

文章编号 1006-8147(2021)03-0211-06

论著

吉非替尼通过促进 H3K27 甲基化水平抑制恶性周围神经鞘瘤细胞的增殖

孙硕遥¹,高雅¹,朱香熹²,赵洋¹,赵玉龙¹,李光明¹,杨吉龙³,朱泽¹

(1.天津医科大学基础医学院病原生物学系,天津 300070;2.遵义医科大学珠海校区临床医学系,珠海 519090;3.天津医科大学肿瘤医院骨与软组织肿瘤科,天津 300060)

摘要 目的:研究表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂吉非替尼(gefitinib)对恶性周围神经鞘瘤(MPNST)细胞增殖、迁移的影响。方法:选择 STS26T 细胞、ST88-14 细胞,分为对照组和给药组(10 $\mu\text{mol/L}$),其中药物 IC_{50} 实验、蛋白印迹实验给药组浓度分为 5、10、15 $\mu\text{mol/L}$ 。CCK-8 法检测吉非替尼对 STS26T、ST88-14 的半数抑制浓度并绘制药物 IC_{50} 曲线;平板克隆形成实验检测吉非替尼对细胞增殖能力的影响;划痕实验检测吉非替尼对细胞迁移能力的影响;实时荧光定量 PCR 检测加药后各组细胞 Kras、SUZ12、EED、EZH2 mRNA 的表达情况;蛋白印迹实验检测加药后 Kras、组蛋白 H3K27 位赖氨酸三甲基化蛋白(H3K27me3)的表达。结果:STS26T、ST88-14 细胞的药物 IC_{50} 曲线显示半数抑制浓度均为 10 $\mu\text{mol/L}$ ($t=11.42, 16.51$, 均 $P<0.05$);与对照组比较,吉非替尼给药组(10 $\mu\text{mol/L}$) STS26T、ST88-14 细胞增殖能力显著降低($t=5.48, P<0.05$; $t=4.89, P<0.01$)、细胞迁移能力显著降低($t=4.94, P<0.01$; $t=4.75, P<0.01$);与对照组比较,吉非替尼给药组(10 $\mu\text{mol/L}$) STS26T 细胞中 Kras mRNA 表达显著降低($t=4.87, P<0.01$), SUZ12、EED、EZH2 表达显著升高($t=11.36, 15.54, 13.19$, 均 $P<0.05$);与对照组比较,吉非替尼给药组(10 $\mu\text{mol/L}$) ST88-14 细胞中 Kras mRNA 表达显著降低($t=13.75, P<0.05$), SUZ12、EED、EZH2 表达水平显著升高($t=12.56, 7.48, 16.33$, 均 $P<0.05$);与对照组比较,吉非替尼给药组(5、10、15 $\mu\text{mol/L}$) STS26T、ST88-14 细胞 Kras 蛋白表达显著降低($t=13.70, 15.21$, 均 $P<0.05$);与对照组比较,吉非替尼给药组(5、10、15 $\mu\text{mol/L}$) STS26T、ST88-14 细胞 H3K27me3 蛋白表达显著增加($t=14.31, 12.40$, 均 $P<0.05$)。结论:EGFR 抑制剂吉非替尼通过促进 MPNST 中 PRC2 的表达,提高表观遗传学标志物 H3K27me3 的表达,降低 MPNST 细胞增殖、迁移的能力。

关键词 恶性周围神经鞘瘤;H3K27me3;Kras;EGFR;吉非替尼

中图分类号 R739.43

文献标志码 A

Gefitinib inhibits the proliferation of malignant peripheral nerve sheath tumor cells by promoting H3K27 methylation levels

SUN Shuo-yao¹, GAO Ya¹, ZHU Xiang-xi², ZHAO Yang¹, ZHAO Yu-long¹, LI Guang-ming¹, YANG Ji-long³, ZHU Ze¹

(1. Department of Pathogen Biology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Department of Clinical Medicine, Zhuhai Campus of Zunyi Medical University, Zhuhai 519090, China; 3. Department of Bone and Soft Tissue Tumor, Cancer Institute and Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300060, China)

Abstract Objective: To study the effect of epidermal growth factor receptor(EGFR) inhibitor gefitinib on the proliferation and migration of malignant peripheral nerve sheath tumor (MPNST) cells. **Methods:** STS26T cells and ST88-14 cells were selected and divided into control group and administration group(10 $\mu\text{mol/L}$). The administration groups of drug IC_{50} experiment and Western blotting experiment were divided into 5, 10 and 15 $\mu\text{mol/L}$. Using CCK-8 method was used to identify the half inhibitory concentration of gefitinib on STS26T and ST88-14, and the drug IC_{50} curve was drawn. The effect of gefitinib on cell proliferation was detected by colony formation assay. Wound healing test was used to detect the effect of gefitinib on cell migration. Real-time fluorescence quantification PCR was used to detect the expression of Kras, SUZ12, EED, EZH2 mRNA in each group of cells after adding drugs. Western blotting was used to detect the expression of Kras and histone H3K27 lysine trimethylated(H3K27me3) protein after adding drugs. **Results:** The drug IC_{50} curve showed that the half inhibitory concentration of STS26T and ST88-14 was both 10 $\mu\text{mol/L}$ ($t=11.42, 16.51$, all $P<0.05$). Compared with the control group, the proliferation and migration ability of STS26T and ST88-14 cells in the gefitinib administration group(10 $\mu\text{mol/L}$) was significantly reduced ($t=5.48, P<0.05$; $t=4.89, P<0.01$; $t=4.94, P<0.01$; $t=4.75, P<0.01$). Compared with the control group, the mRNA expression of Kras in the gefitinib administration group(10 $\mu\text{mol/L}$) of STS26T cells was significantly reduced ($t=4.87, P<0.01$), and the expression of SUZ12, EED, and EZH2 were significantly increased($t=11.36, 15.54, 13.19$, all $P<0.05$). Compared with the control group, the mRNA expression of Kras in the gefitinib administration group(10 $\mu\text{mol/L}$) of ST88-14 cells was significantly reduced ($t=13.75, P<0.05$), and the mRNA

基金项目 国家自然科学基金(81672650)

作者简介 孙硕遥(1995-),女,硕士在读,研究方向:恶性外周神经鞘瘤发病与发展的分子机制;通信作者:朱泽, E-mail: zhuze@tjmu.edu.cn。

expression of levels SUZ12, EED, and EZH2 were significantly increased ($t=12.56, 7.48, 16.33$, all $P<0.05$). Compared with the control group, the expression of Kras protein of STS26T and ST88-14 cells in the gefitinib administration group (5, 10, 15 $\mu\text{mol/L}$) was significantly reduced ($t=13.70, t=15.21$, all $P<0.05$). Compared with the control group, the expression of H3K27me3 protein of STS26T and ST88-14 cells in the gefitinib administration group (5, 10, 15 $\mu\text{mol/L}$) was significantly increased ($t=14.31, 12.40$, all $P<0.05$). **Conclusion:** EGFR targeting inhibitor gefitinib increases the expression of the epigenetic marker H3K27me3 by promoting the expression of PRC2 in MPNST, and reduces the proliferation, migration of MPNST cell lines.

Key words malignant peripheral nerve sheath tumor; H3K27me3; Kras; EGFR; gefitinib

恶性周围神经鞘瘤(malignant peripheral nerve sheath tumors, MPNST)是一种少见的起源于外周神经分支和神经鞘膜的侵袭性软组织肉瘤,多为高度恶性肉瘤,最常发生在四肢,易发生局部复发和远处转移^[1-3]。多梳抑制复合体 2 (polycomb repressive complex 2, PRC2)失活在 MPNST 的发病中起重要作用,本项目前期研究中通过小样本 MPNST 全基因组测序发现了 PRC2 核心组分 EED 和 SUZ12 的基因缺失。PRC2 负责催化组蛋白 H3 在赖氨酸 27 上的三甲基化(H3K27me3)^[4]。研究发现,在 92% 的散发性 MPNST、70% 的 1 型神经纤维瘤病(Neurofibromatosis type 1, NF1)相关 MPNST 和 90% 的放疗相关 MPNST 中 PRC2 核心成分 SUZ12 的功能丧失, H3K27me3 的缺失也常作为 MPNST 的重要表观遗传学诊断标志^[5-6]。

在本项目前期工作中对 51 例 MPNST 样本微阵列比较基因组杂交(aCGH)分析,发现在 MPNST 样本中表皮生长因子受体(EGFR)信号通路存在异常,其下游大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(rat sarcoma virus oncogene homolog, Kras)扩增,Kras 是一种癌基因,参与细胞内信号转导,控制细胞生存、生长、增殖、分化和凋亡^[7-10]。研究发现, SUZ12 缺失可以协同 NF1 突变,通过对染色质的影响放大 ras 驱动的转录,使 Kras 表达上调^[11]。因此,识别 EGFR-Kras 驱动的致癌效应通路是至关重要的。吉非替尼是一种新型的口服 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂。临床研究数据显示,吉非替尼单一疗法对多种肿瘤类型都有很好的抑制作用,包括结肠癌、头颈部、乳腺癌、前列腺癌和肺癌,尤其是非小细胞肺癌^[12]。但是国内目前对吉非替尼抑制 MPNST 细胞生殖的分子机制仍旧不清楚。本研究通过体外细胞实验研究吉非替尼对人 MPNST 细胞株 STS26T、ST88-14 增殖、迁移抑制作用的分子机制,探索 MPNST 的新的治疗方向。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 STS26T、ST88-14 细胞株由天津医科大学肿瘤医院杨吉龙教授馈赠。

1.1.2 实验试剂 DMEM、胎牛血清购自美国 Gibco 公司; CCK-8 试剂盒购自新赛美公司; Kras 抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司; H3K27me3 抗体购自英国 Abcam 公司; β -actin 抗体购自 Abways 公司; BCA 蛋白定量试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司; 吉非替尼购自 MedChemExpress 公司。

1.1.3 主要仪器 酶标仪(美国 BIO-RAD 公司), 湘仪 L420 低速自动平衡离心机(湖南湘仪仪器有限公司), CO₂ 恒温培养箱(新加坡意思高科技有限公司), ZHHC1115C 双人单面超净台(国药集团天津医疗器械有限公司), WD-9405A 型脱色摇床(北京六一仪器厂), 垂直电泳槽(美国 BIO-RAD 公司), 5810Q 冷冻多功能离心机(德国 Eppendorf 公司), Bio-Rad iQ5 梯度荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-rad 公司), 凝胶成像分析仪(美国 Bio-rad 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 ST88-14、STS26T 细胞培养在含有 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM 完全培养基中, 37℃、7.5% CO₂ 饱和湿度培养箱中孵育。

1.2.2 药物 IC₅₀ 曲线检测半数抑制浓度 实验分 4 组: (1) 对照组。(2) 不同浓度吉非替尼给药组: 5、10、15 $\mu\text{mol/L}$ 。将 4 组细胞根据实验分组以 3×10^4 个/mL 的密度接种于 96 孔板中, 每孔 100 μL 细胞悬液, 于孵箱中静置 24 h (此时间点记为 0 h) 待细胞状态稳定后加药处理细胞。STS26T 于 0、48 h 后每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 继续孵育 1 h。ST88-14 于 0、36 h 后每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 继续孵育 1 h, 450 nm 处测定每孔的吸光度值。对照组测得的吸光度值记为 1, 计算给药组与对照组吸光度比值, 根据吸光度值的平均值绘制 IC₅₀ 曲线。

1.2.3 平板克隆形成实验 实验分 2 组: (1) 对照组。(2) 吉非替尼给药组 10 $\mu\text{mol/L}$ 。将生长良好的细胞制成细胞悬液, 按 1×10^3 /孔接种于细胞培养板里, 置于 37℃、7.5% CO₂ 培养箱中培养 10 d 左右, 每 3 d 换液 1 次, 观察细胞生长状态, 去除培养基, PBS 洗 3 次, 4% 多聚甲醛固定 20 min, 结晶紫染色 5 min, Image J 软件计数克隆形成数量。

1.2.4 划痕实验 实验分2组:(1)对照组。(2)吉非替尼给药组 10 $\mu\text{mol/L}$ 。各组细胞消化后制成单细胞悬液,按 3×10^5 /孔细胞铺满于6孔板里,细胞铺满板底后,用 200 μL 枪头垂直于孔板制造细胞线性划痕,吸去细胞培养液,PBS洗2次,洗去细胞碎片及其他杂质,加入 1%FBS 的培养基,继续培养,STS26T 12 h 后观察迁移的距离,ST88-14 24 h 后观察迁移的距离,用 10 \times 显微镜进行拍照,根据收集图片数据使用 Image J 软件分析实验结果。

1.2.5 实时荧光定量 PCR 检测 各组细胞 Kras、SUZ12、EED、EZH2 mRNA 水平的表达情况 实验分2组:(1)对照组。(2)吉非替尼给药组 10 $\mu\text{mol/L}$ 。用 TRIzol 分别提取 STS26T、ST88-14 总 RNA,反转录 cDNA,进行 RT-qPCR 检测,引物序列见表 1。qPCR 20 μL 反应体系为:cDNA template 2 μL , Primer F 0.8 μL , Primer R 0.8 μL , TB Green Premix Ex Taq II (TliRNaseH Plus)(2 \times)10 μL , ddH₂O 6.4 μL 。PCR 反应条件是:预变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min,循环 1 次。94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s 循环 40 次,72 $^{\circ}\text{C}$ 2 min,循环 1 次。

表 1 Kras、SUZ12、EED、EZH2 引物序列

Tab 1 Primer sequence of Kras, SUZ12, EED, EZH2

名称		引物序列(5'→3')
Kras	正向	CATTTCCGACTGGGAGCG
	反向	GACCATAGGTACATCTTCAGAG
SUZ12	正向	AATAAGGCAAGTCCACACA
	反向	ATGGCTGTTACTAGGTTCAAAT
EED	正向	TTTCCTGGGACATTGGTG
	反向	CGATGTAAGGTCCGTTGG
EZH2	正向	ACGGCTTCCCAATAACAGEZH2
	反向	CAGCACCCTCCACTCCA

注:Kras:大鼠肉瘤病毒癌基因同源物;SUZ12:多梳家族基因 12;EED:胚胎外胚层发育基因;EZH2:Zeste 基因增强子同源物 2

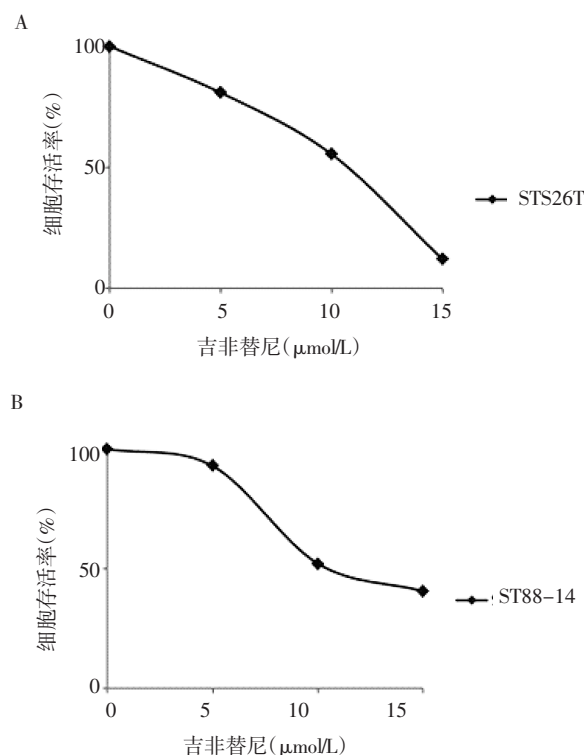
1.2.6 蛋白印迹实验检测 Kras、H3K27me3 的表达 实验分4组:(1)对照组。(2)吉非替尼给药组 5 $\mu\text{mol/L}$ 。(3)吉非替尼给药组 10 $\mu\text{mol/L}$ 。(4)吉非替尼给药组 15 $\mu\text{mol/L}$ 。按照实验分组,将细胞以 15×10^4 个/mL 密度接种于6孔板中,培养 24 h 后用不同浓度吉非替尼处理细胞 STS26T 处理 48 h、ST88-14 处理 36 h。药物处理后,弃去培养液,每孔加入 200 μL 含有 1% PMSF 的 RIPA 裂解液来提取蛋白并用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。蛋白变性后,每孔上样 20 μg 蛋白样品,按说明书配制 10%SDS-PAGE 凝胶,电泳分离后转移到 PVDF 膜上,使用 5%脱脂牛奶封闭 PVDF 膜,阻断

非特异性蛋白结合,4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育一抗(Kras 1:2 000、H3K27me3 1:1 000、 β -actin 1:3 000)24 h。次日,TBST 洗膜 5 次,每次 5 min,二抗(1:3 000)室温孵育 1 h,TBST 洗膜 5 次后,ECL 化学发光试剂盒显色,凝胶成像分析仪曝光。

1.3 统计学处理 使用 *t* 检验分析数据,用 Statistic Package for Social Science 软件(SPSS 20.0)和 GraphPad Prism(GraphPad Software, Version 7.0)进行统计学分析和作图。 $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 药物 IC₅₀ 曲线检测最适加药浓度 如图 1 所示,随着药物浓度的上升,细胞存活率有下降的趋势。STS26T、ST88-14 细胞存活率均在加药浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 处达到对照组(0 $\mu\text{mol/L}$)的一半。经 CCK-8 实验测定,STS26T、ST88-14 细胞药物 IC₅₀ 曲线显示半数抑制浓度均为 10 $\mu\text{mol/L}$ ($t=11.42$ 、16.51,均 $P < 0.05$)。此药物浓度为最适加药浓度,可以作为后续表型实验加药浓度。



注:A:STS26T 细胞;B:ST88-14 细胞

图 1 药物 IC₅₀ 曲线

Fig 1 Drug IC₅₀ curve

2.2 细胞克隆形成实验 与对照组比较,给药组细胞克隆数目明显减少,产生的集落更小,药物对 STS26T、ST88-14 细胞增殖均有明显的抑制作用($t=5.48$, $P < 0.05$; $t=4.89$, $P < 0.01$),见图 2。

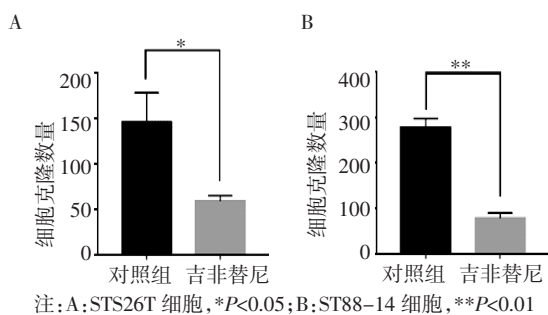


图 2 克隆形成实验结果

Fig 2 Results of colony formation experiment

2.3 吉非替尼对肿瘤细胞迁移的影响 与对照组比较, 给药组细胞更慢的迁移覆盖划痕处, STS26T、ST88-14 细胞的迁移速度均明显下降 ($t=4.94$, $P<0.01$; $t=4.75$, $P<0.01$), 见图 3。

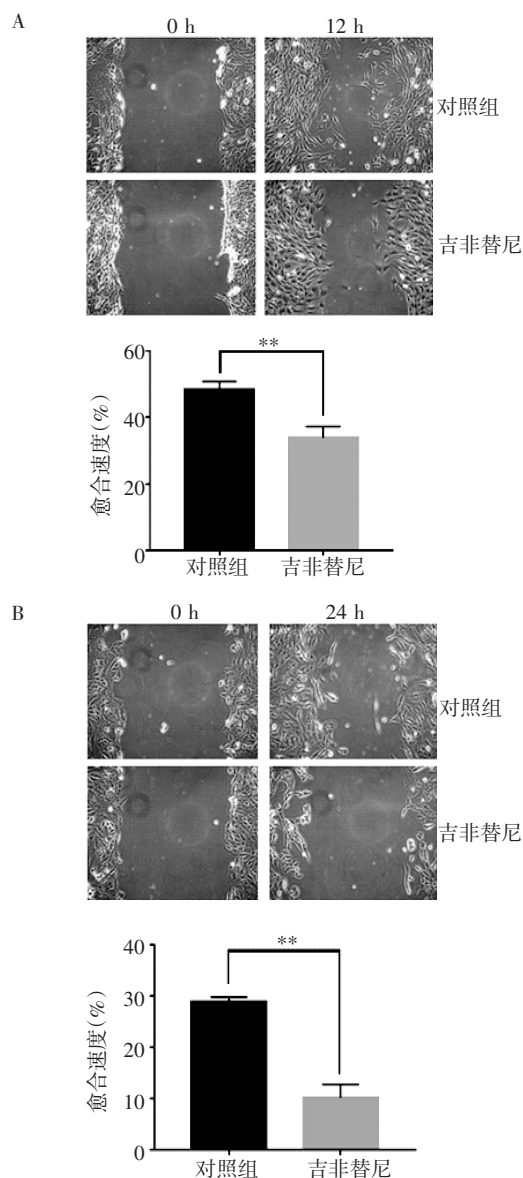
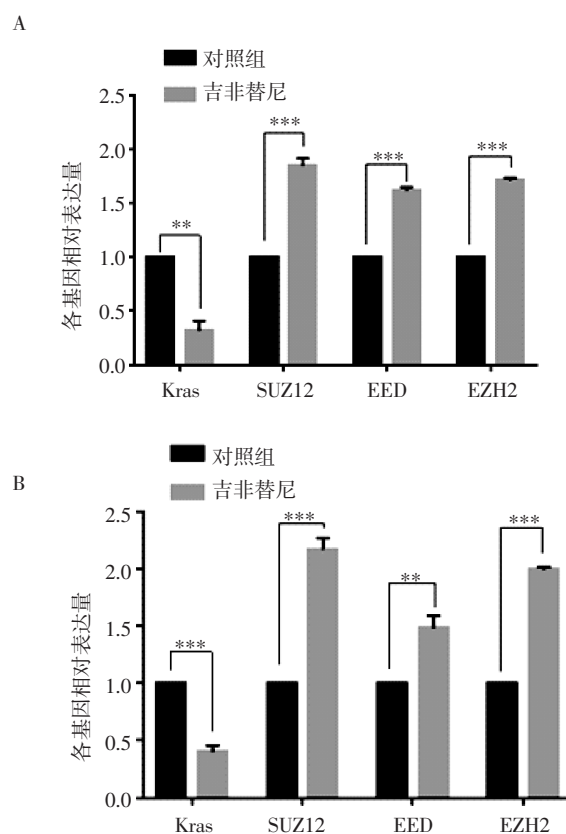


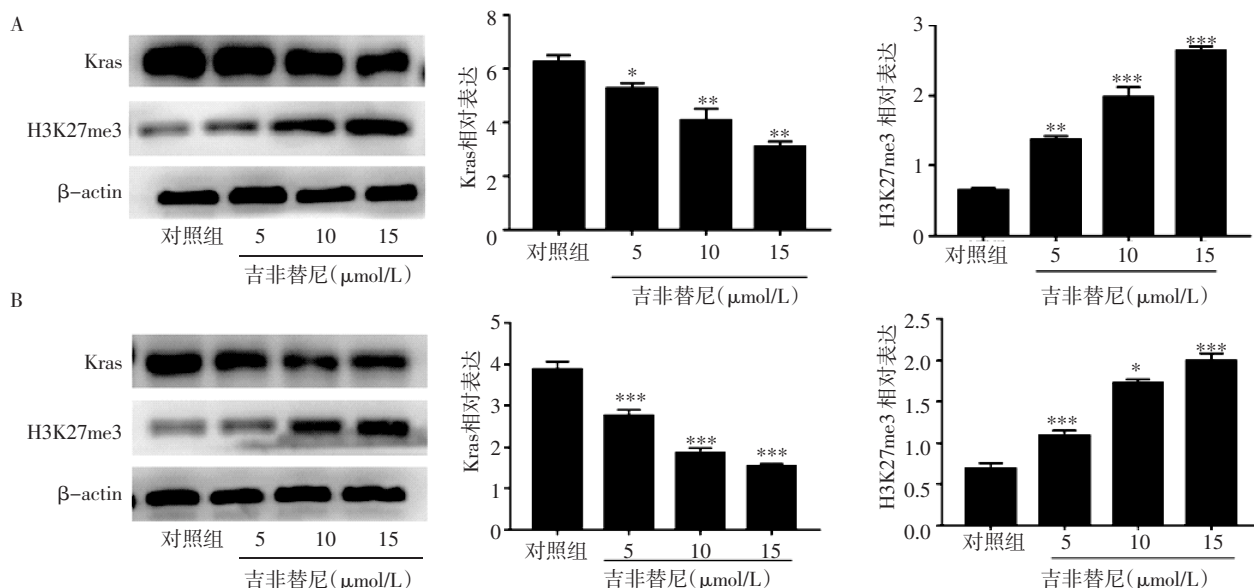
图 3 划痕实验结果

Fig 3 The results of the wound healing test

2.4 吉非替尼对 MPNST 细胞系 Kras、SUZ12、EED、EZH2 在 mRNA 水平的影响 行 RT-PCR 检测后的结果可以看到, 与对照组比较, 吉非替尼给药组 (10 $\mu\text{mol/L}$) STS26T 细胞中 Kras 基因 mRNA 表达显著降低 ($t=4.87$, $P<0.01$), SUZ12、EED、EZH2 表达显著升高 ($t=11.36$ 、 15.54 、 13.19 , 均 $P<0.05$); ST88-14 细胞中 Kras 基因 mRNA 表达水平显著降低 ($t=13.75$, $P<0.05$), SUZ12、EED、EZH2 表达显著升高 ($t=12.56$ 、 7.48 、 16.33 , 均 $P<0.05$), 见图 4。

图 4 各组细胞 Kras、SUZ12、EED、EZH2 在 mRNA 水平的表达情况
Fig 4 Expression of Kras, SUZ12, EED, EZH2 in each group of cells at the mRNA level

2.5 不同浓度吉非替尼对 MPNST 细胞系 Kras、H3K27me3 蛋白表达的影响 与对照组比较, STS26T 细胞、ST88-14 细胞吉非替尼给药组 (5、10、15 $\mu\text{mol/L}$) Kras 蛋白表达显著降低 ($t=13.70$ 、 15.21 , 均 $P<0.05$)。STS26T、ST88-14 细胞吉非替尼给药组 (5、10、15 $\mu\text{mol/L}$) H3K27me3 蛋白表达显著增加 ($t=14.31$ 、 12.40 , 均 $P<0.05$), 见图 5。



注:A:STS26T 细胞;B:ST88-14 细胞 与对照组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$

图5 吉非替尼对肿瘤细胞 Kras、H3K27me3 蛋白表达的影响

Fig 5 Effect of gefitinib on the expression of Kras and H3K27me3 proteins in tumor cells

3 讨论

恶性周围神经鞘瘤是一种具有高度侵袭性的肉瘤亚型,复发转移率高。常规治疗的预后效果也较差。早期根治性手术是 MPNST 有效的治疗方式,传统的放疗和化疗方案的效果很差,死亡率高^[13-14],目前仍需要探索新的治疗策略。

吉非替尼在人膀胱癌、非小细胞肺癌等疾病中有抑制细胞生长、迁移的作用^[15-16]。笔者分别采用 5、10、15 $\mu\text{mol/L}$ 吉非替尼处理 MPNST 细胞,发现 10 $\mu\text{mol/L}$ 是最适药物浓度。采用这个浓度笔者继续做了平板克隆形成和划痕实验,细胞增殖和迁移能力都显著降低,吉非替尼对 STS26T、ST88-14 细胞株产生了增殖、迁移抑制作用,未来可用于 MPNST 的治疗。

本研究使用不同浓度吉非替尼处理 STS26T、ST88-14 细胞,Kras 蛋白表达量与吉非替尼剂量呈负相关,PRC2 各组成分 SUZ12、EED、EZH2 加药后 mRNA 水平均有不同程度的提高。同时,吉非替尼恢复了 H3K27me3 的表达。本项目前期工作发现 51 例 MPNST 样本中 Kras 有扩增^[10],笔者发现随着吉非替尼浓度的增加,STS26T、ST88-14 中 Kras 表达逐渐降低,因此选择吉非替尼验证 MPNST 细胞信号通路-EGFR-Kras 的靶向药物。在加入吉非替尼之后,发现 Kras 表达明显下降,同时 H3K27me3 上升,同时检测到 SUZ12、EED、EZH2 的 mRNA 水平上升。因此提出假设,EGFR-Kras 信号通路可能通过调控 PRC2,进而影响 H3K27 甲基化水平,从而达

到调控 MPNST 细胞生长的作用。研究表明,NF1 编码一种 RasGTPase 激活蛋白(RasGAP),它的缺失通过激活 Ras 而导致恶性肿瘤,同时 SUZ12 缺失可以通过对染色质的影响放大 RAS 驱动的转录,使 Kras 表达上调^[11]。本实验结果从相反的方向论证,抑制 Kras 的表达可以促进 SUZ12 上升。证明 Kras 与 SUZ12 在信号转导上可能存在上下游关系,Kras 可能通过调控 SUZ12 的水平调节 H3K27me3 的水平,通常认为 H3K27me3 是转录抑制的标志,H3K27me3 甲基化的程度可影响相应区域 DNA 的转录活性,从而抑制细胞生长。PRC2 缺失的 MPNSTs 表现为 H3K27me3 完全缺失,H3K27me3 的缺失被认为是预后不良的预测因子。在急性淋巴细胞白血病和骨髓增生异常综合征中也观察到 PRC2 突变和 H3K27me3 丢失。有研究在 PRC2 缺失的 MPNST 细胞系中导入 PRC2 组分,恢复了 H3K27me3^[17-18]。

本研究结果表明,至少在部分 MPNST 中,吉非替尼可以降低细胞 Kras 表达量,抑制细胞的增殖和迁移能力,并且与 PRC2、H3K27me3 有关,对 Kras、PRC2 与 H3K27me3 的关系以及具体相关分子机制的进一步探讨,将为吉非替尼用于 MPNST 治疗提供新的思路。

参考文献:

- [1] Korfhage J, Lombard D B. Malignant peripheral nerve sheath tumors: from epigenome to bedside[J]. Mol Cancer Res, 2019, 17(7): 1417

- [2] Bradford D, Kim A. Current treatment options for malignant peripheral nerve sheath tumors[J]. Curr Treat Options Oncol, 2015, 16(3):328
- [3] Cleven A, Sannaa G, Bruijn I B, et al. Loss of H3K27 tri-methylation is a diagnostic marker for malignant peripheral nerve sheath tumors and an indicator for an inferior survival[J]. Mod Pathol, 2016, 29(6):582
- [4] Højfeldt J W, Laugesen A, Willumsen B M, et al. Accurate H3K27 methylation can be established de novo by SUZ12-directed PRC2[J]. Nat Struct Mol Biol, 2018, 25(3):225
- [5] Lee W, Teckie S, Wiesner T, et al. PRC2 is recurrently inactivated through EED or SUZ12 loss in malignant peripheral nerve sheath tumors[J]. Nat Genet, 2014, 46(11):1227
- [6] Prieto-Granada C N, Wiesner T, Messina J L, et al. Loss of H3K27me3 expression is a highly sensitive marker for sporadic and radiation-induced MPNST[J]. Am J Surg Pathol, 2016, 40(4):479
- [7] McGrath J P, Capon D J, Smith D H, et al. Structure and organization of the human Ki-ras proto-oncogene and a related processed pseudogene[J]. Nature, 1983, 304(5926):501
- [8] Liu P, Wang Y, Li X. Targeting the untargetable KRAS in cancer therapy[J]. Acta Pharm Sin B, 2019, 9(5):871
- [9] Xu M J, Johnson D E, Grandis J R. EGFR-targeted therapies in the post-genomic era[J]. Cancer Metastasis Rev, 2017, 36(3):463
- [10] Perrone F, Riva L D, Orsenigo M, et al. PDGFRA, PDGFRB, EGFR, and downstream signaling activation in malignant peripheral nerve sheath tumor[J]. Neuro Oncol, 2009, 11(6):725
- [11] De Raedt T, Beert E, Pasmant E, et al. PRC2 loss amplifies Ras-driven transcription and confers sensitivity to BRD4-based therapies[J]. Nature, 2014, 514(7521):247
- [12] Yang Z, Hackshaw A, Feng Q, et al. Comparison of gefitinib, erlotinib and afatinib in non-small cell lung cancer: a meta-analysis[J]. Int J Cancer, 2017, 140(12):2805
- [13] Farid M, Demicco E G, Garcia R, et al. Malignant peripheral nerve sheath tumours[J]. Oncologist, 2014, 19(2):193
- [14] Brohl A S, Kahen E, Yoder S J, et al. The genomic landscape of malignant peripheral nerve sheath tumors: diverse drivers of Ras pathway activation[J]. Sci Rep, 2017, 7(1):14992
- [15] Huang Y J, Zhou S C, He C M, et al. Phenformin alone or combined with gefitinib inhibits bladder cancer via AMPK and EGFR pathways[J]. Cancer Commun, 2018, 38(1):50
- [16] Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR [J]. N Engl J Med, 2010, 362(25):2380
- [17] Nix J S, Haffner M C, Ahsan S, et al. Malignant peripheral nerve sheath tumors show decreased global DNA methylation[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2018, 77(10):958
- [18] Yoo K H, Hennighausen L. EZH2 methyltransferase and H3K27 methylation in breast cancer[J]. Int J Biol Sci, 2012, 8(1):59

(2020-10-26 收稿)

·读者·作者·编者·

《天津医科大学学报》对运用统计学方法的有关要求

1. 统计学符号:按 GB/T 3558.1-2009《统计学词汇及符号》的有关规定,统计学符号一律采用斜体。

2. 研究设计:应告知研究设计的名称和主要方法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性还是横断面调查研究),实验设计(应告知具体的设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等),临床试验设计(应告知属于第几期临床试验,采用了何种盲法措施等);主要做法应围绕 4 个基本原则(重复、随机、对照、均衡)概要说明,尤其要告知如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

3. 资料的表达与描述:用 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料,用 $M(QR)$ 表达呈偏态分布的定量资料;用统计表时,要合理安排纵横标目,并将数据的含义表达清楚;用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上刻度值的标法符合数学原则;用相对数时,分母不宜小于 20,要注意区分百分率与百分比。

4. 统计学分析方法的选择:对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选择合适的统计学分析方法,不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件及分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析,应结合专业知识和散布图,选用合适的回归类型,不应盲目套用简单直线回归分析;对具有重复实验数据检验回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。

5. 统计结果的解释和表达:应写明所用统计学方法的具体名称(如:成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等),统计量的具体值(如 $t=3.45$, $\chi^2=4.68$, $F=6.79$ 等);在用不等式表示 P 值的情况下,一般情况下选用 $P>0.05$ 、 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 3 种表达方式,无须再细分为 $P<0.001$ 或 $P<0.0001$ 。当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,应再给出 95% 可信区间。

本刊编辑部