

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00621

## 肾细胞癌中染色体 3p、9p、14q 微卫星不稳定及杂合性缺失分析

陈海棠<sup>1△</sup>, 余永伟<sup>2△</sup>, 侯建国<sup>3</sup>, 常文军<sup>1</sup>, 余宏宇<sup>4</sup>, 赵晋丰<sup>1</sup>, 曹广文<sup>1\*</sup>

1. 第二军医大学卫生勤务学系流行病学教研室, 上海 200433

2. 第二军医大学长海医院病理科, 上海 200433

3. 第二军医大学长海医院泌尿外科, 上海 200433

4. 第二军医大学长征医院病理科, 上海 200003

**[摘要]** 目的:探讨肾细胞癌患者的微卫星不稳定(MSI)和杂合性缺失(LOH)的发生频率,并同时研究染色体微卫星变异与肾细胞癌临床病理特征之间的关系。方法:选取位于染色体 3p、9p、14q 上的共计 12 个微卫星多态性标记,采用 PCR-中性聚丙烯酰胺凝胶电泳-EB 染色和测序的方法对 31 例肾细胞癌患者的原发病灶和配对的转移病灶进行 MSI 和 LOH 分析。结果:MSI 发生频率可达 61.3%,LOH 频率可达 54.8%,其中以 D9S168 的 MSI 发生率最高为 32.3%,LOH 发生率最高的为 D3S1289,达 21.4%。经统计学检验结果显示,MSI 的发生频率与肾细胞癌的 TNM 分期具有相关性( $P < 0.05$ ),但 MSI 和 LOH 与肾细胞癌患者的性别、年龄和病理类型以及转移均无关( $P > 0.05$ )。结论:除 D3S1566 外的 11 个微卫星标记的 MSI 和 LOH 可能是一个增加肾癌易感性的危险因素,D9S168、D3S1289 是肾细胞癌中敏感的检测位点,在 D9S168 和 D3S1289 附近可能存在与肾细胞癌有关的癌基因/抑癌基因,从而影响肾癌的发生和发展。

**[关键词]** 肾肿瘤;肾细胞癌;微卫星不稳定;杂合性缺失

**[中图分类号]** R 737.11 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)06-0621-05

### Microsatellite instability and loss of heterozygosity on chromosome 3p, 9p and 14q in renal cell carcinoma

CHEN Hai-tang<sup>1△</sup>, YU Yong-wei<sup>2△</sup>, HOU Jian-guo<sup>3</sup>, CHANG Wen-jun<sup>1</sup>, YU Hong-yu<sup>4</sup>, ZHAO Jin-feng<sup>1</sup>, CAO Guang-wen<sup>1\*</sup>

1. Department of Epidemiology, Faculty of Medical Services, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Pathology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433

3. Department of Urology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433

4. Department of Pathology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003

**[ABSTRACT]** **Objective:** To investigate frequencies of microsatellite instability (MSI) and loss of heterozygosity (LOH) in renal cell carcinoma (RCC), and to discuss the relationship of clinicopathological characteristics of RCC with MSI and LOH. **Methods:** Twelve microsatellite markers located at chromosomes 3p, 9p and 14q were selected to investigate microsatellite alterations (MSI and LOH) in 31 RCC specimens and their paired metastasis specimens by polymerase chain reaction-polyacrylamide gel electrophoresis-ethylene dibromide (PCR-PAGE-EB) staining and sequencing. **Results:** The frequency of MSI could reached 61.3% and that of LOH could reach 54.8%. The highest frequency of MSI was at locus of D9S168 (32.3%); the highest frequency of LOH was at locus of D3S1289 (21.4%). No correlation was found between MSI or LOH and the patients' age, sex, pathology type and metastastis, except that MSI was correlated with TNM stage of RCC ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** MSI and LOH of 12 microsatellite markers, except for D3S1566, might be risk factors for RCC. D9S168 and D3S1289 are two sensitive loci in RCC, and they might be close to RCC-associated oncogenes or anti-oncogenes, which may influence the development and progression of RCC.

**[KEY WORDS]** kidney neoplasms; renal cell carcinoma; microsatellite instability; loss of heterozygosity

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(6): 621-625]

**[收稿日期]** 2007-11-21 **[接受日期]** 2008-03-06

**[基金项目]** 国家自然科学基金(30571609). Supported by National Natural Science Foundation of China(30571609).

**[作者简介]** 陈海棠, 硕士生, E-mail: cht906@sohu.com; 余永伟, 博士, 副教授.

△共同第一作者(Co-first authors).

\* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-25070420, E-mail: gcao@smmu.edu.cn

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)是泌尿系统最常见的恶性肿瘤之一,约占人类所有恶性肿瘤的3%。在泌尿系统肿瘤中,肾细胞癌的预后最差<sup>[1]</sup>。研究<sup>[2-6]</sup>表明肾细胞癌的发生发展与某些癌基因激活及抑癌基因失活有关。许多抑癌基因失活的典型改变是等位基因中一条缺失即杂合性缺失(loss of heterozygosity, LOH),通过分析微卫星多态标记 LOH 有助于发现可能存在的抑癌基因。微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)又称复制错误,首先在遗传性非息肉性结直肠癌中被发现<sup>[7]</sup>,随后在前列腺癌<sup>[8]</sup>、肝癌<sup>[9]</sup>、食管癌<sup>[10]</sup>等肿瘤中得以证实。本研究选取染色体 3p、9p、14q 上的 12 个微卫星位点对 31 例肾细胞癌患者的 MSI 和 LOH 进行检测,同时探讨 MSI 及 LOH 与肾细胞癌的临床病理参数之间的关系。

1 材料和方法

1.1 研究对象 收集第二军医大学长海医院病理科 2000 年 11 月至 2006 年 8 月间经病理诊断证实的 31 例肾细胞癌患者的原发性及配对的转移性标本 41 例(31 例为原发性,10 例为转移)。男性 20 例,女性 11 例,年龄 21~72 岁(中位年龄 58 岁)。根据 WHO 标准进行 TNM 分期,Ⅰ期 10 例,Ⅱ期 6 例,Ⅲ期 4 例,Ⅳ期 11 例。

1.2 实验材料 新鲜标本取自根治性肾细胞癌手术标本术后 30 min 内,分离肿瘤与周围正常组织后立即放入液氮速冻,-80℃冰箱保存备用。石蜡包

埋组织来自长海医院病理科存档标本。

1.3 基因组 DNA 抽提 新鲜冰冻组织采用传统的酚抽提的方法抽提。石蜡包埋组织切片厚度为 8 μm,每个标本切 3~4 块,光镜下微切割分离肿瘤与周围正常组织。石蜡切片经脱蜡后使用北京天根生化科技有限公司组织基因组 DNA 提取试剂盒抽提基因组 DNA。

1.4 PCR 扩增 根据文献<sup>[11-14]</sup>选取染色体上 12 个微卫星位点,从 UniSTS 中查得 12 个微卫星位点的引物序列(表 1),由上海英骏生物技术有限公司合成。PCR 反应体系:新鲜标本取 200 ng DNA 为模板(石蜡切片标本取 5 μl DNA 溶液为模板),200 μmol/L dNTP(A、T、C、G 等比例),1 μmol/L 引物,5 μl 10×Buffer,2.5 U Taq 酶,补充 ddH<sub>2</sub>O 至总体积为 50 μl。PCR 反应参数:105℃热盖,95℃预变性 4 min,94℃ 1 min,55~62℃退火新鲜标本 30 s(石蜡标本 1 min),72℃延伸新鲜标本 30 s(石蜡标本 1 min),新鲜标本 30 个循环(石蜡标本 35 个循环),最后一轮扩增延伸新鲜标本 5 min(石蜡标本 10 min),4℃保存。对于石蜡切片标本第 1 次扩增不理想的采用二次 PCR 方法,二次 PCR 反应体系:1 μl 第一次 PCR 产物为模板,200 μmol/L dNTP(A、T、C、G 等比例),0.5 μmol/L 引物,5 μl 10×Buffer,1.25 U Taq 酶,补充 ddH<sub>2</sub>O 至总体积为 50 μl,二次 PCR 反应参数与第一次 PCR 相同。扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下观察扩增条带的纯度并估计浓度。

表 1 12 个微卫星位点的引物序列  
Tab 1 Primer sequences of 12 microsatellite markers

Locus	Region	Primer	
		Sense Primer	Anti-sense Primer
D14S617	14q31	5'-TTT TAG GTG GCC ACC ATC TA-3'	5'-CCA GTT TAG GCA ACA GAA CA-3'
D14S260	14q32	5'-TTT GAA AAT GTA AAA GTG TTA TTC C-3'	5'-GAT TTT GTT TAT GTG GGT TAT GTC-3'
D14S1426	14q32	5'-CCT GGG CGA CAG TAA TGG-3'	5'-GGG AGA GGC CCT GTA TTA GT-3'
D3S1560	3p26	5'-CCC CGT TTT TTT ACT GAT CT-3'	5'-CCT GAT AAT GGA ACT GTG ACA-3'
D3S1289	3p21.1	5'-AGC AAC TTG TAA GAG AGC ATT C-3'	5'-AAT GCT CCA TTT TCT CCT TC-3'
D3S1300	3p14.2	5'-AGC TCA CAT TCT AGT CAG CCT-3'	5'-GCC AAT TCC CCA GAT G-3'
D3S1566	3p13	5'-GCT GCT GAA GCA CCA AAT C-3'	5'-CTC GTT GGA AAT CAT TCT GAG G-3'
D3S1663	3p11	5'-CGG CAA CAG ACA GAC TGT A-3'	5'-GCA GTG CCA GTA AAG AGT G-3'
D9S171	9p21	5'-AAG TGA ACC TCA TCT CTG TCT G-3'	5'-CAA CCC TAG CAC TGA TGG TA-3'
D9S157	9p22	5'-CAT TTC ATC TGG TAG ACC CA-3'	5'-TTT GAT TGG CTG GAA GTA GA-3'
D9S1749	9p21	5'-AGG AGA GGG TAC GCT TGC AA-3'	5'-TAC AGG GTG CGG GTG CAG ATA A-3'
D9S168	9p23	5'-TGG TCT TTG TAA GGT AGT GCA-3'	5'-CCC ACA TTG ACT GTT TGA AT-3'

1.5 PCR-中性聚丙烯酰胺凝胶电泳-EB 染色检测 MSI 及 LOH 取上述 PCR 产物 5 μl,加入适量上

样缓冲液,上样于 6% 非变性聚丙烯酰胺凝胶(丙烯酰胺:甲叉双丙烯酰胺为 19:1)上,160 V 电压下

至二甲苯腈距凝胶底部 0.5 cm, 停止电泳, 将凝胶放入 EB 浓度为 0.5  $\mu\text{g/ml}$  的  $1\times\text{TBE}$  液中浸泡 30 min 后, 取出凝胶放入紫外摄影仪中观察结果并拍照, 记录结果。MSI 及 LOH 判断标准: 将肿瘤样本与自身正常组织比较, 若肿瘤组织出现等位带的移位或带的强度增加或获得额外的带型即判断为 MSI。若肿瘤组织较正常对照组织出现某一基因条带消失或密度减少 50% 以上, 判断为杂合性缺失。

1.6 测序检测 MSI 及 LOH 抽取部分 PCR 扩增产物经北京天根生化科技有限公司测序检测 MSI 及 LOH。测序结果的 MSI 及 LOH 判断标准: 将肿瘤组织与自身正常组织对照, 按照重复片段的数目变化可以分为扩增(数目增加)、丢失(数目减少)、缺失(完全丢失)及置换(被其他 DNA 取代), 将杂合子重复片段的丢失与缺失判断为 LOH, 而杂合子重复片段的扩增与置换判断为 MSI。

1.7 统计学处理 使用 SPSS 12.0 软件, 采用 Fisher 精确概率法对结果进行分析, 双侧检验, 检验水准为 0.05。

## 2 结果

2.1 微卫星不稳定性分析 除了其中 2 个样品测序失败无法比较结果外, 其余测序样品两种方法检测结果一致, 详见图 1。31 例中 1 个位点以上(包含 1 个位点)发生 MSI 的病例至少为 19 例, 可达 61.3%(19/31), 出现频率最高的位点是 D9S168, 达 32.3%(10/31, 图 2A), 其次为 D3S1560, 发生率为 10.7%(3/28), D14S617 为 9.7%(3/31), D3S1300 为 8.7%(2/23), D9S171 为 6.9%(2/29), D14S260 为 4.3%(1/23), D3S1633 为 3.7%(1/27), D9S1749 为 3.7%(1/27), D14S1426 为 3.3%(1/30)。D3S1289(0/28)、D9S157(0/23)、D3S1566(0/26)位点没有发现 MSI。

2.2 杂合性缺失的分析 31 例中 1 个位点以上(包含 1 个位点)发生 LOH 的病例至少为 17 例, 可达 54.8%(17/31), 其中 D3S1289 的 LOH 发生频率最高为 21.4%(6/28, 图 2B), 其次 D9S157 为 13.0%(3/23), D3S1300 为 13.0%(3/23), D14S617 为 12.9%(4/31), 紧接着分别为: D9S168 为 9.7%(3/31), D14S260 为 8.7%(2/23), D3S1560 为 7.1%(2/28), D14S1426 为 6.7%(2/30), D9S171 为 3.4%(1/29)。D3S1566(0/26)、D3S1633(0/27)、D9S1749(0/27)未发现杂合性缺失。

2.3 肾细胞癌的 MSI 及 LOH 与其临床病理学特征的相关性分析 经 Fisher 确切概率法双侧检验得肾细胞癌的 MSI 及 LOH 发生率与患者的性别、年龄、病理类型及有无转移之间无统计学关联( $P>0.05$ ), 但 MSI 的发生频率与肾细胞癌的 TNM 分期具有相关性( $P<0.05$ , 表 2)。

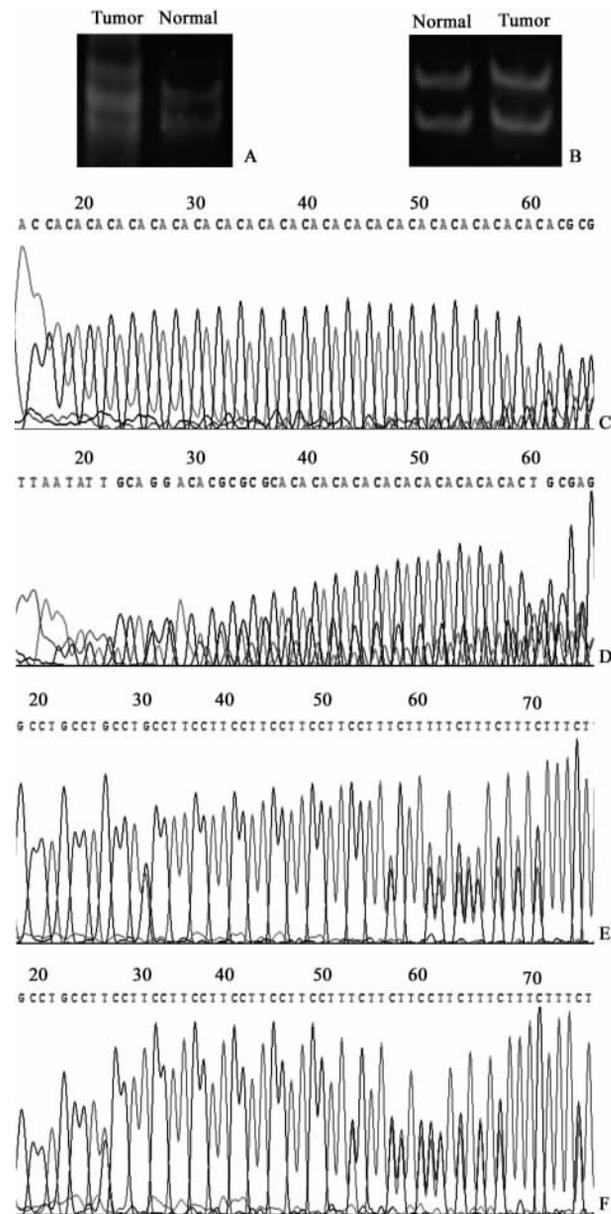


图 1 D3S1560 位点与 D14S617 位点  
同一样品 PCR-中性聚丙烯酰胺凝胶电泳-EB 染色(A、B)  
与测序(C-F)检测结果比较

Fig 1 Comparison of PCR-PAGE-EB staining results(A, B) and DNA sequencing results(C-F) in the same samples at loci of D3S1560 and D14S617

A: MSI at locus of D3S1560; B: Negative at locus of D14S617; C, D: MSI at locus of D3S1560 (C: Tumor; D: Normal); E, F: Negative at locus of D14S617 (E: Tumor; F: Normal)



图 2 D9S168 位点微卫星不稳定(A)和 D3S1289 位点杂合性缺失(B)

Fig 2 MSI at locus D9S168(A) and LOH at locus D3S1289(B)

表 2 肾细胞癌的 MSI 及 LOH 与其临床病理特征的关系

Tab 2 Relationship of MSI and LOH frequencies with different clinicopathological characteristics of RCC

Index	MSI	P	LOH	P	MSI and LOH simultaneously	P
Sex						
Male	65.0%(13/20)	0.705	50.0%(10/20)	0.707	25.0%(5/20)	0.423
Female	54.5%(6/11)		63.6%(7/11)		45.5%(5/11)	
Age						
≤40 years	75.0%(3/4)	1.000	75.0%(3/4)	0.607	50.0%(2/4)	0.577
>40 years	59.3%(16/27)		51.9%(14/27)		29.6%(8/27)	
Histological classification						
Clear cell RCC	58.6%(17/29)	1.000	55.2%(16/29)	0.710	31.0%(9/29)	0.549
Papillary RCC	100%(1/1)		100%(1/1)		100%(1/1)	
Multilocular RCC	100%(1/1)		0%(0/1)		0%(0/1)	
TNM stage grouping						
Stage I	60.0%(6/10)	0.043	60.0%(6/10)	0.617	30.0%(3/10)	0.134
Stage II	16.7%(1/6)		50.0%(3/6)		0%(0/6)	
Stage III	100%(4/4)		25.0%(1/4)		25.0%(1/4)	
Stage IV	72.7%(8/11)		63.6%(7/11)		54.5%(6/11)	
Metastasis						
No	55.6%(10/18)	0.484	55.6%(10/18)	1.000	22.2%(4/18)	0.247
Yes	69.2%(9/13)		53.8%(7/13)		46.2%(6/13)	

### 3 讨论

现有的研究<sup>[15-20]</sup>发现 RCC 在多条染色体上出现变异,本次研究选取了位于 3 个不同染色体片段上的微卫星位点,相比较以往只选取单一染色体片段上微卫星位点的研究更具有代表性,一个位点以上发生 MSI 和 LOH 的频率分别可高达 61.3%、54.8%。12 个微卫星位点 MSI、LOH 发生率以及其与临床指标之间的关系与以往文献报道<sup>[11-14]</sup>的结果相差比较大,可能是因为选取的人群、检测的方法、样本含量等因素的不同导致,但微卫星位点 MSI、LOH 的发生与性别、年龄无关与上述文献一致。本次研究发现除了 D3S1566 位点没有发现 MSI、LOH 外,其余位点都有不同频率的 MSI 或 LOH,说明微卫星多态性与肾癌的发生有一定关系,可能增加肾癌的易感性。其中 D9S168 MSI 发生率高达 32.3%,推测 D9S168 可能与某些 DNA 错

配修复基因有密切关系,从而影响肾癌的发生发展。目前已发现人类 6 个错配修复基因,hM-SH2、hM-SH6(GTBP)、hMLS3、hMLH1、hPMS1 和 hPMS2,具体和哪些错配基因有关系,还需进一步研究,也可能与某个未知的错配基因有关。D3S1289 的 LOH 发生频率最高为 21.4%(6/28),提示此处可能与某个抑癌基因有密切关联。已有的队列研究发现多个微卫星位点微卫星多态性与肾细胞癌<sup>[21]</sup>、结肠直肠癌<sup>[22]</sup>、子宫内膜癌<sup>[23]</sup>、头颈部癌<sup>[24]</sup>等多种肿瘤转移、低生存率有关,而本次病例对照研究结果显示微卫星位点的多态性与肾癌转移无关,笔者认为可能是因为对于肾癌而言转移是必然的,而本次选取的微卫星位点的多态性可能只是影响转移的进程,具体情况还需要扩大样本进行队列研究证实。此外本次研究中发现有一定数量的病例同时出现 MSI 和 LOH,提示 RCC 的发生和发展是多因素作用的结果。

常用检测 MSI 和 LOH 的方法有 PCR-SSCP、PCR-变性聚丙烯酰胺凝胶电泳、测序、基因组扫描等,染色方法有放射自显影技术、银染色和微卫星荧光 DNA 技术,本次研究采用 PCR-中性聚丙烯酰胺凝胶电泳-EB 染色的方法,实验过程较以往简单,成本也比较低廉,分辨率高,检测结果可靠,而测序虽然结果更为直观,对于某些碱基的突变类型的信息更丰富更准确,但是因为微卫星位点片段一般 < 200 bp,且存在重复序列,容易测序失败,或者误差太大,对结果无法判断。

本次实验过程中石蜡切片标本部分 PCR 扩增失败,其原因可能是石蜡标本在脱蜡过程中造成基因组 DNA 断裂,或者用于脱蜡的试剂没有清洗干净,影响了后续基因组提取的纯度和浓度,从而阻碍了某些位点的 PCR 扩增;也有可能是该样本在某些位点出现等位基因双双缺失;还有可能就是由于个体差异,该样品在某些位点有复杂的结构,不容易 PCR 成功。此外人类基因组中的微卫星位点有数万个,此次研究选取的位点只是其中的一小部分,因而还需要更进一步的研究。

#### [参考文献]

- [1] Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari R C, Ghafoor A, et al. Cancer statistics, 2005[J]. CA Cancer J Clin, 2005, 55: 10-30.
- [2] Fujimoto E, Sato H, Shirai S, Nagashima Y, Virgona N, Hagiwara K, et al. Inhibition of Src activity enhances the tumor-suppressive effect of the connexin 32 gene in Caki-1 renal cancer cells [J]. Oncol Rep, 2006, 15: 1359-1365.
- [3] Alchanati I, Nallar S C, Sun P, Gao L, Hu J, Stein A, et al. A proteomic analysis reveals the loss of expression of the cell death regulatory gene GRIM-19 in human renal cell carcinomas [J]. Oncogene, 2006, 25: 7138-7147.
- [4] Gollob J A, Wilhelm S, Carter C, Kelley S L. Role of Raf kinase in cancer; therapeutic potential of targeting the Raf/MEK/ERK signal transduction pathway[J]. Semin Oncol, 2006, 33: 392-406.
- [5] Choi J S, Kim M K, Seo J W, Choi Y L, Kim D H, Chun Y K, et al. MET expression in sporadic renal cell carcinomas[J]. J Korean Med Sci, 2006, 21: 672-677.
- [6] Abdulrahman M, Maina E N, Morris M R, Zatyka M, Raval R R, Banks R E, et al. Identification of novel VHL targets that are associated with the development of renal cell carcinoma[J]. Oncogene, 2007, 26: 1661-1672.
- [7] Thibodeau S N, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon[J]. Science, 1993, 260: 816-819.
- [8] Wullich B, Verelst S, Rohde V, Moll V, Lensch R, Retz M, et al. High frequency microsatellite instability in mucinous adenocarcinoma of the prostate[J]. J Urol, 2001, 165: 912-913.
- [9] Fang D C, Fang L, Wang R Q, Yang S M. Nuclear and mitochondrial DNA microsatellite instability in hepatocellular carcinoma in Chinese[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10: 371-375.
- [10] Matsumoto Y, Nagasaka T, Kambara T, Hoshizima N, Murakami J, Sasamoto H, et al. Microsatellite instability and clinicopathological features in esophageal squamous cell cancer[J]. Oncol Rep, 2007, 18: 1123-1127.
- [11] Alimov A, Sundelin B, Wang N, Larsson C, Bergerheim U. Loss of 14q31-32. 2 in renal cell carcinoma is associate with high malignancy grade and poor survival[J]. Int J Oncol, 2004, 25: 179-185.
- [12] Junker K, Thrum K, Schlichter A, Muller G, Hindermann W, Schubert J. Clonal origin of multifocal renal cell carcinoma as determined by microsatellite analysis[J]. J Urol, 2002, 168: 2632-2636.
- [13] Mitsumori K, Kittleson J M, Itoh N, Delahunt B, Heathcott R W, Stewart J H, et al. Chromosome 14q LOH in localized clear cell renal cell carcinoma[J]. J Pathol, 2002, 198: 110-114.
- [14] Grady B, Goharderakhshan R, Chang J, Ribeiro-Filho L A, Perinchery G, Franks J, et al. Frequently deleted loci on chromosome 9 may harbor several tumor suppressor genes in human renal cell carcinoma[J]. J Urol, 2001, 166: 1088-1092.
- [15] Nagao K, Yoshihiro S, Matsuyama H, Yamaguchi S, Oba K, Naito K. Clinical significance of allelic loss of chromosome region 5q22. 3 approximately q23. 2 in nonpapillary renal cell carcinoma[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2002, 136: 23-30.
- [16] Kallio J P, Mahlamaki E H, Helin H, Karhu R, Kellokumpu-Lehtinen P, Tammela T L. Chromosomal gains and losses detected by comparative genomic hybridization and proliferation activity in renal cell carcinoma[J]. Scand J Urol Nephrol, 2004, 38: 225-230.
- [17] Korenaga Y, Matsuyama H, Hirata H, Nagao K, Ohmi C, Sakano S, et al. Smoking may cause genetic alterations at 5q22. 2 approximately q23. 1 in clear-cell renal cell carcinoma[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2005, 163: 7-11.
- [18] Brandal P, Lie A K, Bassarova A, Svindland A, Risberg B, Danielsen H, et al. Genomic aberrations in mucinous tubular and spindle cell renal cell carcinomas[J]. Mod Pathol, 2006, 19: 186-194.
- [19] Argani P, Olgac S, Tickoo S K, Goldfischer M, Moch H, Chan D Y, et al. Xp11 translocation renal cell carcinoma in adults: expanded clinical, pathologic, and genetic spectrum[J]. Am J Surg Pathol, 2007, 31: 1149-1160.
- [20] Brunelli M, Gobbo S, Cossu-Rocca P, Cheng L, Hes D, Delahunt B, et al. Chromosomal gains in the sarcomatoid transformation of chromophobe renal cell carcinoma[J]. Mod Pathol, 2007, 20: 303-309.
- [21] Kaku H, Ito S, Ebara S, Ouchida M, Nasu Y, Tsushima T, et al. Positive correlation between allelic loss at chromosome 14q24-31 and poor prognosis of patients with renal cell carcinoma[J]. Urology, 2004, 64: 176-181.
- [22] Vidaurreta M, Maestro M L, Rafael S, Vezanones S, Sanz-Casla M T, Cerdón J, et al. Telomerase activity in colorectal cancer, prognostic factor and implications in the microsatellite instability pathway[J]. World J Gastroenterol, 2007, 13: 3868-3872.
- [23] An H J, Kim K I, Kim J Y, Shim J Y, Kang H, Kim T H, et al. Microsatellite instability in endometrioid type endometrial adenocarcinoma is associated with poor prognostic indicators[J]. Am J Surg Pathol, 2007, 31: 846-853.
- [24] Rosa F E, dos Santos R M, Poli-Frederico R C, Canevari R de A, Nishimoto I N, Magrin J, et al. Shorter CAG repeat length in the AR gene is associated with poor outcome in head and neck cancer[J]. Arch Oral Biol, 2007, 52: 732-739.