

DOI:10.3872/j.issn.007-385X.2017.05.017

· 综 述 ·

## 分子进化理论在卵巢癌发生及多药耐药的研究进展

Progress of molecular evolution theory in research on tumorigenesis and multidrug-resistance of ovarian cancer

张丽滢 综述;李力 审阅(广西医科大学附属肿瘤医院 妇瘤科暨区域性高发肿瘤早期防治研究教育部重点实验室,广西南宁 530021)

[摘要] 卵巢癌是女性生殖系统恶性肿瘤病死率最高的疾病,多药耐药现象在卵巢癌治疗中普遍存在,严重影响治疗效果及卵巢癌患者的生存率。基因测序技术及生物信息学的迅猛发展使精确寻找癌症发生发展的关键靶点成为可能,分子进化理论研究为此提供了重要的理论及技术支持。卵巢癌患者及耐药相关突变基因包括 *P53* 基因、*BRCA1/BRCA2* 基因等等。分子进化理论可在确定导致癌症发生或耐药的关键突变位点方面提供新思路,该理论有助于从新的方向阐释癌细胞耐药的相关机制,从而更有针对性地提出治疗的有效措施。

[关键词] 卵巢癌;分子进化;多药耐药

[中图分类号] R737.31; R730.2; R730.5 [文献标识码] A [文章编号] 1007-385X(2017)05-0553-05

分子进化学说起源于达尔文的进化论,是指为适应环境改变,进化过程中生物大分子的演变现象。分子进化分析运用统计学、数学和计算机科学的方法通过 DNA 及蛋白质的分子序列数据进行研究,利用序列间的相似性、进化速率、分歧时间、以及系统进化树估测分子间的亲缘关系。此外,对具有适应性进化的蛋白质序列进行正选择位点分析,可为识别重要的功能位点和氨基酸结构提供信息。卵巢癌的发病率在女性生殖器恶性肿瘤中占第 2 位,但是病死率高居第 1 位<sup>[1]</sup>。由于卵巢癌早期发病隐匿,并无明显的临床症状,缺乏可靠的早期检测方法,约 70% 的患者初次诊断时已经为肿瘤晚期,其 5 年生存率仅为 36% ~ 46%,而中国卵巢癌患者病死率呈升高趋势<sup>[1-2]</sup>。针对初次诊断的卵巢上皮癌患者,其标准治疗方案是肿瘤细胞减灭术加术后以铂类药物为基础的辅助化疗。但癌细胞会对化疗药物产生耐药,往往导致化疗失败,是引起卵巢癌复发、转移及病死率居高不下的关键环节,严重制约患者生存率的提高<sup>[3]</sup>。分子进化理论有助于从新的方向阐释癌细胞耐药的相关机制,从而更有针对性地提出治疗的有效措施。本文就近年来分子进化理论在卵巢癌发生及多药耐药中的研究进展综述如下。

### 1 分子进化理论

#### 1.1 分子进化理论的历史和意义

达尔文指出,自然选择是生物进化的关键因素,可分为正选择、负选择和中性选择 3 种方式。正选择是适应进化的重要基础,是指历史迁徙过程中生

存环境的改变产生选择压力作用,处于选择压力下的生物为适应特殊的环境,局部结构和功能发生相应的变化。上世纪 60 年代,以 Zuckerkandl 及 Linus Pauling 为代表的科学家在对比了来源于不同生物系统的同一血红蛋白分子的氨基酸排列顺序后,提出某一蛋白在不同物种间的取代数与所研究物种间的分歧时间接近正线性关系,进而将分子水平的这种恒速变异称为“分子钟”。分子钟可用于粗略估算不同生物类群间的进化时间,亦可用于构建进化树。随着 DNA 测序技术的发展,人们开始从核酸水平上寻找自然选择存在的证据,并提出了一系列相关的检验方法<sup>[4-5]</sup>。在一些模式生物以及人类基因组中,一些区域在一定的时间段经历了自然选择,导致功能及表型上的分化<sup>[6-7]</sup>。

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81572579, 81660430);广西科学研究与技术开发计划课题资助项目(No. 桂科攻 14124004-1-24);广西自然科学基金资助项目(No. 2014jjAA40637);广西卫生和计划生育委员会自筹经费课题资助项目(No. Z2016288)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 81572579, 81660430), the Scientific Research and Technology Development Program of Guangxi(No. 14124004-1-24), the Natural Science Foundation of Guangxi(No. 2014jjAA40637), and Self-fund Project of Guangxi Health and Family Planning Commission(No. Z2016288)

[作者简介] 张丽滢(1984-),女,博士生,主治医师,主要从事妇科肿瘤学的基础及临床研究,现工作单位:广西医科大学第二附属医院妇科,E-mail: zhangliying@gxmu.edu.cn

[通信作者] 李力(LI Li, corresponding author),博士,教授,主任医师,博士生导师,主要从事妇科肿瘤的基础及临床研究,E-mail: lili@gxmu.edu.cn

## 1.2 分子进化理论的原理

在生命体进化或发育过程中, 编码氨基酸的核苷酸可能会发生突变, 而其中大部分为同义突变, 小部分为非同义突变。同义突变是指由于密码的简并性, 发生在基因编码区的突变可能并不改变编码的氨基酸, 反之则称为非同义突变。一般认为, 非同义突变受到正选择或负选择作用。目前常用非同义替代速率( $dN$ )与同义替代速率( $dS$ )的比值  $\omega$  ( $\omega = dN/dS$ ) 来衡量是否有选择压力作用于蛋白质编码基因。如果  $\omega > 1$ , 则认为有正选择效应; 如果  $\omega = 1$ , 则认为存在中性选择; 如果  $\omega < 1$ , 则认为有负选择作用<sup>[8]</sup>。

## 1.3 分子进化分析的主要步骤

可由序列的获取、序列的比对、构建进化树、选择压力计算四步完成。

## 2 分子进化理论在肿瘤研究中的应用

癌症是人类至今尚未攻克的致死性疾病, 对大多数癌症来说, 其起源仍然不明确。化疗作为最常用的药物治疗方案, 治疗效果差强人意, 毒、副反应也较大。人们试图针对肿瘤细胞寻找靶向性强、毒副反应小的药物, 但迄今为止, 只有少数靶向药物能增加患者的生存期, 但仅增加数月, 且费用昂贵。随着基因测序技术及分子进化理论的发展, 人们开始从分子进化的角度去探讨癌症起源, 希望能从癌症进化的过程中追踪到疾病转变的关键线索, 从而寻找到理想的治疗靶点。目前分子进化理论在肿瘤研究中的应用主要在以下两个方向:

### 2.1 从长期的物种进化史探讨癌症发生发展过程

在对癌相关基因的研究中发现, 许多致癌基因早在远古时期就已经出现, 并且癌相关基因多是高度保守的。且癌症几乎出现在所有后生动物体内, 这也提示癌症的发生机理就隐藏在物种进化历史之中。有研究<sup>[9]</sup>认为癌症是细胞的返祖行为, 而导致这种现象的原因则是基因保守的原始特性由于抑制调控的解除而出现了表达。把癌症的发生和发展看成进化过程能让人们了解相关机制以及提供新的治疗可能<sup>[10-11]</sup>。癌症进化过程有两个水平: 一是个体对癌基因和癌细胞的机体选择, 二是群体对致癌和抑癌基因的自然选择<sup>[12-14]</sup>。局部微环境的选择压力是造成基因组不稳定从而诱发组织癌变的重要原因。面对恶劣环境压力的选择, 能够做出适应性选择的基因功能才可能得到保存<sup>[15]</sup>。基因测序技术的发展从分子水平提供了驱使癌症发生机制的证据。癌关联基因的进化历史研究将有助于阐释癌症

发生发展的相关机制<sup>[16]</sup>。有研究对结肠癌相关的突变基因进行文本挖掘, 找到 22 个基因与生殖细胞突变相关, 并下载 26 种同源脊椎动物的基因序列进行选择压力分析, 显示 *STK11*、*CDHI*、*VHL* 基因在人类进化分支上受到明显的正选择压力, 其中 *STK11*、*CDHI* 基因通过 Hapmap 数据库验证存在数个受到正选择压力的 SNP ( $iHS > 2$ )<sup>[17]</sup>。

### 2.2 基于个人或癌症种类来源的进化分析

1976 年 Nowell 提出了“克隆进化模型”, 即癌症起源于单个突变的正常细胞, 随后扩增过程中发生的基因突变逐渐增强肿瘤细胞群的生存优势, 并最终导致非整倍性的快速增殖, 从而引发异质性。该模型从进化角度提出了癌症及异质性的发生机制<sup>[16]</sup>。肿瘤与其他生物一样受到自然选择的作用, 肿瘤治疗过程中的耐药现象是肿瘤细胞为适应微环境发生基因突变的结果, 肿瘤生长传代过程中突变不断产生, 导致种群中出现基因表型不同的细胞。对化疗药物不敏感的细胞存活下来, 迅速增殖, 并且无论使用哪种药物, 肿瘤都能进化出适应该药物的部分细胞, 并逐渐形成药物抵抗<sup>[18]</sup>。基于以上癌症的发生发展过程, 人们试图构建每种癌症共同的进化树, 从而寻找到针对特定来源癌细胞的有效靶点, 甚至构建出个体癌症细胞的进化树, 针对不同患者选取最适合个体的治疗方案, 实现精准治疗。

目前, 计算机方法可以利用单细胞基因测序数据构建出肿瘤进化图谱, 如 SCITE 和 OncoNEM 技术<sup>[19]</sup>。研究者可以对来源于同一患者不同突变类型的癌细胞进行测序, 使用计算机方法构建进化树, 识别出进化过程, 并追溯到同一个原始祖细胞<sup>[20]</sup>。最早发生在癌细胞中的突变位于进化树的主干上, 这些突变会存在于所有肿瘤细胞中, 后发生的突变则仅会存在于进化树的分支上。靶向进化树主干中的突变可达到较好的治疗效果。对 TCGA 数据库中肺癌患者的分析发现, 主干突变较多的患者生存期更长, 并且携带较多主干突变的癌症患者对免疫治疗响应更好<sup>[21]</sup>。一项对 13 例胰腺癌患者原发灶及转移灶的研究构建了原发灶与转移灶的进化树, 显示启动扩增的癌基因主要发生在癌症早期, 而不是疾病的后期阶段, 且癌基因进化趋势显示出器官分支特异性<sup>[22]</sup>。另一项研究对从美洲印第安人群及亚洲人群中提取出来的幽门螺杆菌进行 *cagA* 基因测序, 并使用  $\omega$  值进行正选择分析, 结果显示其受到明显的正选择压力, 其中包括可调节基因致癌性的 EPIYA 区域, 表明该基因的致癌区域正在经历适应性进化<sup>[23]</sup>。

### 3 分子进化理论在卵巢癌发生及耐药中的应用

卵巢癌是目前世界上病死率最高的妇科恶性肿瘤,包括组织来源于卵巢、输卵管、腹膜的恶性肿瘤,可分为5种主要的组织学亚型:高级别浆液性癌、子宫内膜样癌、透明细胞癌、黏液性癌和低级别浆液性癌。这些亚型的临床表现和分子水平都有区别。其中以高级别浆液性卵巢癌最为常见,病死率高达70%~80%,且近几十年来总生存率并没有明显的变化。对其进行的分子分析揭示了卵巢癌显著的遗传异质性,目前已投入临床使用的肿瘤靶向药物并无针对卵巢癌的特效药,通用的靶向药物也并未显示出明显的治疗效果,因此,这种亚型一直是研究的重点<sup>[24]</sup>。近年依据形态学和分子遗传学又将卵巢癌分为两类:I型和II型<sup>[25]</sup>。I型癌指有证据表明从良性、交界性到恶性转化证据的癌,如子宫内膜样癌、低级别浆液性癌、黏液性癌和透明细胞癌等,生物学行为相对不活跃,往往局限于卵巢,有稳定基因组,且无P53基因突变。II型癌主要指高级别浆液性癌、癌肉瘤等,此类肿瘤在原位癌阶段即为高级别,或难以发现原位癌阶段,生物学行为活跃,基因组高度不稳定,大部分患者有P53基因突变,高度甲基化,或者BRCA1/2功能异常,此类型占有上皮性卵巢癌的75%,病死率高达90%。目前对初次诊断的上皮性卵巢癌患者标准治疗方案是最大程度的肿瘤细胞减灭术及基于铂类联合紫杉醇药物的化疗。但由于卵巢癌的高度异质性,经标准治疗后的患者多在2~3年内复发,并对化疗药物产生多药耐药(multidrug resistance, MDR)。MDR是肿瘤细胞在接触一种抗癌药物后,不但对该药产生耐药,而且还对其他结构和作用机制不同的药物也产生抗药性,出现交叉耐药。肿瘤细胞MDR的机制尚不清楚,虽然世界各国投入大量人力财力进行研究,这一难题至今尚未攻克。随着癌症进化学说的发展,近年来有学者运用分子进化理论寻找卵巢癌治疗的切入点。

目前P53基因是经多项研究证实可在不同卵巢癌患者身上检测出的稳定突变基因,突变率可达21.3%,并与耐药相关<sup>[26-28]</sup>。有研究<sup>[29]</sup>对该基因在26种哺乳动物中进行进化分析,显示多个氨基酸位点受到正选择压力。另一研究<sup>[30]</sup>对多物种序列进行进化分析,构建了P53家族成员的进化树,并预测了蛋白二级结构及功能。2015年,有学者<sup>[31]</sup>从一名IIIc期的高级别卵巢癌患者进行化疗前行肿瘤细胞减灭术时取出11份标本,包括原发病灶及转移

灶、正常组织,对本标本进行全基因组测序及拷贝数分析,其中对大网膜标本进行外显子深度测序以探讨转移病灶的变异情况。在体细胞突变和拷贝数变异谱的基础上,建立了一棵系统发育树,探讨肿瘤样本之间的进化关系。结果显示在各样本中,只有P53基因均发生突变,在原发灶中鉴定出两组基因簇P1及P2,转移灶中分离出基因簇M,从系统发育树上推断出P1及P2在原发灶早期即开始分化,而转移基因簇M起源于原发灶中的P1,推断卵巢癌的瘤内异质性及转移灶异质性在病情发展的早期即开始发生。

另一常见于卵巢癌患者及耐药相关的突变基因是BRCA1/BRCA2<sup>[27-28]</sup>。2014年的一项研究<sup>[32]</sup>运用PAML软件对23种灵长类动物的BRCA1基因进行选择压力分析,位点模型显示该基因的10个氨基酸位点受到明显的正选择压力,支模型结果提示其中在人类、倭黑猩猩、黑猩猩三个分支上正选择压力更明显。该研究同时还对BRCA2基因进行相同分析,显示亦受到明显的正向选择压力。

近年来,基因编辑技术CRISPR/Cas9的出现极大地推动进化领域的发展。很多研究者利用该项技术将与重要器官的发育相关的DNA序列插入到活体动物机体中或者敲除该基因以观察实验后动物相关表型的发育情况。肿瘤学家也开始将这一技术引入到卵巢癌的机制研究中。2016年8月发表的一项研究<sup>[33]</sup>显示,研究人员使用CRISPR/Cas9技术成功建立高级别卵巢癌ID8细胞模型,包括单抑癌基因缺失型(P53<sup>-/-</sup>)及双抑癌基因缺失型(P53<sup>-/-</sup>, BRCA2<sup>-/-</sup>)。其中单P53缺失型原位肿瘤的生长率明显增高,并受免疫微环境的显著影响,对免疫抑制髓系细胞群在原发肿瘤及腹水中的浸润起到推动作用。而相较P53缺失型,双抑癌基因缺失型细胞对PARP抑制剂的敏感度相对增加,原位肿瘤的生长率更慢。这项研究证实了CRISPR/Cas9技术可用于建立卵巢癌细胞模型,探讨其生物学功能并促进靶向治疗药物的研究。中国的研究人员<sup>[34]</sup>建立了因PRKAG2基因突变所引起的PRKAG2心脏综合征小鼠模型,将CRISPR/Cas9与AAV9载体结合起来进行活体基因编辑,在小鼠出生第4天或第42天一次性注射AAV9-Cas9/sgRNA,可以显著恢复小鼠心的形态和功能。即是说目前的技术可以将CRISPR/Cas9系统与各种载体结合起来进行活体基因编辑,可选择性破坏带有致病位点突变的等位基因,同时不影响野生型等位基因,从而使治疗基因突变引起的癌症成为现实。而如何确定导致癌症发生或耐药

的关键突变位点,分子进化理论可在探索这个问题的答案中提供新思路。

#### 4 展 望

虽然目前癌症进化是癌症研究中的热点,但也有研究<sup>[35]</sup>指出,由于卵巢癌高度的瘤内异质性,在基于大多数线性理论模型上运用群体基因数据研究耐药机制并不可信,使用简单的建模不会产生临床相关的结果。迄今尚无能普遍应用于临床的癌症进化树模型,进化分析时应该采用群体序列分析还是单细胞序列分析还有待进一步探讨,已用计算机算法检测出来的正选择位点还需大量实验进一步验证。分子进化研究在癌症治疗中有广阔的前景和发展空间,随着研究的深入,有望在精准治疗的研究大潮中提供有力的证据支持。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016 [ J ]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66( 1 ): 7-30. DOI: 10.3322/caac.21332.
- [ 2 ] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [ J ]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66( 2 ): 115-132. DOI: 10.3322/caac.21338.
- [ 3 ] MORGAN J R, ARMSTRONG D K, ALVAREZ R D, et al. Ovarian cancer, version 1. 2016, NCCN clinical practice guidelines in oncology [ J ]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2016, 14( 9 ): 1134-1163.
- [ 4 ] XU B, YANG Z. PAMLX: a graphical user interface for PAML [ J ]. *Mol Biol Evol*, 2013, 30( 12 ): 2723-2724. DOI:10.1093/molbev/mst179.
- [ 5 ] DELPORT W, POON A F, FROST S D, et al. Datamonkey 2010: a suite of phylogenetic analysis tools for evolutionary biology [ J ]. *Bioinformatics*, 2010, 26( 19 ): 2455-2457. DOI: 10.1093/bioinformatics/btq429.
- [ 6 ] WANG M S, ZHANG R W, SU L Y, et al. Positive selection rather than relaxation of functional constraint drives the evolution of vision during chicken domestication [ J ]. *Cell Res*, 2016, 26( 5 ): 556-573. DOI:10.1038/cr.2016.44.
- [ 7 ] CORSO J, MUNDY N I, FAGUNDES N J, et al. Evolution of dark colour in toucans ( ramphastidae ): a case of molecular adaptation [ J ]? *J Evol Biol*, 2016, 29( 12 ): 2530-2538. DOI:10.1111/jeb.12982.
- [ 8 ] BIELAWSKI J P, BAKER J L, MINGRONE J. Inference of episodic changes in natural selection acting on protein coding sequences via CODEML [ J/OL ]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2016, 54( 1 ): 6.15.1-6.15.32 [ 2016-10-10 ]. <http://www.currentprotocols.com/WileyCDA/CPUnit/refid-bi0615.html>. DOI: 10.1002/cpbi.2.
- [ 9 ] VINCENT M. Cancer: a de-repression of a default survival program common to all cells: a life-history perspective on the nature of cancer [ J ]. *Bio Essays*, 2012, 34( 1 ): 72-82. DOI:10.1002/bies.201100049.
- [ 10 ] THOMAS F, FISHER D, FORT P, et al. Applying ecological and evolutionary theory to cancer: a long and winding road [ J ]. *Evol Appl*, 2013, 6( 1 ): 1-10. DOI: 10.1111/eva.12021.
- [ 11 ] OSTROW S L, BARSHIR R, DEGREGORI J, et al. Cancer evolution is associated with pervasive positive selection on globally expressed genes [ J/OL ]. *PLoS Genet*, 2014, 10( 3 ): e1004239 [ 2016-10-10 ]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3945297/>. DOI: 10.1371/journal.pgen.1004239.
- [ 12 ] VIJG J. Somatic mutations, genome mosaicism, cancer and aging [ J/OL ]. *Curr Opin Genet Dev*, 2014, 26: 141-149 [ 2016-10-10 ]. <http://sciencedirect.com/science/journal/095437x>. DOI: 10.1016/j.gde.2014.04.002.
- [ 13 ] YATES L R, CAMPBELL P J. Evolution of the cancer genome [ J ]. *Nat Rev Genet*, 2012, 13( 11 ): 795-806. DOI:10.1038/nrg3317.
- [ 14 ] EWALD P W, SWAIN EWALD H A. Infection, mutation, and cancer evolution [ J ]. *J Mol Med*, 2012, 90( 5 ): 535-541. DOI: 10.1007/s00109-012-0891-2.
- [ 15 ] GILLIES R J, VERDUZCO D, GATENBY R A. Evolutionary dynamics of carcinogenesis and why targeted therapy does not work [ J ]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12( 7 ): 487-493. DOI: 10.1038/nrc3298.
- [ 16 ] MARTINCORENA I, CAMPBELL P J. Somatic mutation in cancer and normal cells [ J ]. *Science*, 2015, 349( 6255 ): 1483-1489. DOI: 10.1126/science.aab4082.
- [ 17 ] MORGAN C C, SHAKYA K, WEBB A, et al. Colon cancer associated genes exhibit signatures of positive selection at functionally significant positions [ J ]. *BMC Evol Bio*, 2012, 12( 1 ): 114. DOI: 10.1186/1471-2148-12-114.
- [ 18 ] WILLYARD C. Cancer therapy: an evolved approach [ J ]. *Nature*, 2016, 532( 7598 ): 166-168. DOI:10.1038/532166a.
- [ 19 ] DAVIS A, NAVIN N E. Computing tumor trees from single cells [ J ]. *Genome Biol*, 2016, 17( 1 ): 113. DOI:10.1186/s13059-016-0987-z.
- [ 20 ] ROTH A, KHATTRA J, YAP D, et al. PyClone: statistical inference of clonal population structure in cancer [ J ]. *Nat Methods*, 2014, 11( 4 ): 396-398. DOI: 10.1038/nmeth.2883.
- [ 21 ] MCGRANAHAN N, FURNESS A J, ROSENTHAL R, et al. Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade [ J ]. *Science*, 2016, 351( 6280 ): 1463-1469. DOI: 10.1126/science.aaf1490.
- [ 22 ] CAMPBELL P J, YACHIDA S, MUDIE L J, et al. The patterns and dynamics of genomic instability in metastatic pancreatic cancer [ J ]. *Nature*, 2010, 467( 7319 ): 1109-1113. DOI: 10.1038/nature09460.
- [ 23 ] DELGADO-ROSADO G, DOMINGUEZ-BELLO M G, MASSEY S E. Positive selection on a bacterial oncoprotein associated with gastric cancer [ J ]. *Gut Pathog*, 2011, 3( 1 ): 18. DOI:10.1186/1757-4749-3-18.
- [ 24 ] HOLLIS R L, GOURLEY C. Genetic and molecular changes in ovarian cancer [ J ]. *Cance Biol Med*, 2016, 13( 2 ): 236-247.

- DOI:10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0024.
- [ 25 ] KURMAN R J, SHIH IE M. Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer--shifting the paradigm[ J ]. Hum Pathol, 2011, 42( 7 ): 918-931. DOI: 10.1016/j.humpath.2011.03.003.
- [ 26 ] BRACHOVA P, MUETING S R, CARLSON M J, et al. TP53 oncomorphic mutations predict resistance to platinum and taxanebased standard chemotherapy in patients diagnosed with advanced serous ovarian carcinoma[ J ]. Int J Oncol, 2015, 46( 2 ): 607-618. DOI: 10.1016/j.humpath.2011.03.003.
- [ 27 ] LAMBRECHTS S, SMEETS D, MOISSE M, et al. Genetic heterogeneity after first-line chemotherapy in high-grade serous ovarian cancer[ J ]. Eur J Cancer, 2016, 53( 1 ): 51-64. DOI: 10.1016/j.ejca.2015.11.001.
- [ 28 ] CHIEN J, SICOTTE H, FAN J B, et al. TP53 mutations, tetraploidy and homologous recombination repair defects in early stage high-grade serous ovarian cancer[ J ]. Nucleic Acids Res, 2015, 43( 14 ): 6945-6958. DOI: 10.1093/nar/gkv111.
- [ 29 ] KHAN M M, RYDEN A M, CHOWDHURY M S, et al. Maximum likelihood analysis of mammalian p53 indicates the presence of positively selected sites and higher tumorigenic mutations in purifying sites[ J ]. Gene, 2011, 483( 1/2 ): 29-35. DOI: 10.1016/j.gene.2011.05.011.
- [ 30 ] LEVINE A J. The evolution of the p53 family of genes[ J ]. Cell Cycle, 2012, 11( 2 ): 214-215. DOI:10.4161/cc.11.2.18899.
- [ 31 ] LEE J Y, YOON J K, KIM B, et al. Tumor evolution and intratumor heterogeneity of an epithelial ovarian cancer investigated using next-generation sequencing[ J/OL ]. BMC Cancer, 2015, 15( 1 ): 85[ 2016-10-10 ]. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4346117/. DOI:10.1186/s12885-015-1077-4.
- [ 32 ] LOU D I, MCBEE R M, LE U Q, et al. Rapid evolution of BRCA1 and BRCA2 in humans and other primates[ J ]. BMC Evol Biol, 2014, 14( 1 ):155. DOI:10.1186/1471-2148-14-155.
- [ 33 ] WALTON J, BLAGIH J, ENNIS D, et al. CRISPR/Cas9-mediated Trp53 and Brca2 knockout to generate improved murine models of ovarian high grade serous carcinoma[ J ]. Cancer Res, 2016, 76( 20 ): 6188-6129. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-16-1272.
- [ 34 ] XIE C, ZHANG Y P, SONG L, et al. Genome editing with CRISPR/Cas9 in postnatal mice corrects PRKAG2 cardiac syndrome[ J ]. Cell Res, 2016, 26( 10 ): 1099-1111. DOI: 10.1038/cr.2016.101.
- [ 35 ] ABDALLAH B Y, HORNE S D, KURKINEN M, et al. Ovarian cancer evolution through stochastic genome alterations: defining the genomic role in ovarian cancer[ J ]. Syst Biol Reprod Med, 2014, 60( 1 ): 2-13. DOI: 10.3109/19396368.2013.837989.
- [ 收稿日期 ] 2016 - 12 - 20 [ 修回日期 ] 2017 - 03 - 08
- [ 本文编辑 ] 韩丹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 凡临床试验都应在中国临床试验注册中心注册

中国临床试验注册中心( Chinese Clinical Trial Register, ChiCTR )为卫生部下属的国家临床试验注册中心,是世界卫生组织国际临床试验注册协作网一级注册机构( World Health Organization International Clinical Trial Registration Platform Primary Register, WHO ICTRP Primary Register ),由卫生部中国循证医学中心和四川大学华西医院等于 2005 年 7 月 25 日正式成立并运行。

全球临床试验注册制度由世界各国政府共同决定由 WHO 领导建立。临床试验注册具有伦理和科学的双重意义,目的是为了尊重和珍惜所有试验参与者的贡献,他们的贡献用于改善全社会的医疗保健,因此,任何临床试验都与公共利益相关。公开临床试验的信息,并将其置于公众监督之下是试验研究者的义务和道德责任。临床试验注册不仅能确保追溯每个临床试验的结果,公开在研试验或试验结果信息还有助于减少不必要的重复研究。

ChiCTR 的宗旨是联合中国和全球的临床医师、临床流行病学家、统计学家、流行病学家和医疗卫生管理者,严格科学地管理中国临床试验信息,提高其质量,为广大医务工作者、医疗卫生服务消费者和政府卫生政策制定者提供可靠的临床试验证据,让医疗卫生资源更好地服务于中国人民和全人类的健康事业。

所有在人体实施的试验均属于临床试验,都应该先注册后实施。凡已注册临床试验都会被授予 WHO ICTRP 全球统一的唯一注册号。

我国众多医学期刊已和中国临床试验注册中心共同建立了临床试验报告发表机制,正在分步实施优先发表、直到只发表具有全球性唯一注册号的临床试验报告。

ChiCTR 接受中国地区及全球的临床试验注册申请,还接受获得 WHO ICTRP 认证的二级注册机构输送的注册资料,并向 WHO ICTRP 中央数据库输送注册信息供全球检索。除注册临床试验外,ChiCTR 以卫生部中国循证医学中心、循证医学教育部网上合作研究中心、中国 Cochrane 中心、英国 Cochrane 中心、四川大学华西医院国际临床流行病学网华西资源与培训中心为人才和技术支持平台,负责指导临床试验设计、中心随机、论文写作、教育培训,推动提高我国临床试验的质量。

通过 ChiCTR 检索入口网址 [www.chictr.org](http://www.chictr.org), 公众可方便地查询已注册临床试验信息,并与 WHO 全球检索入口链接,可方便地查询全球已注册临床试验。

( 本刊编辑部 )