



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.02.009
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2015.02.009
Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(2):199-205.

· 基础研究 ·

FIG-ROS 融合基因在肝内胆管细胞癌中表达及其意义

朱垒, 黄飞舟, 聂晚频, 邓刚, 黄为, 徐宏博, 易中杰, 郑少鹏

(中南大学湘雅三医院肝胆胰外科, 湖南长沙 410013)

摘要

目的: 探讨 FIG-ROS 融合基因在肝内胆管细胞癌 (ICC) 细胞中的表达, 以及对其干预后 ICC 细胞的生物学行为的变化。

方法: 用 Western blot 法检测 4 份不同 ICC 组织样本及 3 种 ICC 细胞株 (HUCCT1、REB、QBC939) 中 ROS 蛋白的表达; 选择 ROS 阳性 ICC 细胞, 用一系列表达不同序列 ROS-shRNA 与 FIG-shRNA 的质粒分别转染该细胞后, 用 Western blot 检测 ROS 和 FIG 蛋白表达; 选择对 ROS 和 FIG 表达抑制作用最强的 ROS-shRNA 与 FIG-shRNA 序列分别或联合转染上述细胞后, 观察细胞增殖、细胞周期、凋亡及集落形成情况。

结果: 2 份 ICC 组织样本与 1 个细胞株 (HUCCT1) 呈 ROS 阳性表达; 转染 ROS1-6290 shRNA 和 FIG-363 shRNA 对 HUCCT1 细胞 ROS 与 FIG 蛋白表达的抑制作用最强。与未转染的 HUCCT1 细胞比较, 单独转染 FIG-363 shRNA 对细胞增殖、凋亡及细胞周期无明显影响 (均 $P>0.05$), 但能明显减少细胞集落形成 ($P<0.05$); ROS1-6290 shRNA 单独或联合 FIG-363 shRNA 转染均能明显抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡与细胞周期阻滞、减少细胞集落形成, 且联合转染的效应更为明显 (均 $P<0.05$)。

结论: 部分 ICC 存在 FIG-ROS 融合基因表达, 对两种基因的联合抑制可能是靶向治疗该类 ICC 的有效途径。

关键词

胆管肿瘤; 胆管, 肝内; 原癌基因; 癌基因融合
中图分类号: R735.8

Expression of FIG-ROS fusion gene in intrahepatic cholangiocarcinoma and its significance

ZHU Lei, HUANG Feizhou, NIE Wanpin, DENG Gang, HUANG Wei, XU Hongbo, YI Zhongjie, ZHENG Shaopeng

(Department of Hepatopancreatobiliary Surgery, the Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013, China)

Abstract

Objective: To investigate the expression of FIG-ROS fusion gene in intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC) cells and the effects of its intervention on biological behavior of ICC cells.

Methods: ROS protein expression in 4 different specimens of ICC tissue and 3 types of ICC cell line (HUCCT1, REB and QBC939) was determined by Western blot analysis; the ROS positive cell line was selected for use and after transfection with a series of plasmids containing different sequences of ROS-shRNAs or FIG-shRNAs

基金项目: 湖南省科学技术厅科技计划资助项目 (2014SK3071)。

收稿日期: 2014-11-10; 修订日期: 2015-01-19。

作者简介: 朱垒, 中南大学湘雅三医院住院医师, 主要从事肝胆管细胞癌相关基因方面的研究。

通信作者: 邓刚, Email: 2477487669@qq.com

respectively, the protein expressions of ROS and FIG in the cells were measured by Western blot analysis. The sequences of ROS-shRNA and FIG-shRNA with highest inhibitory effect on ROS and FIG expression were chosen, which were alone or in combination transfected into the above cells, and after that, the cell proliferation, apoptosis, cell cycle and colony formation were observed.

Results: Two specimens of ICC tissue and one ICC cell line (HUCCT1) showed positive ROS expression. Transfection of ROS1-6290 shRNA and FIG-363 shRNA had the most remarkable inhibitory effect on ROS and FIG expression, respectively. Compared with the HUCCT1 cells without any transfection, lone FIG-363 shRNA transfection had no obvious effect on proliferation, apoptosis or cell cycle phase (all $P>0.05$), but significantly reduced the colony formation of the cells ($P<0.05$); either ROS1-6290 shRNA transfection alone or in combination with FIG-363 shRNA showed significant effects of suppression of proliferation, induction of apoptosis and cell cycle arrest and inhibition of colony formation, and these effects were more remarkable in cells with combined transfection (all $P<0.05$).

Conclusion: Some kinds of ICC have FIG-ROS fusion gene expression, and the combined inhibition of the two genes may probably provide a hopeful targeted treatment approach for these ICC.

Key words

Bile Duct Neoplasms; Bile Ducts, Intrahepatic; Proto-Oncogenes; Oncogene Fusion

CLC number: R735.8

肝内胆管细胞癌 (ICC) 是肝癌中常见的亚型, 并且对现有的药物治疗不敏感^[1]。肝移植是目前治疗ICC较为有效的办法, 但由于胆管细胞癌本身的生物学特性, 如胆管上皮细胞的分化, 丰富的基质结缔组织形成等可能导致术后肿瘤复发。并且由于缺乏有效的早期诊断手段, 大部分患者在就医时已失去了手术机会^[2-3]。现阶段研究表明靶向治疗药物对于胆管癌有一定的疗效^[4]。

尽管目前在胆管细胞癌中发现了一些突变频繁的基因, 如TP53 (37%~44%) 和K-ras (17%~54%)^[5], 但是这些基因并没有能够转化为治疗的靶位点。基因测序工作持续的提供了关于ICC内细胞变化的深层次信息。酪氨酸蛋白激酶 (receptor tyrosine kinases, RTK) 是细胞外信号传导的重要调节介质, 它调节着关于细胞生存, 生长, 死亡的一些重要通路。许多肿瘤组织的初始阶段常可观察到RTK的异常激活。原癌基因1 (c-ros-oncogene1, ROS1) 一种可以编码RTK的基因, 研究中发现约有9%的胆管癌患者中发现ROS1基因突变^[6], 并已识别出一些ROS1激酶融合蛋白, 包括胶质母细胞瘤ROS (FIG-ROS)、SLC34A2-ROS1 (SLC-ROS)、CD74-ROS1、EZR-ROS1、LRIG3-ROS1、SDC4-ROS1、TPM3-ROS1^[6]。FIG-ROS在人胶质细胞瘤中最先发现, 近期在ICC中也发现了FIG-ROS的存在^[6-7]。在ICC的动物模型中, FIG-ROS蛋白已被确认为一种肿

瘤蛋白^[8]。临床病例研究中发现间变性淋巴瘤激酶 (anaplastic lymphoma kinase, ALK) 与ROS有较大的同源性。目前FDA正在进行1项用克替唑尼 (ALK抑制剂) 治疗ROS驱动的肺癌的有效性研究 (I/II期)^[9]。因此, ROS有成为ICC治疗靶位点的潜能。为了揭示ICC中与FIG-ROS有关的分子机制, 本研究拟从细胞水平探讨FIG-ROS融合基因在ICC的表达及干预后ICC细胞生物学行为特征。

1 材料与方 法

1.1 组织样本的收集

通过中南大学湘雅三医院伦理委员会审核, 4份组织样本由中南大学湘雅三医院普通外科获取, 并已与患者签署知情同意书, 组织样本在术中取出后立即在液氮中保存。

1.2 细胞株及细胞培养

人ICC细胞株HUCCT1、RBC和QBC939从美国ATCC公司购买, 细胞在37℃, 5%CO₂含10%胎牛血清的DMEM中培养。

1.3 质粒构建与转染

pGPU6/GFP/Neo-ROS1-homo-6191、pGPU6/GFP/Neo-ROS1-homo-6290、pGPU6/GFP/Neo-ROS1-homo-6443、pGPU6/GFP/Neo-ROS1-homo-6976、pGPU6/GFP/Neo-FIG-homo-363、pGPU6/GFP/Neo-FIG-homo-475、pGPU6/GFP/

Neo-FIG-homo-504、pGPU6/GFP/Neo-FIG-homo-675由上海吉玛制药公司构建。并用质粒pGPU6/GFP/Neo-shNC作为阴性对照。每种shRNA的靶序列见表1。这些质粒通过脂质体2000(生命科技公司)分别转入HUCCT1细胞中,随后培养72 h并进行如下实验。

表1 shRNA 靶序列

Table 1 The target sequences of shRNAs

shRNA	靶序列
阴性对照 shRNA	5'-GTT CTC CGA ACG TGT CAC GT-3'
ROS1-homo-6290	5'-GAG GAG ACC TTC TTA CTT AT-3'
ROS1-homo-6443	5'-GCT AGA AAT TGC CTT GTT TCC-3'
ROS1-homo-6976	5'-GCC AGT TGC TTT AAT GGA AAC-3'
ROS1-homo-6191	5'-GCA CAT CTG ATG AGC AAA TTT-3'
FIG-homo-504	5'-GCC CAG TCT GTG TCT CAA ATC-3'
FIG-homo-475	5'-GCT CCT GCT TTG CAC AGC TTT-3'
FIG-homo-363	5'-CTG GAG AAG GAG TTC GAC AAA-3'
FIG-homo-675	5'-GCT GAC TCT GGT ACC ATT AAG-3'

1.4 方法

1.4.1 Western blot 检测 组织或细胞溶解在RIPA裂解液中,用12%的SDS-PAGE分离,并转移至PVDF微孔板,在37℃下包含有5%脱脂奶的TBST缓冲液中培养2 h。然后各自加入兔抗ROS,兔抗FIG,鼠抗GAPDH第一抗体(美国Santa Cruz公司)作用2 h,用PBST洗涤4次,每次10 min,再用羊抗兔,羊抗鼠第二抗体在4℃下作用过夜,再次用PBST洗涤4次,每次10 min。ECL试剂(美国Pierce Chemical公司)用于检测化学发光,Image-Pro plus6.0软件用于检测相关蛋白的表达,并将其描绘成与GAPDH的相对密度比。

1.4.2 细胞增殖检测 MTT比色法被用于评估细胞增值情况,在转染72 h后,取100 μL细胞悬液(1×10^5 细胞/mL)注入96孔板中,并在37℃,5%CO₂环境中分别培养0、1、3、5、7 d。在转染的基底液的每个孔板中用含有0.5 g/L MTT的新鲜的无血清基底液100 μL置换原有的细胞悬液。在37℃的环境中培养4 h,用50 μL DMSO置换MTT基底液,在室温中作用10 min后,运用ELX-800 ELISA reader(美国Bio-Tek公司)在570 nm检测。本实验重复3次。

1.4.3 细胞凋亡检测 取10⁶细胞用于细胞凋亡实验,用PBS液洗涤2次,然后重悬至500 μL的结合液中,向其中加入5 μL Annexin V-FITC和5 μL碘化丙啶(PI)并重复摇匀混合。在室温暗室环境中培养15 min后,用流式细胞仪(美国BD公司)

分析细胞凋亡情况。

1.4.4 细胞周期分析 在PBS液中选择实验所需的10⁶细胞,并在70%的乙醇中定影,并在1 000 r/min的环境中离心5 min,随后在PBS中洗涤,再次离心5 min。将细胞重悬至300 μL碘化丙啶着色剂中,在室温中培养30 min。用流式细胞仪进行分析。本实验重复3次。

1.4.5 集落形成实验 在各个组中,将含有200个细胞的4 mL完全培养液加入至直径为60 mm的皿中,在37℃,5%CO₂环境中培养14 d,去除上层清液,用PBS液洗涤3次,然后用4%的多聚甲醛定影15 min,并用GIMSA(北京索莱宝科技有限公司)显色20 min,在显微镜(日本Nikon公司)下进行集落计数,本实验重复3次。

1.5 统计学处理

实验数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用SPSS 13.0进行数据分析,用单因素方差分析及双因素方差分析方法分析数据差异, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 ROS在ICC组织及HUCCT1细胞中阳性表达

首先用Western blot检测ROS蛋白在4份ICC组织标本及3种ICC细胞系(HUCCT1、REB、QBC939)的表达。ROS蛋白在2个ICC组织以及HUCCT1细胞系中呈现阳性表达,而在REB和QBC939细胞系中不表达(图1)。故选HUCCT1细胞系用于后续实验。

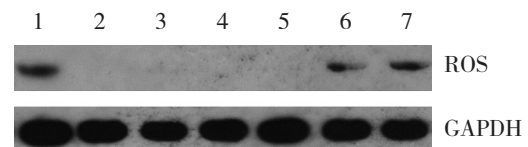


图1 Western blot 检测 ROS 蛋白表达 1: HUCCT1 细胞; 2: REB 细胞; 3: QBC939 细胞; 4-7: 4 份不同 ICC 组织

Figure 1 Western blot analysis for ROS protein expression

1: HUCCT1 cells; 2: REB cells; 3: QBC939 cells; 4-7: 4 different specimens of ICC tissue

2.2 shRNA 介导的 FIG-ROS 蛋白表达下调

将能特异表达ROS-shRNA质粒与FIG-shRNA质粒分别转染至HUCCT1细胞,用绿色荧光蛋白(GFP)的荧光反应确认有效转染,Western

blot检测ROS及FIG的蛋白表达。结果显示，ROS1-6191 shRNA、ROS1-6290 shRNA（均 $P<0.05$ ），ROS1-6976 shRNA能够有效的抑制ROS在HUCCT1中的蛋白表达，其中ROS1-6290的抑制作用最强。与未被转染的HUCCT1细胞比较，转染了表达FIG-363 shRNA、FIG-475 shRNA、

FIG-504 shRNA质粒的HUCCT1细胞中的FIG蛋白在表达明显下调（均 $P<0.05$ ）。其中，FIG-363 shRNA有着最强的抑制作用（图2）。故分别将表达ROS1-6290 shRNA质粒和FIG-363 shRNA质粒用于下一步的研究。

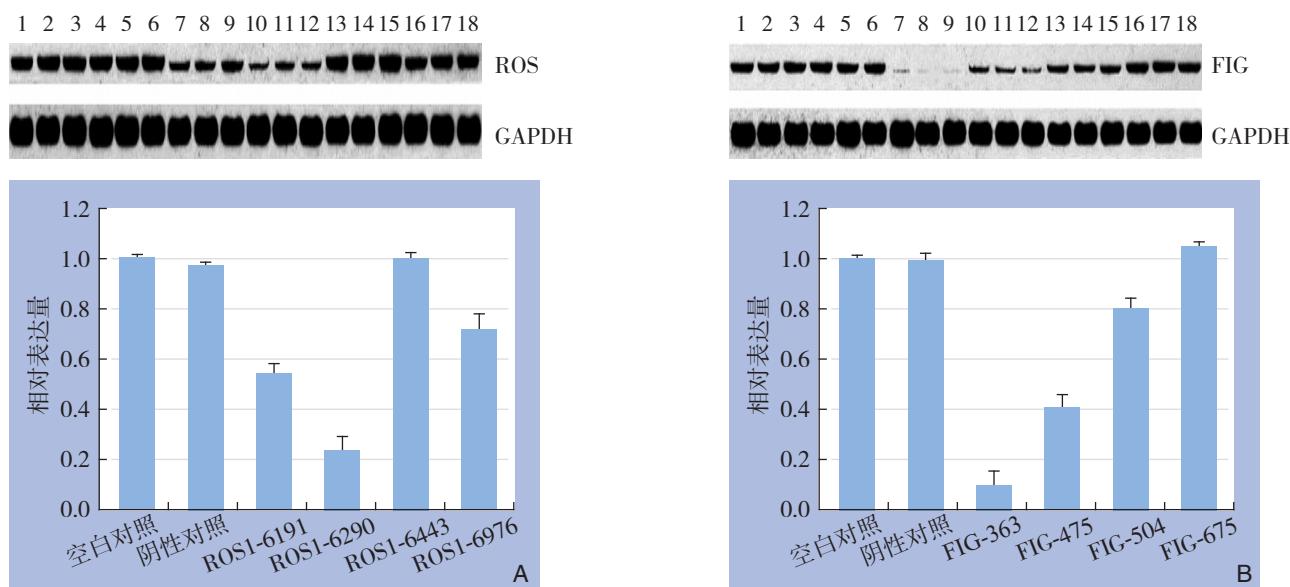


图2 Western blot检测HUCCT1细胞转染有各种ROS-shRNA与FIG-363 shRNA后的ROS与FIG蛋白的表达 A: ROS蛋白(1-3: 空白对照; 4-6: 阴性对照; 7-9: ROS1-6191 shRNA; 10-12: ROS1-6290 shRNA; 13-15: ROS1-6443 shRNA; 16-18: ROS1-6976 shRNA); B: FIG蛋白(1-3: 空白对照; 4-6: 阴性对照; 7-9: FIG-363 shRNA; 10-12: FIG-475 shRNA; 13-15: FIG-504 shRNA; 16-18: FIG-675 shRNA)

Figure 2 Western blot analysis for ROS and FIG expressions in HUCCT1 cells after transfection with different ROS-shRNAs and FIG-363 shRNAs A: ROS protein (1-3: Blank control; 4-6: Negative control; 7-9: ROS1-6191 shRNA; 10-12: ROS1-6290 shRNA; 13-15: ROS1-6443 shRNA; 16-18: ROS1-6976 shRNA); B: FIG protein (1-3: Blank control; 4-6: Negative control; 7-9: FIG-363 shRNA; 10-12: FIG-475 shRNA; 13-15: FIG-504 shRNA; 16-18: FIG-675 shRNA)

2.3 shRNA介导的FIG-ROS下调对HUCCT1细胞增殖的影响

与空白对照组比较，单独转染FIG-363 shRNA质粒对HUCCT1细胞增殖无明显抑制作用（ $P>0.05$ ）；单独转染ROS1-6290 shRNA质粒及联合转染ROS1-6290 shRNA质粒与FIG-363 shRNA质粒均能明显抑制HUCCT1细胞的增殖，且联合转染的抑制作用更为明显（均 $P<0.05$ ）；阴性对照组与空白对照组间差异无统计学意义（ $P>0.05$ ）。

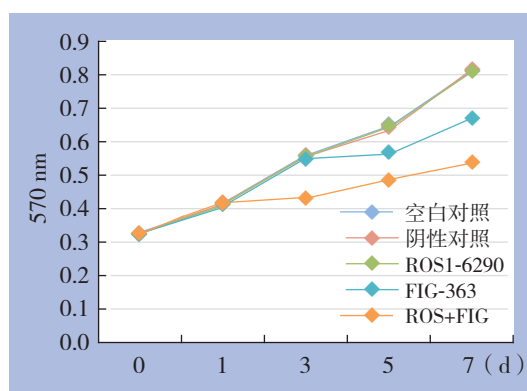


图3 细胞的增殖检测

Figure 3 Cell proliferation determination

2.4 shRNA 介导的 FIG-ROS 下调对 HUCCT1 细胞凋亡的影响

单独的FIG表达下调对HUCCT1细胞凋亡并没有抑制作用,与空白对照组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$); shRNA介导的ROS及ROS+FIG

表达下调则明显诱发HUCCT1细胞的凋亡,与单独ROS-6290 shRNA转染组比较,共转染组的HUCCT1细胞的凋亡比例更高,差异均有统计学意义 (均 $P<0.05$); 阴性对照组与空白对照组间差异无统计学意义 ($P>0.05$) (图4)。

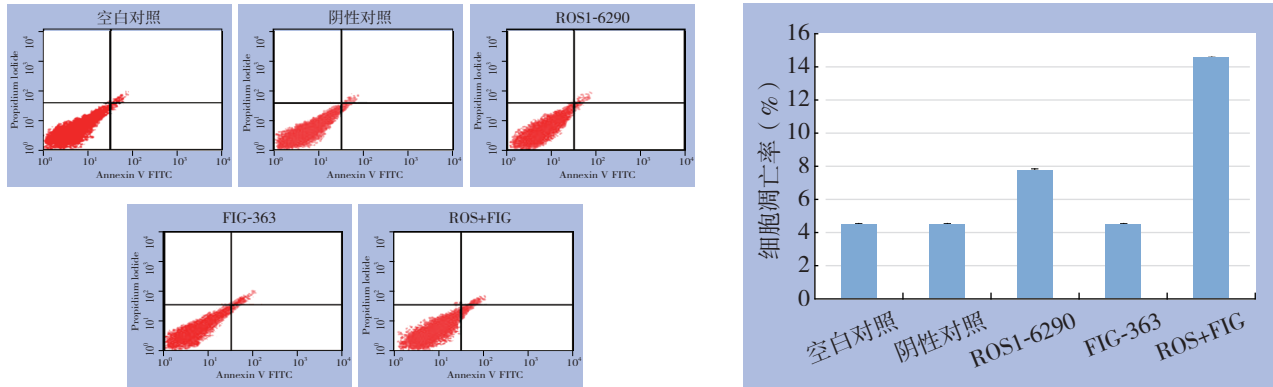


图4 细胞凋亡检测
Figure 4 Cell apoptosis assay

2.5 shRNA 介导的 FIG-ROS 下调对 HUCCT1 细胞周期进程的影响

与空白对照组比较,单独转染FIG-363 shRNA质粒对HUCCT1细胞的细胞周期无明显影响 ($P>0.05$); 单独转染ROS1-6290 shRNA质粒或共转染ROS1-6290 shRNA质粒与FIG-363 shRNA质粒的HUCCT1细胞的G₀/G₁期比例明显增高,且后者作用更为明显 (均 $P<0.05$), 阴性对照组与空白对照组细胞周期分布无明显差异 ($P>0.05$) (图5)。

落形成抑制作用的强度依次为: ROS shRNA+FIG shRNA>ROS shRNA>FIG shRNA (图6)。

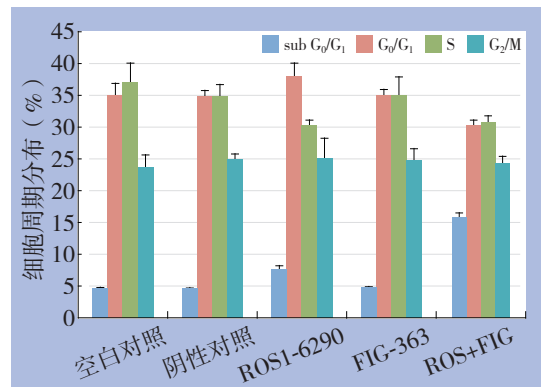


图5 细胞周期检测
Figure 5 Cell cycle analysis

2.6 shRNA 介导的 FIG-ROS 下调对 HUCCT1 细胞集落形成的影响

除阴性对照组外,各转染组细胞集落形成数均明显减少 (均 $P<0.05$), 对HUCCT1细胞的集

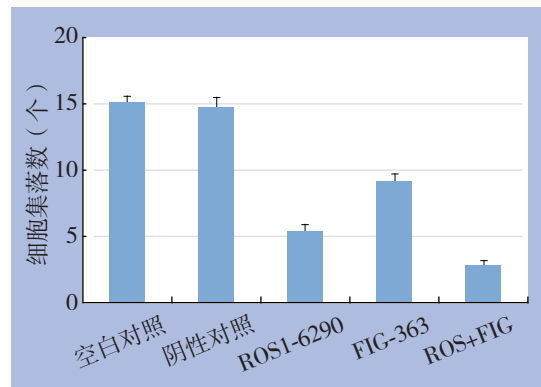
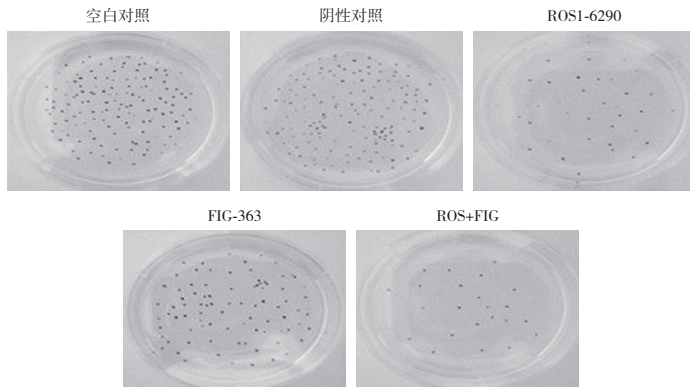


图6 集落形成实验
Figure 6 Colony formation assay



3 讨论

肝内胆管细胞癌是来自于肝内外胆管上皮细胞的恶性肿瘤,具有较强的侵袭性且预后较差^[10]。在形态学上,可将胆管癌分为肿块型,胆管周围浸润型和胆管内生长型^[10-11]。研究已表明ICC的发生发展与诸多危险因素有关。ROS融合基因最初在恶性胶质瘤及非小细胞肺癌(NSCLC)中发现其具有促进肿瘤的进展的作用^[12-13]。目前,ROS致癌性已经在一部分胆管癌,恶性胶质瘤和肺癌患者中发现^[6-7, 14]。ROS蛋白是一个全长为2 347个氨基酸的跨膜受体酪氨酸激酶。由膜外配体结合域,跨膜区及膜内酪氨酸激酶结构域3部分构成^[15]。ROS的异常表达的原因可能来自于ROS1基因的融合、过表达、突变等原因。在许多情况下,ROS途径的异常激活来自于染色体易位及缺失,这些改变可能进一步导致ROS1融合基因的形成。

Gu等^[6]在23例中国胆管癌患者中,只发现了2例出现FIG-ROS的阳性表达。而在日本学者的研究中,在1 476名肺癌患者中,只检测到11例ROS融合基因的表达,阳性率0.7%^[12]。结合本次及之前的研究结果,ROS融合基因在ICC患者中阳性表达率较低。尽管ROS融合基因表达较低,但是越来越多的证据表明ROS融合基因是一个有效的治疗靶位点。研究者在恶性胶质细胞瘤中观察到ROS基因启动子的去甲基化可强化ROS激酶的表达^[16]。而且,恶性胶质瘤及肺癌中染色体的重排与ROS激酶的激活有关^[7, 17]。在动物实验中,FIG-ROS在中枢系统的表达可诱导恶性胶质细胞瘤的形成^[18]。在表达ROS融合蛋白的BaF3细胞系中,抑制ROS融合基因可导致细胞出现生长迟缓,并诱导细胞凋亡的现象^[6]。而且,目前已发现ROS特异性抑制剂克唑替尼在治疗ROS融合基因表达阳性的ICC患者中有效^[19]。

本研究首先观察在3种ICC细胞株中是否有ROS基因的表达,结果显示仅在HUCCT1细胞中有ROS的阳性表达;随后构建了一系列不同的ROS1和FIG的shRNA序列来抑制FIG-ROS融合基因的表达,在FIG-363 shRNA和ROS1-6290 shRNA观察到了最强的抑制效应,这也表明这些片段可能作为FIG-ROS抑制剂有效的作用靶位点;还发现FIG的表达下调对HUCCT1细胞的影响呈现边缘效应;而与单独下调ROS表达相比,同时下调FIG及ROS的表达则对HUCCT1细胞的增殖,凋亡,集落形

成,细胞周期进程,迁移,侵袭行为产生更大的影响。研究结果提示FIG能增强对ROS在HUCCT1细胞中的作用,但对ROS发挥作用并不是一个必需条件。

凋亡是细胞程序性死亡过程,细胞依靠它来主动地引起自身的破坏,在细胞的发生发展中起重要作用。而促进细胞凋亡是预防恶性肿瘤的一种非常有效的手段^[20]。在此次研究中,用FIG-ROS shRNA处理的HUCCT1细胞出现了明显的细胞增殖抑制,而且在联合FIG-ROS shRNA处理的细胞集落中也出现了明显的抑制作用。研究进一步用PI染色及流式细胞术检测细胞凋亡,结果发现肿瘤细胞的增殖抑制可能是由于细胞凋亡加快和细胞周期受到阻碍。控制细胞周期进程一直以来都认为是一种有效的延缓肿瘤发展的手段。一些肿瘤药物能将细胞周期停滞在S、G₁、G₂/M期,从而抑制肿瘤的发展^[21]。

最后,本研究进一步的证实了在ICC中,ROS融合蛋白是一种强有力的肿瘤蛋白。在HUCCT1细胞增殖抑制实验中,对ROS1-6290片段的表达下调呈现出了最大的抑制效应。而FIG的表达下调与ROS1的表达下调对HUCCT1细胞的增殖抑制有协同作用。因此,作用于ROS1-6290片段的ROS1特异性抑制剂对于ROS1融合蛋白表达呈阳性的ICC患者可能是一种有效的治疗手段。

参考文献

- [1] McLean L, Patel T. Racial and ethnic variations in the epidemiology of intrahepatic cholangiocarcinoma in the United States[J]. *Liver Int*, 2006, 26(9):1047-1053.
- [2] Khan SA, Davidson BR, Goldin R, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma: consensus document[J]. *Gut*, 2002, 51 Suppl 6:VI1-9.
- [3] Endo I, Gonen M, Yopp AC, et al. Intrahepatic cholangiocarcinoma: rising frequency, improved survival, and determinants of outcome after resection[J]. *Ann Surg*, 2008, 248(1):84-96.
- [4] Marino D, Colombi F, Ribero D, et al. 如何改善靶向药物在胆管癌中的疗效?[J]. *中国普通外科杂志*, 2013, 22(8):973-975.
- [5] Ong CK, Subimerb C, Pairojkul C, et al. Exome sequencing of liver fluke-associated cholangiocarcinoma[J]. *Nat Genet*, 2012, 44(6):690-693.
- [6] Gu TL, Deng X, Huang F, et al. Survey of tyrosine kinase signaling reveals ROS kinase fusions in human cholangiocarcinoma[J]. *PLoS*

- One, 2011, 6(1):e15640. doi: 10.1371/journal.pone.0015640.
- [7] Charest A, Lane K, McMahon K, et al. Fusion of FIG to the receptor tyrosine kinase ROS in a glioblastoma with an interstitial del(6)(q21q21) [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2003, 37(1):58-71.
- [8] Saborowski A, Saborowski M, Davare MA, et al. Mouse model of intrahepatic cholangiocarcinoma validates FIG-ROS as a potent fusion oncogene and therapeutic target[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(48): 19513-19518.
- [9] Shaw AT, Camidge DR, Engelman JA, et al. Clinical activity of crizotinib in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) harboring ROS1 gene rearrangement[C]//ASCO Meet Abstr (2012) 30(15 Suppl):7508. doi:10.1097/CCO.0b013e32835d8175.
- [10] Malhi H, Gores GJ. Cholangiocarcinoma: modern advances in understanding a deadly old disease[J]. *J Hepatol*, 2006, 45(6): 856-867.
- [11] Sirica AE. Cholangiocarcinoma: molecular targeting strategies for chemoprevention and therapy[J]. *Hepatology*, 2005, 41(1):5-15.
- [12] Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, et al. RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer[J]. *Nat Med*, 2012, 18(3):378-381.
- [13] Lira ME, Choi YL, Lim SM, et al. A single-tube multiplexed assay for detecting ALK, ROS1, and RET fusions in lung cancer[J]. *J Mol Diagn*, 2014, 16(2):229-243.
- [14] Bergethon K, Shaw AT, Ou SH, et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(8):863-870.
- [15] Nagarajan L, Louie E, Tsujimoto Y, et al. The human c-ros gene (ROS) is located at chromosome region 6q16---6q22[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1986, 83(17): 6568-6572.
- [16] Jun HJ, Woolfenden S, Coven S, et al. Epigenetic regulation of c-ROS receptor tyrosine kinase expression in malignant gliomas[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(6): 2180-2184.
- [17] Rikova K, Guo A, Zeng Q, et al. Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer[J]. *Cell*, 2007, 131(6): 1190-1203.
- [18] Charest A, Wilker EW, McLaughlin ME, et al. ROS fusion tyrosine kinase activates a SH2 domain-containing phosphatase-2/ phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin signaling axis to form glioblastoma in mice[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(15):7473-7481.
- [19] Davare MA, Saborowski A, Eide CA, Tognon C, Smith RL, et al. Foretinib is a potent inhibitor of oncogenic ROS1 fusion proteins[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(48):19519-19524.
- [20] Farnebo M, Bykov VJ, Wiman KG. The p53 tumor suppressor: a master regulator of diverse cellular processes and therapeutic target in cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 396(1): 85-89.
- [21] Mork CN, Faller DV, Spanjaard RA. A mechanistic approach to anticancer therapy: targeting the cell cycle with histone deacetylase inhibitors[J]. *Curr Pharm Des*, 2005, 11(9):1091-1104.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 朱垒, 黄飞舟, 聂晚频, 等. FIG-ROS融合基因在肝内胆管细胞癌中表达及其意义[J]. 中国普通外科杂志, 2015, 24(2):199-205. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.02.009

Cite this article as: ZHU L, HUANG FZ, NIE WP, et al. Expression of FIG-ROS fusion gene in intrahepatic cholangiocarcinoma and its significance[J]. *Chin J Gen Surg*, 2015, 24(2):199-205. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.02.009