

文章编号:1000-5404(2013)01-0061-05

论著

DNA 损伤修复基因以及 TS、 β -tubulin III 在骨肉瘤中的表达及其与临床病理的关系

蒋平,关伟,戴楠,仲召阳,毛承毅,顾咸庆,王东 (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所肿瘤中心)

[摘要] 目的 探讨人骨肉瘤组织中 DNA 损伤修复基因以及 TS、 β -tubulin III 多个化疗反应相关标志物的表达谱特点,及其与临床病理的关系。方法 选取 50 例诊断明确的骨肉瘤患者组织蜡块,运用组织芯片和免疫组化技术检测 OGG1、BRCA1、RRM1、XRCC1、APE1、ERCC1 以及 TS、 β -tubulin III 8 种基因在骨肉瘤组织中的表达情况。结果 ①OGG1、BRCA1、RRM1、XRCC1、APE1、ERCC1 在骨肉瘤组织中呈阳性表达,阳性率分别为 96%、94%、94%、84%、84%、74%,强阳性率为 64%、76%、54%、72%、48%、2%,而 TS 仅有 6 例有弱阳性表达, β -tubulin III 无阳性表达。②阳性表达的基因中,仅 APE1 表达与骨肉瘤的组织病理类型具有相关性($P < 0.05$)。③等级相关分析,APE1 和 RRM1、APE1 和 OGG1、OGG1 和 BRCA1 表达呈正相关($r = 0.342, 0.318, 0.319, P < 0.05$),BRCA1 和 ERCC1 表达呈负相关($r = -0.324, P < 0.05$);APE1 和 XRCC1、RRM1 和 XRCC1 的表达也呈正相关($r = 0.406, 0.677, P < 0.01$)。结论 骨肉瘤组织中存在多种 DNA 损伤修复相关基因的表达,其中部分基因的表达强弱之间具有相关性,APE1 的表达强弱与肺癌病理类型有关。

[关键词] 骨肉瘤;DNA 损伤修复基因;组织芯片;免疫组织化学

[中图法分类号] R394.2; R730.23; R738.1

[文献标志码] A

Expression of DNA damage repair genes, thymidylate synthase and β -tubulin III in human osteosarcoma tissues and its relationship with clinical pathology of osteosarcoma

Jiang Ping, Guan Wei, Dai Nan, Zhong Zhaoyang, Mao Chengyi, Gu Xianqing, Wang Dong (Cancer Center, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

[Abstract] **Objective** To explore the expression profiles of multiple chemotherapy-related markers of DNA damage repair genes and thymidylate synthase (TS) β -tubulin III in human osteosarcoma tissues and their relationship with clinical pathology of osteosarcoma. **Methods** Fifty cases of osteosarcoma tissue paraffin blocks were obtained from the patients with diagnosed osteosarcoma. Tissue microarray and immunohistochemical method were applied to detect gene expression levels of OGG1, BRCA1, RRM1, XRCC1, APE1, ERCC1, TS and β -tubulin III in the osteosarcoma tissues. **Results** ①OGG1, BRCA1, RRM1, XRCC1, APE1 and ERCC1 were positively expressed in osteosarcoma tissues with the positive rates of 96%, 94%, 94%, 84%, 84% and 74%, respectively, and their strongly positive rates were 64%, 76%, 54%, 72%, 48% and 2%, respectively. There were only 6 cases showed weakly positive expression of TS, and β -tubulin III was negative in osteosarcoma tissues. ②In the positively expressed genes, only APE1 expression was correlated with osteosarcoma pathological types ($P < 0.05$). ③The results of rank correlation analysis showed that APE1 expression was positively correlated with the expression of RRM1, OGG1 and XRCC1 ($P < 0.05, P < 0.01$), OGG1 expression was positively correlated with BRCA1 expression ($P < 0.05$), RRM1 expression was positively correlated with and XRCC1 expression ($P < 0.01$), but the expression of BRCA1 was negatively correlated with ERCC1 expression ($P < 0.05$). **Conclusion** Several types of DNA damage repair genes are expressed in osteosarcoma tissues, and some of their expression levels have Spearman rank correlations. The characteristics of the chemotherapy-related gene expression in osteosarcoma may have significance for individual chemotherapy in patients with osteosarcoma.

[Key words] osteosarcoma; DNA damage repair gene; tissue microarray; immunohistochemistry

Corresponding author: Wang Dong, Tel: 86-23-68757706, E-mail: wangdong64@hotmail.com

[通信作者] 王东,电话:(023)68757706,E-mail: wangdong64@hotmail.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20121101.0923.003.html>(2012-11-01)

骨肉瘤是一种起源于间叶组织,好发于青少年的原发性恶性骨肿瘤。其恶性程度高,患者预后较差,严重影响青少年健康。临床上主要采用以外科手术为主,术后辅助化疗的多种治疗措施。近年来,开展的新辅助化疗使其5年生存率大大提高^[1]。目前,临床用于骨肉瘤的一线化疗药物仍然为顺铂(cisplatin, CDP)、甲氨蝶呤(methotrexate, MTX)、阿霉素(adriamycin, ADM)、异环磷酰胺(ifosfamide, IFO)^[2]。二线化疗治疗复发转移病例疗效并不明确,亦无标准的二线方案,通常方案包括异环磷酰胺(ifosfamide, IFO)、依托泊苷(etoposide phosphate, VP16)、卡铂(carboplatin, CBP)。近来有报道吉西他滨(gemcitabine, GEM)、多西紫杉醇(docetaxel, TXT)和培美曲塞(pemetrexed)^[3]对于复发骨肉瘤也显示了较好的抗肿瘤活性。为了提高疗效,降低毒副作用,基于药物反应相关标志物检测的个体化化疗正在成为研究的热点。本研究选取50例诊断明确的骨肉瘤患者组织标本,运用组织芯片和免疫组化技术检测DNA损伤修复基因中8-oxoguanine DNA糖基化酶1(8-oxoguanine DNA glycosylase1, OGG1)、人乳腺癌易感基因1(breast cancer 1, BRCA1)、核苷酸还原酶M1(ribonucleotidoreductase M1, RRM1)、人类X射线交叉互补修复基因1(X-ray repair cross-complementing gene1, XRCC1)、脱嘌呤脱嘧啶核酸内切酶1/氧化还原因子-1(apurinic/aprimidinic endonuclease/redox factor -1, APE1)、核苷酸切除修复交叉互补基因1(excision repair cross-complementation group 1, ERCC1)、胸苷酸合成酶(Thymidylate Synthase, TS)以及β-微管蛋白Ⅲ(β-tubulin Ⅲ)等多个化疗反应相关标志物的表达,重点探讨不同标志物表达谱的特点和相关性,以及它们与临床病理因素的关系,为临床治疗骨肉瘤的药物选择,以及化疗方案制定提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 临床病例

收集第三军医大学大坪医院野战外科研究所1997-2007年病理科50例术后经病理确诊的骨肉瘤患者手术切除标本。其中男性29例、女性21例。中位年龄26.06(12~77)岁。组织学病理类型:骨肉母细胞型27例,软骨母细胞型10例,纤维母细胞型8例,混合细胞型3例,其他类型2例。组织标本用10%中性甲醛溶液固定,常规脱水,石蜡包埋。

1.2 组织芯片制作^[4]

芯片制作所需的微阵列点样仪(BIONAN Tissue Microarrayer TMA600)购自上海博南生物技术有限公司。对每个供体蜡块进行切片和HE染色,显微镜下标记病变组织范围。用组织阵列点样仪按照阵列设计抽取病理蜡块组织芯片并有规律的排列在空白受体蜡块上,呈5×5排列,组织块间距为2mm,以

4 μm的厚度连续切片。每点组织结构完整、排列整齐,无脱片、变形、缺损现象,并经病理科医师镜下观察确认为肿瘤组织。

1.3 免疫组织化学染色

所需抗体购自美国Santa Cruz公司和Abcam公司,包括:APE1、OGG1、BRCA1、RRM1、ERCC1、XRCC1、TS、β-tubulin Ⅲ 8种抗体。免疫组织化学S-P试剂盒购自中国北京中杉金桥生物技术有限公司,按照试剂盒说明书操作。用已知阳性切片作为阳性对照,以PBS替代第一抗体作为阴性对照。

1.4 结果判断

采用双盲法,显微镜下观察免疫组化染色结果,细胞质或(和)细胞核含棕黄色颗粒者为阳性细胞。避开肿瘤边缘及坏死组织区域,在高倍镜(×400)下任选5个视野,计数不少于1000个细胞中的阳性细胞数。根据染色程度及染色细胞百分率进行综合分析评定:不染色为0分,染色呈淡黄色为1分,染色较深呈棕黄色为2分;着色细胞数占计数细胞百分率≤5%为0分, >5%~25%为1分, >25%~50%为2分, ≥51%为3分,染色程度和染色细胞百分率得分乘积为最后得分。以“-”表示0~1分、“+”表示2分、“++”表示3~4分、“+++”表示≥5分,其中以“-”和“+”为低表达,“++”和“+++”为高表达。

1.5 统计学分析

采用SPSS 18.0软件进行统计分析。计数资料以率表示,标志物染色结果与骨肉瘤病理资料影响因素采用χ²检验。各个标志物之间相关性采用Spearman等级相关分析。

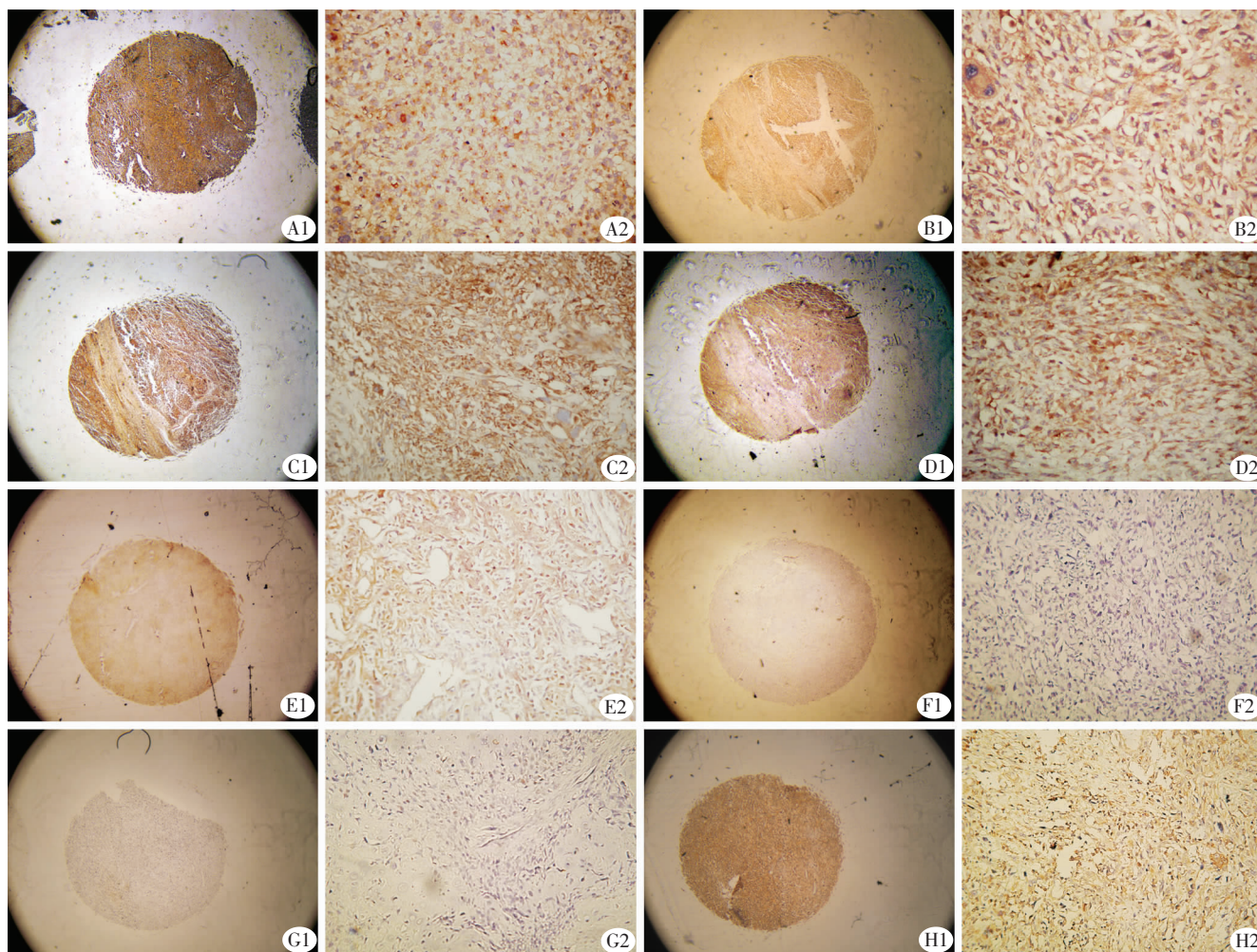
2 结果

2.1 DNA损伤修复基因以及TS、β-tubulin Ⅲ在骨肉瘤中的表达情况

在50例病例中,APE1蛋白主要定位在细胞核,部分定位于细胞质;OGG1蛋白表达主要定位于细胞核;BRCA1蛋白定位于细胞膜和细胞质表达;RRM1蛋白主要定位于细胞膜和细胞质表达;ERCC1蛋白呈细胞质表达;XRCC1表达定位于细胞核(图1)。APE1、OGG1、BRCA1、RRM1、XRCC1阳性表达率较高,且以强阳性表达为主;而ERCC1的阳性表达率也比较高,但以弱阳性表达为主。经多次重复染色检测TS仅6例有弱表达;β-tubulin Ⅲ在该50例骨肉瘤标本中无表达(表1)。每种基因表达强弱与其他基因的表达比较,差异均存在统计学差异(P<0.05)。

表1 DNA损伤修复基因以及TS、β-tubulin Ⅲ在50例骨肉瘤中的表达

标记物名称	病例数				阳性率(%)	强阳性率(%)
	-	+	++	+++		
APE1	8	9	9	24	84	48
OGG1	2	6	10	32	96	64
BRCA1	3	4	5	38	94	76
RRM1	3	9	11	27	94	54
ERCC1	13	23	13	1	74	2
XRCC1	8	0	6	36	84	72
TS	44	6	0	0	12	0
β-tubulin Ⅲ	50	0	0	0	0	0



A1: OGG1 (×40); A2: OGG1 (×100); B1: APE1 (×40); B2: APE1 (×100); C1: RRM1 (×40); C2: RRM1 (×100); D1: BRCA1 (×40); D2: BRCA1 (×100); E1: ERCC1 (×40); E2: ERCC1 (×100); F1: β-tubulin III (×40); F2: β-tubulin III (×100); G1: TS (×40); G2: TS (×100); H1: XRCC1 (×40); H2: XRCC1 (×100)

图1 骨肉瘤DNA损伤修复基因以及TS、β-tubulin III免疫组化染色结果

2.2 DNA损伤修复基因与骨肉瘤临床病理因素的关系

阳性表达的6种基因APE1、OGG1、BRCA1、RRM1、ERCC1、XRCC1运用 χ^2 检验分别判断其表达强度与年龄、性别、肿瘤直径、组织学类型的关系,结果显示APE1的表达高低与肿瘤的病理类型有关($P=0.023$,表2),其他基因的表达均与临床病理因素无关。

2.3 DNA损伤修复基因以及TS、β-tubulin III表达相关性分析

运用Spearman等级相关法分析6种阳性表达基因的相关性,结果显示:APE1和RRM1、OGG1和BRCA1、APE1和OGG1表达呈正相关($r=0.342, 0.319, 0.318, P<0.05$),BRCA1和ERCC1表达呈负相关($r=-0.324, P<0.05$); RRM1和XRCC1、APE1和XRCC1的表达也呈正相关, ($r=0.677, 0.406, P<0.01$)。其他基因之间无表达强弱的相关性(表3)。

表2 APE1与临床病理因素的关系

临床病理因素	APE1		P值
	低表达	高表达	
年龄(岁)			0.257
≤20	11	16	
≤30	4	6	
>30	2	11	
性别			0.933
男	10	19	
女	7	14	
肿瘤直径			0.820
≥10 cm	3	5	
<10 cm	14	28	
组织学类型			0.023
骨母细胞型	9	18	
纤维母细胞型	6	2	
软骨母细胞型	2	8	
混合型	1	2	
其他	1	1	

表 3 DNA 损伤修复基因的等级相关分析结果(r)

基因	APE1	OGG1	BRCA1	RRM1	ERCC1	XRCC1
APE1	1	0.318 ^a	0.211	0.342 ^a	0.237	0.406 ^b
		0.024	0.142	0.015	0.097	0.003
OGG1	0.318 ^a	1	0.319 ^a	0.205	-0.145	0.156
	0.024		0.024	0.154	0.316	0.280
BRCA1	0.211	0.319 ^a	1	0.141	-0.324 ^a	0.068
	0.142	0.024		0.328	0.022	0.637
RRM1	0.342 ^a	0.205	0.141	1	0.269	0.677 ^b
	0.015	0.154	0.328		0.058	0.000
ERCC1	0.237	-0.145	-0.324 ^a	0.269	1	0.171
	0.097	0.316	0.022	0.058		0.234
XRCC1	0.406 ^b	0.156	0.068	0.677 ^b	0.171	1
	0.003	0.280	0.637	0.000	0.234	

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$

3 讨论

85% ~ 90% 的骨肉瘤患者就诊时均有转移, 治疗困难。目前外科手术是治疗骨肉瘤的最主要手段之一, 约 80% 的肢体骨肉瘤患者可行保肢手术。Rosen 等^[5]于 1982 年提出新辅助化疗的概念, 强调术前化疗 6 ~ 10 周后再行肿瘤切除术, 根据肿瘤组织学坏死程度制定化疗方案。这一方案使得骨肉瘤患者 5 年生存率由 20% 左右提高到了 60% ~ 80%^[1]。骨肉瘤的化疗药物仍以 AP 方案中的顺铂、多柔吡星, 以及异环磷酰胺和大剂量的甲氨蝶呤为主。目前临床研究显示通过检测 DNA 损伤修复等化疗药物反应相关的基因在非小细胞肺癌组织中的表达, 可指导临床化疗药物的选择, 从而提高疗效^[6], 但有关骨肉瘤相关性研究尚少见报道。本研究运用组织芯片技术和免疫组化 S-P 法检测多个 DNA 损伤修复相关基因在骨肉瘤组织中的表达, 结果显示 OGG1、BRCA1、RRM1、XRCC1、APE1、ERCC1 在肿瘤组织中具有阳性表达, 而 TS 和 β -tubulin III 在骨肉瘤中为阴性表达。临床病理分析显示 APE1 的表达同骨肉瘤组织学类型有关 ($P = 0.023$), 而其他基因的表达与病理因素均无相关性。结果显示 APE1 分别和 RRM1、OGG1、XRCC1, OGG1 和 BRCA1, RRM1 和 XRCC1 表达呈正相关, BRCA1 和 ERCC1 表达呈负相关, 其他基因的表达强弱之间无相关性。提示 APE1 可能在骨肉瘤与 DNA 损伤修复相关的众多基因相互作用网络中有着特殊重要地位。

细胞 DNA 损伤修复途径有 4 种基本的方式^[7-8]: 错配修复 (mismatch repair, MMR)、碱基切除修复 (base excision repair, BER)、核苷酸切除修复 (nucleotide excision repair, NER) 和双链断裂修复。碱基切除修复是指切除和替换由内源性损伤因子产生的 DNA 损伤碱基, DNA 糖基化酶参与此过程。而核苷酸切除修复主要是切除由环境因素作用产生的 DNA 损伤位

点, 标志物中 BRCA1、RRM1、ERCC1 和 NRE 途径有关, 而 OGG1、APE1、XRCC1 和 BER 途径有关。ERCC1 被认为是铂类化疗药物引起的 NER 修复途径中的一个关键基因^[9], 它编码了 NER 复合物中的 5 核酸内切酶, 而该酶是 NER 修复途径的关键酶。在非小细胞肺癌的研究中发现 ERCC1 的高表达会导致铂类化疗药物疗效降低, 并出现药物抵抗, 而 ERCC1 的低表达组更能从以铂类药物为基础的化疗中获益^[10-12]。本研究显示, ERCC1 在骨肉瘤中阳性表达率为 74%, 但仅有 1 例达到强阳性表达, 提示铂类药物对骨肉瘤的治疗具有重要作用, 骨肉瘤的化疗应该采用以铂类药物为基础并同其他药物相结合的化疗方案。BRCA1 在 DNA 双链损伤修复和错配修复中扮演了重要角色^[13]。在肺癌的研究中发现 BRCA1 对铂类和紫杉类化疗药物同时具有预测作用, BRCA1 阴性表达能提高肿瘤对顺铂的药物敏感性, 但是阳性表达也能增加肿瘤对抗微管药物如多西他赛的敏感性^[14]。在骨肉瘤组织中该基因强表达率为 76%, 提示 BRCA1 的高表达有可能是骨肉瘤对铂类化疗药物抵抗的一个原因, 而另一方面也提示我们可以深入探讨将抗微管药物用于骨肉瘤化疗的可能性。作为铂类药物的疗效预测指标, 乳腺癌和非小细胞肺癌的研究中均得出 ERCC1 和 BRCA1 的表达呈正相关^[15-16], 但本研究却发现骨肉瘤中这两个指标具有负相关性。RRM1 在 NER 修复途径中起着重要作用, 研究发现持续增加肺癌组织中健择的用量可导致 RRM1 的表达升高^[17], 而降低 RRM1 的表达能够提高肿瘤对健择药物的敏感性。在非小细胞肺癌的一项 II 期临床试验中, RRM1 被认为是健择疗效的主要预测因子^[18]。本组骨肉瘤中的 RRM1 47 例阳性表达 (94%), 27 例达到强阳性表达 (54%), 提示吉西他滨可能并不适用于骨肉瘤的化疗。

BER 修复途径中的 3 个重要基因 XRCC1、APE1 和 OGG1 在骨肉瘤组织中均有高表达。XRCC1 在多种肿瘤中均有表达, 但并未发现 XRCC1 基因与何种化疗药物的抵抗有关。OGG1 具有基因的多态性从而可能同多种肿瘤的发生相关, 但少见研究表明 OGG1 的表达与药物抵抗有关。APE1 通过切除 DNA 中的 AP 位点达到修复损伤 DNA 的目的, 主要负责异环磷酰胺等烷化剂, 以及多种化疗药物产生活性氧分子导致的 DNA 损伤。Puglisi 等^[19]关于乳腺癌的研究证实 APE1 在细胞中的定位与预后显著相关, 而且是独立预后因子。我们前期的研究^[20]也表明 APE1 在骨肉瘤组织中表达明显增高, 且异位于细胞质表达, 通过 siRNA 干扰技术敲低 APE1 的表达能相应增强肿瘤细胞对放化疗的敏感性。本组资料显示 APE1 阳性表达为 84%, 强阳性表达为 48%, 提示 APE1 高表达可能

是骨肉瘤对烷化剂及铂类化疗药物疗效不佳的机制之一。此外,发现 APE1 和 RRM1、OGG1、XRCC1 具有表达相关性,提示其可能在 DNA 修复途径这个复杂的网络中可能具有特殊意义。

ERCC1、BRCA1 和 APE1 均有报道对肿瘤铂类抵抗具有预测作用,本组骨肉瘤中 ERCC1 阳性表达率为 74%,但仅有 1 例达到强阳性表达,BRCA1 强阳性表达率为 76%,而 APE1 阳性表达为 84%,强阳性表达为 48%。ERCC1、BRCA1 和 APE1 的预测结果存在矛盾。

β -tubulin III 被认为与抗微管药物的作用有关,体外研究证实 β -tubulin III 的高表达同紫杉醇和多西他赛的药物抵抗的具有相关性,通过 RNA 干扰技术降低表达后,肿瘤对紫杉醇的药物敏感性明显提高^[21]。我们经过多次重复均未能检测到该基因在骨肉瘤中的表达,提示抗微管药物可能在骨肉瘤的化疗中具有较好的疗效。在非小细胞肺癌中,TS 基因也是培美曲塞的预测指标,TS 基因低表达提示肿瘤对该药物具有较高的敏感性^[22]。本组骨肉瘤组织中 TS 仅 6 例有弱表达(12%),TS 的低表达提示培美曲塞可能适用于骨肉瘤的化疗。

本研究运用组织芯片和免疫组化检测人骨肉瘤中多个与 DNA 损伤修复相关基因,以及 β -tubulin III 和 TS 表达。结果显示,多个 DNA 损伤修复相关基因在骨肉瘤中均高表达,其中 APE1 和 RRM1、OGG1、XRCC1 具有表达相关性,提示 DNA 修复途径,特别是 APE1 可能在影响骨肉瘤化疗疗效中具有重要作用。而 β -tubulin III 和 TS 基因在骨肉瘤中呈阴性和低表达,推测抗微管药物和培美曲塞可能给骨肉瘤的治疗带来新的希望。

参考文献:

[1] Siller C S, Lewis I J. Update and review of the management of bone tumours[J]. Paediatr Child Health, 2009, 20(3): 103-108.
[2] Bielack S, Carrle D, Casali P G. Osteosarcoma: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up [J]. Ann Oncol, 2009, 20(Suppl 4): 137-139.
[3] 王建军, 赵晖, 林峰, 等. 耐甲氨蝶呤人骨肉瘤细胞株建立及其生物学特性[J]. 肿瘤, 2007, 27(8): 623-627.
[4] 樊祥山, 孟凡青, 章宜芬, 等. 骨肉瘤组织芯片的制作及其免疫组织化学应用[J]. 东南大学学报: 医学版, 2006, 25(2): 104-107.
[5] Rosen G, Caparros B, Huvos A G, et al. Preoperative chemotherapy for osteogenic sarcoma; selection of postoperative adjuvant chemotherapy based on the response of primary tumor to preoperative chemotherapy [J]. Cancer, 1982, 49(6): 1221-1230.
[6] Moldvay J. Personalized therapy in non-small cell lung cancer: from diagnosis to therapy [J]. Orv Hetil, 2012, 153(23): 909-916.
[7] Greinert R, Volkmer B, Henning S, et al. UVA-induced DNA double-

strand breaks result from the repair of clustered oxidative DNA damages [J]. Nucleic Acids Res, 2012, 40(20): 10263-10273.
[8] Chapman J R, Taylor M R, Boulton S J. Playing the end game: DNA double-strand break repair pathway choice [J]. Mol Cell, 2012, 47(4): 497-510.
[9] Gossage L, Madhusudan S. Current status of excision repair cross complementing-group 1 (ERCC1) in cancer [J]. Cancer Treat Rev, 2007, 33(6): 565-577.
[10] Olaussen K A, Dunant A, Fouret P, et al. DNA repair by ERCC1 in non-small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy [J]. N Engl J Med, 2006, 355(10): 983-991.
[11] Li J, Li Z N, Yu L C, et al. Association of expression of MRP1, BCRP, LRP and ERCC1 with outcome of patients with locally advanced non-small cell lung cancer who received neoadjuvant chemotherapy [J]. Lung Cancer, 2010, 69(1): 116-122.
[12] Wang X, Zhao J, Yang L, et al. Positive expression of ERCC1 predicts a poorer platinum-based treatment outcome in Chinese patients with advanced non-small-cell lung cancer [J]. Med Oncol, 2010, 27(2): 484-490.
[13] Margeli M, Cirauqui B, Castella E, et al. The prognostic value of BRCA1 mRNA expression levels following neoadjuvant chemotherapy in breast cancer [J]. PLoS One, 2010, 5(3): e9499.
[14] Quinn J E, James C R, Stewart G E, et al. BRCA1 mRNA expression levels predict for overall survival in ovarian cancer after chemotherapy [J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(24): 7413-7420.
[15] Kim D, Jung W, Koo J S. The expression of ERCC1, RRM1, and BRCA1 in breast cancer according to the immunohistochemical phenotypes [J]. J Korean Med Sci, 2011, 26(3): 352-359.
[16] Su C, Zhou S, Zhang L, et al. ERCC1, RRM1 and BRCA1 mRNA expression levels and clinical outcome of advanced non-small cell lung cancer [J]. Med Oncol, 2010, 28(4): 1411-1417.
[17] Davidson J D, Ma L, Flagella M, et al. An increase in the expression of ribonucleotide reductase large subunit 1 is associated with gemcitabine resistance in non-small cell lung cancer cell lines [J]. Cancer Res, 2004, 64(11): 3761-3766.
[18] Bepler G, Kusmartseva I, Sharma S, et al. RRM1 modulated *in vitro* and *in vivo* efficacy of gemcitabine and platinum in non-small-cell lung cancer [J]. J Clin Oncol, 2006, 24(29): 4731-4737.
[19] Puglisi F, Barbone F, Tell G, et al. Prognostic role of Ape/Ref-1 subcellular expression in stage I-III breast carcinomas [J]. Oncol Rep, 2002, 9(1): 11-17.
[20] Wang D, Luo M, Kelley M R. Human apurinic endonuclease 1 (APE1) expression and prognostic significance in osteosarcoma: enhanced sensitivity of osteosarcoma to DNA damaging agents using silencing RNA APE1 expression inhibition [J]. Mol Cancer Ther, 2004, 3(6): 679-686.
[21] Gan P P, Pasquier E, Kavallaris M. Class III beta-tubulin mediates sensitivity to chemotherapeutic drugs in non small cell lung cancer [J]. Cancer Res, 2007, 67(19): 9356-9363.
[22] Galvani E, Peters G J, Giovannetti E. Thymidylate synthase inhibitors for non-small cell lung cancer [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2011, 20(10): 1343-1356.

(收稿:2012-08-23;修回:2012-09-12)

(编辑 汪勤俭)