

miR-212 在乳腺浸润性导管癌组织中的表达及效应分析

瞿海江 张筱华 黄关立 胡哲 魏志平

【摘要】目的 分析 miR-212 在乳腺浸润性导管癌组织中的表达及与乳腺癌临床病理特征之间的相关性, 并分析其效应。**方法** 采用茎环 RT-qPCR 方法检测 38 例乳腺癌及癌旁正常乳腺组织标本中 miR-212 的表达, 统计分析其表达水平与乳腺癌常用临床病理指标间的关系。不同浓度 miR-212 inhibitor 转染 MCF7 乳腺癌细胞, 通过 MTT 法分析细胞活性, 通过 Tran-swell 实验检测细胞的侵袭能力。**结果** 与癌旁正常乳腺组织比较, 乳腺癌组织中 miR-212 的表达明显升高 ($P < 0.05$); 分析 miR-212 表达水平与乳腺癌常用临床病理指标间的关系发现, miR-212 表达水平与乳腺癌细胞与淋巴结转移、TNM 分期相关及增殖指数 (ki67) 相关 ($P < 0.05$), 与月经状况、肿块大小、雌激素和孕激素受体状态、Her-2 表达未见显著相关性 ($P > 0.05$)。细胞干预实验显示, 与空白对照组、阴性对照组比较, miR-212 inhibitor 可明显抑制 MCF7 细胞增殖活性 ($P < 0.05$) 和细胞迁移 ($P < 0.01$)。**结论** 乳腺癌组织高表达的 miR-212 在乳腺癌发展过程中发挥重要作用, 有望成为乳腺癌防治的一个新靶点。

【关键词】 微小 RNA miR-212 乳腺癌

Analysis of the expression and effect in invasive ductal carcinoma of the breast miR-212 QU Haijiang, ZHANG Xiaohua, HUANG Guanli, et al. Department of Tumor Surgery, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China

【Abstract】Objective To investigate the expression of miR-212 in breast invasive ductal carcinoma and its correlation with clinicopathological characteristics of the cancer. **Methods** The expression of miR-212 was detected by loop RT-qPCR in cancer and pericancerous tissue specimens of 38 breast cancer patients. The relationship between miR-212 expression and clinicopathological characteristics was analyzed. MiR-212 inhibitor was transfected into human breast cancer MCF7 cells, then cell proliferation was determined by MTT method and cell invasive ability was measured by Tran-swell assay. **Results** Compared pericancerous breast tissues, the expression of miR-212 in cancer tissues was significantly higher ($P < 0.05$); the expression level of miR-212 was correlated with lymph node metastasis, TNM staging and proliferation index (Ki67) ($P < 0.05$), not correlated with menopausal status, tumor size, estrogen and progesterone receptor status, and Her-2 status ($P > 0.05$). Compared with the blank control group and negative control group, miR-212 inhibitor significantly inhibited cell proliferation ($P < 0.05$) and migration ($P < 0.01$) in MCF7 cells. **Conclusion** MiR-212 is high expressed in breast cancer, which may be involved in the development of breast carcinoma, indicating miR-212 might be a new target in breast cancer therapy.

【Key words】 microRNA miR-212 Breast cancer

长度约 22nt 的内源性小 RNA, 即 micro RNA (miRNA), 通过调控癌基因或抑癌基因的表达, 在肿瘤的发生、发展中起重要的调控作用, 是目前肿瘤研究领域的热点^[1-2]。近年来的研究发现, microRNA-212 (miR-212) 的表达与肺癌^[3]、胰腺癌^[4]、胃癌^[5]等多种肿瘤相关, 但其表达与乳腺癌的相关性少有研究。为此, 本研究采用茎环 RT-qPCR 方法检测了 38 例乳腺浸润性导管癌中

miR-212 的相对表达, 分析其与临床病理特征的关系, 并通过化学合成的 miR-212 inhibitor 转染乳腺癌细胞, 下调其表达, 分析其对细胞增殖、侵袭和迁移的影响。

1 资料和方法

1.1 临床资料

1.1.1 标本来源及保存 2012 年 11 月至 2013 年 12 月温州医科大学附属第一医院肿瘤科及台州市肿瘤医院肿瘤外科收治的乳腺浸润性导管癌患者 37 例, 年龄 32~67 岁, 中位年龄 49 岁; 术前未行放、化疗。每例标本留取肿瘤组织及对应的距肿瘤 5cm 以上的癌旁正常乳

作者单位: 325000 温州医科大学附属第一医院肿瘤外科 (瞿海江、张筱华、黄关立, 瞿海江系在职研究生, 现在台州市肿瘤医院肿瘤外科工作); 台州市肿瘤医院肿瘤外科 (胡哲、魏志平)

腺组织,标本离体后 10min 内置于液氮保存。

1.1.2 主要试剂 mirVana™ miRNA 分离试剂盒、Lipofectamin 2000 转染试剂购自美国 Life Technologies 公司;M-MLV 逆转录酶、RNA 酶抑制剂、SYBR Mastermix 购自日本东洋纺(上海)生物科技有限公司;细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8,CCK-8)购自日本同仁化学所;Matrigel 购自美国 BD Bioscience 公司;Transwell 小室购自美国 Costar 公司;DMEM 为美国 Gibco 公司产品,胎牛血清(FBS)为美国 Gibco 公司产品。引物由上海英骏生物技术有限公司合成;miR-212 inhibitor 由上海吉玛生物公司合成。MCF7 乳腺癌细胞购自中国科学院上海生科院细胞资源中心。

1.2 方法

1.2.1 小 RNA 的提取 取液氮保存的乳腺肿瘤及正常乳腺组织标本,在液氮中碾碎至粉状,按 mirVana™ miRNA 分离试剂盒说明书提取 miRNA,DEPC 处理水溶解。采用德国 EPPENDORF 公司分光光度仪(Bio-photometer)检测 RNA 溶液 OD260/OD280 吸光值,计算 RNA 浓度和纯度。

1.2.2 miR-212 表达检测 采用茎环 RT-qPCR 方法,以 U6 作为内参,分析 miR-212 表达。相关分析的引物序列见表 1。0.1μg 小 RNA 以 U6 和 miR-212 茎环 RT 引物分别进行逆转录,反应条件为:16℃ 30min,42℃ 30min,75℃ 15min,反应结束后-20℃保存。以 15μl 反应体系进行 Real-time 定量 PCR。miRNA 检测反应体系包括:1μl RT 产物,1×SYBR Green I Mastermix,0.5μM 特异前向引物、0.5μM 特异反向引物。Real-time 定量 PCR 条件为:95℃ 10min 后,95℃ 15s,60℃ 1min,40 循环。Real-time 定量 PCR 使用 Applied Biosystems 7500 仪器进行。所有样品做 3 复孔。采用定量 PCR 中的相对定量法,以 $N=2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表示肿瘤组织 miRNA 表达相对于配对的正常组织的变化倍数,其中 $\Delta\Delta C_t = (C_{miR-212} - C_{U6})_{肿瘤} - (C_{miR-212} - C_{U6})_{正常}$ 。

表 1 引物序列

基因	引物	序列
miR-212	RT 引物	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAG-GTATTCGCACTGGATACGACTGGCCGTG
	前向引物	ATGCTTCGTGGGTAACAGTCTCCAGTC
	反向引物	GCAGGTCCGAGGTATTC
U6	RT 引物	CGCTTCACGATTTTGCCTGTCAT
	前向引物	CGCGGTACATATACTAAAAT
	反向引物	CGCTTCACGATTTTGCCTGTCAT

1.2.3 CCK-8 检测 MCF7 细胞 miR-212 inhibitor 转染

增殖能力 MCF7 乳腺癌细胞常规培养于含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基中,取对数生长期的细胞,胰酶消化细胞并计数,以 2×10^5 /孔接种于 96 孔培养板,按照 Lipofectamin 2000 转染试剂说明书进行转染。实验分 3 组:(1)空白对照组,仅加入脂质体;(2)无关序列组,加入无关序列和脂质体;(3)miR-212 干预组,加入 20、40、80nM miR-212 inhibitor 和相应剂量的脂质体。每组设 3 个复孔。分别在转染 24h、48h 后,按 CCK-8 试剂盒说明书检测肿瘤细胞的活性。所有实验重复 3 次。

1.2.4 Transwell 侵袭实验检测肿瘤细胞的侵袭能力 按 Transwell™ 说明书,将 Matrigel 预冷成液态,用无血清培养液 1:1 稀释,加入 Transwell 小室,每孔 15μl,37℃ 包被 1 h,以无血清培养液洗 3 次后备用。按照 Lipofectamin 2000 转染试剂说明书进行转染的 MCF7 细胞去培养基,PBS 液洗 3 次。在 Transwell 小室上部培养嵌室(insert)内加入 1×10^4 /孔细胞悬液,每组设 3 个复孔。向底部培养室加入 600μl 含 15% FBS 的 RPMI 1640 完全培养液。37℃、5% CO₂ 培养 24h。吸去嵌室内的液体,用棉棒擦去嵌室底部内表面上的细胞,将嵌室浸入固定液(50%甲醇)固定 15min,PBS 洗 3 遍。结晶紫染色 30min。风干后,荧光显微镜下每个培养孔随机选择 10 个视野拍照计数,并计算每个视野的平均数。

1.3 统计学处理 miRNA-212 表达数据以中位数和四分位数间距表示。采用 SPSS 16.0 统计软件的非参数 Wilcoxon 符号秩检验(配对的正常和肿瘤组),Mann-Whitney U 检验和 Kruskal-Wallis H 检验进行统计处理。

2 结果

2.1 miR-212 在乳腺癌及对应正常乳腺组织中的表达 如图 1 所示,miR-212 及 U6 的 RT-PCR 产物的溶解曲线为单峰,说明茎环 RT-qPCR 可以特异检测 miR-212 及 U6。以 U6 为内参,检测乳腺癌及对应正常乳腺组织 miR-212 的表达。结果显示(图 2)与对应正常乳腺组织比较,miR-212 在 37 例乳腺癌组织中表达明显升高,其相对表达量为 2.704(1.354,3.745)。采用配对样本的 Wilcoxon 符号秩检验其差异有统计学意义($P < 0.0001$)。

2.2 miR-212 表达与乳腺癌临床病理特征的关系 见表 2。

由表 2 可见,miR-212 在乳腺癌组织中的表达与 TNM 分期、淋巴结转移及增殖指数(ki67)相关。有淋巴结转移组 miR-212 的表达显著高于无淋巴结转移组($P=0.003$);miR-212 表达水平在 I、II、III 期 TNM 分期的乳腺癌组织中位表达值分别为 I 期 1.452、2.633、

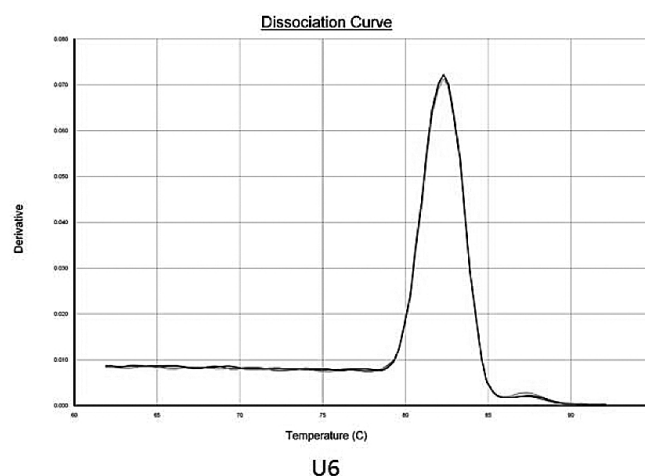
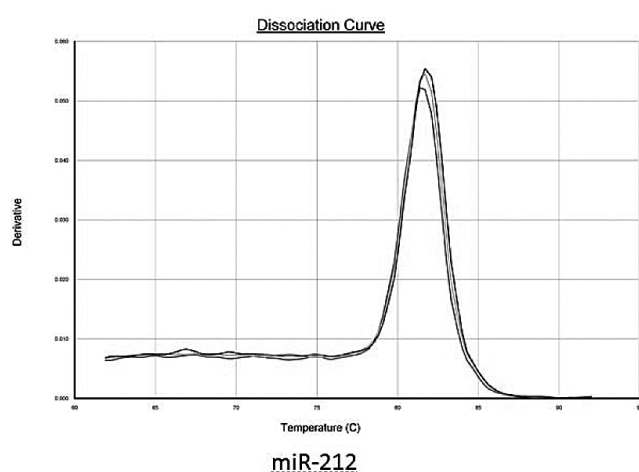
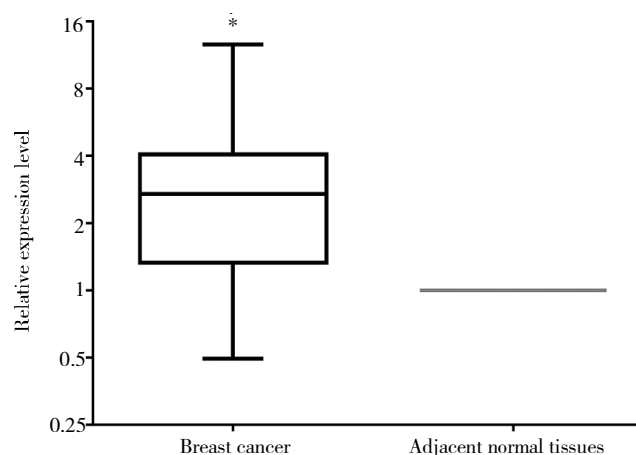


图 1 miR-212 及 U6 茎环 RT-realtime PCR 熔解曲线

图 2 miR-212 在乳腺癌组织及其配对癌旁正常组织中的相对表达水平 (* $P < 0.01$)

4.422, 3 个时期表达水平差异有统计学意义 ($P = 0.015$); 此外 miR-212 的表达还和 ki67 有关, 在高 ki67 组 (ki67 > 10%) 乳腺癌组织 miR-212 的表达显著高于低 ki67 组 (ki67 ≤ 10%, $P = 0.013$)。miR-212 的表达和月经状况、肿块大小、雌激素和孕激素受体状态及 Her-2 表达未见显著相关性。

2.3 miR-212 干预对 MCF7 乳腺癌细胞增殖的影响 为分析 miR-212 在乳腺癌中的作用, 不同浓度 miR-212 inhibitor 转染 MCF7 乳腺癌细胞, 下调细胞内 miR-212 的表达, 通过 MTT 法分析细胞活性的影响。图 3 结果显示, 与空白对照组、阴性对照组比较, 20、40、80nM 的 miR-212 inhibitor 转染均可显著抑制 MCF7 细胞增殖 ($P < 0.05$), 不同浓度间差异无统计学意义。

不同浓度 miR-212 inhibitor 转染 MCF7 细胞 48h 后, 采用 Tran-swell 侵袭实验检测各组细胞的侵袭能力。图 4 结果显示, 与空白对照组、阴性对照组比较, 20、

表 2 乳腺浸润性导管癌中 miR-212 表达和临床病理因素的相关性

临床病理因素	n	miR-212 的表达	P 值
月经状况			
绝经前	14	1.773 (1.168~3.525)	0.521
绝经后	24	2.185 (1.343~4.738)	
肿块大小			
≤2cm	15	1.519 (1.363~3.458)	0.511
>2cm	22	2.767 (1.378~4.224)	
TNM 分期			
I	9	1.452 (1.424~1.519)	0.015
II	18	2.633 (1.271~3.409)	
III	10	4.422 (2.936~6.439)	
ER			
阳性	25	2.704 (1.424~5.098)	0.689
阴性	12	2.633 (1.291~3.310)	
PR			
阳性	17	3.053 (1.424~5.098)	0.478
阴性	20	2.030 (1.341~3.310)	
Her-2			
阳性	8	2.541 (1.424~3.745)	0.786
阴性	29	2.714 (1.249~3.564)	
淋巴结转移			
有	21	3.375 (2.663~6.846)	0.003
无	16	1.452 (1.244~2.784)	
Ki67			
≤10%	16	1.394 (1.089~2.716)	0.013
>10%	21	3.260 (1.548~4.384)	

40、80nM 的 miR-212 inhibitor 转染组明显抑制细胞迁移 ($P < 0.01$)。

3 讨论

miRNA 是在真核生物体内发现的一类内源性非编码微小 RNA, 广泛存在于动植物中, 在进化上具有保守

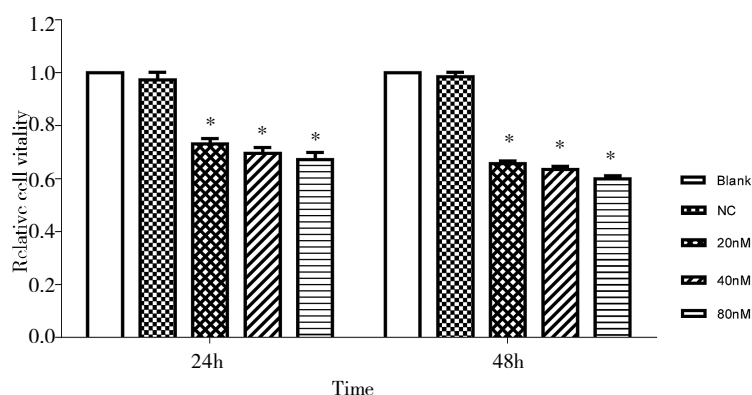


图3 miR-212 inhibitor 干预对 MCF7 乳腺癌细胞增殖的影响 [与空白 (Blank) 组及对照 (NC) 组比较, * $P < 0.05$]

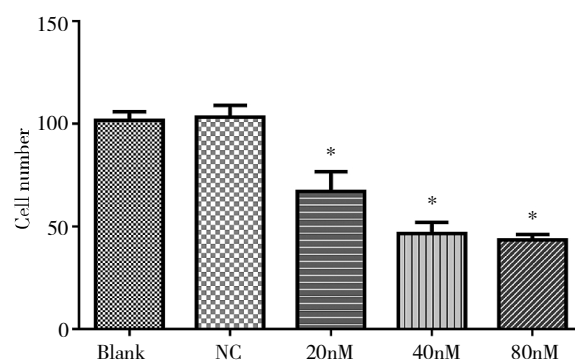


图4 miR-212 干预对 MCF7 乳腺癌细胞侵袭能力的影响 [与空白 (Blank) 组及对照 (NC) 组比较, * $P < 0.01$]

性及时间和空间特异性^[6]。目前人类已发现超过 2 588 种成熟的 miRNA (<http://www.mirbase.org>), 它们通过改变互补序列的 miRNA 的稳定性和翻译效率调控人类约 1/3 的编码基因^[6-7], 广泛参与到细胞分化、增殖、衰老、凋亡、迁移和侵袭等过程中^[8-9]。自 2002 年 Galin 等^[10]首次报道 miRNA 水平的异常表达可能与肿瘤相关, miRNA 在肿瘤发生、发展中的作用越来越受到重视。

miR-212 是一种广泛调节效应的 miRNA, 其基因定位于 17p13.3 区域。除外参与小鼠乳腺发育^[11-12]、神经元^[13-14]、免疫细胞^[15-16]功能的调节, miR-212 还参与肿瘤的发生、发展。但 miR-212 在不同的肿瘤组织存在不同的表达的模式。在非小细胞肺癌^[17]、口腔癌^[18]、胰腺癌^[19]等肿瘤上调表达, 而在肝细胞肝癌^[20]、胃癌^[21]、结肠癌^[22]、前列腺癌^[23]等却是下调表达。然而, 乳腺癌组织 miR-212 表达及效应迄今尚未见报道。为分析 miR-212 与乳腺癌的关系, 本研究以 U6 为内参, 应用茎环 RT-PCR 检测了 32 例乳腺癌组织 miR-212 的表达, 结果显示, miR-212 在乳腺癌组织的表达高于对应的正常组织。进一步分析 miR-212 表达水平与乳腺癌临床病理特征的关系发现, miR-212 表达与淋巴结转移、TNM 分期及 ki67 相关。进一步通过瞬时转染 miR-212 inhibitor 干预实验发现, miR-212 下调表达后明显抑制 MCF7 乳腺癌细胞的增殖及侵袭。这些结果提示, miR-212 在乳腺癌中可作为促癌基因参与乳腺癌的发生、发展过程。

已鉴定的 miR-212 靶基因包括: Patched-1 (TCH1)^[17]、乙酰胆碱酯酶、CYP2E1^[24]、Bcl-6^[15]、锰超氧化物歧化酶 (MnSOD)^[22]、IRAK4^[16]、PTEN、FOXO3a、p300^[14]等。不同类型的肿瘤其调控的靶基因也不尽相同。Ma C 等报道 miR-212 过表达通过对 PTCH1 的调控, 促进胰腺癌的发展和转移^[17]。Lu 等^[25]报道, miR-212 通过对乙酰胆碱酯酶的调节是其非小细胞肺癌重要机制。此外, miR-

212 通过调控视网膜细胞瘤结合蛋白 2 (RBP2) 表达参与了肝癌^[20]和胃癌^[21]的发病过程。迄今 miR-212 参与乳腺癌的调控靶点尚未明确, miR-212 参与乳腺癌的发生、发展机制过程的调控机制需进一步研究。

4 参考文献

- [1] Adams B D, Kasinski A L, Slack F J. Aberrant Regulation and Function of MicroRNAs in Cancer[J]. Current biology : CB, 2014, 24(16):R762-R776.
- [2] Vincent K, Pichler M, Lee G W, et al. MicroRNAs, Genomic Instability and Cancer[J]. International journal of molecular sciences, 2014, 15(8):14475-14491.
- [3] Incoronato M, Urso L, Portela A, et al. Epigenetic regulation of miR-212 expression in lung cancer[J]. PloS one, 2011, 6(11): e27722.
- [4] Ma C, Nong K, Wu B, et al. miR-212 promotes pancreatic cancer cell growth and invasion by targeting the hedgehog signaling pathway receptor patched-1[J]. Journal of experimental & clinical cancer research : CR, 2014, 33:54.
- [5] Wada R, Akiyama Y, Hashimoto Y, et al. miR-212 is downregulated and suppresses methyl-CpG-binding protein MeCP2 in human gastric cancer[J]. International journal of cancer Journal international du cancer, 2010, 127(5):1106-1114.
- [6] Bartel D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2):281-297.
- [7] Lewis B P, Shih I H, Jones-Rhoades M W, et al. Prediction of mammalian microRNA targets[J]. Cell, 2003, 115(7):787-798.
- [8] Shukla G C, Singh J, Barik S. MicroRNAs: Processing, Maturation, Target Recognition and Regulatory Functions[J]. Molecular and cellular pharmacology, 2011, 3(3):83-92.
- [9] Bartel D P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions [J]. Cell, 2009, 136(2):215-233.
- [10] Calin G A, Dumitru C D, Shimizu M, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,

- 2002, 99(24):15524–15529.
- [11] Ucar A, Erikci E, Ucar O, et al. miR-212 and miR-132 are dispensable for mouse mammary gland development[J]. Nature genetics, 2014, 46(8):804–805.
- [12] Kayo H, Kiga K, Fukuda-Yuzawa Y, et al. miR-212 and miR-132 are dispensable for mouse mammary gland development[J]. Nature genetics, 2014, 46(8):802–804.
- [13] Remenyi J, van den Bosch M W, Palygin O, et al. miR-132/212 knockout mice reveal roles for these miRNAs in regulating cortical synaptic transmission and plasticity[J]. PloS one, 2013, 8(4): e62509.
- [14] Wong H K, Veremeyko T, Patel N, et al. De-repression of FOX-O3a death axis by microRNA-132 and -212 causes neuronal apoptosis in Alzheimer's disease[J]. Human molecular genetics, 2013, 22(15):3077–3092.
- [15] Nakahama T, Hanieh H, Nguyen N T, et al. Aryl hydrocarbon receptor-mediated induction of the microRNA-132/212 cluster promotes interleukin-17-producing T-helper cell differentiation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(29):11964–11969.
- [16] Nahid M A, Yao B, Dominguez-Gutierrez P R, et al. Regulation of TLR2-mediated tolerance and cross-tolerance through IRAK4 modulation by miR-132 and miR-212[J]. Journal of immunology, 2013, 190(3):1250–1263.
- [17] Li Y, Zhang D, Chen C, et al. MicroRNA-212 displays tumor-promoting properties in non-small cell lung cancer cells and targets the hedgehog pathway receptor PTCH1[J]. Molecular biology of the cell, 2012, 23(8):1423–1434.
- [18] Scapoli L, Palmieri A, Lo Muzio L, et al. MicroRNA expression profiling of oral carcinoma identifies new markers of tumor progression[J]. International journal of immunopathology and pharmacology, 2010, 23(4):1229–1234.
- [19] Park J K, Henry J C, Jiang J, et al. miR-132 and miR-212 are increased in pancreatic cancer and target the retinoblastoma tumor suppressor[J]. Biochemical and biophysical research communications, 2011, 406(4):518–523.
- [20] Liang X, Zeng J, Wang L, et al. Histone demethylase retinoblastoma binding protein 2 is overexpressed in hepatocellular carcinoma and negatively regulated by hsa-miR-212[J]. PloS one, 2013, 8(7):e69784.
- [21] Jiping Z, Ming F, Lixiang W, et al. MicroRNA-212 inhibits proliferation of gastric cancer by directly repressing retinoblastoma binding protein 2[J]. Journal of cellular biochemistry, 2013, 114(12):2666–2672.
- [22] Meng X, Wu J, Pan C, et al. Genetic and epigenetic down-regulation of microRNA-212 promotes colorectal tumor metastasis via dysregulation of MnSOD[J]. Gastroenterology, 2013, 145(2): 426–436.
- [23] Walter B A, Valera V A, Pinto P A, et al. Comprehensive microRNA Profiling of Prostate Cancer[J]. Journal of Cancer, 2013, 4(5): 350–357.
- [24] Shukla U, Tumma N, Gratsch T, et al. Insights into insulin-mediated regulation of CYP2E1: miR-132/-212 targeting of CYP2E1 and role of phosphatidylinositol 3-kinase, Akt (protein kinase B), mammalian target of rapamycin signaling in regulating miR-132/-212 and miR-122/-181a expression in primary cultured rat hepatocytes[J]. Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals, 2013, 41(10):1769–1777.
- [25] Lu L, Zhang X, Zhang B, et al. Synaptic acetylcholinesterase targeted by microRNA-212 functions as a tumor suppressor in non-small cell lung cancer[J]. The international journal of biochemistry & cell biology, 2013, 45(11):2530–2540.

(收稿日期: 2014-09-15)

(本文编辑: 田云鹏)

(上接第 32 页)

- 疗急性心肌梗死的对比研究[J]. 临床药物治疗杂志, 2014, 2(12): 40–42.
- [4] Huynh T, Piazza N, DiBattiste P M, et al. Analysis of bleeding complications associated with glycoprotein II b/ III a receptors blockade in patients with high-risk acute coronary syndromes: insights from the PRISM-PLUS study[J]. Int J Cardiol, 2005, 100(1):73–78.
- [5] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 急性 ST 抬高型心肌梗死诊断和治疗指南[J]. 中华心血管病杂志, 2010, 38(8): 675–690.
- [6] 张广成, 安佰富, 张雪莲, 等. 高龄急性心肌梗死患者直接 PCI 术中冠脉内注射小剂量替罗非班的疗效及安全性[J]. 中国老年学杂志, 2013, 12(33):5986–5987.
- [7] 陈春望, 程勇, 张荣林, 等. 替罗非班联合血栓抽吸对接受经皮冠状动脉介入治疗的急性 ST 段抬高性心肌梗死的梗死相关动脉血流和心功能的影响[J]. 中国循环杂志, 2013, 8(28):595–598.
- [8] 吴鹏飞, 曹庆博, 孙学玉, 等. 替罗非班对 ST 段抬高型急性心肌梗死患者急诊 PCI 后的影响[J]. 潍坊医学院学报, 2014, 1(36):79–80.
- [9] Deibele A J, Jennings L K, Tcheng J E, et al. Intracoronary eptifibatide bolus administration during percutaneous coronary revascularization for acute coronary syndrome with evaluation of platelet function: the Intracoronary Eptifibatide (ICE) Trial[J]. J Cardiol, 2011, 57(1):36–43.
- [10] 于芝瑞. 早期应用盐酸替罗非班介入治疗急性心肌梗死的效果[J]. 中国临床研究, 2014, 3(27):281–282.
- [11] 周洁, 黄伟剑. 加倍负荷剂量替罗非班在急性心肌梗死急诊介入治疗中的应用[J]. 浙江医学, 2011, 33(6):840–842.
- [12] 薛小荣, 李卫红, 等. 小剂量替罗非班在急性 ST 段抬高型心肌梗死患者经皮冠状动脉介入术后的应用[J]. 中国医院用药评价与分析, 2013, 13(7):646–649.

(收稿日期: 2014-07-28)

(本文编辑: 马雯娜)