

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 11 月 15 日 第 11 卷 第 11 期 (Volume 11 Number 11)



11/2003

ISSN 1009-3079



9 771009 307001

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

World Journal of Gastroenterology 被 SCI®-E, Research Alert®, Current Contents®/Clinical Medicine, Journal Citation Reports® Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录。2002 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 2.532。世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录。2001 年中国科技期刊引证报告: 世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920。

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2003 年 11 月 15 日 第 11 卷 第 11 期 (总第 115 期)

述 评	<p>1661 创办具有中国特色的国际先进水平的 WJG: 2004 年由月刊改为半月刊 马连生, 潘伯荣, 马景云, 徐家祚, 应协中, 王先林, 陆汉明, 夏华向, 张建中, 苏勤, 任师颜, 朱立, 朱丽虹, 吕有勇</p> <p>1665 细胞分化与食管鳞状细胞癌 孔建平, 刘芝华, 吴昊</p> <p>1670 轮状病毒致病机制研究进展 王大燕, 王健伟, 于修平, 洪涛</p>
肝 癌	<p>1674 小鼠甲胎蛋白基因的克隆真核表达载体构建及表达鉴定 田耕, 马继林</p> <p>1677 原发性肝细胞癌中 PITG 和 c-myc 基因表达的研究 金中元, 程瑞雪, 郑长黎, 郑晖</p> <p>1682 肝细胞癌变过程中 cyclin D1 的异常表达与端粒酶活性的相关分析及意义 李宝杰, 王新红, 曲波</p> <p>1686 HCC 合并阻塞性黄疸 ERCP164 例 樊彪, 潘亚敏, 沈丽, 胡冰, 吴萍, 王书智, 周岱云</p>
基础研究	<p>1690 巨噬细胞 Smad4 反义基因转移及对细胞外基质合成的抑制作用 徐新保, 冷希圣, 何振平, 梁志清</p> <p>1694 冷冻保存再灌注期间离体肝组织内氧自由基及 $[Ca^{2+}]_i$ 对 p38MAPK 激活的影响 王西, 田伏洲, 汤礼军, 张晓璋</p> <p>1699 大黄素对大鼠结肠环行平滑肌细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响 马涛, 齐清会, 简序, 费乃昕</p> <p>1703 大肠癌细胞可产生趋化因子 IP-10 杨春康, 陈道达, 田源, 张景辉</p> <p>1706 干扰素对野生型 p53 转染的结肠癌细胞株 SW480 的影响 张桂英, 徐美华, 谢兆霞, 何春梅</p> <p>1711 大鼠胃黏膜损伤修复时早期应答基因 c-Jun 及 c-met 的表达 姚永莉, 徐波, 宋子刚, 张万岱</p>
临床研究	<p>1715 功能性消化不良患者症状分型、胃排空功能、胃肠激素水平的相关性 唐红卫, 黄裕新, 徐海峰, 高巍, 周润锁, 尚磊, 王庆莉, 高峰, 安晓丽</p> <p>1720 肝硬化患者血清和腹水 CA125 升高 肖文斌, 刘玉兰</p> <p>1723 α-2b 干扰素治疗慢性乙型肝炎的前瞻性研究 熊锦华, 胡大荣, 张成平, 范公愚, 刘勇, 闻炜</p>
焦点论坛	<p>1727 胃干细胞 王天德, 展玉涛</p> <p>1730 肠道干细胞 姜佳丽, 王虹, 展玉涛</p> <p>1732 胃肠道间质瘤干细胞 王虹, 展玉涛</p> <p>1735 肝性干细胞 展玉涛, 任继萍</p> <p>1738 肝脏干细胞 展玉涛, 毕泰山</p> <p>1740 胰腺干细胞 姜佳丽, 万小平, 张敏, 展玉涛</p>
文献综述	<p>1743 乙型肝炎病毒 e 抗原阴性慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗 董青, 成军</p> <p>1749 HGF/SF、c-met 基因信号异常与胃肠道恶性肿瘤 李宏武, 单吉贤</p> <p>1752 幽门螺杆菌对胃黏膜的影响 郭玉, 郭霞, 姚希贤</p> <p>1755 胃癌组织生长抑素及其受体的表达与 EGF、VEGF 的影响 李秋萍, 徐军全, 李红梅, 张利华</p> <p>1760 结、直肠癌临床病理分期系统及其临床意义 卿三华</p> <p>1764 铂佐剂机制及其纳米化前景 何萍, 吕凤林, 任建敏, 何凤慈</p> <p>1769 RNA 干扰的抗病毒效应 李中, 范学工</p> <p>1773 Peutz-Jeghers 综合征 赵喜荣, 康进春, 吕有勇</p> <p>1777 食管癌中的等位基因缺失 李洁, 刘芝华</p> <p>1782 溃疡性结肠炎发病机制及其研究进展 周琦, 林平, 潘慧, 梅林</p> <p>1787 蛋白酶激活受体-2 与胃癌疾病的研究进展 朱雄伟, 王强, 温光保, 李兆申</p>
研究快报	<p>1793 轮状病毒胃肠炎与表皮生长因子关系初步研究 吴建森, 姚英民</p> <p>1794 尿毒症患者透析前后胃肌电活动的研究 武立群, 王虹, 顾清, 张悦, 李松扬</p> <p>1796 消炎痛和幽门螺杆菌在胃溃疡致病中的相互作用研究 迟晶, 赵金满, 于继红, 傅宝玉</p> <p>1797 原发性肝癌乙型肝炎病毒 mRNA 的表达及其意义 陈晓晓, 刘颖斌, 时开同, 彭淑娟, 彭承宏, 史留斌, 沈宏伟</p> <p>1800 MDM2 基因扩增和蛋白表达与胃癌相关性的研究 孙利平, 李岩, 张宁, 姜乃佳, 付伟, 薛一雷</p> <p>1802 HBsAg 疫苗对非溶细胞性和溶细胞性细胞免疫应答的影响 熊一力, 贾彦征, 施理, 张宜俊</p>

研究快报

- 1804 P27kip1、CyclinE 和 CyclinA 在胃癌中的表达及意义 金顺花, 朴熙雄, 金海峰, 朴凤顺, 许强
1807 血管紧张素 II 对大鼠 HSC 合成 PAI-I 的影响及 NO 的干预作用 张磊, 李定国, 尤汉宇, 刘清华, 宗喜华, 陆汉明

临床经验

- 1809 TTF1 在正常及损伤胃黏膜中的表达改变 任建林, 卢维正, 王琳, 陈建民, 施华芳, 叶震世, 吴艳环, 钟燕, 林进江, 林琛, 潘金水, 罗金燕
1811 肝性脊髓病 8 例 王春平, 冯永毅, 苏淑慧, 李迎新, 彭晓君
1812 直肠癌前哨淋巴结检测 102 例 魏寿江, 王树树, 赵国刚, 侯华芳
1814 功能性消化不良患者胃排空障碍与胃肠激素的关系 何美蓉, 宋子刚, 何春容
1816 上消化道流行病学研究 黄中平
1818 胃液抗 Hp IgA 测定对 Hp 根除治疗效果的判断 谢勇, 吕农华, 黄德强, 陈江, 徐泽, 王崇文
1820 原发性十二指肠癌 16 例 谢磊, 刘之武, 王志川
1822 丙型肝炎病毒母婴传播及羊水、乳汁和唾液的作用 王占英, 牛美智, 曹学强, 李颖, 乔光彦
1824 十二指肠癌 120 例 吴江, 邓长生
1825 乙肝病毒感染相关原发性肝癌 320 例 苏淑慧, 王春平, 李迎新, 冯永毅
1827 胆管癌组织 p53 和血管内皮生长因子表达与血管生成的相关性研究 陈勇军, 俞亚红, 丁志强
1830 奥曲肽治疗肠梗阻 25 例 张长青, 张荣珍, 吴伟岗, 黄贵毅
1832 理学检查慢性胃十二指肠炎 280 例 谭允熙, 李增芬, 谭汇泉
1835 艾滋病患者中 HCV、HBV 及 HGV 的感染状况 骆嘉社, 桂希恩, 庄柯
1837 胆心反射及胆心综合征的诊治 卫洪波, 汪壮流, 杨柳, 李文胜, 陈勇, 唐秋林
1839 陕西部分农村 0-18 月婴幼儿肠道内微生物菌群状况研究 孙晓魁, 刘黎明, 郝炳华, 杨文方, 贾梅, Acheson K
1841 糖尿病患者胆囊排空功能与胃肠激素的关系 王艳军, 徐永泉, 林艳, 李士星
1843 慢性小肠性腹泻中的 IBS 吴杰, 邓昊, 贾贵贵, 陈时
1844 矿区居民幽门螺杆菌感染状况及危险因素分析 雷静静, 周力, 谭玉洁, 杨斌, 刘星峰, 杜纪恩
1848 直视微创胆道手术 52 例 姜伟青, 周建明, 陆军

病例报告

- 1851 分体联合手术治疗小儿原发性门静脉海绵样变 1 例 方艳华, 朱新勇, 方石岗
1852 马内非青霉素 1 例 尹雯, 汪光强, 郑晓平, 彭国林
1853 胰性胸膈 8 例 王平, 崔彦, 古敏, 刘子沛, 李锐鸣
1855 胃移植术后回肠结肠并出血、梗阻 1 例报告 金红旭, 张雪峰, 王正强

读者来信

- 1698 徐新保
1705 Ferenc SZALAY

封面故事

- 1664 复方健脾胃散 II 期临床研究方案讨论会在福州举行

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名
陈可冀 题写版权刊名
(月刊)
创刊 1993-01-15
改刊 1998-01-25
出版 2003-11-15
原名 新消化病学杂志

总编辑 陈可冀
黄家骝
黄志强
廖介寿
刘耕陶
袁法祖
汤树敏
王宝恩
虎北超
关益超
关成中

社长兼编辑 马进荣
中文编辑 潘柏松
王理晖
英文编辑 朱丽红
排版 廖少华
校对 李天华

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会

030001, 山西省太原市迎泽西大街 77 号

E-mail: wjcd@wjgnet.com

出版 世界胃肠病学杂志社

100023, 北京市 2345 信箱

E-mail: wjcd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

电话 010185381892

传真 010185381893

印刷 北京科德印刷厂

发行 国内 北京报刊发行局

国外 中国国际图书贸易总公司

(100044, 北京 399 信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部

(100023, 北京市 2345 信箱)

电话 010185381892

传真 010185381893

2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外

检索系统收录

美国《化学文摘(CA)》

荷兰《医学文摘/医学文摘(EM)》

俄罗斯《文摘杂志(PJ)》

中国科技论文统计与分析

中国学术期刊文摘

中国中医药信息资源网

中国生物医学文献光盘数据库

《中文科技资料目录(医药卫生)》

中国生物医学文献数据库

中国医学文摘外科学分册(英文版)

中国医学文摘内科学分册(英文版)

特别声明

本刊刊登的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印刷质量问题, 请向本刊编辑部联系。

ISSN 1009-3079

CN 14-1260/R

邮发代号

82-262

国外代号

M 4481

国内定价

每册 24.00 元 全年 288.00 元

广告经营许可证

1401004001

www.wjgnet.com

食管癌中的等位基因缺失

李 洁, 刘芝华

李洁, 刘芝华, 中国医学科学院, 中国协和医科大学, 肿瘤研究所分子肿瘤学国家重点实验室 北京市 100021
国家“973”重点基础研究发展规划项目资助, No.G1998051021
项目负责人: 刘芝华, 100021, 北京市朝阳区潘家园南里17号, 中国医学科学院, 中国协和医科大学, 肿瘤研究所分子肿瘤学国家重点实验室.
liuzh@pubem.cicams.ac.cn
电话: 010-67723789 传真: 010-67715058
收稿日期: 2003-04-03 接受日期: 2003-05-21

摘要

食管癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一, 近年来对食管癌分子遗传基础研究取得了相当大的进展, 但其发生发展的分子机制仍不十分清楚. 在肿瘤研究中, 杂合性缺失是一种常用的等位基因缺失检测方法, 广泛用于候选抑癌基因的筛选及已知抑癌基因失活机制的阐明等方面. 并且等位基因异常在多种肿瘤中被证明是肿瘤发生早期事件, 因此杂合性缺失可能成为肿瘤筛查和早期诊断的重要工具. 等位基因缺失研究常用技术包括限制性片段长度多态性和微卫星分析等. 食管癌中常见的染色体缺失区及其相关基因有17号染色体短臂(p53基因)、13号染色体长臂(Rb基因)等. 本文对以上几方面以及等位基因缺失在食管癌发展不同时期的变化等作了较为详细的阐述.

李洁, 刘芝华. 食管癌中的等位基因缺失. 世界华人消化杂志 2003;11(11): 1777-1781

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1777.asp>

0 引言

食管癌(esophageal cancer, EC)是世界上最常见的10种恶性肿瘤之一, 每年新增患者超过300 000人, 并且大多发生于发展中国家^[1]. 食管癌有两种主要形式, 鳞癌(squamous cell carcinoma, SCC)和腺癌(adenocarcinoma, ADC). 他们有不同的病因学和病理学特征. 西方国家腺癌多见, 在美国腺癌占食管癌总数的50%左右. 我国食管癌占恶性肿瘤发病的第四位, 并且以鳞癌为主. 近10 a来, 对食管癌分子遗传基础研究取得了相当大的进展, 对食管癌病因学、病理学的研究和临床诊治产生了巨大的影响.

杂合性缺失(loss of heterozygosity, LOH)是一种等位基因缺失, 表现为与同一个体正常组织相比, 肿瘤组织的一个等位基因消失. 在扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism)分析中, 表现为肿瘤组织的一个等位基因与非肿瘤组织相应等位基因相同, 而另一等位基因消失或条带密度减少50%以上. 肿瘤细胞中的LOH已被证明是肿瘤特异性遗传缺失的有效指示

剂, 这些缺失区域常包括与肿瘤发生有关的基因, 特别是候选抑癌基因. 在对Rb基因和p53基因的抑癌作用的阐明中, LOH就是一个关键的因素. 此外, 等位基因缺失也可作为遗传易感性或肿瘤早期检测的标志.

1 等位基因缺失研究常用技术

较早时期的杂合性缺失研究常采用限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)技术, 通过观察基因组DNA经限制性内切酶水解后肿瘤组织与正常组织相比等位基因的改变来分析等位基因缺失的情况. 采集配对标本后, 分别提取基因组DNA, 特定的限制性内切酶酶切、电泳、转印, 与标记探针进行Southern杂交, 分析等位基因的变化. PCR方法问世后, RFLP分析不再停留于传统的Southern杂交, 进一步采用更快速、简便、灵敏度高, 以及DNA样本用量低的PCR结合RFLP法, 即PCR-RFLP, 首先设计PCR引物, 使其扩增片段包含多态性限制性酶切位点序列, PCR扩增后, 用相应的内切酶酶切PCR产物, 直接电泳以观察酶切片段的长度多态性变化.

近年来, 随着微卫星(microsatellite)的发现和研究的深入, 微卫星分析逐渐取代RFLP成为检测等位基因缺失的主要方法. 他比RFLP方法简易快速, 其基本方法为首先用PCR技术扩增选定的微卫星核苷酸重复序列, 然后用凝胶电泳分析DNA序列的变化. 电泳后可以直接用银染法染色观察结果, 或者根据引物标记物的不同(同位素标记或荧光素标记), 分别采用放射自显影或者荧光自动化分析系统观察分析结果.

2 各个染色体缺失区及其相关基因

食管癌中等位基因缺失的研究发现, 2q, 3p, 3q, 4p, 4q, 5q, 6q, 8p, 9p, 9q, 10p, 11p, 13q, 14q, 15q, 17p, 17q, 18q, 19q, 21q有较高的LOH频率(30%以上), 其中2q, 4p, 4q, 6q, 14q, 15q是最近发现的新的较高频率缺失区域^[2-4](表1). 在SCC和ADC中, 各个位点的缺失频率基本上没有显著差别.

2.1 17号染色体短臂(17p) 如同在多种人类肿瘤中一样, 17p等位基因缺失在食管癌中经常发生, 其缺失通常围绕p53基因所在的17p13.p53转录产物分子量为53 kD, 是具有序列特异的DNA结合特性的磷酸蛋白. 正常细胞持续合成P53蛋白但并不在细胞中积聚. 当细胞暴露在DNA损伤因素中, P53蛋白稳定性增加并激活使细胞停止在G1期及诱导细胞凋亡的靶基因, 使

含有受损 DNA 的细胞或停留在 G1 期修复或发生凋亡, 从而防止损伤 DNA 的复制。

表 1 常见等位基因缺失区及相关基因

染色体	共同缺失区	候选基因	突变	肿瘤异常
1p	1p36	p73	少	LOH; ?
3p	3p21.3-p22	hMLH-1		
		DLC1		转录抑制
	3p13-p14	FHIT		LOH; 甲基化
5q	5q21.2	APC/MCC	极少	甲基化; LOH
8p	8p22	FEZ1		转录抑制
9p	9p22	p15(MTS-1), p16		纯合缺失, 启动子区甲基化
9q	9q22	PTCH	有	突变; LOH
	9q31	ESS1		
13q	13q14	Rb	无	LOH; 表达缺失
	13q33-34	ING1	有	缺失; 突变
16q	16q23.3-q24.1	WWOX		
17p	17p13	p53	高	点突变; LOH
17q	17q25	TOC		LOH; ?
	17q21.3	BCRA1		
18q	18q21.1	Smad		
	18q23.3	DCC	少	

Wagata et al^[5]报道在日本 45 % 的食管鳞癌中存在 17p 上 p53 所在位置缺失, 并分析了 p53 突变与 17p 缺失之间的关系。其研究结果显示, 16 例 17p 缺失中 12 例有突变, 而 11 例无 17p 缺失的有 2 例有突变, 提示 p53 基因突变与 17p 缺失可能密切相关。免疫组化结果显示突变与 p53 异常表达之间有很好的关联。Hu et al^[6]对 56 例来自中国食管癌高发区的 ESCC 标本的研究结果与前者一致, p53 的多种遗传改变提示这些肿瘤具有高度遗传不稳定性的特点, p53 是失活的主要靶基因, 可能在 ESCC 的发生、发展过程中起重要作用。另外, 有研究数据显示, 在食管癌中, 17p 两条等位基因都存在的情况下, p53 的一条等位基因也常发生突变, 这一发现提示 p53 突变是食管癌发生中的早期变化; 并且突变的 P53 蛋白可能发挥占支配地位的反作用, 抵消了保留下来的野生型等位基因的作用。突变的存在可能有利于较晚时期另一条等位基因缺失发生。然而, 应该指出的是, 在许多病例中, 即使保留下来的 p53 等位基因没有突变, 17p 等位基因也会有缺失, 这种情况指出在这个染色体区可能还存在其他的抑癌基因。

除 17p13.2-p13.1(p53)之外, 有研究者^[7]对整个 17p 作 LOH 发现另 2 个高频缺失区(大于或等于 80 %), 包括 17p13.3-p13.2(VCA1, OVCA2, HIC-1), 17p13.1-p12(ZNF18, ZNF29, ALDH3, ALDH10)。

2.2 17号染色体长臂(17q) Mori et al^[8]检测了 94 例 ESCC 中 17q 的 LOH, 62 % (56/91)有至少一个多态标记发生

LOH。共同缺失区定位于 17q21.3, 这一区域包括 BRCA1 基因。分析实验结果与临床病理资料发现, 17q 的缺失通常发生在肿瘤发生早期阶段。在女性患者中 17q LOH 发生率显著高于男性。

胼胝症(tylosis)是一种罕见的常染色体显性综合征, 与 ESCC 的高发有关。在散发的 ESCC 中, TOC (tylosis esophageal cancer)基因所在的 17q25 LOH 发生频率非常高(64-80 %)^[9], 说明 17q25 可能存在与 ESCC 有关的抑癌基因, 支持了 TOC 基因参与部分散发 ESCC 形成过程的假设, 但仍需要进一步的研究加以证实。

2.3 13号染色体长臂(13q) 有研究发现 13q 的 LOH 与 ESCC 的淋巴结转移和预后差有关。Rb 基因位于 13q14, 是最早确定的抑癌基因。Rb 蛋白通过磷酸化和去磷酸化调节细胞周期, Rb 基因失活可使细胞 G1 期调控点异常, 细胞过度增生。ESCC 中 Rb 基因所在区 LOH 高达 55 %, 在 Rb LOH 的肿瘤标本中, 90 % 显示 Rb 表达水平降低或检测不到, 而没有 LOH 的标本中, 只有 20 % Rb 表达改变。基因的突变未见普遍发生。在 Rb 基因的 LOH 和 Rb 蛋白的表达异常之间有很强相关性, 提示 LOH 可能是导致 Rb 失活的主要事件。但 Rb-LOH 与淋巴结转移缺乏显著相关, Rb 基因失活可能与淋巴结转移无关。在伴随 p53 基因突变的肿瘤中, Rb LOH 发生率显著提高, 二者之间具有较强相关性; 提示 Rb 和 p53 通路的缺陷及他们在细胞周期和细胞凋亡调控中潜在的协同作用可能是食管癌发生的重要机制^[10, 11]。进一步研究发现 13q12-13 缺失频率(38.6-43.7 %)较高, 但这一区域的 BRCA2 基因未检测出肿瘤特异性突变, 也未发现表达缺失, 提示 BRCA2 可能不是等位缺失的靶基因。此区的候选抑癌基因 AS3 是否与 ESCC 发生和淋巴结转移有关仍不清楚。此区域可能存在与原发性 ESCC 发展及淋巴结转移有关的还未证实的抑癌基因, 其位置很可能位于 13q12.3-q13.1 和 13q12.11^[12-14]。另外, 在有上消化道家族史和无家族史的患者中对照研究表明 13q LOH 有家族史的明显高于无家族史的, 提示 13q 可能存在与食管癌遗传易感性有关的基因^[3]。

13q33-34 的候选抑癌基因 ING1 在 ESCC 中有 58.9 % 的缺失率, 并检测到 4 个肿瘤特异性错义突变。ING1 可能在 ESCC 的发展中有作用。免疫组化显示所有标本(31)均无 ING1 蛋白表达, 可能遗传改变和外遗传改变一同使 ING1 失去了正常功能^[15]。新近发现的 13q14.1-q14.3 缺失区也是一个值得关注的区段, 包括候选基因 ESD, HTR2, LCP1^[16]。

2.4 9号染色体 自从发现 9p 在 ADC 和 SSC 中都有很高的 LOH, 位于 9p21 的 p16(CDKN2/MTS1)和 p15(CDKN2B/MTS2)基因失活与食管癌的关系引起了研究者极大的兴趣。p16 和 p15 属于 INK4I(cyclin-dependent kinase 4 inhibitors)家族, 在细胞周期 G1 期调控细胞增生。他们的失活可能与肿瘤细胞恶性增生有关。在 ESCC 细胞系中, 55 % 细胞系显示 p16, p15 和 / 或 9p21 相邻位点

有纯合性缺失. 缺乏纯合缺失的细胞系未检测到突变. RT-PCR 证明 mRNA 水平的改变与其纯合缺失之间有非常好的相关性. 因此, p16 和 p15 的失活可能与食管细胞恶性表型有关, 而纯合缺失是其失活的主要机制. 或者, 在其紧邻区可能存在缺失的靶基因. 在 ESCC 肿瘤标本的研究中发现, p16 失活占优势作用的是启动子区 CpG 岛异常甲基化, 突变和纯合缺失相对很低. 突变可能出现在不典型增生和 ESCC 发生之前, 纯合缺失可能是 p16 沉默之后的事件. 而 p15 常发生纯合缺失. 提示这两个基因通过不同的机制失活^[17, 18]. p16 失活和 p53 LOH 之间有相反的关系, 提示 p16 和 p53 参与了两条重要且独立的与 ESCC 靶基因失活有关的细胞通路^[19].

9q 末端区域 LOH 在包括 ESCC 的多种肿瘤中时常发生, 提示 9q 末端可能存在与多种组织鳞状细胞癌相关的抑癌基因. 位于 9q22 的 PTCH (the human homologue of the Drosophila segment polarity gene patched) 被认为是痣样基底细胞癌综合征和散发的基底细胞癌的抑癌基因. Maesawa et al^[20] 研究结果提示在部分 ESCC 中, PTCH 基因可能通过突变和 LOH 双重打击机制而失活. 位于 9q22-31 的 ESS1 是另一个候选基因.

2.5 3, 5, 18 号染色体 3 号染色体上的等位基因缺失见于 3q25, 3p22, 3p13-14. 3q25 LOH 与淋巴结转移显著相关. 位于 3p22 附近的 hMLH 是一个错配修复基因, 与 HNPCC (hereditary non-polyposis colorectal cancer) 的易感性相关. 有报道在散发性结直肠癌、子宫内膜癌和胃癌中 hMLH 启动子区高甲基化可引起微卫星不稳定性^[21]. FHIT 定位于 3p14, 跨越了 FRA3B 脆性位点. FHIT 基因失活可能与基因缺失和 5' CpG 岛甲基化有关, 其蛋白表达下降与 ESCC 的发展有关, 但是与预后和吸烟史的关系可能不大. FHIT 在食管癌的发展中可能有重要作用^[22, 23].

APC 和 MCC 紧密连锁, 定位于 5q21, LOH 可达 50 % 以上, 但二者缺失无相关性. Shibagaki et al^[24] 检测了 60 例原发 ESCC 和 20 个 ESCC 细胞系 APC 基因第 15 外显子(突变热点)的突变情况, 未发现任何突变. Aoki et al^[25] 检测了 APC 三分之一的编码区, 也未发现突变. Kawakami et al^[26] 发现 APC 启动子区甲基化在 ADC 和 SCC 中都很高, 分别为 92 % (48/52) 和 50 % (16/32). 甲基化可能是 APC 失活的主要机制. 或者, 5q 还可能存在别的与食管癌有关的基因. 5p15.2 也有较高 LOH, 而且 SCC 中 5p15.2 缺失显著高于 ADC, 5p 上可能存在未知的抑癌基因.

18 号染色体 LOH 高频区包括 18q12.2-q12.1, 18p11.2 和 18q21.1, 包括已知脆性位点 FRA18A^[27, 28]. DCC 基因位于 18q23.3, 但是 18q LOH 共同缺失区不包括 DCC 所在位置. DCC-LOH 与淋巴结转移、病理分级与肿瘤分期均无显著相关性, 提示 18q 可能存在其他与 ESCC 发生、发展有关的未知抑癌基因. 而另一研究小组报告对 51 例原发性 ESCC 中 DCC 的点突变和缺失情况进行

检测, 发现在中低分化而不是高分化鳞癌中存在等位缺失, 说明 DCC 基因异常与分化程度有关. DCC 基因与 ESCC 发生、发展的关系有待进一步研究. MAD (mothers against decapentaplegic) 相关基因 Smad2 和 Smad4 已被定位于 18q21.1. Maesawa et al^[29] 检测了 30 例原发 ESCC 和 7 个 ESCC 细胞系 Smad2 和 Smad4 的基因内突变和 LOH 发生频率. LOH 35 %, 但未检测到突变和细胞系内的纯合缺失, 提示 MAD 相关基因异常在 ESCC 中不常见. Osawa et al^[30] 的报道与之一致. Smad 家族在食管癌中的作用还有待研究.

2.6 其他染色体 在成神经细胞瘤和其他多种肿瘤中多个抑癌基因位于 1p36. p73 基因定位于 1p36.3, 编码 p53 同源蛋白. 在食管癌中, p73 等位基因多态性普遍存在, 基因突变少见. 和 p53 不同, p73 等位基因缺失或突变可能并不是肿瘤发生的主要遗传事件. 肿瘤组织中 p73 的过表达与 p53 缺陷显著相关, 可能是 p53 缺陷的部分代偿机制. p73 AT/AT 纯合子在肿瘤人群中显著少于正常对照人群, 且在 AT/GC 的杂合子中 LOH 为 37.8 % (14/51), 所有缺失均丢失 AT 等位基因. 提示 p73 AT/AT 纯合可能有防止食管癌发展的作用^[31, 32].

WWOX (WW domain containing oxidoreductase) 是定位于 16q23.3-24.1 的候选抑癌基因, 这一区域包括 FRA16D 脆性位点. 在 ESCC 中, WWOX-LOH 39 % (14/36), 并检测出肿瘤特异性错义突变和基因转录畸变. 提示 WWOX 失活在 ESCC 中可能有重要作用^[33].

食管癌中 6 号染色体上抑癌基因 p21 (Waf 1) 所在位置有高比率的 LOH, 其邻近的 HLA class I mRNA 和蛋白水平普遍下调, 但 LOH 和微卫星不稳定 (microsatellite instability, MSI) 相对较低, HLA-A, -B, -C 启动子区高甲基化是其转录失活的主要机制^[34].

11 号染色体中 11p15.5 和 11q22.3^[35], 21 号染色体整个长臂都经常发生缺失, 后者多发生在 TNM 分期的早期^[36]. 这些区段可能存在未知的抑癌基因.

3 等位基因缺失在食管癌发展不同时期的变化

食管癌是一系列组织病理改变的结果, 典型的病理改变包括食管炎, 萎缩, 轻度到重度的不典型增生, 原位癌, 直至最终形成浸润癌^[37]. 迄今为止, 对等位基因缺失在食管癌发展不同时期的变化的研究报道仍比较少. Roth et al^[38] 等选用了 12 个多态性标记比较低度不典型增生、重度不典型增生、浸润癌三个时期的 LOH, 结果显示在早期 3p, 4p, 9q, 13q 发生 LOH, 随着病变严重程度增加, LOH 频率增高, 并且 8p, 9p, 11p, 17p 上另外 8 个多态性位点也检测到了 LOH, 提示这些位点在增生较晚时期发生等位基因缺失.

另外有研究者^[39, 40] 报道在 5q 等位基因缺失之前, 13q, 17q, 18q 可出现联合缺失.

4 问题与展望

等位基因缺失分析已成为研究已知抑癌基因和寻找新的抑癌基因的重要线索. 利用这种方法, 大量新的候选抑癌基因被定位于不同的染色体区域, 并已有一些基因被定位克隆和鉴定. 另外, 在多种肿瘤中等位基因异常被证明是肿瘤发生早期事件, 这使 LOH 作为肿瘤筛查和早期诊断的重要工具成为可能. 未来的研究方向可主要归纳为以下几个方面: (1)通过等位基因缺失筛选出的多个候选抑癌基因有待于进一步研究证实其在食管癌发生、发展中的作用; (2)应用一次可以检测上千个单核苷酸多态(SNPs)的 DNA 芯片在整个基因组中寻找高频 LOH 区也是一个值得关注的研究方向; (3)通过 LOH 可比较食管癌家族史与非家族史、肿瘤发展各阶段、不同分化程度肿瘤、各致病因素以及继发性肿瘤与原发肿瘤之间的关系; (4)希望通过 LOH 找到合适位点作为肿瘤早期诊断的分子标志物, 为高发区普查和临床诊断提供方便可靠的辅助诊断方法.

目前, LOH 多选用微卫星作为多态性标记. 微卫星作为一种出色的遗传标记, 它具有信息量大、多态性高、稳定性好、检测方便等优势. 微卫星杂合性缺失在肿瘤研究中的应用已经在肿瘤工作者面前展现出一片诱人的前景, 不过仍有许多问题需要解决: (1)由于微卫星数目大, 分布广, 如何选取适当的位点实在令人困惑; (2)许多研究者相互矛盾的结论, 也需要在更加一致的研究标准下扩大研究范围来取得共识; (3)在研究方法上, 传统的同位素标记和银染技术, 也有待被快速、灵敏、无害的自动荧光检测技术所取代.

但人们有理由相信, 随着分子生物学技术的进展以及微卫星基础研究的深入, 杂合性缺失技术必将在肿瘤研究领域发挥更大的作用.

5 参考文献

- Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncol* 2001;2:533-543
- Hu N, Roth MJ, Polymeropolous M, Tang ZZ, Emmert-Buck MR, Wang QH, Goldstein AM, Feng SS, Dawsey SM, Ding T, Zhuang ZP, Han XY, Ried T, Giffen C, Taylor PR. Identification of novel regions of allelic loss from a genomewide scan of esophageal squamous-cell carcinoma in a high-risk Chinese population. *Genes Chromosomes Cancer* 2000;27:217-228
- Hu N, Roth MJ, Emmert-Buck MR, Tang ZZ, Polymeropolous M, Wang QH, Goldstein AM, Han XY, Dawsey SM, Ding T, Giffen C, Taylor PR. Allelic loss in esophageal squamous cell carcinoma patients with and without family history of upper gastrointestinal tract cancer. *Clin Cancer Res* 1999;5:3476-3482
- Ko JM, Wong CP, Tang CM, Lau KW, Lung ML. Frequent loss of heterozygosity on multiple chromosomes in Chinese esophageal squamous cell carcinomas. *Cancer Lett* 2001;170:131-138
- Wagata T, Shibagaki I, Imamura M, Shimada Y, Toguchida J, Yandell DW, Ikenaga M, Tobe T, Ishizaki K. Loss of 17p, mutation of the p53 gene, and overexpression of p53 protein in esophageal squamous cell carcinomas. *Cancer Res* 1993;53:846-850
- Hu N, Huang J, Emmert-Buck MR, Tang ZZ, Roth MJ, Wang C, Dawsey SM, Li G, Li WJ, Wang QH, Han XY, Ding T, Giffen C, Goldstein AM, Taylor PR. Frequent inactivation of the TP53 gene in esophageal squamous cell carcinoma from a high-risk population in China. *Clin Cancer Res* 2001;7:883-891
- Huang J, Hu N, Goldstein AM, Emmert-Buck MR, Tang ZZ, Roth MJ, Wang QH, Dawsey SM, Han XY, Ding T, Li G, Giffen C, Taylor PR. High frequency allelic loss on chromosome 17p13.3-p11.1 in esophageal squamous cell carcinomas from a high incidence area in northern China. *Carcinogenesis* 2000;21:2019-2026
- Mori T, Aoki T, Matsubara T, Iida F, Du X, Nishihira T, Mori S, Nakamura Y. Frequent loss of heterozygosity in the region including BRCA1 on chromosome 17q in squamous cell carcinomas of the esophagus. *Cancer Res* 1994;54:1638-1640
- Risk JM, Mills HS, Garde J, Dunn JR, Evans KE, Hollstein M, Field JK. The tylosis esophageal cancer (TOC) locus: more than just a familial cancer gene. *Dis Esophagus* 1999;12:173-176
- Xing EP, Yang GY, Wang LD, Shi ST, Yang CS. Loss of heterozygosity of the Rb gene correlates with pRb protein expression and associates with p53 alteration in human esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 1999;5:1231-1240
- Harada H, Tanaka H, Shimada Y, Shinoda M, Imamura M, Ishizaki K. Lymph node metastasis is associated with allelic loss on chromosome 13q12-13 in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 1999;59:3724-3729
- Harada H, Uchida N, Shimada Y, Kumimoto H, Shinoda M, Imamura M, Ishizaki K. Polymorphism and allelic loss at the AS3 locus on 13q12-13 in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 2001;18:1003-1007
- Li G, Hu N, Goldstein AM, Tang ZZ, Roth MJ, Wang QH, Dawsey SM, Han XY, Ding T, Huang J, Giffen C, Taylor PR, Emmert-Buck MR. Allelic loss on chromosome bands 13q11-q13 in esophageal squamous cell carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2001;31:390-397
- Hu N, Li G, Li WJ, Wang C, Goldstein AM, Tang ZZ, Roth MJ, Dawsey SM, Huang J, Wang QH, Ding T, Giffen C, Taylor PR, Emmert-Buck MR. Infrequent mutation in the BRCA2 gene in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002;8:1121-1126
- Chen L, Matsubara N, Yoshino T, Nagasaka T, Hoshizima N, Shirakawa Y, Naomoto Y, Isozaki H, Riabowol K, Tanaka N. Genetic alterations of candidate tumor suppressor ING1 in human esophageal squamous cell cancer. *Cancer Res* 2001;61:4345-4349
- Huang XP, Wei F, Liu XY, Xu X, Hu H, Chen BS, Xia SH, Han YS, Han YL, Cai Y, Wu M, Wang MR. Allelic loss on 13q in esophageal squamous cell carcinomas from northern China. *Cancer Lett* 2002;185:87-94
- Xing EP, Nie Y, Wang LD, Yang GY, Yang CS. Aberrant methylation of p16INK4a and deletion of p15INK4b are frequent events in human esophageal cancer in Linxian, China. *Carcinogenesis* 1999;20:77-84
- Tokugawa T, Sugihara H, Tani T, Hattori T. Modes of silencing of p16 in development of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2002;62:4938-4944
- Smeds J, Berggren P, Ma X, Xu Z, Hemminki K, Kumar R. Genetic status of cell cycle regulators in squamous cell carcinoma of the oesophagus: the CDKN2A (p16(INK4a)) and p14(ARF) and p53 genes are major targets for inactivation. *Carcinogenesis* 2002;23:645-655
- Maesawa C, Tamura G, Iwaya T, Ogasawara S, Ishida K, Sato N, Nishizuka S, Suzuki Y, Ikeda K, Aoki K, Saito K, Satodate R. Mutations in the human homologue of the Drosophila patched gene in esophageal squamous cell carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 1998;21:276-279
- Fujiki T, Haraoka S, Yoshioka S, Ohshima K, Iwashita A, Kikuchi M. p53 Gene mutation and genetic instability in superficial multifocal esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 2002;20:669-679
- Shimada Y, Sato F, Watanabe G, Yamasaki S, Kato M, Maeda M, Imamura M. Loss of fragile histidine triad gene expression is associated with progression of esophageal squamous cell carcinoma, but not with the patient's prognosis and smoking

- history. *Cancer* 2000;89:5-11
- 23 Menin C, Santacatterina M, Zambon A, Montagna M, Parenti A, Ruol A, D' Andrea E. Anomalous transcripts and allelic deletions of the FHIT gene in human esophageal cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 2000;119:56-61
 - 24 Shibagaki I, Shimada Y, Wagata T, Ikenaga M, Imamura M, Ishizaki K. Allelotype analysis of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 1994;54:2996-3000
 - 25 Aoki T, Mori T, Du X, Nishihira T, Matsubara T, Nakamura Y. Allelotype study of esophageal carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 1994;10:177-182
 - 26 Kawakami K, Brabender J, Lord RV, Groshen S, Greenwald BD, Krasna MJ, Yin J, Fleisher AS, Abraham JM, Beer DG, Sidransky D, Huss HT, Demeester TR, Eads C, Laird PW, Ilson DH, Kelsen DP, Harpole D, Moore MB, Danenberg KD, Danenberg PV, Meltzer SJ. Hypermethylated APC DNA in plasma and prognosis of patients with esophageal adenocarcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:1805-1811
 - 27 Karkera JD, Ayache S, Ransome RJ Jr, Jackson MA, Elsayem AF, Sridhar R, Detera-Wadleigh SD, Wadleigh RG. Refinement of regions with allelic loss on chromosome 18p11.2 and 18q12.2 in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2000;6:3565-3569
 - 28 Karkera JD, Balan KV, Yoshikawa T, Lipman TO, Korman L, Sharma A, Patterson RH, Sani N, Detera-Wadleigh SD, Wadleigh RG. Systematic screening of chromosome 18 for loss of heterozygosity in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1999;111:81-86
 - 29 Maesawa C, Tamura G, Nishizuka S, Iwaya T, Ogasawara S, Ishida K, Sakata K, Sato N, Ikeda K, Kimura Y, Saito K, Satodate R. MAD-related genes on 18q21.1, Smad2 and Smad4, are altered infrequently in esophageal squamous cell carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 1997;88:340-343
 - 30 Osawa H, Shitara Y, Shoji H, Mogi A, Kuwano H, Hagiwara K, Takenoshita S. Mutation analysis of transforming growth factor beta type II receptor, Smad2, Smad3 and Smad4 in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 2000;17:723-728
 - 31 Cai YC, Yang GY, Nie Y, Wang LD, Zhao X, Song YL, Seril DN, Liao J, Xing EP, Yang CS. Molecular alterations of p73 in human esophageal squamous cell carcinomas: loss of heterozygosity occurs frequently; loss of imprinting and elevation of p73 expression may be related to defective p53. *Carcinogenesis* 2000;21:683-689
 - 32 Ryan BM, McManus R, Daly JS, Carton E, Keeling PW, Reynolds JV, Kelleher D. A common p73 polymorphism is associated with a reduced incidence of oesophageal carcinoma. *Br J Cancer* 2001;85:1499-1503
 - 33 Kuroki T, Trapasso F, Shiraishi T, Alder H, Mimori K, Mori M, Croce CM. Genetic alterations of the tumor suppressor gene WWOX in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2002;62:2258-2260
 - 34 Nie Y, Yang G, Song Y, Zhao X, So C, Liao J, Wang LD, Yang CS. DNA hypermethylation is a mechanism for loss of expression of the HLA class I genes in human esophageal squamous cell carcinomas. *Carcinogenesis* 2001;22:1615-1623
 - 35 Lam CT, Tang CM, Lau KW, Lung ML. Loss of heterozygosity on chromosome 11 in esophageal squamous cell carcinomas. *Cancer Lett* 2002;178:75-81
 - 36 Mayama T, Fukushige S, Shineha R, Nishihira T, Satomi S, Horii A. Frequent loss of copy number on the long arm of chromosome 21 in human esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 2000;17:245-252
 - 37 Mandard AM, Hainaut P, Hollstein M. Genetic steps in the development of squamous cell carcinoma of the esophagus. *Mutat Res* 2000;462:335-342
 - 38 Roth MJ, Hu N, Emmert-Buck MR, Wang QH, Dawsey SM, Li G, Guo WJ, Zhang YZ, Taylor PR. Genetic progression and heterogeneity associated with the development of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2001;61:4098-4104
 - 39 Maesawa C, Tamura G, Suzuki Y, Ogasawara S, Ishida K, Saito K, Satodate R. Aberrations of tumor-suppressor genes (p53, apc, mcc and Rb) in esophageal squamous-cell carcinoma. *Int J Cancer* 1994;57:21-25
 - 40 Huang Y, Meltzer SJ, Yin J, Tong Y, Chang EH, Srivastava S, McDaniel T, Boynton RF, Zou ZQ. Altered messenger RNA and unique mutational profiles of p53 and Rb in human esophageal carcinomas. *Cancer Res* 1993;53:1889-1894



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

