对照组相比荧光素酶活性无明显差异 ($P>0.05$),说明与 miRNA-21 是通过打靶并结合 PTEN 的 3'-UTR 来调节蛋白表达的。见图 2C。



A: Tca8113 细胞和 Tca8113/DDP 细胞分别转染 miRNA-21 mimics 和 miRNA-21 inhibitor 后细胞中 PTEN 的表达; B: 包含 PTEN 3'-UTR 荧光素酶质粒构建示意图; C: 双荧光素酶报告基因检测结果, $^{**}P<0.01$ 。

图 2 PTEN 为 miRNA-21 靶基因

3 讨论

miRNA 是近年发现的小型非编码 RNA,可特异性识别靶 mRNA 的 3'-UTR 并与之结合,促进靶 mRNA 的降解和(或)翻译抑制而发挥负调控基因表达的作用。近年来,大量研究表明 miRNA 可以调控肿瘤增殖、凋亡及耐药相关靶基因的表达,在肿瘤耐药过程中发挥着至关重要的作用^[8]。近年研究发现,miRNA-21 参与了肿瘤发生和发展的调节。如,在乳腺癌、结直肠癌和肺癌的肿瘤组织中,miRNA-21 表达明显上调^[9]。近期研究发现 miRNA-21 在肿瘤的耐药形成中也发挥着至关重要的作用。在对人非小细胞肺癌细胞和耐顺铂细胞的研究中发现,在耐药细胞中 miRNA-21 表达水平明显高于亲本细胞,且下调耐药细胞中 miRNA-21 的表达水平可明显逆转耐药细胞对顺铂的敏感性^[9]。在食管癌 EC9706 细胞中,miRNA-21 可降低 EC9706/DDP 细胞对顺铂的耐药性^[10]。但是 miRNA-21 是否参与及通过何种机制调节口腔鳞癌细胞的耐药,目前尚未有相关文献报道。

我们的研究首次发现,miRNA-21 在顺铂耐药口腔鳞癌细胞株 Tca8113/DDP 中表达水平明显高于其亲本细胞 Tca8113;通过上调 Tca8113 细胞中 miRNA-21 的表达可促进其对顺铂的耐药,下调 Tca8113/DDP 细胞中 miRNA-21 表达可逆转其对顺铂的耐药。由此可证实,miRNA-21 参与了口腔鳞癌细胞耐药的调节。

为了进一步明确 miRNA-21 通过何种机制调控 Tca8113/DDP 细胞的耐药,我们应用在线生物信息学 miRNA 靶基因预测软件 miRanda 对 miRNA-21 的靶基因进行了预测,结果提示 PTEN 可能为 miRNA-21 的靶基因之一。PTEN 基因全长 200 kb,包含有 9 个外显子和 8 个内含子,编码是一个由 403 个氨基酸残基组成的蛋白,是最早发现的具有磷酸酶活性的肿瘤抑制基因,能够维持正常的物质代谢和内环境自稳态。PTEN 是已经公认的在人类肿瘤中最容易突变的肿瘤抑制基因之一,细胞突变后可导致易患肿瘤综合征,能够抑制磷脂酰肌醇 3-激酶蛋白家族的活性,与肿瘤的发生发展关系密切^[11]。研究人员在乳腺癌、肺癌、胃癌等肿瘤组织中发现 PTEN 低表达,且与疾病严重程度有关,在该肿瘤中起负性调节作用^[12]。口腔鳞状细胞癌中亦发现 PTEN 低表达,PTEN 蛋白的表达水平与临床分期及分化程度有关,较低 PTEN 水平伴淋巴结转移的风险升高^[13-14]。以上研究结果提示 PTEN 低表达在肿瘤发生发展具有重要作用。

为了证明在口腔鳞癌中 miRNA-21 和 PTEN 基因之间的调控关系,我们对口腔鳞癌细胞株进行 miRNA-21 mimics 和 inhibitor 的转染分别促进和抑制 miRNA-21 的表达,Western blot 实验证实通过上调或下调 miRNA-21 的表达,相应细胞中 PTEN 的表达水平也下调或上调。然后我们应用双荧光素酶报告基因检测系统验证两者之间的靶向调控关系,证明了 miRNA-21 可以直接调控 PTEN 基因,与 Yang 等^[7]研究结果一致。在后续研究中,我们将对 PTEN 在口腔鳞癌细胞中发挥的生物功能进行深入研究。并将进一步研究在口腔鳞癌细胞中 PTEN 作为 miRNA-21 的靶基因是否介导了 miRNA-21 对口腔鳞癌细胞耐药的调节。

综上所述,miRNA-21 在口腔鳞癌耐顺铂细胞 Tca8113/DDP 中异常高表达,下调其表达可部分逆转 Tca8113/DDP 对顺铂的耐药性,这可能为临床上治疗口腔鳞癌耐药提供新的靶点。miRNA-21 可能通过作用于 PTEN,参与调控口腔鳞癌顺铂耐药的发生发展,具体调控机制尚待进一步研究。

参考文献

[1]Taghavi N,Yazdi I.Prognostic factors of survival rate in oral squamous cell carcinoma: clinical, histologic, genetic and molecular concepts[J].Arch Iran Med,2015,18(5):314-319
[2]Yoshikawa K,Noguchi K,Nakano Y,et al.The Hippo pathway transcriptional co-activator, YAP, confers resistance to cisplatin in human oral squamous cell carcinoma [J].Int J Oncol,2015,46 (6): 2364-2370

[3]Jiang F,Zhao W,Zhou L,et al.MiR-222 targeted PUMA to improve sensitization of UM1 cells to cisplatin [J].Int J Mol Sci,2014,15(12): 22128-22141

[4]Yu DD,Lv MM,Chen WX,et al.Role of miR-155 in drug resistance of breast cancer[J].Tumour Biol,2015,36(3):1395-1401

[5]吴振华,陶中华,张剑,等.MicroRNA-21 调控乳腺癌对吉西他滨耐药的机制[J].中国癌症杂志,2015,25(5):326-332

[6]Dong Z,Ren L,Lin L,et al.Effect of microRNA-21 on multidrug resistance reversal in A549/DDP human lung cancer cells [J].Mol Med Rep,2015,11(1):682-690

[7]Yang SM,Huang C,Li XF,et al.miR-21 confers cisplatin resistance in gastric cancer cells by regulating PTEN [J].Toxicology,2013,306: 162-168

[8]Xue J,Niu J,Wu J,et al.MicroRNAs in cancer therapeutic response: Friend and foe[J].World J Clin Oncol,2014,5(4):730-743

[9]Shen L,Wan Z,Ma Y,et al.The clinical utility of microRNA-21 as novel biomarker for diagnosing human cancers [J].Tumour Biol, 2015,36(3):1993-2005

[10]潘雪,李向楠.微小 RNA-21 反义寡核苷酸对食管癌顺铂耐药细胞的影响[J].中华实验外科杂志,2015,32(5):1072-1074

[11]Yang Y,Yang JJ,Tao H,et al.MicroRNA-21 controls hTERT via PTEN in human colorectal cancer cell proliferation [J].J Physiol Biochem,2015,71(1):59-68

[12]Milella M,Falcone I,Conciatori F,et al.PTEN: Multiple Functions in Human Malignant Tumors[J].Front Oncol,2015,(5):24

[13]李善昌,赵聪,姜炳华,等.PI3K 与 PTEN 蛋白在口腔鳞癌中的表达及相关性研究[J].北京口腔医学,2015,23(3):132-134

[14]Rahmani A,Alzohairy M,Babiker AY,et al.Clinicopathological significance of PTEN and bcl2 expressions in oral squamous cell carcinoma[J].Int J Clin Exp Pathol,2012,5(9):965-971

(收稿日期: 2015-08-26)

揞针配合普通针刺治疗缺血性脑卒中后手功能障碍 30 例疗效观察

谈慧¹ 曾科学²

(1 广东省广州市第十二人民医院 广州 510620;2 广东省第二中医院 广州 510095)

摘要:目的:观察揞针配合普通针刺治疗缺血性脑卒中后手功能障碍的临床疗效。方法:将缺血性脑卒中后手功能障碍患者 60 例随机分为治疗组和对照组各 30 例。治疗组在常规方案基础上采用揞针配合普通针刺,对照组在常规方案基础上采用单纯普通针刺,治疗 4 周后进行疗效评定。结果:治疗组 FMA 评分和 BI 评分均高于对照组($P<0.05$)。结论:在常规方案基础上,揞针配合普通针刺比单纯普通针刺治疗缺血性脑卒中后手功能障碍的疗效更好。

关键词:缺血性脑卒中;手功能障碍;揞针;针刺

The Observation of Clinical Efficacy of Press-needle Combining Acupuncture with Herb on Treating Patients with Hand Dysfunction After Ischemic Stroke

TAN Hui¹, ZENG Ke-xue²

(1Guangzhou 12th People Hospital, Guangdong510620; 2Guangdong Second TCM Hospital, Guangzhou510095)

Abstract: Objective: To observe the clinical efficacy of press-needle combining acupuncture with herb on treating patients with hand dysfunction after ischemic stroke. Methods: 60 Patients with hand dysfunction after ischemic stroke were randomly divided into treatment group (30 cases) and control group (30 cases). The treatment group, based on common acupuncture and herb, was treated by press-needle, while the control group was just treated by common acupuncture and herb. All of them were evaluated the efficacy after 4 weeks. Results: The Fugl-Meyer Assessment (FMA) score and the Barthel Index (BI) score improved more in the treatment group than in the control group ($P<0.05$). Conclusion: Based on common acupuncture and herb, the treatment of press-needle has better curative effect for hand dysfunction after ischemic stroke.

Key words: Ischemic stroke; Hand dysfunction; Press-needle; Acupuncture

中图分类号:R743.3

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2015.12.007

缺血性脑卒中是临床常见病和多发病,该病引起的多种后遗症严重影响患者的生活质量,尤其是手功能障碍,一直是医学研究的热点。目前临床常用的疗法包括药物、针灸推拿、康复训练等,但效果欠佳。为提高治愈率,笔者在常规治疗方案(中药+康复训练)的基础上,采用揞针配合普通针刺的方法治疗缺血性脑卒中后手功能障碍的患者,取得较为

满意的疗效。现报道如下:

1 临床资料

1.1 一般资料 从缺血性脑卒中后手功能障碍的患者中随机选取 60 例,其中男 33 例,女 27 例;年龄 45~65 岁;首次发病,病程均在 1 个月之内。将其随机分为治疗组和对照组各 30 例。两组患者在性别、年龄和病程方面经统计学分析,无显著性差异($P>$