

· 论 著 ·

滚轮微针处理次数对药物皮肤渗透、分布及皮肤刺激性的影响

张娟娟^{1,2}, 傅翔³, 朱全刚⁴, 张立超¹ (1. 上海市中医医院药剂科, 上海 200071; 2. 上海市浦东新区新场社区卫生服务中心, 上海 201314; 3. 上海市控江医院药剂科, 上海 200093; 4. 上海市皮肤病医院药剂科, 上海 200443)

[摘要] **目的** 考察用于皮肤促透研究的滚轮微针处理次数。**方法** 以维 A 酸为模型药物, Franz 扩散池、组织匀浆法研究裸鼠皮肤的促透效果, 用亚甲基蓝染色法、激光共聚焦显微镜法等考察裸鼠皮肤的药物分布, 经皮水分流失 (TEWL) 测量法、激光多普勒血流量法评价皮肤刺激性。**结果** 滚轮微针处理次数为 1、3、5、8、10 次时, 处理次数越多, 促透效果越好, 皮肤中滞留药量也越高, 但是皮肤中滞留药量在处理 8 次和 10 次时无显著性差异 ($P > 0.05$)。亚甲基蓝染色和激光共聚焦实验均显示处理次数增加, 针孔分布均匀度提高; 亚甲基蓝染色显示, 处理 5 次以上时, 出现部分针眼重叠而皮肤破损现象。在体皮肤内药物吸收实验显示处理 1 次时, 裸鼠皮肤中滞留药量均匀性较差, 但是处理 3 次以上时, 皮肤中滞留药量均匀性明显改善。TEWL 测量法显示处理 5 次以下, 皮肤屏障功能恢复时间为 24 h, 处理 8 次以上为 36 h。激光多普勒血流量法显示处理 5 次以下, 皮肤屏障功能恢复时间为 1 h, 处理 8 次以上为 2 h。**结论** 滚轮微针处理 5 次可确保裸鼠皮肤促透研究的安全性和有效性。

[关键词] 滚轮微针; 处理次数; 渗透特性; 皮肤刺激性; 维 A 酸

[中图分类号] R944.9

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2019)05-0416-06

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.05.006

Effects of microneedle-roller insertion times on skin permeation characteristics, drug distribution and skin irritation

ZHANG Juanjuan^{1,2}, FU Xiang³, ZHU Quangang⁴, ZHANG Lichao¹ (1. Department of Pharmacy, Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China; 2. Department of Pharmacy, Shanghai Pudong New District Xinchang Community Health Service Center, Shanghai 201314, China; 3. Department of Pharmacy, Shanghai KongJiang Hospital, Shanghai 200093, China; 4. Department of Pharmacy, Shanghai Dermatology Hospital, Shanghai 200443, China)

[Abstract] **Objective** To study the effects of microneedle-roller insertion times on skin permeation. **Methods** Tretinoin was used as model drug. The *in vitro* transdermal characteristics in nude mice were studied with Franz diffusion cell and the tissue homogenization method. The drug distribution in nude mice skin was investigated by methylene blue staining and confocal lasers scanning microscope. The skin irritation was evaluated by trans-epidermal water-loss (TEWL) measurement and laser Doppler flowmetry. **Results** Within the microneedle roller insertion times 1, 3, 5, 8, and 10, the better penetration effect and drug accumulation in skin were achieved with the increment of insertion times. However, there was no significant difference in the skin accumulation between 8 and 10 times of the insertion ($P > 0.05$). The results from methylene blue staining and microscope confocal lasers scanning indicated that the uniformity of needle hole distribution was increased with the increased insertion times. However, some needle hole overlap and skin damages were observed from methylene blue staining when insertion times were more than five. The *in vivo* drug absorption study indicated that the drug accumulation was inhomogeneous in nude mice skin after one treatment. It was significantly improved after three treatments. The results from TEWL measurements suggested that the recovery time of skin barrier function was 24 hours if insertion was less than five times and 36 hours if more than eight times. The results of laser Doppler flowmetry indicated that the recovery time of skin barrier function was 1 hour if insertion times were less than five, and 2 hours if more than eight times. **Conclusion** The optimal microneedle insertion time was five times, which could ensure the safety and effectiveness of the skin permeation study in nude mice.

[Key words] microneedle-roller; insertion times; permeation characteristics; skin irritation; tretinoin

[基金项目] 上海市卫计委科研项目(201540294); 浦东新区科技发展基金(PKJ2016-Y23)

[作者简介] 张娟娟, 硕士, 主管药师, Tel: 15900536188, Email: 1261@szy.sh.cn

[通讯作者] 张立超, 博士, 硕士生导师, Tel: 18116070706, Email: changhaiskin@163.com

微针是一种高效、安全、新型的经皮促透技术, 已广泛应用于皮肤美容、局部麻醉、免疫接种、蛋白质和多肽类给药、DNA 给药等多个领域^[1]。课题组前期将美容行业已使用多年的滚轮微针引入至醋酸曲安奈德的瘢痕裸鼠模型行皮肤治疗, 其无痛、均匀、便捷、可用于大张皮给药等特点, 有针对性地克

服了瘢痕皮内注射给药存在的诸多缺点^[2]。为解决市售滚轮微针无法控制力度均匀性、给药重现性差等问题,课题组又改装了市售滚轮微针并进行了性能评价^[3]。

目前国内外均未见滚轮微针处理方法和处理次数的相关标准规范,不同文献处理方法各异,分为单方向处理、垂直方向处理和垂直交叉4个方向处理,处理次数一般在50次以下。Zhou等^[4]使用滚轮微针垂直方向各滚动10次用于糖尿病大鼠的胰岛素促透给药;Yoon等^[5]单方向处理50次;Badran等^[6]则使用滚轮微针垂直交叉4个方向各3次;You等^[7]单方向和4个交叉方向使用1、3、6、9次,并证明了4个交叉方向滚轮微针处理较单方向促透效果好。而用于美容的市售滚轮微针说明书则显示,其处理方法是垂直交叉4个方向各10次。为此,课题组采用垂直交叉4个方向处理,以药物渗透效果、分布均匀性和皮肤刺激性为指标,评价滚轮微针在维A酸裸鼠皮肤促透中安全、有效的滚轮微针处理次数。

1 仪器、试剂和实验动物

滚轮微针(540针,针长500 μm,美国Clinical Resolution Laboratory);SPD-10AVP高效液相色谱仪(日本岛津公司);Franz扩散池(中国科学院上海有机化学所);FluoView FV1000激光共聚焦显微镜(日本Olympus公司);TEWL测量仪(芬兰Delfin公司);Powerlab/8sp激光多普勒血流仪(澳大利亚AD Instruments公司);Canon 70D数码相机(日本佳能公司);TGL-18B离心机(上海安亭科学仪器厂);万分之一电子分析天平(上海精科天平)。

维A酸对照品(99.4%,批号:100307-200902,中国食品药品检定研究院);维A酸乳膏(0.025%,批号:1204091,南京臣功制药股份有限公司);亚甲基蓝(上海研域化学试剂有限公司);龙胆紫(上海恒远生物科技有限公司);FITC(北京Solarbio科技有限公司);甲醇、异丙醇为色谱纯;冰乙酸、乙醇、三乙醇胺、戊巴比妥钠等其他试剂均为分析纯。

BALB/c裸鼠(6~8周,雄性,上海斯莱克实验动物有限公司/中科院上海实验动物中心)。

2 实验方法

2.1 维A酸的含量测定

参见文献^[8]。

2.2 体外渗透实验

2.2.1 离体皮肤的处理

裸鼠拉颈处死后取下背部皮肤,去除皮下脂肪组织,用生理盐水漂洗干净,-20℃保存,2周内使用。

2.2.2 透皮接收液的制备

对照组皮肤不用微针处理,实验组皮肤置于电子天平的托盘上,用540针滚轮微针沿4个交叉方向处理(滚动方向见文献^[8]),分别处理1、3、5、8、10次,控制力度为350~400 g(力度控制方法见文献^[3])。分别将对照组与实验组裸鼠皮肤的角质层朝上,固定于Franz扩散池的给药室与接收室之间。将0.3 g维A酸乳膏涂抹于鼠皮角质层上(有效面积为0.85 cm²),向接收室中加入接收液异丙醇-生理盐水(1:1)直至与皮肤紧密接触,排除气泡,置于(37.0±0.5)℃恒温水浴中,以300 r/min恒速电磁搅拌。分别于2、4、6、8、10、12、16、20、24、30、36、48 h各取出0.2 ml接收液(取液后迅速补充等量接收液),HPLC法测定含量,累积渗透量按文献^[14]计算。

2.2.3 皮肤样液的制备

实验结束后,取下皮肤有效扩散部位,用蘸有乙醇的棉签擦净表面残留药物。采用组织匀浆法,取给药部位皮肤,剪碎匀浆,加入1 ml空白接收液,超声提取20 min,涡旋振荡3 min,在11 000×g离心10 min,上清液用0.45 μm微孔滤膜过滤,HPLC法测定含量。整个过程应避免光操作。

2.3 分布均匀性实验

2.3.1 亚甲基蓝染色观察

采用新鲜的离体裸鼠背部皮肤置于泡沫塑料平板上,四周用大头钉固定,尽量使皮肤保持自然状态下的张力。按前述方法4个交叉方向分别处理不同次数后,用亚甲基蓝染液染色2 min,随后清水洗去染液,纱布擦去皮肤表面的残余染料和水分,用数码相机拍照观察微针不同处理次数时微针孔的分布情况。

2.3.2 激光共聚焦显微镜观察

离体裸鼠皮肤不同次数处理后,按照Franz扩散池实验方法将1%FITC溶液加入给药室,实验进行12 h后取下皮肤,擦去多余药液,用激光共聚焦显微镜观察在488 nm激发波长下荧光素在皮肤内的分布。

2.3.3 皮肤内药物吸收实验

裸鼠6只,皮肤消毒后背部两侧各标记出对称的1 cm×1 cm区域,两区域间隔3 cm,分别处理1、3、5、8次,给予0.1 g维A酸乳膏。给药12 h后裸鼠拉颈处死,取下背部涂药区域皮肤。用蘸有乙醇的棉签擦净表面残留药物,每隔100 μm冰冻切片,按照“2.2.3”项下方法测定皮肤滞留药量。

2.4 皮肤刺激性实验

2.4.1 TEWL测量法

取裸鼠6只,采用1%戊巴比妥钠注射液(剂量按75 mg/kg)腹腔注射进行麻醉,背部消毒后分别标记约1 cm²圆形区域,25℃、相对湿度60%,稳定

30 min,按前述处理方式分别处理 1、3、5、8、10 次,对照组不做处理。处理前测定基础值,分别于处理后 0、20、40、60、80、100、120 min,以及 3、4、6、8、12、24、36、48 h 将探头轻轻按压于所标记区域,记录数据。

2.4.2 激光多普勒血流量法

裸鼠 5 只按照前述方法麻醉后编号,25℃、相对湿度 60%,稳定 30 min。背部消毒后分别标记约 1 cm²圆形区域,标记区域避开大血管。分别用滚轮微针处理 1、3、5、8、10 次,分别于处理前、处理后 0、20、40、60、80、100、120 min 内测定皮肤血流量。处理前为基础血流量值,血流量以血流灌注单位(blood perfusion units,BPU)为单位。

2.5 统计学分析

数据以($\bar{x}\pm s$)表示,采用 SPSS17.0 统计软件,

多组比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK 法,以 $P<0.05$ 为有显著性差异。

3 实验结果

3.1 体外渗透效果

微针处理不同次数后维 A 酸的渗透效果,见表 1。微针处理次数越多,促透效果越好。1、3、5、8、10 次维 A 酸的 48 h 累积渗透量分别为对照组的 1.74、2.08、2.56、2.85、3.06 倍,渗透速率分别为对照组的 1.75、2.17、2.58、3.00、4.08 倍;皮肤中滞留药量分别为对照组的 1.27、1.85、2.28、2.78、2.80 倍。与微针处理 8 次相比,微针处理 10 次的 48 h 累积渗透量和渗透速率均具有显著性差异($P<0.05$)。但是,两者在皮肤中滞留药量无显著性差异($P>0.05$)。

表 1 微针处理次数对维 A 酸渗透效果及皮肤滞留药量的影响($n=6, \bar{x}\pm s$)

组别	累积渗透量($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	渗透速率[$\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$]	皮肤药量($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
对照组	4.34 \pm 1.12	0.12 \pm 0.03	0.86 \pm 0.37
处理 1 次组	7.54 \pm 2.25*	0.21 \pm 0.03*	1.09 \pm 0.42
处理 3 次组	9.01 \pm 2.64*	0.26 \pm 0.05*	1.59 \pm 0.43*
处理 5 次组	11.11 \pm 2.15*	0.31 \pm 0.02*	1.96 \pm 0.41*
处理 8 次组	12.37 \pm 3.23*	0.36 \pm 0.05*	2.39 \pm 0.24*
处理 10 次组	13.28 \pm 3.52*#	0.49 \pm 0.09*#	2.41 \pm 0.42*

* $P<0.05$,与对照组比较;# $P<0.05$,与处理 8 次组比较

3.2 分布均匀性

3.2.1 亚甲基蓝染色和激光共聚焦实验

微针不同处理次数对渗透分布的影响,见图 1。亚甲基蓝染色结果(图 1A)可见微针处理次数较少时,微针孔较少且分布不均,并且由于皮肤弹性等问题会造成有些部位微针孔不明显甚至没有

(图 1Ab、图 1Ac),随着微针处理次数不断增加,微针孔逐渐密集且均匀分布度提高,微针处理 5 次以上时,出现部分针眼重叠而皮肤破损现象;激光共聚焦检测荧光素 FITC 结果(图 1B)与图 1A 类似,随着微针处理次数的增加,药物渗透点逐渐增多并趋于均匀。

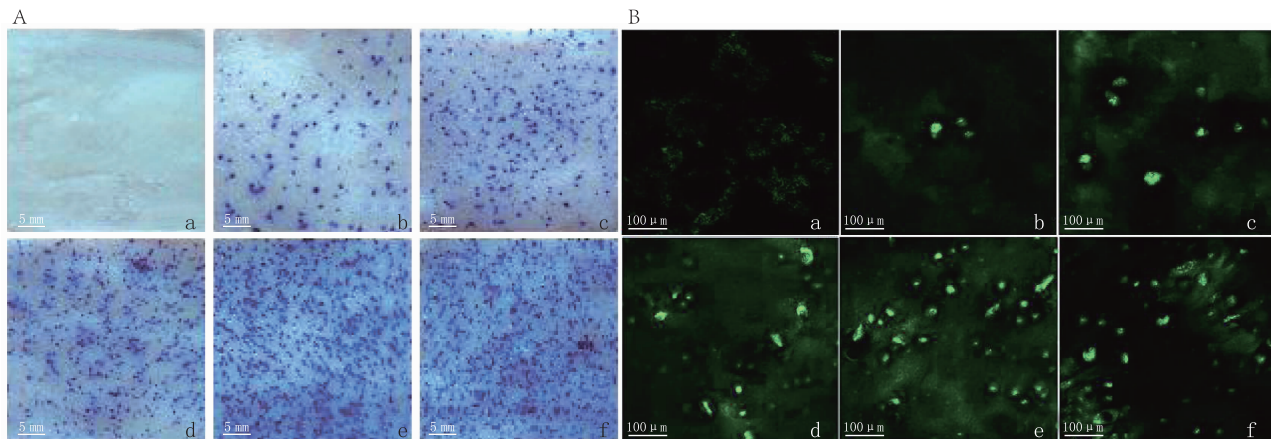


图 1 微针不同处理次数时裸鼠皮肤的渗透分布

A. 亚甲基蓝染色图;B. 激光共聚焦测试图;a. 空白对照组;b. 1 次组;c. 3 次组;d. 5 次组;e. 8 次组;f. 10 次组

3.2.2 在体皮肤内药物吸收实验

给药 12 h, 微针分别处理 1、3、5、8 次对裸鼠皮肤内维 A 酸吸收均匀度的影响结果见图 2。1 cm × 1 cm 面积的裸鼠背部皮肤, 每 100 μm 予以均匀切片, 共获得 10 张切片, 测定皮肤中药物含量发现, 微针处理 1、3、5、8 次, 皮肤中滞留药量均值分别为(0.17 ±

0.07) μg、(0.23 ± 0.05) μg、(0.32 ± 0.07) μg、(0.39 ± 0.08) μg, 其皮肤中滞留药量范围分别为 0.06 ~ 0.41 μg、0.14 ~ 0.33 μg、0.27 ~ 0.38 μg、0.33 ~ 0.45 μg。以上结果表明, 微针处理 1 次时裸鼠皮肤中维 A 酸药物滞留量均匀度相对较差, 但是微针处理 3 次以上时, 皮肤中滞留药量的均匀度明显提高。

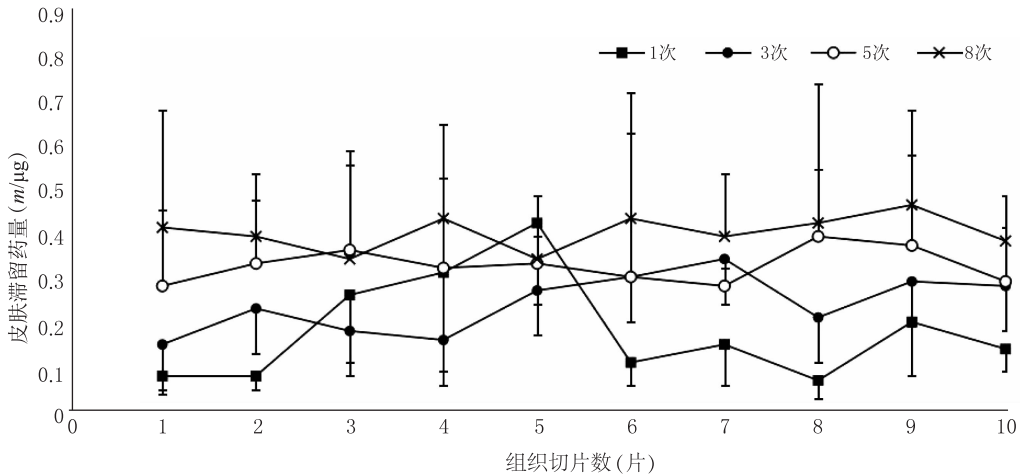


图 2 微针不同处理次数对裸鼠皮肤内维 A 酸吸收均匀性的影响

3.3 皮肤刺激性

3.3.1 TEWL 测量法

微针不同处理次数对皮肤水分流失的影响, 见图 3。微针处理后皮肤水分流失量均有所增加, 处理 1 次、3 次时, TEWL 值仅微弱增加, 平均失水量增加(19.01 ± 5.54)和(26.60 ± 4.38) g/(m² · h)。但是当微针处理皮肤 5 次或 8 次时, TEWL 值分

别显著增加至(67.82 ± 8.75)和(93.17 ± 11.23) g/(m² · h)。使用 10 次时达到最高值, 为(122.02 ± 14.90) g/(m² · h)。由图 3 可见, 各处理组 TEWL 值均在微针处理后瞬间增至最高, 而后逐渐下降并缓慢恢复基线。处理 1、3、5 次恢复基线时间为 24 h, 微针处理 8 次、10 次后 36 h 恢复基线。

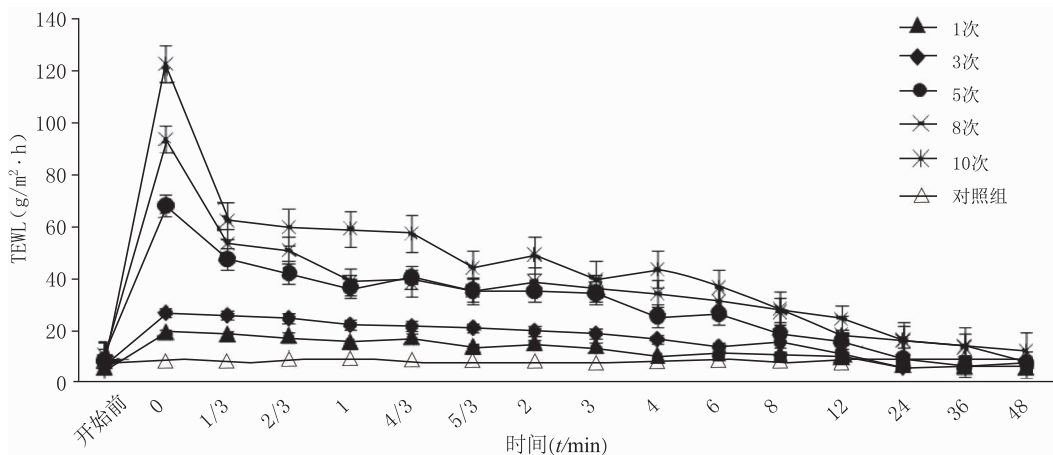


图 3 微针不同处理次数对裸鼠皮肤 TEWL 值的影响

观察皮肤表面发现, 处理次数为 1 次、3 次、5 次时, 仅出现轻、中度红斑, 且 24 h 内褪去。处理次数为 8 次和 10 次时, 裸鼠处理部位皮肤在第 2 天出现炎症反应, 皮肤增厚, 而 5 次及以下未见该现象。

3.3.2 激光多普勒血流量法

微针不同处理次数对裸鼠皮肤血流量的影响, 见图 4。随着微针处理次数的增加, 皮肤血流量均不同程度的增加。微针使用 1 次和 3 次时, 皮肤血流量增加较少, 分别为(5.31 ± 0.89)BPU 和(10.27 ±

1.40)BPU,但是 20 min 后恢复基线值。处理次数为 5、8、10 次时,皮肤血流量迅速急剧增加,除了

8次、10次组在 2 h 恢复正常血流外,其余处理组均在 1 h 内恢复基线。

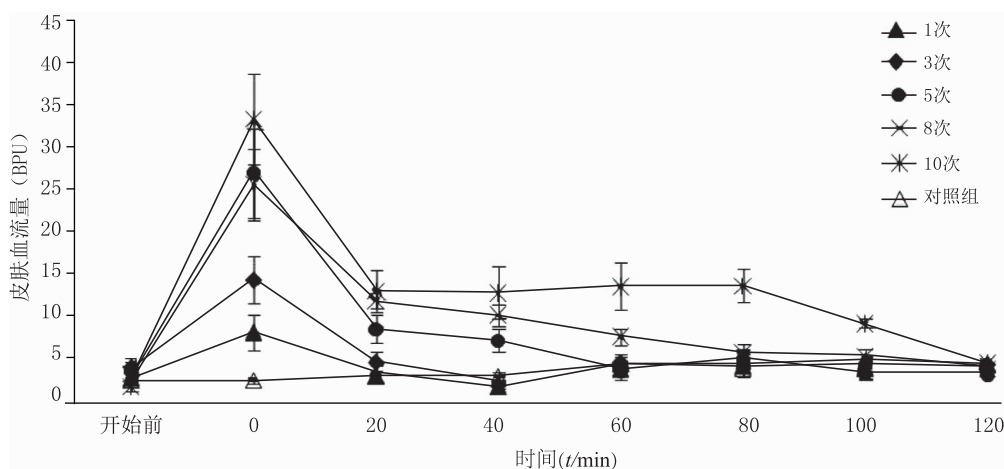


图 4 微针不同处理次数对裸鼠皮肤血流量的影响

4 讨论

滚轮微针处理 1、3、5、8、10 次时,处理次数越多,裸鼠皮肤的维 A 酸促透效果越好,皮肤中滞留药量也越高,但是皮肤中滞留药量在处理 8 次和 10 次时无显著性差异($P>0.05$)。亚甲基蓝染色和激光共聚焦实验均显示处理次数增加,针孔分布均匀度提高。在体皮肤内药物吸收实验显示,处理 1 次时裸鼠皮肤中滞留药量均匀性较差,但是处理 3 次以上时皮肤中滞留药量均匀性明显改善。上述实验表明,滚轮微针处理次数越多,裸鼠皮肤药物的促透作用越好^[9]。亚甲基蓝染色结果显示,处理 5 次以上时,出现部分针眼重叠而皮肤破损现象。TEWL 测量法和激光多普勒法分别通过皮肤表面失水量和皮肤血流的变化考察皮肤的受刺激程度。TEWL 测量法显示处理 5 次以下皮肤保护水分流失的屏障功能恢复时间为 24 h,处理 8 次以上为 36 h。激光多普勒血流量检测结果显示,处理 5 次以下对皮肤血流刺激影响的恢复时间为 1 h,处理 8 次以上为 2 h。以上结果说明,滚轮微针处理次数 5 次以下时,裸鼠皮肤的屏障功能破坏程度较小,即皮肤刺激性较低。综上,基于安全性和有效性,课题组认为采用滚轮微针 4 个交叉方向各使用 5 次,相对较为适合裸鼠皮肤的促透研究^[9]。本实验主要对比微针处理不同次数对皮肤的刺激性影响,为避免药物对结果的影响,考察刺激性时各组均未给予维 A 酸乳膏。

维 A 酸是临床常用的皮肤治疗药物,具有调节表皮细胞分化和增殖、抑制皮脂腺分泌、抗炎、抑制皮肤光老化等作用,是主要的治疗痤疮药物^[10]。该药物自身具有荧光性,在 405 nm 激发波长下可显

示蓝色荧光,因此,实验选用维 A 酸为模型药物进行激光共聚焦显微镜观察(CLSM)扫描实验。但是,均匀性实验过程中发现,维 A 酸的荧光淬灭迅速,需严格避光条件以及迅速确定位点进行扫描,而本实验时间较长且条件有限,拍摄结果并不理想。故均匀性实验部分 CLSM 换用 FITC 荧光素,可较长时间操作和拍摄^[11]。

采用 TEWL 测量法、激光多普勒血流量法评价皮肤刺激性,是多角度评价皮肤刺激性的经典方法,分别通过皮肤表面失水量和皮肤血流的变化考察皮肤屏障接受刺激的程度^[2]。

【参考文献】

- [1] 占浩慧,黄颖聪,马凤森. 微针穿刺性能评价方法研究进展[J]. 中国药学杂志,2018,53(22):1890-1895.
- [2] 李雅,张娟娟,张立超,等. 改装滚轮微针促进人增生性瘢痕皮肤对醋酸曲安奈德的吸收[J]. 第二军医大学学报,2015,36(1):58-64.
- [3] 张娟娟,张立超,朱全刚,等. 改装滚轮微针用于醋酸曲安奈德经皮给药的特性试验[J]. 中国医院药学杂志,2015,35(4):292-296.
- [4] ZHOUC P,LIU Y L,WANG H L, et al. Transdermal delivery of insulin using microneedle rollers *in vivo*[J]. Int J Pharm, 2010,392(1-2):127-133.
- [5] YOONJ,PARK D,SON T, et al. A physical method to enhance transdermal delivery of a tissue optical clearing agent: combination of microneedling and sonophoresis[J]. Lasers Surg Med,2010,42(5):412-417.
- [6] BADRAN M M,KUNTSCHE J,FAHR A. Skin penetration enhancement by a microneedle device (Dermaroller) *in vitro*: dependency on needle size and applied formulation[J]. Eur J Pharm Sci,2009,36(4-5):511-523.
- [7] YOUS K,NOH Y W,PARK H H, et al. Effect of applying

modes of the polymer microneedle-roller on the permeation of L-ascorbic acid in rats[J]. *J Drug Target*, 2010, 18(1):15-20.

[8] 张娟娟,朱全刚,张立超,等. 不同密度滚轮微针对维A酸经皮渗透的影响[J]. *药学服务与研究*, 2013, 13(6):440-444.

[9] 张娟娟. 力度可控性滚轮微针的构建及其对大面积皮肤药物吸收影响研究[D]. 宁夏:宁夏医科大学, 2014.

[10] 鞠强. 维A酸类药物在痤疮治疗中的应用[J]. *皮肤病与性病*, 2018, 40(1):26-28.

[11] WANG Q, JAIMES-LIZCANO Y A, LAWSON L B, et al. Improved dermal delivery of FITC-BSA using a combination of passive and active methods[J]. *J Pharm Sci*, 2011, 100(11):4804-4814.

[收稿日期] 2019-03-03 [修回日期] 2019-04-28

[本文编辑] 李睿旻

(上接第393页)

[10] LI H, YU B Q, LI J F, et al. Characterization of differentially expressed genes involved in pathways associated with gastric cancer[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4):e0125013.

[11] SONG H J, SUN W L, YE G L, et al. Long non-coding RNA expression profile in human gastric cancer and its clinical significances[J]. *J Transl Med*, 2013, 11:225.

[12] QIN Y, SUN W, ZHANG H, et al. LncRNA GAS8-AS1 inhibits cell proliferation through ATG5-mediated autophagy in papillary thyroid cancer[J]. *Endocrine*, 2018, 59(3):555-564.

[13] ZHANG L G, ZHOU X K, ZHOU R J, et al. Long non-coding RNA LINC00673 promotes hepatocellular carcinoma progression and metastasis through negatively regulating miR-205[J]. *Am J Cancer Res*, 2017, 7(12):2536-2544.

[14] ZHANG X, RICE K, WANG Y Y, et al. Maternally expressed gene 3 (MEG3) noncoding ribonucleic acid: isoform structure, expression, and functions[J]. *Endocrinology*, 2010, 151(3):939-947.

[15] MIYOSHI N, WAGATSUMA H, WAKANA S, et al. Identification of an imprinted gene, Meg3/Gtl2 and its human homologue MEG3, first mapped on mouse distal chromosome 12 and human chromosome 14q[J]. *Genes Cells*, 2000, 5(3):211-220.

[16] ZHANG X, ZHOU Y L, MEHTA K R, et al. A pituitary-derived MEG3 isoform functions as a growth suppressor in tumor cells[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(11):5119-5126.

[17] ZHAO J, ZHANG X, ZHOU Y L, et al. Cyclic AMP stimulates MEG3 gene expression in cells through a cAMP-response element (CRE) in the MEG3 proximal promoter region[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006, 38(10):1808-1820.

[18] ZHOU Y L, ZHONG Y, WANG Y Y, et al. Activation of p53 by MEG3 non-coding RNA[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(34):24731-24742.

[19] KRUEER T L, DOUGHERTY S M, REYNOLDS L, et al. Expression of the lncRNA maternally expressed gene 3 (MEG3) contributes to the control of lung cancer cell proliferation by the rb pathway[J]. *PLoS One*, 2016, 11(11):e0166363.

[20] GORDON F E, NUTT C L, CHEUNSUCHON P, et al. Increased expression of angiogenic genes in the brains of mouse meg3-null embryos [J]. *Endocrinology*, 2010, 151(6):2443-2452.

[21] BENETATOS L, VARTHOLOMATOS G, HATZIMICHAEL E. MEG3 imprinted gene contribution in tumorigenesis

[J]. *Int J Cancer*, 2011, 129(4):773-779.

[22] BOUCKENHEIMER J, ASSOU S, RIQUIER S, et al. Long non-coding RNAs in human early embryonic development and their potential in ART[J]. *Hum Reprod Update*, 2016, 23(1):19-40.

[23] CHEUNSUCHON P, ZHOU Y L, ZHANG X, et al. Silencing of the imprinted DLK1-MEG3 locus in human clinically non-functioning pituitary adenomas[J]. *Am J Pathol*, 2011, 179(4):2120-2130.

[24] CHUNHAROJRITH P, NAKAYAMA Y, JIANG X B, et al. Tumor suppression by MEG3 lncRNA in a human pituitary tumor derived cell line[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 416:27-35.

[25] ZHANG X, GEJMAN R, MAHTA A, et al. Maternally expressed gene 3, an imprinted noncoding RNA gene, is associated with meningioma pathogenesis and progression[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(6):2350-2358.

[26] BRACONI C, KOGURE T, VALERI N, et al. MicroRNA-29 can regulate expression of the long non-coding RNA gene MEG3 in hepatocellular cancer[J]. *Oncogene*, 2011, 30(47):4750-4756.

[27] MODALI S D, PAREKH V I, KEBEBEW E, et al. Epigenetic regulation of the lncRNA MEG3 and its target c-MET in pancreatic neuroendocrine tumors[J]. *Mol Endocrinol*, 2015, 29(2):224-237.

[28] LU K H, LI W, LIU X H, et al. Long non-coding RNA MEG3 inhibits NSCLC cells proliferation and induces apoptosis by affecting p53 expression[J]. *BMC Cancer*, 2013, 13:461.

[29] RIBARSKA T, BASTIAN K M, KOCH A, et al. Specific changes in the expression of imprinted genes in prostate cancer: implications for cancer progression and epigenetic regulation[J]. *Asian J Androl*, 2012, 14(3):436-450.

[30] RIBARSKA T, GOERING W, DROOP J, et al. Dereglulation of an imprinted gene network in prostate cancer[J]. *Epigenetics*, 2014, 9(5):704-717.

[31] LUO G, WANG M, WU X, et al. Long non-coding RNA MEG3 inhibits cell proliferation and induces apoptosis in prostate cancer [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37(6):2209-2220.

[收稿日期] 2019-04-04 [修回日期] 2019-06-11

[本文编辑] 李睿旻