

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.24.011

外周血循环 hTERT mRNA 和 CK19 mRNA 的表达与鼻咽癌肿瘤微转移的相关性研究*

付新洒¹, 曹彦洋², 李冠雪³, 陈芳¹, 王晓琪¹,
杨梦雪¹, 蔡智谋¹, 钟庆雯¹, 文忠¹, 申聪香^{1△}

(1. 南方医科大学珠江医院耳鼻咽喉-头颈外科, 广州 510282; 2. 中国人民解放军第四一医院耳鼻咽喉科, 上海 200081; 3. 南方医科大学珠江医院小儿耳鼻咽喉科, 广州 510282)

[摘要] **目的** 探讨鼻咽癌患者外周循环血人端粒酶逆转录酶(hTERT) mRNA 和细胞角蛋白 19 (CK19) mRNA 表达与肿瘤微转移的相关性。**方法** 采用实时荧光定量 PCR 技术(qRT-PCR)定量检测 44 例鼻咽癌患者治疗前后外周循环血 hTERT mRNA 及 CK19 mRNA 定量表达, 并分析其与临床病理特征的关系, 同时以 20 例健康体检者作为对照。**结果** 对照组外周血中 CK19 mRNA 相对表达量为 0.85 ± 0.50 , 鼻咽癌患者外周血中 CK19 mRNA 水平为 10.97 ± 4.60 , 差异有统计学意义($t = -14.39, P < 0.01$); 健康体检者外周血中 hTERT mRNA 相对表达量为 1.09 ± 0.40 , 鼻咽癌患者外周血中 hTERT mRNA 水平为 10.45 ± 3.81 , 差异有统计学意义($t = -16.64, P < 0.01$)。鼻咽癌患者外周血 hTERT mRNA 和 CK19 mRNA 的表达与临床分期、T 分期、N 分期、M 分期有相关性($P < 0.05$)。治疗后鼻咽癌患者 hTERT mRNA 的表达量由 10.75 ± 3.81 降低至 5.46 ± 2.00 , 而 CK19 mRNA 的表达量(5.63 ± 1.91)较治疗前(10.97 ± 4.60)亦明显下降($P < 0.01$)。**结论** 鼻咽癌外周血 hTERT mRNA 和 CK19 mRNA 的表达有可能作为预测外周血肿瘤细胞微转移和判断疗效的指标之一。

[关键词] 鼻咽肿瘤; hTERT mRNA; CK19 mRNA; 实时荧光定量; 外周血; 微转移

[中图分类号] R739.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)24-3166-04

Correlation between expression of hTERT mRNA and CK19 mRNA in peripheral blood circulation with nasopharyngeal carcinoma tumor micrometastasis*

FU Xinsai¹, CAO Yanyang², LI Guanxue³, CHEN Fang¹, WANG Xiaoqi¹,
YANG Mengxue¹, CAI Zhimou¹, ZHONG Qingwen¹, WEN Zhong¹, SHEN Congxiang^{1△}

(1. Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Pearl River Hospital, Nanfang Medical University, Guangzhou, Guangdong 510282, China; 2. Department of Otorhinolaryngology, 411 Hospital of PLA, Shanghai 200081, China; 3. Department of Pediatric Otorhinolaryngology, Pearl River Hospital, Nanfang Medical University, Guangzhou, Guangdong 510282, China)

[Abstract] **Objective** To explore the correlation between the quantitative expression of peripheral blood human telomerase reverse transcriptase (hTERT) mRNA and cytokeratin 19 (CK19) mRNA in the nasopharyngeal carcinoma patients with tumor micrometastasis. **Methods** The quantitative expressions of peripheral blood hTERT mRNA and CK19 mRNA before and after treatment in 44 patients with nasopharyngeal carcinoma were detected by adopting the quantitative real time fluorescence PCR (qRT-PCR), and their correlation with clinicopathologic features was analyzed, meanwhile 20 individuals undergoing healthy physical examination served as the controls. **Results** The relative expression level of peripheral blood CK19 mRNA in the control group was 0.85 ± 0.50 , which in the patients with nasopharyngeal carcinoma was 10.97 ± 4.60 , the difference was statistically significant ($t = -14.39, P < 0.01$); the relative expression level of peripheral blood hTERT mRNA in the individuals undergoing healthy physical examination was 1.09 ± 0.40 , which in the patients with nasopharyngeal carcinoma was 10.75 ± 3.81 , the difference was statistically significant ($t = -16.64, P < 0.01$). The expression levels of peripheral blood hTERT mRNA and CK19 mRNA had the correlation with clinical stage, T classification, N classification and M classification ($P < 0.05$). The hTERT mRNA

* 基金项目: 国家青年基金课题(81402456); 广东省自然基金课题(2015A030313255)。作者简介: 付新洒(1988-), 住院医师, 硕士, 主要从事鼻咽癌与端粒酶方面的研究, 现工作于上海市徐汇区大华医院耳鼻咽喉科。△ 通信作者, E-mail: scxiang@126.com。

expression level after treatment in the patients with nasopharyngeal carcinoma was decreased from 10.45 ± 3.81 to 5.46 ± 2.00 , and CK19 mRNA expression level was also significantly decreased from 10.97 ± 4.60 to 5.63 ± 1.91 ($P < 0.01$). **Conclusion** The expression of peripheral blood hTERT mRNA and CK19 mRNA in the patients with nasopharyngeal carcinoma might serve as one of indexes for predicting tumor cell micrometastasis in peripheral blood and judging therapeutical efficacy.

[Key words] nasopharyngeal neoplasms; hTERT mRNA; CK19 mRNA; real time fluorescence PCR; peripheral blood; micrometastasis

鼻咽癌属于上皮源性低分化或未分化恶性肿瘤,尽管近年在诊断和治疗上均取得了较大进展,但综合预后仍然很差,其总体 5 年生存率小于 50%^[1],致死的主要原因是局部复发和远处转移。外周循环血肿瘤细胞微转移是复发转移的前提,目前临床上缺乏敏感又特异度高的液体活检手段。近年研究表明,肿瘤在侵袭和转移的早期阶段,就可能有肿瘤细胞侵入外周循环血中^[2],而进入外周循环血液的肿瘤细胞仍可表达多种肿瘤特异性蛋白并释放入循环血中。国内外已有许多学者报道用实时荧光定量 PCR 技术(qRT-PCR)的方法检测出肿瘤患者外周血微量癌细胞,它通过扩增能在肿瘤细胞中特异性表达而在其他血液细胞中不表达的特异性 mRNA,从而实现在外周循环血中检测到循环肿瘤细胞(CTCs)及其游离 mRNA。这种方法已经应用于肺癌、前列腺癌等血液肿瘤细胞微转移的研究^[3-4]。上述研究提示,实时检测循环血中 CTCs 及其释放循环血中的特异性游离 mRNA 对判断肿瘤早期微转移及指导临床治疗具有重要意义。而与肿瘤有密切关系的端粒酶及其人端粒酶逆转录酶(hTERT)亚单位成为理想的检测指标。本研究通过 qRT-PCR 法检测鼻咽癌肿瘤患者外周循环血 hTERT mRNA 表达情况并联合检测上皮性肿瘤标志物细胞角蛋白 19(CK19) mRNA,分析二者在鼻咽癌患者外周循环血中的表达意义及与肿瘤细胞血液微转移的关系,现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本 鼻咽癌组纳入 2013 年 9 月至 2014 年 6 月南方医科大学珠江医院耳鼻喉科收治的鼻咽癌患者,共 44 例,年龄 23~72 岁,平均 49 岁。患者均经病理学确诊为低分化型鳞状细胞癌且既往未经任何治疗。TNM 分期采用鼻咽癌 2008 临床分期标准:Ⅰ期 5 例,Ⅱ期 6 例,Ⅲ期 19 例,Ⅳ期 14 例;T₁ 期患者 11 例,T₂ 期 13 例,T₃ 期 14 例,T₄ 期 6 例;N₀ 5 例,N₁ 6 例,N₂ 24 例,N₃ 9 例;M₀ 39 例,M₁ 5 例。同时,收集健康体检者外周血标本 20 例作为对照组。本研究通过了南方医科大学珠江医院医学伦理委员会审核批准,病理标本的采集和检测试验均经患者知情

同意。

1.1.2 主要试剂与仪器 淋巴细胞分离液(天津 TB 公司),TRIZOL(美国 Invitrogen 公司),PrimeScript RT reagent Kit 逆转录试剂盒(日本 Takara 公司),SYBR Premix Ex Taq II 试剂盒(日本 Takara 公司),ABI7500 荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司)。

1.2 方法

1.2.1 血标本处理 鼻咽癌Ⅰ、Ⅱ期患者直接行放疗,Ⅲ、Ⅳ期行两个疗程诱导化疗后再行放疗,治疗前及放疗结束后于上午 6:00~9:00 点采集外周静脉血,采血时第 1 管血弃之不用,取第 2 管血 5 mL 置入真空无菌肝素抗凝的试管。2 h 内加入淋巴细胞分离液(比重 1.077)离心 2 500 r/min,20 min 后收集界面细胞,得到单个核细胞层(癌细胞在此层),用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 1 次,置 -80 °C 保存。对照组血标本处理同鼻咽癌组。

1.2.2 引物序列 内参 β -action 引物及 CK19 mRNA 及 hTERT 引物采用 Primer express 设计,引物序列如下。CK19:上游引物 5'-TGG AAG AGT GTC TGG AGC AA-3',下游引物 5'-GGA TGA AGC GGA GTC TGG A-3';hTERT:上游引物 5'-CGG AAG AGT GTC TGG AGC AA-3',下游引物 5'-GGA TGA AGC GGA GTC TGG A-3'; β -action:上游引物 5'-TGA CAC CTC ACC TCA CCC AC-3',下游引物 5'-CAC TGT CTT CCG CAA GTT CAC-3'。引物由上海生工公司合成。

1.2.3 qRT-PCR 300 μ L 单个核细胞加入 1 000 μ L Trizol 试剂进行 RNA 提取,用紫外分光光度计检测总 RNA 水平, A_{260}/A_{280} 1.8~2.0 视为抽提的 RNA 纯度高,-80 °C 保存。分别取总 RNA 1 μ g,按反转录试剂盒说明书逆转录反应合成 cDNA,以反应所得 cDNA 进行 PCR 扩增。反应体系:SYBR Premix 10.0 μ L,上下游引物各 0.4 μ L,cDNA 模板 1.0 μ L,ROX Reference Dye II 0.4 μ L 和灭菌去离子水 7.8 μ L 共 20.0 μ L。反应条件:预变性 95 °C 30 s;PCR 反应:95 °C 变性 15 s;60 °C 退火 20 s,72 °C 延伸 34 s,40 个循环。以 β -action 作为内参照,试验重复 3 次。

1.2.4 结果判断 qRT-PCR 由荧光定量 PCR 仪自动采集目的基因与内参基因的 Ct 值, 基因表达量用鼻咽癌组/对照组 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) 计算。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行处理, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 治疗前后采用配对样本 *t*-检验, 两独立样本采用独立样本 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组 hTERT mRNA 和 CK19 mRNA 比较 试验结果显示, 对照组外周血中 CK19 mRNA 相对表达量为 0.85 ± 0.50 , 鼻咽癌患者外周血中 CK19 mRNA 水平为 10.97 ± 4.60 , 差异有统计学意义 ($t = -14.39$, $P < 0.01$)。对照组外周血中 hTERT mRNA 相对表达量为 1.09 ± 0.40 , 鼻咽癌患者外周血中 hTERT mRNA 水平为 10.45 ± 3.81 , 差异有统计学意义 ($t = -16.64$, $P < 0.01$), 见图 1~2。

2.2 hTERT mRNA 和 CK19 mRNA 与鼻咽癌临床病理因素的关系 鼻咽癌患者外周血 hTERT mRNA 和 CK19 mRNA 的表达与临床分期、T 分期、N 分期、M 分期有明显相关性 ($P < 0.05$), 见表 1。

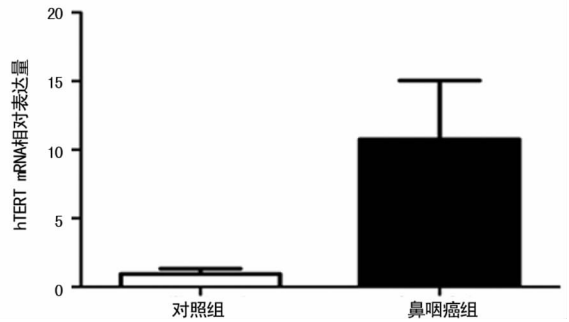


图 1 hTERT mRNA 在鼻咽癌和对照组的相对表达量

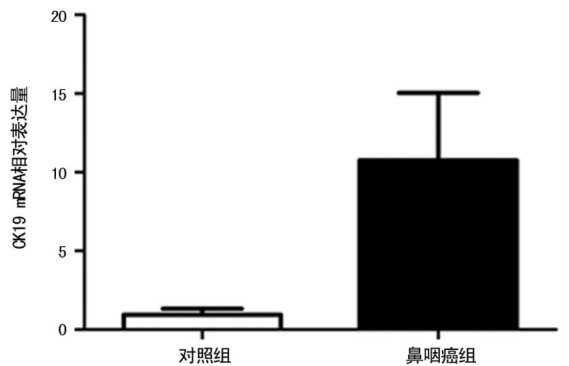


图 2 CK19 mRNA 在鼻咽癌和对照组的相对表达量

表 1 鼻咽癌组外周血 CK19 mRNA 和 hTERT mRNA 的表达量与临床病理参数的关系 ($\bar{x} \pm s$)

项目	<i>n</i>	CK19 mRNA	<i>F/t</i>	<i>P</i>	hTERT mRNA	<i>F/t</i>	<i>P</i>
临床分期			20.24	<0.01		31.73	<0.01
I	5	3.88 ± 1.20			4.38 ± 1.43		
II	6	7.03 ± 0.61			7.05 ± 1.29		
III	19	11.27 ± 2.57			11.19 ± 1.84		
IV	14	14.78 ± 4.25			14.03 ± 2.87		
N 分期			18.59	<0.01		26.64	<0.01
N ₀	5	3.88 ± 1.20			4.38 ± 1.43		
N ₁	6	7.03 ± 0.61			7.05 ± 1.29		
N ₂	24	12.08 ± 3.89			11.73 ± 2.15		
N ₃	9	14.97 ± 4.60			14.18 ± 3.30		
T 分期			12.26	<0.01		9.24	<0.01
T ₁	11	6.85 ± 3.18			7.72 ± 3.75		
T ₂	13	10.24 ± 3.52			9.72 ± 3.03		
T ₃	14	12.42 ± 3.13			12.30 ± 2.05		
T ₄	6	16.88 ± 4.30			14.70 ± 3.55		
M 分期			4.59	0.038		-3.70	0.020
M ₀	39	10.46 ± 4.14			10.38 ± 3.87		
M ₁	5	14.96 ± 6.50			13.64 ± 1.40		

2.3 hTERT mRNA 和 CK19 mRNA 与鼻咽癌治疗疗效的关系 I、II 期共 11 例患者直接行放疗, III、IV 期共 33 例患者行两个疗程诱导化疗后再行放疗。

治疗后 CK19 mRNA 由 10.97 ± 4.60 降低至 5.63 ± 1.91 ; hTERT mRNA 由 10.75 ± 3.81 降为 5.46 ± 2.00 。治疗后 CK19 mRNA 和 hTERT mRNA 表达

量均明显下降,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

3 讨 论

肿瘤血行微转移是近年的研究热点,血行转移也是鼻咽癌远处转移的主要途径之一,早期发现外周血肿瘤细胞微转移可筛选出具有转移倾向的高危肿瘤患者,对于预测肿瘤外周血微转移及临床治疗方案的选择和预后的判断具有重要意义。

细胞角蛋白(CK)表达于正常上皮和上皮源性肿瘤。正常情况下,血液中不存在 CK,如果外周血中检测出 CK,提示上皮源性肿瘤已经转移入血。CK19 是国内外公认的的上皮性组织特异性标志物,已被广泛应用于乳腺癌、肺癌、结直肠癌、胃癌等上皮性肿瘤外周血中微转移的检测,有很高的灵敏度和较好的特异度^[5-10]。hTERT 是端粒酶催化亚基,与端粒酶一样仅在肿瘤细胞中高表达,在对照组织中不表达,研究提示,hTERT 与鼻咽癌关系密切,是癌变的早期事件^[11-12]。因为端粒酶系统与恶性肿瘤的特异性关系,采用检测肿瘤患者外周循环血中 hTERT mRNA 成为肿瘤患者血液活检的重要方法,对于判断血液微量 CTCs 存在的微转移提供了重要线索,已显示出有前景的临床利用价值^[13]。

本研究采用 qRT-PCR 技术检测鼻咽癌患者外周血中 CK19 mRNA 和 hTERT mRNA 的表达,分子生物学水平预示血液中可能存在的微量 CTCs 及释放的特异性肿瘤标志物,对早期发现鼻咽癌外周血微转移提供试验依据,这有可能彻底改变目前临床主要依靠影像学、病理学检测肿瘤复发和远处转移的局限性、滞后性,有助于早期发现血液转移高危患者。本研究结果发现已经发生远处转移的患者,CK19 mRNA 和 hTERT mRNA 的表达较未转移者明显升高。这也证实了本课题组对于肿瘤微转移是肿瘤真正转移发生的前奏的猜测。同时本研究还发现,鼻咽癌患者外周血 CK19 mRNA 和 hTERT mRNA 的表达与临床分期、T 分期、N 分期有相关性。即使是早期鼻咽癌患者,也可见 CK19 mRNA 和 hTERT mRNA 升高,说明鼻咽癌患者在癌症的早期就可能在外周血出现肿瘤细胞并进一步形成微转移,且随着临床分期的进展而更趋明显,与文献^[5,7]报道一致。因而,外周血 hTERT 及 CK19 mRNA 检测亦对指导临床治疗有很大帮助。

但也有文献报道,并非发现外周 CTCs 就说明出现转移,可能由于外周循环中肿瘤细胞受机体免疫系统的限制,绝大多数肿瘤细胞并不能形成转移灶,但是肿瘤发生转移率却明显上升^[5,7]。也有能在肿瘤微转移发生中,必须达到一定的量变才会出现肿瘤真正远处转移的质变。其机制有待于深入研究。

目前评判鼻咽癌的治疗效果方面尚缺乏有效的临床检测指标,外周血 CK19 mRNA 和 hTERT mRNA 检测在评判恶性肿瘤的治疗效果方面显示出了潜在的重要价值。GEORGOULIAS 等^[6]研究显示,乳腺癌外周血 CTCs 中 CK19 mRNA 的阳性率经过 3 个疗程化疗后由 66.8% 降低至 47.8%,6 个疗程化疗后,阳性率降低至 44.3%。本研究的试验结果也发现,治疗后 CK19 mRNA 由 10.97 ± 4.60 降低至 5.63 ± 1.91 ; hTERT mRNA 由 10.75 ± 3.81 降为 5.46 ± 2.00 ,治疗后 CK19 mRNA 和 hTERT mRNA 表达量均明显下降。二者有可能成为鼻咽癌早期血液转移及治疗效果评估的标志物。

综上所述,通过外周血 CK19 mRNA 和 hTERT mRNA 的检测可能对传统的鼻咽癌 TNM 分期进行补充以在早期发现肿瘤微转移,更有效地指导临床治疗。本研究结果已初步显示远处转移患者 CK19 mRNA 和 hTERT mRNA 的表达较未转移者明显升高。因此,有必要进行大样本量的前瞻性对照研究,以阐明其与鼻咽癌微转移的关系,为鼻咽癌的诊治提供新的参考指标。

参考文献

- [1] 何艳梅,蔡巧玲,黄彩云,等. 3 028 例鼻咽癌生存率统计[J]. 中国病案,2008,9(3):38-39.
- [2] LAGET S, BRONCY L, HORMIGOS K, et al. Technical insights into highly sensitive isolation and molecular characterization of fixed and live circulating tumor cells for early detection of tumor invasion[J]. PLoS One, 2017, 12(1): e0169427.
- [3] CHENG M, LIU L, YANG H S, et al. Circulating tumor cells are associated with bone metastasis of lung cancer[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(15): 6369-6374.
- [4] LIU D Y, XIA W M, TANG Q, et al. Detection of pelvic lymph node micrometastasis by real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction in prostate cancer patients after hormonal therapy[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2014, 140(2): 235-241.
- [5] KEYVANI S, KARIMI N, ORAFA Z, et al. Assessment of cytokeratin-19 gene expression in peripheral blood of breast cancer patients and breast cancer cell lines[J]. Biomark Cancer, 2016(8): 57-63.
- [6] GEORGOULIAS V, APOSTOLAKI S, BOZIOELOU V, et al. Effect of front line chemotherapy on circulating CK19 mRNA positive cells in patients with metastatic breast cancer[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2014, 74(6): 1217-1225.
- [7] MILAKI G, MESSARITAKIS I, KOINIS F, et al. Prognostic value of chemotherapy-resistant CK19mRNA-positive circulating tumor cells in patients with advan- (下转第 3173 页)

- cal end points in coronary stent trials: a case for standardized definitions[J]. *Circulation*, 2007, 115(7): 2344-2351.
- [4] 唐学文. 老年冠心病合并 2 型糖尿病患者冠状动脉造影特点分析[J]. *重庆医学*, 2010, 39(13): 1713-1714.
- [5] JOHANSEN O E, BIRKELAND K I. Preventing macrovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Am J Cardiovasc Drugs*, 2003, 3(4): 283-297.
- [6] WU G Y, ZONG G J, CHEN J K, et al. Changes of plasma B-type natriuretic peptide levels after high-pressure post-dilation following coronary stent deployment [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e82357.
- [7] CHENEAU E, SATLER L F, ESCOLAR E, et al. Under-expansion of sirolimus-eluting stents: incidence and relationship to delivery pressure [J]. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2005, 65(2): 222-226.
- [8] ARMSTRONG E J, KWA A T, YEO K K, et al. Angiographically confirmed stent thrombosis in contemporary practice: insights from intravascular ultrasound [J]. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2013, 81(5): 782-790.
- [9] ALFONSO F, DUTARY J, PAULO M, et al. Combined use of optical coherence tomography and intravascular ultrasound imaging in patients undergoing coronary interventions for stent thrombosis [J]. *Heart*, 2012, 98(16): 1213-1220.
- [10] FUJII K, CARLIER S G, MINTZ G S, et al. Stent under-expansion and residual reference segment stenosis are related to stent thrombosis after sirolimus-eluting stent im-plantation; an intravascular ultrasound study [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 45(7): 995-998.
- [11] KANG S J, MINTZ G S, PARK D W, et al. Mechanisms of in-stent restenosis after drug-eluting stent implantation; intravascular ultrasound analysis [J]. *Circ Cardiovasc Interv*, 2011, 4(1): 9-14.
- [12] MURAOKA Y, SONODA S, TSUDA Y, et al. Effect of intravascular ultrasound-guided adjuvant high-pressure non-compliant balloon post-dilation after drug-eluting stent implantation [J]. *Heart Vessels*, 2011, 26(6): 565-571.
- [13] JOHANSSON B, ALLARED M, BORGENCRAANTZ B, et al. Standardized angiographically guided over-dilatation of stents using high pressure technique optimize results without increasing risks [J]. *J Invasive Cardiol*, 2002, 14(5): 221-226.
- [14] PASCERI V, PELLICCIA F, PRISTIPINO C, et al. Clinical effects of routine postdilatation of drug-eluting stents [J]. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2014, 83(6): 898-904.
- [15] PREGOWSKI J, JASTRZEBSKI J, KEPKA C, et al. Relation between coronary plaque calcium deposits as described by computed tomography coronary angiography and acute results of stent deployment as assessed by intravascular ultrasound [J]. *Postepy Kardiol Int*, 2013, 9(2): 115-120.
- (收稿日期: 2018-02-27 修回日期: 2018-05-10)
-
- (上接第 3169 页)
- ced/metastatic non-small cell lung cancer [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2017, 80(1): 101-108.
- [8] ARRIETA O, PINEDA B, MUÓIZ-HERNÓNDEZ S, et al. Molecular detection and prognostic value of epithelial markers mRNA expression in peripheral blood of advanced non-small cell lung cancer patients [J]. *Cancer Biomark*, 2014, 14(4): 215-223.
- [9] MOHAMMADI P, SAIDIJAM M, KAKI A, et al. A pilot study of CK19, CK20 and GCC mRNA in the peripheral blood as a colorectal cancer biomarker panel [J]. *Int J Mol Cell Med*, 2016, 5(1): 30-36.
- [10] QIAO Y F, CHEN C G, YUE J, et al. Prognostic significance of preoperative and postoperative CK19 and CEA mRNA levels in peripheral blood of patients with gastric cardia cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(8): 1424-1433.
- [11] LIANG Y, LI X Y, LIN R W, et al. Combinatorial gene targeting hTERT and BI-1 in CNE-2 nasopharyngeal carcinoma cell line [J]. *Biomedical reports*, 2013, 1(2): 285-293.
- [12] LAI X F, SHEN C X, WEN Z, et al. PinX1 regulation of telomerase activity and apoptosis in nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2012, 31(1): 12.
- [13] ANDERGASSEN U, ZEBISCH M, KLBL A C, et al. Real-Time qPCR-Based detection of circulating tumor cells from blood samples of adjuvant breast cancer patients: a preliminary study [J]. *Breast Care (Basel)*, 2016, 11(3): 194-198.
- (收稿日期: 2018-02-21 修回日期: 2018-05-10)