

• 论 著 •

lncRNA HCG11-201 对肾癌细胞增殖和侵袭的影响*

杨 超, 谭 威, 崔应东, 向 奎[△], 廖兆琳
恩施土家族苗族自治州民族医院泌尿外科, 湖北恩施 445000

摘 要:目的 探讨长链非编码 RNA(lncRNA)HCG11-201 在肾癌组织中的表达及影响癌细胞增殖和侵袭的分子机制。方法 生物信息学方法预测 HCG11-201 表达与肾癌患者预后的相关性。实时荧光定量 PCR(qPCR)检测肾癌组织和癌旁正常组织、肾癌细胞系和正常肾小管上皮细胞中 HCG11-201 的表达,选择表达最少的肾癌细胞系转染,分别将 HCG11-201 质粒(实验组)或阴性对照质粒(对照组)转至肾癌细胞。qPCR 检测 HCG11-201 质粒转染效率。MTT 法检测转染后细胞增殖活性,Transwell 小室实验检测转染后细胞侵袭能力。生物信息学方法预测 HCG11-201 可吸附结合的微小 RNA(miRNA)及 miRNA 下游基因。qPCR 和 Western blot 检测 miRNA 和下游基因表达。结果 GEPIA 数据库显示,HCG11-201 相对表达水平越高,患者总生存期越长($P<0.01$)。肾癌组织 HCG11-201 相对表达水平显著低于癌旁正常组织($P<0.01$)。肾癌细胞 HCG11-201 相对表达水平显著低于正常肾小管上皮细胞($P<0.01$),其中 Caki-1 细胞相对表达水平最低($P<0.01$)。与对照组比较,实验组 Caki-1 细胞 HCG11-201 相对表达水平显著升高($P<0.01$),细胞增殖活性显著降低($P<0.05$),细胞的侵袭能力显著降低($P<0.05$)。HCG11-201 可互补结合 miR-522,miR-522 可互补结合线粒体融合蛋白 2(mitofusion-2)。与对照组比较,实验组 Caki-1 细胞 miR-522 的相对表达水平显著降低($P<0.01$),mitofusion-2 的 mRNA 相对表达水平和蛋白水平显著升高($P<0.01$)。结论 lncRNA HCG11-201 在肾癌组织和细胞系低表达,与肾癌患者预后相关。过表达 HCG11-201 可明显抑制肾癌细胞增殖和侵袭,其分子机制可能为 HCG11-201 吸附 miR-522 进而上调 mitofusion-2 基因的表达。

关键词:肾肿瘤; 长链非编码 RNA; 细胞增殖; 细胞侵袭
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.09.014 **中图法分类号:**R737.11
文章编号:1673-4130(2021)09-1084-05 **文献标志码:**A

Effect of lncRNA HCG11-201 on the proliferation and invasion of renal cancer cells*

YANG Chao, TAN Wei, CUI Yingdong, XIANG Kui[△], LIAO Zhaolin
Department of Urology, the National Hospital of Enshi Tujia and Miao
Autonomous Prefecture, Enshi, Hubei 445000, China

Abstract: Objective To investigate the expression of long-chain non-coding RNA (lncRNA) HCG11-201 in renal cancer tissues and the molecular mechanisms that affect the proliferation and invasion of renal cancer cells. **Methods** Bioinformatics predicts the correlation between HCG11-201 expression level and prognosis of patients with renal cancer real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was used to detect the expression of HCG11-201 in renal cancer tissues and adjacent normal tissues, renal cancer cell lines, and normal renal tubular epithelial cells. The lowest expressing renal cancer cell line was selected for transfection, and tube HCG11-201 plasmid (experimental group) or negative control plasmid (control group) were transferred into renal cancer cells, respectively. qPCR was used to detect the transfection efficiency of HCG11-201 plasmid. The MTT method was used to detect the proliferation activity of the cells after transfection, and the Transwell assay was used to detect the invasion ability of the cells after transfection. Bioinformatics method predicted that HCG11-201 could adsorb binding microRNA (miRNA) and miRNA downstream gene. qPCR and Western blot were used to detect the expression of miRNA and downstream gene. **Results** GEPIA database showed that, the higher the relative expression level of HCG11-201, the longer the overall survival of patients with renal cancer ($P<0.01$). The relative expression level of HCG11-201 in renal cancer tissues was

* 基金项目:2019 年湖北省卫生健康委员会中医药科研面上项目(ZY2019M077)。
作者简介:杨超,男,主治医师,主要从事肾癌研究。 [△] 通信作者,E-mail:17671180967@163.com。
本文引用格式:杨超,谭威,崔应东,等. lncRNA HCG11-201 对肾癌细胞增殖和侵袭的影响[J]. 国际检验医学杂志,2021,42(9):1084-1088.

significantly lower than that in adjacent normal tissues ($P < 0.01$). The relative expression level of HCG11-201 in renal cancer cells was significantly lower than that in normal renal tubular epithelial cells ($P < 0.01$), and the expression level of Caki-1 cells was the lowest ($P < 0.01$). Compared with the control group, the relative expression level of HCG11-201 in Caki-1 cells in the experimental group was significantly increased ($P < 0.01$), the cell proliferative activity was significantly reduced ($P < 0.05$), and the cell invasion capacity was significantly reduced ($P < 0.05$). HCG11-201 could complement miR-522, and miR-522 could complement mitofusion-2. Compared with the control group, the relative expression level of miR-522 in Caki-1 cells in the experimental group was significantly reduced ($P < 0.01$), and the relative expression level of mitofusion-2 in mRNA and protein levels was significantly increased ($P < 0.01$). **Conclusion** HCG11-201 is low-expressed in renal cancer tissues and cell lines, and is related to the prognosis of renal cancer patients. Overexpression of HCG11-201 can inhibit the proliferation and invasion of renal cancer cells, and its molecular mechanism may be that HCG11-201 specifically adsorbs miR-522 and then up-regulates the expression of mitofusion-2 gene.

Key words: renal cancer; long-chain non-coding RNA; cell proliferation; cell invasion

肾癌是泌尿系统最常见的恶性肿瘤之一,起源于肾实质泌尿小管上皮系统,其发病率在我国呈逐年增加的趋势^[1]。肾癌的主要治疗手段是外科手术,对放疗和化疗均不敏感^[2]。肾癌发病机制尚未完全阐明,其分子机制研究对治疗方案的筛选和预后判断具有非常重要的临床价值。

长链非编码 RNA (lncRNA) 是一类超过 200 核苷酸的非编码小分子 RNA,可在染色质修饰、转录、转录后等多个水平进行基因表达的调控^[3]。lncRNA 参与调控细胞增殖、发育、凋亡、分化、验证等细胞活动,在细胞生理和病理过程中起关键作用^[4]。有研究表明,lncRNA 在多种恶性肿瘤如神经胶质瘤、乳腺癌、宫颈癌等中表达异常,与肿瘤细胞的恶性生物学行为密切相关^[5]。HCG11-201 是一种新发现的 lncRNA,在前列腺癌、神经胶质瘤等肿瘤中均扮演“抑癌基因”的作用^[6-7]。本研究旨在探讨 HCG11-201 在肾癌组织和细胞系中的表达情况及对肾癌患者预后的影响,并进一步研究 HCG11-201 对肾癌细胞增殖和侵袭的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本来源 选取 2017 年 3 月至 2019 年 7 月在恩施土家族苗族自治州民族医院泌尿外科进行肾癌手术切除的患者 59 例为研究对象,标本来源于患者的肾癌组织和癌旁正常组织(距离肿瘤边缘 2 cm 以外)。患者平均年龄(63.21±13.86)岁;男 37 例,女 22 例;临床分期:T1 期 24 例,T2 期 21 例,T3 期 14 例。组织学分级:高、中分化腺癌 27 例,低分化腺癌 32 例。所有患者术前均未接受化疗及放疗,癌组织标本均经病理确诊为肾癌。本研究经恩施土家族苗族自治州民族医院伦理委员会批准,所有患者均签署知情同意书。

1.1.2 细胞与试剂 肾癌细胞(ACHN、Caki-1、786-O、A498 和 OS-RC-2)和人正常肾小管上皮细胞(HK-2)购自上海索尔生物科技有限公司;RPMI

1640 培养基、DMEM 高糖培养基和胎牛血清购自美国 Hyclone 公司;HCG11-201 质粒和阴性对照质粒购自上海艾博斯生物技术有限公司;Lipofectamine 3000 购自美国 Invitrogen 公司;PCR 试剂盒购自宝生物(大连)公司;MTT 购自美国 Sigma 公司;Transwell 小室购自美国 Corning 公司;Matrigel 基质胶购自美国 BD 公司;线粒体融合蛋白 2(mitofusion-2)、p-AKT、p-mTORC2、p-IKK、p-MDM2 和 β -actin 单克隆抗体购自 Santa Cruz(北京)公司;引物购自上海生物工程公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基培养肾小管上皮 HK-2 细胞,用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养肾癌细胞 ACHN、Caki-1、786-O、A498 和 OS-RC-2,置于 37℃、5% CO₂ 的培养箱中培养和传代。取对数生长期的 Caki-1 细胞接种于 6 孔板内,待细胞融合度达到 50%,根据 Lipofectamine 3000 转染试剂说明书进行转染。实验分为对照组和实验组。对照组转染阴性对照质粒,实验组转染 HCG11-201 质粒。转染 24 h 后更换新鲜培养基。

1.2.2 RNA 提取和实时荧光定量 PCR(qPCR)检测 提取组织和细胞总 RNA,并反转录成 cDNA,分别采用 HCG11-201、miR-522、mitofusion-2 引物进行 qPCR 扩增,以 GAPDH 为内参,检测细胞中 HCG11-201 和 mitofusion-2 的表达,以 U6 为内参检测细胞中 miR-522 的表达。具体步骤严格参照说明书操作。实验数据采用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法分析。引物序列见表 1。

1.2.3 MTT 法 转染完成后 24 h,消化收集每组细胞,将 Caki-1 细胞接种至 96 孔板,每孔 100 μ L,在培养箱中培养。在第 1、2、3、4、5 天时间点,向每孔加入 20 μ L MTT 试剂,在培养箱中继续培养,观察颜色变化。4 h 后弃去上清液,每孔加入 150 μ L 二甲基亚砷,振荡 15 min 保证结晶溶解。酶标仪测量每孔在 490 nm 波长处的吸光度(A)值。以 A 值为纵轴,时

间(d)为横轴,绘制细胞生长曲线。

表 1 qPCR 引物序列	
基因	序列引物 (5'-3')
GAPDH	上游:GGA GCG AGA TCC CTC CAA AAT
	下游:GGC TGT TGT CAT ACT TCT CAT GG
HCG11-201	上游:GCT CTA TGC CAT CCT GCT T
	下游:TCC CAT CTC CAT CAA CCC
mitofusion-2	上游:GGC CCA ACT CTA AGT GCC C
	下游:AAG TGC TTT TCC GTC TGC ATC
U6	上游:TCC GAT CGT GAA GCG TTC
	下游:GTG CAG GGT CCG AGG T
miR-522	上游:GGT TTT ACC AAG GGA AAT
	下游:GTG CAG GGT CCG AGG T

1.2.4 Transwell 小室实验 采用 RPMI 1640 培养基稀释 Matrigel 基质胶,在 Transwell 上室加入 50 μ L 稀释后的 Matrigel 基质胶,培养箱内凝固成形。Transwell 下室加入 600 μ L 含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基。转染完成后 24 h,消化收集每组细胞,使用无血清培养基重悬后,分别接种到 Transwell 上室,每室 5×10^4 个细胞。24 h 后弃去培养基,棉签擦去未穿过膜的细胞。甲醇溶液固定 20 min,结晶紫溶液染色 20 min。显微镜下随机选 5 个视野,计数穿透细胞数。

1.2.5 生物信息学方法预测 采用 GEPIA 数据库对肾癌中 HCG11-201 的表达进行生存分析。采用靶基因预测软件 LncBase Predicted v. 2 预测 HCG11-201 可吸附结合的微小 RNA(miRNA)。采用靶基因预测软件 MicroT-CDS 预测 miRNA 的下游基因。

1.2.6 Western blot 转染完成后 48 h,消化收集每组细胞,提取总蛋白。等量上样至 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,冰浴下 90 V 转膜至 PVDF 膜。5% 脱脂牛奶在 37 $^{\circ}$ C 封闭 2 h。分别与一抗 (mitofusion-2、p-AKT、p-mTORC2、p-IKK、p-MDM2 和 β -actin) 在 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜。洗膜后,分别与二抗在室温下孵育 1 h。洗膜后,采用凝胶成像分析仪曝光、显影。

1.3 统计学处理 所有数据均采用 SPSS19.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数间比较采用两独立样本 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HCG11-201 在肾癌组织和癌旁正常组织中的表达 癌旁正常组织和肾癌组织中 HCG11-201 的相对表达水平分别为 8.03 ± 0.56 和 3.17 ± 0.37 ,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

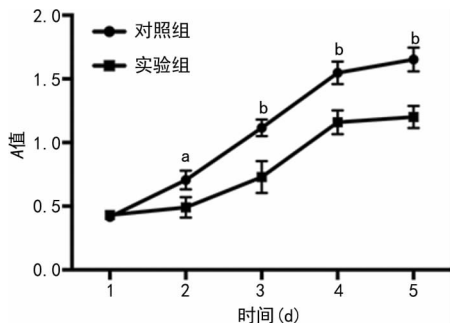
2.2 HCG11-201 在肾癌患者中的生存分析 GEPIA 数据库显示,HCG11-201 的相对表达水平越高,

肾癌患者的生存时间越长 ($P < 0.01$)。

2.3 HCG11-201 在肾癌细胞和正常肾小管上皮细胞中的表达 肾癌细胞 (ACHN、Caki-1、786-O、A498 和 OS-RC-2) 和正常肾小管上皮细胞 (HK-2) 中 HCG11-201 的相对表达水平分别为 0.79 ± 0.03 、 0.09 ± 0.02 、 0.54 ± 0.04 、 0.24 ± 0.03 、 0.63 ± 0.03 和 1.00 ± 0.04 ,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),其中 Caki-1 细胞相对表达水平最低 ($P < 0.01$)。

2.4 转染后 Caki-1 细胞中 HCG11-201 的表达 HCG11-201 质粒和阴性对照质粒转染 Caki-1 细胞后抽取 lncRNA,与对照组比较,实验组细胞中 HCG11-201 的相对表达水平显著升高 (1.03 ± 0.15 vs. 10.56 ± 0.86),差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

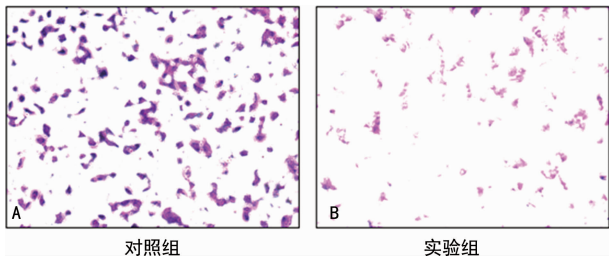
2.5 HCG11-201 对 Caki-1 细胞增殖活性的影响 MTT 实验结果表明,转染 HCG11-201 后,从检测第 2 天开始,Caki-1 细胞增殖活性显著降低 ($P < 0.05$)。见图 1。



注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ 。

图 1 HCG11-201 对 Caki-1 细胞增殖活性的影响

2.6 HCG11-201 对 Caki-1 细胞侵袭能力的影响 Tranwell 小室实验结果显示,实验组穿过 Tranwell 上室基底膜的 Caki-1 细胞数显著少于对照组 (31.46 ± 7.09 vs. 89.87 ± 7.43),细胞的侵袭能力显著降低,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见图 2。



注:A 表示对照组,B 表示实验组。

图 2 HCG11-201 对 Caki-1 细胞侵袭能力的影响 (结晶紫溶液染色, $\times 100$)

2.7 HCG11-201 互补结合的 miRNA 及 miRNA 下游靶基因 靶基因预测软件显示,LncBase Predicted v. 2 预测 HCG11-201 互补结合的 miRNA 为 miR-522,靶基因预测软件 MicroT-CDS 预测 miR-522 的下游靶基因为 mitofusion-2。见图 3。

2.8 转染 HCG11-201 对 miR-522 和 mitofusion-2

mRNA 表达的影响 qPCR 显示,与对照组比较,实验组 Caki-1 细胞中 miR-522 的相对表达水平显著降低(1.01 ± 0.08 vs. 0.19 ± 0.02),差异有统计学意义($P<0.01$);mitofusion-2 mRNA 的相对表达水平显著升高(1.14 ± 0.35 vs. 6.17 ± 0.61),差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.9 转染 HCG11-201 对相关蛋白表达的影响 Western blot 结果显示,转染 HCG11-201 后,mitofusion-2 蛋白水平升高,p-AKT、p-mTORC2、p-IKK 和 p-MDM2 蛋白水平降低。见图 4。

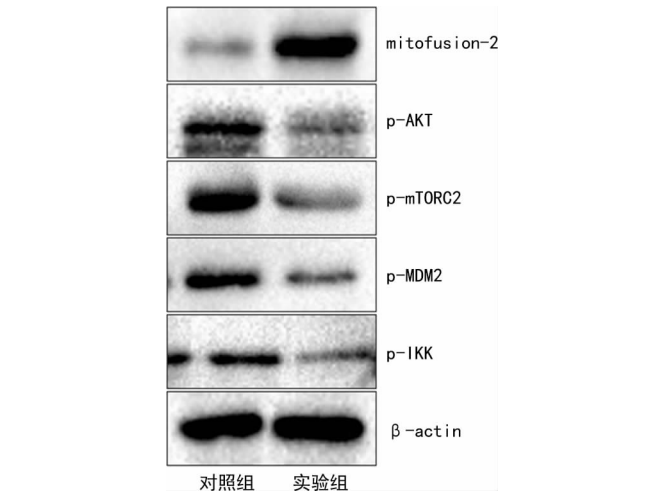
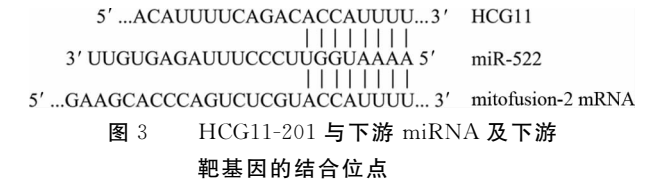


图 4 上调 HCG11-201 表达后 Caki-1 细胞中相关蛋白的表达 Western blot 图

3 讨论

肾癌的发生、发展与多种信号通路及基因的异常表达密切相关,是一个复杂的过程^[8]。近年来随着分子生物学的进展,明确肾癌的发病机制和寻找基因靶向治疗是国内外研究的重点。越来越多的研究表明,lncRNA 如 ROR、NBAT1、AFAP1-AS1、HOTTIP 等在肾癌组织和癌旁正常组织中存在差异表达,在肾癌细胞的分化、增殖、凋亡、转移等活动中发挥重要作用^[9-12]。HCG11-201 是一种新发现的 lncRNA,CHEN 等^[13]研究表明,HCG11-201 在神经胶质瘤中呈低表达,可通过充当竞争性内源性 RNA 吸附 miR-496,抑制神经胶质瘤细胞的增殖,促进细胞的凋亡。ZHANG 等^[7]研究表明,前列腺癌组织中 HCG11-201 的相对表达水平显著低于非肿瘤组织,HCG11-201 的相对表达水平与患者年龄、淋巴结转移、前列腺特异性抗原水平、Gleason 评分和肿瘤复发相关,且前列腺癌组织中 HCG11-201 低表达与前列腺癌患者的生存不良有关。本研究发现,HCG11-201 在肾癌组织和细胞系中低表达。通过转染上调 Caki-1 细胞中

HCG11-201 的表达,Caki-1 细胞的增殖活性和侵袭能力均受到显著抑制,表明 HCG11-201 的异常低表达与肾癌的发生、发展密切相关。GEPIA 数据库显示,HCG11-201 的相对表达水平越高,肾癌患者的生存时间越长,HCG11-201 与肾癌患者的预后显著相关,HCG11-201 可能成为肾癌的治疗靶点和预后标志物。

研究表明,lncRNA 可通过充当竞争性内源性 RNA 吸附下游 miRNA,间接抑制 miRNA 对下游靶基因的干扰作用^[9,14]。靶基因预测软件 LncBase Predicted v. 2 预测 HCG11-201 的下游 miRNA 为 miR-522。miR-522 在骨肉瘤、结直肠癌、非小细胞肺癌等多种肿瘤中表达上调,具有促进肿瘤细胞增殖和转移的作用,发挥显著的“癌基因”作用^[15-16]。上调 HCG11-201 的表达后,miR-522 表达下调,表明 HCG11-201 可吸附 miR-522,抑制 miR-522 的表达。靶基因预测软件 MicroT-CDS 结果显示,mitofusion-2 可能是 miR-522 的靶基因。mitofusion-2 蛋白是一种高度保守的跨膜三磷酸鸟苷酶,位于线粒体外膜中,是促进线粒体融合的重要成分,在维持线粒体和细胞功能方面具有重要作用^[17]。mitofusion-2 蛋白在多种恶性肿瘤中低表达,其过表达可显著抑制肿瘤细胞的增殖和转移^[18]。本研究中 miR-522 表达被抑制后,mitofusion-2 基因表达显著增加。mitofusion-2 蛋白主要通过抑制 AKT/mTOR 信号通路的活化,发挥肿瘤抑制作用^[19]。本研究中 mitofusion-2 蛋白水平升高后,AKT/mTOR 信号通路蛋白如 p-AKT、p-mTORC2、p-MDM2 和 p-IKK 蛋白水平均显著降低,提示 AKT/mTOR 信号通路被抑制。

综上所述,HCG11-201 在肾癌组织和细胞系中低表达,HCG11-201 的相对表达水平与肾癌患者的生存期具有相关性。上调肾癌细胞 Caki-1 中 HCG11-201 的表达可显著抑制细胞的增殖和侵袭能力,其分子机制可能为 HCG11-201 充当竞争性内源性 RNA 吸附 miR-522,进而促进 mitofusion-2 蛋白的表达。

参考文献

- [1] LUO N Q,MA D R,YANG X C,et al. Long non-coding RNA ENST00000434223 inhibits the progression of renal cancer through Wnt/hygro-catenin signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2019,23(16):6868-6877.
- [2] YANG F,WU Q,ZHANG L,et al. The long noncoding RNA KCNQ1DN suppresses the survival of renal cell carcinoma cells through downregulating c-Myc[J]. J Cancer,2019,10(19):4662-4670.
- [3] YANG F,SONG Y,GE L,et al. Long non-coding RNAs as prognostic biomarkers in papillary renal cell carcinoma [J]. Oncol Lett,2019,18(4):3691-3697.
- [4] YUE G,CHEN C,BAI L,et al. Knockdown of long non-coding RNA DLEU1 suppresses the progression of renal cell carcinoma by downregulating the Akt pathway[J].

- Mol Med Rep, 2019, 20(5):4551-4557.
- [5] YANG Q, SUN J, MA Y, et al. LncRNA DLX6-AS1 promotes laryngeal squamous cell carcinoma growth and invasion through regulating miR-376c [J]. Am J Transl Res, 2019, 11(11):7009-7017.
 - [6] ZHANG L, CAO Y, KOU X, et al. Long non-coding RNA HCG11 suppresses the growth of glioma by cooperating with the miR-4425/MTA3 axis [J]. J Gene Med, 2019, 21(4):e3074.
 - [7] ZHANG Y, ZHANG P, WAN X, et al. Downregulation of long non-coding RNA HCG11 predicts a poor prognosis in prostate cancer [J]. Biomed Pharmacother, 2016, 83(6):936-941.
 - [8] CHEN Y, HE J, SU C, et al. LINC00461 affects the survival of patients with renal cell carcinoma by acting as a competing endogenous RNA for microRNA942 [J]. Oncol Rep, 2019, 42(5):1924-1934.
 - [9] SHI J, ZHANG D, ZHONG Z, et al. lncRNA ROR promotes the progression of renal cell carcinoma through the miR206/VEGF axis [J]. Mol Med Rep, 2019, 20(4):3782-3792.
 - [10] XUE S, WANG S, LI J, et al. LncRNA NBAT1 suppresses cell proliferation and migration via miR-346/GSK-3beta axis in renal carcinoma [J]. IUBMB Life, 2019, 71(11):1720-1728.
 - [11] MU Z, DONG D, WEI N, et al. Silencing of lncRNA AFAP1-AS1 inhibits cell growth and metastasis in clear cell renal cell carcinoma [J]. Oncol Res, 2019, 27(6):653-661.
 - [12] SU Y, LU J, CHEN X, et al. Long non-coding RNA HOT-TIP affects renal cell carcinoma progression by regulating autophagy via the PI3K/Akt/Atg13 signaling pathway [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2019, 145(3):573-588.
 - [13] CHEN Y, BAO C, ZHANG X, et al. Long non-coding RNA HCG11 modulates glioma progression through co-operating with miR-496/CPEB3 axis [J]. Cell Prolif, 2019, 52(5):e12615.
 - [14] SHI X, ZHANG W, NIAN X, et al. The previously uncharacterized lncRNA APP promotes prostate cancer progression by acting as a competing endogenous RNA [J]. Int J Cancer, 2020, 146(2):475-486.
 - [15] SHUAI F, WANG B, DONG S. miR-522-3p promotes tumorigenesis in human colorectal cancer via targeting bloom syndrome protein [J]. Oncol Res, 2018, 26(7):1113-1121.
 - [16] CHEN R, LIN J, YAN W, et al. miR-522-3p promotes osteosarcoma cell growth by regulating glucose uptake and GLUT1 expression [J]. Onco Targets Ther, 2019, 12:9053-9058.
 - [17] YAN H, QIU C, SUN W, et al. Yap regulates gastric cancer survival and migration via SIRT1/Mfn2/mitophagy [J]. Oncol Rep, 2018, 39(4):1671-1681.
 - [18] AHN S Y, LI C, ZHANG X, et al. Mitofusin-2 expression is implicated in cervical cancer pathogenesis [J]. Anticancer Res, 2018, 38(6):3419-3426.
 - [19] YI S, CUI C, HUANG X, et al. MFN2 silencing promotes neural differentiation of embryonic stem cells via the Akt signaling pathway [J]. J Cell Physiol, 2020, 235(2):1051-1064.

(收稿日期:2020-09-11 修回日期:2020-12-27)

(上接第 1083 页)

- [10] DU H, TANG B, CAO S R, et al. Discrimination of the species and authenticity of Rhizoma Coptidis based on stable isotope and multielement fingerprinting and multivariate statistical analysis [J]. Anal Bioanal Chem, 2019, 411(13):2827-2837.
- [11] GKENTZI D, TSINTONI A, CHRISTOPOULOU I, et al. Extensively-drug resistant Acinetobacter baumannii bacteremia in neonates; effective treatment with the combination of colistin and ampicillin/sulbactam [J]. J Chemother, 2020, 32(2):103-106.
- [12] LIN S Y, HUANG Z H, CHEN H C, et al. Multidrug-resistance Acinetobacter baumannii pneumonia in a rheumatoid arthritis patient receiving tumor necrosis factor inhibitor [J]. Medicine, 2018, 97(33):e11730.
- [13] LIU Q, ZHU L, CHENG C, et al. Natural active compounds from plant food and Chinese herbal medicine for nonalcoholic fatty liver disease [J]. Curr Pharm Des, 2017, 23(34):5136-5162.
- [14] LI L, LIU M, HE L M, et al. Baicalin relieves TNF- α evoked injury in human aortic endothelial cells by up-regulation of miR-145 [J]. Phytother Res, 2020, 34(4):836-845.
- [15] 陈佰义, 何礼贤, 胡必杰, 等. 中国鲍曼不动杆菌感染诊治与防控专家共识 [J]. 中国医药科学, 2012, 92(2):76-85.
- [16] 汪群红, 何贤君, 胡敏, 等. 黄连和葛根联合抗糖尿病的药效学研究 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(3):676-679.
- [17] 帅丽华, 姜登钊, 刘怀, 等. 黄连-左氧氟沙星联合用药对多重耐药大肠埃希菌的体外抗菌活性研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(5):418-420.
- [18] 吴东美, 陆若辰, 陈钰泉, 等. 黄连、氯己定与抗菌药物介导的细菌交叉耐药 [J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(13):1250-1255.
- [19] 马冬梅, 陶庆春, 齐宏伟. 广泛耐药鲍曼不动杆菌的体外联合抑菌分析 [J]. 中国医药导报, 2018, 15(25):148-151.
- [20] 盖晓红, 刘素香, 任涛, 等. 黄连的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(20):4919-4927.

(收稿日期:2020-09-26 修回日期:2021-01-06)