

微进化与人类疾病

吴克复 马小彤 郑国光 宋玉华

〔作者简介〕 吴克复,研究员,博士生导师。1964年毕业于中国协和医科大学医学系,一直在中国医学科学院所属研究所从事基础医学研究,建立了我国第1株人白血病细胞系J6-1;发现了人成纤维细胞表面的肿瘤抑制因子HFDI,证明了有些白血病细胞能产生TGF- β 、TNF- α 或LIF作为负调节因子,证明了膜结合型M-CSF与其受体起接触性刺激作用。近10多年来吴克复用微生态学和进化论的观点研究医学问题(即进化医学),发表了多篇专论和专著。1997~2002年担任中国医学科学院血液学研究所副所长。完成国家级、省部级基金课题15项,获省部级奖5项(一等奖1项、二等奖4项)。发表论文160多篇(其中SCI收录50多篇)。主编专著5部,参编10部。培养研究生24名(其中博士14名)。马小彤,研究员,博士生导师。在中国医学科学院血液学研究所实验血液学国家重点实验室工作。近年来主要研究方向为造血干细胞生物学。作为课题负责人曾经负责1项国家高技术研究发展(“863”计划)项目,7项国家自然科学基金资助项目,2项天津市应用基础重点项目,1项天津市自然科学基金资助项目,1项教育部博士点基金资助项目,1项邓家栋基金项目。2006年获天津市自然科学二等奖,2002年获天津市科学技术进步三等奖。发表论文89篇,SCI收录杂志24篇,多篇发表于《Stem Cells》、《Cancer Research》、《Leukemia》、《Oncotarget》、《Mol Cancer Ther》、《Gene Therapy》等高水平杂志。参编专著6本,译著1本。申请发明专利3项。

中图分类号 R587

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.12.001

生物进化的研究经历了漫长而曲折的历程,至今还在探索中。许多研究者从各自熟悉的生物学领域提出生物进化的假设,犹如瞎子摸象,分别反映了事物真相的一个方面。达尔文的物种起源阐明了生物的宏观进化历程(macroevolution,以下简称宏进化)是树干式的分枝进化(divergent evolution),主要进化机制是变异的自然选择,发生在种或种以上层面。然而,达尔文没有接触过细胞和分子生物学,没有探讨微观进化历程(microevolution,以下简称微进化)。近半个世纪的研究表明,微进化历程可以是嵌合式的,与宏进化的规律不尽相同^[1,2]。微进化即正在进行的进化,指短期内能观察到的群体中基因频率的变化。分子进化的中性理论(neutral theory of molecular evolution, NTME)是木村资生(M. Kimura)在1968年提出的,根据核酸和蛋白质的核苷酸及氨基酸的置换速率及其改变不影响功能,对生物的生殖力和生活力(适合度)没有影响,对进化无所谓有利或不利,认为分子的微观变异大多是近于中性的。经过各国研究

者30多年的研究,对分子进化机制的复杂性有进一步认识,已经证明至少有4种机制导致这种变化:基因突变(DNA序列改变)、选择、遗传漂变和基因流(个体进/出群体)^[3,4]。

人类的一生是从受精卵发育分化形成错综复杂的细胞社会的微进化历程,表现为个人的健康和疾病进程。人类作为社会动物,个体内的细胞社会与人类群体(社会)密切相关,个体内的微进化受人类社会环境的影响和制约。分子遗传学和微生物学的研究进展揭示了动物与微生物的紧密关系,构成微生态系统,不仅在近十亿年的宏进化过程中相互依赖、相互影响,动物的一生在体内外微生物与动物细胞社会形成的生态系统的微进化过程中度过。人类作为动物进化的顶端,其微进化和微生态过程是生命活动的基础,出现异常则是疾病的基础^[5]。本文探讨人体内微进化异常及其医学意义。

一、病原微生物的微进化与现代传染病

自然选择是生物进化的主要机制之一,生物之间的生存竞争,优胜劣汰从单细胞生物到人类普遍存在,人类的传染病和感染就是人体与微生物间的生存竞争,是人类的一大类疾病。随着科技的进步、社会的发展,人类与微生物的生存竞争方式、方法有很大变化,一些传统的传染病将近绝迹,如天花、脊髓灰质炎等;由于病原微生物的微进化,新变种的涌现导致

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81670158,81470278,81270634,81370634,81570153)

作者单位:300020 天津,中国医学科学院/北京协和医学院血液病医院(血液学研究所)实验血液学国家重点实验室

通讯作者:吴克复,研究员,电子信箱:hiwukefu@163.com;马小彤,研究员,电子信箱:ma_xt@aliyun.com

新的传染病流行,如艾滋病、SARS等;耐药菌株的涌现导致传统传染病的再流行,如结核病、疟疾等。病原微生物的微进化成为现代传染病和流行病学防治研究的核心课题^[6,7]。

随着科技的进步,现代医学对传染病和感染的斗争策略已从治疗转向预防为主。卫生措施是预防的基础,免疫接种是预防的重要手段。减毒活疫苗模拟病原微生物感染获得较强的免疫效果,许多传染病的预防接种采用减毒活疫苗,或以减毒活疫苗病毒为载体构建活疫苗^[8,9]。半个多世纪以来脊髓灰质炎减毒活疫苗的广泛使用,出现了减毒活疫苗毒株毒力回升在人群中局部流行,提出了病毒微进化的新课题。20世纪60年代末,我国脊髓灰质炎疫苗生产过程中发现SabinⅢ型毒株有毒力回升的趋势,遂组织人员选育新的减毒株。从野毒株选育的减毒株因减毒不够和传代过程中毒力回升而告终,仍从原SabinⅢ型毒株经低温减毒重新制备毒种;并有文献报道SabinⅢ型疫苗毒株相关病例,说明SabinⅢ型疫苗毒株的遗传稳定性不佳^[10]。近20年来由于SabinⅡ型毒株的遗传稳定性不佳,毒力回升导致疫苗株相关脊髓灰质炎病例局部流行,致使Ⅱ型疫苗停用^[11]。脊髓灰质炎减毒活疫苗长期使用的经验表明:由于病毒的微进化,必需重视减毒活疫苗病毒的遗传稳定性问题,必须重视疫苗病毒在人群中的微进化历程。

流感病毒的变异和禽流感在人群中的流行也说明了病毒的遗传稳定性在病毒微进化中的重要性,不仅有重要的理论意义,也是疾病防治的重大项目。所以病原微生物的微进化也是当前微进化研究最深入的领域。

病原微生物不仅是传染病和感染性疾病的病原,也可以诱发肿瘤,约20%的肿瘤病例与病原微生物感染有关。一些国家已经成功地用人类乳头状瘤多瘤病毒(human papillomavirus)疫苗预防宫颈癌,用接种乙肝疫苗降低肝癌的发生率。所以,深入研究病原微生物与机体在微进化过程中的共进化博弈机制不仅有理论意义,也有重大的应用前景,是肿瘤生物学的深层次研究领域。

二、肿瘤的分枝进化与趋同进化

肿瘤属于复杂疾病,肿瘤的发生、发展是机体微进化的异常历程,是生物进化到高级阶段微进化异常的产物。肿瘤细胞从正常体细胞转化而来,保持了正常细胞的大部分性状。正常体细胞是树干分枝式增殖分化的,除淋巴细胞外都终末分化后凋亡。自从

1976年Nowell首次提出肿瘤的克隆性进化假设以来,大量的研究证明临床检出的肿瘤源自单个克隆,即大多数肿瘤源自单个变异的体细胞。发展过程中由于变异,经过选择产生更恶性的亚克隆^[12-14]。肿瘤细胞比正常细胞的遗传稳定性差,往往形成异质性的肿瘤细胞群体,多年的研究表明肿瘤难治性的根本原因在于肿瘤细胞群体的异质性,所以通过分枝式进化产生肿瘤内异质性(intratumor heterogeneity)的机制是当今肿瘤研究的核心课题之一^[15]。近年来的研究进展表明肿瘤的克隆性进化由2~4个驱动基因决定,伴有大量积累的过客基因。经过十多年的测序研究发现约140个基因突变可以成为驱动基因。驱动基因通过12条信号通路调控3个核心的细胞性状:细胞命运,细胞生存和基因组维持^[16]。McFarland等^[17]对近千例4个类型肿瘤的测序资料表明:非同义突变过客基因的损伤效应不足驱动基因效应的1%,而过客基因的数量超过驱动基因100倍。针对驱动基因的靶向治疗取得了令人鼓舞的治疗效果,成为当前肿瘤治疗研究的重要方向,采用分子遗传学的方法深入探索驱动基因作为抗肿瘤治疗的靶标是当前肿瘤生物学的研究热点之一。例如JAK/STAT信号转导途径将多种细胞因子和干扰素的信号从细胞膜传到细胞核,调节许多基因的转录,尤其是IL-6/STAT3参与从炎症向肿瘤的转化。JAK/STAT信号转导途径有4个不同的JAK分子和7个STAT成员,不同的组合导致不同的细胞反应,近年来的研究表明不同的点突变与不同组织的肿瘤相关,可能成为治疗靶点^[18]。

趋同进化(convergent evolution)是指在环境选择压作用下,不同生物朝着同一个方向的进化,亦即在相同环境中不同种属的生物进化导致具有类似的性状。如海洋哺乳类动物具有与鱼类相似的外形和功能,不同种属的昆虫成虫有类似的蛾/蝶等。不少研究者经过对肿瘤多年的系统研究报道了肿瘤中的趋同进化现象。早在1979年Klein在总结了大量的人类EB病毒相关的B细胞淋巴瘤和小鼠T细胞白血病的资料后指出,肿瘤细胞在起始阶段的分枝进化后往往进入趋同进化,与笔者在建立人白血病细胞系过程中观察到的现象一致,即培养早期的细胞类型多样,难以确定类型,有些白血病的临床类型可以转换,使人困惑,培养后期在将要成系时细胞趋向一致^[19,20]。20世纪70年代国内不同实验室用不同方法在615近交系小鼠培育出的可移植性白血病模型

有相似的性状,说明不同致癌因素诱导的转化细胞在相同的体内微环境中趋同进化,形成相似的白血病^[21]。

随着实验技术的发展,肿瘤中的分枝进化和趋同进化现象得到证实。如 Paguirigan 等^[22]用单细胞技术证明了急性髓系白血病的克隆多样性,Ojha 等^[23]用测序证实了慢性髓系白血病微进化进程中分枝进化和趋同进化的存在,Chen 等^[24]对大量实体瘤标本的测定表明,随着病程进展恶性程度的增加,肿瘤的发展呈现趋同进化,向干细胞方向发展,即肿瘤细胞克隆趋向干细胞化。

近期研究表明,实体瘤转移中的趋同进化有十分重要的临床意义,转移瘤细胞的趋同进化即适应新的组织微环境是肿瘤细胞转移成功的第 1 步。Cunningham 等^[25]根据实体瘤转移的效率低,推测趋同进化的概率不大,但是由于转移肿瘤细胞的基数大,每天可以有数百万个肿瘤细胞进入血液或淋巴系统,根据大数定律,随着时间的推移,小概率事件必然发生,总有少数肿瘤细胞趋同进化适应新的微环境,其后果是严重的。所以,阻滞肿瘤微进化,使其持续处于休眠状态可能是防治肿瘤的上策^[26]。肿瘤的分枝进化已经广泛深入研究多年,肿瘤的趋同进化研究则方兴未艾,有待深入。

三、遗传多态性与疾病易感性

肿瘤异质性的形成机制有遗传多态性和表观遗传多态性两方面,有不同的途径和动力学,与肿瘤的微环境及机体的易感性密切相关^[27,28]。由于抗生素和疫苗的广泛使用,传染病大流行已少见,散发病例的出现往往取决于机体的疾病易感性。因此疾病易感性已经成为微进化与疾病关系研究的关键课题之一。

基因组是疾病易感性的遗传基础,随着年龄的增长变异积累,成人的基因组可以含有数百万个序列和结构变种(variant)。其中最常见的是单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)、小的插入和缺失,以及拷贝数变种。高度变异的影响在孟德尔疾病中显现,低度变异(多态性)的作用显现在复杂疾病中。所以近年来在人类健康和疾病的研究中进行了许多基因组变种的测定。基因编码序列中的 SNP 可以导致氨基酸置换从而改变蛋白质功能,可能与疾病敏感度相关。近半个世纪一些学者用分子进化的中性理论(NTME)解释人类基因组疾病变种,诠释了疾病中变种的分布和起源。近年来 Dudley 等^[3]提出

新的假设,认为现代人群中的大部分疾病变种都有过去中性的进化起源,小部分病种呈现过去适应性的进化起源。常见的基因中性突变有 3 种:①同义突变:由于遗传密码的简并性,氨基酸的密码子不止 1 个,三联体密码子中第 3 个核苷酸的置换,突变后新的密码和原来的密码往往是同义的,并未更改氨基酸;②非功能性突变:即 DNA 分子中非转录序列(内含子和重复序列)的突变,对蛋白质的氨基酸序列没有影响;③不改变功能的突变:结构基因的突变虽然改变了氨基酸组成,但不改变功能。SNP 与复杂疾病的关系可以 IL-6 的 SNP 为例:IL-6 是多嗜性细胞因子,在多种免疫细胞中对多种刺激产生反应,调节多种生物学过程。外周血 IL-6 水平与炎症、肿瘤病程有关,尤其在肝脏疾患。IL-6 基因的 5'和 3'端有 150 多种 SNP,影响多种疾病的病程。-174G/C 是常见的多态性序列,位于 IL-6 基因的上游调节区,影响 IL-6 的产生,众多的资料表明高产基因型与慢性肝病(丙肝、肝硬化、肝癌等)相关^[29]。Noss 等^[30]的研究表明,基因表达与病理过程相关的 SNP 分析必须考虑到细胞类型的差异。如 IL-6 表达阻滞是治疗类风湿关节炎的有效措施,炎症关节的滑膜囊成纤维细胞的 IL-6 启动区有等位基因 SNP rs1800795 的表达,别的细胞及其他组织的成纤维细胞无此 SNP 表达。肿瘤发病机制的研究表明不同个体的易感性不同,机制复杂。例如早已阐明 CML 发病与 BCR-ABL 融合基因的关系,但是 CML 发生的遗传因素尚不清楚,CML 病例的家族性提示其遗传背景,近年来不同国家和地区的研究报道表明不同地区人群的相关基因的 SNP 不尽相同,不仅与种族有关,还可能对环境因素的影响^[31]。

感染性疾病是病原微生物,宿主遗传变异体和环境因素相互作用的结果。近年来对遗传变异体的作用进行了探讨,成为新的研究热点。如遗传多态性导致的趋化因子表达或功能变化与免疫反应有关,影响感染性疾病的发病机制和治疗效果。Qidwai 等报道了炎性细胞因子及其受体的遗传变异体与多种传染病基因转录调节、疾病严重性和治疗反应的相关性,以趋化因子及其受体基因的多态性为例进行了深入研究(图 1),发现 RANTES 的多态性与疟疾、乙型肝炎、胃十二指肠溃疡等多种感染性疾病的敏感度相关;CCR5 的多态性与 HIV 感染的敏感度相关;对结核病的易感性则与多种趋化因子及其受体的多态性相关^[32]。

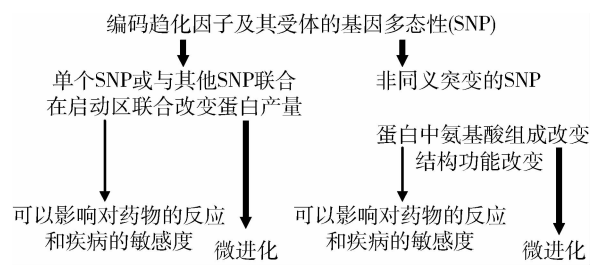


图1 人类趋化因子及其受体基因多态性对疾病和药物反应的影响^[31]

群体遗传学的基础 Hardy – Weinberg 平衡 (Hardy – Weinberg equilibrium) 指出:在没有突变、迁移和选择的前提下,基因的显现频率保持不变。所以由少

数基因决定的孟德尔遗传病(如血友病、镰刀细胞贫血症等)在人群中的出现频率稳定,由多基因 SNP 与环境因素相互作用的复杂性疾病的发生率也相对稳定。近 20 ~ 30 年来我国的心脑血管病、高血压、糖尿病、肿瘤等现代病的发生率急剧升高,提示环境因素中有这些现代病的致病因素。人类进化过程中由于群体迁移和中性变异的基因混合,经过自然选择导致人群中一些疾病基因多态性,不同个体的疾病敏感度不同,近年来的研究进展已获得不少临床和实验证据说明这些现代病与遗传多态性相关,如乙醇脱氢酶 (ADH) 与嗜酒、血管紧缩素 (AGT) 与高血压、镰刀状细胞贫血及疟疾与血红蛋白基因等的变异体相关 (表 1)^[3]。

表 1 基因变异与疾病相关的一些例证

基因	产物	生物学过程	相关疾病
ADH	乙醇脱氢酶	乙醇代谢	嗜酒
AGT	血管紧缩素	盐调节通路	高血压
ALDH2	乙醛脱氢酶	乙醇代谢	乙醇中毒
APOE	阿朴脂蛋白 E	脂质代谢	阿尔茨海默症等
CAPN10	calpain10	胰岛素刺激物	2 型糖尿病
CYP3A5	细胞色素 P450, 3 族, A 亚族, 多肽	外源物质代谢	血压升高
HbB, HbA, HbS	α 和 β 球蛋白	血红蛋白血合成	疟疾, 镰刀细胞贫血
LCT	乳糖分解酶	乳糖代谢	乳糖不耐受
MAOA	单胺氧化酶	神经递质	行为紊乱
MMP3	基质金属蛋白酶 3	细胞外基质破溃	冠心病
OPN1LW	锥体色素	光子受体激活	色盲

现代人类的常见病多发病大多属于复杂疾病,与多种基因的变异相关,与生活方式等环境因素关系密切,发病机制复杂,是多基因间相互作用和基因与环境相互作用的结果,受个体发育-微进化历程的影响。如冠心病是发达国家人群的主要杀手,发展中国家的发生率也有上升趋势,近年来的研究表明冠心病的发病不仅与饮食、生活方式相关,还有复杂的遗传背景。这方面的研究还在探索阶段,有待于进一步研究阐明。

参考文献

1 吴克复. 进化医学引论[M]. 上海:上海交通大学出版社,2014

2 吴克复,郑国光,马小彤,等. 嵌合式进化及其医学意义[J]. 医学研究杂志, 2013, 42(12): 5 – 7

3 Dudley JT, Kim Y, Liu L, *et al.* Human genomic disease variants: A neutral evolutionary explanation [J]. *Genome Res*, 2012, 22(8): 1383 – 1394

4 Razeto – Barry P, Díaz J, Vázquez RA. The nearly neutral and selection theories of molecular evolution under the Fisher geometrical framework: substitution rate, population size, and complexity [J]. *Genetics*, 2012, 191(2): 523 – 534

5 McFall – Ngai M, Hadfield MG, Bosch TC, *et al.* Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(9): 3229 – 3236

6 Seong MW, Kim SY, Corman VM, *et al.* Microevolution of outbreak – associated middle east respiratory syndrome coronavirus, South Korea, 2015 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2016, 22(2): 327 – 330

7 Hatherell HA, Colijn C, Stagg HR, *et al.* Interpreting whole genome sequencing for investigating tuberculosis transmission: a systematic review [J]. *BMC Med*, 2016, 14:21

8 Dhillon S, Curran MP. Live attenuated measles, mumps, rubella, and varicella zoster virus vaccine (Priorix – Tetra) [J]. *Paediatr Drugs*, 2008, 10(5): 337 – 347

9 Clarke DK, Hendry RM, Singh V, *et al.* Live virus vaccines based on a vesicular stomatitis virus (VSV) backbone: standardized template with key considerations for a risk/benefit assessment [J]. *Vaccine*, 2016, pii: S0264 – 410X(16)30548 – 5

10 Foadelli T, Savasta S, Battistone A, *et al.* Nucleotide variation in Sabin type 3 poliovirus from an Albanian infant with agammaglobulinemia and vaccine associated poliomyelitis [J]. *BMC Infect Dis*, 2016, 16:277

11 Duintjer Tebbens RJ, Hampton LM, Thompson KM. Implementation of coordinated global serotype 2 oral poliovirus vaccine cessation: risks of inadvertent trivalent oral poliovirus vaccine use [J]. *BMC Infect*

Dis, 2016, 16:237

- 12 吴克复,郑国光,马小彤,等. 肿瘤的微进化及其临床意义[J]. 白血病·淋巴瘤, 2014, 23 (10) : 577-580
- 13 吴克复,郑国光,马小彤,等. 白血病的克隆性演化[J]. 中国实验血液学杂志, 2015,23(1):1-5
- 14 Nowell PC. The clonal evolution of tumor cell populations [J]. Science, 1976, 194(4260):23-28
- 15 Gerlinger M, McGranahan N, Dewhurst SM, *et al.* Cancer: Evolution within a lifetime [J]. Annu Rev Genet, 2014, 48:215-236
- 16 Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, *et al.* Cancer Genome landscapes [J]. Science, 2013, 339(6127): 1546-1558
- 17 McFarland CD, Mirny LA, Korolev KS. Tug-of-war between driver and passenger mutations in cancer and other adaptive processes [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(42):15138-15143
- 18 Pencik J, Pham HTT, Schmoeller J, *et al.* JAK-STAT signaling in cancer: From cytokines to non-coding genome [J]. Cytokine, 2016, 87: 26-36
- 19 Klein G. Lymphoma development in mice and humans: Diversity of initiation is followed by convergent cytogenetic evolution [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1979, 76(5): 2442-2446
- 20 吴克复,郑国光,马小彤. 多克隆细胞系的研究价值[J]. 中国实验血液学杂志, 2007, 15(5):909-912
- 21 褚建新,李肇玫. 615 近交系小鼠及其在实验肿瘤研究中的应用[M]. 北京:人民卫生出版社, 1989
- 22 Paguirigan AL, Smith J, Meshinchi S, *et al.* Single-cell genotyping demonstrates complex clonal diversity in acute myeloid leukemia [J]. Sci Transl Med, 2015, 7(281):281re2
- 23 Ojha J, Ayres J, Secreto C, *et al.* Deep sequencing identifies genetic heterogeneity and recurrent convergent evolution in chronic lymphocytic

- ic leukemia [J]. Blood, 2015, 125(3): 492-498
- 24 Chen H, He X. The convergent cancer evolution toward a single cellular destination [J]. Mol Biol Evol, 2016, 33(1):4-12
- 25 Cunningham JJ, Brown JS, Vincent TL, *et al.* Divergent and convergent evolution in metastases suggest treatment strategies based on specific metastatic sites [J]. Evol Med Public Health, 2015, 2015(1): 76-87
- 26 吴克复,郑国光,马小彤,等. 肿瘤休眠的机制及其意义[J]. 白血病·淋巴瘤, 2016, 25 (3) :129-133
- 27 Li S, Garrett-Bakelman FE, Chung SS, *et al.* Distinct evolution and dynamics of epigenetic and genetic heterogeneity in acute myeloid leukemia[J]. Nat Med, 2016, 22(7):792-799
- 28 Guèze R, Wu CJ. Genomic and epigenomic heterogeneity in chronic lymphocytic leukemia [J]. Blood, 2015, 126(4): 445-453
- 29 Giannitrapani L, Soresi M, Balasus D, *et al.* Genetic association of interleukin-6 polymorphism (-174G/C) with chronic liver diseases and hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2013, 19 (16): 2449-2455
- 30 Noss EH, Nguyen HN, Chang SK, *et al.* Genetic polymorphism directs IL-6 expression in fibroblasts but not selected other cell types [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2015, 112(48): 14948-14953
- 31 Bruzzoni-Giovanelli H, Gonzalez JR, Sigaux F, *et al.* Genetic polymorphisms associated with increased risk of developing chronic myelogenous leukemia [J]. Oncotarget, 2015, 6(34): 36269-36277
- 32 Qidwai T, Khan MY. Impact of genetic variations in C-C chemokine receptors and ligands on infectious diseases [J]. Hum Immunol, 2016, 77(10):961-971

(收稿日期:2016-09-23)

(修回日期:2016-09-28)

(接第 8 页)

- 12 Boncler M, Rozalski M, Krajewska U, *et al.* Comparion of Presto Blue and MTT assays of cellular viability in the assessment of anti-proliferative effects of plant extracts on human endothelial cells [J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2014, 69(1): 9-16
- 13 Xu M, McCanna DJ, Sivak JG. Use of the viability reagent PrestoBlue in comparison with alamarBlue and MTT to assess the viability of human corneal epithelial cells[J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2015, 71(1):1-7
- 14 Ye Q, Ding SF, Wang ZA, *et al.* Influence of ribosomal protein L39-L in the drug resistance mechanisms of lacrimal gland adenoid cystic carcinoma cells [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15 (12): 4995-5000
- 15 Salic A, Mitchison TJ. A chemical method for fast and sensitive detection of DNA synthesis in vivo[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(7): 2415-2420
- 16 Warren M, Puskarczyk K, Chapman SC. Chick embryo proliferation studies using EdU labeling [J]. Dev Dyn, 2009, 238(4): 944-949
- 17 Daul AL, Komori H, Lee CY. EdU(5-ethynyl-2'-deoxyuridine) labeling of Drosophila mitotic neuroblasts [J]. Cold Spring Harb Protoc, 2010, 2(7): t5461
- 18 Buck SB, Bradford J, Gee KR, *et al.* Detection of S-phase cell cycle progression using 5-ethynyl-2'-deoxyuridine incorporation

- with click chemistry, an alternative to using 5-bromo-2'-deoxyuridine antibodies [J]. Biotechniques, 2008, 44(7): 927-929
- 19 Li B, Zhao H, Rybak P, *et al.* Different rates of DNA replication at early versus late S-phase sections: multiscale modeling of stochastic events related to DNA content/EdU(5-ethynyl-2'-deoxyuridine) in corporation distributions [J]. Cytometry A, 2014, 85(9): 785-797
- 20 Bourge M, Fort C, Soler MN, *et al.* A pulse-chase strategy combining click-EdU and photoconvertible fluorescent reporter: tracking Golgi protein dynamics during the cell cycle [J]. New Phytol, 2015, 205(2): 938-950
- 21 Naryzhny N, Desouzal V, Siuk W, *et al.* Characterization of the human proliferating cell nuclear antigen physicochemical properties aspects of double trimer stability [J]. Biochem Cell Biol, 2006, 84 (5): 669-676
- 22 Mahler M, Miyachi K, Peebles, *et al.* The clinical significance of autoantibodies to the proliferating cell nuclear antigen (PCNA) [J]. Autoimmun Rev, 2012, 11(10): 771-775
- 23 Yildirim A, Kosem M, Sayar I, *et al.* Relationship of PCNA, C-erbB2 and CD44s expression with tumor grade and stage in urothelial carcinomas of the bladder [J]. International Journal of Clinical & Experimental Medicine, 2014, 7(6): 1516-1523

(收稿日期:2015-02-11)

(修回日期:2015-03-10)