

白藜芦醇对脂多糖诱导的 BV2 细胞炎症与凋亡反应的保护机制

陈二华¹, 朱慧芳², 谭东明¹, 张建华¹, 丁旭¹, 殷紫^{1*}

(1. 江苏护理职业学院药学与中药学院, 江苏 淮安 223005; 2. 江苏护理职业学院护理与助产学院, 江苏 淮安 223005)

摘要: **目的** 研究白藜芦醇对脂多糖诱导的 BV2 细胞炎症与凋亡反应的保护机制。**方法** 脂多糖刺激 BV2 细胞建立炎症模型, 随机分为对照组、脂多糖组、脂多糖+白藜芦醇组、白藜芦醇组。采用 Western blot、RT-qPCR、荧光染色与细胞流式分析, 检测白藜芦醇对 BV2 细胞的保护作用及分子机制。**结果** 白藜芦醇可抑制脂多糖引起的细胞凋亡及 *IL-6*、*IL-1*、*TNF-α* mRNA 表达升高, 增加 LC3-II/LC3-I 比值, 降低 SQSTM1 蛋白表达, 减少脂多糖引起的溶酶体细胞器损伤, 提高 BV2 细胞中溶酶体的荧光强度。**结论** 白藜芦醇对脂多糖引起 BV2 细胞的炎症与凋亡反应有保护作用, 其分子机制可能是通过调控 TLR4-FOXO3 信号通路影响细胞的自噬水平, 从而减轻炎症因子的释放与细胞的凋亡反应。

关键词: 白藜芦醇; BV2 细胞; 脂多糖; 炎症; 凋亡; 自噬

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2022)11-3663-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.11.047

神经炎症是众多神经退行性疾病的共同致病机制, 中枢神经系统中原发与继发性的伤害会导致多重的无菌损伤, 并诱发细胞的凋亡、炎症反应、神经功能障碍等^[1]。小胶质细胞是中枢神经系统中先天免疫的第一道防线, 在介导中枢神经炎症的激活与继发性损伤中起到关键作用, 不仅可以释放炎症因子加重中枢神经的损伤, 另一方面也可释放营养因子从而减少炎症对神经的损伤^[2-3]。在中枢神经炎症介导的众多疾病中, 抑制小胶质细胞的损伤, 减少细胞凋亡等是减轻神经炎症的一大重要策略。

白藜芦醇作为目前临床应用前景较好的多酚类化合物, 在抑制细胞炎症反应、减少细胞凋亡、影响细胞代谢、衰老、自噬等方面有重要作用^[4-5], 但确切机制尚不明确。因此, 本实验建立了脂多糖刺激小鼠小胶质 BV2 细胞系的炎症模型, 深入探讨该成分发挥神经保护作用的机制, 以期后续临床应用提供理论基础。

1 材料

1.1 细胞 小鼠小胶质细胞 BV2 细胞系 (批号 CL-0493), 购自武汉普诺赛生命科技有限公司, 培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中, 在 37℃、5% CO₂ 条件下培养至融合度 70%~80% 时, 传代进行保种, 或进行后续实验。

1.2 试剂与药物 白藜芦醇 (纯度 ≥ 99%, 批号 R5010-

100MG)、脂多糖 (批号 L4516)、细胞荧光染色 Hoechst (批号 B2261, 1:3 000) 均购自美国 Sigma-Aldrich 公司; DMSO (批号 KGT5131)、DMEM (批号 KGM12800-500)、RIPA 裂解液 (批号 KGP704)、BCA 蛋白定量试剂盒 (批号 KGP903) 均购自江苏凯基生物科技股份有限公司; 胎牛血清 FBS (美国 Gibco 公司, 批号 10100147); 3-甲基腺嘌呤 (3-MA) (美国 Selleck 公司, 批号 S2767); 磷酸酶抑制剂 (美国 Thermo Fisher 公司, 批号 78426); 兔抗 Bax (美国 Proteintech 公司, 批号 50599-2-Ig); 兔抗 Bcl-2 (南京巴傲得生物科技有限公司, 批号 BS1511); 鼠抗 GAPDH (美国 Santa Cruz 公司, 批号 sc-32233); 兔抗 LC3B (批号 2775)、兔抗 SQSTM1 (批号 5114s)、兔抗 TLR4 (批号 14358s)、兔抗 FOXO3 (批号 2497s)、兔抗 P-FOXO3 (批号 9466s) 均购自美国 Cell Signaling Technology 公司; 二抗辣根过氧化物酶标记羊抗小鼠 IgG (H+L) (批号 bs-40296G-HRP)、辣根过氧化物酶标记羊抗兔 IgG (H+L) (批号 bs-40295G-HRP) 均购自北京博奥森生物技术有限公司; Lyso Tracker Red (批号 1583088, 1:2 000)、mRNA 提取 Trizol (批号 15596026) 均购自美国 Invitrogen 公司; HiScript II Q Select RT SuperMix for qPCR (批号 R233-01)、ChamQ qPCR SYBR Green MasterMix (批号 Q121-02) 均购

收稿日期: 2021-04-26
基金项目: 江苏省高等学校自然科学研究面上项目 (19KJD360001); 江苏省高校青蓝工程项目 (苏教师 [2019] 3); 江苏省高等学校大学生创新创业训练计划项目 (202114541010Y); 淮安市科技局课题 (HAB201843)
作者简介: 陈二华 (1987—), 男, 硕士, 实验师, 主管中药师, 研究方向为中药学。Tel: (0517) 80823823, E-mail: chenerhua1987@163.com
* 通信作者: 殷紫 (1987—), 女, 博士, 讲师, 研究方向为神经精神药理。Tel: 15722958626, E-mail: jshlxx_yz@163.com
网络出版日期: 2021-12-27
网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20211224.1414.004.html>

自南京诺唯赞生物科技股份有限公司。

1.3 仪器 细胞培养箱、冷冻离心机、双波长酶标仪、荧光定量 PCR 仪（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；电泳电转仪（美国 Bio-Rad 公司）；LAS 显影仪（日本富士公司）；尼康共聚焦显微镜（日本 Nikon 公司）。

2 方法

2.1 给药与分组 细胞按“1.1”项下方法培养后，先加入白藜芦醇（结合前期研究与实验结果^[6]，设定能有效抑制炎症反应的浓度为 30 μmol/L）预处理 30 min，再给予 100 ng/mL 脂多糖刺激 6 h，3-甲基腺嘌呤在脂多糖刺激 5 h 时给予处理 1 h，现配现用，终浓度为 5 mmol/L。再随机分为对照组（不完全培养基培养，不做其他处理）、脂多糖组（100 ng/mL）、白藜芦醇组（30 μmol/L）、脂多糖+白藜芦醇组（100 ng/mL+30 μmol/L）、脂多糖+白藜芦醇+3-甲基腺嘌呤组（100 ng/mL+30 μmol/L+5 mmol/L）。

2.2 Western blot 法检测蛋白表达 用含有磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液裂解 BV2 细胞，置于冰上裂解 15 min 后刮取蛋白，16 000×g 离心 15 min，吸取上清后进行蛋白定量，加入 5×Loading Buffer，在 95 ℃下煮沸 5 min，即得蛋白样本。电泳仪分离蛋白分子，电转移将蛋白分子转移至 PVDF 膜，5%脱脂奶封闭 1 h，4 ℃过夜孵育一抗，隔天弃去一抗，TBST 洗膜 3 次，室温孵育二抗 1 h，TBST 洗膜后显影曝光。

2.3 RT-qPCR 法检测炎症因子 mRNA 表达 PBS 漂洗 12 孔板中的 BV2 细胞，吸弃废液后加入 TRIzol，置于冰上裂解 5 min，将 TRIzol 溶液转移至 1.5 mL EP 管中，加入三氯甲烷，4 ℃、12 000×g 离心 15 min，将上层液体转移至全新无酶 RNA EP 管中，加入异丙醇于-20 ℃下静置 1 h，4 ℃、12 000×g 离心 15 min，弃上清，75%乙醇洗涤沉淀，

挥干乙醇后加入 DEPC 水溶解 RNA。使用反转录试剂盒将 RNA 逆转录成 cDNA，程序为 42 ℃ 2 min，50 ℃ 15 min，80 ℃ 5 s，所得 cDNA 样品进行荧光定量 PCR 检测。反应体系为 cDNA 1 μL，正、反向引物各 0.5 μL，双蒸水 3 μL，ChamQ qPCR SYBR Green MasterMix 5 μL，引物序列见表 1。

表 1 引物序列

引物	序列(5'→3')	长度/bp
IL-6	正向 ATCCAGTTGCCTTCTTGGGACTGA	24
	反向 TAAGCCTCCGACTTGTGAAGTGGT	24
IL-1	正向 TCAGGCAGGCAGTATCACTC	20
	反向 CATGAGTCACAGAGGATGGG	20
TNF-α	正向 TTGCTCTGTGAAGGGAATGG	20
	反向 GGCTCTGAGGAGTAGACAATAAAG	24

2.4 细胞溶酶体 Lyso tracker Red 染色 将接种于 24 孔板中细胞爬片上 BV2 细胞用 Lyso tracker Red（DMEM，1：2 000）染色 30 min 后（37 ℃、5% CO₂），将混有染料的 DMEM 溶液吸弃，用 4% 多聚甲醛溶液固定细胞 15 min，PBS 轻轻洗涤细胞爬片，Hoechst 染核 10 min，PBS 轻轻洗涤细胞爬片后倒扣在载玻片上，用防荧光淬灭剂封片，在显微镜下拍摄。

2.5 统计学分析 通过 GraphPad Prism 7.0 软件进行处理，数据均以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 白藜芦醇对 BV2 细胞凋亡蛋白表达的影响 与脂多糖组比较，脂多糖+白藜芦醇组 BV2 细胞 Bax 蛋白表达降低 ($P < 0.05$)，Bcl-2 蛋白表达升高 ($P < 0.01$)，表明白藜芦醇能改善由脂多糖引起的 BV2 细胞凋亡反应，见图 1。

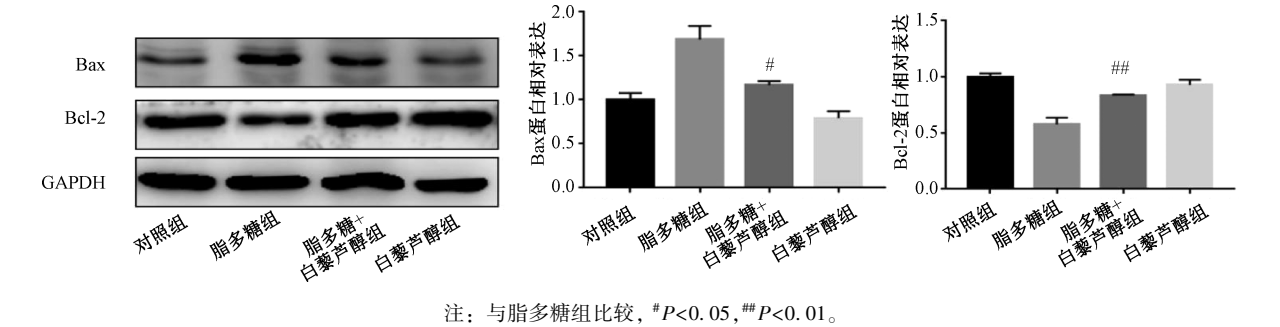


图 1 白藜芦醇对 BV2 细胞凋亡蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$ ， $n = 3$)

3.2 白藜芦醇对 BV2 细胞状态的影响 对照组、白藜芦醇组 BV2 细胞形态呈圆形，细胞有较少的分支突起；脂多糖组 BV2 细胞圆形结构遭到破坏，细胞有明显触角，为激活样状态；脂多糖+白藜芦醇组能缓解 BV2 细胞的激活，表现为炎症因子的释放而介导神经炎性作用，表明白藜芦醇可缓解脂多糖引起的 BV2 细胞激活，见图 2。

3.3 白藜芦醇对 BV2 细胞炎症因子 mRNA 表达的影响 与对照组比较，脂多糖组 BV2 细胞中 IL-6、IL-1、TNF-α mRNA 表达升高 ($P < 0.01$)；与脂多糖组比较，脂

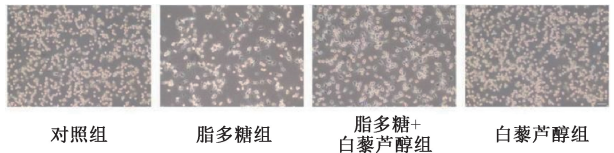
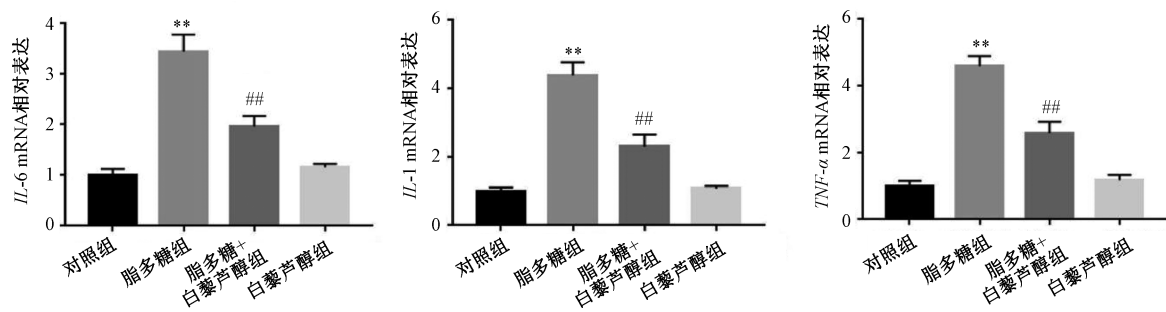


图 2 各组 BV2 细胞的状态

多糖+白藜芦醇组 BV2 细胞中 IL-6、IL-1、TNF-α mRNA 表达降低 ($P < 0.01$)，见图 3。

3.4 白藜芦醇对 BV2 自噬阻滞的影响 细胞凋亡现象可能

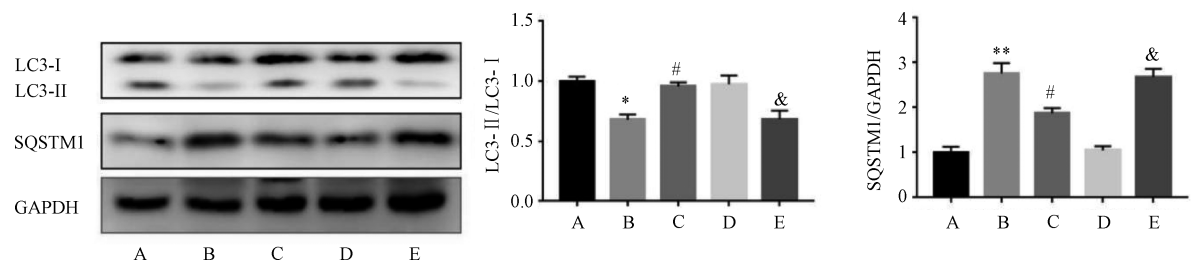


注：与对照组比较，** $P<0.01$ ；与脂多糖组比较，## $P<0.01$ 。

图 3 白藜芦醇对 BV2 细胞炎症因子 mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

因其细胞自噬受阻而导致^[7]。与对照组比较，脂多糖组 BV2 细胞中 SQSTM1 蛋白表达升高 ($P<0.01$)，LC3- II/LC3- I 比值降低 ($P<0.05$)，提示脂多糖可引发细胞自噬的阻滞；与脂多糖组比较，脂多糖+白藜芦醇组细胞中 SQSTM1 蛋白表达降低 ($P<0.05$)，LC3- II/LC3- I 比值升

高 ($P<0.05$)，提示白藜芦醇能缓解脂多糖引起的自噬阻滞；与脂多糖+白藜芦醇组比较，脂多糖+白藜芦醇+3-甲基腺嘌呤组 BV2 细胞中 SQSTM1 蛋白表达升高 ($P<0.05$)，LC3- II/LC3- I 比值降低 ($P<0.05$)，表明自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤可消除白藜芦醇的促自噬作用，见图 4。



注：A 为对照组，B 为脂多糖组，C 为脂多糖+白藜芦醇组，D 为白藜芦醇组，E 为脂多糖+白藜芦醇+3-甲基腺嘌呤组。与对照组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与脂多糖组比较，# $P<0.05$ ；与脂多糖+白藜芦醇组比较，& $P<0.05$ 。

图 4 白藜芦醇对 BV2 自噬阻滞现象的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

3.5 白藜芦醇对 BV2 细胞自噬-溶酶体损伤阻滞的影响

与对照组比较，脂多糖组能引起自噬-溶酶体通路中溶酶体细胞器的损伤，表现为细胞器荧光信号的减弱，而白藜芦醇组可有效降低脂多糖对 BV2 的损伤；与脂多糖组比较，

脂多糖+白藜芦醇组则有效提高了溶酶体细胞器的荧光强度，降低损伤；与脂多糖+白藜芦醇组比较，脂多糖+白藜芦醇+3-甲基腺嘌呤组可消除白藜芦醇的作用，增加溶酶体的损伤阻滞，见图 5。

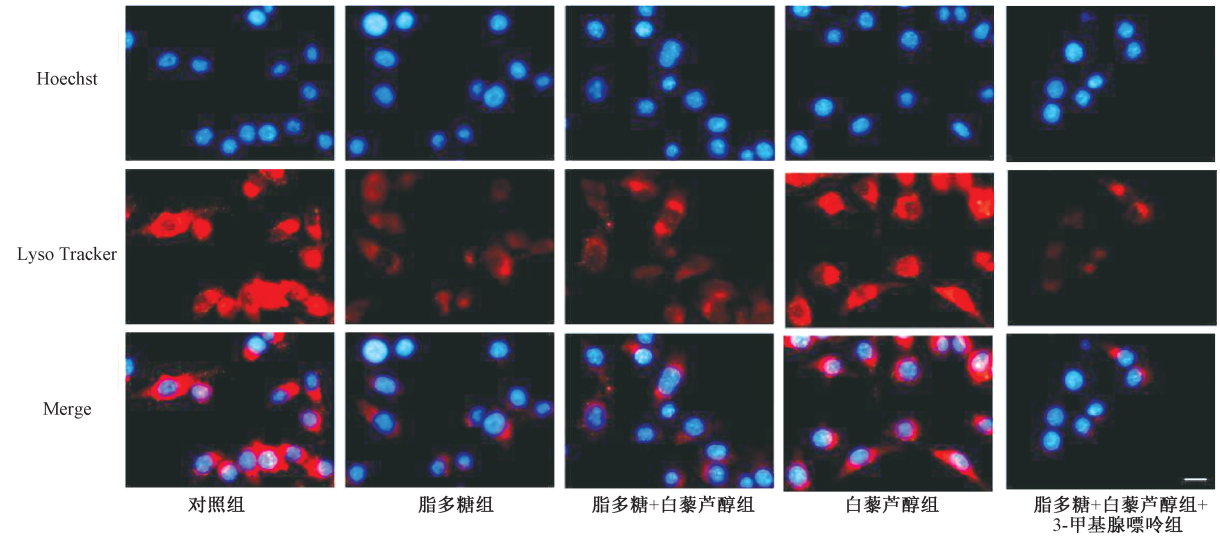


图 5 各组 BV2 细胞自噬-溶酶体损伤阻滞现象 ($\times 40$)

3.6 白藜芦醇对 BV2 细胞凋亡与炎症相关蛋白表达的影响 TLR4 受体介导的哺乳动物 FOXO3 转录因子的磷酸化上调是 LPS 引发自噬的重要机制^[8]。与对照组比较,脂多糖组 TLR4 蛋白表达、FOXO3 磷酸化水平升高 ($P<0.01$);与脂多糖组比较,脂多糖+白藜芦醇组 TLR4 蛋白表达、

FOXO3 磷酸化水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$);与脂多糖+白藜芦醇组比较,脂多糖+白藜芦醇+3-甲基腺嘌呤组 TLR4 蛋白表达、FOXO3 磷酸化水平升高 ($P<0.05$, $P<0.01$),表明自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤消除了白藜芦醇的作用,见图 6。

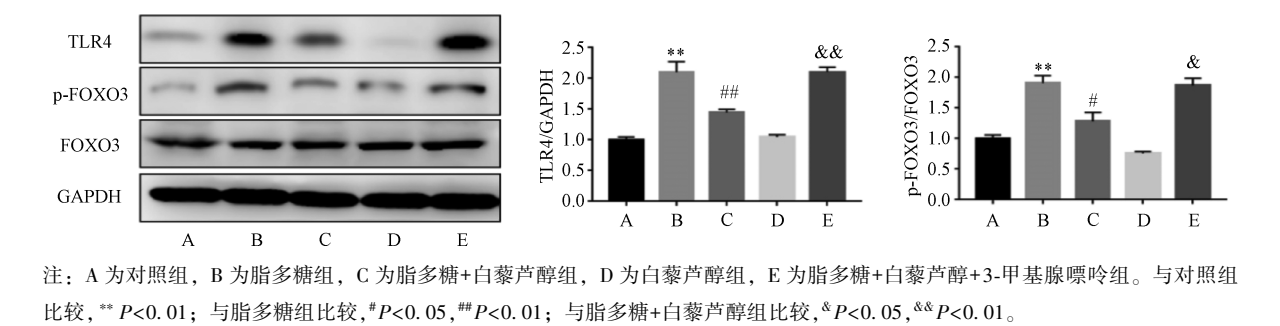


图 6 白藜芦醇对 BV2 细胞凋亡与炎症相关蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

4 讨论

神经退行性疾病的发病起始阶段,炎症反应起到保护和修复组织的作用,而持续的炎症反应则会引起小胶质细胞、星形胶质细胞、神经元细胞的凋亡损伤、自噬功能缺陷^[9-11]。小胶质细胞的激活是神经炎症的主要特征,激活的小胶质细胞可介导各种神经毒性物质以及促炎因子的释放并导致神经元的死亡。生理条件下,小胶质细胞主要负责免疫监视与宿主的防御感染,但在神经炎症条件下,小胶质细胞的异常激活会释放各种神经毒性物质如兴奋性谷氨酸、奎宁酸、组胺等从而导致脑组织的损伤。虽然短期的小胶质细胞活化是有神经保护效应,但长期的活化已被认为是神经退行性疾病的潜在机制。因此,基于小胶质细胞功能以获得安全有效的神经保护剂很重要。

白藜芦醇来源于虎杖、葡萄等,研究表明其能降低心血管系统疾病的发病率^[12],并且在脂多糖诱导的神经炎症模型中,可通过过氧化物酶体增殖物激活受体- γ 共激活因子-1 α 减轻炎症损伤促进小胶质细胞向 M2 型转化^[13]。白藜芦醇能影响细胞自噬的关键通路,例如调控雷帕霉素靶蛋白的磷酸化程度,从而影响细胞的糖酵解过程^[14];通过抑制丝裂原诱导的核糖体 p70S6K 激酶磷酸化影响大鼠主动脉平滑肌细胞肥大^[15]。在中枢神经系统中,白藜芦醇也可通过调控自噬过程来提高神经系统的稳定性,免受氧化应激的损伤^[4,16]。本研究发现,白藜芦醇有效减轻了脂多糖引起的自噬阻滞,并减少了溶酶体细胞器的损伤,从而减少了 BV2 细胞的凋亡与炎症因子 IL-6、IL-1、TNF- α mRNA 表达。

脂多糖是对小胶质细胞激活最为有效的刺激物之一,脂多糖刺激小胶质细胞后,通过膜上的 TLR4 受体介导下游的免疫应答^[17]。FOXO3 是 FOXO 家族的重要成员,因其广泛参与调控泛素-蛋白酶体和自噬-溶酶体蛋白水解途径,是蛋白分解的关键调节剂^[18]。自噬-溶酶体途径是维持细胞自身代谢以及蛋白质更新的重要过程,自噬过程的顺利进行有利于细胞受损成分的清除与细胞内

物质的降解,以便在饥饿以及压力环境下提供能量。既往研究与本研究证实,白藜芦醇能有效减轻脂多糖引起的自噬-溶酶体通路障碍^[19],通过进一步研究发现,白藜芦醇可通过 TLR4-FOXO3 通路有效减轻自噬的阻滞现象。

综上所述,白藜芦醇可能通过 TLR4-FOXO3 信号通路减弱脂多糖引发的自噬-溶酶体的通路障碍,并减少 BV2 细胞的凋亡与炎症因子的释放。

参考文献:

[1] Tanaka M, Toldi J, Vécsei L. Exploring the etiological links behind neurodegenerative diseases: inflammatory cytokines and bioactive kynurenines [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (7): 2431.

[2] Xu Y, Jin M Z, Yang Z Y, et al. Microglia in neurodegenerative diseases [J]. *Neural Regen Res*, 2021, 16 (2): 270-280.

[3] Kwon H S, Koh S H. Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: the roles of microglia and astrocytes [J]. *Transl Neurodegener*, 2020, 9(1): 42.

[4] Huang J, Huang N Q, Xu S F, et al. Signaling mechanisms underlying inhibition of neuroinflammation by resveratrol in neurodegenerative diseases [J]. *J Nutr Biochem*, 2021, 88: 108552.

[5] Pannu N, Bhatnagar A. Resveratrol: from enhanced biosynthesis and bioavailability to multitargeting chronic diseases [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 2237-2251.

[6] Ma S M, Jin Z, Liu Y, et al. Furazolidone increases survival of mice exposed to lethal total body irradiation through the antiapoptosis and autophagy mechanism [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 6610726.

[7] 赵 晔, 王秀颖, 于 磊. 清肾颗粒对慢性肾衰竭大鼠肾组织细胞自噬及凋亡的影响和机制研究 [J]. *解放军医药杂志*, 2021, 33(1): 7-10.

[8] Lee J W, Nam H, Kim L E, et al. TLR4 (toll-like receptor

4) activation suppresses autophagy through inhibition of FOXO3 and impairs phagocytic capacity of microglia[J]. *Autophagy*, 2019, 15(5): 753-770.

[9] Kuter K Z, Cenci M A, Carta A R. The role of glia in Parkinson’ s disease: Emerging concepts and therapeutic applications[J]. *Prog Brain Res*, 2020, 252: 131-168.

[10] Voet S, Srinivasan S, Lamkanfi M, *et al.* Inflammasomes in neuroinflammatory and neurodegenerative diseases[J]. *EMBO Mol Med*, 2019, 11(6): e10248.

[11] Strohm L, Behrends C. Glia-specific autophagy dysfunction in ALS[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2020, 99: 172-182.

[12] Wang K J, Zhao J P, Zhang W W, *et al.* Resveratrol attenuates aortic dissection by increasing endothelial barrier function through the SIRT1 pathway [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2020, 76(1): 86-93.

[13] Yang X D, Xu S Q, Qian Y W, *et al.* Resveratrol regulates microglia M1/M2 polarization *via* PGC-1 α in conditions of neuroinflammatory injury[J]. *Brain Behav Immun*, 2017, 64: 162-172.

[14] Liu Y, Tong L, Luo Y, *et al.* Resveratrol inhibits the proliferation and induces the apoptosis in ovarian cancer cells *via* inhibiting glycolysis and targeting AMPK/mTOR signaling pathway[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(7): 6162-6172.

[15] Breuss J M, Atanasov A G, Uhrin P. Resveratrol and its effects on the vascular system[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (7): 1523.

[16] Zeng Q, Xiong Q, Zhou M, *et al.* Resveratrol attenuates methamphetamine-induced memory impairment *via* inhibition of oxidative stress and apoptosis in mice [J]. *J Food Biochem*, 2021, 45(2): e13622.

[17] Mazgaeen L, Gurung P. Recent advances in lipopolysaccharide recognition systems[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(2): 379.

[18] Murtaza G, Khan A K, Rashid R, *et al.* FOXO transcriptional factors and long-term living[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 3494289.

[19] Tian Q Y, Fan X F, Ma J S, *et al.* Resveratrol ameliorates lipopolysaccharide-induced anxiety-like behavior by attenuating YAP-mediated neuro-inflammation and promoting hippocampal autophagy in mice [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, 408: 115261.

基于 PI3K/Akt 信号通路探讨槲皮素增强顺铂对人宫颈癌顺铂耐药细胞 HeLa/DDP 的作用

申昌梅， 廖振蓉*， 余 瑛
(江西省赣州市肿瘤医院，江西 赣州 341000)

摘要：**目的** 探讨槲皮素通过 PI3K/Akt 信号通路增强顺铂对人宫颈癌顺铂耐药细胞株 HeLa/DDP 的抗癌作用机制。**方法** 体外培养人宫颈癌顺铂耐药细胞株 HeLa/DDP，用不同浓度槲皮素（20、40、80 $\mu\text{mol/L}$ ）联合顺铂（DDP，10 $\mu\text{mol/L}$ ）处理，CCK8 法、克隆形成实验、Transwell 实验检测各组细胞增殖能力、克隆形成能力和迁移能力，RT-qPCR 法检测细胞 *PI3K*、*Akt*、*Survivin*、*MMP-2* mRNA 表达，Western blot 法检测细胞 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、Survivin、MMP-2 蛋白表达。**结果** 与对照组比较，药物处理组细胞增殖能力、克隆形成能力、迁移能力及 PI3K、Akt、Survivin、MMP-2 mRNA 和蛋白表达均降低（ $P<0.05$ ）；与顺铂组比较，槲皮素联合顺铂处理组细胞增殖能力、克隆形成能力、迁移能力及 PI3K、Akt、Survivin、MMP-2 mRNA 和蛋白表达均降低，并呈剂量依赖性（ $P<0.05$ ）。**结论** 槲皮素可能通过调控 PI3K/Akt 信号通路增强顺铂对人宫颈癌顺铂耐药细胞 HeLa/DDP 的抗癌作用，抑制细胞增殖和迁移能力，降低肿瘤细胞活性。

关键词：槲皮素；顺铂；人宫颈癌细胞株 HeLa/DDP；PI3K/Akt 信号通路

中图分类号：R285.5 **文献标志码：**B **文章编号：**1001-1528(2022)11-3667-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.11.048

宫颈癌是危害女性健康的恶性肿瘤之一，其发病率和死亡率高^[1]，主要危险因素包括高危人类乳头瘤病毒（hrHPV）感染、年龄、吸烟、分娩、使用口服避孕药和饮食，其中 hrHPV 持续感染是宫颈癌发展的主要因素，在早

收稿日期：2021-01-19

基金项目：江西省卫生计生委科技计划（20157201）；赣州市指导性科技计划项目（GZ2019ZSF261）

作者简介：申昌梅（1982—），女，主治医师，研究方向为妇产科。Tel: 13576743978

* 通信作者：廖振蓉（1985—），硕士生，主治医师，研究方向为妇科肿瘤方向。E-mail: 280896444@qq.com