

5 种乳腺癌相关基因临床应用价值的探讨*

余修中¹, 欧 华¹, 刘怀莉¹, 邓 君^{2△}

(1. 新津县人民医院检验科, 成都 611430; 2. 四川省医学科学院/四川省人民医院检验科, 成都 610072)

摘 要:目的 探讨荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)法检测外周血 mRNA 中 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因(BCL-2)、细胞周期蛋白 D1(CCND1)、黏蛋白 1(MUC1)、原癌基因人类表皮生长因子受体 2(HER-2)和人乳腺珠蛋白(hMAM) 5 种乳腺癌相关基因在乳腺癌诊断中的应用。**方法** FQ-PCR 法测定 50 例健康女性体检者(健康对照组)、92 例良性乳腺疾病患者(良性乳腺疾病组)和 196 例乳腺癌患者(乳腺癌组)外周血 mRNA 中 CCND1、BCL-2、MUC1、HER-2 和 hMAM mRNA 的表达量。**结果** CCND1、BCL-2、MUC1、HER-2 和 hMAM mRNA 表达水平在乳腺癌组显著高于健康对照组和良性乳腺疾病组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 其在健康对照组和良性乳腺疾病组间差异无统计学意义($P > 0.05$); 5 种基因 mRNA 在健康对照组和良性乳腺疾病组及乳腺癌组的 I 期的阳性表达率差异无统计学意义($P > 0.05$), 而乳腺癌组的 II 期和 III + IV 期则显著高于健康对照组、良性乳腺疾病组和乳腺癌组的 I 期组的阳性表达率, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** 采用 FQ-PCR 技术检测乳腺癌 mRNA 时, 应考虑到质量控制、mRNA 水平和异质性、肿瘤不同阶段等各个方面的因素, 才能有效正确地将乳腺癌相关基因用于乳腺癌的诊断、治疗和预后。

关键词: 荧光定量聚合酶链反应; BCL-2; CCND1; MUC1; HER-2; hMAM; 乳腺癌

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.20.013 **中图法分类号:** R737.9

文章编号: 1673-4130(2018)20-2514-05 **文献标识码:** A

Clinical application value of five breast cancer related genes*

YU Xiuzhong¹, OU Hua¹, LIU Huaili¹, DENG Jun^{2△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Xinjin People's Hospital, Chengdu, Sichuan 611430, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Sichuan Academy of Medical Sciences/Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610072, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the clinical application of CCND1, BCL-2, MUC1, HER-2 and hMAM gene in mRNA to the diagnosis of breast cancer by FQ-PCR. **Methods** The mRNA expression level of five genes(CCND1, BCL-2, MUC1, HER-2 and hMAM) of 50 healthy women(healthy controls), 92 patients with benign breast disease(benign breast disease group) and 196 patients with breast cancer (breast cancer group) were detected by FQ-PCR. **Results** The mRNA expression level of CCND1, BCL-2, MUC1, HER-2 and hMAM in breast cancer group were significantly higher than those in healthy controls and benign breast disease group($P < 0.05$). There were no significant difference in the positive rates of the five genes between healthy controls and benign breast disease group($P > 0.05$). There were no significant difference in the positive rates of five genes among healthy controls, benign breast disease group and I phase in breast cancer group($P > 0.05$). The positive rates of seven genes in II and III + IV phases in breast cancer groups were significantly higher than in healthy controls, benign breast disease group and I phase in breast cancer group($P < 0.01$). **Conclusion** When FQ-PCR was used to detect mRNA in breast cancer, quality control, mRNA level, heterogeneity and the different stages of tumor should be taken into account, so as to the breast cancer-related genes were effectively and correctly applied to breast cancer diagnosis, treatment and prognosis.

Key words: polymerase chain reaction; BCL-2; CCND1; MUC1; HER-2; hMAM; breast cancer

乳腺癌在女性恶性肿瘤发病率中排名第一, 越来越多的乳腺癌相关基因成为研究热点, 人们期望通过

* 基金项目: 四川省卫生和计划生育委员会资助项目(120112); 四川省杰出青年基金资助项目(2007-5-345)。

作者简介: 余修中, 男, 主任技师, 主要从事分子生物学研究。 △ 通信作者, E-mail: 167501681@qq.com。

本文引用格式: 余修中, 欧华, 刘怀莉, 等. 5 种乳腺癌相关基因临床应用价值的探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(20): 2514-2517.

对相关基因的检测,及时准确地为乳腺癌诊断、治疗和预后提供可靠的实验室依据。荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)法检测乳腺癌外周血 mRNA 是近年来报道较多的研究方法,但是,纵观国内外 FQ-PCR 对乳腺癌外周血 mRNA 的报道,其阳性率差别较大^[1-2],因此,本文采用 FQ-PCR 法检测了目前研究得较多的,也是乳腺癌密切相关较为重要的 5 种基因——B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因(BCL-2)、细胞周期蛋白 D1(CCND1)、黏蛋白 1(MUC1)、原癌基因人类表皮生长因子受体 2(HER-2)和人乳腺珠蛋白(hMAM)^[3-6]在健康体检者、良性乳腺疾病患者和乳腺癌患者的外周血 mRNA 表达,目的在于探讨 FQ-PCR 检测乳腺癌相关基因在外周血 mRNA 对乳腺癌诊断的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院健康女性体检者 50 例作为健康对照组,年龄 21~86 岁,平均 46.7 岁。另选取本院门诊和住院乳腺疾病患者 288 例,年龄 21~87 岁,平均 45.3 岁,经病理学确诊,均为初诊者。其中良性乳腺疾病患者(良性乳腺疾病组)92 例,年龄 23~79 岁,平均 43.6 岁;脂肪瘤 51 例,纤维瘤 41 例,排除患其他肿瘤的可能性。乳腺癌患者(乳腺癌组)196 例,平均年龄 47.8 岁(23~87 岁),具体的临床病理学特征见表 1。乳腺癌的诊断标准参照《恶性肿瘤 TNM 分类法》和美国癌症联合委员会(AJCC)标准。所有患者均于手术前 1 周内取晨血 5 mL。

1.2 试剂与仪器 逆转录反应体系、β-actin 内参、FQ-PCR 体系、7500 Sequence Detector 分析仪购自美国 ABI 公司;cDNA 标准品由上海生工公司合成。

1.3 方法

1.3.1 FQ-PCR 引物和探针 采用 PE 公司 Primer Express 软件设计引物和探针,由上海生工公司合成。BCL-2 正义引物 5'-ACC CCC ACT GAA AAA GAT GA-3',BCL-2 反义引物 5'-ATC TTC AAA CCT CCA TGA TG-3';CCND1 正义引物 5' CCT CCT CGC ACT TCT GTT CCT CGC AGA CCT-3',CCND1 反义引物 5'-CCA GCA TCC AGG TGG CGA CGA TCT TCC G-3';MUC1 正义引物 5'-CGT CGT GGA CAT TGA TGG TAC C-3',MUC1 反义引物 5'-GGT ACC TCC TCT CAC CTC CTC CAA-3';HER-2 正义引物 5'-GGC TCT CAC ACT GAT AGA CAC C-3',HER-2 反义引物 5'-TCC CCA GCA GCG GGA GCC CTT AC-3';hMAM 正义引物 5'-GAG TTC ATA GAC GAC AAT GCC-3',hMAM 反义引物 5'-CCG TAG TTG GTT TCT CAC CAT-3',β-actin 正义引物 5'-CTC TTC CAG CCT TCC TTC CT-3',β-actin 反义引物 5'-AGC ACT GTG TTG GCG TAC AG-3'。

1.3.2 FQ-PCR (1)采用异硫氰酸胍-酚-氯仿一步

法提取细胞总 RNA;取静脉血 5 mL(1 mg/mL EDTA 抗凝),生理盐水稀释 2~3 倍,分离淋巴细胞。(2)cDNA 合成:逆转录反应体系 20 μL,其中随机引物 200 ng,RNasin 20 U,M-MLV 反转录酶 20 U,5×逆转录反应缓冲液 4 μL,细胞总 RNA 1 μg。42 ℃反应 50 min。(3)PCR :MgCl₂ 5 mmol/L,反应体系逆转录产物 5 μL,寡聚核苷酸引物各为 400 nmol/L,dCTP、dATP 和 dGTP 各 200 μmol/L,dUTP 400 μmol/L,10×缓冲液 5 μL,尿嘧啶 N-糖基化酶(UNG)0.5 U,探针 150 nmol/L,Taq DNA 聚合酶 1.25 U。在 7500 Sequence Detector 分析仪上测定标本中 CCND1、BCL-2、MUC1、HER-2、hMAM 和 β-actin 含量。扩增参数为:50 ℃ 2.5 min,95 ℃ 12 min;94 ℃ 30 s,66 ℃ 1 min,42 个循环。

表 1 乳腺癌组患者的临床病理学特征		
病理因素	例数(n)	构成比(%)
年龄(岁)		
23~<38	32	16.3
38~<57	78	39.8
57~<70	49	25.0
70~<87	37	18.9
肿瘤大小(cm)		
<3	91	46.4
3~5	61	31.1
>5	44	22.4
肿瘤类型		
导管癌	118	60.2
小叶癌	45	23.0
小叶/导管癌	25	12.7
其他类型	8	4.1
肿瘤分期		
I 期	70	35.7
II 期	75	38.3
III+IV 期	51	26.0
肿瘤分级		
1	42	21.4
2	103	52.6
3	51	26.0
淋巴结转移		
无	99	50.5
有	97	49.5
ER		
阳性	91	46.4
阴性	105	53.6
PR		
阳性	109	55.6
阴性	87	44.4
HER2		
阳性	59	30.1
阴性	137	69.9

1.3.3 阳性率的计算^[7-8] 应用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算目的基因的相对表达量(C_t 为循环阈值)。 ΔC_t 值=目的基因 C_t 值- β -actin 基因 C_t 值,以 β -actin 为内参; $\Delta\Delta C_t$ =乳腺癌组的 ΔC_t 值-健康对照组的 ΔC_t 值健康对照组的基因相对表达量为 1.002 ± 0.079 , $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值为乳腺癌组基因相对健康对照组基因表达的倍数,测定值以 $2^{-\Delta\Delta C_t}>2$ 为表达阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件进行统计分析,各组符合正态分布的计量资料比较采用方差分析,两组间比较用采用 LSD- t 检验。取检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组 5 种基因 mRNA 相对表达水平比较 健康对照组和良性乳腺疾病组间 5 种基因 mRNA 表达水平差异无统计学意义($P>0.05$),而乳腺癌组上述指标均高于其他两组,差异有统计学意义($P<0.01$)。

见表 2。

表 2 各组 5 种基因 mRNA 相对表达水平比较($\bar{x}\pm s$)			
基因	健康对照组	良性乳腺疾病组	乳腺癌组
CCND1	1.61±0.12*	1.57±0.11*	4.55±1.14
BCL-2	1.17±0.09*	1.22±0.10*	6.74±1.43
MUC1	1.25±0.11*	1.19±0.09*	5.18±1.21
HER-2	1.47±0.12*	1.44±0.11*	7.71±1.76
hMAM	1.89±0.17*	1.91±0.14*	6.05±1.33

注:与乳腺癌组比较,* $P<0.05$

2.2 各组 5 种基因 mRNA 阳性表达情况比较 5 种基因 mRNA 在健康对照组和良性乳腺疾病组及乳腺癌组的 I 期的阳性表达率差异无统计学意义($P>0.05$),而乳腺癌组的 II 期和 III+IV 期则显著高于健康对照组和良性乳腺疾病组的阳性表达率,差异有统计学意义($P<0.01$)。见表 3。

表 3 各组 5 种基因 mRNA 阳性表达情况比较[$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	BCL-2	CCND1	MUC1	HER-2	hMAM
健康对照组	50	2(4.00)	3(6.00)	4(8.00)	2(4.00)	3(6.00)
良性乳腺疾病组	92	5(5.43)	6(6.52)	9(9.78)	6(6.52)	7(7.61)
乳腺癌组(分期)						
I 期	70	5(7.14)	5(7.14)	4(5.71)	6(8.57)	6(8.57)
II 期	75	17(22.67)*#	15(20.0)*#	17(22.67)*#	22(29.3)*#	17(22.67)*#
III+IV 期	51	18(35.29)*#	20(39.22)*#	19(37.25)*#	23(45.10)*#	21(41.18)*#
χ^2		36.583	37.659	30.632	52.140	37.992
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与健康对照组比较,* $P<0.01$;与良性乳腺疾病组比较,# $P<0.01$

2.3 5 种基因 mRNA 对乳腺癌诊断性能评价 5 种基因对乳腺癌的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分析结果见表 4,综合评价各项指标,HER-2 的灵敏度较高,BCL-2 的特异性较强。

表 4 5 种基因 mRNA 对乳腺癌的诊断性能评价

基因	病理学结果(<i>n</i>)		灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
	阳性	阴性				
CCND1			20.41	93.67	81.63	46.02
阳性	40	9				
阴性	156	133				
BCL-2			20.41	95.07	85.11	46.39
阳性	40	7				
阴性	156	135				
MUC1			20.41	90.85	75.47	45.26
阳性	40	13				
阴性	156	129				
HER-2			26.02	94.37	86.44	48.03
阳性	51	8				
阴性	145	134				

续表 4 5 种基因 mRNA 对乳腺癌的诊断性能评价

基因	病理学结果(<i>n</i>)		灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
	阳性	阴性				
hMAM			22.45	92.96	81.48	46.48
阳性	44	10				
阴性	152	132				

3 讨 论

随着对乳腺癌分子水平的深入研究,人们采用各种方法检测不同来源乳腺癌相关基因的表达。比如,应用免疫细胞学法从蛋白质水平进行检测,应用分子生物学方法从组织或外周血进行基因水平(DNA 和 RNA)检测等。其中 FQ-PCR 是在常规 PCR 基础上加入荧光标记探针进行核酸定量分析的先进方法,能同时进行扩增和检测^[9],其具有灵敏度高、特异性较强、操作简单、不需采用强诱变剂等优点,因而被广泛应用于外周血中乳腺癌基因 mRNA 的检测。BCL-2、CCND1、MUC1、HER-2、hMAM 是乳腺癌常用的肿瘤标志物,也是近年来报道得较多的乳腺癌相关基

因。笔者查阅资料发现,采用 FQ-PCR 检测乳腺癌 mRNA 相关基因的报道存在阳性率差别较大的问题^[8,10-11]。本研究检测 196 例乳腺癌患者和 92 例良性乳腺疾病患者外周血 hMAM 表达率分别为 22.0% 和 6.0%,而陈月凤等^[10]检测 47 例乳腺癌和 45 例乳腺良性肿瘤外周血 hMAM 表达率分别为 65.96% 和 42.22%,颜蕴文等^[11]检测 40 例乳腺癌患者 hMAM 阳性率 55%,OBERMAYR 等^[12]检测 38 例乳腺癌复发患者外周血中 hMAM 基因表达阳性率为 38.7%。本研究检测 196 例乳腺癌外周血 MUC1 阳性率为 21.0%,STRATI 等^[9]检测 51 例转移性乳腺癌的外周血 MUC1 阳性率为 45.1%,CHENG 等^[13]检测 34 例转移性乳腺癌外周血 MUC1 mRNA 化疗前后的阳性率分别为 88.2% 和 70.6%。本研究检测 70 例早期乳腺癌外周血 HER-2 阳性率为 8.6%,中晚期阳性率为 19.4%,PAGE 等^[8]在检测 68 例早期和 30 例转移乳腺癌外周血 HER-2 表达阳性率分别为 11.8% 和 16.7%,BECHMANN 等^[14]检测 50 例早期乳腺癌患者外周血 HER-2 的表达阳性率为 18.0%,均存在较大的差异。分析原因可能有以下几点^[15]:(1)mRNA 的水平:在早期乳腺癌外周血中 mRNA 水平较低,而中晚期乳腺癌 mRNA 水平才大量升高;(2)mRNA 本身的异质性:不同的乳腺癌相关基因定位了 mRNA 不同基因位点,使得阳性率产生差异;(3)内源性或外源性因素:比如样品保存、分离、提取和 cDNA 的制备等;(4)缺乏质量控制:目前国内外尚无统一的 FQ-PCR 检测 mRNA 的质量控制系统,这也是造成阳性率差异大的主要原因;(5)方法本身的局限性,如假阴性或假阳性。

本研究结果发现,BCL-2、CCND1、MUC1、HER-2、hMAM 5 种基因表达水平在健康对照组和良性乳腺疾病组间差异无统计学意义($P>0.05$),而乳腺癌组均高于其他两组,差异有统计学意义($P<0.01$)。对五种基因和乳腺癌临床病理因素关系的分析发现,五种基因 mRNA 在健康对照组和良性乳腺疾病组及乳腺癌组 I 期的阳性表达率差异无统计学意义($P>0.05$),在乳腺癌组中,肿瘤大小、ER、PR 和 HER-2 比较,差异无统计学意义($P>0.05$),II 期、III+IV 期组和淋巴结转移组显著高于 I 期组和无淋巴结转移组,差异有统计学意义($P<0.05$),说明级别越高,有淋巴结转移的乳腺癌的基因表达越强烈。综合评价 5 种基因对乳腺癌的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分析结果,HER-2 的灵敏度较高,BCL-2 的特异性较强。

4 结 论

由于本研究所选用的基因和研究样本量的局限,还不能对这 5 种乳腺癌相关基因在 mRNA 的表达能否用于乳腺癌的早期诊断和治疗的问题做出肯定或

否定的回答,但 II 期显著高于健康对照组和良性乳腺疾病组,说明乳腺癌相关基因检测对中早期乳腺癌诊断还是有一定意义的。本研究通过对 5 种基因在健康对照组、良性乳腺疾病组和乳腺癌不同病理学阶段阳性率的比较分析,提示当乳腺癌处于中晚期,若能采用严格的实验室质量控制,FQ-PCR 检测 mRNA 可为临床提供具有一定的实验室依据,但对早期乳腺癌的诊断价值,还值得商榷,这与国外的相关报道也是一致的^[1,16]。在使用 FQ-PCR 检测乳腺癌 mRNA 时,还应考虑到质量控制、mRNA 水平和异质性、肿瘤的不同阶段等各个方面的因素,才能有效正确地将乳腺癌相关基因用于乳腺癌的诊断、治疗和预后。

参考文献

- [1] LIANIDOU E S, MARKOU A, STRATI A. Molecular characterization of circulating tumor cells in breast cancer: challenges and promises for individualized cancer treatment[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2012, 31(3/4): 663-671.
- [2] 陈月凤, 杨华伟, 莫钦国, 等. CK19 和 hMAM 及 sbem 检测乳腺癌微转移价值分析[J]. *中华肿瘤防治*, 2014, 21(3): 198-202.
- [3] 邓君, 黄文方, 饶绍琴, 等. bcl-2 基因表达和其它肿瘤标志物在乳腺癌诊断中的应用[J]. *现代肿瘤医学*, 2012, 20(4): 716-718.
- [4] 孙昌瑞, 邓君, 江咏梅. 联合检测乳腺癌易感基因 1 与 ccnd1 mRNA 在乳腺癌诊断中的应用研究[J]. *实用医院临床杂志*, 2014, 11(6): 67-69.
- [5] 孙昌瑞, 邓君, 冯林, 等. SYBR Green 实时荧光定量 PCR 法检测人乳腺球蛋白在乳腺癌诊断中的应用[J]. *成都医学院学报*, 2015, 10(5): 544-548.
- [6] 邓君, 洪华, 传良敏, 等. C-ERBB2 和 MYC mRNA 基因表达水平在乳腺癌诊断的临床应用[J]. *成都医学院学报*, 2014, 9(6): 683-685.
- [7] 孙昌瑞, 邓君, 冯林, 等. 三种分子学方法检测乳腺癌循环肿瘤细胞的对比研究[J]. *中华检验医学杂志*, 2015, 38(10): 666-671.
- [8] PAGE K, HAVA N, WARD B, et al. Detection of HER2 amplification in circulating free DNA in patients with breast cancer[J]. *Br J Cancer*, 2011, 104(8): 1342-1348.
- [9] STRATI A, MARKOU A, PARISI C, et al. Gene expression profile of circulating tumor cells in breast cancer by RT-qPCR[J]. *BMC Cancer*, 2011, 11(1): 422.
- [10] 陈月凤, 杨华伟, 莫钦国, 等. CK19 和 hMAM 及 SBEM 检测乳腺癌微转移价值分析[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2014, 21(3): 198-202.
- [11] 颜蕴文, 张敬杰, 徐晓军, 等. 联合检测乳腺癌患者外周血中细胞角蛋白 19 及人乳腺球蛋白 mRNA 的意义[J]. *中华乳腺病杂志*, 2010, 4(2): 193-196.
- [12] OBERMAYR E, SANCHEZ-CABO F, TEA M, et al. Assessment of a six gene panel for the molecular detection of circulating tumor cells in the blood of (下转第 2520 页)

给予重视。在实验室检查方面,有报道指出,皮肤弹性差、眼窝凹陷、口舌干燥、精神状态差等具有较强的特异性,但其敏感性较差,且出现上述症状时,大多处于脱水严重阶段,因而在早期估计脱水时可能出现漏诊。目前临床上常用的血液浓缩程度的评价指标有血 Na⁺ 水平、尿比重及 Urea/Cr。本研究将血 Na⁺、尿比重及 Urea/Cr 作为血容量不足的量化指标,探讨脱水对创伤骨科患者静脉血栓栓塞形成的影响,结果显示, Urea/Cr 在 VTE(+) 组升高,而两组间血 Na⁺、尿比重比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究结果表明,脱水与创伤骨科患者静脉血栓形成有关,这与 KELLY 等^[18]的研究结果相似。Urea/Cr 可作为与脱水相关的量化指标,用于早期识别创伤骨科患者静脉血栓栓塞形成风险。

4 结 论

本研究为初步研究,仍需要大样本量来证实,但是根据本研究结果,临床医生应注重 Urea/Cr 的检测,用其作为评估创伤骨科患者静脉血栓栓塞的形成风险的危险因素之一。因此,考虑在创伤骨科患者入院初期及时补液,在术中或术后适当补液,以减少发生静脉血栓的机会。

参考文献

[1] 赵纪春,吴洲鹏. 静脉血栓栓塞症治疗进展[J]. 中国实用外科杂志,2015(12):1348-1351.

[2] 尚旭丽,吴芳,赵明红,等. 深静脉血栓风险评估表在预防神经外科患者深静脉血栓中的应用[J]. 中医药管理杂志,2015(14):42-44.

[3] 张瑞,王婧,谭婉玲. 骨科大手术后下肢深静脉血栓护理的研究[J]. 中国医药导刊,2015,17(12):1287-1289.

[4] 邓月香,曾玉娥,卢小燕,等. 优质护理干预对预防骨科术后下肢深静脉血栓形成的影响[J]. 齐鲁护理杂志,2012,18(14):14-15.

[5] 鲁会田. D-二聚体水平检测对下肢骨折术后深静脉血栓早期诊断的作用[J]. 中国实用医刊,2015,42(24):104-105.

[6] 王纯玲,张淑环,崔妹娟,等. 血栓风险评估与处置表在骨科预防静脉血栓中的应用[J]. 河北医药,2016,38(12):

1894-1897.

[7] 中华医学会骨科学分会创伤骨科学组. 创伤骨科患者深静脉血栓形成筛查与治疗的专家共识[J]. 中华创伤骨科杂志,2013,15(12):1013-1017.

[8] WU P K, CHEN C F, CHUNG L H, et al. Population-based epidemiology of postoperative venous thromboembolism in Taiwanese patients receiving hip or knee arthroplasty without pharmacological thromboprophylaxis[J]. Thromb Res, 2014, 133(5):719-724.

[9] WATANABE T, MINAKAMI H, SAKATA Y, et al. Effect of labor on maternal dehydration, starvation, coagulation, and fibrinolysis[J]. J Perinat Med, 2001, 29(6):528-534.

[10] 中华医学会外科学分会血管外科学组. 深静脉血栓形成的诊断和治疗指南[J]. 中国医学前沿杂志, 2013, 5(3):53-57.

[11] 文华林. 静脉血栓栓塞在骨科中的防治探析[J]. 中国医药指南, 2014, 12(21):50-51.

[12] 龙厚积,王大伟,李春亮,等. 骨科患者术后深静脉血栓的预防[J]. 医学信息, 2010, 5(12):3599-3600.

[13] 李艳. 踝关节周围骨折后深静脉血栓形成危险度评分及 D-二聚体的临床诊断价值分析[J]. 中国伤残医学, 2017, 25(3):16-17.

[14] 章燕幸,吴承龙,鲁建新,等. 急性脑梗死患者下肢深静脉血栓形成的危险因素分析[J]. 中华全科医学, 2015, 13(3):358-360.

[15] GONZÁLEZ-ALONSO J, CALBET J A, NIELSEN B. Muscle blood flow is reduced with dehydration during prolonged exercise in humans[J]. J Physiol, 1998, 513(Pt 3):895-905.

[16] SWANN K W, BLACK P M. Deep vein thrombosis and pulmonary emboli in neurosurgical patients; a review[J]. J Neurosurg, 1984, 61(6):1055-1062.

[17] GOLDBERGER S Z. Pulmonary embolism[J]. Lancet, 2004, 363(9417):1295-305.

[18] KELLY J, HUNT B J, LEWIS R R, et al. Dehydration and venous thromboembolism after acute stroke [J]. QJM, 2004, 97(5):293-296.

(收稿日期:2018-02-20 修回日期:2018-04-28)

(上接第 2517 页)

female cancer patients[J]. BMC Cancer, 2010, 10(10):666-671.

[13] CHENG J P, YAN Y, WANG X Y, et al. MUC1-positive circulating tumor cells and MUC1 protein predict chemotherapeutic efficacy in the treatment of metastatic breast cancer [J]. Chin J Cancer, 2011, 30(1):54-61.

[14] BECHMANN T, ANDERSEN R F, PALLISGAARD N, et al. Plasma HER2 amplification in cell-free cancer DNA during neo adjuvant chemotherapy In breast cancer[J]. J Cancer

Res Clin Oncol, 2013, 139(6):995-1003.

[15] 闫继慈,郑新宇. 乳腺癌患者 mRNA 检测及其临床意义[J]. 中华乳腺病杂志, 2013, 7(6):436-441.

[16] ANDREOPOULOU E, YANG L Y, RANGEL K M, et al. Comparison of assay methods for detection of circulating tumor cells in metastatic breast cancer; AdnaGen AdnaTest BreastCancer Select/Detect™ versus Veridex CellSearch™ system[J]. Int J Cancer, 2012, 130(7):1590-1597.

(收稿日期:2018-03-06 修回日期:2018-05-28)