

髓样细胞白血病-1 基因 在原发性肝癌组织中的表达及临床意义*

李 峰, 魏 群, 周国雄, 黄东风, 张 弘

(南通大学附属医院消化病研究室, 江苏南通 226001)

摘要:目的 探讨髓样细胞白血病-1(myeloid cell leukemia-1, Mcl-1) 基因及蛋白在原发性肝癌和肝硬化组织中的表达及临床病理学意义。方法 采用逆转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)法, 蛋白质印迹法(western blot, WB)和免疫组织化学 ENVISION 法分别检测 20 例肝癌组织, 19 例肝硬化组织和 12 例对照肝组织中 Mcl-1 的表达, 并分析其表达与肝癌临床病理学特征的关系。结果 Mcl-1 mRNA 相对表达强度在对照组、肝硬化组和肝癌组中分别为 0.52 ± 0.17 , 3.46 ± 1.7 , 3.65 ± 2.93 , 其中肝癌组及肝硬化组分别与对照组间比较, 差异均有统计学意义($t=7.925, 5.334, P<0.05$)。Mcl-1 蛋白相对表达量在肝硬化组(0.51 ± 0.35)和肝癌组(0.75 ± 0.36)均显著高于对照组(0.21 ± 0.19)($t=5.526$ 和 $6.355, P<0.05$)。肝癌组 Mcl-1 的阳性表达率为 55.00%(11/20), 显著高于对照组 33.33%(4/12)($t=7.835, P<0.05$)。Mcl-1 蛋白阳性表达与肿瘤有无坏死和 TNM 分期有关($\chi^2=4.201, P<0.05$)。结论 Mcl-1 基因及蛋白在肝癌组、肝硬化组和对照肝组织中的表达存在差异, 可能参与了肝硬化的发生、发展及向肝癌的恶性转化。

关键词:髓样细胞白血病-1 基因; 原发性肝癌; 肝硬化; 逆转录聚合酶链反应; 蛋白质印迹法; 免疫组织化学

中图分类号: R735.7; R730.43 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2016)03-069-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2016.03.019

Expression and Significance of Mcl-1 Gene in Hepatocellular Carcinoma

LI Feng, WEI Qun, ZHOU Guo-xiong, HUANG Dong-feng, ZHANG Hong

(Department of Gastroenterology,

Affiliated Hospital of Nantong University, Jiangsu Nantong 226001, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression and significance of myeloid cell leukemia-1(Mcl-1) gene and protein in Hepatocellular Carcinoma(HCC). **Methods** The expression of Mcl-1 was detected respectively by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), Western blot and ENVISION immunohistochemistry in 20 HCC specimens, 19 liver cirrhosis(LC) specimens, and 12 control ones. Their relationship with clinical and pathological characteristics of HCC was investigated. **Results** The expression of Mcl-1 mRNA in the control group, LC group and HCC group was 0.52 ± 0.17 , 3.46 ± 1.7 , 3.65 ± 2.93 , respectively. The level in HCC and LC group was statistically different compared with the control group, respectively ($t=7.925, 5.334, P<0.05$). The relative expression of Mcl-1 protein in LC group (0.51 ± 0.35) and HCC group (0.75 ± 0.36) were significantly higher than that in the control group (0.21 ± 0.19) ($t=5.526, 6.355, P<0.05$). The positive expression rate of Mcl-1 in HCC group was 55.00% (11/20), significantly higher than that in the control group 33.33% (4/12) ($t=7.835, P<0.05$). The positive expression of Mcl-1 was related to tumor necrosis and TNM staging ($\chi^2=4.201, P<0.05$). **Conclusion** Mcl-1 gene and protein are differentially expressed in HCC, LC and the control, which may be involved in the occurrence, development and malignant transformation of HCC.

Keywords: myeloid cell leukemia-1 gene; primary hepatocellular carcinoma; liver cirrhosis; RT-PCR; Western blot; immunohistochemistry

原发性肝细胞癌是中国最常见的恶性肿瘤之一, 在世界范围内发病率逐年上升, 死亡率高^[1], 其病因与病毒感染、酒精及饮食等因素相关^[2]。美国肝病协会提出对于肝癌高危患者的监测方案为每6个月进行血清甲胎蛋白(AFP)水平和超声检查^[3]。肝硬化是由多种原因引起的肝细胞弥漫性变性坏死, 继而出现肝细胞结节状再生和纤维组织

增生的一种病理过程。流行病学调查显示, 肝癌常由肝硬化再生结节演变发生而来, 是肝癌发生最重要的一个危险因素, 两者关系密切^[4]。正常基因的突变, 癌基因的异常激活, 以及抑癌基因的失活, 基因本身的多效性和机体免疫因素决定肿瘤表行的表达与否。因此, 阻断肝硬化的发生、发展及早期预测癌变具有重要的临床意义。髓样细胞白血病-

* 作者简介: 李 峰(1977-), 男, 硕士, 副主任技师, 研究方向: 消化道肿瘤, E-mail: willim118@hotmail.com。

通讯作者: 张 弘(1955-), 男, 硕士, 主任技师, 研究方向: 消化道肿瘤, E-mail: zhangh111@sina.com。

1(myeloid cell leukemia-1, Mcl-1)是 Bcl-2 家族成员,以其半衰期短和能被快速诱导表达和降解而在 Bcl-2 家族中具有独特性。Mcl-1 参与了多种细胞系的凋亡、分化和细胞周期的调控^[5],是肝癌中目前已知的重要抗凋亡因子,主要参与维持细胞线粒体膜的稳定,抑制细胞色素 C 的释放,从而促进细胞的生存,阻止细胞的凋亡。本研究应用逆转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)法检测 Mcl-1 基因在肝硬化和原发性肝细胞癌组织中的表达,探讨其在肝硬化和肝癌早期发生和发展中的临床意义,以阐明这些基因在原发性肝细胞癌分子诊断中的应用价值;进一步利用蛋白质印迹法(Western Blot)和免疫组织化学 ENVISION 法检测 Mcl-1 蛋白在肝硬化和肝癌组织中的表达,并初步探讨其与肝硬化和肝癌发生、发展,以及与肝癌的临床病理学特点的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2012 年 5 月~2013 年 5 月在南通大学附属医院经手术切除组织或活检组织标本共 51 例。取得肝癌组织 20 例(其中高分化肝癌 6 例,中分化肝癌 11 例,低分化肝癌 3 例);肝硬化组织 19 例(远癌肝硬化组织:距肿瘤边缘>4cm 的肝组织),对照组 12 例(其中肝血管瘤 6 例,肝内胆管结石 6 例)。切下的组织立即置液氮速冻后,于-80℃保存备用。所有病例均据病理学进行分类。

1.2 试剂和仪器 细胞裂解液 TRIZOL 及焦二磷酸二乙酯(DEPC)购自上海华舜生物工程有限公司。RT-PCR 两步法试剂盒购自晶美生物工程有限公司,其中逆转录酶 AMV-RT, Taq 酶及 dNTP 均为 FINNZYMES 公司产品。小鼠抗人 Mcl-1 单克隆抗体为美国 NeoMarkers 公司产品。多聚-L-赖氨酸购自福州迈新生物技术开发公司;DAB 试剂盒购自北京中山生物技术有限公司。PCR 仪为美国 PERIN ELMER 公司生产 PE-480 型。电泳仪为北京市六一仪器厂生产 DYY-2C 型。凝胶定量分析软件捷达 801 为江苏省捷达科技公司产品。

1.3 方法

1.3.1 半定量 RT-PCR 测定:用 TRIZOL 试剂提取总 RNA;按 RT-PCR 两步法试剂盒步骤进行;扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳;凝胶成像(Panasonic 公司)观察、照相,将含有产物条带的电泳图谱扫入电脑;凝胶定量分析软件捷达 801 扫描积分光密度,按 $R = |D - D_{背景}| / |D_{内参} - D_{背景}|$ 公式计算目的基因 Mcl-1 的 mRNA 的表达水平。Mcl-1 引物序列:上游引物 5'-GGCTGGGATGGGTTTG

TGGA-3', 下游引物 5'-TTGCTAGGGTG-CAACTCTAGG-3', 扩增长度 211 bp; β -actin 引物序列:上游引物 5'-AAGTACTCCGTGTG-GATCGG-3', 下游引物 5'-ATGCTATCACCTC-CCCTGTG-3', 扩增长度 483 bp。

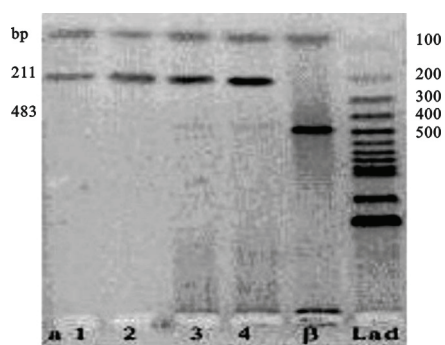
1.3.2 免疫组化操作方法:采用 ENVISION 法,4 μ m 石蜡切片,微波加热法抗原修复,采用已知阳性细胞作阳性对照,采用 PBS 液代替一抗作阴性对照。免疫组化染色的结果判断经两名高年资病理医师采用双盲法阅片,以获得统一结果为准。参照邢传平等^[6]的标准,在 200 倍光学显微镜下随机计数 5 个视野,统计阳性细胞所占百分比。统计计分从两个方面来评价:①染色阳性细胞数:<4%为 0 分,5%~24%为 1 分,25%~49%为 2 分, $\geq 50\%$ 为 3 分;②染色强度:无细胞着色计 0 分,呈淡黄色着色计 1 分,棕黄色着色计 2 分,深褐色着色计 3 分。将每一例两项得分相加即为该肿瘤阳性表达得分。最低得分为 0 分,最高得分为 6 分; ≤ 2 分为阴性或弱表达,3~4 分为中度阳性,5~6 分为强阳性。阳性表达包括中度阳性及强阳性。

1.3.3 Western Blot 测定:将液氮中冻存的组织标本取出称重,每 100 mg 加 500 μ l 蛋白裂解液,置匀浆器中反复研磨,使组织充分匀浆化,冰上充分裂解 30 min,12 000 r/min 离心收集上清,用 BCA 法测上清蛋白浓度。将蛋白于 10 g/dl 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,电转膜 1.5 h,5 ml/dl BSA 封闭 1 h 后,分别加入 Mcl-1 鼠抗人单克隆抗体(1:1 000)及 β -肌动蛋白小鼠抗人单克隆抗体(1:1 000),4℃孵育过夜漂洗,加二抗(1:2 000),室温孵 1 h,滴加发光试剂暗室曝光显示条带。

1.4 统计学分析 采用 SPSS15.0 软件包进行统计分析,数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,数据比较采用独立样本 t 检验,表示率的比较采用 χ^2 检验或确切概率法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

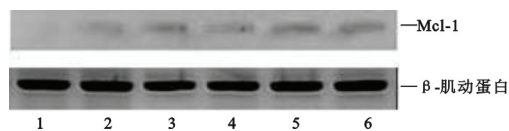
2.1 Mcl-1 基因在肝癌、肝硬化和对照肝组织中的表达 Mcl-1 基因及内参 β -actin 的 RT-PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳后,其条带与 100 bp DNA-Ladder 相比较,结果表明引物有较好的特异性,且其分子量大小与预先设计的相一致,见图 1。Mcl-1 mRNA 表达在对照组、肝硬化组和肝癌组中逐渐增强,其相对表达强度分别为 0.52 ± 0.17 , 3.46 ± 1.7 和 3.65 ± 2.93 。肝癌组及肝硬化组分别与对照组间比较,差异均有统计学意义($t = 7.925$ 和 5.334 , $P < 0.05$),见图 2。



泳道 1,2,3,4 依次为对照组、肝硬化组、肝硬化组、肝癌组;β 为内参 β-actin;Lad 为 100 bp DNA ladder。

图1 Mcl-1 mRNA 产物电泳图

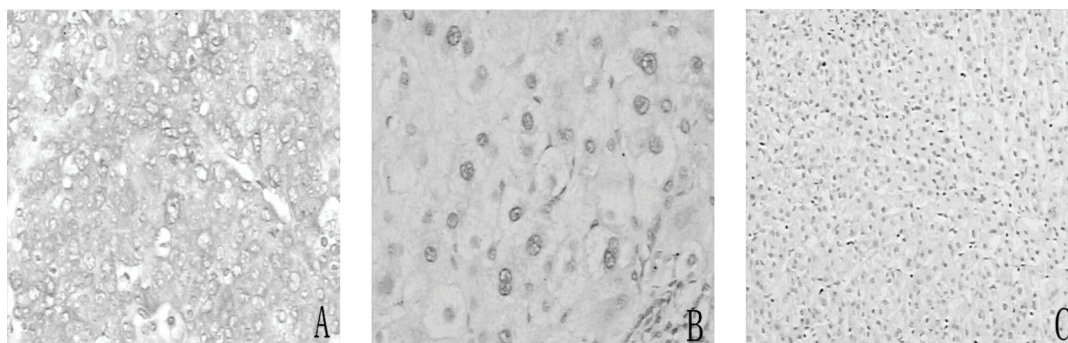
2.2 Western blot 检测 Mcl-1 蛋白在不同肝组织的表达 见图 2。Mcl-1 蛋白在对照组、肝硬化组和肝癌组中逐渐增强,其相对表达量分别为 0.21 ± 0.19 , 0.51 ± 0.35 和 0.75 ± 0.36 。肝硬化组和肝癌组 Mcl-1 蛋白表达水平分别与正常组相比较差异均有统计学意义 ($t = 5.526$ 和 6.355 , $P < 0.05$)。



1,2 对照组;3,4 肝硬化组;5,6 肝癌组

图2 Western blot 法检测 Mcl-1 蛋白在三组肝组织中的表达

2.3 免疫组化检测 Mcl-1 蛋白在肝癌、肝硬化和对照肝组织中的表达 见图 3。Mcl-1 阳性表达物呈棕黄色颗粒,部分呈弥漫性分布于细胞浆内,部分定位于胞核。肝癌组 Mcl-1 的阳性表达率为 55.00% (11/20);肝硬化组 Mcl-1 的阳性表达率为 36.84% (7/19);对照组 Mcl-1 的阳性表达率为 33.33% (4/12)。Mcl-1 蛋白的阳性表达强度在对照组、肝硬化组和肝癌组逐渐增强,其阳性表达率在肝癌组及肝硬化组分别与对照组间比较,统计学差异仅存在于肝癌组和对照组之间 ($t = 7.835$, $P < 0.05$)。见图 3。



A:低分化肝癌组织中 Mcl-1 的表达(×200);B:肝硬化组织中 Mcl-1 的表达(×200);C:对照肝组织中 Mcl-1 的表达(×100)。

图3 免疫组化检测 Mcl-1 蛋白在肝癌、肝硬化和对照肝组织中的表达

2.4 Mcl-1 的表达与肝癌临床病理学特征的关系

见表 1。Mcl-1 阳性表达与肿瘤有无坏死和 TNM 分期有关 ($\chi^2 = 4.201$, $P < 0.05$),与患者的性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤有无包膜、门静脉有无癌栓、血清 AFP 值、组织学分级、肿瘤的临床分期、HBV 感染与否均无关 ($P > 0.05$)。

3 讨论 Mcl-1 广泛表达于人类多种正常组织中,其基因定位于人染色体 1q21,该区域在肿瘤性疾病及其癌前病变中是一个易变化的区域,再加上 Mcl-1 所表现出来的抗细胞凋亡作用,人们很自然就推测 Mcl-1 的表达改变可能与肿瘤的发生有关。有越来越多的研究表明,Mcl-1 在人类多种肿瘤组织细胞中过表达,如非小细胞肺癌^[7]、胰腺癌^[8]等。Mcl-1 的过表达与胃癌的临床分期及侵袭转移能力有关^[9],与多发性骨髓瘤患者的肿瘤复发和生存期缩短有关^[10],与结肠癌的肿瘤进展相关^[11]。

有研究证实,Mcl-1 的亚细胞定位与细胞的生长状态密切相关^[12]:在成指数期生长的细胞中,

Mcl-1 主要定位于线粒体;在处于静止期的细胞中,Mcl-1 主要定位于细胞核。本研究通过免疫组化检测 Mcl-1 蛋白的表达情况发现,Mcl-1 阳性颗粒主要位于细胞浆,少数见于胞核,这表明肝癌细胞处于快速增殖期,符合肝癌的肿瘤生物学特性。Mcl-1 可以被快速地诱导表达和降解:当细胞内出现死亡信号,如紫外线照射、病毒感染时,Mcl-1 可被迅速降解;而当生存信号和分化信号,如细胞因子和生长因子出现时被迅速诱导表达,提示 Mcl-1 在细胞的生存和死亡调节中发挥重要作用。Mcl-1 的表达及其功能可受到多种因素调节,这种调节可发生在转录水平、转录后水平和翻译后水平上,涉及 JAK/STAT 信号通路、MAPK 途径和 PI-3K 途径。

杨威等^[13]研究发现,Mcl-1 蛋白在 HCC 组织中的表达显著高于 LC 组织,且肝癌组织中 Mcl-1 的表达与肿瘤分级、肿瘤直径、静脉浸润、肝内外转移有关。我们的研究结果显示,Mcl-1 在对照组、

肝硬化组和肝癌组中的表达强度有逐渐增强的趋势,肝癌组和肝硬化组 Mcl-1 蛋白表达分别与正常组相比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),这与以往研究基本一致。Mcl-1 的表达与肿瘤大小无关,在肝癌直径 $\leq 3\text{cm}$ 组和直径 $> 3\text{cm}$ 组之间无差异,提示 Mcl-1 对小细胞肝癌也具有一定的诊断价值。另外,本研究比较了 Mcl-1 在发生坏死的肝癌组织与无坏死的肝癌组织中的表达,发现前者 Mcl-1 的表达强度高于后者。我们认为,肿瘤组织代谢旺盛,局部缺血、缺氧和酸性代谢产物的积聚,引起肿瘤细胞坏死,坏死局部炎症反应强烈,产生大量的细胞因子,而细胞因子可以迅速诱导 Mcl-1 的表达升高,同时 Mcl-1 的表达增高可以保护中性粒细胞免于凋亡,延长其寿命,进而参与炎症反应。本研究还应用 RT-PCR 法检测 Mcl-1 基因在对照肝组织、肝硬化及原发性肝癌组中的表达,其表达强度逐渐增强,提示其在肝脏中的过表达可能意味着有恶变趋向或已恶变,参与肝癌的发生发展过程。

表1 Mcl-1 表达与肝癌临床病理学特征的关系

临床病理因素		n	Mcl-1		χ^2	P值
			+	-		
性别	男	12	8	4	0.556	0.456
	女	8	4	4		
年龄 (岁)	< 50	9	6	3	0.020	0.888
	≥ 50	11	7	4		
肿瘤大小 (cm)	≤ 3	5	2	3	1.095	0.292
	> 3	15	10	5		
肿瘤包膜	有	4	1	3	2.552	0.102
	无	16	11	5		
肿瘤坏死	有	8	7	1	4.201	0.040
	无	12	5	7		
门静脉癌栓	有	4	3	1	0.469	0.619
	无	16	9	7		
AFP 值 ($\mu\text{g/L}$)	< 400	8	4	4	0.556	0.456
	≥ 400	12	8	4		
组织学分级	I ~ II	13	7	6	2.031	0.177
	III	7	6	1		
临床分期	I a ~ I b	8	5	3	0.037	0.848
	II a ~ II b	12	8	4		
TNM 分期	I ~ II	12	5	7	4.201	0.040
	III	8	7	1		
HbsAg	+	14	8	6	0.161	0.688
	-	6	4	2		

Mcl-1 基因及蛋白在肝癌组织中表达高于对照肝组织,是肝癌发生发展中的一个重要因素。Mcl-1 作为一种抗凋亡蛋白^[14],通过保护肝癌细胞

免受凋亡,增加肝癌细胞的生存力,使其得以不断增生,在肝癌的发生、发展过程中发挥着重要的作用。阻断 Mcl-1 的表达或调节 Mcl-1 表达的信号通路可能有助于阻止肝癌的发生。本研究结果表明,Mcl-1 在肝癌、肝硬化和对照肝组织中的表达存在差异,可能参与了肝硬化的发生、发展及向肝癌的恶性转化。

本研究局限在于:由于临床肝癌、肝硬化和对照肝组织获取不易,我们收集的样本量相对较少,有可能会影响到统计结果的客观性,后续我们将持续收集样本,扩大样本量进行深入探讨,以便增加结果的可信度。

参考文献:

- Germano D, Daniele B. Systemic therapy of hepatocellular carcinoma: current status and future perspectives[J]. World Journal of Gastroenterology, 2014, 20(12): 3087-3099.
- 张建忠, 朱建云, 季学军. 肝癌诊断的研究进展[J]. 现代检验医学杂志, 2012, 27(3): 22-25.
Zhang JZ, Zhu JY, Ji XJ. Research progress in diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. J Mod Lab Med, 2012, 27(3): 22-25.
- Takayama T. Surgical treatment for hepatocellular carcinoma[J]. Jpn J Clin Oncol, 2011, 41(4): 447-454.
- 李保全, 赵宏伟, 白雪峰. 肝硬化合并小肝癌与肝硬化再生结节多层螺旋 CT 灌注成像分析[J]. 实用医药杂志, 2014, 31(11): 1000-1001.
Li BQ, Zhao HW, Bai XF. Liver cirrhosis combined with small hepatocellular carcinoma and the regenerative nodules of liver cirrhosis in multislice CT perfusion imaging analysis[J]. Practical Journal of Medicine & Pharmacy, 2014, 31(11): 1000-1001.
- Quinn BA, Dash R, Azab B, et al. Targeting Mcl-1 for the therapy of cancer[J]. Expert Opin Investig Drugs, 2011, 20(10): 1397-1411.
- 邢传平, 刘斌, 董亮. 免疫组织化学标记结果的判断方法[J]. 中华病理学杂志, 2001, 30(4): 318.
Xing CP, Liu B, Dong L. Method for judging the results of immunohistochemistry[J]. Chinese Journal of Pathology, 2001, 30(4): 318.
- Whitsett TG, Mathews IT, Cardone MH, et al. Mcl-1 mediates TWEAK/Fn14-induced non-small cell lung cancer survival and therapeutic response[J]. Mol Cancer Res, 2014, 12(4): 550-559.
- Abulwerdi F, Liao C, Liu M, et al. A novel small-molecule inhibitor of Mcl-1 blocks pancreatic cancer growth in vitro and in vivo[J]. Mol Cancer Ther, 2014, 13(3): 565-575.

(下转 76 页)

- cet, 2009, 374(9693): 893-902.
- [2] 薛新娜, 陈 茶. 肺炎链球菌疫苗的研究进展[J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25(3): 127-130.
Xue XN, Chen C. Research progress of the vaccine of *Streptococcus pneumoniae*[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2010, 25(3): 127-130.
 - [3] 俞桑洁, 王 辉, 沈叙庄, 等. 肺炎链球菌临床检验规程的共识[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(12): 1066-1072.
Yu SJ, Wang H, Shen XZ, et al. The consensus of clinical examination of *Streptococcus pneumoniae*[J]. Chin J Lab Med, 2012, 35(12): 1066-1072.
 - [4] Gervais A, Corbeil J, Raymond F. A new serotyping method of *S. pneumoniae* using an automated microarray-based assay[J]. Bmc Proc, 2011, 5 (Suppl 6): O28.
 - [5] 彭拓华, 李柏生, 曾洪辉, 等. 多重聚合酶链反应与荚膜肿胀试验对肺炎链球菌血清分型的比较研究[J]. 微生物与感染, 2015, 10(2): 98-102.
Peng TH, Li BS, Zeng HH, et al. Serotyping of *Streptococcus pneumoniae* by multiplex polymerase chain reaction and capsular swelling test[J]. Journal of Microbes and Infections, 2015, 10(2): 98-102.
 - [6] 曹 杰, 屠 静, 邓 娟. 干酵母悬液对肺炎链球菌荚膜恢复的影响[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2004, 24(12): 1003.
Cao J, Tu J, Deng J. Effect of dry yeast suspension on the recovery of *Streptococcus pneumoniae*[J]. Chin J Microbiol Immunol, 2004, 24(12): 1003.
 - [7] 赵瑞珍, 郑跃杰, 邓秋莲, 等. 广东省深圳社区获得性肺炎患儿肺炎链球菌的血清群/型的分布及其耐药性[J]. 中国感染与化疗杂志, 2010, 10(3): 205-208.
Zhao RZ, Zheng YJ, Deng QL, et al. Serotype/serogroup distribution and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in children with community-acquired pneumonia in Shenzhen area[J]. Chin J Infect Chemother, 2010, 10(3): 205-208.
 - [8] 李建平, 叶 青, 沈月芳, 等. 以 CLSI(2009)标准评估杭州地区小儿肺炎链球菌的耐药性及其血清型分布研究[J]. 浙江检验医学, 2011, 9(1): 14-16.
Li JP, Ye Q, Shen YF, et al. Study on distribution serotype and the drug resistance of *Streptococcus pneumoniae* of children in Hangzhou area by CLSI(2009) standard[J]. Zhejiang Journal of Laboratory Medicine, 2011, 9(1): 14-16.
 - [9] 徐 飞, 迟富丽, 谈 华, 等. 48 株儿童侵袭性肺炎链球菌血清型分布[J]. 中国生化药物杂志, 2012, 33(6): 909-910, 912.
Xu F, Chi FL, Tan H, et al. Study on serotype distribution in 48 isolates of invasive *Streptococcus pneumoniae* with which children infected[J]. Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics, 2012, 33(6): 909-910, 912.
 - [10] 李马超, 张 砺, 李 倩, 等. 肺炎链球菌 PCR 分型技术的建立与应用[J]. 中华流行病学杂志, 2010, 31(3): 316-320.
Li MC, Zhang L, Li Q, et al. Establishment and application of PCR method in serotyping of *Streptococcus pneumoniae*[J]. Chin J Epidemiol, 2010, 31(3): 316-320.
 - [11] 潘 芬, 张 泓. 多重聚合酶链反应在肺炎链球菌血清学分型中的应用[J]. 检验医学, 2014, 29(11): 1089-1093.
Pan F, Zhang H. Application of multiplex polymerase chain reaction for detecting the serotypes of *Streptococcus pneumoniae*[J]. Laboratory Medicine, 2014, 29(11): 1089-1093.
- 收稿日期: 2015-09-15 修回日期: 2016-02-23
-
- (上接 72 页)
- [9] Akagi H, Higuchi H, Sumimoto H, et al. Suppression of myeloid cell leukemia-1 (Mcl-1) enhances chemotherapy-associated apoptosis in gastric cancer cells[J]. Gastric Cancer, 2013, 16(1): 100-110.
 - [10] Wuillème-Toumi S, Robillard N, Gomez P, et al. Mcl-1 is overexpressed in multiple myeloma and associated with relapse and shorter survival. Leukemia[J]. Leukemia, 2005, 19(7): 1248-1252.
 - [11] Lee WS, Park YL, Kim N, et al. Myeloid cell leukemia-1 is associated with tumor progression by inhibiting apoptosis and enhancing angiogenesis in colorectal cancer[J]. Am J Cancer Res, 2014, 5(1): 101-113.
 - [12] Liu H, Peng HW, Cheng YS, et al. Stabilization and enhancement of the antiapoptotic activity of Mcl-1 by TCTP[J]. Mol Cell Biol, 2005, 25(8): 3117-3126.
 - [13] 杨 威, 胡虞乾, 杨红杰, 等. Mcl-1 在肝硬化和肝癌组织中的表达及临床意义[J]. 华夏医学, 2013, 26(6): 1052-1056.
Yang W, Hu YQ, Yang HJ, et al. Expression and clinical significance of myeloid cell leukemia sequence-1 in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma[J]. Acta Medicinæ Sinica, 2013, 26(6): 1052-1056.
 - [14] 孙凤娥, 方 浩. Mcl-1 蛋白的结构、功能及其抑制剂的研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2013, 44(3): 296-302.
Sun FE, Fang H. Progress in research of structure, function and inhibitors of Mcl-1 protein[J]. Chinese Journal of Pharmaceutics, 2013, 44(3): 296-302.
- 收稿日期: 2015-08-25 修回日期: 2015-12-23