

• 基础研究 •

采用人基因表达谱芯片筛选肺癌转移相关基因的初步研究

常艳 陈良安 田庆 王平 梁志欣 范保星

【摘要】 目的 应用基因芯片技术分析人高、低转移肺巨细胞癌细胞株的基因差异表达谱,筛选与肺癌转移相关基因。方法 提取人高转移肺巨细胞株 95D 和人低转移肺巨细胞株 95C 的 mRNA,通过逆转录,制备分别用 cy5-dUTP 和 cy3-dUTP 进行标记的 cDNA 探针,并与芯片杂交。经过 Scan Array 3000 扫描仪扫描,获取图象及对杂交信号进行数据分析,筛选出 95D 和 95C 细胞表达差异的基因谱,并对其中部分基因进行 RT-PCR 分析、验证。结果 在所检测 95C 和 95D 细胞中,466 条基因有表达差异,其中具有同一 Genebank 量的有 108 对,上调基因 47 对,下调基因 61 对。对其中 KIAA1108、PGR1、JWA、SI82、Jab1 部分差异表达基因,经 RT-PCR 技术验证,结果与基因芯片基本符合。结论 肺癌转移过程与多种基因作用有关,基因芯片技术可为肺癌转移相关基因的筛选,提供有效方法。

【关键词】 肺肿瘤; 基因筛选; 肿瘤转移; 逆转录-聚合酶链反应

Screening of metastasis-associated genes in human lung cancer using cDNA microarray chip

CHANG Yan, CHEN Liang'an, TIAN Qing, et al

Department of Pulmonary Medicine, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

【Abstract】 Objective To screen lung cancer metastasis-associated genes by analysis of differentially expressed genes between human lung giant cell carcinoma cell strains of high metastatic 95D and low metastatic 95C using cDNA microarray. Methods The mRNAs were extracted from human lung giant cell carcinoma cell strains of 95D and 95C, and reversely transcribed to the cDNAs, which were then labeled by Cy5-dUTP and Cy3-dUTP to prepare the hybridization probes. The mixed probes were hybridized with the cDNA microarray. The figure was obtained by scanning the cDNA microarray chip with Scan Array 3000 scanner and the information was managed with ImaGene3.0 software. Thus the genes chip of different expression between high metastatic 95D and low metastatic 95C was screened. A part of genes whose expression was changed in cDNA microarray analysis were further identified by RT-PCR. Results The cDNA microarray analysis showed that the expression of 466 genes was changed. Among them, 108 pairs of double gene had the same Genbank ID, including 47 pairs of up-regulation genes and 61 pairs of down-regulation genes. Fifty-eight genes were not elsewhere classified. Some of the genes, including KIAA1108, PGR1, JWA, SI82, Jab1 etc, were further confirmed by RT-PCR. The results of RT-PCR coincided well with the cDNA microarray results. Conclusion Many different genes are involved in the metastasis of lung cancer. cDNA microarray technique might be effective in screening lung cancer metastasis-associated genes.

【Key words】 lung neoplasms; genetic screening; neoplasm metastasis; reverse transcription-polymerase chain reaction

收稿日期:2006-10-09

基金项目:国家自然科学基金资助课题(30370616)

作者单位:100853 北京市,解放军总医院呼吸科

作者简介:常艳,女,1974年1月生,满族,北京市人,在读硕士研究生,住院医师。Tel:010-66936184, E-mail: 0129cy@163.com

通讯作者:陈良安, Tel:010-66939361, E-mail: chenla301@263.net

肺癌仍然被认为是工业化国家癌症相关死亡的主要原因,尽管癌症的诊断和治疗不断发展,但目前 5 年生存率 14% 仅稍高于 60 年代的 8%^[1],预防和早期诊断无疑很重要。因此,肿瘤发生和转移的靶点成为目前研究的焦点。肿瘤的浸润和转移是决定肿瘤病人预后的一个关键因素。肿瘤的转移是一

系列肿瘤-宿主相互作用一系列复杂过程的结果^[2]。利用基因芯片从分子水平探索肺癌转移相关基因,对防治肺癌的转移具有积极的指导意义。

1 材料和方法

1.1 细胞株 所用的细胞株为人肺巨细胞瘤细胞株 95D 及 95C^[3,4] (由解放军总医院病理科陈乐真教授惠赠),系源于人肺巨细胞瘤母系细胞(PLA-801)中分出并建成的亚系。两者为共源细胞株,具有相同的遗传背景。其中 95D 细胞株具有自发性高转移生物学特性,而 95C 细胞株具有不转移(或低转移)生物学特性。

1.2 主要试剂 RPMI Medium 1640 培养基、TRIZOL Reagent、RT-PCR 第一链合成试剂盒(SuperScript First-Strand Synthesis System for RT-PCR)均购自美国 Invitrogen 公司。优级小牛血清购自美国 Hyclone 公司。DEPC、胰蛋白酶购自美国 Sigma 公司。琼脂糖购自美国 Promega 公司,LA Taq 酶,dNTP Mixture, 100 bp DNA Ladder Marker 均购于宝生物工程有限公司(TaKaRa),引物由北京奥科生物公司合成。溴化乙锭购自北京鼎国生物公司,异丙醇、氯仿及乙醇购自北京试剂公司。

1.3 芯片 人类基因芯片(H80d)购自上海博星基因芯片公司(Biostar Genechip Inc, Shanghai),该芯片为 cDNA 芯片,芯片包含了被检测的 16 396 条有效基因。

1.4 细胞培养 用 RPMI Medium 1640 培养基及 10% 优级小牛血清在 37℃、5% CO₂ 条件下,进行培养及传代。

1.5 总 RNA 提取、测定 应用 Trizol 一步法提取细胞总 RNA,以紫外分光光度计测定总 RNA 浓度及 A_{260nm}/A_{280nm};完整性用含溴化乙锭的 1.2% 琼脂糖电泳鉴定。

1.6 探针制备 应用 mRNA 柱纯化试剂盒纯化各样品的 mRNA 并反转录成 cDNA,以 Cy3-dUTP 标记 95C 细胞 cDNA, Cy5-dUTP 标记 95D 细胞 cDNA,乙醇固定后,将两种标记的探针混合、溶解于 20 μl 5×SSC+0.2% SDS 杂交液中。

1.7 芯片杂交 将探针加在预杂交好的基因芯片上,盖玻片封片,置于杂交舱中,42℃ 杂交 15~20h,然后洗涤室温凉干。

1.8 检测与分析 用 Scan Array 3000 扫描仪扫描芯片,获取基因表达的信号强度值,用预先选定的内

参照基因对获取的原始信号进行均衡和修正。用 ImaGene3.0 软件分析和两种荧光信号的强度和比值。按以下 3 个条件作为差异表达的标准:(1) Cy5/ Cy3 的自然对数的绝对值>0.69 (Cy3 和 Cy5 信号相差 2 倍以上, Ratio 值>2.0 或<0.5); (2) Cy3 或 Cy5、Cy3 和 Cy5 信号值其中之一必须>800; (3) PCR 结果良好。

1.9 半定量 RT-PCR (1)取 3 μg 总 RNA,严格按照试剂盒说明书进行逆转录合成 cDNA。(2)根据基因库中的基因序列,分别针对基因芯片结果中有差异表达的基因: KIAA1108、PGR1、JWA、S182、Jab1 合成 PCR 引物(表 1)。(3)根据引物扩增,反应条件为: 94℃ 预变性 5min, 94℃ 变性 60s, 退火温度详见表 1, 时间 45s, 72℃ 延伸 1min, 共 25 个循环后 72℃ 再延伸 10min。(4)扩增产物于含有 0.5mg/L 溴化乙锭的 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,用凝胶成像系统在紫外线下摄取电泳图谱并应用核酸定量分析软件 Quantity One (Bio-RAD)进行分析。(5)以看家基因 β-actin 的表达为内对照,用扩增基因/β-actin 的灰度比值对该基因的表达进行半定量。

2 结果

2.1 总 RNA 特征 波长 260nm 和 280nm 吸光度的比值为 1.693,电泳结果证实 28s、18s 条带无明显降解。

2.2 基因芯片杂交结果 此次所得均一化系数为 0.941,将均一化系数和 cy3 值相乘,获得调整后的 cy3 * 值。cy5/cy3 * 比值<0.5 为表达下调,>2.0 为表达上调。Cy3 与 Cy5 扫描结果经计算机数据叠加后得到图 1 所示图像。由于 cy3 荧光信号和 cy5 荧光信号分别以绿色和红色表示,因此,对于某一点的两种叠加荧光信号,如果 cy3 信号较强,该点多显绿色(呈下调趋势)代表该基因在 95C 细胞株中高表达,而在 95D 细胞株中低表达;如果 cy5 信号较强,该点多显红色(呈上调趋势)代表该基因在 95C 细胞株中低表达,而在 95D 细胞株中高表达;如果强度相似,即显示黄色。该图反映了芯片上每条基因在两株细胞中表达丰度的差异。

2.3 基因芯片杂交信号散点 如图 2 所示, X 轴以 cy3 荧光强度值为坐标, Y 轴以 cy5 荧光强度值为坐标,每一个数据点代表芯片上一个基因点的杂交信号。数据点若为红色,则代表 Y 与 X 的比值在 0.5~2.0 之间,基本属非差异表达。数据点为黄色,则代表 Y 值与 X 值的比值在 0.5~2.0 范围之外,说明

表 1 引物序列以及 PCR 产物的大小

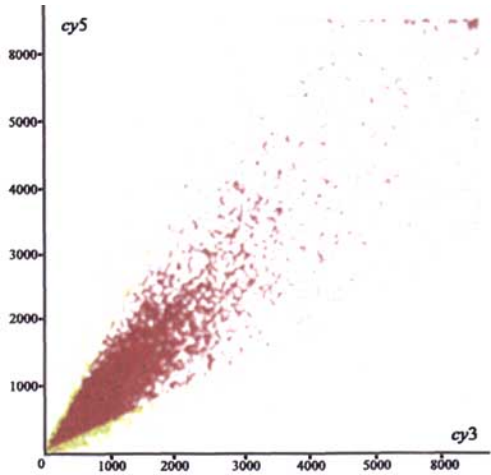
	引物序列	产物长度(bp)	退火温度(℃)
β -actin318	Forward;5'-ATCATGTTTGAGACCTTCAACAA-3'	318	52
	Reverse;5'-CATCTCTTGCTCGAAGTCCA-3'		
β -actin480	Forward;5'-CATCCTGCGTCTGGACCT-3'	480	52
	Reverse;5'-TCAGGAGGAGCAATGATCTTG-3'		
AB029031	Forward;5'-TACAATCACCTGGAGGAGCAC-3'	507	52
	Reverse;5'-GCTCAGGAGCTTCTCAATGGT-3'		
AF116272	Forward;5'-CCAGCTCCACCAGCATCTCT-3'	293	58
	Reverse;5'-GGAAGGCGTCCTGGTACTCCT-3'		
AF070523	Forward;5'-CTGCCATGATGATTTCCATTG-3'	376	50
	Reverse;5'-ATGCCTTCTTCCTGCTGTTCT-3'		
HUMS182R	Forward;5'-GAAAGGTCCACTTCGACTCCA-3'	476	40
	Reverse;5'-GGTCTTCACCAGCGAGGATAC-3'		
HSU65928	Forward;5'-CAGGCTGCTGCATATGAATACA-3'	512	46
	Reverse;5'-AGCTGGGCTTCTGACTGCTCT-3'		



图 1 95C 细胞和 95D 细胞总 RNA 双色
荧光标记叠加图

在表达芯片上的信号差异表达量大于 2 倍(很可能是有表达差异的数据)。

2.4 对差异表达基因的初步分析 在被检测的 16 396 条有效基因中,出现表达差异的基因有 466 条,其中上调基因 168 条,下调基因 298 条,其中具有同一 Genbank ID 号的 Double 基因共 108 对,上调基因 47 对,下调基因 61 对。这些基因在与两种探针杂交时表现出一定的差异,且上下调趋势一致。



注:横、纵坐标的数据表示芯片上的荧光信号值
图 2 95C 细胞和 95D 细胞总 RNA 杂交信号
强度散点图

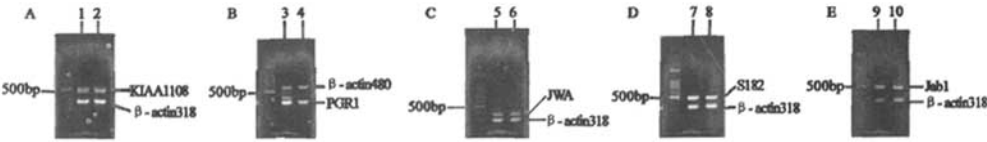
2.5 RT-PCR 从基因芯片显示的差异表达基因中,选择了部分基因(表 2)如: KIAA1108、PGR1、JWA、S182、Jab1 进行 RT-PCR 进一步验证分析,结果显示(图 3):JWA、S182 和 Jab1 基因在 95D 细胞中高表达,KIAA1108、PGR1 基因在 95D 细胞中低表达,与表达谱芯片的结果相符合。

3 讨论

随着分子生物学的发展,目前肿瘤病因、发病机制的研究已经进入基因水平,认为肿瘤的发生、发展是多种肿瘤相关基因(包括癌基因,抑癌基因及肿瘤

表 2 部分进行 RT-PCR 验证的基因

基因号	编号基因定义	芯片杂交后,该基因在 两个细胞系表达量的比值	RT-PCR 后,该基因在两个细胞 系表达量及丰度比(actin 校正后)		
		95D/95C	95D/actin	95C/actin	95D/95C
AB029031	KIAA1108 Protein mRNA	0.407	0.537	0.517	0.963
AF116272	T-cell activation protein (PGR1)	0.475	2.877	1.811	0.629
AF070523	JWAProteinmRNA	2.099	0.860	0.982	1.142
HUMS182R	(clone cc33) S182 mRNA	2.424	1.086	1.165	1.073
HSU65928	Jab1 mRNA	2.968	1.011	1.338	1.324



1. KIAA1108(95C) 2. KIAA1108 (95D) 3. PGR1(95C) 4. PGR1 (95D) 5. JWA (95C)
6. JWA (95D) 7. S182(95C) 8. S182 (95D) 9. Jab1 (95C) 10. Jab1 (95D)

图 3 95C 和 95D 细胞株 KIAA1108、PGR1、JWA、S182、Jab1 基因表达的 RT-PCR 鉴定

转移相关基因)表达失常。参与肿瘤转移调控的基因达数百种,但有关这些基因的检测多限于一种或几种基因的表达^[5,6],不能全面反映各基因间的关系。基因芯片具有高通量、高度并行性和敏感性的优势^[7],比较差异基因表达谱,能从基因水平实时反映肿瘤生长调节等信息,了解表现型和基因型的相互关系。因而本研究利用基因芯片的特性进行平行对照的实验设计^[8],选用了遗传背景相同但转移能力不同的人肺巨细胞癌细胞株为研究对象,避免了标本取样的组织学差异,以使所筛选出的各基因间的关系更全面、准确。

我们应用基因芯片发现,在人高转移和低转移肺巨细胞癌细胞株之间出现表达差异的基因有 466 条,其中具有同一 GenBank ID 号的 Double 基因共有 108 对,其中上调基因 47 对,下调基因 61 对。且基因表达谱异主要集中在细胞信号传导蛋白,代谢及蛋白翻译合成相关基因方面。在差异表达中,作者对 KIAA1108、PGR1、JWA、S182 和 Jab1 基因进行了 RT-PCR 的鉴定、分析,结果显示与基因芯片的检测结果一致。由此进一步验证了基因芯片结果的可靠性。

在基因芯片中下调基因 KIAA1108(GenBank 登录号 AB029031),它在一项从自体内脑组织的 100 条新的 cDNA 克隆完整的序列,其编码的蛋白具有 TBC (Tre-2/Bub2/Cdc16)区域功能,即细胞信号传递^[8],可以调节细胞周期及 Rab 的 GTP 激酶活化蛋白的功能。G 蛋白是一个种类繁多、可与 GTP 结合而且活

性受到 GTP 调控的超家族。在调节细胞增殖、细胞凋亡、恶性肿瘤细胞的浸润和转移等方面发挥重要作用。Rab 蛋白属 G 蛋白,在与 GTP 结合状态下,它能与下游的多种效应蛋白相结合。有研究证明 PARIS-1 包含 TBC 区,且在前列腺癌中起着调节细胞分化、生长作用^[9]。而癌基因 TRE17 是 TBC 家族中的重要成员,在人类各种肿瘤细胞中均有持续转录,其过表达促进肿瘤发生^[10]。以上研究说明 TBC 区与肿瘤的发生、转移有密切关系。但本研究芯片结果显示 KIAA1108 表达在高转移人肺巨细胞癌细胞株中下调,这可能是肿瘤类别不同或其它原因所致,尚待更深入的研究来论证。

另外一个下调基因 PGR1 (GenBank 登录号 AF116272)也称 PAM14,其编码产物为 T 细胞激活蛋白,也是 MRG 相关蛋白。PAM14 已经被证明是与 MORF4/MRG 复合物家族相关蛋白,和 Rb 一样都是抑癌蛋白。通过动物实验,了解到 PAM14 可能作为衔接蛋白在核蛋白复合体中起作用,也可能是另一种功能冗长蛋白的补偿^[11]。在恶性间皮瘤、肺腺癌、未肿瘤肺 DNA 甲基化的研究对比中,显示在恶性间皮瘤、腺癌细胞株 PGR1 甲基化均比非肿瘤肺组织明显升高^[12]。PGR1 基因在高、低转移人肺巨细胞癌细胞株中表达差异,说明此基因编码蛋白不仅与肿瘤甚至是肺腺癌发生有关,而且其杂交信号下调,说明在高转移肺巨细胞株抑制因素减弱,使肿瘤细胞具有了更高的转移能力。

上调基因中基因 Jab1 (GenBank 登录号 HSU65928)表达差异较为明显,它可与 c-jun 蛋白 N 端激活区结合。它可直接与细胞周期素依赖的激酶抑制因子(p27Kipl)结合并特异地诱导其下调。Jab1 在卵巢癌表达时发现,其表达与细胞恶性程度正相关,Jab1 和 p27Kipl 表达呈负相关,Jab1 是 p27Kipl 负相调节因子,可能与卵巢肿瘤的发展和预后有关^[13]。Jab1 和 p27Kipl 相互作用,在对酪氨酸激酶生长受体 HER-2/neu 的研究中也得到证实。HER-2/neu 受体过表达常出现在癌症患者中,它可通过 p27Kipl 降解而介导酪氨酸激酶的信号途径,从而刺激细胞增殖。HER-2/neu 过表达和活化增强了 p27Kipl 降解,同时促进 Jab1 从细胞核向胞浆输出,促进 p27Kipl 降解^[14]。此外 Jab1 在喉鳞状细胞癌表达时也发现,其表达与细胞恶性程度正相关^[15]。本研究结果表明 Jab1 与肿瘤的转移有密切关系,同时也提示 p27Kipl 降解、酪氨酸激酶的信号途径启动与肿瘤的浸润和转移密切相关。

基因 JWA(GenBank 登录号 AF070523),它是一种新型全反式维甲酸(ATRA)依赖的细胞骨架样基因,JWA 可在 ATRA、佛波酯 TPA、Ara-C 等诱导下,对人类骨髓白血病细胞分化起作用^[16]。M3 型白血病细胞在 ATRA 作用下的分化,可能启动 JWA 信号转导的通路。但在不同诱导剂处理后,其在不同的肿瘤细胞分化中表达不同,JWA 参与细胞分化调控机制可能不同^[17]。目前国内外尚未见到有关 JWA 与肺癌关系的报道,但从其调控机制及本研究芯片结果显示其表达在高转移人肺巨细胞癌细胞株中上调,提示它在肿瘤发生、转移过程中可能起重要作用。

在上调基因中,还有像(clon 33)S182(GenBank 登录号 HUMS182R)新基因,它所编码的蛋白可能含有复杂的跨膜区,与膜内在蛋白相似,其保守区域发生错义突变被认为是早发家族性阿尔茨海默病的原因^[18]。目前也无此基因在肿瘤中作用的研究,但在本研究中,发现它在人高、低转移肺巨细胞癌细胞株中存在明显的表达差异,说明其与肿瘤转移能力可能有一定关系,这对今后此基因的功能进一步研究起到重要的提示作用。

总之,肿瘤的发生发展是多基因共同作用的结果,因而研究肿瘤转移的过程中也应该应用多基因分析。基因芯片技术高效、高通量分析细胞内的基因表达谱,为研究肿瘤转移相关基因提供了有效的工具,这为全面认识和更深入研究肿瘤转移机制、途

径,提供了新的思路和线索。

参考文献

- [1] Hfmann HS, Bartling B. How will lung cancer be treated in the future? *Future Oncol*, 2005;1:551-559.
- [2] 成军,主编. 肿瘤相关基因. 北京:北京医科大学出版社,1999. 215-216.
- [3] 陈乐真,黄靖香,游联璧,等. 人肺巨细胞癌细胞系(PLA-801)的建立和生物学特性. *中华肿瘤杂志*, 1983;5:409-413.
- [4] 陆应麟,黄靖香,李向红,等. 人肺巨细胞癌(PLA-801)母系细胞系及其克隆化细胞株(A、C、D、E)裸鼠皮下种植后自发转移特性的研究. *中华肿瘤杂志*, 1989, 11:3-7.
- [5] Marchetti A, Tinari N, Buttitta F, et al. Expression of 90K (Mac-2 BP) correlates with distant metastasis and predicts survival in stage I non-small cell lung cancer patients. *Cancer Res*, 2002;62:2535-2539.
- [6] Muller-Tidow C, Metzger R, Kugler K, et al. Cyclin E is the only cyclin-dependent kinase 2-associated cyclin that predicts metastasis and survival in early stage non-small cell lung cancer. *Cancer Res*, 2001;61:647-653.
- [7] Cuperlovic-Ccull M, Belace N, Ouellette RT. Determination of tumour marker genes from gene expression data. *Drug Discov Today*, 2005;10:429-437.
- [8] Zhou Y, Toth M, Hamman MS, et al. Serological cloning of PARIS-1, a new TBC domain-containing, immunogenic tumor antigen from a prostate cancer cell line. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 290:830-838.
- [9] Kikumo R, Nagase T, Ishikawa K, et al. Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. XIV. The complete sequences of 100 new cDNA clones from brain which code for large proteins *in vitro*. *DNA Res*, 1999, 6:197-205.
- [10] Jeffrey M, Masuda-Robens, Sara N, et al. The TRE17 oncogene encodes a component of a novel effector pathway for Rho GTPases Cdc42 and Rac1 and stimulates actin remodeling. *Mol Cell Biol*, 2003, 23: 2151-2161.
- [11] Tominaga K, Magee DM, Matzuk MM, et al. PAM14, a novel MRG- and Rb-associated protein, is not required for development and T-cell function in mice. *Mol Cell Biol*, 2004;24:8366-8373.
- [12] Tsou FA, Shen LY, Siegmund KD, et al. Distinct DNA methylation profiles in malignant mesothelioma, lung adenocarcinoma, and non-tumor lung. *Lung Cancer*, 2005, 47:193-204.

(下转第 58 页)

流、急性肾功能衰竭、肺栓塞、恶性室性心律失常等。急性冠脉综合征合并心源性休克是 AMI 患者院内死亡的主要原因。本组 2 例患者尽管 IRA 均已再通,但于术后 24h 内均死于顽固性心源性休克,如施以主动脉内球囊反搏术(intra-aortic balloon counterpulsation, IABCP)治疗,可能会改善预后。在导管室中,与未发生无复流现象的患者相比,发生无复流现象的患者的死亡率高 10 倍,对于存在无复流现象的冠状动脉病变置入支架应特别小心,因为远段血流差可以增加支架内血栓形成的可能性^[5]。研究表明,无论采取静脉溶栓或直接 PCI,对降低糖尿病伴 AMI 患者的复合心血管事件较无糖尿病的 AMI 患者显著,尽管如此,有糖尿病危险因素患者的预后仍较无糖尿病患者为差^[6]。本组患者多数合并糖尿病,造影结果均为多支病变,这是预后恶劣的主要因素之一。对造影剂肾病现认为最可能的机制是强烈的造影剂所致的肾髓质血管收缩,原有肾功能不全的患者最易发生造影剂肾病,特别是糖尿病肾病患者,与院内高死亡率及低长期生存率有关^[7]。本组 1 例造影剂肾病患者术前即合并糖尿病肾病,术后肾功能急剧恶化,最终导致死亡。尽管 PCI 创伤小,制动时间较短,但 PCI 术后肺栓塞的报道屡见不鲜^[8]。AMI 患者多为老龄,急诊 PCI 主要经股动脉穿刺途径,多同时合并心力衰竭、肥胖、糖尿病、高脂血症等危险因素,肺栓塞的发生不容忽视,部分病人可表现为猝死。

总之,急诊 PCI 治疗 AMI 的主要经验有:(1)术前及术后充分抗凝、抗血小板聚集治疗,密切监护,重视支持治疗;(2)及时合理应用 IABCP 及临时起搏等辅助抢救技术,可增加危重 AMI 患者抢救成功率;(3)进一步提高 PCI 手术技巧及熟练性,尽量减少术中造影剂应用;(4)重视合并症尤其糖尿病的治疗。

参考文献

- [1] Pate GE, Humphries KH, Izadnegahdar M, et al. Population rates of invasive cardiac procedures in British Columbia, 1995 to 2001. *Can J Cardiol*, 2004, 20: 712-716.
- [2] 中华医学会心血管病学分会. 急性心肌梗死诊断和治疗指南. *中华心血管病杂志*, 2001, 29: 710-725.
- [3] Keeley EC, Boum JA, Grines CL. Primary angioplasty versus intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction; a quantitative review of 23 randomized trials. *Lancet*, 2003, 361: 13-20.
- [4] 韩雅玲, 王耿, 荆全民, 等. 急性冠状动脉综合征介入治疗 4670 例近期疗效的评价. *中华医学杂志*, 2005, 85: 1040-1044.
- [5] Leopold JA, Berger CJ, Cupples LA, et al. No-reflow during coronary intervention: observations and implications. *Circulation*, 2000, 102: II-644.
- [6] 赵明中, 胡大一, 李田昌, 等. 糖尿病伴急性心肌梗死患者直接经皮冠状动脉腔内成形术后近期与远期预后. *中华心血管病杂志*, 2001, 29: 149-151.
- [7] McCullough PA, Wolyn R, Rocher LL, et al. Acute renal failure after coronary intervention: Incidence, risk factors, and relationship to mortality. *Am J Med*, 1997, 103: 368-375.
- [8] 陈明, 江鳌峰, 蒋捷. 经皮冠状动脉介入治疗后并发急性肺栓塞(第 4 例). *中华老年多器官疾病杂志*, 2003, 2: 63-64.
- [9] (上接第 51 页)
- [13] Dong Y, Sui L, Watanabe Y, et al. Prognostic significance of Jab1 expression in laryngeal squamous cell carcinomas. *Clin Cancer Res*, 2005, 11: 259-266.
- [14] Sui L, Dong Y, Ohno M, et al. Jab1 expression is associated with inverse expression of p27 (kip1) and poor prognosis in epithelial ovarian tumors. *Clin Cancer Res*, 2001, 7: 4130-4135.
- [15] Caballero OL, Resto V, Patturajan M, et al. Interaction and colocalization of PGP9. 5 with JAB1 and p27ak1p1. *Oncogene*, 2002, 21: 3003-3010.
- [16] Huang SQ, Mao WG, Li AP, et al. JWA, a novel signaling molecule, involved in the induction of differentiation of human myeloid leukemia cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 341: 440-450.
- [17] 夏薇, 周建伟, 曹还霞, 等. JWA 参与调控细胞分化的结构和功能. *科学通报*, 2001, 46: 734-738.
- [18] Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, et al. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature*, 1995, 375: 754-760.