文章编号:1000-5404(2010)17-1857-04

论著

# 5-氮-2′-脱氧胞苷联合曲古抑菌素 A 对人肺腺癌细胞株 A549 增殖和凋亡的影响

董必文,段凤英,段训凰 (330006 南昌,南昌大学第二附属医院呼吸内科)

【摘要】 目的 探讨 DNA 甲基化转移酶抑制剂 5-氮-2′-脱氧胞苷(5-aza-dC)联合组蛋白去乙酰化抑制剂曲古抑菌素 A(TSA)对人肺腺癌细胞株 A549 增殖和凋亡的影响。方法 人肺腺癌细胞株 A549 细胞用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液培养。实验分 4 组,5-aza-dC 组:细胞接种 20 h 后,加入 5 μmol/L 的 5-aza-dC;TSA 组:细胞接种 20 h 后,加入 300 nmol/L TSA;5-aza-dC + TSA 组:细胞接种 20 h 后,加入 5 μmol/L 5-aza-dC,24 h 后再加入 300 nmol/L TSA;对照组:DMEM 培养液中加入等量的二甲基亚砜(DMSO)。MTT 比色法测定各处理因素对 A549 细胞生长的影响;Annexin V/PI 双染法测定各组细胞培养 72 h 后的凋亡情况;应用 RT-PCR 检测各组细胞培养 72 h 后细胞 CCAAT 增强子启动蛋白 α(C/EBPα) mRNA 的表达。结果 (1)5-aza-dC 及 TSA 呈时间依赖性地抑制 A549 细胞的生长,而在同一时间不同组别比较联合用药组细胞生长抑制率较单用药组明显增加[12 h:35.51% *vs* 21.63%,19.59%;24 h:43.19% *vs* 32.39%,30.60%;36 h:54.85% *vs* 38.83%,37.35%;48 h:60.69% *vs* 45.79%,43.84%;60 h:68.92% *vs* 50.60%,50.20%;72 h:74.54% *vs* 59.23%,57.82,$P<0.05$];(2)5-aza-dC 和 TSA 能够诱导 A549 细胞凋亡,且联合用药组 A549 细胞凋亡率(75.35 ± 1.46)% 明显高于 5-aza-dC (49.76 ± 1.32)% ($P<0.05$) 和 TSA 组(50.88 ± 1.06)% ($P<0.05$);(3)5-aza-dC 和 TSA 能够上调 C/EBPα mRNA 的表达,联合用药组中 C/EBPα mRNA 表达量(0.581 ± 0.024)明显高于 5-aza-dC 组(0.402 ± 0.016) ($P<0.05$) 和 TSA 组(0.394 ± 0.031) ($P<0.05$),有统计学意义;(4)5-aza-dC 组与 TSA 组在抑制 A549 细胞生长、诱导细胞凋亡、增强 C/EBPα mRNA 的表达方面比较,差别均无统计学意义($P>0.05$)。结论 与单用 5-aza-dC 或 TSA 相比,联合应用两种药物能够更好的抑制人肺腺癌 A549 细胞的增殖、诱导细胞凋亡和增强 C/EBPα 基因 mRNA 的表达。

【关键词】 肺肿瘤;曲古抑菌素 A;5-氮-2′-脱氧胞苷;C/EBPα;甲基化;A549 细胞
【中图法分类号】 R73-36;R734.2;R730.23 【文献标志码】 A

# Effect of 5-aza-2-deoxycytidine and trichostatin A on proliferation and apoptosis of lung epithelial carcinoma A549 cells

Dong Biwen, Duan Fengyin, Duan Xunhuang (Department of Respiratory Medicine, Second Affiliated Hospital, Nanchang University, Nanchang, Jiangsu Province, 330006, China)

【Abstract】 Objective To study the effect of methyltransferase inhibitor 5-aza-2-deoxycytidine (5-aza-dC) and histone deacetylase inhibitor trichostatin A (TSA) on proliferation and apoptosis of lung epithelial carcinoma A549 cells. Methods Human epithelial carcinoma A549 cells cultured in DMEM containing 10% fetal bovine serum were divided into control group, 5-aza-dC group, TSA group, and 5-aza-dC + TSA group. Dimethyl sulfoxide (DMSO) was added into DMEM for control group. A549 cells were treated with 5 μmol/L 5-aza-dC and 300 nmol/L TSA 20 h after inoculation in 5-aza-dC group and TSA group, while A549 cells were treated with 5 μmol/L 5-Aza-CdR 20 h after inoculation and 300 nmol/L TSA after 24 h after inoculation in 5-aza-dC + TSA group. Effects of various processing factors on growth and apoptosis of A549 cells were detected by MTT assay with Annexin V/PI double staining 72 h after inoculation. Expression of CCAAT/enhancer-binding protein-a (C/EBPα) mRNA in different groups was detected by RT-PCR 72 h after inoculation. Results 5-aza-dC and TSA inhibited the growth of A549 cells in a time-dependent manner. The cell growth inhibitory rate was significantly higher in combination group than in single drug group ($P<0.05$). 5-aza-dC and TSA induced the apoptosis of A549 cells. The apoptotic rate of A549 cells was significantly higher in the combined treatment group than in single drug treatment group ($P<0.05$). The expression level of C/EBPα mRNA was significantly higher in combination group (0.581 ± 0.024) than in 5-Aza-CdR group (0.402 ± 0.016) and TSA group (0.394 ± 0.031) after treatment with 5-aza-dC and TSA ($P<0.05$). No significant

【基金项目】 江西省科技支撑计划项目(837)
【通信作者】 段凤英, E-mail:kingchuchu@sina.com

difference was found in growth and apoptosis of A549 cells, and in expression of C/EBPα mRNA between 5-aza-dC group and TSA group. **Conclusion** Combined 5-aza-CdR and TSA can more significantly inhibit the proliferation and induce the apoptosis of A549 cells, and increase the expression of C/EBPα mRNA than 5-aza-CdR or TSA alone, thus laying a theoretical basis for the demethylation of multi-drug combination therapy for tumors.

**[Key words]** lung tumor; trichostatin A; 5-aza-2-deoxycytidine; C/EBPα; methylation; A549 cell

Supported by the Supporting Program of Department of Science and Technological of Jiangxi Province(837). Corresponding author: Duan Fengyin, E-mail: kingchuchu@sina.com

肺癌是目前世界上发病率和病死率最高的恶性肿瘤[1]。肿瘤是一个典型的基因病,包括肿瘤相关基因的突变、插入和缺失。随着研究深入,人们发现表观遗传学的改变在肿瘤的发生、发展中也起了重要作用。表观遗传现象包括DNA甲基化及组蛋白去乙酰化等[2,3]。DNA异常高甲基化及组蛋白去乙酰化共同作用许多抑癌基因和肿瘤相关基因转录失活,从而导致肿瘤的发生[4,5]。研究发现可以通过去甲基化试剂使CPG启动子区甲基化发生逆转,甲基化转移酶抑制剂5-氮-2′-脱氧胞苷和组蛋白去乙酰化酶抑制剂可以除去异常的甲基化修饰,恢复组蛋白乙酰化,使转录失活的抑癌基因再表达,抑制细胞增殖,引起细胞分化和凋亡[6]。本实验通过DNA甲基化转移酶抑制剂5-氮-2′-脱氧胞苷联合组蛋白去乙酰化抑制剂曲古抑菌素A干预肺癌细胞株A549细胞,观察两种单独及联合应用对A549细胞增殖、凋亡的影响,同时检测CCAAT增强子启动蛋白α(CCAAT/enhancer-binding protein-a C/EBPα)mRNA的表达水平,探讨5-aza-dC联合TSA在治疗肺癌方面的作用及可能的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

人肺腺癌A549细胞株为南昌大学第二附属医院医学分子重点实验室保存;DMEM培养基、胎牛血清购自美国HyClone公司;5-aza-dC、TSA、二甲基亚砜(DMSO)和MTT购于Sigma公司;琼脂糖购自西班牙Biowest公司;TRIzolRNA抽提试剂盒、DNA Marker、AMV逆反应试剂盒、2×T RansTaq High Fidelity PCR SuperMix Ⅰ、Ⅱ购自北京全式金生物技术有限公司;PCR引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成;Annexin V-FITC流式细胞凋亡检测试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养及分组 人肺腺癌A549细胞株置10%胎牛血清的DMEM培养液,在37 ℃,5% $CO_2$培养箱中培养。实验分为4个组,5-aza-dC组:细胞接种20 h后,加入5 μmol/L的5-aza-dC;TSA组:细胞接种20 h后,加入300 nmol/L TSA;5-aza-dC+TSA组:细胞接种20 h后,加入5 μmol/L的5-aza-dC,24 h后再加入300 nmol/L TSA;对照组:DMEM培养液中加入等量的DMSO。

1.2.2 四甲基偶氮唑蓝比色法检测药物作用后细胞增殖 取对数生长期的A549细胞,用0.25%的胰蛋白酶消化,制备成单细胞悬液,以每孔$5\times10^3$细胞接种于96孔培养板,每孔200 μl,每组重复4孔,37℃、5% $CO_2$及饱和湿度的培养箱培养20 h,按前述分组处理细胞。分别在12、24、36、48、60、72 h取样1次,每次取样时小心移除培养液,每孔加入5 g/L四甲基偶氮唑蓝(triazolyl blue,MTT)溶液20 μl,继续培养4 h,终止培养,除去孔内上清液,每孔加入150 μl二甲基亚砜(DMSO),震荡10 min,在492 nm波长下,以空白孔调零,用酶标仪测定各孔光密度值[$D$(492)],绘制细胞生长曲线。取平均值计算细胞生长抑制率。

细胞生长抑制率=[对照组$D$(492)-实验组$D$(492)]/对照组$D$(492)×100%

1.2.3 Annexin V/PI双染法检测细胞凋亡 Annexin V/PI双染法检测各组细胞凋亡的具体步骤见文献[7]。

1.2.4 半定量RT-PCR检测药物处理后细胞的C/EBPα mRNA的表达 半定量RT-PCR检测各组细胞C/EBPα mRNA的表达的具体步骤见文献[7]。

### 1.3 统计学方法

数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 17.0统计软件进行单因素方差分析。

## 2 结果

### 2.1 5-aza-dC及TSA对人肺腺癌A549细胞生长的影响

在药物处理组中同一组别细胞生长抑制率随着药物作用时间的延长而增加;同一时间药物处理组分别与对照组比较差别均有统计学意义($P<0.05$);同一时间不同组别比较联合用药组细胞生长抑制率较单用药组明显增加(12 h:35.51% *vs* 21.63%,19.59%;24 h:43.19% *vs* 32.39%,30.60%;36 h:54.85% *vs* 38.83%,37.35%;48 h:60.69% *vs* 45.79%,43.84%;60 h:68.92% *vs* 50.60%,50.20%;72 h:74.54% *vs* 59.23%,57.82)差别有统计学意义($P<0.05$);而单用药组之间比较差别无统计学意义($P>0.05$,表1)。

### 2.2 Annexin V/Pi双染法检测细胞凋亡水平

细胞凋亡率:5-aza-dC组(49.76±1.32)%、TSA组(50.88±1.06)%、5-aza-dC+TSA组(75.35±1.46)%均显著高于对照组(3.16±0.36)%($P<0.01$);5-aza-dC+TSA组分别与5-aza-dC组及TSA组相比,差异亦有统计学意义($P<0.05$);而5-aza-CdR组与TSA组比较,差别无统计学意义($P>0.05$)。

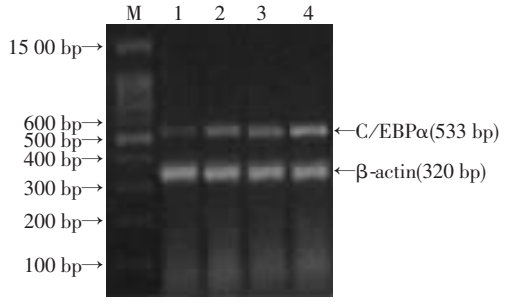
**表 1 MTT 法测得的各组细胞不同时间光密度值比较[$D(492)$, $n=3$, $\bar{x}\pm s$]**

| 组别 | 12 h | 24 h | 36 h | 48 h | 60 h | 72 h |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 对照组 | 0.245 ± 0.062 | 0.389 ± 0.087 | 0.423 ± 0.021 | 0.463 ± 0.052 | 0.502 ± 0.025 | 0.542 ± 0.025 |
| 5-aza-dC 组 | 0.192 ± 0.035[ab] | 0.263 ± 0.064[ab] | 0.260 ± 0.073[ab] | 0.251 ± 0.036[ab] | 0.248 ± 0.057[ab] | 0.221 ± 0.048[ab] |
| TSA 组 | 0.197 ± 0.062[ab] | 0.270 ± 0.022[ab] | 0.265 ± 0.037[ab] | 0.260 ± 0.076[ab] | 0.250 ± 0.029[ab] | 0.226 ± 0.046[ab] |
| 5-aza-dC + TSA 组 | 0.158 ± 0.047[a] | 0.221 ± 0.039[a] | 0.191 ± 0.088[a] | 0.182 ± 0.046[a] | 0.156 ± 0.024[a] | 0.138 ± 0.061[a] |

a：$P<0.05$，与对照组比较；b：$P<0.05$，与 5-aza-dC + TSA 组比较

### 2.3 5-aza-dC 及 TSA 对人肺腺癌 A549 细胞 C/EBPα mRNA 表达的影响

采用 RT-PCR 检测处理组和对照组中 C/EBPα mRNA 的表达水平，结果见图 1。对照组中 C/EBPα mRNA 的表达水平较低，联合用药组中 C/EBPα mRNA 表达量（0.581 ± 0.024）高于 5 μmol/L 5-aza-dC 处理组（0.402 ± 0.016）（$P<0.05$）和 300 nmol/L TSA 组（0.394 ± 0.031）（$P<0.05$），且明显高于对照组（0.165 ± 0.048）（$P<0.01$），5-aza-dC 组与 TSA 组比较，差别无统计学意义（$P>0.05$）。




M：标准；1：对照组；2：TSA 组；3：5-aza-dC 组；4：5-aza-dC + TSA 组

**图 1 RT-PCR 检测 5-aza-dC 及 TSA 作用于 A549 细胞 72 h 后 C/EBPα mRNA 的表达**

## 3 讨论

近年研究[8]发现，表观遗传学通过 DNA 翻译后自身化学修饰方式从转录水平影响基因表达，但不存在 DNA 序列变更的遗传改变。表观遗传现象包括 DNA 甲基化及组蛋白去乙酰化等，这些修饰导致基因转录失活，使一些抑癌基因和肿瘤相关基因表达失活，功能丧失，从而引起肿瘤的发生。DNA 启动子区甲基化通过两种途径抑制基因转录：①DNA 甲基化可以直接抑制转录因子与启动子区结合，抑制基因转录；②甲基化结合蛋白（methyl-CpG-binding domain proteins，MBDs）结合于甲基化的 CpG 启动子区，促使组蛋白去乙酰化酶复合物（histone deacetylase，HDAC）和其他转录抑制因子与之结合，使启动子下游的组蛋白 H3、H4N 端尾部的赖氨酸发生去乙酰化，使染色体结构压缩，引起转录抑制。庆幸的是因甲基化及组蛋白去乙酰化造成的基因沉默可由去甲基化及抑制组蛋白脱酰基的试剂恢复其表达[9,10]。5-aza-dC 是 DNA 甲基化转移酶抑制剂，它能够抑制甲基化转移酶的活性从而降低 DNA 甲基化水平，使因甲基化失活的抑癌基因再表达，抑制肿瘤细胞生长[11]。TSA 是一种组蛋白去乙酰化酶抑制剂，能够特异性的抑制组蛋白去乙酰化酶的活性，抑制组蛋白脱酰基，使肿瘤细胞酰基化蛋白增加，从而抑制肿瘤细胞增殖、诱导细胞分化和凋亡[12]。我们可以通过联合 5-aza-dC 和 TSA，降低基因启动子区的甲基化水平，使因甲基化失活的抑癌基因重新表达，从而抑制肿瘤细胞的生长、诱导其凋亡。

C/EBPα 的编码基因位于染色体 19q13，是一种基本转录因子，最初研究发现该蛋白有促进分化、抗有丝分裂的作用，它的表达下调可以诱导骨髓细胞的恶变。Costa 等[13]研究发现超过一半的Ⅱ期和ⅢA 期非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer NSCLC）中 C/EBPα 基因表达是缺失的，同时认为 C/EBPα 基因表达缺失在肺癌的发生、发展中起到重要的作用，C/EBPα 基因可能成为肺癌治疗的重要靶点。在许多肿瘤中存在一个或多个抑癌基因的 CpG 岛的甲基化。Yasuhiro 等[14]研究表明人肺癌细胞系中 C/EBPα 基因启动子区高甲基化将导致 C/EBPα 基因表达下降。启动子区 CpG 岛富含 C-G 对，通常处于非甲基化或低甲基化水平，当其发生高甲基化时，就可以影响基因转录调控，在癌变过程中发挥重要的作用。余祖滨等[15,16]将 SOCS3 质粒稳定转染到 A549 细胞中，使因高甲基化而转录失活的 SOCS3 基因从新表达，从而降低 A549 细胞的侵袭能力，抑制 A549 细胞增殖。从我们的研究可以看到：人肺腺癌 A549 细胞中 C/EBPα mRNA 的表达水平很低，通过 5-aza-dC 和 TSA 可以增加 C/EBPα mRNA 的表达水平，且联合用药组中 C/EBPα mRNA 的表达水平高于单用药组，与单用药组比较差别均有统计学意义（$P<0.05$）。这说明 5-aza-dC 和 TSA 可以使因异常高甲基化而失活的 C/EBPα 基因重新表达，且两者联合可以更大程度的促使 C/EBPα 基因的再表达。5-aza-dC 通过降低 C/EBPα 基因启动子区的甲基化，逆转了 DNA 甲基化直接抑制转录的途径；TSA 通过抑制启动子区组蛋白的去乙酰化，逆转了 DNA 甲基化通过组蛋白去乙酰化抑制转录的途径。两者联合应用可以逆转 DNA 甲基化抑制转录的两种途径，具有协同作用。本研究显示 5-aza-dC 和 TSA 呈时间依赖性方式抑制肺腺癌 A549 细胞的增殖，在同一时间联合用药组抑制强于单用药组（$P<0.05$）。

5-aza-dC 和 TSA 能诱导肺腺癌 A549 细胞凋亡，联合用药组的细胞凋亡率是(75.35 ± 1.46)%，高于 5-aza-dC 组的(49.76 ± 1.32)% 及 TSA 组的(50.88 ± 1.06)%($P<0.05$)。A549 细胞的生长抑制率和凋亡率与细胞中 C/EBPα 基因的表达水平呈正比，说明 5-aza-dC 和 TSA 作用于肺腺癌 A-549 细胞后，通过使因高甲基化而失活的抑癌基因 C/EBPα 再表达来抑制 A-549 细胞增殖、诱导其凋亡，两种联合应用可以发挥去甲基化和组蛋白乙酰化协同作用，更大程度的促使 C/EBPα 基因的再表达，从而更好的抑制细胞增殖和诱导细胞凋亡。通过 5-aza-dC 和 TSA 作用细胞后，可以使 C/EBPα 基因重新表达，联合用药有协同作用，能更好的促进因高甲基化而封闭的抑癌基因重新表达，从而更好的抑制肿瘤细胞的增殖、诱导细胞凋亡，达到治疗肿瘤的目的，这与 Ou 等[17]的研究结果一致。

**志谢** 衷心感谢南昌大学第二附属医院医学分子中心邱小华老师、邹叶青老师在实验中给我的指导和帮助

## 参考文献：


[1] Wingo P A, Ries L A, Giovino G A, *et al*. Annual report to thenation on the status of cancer, 1973-1996, with a special sectiononlung cancer andtobacco smoking[J]. Natl CancerInst, 1999, 91(8): 675 - 690.

[2] Momparler R L. Cancer epigenetics[J]. Oncogene, 2003, 22(42): 6479 - 6483.

[3] Miremadi A, Oestergaard M Z, Pharoah P D, *et al*. Cancer gentics of epigenetic genes[J]. Hum Mol Genet, 2007, 16(1): R28 - R49.

[4] Bird A, DNA methylation patters and epigeneticmemory[J]. Genes Dev, 2002, 16(1): 6 - 21.

[5] Boland C R, Shin S K, Goel A. promoter methylation in the genesis of gastrointestinal cancer[J]. Yonsei Med, 200950(3): 309 - 321.

[6] Zhu W G, The interaction of histone deacetylase inhibitors and DNA methyltransferase inhibitors in the treatment of human cancer cells[J]. Curr Med Chem Anticancer Aqents 2003, 3(3): 187 - 199.

[7] 董必文，段凤英. 5-aza-dC、TSA 联合 MeCP2 的 RNA 干扰质粒对人肺腺癌细胞株 A549 生物学行为的影响[J]. 试验与检验医学，2010，28(2)：110 - 113.

[8] Peter A J, Daiya T. The role of DNA methylation in mammalian epigenetics[J]. Science, 2001, 293(5532): 1068 - 1070.

[9] Ghoshal K, Bai S. DNA methyltransferases as targets for cancer theraph[J]. Drugs Today (Barc), 2007, 43(6): 395 - 422.

[10] Oyer JA, , Aberrant epigenetic silencing is triggered by a transient reduction in gene expression[J]. PLoS One, 2009, 4(3): e4832.

[11] Eckel. Antitumor effects of a combined 5-aza-2′deoxycytidine and valproic acid treatment on rhabdomyosarcoma and medulloblastoma in Ptch mutant mice[J]. Cancer Res, 2009, 69(3): 887 - 95.

[12] Platta C S, Greenblatt D Y, Kunnimalaiyaan M, *et al*. The HDAC inhibitor trichostatin A inhibits growth of small cell lung cancer cells[J]. J Surg Res, 2007, 142(2): 219 - 26.

[13] Costa DB, Li S, Kocher O, *et al*. Immunohistochemical analysis of C/EBPalpha in non-small cell lung cancer reveals frequent down-regulation in stage Ⅱ and ⅢA tumors: a correlative study of E3590[J]. Lung Cancer, 2007, 56(1): 97 - 103.

[14] Yasuhiro T, Romulo M B, Bjorn H, *et al*. Epigenetic Modulation of Tumor Suppressor CCAAT/Enhancer Binding Protein α Activity in Lung Cancer[J]. J National Cancer Institute, 2006, 98(6): 396 - 406.

[15] 余祖滨，白莉，姚珂，等. SOCS3 对肺腺癌细胞株 A549 迁移和侵袭能力的影响[J]. 第三军医大学学报，2008，30(7)：588 - 591.

[16] 余祖滨，白莉，姚珂，等. SOCS3 基因转染对人肺腺癌细胞株 A549 裸鼠移植瘤生长的影响[J]. 第三军医大学学报，2008，30(2)：127 - 129.

[17] Ou J N, Torrisani J, Unterberger A, *et al*. Histonedeacetylase inhibitor Trichostatin A induces globaland gene-specific DNA demethylation in humancancer cell lines[J]. Biochem Pharmacol. 2007, 73(9): 1297 - 1307.


(收稿 2010-03-13 修回 2010-04-04)

(编辑 汪勤俭)

(上接 1846 页)

妇贫血增加了产时胎儿的危险性，因此在分娩方式上，我们采取了剖宫产术。术前配备了新鲜红细胞、血小板、凝血酶原复合物等，术中使用长效缩宫素，减少了术中失血量，防止了过多失血诱发的 DIC，保证了母儿安全。在麻醉方式上，采用了腰麻，既防止了穿刺部位血肿又避免了全麻后新生儿窒息的风险，术后证明此分娩方式是合理有效的，切口Ⅱ期愈合。新生儿在儿科观察 1 周未发现异常出院。

通过该病例，我们认识到在处理白血病合并妊娠时，只要临床上各科能力协作，充分估计各种可能出现的异常情况，早预防、早处理，是可以达到临床最佳治疗效果的，也为我们今后在处理该类并发症上积累了经验。

## 参考文献：


[1] 李继勋，张继恺，戎淑君. 白血病与妊娠[J]. 中华血液学杂志，1981，2(6)：353 - 356.

[2] Matsouka C, Marinopoulos S, Barbaroussi D, *et al*. Acute lymphoblastic leukemia during gestation[J]. Med Oncol, 2008, 25(2): 190 - 193.

[3] 王永红，高瑜，郝敏，等. 妊娠合并白血病 7 例临床分析[J]. 实用妇产科杂志，2004，20(3)：177 - 178.

[4] Zuazu J, Julia A, Sierra J, *et al*. Pregnancy outcome in hematologic malignancies[J]. Cancer, 1991, 67(3): 703 - 709.

[5] 马必皓，王志澄. 妊娠合并白血病的临床观察[J]. 中华血液学杂志，1988，9(12)：753 - 754.

[6] 刘春水，高素君，李薇，等. 急性白血病合并妊娠 10 例临床分析[J]. 中国妇幼保健，2009，24(21)：2929 - 2930.

[7] 曾毅，王琳. 妊娠期巨乳合并急性淋巴细胞白血病 1 例[J]. 第三军医大学学报，2010，32(2)：154，168.

[8] 刘金彪，董丽华. 急性白血病合并妊娠临床分析[J]. 首都医药，2009，11(22)：27.


(收稿 2010-06-22 修回 2010-06-29)

(编辑 邓强庭)