

# 利用基因芯片技术筛选人卵巢癌耐药差异表达基因

冯同富<sup>1</sup>, 李力<sup>2</sup>, 张玮<sup>2</sup>, 王琪<sup>2</sup>, 黎丹戎<sup>2</sup>, 唐步坚<sup>2</sup>

(1.湖北省妇幼保健院, 湖北 武汉 430000;

2.广西医科大学附属肿瘤医院, 广西 南宁 530021)

**摘要:** [目的] 比较卵巢上皮癌铂类耐药和非铂类耐药细胞间的基因表达差异, 并进行相关基因的筛选和鉴定。 [方法] 采用人类全基因组表达谱芯片对卵巢癌铂类耐药细胞 SKOV3/CB 和亲本细胞 SKOV3 进行差异基因的筛选和分析; 用半定量逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 对部分芯片结果进行核对验证。 [结果] 共分离筛选出差异基因 3506 个, SKOV3/CB 比 SKOV3 上调的差异基因共有 1712 个, 其中上调 10 倍以上的共有 163 个, 下调的差异基因共有 1794 个, 其中下调 10 倍以上的共有 70 个。SKOV3/CB 比 SKOV3 上调 10 倍以上的 3 个差异基因, 即 *ZNF198*, *ERCC5* 和 *BIRC3* 经半定量 RT-PCR 验证, 表明上述 3 个基因在耐药细胞株中的表达的确高于敏感细胞株。 [结论] 卵巢癌的多药耐药是一个多种基因参与的复杂过程, *ZNF198*, *ERCC5* 和 *BIRC3* 参与卵巢癌铂类耐药。

**关键词:** 卵巢肿瘤; 铂类; 耐药; 基因芯片

**中图分类号:** R737.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2016)07-0527-06

**doi:** 10.11735/j.issn.1671-170X.2016.07.B001

## Screening of Differential Expression Gene Related with Drug-resistance in Human Ovarian Cancer Cell Lines by Gene Chip

FENG Tong-fu<sup>1</sup>, LI Li<sup>2</sup>, ZHANG Wei<sup>2</sup>, et al.

(1. Hubei Women & Children Healthcare Hospital, Wuhan 430000, China; 2. Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

**Abstract:** [Objective] To investigate the gene differential expression of platinum-resistance cell lines of ovarian epithelial cancer compared with the parent cell lines, and to screen and identify the associated genes. [Methods] Gene expression profiles were screened and analyzed by using whole genome oligonucleotide microarrays for carboplatin-sensitive ovarian cancer cell lines (SKOV3) and carboplatin-resistant cell lines (SKOV3/CB), and the candidate genes which related to drug resistance were validated by semi-quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). [Results] A total of 3506 differential genes were screened out, of which up- and down-regulated genes were 1712 and 1794 respectively in SKOV3/CB. And 163 genes and 70 genes were up-regulated more than 10 times in SKOV3/CB and SKOV3 respectively, which were related to many kinds of genes. And the expression levels of 3 genes, *ZNF198*, *ERCC5* and *BIRC3*, selected from the more than 10 times in SKOV3/CB were verified by RT-PCR. [Conclusion] Many different kinds of genes are involved in the mechanism of multidrug resistance. *ZNF198*, *ERCC5* and *BIRC3* are related to carboplatin-resistance in ovarian cancer.

**Subject words:** ovarian neoplasms; platinum; drug resistance; gene chip

化疗是治疗卵巢上皮癌的重要方法, 而耐药性的产生则是导致卵巢上皮癌化疗失败的主要原因。耐药的本质是肿瘤细胞在化疗药物对其产生生存压力的情况下建立起来的一种适应过程, 其产生和维持的机制错综复杂, 并以网络的形式相互作用并相

互制约, 从基因表达水平寻找耐药产生过程中具有关键作用的分子改变, 对于全面了解耐药机制具有重要意义。基因芯片技术通过微处理技术在固体表面合成大量探针, 利用生物大分子 DNA 的结构及其碱基配对原则, 实现了对核酸分子中基因片段的准确、快速、大规模、高通量的检测, 成为当前研究差异表达基因的主要方法。目前, 卵巢上皮癌的化疗是以铂类药物为基础的联合化疗, 因此卵巢上皮癌铂类耐药和敏感细胞间差异表达基因的研究对认识卵巢

**基金资助:** 广西壮族自治区大型仪器协作共用网资助项目

**通讯作者:** 李力, 主任, 主任医师, 教授, 博士生导师, 博士; 广西医科大学医学科学实验中心及附属肿瘤医院妇科, 广西南宁市河堤路 71 号 (530021); E-mail: lili@gxmu.edu.cn

**收稿日期:** 2015-08-27; **修回日期:** 2015-11-12

癌铂类耐药的机制有着重大的现实意义。本实验采用 Phalanx HOA 人类全基因组表达谱芯片对卵巢癌耐卡铂细胞株 SKOV3/CB 及其亲本细胞株差异表达基因进行了筛选和分析,以求进一步从基因水平探讨卵巢癌的铂类耐药机制,并为卵巢癌多药耐药的逆转治疗提供新的思路和方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞系

铂类敏感细胞系 SKOV3 源于中国科学院上海生物细胞研究所细胞库,耐卡铂细胞株 SKOV3/CB 乃本实验室模拟临床周期性化疗采用间断大剂量浓度药物作用于亲代细胞建株自己诱导建立,耐药指数(RI)为 3.09。

### 1.2 主要仪器和试剂

TGL-16C 台式高速离心机购自上海安亭科学仪器厂;大型多功能分光光度计购自日本岛津公司;DNA 扩增仪购自美国 Thermo 公司;桥式水平电泳仪槽购自北京崇文东方仪器厂;DYY 型稳压稳流电泳仪购自北京六一仪器厂;Gel doc 2000 凝胶成像分析系统购自美国 Bio-Rad 公司;人类全基因组表达谱芯片购自中国台湾华联生物工程公司(Phalanx Whole Human Genome Microarray, Phalanx HOA),共 32 050 个点;Trizol Reagent 购自美国 GIBCO 公司;Oligo (dt)18、dNTPs、TaqTM 等 PCR 相关试剂购自大连 TaKaRa 生物工程有限公司;cDNA 第一链合成逆转录试剂盒购自 MBI Fermentas 公司;DNA Marker 1、50bp Ladder DNA Marker 购自广东东盛生物科技有限公司;琼脂糖为 AMRESCO 分装;其它生化试剂为国产分析纯。

### 1.3 SKOV3/CB 细胞和 SKOV3 细胞间差异表达基因的筛选

Trizol 一步法提取 SKOV3/CB 细胞与 SKOV3 细胞的总 RNA,1%变性琼脂糖凝胶电泳,了解 RNA 有无降解和 DNA 或蛋白质污染并纯化。各取等量 RNA 逆转录合成 cDNA,用 Ampolabeling-LPR 法标记的 cDNA 链做探针,探针经变性处理后用于与基因芯片杂交。芯片杂交和扫描均按试剂盒说明操作,杂交膜经化学发光检测试剂盒处理后用 X 射线胶片曝光。对 SKOV3/CB 细胞与 SKOV3 细胞的基因芯片结果进行归一化后再比较,每个基因标准化后的

荧光密度值相差 2 倍或 2 倍以上且  $P < 0.05$  时,即认为该基因在两种细胞中的表达存在差异。采用文献检索和生物信息学的方法,并根据现在已知的大量研究结果,将找到的差异基因进行功能分类,筛选与多药耐药关系最为密切的相关基因。

### 1.4 SKOV3/CB 细胞和 SKOV3 细胞间差异表达基因的验证

选取显著差异基因 *ZNF198*、*ERCC5* 和 *BIRC3*,采用半定量 RT-PCR 进行验证。根据 Genebank 应用引物设计软件 Primer 5.0 设计引物。引物由上海生工生物技术有限公司合成,其中 *ZNF198*:正义链:5'-AACAGGATTTT GCCAGACG-3',反义链:5'-TTCATTTCCCCACGCCAC-3',引物长 226bp。扩增条件:94℃ 5min,94℃ 30s,62.3℃ 30s,72℃ 30s,72℃ 10min 重复 32 个循环;*ERCC5*:正义链:5'-GAAG-CAATGCCAGAGGAGTC-3',反义链:5'-GGAGAAG-GAGGGGTAGCATC-3',引物长 368 bp。扩增条件:94℃ 5min,94℃ 30s,63.1℃ 30s,72℃ 30s,72℃ 10min 重复 34 个循环;*BIRC3*:正义链:5'-TCCGT-CAAGTTCAAGCCAGTT-3',反义链:5'-TCTC-CTGGGCTGTCTGATGTG-3',引物长 70 bp。扩增条件:94℃ 5min,94℃ 30s,65.3℃ 30s,72℃ 30s,72℃ 10min 重复 30 个循环;*GAPDH-2*:正义链:5'-TCATTGACCTCAACTACATG-3',反义链:5'-GCAGT-GATGGCATGGACTGT-3'引物长 437 bp。扩增产物采用凝胶电泳、Quantity One 软件分析各条带的灰度值,以各基因片段与 *GAPDH* 片段灰度值的比值作为其 mRNA 相对表达水平数值。

### 1.5 统计学处理

数据采用 SPSS13.0 软件包进行处理。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,比较采用配对 *t* 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 SKOV3/CB 和 SKOV3 细胞间差异表达基因的筛选

参照差异基因的确定标准,SKOV3/CB 细胞比 SKOV3 细胞上调的差异基因共有 1712 个,其中有 40 个基因与多药耐药密切相关;SKOV3/CB 细胞下调的差异基因共有 1794 个,其中有 21 个差异基因直接或间接涉及和参与了多药耐药的产生和调控。对上

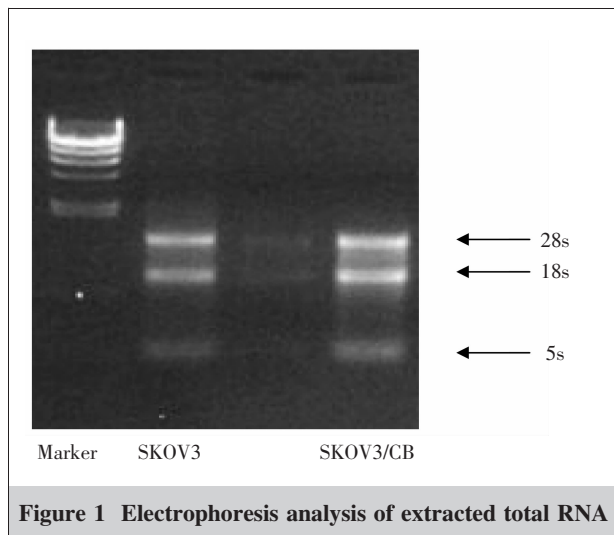
**Table 1 Functional sorts of genes associated with drug resistance in SKOV3/CB**

| Category                | Up-regulation gene                                                                | Down-regulation gene                                                 |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Transport               | <i>ANXA6, SLC39A1, ICAM1, ARL8, LRFN4, SMBP, COG2</i>                             | <i>RAB11FIP1, LEPREL1</i>                                            |
| Drug-metabolism         | <i>ALDH3B1, ARG2, GSTO2, UGDH, ALDH3A2, UGT2B28, CA11</i>                         | <i>TXNIP</i>                                                         |
| DNA repair              | <i>ZNF198, ERCC5, SMARCC1, HIPK2, KIN, IGFBP2</i>                                 |                                                                      |
| Apoptosis               | <i>TP53, MT1E, NR4A2, GALNT14, G3BP2, TWIST2, SH3BGR, BIK, GIP3, BIRC3, SOCS2</i> | <i>IL1A, USP7, HIF1A, RNASET2, THBS1, DKK1, CCL20</i>                |
| Ion channel             | <i>KCNK15, KCNC4</i>                                                              |                                                                      |
| Metastasis              | <i>TM4SF1, TMSNB, IFTM1</i>                                                       | <i>RARRES3, LCN2, RRAD, GOS2, SPAG9, F3, NFKBIZ, NKI-RAS1, DOCK7</i> |
| Proliferation and cycle |                                                                                   | <i>CXCL, CA12</i>                                                    |
| Others                  | <i>TGFB1, HIG2, MPHOSPH, FN1</i>                                                  |                                                                      |

述直接或间接涉及和参与了多药耐药的产生和调控的 61 条差异基因进行功能上的表达分类(Table 1)。

## 2.2 差异表达基因 *ZNF198*、*ERCC5* 和 *BIRC3* 在 SKOV3/CB 中均高表达

电泳结果显示 (Figure 1), RNA 的 28s、18s、5s 3 条带型清晰, 并且 28s 条带的亮度高于 18s (亮度比约为 2:1), 除此未见其它杂带, 表明 RNA 纯度高, 无 DNA、蛋白质、多糖或其它物质污染, 符合标准。



*ZNF198*、*ERCC5* 和 *BIRC3* 在 SKOV3/CB 中均高表达, 与基因芯片结果吻合, 说明芯片结果可靠 (Table 2, Figure 2)。

**Table 2 The analysis results of the differential expressed genes by RT-PCR ( $\bar{x} \pm s$ )**

| Category | <i>ZNF198</i> | <i>ERCC5</i> | <i>BIRC3</i> |
|----------|---------------|--------------|--------------|
| SKOV3/CB | 0.56±0.24     | 0.74±0.32    | 0.33±0.11    |
| SKOV3    | 0.22±0.15     | 0.26±0.19    | 0.17±0.14    |
| <i>t</i> | 3.13*         | 4.25*        | 3.57*        |

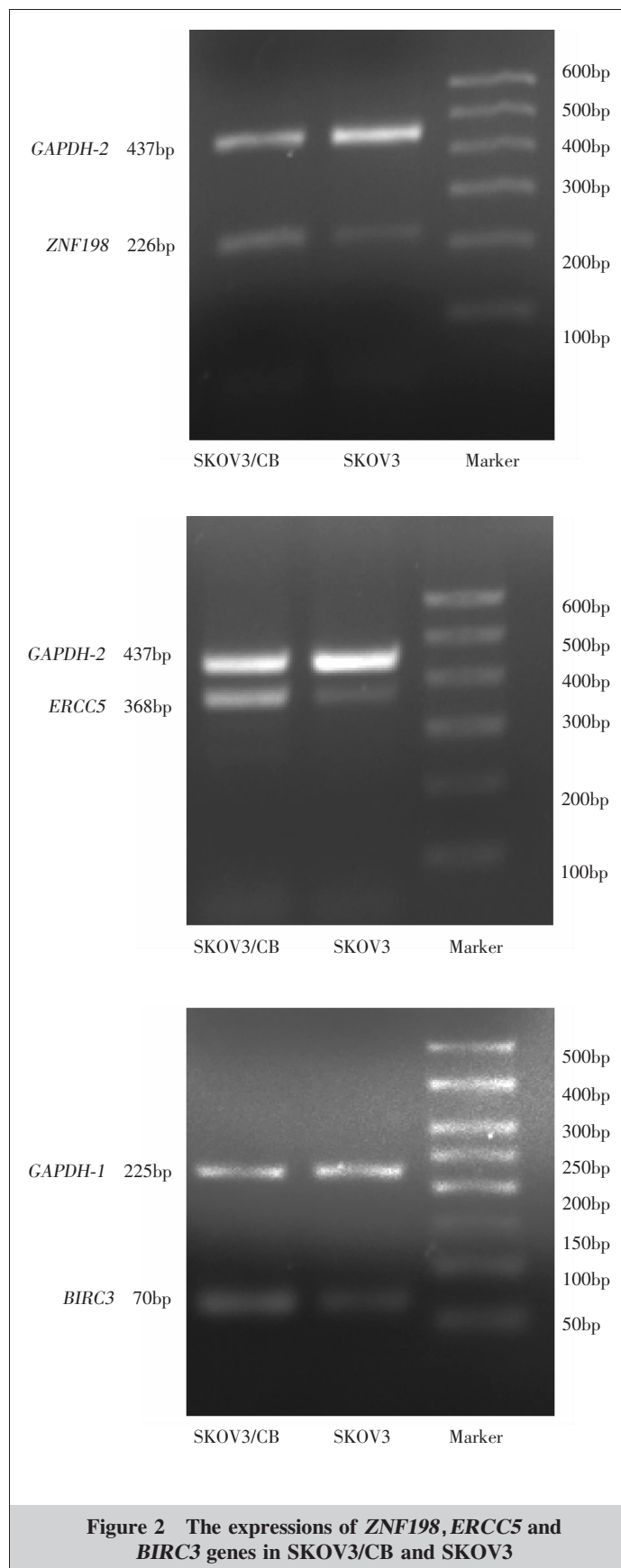
Note: \*: Comparison between SKOV3/CB and SKOV3,  $P < 0.05$ .

## 3 讨论

既往研究认为导致卵巢癌细胞产生多药耐药的原因主要与 *MDR1*、*MRP*、*LRP*、*BCRP*、*GSH/GST* 的高表达及 Topo II 活性的改变有关, 但近年来大量研究表明肿瘤细胞对化疗药物的易感性并不能被单因素的标志物所决定, 单个机制的途径不能解释肿瘤耐药的发生<sup>[1]</sup>。

本实验中, 卵巢癌耐药细胞株 SKOV3/CB 中并未见 *MDR*、*MRP*、*LRP*、*BCRP*、*GSH/GST* 等基因的高表达, 而与多药耐药的产生和调控直接或间接相关的一系列基因群却呈现高表达改变, 这些基因包括凋亡抑制基因、药物转运和代谢基因、信号转导和细胞周期相关基因、DNA 转录与修复基因、蛋白激酶和磷酸酶基因等。这一方面说明经典的多药耐药基因并不是恒定地高表达在耐药细胞中, 或者其高表达与细胞的生存环境有关 (如: 药物种类、剂量大小、刺激方式等); 另一方面说明多药耐药的发生是一个多基因、多途径、多层次共同作用过程, 在这一过程中可能某群基因或途径起主导作用, 或各种基因或途径相互协同和支持。

在众多耐药机制中, 肿瘤细胞的 DNA 损伤修复及抗凋亡途径是耐药产生的两大重要机制。本实验所发现的与多药耐药相关的 61 条差异基因中, DNA 损伤修复及抗凋亡相关基因就达到 27 条, 远远多于其他类别的差异基因。*ZNF198* 及 *ERCC5* 均与 DNA 损伤修复有关, 耐药细胞较亲本细胞分别上调了 12.5 倍及 11 倍。*BIRC3* 基因与凋亡调控密切相关, 其在耐药细胞中上调了近 15 倍。因此, 本实验选取此 3 个基因进行 PCR 验证。结果证实上述 3 个基因在耐药细胞株中的表达的确高于敏感细胞株, 其中



*ZNF198* 属于锌指蛋白家族, 锌指蛋白 (zinc finger protein) 是由一系列锌指结构组成, 锌指结构通过  $Zn^{2+}$  形成的短的可以自我折叠形成“手指”结构的稳定四面体, 可以特异性地与 RNA/DNA 位点结合, 因此锌指蛋白在基因的表达调控、损伤修复、细胞分化、胚胎发育等生命过程中发挥重要作用。国外的研究证实: 细胞经紫外线 (UVB) 辐射后, 其胞内的 *ZNF198* 表达水平明显升高, 证明 *ZNF198* 的确参与了 DNA 损伤的修复和调节<sup>[2,3]</sup>。而国内也有学者在体外诱导建立的人白血病耐阿霉素细胞株 K562/ADR 中发现有锌指蛋白 165 的表达升高<sup>[4]</sup>。紫外线和阿霉素的 DNA 损伤机理与铂类的损伤机理相似, 即都以 DNA 为主要靶点, 引起 DNA 链间 (链内) 交联, 或形成 DNA 与蛋白质的交联, 干扰 DNA 的复制和转录, 导致 DNA 断裂和误码。因此, 我们推测铂类药物使卵巢癌细胞受损后, 其胞内的 *ZNF198* 表达升高并与损伤的 DNA 特异结合而进行修复, 藉此介导多药耐药的产生。

DNA 损伤修复能力增强, 是导致卵巢癌顺铂耐药的主要原因之一。DNA 错配修复 (mismatch repair, MMR) 系统和核苷酸剪切修复机制 (nucleotide excision repair system, NER) 在这一机制中扮演重要角色。NER 涉及到 *XPA*、*XPB*、*CSB*、*ERCC1*、*ERCC5* 等基因。尽管有学者认为 *ERCC1* 和 *ERCC4* 才是核苷酸剪切修复机制的主体<sup>[5]</sup>, *ERCC5* 的作用微乎其微。但 Shio-mi 等<sup>[6]</sup>的研究证实: 如果把 *ERCC5* 的 cDNA 转染到小鼠 UV 敏感细胞 XL216 后可恢复其对紫外线的抵抗性, 而把 *ERCC5* 的 cDNA 微注射到体内, 就可以修复 XPG 缺陷。最近 Luo 等<sup>[7]</sup>以类原始淋巴细胞系 TK6 为体外模型, 发现在致癌物、突变剂和交联剂的作用下, 细胞内的 *ERCC5* 表达水平显著升高。以上研究均表明 *ERCC5* 参与了 DNA 的损伤修复<sup>[7]</sup>。因为紫外线、交联剂对细胞或核酸的损伤机理和铂类药物相似, 故我们认为耐药细胞株 SKOV3/CB 的 DNA 在受到铂类药物损伤后增强启动了核苷酸剪切修复机制而使 *ERCC5* 表达增强。国外学者的研究也证实 *ERCC5* 与多种肿

瘤细胞的耐药有关。Zheng 等<sup>[8]</sup>的研究表明对多柔比星的耐药可能和 *ERCC5* 有关。其发现对多柔比星耐药的神经母细胞瘤细胞系在经过伏立诺他的治疗后出现了耐药性的逆转和 *ERCC5* 基因的表达下调。而 *ERCC5* 的单核苷酸多态性(SNPs)与多发性骨髓瘤和慢性粒细胞白血病的多药耐药密切相关<sup>[9,10]</sup>。Chen 等<sup>[11]</sup>发现携带-763A/+25G 单体型的 *ERCC5* 直肠癌细胞对奥沙利铂呈现耐药性, 其研究提示 *ERCC5* 在-763 和+25 的启动子多态性是一个重要的化疗敏感性预测因子。进一步的研究表明, *ERCC5* 基因表达下调患者无进展生存期(PFS)明显延长, 从而表明 *ERCC5* 是一个新的卵巢癌进展和化疗效果预测靶标<sup>[12]</sup>。日本学者 Sakamoto 等<sup>[13]</sup>利用 cDNA 微阵列分析了人卵巢癌敏感细胞株 KF 与顺铂 3 倍耐药细胞株 KFr 及顺铂 30 倍耐药细胞株 KFrP200 的差异基因, 发现与敏感株相比 *ERCC5* 基因在 KFr 中表达明显升高, 但 KFrP200 中未见其表达升高。此结论一方面肯定了我们的实验结果, 证实了我们关于 *ERCC5* 介导耐药机制的猜想; 另一方面, 又说明 *ERCC5* 的表达水平取决于细胞的耐药指数, 但和耐药指数并不成直线关系。因此, 综上所述, 我们认为 *ERCC5* 在 DNA 的损伤修复中发挥着重要作用, 它可以协同 *ERCC1*、*ERCC4* 等其它基因进行核苷酸剪切修复, 在某些条件下, 它可能是进行 DNA 修复的主体基因甚至是唯一基因, 但其诱导细胞耐药的机制及其表达水平和耐药程度的关系还需进一步的研究和探讨。

BIRC3(baculoviral inhibitor apoptosis protein repeat-containing 3)又名 cIAP2, 其也是主要通过抑止细胞的凋亡介导耐药的。BIRC3 是细胞凋亡抑制蛋白家族(inhibitor of apoptosis, IAP)的重要成员, 其广泛存在于真核细胞中。氨基酸序列分析表明在它的 N 端有 3 个杆状病毒 IAP 重复结构域, C 端有一个指环结构域。BIRC3 抑制细胞凋亡的机制有: ①通过抑制各种 caspase(如 caspase3、7、9)和 procaspase 的激活和活性来阻止细胞凋亡的发生; ②通过与肿瘤坏死因子受体相关因子 TRAF1 及 TRAF2 结合抑制凋亡; ③白细胞介素-1 $\beta$  转化酶(ICE)可以介导细胞的凋亡, 其可通过抑制 ICE 减缓或抑制细胞的凋亡<sup>[14]</sup>; ④当细胞接受了细胞内外的凋亡触发信号后, 与 IAP 作用的相关蛋白质如 Smac 可通过结合 IAP 而

消除凋亡的触发; ⑤肿瘤坏死因子相关凋亡诱导剂(TRAIL)是重要的抗肿瘤药物之一, 而耐药性的出现则限制了它的临床治疗效果。*BIRC3* 通过调节肿瘤细胞对 TRAIL 的敏感性而介导细胞的耐药。研究证实, *BIRC3* 的降解可直接增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感性<sup>[15]</sup>。而这一过程可能又和 JNK 介导的自我吞噬途径所激活有关<sup>[16]</sup>。如上述, *BIRC3* 正是靠着这些彼此不同而又相互联系的机制来抑制凋亡介导耐药的。最近, Hernández-Vargas 等<sup>[17]</sup>在对吉西他滨耐药的乳腺癌细胞中发现 *NF-kappaB* 和 *BIRC3* 的活性和表达水平升高, 因为 *BIRC3* 是 *NF-kappaB* 的靶基因, 故作者认为 *BIRC3* 和 *NF-kappaB* 一起协同诱导细胞耐药性的产生。Nomura 等<sup>[18]</sup>研究了顺铂耐药前列腺癌细胞 LNCaP/C1、LNCaP/C2 和 LNCaP/C3 的 IAP 表达情况 (与顺铂敏感细胞 LNCaP 相比, 三者对顺铂的耐药倍数分别为 6.3、9.1 和 22.3 倍), 发现 *BIRC3*、*XIAP* 和 *survivin* 的表达水平随着耐药倍数的增加而增加, 除 *survivin* 外其它 IAPs 均在细胞内得到免疫印迹验证。除此, 还发现顺铂耐药倍数最高的 LNCaP/C3 细胞对阿霉素、5-氟尿嘧啶和足叶乙苷存在明显的交叉耐药, 但对泰素或多西紫杉醇无交叉耐药或较弱的交叉耐药。因此, 作者认为 IAPs 通过凋亡机制在前列腺癌细胞耐药中发挥了重要作用。Hahne 等<sup>[19]</sup>发现对顺铂耐药的 A2780cis 卵巢癌细胞系中存在着抗凋亡基因的上调, 尤其是 *CIAP-1* 和 *BIRC3* 的过表达, 进一步的研究发现, 耐药细胞中 NK 细胞的细胞溶解效率较敏感株明显降低。这提示 *CIAP-1* 和 *BIRC3* 通过 NK 细胞介导免疫因素也是细胞耐药的一个重要因素。Cohen 等<sup>[20]</sup>则发现, 采用顺铂化疗的卵巢癌患者中 IL-6 和 *BIRC3* 的基因及蛋白表达水平都显著升高。Western blot 实验表明加入-IL-6 的抗体后 *BIRC3* 的表达水平明显下降, 而使用 IL-6/*BIRC3* 的抑制剂后可以增加卵巢癌细胞对顺铂的敏感性。这提示 *BIRC3* 通过充当 IL-6 的靶基因介导了癌细胞的耐药。因而, 作者认为顺铂化疗时联合使用 IL-6/*BIRC3* 的抑制剂可以提高化疗患者的治疗效果。

IAPs 除了可以介导细胞的耐药, 其还与患者的预后密切相关。Nakagawa 等<sup>[21]</sup>以多药耐药多发性骨髓瘤 (MM) 为模型应用 RT-PCR 研究了 *BIRC3*、*cIAP1*、*XIAP* 的表达水平和预后的关系, 发现在化疗

后 MDR1 或 LRP 表达升高的患者中,如果同时存在 BIRC3 和 cIAP1 的过表达,则其预后就相对较差。而化疗后如果 MDR1 或 LRP 呈低表达,则 BIRC3 和 cIAP1 的表达水平改变与患者预后好坏无相关性。说明在 MDR1 或 LRP 过表达的前提下,BIRC3 和 cIAP1 的表达水平可以协助我们预测患者的化疗效果和预后,以便制订合理化的治疗方案。

综上所述,ZNF198、ERCC5 和 BIRC3 这 3 个基因与卵巢癌的多药耐药密切相关,尽管介导耐药的机制还有待进一步研究,但为研究、治疗卵巢癌的多药耐药提供了新的突破口和靶点。

## 参考文献:

- [1] Zhou YY, Wang M, Wu JL, et al. Expression and significance of microRNA in chemoresistant and sensitive ovarian cancer tissue and cell lines [J]. Journal of Chinese Oncology, 2014, 20(3): 197–202. [周莹莹, 王敏, 吴建磊, 等. 耐药及敏感卵巢癌组织与细胞系中 microRNA 的表达及意义[J]. 肿瘤学杂志, 2014, 20(3): 197–202.]
- [2] Kunapuli P, Somerville R, Still IH, et al. ZNF198 protein, involved in rearrangement in myeloproliferative disease, forms complexes with the DNA repair-associated HHR6A/6B and RAD18 proteins[J]. Oncogene, 2003, 22(22): 3417–3423.
- [3] Hansel DE, Rahman A, House M, et al. Met proto-oncogene and insulin-like growth factor binding protein 3 overexpression correlates with metastatic ability in well-differentiated pancreatic endocrine neoplasms [J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(18 Pt 1): 6152–6158.
- [4] Wang Y, Cao J, Zeng S. Development of a K562 multi-drug resistant cell line and study on proteins with altered expression [J]. Acta Biologica Experimentalis Sinica, 2003, 36(5): 342–346. [王以, 曹江, 曾苏. K562 耐药细胞的建立及相关蛋白表达改变的研究 [J]. 实验生物学报 2003, 36(5): 342–346.]
- [5] Andersson BS, Sadeghi T, Siciliano MJ, et al. Nucleotide excision repair genes as determinants of cellular sensitivity to cyclophosphamide analogs [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 1996, 38(5): 406–416.
- [6] Shiomi T, Harada Y, Satio T, et al. An ERCC5 gene with homology to yeast RAD2 is involved in group G xeroderma pigmentosum[J]. Mutat Res, 1994, 314(2): 167–175.
- [7] Luo W, Fan W, Xie H, et al. Phenotypic anchoring of global gene expression profiles induced by N-hydroxy-4-acetylaminobiphenyl and benzo [a]pyrene diol epoxide reveals correlations between expression profiles and mechanism of toxicity[J]. Chem Res Toxicol, 2005, 8(4): 619–29.
- [8] Zheng X, Naiditch J, Czurylo M, et al. Differential effect of long-term drug selection with doxorubicin and vorinostat on neuroblastoma cells with cancer stem cell characteristics[J]. Cell Death Dis, 2013, 4(3): e740.
- [9] Cibeira MT, de Larrea CF, Navarro A, et al. Impact on response and survival of DNA repair single nucleotide polymorphisms in relapsed or refractory multiple myeloma patients treated with thalidomide [J]. Leuk Res, 2011, 35(9): 1178–1183.
- [10] Guillem VM, Cervantes F, Martínez J, et al. XPC genetic polymorphisms correlate with the response to imatinib treatment in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia[J]. Am J Hematol, 2010, 85(7): 482–486.
- [11] Chen J, Xie F, Chen K. ERCC5 promoter polymorphisms at -763 and +25 predict the response to oxaliplatin-based chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer [J]. Cancer Biol Ther, 2009, 8(14): 1424–1430.
- [12] Walsh CS, Ogawa S, Karahashi H, et al. ERCC5 is a novel biomarker of ovarian cancer prognosis [J]. J Clin Oncol, 2008, 26(18): 2952–2958.
- [13] Sakamoto M, Kondo A, Kawasaki K, et al. Analysis of gene expression profiles associated with cisplatin resistance in human ovarian cancer cell lines and tissues using cDNA microarray[J]. Hum Cell, 2001, 14(4): 305–315.
- [14] Uren AG, Pakusch M, Hawkins CJ, et al. Cloning and expression of apoptosis inhibitory protein homologs that function to inhibit apoptosis and/or bind tumor necrosis factor receptor-associated factors [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996, 93(10): 4974–4978.
- [15] Finlay D, Vámos M, González-López M, et al. Small-molecule IAP antagonists sensitize cancer cells to TRAIL-induced apoptosis: roles of XIAP and cIAPs[J]. Mol Cancer Ther, 2014, 13(1): 5–15.
- [16] He W, Wang Q, Srinivasan B, et al. A JNK-mediated autophagy pathway that triggers c-IAP degradation and necroptosis for anticancer chemotherapy [J]. Oncogene, 2014, 33(23): 3004–3013.
- [17] Hernández-Vargas H, Rodríguez-Pinilla SM, Julián-Tendero M, et al. Gene expression profiling of breast cancer cells in response to gemcitabine: NF- $\kappa$ B pathway activation as a potential mechanism of resistance [J]. Breast Cancer Res Treat, 2007, 102(2): 157–172.
- [18] Nomura T, Yamasaki M, Nomura Y, et al. Expression of the inhibitors of apoptosis proteins in cisplatin-resistant prostate cancer cells[J]. Oncol Rep, 2005, 14(4): 993–997.
- [19] Hahne JC, Meyer SR, Gambaryan S, et al. Immune escape of AKT overexpressing ovarian cancer cells [J]. Int J Oncol, 201, 42(5): 1630–1635.
- [20] Cohen S, Bruchim I, Graiver D, et al. Platinum-resistance in ovarian cancer cells is mediated by IL-6 secretion via the increased expression of its target cIAP-2[J]. J Mol Med (Berl), 2013, 91(3): 357–368.
- [21] Nakagawa Y, Abe S, Kurata M, et al. IAP family protein expression correlates with poor outcome of multiple myeloma patients in association with chemotherapy-induced overexpression of multidrug resistance genes[J]. Am J Hematol, 2006, 81(11): 824–831.