

恶性肿瘤药物敏感性试验方法及其临床应用研究进展

陈娟^{1*},程国华^{2#},陈历排¹,汪小乐¹(1.广州医学院附属肿瘤医院,广州510095;2.暨南大学药学院,广州510632)

中图分类号 R979.7 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)25-2394-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.25.33

摘要 目的:综述恶性肿瘤药物敏感性试验方法及其临床应用进展。方法:查阅1993—2012年的中外文相关文献,总结体外、体内药物敏感性试验方法优缺点及分子生物学在药物敏感性试验中的应用情况。结果与结论:体外试验方法有四甲基偶氮唑盐比色法,该法操作简便,无需特殊设备,成本低廉,但不能区分正常细胞与肿瘤细胞,需要被溶解后才能被检测;端粒酶活性法,该法不受细胞数量的限制,灵敏度高,可区分正常细胞和肿瘤细胞,特异性更强,但缺乏大量临床验证,需要进一步探究;三磷酸腺苷生物荧光法,该法灵敏度高,所需细胞数量少,结果稳定,重复性好,但该方法只能检测活细胞,不能区分正常细胞和肿瘤细胞,且需要荧光检测,成本相对较高。体内试验方法有裸鼠模型法,该法饲养价格昂贵,多用于新药测试;肾包膜下移植法,该法操作复杂,饲养成本高,临床应用受限制;分子生物学检测方法,其具有高通量、快速、可靠、重复性好的优势,但费用昂贵,预计还是有良好的发展前景。

关键词 恶性肿瘤;药物敏感性试验;抗癌药物;研究进展

恶性肿瘤是威胁人类健康的常见病和多发病,其病死率极高。由于肿瘤的异质性,不同类型肿瘤对抗癌药物的敏感性不同,即使是同一类型的肿瘤,由于患者遗传背景不同,对抗癌药物的敏感性也不尽相同。而临床上大多凭经验用药,同一化疗方案固定不变的应用于许多患者,忽视个体差异,总体疗效不佳。因此,临床用药前或治疗中进行肿瘤药物敏感性试验,根据试验结果选择敏感药物对患者进行个体化治疗,可以避免经验用药的盲目性,提高治疗效果而减少毒副作用。目前,肿瘤药物敏感性试验方法主要分为体外法和体内

法,此外,还有针对分子靶向药物的检测。笔者查阅1993—2012年的中外文相关文献,将常用的肿瘤药物敏感性试验方法及其临床应用研究进展综述如下。

1 体外检测法

1.1 四甲基偶氮唑盐比色法(Methylthiazolyl tetrazolium assay)

传统3-(4,5-二甲基-2-噁唑)-2,5-二苯基溴化四氮唑噻唑蓝(MTT)法的基本原理为活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶可以将黄色MTT还原成不溶性蓝紫色甲臞结晶,加入盐酸异丙

为本次试验的检测柱。

(3)盐酸文拉法辛在水、稀盐酸中易溶,在乙醇、氯仿中溶解,在乙醚中不溶。前期试验选择用水作为溶剂,发现正己烷、环己烷、丙酮、乙醚、甲苯等极性较小的物质在水中的溶解度较小,甚至会有明显析出,无法保证对照品溶液的稳定性以及试验结果的准确可靠。而完全使用DMF作为溶解介质,则会使被检测的残留溶剂的检测灵敏度大大降低。因此选择能够兼顾样品溶解以及被测残留溶剂检测灵敏度的50%DMF溶液作为溶解介质,既保证了样品的完全溶解,又能保证被测组分的检测灵敏度,而且未见干扰。

参考文献

- [1] 李焕德,彭文兴.抑郁症药物治疗新进展[J].国外医学精神病学分册,1997,24(2):129.
- [2] 潘志斌,李易平.4种抗抑郁药的经济评价[J].中国药房,2011,22(6):484.
- [3] 冯晓东,徐玲君,周健,等.文拉法辛的临床疗效评价[J].医药导报,2002,21(10):641.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录61-65.

(收稿日期:2012-08-21 修回日期:2013-01-05)

表3 3批样品中有机溶剂残留量测定结果(%)

Tab 3 Results of the residual of organic solvent in 3 batches of samples (%)

批次	异丙醇	甲苯	其他
20080706	0.003	0.000 4	未检出
20091101	0.008	未检出	未检出
20091102	0.009	未检出	未检出

很好的分离,未见干扰,从而达到快速检测文拉法辛中残留溶剂的目的。

(2)前期试验中考虑溶剂中含有甲醇、乙醇、异丙醇等极性物质,曾采用了极性毛细管柱Agilent FFAP(30 m×0.32 mm, 1.80 μm)、程序升温(柱温初始35℃,保持10 min,然后以10℃/min升至150℃,再以30℃/min升至220℃保持2 min)条件进行测定,结果发现异丙醇与二氯甲烷保留时间基本一致,无法分离。而采用中等极性色谱柱DB-624,可以较好分离各组分,且未见其他干扰峰存在,因此采用DB-624色谱柱作

* 硕士研究生。研究方向:抗肿瘤药物敏感性。电话:020-66673666-2010。E-mail:chenjuanlovely@126.com

通信作者:教授,主任药师,硕士研究生导师,博士。研究方向:抗肿瘤药物敏感性研究、药物制剂及临床药学。E-mail:ghcheng661203@126.com

醇或二甲基亚砜(DMSO)后,采用酶标仪在570 nm波长处检测其吸光度值,即可反映肿瘤细胞对化疗药物的敏感度。

该法操作简便,无需特殊设备,成本低廉,应用广泛。但不能区分正常细胞与肿瘤细胞,由于形成的甲臞结晶不溶于水,需要被溶解后才能被检测。[3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-5-(3-羧甲酯基)-2-(4-磺苯基)-2H-四唑,内盐](MTS)为MTT类似物,在偶联剂吩嗪硫酸二甲酯存在条件下,可被活细胞线粒体中多种脱氢酶还原成水溶性深棕色甲臞产物,采用酶标仪在490 nm波长处检测吸光度值。与MTT法相比,MTS法优点在于其还原产物是可溶性的甲臞结晶,不需加有机溶剂溶解,安全便利,灵敏性更高。O'Toole SA等^[1]采用MTS法检测子宫内膜癌和宫颈癌患者对化疗药物的敏感性,其中30例对临床药物敏感的患者中有26例与体外药物敏感性试验结果一致,15例耐药的患者中有14例与药物敏感性试验结果一致。但由于其原理与MTT法相似,因而也不能区分正常细胞和肿瘤细胞,无法排除肿瘤组织中正常细胞对试验结果的影响。

1.2 端粒酶活性法(Telomerase activity assay)

端粒酶是一种核糖核苷酸蛋白酶,其以自身RNA为模板逆转录合成端粒重复序列并接到染色体末端而维持端粒长度,几乎在各类恶性肿瘤中都有不同程度表达,而正常体细胞几乎无表达。当端粒酶被激活时,可不断补充细胞分裂时缩短的端粒,导致细胞无限增殖。有研究^[2]表明端粒酶活性可在一定程度上反映体外经抗癌药物治疗后残余的肿瘤细胞数量。端粒酶活性法的基本原理是检测抗癌药物作用前后肿瘤细胞的端粒酶活性,从而反映化疗药物对肿瘤细胞的杀伤程度。

Liu Y等^[3]采用实时荧光定量端粒酶重复序列扩增法后认为该法可以区分人肺腺癌A549细胞与人胚肺成纤维细胞(两者细胞数量以1:100混合),排除混入的正常细胞对药物敏感性试验的干扰,定量检测端粒酶活性准确率高,可用于肺癌患者的早期筛选。

与传统的MTT、MTS法相比,端粒酶活性检测法具有不受细胞数量的限制,灵敏度高,最低可检出1~10个肿瘤细胞,适用于穿刺、活检等癌细胞较少的标本检测的优点。此外,该法还可以区分正常细胞和肿瘤细胞,特异性更强。与聚合酶链反应-端粒酶重复扩增-酶联免疫吸附法相比,实时荧光定量端粒酶重复序列扩增法可以克服终点聚合酶链式反应法进入平台期定量时有较大误差的问题,实现精确定量。该法灵敏度和特异性高,不需要后续处理,避免了污染,仅需3小时就能测出结果。因此,作为肿瘤药物敏感性试验的新方法,可快速筛选出高度敏感的抗癌药物。但该法用于肿瘤药物敏感性检测的文献报告较少,缺乏大量临床验证,需要进一步探究。

1.3 三磷酸腺苷生物荧光法(ATP-tumor chemosensitivity assay, ATP-TCA)

ATP-TCA法原理是待肿瘤细胞与化疗药物充分作用后,加入荧光色素-荧光色素酶复合物,ATP与之结合并产生荧光,通过检测荧光强度来反映ATP的含量,进而测定剩余活细胞的数量。该法灵敏度高,所需细胞数量少,最低可检测50个细胞,适用于仅有穿刺活检组织、无手术切除标本患者,结果稳定,重复性好。

Ling ZQ等^[4]报道,ATP-TCA法可以检测食管癌患者体外化疗敏感性的异质性,为临床治疗提供合理的化疗方案。

Zhao D等^[5]对69例复发性卵巢上皮癌患者采用ATP-TCA法进行体外药物敏感性试验,结果该法总预测准确率为65.2%,敏感性为87.5%,特异性为45.9%,阳性预测值为58.3%,阴性预测值为80.9%。体外敏感组的无疾病进展期与

总生存期明显比耐药组长,高度敏感组、中度敏感组、耐药组的无疾病进展生存期分别为187.1、195.0、60.3 d,总生存期分别为476.7、335.7、237.5 d。因此ATP-TCA法可有效地预测复发性卵巢上皮癌化疗药物的临床化疗敏感性。

但是,ATP-TCA法只能检测活细胞,却不能区分正常细胞和肿瘤细胞,且需要荧光检测仪,该仪器昂贵,成本相对较高。

1.4 胶原凝胶体包埋培养药物敏感性试验法(Collagen gel droplet embedded culture-drug sensitivity test, CD-DST)

CD-DST法主要原理是先通过特定酶消化得到单细胞成分,再将细胞包埋于I型胶原凝胶中,然后加入化疗药物与之共培养,利用专门的图像分析装置计算肿瘤细胞的体积变化,从而评估肿瘤细胞对化疗药物的敏感度。该法可保持细胞原有的生长特性,所需标本量少,可用于细针穿刺、胸腔积液、腹水等肿瘤细胞量少的标本检测。采用图像分析技术可以排除混入的成纤维细胞的干扰。

Kawamura M等^[6]对80例不能手术的非小细胞肺癌患者采用CD-DST法观察其对化疗药物的敏感性,药敏试验敏感者接受3周含敏感药物的化疗,不敏感者接受标准经验化疗方案,包括支持治疗。结果49例成功检测,其中22例患者对化疗药物敏感。然后采用敏感药物进行化疗,有效率为72.7%,中位生存期为15个月;而11例不敏感患者接受标准经验化疗方案,结果均出现耐药,中位生存率为6个月。

Higashiyama M等^[7]采用CD-DST法对81例原发性非小细胞肺癌患者进行药物敏感性试验,结果该法对部分缓解患者的阳性预测值为50.0%,阴性预测值为92.0%,总预测准确率为70.0%,而对于淋巴结有复发转移患者总预测准确率可达到86.0%。

但该方法操作较烦琐,需要影像分析仪,价格较贵,一般需要10~14天才能出结果,多见于日本学者的报道,还需深入研究。

1.5 三维立体组织培养法(Histoculture drug response assay, HDRA)

HDRA法基本原理是在体外培养肿瘤组织块,加入化疗药物作用一定时间后,观察组织块对化疗药物的敏感度,较早多采用3H-thymidine渗入法检测,而现在多采用MTT法评价细胞活性终点。HDRA法不需要分散肿瘤组织,可避免细胞损伤,肿瘤组织在类似体内三维环境中生长,可模拟体内化疗药物对肿瘤组织的杀伤作用,具有较高的临床可评价率。

Kato R等^[8]采用HDRA法检测54例宫颈癌患者对奈达铂的敏感性,结果总预测准确率为77.8%,阳性预测值为100.0%,阴性预测值为55.6%。体外药物敏感性试验高敏感组术后接受奈达铂治疗的无病生存率要比低敏感组高。

Fujita Y等^[9]采用HDRA-MTT终点法对53例食管癌患者手术切除后预后进行预测,术后接受辅助化疗的Ⅲ期食管癌患者中,药物敏感性试验阴性者的预后较阳性者差,由此可见HDRA-MTT终点法可应用于预测肿瘤患者术后预后。

但是该法也存在不足之处,如不同肿瘤组织选择性培养有困难,检测材料一般为固体状,对于胸腹水等液体标本则无法检测,试验结果的稳定性和重复性还有待进一步研究。

2 体内检测法

虽然体外检测法具有简单易行、可重复等优点,但在体外评价药物对肿瘤细胞杀伤作用,不能真实模拟体内环境,与临床相关性还有待探讨。而体内法能反映药物在体内的药动学特征,更接近肿瘤在体内生长环境,主要通过小鼠移植瘤大小和病理改变来判断药物敏感性。

2.1 裸鼠模型法

由于裸鼠T淋巴细胞缺乏, 异体移植的排斥反应不明显, 因此可以进行人肿瘤移植, 且可保持人肿瘤原有的生物学特性和组织形态及对化疗药物的敏感性, 可应用于药物敏感性试验。

Sakamoto Y等^[10]对19例患者采用裸鼠模型进行体内药物敏感性试验并观察其与临床的相关性, 结果总预测准确率为95.0%, 阳性预测值为83.0%, 阴性预测值为100.0%。

但裸鼠价格昂贵, 饲养及试验条件严格, 加上皮下移植瘤生长缓慢, 所以药物敏感性试验周期长, 一般需要3~6个月才能出结果, 因此该法不适用于临床常规药物敏感性试验, 其检验结果与临床相关性的报道也很少, 目前多应用于新药测试。

2.2 肾包膜下移植法(Subrenal capsule assay, SRCA)

SRCA法即将肿瘤植入正常或免疫缺陷小鼠的肾包膜下, 测量肿瘤的初体积, 再向小鼠腹腔内注入化疗药物, 在肿瘤发生免疫排斥反应之前即第6天结束实验, 将小鼠处死, 测量移植瘤的末体积, 以体积之差反映肿瘤对化疗药物的敏感性。与体外试验相比, SRCA法保留了体内的激活系统及解毒机制, 更接近人体用药情况^[11], 对于环磷酰胺、甲氨蝶呤等需要在体内代谢或激活才能发挥作用的药物更为适宜。Hahka-Kemppinen M等^[12]采用SRCA法对121例转移性黑色素瘤患者进行药物敏感性试验, 结果该法总预测准确率为65.0%, 敏感率为77.0%, 特异率为54.0%。

但该法采用测量肿瘤体积变化来反映药物敏感性, 肿瘤侵袭性生长特性可能会造成形状不规则而对结果产生影响, 操作比较复杂, 饲养动物费用较高, 不宜规模化, 临床应用受到极大的限制。

3 分子生物学方法在肿瘤药物敏感性试验中的应用

随着分子生物学迅速发展, 肿瘤药物敏感性试验也逐渐步入分子基因水平, 通过检测与抗肿瘤药物作用相关联的基因、酶的生物活性来判断肿瘤对药物的敏感性。抗肿瘤药物敏感度预测结合基因组学和蛋白质组学可以从分子水平上揭示其敏感性机制, 从而根据肿瘤患者对特定药物的敏感度为其提供个体化治疗^[13]。

Chang H等^[14]最新研究发现多药耐药基因MDR1(ABCB1)基因多态性与紫杉醇的药效相关: 与MDR1 3435 CC基因型相比, MDR1 3435 CT基因型预示着接受单一紫杉醇治疗的晚期乳腺癌患者的疾病控制率低, 总体生存期更短; MDR1 2677 GG基因型与紫杉醇和蒽环类抗生素的耐药性相关。

与靶向治疗药物敏感性相关的基因检测也可作为肿瘤患者使用分子靶向药物提供个体化依据。如表皮生长因子(EGFR)受体基因表达水平与吉非替尼、厄洛替尼的的药物敏感性相关。抑癌基因PTEN表达水平高时表明西妥昔单抗和帕尼单抗药物敏感性高; 癌基因PI3KCA突变则显示西妥昔单抗和帕尼单抗药物敏感性增强^[15-16]。人类表皮生长因子2(HER-2)表达增强的患者对曲妥珠单抗敏感性较高。

分子靶点敏感性检测具有高通量、快速、可靠、重复性好等优势, 但是分子生物学实验方法需要专业的技术和仪器, 因此费用比较昂贵, 目前在临床上还没有大规模的开展, 但其作为肿瘤药物敏感性试验新方向具有良好的发展前景。

4 结语与展望

随着药物基因组学的发展, 个体化治疗将成为肿瘤治疗的发展趋势。在临床选择治疗方案前进行药物敏感性试验, 根据试验结果选择最佳治疗方案, 可显著提高治疗疗效, 减少毒副作用。目前, 肿瘤药物敏感性试验虽然取得了一定的成果, 但由于各种试验方法都有其局限性, 没有统一的标准操作

规程, 因此在临床还没有大规模的开展。相信在不久的将来, 肿瘤药物敏感性试验会更多地应用于临床, 从而为提高患者生活质量、延长生存期带来新的希望。

参考文献

- [1] O'Toole SA, Sheppard BL, McGuinness EP, et al. The MTS assay as an indicator of chemosensitivity/resistance in malignant gynaecological tumors[J]. *Cancer Detect Prev*, 2003, 27(1):47.
- [2] 翟晓波, 鲍思蔚, 晏马成, 等. 端粒酶活性药敏法在体外培养乳腺癌细胞中的应用[J]. *中国临床药理学杂志*, 2002, 11(3):169.
- [3] Liu Y, Wu BQ, Zhong HH, et al. Detection of telomerase activity in cultured cells and tumor tissue of lung carcinoma by modified telomeric repeat amplification protocol [J]. *Pathology International*, 2010, 60(5):386.
- [4] Ling ZQ, Qi CJ, Lu XX, et al. Heterogeneity of chemosensitivity in esophageal cancer using ATP-tumor chemosensitivity assay[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2012, 33(3):401.
- [5] Zhao D, Wu LY, Li XG, et al. Application of ATP-tumor chemosensitivity assay in recurrent epithelial ovarian cancer[J]. *Zhonghua Zhongliu Za Zhi*, 2010, 32(11):855.
- [6] Kawamura M, Gika M, Abiko T, et al. Clinical evaluation of chemosensitivity testing for patients with unresectable non-small cell lung cancer (NSCLC) using collagen gel droplet embedded culture drug sensitivity test (CD-DST)[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2007, 59(4):507.
- [7] Higashiyama M, Oda K, Okami J, et al. Prediction of chemotherapeutic effect on postoperative recurrence by in vitro anticancer drug sensitivity testing in non-small cell lung cancer patients[J]. *Lung Cancer*, 2010, 68(3):472.
- [8] Kato R, Hasegawa K, Achiwa Y, et al. Predicting nedaplatin sensitivity of cervical cancer using the histoculture drug response assay[J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2011, 32(4):381.
- [9] Fujita Y, Hiramoto M, Kawai M, et al. Histoculture drug response assay predicts the postoperative prognosis of patients with esophageal cancer[J]. *Oncol Rep*, 2009, 21(2):495.
- [10] Sakamoto Y, Fujita M, Goi M, et al. Accordance of the chemosensitivity between clinical specimens and their xenografts in nude mice by SDI test and the value of in vivo chemosensitivity test using nude mice[J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 1993, 20(4):447.
- [11] 杨李, 张宜. 肿瘤治疗药物敏感性测试的研究进展[J]. *中国药房*, 2012, 23(13):1234.
- [12] Hahka-Kemppinen M, Muhonen T, Kangas L, et al. Chemosensitivity of human melanoma metastases in mouse subrenal capsule assay-can it predict tumour response to combined cytostatic plus interferon therapy in metastatic melanoma?[J]. *Melanoma Res*, 1996, 6(3):215.
- [13] Ma Y, Ding Z, Qian Y, et al. An integrative genomic and proteomic approach to chemosensitivity prediction[J]. *Int J Oncol*, 2009, 34(1):107.
- [14] Chang H, Rha S, Jeung H, et al. Association of ABCB1

医疗卫生机构在执行《麻醉药品和精神药品管理条例》过程中存在的问题及对策

谢顶仁^{1*}, 杨华萍², 朱腊荣¹, 张友干^{3#} (1.湖北鄂州市中心医院, 湖北 鄂州 436000; 2.宜昌人福药业有限责任公司, 湖北 宜昌 443003; 3.湖北鄂州市食品药品监督管理局, 湖北 鄂州 436000)

中图分类号 R95 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)25-2397-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.25.34

摘要 目的:为《麻醉药品和精神药品管理条例》(以下简称《条例》)的全面贯彻执行提供参考。方法:总结相关检查之后发现的卫生部门、部门之间、医疗机构及医师执行《条例》时及《条例》本身存在的问题,提出相应建议和解决问题的措施。结果与结论:某些医疗卫生机构未执行凭卡购麻醉药品和精神药品(以下简称“麻精药品”)规定;卫生部门与药监部门、医疗机构与药监部门、麻精药品经营企业和使用单位与公安部门缺少沟通;医疗机构对医师的培训与考核及麻精药品专册登记不到位,麻精药品未设专柜储存;医师未完全根据《临床应用指导原则》使用麻精药品,未满足患者合理应用麻精药品需求,麻精药品单张处方的最大用量不符合卫生部的规定。建议删除《条例》中的“禁毒”和“滥用”,维护政策的权威性;各相关机构加强沟通,重视对麻精药品工作岗位人员的培训,理解并秉承国家管理麻精药品的宗旨,明确各自的管理职责,掌握使用麻精药品的原则与方法及注意事项;完善个别条款的内容。

关键词 麻醉药品;精神药品;麻醉药品和精神药品管理条例;执行;问题;对策

Problems and Solutions of the Enforcement of Usage Regulation on Narcotic Drugs and Psychotropic Substances in Medical Institutions

XIE Ding-ren¹, YANG Hua-ping², ZHU La-rong¹, ZHANG You-gan³ (1.E'zhou Municipal Central Hospital of Hubei Province, Hubei E'zhou 436000, China; 2.Yichang Renfu Pharmacological Limited Company, Hubei Yichang 443003, China; 3.Hubei E'zhou Food and Drug Administration, Hubei E'zhou 436000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To provide reference for the enforcement of *Usage Regulation on Narcotic Drugs and Psychotropic Substances* (called *Regulation* for short). METHODS: Problems about the implementation of *Regulation* in health department, between departments and in medical institutions as well as *Regulation* was listed after relevant checks, and the countermeasures and suggestions were put forward. RESULTS & CONCLUSIONS: Some health departments didn't supervise the implementation of the *Regulation* that narcotic drugs and psychotropic substances should be bought by special card. The communication of health department with drug administration, medical institution with drug administration, enterprise and user with departments of security was in shortage. The training and examination of doctors and narcotic drugs and psychotropic substances registration were inadequate in medical institutions, and there was no designated counter for the storage of narcotic drugs and psychotropic substances. The narcotic drugs and psychotropic substances were not used according to the *Guiding Principle of Clinical Use* and didn't meet the demands of patients; the maximum dosage of a prescription for narcotic drugs and psychotropic substances was not up to the regulation of Department of Public Health. It is suggested to delete the provisions of "prohibition of opium" and "drug abuse" in the *Regulation*; preserve the authority of the policies; strengthen communication and cooperation; enhance the training of medical persons for narcotic drugs and psychotropic substances, master the aim of narcotic drugs and psychotropic substances; clear and definite their management responsibilities; master the principle, method and caution of use of narcotic drugs and psychotropic substances; perfect the contents of individual items.

KEY WORDS Narcotic drugs; Psychotropic substances; *Usage Regulation on Narcotic Drugs and Psychotropic Substances*; Enforcement; Problems; Countermeasure

gene polymorphism 2677G/T (A) and 3435C/T with clinical outcomes of paclitaxel monotherapy in metastatic breast cancer patients[J]. *Annals of Oncology*, 2009, 20 (2):272.

* 主管药师。研究方向:医院药学。电话:0711-5013603。E-mail: xiedingren@sina.com

通信作者:主任药师。研究方向:特殊管理药品。电话:0711-3355789。E-mail: zyg5468@yahoo.com.cn

[15] Shen H, Yuan Y, Hu HG, *et al.* Clinical significance of K-ras and BRAF mutations in Chinese colorectal cancer patients[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(6):809.

[16] Kita D, Yonekawa Y, Weller M, *et al.* PIK3CA alterations in primary (de novo) and secondary glioblastomas [J]. *Acta Neuropathol*, 2007, 113(3):295.

(收稿日期:2012-10-25 修回日期:2013-03-27)