

• 论 著 •

FHIT、WVVOX 和 MDR1 基因在鼻咽癌中的表达*

黄春妮¹, 杨 峥¹, 黄 健¹, 李 屏², 莫武宁^{1△}

(1. 广西医科大学第一附属医院检验科, 南宁 530021; 2. 广西中医药大学第一附属医院检验科, 南宁 530023)

摘要:目的 探讨 FHIT、WVVOX 基因组在鼻咽癌患者中的表达、失活机制及 MDR1 基因在鼻咽癌中的表达。方法 采用荧光相对定量 RT-PCR 法检测 89 例鼻咽癌患者(试验组)和 61 例慢性鼻黏膜炎患者(对照组)鼻咽部组织 WVVOX、FHIT 和 MDR1 基因 mRNA 表达水平, 甲基化特异性(MSP)方法及变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分析 FHIT 和 WVVOX 基因 mRNA 表达下调原因。结果 (1) 实验组鼻咽组织中 FHIT、WVVOX 和 MDR1 基因的 mRNA 表达量与对照组间的差异有统计学意义($P < 0.05$); 按临床分期和分化程度分层后, 试验组中病情较严重者较病情轻者, 分化程度低的较分化程度高者间的 FHIT 和 WVVOX 基因表达量差异有统计学意义($P < 0.05$), 且 FHIT 和 WVVOX 基因表达量与临床分期、分化程度呈负相关($r = -0.731, P = 0.000; r = -0.816, P = 0.000; r = -0.626, P = 0.000; r = -0.536, P = 0.001$); 试验组低分化者 MDR1 基因 mRNA 与高分化者间差异有统计学意义($P = 0.021$), 且组织学类型与 MDR1 基因 mRNA 相对表达量呈负相关($r = -0.697, P = 0.000$); 试验组的 FHIT 与 WVVOX 基因的 mRNA 相对表达量呈正相关($r = 0.540, P = 0.000$)。 (2) 试验组的 FHIT 和 WVVOX 基因启动子甲基化程度明显高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 且 FHIT 和 WVVOX 的 mRNA 与该基因启动子甲基化程度呈正相关($r = -0.689, P = 0.000; r = -0.594, P = 0.000$)。 (3) 试验组中有 39 例(43.8%)在 FHIT 基因中至少有 1 个位点存在杂合性缺失(LOH), 在 WVVOX 基因中 42 例(47.2%)至少一个位点存在 LOH, 明显高于对照组的 3 例和 2 例(4.9%, 3.3%), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。且 FHIT 和 WVVOX 基因 mRNA 与该基因杂合性缺失呈负相关($r = -0.239, P = 0.049; r = -0.364, P = 0.013$)。结论 启动子甲基化是鼻咽癌患者 WVVOX 和 FHIT 基因表达下调的主要原因, 可能也是鼻咽癌的发生、发展的主要原因。MDR1 基因过度表达与鼻咽癌的分化程度密切相关。

关键词: FHIT; WVVOX; MDR1; 鼻咽癌

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.08.009

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)08-1034-04

Explore the expression of FHIT, WVVOX and MDR1 gene in nasopharyngeal carcinoma*

HUANG Chunni¹, YANG Zheng¹, HUANG Jian¹, LI Ping², MO Woning^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Guangxi Chinese Medical University, Nanning, Guangxi 530023, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of FHIT, WVVOX and MDR1 gene in nasopharyngeal carcinoma and FHIT and WVVOX mechanism of inactivation. **Methods** Real-time PCR was used to test FHIT, WVVOX and MDR1 gene's mRNA expression in 89 nasopharyngeal carcinoma patients (experimental group) and 61 inflammatory patients (control group). Q-MSP was used to test the FHIT and WVVOX promoter methylation status. Denatured polyacrylamide gel electrophoresis was used to test the LOH of FHIT and WVVOX gene. **Results** (1) The three genes' mRNA expression were different between experimental group and control group ($P < 0.05$). After grouped according to the histological type and clinical stages, the expression of FHIT and WVVOX mRNA between the patients with serious illness or poorly differentiated squamous cell carcinoma and mild cases or highly differentiated squamous cell carcinoma were significantly different in the experimental group, the difference is statistically significant ($P < 0.05$). Meanwhile, the FHIT and WVVOX mRNA expression had statistical association with the clinical stage and histological type ($r = -0.731, P = 0.000; r = -0.816, P = 0.000; r = -0.626, P = 0.000; r = -0.536, P = 0.001$). The MDR1 mRNA expression was different between poorly and highly differentiated squamous cell carcinoma ($P = 0.021$), which was statistical associated with the histological type ($r = -0.697, P < 0.001$). (2) The degrees of FHIT and WVVOX promoter methylation in the experimental group was higher than those in the control group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$); Also, the expression of FHIT and WVVOX mRNA were closely related to the degree of promoter methylation ($r = -0.689, P = 0.000; r = -0.594, P = 0.000$). (3) In the experimental group, there were 39 cases (43.8%) of LOH in the FHIT gene, and 42 cases (47.2%) of the WVVOX genes were significantly higher than those in the control group (4.9% and 3.3%), the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The FHIT and WVVOX gene mRNA were negatively correlated with the loss of heterozygosity ($r = -0.239, P = 0.049; r = -0.364, P = 0.013$). **Conclusion** Promoter methylation is the main reason for the down-regulation of FHIT gene and WVVOX gene expression in nasopharyngeal carcinoma patients, which may be the main reason for the occurrence and development of nasopharyngeal carcinoma. The higher expression of MDR 1 mRNA is statistical association with the histological type.

* 基金项目: 广西壮族自治区卫生和计划生育委员会自筹经费科研课题(Z2013024)。

作者简介: 黄春妮, 女, 主管技师, 主要从事血液学检验及肿瘤相关方向的研究。△ 通信作者, E-mail: mown163@163.com。

Key words: FHIT; WWOX; MDR1; nasopharyngeal carcinoma

鼻咽癌(NPC)是一种多种遗传学及表观遗传学改变积累所致的上皮源性的恶性肿瘤,发生、发展涉及多种癌基因的激活或抑癌基因的失活。FHIT 和 WWOX 基因是近年来发现的抑癌基因,国内外研究发现,FHIT 和 WWOX 基因表达的下调或缺失与乳腺癌、宫颈癌、肺癌、卵巢癌、胃癌等上皮恶性肿瘤有着密切的关系^[1-4]。MDR1 基因是目前最重要细胞耐药基因,紫外线、热效应、抗肿瘤药物、致癌剂等都可以将其激活,导致疾病疗效差,预后不良。有研究分析 FHIT、WWOX 和 MDR1 基因在 NPC 患者中的表达情况及表达下调机制,对了解 NPC 的发生和发展有着重要作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 试验组为 NPC 患者(89 例),其中男 47 例,女 42 例,年龄 22~72 岁,中位年龄 47 岁;对照组为慢性鼻黏膜炎患者(61 例),其中男 33;女 28 例,年龄 21~64 岁,中位年龄 35 岁。两组间年龄和性别差异无统计学意义($P>0.05$)。试验组是经过病理证实的,未经 MDR1 相关药物治疗的初诊患者,且不患有其他肿瘤。根据美国肿瘤联合会(AJCC)和国际抗癌联盟(UICC)的国际 TNM 分期法,试验组 I 期患者为 8 例,II 期为 23 例,III 期为 33 例,IV 期 25 例。试验组病理类型:低分化鳞癌 61 例,高分化鳞癌 28 例。所有的个体均来自广西医科大学第一附属医院肿瘤科就诊的无血缘关系的患者,且均签署知情同意书,并得到了本校伦理委员会同意。

1.2 标本采集和细胞株 经组织活检取研究对象鼻咽部组织,用生理盐水清洗,无血渍后放入 1.5 mL EP 管中,之后放置至 -80°C 冰箱冻存。抽取 3 mL 研究对象静脉血,用乙二胺四乙酸二钾(EDTA- K_2)抗凝后,短期(<7 d)储存于 2°C 冰箱,用于后继提取血液 DNA。广西医科大学耳鼻喉实验室提供的正常鼻咽上皮细胞株 NP69, NPC 细胞株 CNE1、CNE2。

1.3 仪器与试剂 组织、血液核酸提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司)、RNA 逆转录试剂盒(美国 Fermentas 公司)、DNA 修饰试剂盒(Qiagen 公司)、SYBR Green Real Master Mix 试剂盒(北京索莱宝)、引物(上海生工生物公司)、丙烯酰胺(华美公司)、逆转录扩增仪(美国 Perkin-Elmer 公司 PE480)、PCR 扩增仪(Thermo 公司)、电泳仪(北京六一仪器厂)、垂直双面电泳槽(美国 HOEFER 公司)、全自动凝胶图像分析仪(美国 BIO-RAD 公司)。

1.4 方法

1.4.1 FHIT、WWOX 和 MDR1 基因 mRNA 的检测 (1) RNA 的提取、cDNA 的合成:提取研究对象鼻黏膜组织、正常鼻咽上皮细胞株、NPC 细胞株中 RNA,一切操作严格按照 RNA 提取试剂盒说明书。并进行逆转录。 -20°C 冰箱保存 RNA 及 cDNA。(2)引物设计及 RT-PCR 反应:引物序列见表 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。PCR 扩增反应体系: $2\times$ Super Real Pre Mix Plus 10 μL , $50\times$ ROX Reference Dye 2.0 μL , cDNA 2.0 μL , 上、下游引物各 0.6 μL , ddH₂O 4.8 μL 。PCR 扩增条件:FTIH 和 MDR1 基因, 95°C 预变性 10 min; 95°C 15 s, 60°C 20 s, 72°C 15 s,45 个循环; 72°C 延伸 10 min。WWOX 基因, 95°C 预变性 5 min; 95°C 5 s, 57°C 30 s, 72°C 60 s,35 个循环; 72°C 延伸 10 min。每份标本设目标基因和内参基因各 2 孔,求目标基因及内参照基因的循环阈值 Ct 的平均值后按照公式 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 计算基因 mRNA 表达水平。以 ddH₂O 作空白对照,以 β -actin 作为内参照,实验重

复 2 次。

1.4.2 FHIT、WWOX 基因启动子区甲基化状态的检测 (1)鼻黏膜组织 DNA 的提取和亚硫酸氢盐处理:严格按照核酸提取试剂盒说明书提取研究对象鼻黏膜组织小块和细胞株 DNA,并进行亚硫酸氢盐处理,处理后的 DNA 用于基因甲基化 PCR。(2)基因甲基化 PCR:PCR 反应体系, $2\times$ Super Real Pre Mix Plus 10 μL , 上下游引物各 0.6 μL , 亚硫酸氢盐处理后的 DNA 模板 2.0 μL , $50\times$ ROX Reference Dye 2.0 μL , 补水至 20.0 μL 。FHIT PCR 反应, 95°C 预变性 10 min; 95°C 15 s, 60°C 20 s, 72°C 15 s,40 个循环; 72°C 延伸 5 min。WWOX 第 1 次 PCR 反应:引物为 AB,反应条件为 95°C 预变性 5 min (95°C 45 s, 48°C 45 s, 72°C 45 s,共 35 个循环), 72°C 延伸 5 min。PCR 引物见表 2(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。每份标本设目标基因和内参基因各 2 孔,求目标基因及内参照基因的循环阈值 Ct 的平均值后按照公式 $2^{-\Delta\text{Ct}}$ 计算基因 mRNA 表达水平。以 ddH₂O 作空白对照,实验重复 2 次。

1.4.3 基因杂合性缺失 (1)血液 DNA 的提取:严格按照 DNA 提取试剂盒说明书提取研究对象血液中 DNA。(2)PCR 扩增根据文献[5-6]选取位于 WWOX 基因位于内显子 8 内的 3 个 D16S504、16S3096、D16S3029 和 FHIT 基因内显子 5 (D3S1300)和内显子 8(D3S1234)的微卫星多态标记进行扩增,用于杂合性缺失分析。所有的引物序列见表 3(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。PCR 反应体系: $2\times$ Taq PGR Master mix 12.0 μL , 上、下游引物各 0.8 μL , 血液或 DNA 2.0 μL 和 ddH₂O 9.4 μL 。FHIT 基因 PCR 反应条件: 95°C 预变性 5 min(95°C 20 s, 58°C 20 s, 72°C 20 s,共 35 个循环), 72°C 延伸 5 min。WWOX 基因 PCR 反应条件: 95°C 预变性 5 min(95°C 45 s, $55\sim 58^{\circ}\text{C}$ 45 s, 72°C 45 s,共 35 个循环), 72°C 延伸 5 min。(3)5.3.3 聚丙烯酰胺电泳 取 PCR 扩增产物 5 μL ,加入 5 μL 的变性载样缓冲液 95°C 变性 10 min 后,迅速上样于 8%聚丙烯酰胺凝胶,电泳(电压 8 V/cm,电泳 2~3 h)并银染。对比同时上样的正常鼻咽上皮细胞株、NPC 细胞株 DNA 的 PCR 产物电泳图谱,若某 1 条肿瘤组织等位基因条带较正常 NPC 上皮细胞株消失或相对密度减少 50% 以上,则记录为杂合性缺失(LOH)^[7],判定为 LOH 的病例均需经再次检测确定。

1.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件包分析所有数据均,基因 mRNA 表达量比较采用 t 检验,计数资料两组之间比较采用 χ^2 检验,相关性检验采用 Spearman 相关分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 FHIT、WWOX 和 MDR1 基因的 mRNA 表达量 试验组鼻咽组织中 FHIT 和 WWOX 基因的 mRNA 相对表达量显著低于对照组,而 MDR1 基因的 mRNA 相对表达量却明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。按细胞分化程度、临床分期分层后,试验组病情较重者 FHIT、WWOX 基因 mRNA 表达量显著低于病情较轻者,低分化组较高分化组明显升高,且试验组临床分层和组织学类型与 FHIT 基因($r=-0.731$, $P=0.000$; $r=-0.626$, $P=0.000$)和 WWOX 基因 mRNA 相对表达量呈负相关($r=-0.816$, $P=0.000$; $r=-0.536$, $P=0.001$)。低分化者 MDR1 基因相关表达较高分

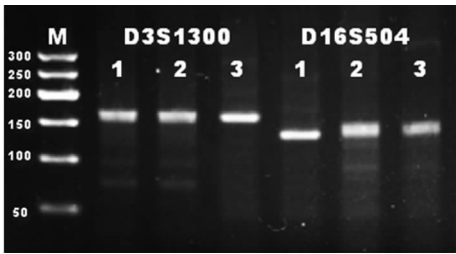
化组差异有统计学意义($P<0.05$),而病情较重者的 MDR1 基因较病情轻者略高,但差异无统计学意义($P>0.05$)。且组织学类型与 MDR1 基因 mRNA 相对表达量呈负相关($r=-0.697, P=0.000$);试验组的 FHIT 基因与 WWOX 基因的 mRNA 相对表达量呈有一定的相关性($r=0.540, P=0.000$),但两个基因与 MDR1 基因的 mRNA 相对表达量之间的相关性无统计学意义($r=-0.242, P=0.028; r=-0.293, P=0.003$)。两组基因表达量见表 4。

表 4 FHIT 和 WWOX 基因的 mRNA 相对表达量($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	FHIT mRNA	WWOX mRNA	MDR1 mRNA
对照组	61	6.36±6.31	7.09±7.28	14.96±5.34
试验组	89	2.38±3.43*	3.56±3.71*	17.46±5.92*
试验组Ⅰ~Ⅱ期	31	4.23±4.29	5.17±4.97	17.39±5.61
试验组Ⅲ~Ⅳ期	58	1.67±2.23 [△]	1.94±2.04 [△]	17.65±6.04
低分化鳞癌组	61	1.83±1.81	2.33±2.19	19.28±6.57
高分化鳞癌组	28	4.57±4.37 [▲]	5.05±4.78 [▲]	15.95±5.83 [▲]

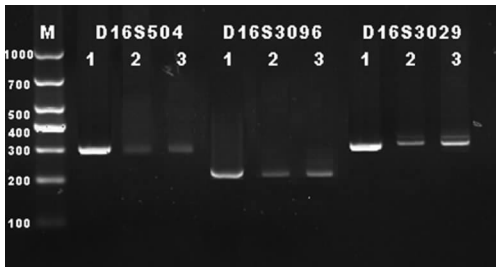
注:与对照组比较,* $P<0.05$;与试验组Ⅰ~Ⅱ期比较, $\Delta P<0.05$;与低分化鳞癌组比较, $\blacktriangle P<0.05$ 。

2.2 FHIT 和 WWOX 基因启动子甲基化情况 试验组的 FHIT 基因启动子甲基化为 0.46 ± 0.34 ,WWOX 基因启动子甲基化为 0.37 ± 0.28 ,较对照组($0.15\pm0.17, 0.11\pm0.09$)显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$);进一步分析 FHIT 和 WWOX 基因启动子甲基化程度与 FHIT 和 WWOX 基因 mRNA 的相关性,发现 FHIT 和 WWOX 基因 mRNA 表示量与该基因启动子甲基化程度呈负相关, ($r=-0.689, P=0.000; r=-0.594, P=0.000$)。



注:1 为正常鼻咽上皮细胞系 NP69;2 为 NPC 细胞系 CNE1、CNE2;3 为研究对象。

图 1 FHIT 基因杂合性缺失电泳图



注:1 为正常鼻咽上皮细胞系 NP69;2 为 NPC 细胞系 CNE1、CNE2;3 为研究对象。

图 2 WWOX 基因杂合性缺失电泳图

2.3 FHIT 和 WWOX 基因杂合性缺失情况 试验组中有 39 例(43.8%)在 FHIT 基因中至少有 1 个位点存在杂合性缺失(LOH),在 WWOX 基因中 42 例(47.2%)至少 1 个位点存在 LOH,明显高于对照组的 3 例和 2 例(4.9%, 3.3%),差异有统计学意义($P<0.05$)。对试验组 FHIT 和 WWOX 基因 mRNA

NA 与该基因杂合性缺失进行相关性分析,结果显示呈负相关($r=-0.239, P=0.049; r=-0.364, P=0.013$)。电泳结果见图 1、2。

表 5 两组 FHIT 基因和 WWOX 基因 LOH[n(%)]

基因	位点	试验组	对照组
FHIT	D3S1300	32(36.0)	3(4.9)
	D3S1234	19(21.3)	0(0.0)
WWOX	D16S504	28(31.5)	2(3.3)
	D16S3096	15(16.9)	0(0.0)
	D16S3029	8(9.0)	0(0.0)

3 讨 论

本研究检测 NPC 和慢性黏膜性鼻炎患者鼻黏膜组织中 FHIT、WWOX 和 MDR1 基因的 mRNA 表达水平,发现 FHIT 和 WWOX 基因 mRNA 在 NPC 组中表达中明显降低,与罗海清等^[8]在 NPC 患者中 FHIT 基因表达结果相符。与 Yendamuri 等^[9]、Park 等^[10]报道的 WWOX 基因 mRNA 在其他肿瘤表达下调甚至缺失结论相一致。且 WWOX 和 FHIT 基因 mRNA 表达量与临床分期、组织学类型有关,FHIT、WWOX 表达的 mRNA 在 NPC Ⅰ~Ⅱ期和Ⅲ~Ⅳ期两组间差异有统计学意义($P<0.05$),晚期 NPC FHIT、WWOX 基因 mRNA 的表达显著低于 NPC 早期患者,提示 FHIT、WWOX 基因 mRNA 表达的下调甚至缺失可能参与 NPC 的发展调控。这与在乳腺癌和宫颈癌中研究^[2-3]的结果相一致。低分化鳞癌 NPC 鼻组织中的 FHIT、WWOX 基因表达的 mRNA 较高分化鳞癌患者明显降低,提示 FHIT、WWOX mRNA 的表达量可以预示疾病的预后。MDR1 基因是细胞耐药基因,其过度表达生的 P-gp 蛋白是单向药物外输蛋白,可增加胞内药物外流,降低胞内药物浓度而导致耐药^[11]。抗肿瘤药物、致癌剂、紫外线和热效应均可激活该基因而导致过度表达^[12]。试验组的 MDR1 基因的 mRNA 表达量明显高于对照组,但在试验组临床分期分层研究中,MDR1 基因表达与疾病严重程度无关,提示 NPC 无论早期或晚期均有可能发生不同程度耐药。因此,检测与评价肿瘤耐药,寻找特异、有效的抗肿瘤药物,不仅对晚期患者化疗有利,对早期患者术前、术后化疗也有一定的意义。低分化鳞癌 NPC 患者较高分化患者 MDR 1 基因表达显著升高,这与临床低分化肿瘤的疗效较差、预后不良的情况相符。

本研究采用甲基化特异性(MSP)方法和 LOH 进一步研究 FHIT 和 WWOX 基因在 NPC 中表达下调的机制。发现 2 株 NPC 细胞株 FHIT 和 WWOX 基因启动子区均呈甲基化状态,同时 NPC 患者在鼻咽组织中 FHIT 和 WWOX 基因启动子区甲基化比慢性鼻黏膜鼻炎患者程度明显升高。这与 Yan 等^[13]用 MSP 法及测序法检测胃癌组织中 WWOX 基因启动子区域的甲基化程度显著升高一致。进一步分析基因启动子甲基化与该基因 mRNA 表达的相关性。显示 FHIT 和 WWOX 基因 mRNA 表达量与该基因启动子甲基化程度呈负相关。提示 FHIT 和 WWOX 基因启动子高度甲基化是导致这两个基因 mRNA 低表达的重要因素。本研究检测 FHIT 基因中 D3S1300、D16S504 位点和 WWOX 基因 D16S3029、D16S3096、D16S504 位点,发现 FHIT 基因 D3S1300 位点在 NPC 中的发生率为 36.0%,稍低于邓燕飞等^[14]研究的结果。在全部的 89 例 NPC 标本中,总检出率为 WWOX 基因 LOH 发生率为 47.2%(42/89),其中 D16S504 位点检出率最高,其次为 D16S3096 和 D16S3029。可见在 NPC 中 WWOX 和 FHIT 基

因 LOH 的发生是频繁事件。进一步分析 FHIT 和 WWOX 基因 mRNA 低表达与其基因 LOH 相关性,发现 FHIT 和 WWOX 基因 mRNA 与 LOH 呈负相关。提示启动子甲基化、LOH 均造成 FHIT 和 WWOX 基因 mRNA 表达下调,但 FHIT 和 WWOX 基因 mRNA 表达下调、缺失机制主要与其启动子区甲基化有关,LOH 参与了部分 FHIT 和 WWOX 基因的失活过程。

总而言之,FHIT 和 WWOX 基因的表达下调及下调程度与 NPC 的发生、发展相关,而启动子甲基化和基因 LOH 是引起 FHIT 和 WWOX 表达下调的因素,但启动子甲基化可能是导致 FHIT 和 WWOX 基因表达下调的主要原因。MDR1 基因的过度表达与 NPC 的分化程度密切相关,也影响着 NPC 的治疗和预后。

参考文献

- [1] Wang HL,Zhou PY,Liu P,et al. Abnormal FHIT protein expression May be correlated with poor prognosis in gastric cancer:a meta-analysis[J]. Tumour Biol,2014,35(7):6815-6821.
- [2] Jeong YJ,Jeong HY,Lee SM,et al. Promoter methylation status of the FHIT gene and Fhit expression:association with HER2/neustatus in breast cancer patients[J]. Oncol Rep,2013,30(5):2270-2278.
- [3] Du CX,Li SQ,Wang AH,et al. Significance of combined detection of p53 and FHIT in cervical carcinoma diagnosis [J]. Eur J Gynaecol Oncol,2014,35(3):298-300.
- [4] Göthlin Eremo A,Wegman P. Wwox expression May predict benefit from adjuvant tamoxifen in randomized breast cancer patients[J]. Oncol Rep,2013,29(4):1467-1474.
- [5] Aqeilan RI,Kuroki T,Pekarsky Y,et al. Loss of WWOX expression in gastric carcinoma [J]. Clin Cancer Res,2004,10(9):3053-3058.
- [6] Zucchini C,Concu A,Martini F,et al. FHIT oncosuppressor gene expression profile in human anal cancers[J]. Int J Biol Markers,2007,22(1):39-42.

- [7] Kaghad M,Bonnet H,Yang A,et al. Monoallelically expressed gene related to p53 at 1p36,a region frequently deleted in neuroblastoma and other human cancers [J]. Cell,1997,90(4):809-819.
- [8] 罗海清,黄静,杨东红,等. FHIT 基因和蛋白在鼻咽癌组织及正常鼻咽组织中的表达 [J]. 海南医学,2014,25(24):3640-3642.
- [9] Yendamuri S,Kuroki T,Trapasso F,et al. WW domain containing oxidoreductase gene expression is altered in non-small cell lung cancer[J]. Cancer Res,2003,63(4):878-881.
- [10] Park SW,Ludes-Meyers J,Zimonjic DB,et al. Frequent downregulation and loss of WWOX gene expression in human hepatocellular carcinoma[J]. Br J Cancer,2004,91(4):753-759.
- [11] 马俊,李博,王丽萍,等. 消化道肿瘤 MDR1 基因和 P-糖蛋白的表达与化疗药物耐药的关系[J]. 广东医学,2013,34(20):3120-3123.
- [12] 李屏,莫武宁,陈旭,等. FHIT 基因与 MDR1 基因 mRNA 在鼻咽癌组织中的表达的临床意义及关系[J]. 中国临床新医学,2013,6(3):215-218.
- [13] Yan J,Zhang M,Zhang J,et al. Helicobacter pylori infection promotes methylation of WWOX gene in human gastric cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun,2011,408(1):99-102.
- [14] 邓燕飞,田芳,杨新明,等. 鼻咽癌染色体 3p14 的精细等位基因缺失研究[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志,2000,35(5):70-72.

(收稿日期:2016-11-12 修回日期:2017-01-17)



(上接第 1033 页)

- 鼠肾脏缺血再灌注损伤不同时段中的表达及意义[J]. 临床和实验医学杂志,2014,13(3):165-168.
- [5] 严洁,臧芝栋. sTREM-1 和 NGAL 对脓毒血症并发急性肾损伤早期诊断的预测价值[J]. 中华肾脏病杂志,2013,29(6):423-428.
- [6] 张颖,唐敏,施婧,等. 原发性肾病综合征患者中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白的变化及意义[J]. 中华肾脏病杂志,2013,29(7):493-497.
- [7] 张群妹,郭庆合,鲁广建,等. 尿 NGAL 和血 Cys C 在百草枯中毒患者急性早期肾损伤中的变化及意义[J]. 检验医学,2012,27(11):940-943.
- [8] 徐兴凯,李岩,余猛进,等. 尿中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白在危重病患者急性肾损伤早期诊断中的意义[J]. 中华急诊医学杂志,2013,22(5):505-510.
- [9] 刘新龙,岳锦熙,苏美仙. 血 NGAL、Cys C 检测对外科重症急性肾损伤患者的早期诊断价值[J]. 重庆医学,2015,44(18):2506-2508.

- [10] 张石珠,杨敬伟,陈宪典,等. 急性肾损伤患者血清胱抑素 C 及尿 NGAL 水平的变化及其临床意义[J]. 现代生物医学进展,2012,12(15):2943-2945.
- [11] 陈佩. 急性肾功能衰竭患者血清 NGAL 测定的临床意义[J]. 中外医疗,2011,30(14):55.
- [12] 刘梦婕,蒋洪敏. 血清中性粒细胞明胶酶相关性脂质运载蛋白在健康成年人中的参考值范围调查[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(6):689-690.
- [13] 王卫平. 儿科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2013.
- [14] 吴家玉,熊冠泽,丁福全,等. 血清胱抑素 C 和尿 NGAL 联合检测在急性肾损伤病情评估及预后中的价值[J]. 中山大学学报(医学科学版),2013,35(1):153-155.
- [15] 刘美描,邱文冰,吴召熙,等. 血浆中性粒细胞明胶蛋白酶相关载脂蛋白在危重患者中的应用性研究[J]. 中国急救医学,2013,33(8):715-718.

(收稿日期:2016-10-12 修回日期:2017-01-13)