

• 论 著 •

二重荧光定量 RT-PCR 检测胰腺癌患者 CD44v6 基因的表达

周 刚^{1,3}, 邱大卫^{1,3}, 秦大江², 牛立志^{1,3}, 蔡金蕾², 何丽华^{1,3}, 黄文浩², 徐克成^{1,3△}

(1. 中国科学院广州生物医药与健康研究院附属复大医院, 广州 510310; 2. 中国科学院广州生物医药与健康研究院干细胞课题组, 广州 510610; 3. 广州市复大肿瘤医院 510305)

摘 要:目的 建立一种敏感、特异的二重 TaqMan 实时荧光定量 RT-PCR(qRT-PCR)方法, 定量检测 CD44v6 基因在胰腺癌患者中的 mRNA 表达水平。方法 设计目的基因 CD44v6 和内参基因 β -actin 的引物与探针并构建两者的重组质粒, 通过优化反应条件, 建立二重 qRT-PCR 方法的标准曲线, 并对该方法的特异性、敏感性和重复性进行评估。应用该方法定量检测 18 例胰腺癌患者外周血单核细胞(PBMC)中 CD44v6 mRNA 的表达水平。结果 成功构建了该方法的标准曲线, 其特异性较高, 重复性良好, CD44v6 和 β -actin 基因的检测下限均达到 100 copy/ μ L, 是常规 RT-PCR 的 10 倍, 7 例胰腺癌患者百万 PBMC 中 CD44v6 表达量的对数值为 3.4~3.9, 另 9 例为 3.9~4.9, 仅 2 例在 5.0 以上。结论 本研究建立的二重 qRT-PCR 方法可定量检测 CD44v6 基因的表达水平, 并对试验个体及试验组的 CD44v6 表达水平进行比较, 从而为胰腺癌的诊断、预后及治疗效果的评估提供了有效的手段。

关键词:聚合酶链反应; 胰腺癌; CD44v6

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.18.004

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)18-2051-04

Detection of the expression of CD44v6 gene in patients with pancreatic cancer by duplex real-time reverse transcription polymerase chain assay

Zhou Gang^{1,3}, Qiu Dawei^{1,3}, Qin Dajiang², Niu Lizhi^{1,3}, Cai Jinlei², He Lihua^{1,3}, Huang Wenhao², Xu Kecheng^{1,3△}

(1. The GIBH Affiliated Fuda Hospital, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510310, China; 2. StemCell Research Group, Guangzhou Institutes of Biomedicine and Health, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510610, China; 3. Fuda Cancer Hospital of Guangzhou, Guangzhou 510305, China)

Abstract: **Objective** To develop a duplex quantitative real-time reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) assay for quantitative detection of the expression level of CD44v6 gene in patients with pancreatic cancer. **Methods** The primers and probes of CD44v6 and β -actin endogenous gene were designed and recombinant plasmids of each gene were constructed. Standard curves of the duplex qRT-PCR assay were established by optimizing the reaction conditions. The specificity, detection limit and reproducibility of this assay were tested and this assay was also used for detection of the expression level of CD44v6 mRNA in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of 18 patients with pancreatic cancer. **Results** The specificity and reproducibility of this assay was satisfactory and the low detection limit was 100 copy/ μ L for both CD44v6 and β -actin gene, which was 10 times more sensitive than conventional RT-PCR. The logarithm values of copy number of CD44v6 gene ranged from 3.4—3.9 per million PBMCs in 7 patients, 4.0—4.9 in 9 patients and exceeded 5.0 in only two patients. **Conclusion** The duplex qRT-PCR assay established in this study could be used to quantitatively detect the expression level of CD44v6 gene, and could provide an useful tool for the diagnosis, prognosis and therapy evaluation for patients with pancreatic cancer.

Key words: polymerase chain reaction; pancreatic neoplasms; CD44v6

胰腺癌是消化系统恶性度最高、预后最差的肿瘤之一, 约占胰腺恶性肿瘤的 95%, 5 年生存率不足 5%^[1-2]。由于胰腺癌发生、发展较隐匿, 临床确诊时已属中晚期, 不仅手术切除率低, 也尚无其他有效的治疗措施^[3]。

胰腺癌的发生发展是多阶段、多因素的共同作用, 其中介导细胞表面黏附分子的细胞黏附作用, 与肿瘤发生、演变和转移等关系已成为国内外研究的热点^[4-6]。CD44v6 是细胞黏附分子 CD44 的异构体, 近年来的研究表明, CD44v6 与肺癌、肝癌、胃癌、乳腺癌、结肠癌、食管癌等恶性肿瘤的发生、侵袭和转移密切相关^[7-13], 而有关胰腺癌与 CD44v6 的关系在国内尚无报道。尽管 CD44v6 基因在肿瘤中的表达已有所研究, 但相关的检测方法不能对 CD44v6 的表达水平进行绝对定量, 且在敏感性、特异性方面存在较大的差异, 因而限制了 CD44v6 作为肿瘤标志基因在诊断和检测肿瘤发生及转移方面的应用价值。本研究旨在建立一种二重 TaqMan 荧光定量 RT-PCR 方法,

以对胰腺癌患者的 CD44v6 基因表达水平进行绝对定量的分析, 为进一步研究 CD44v6 基因在胰腺癌中的诊断、治疗评价及与胰腺癌的生长转移的相关性提供有效的手段。

1 资料与方法

1.1 一般资料 18 例已经病理学确诊为胰腺癌患者的外周血标本来自 2010 年 7~12 月的该院住院患者。

1.2 仪器与试剂 淋巴细胞分离液购自天津百世化工有限公司; M-MLV 反转录酶、RNA 酶抑制剂、rTaq DNA 聚合酶、10 $\times$ PCR buffer 缓冲液、dNTPs、DNA Marker DL2000、pMD18-T 载体、HS ExTaq 酶、ExTaq PCR buffer、DNA 凝胶回收试剂盒、Sybgreen premix ExTaqTM 等均购自大连宝泰克生物工程有限公司; 质粒提取试剂盒购自广州东盛生物科技有限公司; ABI-7300 实时荧光定量 PCR 仪购自美国 ABI 公司。

1.3 外周血单核细胞(PBMC)的分离和保存 常规分离胰腺癌患者 EDTA 抗凝全血中的 PBMC, 计数后存于标准细胞冻

△ 通讯作者, E-mail: xukc@vip.163.com。

存液中,置于 4℃ 的程序降温盒中,保存在-80℃ 冰箱中过夜,次日转存于液氮中待用。

1.4 引物和探针的设计与合成 根据 CD44v6 和 β-actin 基因

的高度保守区,利用美国 ABI 公司提供的 Beacon Designer 7.0 软件设计两者的引物和探针,均由上海 Invitrogen 公司合成,见表 1。

表 1 CD44v6 和 β-actin 基因的引物和探针序列

目的基因	名称	序列(5'-3')	扩增长度
CD44v6	探针 C-P	FAM-TGCCATCTGTTGCCAAACCACTGTTCCCT-TAMRA	107 bp
	上游引物 C-F	CCAGGCAACTCCTAGTAGTACAAC	
	下游引物 C-R	GGGAGTCTTCTCTGGGTGTTTG	
β-actin	探针 β-P	HEX-TCCTTAATGTACGCACGATTTCCTCCGCT-BHQ1	136 bp
	上游引物 β-F	CGGGACCTGACTGACTACCTC	
	上游引物 β-R	CCATCTCTTGCTCGAAGTCCAG	

1.5 二重 qRT-PCR 的标准品的构建 参考 Trizol 试剂盒说明书提取胰腺癌患者 PBMC 的总 RNA。利用 M-MLV 反转录酶进行反转录,合成 cDNA。以 cDNA 为模板,采用表 1 中的 CD44v6 和 β-actin 基因的特异性引物进行 PCR 扩增。DNA 凝胶回收试剂盒回收 CD44v6 和 β-actin 基因的 PCR 产物,将 PCR 产物与 pMD18-T 载体连接,连接产物转化 Top10 感受态细胞,两基因各随机挑取 2 个重组克隆,培养后提取质粒,并利用特异性引物对质粒进行 PCR 鉴定,将 PCR 鉴定为阳性的质粒送 Invitrogen 公司进行核苷酸序列的测定,结果用 DNA-MAN 软件进行分析。

将 CD44v6 和 β-actin 基因的重组质粒分别命名为 pMD-CD44v6 和 pMD-actin,并利用 Eppendorf 公司的 FP-5100 紫外分光光度仪测定质粒的 DNA 浓度,计算重组质粒的拷贝数:拷贝数 (copy/μL) = $\frac{NA(\text{copy/mol}) \times \text{DNA 浓度}(\text{g}/\mu\text{L})}{\text{相对分子质量} \times 340(\text{g/mol})}$; NA 为阿伏伽德罗常数。将重组质粒均稀释至 10¹⁰ copy/μL, -20℃ 保存待用。

1.6 二重 qRT-PCR 反应的优化 在 25 μL 反应体系下,以等浓度 (10¹⁰ copy/μL) 混合的 pMD-CD44v6 和 pMD-actin 为模板,将二重 qRT-PCR 反应的退火温度控制在 48~60℃ (每 1℃ 递增) 之间进行调整,以最高荧光强度和最低 CT 值作为评判标准以确定该反应的最佳退火温度。在确定退火温度的基础上,将 CD44v6 和 β-actin 基因的引物浓度均在 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 pmol/μL 之间进行优化,以同样的评判标准确定该反应的最佳引物浓度。

1.7 二重 qRT-PCR 反应的标准曲线 利用 TE 溶液对浓度均为 10¹⁰ copy/μL 的 pMD-CD44v6 和 pMD-actin 重组质粒进行 10 倍系列稀释,并通过优化后的二重 qRT-PCR 反应对浓度均为 10³~10⁹ copy/μL 的 pMD-CD44v6 和 pMD-actin 重组质粒进行扩增,将扩增结果通过 ABI 7300 软件进行自动分析。

1.8 二重 qRT-PCR 反应的特异性、敏感性和重复性分析 利用 Sybgreen 荧光定量 PCR 方法对二重 qRT-PCR 反应的引物特异性进行熔解曲线的分析,CD44v6 和 β-actin 基因的各自反应体系均为 Sybgreen pre-mix 12.5 μL,上下游引物各 0.5 μL, PBMC cDNA 模板 1 μL,灭菌去离子水 10.5 μL;反应程序均为 95℃ 3 min,95℃ 15 s,60℃ 35 s,共 40 个循环,扩增结束后从 70℃ 至 92℃ 每隔 1 s 升 0.4℃,并收集每一次荧光信号以获取熔解曲线,每个基因均设置第 1 次重复,同时对 Sybgreen 荧光定量 PCR 产物进行 2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定。

利用优化后的二重 qRT-PCR 和常规 RT-PCR 反应对浓

度均为 10³~10⁹ copy/μL 的 pMD-CD44v6 和 pMD-actin 重组质粒同时进行扩增,对两者的灵敏度进行比较。

利用优化后的二重 qRT-PCR 反应对来源于同一批次的 10³~10⁹ copy/μL 的 pMD-CD44v6 和 pMD-actin 重组质粒进行扩增,每个稀释度重复 4 次,并利用 SPSS 17.0 软件对各稀释度的 CT 平均值、标准方差 (SD) 和 CT 变异系数 (CV) 进行分析。

1.9 二重 qRT-PCR 反应的临床检测 利用优化后的二重 qRT-PCR 反应对 13 例胰腺癌患者 PBMC 的 cDNA 进行扩增,并同时扩增浓度均为 10³~10⁹ copy/μL 的 pMD-CD44v6 和 pMD-actin 以绘制标准曲线,并通过标准曲线计算 PBMC 中 CD44v6 和 β-actin 基因的拷贝数。单细胞 CD44v6 基因拷贝数为:CD44v6 拷贝数/β-actin 拷贝数。利用 Excel 2003 软件对 13 例胰腺癌患者每百万个 PBMC 中的 CD44v6 拷贝数进行分析。

2 结 果

2.1 CD44v6 和 β-actin 基因重组质粒的测序 CD44v6 和 β-actin 基因各有 1 株重组质粒的 PCR 扩增结果为阳性,重组质粒与各自的亲本株 (Genbank 登陆号分别为 L05415、M10277) 核苷酸序列的同源性均为 100%。

2.2 二重 qRT-PCR 的最佳反应条件 经过对各基因引物浓度、退火温度等条件的优化,最终确定最佳反应体系为:10× PCR buffer 2.5 μL, dNTP (2.5 mmol/L) 2 μL, CD44v6 上下游引物 (10 pmol/μL) 各 0.5 μL, β-actin 上下游引物 (10 pmol/μL) 各 0.5 μL, CD44v6 和 β-actin 探针 (10 pmol/μL) 各 0.25 μL, Hotstart ExTaq DNA 聚合酶 0.4 μL, DNA 模板 1 μL, 灭菌水 15.35 μL;最佳反应程序为 95℃ 3 min, 94℃ 15 s, 61℃ 45 s, 共 40 个循环。

2.3 二重 qRT-PCR 反应的的标准曲线 CD44v6 及 β-actin 基因的标准曲线在 10³~10⁹ copy/μL 内均呈现良好的线性关系,扩增效率分别为 109.1% 和 109.5%,扩增斜率分别为 -3.121 和 -3.113, R² 均在 0.995 以上,见图 1。

2.4 二重 qRT-PCR 反应的特异性 CD44v6 及 β-actin 基因的 Sybgreen 荧光定量 PCR 的熔解曲线均呈现清晰、特异的单峰,且样品的重复性良好,CD44v6 和 β-actin 基因的 Sybgreen 荧光定量 PCR 产物均电泳出清晰、明亮的特异性条带,且与预期大小相符合,见图 2。

2.5 二重 qRT-PCR 反应的敏感性 当重组质粒 pMD-CD44v6、pMD-actin 的拷贝数均为 100 copy/μL 时,仍可在阈

值范围内检测到特异、清晰的荧光扩增曲线,常规 RT-PCR 仅能在 $10^3 \sim 10^9$ copy/ μ L 内检测到特异性条带。

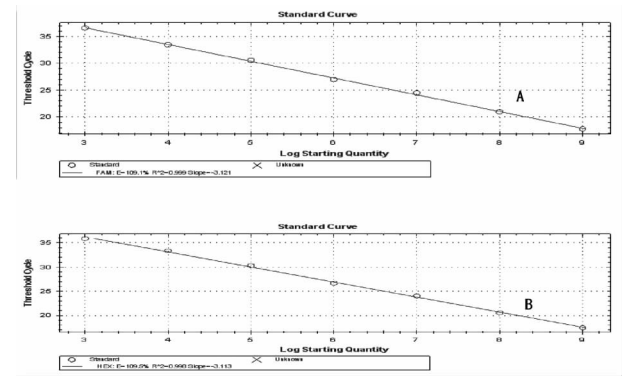
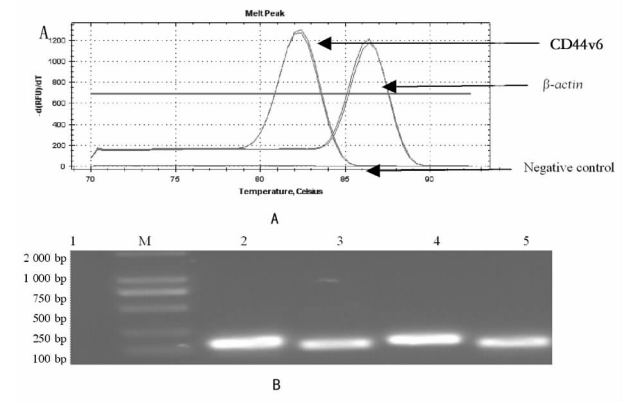


图 1 CD44v6 (A)和 β -actin 基因(B)的标准曲线



1: 阴性对照; M: DNA2000 ladders; 2: CD44v6; 3: β -actin; 4: CD44v6 重复; 5: β -actin 重复。

图 2 CD44v6 和 β -actin 基因 sybgreen 荧光定量 PCR 的熔解曲线(A)与 PCR 产物的电泳图(B)

2.6 二重 qRT-PCR 反应的重复性 重组质粒 pMD-CD44v6 和 pMD-actin 各稀释度的 CT 变异系数分别为 1.47~4.29 和 1.52~4.55,两者的最大 CV 值均在 5 % 以内,说明二重 qRT-PCR 反应的重复性较好,见表 2。

表 2 二重 qRT-PCR 反应的重复性

拷贝数 (copy/mL)	例数 (n)	pMD-CD44v6(CT)			pMD-actin(CT)		
		平均值	SD	CV(%)	平均值	SD	CV(%)
10^9	4	16.89	0.44	2.61	17.13	0.62	3.62
10^8	4	20.21	0.64	3.17	20.22	0.55	2.72
10^7	4	23.63	0.56	2.37	23.56	0.79	3.35
10^6	4	27.27	1.17	4.29	27.01	1.23	4.55
10^5	4	30.68	0.45	1.47	30.35	0.46	1.52
10^4	4	33.79	0.71	2.10	33.60	0.77	2.29
10^3	4	36.98	0.89	2.41	36.92	0.83	2.25

2.7 二重 qRT-PCR 反应的临床样本检测 对 18 例胰腺癌患者每百万个 PBMC 中 CD44v6 的拷贝数对数值进行了分析比较,其中 7 例患者的对数值在 3.4~3.9 之间,占总数的 38.9%,另 9 例在 3.9~4.9 之间,占总数的 50%,仅有 2 例在 5.0 以上,占总数的 11.1%。

3 讨 论

目前用于检测 CD44v6 基因表达的分子生物学方法较多,

如 Klatte 等^[14]应用免疫组化方法检测 CD44v6 基因在膀胱癌组织中的表达,结果表明 CD44v6 在膀胱癌中的表达显著高于正常组织;Miyoshi 等^[15]应用 RT-PCR 方法检测 CD44v6 基因在肺癌组织中的表达,结果表明 CD44v6 在非小细胞型肺癌中的表达显著高于正常肺组织;Satio 等^[16]通过 ELISA 方法检测了胃癌患者血清中 CD44v6 的可溶性浓度;原位分子杂交、Southern blot 及 Western blot 技术也相继在检测 CD44v6 的表达中得以运用^[17-19]。然而,免疫组化的检测仅限于组织样品,因而给临床标本的采样带来很大的困难,常规 RT-PCR 技术缺乏定量检测基因表达的功能,且对凝胶电泳技术的依赖使该方法费时、费力且缺乏安全性,而 ELISA 及分子杂交技术在敏感性和特异性方面的不足使某些微量表达的标本未能准确无误地检出,从而限制了这些方法在 CD44v6 检测中的应用。

实时荧光定量 PCR 技术是指在 PCR 反应体系中加入荧光基团,利用荧光信号累积实时检测 PCR 过程,并通过标准曲线对未知模板进行定量分析的方法^[20]。该方法可对细胞、组织或血液等多种样品进行检测,操作简单,快速高效,高通量,而且具有很高的敏感性、重复性和特异性,由于该法在封闭的体系中完成扩增并进行实时测定,大大降低了污染并且无须在扩增后进行操作,可对待检样品作定性和定量的分析。王颖智等^[21]采用 sybgreen 荧光定量 PCR 方法对 CD44 v6 在胃肠肿瘤中的表达进行了研究,该方法尽管弥补了常规检测方法在敏感性、安全性等方面的不足,但由于 sybgreen 染料可与反应体系中的所有 DNA 分子结合,易受到非特异性扩增和引物二聚体的影响,使定量结果不准确。更重要的是,由于荧光定量方法在进行定量研究时,初始模板的表达量往往通过管家基因衡量,然而 sybgreen 染料法却不能在同一密封管中对目的基因和管家基因同时进行扩增,其对基因表达的定量仅仅是相对的^[22]。鉴于此,本研究建立了 CD44v6 基因的二重 TaqMan 荧光定量 PCR 方法,该方法的 TaqMan 探针仅结合特异性的扩增片段,大大提高了反应的特异性,试验表明该方法的特异性、敏感性和重复性均较高。本研究方法引入了内参基因 β -actin,通过优化反应条件,实现了目的基因 CD44v6 和内参基因 β -actin 在同一反应管的同时扩增,通过构建的标准曲线可获得初始模板的 CD44v6 和 β -actin 基因的拷贝数,由于内参基因在细胞和组织中均稳定表达,因此本方法可对单个细胞中 CD44v6 的表达进行绝对定量分析,与相对定量比较,不仅省时、省力,而且排除了不同待检样品在加样等试验操作上的误差。更为重要的是,本方法可精确地比较不同试验个体或试验组之间 CD44v6 基因 mRNA 表达水平的差异。本研究首次通过荧光定量 RT-PCR 方法对胰腺癌患者的 CD44v6 mRNA 的表达水平进行了检测,结果显示 18 例患者的 CD44v6 的表达水平有较大的差异,因而可以表明本研究在胰腺癌的早期诊断、分析 CD44v6 基因与胰腺癌临床病理特征之间的相关性、评估胰腺癌的治疗效果等方面具有较高的应用价值。

参考文献

[1] 赵玉沛. 胰腺癌诊断和治疗的现状与未来[J]. 中华肝胆外科杂志, 2009, 15(5): 321-324.
[2] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2007, 57(1): 43-66.
[3] 刘海林, 王磊. 胰腺癌早期诊断与治疗的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(34): 3475-3479.
[4] Shiah SG, Tai KY, Wu CW. Epigenetic regulation of EpCAM in

tumor invasion and metastasis[J]. J Cancer Mol, 2008, 3(6): 165-168.

[5] 丁睿, 顾沈阳, 王业华, 等. 膀胱移行细胞癌 VEGF 的表达及其意义[J]. 实用临床医药杂志, 2009, 13(3): 41-43.

[6] 陈书玲, 张凡, 常永霞, 等. 细胞黏附分子表达与子宫颈上皮内瘤变的关系[J]. 中国妇幼保健, 2010, 25(4): 137-142.

[7] Liu YJ, Yan PS, Li J, et al. Expression and significance of CD44s, CD44v6, and nm23 mRNA in human cancer[J]. World J Gastroenterology, 2005, 11(42): 6601-6606.

[8] 仲宁, 郑世营, 陈锁成, 等. CD44v6 在肺癌组织中的表达及意义[J]. 江苏医药, 2005, 31(3): 164-166.

[9] Diaz LK, Zhou X, Wright ET, et al. CD44 expression is associated with increased survival in node-negative invasive breast carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(9): 3309-3314.

[10] Lin Y, Buckhault PJ, Lee JR, et al. Association of the actin-binding protein transgelin with lymph node metastasis in human colorectal cancer[J]. Neoplasia, 2009, 11(9): 864-873.

[11] Qi Y, Chiu JF, Wang L, et al. Comparative proteomic analysis of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Proteomics, 2005, 5(11): 2960-2971.

[12] 周烨, 朱慰祺, 师英强. CD44s 和 CD44v6 的 mRNA 在胃癌中的表达及其临床意义[J]. 肿瘤, 2006, 22(11): 509-511.

[13] 邵小华, 邵玉峰, 李旭, 等. CD44v6 在原发性肝癌中的表达及其意义[J]. 安徽医学, 2005, 9(3): 187-188.

[14] Klatte T, Seligson DB, Rao JY, et al. Absent CD44v6 expression is an independent predictor of poor urothelial bladder cancer outcome[J]. J Urol, 2010, 183(6): 2403-2408.

[15] Miyoshi T, Konda K, Hino H, et al. The expression of the CD44 variant exon6 is associated with lymph node metastasis in non-small cell lung cancer[J]. Clin Cancer Res, 1997, 3(18): 1289-1297.

[16] Saito H, Tsujitani S, Katano K, et al. Serum concentration of CD44 variant 6 and its relation to prognosis in patients with gastric carcinoma[J]. Cancer, 1998, 83(6): 1094-1098.

[17] 徐峰, 刘华, 许春进, 等. CD44v6 和 MMP-9 及 P53 的表达与胃癌患者淋巴转移的关系——附 60 例检测报告[J]. 新医学, 2005, 35(3): 153-155.

[18] Yamamichi K, Uehara Y, Kitamura N, et al. Increased expression of CD44v6 mRNA significantly correlation with distant metastasis and poor prognosis in gastric cancer[J]. Cancer, 1998, 79(6): 256-262.

[19] Li H, Guo L, Li J, et al. Expression of hyaluronan receptors CD44 and RHAMM in stomach cancers; relevance with tumor progression[J]. Oncol, 2000, 17(8): 927-932.

[20] 刘小荣, 张笠, 王勇平. 实时荧光定量 PCR 技术的理论研究及其医学应用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(2): 234-237.

[21] 王颖智, 杨翠霞, 何怡青. 实时荧光定量 PCR 检测 CD44 和 RHAMN 在胃肠肿瘤中的表达研究[J]. 检验医学, 2008, 23(44): 509-511.

[22] 陈旭, 齐凤坤, 康立功, 等. 实时荧光定量 PCR 技术研究进展及其应用[J]. 东北农业大学学报, 2010, 41(8): 148-155.

(收稿日期: 2011-03-22)

(上接第 2050 页)

体肿瘤耐药逆转的运用提供了实验依据, 值得进一步的研究。

综上所述, 未经治疗的宫颈癌组织中存在多药耐药基因 (LRP、GST- π) 的高表达和共表达, 可能是导致宫颈癌固有耐药和 MDR 的原因之一。宫颈癌的多药耐药是多基因、多因素共同参与, 并通过多途径来完成的。化疗前联合检测宫颈组织中多药耐药基因的表达情况可以预测肿瘤细胞对化疗的敏感性, 对化疗前药物的选择和临床应用有着积极的指导意义。一方面, 可以预测化疗的疗效和预后的判断; 另一方面, 可依据其耐药机制来指导化疗, 制定有效的个体化疗方案, 并且可根据耐药机制的不同, 运用逆转剂逆转 MDR, 从而强化化疗的疗效, 对延长宫颈癌患者的生存期有一定实用价值。

参考文献

[1] Huh HJ, Park CJ, Jang S, et al. Prognostic significance of multidrug resistance gene 1 (MDR1), multidrug resistance-related protein (MRP) and lung resistance protein (LRP) mRNA expression in acute leukemia[J]. Korean Med Sci, 2006, 21(2): 253-258.

[2] Shao J, Stapleton PL, Lin YS, et al. Cytochrome p450 and glutathione s-transferase mRNA expression in human fetal liver hematopoietic stem cells[J]. Drug Metab Dispos, 2007, 35(1): 168-175.

[3] Perez TR. Multidrug resistance: retrospect and prospects in anticancer drug treatment[J]. Curr Med Chem, 2006, 13(16): 1859-1876.

[4] Scheper RJ, Broxterman HJ, Scheffer GL, et al. Overexpression of a Mr 110,000 vesicular protein in non-P-glycoprotein-mediated multidrug resistance[J]. Cancer Res, 1993, 53(22): 1475-1479.

[5] Mossink MH, van Zon A, Scheper RJ, et al. Vaults: A ribonucleoprotein particle involved in drug resistance? [J]. Oncogene, 2003, 22(47): 7458-7467.

[6] 张燕, 金先庆, 赵珍珍, 等. 5 种耐药基因在成人恶性肿瘤中的表达特点[J]. 重庆医科大学报, 2007, 32(10): 1023-1027.

[7] David J. Tumor and host factors that may limit efficacy of chemotherapy in non-small cell and small cell lung cancer[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2010, 75(3): 173-234.

[8] 阮永华, 魏万里, 梁正南, 等. 宫颈癌化疗前后多药耐药基因产物表达的比较研究[J]. 肿瘤防治杂志, 2002, 9(4): 398-401.

[9] 张凡, 常永霞, 张九鸿, 等. 65 例早期宫颈癌耐药基因产物与临床预后关系的初步探讨[J]. 现代妇产科进展, 2006, 15(4): 261-264.

[10] Konishi I, Nanbu K, Mandai M, et al. Tumor response to neoadjuvant chemotherapy correlates with the expression of P-glycoprotein and PCNA but not GST-pi in the tumor cells of cervical carcinoma[J]. Gynecol Oncol, 1998, 70(3): 365.

[11] 楼江燕, 芝兰, 郑莹, 等. RNA 干扰技术逆转卵巢癌上皮性癌细胞多药耐药的研究[J]. 中华妇产科杂志, 2006, 41(6): 413-416.

[12] 高国兰, 涂开家, 刘福军. 卵巢癌多药耐药基因的表达及其逆转[J]. 临床肿瘤学杂志, 2010, 15(10): 870-873.

(收稿日期: 2011-07-21)