

基础研究

DOI: 10.11699/cyxh20130913

β -微管蛋白 I 基因突变与多烯紫杉醇治疗 晚期非小细胞肺癌耐药的相关性研究

陈庆恺¹, 柳 青¹, 丁艳辉¹, 吴亚梅², 冯燕梅²

(重庆医科大学附属第一医院 1. 临床研究中心; 2. 呼吸内科, 重庆 400016)

【摘要】目的:探讨 β -微管蛋白 I 编码基因 TUBB 基因的突变与多烯紫杉醇治疗非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)耐药是否具有相关性。**方法:**用聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)和核苷酸测序技术检测 90 例晚期 NSCLC 患者 TUBB 基因是否存在突变。**结果:**36 例患者在 TUBB 第 4 号外显子的第 147 号氨基酸编码序列处出现点突变,但这一突变与患者化疗疗效无明显相关。**结论:** β -微管蛋白 I 的编码基因 TUBB 第 4 号外显子的第 147 号氨基酸编码序列的改变与多烯紫杉醇治疗 NSCLC 耐药无明显相关,但在患者中观察到了 TUBB 基因新的突变形式,该突变是否会对微管蛋白的结构和功能产生影响尚不确定,还需进一步深入研究。

【关键词】非小细胞肺癌;多烯紫杉醇; β -微管蛋白 I;点突变

【中国图书分类法分类号】R394.3;R734.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-07-11

Association between class I β -tubulin gene mutation and drug resistance of docetaxel in the treatment of advanced non-small cell lung cancer

CHEN Qingkai¹, LIU Qing¹, DING Yanhui¹, WU Yamei², FENG Yanmei²

(1. Department of Clinical Research Center; 2. Department of Respiration Medicine, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the association between the mutation of the encoding gene of class I β -tubulin (TUBB) and the drug resistance of docetaxel in the treatment of non-small cell lung cancer(NSCLC). **Methods:** Polymerase chain reaction(PCR) and

作者介绍:陈庆恺, Email: jms.chenqk@gmail.com。

研究方向: 分子遗传学。

通信作者:柳 青, Email: qingliu5566@yahoo.cn。

modulation of the phosphorylation status of connexin 43[J]. J Cell Physiol, 2013, 228(4): 903-910.

[13] 严继承, 郑秀彦, 郑一凡, 等. 几种植物雌激素对细胞间隙连接通讯的影响[J]. 中华预防医学杂志, 2005, 39(2): 126-128.

Yan J C, Zheng X Y, Zheng Y F, et al. Several phytoestrogens on gap junctional communication[J]. Journal of Preventive Medicine, 2005, 39(2): 126-128.

[14] Gulino M, Etgen A M. Sexually dimorphic hormonal regulation of the gap junction protein, CX43, in rats and altered female reproductive function in CX43^{-/-} mice[J]. Brain Res, 2005, 1045(1-2): 107-115.

[15] Winterhager E, Grimmer R, Mavrogianis P A, et al. Mol Hum Reprod. Connexin expression pattern in the endometrium of baboons is influenced by hormonal changes and the presence of endometriotic lesions[J]. 2009, 15(10): 645-652.

[16] Hortovanyi E, Varbiro S, Tokes A M, et al. Connexin 43 expression in rat aortic smooth muscle after ovariectomy and hormonal replacement[J]. Pathol Res Pract, 2001, 197(2): 109-112.

[17] 萨日娜, 宋静慧. 子宫结合带超微结构及间隙连接蛋白43的表

达变化与子宫腺肌病发病的关系[J]. 中华妇产科杂志, 2010, 45(10): 762-766.

Sa R N, Song J H. Relationship between ultrastructural features with the expression of connexin 43 in the uterine junction zone and pathogenesis of adenomyosis[J]. Chin J Obstet Gynecol, 2010, 45(10): 762-766.

[18] Saito T, Tanaka R, Watabe K, et al. Overexpression of estrogen receptor- α gene suppresses gap junctional intercellular communication in endometrial carcinoma cells[J]. Oncogene, 2004, 23(5): 1109-1116.

[19] Regidor P A, Regidor M, Schindler A E, et al. Aberrant expression pattern of gap junction connexins in endometriotic tissues[J]. Mol Hum Reprod, 1997, 3(5): 375-381.

[20] Lesniewicz T, Kanczuga-Koda L, Baltaziak M, et al. Expression of connexin 26 in endometrial adenocarcinoma - analysis of correlations with some anatomoclinical features[J]. Folia Histochem Cytobiol, 2008, 46(2): 171-176.

(责任编辑: 唐秋珊)

nucleotide sequencing were used to test whether mutation existed in 90 advanced NSCLC patients. **Results:** A mutation at the fourth exon of TUBB encoding sequence which encoding the 147th amino acid was found in 36 patients, but it was not significantly associated with the chemotherapy effect of docetaxel treatment for NSCLC. **Conclusions:** Mutation at the fourth exon of TUBB gene is not associated with the resistance of docetaxel treatment for NSCLC patients. Further investigation should be done to verify whether the structure and function of tubulin would be affected by this mutation.

【Key words】non-small cell lung cancer; docetaxel; class I β -tubulin; point mutation

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一,其发病率和致死率在恶性肿瘤中一直居高不下^[1-3]。非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占肺癌总数的80%左右,大多数患者确诊时已处于局部晚期或发生转移,失去手术机会,5年生存率约15%^[4]。化疗是晚期 NSCLC 治疗的主要手段^[5],目前以铂类为基础联合第3代细胞毒药物的两药化疗方案是公认的晚期 NSCLC 一线治疗方案^[6]。

多烯紫杉醇作为第3代细胞毒药物已经广泛应用于晚期 NSCLC 患者的治疗。它属于紫杉烷类抗癌药物,其作用机制主要是通过与其 β -微管蛋白结合,促进微管蛋白的聚合,抑制微管解聚,阻滞细胞的有丝分裂在G2期和M期,导致细胞有丝分裂异常或停止,最终导致细胞死亡^[7]。 β -微管蛋白I是人体中最常表达的一个微管亚型,也是癌细胞中最常见的亚型^[8],它的编码基因TUBB位于6p21.33,基因全长5 226 bp,包括4个外显子。Monzó等^[9]报道在紫杉醇耐药的患者中TUBB基因的第4号外显子上编码第147号氨基酸的序列突变频率最高。作为微管与紫杉烷类药物结合的部位, β -微管蛋白的改变对药物疗效和耐药性的产生都有重要影响。本研究以西南地区汉族人群为研究对象,通过分析TUBB基因第4号外显子上编码第147号氨基酸的序列的突变与多烯紫杉醇化疗效果的关系,希望能在中国汉族人群中发现TUBB基因突变与多烯紫杉醇治疗晚期 NSCLC 耐药的相关性。

1 对象与方法

1.1 对象

所有样本均来源于重庆医科大学附属第一医院2009年11月至2012年7月的住院患者,遵循知情同意原则。入选标准:经肺CT或胸腔X线片、组织学活检及细胞学证实的晚期(Ⅲ、Ⅳ期)NSCLC患者,包括鳞癌和腺癌;患者卡氏功能状态评分>60分(百分法)。病灶不适合手术切除,需接受全身化疗的Ⅲ、Ⅳ期患者。排除标准:经细胞学诊断为早期

NSCLC后,接受过其他非多烯紫杉醇化疗方案方案的患者。共90例,其中男性59例,女性31例,年龄范围41~78岁,平均年龄(58.46 ± 8.72)岁,中位年龄59岁,均来自中国西南地区汉族人群,无血缘关系;其中腺癌70例,鳞癌20例。

1.2 方法

1.2.1 治疗方案 采用多烯紫杉醇加奈达铂或顺铂的方案。具体方法:多烯紫杉醇75 mg/m²,静脉点滴,第1天静脉点滴奈达铂或顺铂75~80 mg/m²,21 d为1个周期,每例患者治疗至少2个周期。化疗前和化疗期间给予昂丹司琼、地塞米松、胃复安等辅助药物用以止吐、抗过敏、水化、利尿,预防治疗不良反应。

1.2.2 疗效评价标准 采用世界卫生组织统一标准,分为完全缓解(completely response, CR)、部分缓解(partial response, PR)、稳定(stable response, SD)和进展(progressive response, PD)。CR和PR为化疗有效,SD和PD为化疗无效。

1.2.3 DNA提取 取静脉血5 ml, EDTA抗凝,用饱和盐析法制备外周血DNA,紫外分光光度计测定DNA浓度, -20℃保存。

1.2.4 PCR扩增 TUBB第4号外显子第147号氨基酸编码序列 在美国国家生物信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)的GENE数据库查询TUBB的第4号外显子碱基序列,利用Primer Premier5软件设计PCR引物,并用NCBI的BLAST在线软件检测其扩增特异性,扩增产物长度为720 bp。引物序列如下:上游引物F:5'-GGTGCC-AAGTCTGGGAGGTGAT-3';下游引物R:5'-GGGTATTC-TTCGGATCTTGCTG-3'。PCR反应体系包括:TaKaRa公司的PrimeSTAR HS Polymerase[PrimeSTAR HS Polymerase(2.5 U/ μ l)]0.6 μ l; 5 $\times$ PrimeSTAR Buffer (Mg²⁺ plus) 10 μ l; dNTP Mixture(各2.5 mmol/L)4 μ l,模板12 μ l,上下游引物各1.5 μ l, Mg²⁺(25 mmol/L)2 μ l,加水至50 μ l。在配好的反应表面加入4 μ l石蜡油封闭后,放入PCR仪中进行扩增反应。反应条件:95℃预变性2 min, 95℃变性30 s, 61℃退火15 s, 72℃延伸1 min, 30个循环, 72℃终延伸5 min。PCR反应产物4℃短期保存, -20℃长期保存。反应结束后,用2%琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像系统观察PCR产物特异性。

1.2.5 测序 将电泳检测符合测序条件的90例样本送英潍捷基(上海)贸易有限公司进行测序。

1.3 统计学分析

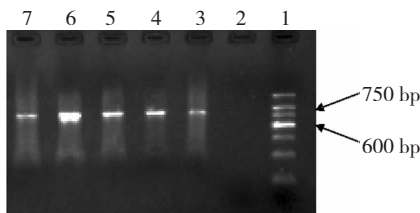
采用SAS 8.0软件处理数据。计量资料2组间比较用t检验

验,计数资料的组间比较用 χ^2 检验。年龄、性别、病理类型与基因突变的关系用 χ^2 检验;疗效与年龄、性别、病理类型的关系用秩和检验;基因突变与预后和疗效的关系用秩和检验;有突变和无突变患者平均疾病进展时间(指从患者入组到疾病进展的时间)做 t 检验。以 $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 突变组与野生组测序结果

在 TUBB 的 4 号外显子第 147 号氨基酸处检测到点突变,野生型序列为 ATG,编码甲硫氨酸;突变型序列为 ATC,编码异亮氨酸,出现此突变的样本共计 36 例,占总数 90 例的 40%(图 1~3)。



1. DNA Marker;2. 阴性对照;3~7. TUBB 第 4 号外显子 PCR 产物(产物长度 720 bp)

图 1 患者 TUBB 第 4 号外显子 PCR 结果
Fig.1 PCR analysis of TUBB exon 4

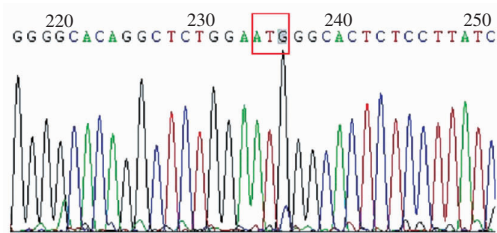


图 2 第 234 至 236 位点即为 TUBB 第 4 号外显子第 147 号氨基酸的编码序列野生型,为 ATG

Fig.2 Coding sequence of the wild type of TUBB exon 4 147th amino acid is ATG at 234~236 sites in red box

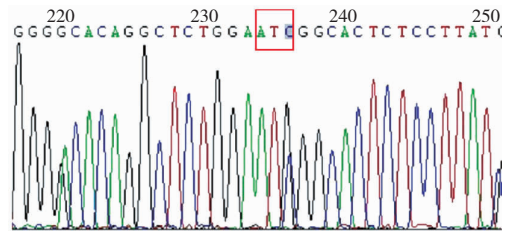


图 3 第 234 至 236 位点即为 TUBB 第 4 号外显子第 147 号氨基酸编码序列突变型,为 ATC

Fig.3 Coding sequence of the mutant type of TUBB exon4 147th amino acid is ATC at 234~236 sites in red box

2.2 病例的基本临床特征

36 例突变样本中,男性 24 例,女性 12 例;腺癌 28 例,鳞癌 8 例;15 例 <59 岁,21 例 ≥ 59 岁;54 例未突变样本中,男性 35 例,女性 19 例;腺癌 42 例,鳞癌 12 例,27 例 <59 岁,27 例 ≥ 59 岁;经 χ^2 检验, $P>0.05$,差异无统计学意义(表 1)。

2.3 化疗疗效

其中年龄 <59 岁的 PD 8 例,SD 31 例,PR 2 例,CR 1 例; ≥ 59 岁的 PD 13 例,SD 32 例,PR 1 例,CR 2 例;男性中 PD 11 例,SD 45 例,PR 1 例,CR 2 例;女性中 PD 10 例,SD 18 例,PR 2 例,CR 1 例;腺癌患者中,PD 17 例,SD 49 例,PR 2 例,CR 2 例;鳞癌患者中,PD 4 例,SD 14 例,PR 1 例,CR 1 例。经秩和检验, $P>0.05$,差异无统计学意义(表 2)。

2.4 突变与预后和化疗效果之间的关系

检测到有突变的患者平均无病进展时间(52.167 ± 44.75) d, <3 个月的 32 例,3 个月到 6 个月的 3 例,6 个月到 1 年的 1 例, >1 年的 0 例;未检测到突变的患者平均无病进展时间(74.815 ± 98.92) d, <3 个月的 43 例,3 个月到 6 个月的 7 例,6 个月到 1 年的 3 例, >1 年的 1 例,经秩和检验, $P>0.05$,差异无统计学意义。对有突变患者的疗效评价:PD 11 例,SD 22 例,PR 2 例,CR 1 例;未检测到突变患者的疗效评价:PD 10 例,SD 41 例,PR 1 例,CR 2 例,经秩和检验, $P>0.05$,差异无统计学意义。有突变和无突变患者平均无病进展时间做 t 检验, $P>0.05$,差异无统计学意义(表 3)。

表 1 第 147 号氨基酸编码序列突变情况与年龄、性别及病理类型间的关系

Tab.1 Relationship between the 147th amino acid coding sequence mutation and age,sex,pathological type

观察指标	例 (<i>n</i> , %)	疗效评价				χ^2 值	<i>P</i> 值
		PD	SD	PR	CR		
年龄 (岁)							
< 59	42 (46.67)	8 (19.05)	31 (73.81)	2 (4.76)	1 (2.38)	0.296	0.587
≥59	48 (53.33)	13 (27.08)	32 (66.67)	1 (2.08)	2 (4.17)		
性别							
男	59 (65.56)	11 (18.64)	45 (76.27)	1 (1.69)	2 (3.39)	0.444	0.505
女	31 (34.44)	10 (32.26)	18 (58.06)	2 (6.45)	1 (3.23)		
病理类型							
腺癌	70 (77.78)	17 (24.29)	49 (70.00)	2 (2.86)	2 (2.86)	0.462	0.497
鳞癌	20 (22.22)	4 (20.00)	14 (70.00)	1 (5.00)	1 (5.00)		

表 2 年龄、性别和病理类型与化疗效果之间的关系

Tab.2 Relationship between effect of chemotherapy and age, sex, pathological type

观察指标	第 147 号氨基酸编码序列 (n, %)		合计 (n, %)	Z 值	P 值
	-	+			
年龄 (岁)					
< 59	27 (64.29)	15 (35.71)	42 (46.67)	0.603	0.438
≥ 59	27 (56.25)	21 (43.75)	48 (53.33)		
性别					
男	35 (59.32)	24 (40.68)	59 (65.56)	0.033	0.856
女	19 (61.29)	12 (38.71)	31 (34.44)		
病理类型					
腺癌	42 (60.00)	28 (40.00)	20 (22.22)	0.000	1.000
鳞癌	12 (60.00)	8 (40.00)	70 (77.78)		

表 3 氨基酸编码序列突变与预后和疗效间的关系

Tab.3 Relationship between the amino acid coding sequence mutations and prognosis and efficacy

第 147 号氨基酸	疾病进展时间 (n, %)				疗效评价 (n, %)			
	< 3 个月	3 个月~6 个月	6 个月~1 年	> 1 年	PD	SD	PR	CR
+	32 (88.89)	3 (8.33)	1 (2.78)	0 (0.00)	11 (30.56)	22 (61.11)	2 (5.56)	1 (2.78)
-	43 (79.63)	7 (12.96)	3 (5.56)	1 (1.85)	10 (18.52)	41 (75.93)	1 (1.85)	2 (3.70)
Z 值			1.582				0.580	
P 值			0.208				0.446	

3 讨论

虽然多烯紫杉醇是紫杉醇的类似物,但两者在分子药理学上的区别使两者在药物活性等方面有所不同:多烯紫杉醇展现出对 β -微管蛋白和中心体更强的亲和力,对 β -微管蛋白的亲和力是紫杉醇的 1.9 倍,而多烯紫杉醇引起微管聚合的药物浓度仅是紫杉醇的一半^[10];多烯紫杉醇在细胞周期的 S、G₂、M 期发挥作用,而紫杉醇引起细胞损伤则是通过影响细胞周期的 G₂ 和 M 的有丝分裂纺锤体;多烯紫杉醇诱导 bcl-2 磷酸化和细胞凋亡所需的浓度比紫杉醇所需要的低 100 倍^[11];肿瘤细胞对多烯紫杉醇有着更多的摄入、更慢的排除,这也可能是导致两者间有不完全交叉耐药的一个原因。

本文主要就 β -微管蛋白中基因突变与多烯紫杉醇对晚期 NSCLC 患者化疗的疗效是否存在相关性进行初步研究,但并未发现两者之间存在明显相关性。到目前为止,人们在各种肿瘤细胞系中发现的 β -微管蛋白基因突变在紫杉烷类药物耐药中起着重要作用^[12-13],而在临床样本中这种突变导致的耐药却存在一定的争议。Monzó 等^[9]报道在 49 例Ⅲ B 或Ⅳ期 NSCLC 患者中 16 例患者发现 β -微管蛋白外显子 1(1 例)或 4(15 例)突变。这些患者对紫杉醇类药物治疗均无客观反应且中位生存期仅 3

个月。Rosell 与 Felip^[14]研究了 131 例 NSCLC 患者,发现有 42% 的患者 β -微管蛋白基因突变,且这部分患者均对紫杉醇治疗无效。但进一步的研究却得出了不同的结论,Kelley 等^[15]通过对 25 种 NSCLC 细胞株和 20 例原发性 NSCLC 患者研究发现,这种突变并不常见。Tsurutani 等^[16]采用反转录 PCR 的方法检测 22 例日本 NSCLC 患者 β -微管蛋白的 cDNA 序列,结果未检测到任何基因的突变。随后的多项针对临床标本中 β -微管蛋白基因检测,发现突变的位点并不多且频率也比较低,而且不少是同义突变,这和细胞系中 β -微管蛋白的基因突变率有很大不同。导致这一现象出现的原因可能是:①微管蛋白的基因突变在未接受过治疗的原发性耐药中发生率不高,在未经筛选的肿瘤细胞中微管蛋白基因的突变可能很少见,在经紫杉醇类药物治疗后复发的患者中可能更有机会找到。②肿瘤活检时包含的非癌细胞可能掩盖了 DNA 测序实验中突变的表达。③大多数细胞有多种微管蛋白基因的表达,已经确定了 α -微管蛋白和 β -微管蛋白基因突变都能引起耐药,只对其中一种蛋白的编码基因的某个片段测序,可能会错过其他潜在的与耐药有关的突变位点。④其他耐药机制的干扰,尤其是当它们的表现频率较高时,也使区分 β -微管蛋白基因突变在耐药现象中的作用更加困难;另外,不同的地区、人群也

可能存在基因型的差异,可以表现为不同的碱基序列但编码相同的氨基酸。

本研究发现 β -微管蛋白 TUBB 基因发生突变,其第 4 号外显子上编码第 147 号氨基酸的序列由 ATG 突变为 ATC,使其由野生型的甲硫氨酸突变为异亮氨酸,但并未发现这种改变与多烯紫杉醇耐药之间的相关性,这一发现与 Monzó 等^[9]最早报道的移码突变不同,且 Berrieman 等^[17]总结的人类细胞系和临床标本中已发现的 β -微管蛋白基因突变情况也并未包含此类氨基酸改变。本次试验观察到的突变率高达 40%(36/90),这一结果是否提示该突变位点可能是新的单核苷酸多态性位点,尚有待进一步研究证实。有报道称 β -微管蛋白基因序列高度保守,出现多态性频率低^[18]。在真核细胞中,微管具有广泛的细胞功能,参与有丝分裂、减数分裂、细胞运动、细胞形状的维持、细胞内大分子物质和细胞器的运输等^[19]。这些功能对细胞基本的生存、增殖有着重要影响,一旦因微管蛋白基因突变导致其功能发生改变,细胞的这些基本功能即无法完成,有可能导致细胞凋亡。本次试验通过对晚期 NSCLC 患者的 TUBB 基因第 4 号外显子测序,在如此高度保守的区域发现高达 40% 的突变率,该突变是否影响微管蛋白的结构和功能亦需进一步的研究确定。

综上所述,本研究认为 β -微管蛋白 TUBB 基因突变,导致第 4 号外显子上第 147 号氨基酸的改变与多烯紫杉醇的耐药无明显相关,但该基因的突变是否会引起该基因编码的 mRNA 及蛋白结构和功能的改变尚未可知,尚需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Jemal A, Bray F, Center M M, et al. Global Cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] 陈万青, 郑荣寿, 张思维, 等. 2003-2007 年中国癌症发病分析[J]. 中国肿瘤, 2012, 21(3): 161-170.
- [3] 张思维, 陈万青, 郑荣寿, 等. 2003-2007 年中国癌症死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2012, 21(3): 171-178.
- [4] 沈红, 蔡健康, 沈立, 等. 晚期非小细胞肺癌 β -微管蛋白 III 表达与抗微管药敏感性 Meta 分析[J]. 循证医学, 2011, 11(2): 102-106.
- [5] 乔荣, 韩宝惠. 晚期非小细胞肺癌一线化疗的变迁[J]. 中国肺癌杂志, 2008, 11(2): 276-281.
- [6] 张强, 王长利. 晚期进展期非小细胞肺癌治疗进展[J]. 国际肿瘤学杂志, 2008, 35(1): 50-53.
- [7] Zaffaroni N, Silvestrini R, Orlandi L, et al. Induction of apoptosis by taxol and cisplatin and effect on cell cycle-related proteins in cisplatin-sensitive and-resistant human ovarian cells[J]. Br J Cancer, 1998, 77(9): 1378-1385.
- [8] Nicoletti M, Valoti G, Giannakakou P, et al. Expression of beta-tubulin isotypes in human ovarian carcinoma xenografts and in a sub-panel of human cancer cell lines from the NCI-anticancer drug screen: correlation with sensitivity to microtubule active agents[J]. Clin Cancer Res, 2001, 7(9): 2912-2922.
- [9] Monzó M, Rosell R, Sánchez J J, et al. Paclitaxel resistance in non-small-cell lung cancer associated with beta-tubulin gene mutations[J]. Clin Oncol, 1999, 17(6): 1786-1793.
- [10] Gligorov J, Lotz J P. Preclinical pharmacology of the taxanes: implications of the differences[J]. Oncologist, 2004, 9(s2): 3-8.
- [11] Haldar S, Basu A, Croce C M. Bcl2 is the Guardian of microtubule integrity[J]. Cancer Res, 1997, 57(2): 229-233.
- [12] Hari M, Loganzo F, Annable T, et al. Paclitaxel-resistant cells have a mutation in the paclitaxel-binding region of beta-tubulin (Asp26Glu) and less stable microtubules[J]. Mol Cancer Ther, 2006, 5(2): 270-278.
- [13] Wiesen K M, Xia S, Yang C P, et al. Wild-type class I beta-tubulin sensitizes Taxol-resistant breast adenocarcinoma cells harboring a beta-tubulin mutation[J]. Cancer Lett, 2007, 257(2): 227-235.
- [14] Rosell R, Felip E. Predicting response to paclitaxel/carboplatin-based therapy in non-small cell lung cancer[J]. Semin Oncol, 2001, 28(4s14): 37-44.
- [15] Kelley M J, Li S, Harpole D H. Genetic analysis of the beta-tubulin gene, TUBB, in non-small-cell lung cancer[J]. J Natl Cancer Inst, 2001, 93(24): 1886-1888.
- [16] Tsurutani J, Komiya T, Uejima H, et al. Mutational analysis of the beta-tubulin gene in lung cancer[J]. Lung Cancer, 2002, 35(1): 11-16.
- [17] Berrieman H K, Lind M J, Cawkwell L. Do beta-tubulin mutations have a role in resistance to chemotherapy? [J]. Lancet Oncol, 2004, 5(3): 158-164.
- [18] Sale S, Sung R, Shen P, et al. Conservation of the class I beta-tubulin gene in human populations and lack of mutations in lung cancers and paclitaxel-resistant ovarian cancers[J]. Mol Cancer Ther, 2002, 1(3): 215-225.
- [19] Orr G A, Verdier-pinard P, Mcdaid H, et al. Mechanisms of taxol resistance related to microtubules[J]. Oncogene, 2003, 22(47): 7280-7295.

(责任编辑: 关蕴良)