

• 论 著 •

## 沉默 Notch3 表达对前列腺癌细胞侵袭能力的影响及机制\*

胡曦木<sup>1</sup>, 李晓庆<sup>2△</sup>

(1. 武汉科技大学附属天佑医院药学部, 湖北 武汉 430060; 2. 湖北科技学院生物医学工程与医学影像学院, 湖北 咸宁 437100)

**[摘要]** 目的 探讨靶向沉默 Notch3 表达对前列腺癌 PC-3 细胞侵袭能力的影响及机制。方法 体外培养前列腺癌 PC-3 细胞, Notch3 siRNA 转染前列腺癌 PC-3 细胞, RT-PCR 及蛋白免疫印迹试验(Western blot)验证转染效果; Transwell 小室法检测转染前后细胞侵袭能力的改变; Western blot 检测转染后对细胞 EMT 相关通路蛋白(E-cadherin、ZO-1、Vimentin)及 PI3K/Akt 通路相关蛋白(PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt)表达的影响。结果 Notch3 siRNA 转染后, 前列腺癌 PC-3 细胞 mRNA 和 Notch3 蛋白表达均显著降低, 同时细胞侵袭能力降低, 细胞 MMP-9 蛋白表达下调, 上皮标志物 E-cadherin、ZO-1 蛋白表达上调, 间质标志物 Vimentin 蛋白表达下调; 细胞总的 PI3K 和 Akt 表达水平无明显改变, 而 p-PI3K 和 p-Akt 表达水平降低。结论 Notch3 siRNA 转染沉默前列腺癌 PC-3 细胞 Notch3 表达后可显著抑制细胞侵袭能力, 其机制可能是通过阻滞前列腺癌细胞 PI3K/Akt 通路, 继而抑制细胞 EMT, 提示 Notch3 可能成为前列腺癌治疗的潜在靶点。

**[关键词]** 前列腺癌; Notch3; 侵袭; PI3K/Akt 通路; 上皮间质转化

**DOI:**10.3969/j.issn.1009-5519.2023.05.007 **中图分类号:**R737.25;Q28

**文章编号:**1009-5519(2023)05-0751-05 **文献标识码:**A

## Influence and mechanism of silencing Notch3 on invasiveness of prostate cancer cells\*

HU Ximu<sup>1</sup>, LI Xiaoqing<sup>2△</sup>

(1. Department of Pharmacy, Tianyou Hospital Affiliated to Wuhan University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430060, China; 2. School of Biomedical Engineering and Medical Imaging, Hubei University of Science and Technology, Xianning, Hubei 437100, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effects of targeted silencing Notch homolog 3 (Notch3) on the invasiveness in prostate cancer PC-3 cells and its mechanisms. **Methods** The prostate cancer PC-3 cells were cultured in vitro. After transfection with Notch3 siRNA, the transfection effect was assessed by Western blot and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). The change of invasiveness of PC-3 cells was detected by Transwell assay. The Western blot was used to detect the effect of transfection on the expression of Epithelial-Mesenchymal Transition-related (EMT) pathway proteins (E-cadherin, ZO-1, Vimentin) and phosphatidylinositol 3 kinase /protein kinase B (PI3K/Akt) signaling pathway related proteins (PI3K, p-PI3K, Akt, p-Akt). **Results** After transfection with Notch3 siRNA, the expression level of mRNA and Notch3 was significantly decreased in prostate cancer PC-3 cells. And the invasiveness of PC-3 cells was decreased. The expressions of matrix metalloprotein-9 (MMP), interstitial marker Vimentin, p-PI3K, and p-Akt proteins were decreased, the expressions of epithelial marker E-cadherin and ZO-1 were increased. Meanwhile, the expressions of t-PI3K and t-Akt were not changed significantly, but the expression level of p-PI3K and p-Akt decreased. **Conclusion** Notch3 siRNA transfection silencing the expression of Notch3 in prostate cancer PC-3 cells can significantly inhibit the invasive ability of the cells. The mechanism may be associated with the blocking of the PI3K/Akt signaling pathway, thus inhibiting the EMT, Which indicated that Notch3 may be a potential target for the treatment of prostate cancer.

**[Key words]** Prostate cancer; Notch 3; Invasiveness; Phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B signaling pathway; Epithelial-mesenchymal transition

\* 基金项目:湖北科技学院博士启动项目(BK202203)。

作者简介:胡曦木(1990—),硕士研究生,药师,主要从事药物及相关临床疾病研究。△ 通信作者, E-mail:286792205@qq.com。

前列腺癌发病率高居全球男性肿瘤第二位,其死亡率位居肿瘤相关死亡第二位,严重影响老年人生活质量<sup>[1]</sup>。尽管我国前列腺癌的发病率显著低于西方国家,但近年来随着经济的发展,居民生活环境和饮食结构的改变及人口老龄化等因素,我国前列腺癌的发病率呈逐年上升趋势<sup>[2]</sup>。目前,前列腺癌的治疗方法包括外科手术、内分泌治疗、放疗及免疫治疗等在内的综合治疗。尽管肿瘤的治疗已经取得巨大进步,但前列腺癌患者的生存质量和预后仍较差。因此,进一步明确前列腺癌侵袭转移的相关机制对于改善前列腺癌患者预后具有重要意义。上皮间质转化(EMT)是指上皮细胞转化为具有间质表型细胞的一个生物学过程,EMT 与肿瘤侵袭转移机制密切相关<sup>[3]</sup>。当细胞发生 EMT 时,细胞的骨架发生重组,上皮细胞表型缺失,细胞间黏附蛋白如 E-钙黏蛋白、桥粒蛋白、闭锁小带蛋白-1 等表达减少,同时间质细胞的分子标志物如 N-钙黏蛋白、波形蛋白、纤维连接蛋白等表达明显增加,细胞获得更强抗凋亡、降解细胞外基质能力和游走能力<sup>[4]</sup>。Notch 信号通路参与调控细胞增殖、凋亡、分化等多种影响器官发展和功能的生物学行为,研究发现,Notch 信号通路在肿瘤发生发展中也扮演着重要角色<sup>[5-8]</sup>。Notch 蛋白家族包括 Notch 1~4 4 个成员,Notch 家族成员之一的 Notch3 在前列腺癌组织中过表达<sup>[9-11]</sup>,但其对前列腺癌细胞侵袭的影响及机制尚不明确。本研究拟通过转染沉默 Notch 小干扰片段,观察沉默 Notch3 表达后对前列腺癌细胞侵袭能力和 EMT 的影响,并探讨可能的分子机制,为前列腺癌的靶向治疗提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 前列腺癌 PC-3 细胞(中科院上海细胞库);胎牛血清、DMEM/F-12(美国 Gibco 公司);CCK-8 试剂盒(上海同仁化学),Notch3 si-RNA(上海吉凯基因化学技术有限公司,Notch3 si-RNA 正义链 5'-GUCAAUGUUCACUUCGCAGUU-3',反义链 5'-GCGUGGAUUCGGACCAGUCUGAGAGGG);转染试剂 Lipofectamine 2000(美国 Invitrogen 公司);Matrigel 基质胶(美国 Sigma 公司);细胞培养瓶、细胞培养皿、6 孔培养板(美国 Corning 公司);MMP-9、E-cadherin、ZO-1、Vimentin、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 及  $\beta$ -actin 抗体(英国 Abcam 公司)。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养及转染实验** 将前列腺癌 PC-3 细胞置于含 10% 胎牛血清和 100 U/mL 青霉素/链霉素的 DMEM/F-12 培养基中,并在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的恒温培养箱中培养,根据生长情况每隔 3 d 传代 1 次。

取对数生长期的细胞接种于 6 孔培养板中,当细胞融合度为 50% 左右时根据转染试剂说明书进行转染实验。用 250  $\mu$ L 不含双抗和血清的 DMEM/F-12 培养基将 5  $\mu$ L Lipofectamine 2000 和 5  $\mu$ L siRNA 充分混匀,加入 6 孔培养板中,轻轻晃动培养板,在培养箱中培养 6 h 后换含 10% 血清的培养基,将细胞继续培养 24~48 h 进行蛋白免疫印迹试验(Western blot)和实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)验证转染效果。

**1.2.2 细胞侵袭实验** 取对数生长期转染 Notch3 siRNA 前后的 PC-3 细胞,用不含血清的 DMEM/F-12 培养基重悬计数,调整细胞浓度为  $2 \times 10^5$  mL<sup>-1</sup>,将 200  $\mu$ L 细胞悬液接种于预铺 Matrigel 基质胶的 24 孔板 Transwell 小室上室,将 600  $\mu$ L 含 10% 胎牛血清的 DMEM/F-12 培养基加入 24 孔板 Transwell 小室下室,将 Transwell 小室置于 37 °C、体积分数为 5% CO<sub>2</sub> 条件下培养 48 h,然后吸干 Transwell 小室内培养基,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 3 次,用 PBS 湿润的棉签小心拭去未穿过小孔的膜上层细胞,再在浓度为 40 g/L 多聚甲醛室温条件下固定 30 min,再用结晶紫室温条件下染色 30 min,倒置显微镜拍照,显微镜下取 5 个随机视野计数,统计结果,实验重复 3 次。

**1.2.3 RT-qPCR** 根据说明书用 Trizol RNA 提取试剂盒分别提取 Notch3 siRNA 转染前后前列腺癌 PC-3 细胞株总的 RNA,并用分光光度计测量计算浓度。根据使用说明书用 cDNA 合成试剂盒逆转录成 cDNA,并进行 PCR。反应体系为 20.0  $\mu$ L,包括  $2 \times$  SYBR MasterMix 10.0  $\mu$ L,上游引物 0.4  $\mu$ L,下游引物 0.4  $\mu$ L,模板 2.0  $\mu$ L,无酶水 7.2  $\mu$ L。PCR 扩增条件:95 °C 5 min;95 °C 30 s,60 °C 30 s,40 个循环;PCR 扩增从 60 °C 开始检测溶解曲线,以 GAPDH 为内参,计算不同检测管中的 PCR 扩增循环数(Ct)值,用相对定量  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算细胞中 Notch3 mRNA 相对表达水平。目的基因和内参基因 PCR 序列如下:Notch3 上游引物 5'-GTCGTGGCTACACTGGACCT-3',下游引物 5'-AATGTCCACCTCGCAATAGG-3';GAPDH 上游引物 5'-AGATCATCAGCAATGCCTCCT-3',下游引物 5'-TGAGTCCTTCACGATACCAA-3'。

**1.2.4 Western blot** 取对数生长期转染 Notch3 siRNA 前后的 PC-3 细胞,加入预冷的含 PMSF 的蛋白裂解液,充分裂解后在 4 °C 条件下 12 000 r/min 离心 10 min,取上清液,根据蛋白测定试剂盒说明书检测蛋白质浓度;采用 Western blot 检测蛋白质表达情况,取 40  $\mu$ g 各组样品行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)电泳分离后,转膜至 PVDF 膜,BSA 封闭 1 h,加入一抗(E-cadherin、ZO-1、Vim-

entin、MMP-9、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 及内参  $\beta$ -actin 均为 1 : 1 000), 4 °C 孵育过夜, TBST 洗膜, 增强化学发光法(ECL)显色及曝光, 显影、定影, 拍照并分析数据, 实验重复 3 次。

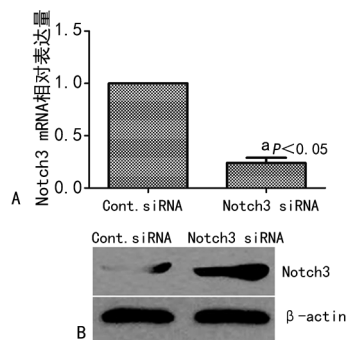
**1.3 统计学处理** 应用 Graphpad Prism 5.0 软件进行统计分析, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用  $t$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 Notch3 siRNA 转染后抑制前列腺癌 PC-3 细胞 Notch3 mRNA 和蛋白表达** Notch3 siRNA 转染后, 通过 RT-PCR 和 Western blot 检测前列腺癌 PC-3 细胞 Notch3 mRNA 和蛋白表达以验证转染效果, 见图 1。Notch3 siRNA 转染 48 h 后前列腺癌 PC-3 细胞 Notch3 mRNA 和蛋白表达水平显著降低, 提示 Notch3 siRNA 转染后成功沉默前列腺癌 PC-3 细胞 Notch3 基因表达。

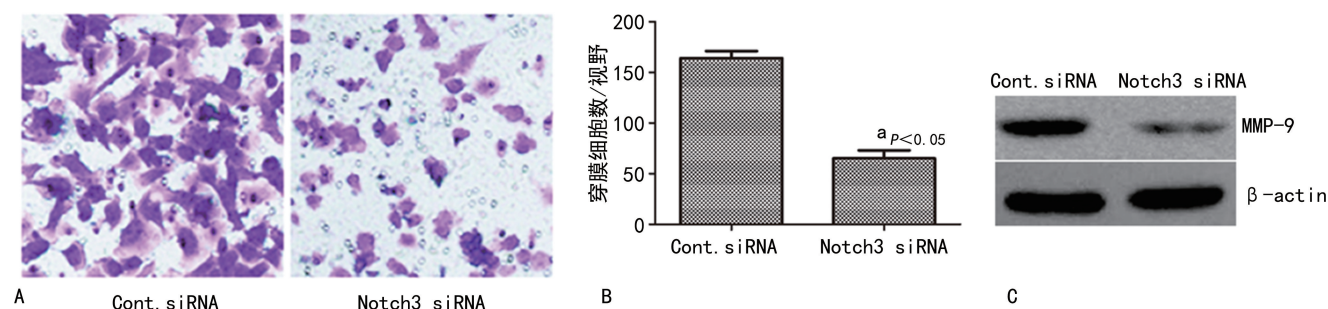
**2.2 Notch3 siRNA 转染后抑制前列腺癌 PC-3 细胞侵袭能力** Notch3 siRNA 转染前列腺癌 PC-3 细胞

后, Transwell 小室实验检测细胞侵袭能力的改变, 见图 2。Notch3 siRNA 转染后穿过 Transwell 小室基底膜的 PC-3 细胞数量显著减少, 同时 MMP-9 表达下调, 提示 Notch3 siRNA 转染后可抑制前列腺癌 PC-3 细胞侵袭能力。



注: A. RT-qPCR 检测 Notch3 siRNA 转染后 PC-3 细胞 Notch3 mRNA 表达水平; B. Western blot 检测 Notch3 siRNA 转染后 PC-3 细胞 Notch3 蛋白表达水平。

图 1 Notch3 siRNA 转染后抑制前列腺癌 PC-3 细胞 Notch3 mRNA 和蛋白表达



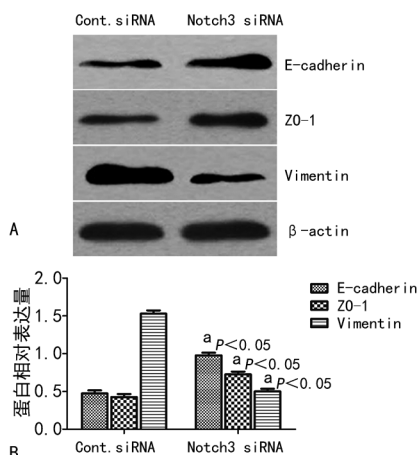
注: A. Transwell 小室实验检测 Notch3 siRNA 转染后 PC-3 细胞侵袭能力; B. 与对照 siRNA 转染组比较, Notch3 siRNA 转染组 PC-3 细胞穿过人工基底膜的数量显著降低; C. Western blot 检测 Notch3 siRNA 转染后 PC-3 细胞 MMP-9 蛋白表达。

图 2 Notch3 siRNA 转染后抑制前列腺癌 PC-3 细胞侵袭能力

**2.3 Notch3 siRNA 转染后对前列腺癌 PC-3 细胞 EMT 标志物蛋白(E-cadherin、ZO-1 及 Vimentin)表达的影响** EMT 与肿瘤侵袭转移密切相关, 因此本研究采用 Western blot 检测了 Notch3 siRNA 转染后前列腺癌 PC-3 细胞 EMT 标志物蛋白(E-cadherin、ZO-1、Vimentin)表达的情况, 见图 3。Notch3 siRNA 转染后上皮标志物 E-cadherin、ZO-1 蛋白表达上调, 同时间叶标志物 Vimentin 蛋白表达下调, 提示 Notch3 siRNA 转染可抑制前列腺癌 PC-3 细胞 EMT 过程。

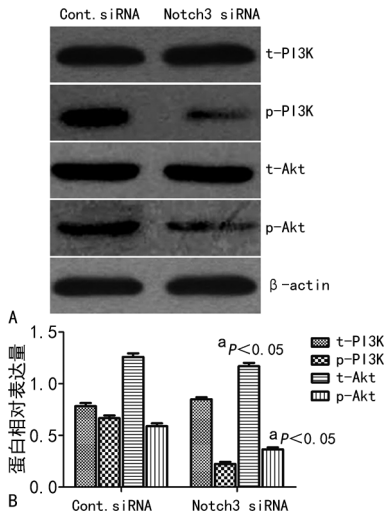
**2.4 Notch3 siRNA 转染后对前列腺癌 PC-3 细胞 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 表达的影响** PI3K/Akt 信号通路参与调控肿瘤细胞 EMT 过程, 本研究进一步探讨了 Notch3 siRNA 转染后对前列腺癌 PC-3 细胞 PI3K/Akt 信号通路蛋白表达的影响, Western blot 结果显示 Notch3 siRNA 转染后, PC-3 细胞总的 PI3K 和 Akt 蛋白无明显改变, 但 p-PI3K 和 p-Akt 表

达水平降低, 提示 Notch3 siRNA 转染后可抑制前列腺癌 PC-3 细胞 PI3K/Akt 信号通路。见图 4。



注: A. 蛋白质免疫印迹图; B. 免疫印迹灰度分析统计图。

图 3 Notch3 siRNA 转染后对前列腺癌 PC-3 细胞 EMT 标志物 E-cadherin、ZO-1 及 Vimentin 蛋白表达的影响



注: A. 蛋白质免疫印迹图; B. 免疫印迹灰度分析统计图。

图 4 Notch3 siRNA 转染后对前列腺癌 PC-3 细胞 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达的影响

### 3 讨 论

近年来,随着我国经济的发展、居民生活环境和饮食结构的改变及人口老龄化等因素,前列腺癌在我国的发病率呈逐年上升趋势。前列腺癌会引起下尿路梗阻、尿路刺激症状,严重者可出现尿潴留、尿失禁,并常发生骨转移引起疼痛、病理性骨折、脊髓压迫并致下肢瘫痪等,严重影响老年人的生活质量。Notch3 在前列腺癌组织中过表达,提示 Notch3 参与前列腺癌的发生发展,并可能成为前列腺癌治疗的靶点。本研究结果显示,转染 Notch3 siRNA 后前列腺癌 PC-3 细胞 Notch3 mRNA 和蛋白表达均下调,同时穿过 Transwell 小室基底膜的细胞数量显著降低, MMP-9 蛋白表达下调,提示 Notch3 siRNA 转染后可沉默前列腺癌 PC-3 细胞 Notch3 基因表达,并抑制细胞侵袭能力。

EMT 与肿瘤侵袭转移机制密切相关,EMT 过程中,使原本恶性程度较低的肿瘤细胞获得极高的细胞侵袭迁移能力,且具有肿瘤干细胞的特性<sup>[12]</sup>。丙酮酸乙酯可通过调控 NF-κB 和 ERK 通路介导的 EMT 抑制胶质母细胞瘤细胞的侵袭和转移<sup>[13]</sup>。Notch3 可通过调节食管癌细胞 EMT 来促进化疗敏感性<sup>[14]</sup>。本研究中 Notch3 siRNA 转染沉默前列腺癌 PC-3 细胞 Notch3 基因表达后,检测了细胞 EMT 标志物蛋白(E-cadherin、ZO-1、Vimentin)表达的情况,结果显示沉默 Notch3 基因表达后,前列腺癌 PC-3 细胞上皮标志物 E-cadherin、ZO-1 蛋白表达上调,同时间叶标志物 Vimentin 蛋白表达下调,提示沉默 Notch3 基因表达可抑制前列腺癌 PC-3 细胞 EMT 过程。

PI3K/Akt 信号通路参与调控肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭及 EMT 等过程<sup>[15]</sup>。转录增强相关结构域-4 (TEAD4) 可通过 PI3K/Akt 通路调控膀胱癌 EMT,

介导膀胱癌细胞侵袭转移<sup>[16]</sup>。肿瘤相关间充质干细胞通过外泌体传递 TMBIM6,激活 PI3K/Akt 通路促进肝癌的侵袭、迁移和 EMT<sup>[17]</sup>。本研究进一步探讨了 Notch3 siRNA 转染后对前列腺癌 PC-3 细胞 PI3K/Akt 信号通路蛋白表达的影响,Western blot 结果显示 Notch3 siRNA 转染后,PC-3 细胞总的 PI3K 和 Akt 蛋白无明显改变,但 p-PI3K 和 p-Akt 表达水平降低,提示 Notch3 siRNA 转染后可抑制前列腺癌 PC-3 细胞 PI3K/Akt 信号通路。

综上所述,Notch3 siRNA 转染沉默前列腺癌 PC-3 细胞 Notch3 表达后可显著抑制细胞侵袭能力,其机制可能是通过阻滞前列腺癌细胞 PI3K/Akt 通路,继而抑制细胞 EMT,提示 Notch3 可能成为前列腺癌治疗的潜在靶点。

### 参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2019 [J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69 (1):7-34.
- [2] 李星, 曾晓勇. 中国前列腺癌流行病学研究进展 [J]. 肿瘤防治研究, 2021, 48(1):98-102.
- [3] CHO E S, KANG H E, KIM N H, et al. Therapeutic implications of cancer epithelial-mesenchymal transition(EMT)[J]. Arch Pharm Res, 2019, 42:14-24.
- [4] SAITOH M. Involvement of partial EMT in cancer progression [J]. J Biochem, 2018, 164 (4):257-264.
- [5] FERNÁNDEZ-CHACÓN M, GARCÍA-GONZÁLEZ I, MÜHLEDER S, et al. Role of Notch in endothelial biology[J]. Angiogenesis, 2021, 24(2):237-250.
- [6] ISHIDA K, SEKI A, KAWAGUCHI K, et al. Restorative effect of adipose tissue-derived stem cells on impaired hepatocytes through Notch signaling in non-alcoholic steatohepatitis mice[J]. Stem Cell Res, 2021, 54:102425.
- [7] KAPOOR A, NATION D A. Role of Notch signaling in neurovascular aging and Alzheimer's disease [J]. Semin Cell Dev Biol, 2021, 116: 90-97.
- [8] ZHANG X, BIAN H, WEI W, et al. DLX5 promotes osteosarcoma progression via activation of the NOTCH signaling pathway [J]. Am J Cancer Res, 2021, 11(6):3354-3374.
- [9] KUNZE B, WEIN F, FANG H Y, et al. Notch

- signaling mediates differentiation in Barrett's esophagus and promotes progression to adenocarcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2020, 159(2): 575-590.
- [10] KANG W, ZHANG J, HUANG T, et al. NOTCH3, a crucial target of miR-491-5p/miR-875-5p, promotes gastric carcinogenesis by up-regulating PHLDB2 expression and activating Akt pathway[J]. *Oncogene*, 2021, 40(9): 1578-1594.
- [11] CUI Y, LI Q, LI W, et al. NOTCH3 is a Prognostic factor and is correlated with immune tolerance in gastric cancer[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 574937.
- [12] HUANG Q, FU Y, ZHANG S, et al. Ethyl pyruvate inhibits glioblastoma cells migration and invasion through modulation of NF- $\kappa$ B and ERK-mediated EMT[J]. *Peer J*, 2020, 8: e9559.
- [13] DAI Y, WANG H, SUN R, et al. Modified Shenlingbaizhu Decoction represses the pluripotency of colorectal cancer stem cells by inhibiting TGF- $\beta$  mediated EMT program [J]. *Phytomedicine*, 2022, 103: 154234.
- [14] MATSUURA N, TANAKA K, YAMASAKI M, et al. NOTCH3 limits the epithelial-mesenchymal transition and predicts a favorable clinical outcome in esophageal cancer[J]. *Cancer Med*, 2021, 10: 3986-3996.
- [15] LEE S, CHOI E J, CHO E J, et al. Inhibition of PI3K/Akt signaling suppresses epithelial-to-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma through the Snail/GSK-3/beta-catenin pathway[J]. *Clin Mol Hepatol*, 2020, 26(4): 529-539.
- [16] CHI M, LIU J, MEI C, et al. TEAD4 functions as a prognostic biomarker and triggers EMT via PI3K/AKT pathway in bladder cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1): 175.
- [17] SHANG C, KE M, LIU L, et al. Exosomes from cancer-associated mesenchymal stem cells transmit TMBIM6 to promote the malignant behavior of hepatocellular carcinoma activating PI3K/AKT pathway[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 868726.
- (收稿日期: 2022-06-13 修回日期: 2022-11-23)
- 
- (上接第 750 页)
- in overweight women: a systematic review and meta-analysis[J]. *Obes Rev*, 2014, 15(7): 610-617.
- [12] 李节, 陈仁富, 孙晓磊, 等. 压力性尿失禁合并糖尿病患者的尿动力学研究[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2015, 20(4): 248-250.
- [13] 王世英, 石晶, 谢琼秀. 中老年女性静息心率与代谢综合征及其组分间的关联性研究[J]. *海南医学*, 2015, 26(14): 2050-2052.
- [14] 刘晖, 叶真, 陈树强, 等. 孕妇压力性尿失禁发生情况及影响因素分析[J]. *福建医科大学学报*, 2016, 50(5): 342-344.
- [15] 李灿, 徐松, 巫海娣, 等. 住院 2 型糖尿病患者尿失禁现状及影响因素分析[J]. *护理学杂志*, 2022, 37(7): 26-28.
- [16] BANISSA W, FAKHRY R, ALMOMAN I F. Urinary incontinence in Emirati women with diabetes mellitus type 2: prevalence, risk factors and impact on life[J]. *J Clin Nurs*, 2013, 22(21/22): 3084-3094.
- [17] REIGOTA R B, PEDRO A O, DE SSM V, et al. Prevalence of urinary incontinence and its association with multimorbidity in women aged 50 years or older: A population-based study [J]. *Neurourol Urology*, 2016, 35(1): 62-68.
- [18] HALL R, KKHALLSA S, QUAILS C, et al. A comparison of periurethra blood flow resistive indices and urethral closure pressure of incontinent women[J]. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct*, 2006, 17(5): 472-477.
- [19] 徐忆青, 朱玲敏, 王阳赞, 等. 改良型盆底肌训练对压力性尿失禁患者的影响[J]. *护理实践与研究*, 2018, 15(22): 88-89.
- [20] 尚军洁. 应用国际糖尿病联盟标准分析南阳市干部人群代谢综合征患病率[J]. *中国医疗前沿*, 2010, 21(3): 151.
- (收稿日期: 2022-05-26 修回日期: 2022-12-10)