

基础研究

DOI: 10.11699/cyxb20130912

雌、孕激素对子宫内膜异位症裸鼠模型异位病灶中
间隙连接蛋白 26、32、43 表达的影响王 佳¹, 唐良菡², 石全红³, 明 雪¹

(1. 重庆医科大学附属大学城医院妇产科, 重庆 401331; 2. 重庆医科大学附属第一医院妇产科, 重庆 400016;

3. 重庆医科大学附属第一医院神经外科, 重庆 400016)

【摘要】目的:通过子宫内膜异位症在体模型,系统、完整地研究雌、孕激素对子宫内膜异位症异位内膜组织中间隙连接蛋白 26(connexin 26, CX26)、CX32 和 CX43 表达的影响。**方法:**建立子宫内膜异位症裸鼠模型,随机分为 3 组,即雌激素组(A 组)、孕激素组(B 组)、对照组(C 组)。于建模后 7、14、21、28 d 取裸鼠异位病灶,RT-PCR 及 Western blot 分别检测 3 组异位病灶中 CX26、CX32 和 CX43 的表达。**结果:**异位病灶中 CX26 在 A 组表达增高,在 B 组表达降低,该 A、B、C 组相比其差异均有统计学意义($P=0.000$);A 组 CX43 较 B、C 组均降低,差异有统计学意义($P=0.000$),B、C 组之间 CX43 表达差异无统计学意义($P=0.621$);A、B、C 组异位病灶中均未能检测到 CX32 的表达。**结论:**①雌激素、孕激素对异位内膜组织中 CX26 的调节作用相反。②异位病灶中未能检测到 CX32 的表达,其对子宫内膜细胞间隙连接细胞间通讯(gap junction intercellular communication, GJIC)的影响及内膜的异位种植需待进一步研究。③雌激素可降低异位内膜组织中 CX43 的表达,孕激素对其无影响,推测雌激素可能通过降低 CX43 表达,降低内膜细胞 GJIC 功能,促进细胞异常增殖、分化,导致内膜异位种植能力提高。

【关键词】子宫内膜异位症;雌激素;孕激素;间隙连接蛋白**【中国图书分类法分类号】**R717.11**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2013-03-16Effects of estrogen and progesterone on expressions of connexin26,
connexin32 and connexin43 in nude mice model of endometriosisWANG Jia¹, TANG Liangdan², SHI Quanhong³, MING Xue¹

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, University-Town Hospital of Chongqing Medical University;

2. Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University;

3. Department of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective:To observe effects of estrogen and progesterone on expressions of connexin26(CX26), connexin32(CX32) and connexin43(CX43) in nude mice model of endometriosis. **Methods:**Nude mice model of endometriosis was established. Totally 60 nude mice were randomly divided into three groups:estrogen group(group A), progesterone group(group B) and control group (group C). Mice of each group were killed on the 7th, 14th, 21th, 28th d randomly. Expressions of gene and protein(CX26, CX32, CX43) in endometriotic lesions were detected by RT-PCR and Western blot respectively. **Results:**Expressions of CX32 mRNA and protein were enhanced by estrogen($P=0.000$), but suppressed by progesterone. Expressions of CX43 mRNA and protein were strongly suppressed by estrogen($P=0.000$). But progesterone had no effect on expressions of CX43 mRNA and protein($P=0.621$). Expressions of CX32 mRNA and protein were not detected in any group. **Conclusions:**①Regulation of CX26 by estrogen and progesterone is opposite. ②Expressions of CX32 mRNA and protein are not detected in any group, so their effects on gap junction intercellular communication (GJIC) and endometrial ectopic transplantation are not clear. ③Expressions of CX43 mRNA and protein are strongly suppressed by estrogen. But progesterone had no effect on expressions of CX43 mRNA and protein. It is conjectured that estrogen could down regulation CX43, depress the function of GJIC, encourage abnormal cell proliferation and cell differentiation and enhance the ability of endometrial ectopic transplantation.

【Key words】endometriosis; estrogen; progesterone; connexin

作者介绍:王 佳, Email: 752203031@qq.com,

研究方向:妇科肿瘤与妇科内镜。

基金项目:重庆市卫生局资助项目(编号:2012-2-152)。

近年研究显示,肿瘤细胞中普遍存在间隙连接蛋白(connexin,CX)表达降低或缺失,导致细胞间隙连接细胞间通讯(gap junction intercellular communication,GJIC)功能缺陷,其功能的恢复与肿瘤的生长控制和转化表型相关,表明 GJIC 的变化在肿瘤的发生、发展中起着重要作用。既然 GJIC 与恶性肿瘤的发生、发展有关,推测 GJIC 与具有恶性行为的子宫内膜异位症(以下简称内异症)的发生可能也有着一定关系。目前,在哺乳动物和人子宫内膜中发现有 3 种 CX 表达,即 CX26、CX32、CX43。譙建^[1]进行了初步研究,发现内异症在位内膜组织 CX26、CX32 和 CX43 基因及蛋白表达均较正常对照组明显减低,内异症在位内膜细胞 GJIC 功能较正常对照组明显低下,推测内异症在位内膜细胞 CX 表达降低,GJIC 功能低下,细胞出现异常增殖、分化,促进子宫内膜的异位种植。

多项研究证实,内异症是性激素依赖性疾病,与高雌激素水平有关。有研究发现雌激素调节妊娠子宫及子宫肌瘤平滑肌细胞的 GJIC^[2],但是在妇女的月经周期中,体内除雌激素以外,还有孕激素分泌,孕激素与雌激素一方面具有协同作用,另一方面具有拮抗作用,因此雌激素与孕激素对子宫内膜细胞 CX 表达的影响及其相互作用尚不清楚。因此本课题通过内异症在体模型,系统、完整地研究雌、孕激素对子宫内膜细胞 3 种 CX 的表达及 GJIC 功能的调控作用,以及 3 种 CX 在内异症中所扮演的角色,以进一步深入研究内异症的发病机制。

1 材料与方法

1.1 材料

选择 6~8 周龄的雌性裸鼠,体质量 20~25 g,无菌条件下饲养。收集我院因子宫肌瘤行子宫切除患者的在位内膜构建内异症裸鼠模型。雌激素为 estradiol-17 β (Sigma 公司),用橄榄油溶解,高温高压灭菌消毒后,4℃保存备用。RT-PCR 试剂:孕激素为黄体酮(重庆医科大学附属大学城医院),总 RNA 提取试剂盒(上海华舜公司),TaKaRa RNA PCR Kit(TaKaRa 生物有限公司),DNA marker(TaKaRa 生物有限公司),Gold View Nucleic Acid Stain(北京赛百盛基因技术公司),CX43 引物序列及内参 β -actin 引物序列(上海生工生物技术公司合成)。Western blot 试剂:兔抗人 CX26、43 多克隆抗体,羊抗人 CX32 多克隆抗体,鼠抗人 Tubulin 单克隆抗体,辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG(二抗),辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠 IgG(二抗),辣根过氧化物酶标记的鼠抗羊 IgG(二抗),化

学发光试剂盒等。

1.2 方法

1.2.1 建立内异症裸鼠模型 根据王佳等^[3]的方法构建内异症裸鼠模型。将收集的人子宫内膜组织用无菌 PBS 液漂洗,尽量去除血凝块和细胞碎屑,然后剪成 2 mm × 2 mm × 2 mm 左右的小块,在肉眼注视下将子宫内膜碎片放置于腹腔各个部位,5~0 无菌微芥线缝合伤口。

1.2.2 激素处理裸鼠 根据 Awwad 等^[4]的方法使用激素。裸鼠 60 只,随机分为 3 组,每组 20 只:雌激素组(A 组):手术后给予雌激素,30 μ g/kg,肌肉注射,于手术当日开始,每 5 d 1 次。孕激素组(B 组):手术后给予孕激素,10 mg/kg,肌肉注射,于手术当日开始,每 5 d 1 次。对照组(C 组):手术后不给与雌激素和孕激素,给予橄榄油 0.2 ml,肌肉注射,于手术当日开始,每 5 d 1 次。然后分别于术后 7、14、21、28 d 断颈处死裸鼠,剖腹取出异位病灶,置于液氮中,保存备用。

1.2.3 RT-PCR 采用一步法提取总 RNA,按 RT 试剂盒(TaKaRa Biotech)说明书进行 RT 反转录反应,进行 PCR 扩增,反应体系 50 μ l,其中含有 cDNA 10 μ l,上下游引物各 0.5 μ l,TaKaRa Ex Taq HS 0.25 μ l,反应条件 94℃ 3 min,92℃ 30 s,52℃ 30 s,72℃ 45 s,循环 35 次,72℃ 10 min;琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像扫描仪分析,采用 Quantity One 软件分析系统,对 CX26、CX32、CX43 及内参 β -actin 的 PCR 产物进行光密度值分析,将 CX26、CX32、CX43 与内参 β -actin 相比,为 CX26、CX32、CX43 相对吸光度值。

1.2.4 Western blot 提取蛋白,SDS-PAGE,据泳道预染 marker 的位置,以及 CX26、CX32、CX43 蛋白和 Tubulin 的分子量(分别为 26、32、43、50 kD)切胶,转膜,一抗稀释比例为 1:500,进行杂交,二抗稀释比例均为 1:4 000,孵育后化学发光,曝光成像,用 Quantity One 软件分析蛋白区带,将 CX26、CX32、CX43 吸光度值与内参 Tubulin 吸光度值相比,为 CX26、CX32、CX43 相对吸光度值。

1.3 统计学方法

录入数据软件:Excel2000,统计分析软件版本号:SPSS 13.0。所有计量资料均采用方差分析,对方差分析有统计学差异的进一步采用 SNK- q 检验进行组间两两比较。 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义,检验水准系双侧。

2 结果

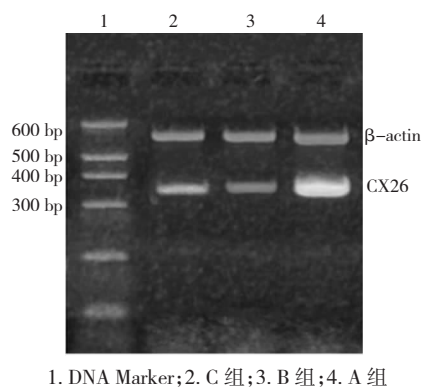
2.1 构建内异症裸鼠模型结果

60 只裸鼠均存活,雌激素、孕激素种植成功率均为 100%。术后 7、14、21、28 d 断颈处死裸鼠,剖腹取出异位病灶。

2.2 RT-PCR 结果

2.2.1 CX26 mRNA 表达情况 RT-PCR 方法检测 A、B、C 3 组 CX26 mRNA 表达。3 组 CX26 mRNA 表达见图 1,方差分析 3 组 CX26 mRNA 表达水平的差异, $F=29.019$, $P=0.000$,差异具有统计学意义,两两比较差异均具有统计学意义,认为

A组 CX26 mRNA 表达水平明显高于 C 组及 B 组, B 组 CX26 mRNA 表达水平明显低于 C 组及 A 组, 见表 1。

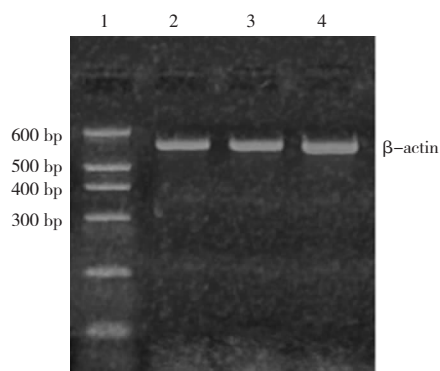


1. DNA Marker; 2. C 组; 3. B 组; 4. A 组

图 1 A、B、C 3 组 CX26 mRNA 表达

Fig.1 CX26 mRNA expressions of A, B, C groups

2.2.2 CX32 mRNA 表达情况 RT-PCR 方法检测 A、B、C 3 组 CX32 mRNA 表达见图 2, 电泳图中约 302 bp 处无条带出现, 未能检测到 CX32 mRNA 表达。



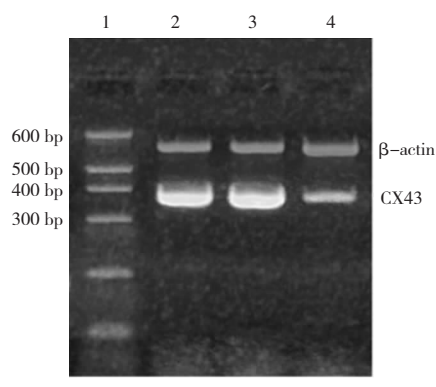
1. DNA Marker; 2. C 组; 3. B 组; 4. A 组

图 2 A、B、C 3 组 CX32 mRNA 表达

Fig.2 CX32 mRNA expressions of A, B, C groups

2.2.3 CX43 mRNA 表达情况 RT-PCR 方法检测 A、B、C 3 组。CX43 mRNA 表达见图 3, 方差分析 3 组 CX43 mRNA 表达水平的差异, $F=9.176$, $P=0.004$, 差异具有统计学意义, 其两两比较结果显示认为 A 组 CX43 mRNA 表达水平明显低于

B、C 2 组, 差异有统计学意义, 而 B、C 2 组之间 CX43 mRNA 表达差异无统计学意义, 见表 1。



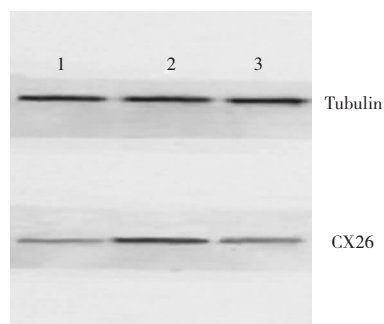
1. DNA Marker; 2. C 组; 3. B 组; 4. A 组

图 3 A、B、C 3 组 CX43 mRNA 表达

Fig.3 CX43 mRNA expressions of A, B, C groups

2.3 Western blot 结果

2.3.1 CX26 蛋白表达情况 Western blot 方法检测 A、B、C 3 组 CX26 蛋白表达。3 组蛋白表达情况见图 4, 方差分析 3 组 CX26 蛋白表达水平的差异, $F=31.954$, $P=0.000$, 差异具有统计学意义, 两两比较差异均有统计学意义, 认为 A 组 CX26 蛋白表达水平明显高于 C 组及 B 组, B 组 CX26 蛋白表达水平明显低于 C 组及 A 组, 差异均具有统计学意义, 见表 1。



1. B 组; 2. A 组; 3. C 组

图 4 A、B、C 3 组 CX26 蛋白表达

Fig.4 CX26 protein expressions in A, B, C groups

表 1 A、B、C 组表达差异

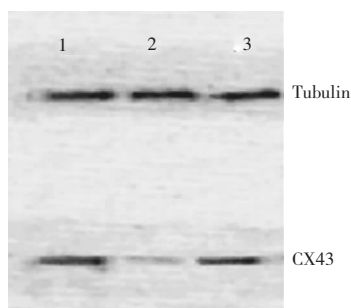
Tab.1 Different expressions in A, B, C groups

指标	CX26基因	CX43基因	CX26蛋白	CX43蛋白
A组	0.556 ± 0.089	0.331 ± 0.132	0.603 ± 0.117	0.253 ± 0.041
B组	0.222 ± 0.015	0.560 ± 0.098	0.217 ± 0.010	0.470 ± 0.073
C组	0.329 ± 0.083	0.593 ± 0.079	0.347 ± 0.067	0.491 ± 0.073
F 值	29.019	9.176	31.954	21.113
P 值	0.000	0.004	0.000	0.000

注: CX26 基因: C 组和 A 组比较, $P=0.000$, A 组和 B 组比较, $P=0.000$, C 组和 B 组比较, $P=0.005$; CX43 基因: C 组和 A 组比较, $P=0.002$, A 组和 B 组比较 $P=0.005$, C 组和 B 组比较, $P=0.621$; CX26 蛋白: C 组和 A 组比较, $P=0.000$, A 组和 B 组比较, $P=0.000$, C 组和 B 组比较, $P=0.007$; CX43 蛋白: C 组和 A 组比较, $P=0.000$, A 组和 B 组比较, $P=0.000$, C 组和 B 组比较, $P=0.610$

2.3.2 CX32 蛋白表达情况 Western blot 方法检测 A、B、C 3 组 CX32 蛋白表达,3 组均未能检测到 CX32 蛋白表达。

2.3.3 CX43 蛋白表达情况 Western blot 方法检测 A、B、C 3 组 CX43 蛋白表达,3 组 CX43 蛋白表达见图 5,方差分析 3 组 CX43 蛋白表达水平的差异, $F=21.113$, $P=0.000$,差异具有统计学意义,其两两比较结果显示 A 组 CX43 蛋白表达水平明显低于 B、C 2 组,差异有统计学意义,而 B、C 2 组 CX43 蛋白表达差异无统计学意义,见表 1。



1. B 组;2. A 组;3. C 组

图 5 A、B、C 3 组 CX43 蛋白表达

Fig.5 CX43 protein expressions in A,B,C groups

3 讨论

内异症是生育期妇女多发病和常见病,发病率高达 13%~50%,临床症状主要表现为痛经、不孕及性交痛等,严重影响了妇女生殖健康。该病虽为良性疾病,但具有类似恶性肿瘤的远处转移和种植生长能力,至今其发病机制仍不清楚,临床治疗效果差,尚无有效的根治措施,因此大量研究者开始从肿瘤发生的角度探讨其病因。已有研究者^[1]发现,与肿瘤发生、发展密切相关的 CX 在内异症异常表达,内异症在位内膜组织中 CX26、CX32 和 CX43 基因及蛋白表达均较非内异症者明显降低,内异症在位内膜细胞 GJIC 功能较非内异症者明显低下。推测间隙连接蛋白 CX26、CX32 和 CX43 与内膜的异位种植也即内异症的发生、发展可能有关。

内异症是性激素依赖性疾病,尤其与高雌激素水平有关,然而雌激素在内异症中的确切作用机制尚不清楚。已有研究发现间隙连接蛋白 CX26、CX32 和 CX43 与内异症的发生、发展可能也有关,那么性激素与间隙连接蛋白在内异症的发生、发展过程中的相互关系与相互作用如何呢?已有学者发现,在分娩发动过程中 CX 及 GJIC 的变化与性激素水平有关。CX43 mRNA 和蛋白质在非孕期、绝经前的正常子宫肌肉组织中水平较低,而在足月分娩和早产

时急剧增高并受甾体激素的调节^[5-6],尤其受卵泡刺激素(follicle stimulating hormone,FSH)的影响较大,FSH 水平升高,CX43 表达也增强^[7]。Nair 等^[6]和 Pfar-
rer 等^[8]也报道足月妊娠未临产时 CX43 基因和蛋白表达较未足月时增高,临产后进一步增高。以上研究表明,性激素通过促进子宫肌组织中 CX43 mRNA 水平升高使其 CX43 蛋白迅速表达,形成缝隙连接通道,为子宫肌细胞间收缩的控制提供低电阻通路,使离子很容易通过缝隙连接通道,保证了子宫肌细胞群在代谢和行为上的协调。

而在某些组织及疾病发生、发展过程中,间隙连接蛋白及 GJIC 的变化与性激素水平的关系并不一致。Arthur 等^[9]在对子宫肌瘤的研究中发现,CX43 的表达比较特异,子宫肌瘤组织高雌激素受体水平伴随着 CX43 基因和蛋白的高表达,其表达明显高激素对内异症内膜细胞 CX43 蛋白表达及 GJIC 的调节与正常内膜有所差异。以上研究表明不同的性激素于自身子宫肌组织。也有学者发现雌二醇可增加子宫肌层组织中 CX43mRNA 和蛋白表达,但 Heikau 等^[10]认为雌二醇对小鼠子宫内膜 CX43 mRNA 表达无影响,并且 Lee 等^[11]研究发现雌二醇可降低狗心肌细胞中磷酸化 CX43 蛋白表达。Wu 等^[12]研究发现磷酸化 CX43 蛋白表达增加,可促进内膜细胞 GJIC 功能。严继承等^[13]研究发现,植物雌激素如染料木黄酮、拟雌内醇和肠内脂在 0.1~10.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下,能不同程度地抑制正常人皮肤角质形成细胞株(HaCaT 细胞)的 GJIC 功能。Gulinello 和 Etgen^[14]发现雌激素、孕激素联合应用可降低雄性小鼠视前区 CX43 表达水平。Winterhager 等^[15]发现雌激素、孕激素联合应用可降低狒狒子宫内膜 CX43 表达水平。但 Hortovanyi 等^[16]发现,雌激素、孕激素单独应用及二者联合应用对小鼠主动脉平滑肌组织中 CX43 的表达均无影响。譙建^[1]用雌激素处理离体子宫内膜细胞,发现内异症在位内膜细胞 CX43 mRNA 和蛋白表达均降低,而正常在位子宫内膜细胞 CX43 mRNA 和蛋白表达在雌激素作用下均增加,提示雌激素对不同种类组织和细胞中 CX43 表达及 GJIC 功能的影响也随之不同,并且同一性激素对不同种类组织和细胞中 CX43 表达及 GJIC 功能的影响也可能不同。本课题通过内异症裸鼠模型研究发现,CX43 mRNA 和蛋白表达在雌激素作用下降低,明显低于孕激素作用组及对照组,而孕激素组与对照组之间 CX43 mRNA 和蛋白表达无差异,提示雌激素可降低内异症异位内膜组织中 CX43 基因和蛋白表达,而孕激

素对其可能无影响。推测雌激素可能通过降低内膜细胞中 CX43 基因和蛋白表达,导致细胞 GJIC 功能低下,促进内膜的异位种植。这与萨日娜和宋静慧^[7]的研究结果一致。

Heikaus 等^[10]发现雌二醇可使小鼠子宫内膜 CX26 mRNA 表达增加,但 Saito 等^[18]发现,与高雌激素水平相关的增生过长子宫内膜组织中 CX26 表达下降,与高雌激素水平相关的内膜癌组织中 CX26 表达缺失。有学者发现孕激素及孕激素与雌激素联合应用可抑制小鼠子宫内膜 CX26 mRNA 及蛋白表达,譙建^[1]用雌激素处理离体子宫内膜细胞,发现内异症在位内膜细胞 CX26 mRNA 和蛋白表达均增加,而正常在位子宫内膜细胞 CX26 mRNA 和蛋白表达在雌激素作用下均增加。以上研究表明,不同的性激素对不同类型组织和细胞中 CX26 表达及 GJIC 功能有着不同的调节,同样的性激素对不同种类组织和细胞中 CX26 表达及 GJIC 功能的影响也可能不同,甚至于同样的性激素(雌激素)对内异症内膜细胞 CX26 表达和正常内膜的调节效应不同。本实验发现,内异症异位病灶中 CX26 mRNA 和蛋白在雌激素作用下表达增高,在孕激素作用下表达降低,2 组与对照组相比均有统计学差异,提示雌激素、孕激素对异位内膜组织中 CX26 的调节作用相反,而 CX26 表达增加或降低对内膜细胞 GJIC 功能的影响不一致,因此孕激素和 CX26 在内膜的异位种植过程中所起的作用及其机制还应进一步研究。

本课题在进行 CX32 的研究中,于雌激素组、孕激素组、对照组这 3 组中均未能检测到 CX32 mRNA 及蛋白的表达。目前仅见 1 篇文献报道:Regidor 等^[19]在人内异症异位病灶中未能检测到 CX32 蛋白的表达,而譙建^[1]发现内异症在位内膜组织中 CX32 mRNA 和蛋白有一定低表达,推测 CX32 mRNA 和蛋白是否在异位内膜组织中表达缺失? 因此可对内异症 CX32 mRNA 和蛋白表达进一步研究,以明确 CX32 基因和蛋白在内异症的表达特点以及在内异症发生、发展中的作用。

综上所述,雌激素可使异位内膜组织中 CX43 mRNA 和蛋白表达降低,孕激素对其表达无影响,而雌激素、孕激素对异位内膜组织中 CX26 的调节作用相反,CX32 在内异症的表达特点尚不能肯定,并且 Lesniewicz 等^[20]发现 CX26 在内膜细胞 GJIC 功能中非主导作用。因此目前推测,在这 3 种间隙连接蛋白中 CX43 对子宫内膜细胞 GJIC 功能的影响可能占据主导地位。雌激素可能通过降低内膜细胞 CX43

mRNA 和蛋白表达,减弱内膜 GJIC 功能,引起内膜细胞之间失去正常的调控信息,接触抑制和密度依赖性生长作用丧失,内膜细胞出现异常增殖、分化,促进内膜异位种植的发生。因此 CX43 可作为内异症治疗中新的靶点,考虑提高内异症内膜细胞中 CX43 基因及蛋白表达,以改善细胞 GJIC 功能,减少细胞的异常增殖、分化,可望减少内膜的异位种植。

参 考 文 献

- [1] 譙 建. 子宫内膜异位症细胞间隙连接通讯的研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2005.
- [2] Qiao J. The study of gap junctional intercellular communication in endometriosis[D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2005.
- [3] Grümmer R, Hewitt S W, Traub O, et al. Different regulatory pathways of endometrial connexin expression: preimplantation hormonal-mediated pathway versus embryo implantation-initiated pathway[J]. Biol Reprod, 2004, 71(1): 273-281.
- [4] 王 佳, 但 阳, 张光金, 等. 人子宫内膜异位症裸鼠模型的建立[J]. 重庆医科大学学报, 2009, 27(1): 52-54.
- [5] Wang J, Dan Y, Zhang G J, et al. Establishment of human endometriosis model in nude mice[J]. Chongqing Medical University, 2009, 27(1): 52-54.
- [6] Awwad J T, Sayegh R A, Tao X J, et al. The SCID mouse: an experimental model for endometriosis[J]. Hum Reprod, 1999, 14(12): 3107-3111.
- [7] Maass K, Ghanem A, Kim J S, et al. Defective epidermal barrier in neonatal mice lacking the C-terminal region of connexin43[J]. Mol Biol Cell, 2004, 15(10): 4597-4608.
- [8] Nair R R, Jain M, Singh K. Reduced expression of gap junction gene connexin 43 in recurrent early pregnancy loss patients[J]. Placenta, 2011, 32(8): 619-621.
- [9] Revilla A, Bennett M V, Barrio L C, et al. Molecular determinants of membrane potential dependence in vertebrate gap junction channels[J]. Proc natl Acad Sci USA, 2000, 97(26): 14760-14765.
- [10] Pfarrer C D, Heeb C, Leiser R. Expression of gap junctional connexins 26, 32 and 43 in bovine placentomes during pregnancy[J]. Placenta, 2006, 27(1): 79-86.
- [11] Arthur P, Taggart M J, Zielnik B, et al. Relationship between gene expression and function of uterotonic systems in the rat during gestation, uterine activation and both term and preterm labour[J]. J Physiol, 2008, 586(Pt24): 6063-6076.
- [12] Heikaus S, Winterhager E, Traub O, et al. Responsiveness of endometrial genes Connexin26, Connexin43, C3 and clusterin to primary estrogen, selective estrogen receptor modulators, phytoandxeno estrogens[J]. J Mol Endocrinol, 2002, 29(2): 239-249.
- [13] Lee T M, Lin M S, Chou T F, et al. Adjunctive 17beta-estradiol administration reduces infarct size by altered expression of canine myocardial connexin43 protein[J]. Cardiovasc Res, 63(1): 109-117.
- [14] Wu J, Taylor R N, Sidell N. Retinoic acid regulates gap junction intercellular communication in human endometrial stromal cells through

基础研究

DOI: 10.11699/cyxb20130913

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)