

# 乳腺癌患者血浆 EDA 片段拷贝数变化的临床意义

李涌涛 刘雨雄 张晨光 蒋威华 许文婷 欧江华

**摘要** **目的** 探讨血浆纤维连接蛋白 EDA 片段拷贝数变化在乳腺癌患者转移中的意义。**方法** 选取 98 例接受手术的乳腺癌患者,同时选取 100 例病理为乳腺良性病的患者,乳腺癌患者在不同时段留取血浆标本,DNA 提取采用 Omega 基因组 DNA 提取试剂盒,用 AccuCopy TM 多重基因拷贝数检测技术进行纤维连接蛋白 EDA 片段拷贝数检测。**结果** 乳腺癌患者血浆标本 EDA 片段多拷贝显著高于良性患者(乳腺癌 39.8%,乳腺良性病 2.0%, $P=0.000$ )。在治疗前后,乳腺癌患者外周血 EDA 片段多拷贝有明显变化(治疗前 39.8%,治疗后 18.4%, $P=0.001$ )。随访 5 年,28 例乳腺癌患者出现复发或转移,治疗前检测到 EDA 片段多拷贝的患者有较高的复发转移风险(检测到 41.0%,未检测到 20.3%, $P=0.026$ )。随访过程中,血浆 EDA 多拷贝状态的变化也较好的反应了患者的预后(未检测到变为检测到的患者 57.1% 预后差,一直未检测到仅 8.9% 预后差, $P=0.000$ ;呈持续多拷贝状态的患者 53.3% 预后差,多拷贝变为未检测到的患者均预后好, $P=0.004$ )。**结论** 通过外周血浆 EDA 片段拷贝数检测,为乳腺癌辅助诊断及预后监测提供了一个可选择指标。

**关键词** 乳腺肿瘤 转移 EDA 片段 拷贝数变异

**中图分类号** R4 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.08.022

**Clinical Significance of Plasma Fibronectin EDA Fragment Copy Number in Patients with Breast Cancer.** Li Yongtao, Liu Yuxiong, Zhang Chengguang, et al. Department of Breast Surgery, Cancer Hospital affiliated to Xinjiang Medical University, Xinjiang 830011, China

**Abstract** **Objective** To investigate the significance of the changes of plasma fibronectin EDA copy number in breast cancer patients with metastasis. **Methods** Totally 98 patients with breast cancer and 100 patients with benign breast cancer were selected. Plasma samples were collected from patients with breast cancer at different times. Omega genomic DNA extraction kit was used to extract genes, and AccuCopy TM multiple gene copy number detection technique was used to detect the copy number of fibronectin EDA fragments. **Results** Multiple copies of EDA fragments in plasma samples of breast cancer patients were significantly higher than those of benign patients (breast cancer 39.8%, breast benign diseases 2.0%,  $P=0.000$ ). There were significant changes in multiple copies of EDA fragments in peripheral blood of breast cancer patients before and after treatment (39.8% before treatment and 18.4% after treatment). During the 5-year follow-up, 28 breast cancer patients had recurrence or metastasis. Patients with multiple copies of EDA fragments detected before treatment had a higher risk of recurrence and metastasis (detected 41.0%, not detected 20.3%). During the follow-up, the change of plasma EDA multi-copy status also reflected the prognosis of patients (57.1% of the patients who had never been detected had a poor outcome, and only 8.9% of the patients had a poor outcome, pendant 0.014; 53.3% of the patients with persistent multi-copy status had a poor outcome, and all the patients who changed from multiple copies to undetected patients had a good prognosis). **Conclusion** It is convenient and dynamic to detect the copy number of EDA fragments in peripheral plasma. Through this study, the copy number of fibronectin EDA fragment is shown that it can be used as an index for auxiliary diagnosis and prognosis of breast cancer.

**Key words** Breast carcinoma; Metastasis; Fibronectin EDA fragment; Copy number variation

复发和转移是导致乳腺癌患者预后较差的主要原因<sup>[1-4]</sup>。现有研究显示,纤维连接蛋白(fibronectin, FN)是细胞外基质的重要组成成分,通过上皮-

间质迁移,在改变细胞与周围基质的黏附能力中扮演重要角色。其中纤维连接蛋白 EDA 片段与肿瘤的生长和转移密切相关<sup>[5]</sup>。外周血标本留取相对无创且可多次留取,在临床工作中优势明显<sup>[6]</sup>。笔者对乳腺癌患者外周血浆的 EDA 片段基因的拷贝数进行检测,结合患者的预后进行了研究,现报道如下。

## 资料与方法

1. 研究对象:选取笔者医院 2014 年 1~12 月行手术的乳腺癌患者,同时选择同时期行手术的良性乳

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2017D01C382)

作者单位:830011 乌鲁木齐,新疆医科大学附属肿瘤医院乳腺外科(李涌涛、张晨光、蒋威华、许文婷、欧江华);831100 昌吉回族自治州人民医院普外二科(刘雨雄)

通讯作者:欧江华,主任医师,电子信箱:oujianghua@hotmail.com

腺病患者。所有入选患者均留取了外周血标本,且均签署标本留取知情同意书。最后研究组入选 98 例患者,对照组选择 100 例病理为乳腺腺病的患者。患者均为女性,乳腺癌组患者中位年龄 46 岁(28 ~ 67 岁),其中,汉族 70 例,维吾尔族 25 例,哈萨克族 3 例;无淋巴结转移 13 例,有淋巴结转移 85 例。

2. 纳入标准:研究组均有明确的浸润性乳腺癌病理诊断,手术时无远处转移,未进行术前化疗,非妊娠、哺乳期患者,且临床病理及随访资料完整;对照组病理结果为良性病变,且留取外周血标本。排除标准:炎性乳腺癌,乳腺癌患者在治疗中出现远处转移,在治疗后及随访中乳腺癌患者外周血标本留取不全。

3. 乳腺癌患者随访情况:所有乳腺癌患者术后均行辅助化疗,依据治疗指南继续行后续放疗、内分泌等综合治疗。所有乳腺癌患者在化疗结束时均未发现复发或远处转移。随访患者 5 年,其中 28 例患者出现复发或转移。3 例患者胸壁或区域淋巴结局部复发,6 例单纯骨转移,5 例肝转移,7 例肺转移,1 例脑转移,1 例区域淋巴结复发及骨转移,5 例多脏器转移。

4. 标本留取:所有患者均在手术前抽取外周血,加入抗凝管中,经离心后分离上层血浆,置于 -80℃ 冰箱保存。乳腺癌患者在化疗结束后再次抽取外周血离心后留取标本。随访过程中发现复发或转移时再次抽取外周血离心后留取标本。未发现复发或转

移患者在随访 5 年时抽取外周血离心后留取标本。

5. 研究方法:对本标本进行 DNA 提取,采用美国 Omega 基因组 DNA 提取试剂盒。采用 AccuCopy™ 多重基因拷贝数检测试剂盒进行 PCR 扩增:取 2μl DNA 模板与 2μl 内对照 DNA 混合液混匀后,加入 10μl 2 × PCR Master Mix, 1μl 多重 PCR 引物混合液以及 5μl ddH<sub>2</sub>O。PCR 循环程序:95℃ 10min; 11cycles × (94℃ 20s, 65℃ 40s, 72℃ 1min 30s); 24cycles × (94℃ 20s, 59℃ 30s, 72℃ 1.5min); 60℃ 60min; 4℃ for ever。取 1μl PCR 产物稀释 20 倍后,取 1μl 与 0.5μl Liz500 SIZE STANDARD, 8.5μl Hi-Di 混匀, 95℃ 变性 5min 后上 ABI3130XL 测序仪。根据每个基因的样本 DNA/内对照 DNA 扩增产物长度及荧光标记信息,利用 GeneMapper4. 0 对 ABI3130XL 测序仪生成的数据文件进行分析,输出每个产物峰的峰高以及峰面积。输出结果采用 EXCEL 进行整理、统计和分析。

6. 拷贝数确定:取一定量的 DNA 片段混合物,然后与适量的样本 DNA 混合,进行 PCR 扩增,产物经毛细管电泳后,对(样本 DNA 与竞争 DNA)扩增产物根据其长度差异进行分离,分析每个基因片段的 S/I (峰面积比)值,利用参照基因 S/I 值对目标基因 S/I 值进行校正后获取目标基因的准确拷贝数(图 1)。拷贝数取整数,笔者将拷贝数 >2 确定为多拷贝。

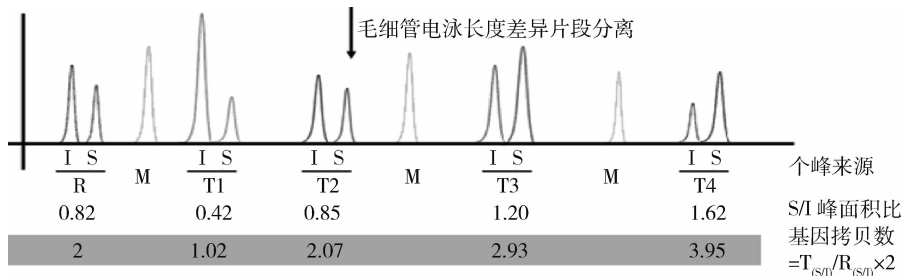


图 1 采用 AccuCopy™ 多重基因拷贝数检测的不同拷贝数结果判读图

7. 统计学方法:采用 SPSS 19.0 统计学软件对数据进行统计分析,计数资料采用例数(百分比) [n(%)]表示,不同组间比较采用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

结 果

1. 乳腺癌与良性患者外周血 EDA 片段拷贝数检测结果:98 例初诊乳腺癌患者的血浆标本纤维连接蛋白 EDA 片段拷贝数检测,结果 39.8% (39/98) 的患者检测到 EDA 片段多拷贝。而在同期留取的 100

例病理为乳腺腺病患者血浆标本中,仅有 2.0% (2/100)检测到 EDA 片段多拷贝,两组患者比较,外周血浆中纤维连接蛋白 EDA 片段多拷贝乳腺癌患者明显高于良性乳腺疾病患者,差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 43.062, P = 0.000$ ,表 1)。

2. 乳腺癌患者治疗前后血浆纤维连接蛋白 EDA 片段拷贝数检测:乳腺癌患者手术前及手术 + 化疗治疗后留取外周血浆标本,治疗前 39.8% (39/98) 的患者检测到 EDA 片段多拷贝,治疗后 18.4% (18/98)

**表 1 乳腺腺病与乳腺癌患者血浆 EDA 片段拷贝数结果比较 [n(%)]**

组别	EDA 多拷贝	
	检测到	未检测到
乳腺腺病组	2(2.0)	98(98.0)
乳腺癌组	39(39.8)	59(60.2)

P = 0.000

的患者检测到 EDA 片段多拷贝,两组比较,乳腺癌患者外周血浆中纤维连接蛋白 EDA 片段多拷贝在治疗前后有明显变化,差异有统计学意义( $\chi^2 = 10.91, P = 0.001$ ,表 2)。

**表 2 治疗前后乳腺癌患者 EDA 片段多拷贝结果比较 [n(%)]**

组别	EDA 多拷贝	
	检测到	未检测到
治疗前	39(39.8)	59(60.2)
治疗后	18(18.4)	80(81.6)

P = 0.001

3. 不同血浆纤维连接蛋白 EDA 片段拷贝数的乳腺癌患者结局情况:98 例患者中 28 例出现复发或转移。治疗前 39 例患者检测到血浆 EDA 片段多拷贝,41.0% (16/39) 的患者出现复发或转移;59 例未检测到血浆 EDA 片段多拷贝的患者中仅有 20.3% (12/59) 的患者出现复发或转移,两组比较,治疗前乳腺癌患者外周血检测到 EDA 片段多拷贝,其出现复发转移的风险明显升高,差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.923, P = 0.026$ ,表 3)。

**表 3 患者血浆 EDA 片段多拷贝与乳腺癌复发转移结局比较 [n(%)]**

组别	EDA 多拷贝	
	检测到	未检测到
复发/转移组	16(41.0)	12(20.3)
无复发/转移组	23(59.0)	47(79.7)

P = 0.026

4. 血浆纤维连接蛋白 EDA 片段拷贝数变化在不同乳腺癌患者结局中的比较:随访患者 5 年,14 例患者从 EDA 片段多拷贝未检测到变为检测到,57.1% (8/14) 的患者结局为复发或转移;而在 EDA 片段多拷贝一直未检测到 45 例患者,仅 8.9% (4/45) 出现复发或转移,两组比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 15.345, P = 0.000$ ,表 4)。9 例患者从 EDA 片段多拷

贝变为未检测到,随访 5 年未发现复发或转移,EDA 片段呈持续多拷贝状态的 30 例患者,53.3% (16/30) 结局为复发或转移,两组比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 8.139, P = 0.004$ ,表 4)。

**表 4 乳腺癌患者血浆 EDA 片段拷贝数变化在不同结局中的比较 [n(%)]**

EDA 多拷贝	n	乳腺癌患者预后	
		复发/转移	无复发/转移
No→多拷贝	14	8(57.1)	6(42.9)
一直未检测到	45	4(8.9)*	41(91.1)
呈持续多拷贝	30	16(53.3)	14(46.7)
多拷贝→No	9	0(0)#	9(100.0)

与 No→多拷贝比较,\* P = 0.000;与呈持续多拷贝比较,# P = 0.004

### 讨 论

乳腺癌发生率呈逐年升高趋势,已成为女性发生率首位的恶性肿瘤<sup>[7]</sup>。复发转移是导致乳腺癌患者死亡的主要原因<sup>[8]</sup>。其中纤维连接蛋白 EDA 片段在肿瘤细胞的黏附、迁移、增殖以及肿瘤生长中扮演了重要角色。EDA 片段通过加强纤维连接蛋白与整合素的结合而促进肿瘤细胞的黏附和转移,通过增加平滑肌肌动蛋白的合成而增强肿瘤细胞自身的运动能力,还可通过 Ras - MAPK/ERK 途径增强细胞的 DNA 合成,促进细胞周期进展,导致细胞分裂增殖<sup>[9-11]</sup>。还有相关研究显示 EDA 片段可促进肿瘤淋巴管及血管的形成,从而促进肿瘤的转移<sup>[12,13]</sup>。这些都提示纤维连接蛋白 EDA 片段可以作为一个更好的检测指标来辅助诊断和预测乳腺癌转移。通过对 EDA 片段拷贝数检测,能较好地反映该基因片段功能,更好地反映其在肿瘤生长转移中的作用,因此笔者对不同预后的乳腺癌患者 EDA 片段拷贝数进行检测,有一定的临床意义。

EDA 片段序列高度保守,位于人类 2 号染色体外显子 5431 ~ 5701bp 处。EDA 片段在正常人血浆中含量很低或无法检测到,而在癌症患者的血液样本中 EDA + FN 含量可显著升高<sup>[14,15]</sup>。相关研究显示,结肠癌患者肿瘤组织与血清中的 EDA 水平明显增加<sup>[16]</sup>。因此笔者检测乳腺癌患者血浆中纤维连接蛋白 EDA 片段的拷贝数变化,结果在 39% 的乳腺癌患者血浆标本中检测到 EDA 片段多拷贝,显著高于仅有 2% 检测到 EDA 片段多拷贝的同期良性乳腺疾病患者,这也与现有的相关研究结果相一致。显示了血浆 EDA 片段拷贝数可以作为乳腺癌的一个更好辅助诊断检测指标。

外周血浆液体标本相对于组织标本,检测的损伤小,稳定性好,便于留取,同时可以多次留取进行动态观察<sup>[17]</sup>。因此本研究选择患者血浆标本进行研究。有关血浆中 EDA 片段拷贝数检测的研究鲜见,通过研究发现,在治疗前 39.8% 的患者中检测到 EDA 片段多拷贝,治疗后变为 18.4%,也就是乳腺癌患者外周血浆中纤维连接蛋白 EDA 片段多拷贝在治疗前后有明显降低,两组比较差异有统计学意义( $P = 0.001$ )。同时随访中,有 9 例患者从 EDA 片段多拷贝变为未检测到,随访 5 年未发现复发或转移,而 EDA 片段呈持续多拷贝状态患者,有 53.3% (16/30) 结局为复发或转移,两组比较差异有统计学意义( $P = 0.004$ )。这也显示了血浆 EDA 片段拷贝数可以作为一个乳腺癌治疗效果参考的检测指标。

相关研究发现,EDA 片段在肿瘤转移中扮演重要角色,在乳腺癌的发生、发展中,EDA 片段可通过 EMT 促进肿瘤细胞的黏附和迁移<sup>[18]</sup>。笔者通过研究发现,在治疗前检测到血浆 EDA 片段多拷贝,41% 的患者结局为复发或转移。而在 EDA 片段一直未检测到的患者中,仅 20.3% 出现复发或转移。肿瘤生长必需有血管为之提供氧及营养物质。研究发现,EDA 片段在肿瘤血管形成过程中有一定作用<sup>[19]</sup>。那么动态观察血浆 EDA 片段拷贝数,发现乳腺癌及随后的过程中 EDA 片段呈持续多拷贝状态的患者,53.3% 的患者结局为复发或转移。从 EDA 片段多拷贝未检测到变为检测到,57.1% 的患者出现复发或转移。结合相关研究,动态监测血浆 EDA 片段拷贝数,可以作为乳腺癌复发或转移的辅助预测指标,同时对复发风险高的患者的后续加强治疗提供参考价值<sup>[20]</sup>。

综上所述,通过对乳腺癌患者纤维连接蛋白 EDA 片段拷贝数检测,笔者发现外周血浆液体标本留取方便,可多次留取进行动态观察。外周血浆 EDA 片段多拷贝在乳腺癌患者中显著高于良性乳腺疾病患者,提示 EDA 拷贝数检测可以作为诊断乳腺癌的一个辅助诊断检测指标。动态监测发现,呈持续 EDA 多拷贝及从未检测到变为后期随访又检测到 EDA 多拷贝的患者,50% 的结局为复发或转移,显示了血浆 EDA 片段拷贝数检测可以作为预测患者预后的辅助检测指标,可以在今后的临床工作中提供一种无创的手段来进行乳腺癌的诊断与预后的评估。

#### 参考文献

1 Zhang WJ, Wang XH, Gao ST, *et al.* Tumor-associated macrophages correlate with phenomenon of epithelial-mesenchymal transition

- and contribute to poor prognosis in triple-negative breast cancer patients[J]. *J Surg Res*, 2018, 222(2):93-101
- 2 Zhou L, Wang M, Guo C, *et al.* Expression of pAkt is associated with a poor prognosis in Chinese women with invasive ductal breast cancer[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(4):4859-4866
- 3 张燕娜,周易冬,茅枫,等. 参照 TAILORx 标准的 21 基因复发风险评分与乳腺癌预后的相关性分析[J]. *中华普通外科杂志*, 2019, 34(9):771-775
- 4 焦得闯,朱久俊,乔江华,等. ER<sup>-</sup>/PR<sup>+</sup> 浸润性乳腺癌发病及分子特征研究[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2019, 26(19):1449-1454
- 5 Isaacs C, Stearns V, Hayes DF. New prognostic factors for breast cancer recurrence[J]. *Semi Oncol*, 2001, 28(1):53-67
- 6 Stewart CM, Kothari PD, Mouliere F, *et al.* The value of cell-free DNA for molecular pathology[J]. *J Pathol*, 2018, 244(5):616-627
- 7 李贺,郑荣寿,张思维,等. 2014 年中国女性乳腺癌发病与死亡分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2018, 40(3):166-171
- 8 Bai X, Ni J, Beretov J, *et al.* Cancer stem cell in breast cancer therapeutic resistance[J]. *Cancer Treat Rev*, 2018, 69(7):152-163
- 9 Kelsh-Lasher RM, Ambesi A, Bertram C, *et al.* Integrin  $\alpha 4 \beta 1$  and TLR4 cooperate to induce fibrotic gene expression in response to fibronectin's EDA domain[J]. *J Invest Dermatol*, 2017, 137(12):2505-2512
- 10 Szóstek M, Mioduchowska AZ, Lukasiak K, Skarzynski DJ, *et al.* Effect of transforming growth factor- $\beta 1$  on  $\alpha$ -smooth muscle actin and collagen expression in equine endometrial fibroblasts[J]. *Theriogenology*, 2018, 124(10):1249-1257
- 11 Jin YJ, Park I, Hong IK, *et al.* Fibronectin and vitronectin induce AP-1 mediated matrix metalloproteinase-9 expression through integrin  $\alpha 5 \beta 1 / \alpha V \beta 3$ -dependent Akt, ERK and JNK signaling pathways in human umbilical vein endothelial cells[J]. *Cell Signal*, 2011, 23(1):125-134
- 12 Ou J, Deng J, Wei X, *et al.* Fibronectin extra domain A (EDA) sustains CD133<sup>+</sup>/CD44<sup>+</sup> subpopulation of colorectal cancer cells[J]. *Stem Cell Res*, 2013, 11(2):820-833
- 13 Lisha X, Ganfeng X, Juanjuan O, *et al.* The Extra domain A of fibronectin increases VEGF-C expression in colorectal carcinoma involving the PI<sub>3</sub>K/AKT signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4):e35378
- 14 Warawdekar UM, Zingde SM, Iyer KS, *et al.* Elevated levels and fragmented nature of cellular fibronectin in the plasma of gastrointestinal and head and neck cancer patients[J]. *Clin Chim Acta*, 2006, 372(1-2):83-93
- 15 Pupek M, Krzyzanowska-Golab D, Kotschy D, *et al.* Time-dependent changes in extra-domain A-fibronectin concentration and relative amounts of fibronectin-fibrin complexes in plasma of patients with peripheral arterial disease after endovascular revascularisation[J]. *Int Wound J*, 2018, 15(4):649-659
- 16 Ou JJ, Wu F, Liang HJ. Colorectal tumor derived fibronectin alternatively spliced EDA domain exerts lymphangiogenic effect on human lymphatic endothelial cells[J]. *Cancer Biol Ther*, 2010, 9(3):186-191

基因突变患者 CI 效果较明确,其他耳聋基因突变患者 CI 效果尚需进一步研究<sup>[16,17]</sup>。新生儿出生后听力筛查与常见耳聋基因筛查相结合,也可以为重度、极重度遗传性耳聋患儿是否需进行人工耳蜗植提供评估依据。

目前发现的耳聋基因近 300 种,虽然扩大筛查的基因及变异位点,能提高检出率,但纳入更多位点也可能会出现一些变异临床意义解释不清的情况。此外扩大筛查范围势必增加检测成本,对一些极其罕见的耳聋基因变异进行筛查不符合卫生经济学,故目前在国内仍以开展常见的耳聋基因筛查为主,对听力缺失患儿,若常见耳聋基因检测阴性,再扩大后续的检测,减少漏诊<sup>[18]</sup>。

综上所述,本研究通过分析 1000 例杭州地区新生儿群体中耳聋基因的携带特点及联合新生儿听力筛查结果,初步建成杭州地区新生儿耳聋基因突变率信息储备库。在成熟的新生儿听力筛查的基础上,融入耳聋基因热点突变位点的筛查,可以从分子水平上早期发现和诊断先天性遗传性耳聋,对迟发性耳聋进入早期日常听力保健和安全用药指导,减少听力障碍儿童的出生,为儿童听力保健提供一种新的模式。

#### 参考文献

- 郭雅琪,何学虎,张玉英,等. NICU 新生儿听力筛查联合遗传性耳聋基因检测的结果分析[J]. 中国妇幼保健,2017,32(21):5382-5385
- 张小娥,陈娟. NICU 新生儿听力筛查联合遗传性耳聋基因检测的结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2018,26(11):83-85
- Bing H, Qian LI, Liang Z, *et al.* An clinical research on newborn hearing concurrent genetic screening in 106,513 neonates[J]. Chinese Journal of Otolaryngology, 2013, 11(3):380-383
- Fu Y, Zha S, Lü N, *et al.* Carrier frequencies of hearing loss variants in newborns of China: a Meta-analysis[J]. J Evid Based Med, 2019, 12(1):40-50
- 余红,杨晶群,刘丹,等. 8187 名新生儿听力与常见耳聋基因联合

筛查研究[J]. 中华全科医师杂志,2018,17(2):139-142

- Pandya A, Arnos KS, Xia XJ, *et al.* Frequency and distribution of GJB2 (connexin 26) and GJB3 (connexin 30) mutations in a large North American repository of deaf probands[J]. Genet Med, 2003, 5(4):295-303
- Liu QM, Tian Y, Yu JJ, *et al.* Hearing assessment and follow-up study of neonatal deafness gene screening homozygous mutation infants[J]. Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi,2019, 33(11):1089-1092
- Dai P, Li Q, Huang D, *et al.* SLC26A4 c.919-2A>G varies among Chinese ethnic groups as a cause of hearing loss[J]. Genet Med, 2008, 10(8):586-592
- Zhao XL, Huang LH, Wang XY, *et al.* Analysis of genotypes and audiological characteristics of children with SLC26A4 gene pathogenic mutations[J]. J Clin Otorhinolaryngol Head Neck Surg, 2018, 32(11):836-840
- Lanvers-Kaminsky C, Ciarimboli G. Pharmacogenetics of drug-induced ototoxicity caused by aminoglycosides and cisplatin[J]. Pharmacogenomics, 2017, 18(18):1683-1695
- Higashi K. Unique inheritance of streptomycin-induced deafness[J]. Clin Genet, 1989, 35(6):433-436
- Fischel-Ghodsian N. Genetic factors in aminoglycoside toxicity[J]. Pharmacogenomics, 2005, 6(1):27-36
- Ding Y, Leng J, Fan F, *et al.* The role of mitochondrial DNA mutations in hearing loss[J]. Biochem Genet, 2013, 51(7-8):588-602
- Prezant TR, Agopian JV, Bohlman MC, *et al.* Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness[J]. Nat Genet, 1993, 4(3):289-294
- 刘玉和,袁慧军. 遗传性耳聋的基因诊断与遗传咨询[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2013,48(12):1051-1056
- 兰莉,叶清,杨可婕,等. 贵州省人工耳蜗植入患儿的常见耳聋基因突变位点分析[J]. 中华耳科学杂志, 2019,17(4):552-557
- 苏钰,戴朴. 耳聋基因诊断在人工耳蜗植入中的应用[J]. 中华耳科学杂志, 2018,16(6):57-62
- 袁永一,戴朴. 遗传性耳聋规范化筛查与诊断的探讨[J]. 中华耳科学杂志,2019,17(5):611-615

(收稿日期:2020-02-28)

(修回日期:2020-03-13)

(上接第 100 页)

- IJzerman MJ, Berghuis AMS, de Bono JS, *et al.* Health economic impact of liquid biopsies in cancer management[J]. Expert Review of Pharmacoeconomics Outcomes Res, 2018, 18(6):593-599
- Lv WQ, Wang HC, Peng J, *et al.* Gene editing of the extra domain A positive fibronectin in various tumors, amplified the effects of CRISPR/Cas system on the inhibition of tumor progression[J]. Oncotarget, 2017,8(62):105020-105036

- Guyot M, Hilmi C, Ambrosetti D, *et al.* Targeting the pro-angiogenic forms of VEGF or inhibiting their expression as anti-cancer strategies[J]. Oncotarget, 2016, 8(12):9174-9188

- Albini A. Extracellular matrix invasion in metastases and angiogenesis: commentary on the matrigel "chemoinvasion assay"[J]. Cancer Res,2016,76(8):4595-4597

(收稿日期:2020-02-19)

(修回日期:2020-03-10)