

·综述·

小儿神经母细胞瘤 N-myc 基因检测及临床意义

胡 超 综述 杨体泉 审校

神经母细胞瘤 (neuroblastoma, NB) 是常见的好发于幼儿期的交感或副交感神经节的异质性恶性实体肿瘤, 占幼儿恶性肿瘤的 8%~10%, 其发病率为 0.3~5.5/10 万, 仅低于白血病和中枢神经系统肿瘤^[1]。60% 的病例为 2 岁以下, 96% 的病例发生在 10 岁以前^[2]。目前研究认为, NB 分化是一个多种基因参与的复杂过程, 细胞形态分化中许多癌基因的表达调控发生相应的改变^[3]。许多研究证实, N-myc 基因扩增和过度表达与 NB 的浸润、转移和不良预后密切相关。N-myc 基因扩增每单倍基因组 > 10 个拷贝被认为是 NB 预后不良的标志, N-myc 基因扩增的分析为评估 NB 临床进展和肿瘤治疗方案的选择提供分子生物学信息^[4-7]。因而早期行肿瘤组织活检进行原癌 N-myc 基因检测, 不仅对估计 NB 预后和指导治疗具有重要意义, 而且有助于进一步探讨 N-myc 基因调节机制和 N-myc 基因在临床治疗中的作用。本文就 N-myc 基因检测方法及其扩增的临床意义综述如下。

一、N-myc 基因检测的方法

1. 荧光原位杂交 (FISH) 技术将病理组织按常规技术处理, 取 4 μm 厚切片于 APEC 防脱片上, 装入铁染色框 60℃ 放置 24 h, 二甲苯梯度脱蜡, 酒精梯度水化。将玻片放入高压锅加 1 000 ml 蒸馏水加热至沸腾, 冷却后放入立式缸中, 倒入配好的胃蛋白酶消化液 50 ml, 加盖放入 37℃ 温箱内 25 min, 倒去消化液, 用蒸馏水冲洗 3 次, 取出玻片, 酒精梯度脱水后晾干, 用玻璃笔在玻片背面画出杂交区域, 在每个杂交区域用微量移液器加 0.5 μl 探针后盖上盖玻片, 软胶封闭后置于不锈钢温盒内, 然后连不锈钢温盒一起放入 80℃ 水浴箱内 25 min。水浴结束后将玻片放入不锈钢温盒内, 再将温盒放入 45℃ 温箱孵育 2 d, 取出玻片用镊子将封胶及玻片一起撕去, 梯度洗脱液 3 缸, 去除非特异性背景, 剩余杂交探针, 滴

加甘油盖玻片后即可在荧光显微镜上观察。根据荧光信号的量来确定 N-myc 基因是否扩增 (有些步骤可根据情况适当变化)。

2. Southern 印迹杂交检测 N-myc 基因室温下将电泳后的琼脂糖凝胶 (上有经限制性内切酶消化的肿瘤细胞 DNA 片段) 浸入 500 ml 溶液 A (溶液 A: 5M NaCl 300 ml, 10M NaOH 50 ml, H_2O 650 ml) 中, 摇动 30 min 后, 换 500 ml 新鲜溶液 A 再摇 30 min, 使 DNA 双链碱基变性。为使凝胶重新回到中性, 换入溶液 B (溶液 B: 10M 乙酸铵 200 ml, 10M NaOH 4 ml, H_2O 1796.1 ml) 中重复上述过程。于料盒或盘中放一玻璃板支架, 倒入 10 \times SSC, 将 Whatman 3 MM 滤纸放在玻璃板上, 两头浸在液体中, 用玻棒赶除气泡。小心地将琼脂糖凝胶翻过 (扣过来) 滑到纸上, 放平, 赶除气泡。将预先浸于溶液 B 中的 NC 膜 (硝酸纤维素薄膜) 平铺在胶上, 用玻棒赶除气泡。在膜上放置两层预先以 10 \times SSC 浸湿的 Whatman 3 MM 滤纸。再放 6 张干燥吸水纸及 4 堆 3 cm 厚的折叠吸水纸。在纸上覆盖玻璃平板, 板上可置约 250 g 重物, 下部缓冲液根据虹吸原理能被吸上来, 凝胶上的单链 DNA 即可被吸出并转移到 NC 膜上。转移 (24 h) 完成后, 将胶与膜取出, 通过样品槽标明记号, 并剪去膜的一角, 以识别方向, 此时膜与胶正面观察的方向是一致的。去掉胶, 令膜稍加干燥, 用圆珠笔标号。用 3 MM 滤膜包好, 80℃ 烘烤 2 h。即可用于分子杂交。将膜在 6 \times SSC 中浸泡几分钟, 放入塑料袋, 按 0.2 ml / cm^2 膜面积加入预杂交液, 排净气泡封闭袋口, 在 68℃ 水浴中振动预杂交 2~4 h。取出塑料袋, 在一角切一缺口, 倒出预杂交液, 按 50 μl / cm^2 膜面积加入杂交液, 排净气泡、封口, 再于 68℃ 水浴中振动杂交, 杂交 12~16 h。杂交结束后取出塑料袋, 剪开边缘, 迅速将膜转到 2 \times SSC 和 0.5% EDTA 溶液中室温下洗涤 (振荡) 5 min, 再将膜转移入 2 \times SSC 和 0.1% SDS 溶液中洗涤 15 min, 然后将膜浸入 0.1 倍 SSC 和 0.5% SDS 溶液中 68℃ 振荡洗涤 2 h, 换同样溶液再洗涤 30 min。取出滤膜

作者单位: 广西医科大学第一附属医院小儿外科 (南宁, 530021)。

在 Whatman 滤纸上晾干,放入塑料袋或用塑料纸包好,在暗室中将 X 光片与滤膜接触,封于曝光夹中,进行放射自显影 1~15 d。将 X 光片取出,常规显影后观察杂交情况。

3、差示聚合酶链反应(D-PCR)及倍比稀释法检测并定量 N-myc 基因的扩增倍数^[8] ①DNA 的提取:取适量的标本,经二甲苯脱蜡,无水乙醇洗涤后,蛋白酶 K 消化,酚-氯仿抽提肿瘤组织 DNA。②D-PCR 反应:PCR 引物是一种通用引物,上游序列为 5'-CCCAGCGCAGGC (T/C)ATCTGGAAGAA-3',下游序列为 5'-GAGAACCGCTCCACAT(A/C)CA'TC-3',能同时扩增 myc 基因家族的 4 个不同基因 C-myc (284 bp)、N-myc (230 bp)、L-myc (227 bp)、未知 myc 基因(大约 210 bp)。因 N-myc 与 L-myc 相差太小不能由电泳分开,显示为一条带。PCR 循环是指在 20 ul 最佳反应体系中进行 30 次循环。检测 PCR 产物,取 PCR 扩增后产物 10 ul,8%聚丙烯酰胺电泳检测,在 0.5 ug/ml 溴化乙锭染色 10~20 min,可见 3 条电泳带(C-myc、N-myc 及 L-myc)及对照 myc 基因。③产物定量 定量方法:未知的 myc 基因(单拷贝)作为内参照基因(control gene)来检测 N-myc 扩增情况,由于 L-myc 是不扩增的,故可以用 N-myc/control 比值用以代表 N-myc 基因的扩增情况。PCR 反应产物用 gel-doc 紫外凝胶成像分析系统(Quantity one 4.2.3 分析软件)进行分析,计算出各标本的 N-myc/control 比值。由比值推算 N-myc 基因的扩增倍数,根据倍比递增的方法,用 N-myc 探针人为地使 PCR 模板 DNA 成为 $2 \times 4 \times 6 \times 8 \times \dots$ N-myc 扩增倍数,得出与之相关的 N-myc/control 比值,根据 N-myc/control 比值与 N-myc 扩增倍数的直线方程,得到 N-myc 扩增倍数^[9]。

以上 3 种检测方法都能准确的检测 N-myc 基因的扩增情况,Taylor^[10]等通过实验证明,FISH 是一种简便、快速、易获得复制产物的有效方法。本法仅需少量组织标本就可获得可靠的临床相关结果,可应用于培养间期细胞、组织石蜡切片和冰冻切片,不需提纯核酸,避免因稀释和丢失造成的假阴性结果,不破坏靶细胞,精细定位靶 DNA,了解癌基因的具体定位、表达水平及其同癌细胞分化、转移之间的关系,可通过增加探针数来提高敏感性和特异性。但由于价格昂贵,目前尚不能广泛推广。Southern 印迹杂交通过特异的 N-myc 探针,能快速、灵敏地在中期和间期细胞核中检出单拷贝 DNA 序列,并能精确地给基因定位,它虽能准确测定 MYCN 基因扩增的倍

数,但此方法操作步骤多,操作技能要求严格,所需待测组织用量大,常有同位素污染,衰变,价格昂贵,且无法证明目的基因是否表达^[11]。D-PCR 法是检测 N-myc 基因扩增的一个快速、灵敏、经济、有效的方法,同时与倍比稀释法联合应用能相对准确地定量 N-myc 基因扩增的倍数,适合临床推广^[12]。

二、N-myc 基因扩增的临床意义

神经母细胞瘤多发于肾上腺,其次为腹膜后、纵隔、盆腔及颈部等交感神经节细胞分布的部位。肿瘤呈浸润性生长,转移发生较早,由于原发部位及转移部位不同,肿瘤组织分化程度不一,临床表现多种多样。虽然近 20 年来在治疗上有了很大的进展,特别是在多学科基础上制定了合理的治疗方案,手术、化疗、放疗及支持治疗相配合,生存率大大提高^[13],<1 岁的 I、II、III、IVs 期患儿 4 年生存率为 98.5%,<1 岁的 IV 期患儿 4 年生存率为 73.1%。但大年龄、晚期患儿的预后仍较差,5 年生存率不足 30%。

N-myc 基因是近年来发现的定位与 2 号染色体短臂远端的细胞核原癌基因,正常表达于不成熟的神经系统和少数其它组织^[14],具有核内转录因子的功能,编码的基因产物影响 DNA 复制的启动过程,调节细胞生长、增殖与分化。正常情况下,每条染色体上只含有单个拷贝的 N-myc 基因,在细胞的生长过程起着重要的调节作用;而当 N-myc 基因扩增,拷贝数增多时,将会导致肿瘤细胞的恶性增殖。有学者研究报道只在肾上腺和腹膜后的 NB 中发现有 N-myc 基因的扩增^[15],具体的生物学机制不明,但有研究表明,肾上腺 NB 和腹膜后 NB 的预后不良^[16]。关于 N-myc 基因影响 NB 预后的机制尚不清楚,Chambery^[17]研究表明,N-myc 基因的扩增可增加 NB 细胞胰岛素样因子受体表达,促进 NB 细胞增殖。Fotsis^[18]发现 N-myc 基因的扩增可通过下调内皮细胞生长抑制因子而增加肿瘤血管形成,进而促进肿瘤生长与播散。有学者认为,NB 有 2 种生物学特征,预后良好型具有先天性,发病早,1P 染色体正常,三倍体核型,N-myc 基因扩增阴性,伴有儿茶酚胺合成、分泌成熟等特点;相反,预后不良型则发病晚,假二倍体核型,N-myc 基因扩增阳性,儿茶酚胺合成、分泌不成熟等^[19]。NB 的恶性生物学行为是由其分子生物学特性所决定的,对其分子生物学标记物的进一步研究将有助于阐明机制,从而形成一套系统合理的诊断、预后判断、指导治疗的方案,必将为 NB 的治疗提供新的依据和手段。

N-myc 基因的扩增在 NB 的进展期起着重要的

作用,然而无 N-myc 基因扩增的 NB 并非都有好的预后。国外有报道^[20]年龄、原发部位、病理分型、NDA 倍体的多少等对 NB 预后都有影响,N-myc 基因扩增不是预示 NB 恶性的唯一特征,在 III、IV 期的 NB 中,主要是未分化的 NB 与 DNA 倍体多少无特殊关系。Nabil Hailat^[21]等报道在进展期的 NB 和有 N-myc 基因扩增的 NB 必伴随 p 19 / nm 23 (胚胎瘤细胞系/转移抑制基因)蛋白质的高水平表达,而 p 19 / nm 23 蛋白质的高水平表达与 NB 的浸润、转移和预后密切相关。有研究证实,DD × 1、NAG、N-cym 3 个基因常伴随 N-myc 基因一起扩增,并且这些已知基因的蛋白质产物的性质可能对肿瘤的生物行为起作用^[22]。也有研究显示,N-myc mRNA 和 N-myc 蛋白的过度表达也与 NB 的不良预后有关^[23]。然而在非 N-myc 基因扩增肿瘤中,N-myc 蛋白高表达的临床意义尚存有争议。N-myc 基因扩增往往发现于晚期 NB 患儿,且扩增倍数越高,其预后越差。

致癌基因 N-myc 的扩增与 NB 预后不良有密切关系,扩增的基因中包含额外的基因并影响肿瘤的表现型,癌基因的扩增有助于预后最佳方案的选择,并为治疗提供了新的目标^[24]。国内有研究证实^[12],N-myc 基因扩增在低分化期(I、II、IVs 期)与高分化期(III、IV 期)NB 中出现的频率差异有显著性,患儿的 2 年生存率随着 N-myc 基因扩增而下降,与国外报道结果一致。因此我们可以推测 N-myc 基因扩增与 NB 临床高分化期及预后差明显相关。并且 N-myc 基因扩增是肿瘤本身所特有的,不受外界因素的干扰,从而能更准确、更独立地判断预后。

许多学者主张,应根据不同的 N-myc 基因扩增情况选择不同的治疗方案^[24]:有 N-myc 基因扩增的高分化期患儿需采用多种方法联合治疗,例如手术切除瘤体与术前、术后化疗相结合;另一方面,对没有 N-myc 基因扩增的高分化期患儿,临床上采取低强度的治疗方案,减少患儿对化疗不必要的损害;未发生转移的低分化期 NB 出现 N-myc 基因扩增的几率很小,治疗方案的强度对其预后的影响不完全清楚。胡惠丽等^[12]的研究也表明,有 N-myc 基因扩增的高分化期患儿,经过术前化疗的病例,尤其是化疗显效的病例,其 N-myc 基因扩增倍数明显低于未进行术前化疗或术前化疗无效的病例。Kaneko 等^[25]报道,高强度的化疗加移植造血干细胞,使 IV 期有 N-myc 基因扩增和无 N-myc 基因扩增的 NB 患儿生存率在统计学上无显著差异($P > 0.05$)。故高强度化疗可以改善有 N-myc 基因扩增的 NB 高危病人

的预后。我国神经母细胞瘤诊断时大部分是 III 期、IV 期患者,治疗上采用 II 期手术、大剂量化疗以及骨髓移植等,使 25% 的患者无病生存超过 48 个月^[26]。有学者提出,应当把 N-myc 基因扩增等检查应用于临床,明确肿瘤的恶性程度,调整化疗力度,利用粒细胞集落因子、骨髓移植、末梢血干细胞移植^[28]等辅助手段提高神经母细胞瘤的治疗水平^[29]。有学者曾尝试应用反义核酸技术对 N-myc 基因抑制,但效果仅 30% 左右^[30]。冯晨等^[31]研究表明,化学合成的 siRNA 可以有效抑制神经母细胞瘤 N-myc 基因的表达,但对于 N-myc 基因蛋白的抑制效率以及对肿瘤细胞增殖的影响值得我们进一步探讨,从基因角度治疗 NB 必将成为治疗 NB 的一个崭新的途径和研究的热点。

因此,我们推测,N-myc 基因扩增情况对选择合适的治疗方案有帮助,根据治疗前后的 N-myc 基因扩增情况是否有助于判断治疗有效,还有待于进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Izbiicki T, Mazur J, Izbiicka E, et al. Epidemiology of neuroblastoma: analysis of a single institution [J]. *Anticancer Res*, 2003, 23(2): 1933-1938.
- 2 Grorås A, Fremgen A, Rauck A, et al. The National Cancer Data Base report on patterns of childhood cancers in United states [J]. *Cancer*, 1997, 80(12): 2321-2332.
- 3 Smith EL, Castleberry RP, et al. Neuroblastoma. *Curt Prog Surg*, 1990, (27): 575-620.
- 4 Seeger RC, Brodeur GM, Sather H, et al. Association of multiple copies of the N-myc oncogene with rapid progression of neuroblastoma [J]. *N Engl J Med*, 1985, 313(18): 1111-1129.
- 5 Schwab M, et al. Amplification of N-myc as a prognostic marker for patients with neuroblastoma [J]. *Semin Cancer Biol*, 1993, 4(1): 13-14.
- 6 Iwafuchi M, Utsumi J, Tsuchida Y, et al. Evaluation of patients with NB surviving more than 5 years after initiation of an intensive protocol: a report from the study group of Japan for treatment of advanced neuroblastoma [J]. *Med Pediatr Oncol*, 1996, 27(6): 515-521.
- 7 Maris JM, Matthay KM, et al. Molecular biology of neuroblastoma [J]. *J Clin Oncol*, 1999, 17(7): 2264-2271.
- 8 张锦华, 杨朝晖, 等. 用差示聚合酶链式反应检测骨髓转移的神经母细胞瘤 N-myc 扩增 [J]. *中国小儿血液*, 1996, 1(6): 279-281.

- 9 Dotsch J, Hammjan A. Gene expression of neuronal nitric oxide synthase and adrenomedullin in human neuroblastoma using real-time PCR [J]. *Int J Cancer*, 2000, 88(2): 172-175.
- 10 Taylor CPF, Bown NP. Fluorescence in situ hybridization techniques for the rapid detection of genetic prognostic factors in neuroblastoma [J]. *Br J Cancer*, 2000, 83 (1): 40-49.
- 11 胡惠丽, 何乐健. 神经母细胞瘤相关预后因素的研究现状 [J]. *医学综述*, 2003, 9(9): 549-551.
- 12 胡惠丽, 何乐健. 神经母细胞瘤 N-myc 基因扩增和 CD44 的表达 [J]. *中华病理学杂志*, 2004, 33(4): 332-336.
- 13 Kushuer BH, Kramer K, Modak S, et al. Camptothecin analogs (irinotecan or topotecan) plus high-dose cyclophosphamide as preparative regimens for antibody-based immunotherapy in resistant neuroblastoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10: 84-87.
- 14 Maris JM, Matthay KK. Molecular Biology of Neuroblastoma [J]. *J Clin Oncol*, 1999, 17(7): 2264-2279.
- 15 Nakaga Wara A, I Kedak, Tsuda T, Higashik, Okabe T [J]. *J Pediatr surg*, 1987, 22: 415-418.
- 16 Evans AE, Albo VD, Angio GJ, et al. Factors influencing survival of children with nonmetastatic neuroblastoma [J]. *Cancer*, 1976, 38: 661-666.
- 17 Chambery D, Mohseni ZS, De GB, et al. N-myc regulation of type I insulin-like receptor in a human neuroblastoma cell line [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(12): 2898-2910.
- 18 Fotsis T, Breits, Lutz W, et al. Down-regulation of endothelial cell growth inhibitors by enhanced N-myc oncogene expression in human neuroblastoma cell [J]. *Eur J Biochem*, 1999, 26(3): 757-760.
- 19 Hata T, Uchino, I Sasak F, et al. Kidney-preserving radical tumor resection in advanced neuroblastoma [J]. *J pediatr surg*, 1989(24): 382-384.
- 20 B.R. Oppedal, O Qien, T. Johnsen, et al. N-myc amplification in neuroblastomas: Histopathological, DNA ploidy, and clinical variables [J]. *J Clin Pathol*, 1989, 42: 1148-1152.
- 21 Nabil Hailat, David R, Keim, et al. High level of p19/nm23 protein in neuroblastoma are associated with advanced stage disease and with N-myc gene amplification [J]. *J. Clin Invest*, 1991, 88: 341-345.
- 22 Scott D. Elsdon J, Pearson A, et al. Genes co-amplified with N-myc in neuroblastoma: Silent passenger or co-determinants of phenotype? [J]. *Cancer Lett*, 2003, Jul 18: 197: 81-86.
- 23 Hiyama E, Hiyama K, Yokoyama T, et al. Immunohistochemical analysis of N-myc protein expression in neuroblastoma: correlation with prognosis of patients [J]. *J Pediatr Surg*, 1991, 26 (7) : 838-845.
- 24 Kramer K, Cheung NK, Gerald W L, et al. Correlation of MYCN amplification, Trk-A and CD44 expression with clinical stage in 250 patients with neuroblastoma [J]. *Eur J Cancer*, 1997, 33: 2098-2100.
- 25 Kaneko M, Tsuchido Y, Mugishima H, et al. Intensified chemotherapy increases the survival rates in patients with stage 4 neuroblastoma with N-myc amplification [J]. *J pediatr Hematol oncol*, 2002, 24(8): 613-621.
- 26 汤静燕, 王耀平, 金惠明, 等. 进展神经母细胞瘤 35 例治疗长期随访 [J]. *中华小儿外科杂志*, 1997(35): 385-386.
- 27 高解春, 毕润力, 钱抱平, 等. 术前化疗治疗神经母细胞瘤的疗效随访及影响因素 [J]. *中华小儿外科杂志*, 1998(36): 268-269.
- 28 高上详. 末梢血干细胞移植术 [J]. *小儿外科*, 1995(27): 1174-1177.
- 29 龚振华, 川村健儿, 栗山裕. 神经母细胞瘤的综合治疗 [J]. *临床小儿外科杂志*, 2005, 4(2): 84-87.
- 30 Galderisi U, Bernardo GD, Cipollaro M, et al. Differentiation and apoptosis of neuroblastoma cells: role of N-myc gene product [J]. *J Cell Biochem*, 1999, 73: 97-105.
- 31 冯晨, 唐锁勤, 张晓飞, 等. RNA 干扰抑制神经母细胞瘤 N-myc 基因的初步研究 [J]. *临床小儿外科杂志*, 2006, 4 (2): 95-100.

• 更正 •

本刊 2007 年 6 月第 6 卷第 3 期第 42 页《三房心 1 例》作者单位为云南省昆明市儿童医院外二科(邮政编码: 650034), 第 19 页论著《用硅胶袋修复巨型脐膨出与腹裂 13 例报告》为《用硅胶袋修复巨型脐膨出与腹裂 11 例报告》, 特此更正。

作者: 胡超, 杨体泉
作者单位: 广西医科大学第一附属医院小儿外科, 南宁, 530021
刊名: 临床小儿外科杂志 **ISTIC**
英文刊名: JOURNAL OF CLINICAL PEDIATRIC SURGERY
年, 卷(期): 2007, 6(4)
被引用次数: 0次

参考文献(31条)

1. Maris JM;Matthay KM Molecular biology of neuroblastoma 1999(07)
2. Iwafuchi M;Utsumi J;Tsuchida Y Evaluation of patients with NB surviving mor than 5 years after initiattinn of an intensive protocol:a report from the study group of Japan for treatment of advanced nerroblastoma 1996(06)
3. Dotsch J;Harmjanz A Gene expression of neuronal nitric oxide synthase and adrenomedullin in human neumblastoma using real-time PCR 2000(02)
4. 张锦华;扬朝晖 用差示聚合酶链式反应检测骨髓转移的神经母细胞瘤N-myc扩增 1996(06)
5. Izbicki T;Mazur J;Izbicka E Epidemiology of neuroblastoma:analysis of a single institution 2003(02)
6. Kramer K;Cheung NK;Gerald W L Correlation of MYCN amplification.Trk-A and CD44 expression with clinical stage in 250 patients with neuroblastoma 1997
7. Hiyama E;Hiyama K;Yokoyama T Immunohistochemical analysis of N-myc protein exprssion in neuroblastoma:correlation with prognosis of patients 1991(07)
8. Scott D;Elsden J;Pearson A Genes co-amplified with N-myc in neuroblastoma:Silent passenger or codeterminants of phenotype? 2003
9. Nabil Hailat;David R Keim High level of p19/nm23 protein in nuroblastoma are associated with advanced stage disease and with N-myc gene amplification 1991
10. B R Oppedal;O Qien;T Johnsen N-myc amplification in neuroblastomas:His hopathological,DNA ploily,and clinical variables 1989
11. Hata T;Uchino I;Sasak F Kidney-preseiving radical tumor resction in advanced neuroblastma 1989(24)
12. 胡惠丽;何乐健 神经母细胞瘤相关预后因素的研究现状[期刊论文]-医学综述 2003(09)
13. Taylor CPF;Bown NP Fluorescence in situ hybridization techniques for the rapid detection of genetic prognostic factors in neuroblastoma 2000(01)
14. Shwab M Amplification of N-myc as a prognostic marker for patiemtns with neuroblastoma 1993(01)
15. Seeger RC;Brodeur GM;Sather H Association of multiple copies of the N-myc oncogene with rapid progression of neuroblastoma 1985(18)
16. Smith EL;CastleberryRP Neuroblastoma 1990(27)
17. Groras A;Fremgen A;Rauck A The National Cancer Data Base report on patterns of chindhood cancers in Vnited states 1997(12)
18. 冯晨;唐锁勤;张晓飞 RNA干扰抑制神经母细胞瘤N-myc基因的初步研究[期刊论文]-临床小儿外科杂志 2006(02)

19. [Galderisi U;Bernardo GD;Cipollaro M Differentiation and apoptosis of neuroblastoma cells:role of N-myc gene product 1999](#)
20. [龚振华;川村健儿;栗山裕 神经母细胞瘤的综合治疗\[期刊论文\]-临床小儿外科杂志 2005\(02\)](#)
21. [高上详一 末梢血干细胞移植术 1995\(27\)](#)
22. [高解春;毕润力;钱抱平 术前化疗治疗神经母细胞瘤的疗效随访及影响因素 1998\(36\)](#)
23. [汤静燕;王耀平;金惠明 进展神经母细胞瘤35例治疗长期随访 1997\(35\)](#)
24. [Kaneko M;Tsuchido Y;Mugishima H Intensified chemotherapy increases the survival rats in patients with stage 4 neuroblastoma with N-myc amplication 2002\(08\)](#)
25. [Fotsis T;Breits;Lutz W Donw-regulation of endothelial cell growth inhibitors by enhanced N-myc oncogene expression in human neuroblastoma cell 1999\(03\)](#)
26. [Chambery D;Mohseni ZS;De GB N-myc regulation of type I insulin-like receptorin a human neuroblastoma cell line 1999\(12\)](#)
27. [Evans AE;Albo VD;Angio GJ Factors influencing survival of children with nonmetastitic neuroblastoma 1976](#)
28. [Nakaga Wara A;I Kedak;Tsuda T Higashik;Okabe T 查看详情 1987](#)
29. [Maris JM;Matthay KK Molecular Biology of Neuroblastoma 1999\(07\)](#)
30. [Kushuer BH;Kramer K;Modak S Camptothecin analoys \(irinotecan or topotecan\) plus high -does cychophosphamide as preparative regimens for antibodybased immunotherapy in resistant neuroblastoma 2004](#)
31. [胡慧丽;何乐键 神经母细胞瘤N-myc基因扩增和CD44的表达\[期刊论文\]-中华病理学杂志 2004\(04\)](#)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_lcxewkzz200704020.aspx

授权使用: 黔南民族师范学院(gnnzsfxy), 授权号: 6d9849d8-ce21-40aa-a260-9ed40116f4c4

下载时间: 2011年4月29日