

· 临床研究 ·

荧光原位杂交技术检测人类宫颈端粒酶 RNA 组分基因的表达及其临床意义*

莫伟英, 黄莉, 莫耀禧, 何冰, 赵仁峰, 李雪, 吴月莲[△]

(广西壮族自治区人民医院生殖医学中心, 广西南宁 530022)

摘要:目的 探讨荧光原位杂交(FISH)技术检测人类宫颈端粒酶 RNA 组分(hTERC)基因在不同程度宫颈病变中的表达及其临床意义。方法 收集 133 例妇科疾病患者的宫颈脱落细胞及组织, 以及 20 位健康体检妇女的正常宫颈脱落细胞, 应用 FISH 技术检测宫颈脱落细胞以及病变组织中的 hTERC 基因扩增情况。结果 单纯炎症病变、未明确诊断的不典型鳞状细胞(ASCUS)、低度鳞状上皮内病变(LSIL)、高度鳞状上皮内病变(HSIL)及鳞状细胞癌患者宫颈脱落细胞 hTERC 基因扩增的阳性率分别为 0.00%、15.79%、81.82%、95.45% 及 100.00%; 单纯炎症或宫颈上皮内瘤变(CIN) I 级、CIN II 级、CIN III 级及宫颈浸润癌患者病变组织 hTERC 基因扩增的阳性率分别为 3.45%、52.38%、71.43% 及 100.00%。宫颈癌患者宫颈脱落细胞及病变组织 hTERC 基因的表达与 CIN 的差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 hTERC 基因扩增可预测宫颈病变的发展趋势。

关键词:原位杂交, 荧光, 端粒, 末端转移酶; 宫颈上皮内瘤样病变

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.01.004

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)01-0013-03

Detection of human telomerase RNA component gene in cervix by fluorescence in situ hybridization and its clinical significance*

Mo Weiyong, Huang Li, Mo Yangxi, He Bing, Zhao Renfeng, Li Xue, Wu Yuelian[△]

(Reproductive Technology Center, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning, Guangxi 530022, China)

Abstract: Objective To explore the detection of human telomerase RNA component(hTERC) gene expressed in different levels of cervical lesions by fluorescence in situ hybridization(FISH) and its clinical significance. **Methods** Cervical exfoliated cells and tissues of 133 patients with gynecological disease and 20 healthy woman who accepted physical examination were collected. FISH was employed to detect the amplification of hTERC gene in cervical exfoliated cells and lesion tissues. **Results** Positive rates of hTERC gene amplification in cervical exfoliated cells of patients with simplex inflammatory lesions, atypical squamous cells of undetermined significance(ASCUS), low-grade squamous intraepithelial lesion(LSIL), high-grade squamous intraepithelial lesion(HSIL) and squamous-cell carcinoma were 0.00%, 15.79%, 81.82%, 95.45% and 100.00%, respectively, while those in lesion tissues of patients with simplex inflammatory lesions or cervical intraepithelial neoplasia(CIN) I, CIN II, CIN III and invasive cervical carcinoma were 3.45%, 52.38%, 71.43% and 100.00%, respectively. Difference of hTERC gene expression in cervical exfoliated cells and lesion tissues between cervical carcinoma and CIN was not statistically significant($P < 0.05$). **Conclusion** hTERC gene amplification may predict the development trend of cervical lesions.

Key words: in situ hybridization, fluorescence; telomerase; cervical intraepithelial neoplasia

宫颈癌是妇科三大恶性肿瘤之一。由于宫颈癌的进展存在一个较长、可逆的癌前病变期,它是目前惟一可以早期发现并治愈的妇科肿瘤疾病。目前,许多国家开展的宫颈癌细胞学筛查具有较高的覆盖率和较好的质量控制,在降低宫颈癌发病率方面取得了较好成绩。但筛查技术也还存在一些问题,筛查方案的覆盖率提高,筛查技术的敏感性就需相应增加。本研究应用荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)技术,检测在不同程度宫颈病变患者的宫颈脱落细胞及组织中端粒酶 RNA 组分(human telomerase RNA component, hTERC)基因扩增情况,以了解针对端粒酶基因扩增的检测在宫颈癌早期诊断及预后评估中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2008 年 6 月至 2011 年 7 月在本院妇科门诊就诊以及病房住院的 133 例患者,年龄 21~63 岁,平均

36.16 岁。病理组织切片来源于其阴道镜下活检或子宫切除术后送检的宫颈病理组织,其中 97 例患者接受病理检查,病理检查提示:宫颈浸润癌 33 例,均符合《妇产科学》第 6 版中的诊断标准;宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)48 例,其中, CIN I 级 13 例, CIN II 级 21 例, CIN III 级 14 例;单纯宫颈炎症 16 例。82 例患者接受液基薄层细胞学检测(thin-cytologic test, TCT)(部分患者同时接受病理切片检查):未发现异常细胞(或仅有炎症细胞)16 例,提示有未明确诊断的不典型鳞状细胞(atypical squamous cells of undetermined significance, ASCUS)19 例,低度鳞状上皮内病变(low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL)11 例,高度鳞状上皮内病变(high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)22 例,鳞状细胞癌 14 例。收集 20 例健康体检妇女的正常宫颈脱落细胞,建立 FISH 检测的正常阈值,其 TCT 结果均为阴性。

* 基金项目:广西医疗卫生科研课题(桂卫 Z2008079)。 作者简介:莫伟英(1969~),副主任技师,主要从事分子及细胞遗传学的研究。

[△] 通讯作者, Tel:15177945080; E-mail: malijuli1997.02.28@163.com。

1.2 宫颈脱落细胞采集 用无菌纱布擦去宫颈表面的黏液;然后将宫颈细胞采集器或宫颈刷插入子宫颈管内,相同方向旋转 5 圈,采集宫颈外口及宫颈管内的脱落细胞;将宫颈细胞采集器直接放入盛有细胞保存液的收集瓶内,振荡,使采集的细胞进入保存液,离心,将细胞沉淀制成细胞切片,进行 FISH 检测。

1.3 FISH 检测玻片的制备

1.3.1 宫颈脱落细胞的固定和制片 (1)取 8~10 mL 低渗 KCl 溶液悬浮细胞,吹打均匀,置 37 °C 水浴箱中 20 min;(2)缓慢加入 1 mL 固定液(甲醇:冰醋酸=3:1)预固定,并充分混匀,离心 7 min(离心半径 8 cm,2 000 r/min),弃上清液,该步骤进行 3 次;(3)重新加入适量固定液悬浮细胞,试片以把握细胞密度;(4)滴片,优先考虑细胞数量;(5)将滴片置于显微镜下观察、评分,并标记出杂交区域;(6)室温过夜老化玻片或置于 56 °C 环境中老化 30 min。

1.3.2 宫颈组织切片的制备 从病理科取宫颈组织石蜡块,制成厚度为 3~5 μm 的切片,实验前进行脱蜡处理。

1.4 FISH 检测

1.4.1 荧光标记探针 GLP₃TERC/CSP3 DNA 荧光标记探针由北京金菩嘉医疗科技有限公司提供。TERC DNA 探针杂交到 3 号染色体长臂(3q26.3),荧光信号为红色(四甲基罗丹明),CSP3 DNA 杂交到 3 号染色体着丝粒(3p11.12q11.1),荧光信号为绿色,CSP3 作为对照探针。避光环境中,配制探针混合液(8 μL 杂交缓冲液,2 μL 探针);将探针混合液滴加于样本玻片的杂交区域,封片。

1.4.2 杂交与观察 在杂交仪中,温度设为 73~75 °C,变性 5 min,42 °C 过夜,杂交 16 h。第 2 天玻片洗脱:移去盖玻片,按实验程序分别经 50% 甲酰胺柠檬酸钠缓冲液及柠檬酸钠缓冲液浸泡、洗涤,玻片自然干燥后,加 10 μL 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)复染液,用盖玻片封好,放于暗盒中复染 20 min。用荧光显微镜(OLYMPUS)在三色滤光镜激发下观察间期细胞的荧光杂交信号,采用 FISH 分析软件(VideoTest 公司)进行阅片。

1.4.3 阈值的建立 20 例正常体检者的宫颈脱落细胞以上述方法制备成玻片,进行 FISH 实验。每例分析至少 200 个细胞,统计出现超过 2 个 *h*TERC 信号的细胞数百分比,阈值=平均数+3 \times 标准差,本实验室阈值为 5.9%。

1.4.4 结果判断 选择细胞核形态完整、杂交信号强的细胞核进行计数,计数至少 200 个信号完整的细胞。阳性判断标准:统计 TERC 红色信号超过 3 个信号点的百分比,大于阈值

者判断为阳性,提示 TERC 有扩增;反之为阴性。

1.5 统计学处理 采用 SPSS11.0 软件包进行统计学分析,组间率的比较用 χ^2 检验,检验标准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

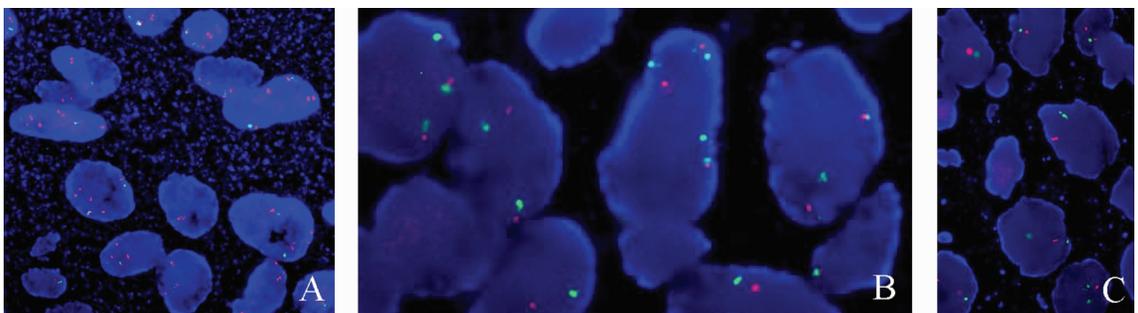
2.1 宫颈脱落细胞的 *h*TERC 基因扩增 宫颈细胞学病变组织中 *h*TERC 基因扩增情况见表 1。收集到的宫颈脱落细胞标本共 82 例。16 例单纯宫颈炎患者的宫颈脱落细胞中无 *h*TERC 基因扩增;19 例 ASCUS 中有 3 例 *h*TERC 基因扩增;11 例 LSIL 中有 9 例 *h*TERC 基因扩增(其中,6 例经阴道镜下活检病理诊断为 CIN I~III 级);22 例 HSIL 中有 21 例 *h*TERC 基因扩增[其中,18 例病理诊断为 CIN I~III 级;13 例患者进行人乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV)检测,9 例为 HPV 高危阳性];14 例鳞状细胞癌均有 *h*TERC 基因扩增,经病理证实为浸润性鳞癌。

表 1 不同宫颈细胞学病变脱落细胞中 *h*TERC 基因扩增比较[n(%)]

宫颈细胞学病变	n	阴性	阳性
单纯炎症	16	16(100.00)	0(0.00)
ASCUS	19	16(84.21)*	3(15.79)*
LSIL	11	2(18.18)*	9(81.82)* Δ
HSIL	22	1(4.55)*	21(95.45)* Δ
鳞状细胞癌	14	0(0.00)*	14(100.00)* Δ

*: $P<0.05$,与单纯炎症比较; Δ : $P<0.05$,与 ASCUS 比较。

2.2 宫颈组织 *h*TERC 基因扩增 宫颈组织学病变中 *h*TERC 基因扩增情况见表 2。收集到的宫颈组织标本共 83 例(其中有 32 例是在脱落细胞检查时发现 *h*TERC 基因扩增,然后再进行相应活检的标本)。29 例单纯炎症病变或 CIN I 级患者的病变组织中仅有 1 例 *h*TERC 基因扩增;21 例 CIN II 级中有 11 例 *h*TERC 基因扩增;14 例 CIN III 级(包括原位癌)中有 10 例 *h*TERC 基因扩增(其中 5 例进行 HPV 检测均提示为 HPV 高危阳性);19 例 ASCUS 均检测到 *h*TERC 基因扩增。如图 1 所示,随着宫颈病变组织分级级别的增高,组织中 *h*TERC 基因的拷贝数增多,宫颈浸润癌和 CIN III 级病变组织中 *h*TERC 基因拷贝数比例增加显著,出现 2:4,2:5,3:3,4:4 等杂交类型;而在 CIN I 级及以下的病变组织中却极少出现,基因拷贝均为 2:2。



A: 浸润性中分化鳞状细胞癌;B: CIN III 级累及腺体;C: CIN II 级。

图 1 宫颈细胞 3 号染色体 *h*TERC 基因的扩增情况(FISH)

表 2 不同宫颈组织学病变中 *hTERT* 基因扩增比较[n(%)]

宫颈组织学病变	n	阴性	阳性
单纯炎症或 CIN I 级	29	28(96.55)	1(3.45)
CIN II 级	21	10(47.62)*	11(52.38)*
CIN III 级(包括原位癌)	14	4(28.57)*	10(71.43)*
宫颈浸润癌	19	0(0.00)*	19(100.00)*△

*: $P < 0.05$, 与单纯炎症及 CIN I 级比较; △: $P < 0.05$, 与 CIN II 级比较。

3 讨论

自从人卵巢癌中发现活化的端粒酶以来,端粒酶就成为肿瘤研究的焦点。人类端粒酶包括 3 个主要组成部分,其中,*hTERT* 为端粒酶的主要结构,含有编码端粒 DNA 的模板区、端粒酶蛋白结合区等。*hTERT* 基因定位于 3q26.3,是端粒酶延长端粒的模板,同时在介导端粒酶组装,活性调节等方面发挥重要作用^[1]。端粒酶的意义是通过端粒的作用来实现的。端粒结构对于染色体保持 DNA 长度非常重要,如果没有端粒,染色体之间就会相互粘连,结构发生改变,并可能以其他方式表现出错误的行为,如降解、融合、重组和易位等,而这些错误严重威胁染色体复制,导致细胞死亡和错误复制^[2]。端粒酶是影响端粒长度的主要因素。它是一种特殊的逆转录核糖核蛋白酶,能以其自身的 RNA 为模板,向端粒末端添加 (TTAGGG)_n 序列,以保持端粒的长度和细胞的生存,从而延长细胞的寿命,甚至使其“永生”。Kim 等^[3]检测了 18 种不同人体细胞的 100 个永生细胞株,发现 98 个呈 *hTERT* 阳性,6 个病毒转化的细胞中,4 个猿猴病毒 40(simian virus 40,SV40) 转化细胞为阳性,而在 22 种正常组织和 50 种良性肿瘤组织中,*hTERT* 为阴性。端粒酶在恶性肿瘤中的阳性表达率为 90%~100%,而正常人体细胞几乎未检出端粒酶活性,它被认为是最具广谱和特异性的肿瘤标记物之一。

本研究通过对 82 例脱落细胞及 83 例病理组织切片中 *hTERT* 基因扩增情况进行分析,发现单纯炎症患者宫颈脱落细胞、单纯炎症或 CIN I 级病变组织中的 *hTERT* 基因扩增阳性表达率最低;*hTERT* 基因的阳性表达率随着宫颈病变分级的增加而呈逐渐上升趋势,且分级级别较高的组织中 *hTERT* 基因的阳性表达率以及基因拷贝数比例明显高于分级较低组织,这与 20 多年来的基础研究结果一致:癌细胞中,由于端粒酶活性增强,使染色体端粒维持在一定长度而获得永生和无限增殖^[4],表明随着宫颈病变程度的增高,*hTERT* 基因阳性表达率、基因拷贝数以及扩增程度增加,提示 *hTERT* 基因扩增与早期宫颈病变及其进展有关。本研究中,*hTERT* 基因阳性表达率比 Tu 等^[5]所报道的高,分析原因在于纳入本研究的病例大多数是经过外院病理检查确诊的,这使检测阳性结果增加。本研究发现 22 例 HSIL 中 21 例 *hTERT* 基因扩增,其中,18 例病理诊断为 CIN I ~ III 级;13 例患者进行 HPV 检测,9 例为 HPV 高危阳性。在 *hTERT* 基因扩增阳性病例中,HPV 高危型阳性率增高。在宫颈癌及癌前病变中,高危 HPV E6 蛋白能使 *hTERT* mRNA 表达上调,端粒酶活性升高。端粒酶激活是 HPV 感染后导致 CIN 和宫颈癌的关键。张艾芃等^[6]研究发现,高危型 HPV 感染的 46 例 CIN 中有 37 例 *hTERT* 基

因扩增,占 80.4%;而在 11 例 HPV 阴性患者中,*hTERT* 基因扩增的比例仅为 18.2%;在 39 例 *hTERT* 基因扩增的患者中,HPV 阳性所占的比例为 94.9%。本研究中,宫颈癌病变组织 *hTERT* 基因扩增的阳性率为 100%,宫颈癌病理检查与 FISH 检测的阳性率比较,差异无统计学意义,这与国内、外报道相似^[7-9]。张永峰等^[10]也指出端粒酶的异常激活可发生在宫颈癌的各个阶段,随着组织学病变程度增加,*hTERT* 基因扩增阳性率及扩增程度增加。但是国外也有研究认为,*hTERT* 基因扩增程度虽然与病变的进展程度正相关,但 *hTERT* 基因的低敏感性影响了它在临床的应用^[11-12]。Tsezou 等^[13]检测 82 例宫颈癌组织,发现端粒酶活性的高低与宫颈癌临床分期、体积大小无关,而与肿瘤化程度和盆腔淋巴结转移有关。肿瘤分化程度越低,端粒酶活性越高;有淋巴结转移的宫颈癌组织端粒酶活性显著高于无淋巴结转移者。有学者在对脑癌、食道癌、大肠癌、肺癌、胰腺癌、骨癌和宫颈癌的研究中发现,在细胞脱离凋亡机制以及恶性肿瘤的转移中,*TERT* 基因的活性增加以及过度表达具有关键作用^[14-17]。由于本研究样本数量有限,尚不足以证实这个观点。

近年来,FISH 技术广泛应用于分子遗传学诊断,为肿瘤的早期诊断和治疗开辟了新的领域。FISH 原理是以核酸碱基互补配对原则为基础所发展起来的检测技术,主要利用 DNA 序列的互补性,通过荧光标记的 DNA 探针与预处理待测样本的 DNA 进行原位杂交,在荧光显微镜下,对荧光信号进行辨别和计数,即对细胞、组织样本中的异常染色体或基因进行检测和诊断。FISH 检测的标本可以是中期分裂相,也可以是间期细胞。由于技术本身操作简单、重复性好、具有较高的灵敏性及特异性,因此,很适应临床医学检测。本研究结果表明,FISH 检测宫颈脱落细胞或组织中 *hTERT* 基因的表达,可作为宫颈癌早期诊断的新措施。

参考文献:

- [1] Chen JL, Greider CW. Telomerase RNA structure and function: implications for dyskeratosis congenita [J]. Trends Biochem Sci, 2004, 29(4): 183-192.
- [2] 陈道桢, 耿金花, 薛文群, 等. 染色体不稳定性及其与妇科肿瘤形成关系的研究进展 [J]. 东南大学学报: 医学版, 2004, 23(5): 355-357.
- [3] Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer [J]. Science, 1994, 266(5193): 2011-2015.
- [4] Holt SE, Shay JW. Role of telomerase in cellular proliferation and cancer [J]. J Cell Physiol, 1999, 180(1): 10-18.
- [5] Tu Z, Zhang A, Wu R, et al. Genomic amplification of the human telomerase RNA gene for differential diagnosis of cervical disorders [J]. Cancer Genet Cytogenet, 2009, 191(1): 10-16.
- [6] 张艾芃, 李亚里, 张咏梅, 等. 人乳头瘤病毒感染的宫颈上皮内瘤变中的 *hTERT* 基因分析 [J]. 中国妇产科临床杂志, 2009, 10(2): 98-101.
- [7] 罗新, 陈舒, 陈芳, 等. FISH 技术检测宫颈 *hTERT* 基因的表达及其临床意义 [J]. 中国妇产科临床杂志, 2010, 11(2): 88-91.

存在时,糖尿病促进结核病的发展,结核菌感染加重糖尿病的代谢紊乱,形成恶性循环。因此,治疗肺结核的关键是积极控制血糖。若口服药物控制血糖的效果不理想,应积极采用皮下注射胰岛素治疗^[16-18],以达到迅速控制血糖的目的;同时,加大营养物质的摄入,增加患者的抗病能力,降低抗结核药的不良反应和对肝细胞的损伤^[16-17]。

综上所述,肺结核合并糖尿病具有病情严重和病变复杂的特点,糖尿病患者应预防结核病的发生,定期进行结核菌素试验和肺部影像学检查。另外,结核患者在治疗期间,应定期检查血糖,有效控制血糖是结核治疗的关键。

参考文献:

- [1] Kahn CR, Weir GC, King GL, et al. Joslin's diabetes mellitus [M]. 14th. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
 - [2] Stevenson CR, Forouhi NG, Roglic G, et al. Diabetes and tuberculosis: the impact of the diabetes epidemic on tuberculosis incidence[J]. BMC Public Health, 2007, 7: 234-234.
 - [3] 严碧涯, 端木宏谨. 结核病学[M]. 北京: 北京出版社, 2008.
 - [4] Ponce-De-Leon A, Garcia-Garcia Md Mde L, Garcia-Sancho MC, et al. Tuberculosis and diabetes in southern Mexico[J]. Diabetes Care, 2004, 27(7): 1584-1590.
 - [5] Kawamori R. Diabetes and tuberculosis—bad companions [J]. Kekkaku, 2004, 79(1): 25-32.
 - [6] 陶学芳. 糖尿病合并肺结核 35 例临床分析[J]. 重庆医学, 2007, 36(5): 466-468.
 - [7] 罗道宝, 刘岩, 扬芳玲, 等. 32 例合并糖尿病肺结核的 X 线表现[J]. 中国防痨杂志, 2007, 29(5): 445-446.
 - [8] 孙凤. 初治、复治肺结核合并 2 型糖尿病患者的营养状况调查[J]. 临床肺科杂志, 2010, 15(1): 18-19.
 - [9] Sen T, Joshi SR, Udawadia ZF. Tuberculosis and diabetes mellitus: merging epidemics [J]. J Assoc Physicians India, 2009, 57: 399-404.
 - [10] 曾正国. 现代实用结核病学[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2003.
 - [11] 吴新员, 黎志良, 周伶俐, 等. 肺结核合并糖尿病患者 68 例临床疗效观察[J]. 海南医学, 2011, 22(1): 30-32.
 - [12] Dooley KE, Chaisson RE. Tuberculosis and diabetes mellitus: convergence of two epidemics [J]. Lancet Infect Dis, 2009, 9(12): 737-746.
 - [13] Alisjahbana B, Sahiratmadja E, Nelwan EJ, et al. The effect of type 2 diabetes mellitus on the presentation and treatment response of pulmonary tuberculosis [J]. Clin Infect Dis, 2007, 45(4): 428-435.
 - [14] 任艳. 糖尿病合并肺结核 500 例临床分析[J]. 中国社区医师: 医学专业, 2010(15): 52-52.
 - [15] 覃红娟. 糖尿病并发肺结核免疫功能变化及其治疗现状 [J]. 临床肺科杂志, 2011, 16(2): 253-255.
 - [16] Balasubramanian R, Ramanathan U, Thyagarajan K, et al. Evaluation of an intermittent six-month regimen in new pulmonary tuberculosis patients with diabetes mellitus [J]. Indian J Tuberc, 2007, 54(4): 168-176.
 - [17] Singla R, Khan N, Al-Sharif N, et al. Influence of diabetes on manifestations and treatment outcome of pulmonary TB patients [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2006, 10(1): 74-79.
- (收稿日期: 2012-06-09 修回日期: 2012-10-19)
-
- (上接第 15 页)
- [8] Ferber MJ, Montoya DP, Yu C, et al. Integrations of the hepatitis B virus (HBV) and human papillomavirus (HPV) into the human telomerase reverse transcriptase (hTERT) gene in liver and cervical cancers [J]. Oncogene, 2003, 22(24): 3813-3820.
 - [9] Kailash U, Soundararajan CC, Lakshmy R, et al. Telomerase activity as an adjunct to high-risk human papillomavirus types 16 and 18 and cytology screening in cervical cancer [J]. Br J Cancer, 2006, 95(9): 1250-1257.
 - [10] 张永峰, 赵殿凤, 马宁, 等. hTERT 基因在子宫颈上皮脱落细胞的表达及临床意义 [J]. 山东医药, 2010, 50(41): 56-57.
 - [11] Sharma A, Rajappa M, Saxena A, et al. Telomerase activity as a tumor marker in Indian women with cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer [J]. Mol Diagn Ther, 2007, 11(3): 193-201.
 - [12] Oikonomou P, Mademtzi I, Messinis I, et al. Quantitative determination of human telomerase reverse transcriptase messenger RNA expression in premalignant cervical lesions and correlation with human papillomavirus load [J]. Hum Pathol, 2006, 37(2): 135-142.
 - [13] Tsezou A, Oikonomou P, Kollia P, et al. The role of human telomerase catalytic subunit mRNA expression in cervical dysplasias [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2005, 230(4): 263-270.
 - [14] Glanz C, Rebetz J, Stewenius Y, et al. Genetic intratumour heterogeneity in high-grade brain tumours is associated with telomere-dependent mitotic instability [J]. Neuro-pathol Appl Neurobiol, 2007, 33(4): 440-454.
 - [15] Zhang H, Jin Y, Chen X, et al. Papillomavirus type 16 E6/E7 and human telomerase reverse transcriptase in esophageal cell immortalization and early transformation [J]. Cancer Lett, 2007, 245(1/2): 184-194.
 - [16] Forsyth RG, De Boeck G, Bekaert S, et al. Telomere biology in giant cell tumour of bone [J]. J Pathol, 2008, 214(5): 555-563.
 - [17] Wang R, Lin F, Wang X, et al. The therapeutic potential of survivin promoter-driven siRNA on suppressing tumor growth and enhancing radiosensitivity of human cervical carcinoma cells via downregulating hTERT gene expression [J]. Cancer Biol Ther, 2007, 6(8): 1295-1301.
- (收稿日期: 2012-06-04 修回日期: 2012-09-11)