

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.16.004

早期胃癌患者外周血清差异蛋白表达谱的建立及其生物学分析*

金 杰 楼俐泓 沙明磊 胡皓璐 靖大道[△]

(上海交通大学附属第一人民医院老年科 上海 200080)

摘要 目的:分析早期胃癌患者外周血中低丰度蛋白的表达差异,以筛选诊断早期胃癌血清多肽或蛋白标志物。**方法:**应用高通量的 AAH-BLG-1000 蛋白芯片分别检测 3 例早期胃癌患者和 3 例正常对照成人的外周血清,建立早期胃癌患者外周血清差异蛋白表达谱,分析其相关生物学信息,以筛选早期胃癌的血清肿瘤标志物。**结果:**与正常对照组比较,早期胃癌患者外周血清中有 10 种蛋白表达显著上调($P<0.05$),52 种蛋白表达显著下调($P<0.05$)。生物信息学分析发现差异蛋白质集中于血管生成、信号调控,免疫调节、酶联受体蛋白信号,细胞凋亡等生物进程,而差异蛋白中的 VEGF、CD40L、SMAD7、PLUNC、NTN、LT β R 和 HEV7 个差异蛋白的特征性改变有望成为早期胃癌血清学的肿瘤标志物。**结论:**应用蛋白芯片技术所得的早期胃癌患者血清中的差异表达蛋白有望成为诊断早期胃癌的血清肿瘤标志物。

关键词:早期胃癌;蛋白芯片;肿瘤标志物;生物学分析

中图分类号:R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)16-3014-05

Expression Profiles of 1000 Protein from a Biotin Label-based Antibody Array in Human Early Gastric Cancer and Bioinformatical Analysis*

JIN Jie, LOU Li-hong, SHA Ming-lei, HU Hao-lu, JING Da-dao[△]

(Department of Geriatrics, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai, 200080, China)

ABSTRACT Objective: To explore the differential expression of low abundance proteins in peripheral blood of patients with early gastric cancer and to screen tumor markers for the diagnosis of early gastric cancer. **Methods:** Three patients suffered from early gastric cancer were collected from January 2013 to June 2013, and another three healthy people were collected from healthy examination. They were divided into gastric cancer group and normal control group. The serum low abundance proteins were tested with biotin label-based antibody chips, which could detect 1000 kinds of proteins levels in one-time detection both in patients with early gastric cancer (case group) and in normal control persons (control group). The differential expression profile of low abundance proteins were analyzed by bioinformatics software. **Results:** Compared with that in the control group, the expressions of 10 kinds of proteins were significantly elevated ($P<0.05$) and 52 kinds of proteins were obviously lowered in the early gastric cancer group ($P<0.05$). A series of bioinformatics analysis was carried out on the differential proteins, which were mainly associated with the blood vessel morphogenesis, enzyme linked receptor protein signaling, immune process, positive regulation of signal transduction and apoptosis. Among these factors, VEGF, CD40L, SMAD7, PLUNC, NTN, LT β R and HEV7 could become the serum tumor markers of early gastric cancer. **Conclusions:** The differential proteins in serum got from a biotin label-based antibody protein array could be used as the biomarkers for the diagnosis of early gastric cancer.

Key words: Early gastric cancer; Protein chip; Tumor markers; Bioinformatical analysis

Chinese Library Classification(CLC): R735.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)16-3014-05

前言

胃癌是我国常见的恶性肿瘤,每年国内胃癌新发病例数约占全球 40%,其中 84%为进展期胃癌,5 年生存率不到 30%^[1]。早期胃癌的五年生存率可达 90%以上,因而如何早期发现胃癌以及寻找一种特异且有效的胃癌血清标志物已成为目前的研究热点。

蛋白芯片是一种高通量、平行性的蛋白监测系统,目前可以同时一次性地检测几百、甚至几千个目标因子,而所需的标本仅需要 20-100 μ L,检测灵敏度更是能达到 pg/mL 水平,对于低丰度蛋白也同样能达到良好的检测效果^[2]。目前,已有实验成功通过蛋白芯片筛选出卵巢癌、前列腺癌和结直肠癌的特异性肿瘤标志物^[2-4]。

本实验应用 Raybiotech 公司 AAH-BLG-1000 型蛋白芯片

* 基金项目:上海市科学技术委员会基金项目(134119a3100)

作者简介:金杰(1979-),男,本科,老年科主治医师,主要研究方向:胃癌的早期发现,电话:13331975695, E-mail:ginget2118@163.com

[△] 通讯作者:靖大道,主任医师,硕士生导师, E-mail:jingdadao@medmail.com.cn

(收稿日期:2014-12-26 接受日期:2015-01-23)

分别对早期胃癌患者和正常对照成人的外周血清标本进行检测,建立两组之间的差异蛋白表达谱,同时对差异蛋白谱进行相关的生物学分析,旨在筛选有价值的早期胃癌的血清标志物,为胃癌的早期筛查和诊断提供实验依据。

1 材料与方法

表 1 病例组与对照组的一般临床资料比较

Table 1 Comparison of the baseline clinical characteristics between gastric cancer patients and healthy controls

Group	Number	Age	Sex	Pathologic T stage	Lymph node metastasis
Gastric cancer patients	2	48	Male	Adenocarcinoma, T1a	(-)
	5	50	Male	Adenocarcinoma, T1a	(-)
	14	47	Female	Mucinous adenocarcinoma, T1a	(-)
	50	44	Female	superficial gastritis	
Healthy controls	51	43	Male	superficial gastritis	
	79	38	Male	superficial gastritis	

所有病例均有病理组织学诊断(符合国际抗癌联盟 2002 年 TMN 分期诊断标准,术后病理诊断确认为早期粘膜内胃癌),同时排除其他组织器官的恶性肿瘤,入选的病例均排除急、慢性感染,排除肝、肾、内分泌代谢以及自身免疫性疾病病史。本实验设计通过上海交通大学附属第一人民医院伦理委员会审核,血清及临床资料采集均得到患者本人的知情同意。

1.2 主要实验仪器及试剂

1.2.1 主要实验仪器设备 芯片小型离心机(ChipMate PMC-082, Tomy 公司), 芯片扫描仪 (GenePix 4000 B, Axon Instruments, 美国), GenePix Pro 6.0 软件 (Axon Instruments, 美国), -80℃ 冰箱(MDF-382, 日本三洋公司)。

1.2.2 主要试剂 Raybiotech 试剂盒(RayBio. Biotin L-SERIES Human Antibody Array 1000 Glass Slides, AAH-BLG-1000 芯片)(Raybiotech 公司, 美国)购自上海华盈生物医药科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 血清标本采集 所有血清标本均为清晨空腹静脉血,采全血 4 mL 后常温静置 1 小时,之后以 4000 转/分离心 12 分钟,吸取血清分装到 EP 管中,每份 EP 管 100 μ L,分别编号后储存于 -80℃ 冰箱长期保存备用,保存过程中避免血清的反复冻溶。

1.1 研究对象及分组

随机选取上海市交通大学附属第一人民医院消化科及胃肠外科 2013 年 1 月到 2013 年 6 月收治的早期胃癌(粘膜内癌)患者 3 例作为病例组;选取上海市交通大学附属第一人民医院健康体检中心正常健康成人 3 例为对照组,其具体临床资料见表 1。

1.3.2 应用蛋白芯片检测血清蛋白的水平 按照 Raybiotech 试剂盒的标准操作流程进行,每例样本取 20 μ L 血清,血清样本经过样本透析、生物素标记、二次样本透析、芯片封闭、样品杂交及洗涤、离心 6 个步骤后,最后放入扫描仪进行芯片扫描。芯片扫描所采集到的信号强度以散点图表示,采用 GenePix Pro 6.0 数据分析软件对获得的信号强度进行数据分析,将每一个点的绿色光亮度转化为数值型数据,用 Microsoft Excel 软件进行数据分析,计算每个样品各孔的灰度值。所有数据以均值表示,所有数据均四舍五入后取整数。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 17.0 软件分析实验数据,两组间计量资料的比较采用 T 检验进行统计学分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。再根据芯片说明书上的提示,选取表达水平上调大于 1.5 倍或表达下调大于 0.65 倍的差异蛋白作进一步的数据分析。

2 结果

2.1 两组血清蛋白芯片杂交扫描结果的比较

两组患者外周血清蛋白芯片杂交后使用 GenePix 4000B 扫描仪进行扫描,部分芯片扫描获得的结果如图 1、图 2 所示。

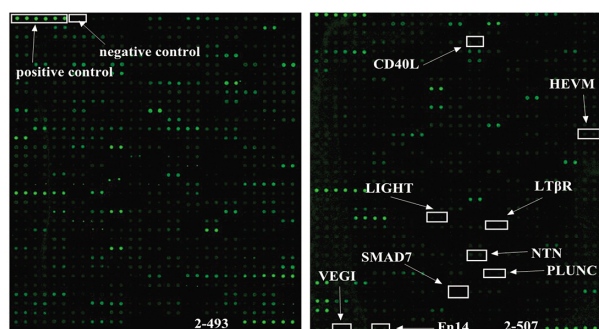


图 1 病例组(样本 2)血清蛋白芯片的检测图

Fig. 1 Detection figure of serum protein microarray in case group (sample

2)

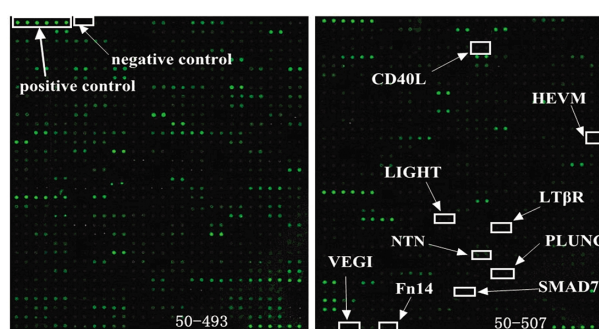


图 2 对照组(样本 50)血清蛋白芯片的检测图

Fig.2 Detection figure of serum protein microarray in control group

(sample 50)

2.2 早期胃癌患者血清差异表达蛋白谱的建立

HEVM 在上调蛋白中差异最显著 (P<0.001), 包括 6 个蛋白: VEGI、PLUNC、LTβR、CD40L、SMAD7、NTN 在下调蛋白中差异最为显著(P 值小于 0.001)。

比较病例组和正常对照组的血清蛋白表达差异,共获得差异蛋白 62 种, 包括上调蛋白 10 种, 下调蛋白 52 种。其中,

表 2 早期胃癌患者的血清差异蛋白表达谱
Table 2 The differences expression profiles between early gastric cancer patients and normal control

Group	Protein Name			
Over-expressed proteins	beta-Catenin	Inhibin B	Fn14	CCR7
	beta-Defensin 2	PGRP-S	XEDAR	
	HVEM	TLR3	Adiponectin	
Under-expressed proteins	CD40L	IL-17E	MCP-2	IL-1 alpha
	NTN	IL-2 R alpha	MMP-11	SMAD 8
	SMAD 7	IL-26	Angiopoietin-like Factor	Tie-2
	VEGI	IL-5 R alpha	NeuroD1	KDR
	PLUNC	Kremen-1	Neuropilin-2	ICAM-2
	LTβR	LRP-6	CCL18	GREMLIN
	IL-16	FOLR1	Persephin	NOV
	LYRIC	DMP-1	C8B	TSG-14
	Furin	FGF R5	Cytokeratin 18	LIGHT
	Gelsolin	GDF8	Musk	VEGF
	GRO	PTHLP	Vasorin	GDF5
	MIG	PAK7	CD 163	ErbB3
	S100A10	ALPP	GDF3	GDF9

表 3 早期胃癌患者表达差异最显著的蛋白质
Table 3 The differentially expressed proteins in the early gastric cancer(P<0.001)

Number	Protein Name	Official name	Chinese name	Fold change (case group /control group)
1	HVEM	Herpesvirus Entry Mediator	疱疹病毒侵入介导物	2.19
2	LTβR	Lymphotoxin beta Receptor	淋巴毒素β 受体	0.46
3	PLUNC	Palate, lung, and nasal epithelium clone protein	腭肺鼻上皮癌相关蛋白	0.47
4	VEGI	Vascular endothelial growth inhibitor	血管内皮生长抑制因子	0.00
5	SMAD 7	Drosophila mothers against decapentaplegic protein 7	信号转导蛋白 7	0.61
6	NTN	Neurturin	神经营养因子	0.54
7	CD40L	Cluster differentiation 40 Ligand	白细胞分化抗原 40 配体	0.36

2.3 聚类分析梳理病例组与正常对照组的亲疏关系

利用 Cluster 3.0 软件对上述建立的差异蛋白谱进行聚类计算,以宏观展示各元素及样本之间的亲疏差异,并用 Java Tree view 软件进行聚类热图展示。图 3 直观显示了病例组与正常对照组之间的血清蛋白表达明显分离。

2.4 差异表达蛋白质的 GO(David)分析

将研究发现的差异表达蛋白通过在线数据库 DAVID 软件进行功能注释汇总后进行生物进程 (Biological process,BP)功能分析。本研究以 Enrichment score 富集系数 >1.3 为标准进行筛选,共筛选到 18 个生物进程,差异蛋白富集于免疫反应、凋亡调节、血管形成反应、酶相关蛋白信号以及信号调控等方面(具体见图 4)。

3 讨论

大量研究显示胃癌发现的早晚及治疗的及时与否直接影响患者的预后,日本目前早期胃癌的诊断率可达 80%以上^[4],而在中国,即使在北京和上海,胃癌的早期发现率也只在 14-17%,绝大多数患者在确诊时已属进展期,造成这种现象的主要原因就是缺少一种行之有效的胃癌早期筛查手段。

高通量蛋白芯片的出现和技术的不断成熟为胃癌的差异

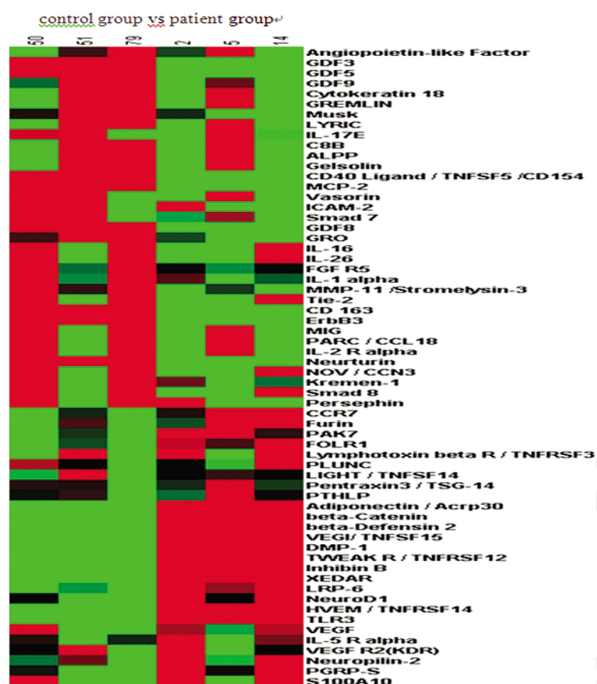


图3 病例组和正常对照组的差异蛋白聚类分析谱图

Fig. 3 Clustering analysis of spectra between case group and control group

蛋白筛选提供了一个很好的选择。最近,希腊 Miyoshi H 等^[4]通过 Raybiotech L 系列蛋白芯片(L-507 Slide)筛选结直肠癌与正常人群之间的差异蛋白,发现在结直肠癌组织中 IL-1 α 、GRO、Glut5、MIG、ICAM-5 表达水平等较正常组织升高,有望成为结直肠癌的肿瘤标志物。

本研究应用 Raybiotech 公司的 L 系列人抗体芯片 AAH-BLG-1000,通过对 3 例早期胃癌患者与 3 例健康成人血清中 1000 种蛋白因子的差异表达水平的比较,筛选出 62 种具有统计学意义的差异蛋白,其中表达上调的蛋白有 10 个,而表达下调的蛋白有 52 个,为进一步的实验验证,并从中筛选出有利于诊断早期胃癌的肿瘤标志物打下了基础。既往研究显示恶性肿瘤的生长伴随着新生血管的大量生成,VEGI 的存在,呈剂量依赖性的阻止 VEGF 刺激下的毛细血管生成,通过抑制新生血管的生成,从而起到抑制恶性肿瘤的发生、发展的作用,使恶性肿瘤细胞在 G0/G1 期生长停滞,诱导处于增殖期的细胞凋亡^[5]。本研究结果显示 VEGI 在 3 例早期胃癌病人中均表达缺失,其在早期胃癌组与正常对照组之间的表达水平存在绝对的差异,提示了 VEGI 作为筛查早期胃癌肿瘤标志物的可能,将来我们需要收集更多的早期胃癌病例进行 VEGI 的筛查和验证。

SMAD7 是一种抑制型的 SMAD 蛋白,大量的文献显示随着胃癌的进展,SMAD7 的表达水平逐步增高^[6]。而本实验结果显示早期胃癌组患者血清 SMAD7 水平较正常对照组明显降低,而国内文献仅有一篇提示胃癌患者的 SMAD7 水平下降^[7],国外有文献报道早期胃癌患者组织及血浆中 miRNA-106b 高表达^[8],通过抑制 SMAD7 蛋白的表达,增加 TGF- β 表达,促进胃黏膜上皮-间质之间的转化,形成促癌效应^[9],这与 SMAD7 蛋白的基本生物学功能相符,也解释了早期胃癌患者 SMAD7 蛋白较正常人表达低下的原因。血清 SMAD7 蛋白或许能为早期胃癌的诊断提供一个很好的切入点。

既往的研究对于 CD40L 与胃癌的关系存在争议^[10]。国内

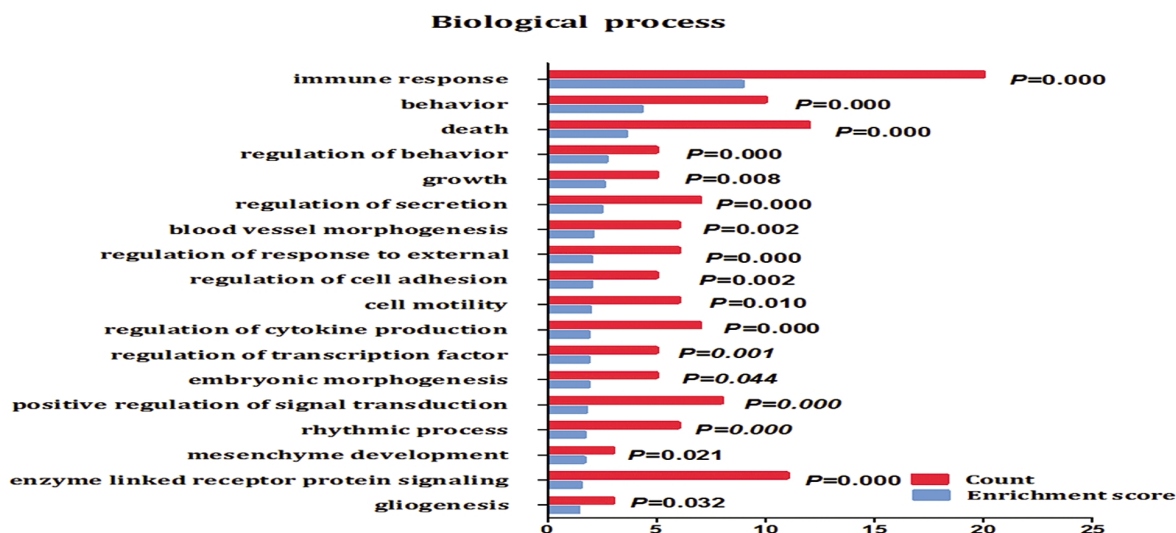


Fig. 4 Analysis of the biological process of differentially expressed proteins

多项研究显示胃癌组织及血清中 CD40L 水平均明显升高^[11]。而本组研究结果显示胃癌患者的 CD40L 表达水平比正常对照人群明显降低。2010 年,有研究报道^[12]以浓度为 1 mg/L 的可溶性 CD40L 处理胃癌细胞 AGS,可诱导肿瘤细胞增殖。而在另一项高浓度 CD40L 对胃癌细胞生长影响的研究中^[13]出现了截然相反的结论,外源性增加 CD40L(2mg/l)对于 CD40 阳性胃癌

细胞的增殖具有直接的抑制作用,使其细胞周期停留在 G0/G1 期,进而诱导细胞凋亡,此效应与 CD40L 呈浓度依赖性。这就解释了本次实验结果中 CD40L 低表达的原因。在早期胃癌局限于粘膜层时,T 细胞表面的 CD40L 表达下降,呈低浓度状态,降低机体对于肿瘤细胞的递呈作用,由 CD40L 介导的凋亡作用减弱,有利于早期肿瘤的生长。当然,由于本次实验所涉及

样本过少,尚需要进一步的增加样本以明确在早期粘膜内胃癌患者与正常对照组间 CD40L 水平的差异。

疱疹病毒侵入介导体配体(LIGHT)属肿瘤坏死因子超家族成员,共有三种受体,分别为 LT β R、HEVM 和 DcR3。国外有研究报道 HVEM 和 LT β R 两个 LIGHT 受体之间存在协同效应, LIGHT 的促凋亡效应需要细胞同时表达以上两种受体,而单一表达 HVEM 不仅不会产生凋亡效应,反而通过刺激机体产生 IFN γ ,促进肿瘤细胞的增殖^[4]。对肝癌^[5]和肺癌^[6]可溶性 HVEM 的研究显示,HVEM 水平与肿瘤临床分期、疾病的进展及预后呈正相关。本实验结果显示早期胃癌患者的血清 LIGHT 和 LT β R 呈低表达(其中 LT β R 的表达水平之间的差异更具统计学差异, $P<0.001$),而 HVEM 的表达水平明显增高,提示在早期胃癌阶段,LIGHT 蛋白通路由于 LIGHT 的低表达以及 HEVM 和 LT β R 的差异表达促进胃癌细胞的增殖。

肺腺癌上皮癌相关蛋白(PLUNC)是一种天然的免疫防御蛋白,在体内广泛参与机体的天然免疫应答过程。PLUNC 蛋白主要表达在上呼吸道、下呼吸道以及消化道。既往研究结果显示 PLUNC 蛋白在慢性鼻窦炎^[7]及肺炎^[8]组织中呈高表达,在鼻息肉和鼻咽癌组织中表达低下。在鼻咽癌中过表达 PLUNC 可以有效抑制肿瘤细胞增殖,起到促凋亡作用^[9]。而 PLUNC 与早期胃癌的关系目前尚无相关的文献论述。本实验发现早期胃癌患者血清 PLUNC 蛋白的表达明显降低,其具体机制尚不明确,是否为肿瘤基因抑制机体的免疫反应所致,尚有待于进一步的实验证明。

神经营养因子(Neurturin)对中枢及外周 DA 神经元具有明显的营养支持和损伤修复的作用,同时在神经再生中具有促进神经微环境中血管生成的作用。针对胰腺癌的研究^[10]发现在肿瘤缺氧的微环境中,Neurturin 的表达下调导致肿瘤细胞神经浸润,但其与胃癌之间的关系尚没有明确的报道,Neurturin 在早期胃癌外周血清中的表达呈现均一性的下调是否与肿瘤微环境缺氧相关抑或是其他特征性的意义,也有待于进一步的实验明确。

综上所述,VEGI、SMAD7、PLUNC、NTN、CD40L、HVEM 和 LT β R 在早期胃癌的特征性改变,或许有望成为早期胃癌血清学的肿瘤标志物。但本研究纳入的样本相对较少,在接下来的研究中我们将进一步的收集病例验证。同时,生物学分析显示的差异蛋白在早期胃癌阶段富集于免疫反应、凋亡调节、血管形成反应、酶联受体蛋白信号等生物学进程也为进一步的研究早期胃癌的生物学特征指明了方向。

参考文献(References)

- [1] 梁玉萍,刘维花,杨落落等.早期胃癌的筛查[J].中华内科杂志,2014,53(4): 325-326
Liang Yu-ping, Liu Wei-hua, Yang Luo-luo, et al. Early gastric cancer screening[J]. Chinese Journal of Internal Medicine, 2014, 53(4): 325-326
- [2] O'Rourke DJ, DiJohnson DA, Caiazzo RJ Jr, et al. Autoantibody signatures as biomarkers to distinguish prostate cancer from benign prostatic hyperplasia in patients with increased serum prostate specific antigen[J]. Clin Chim Acta, 2012, 413(5-6): 561-567
- [3] Jiang W, Huang R, Duan C, et al. Identification of five serum protein markers for detection of ovarian cancer by antibody arrays [J]. PLoS One, 2013, 8(10): e76795
- [4] Miyoshi H, Morishita A, Tani J, et al. Expression profiles of 507 proteins from a biotin label-based antibody array in human colorectal cancer[J]. Oncol Rep, 2014, 31(3): 1277-1281
- [5] Gao Y, Ge Z, Zhang Z, et al. Vascular endothelial growth inhibitor affects the invasion, apoptosis and vascularisation in breast cancer cell line MDA-MB-231[J]. Chin Med J (Engl), 2014, 127(10): 1947-1953
- [6] Zizi-Sermpetzoglou A, Myoteri D, Arkoumani E, et al. A study of Smad4 and Smad7 expression in surgically resected samples of gastric adenocarcinoma and their correlation with clinicopathological parameters and patient survival[J]. J BUON, 2014, 19(1): 221-227
- [7] 李春辉,潘理会,张德利,等.胃癌组织 TGF- β 1、Smad7 与 ki-67 mRNA 表达及其相关性分析[J].实用医学杂志,2014, (5): 751-754
Li Chun-hui, Pan Li-hui, Zhang De-li, et al. Correlation of expressions of TGF- β 1, Smad7 and ki-67 mRNA and the clinicopathologic characteristics in gastric carcinoma [J]. The Journal of Practical Medicine, 2014, (5): 751-754
- [8] Zhang R, Wang W, Li F, et al. MicroRNA-106b~25 expressions in tumor tissues and plasma of patients with gastric cancers [J]. Med Oncol, 2014, 31(10): 243
- [9] Li F, Liu J, Li S. MicorRNA 106b approximately 25 cluster and gastric cancer[J]. Surg Oncol, 2013, 22(2): e7-10
- [10] Korniluk A, Kemona H, Dymicka-Piekarska V. Multifunctional CD40L: pro- and anti-neoplastic activity[J]. Tumour Biol, 2014
- [11] 邵丽玮,温艳惠,陈旭,等.单核细胞趋化蛋白和 CD40L 在胃癌中的表达差异及相互关系[J].山西医药杂志,2010, 39(5): 421-422
Shao Li-wei, Wen Yan-hui, Chen Xu, et al. Correlation of expressions of MCP-1 and CD40L in gastric cancer [J]. Shanxi Med J, 2010, 39 (5): 421-422
- [12] 宁永玲,戚春建,钱科卿. CD40 配体对胃癌细胞 AGS 生长的影响及其作用机制[J].细胞与分子免疫学杂志,2010, 26(9): 943-945
Ning Yong-ling, Qi Chun-jian, Qian Ke-qing. Influence of sCD40L on gastric cancer AGS cell lines [J]. Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology, 2010, 26(9): 943-945
- [13] Li R, Chen WC, Pang XQ, et al. Influence of sCD40L on gastric cancer cell lines[J]. Mol Biol Rep, 2011, 38(8): 5459-5464
- [14] Zhai Y, Guo R, Hsu TL, et al. LIGHT, a novel ligand for lymphotoxin beta receptor and TR2/HVEM induces apoptosis and suppresses in vivo tumor formation via gene transfer[J]. J Clin Invest, 1998, 102(6): 1142-1151
- [15] 胡国艳,刘伟,郑淑华,等.原发性肝癌患者血清可溶性 HVEM 的检测及其临床意义[J].热带医学杂志,2011, 11(8): 905-907
Hu Guo-yan, Liu Wei, Zheng Shu-hua, et al. Clinical significance of determination of serum HVEM in patients with primary hepatic carcinoma[J]. J Trop Med, 2011, 11(8): 905-907
- [16] 王小梅,刘伟,郑淑华,等.肺癌患者血清可溶性 HVEM 的检测及临床意义[J].现代预防医学,2011, 38(11): 2103-2104, 2108
Wang Xiao-mei, Liu Wei, Zheng Shu-hua, et al. Detection of Soluble Hvem in the Patients with Lung Cancer and ite Clinical Significance [J]. Modern Preventive Med, 2011, 38(11): 2103-2104, 2108

- [2] Emma S, Thomas H, George R. Molecular pathways and therapeutic targets in lung cancer[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(6): 1392-1433
- [3] Alberto A, Stefano C, Alice I, et al. EGFR-Targeted Therapy for Non-Small Cell Lung Cancer: Focus on EGFR Oncogenic Mutation [J]. *Int J Med Sci*, 2013, 10(3): 320-330
- [4] Markus C, Bernd K. Transcriptional regulation of human DNA repair genes following genotoxic stress: trigger mechanisms, inducible responses and genotoxic adaptation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(18): 8403-8420
- [5] Matthias B, Enni M, Barbara L, et al. Base Excision Repair in Physiology and Pathology of the Central Nervous System [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(12): 16172-16222
- [6] Neal IL, Philip TC, Mary BB, et al. Molecular Testing Guideline for Selection of Lung Cancer Patients for EGFR and ALK Tyrosine Kinase Inhibitors: Guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology[J]. *J Thorac Oncol*, 2013, 8(7): 823-859
- [7] Shimizu J, Horio Y, Osada H, et al. mRNA expression of RRM1, ERCC1 and ERCC2 is not associated with chemosensitivity to cisplatin, carboplatin and gemcitabine in human lung cancer cell lines [J]. *Respirology*, 2008, 13(4): 510-517
- [8] Li PY, Hu XM, Gan Y, et al. Mechanistic Insight into DNA Damage and Repair in Ischemic Stroke: Exploiting the Base Excision Repair Pathway as a Model of Neuroprotection [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14(10): 1905-1918
- [9] Adebanye FF, Barbara O. Regulation of endonuclease activity in human nucleotide excision repair [J]. *DNA Repair (Amst)*, 2011, 10(7): 722-729
- [10] Fadi SF, Wissam H. Targeted therapies in non-small cell lung carcinoma: what have we achieved so far?[J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2013, 5(4): 249-270
- [11] Tae-Hong K, Joyce TR, Aziz S, et al. Regulation of nucleotide excision repair activity by transcriptional and post-transcriptional control of the XPA protein [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(8): 3176-3187
- [12] Sanath RW, Md FA, Hai X, et al. Targeting the Large Subunit of Human Ribonucleotide Reductase for Cancer Chemotherapy [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2011, 4(10): 1328-1354
- [13] Zhang CG, Liu GQ, Huang MX. Ribonucleotide reductase metallocofactor: assembly, maintenance and inhibition [J]. *Front Biol (Beijing)*, 2014, 9(2): 104-113
- [14] Nicholas OR, Betty KS. Imexon enhances gemcitabine cytotoxicity by inhibition of ribonucleotide reductase [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2011, 67(1): 183-192
- [15] Ramon AM, Dânia SM, Rui M. Epidermal growth factor receptor and K-Ras in non-small cell lung cancer-molecular pathways involved and targeted therapies[J]. *World J Clin Oncol*, 2011, 2(11): 367-376
- [16] Charles AK, Kathryn W, Adam P, et al. Dicker, Ribonucleotide Reductase Expression in Cervix Cancer: a Radiation Therapy Oncology Group Translational Science Analysis [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2013, 23(4): 615-621
- [17] Charles AK, Valdir CC. Radiosensitization of human cervical cancer cells by inhibiting ribonucleotide reductase: Enhanced radiation response at low-dose-rates [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2011, 80(4): 1198-1204
- [18] Shu F, Wang ZH. EGFR mutations as a prognostic and predictive marker in non-small-cell lung cancer[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2014, 8(11): 1595-1611
- [19] Muhammad F, Mansour AM, Khawaja F, et al. Individualised Treatment of Metastatic Non-Small-Cell Lung Carcinoma (NSCLC) [J]. *Sultan Qaboos Univ Med J*, 2013, 13(2): 202-217
- [20] Timothy AY, Sanjay P. Toward precision medicine with next-generation EGFR inhibitors in non-small-cell lung cancer [J]. *Pharmacogenomics Pers Med*, 2014, 7(3): 285-295

(上接第 3018 页)

- [17] Wu MM, Sun H, Nan Q. Expression and clinical significance of PLUNC protein in nasal polyp and chronic sinusitis tissue [J]. *Ear Nose Throat J*, 2012, 91(7): 282-285
- [18] 陆奇胜, 张佳, 张涵, 等. 天然免疫蛋白 PLUNC 在鼻息肉中的表达及与鼻息肉临床特征的关联性 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2014, 28(11): 764-767
- Luo Qi-shen, Zhang Jia, Zhang Han, et al. Expression of palate, lung, and nasal epithelial clone in primary and recurrent nasal polyps [J]. *J Clin Otorhinolaryngology Head Neck Surg*, 2014, 28(11): 764-767
- [19] 梁芳, 曾朝阳, 李桂源. 鼻咽癌相关固有免疫分子及其潜在临床转化前景[J]. *转化医学杂志*, 2013, (01): 1-3
- Liang Fang, Zeng Zhao-yang, Li Gui-yuan. Nasopharyngeal carcinoma related innate immune molecules and their potential value in translational medicine[J]. *Translational Med J*, 2013, (01): 1-3
- [20] Wang K, Demir IE, D'Haese JG, et al. The neurotrophic factor neurturin contributes toward an aggressive cancer cell phenotype, neuropathic pain and neuronal plasticity in pancreatic cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2014, 35(1): 103-113