

· 论 著 ·

肾母细胞瘤患儿 SIX2 基因的转录表达 及其启动子甲基化状态的意义分析

石红松, 刘四喜, 王缨, 麦惠容, 袁秀丽

深圳市儿童医院血液肿瘤科, 广东 深圳 518026

摘要: **目的** 探究小儿肾母细胞瘤(WT)组织和血液中 SIX2 基因在 mRNA 水平的相对表达量及启动子是否发生甲基化,并观察其与患儿的基本临床资料之间的关系,以期为临床靶向基因治疗提供科学的依据。**方法** 选择 2011 年 3 月至 2015 年 7 月就诊并确诊的 64 例 WT 患儿[男 30 例,女 34 例;年龄 3~67(26.9±8.6)月]为研究对象,运用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)和甲基化特异性聚合酶链反应(MSP)分别检测患儿 WT 组织、瘤旁组织和外周血以及 18 例健康儿童外周血中 SIX2 基因在 mRNA 水平的相对表达量及启动子甲基化状态。**结果** WT 患儿瘤组织 SIX2 mRNA 的相对表达量明显高于瘤旁正常组织($P<0.01$),SIX2 mRNA 启动子的甲基化阳性率明显低于瘤旁正常组织($P<0.01$);WT 患儿外周血中 SIX2 mRNA 的表达量明显高于对照组外周血($P<0.01$),SIX2 基因启动子的甲基化阳性率明显低于对照组外周血($P<0.01$)。WT 患儿组织 SIX2 基因相对表达量与患儿肿瘤大小、临床分期、病理类型、淋巴转移、血管浸润有关($P<0.05$, $P<0.01$),而与性别、年龄和复发无明显关系(P 均 >0.05)。SIX2 基因启动子的甲基化与上述临床资料均无明显关系(P 均 >0.05)。随访 36 个月,死亡 42 例,存活 22 例,3 年存活率 34.4%;SIX2 mRNA 相对表达量 >2.8 和 ≤ 2.8 的患儿存活率(23.8% vs 54.5%, $P<0.05$)和存活时间[(13.3±5.2)月 vs (22.2±8.7)月, $P<0.01$]比较,差异均有统计学意义。SIX2 启动子甲基化表达阴性和阳性的患儿 3 年存活率(14.3% vs 44.2%, $P<0.05$)和存活时间[(14.5±4.5)月 vs (22.1±4.9)月, $P<0.01$]比较,差异均有统计学意义。**结论** SIX2 基因的高表达和其启动子的未甲基化可能是 WT 的发病基础,SIX2 基因或可作为 WT 基因治疗的靶目标。

关键词: SIX2 基因;肾母细胞瘤;SIX2 启动子甲基化;实时荧光定量聚合酶链反应;甲基化特异性聚合酶链反应

中图分类号: R 737.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2016)02-0189-05

The significance of transcriptional expression of SIX2 gene and its promote methylation status in pediatric patients with nephroblastoma

SHI Hong-song, LIU Si-xi, WANG Ying, MAI Hui-rong, YUAN Xiu-li

Department of Hematology and Oncology, Shenzhen Children's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518026, China

Abstract: Objective To investigate the relative expression quantity of SIX2 mRNA in tissues and blood in pediatric patients with nephroblastoma (Wilm tumor, WT) and promoter methylation status, and observe their association with clinicopathological features of WT patients in order to provide a scientific basis for the clinical target gene therapy. **Methods** A total of 64 confirmed WT pediatric patients [30 cases in male, 34 cases in female, age: 3~67(26.9±8.6) months] visited from March 2011 to July 2015 were selected as research objects, and 18 healthy children were selected as control (control group). Real time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) and methylation specific polymerase chain reaction (MSP) were used to respectively detect the relative expression quantity and promoter methylation status of SIX2 mRNA in WT tissues, tumor adjacent tissues and peripheral blood of WT patients and in peripheral blood of healthy children. **Results** For WT patients, the relative expression quantity of SIX2 gene in tumor tissues was significantly higher than that in tumor adjacent normal tissues ($P<0.01$), and the promoter methylation positive rate of SIX2 gene in tumor tissues was significantly lower than that in tumor adjacent normal tissues ($P<0.01$). The relative expression quantity of SIX2 gene in peripheral blood of WT patients was significantly higher than that in peripheral blood of control group ($P<0.01$), and the promoter methylation positive rate of SIX2 gene in peripheral blood of WT patients was significantly lower

than that in peripheral blood of control group ($P < 0.01$). The relative expression quantity of SIX2 gene in tumor tissues was associated with tumor size, clinical stage, pathological type, lymph node metastasis and vascular invasion ($P < 0.05$, $P < 0.01$), but was not significantly associated with sex, age and relapse (all $P > 0.05$). The promoter methylation status of SIX2 gene was not associated with all the aforementioned clinical data (all $P > 0.05$). In follow-up period of 36 months, 42 cases died, and 22 cases survived, thus the 3-year survival rate was 34.4%. There were significant differences in 3-year survival rates (23.8% vs 54.5%, $P < 0.05$) and survival time [(13.3 ± 5.2) months vs (22.2 ± 8.7) months, $P < 0.01$] between patients with mean SIX2 gene expression quantity of more than 2.8 and less than or equal to 2.8. There were significant differences in 3-year survival rates (14.3% vs 44.2%, $P < 0.05$) and survival time [(14.5 ± 4.5) months vs (22.1 ± 4.9) months, $P < 0.01$] between patients with negative and positive SIX2 gene promoter methylation. **Conclusion**

The high-expression of SIX2 gene and promoter no-methylation may be the pathogenic foundation of WT, and perhaps SIX2 gene can be served as a target of gene therapy.

Key words: SIX2 gene; Nephroblastoma; SIX2 promoter methylation; Real time fluorescence quantitative polymerase chain reaction; Methylation specific polymerase chain reaction

肾母细胞瘤 (nephroblastoma, Wilms tumor, WT) 作为婴幼儿常见的恶性实体类肾脏肿瘤之一,其每年新增患者人数约为 $3/10^6 \sim 5.5/10^5$,且多为新生儿或年龄 ≤ 6 岁的幼儿^[1]。由于 WT 患儿对疾病的主体认识意识及对病症描述能力均不强,故其早期病症不易被察觉,往往贻误最佳诊疗时机。且该病肿瘤细胞可通过淋巴及血循环系统转移,浸润到其他脏器,引起多发性肿瘤,使得病情进一步恶化,造成患儿生命处于极大威胁之中^[2]。常规治疗 WT 的方式为手术和放化疗,它们均具有不错的疗效,但对患儿机体损伤较重,预后不确定性较强^[3]。本文通过测定患儿 WT 组织和血液中 SIX2 mRNA 表达量及 SIX2 基因启动子甲基化程度,探讨其临床意义,以期寻找合适的医学检测指标,提高 WT 早期诊断、疗效评估水平,从而有效提高患儿存活率。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2011 年 3 月至 2015 年 7 月来我院就诊并确诊的 64 例 WT 患儿为研究对象,男 30 例,女 34 例;年龄 3 ~ 67 (26.9 ± 8.6) 个月。其中 19 例位于肾上腺左侧,35 例位于肾上腺右侧,3 例位于腹部,6 例在纵隔,1 例位于颈部。32 例尿香草扁桃酸 (VMA) > 50 μmol/24 h, 20 例铁蛋白 (SF) > 150 μg/L, 18 例乳酸脱氢酶 (LDH) > 1 500 U, 26 例神经元特异性烯醇化酶 (NSE) > 100 μg/L。所有患儿均予手术治疗,并在术后进行化疗 (放线菌素 D + 长春新碱)^[4],总共治疗 3 ~ 8 周。根据 NWTS-5 标准进行临床分期: I ~ II 分期患者 42 例, III ~ IV 分期患者 22 例。同时收集同期进行健康检查 (包括门诊和住院) 的排除肿瘤疾病的儿童 18 例作为对照组。WT 纳入标准: (1) 腹部出现肿块, B 超显示可分辨囊性肿瘤; 并经过病理学检查证实; (2) 均在本院小儿外

科接受手术治疗; (3) 在术前未接受放疗、化疗等治疗措施; (4) 本研究获得患儿家长的知情同意。排除标准: (1) 合并其他部位恶性肿瘤者; (2) 术后未能对其进行随访观察者; (3) 出现严重的并发症者。

1.2 检测样本采集 患儿术前、对照组儿童空腹抽取上肘静脉外周血约 4 ml 分别滴入两支 EDTA 抗凝无菌试管,一支提取基因 DNA,一支提取淋巴细胞后滴入保存液; WT 患儿术中切取小块肿瘤组织样本 (用生理盐水冲洗干净) 及肿瘤旁正常组织,均放入 RNA 保存液。检验样本均放入 -80℃ 条件下冷存。

1.3 检测指标 取出样本后分离外周血淋巴细胞并提取肿瘤组织及血液 RNA,用 RNA 电泳法检测 RNA 完整性及逆转录合成 cDNA,使用实时荧光定量 PCR 法 (qRT-PCR) 测定 SIX2 基因的转录表达, β-action 及 SIX2 定量引物均购自上海生物工程有限公司。β-action 引物序列为: 上游 F-GATGATTGGCATG-GCTTT, 下游 R-CACCTTCCGTTCCAGTTT; SIX2 引物序列为: 上游 F-GCCGAGGCCAAGGAAAGGGAG, 下游 R-GAGTGGTCTGGCGTCCCCGA。分别取 96 孔反应板分别滴入 SYBR Premix Ex Taq II 为 10 μl、上游引物及下游引物各 0.8 μl、ROX Reference Dye II 为 0.5 μl、3 倍稀释后 cDNA 为 2 μl,再滴入 0.5 μl cDNA,后选取 10 μl ddH₂O 作为空白对照组,每孔均检测两次,复孔间检测值差 ≤ 1 ; 反应条件: 初始反应温度为 95℃, 95℃ 下 30 s, 60℃ 下 5 s, 退火温度 34 s, 共 40 个循环,溶解曲线初始反应温度 95℃, 95℃ 下 60 s, 60℃ 下 15 s, 退火温度 15 s。SIX2 mRNA 相对表达量 = $2^{-\Delta\Delta CT}$, $\Delta CT = CT_{SIX2} - CT_{\beta-action}$, $\Delta\Delta CT = \Delta CT_{\text{试验样本}} - \Delta CT_{\text{内对照}}$, 选择健康儿童外周血为内对照。使用亚硫酸氢钠处理血液及组织提取出来的 DNA,并采取硫化修饰 DNA,制备甲基化特异性 PCR (MSP) 阳性对照甲基化 DNA,PCR 检测 DNA 甲基化

特异性,选择亚硫酸盐处理后作为检测模板,阳性选作对照,空白对照使用去离子水,使用实验设计引物扩增。引物序列为:SIX2 甲基化-F:5'-ATGTTGTT-TATTTTCGTTTTACGT-3', SIX2 甲基化-R: 5'-CGCTTTCATTCTTATAAAAATACTG-3', SIX2 非甲基化-F: 5'-ATGTTGTTTATTTTGGTTTTATGT-3', SIX2 非甲基化-R: 5'-ACTTTCATTCTTATAAAAATACTCA-CA-3'。取 96 孔反应板分别滴入 SYBR Premix Ex Taq II 为 10 μl、上游引物及下游引物各 0.5 μl、Blend Tap-Plus 为 2.5 μl、模板 DNA 为 2 μl、2mM DNTPs 2.5 μl,后选取 1 0μl ddH₂O 作为空白对照组,每孔均检测两次;反应条件:初始反应温度为 94℃,95℃下 120 s,退火温度 30 s,72℃下 30 s,共 40 个循环,使用 2% 琼脂糖浓度凝胶电泳分离片段距离后于凝胶成像仪上分析并照相。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 21.0 进行数据统计分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,瘤组织和瘤旁正常组织中观察指标的比较,患儿外周血和对照组外周血中观察指标的比较,分别采用成组样本 *t* 检验;非参数

资料用频数和% 表示,组间差异性比较采用 χ^2 检验。*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 组织和血液中 SIX2 mRNA 的相对表达量和 SIX2 mRNA 启动子的甲基化状态比较 qRT-PCR 结果表明,WT 患儿瘤组织 SIX2 mRNA 的相对表达量明显高于瘤旁正常组织 (*P* < 0.01),SIX2 基因启动子的甲基化阳性率明显低于瘤旁正常组织 (*P* < 0.01);WT 患儿外周血中 SIX2 基因的相对表达量明显高于对照组外周血 (*P* < 0.01),SIX2 基因启动子的甲基化阳性率明显低于对照组外周血 (*P* > 0.01)。见表 1。

2.2 临床特征与 WT 患儿瘤组织 SIX2 mRNA 的相对表达量及甲基化之间的关系 qRT-PCR 结果表明,WT 患儿组织 SIX2 mRNA 相对表达量与患儿肿瘤大小、临床分期、病理类型、淋巴转移、血管浸润有关 (*P* < 0.05,*P* < 0.01),而与性别、年龄和复发无明显关系 (*P* 均 > 0.05)。SIX2 mRNA 启动子的甲基化

表 1 WT 患儿瘤组织、瘤旁正常组织、外周血及对照组外周血中 SIX2 mRNA 的相对表达量和甲基化状态

组别	例数	SIX2 mRNA($\bar{x} \pm s$)			甲基化[例(%)]		
		相对表达量	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	阳性	χ^2 值	<i>P</i> 值
WT 瘤组织	64	2.83 ± 1.23	6.338	<0.01	21(32.8)	18.017	<0.01
瘤旁正常组织	64	0.75 ± 1.23			45(70.3)		
WT 患儿外周血	64	1.95 ± 1.13	4.885	<0.01	10(15.6)	26.215	<0.01
对照组外周血	18	0.62 ± 0.41			14(77.8)		

表 2 患儿组织 SIX2 mRNA 的相对表达量及甲基化之间的关系

组别	例数	SIX2 mRNA($\bar{x} \pm s$)			甲基化[例(%)]		
		相对表达量	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	阳性	χ^2 值	<i>P</i> 值
男	30	3.23 ± 1.23	1.463	>0.05	8(26.7)	0.077	>0.05
女	34	2.75 ± 1.43			7(18.9)		
年龄(月)							
≤6	31	2.62 ± 1.41	0.1457	>0.05	9(29.0)	0.124	>0.05
>6	33	3.68 ± 2.96			10(3.0)		
肿瘤大小(cm)							
≤10	18	2.18 ± 0.97	6.152	<0.01	4(22.2)	0.056	>0.05
>10	46	3.79 ± 1.02			9(19.6)		
临床分期							
I ~ II	42	2.34 ± 1.17	4.312	<0.01	10(23.8)	0.009	>0.05
III ~ IV	22	3.73 ± 1.34			5(22.7)		
病理分型							
FH	40	2.69 ± 1.36	2.674	<0.05	8(20.0)	0.006	>0.05
UH	24	3.89 ± 1.07			5(20.8)		
淋巴转移							
无	58	2.76 ± 1.27	3.832	<0.01	10(17.2)	0.924	>0.05
有	6	4.18 ± 1.76			2(33.3)		
血管浸润							
有	50	2.56 ± 1.12	4.831	<0.01	15(30.0)	0.011	>0.05
无	14	3.99 ± 1.07			4(28.6)		
复发							
是	14	3.47 ± 1.18	1.868	>0.05	4(28.6)	0.268	>0.05
否	50	2.87 ± 1.29			18(36.0)		

注:FH(Favorable Histology,预后良好型);UH(unfavorabte Histology,预后不良型)。

表 3 随访 3 年 WT 患儿 SIX2 mRNA 相对表达量与预后的关系

SIX2 mRNA	例数	存活[例(%)]	存活时间(月, $\bar{x}\pm s$)
>2.8	42	10(23.8)	13.3 $\pm$ 5.2
≤ 2.8	22	12(54.5)	22.2 $\pm$ 8.7
χ^2/t 值		6.046	11.271
P 值		<0.05	<0.01

表 4 随访 3 年 WT 患儿甲基化阳性与否与预后的关系

甲基化	例数	存活[例(%)]	存活时间(月, $\bar{x}\pm s$)
阴性	21	3(14.3)	14.5 $\pm$ 4.5
阳性	43	19(44.2)	22.1 $\pm$ 4.9
χ^2/t 值		5.592	13.246
P 值		<0.05	<0.01

与上述临床资料均无明显关系(P 均>0.05)。见表 2。

2.3 WT 患儿 SIX2 mRNA 的相对表达量及甲基化与其预后的关系 64 例 WT 患儿,全部接受 36 个月随访,其中死亡 42 例,存活 22 例,3 年存活率 34.4%,SIX2 mRNA 相对表达量>2.8 和 ≤ 2.8 的患儿存活率和存活时间比较,差异均有统计学意义($P<0.05,P<0.01$)。见表 3。SIX2 启动子甲基化阴性和阳性的患儿 3 年存活率和存活时间比较,差异均有统计学意义($P<0.05,P<0.01$)。见表 4。

3 讨 论

SIX 作为一种进化保守性蛋白类转录因子,其和脊椎生物体的器官及组织形成具有密切关系,并可促进机体细胞增殖及发育^[5-6]。SIX 蛋白族群能够影响正常细胞及肿瘤细胞的生长发育,且经检测乳腺癌及卵巢癌肿瘤组织标本的结果显示 SIX 呈现显著高表达,其和该两种恶性肿瘤的产生及发展具有相关性^[7]。Zhou 等^[8]也证明,SIX 蛋白转录及翻译过程中的错误性修饰可诱发多种原发性癌症及促进癌症继发性转移或浸润。SIX2 属于 SIX 家族重要的成员之一,具有调控生物体包括人类各组织及器官生长发育的作用^[9],SIX2 基因突变可致人体肾结构缺陷及肾功能障碍,并能够诱发肾脏囊肿,导致部分人出现尿液经输尿管反流至肾脏。小鼠动物试验也显示,肾小球发育异常的小鼠机体内 SIX 表达呈现下降趋势,可引起此类小鼠发生后续多囊肾和肾单元减少,并导致其水电解质水平显著低于正常小鼠,诱发严重肾衰竭^[10],故研究者认为 SIX2 表达水平和肾脏组织病变具有一定相关性。

随着关于 WT 的研究逐渐增多,通过测定 WT 患者肿瘤标本及外周血内 SIX2 的表达特点,结果显示

SIX2 是肾祖细胞自我更新的基础,并可有效标识该细胞增殖及发育进展情况,同时该蛋白在 WT 组织具有较高活性^[11],通过改变其表达及活性水平能够作为 WT 基因治疗新手段,抑制 WT 进一步发展。本文通过测定 WT 患儿肿瘤组织、瘤旁组织、外周血和正常对照儿童外周血 SIX2 表达水平,结果显示瘤组织和 WT 患儿外周血中 SIX2 基因的表达量分别高于瘤旁正常组织和正常儿童外周血,提示 SIX2 与 WT 发生的相关性,这可能是因为幼儿早期胚胎发育期的肾脏内 SIX2 处于高激活状态,在中、后期的胚胎发育期内,其肾脏内 SIX2 活性下调,而当幼儿出生后肾脏发育逐渐趋于成熟,SIX2 仍呈现持续性下降;当幼儿机体内 SIX2 活性重新被上调到高激活状态或因先天性缺陷而一直未出现活性下调,便可导致肾母细胞癌变。同时,本研究显示 WT 患儿组织 SIX2 基因相对表达量在不同肿瘤大小、临床分期、病理类型、淋巴转移、血管浸润和复发中比较,差异具有统计学意义,提示 WT 组织 SIX2 表达的变化可能和癌细胞增殖、浸润和转移具有相关性,而高表达 SIX2 癌症患儿肿瘤细胞迁移和再生几率可能较高。

既往研究显示,表观遗传因子突变可导致多种疾病及癌症的发生及发展,其可帮助医学研究者从分子层面探究疾病或癌症的产生机制,并可根据表观遗传信息化学性逆转机制寻找治疗的新靶点,而 DNA 甲基化属于最重要的表观遗传信息内容之一,其能够调控机体基因表达变化^[12],并显著影响细胞增殖、分化及凋亡。有研究者认为 WT 患儿肾脏组织内 SIX2 基因启动因子表现低程度甲基化,并进一步造成肾分化缺陷。在本研究中,瘤组织和患儿血液中 SIX2 基因启动子的甲基化阳性率明显低于正常组织和血液,表明 SIX2 启动子低甲基化表现可能和 WT 的产生具有相关性。进一步随访显示,WT 患儿 3 年存活率 34.4%,SIX2 基因表达量>2.8 的存活率、存活时间均显著低于表达量 ≤ 2.8 的患儿;SIX2 启动子甲基化阴性患儿 3 年存活率、存活时间均显著低于甲基化阳性患儿。显示 SIX2 表达量越高,患儿预后越差;SIX2 启动子未甲基化患儿也呈现存活率显著降低的趋势。故我们认为下调 SIX2 基因表达量及 SIX2 启动子甲基化可作为改善 WT 患儿预后治疗的新靶点。

综上所述,SIX2 基因的高表达和启动子的未甲基化可能是 WT 的发病基础,因此其或可作为 WT 基因治疗的靶目标,值得在临床上进一步研究。

(下转第 198 页)

皮细胞损伤的抑制作用[J]. 中国体外循环杂志, 2013, 11(4): 242-247.

[12] 薛新, 刘志勇. 内毒素诱导急性肺损伤大鼠血清对内皮细胞通透性的影响及乌司他丁的保护作用研究[J]. 东南大学学报(医学版), 2011, 30(4): 594-597.

[13] Nishijima J, Hiraoka N, Murata A, et al. Protease inhibitors (geboxate mesylate and ulinastatin) stimulate intracellular chemiluminescence in human neutrophils[J]. J Leukoc Biol, 1992, 52(3): 262-268.

[14] Ni L, Li T, Liu B, et al. The protective effect of Bcl-xl overexpression against oxidative stress-induced vascular endothelial cell injury and the role of the Akt/eNOS pathway[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(11): 22149-22162.

[15] Nicholson SK, Tucker GA, Brameld JM. Physiological concentrations of dietary polyphenols regulate vascular endothelial cell expression of genes important in cardiovascular health[J]. Br J Nutr, 2010, 103(10): 1398-1403.

[16] Gao C, Liu Y, Ma L, et al. Protective effects of ulinastatin on pulmonary damage in rats following scald injury[J]. Burns, 2012, 38(7): 1027-1034.

[17] 雷兰萍, 魏毅君, 熊红燕, 等. 乌司他丁对外源性过氧化氢介导内皮细胞损伤的保护作用[J]. 中国体外循环杂志, 2013, 11(4): 238-241.

[18] Cao G, Cai H, Cai B, et al. Effect of 5-hydroxymethylfurfural derived from processed Cornus officinalis on the prevention of high glucose-induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells and its mechanism[J]. Food Chem, 2013, 140(1/2): 273-279.

[19] Zhang J, Wang Z, Zuo G, et al. Low shear stress induces human vascular endothelial cell apoptosis by activating Akt signal and increasing reactive oxygen species[J]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2013, 33(3): 313-317.

[20] Yang D, Liu Z, Zhang H, et al. Ghrelin protects human pulmonary artery endothelial cells against hypoxia-induced injury via PI3-kinase/Akt[J]. Peptides, 2013, 42: 112-117.

[21] Jin YC, Lee YS, Kim YM, et al. (S)-1-(alpha-naphthylmethyl)-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (CKD712) reduces rat myocardial apoptosis against ischemia and reperfusion injury by activation of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling and anti-inflammatory action in vivo[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2009, 330(2): 440-448.

[22] Yan J, Li L, Khatibi NH, et al. Blood-brain barrier disruption following subarachnoid hemorrhage may be facilitated through PUMA induction of endothelial cell apoptosis from the endoplasmic reticulum[J]. Exp Neurol, 2011, 230(2): 240-247.

[23] Zhou C, Yamaguchi M, Kusaka G, et al. Caspase inhibitors prevent endothelial apoptosis and cerebral vasospasm in dog model of experimental subarachnoid hemorrhage[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2004, 24(4): 419-431.

[24] 刘晓毅, 车向明. 乌司他丁通过抑制肠黏膜细胞凋亡减轻大鼠肠道缺血-再灌注损伤[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2010, 31(5): 566-569.

[25] 蒋龙元, 杨炼红, 钟娃, 等. 乌司他丁对失血性休克大鼠回肠黏膜细胞凋亡的影响[J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(9): 542-545.

[26] Ulrich D, Ulrich F, Silny J, et al. Chiparray-based identification of gene expression in HUVECs treated with low frequency electric fields[J]. Handchir Mikrochir Plast Chir, 2006, 38(3): 149-155.

[27] Mukai Y, Shimokawa H, Matoba T, et al. Acute vasodilator effects of HMG-CoA reductase inhibitors; involvement of PI3-kinase/Akt pathway and Kv channels[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2003, 42(1): 118-124.

收稿日期: 2015-09-15 修回日期: 2015-10-20 编辑: 周永彬

(上接第 192 页)

参考文献

[1] 宋东建. 小儿肾母细胞瘤中 P73 和 SIX2 基因的表达及甲基化相关性研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2013.

[2] Pierce J, Murphy AJ, Panzer A, et al. SIX2 Effects on Wilms Tumor Biology[J]. Transl Oncol, 2014, 7(6): 800-811.

[3] Murphy AJ, Axt JR, de Caestecker C, et al. Molecular characterization of Wilms' tumor from a resource-constrained region of sub-Saharan Africa[J]. Int J Cancer, 2012, 131(6): E983-994.

[4] 张大伟, 金眉, 周春菊, 等. 儿童肾母细胞瘤合并肺转移的临床特点和治疗[J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(3): 415-417.

[5] 许涛, 景红霞, 李林均. 肾母细胞瘤的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(13): 1928-1931.

[6] 宋东建, 岳丽芳, 杨合英, 等. SIX2 基因在肾母细胞瘤患儿血液中的表达及其甲基化[J]. 中华医学杂志, 2013, 93(24): 1876-1880.

[7] Xu J, Liu H, Park JS, et al. Osr1 acts downstream of and interacts synergistically with Six2 to maintain nephron progenitor cells during kidney organogenesis[J]. Development (Cambridge, England), 2014, 141(7): 1442-1452.

[8] Zhou P, Chen T, Fang Y, et al. Down-regulated Six2 by knockdown of neurofibromin results in apoptosis of metanephric mesenchyme cells in vitro[J]. Mol Cell Biochem, 2014, 390(1/2): 205-213.

[9] Pierce J, Murphy AJ, Panzer A, et al. SIX2 Effects on Wilms Tumor Biology[J]. Transl Oncol, 2014, 7(6): 800-811.

[10] He G, Tavella S, Hanley KP, et al. Inactivation of Six2 in mouse identifies a novel genetic mechanism controlling development and growth of the cranial base[J]. Dev Biol, 2010, 344(2): 720-730.

[11] Kiefer SM, Robbins L, Rauchman M. Conditional expression of Wnt9b in Six2-positive cells disrupts stomach and kidney function[J]. PloS One, 2012, 7(8): e43098.

[12] 许晶, 张雷, 梅长林. 急性肾损伤肾小管再生修复调控的研究进展[J]. 中华肾脏病杂志, 2013, 29(8): 631-634.

收稿日期: 2015-08-31 修回日期: 2015-09-24 编辑: 周永彬