

- 15 Ladner RC, Sato AK, Gorzelany J, de Souza M. Phage display-derived peptides as therapeutic alternatives to antibodies. *Drug Discov Today* 2004;9:525-529
- 16 Korn T, Nettelbeck DM, Volkel T, Muller R, Kontermann RE.

Recombinant bispecific antibodies for the targeting of adenoviruses to CEA-expressing tumour cells: a comparative analysis of bacterially expressed single-chain diabody and tandem scFv. *J Gene Med* 2004;6:642-651

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 研究快报 •

## 丙型肝炎病毒非结构蛋白5A反式激活蛋白5反式调节基因的筛选

张健, 刘妍, 成军, 王琳, 邵清

张健, 刘妍, 成军, 王琳, 邵清, 中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心, 全军病毒性肝炎防治研究重点实验室  
北京市 100039  
国家自然科学基金攻关项目, No. C03011402, No. C30070689  
军队“九、五”科技攻关项目, No. 98D063  
军队回国留学人员启动基金项目, No. 98H038  
军队“十、五”科技攻关青年基金项目, No. 01Q138  
军队“十、五”科技攻关面上项目, No. 01MB135  
北京市自然科学基金项目, No. 5042024  
项目负责人: 成军, 100039, 北京市西四环中路100号, 中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心, 全军病毒性肝炎防治研究重点实验室, cj@genetherapy.com.cn  
电话: 010-66933392 传真: 010-63801283  
收稿日期: 2004-05-28 接受日期: 2004-09-30

### 摘要

**目的:** 应用基因表达谱芯片技术研究丙型肝炎病毒非结构蛋白5A反式激活蛋白5的反式调节基因。

**方法:** 以分子生物学技术构建NS5ATP5的真核表达载体pcDNA3.1(-)-NS5ATP5, 以表达质粒pcDNA3.1(-)-NS5ATP5转染HepG2细胞, 以空载体pcDNA3.1(-)为平行对照, 制备转染后的细胞裂解液, 提取mRNA。应用基因表达谱芯片技术对差异表达mRNA进行检测和分析。

**结果:** HepG2细胞经转染NS5ATP5后, 有17条基因表达增强, 12条基因表达降低。

**结论:** 成功筛选了NS5ATP5的反式调节基因, 为进一步阐明NS5ATP5的反式激活作用及免疫调节机制提供了新的依据。

张健, 刘妍, 成军, 王琳, 邵清. 丙型肝炎病毒非结构蛋白5A反式激活蛋白5反式调节基因的筛选. 世界华人消化杂志 2004; 12(10):2901-2904  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2901.asp>

### 0 引言

丙型肝炎病毒(HCV)的感染, 不仅能够引起急慢性病毒性肝炎, 而且能够引起肝纤维化和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC), 严重危害人们的生命健康。我国目前一般人群的感染率达3.2%, 因而具

有很大的危害性<sup>[1-13]</sup>。HCV至少被分为10种结构蛋白和非结构蛋白, 其中非结构蛋白NS5A基因(位于6258-7601 nt之间)编码的Mr 58 000的NS5A蛋白(448 aa)具有多种生物学功能, 在HCV多蛋白的成熟和RNA的复制过程中具有十分重要的作用<sup>[14-17]</sup>。研究表明, NS5A是一种作用很强转录激活因子<sup>[18-22]</sup>, 调控着细胞内许多病毒及细胞基因的转录, 与感染HCV的细胞发生恶性转化过程有关。我实验室应用抑制性消减杂交技术(suppression subtractive hybridization, SSH)对NS5A的反式调节基因进行了初步的研究, 筛选出了一系列已知及未知功能基因, 并将其中一个未知功能基因克隆, 命名为丙型肝炎病毒非结构蛋白5A反式激活蛋白5(human gene 5 transactivated by nonstructural protein 5A of hepatitis C virus, HCV NS5ATP5)<sup>[23]</sup>。此外, 我实验室已经对NS5ATP5进行酵母双杂交研究, 观察了他与白细胞之间有相互作用的蛋白<sup>[24]</sup>。为了从不同的角度对NS5ATP5的反式调节基因进行验证及研究, 我们应用基因表达谱芯片技术(cDNA microarray)对NS5ATP5反式调节的靶基因成功地进行了筛选, 为今后更加广泛深入地研究NS5ATP5的反式调节基因打下了基础。

### 1 材料和方法

**1.1 材料** HepG2细胞及感受态大肠杆菌JM109(本室保存), pcDNA3.1(-)真核表达载体(Invitrogen公司); Lipofectamine PLUS转染试剂(Gibco公司), mRNA Purification试剂盒(Amersham Pharmacia Biotech公司), PCR-Select cDNA Subtraction试剂盒, 50 × PCR Enzyme Mix、Advantage PCR Cloning试剂盒(Clontech公司), High Pure PCR Product Purification试剂盒(Boehringer Mannheim公司), T7、SP6通用引物及pGEM-Teasy载体(Promega公司)。

#### 1.2 方法

**1.2.1 真核表达载体及细胞转染** NS5ATP5蛋白真核表达

质粒 pcDNA3.1(-)-NS5ATP5 为本室构建. 用 Lipofectamine PLUS 转染试剂将 2  $\mu$ g pcDNA3.1(-)-NS5ATP5 及 pcDNA3.1(-)空载体分别转染 35 mm 平皿 HepG2 细胞, 48 h 后收获细胞.

1.2.2 细胞 mRNA 提取 使用 mRNA Purification 试剂盒, 直接提取转染了 NS5ATP5 表达质粒及空载体的 HepG2 细胞 mRNA, 经琼脂糖凝胶电泳及分光光度计进行定性、定量分析.

1.2.3 探针标记 逆转录标记 cDNA 探针并纯化. Cy3-dUTP 标记对照组细胞 mRNA(5  $\mu$ g), Cy5-dUTP 标记实验组细胞 mRNA(5  $\mu$ g). 乙醇沉淀后溶解在 20  $\mu$ L 5  $\times$  SSC+2 g/L SDS 杂交液中.

1.2.4 芯片制备 包含的 1 152 个 cDNA 由上海联合基因有限公司提供, 包括原癌基因和抑癌基因、免疫调节相关基因、细胞凋亡和应激反应蛋白相关基因、信号转导相关基因等. 以通用引物进行 PCR 扩增, PCR 产物长度为 1 000–3 000 bp. 靶基因以 0.5 g/L 溶解于 3  $\times$  SSC 溶液中, 用 Cartesian 公司的 Cartesian 7 500 点样仪及 TeleChem 公司的硅烷化玻片进行点样. 玻片经水合(2 h)、室温干燥(30 min), 紫外线(UV)交联, 再分别用 2 g/L SDS、水及 2 g/L 的硼氢化钠溶液处理 10 min, 晾干备用.

1.2.5 杂交及洗涤 将基因芯片和杂交探针在 95  $^{\circ}$ C 水浴变性 5 min, 将混合探针加在基因芯片上, 置于 60  $^{\circ}$ C 杂交 15–17 h. 依次以 2  $\times$  SSC+2 g/L SDS、1 g/L  $\times$  SSC + 2 g/L SDS、1 g/L  $\times$  SSC 洗涤 10 min, 室温晾干.

1.2.6 检测与分析 用 General Scanning 公司的 ScanArray 3 000 扫描芯片. 用预先选定的内参照基因(24 条管家基因, 每个基因点 2 个点, 共 48 个点)对 Cy3 和 Cy5 的原始提取信号进行均衡和修正. 用 ImaGene 3.0 软件分析 Cy3、Cy5 两种荧光信号的强度, 计算 Cy5/Cy3 比值. 阳性结果判断: Cy5/Cy3>2.0, 红色荧光, 显示表达增强; Cy5/Cy3<0.5, 为绿色荧光, 显示表达减弱.

## 2 结果

2.1 总 RNA 及 mRNA 的定性、定量分析 总 RNA 的吸光度  $A_{260}/A_{280}>1.89$ , 热稳定实验 70  $^{\circ}$ C 保温 1 h 与 -20  $^{\circ}$ C 1 h 电泳条带比较, 显示 28 S 条带无明显降解, 电泳结果证实已抽提高纯度的总 RNA. mRNA 主要集中于 0.9–4.0 kb 的连续条带.

2.2 NS5ATP5 蛋白上调基因类型 在基因芯片的扫描分析中, 如果荧光染料的 Cy5/Cy3 比值在 2.000 以上, 就判断为 HCV NS5ATP5 蛋白的上调基因. 在我们的研究中, 因上调基因种类较多, 故将 Cy5/Cy3 比值 3.000 以上的定为上调基因. 共发现有 17 种基因的表达水平上调, 其中包括 4 种未知功能基因(表 1).

2.3 HCV NS5ATP5 蛋白下调基因类型 在基因芯片的扫描分析中, 如果荧光染料的 Cy5/Cy3 比值在 0.500 以下, 就判断为 HCV NS5ATP5 蛋白的下调基因. 基于上述同样原因, 本实验将 Cy5/Cy3 比值 0.300 以下的定为

下调基因. 在我们的研究中发现有 12 种基因的表达水平下调(表 2).

表 1 NS5ATP5 上调基因类型

编号	Cy3/Cy5 比值	基因名称
1	3.009	人类 lumican (LUM)
2	3.010	人类 cullin 2 (CUL2)
3	3.016	未知功能基因
4	3.021	人类 ATPase
5	3.049	未知功能基因
6	3.189	未知功能基因
7	3.375	人类肌凝蛋白 X (MYO10)
8	3.397	人类免疫球蛋白超家族蛋白(Z39IG)
9	3.592	人类丝氨酸或半胱氨酸蛋白酶抑制剂
10	3.686	人类墨角藻糖基转移酶 8 (FUT8)
11	3.746	人类 B 细胞相关蛋白(BRAC)
12	4.272	人类溶酶体相关膜蛋白 2 (LAMP2)
13	4.752	人类肿瘤坏死因子, 诱导蛋白 1
14	4.918	人类 TGF- $\beta$ 1R $\alpha$
15	4.937	人类蛋白激酶
16	5.475	人类 N-myc 下游调节(NDRG1)
17	7.157	未知功能基因

表 2 NS5ATP5 下调基因类型

编号	Cy3/Cy5 比值	基因名称
1	0.163	人类核仁蛋白
2	0.169	人 T 细胞受体重新排列 $\beta$ 链基因 V 区
3	0.176	人类色氨酸-tRNA 合成酶(WARS)
4	0.177	人胰岛素样生长因子 I IGF-I mRNA
5	0.215	人类促胸腺生成素(TMPO)
6	0.246	人类谷胱甘肽过氧化物酶 1(GPX1)
7	0.248	人类 v-myb 鸟类髓母细胞过多症癌基因同族体样 2 (MYBL2)
8	0.252	人类真核翻译延长因子 2 (EEF2)
9	0.268	人类衔接子相关蛋白复合体 1
10	0.278	人类 $M_r$ 10 000 热休克蛋白 1(HSPE1)
11	0.286	人类 tetratricopeptide 重复位点 2 (TTC2)
12	0.294	人类迷你染色体维持缺乏

## 3 讨论

丙型肝炎病毒基因组的翻译是在有关酶的作用下合成一个长约 3 011 氨基酸的多蛋白前体, 然后在宿主信号肽酶和病毒编码的蛋白酶作用下裂解为各种蛋白, 即: 结构蛋白 C、E1、E2、p7, 和非结构蛋白 NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A 和 NS5B<sup>[25–27]</sup>, 其中非结构蛋白 NS5A 具有多种生物学功能, HCV NS5A 是病毒编码的一种功能广泛的蛋白质, 参与许多重要的调节过程. HCV NS5A 位于 HCV 多蛋白的羧基末端, 是丝

氨酸磷酸化蛋白质, 依磷酸化程度的不同而产生两种不同分子量大小的多肽 p56 和 p58, p58 被认为是 p56 的超级磷酸化产物. NS5A 能够反式激活核转录因子 NF- $\kappa$ B 及 STAT3, 在细胞炎症反应、肿瘤发生及转移过程中起重要作用<sup>[28]</sup>. Ghosh *et al*<sup>[29]</sup> 研究发现, NS5A 蛋白能够抑制细胞周期调节基因 p21WAF1, 激活人肝癌细胞中增生细胞核抗原(PCNA)基因, 从而调节细胞凋亡, 促进细胞增生. NS5A cDNA 能够使转染的小鼠成纤维细胞 NIH 3T3 具有转化特性, 且转化细胞移植入裸鼠体内可形成纤维肉瘤灶, 这一证据直接证明了 HCV NS5A 蛋白的恶性转化潜能<sup>[30-32]</sup>. 目前认为 NS5A 蛋白是在细胞蛋白激酶作用下发生磷酸化修饰后发挥生物调节作用的. 不同磷酸化形式的 NS5A 蛋白具有不同反式激活作用是关于 NS5A 生物学功能研究的热点. 研究发现, NS5A 片段转录激活作用最强的位点定位于 2 135 和 2 331 aa 之间. NS5A 的转录激活区域包括两个酸性氨基酸区(2 143-2 184, 2 220-2 273 aa)和一个脯氨酸富集区(2 282-2 327 aa). 酸性氨基酸区的酸性氨基酸残基的数量与 NS5A 的反式激活活性相关, 两个酸性氨基酸区是 NS5A 的转录激活作用的核心区域, 因此酸性氨基酸区的一些氨基酸的突变可明显影响 NS5A 的转录激活作用, 但是这些突变更更多的是引起蛋白二级结构的改变.

我实验室应用 SSH 技术对 NS5A 的反式调节基因进行了初步的研究, 筛选出了一系列已知及未知功能基因, 并把其中一个未知功能基因克隆化, 命名为 NS5ATP5. 为进一步研究 NS5ATP5 的功能, 从而对 NS5A 的生理学功能有进一步的了解, 我们应用表达谱芯片技术对 NS5ATP5 的反式调节基因进行研究.

因基因表达谱芯片技术可快速有效地检测到 2 组不同的组织或细胞之间基因表达谱的差异, 故在 HCV 感染及其致癌机制的研究中具有重要的应用价值. 我们以 HepG2 细胞基因组 DNA 为模板, 应用聚合酶链反应技术(PCR)扩增的 NS5ATP5 基因片段, 常规分子生物学技术构建 NS5ATP5 的真核表达载体 pcDNA3.1(-)-NS5ATP5, 利用脂质体转染技术转染 HepG2 细胞. 从转染和非转染细胞 HepG2 种提取总 mRNA, 逆转录为 cDNA, 并进行基因芯片技术分析. 结果表明, 共有人类 lumican、人类 ATPase、人类免疫球蛋白超家族蛋白、人类丝氨酸或半胱氨酸蛋白酶抑制剂等 17 种基因的表达水平上调, 其中包括 4 个未知功能基因. 有人类核仁蛋白、人 T 细胞受体重新排列  $\beta$  链基因 V 区、人类色氨酸-tRNA 合成酶、人胰岛素样生长因子等 12 种基因的表达水平下调. 总之, 我们的结果表明, NS5ATP5 对于肝细胞的基因表达谱有显著的影响, 基因芯片技术是研究反式调节基因的有效技术.

#### 4 参考文献

- 1 成军, 朱传琳. 丙型肝炎病毒感染慢性化的分子生物学机制. 国外医学病毒学分册 2000;7:29-32
- 2 刘妍, 成军. 丙肝病毒致肝细胞癌分子生物学机制. 国外医学病毒学分册 2000;7:10-13
- 3 Cheng J. Progress in gene therapy for liver diseases. *J Gastroenterol Hepatol* 1999;14:A261
- 4 Ray RB, Lagging LM, Meyer K, Ray R. Hepatitis C virus core protein cooperates with ras and transforms primary rat embryo fibroblasts to tumorigenic phenotype. *J Virol* 1996;70:4438-4443
- 5 Sakamuro D, Furukawa T, Takegami T. Hepatitis C virus nonstructural protein NS3 transforms NIH 3T3 cells. *J Virol* 1995;69:3893-3896
- 6 Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989;244:359-362
- 7 Kuo G, Choo QL, Alter HJ, Gitnick GL, Redecker AG, Purcell RH, Myamura TJ, Dienstag L, Alter MJ, Stevens CE, Tagtmeier GE, Bonino F, Colombo M, Lee WS, Kuo C, Berger K, Shister JR, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A non-B hepatitis. *Science* 1989;244:362-364
- 8 Song ZQ, Hao F, Min F, Ma QY, Liu GD. Hepatitis C virus infection of human hepatoma cell line 7721 in vitro. *World J Gastroenterol* 2001;7:685-689
- 9 Assy N, Minuk GY. A comparison between previous and present histologic assessments of chronic hepatitis C viral infections in humans. *World J Gastroenterol* 1999;5:107-110
- 10 Huang F, Zhao GZ, Li Y. HCV genotypes in hepatitis C patients and their clinical significance. *World J Gastroenterol* 1999;5:547-549
- 11 Deng ZL, Ma Y, Yuan L, Teng PK. The importance of hepatitis C as a risk factor for hepatocellular carcinoma in Guangxi. *World J Gastroenterol* 2000;6(Suppl 3):75
- 12 Zhang LF, Peng WW, Yao JL, Tang TH. Immunohistochemical detection of HCV infection in patients with hepatocellular carcinoma and other liver diseases. *World J Gastroenterol* 1998;4:64-65
- 13 Yang JM, Wang RQ, Bu BG, Zhou ZC, Fang DC, Luo YH. Effect of HCV infection on expression of several cancer associated gene products in HCC. *World J Gastroenterol* 1999;5:25-27
- 14 钟彦伟, 成军, 施双双, 杨继珍, 董菁, 夏小兵, 李克, 刘妍, 陈菊梅. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS5A 人源单链抗体的筛选与表达. 中华中西医杂志 2001;2:97-99
- 15 成军, 陈菊梅. 丙型肝炎病毒 5'-非翻译区及其结合蛋白的研究进展. 国外医学微生物学分册 2001;24:7-9
- 16 成军, 陈菊梅. 丙型肝炎病毒 NS5A 蛋白的生物学调节作用. 国外医学微生物学分册 2001;24:12-14
- 17 成军, 钟彦伟, 施双双, 倪勤, 刘妍, 王刚, 董菁, 夏小兵, 刘友昭, 王琳, 李克, 杨继珍, 邵得志, 陈菊梅. HCV 非结构蛋白 NS5A 人源单链可变区抗体基因的筛选与鉴定. 中华实验和临床病毒学杂志 2001;15:216-218
- 18 成军. 慢性丙型肝炎病毒性肝脂肪肝脂肪变的机制及其意义. 世界华人消化杂志 2002;10:999-1003
- 19 刘妍, 段惠娟, 成军, 王建军, 陆荫英, 牟劲松, 王琳, 张玲霞. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS5A 反式激活 SV40 病毒启动子的研究. 军医进修学院学报 2003;24:81-83
- 20 Kato N, Lan KH, Ono-Nita SK. Hepatitis C virus nonstructural region 5A protein is a potent transcriptional activator. *J Virol* 1997; 71: 8856-8859
- 21 钟彦伟, 成军, 田小军, 陈新华, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS5A 抗原模拟表位的筛选与鉴定. 中华肝脏病杂志 2002;10:266-268
- 22 Kato N, Yoshida H, Kioko Ono-Nita S, Kato J, Goto T, Otsuka M, Lan K, Matsushima K, Shiratori Y, Omata M. Activation of intracellular signaling by hepatitis B and C viruses: C-viral core is the most potent signal inducer. *Hepatology* 2000;32:405-412
- 23 刘妍, 陆荫英, 成军, 王建军, 李莉, 张玲霞. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS5A 反式激活基因的克隆化研究. 解放军医学杂志 2003;28:40-43
- 24 张健, 成军, 王琳, 邵清, 陆荫英, 梁耀东, 李强, 刘敏. 白细胞中与 NS5ATP5 蛋白结合的蛋白基因筛选与克隆. 世界华人消化杂志 2004;12:51-53

- 25 成军, 钟彦伟, 施双双, 王刚, 董菁, 夏小兵, 杨继珍, 陈菊梅. HCV 非结构蛋白 NS5A 人源单链抗体可变区基因的筛选与鉴定. 中华微生物和免疫学杂志 2000;20:567
- 26 钟彦伟, 成军, 施双双, 杨继珍, 董菁, 夏小兵, 李克, 刘妍, 陈菊梅. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS5A 人源单链抗体的筛选与表达. 中华中西医杂志 2001;2:97-99
- 27 钟彦伟, 成军, 陈新华, 王刚, 洪源, 王琳, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 应用噬菌体表面展示技术筛选丙型肝炎病毒 NS5A 抗原模拟表位. 世界华人消化杂志 2002;10:133-136
- 28 Gong GZ, Waris G, Tanveer R. Human hepatitis C virus NS5A protein alters intracellular calcium levels, induces oxidative stress, and activates STAT-3 and NF-B. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:9599-9604
- 29 Ghosh AK, Steele R, Meyer K. Hepatitis C virus NS5A protein modulates cell cycle regulatory genes and promotes cell growth. *J Gen Virol* 1999;80:1179-1183
- 30 Kaneda Y, Yoshida MC, Kohno K, Uchida T, Okada Y. Chromosomal assignment of the gene for human elongation factor 2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:3158-3162
- 31 Gasparini P, Calvano S, Memeo E, Bisceglia L, Zelante L. Assignment of ferritin L gene (FTL) to human chromosome band 19q13.3 by in situ hybridization. *Ann Genet* 1997;40:227-228
- 32 Guo W, Adams V, Mason J, McCabe ER. Identification of a ferritin light chain pseudogene near the glycerol kinase locus in Xp21 by cDNA amplification for identification of genomic expressed sequences. *Biochem Mol Med* 1997;60:169-173

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 研究快报 •

## 胃黏膜细胞 hMSH2, hMLH1 和 p53 基因表达与幽门螺杆菌感染的关系

范凯, 马坚妹, 胡少为, 王朝晖, 刘敏, 吕申, 刘丽娜, 许国旺

范凯, 马坚妹, 大连医科大学解剖学教研室 辽宁大连市 116027  
胡少为, 王朝晖, 刘敏, 吕申, 大连医科大学第二附属医院分子生物学实验室 辽宁省大连市 116027  
刘丽娜, 大连医科大学第一附属医院消化内科 辽宁省大连市 116001  
许国旺, 中国科学院大连化学物理研究所 辽宁省大连市 116011  
中国科学院知识创新工程领域前沿基金资助项目, No. DIPCK2001A4  
项目负责人: 吕申, 116027, 辽宁省大连市, 医科大学第二附属医院分子生物学实验室. fankai1973@yahoo.com.cn  
电话: 0411-84687554  
收稿日期: 2004-10-21 接受日期: 2004-10-27

### 摘要

目的: 探讨幽门螺杆菌(*H pylori*)感染与胃癌、癌旁及胃炎黏膜中 hMSH2, hMLH1 和 p53 基因表达的关系。

方法: 高中分化腺癌 22 例, 低分化腺癌 37 例, 黏液癌 17 例, 浅表性胃炎 38 例, 正常对照 10 例, 用快速尿素酶方法检测 *H pylori* 感染, 用免疫组化 SP 法检测 hMSH2, hMLH1 和 p53 基因的表达。

结果: (1)hMSH2 在胃癌中的表达阳性率显著高于癌旁组织、胃炎黏膜和正常对照(67.1% vs 35.5%, 42.1%, 30.0%;  $P < 0.01$ ), 其中, 在低分化腺癌中阳性率显著高于高中分化腺癌和黏液癌(81.1% vs 54.5%, 52.9%;  $P < 0.05$ ); hMLH1 在胃癌中的表达阳性率低于非癌组织, 但无显著性差异, 其中, 在黏液癌的阳性率显著低于其他两种腺癌(47.1% vs 81.8%, 97.2%;  $P < 0.001$ ); p53 在胃癌中的表达阳性率显著高于癌旁组织、胃炎黏膜和正常对照(47.4% vs 7.9%, 0.0%, 0.0%;  $P < 0.001$ ), 其中, 在黏液癌和低分化腺癌中的阳性率显著高于高中分化腺癌(64.7%, 54.1% vs 22.7%;  $P < 0.05$ )。

(2)在全部被检组织中, *H pylori* 感染组 hMSH2 和 hMLH1 的表达阳性率均低于相应的非感染组, 其中, 胃癌 *H pylori* 感染组 hMSH2 的表达阳性率显著低于非感染组(56.8% vs 81.3%)( $P < 0.05$ )。胃癌及癌旁组织 *H pylori* 感染组 p53 的表达阳性率均高于非感染组, 但无显著性差异。

结论: 胃癌的发生发展可能与 hMSH2 和 p53 基因的高表达有关; *H pylori* 感染影响 hMSH2, hMLH1 和 p53 基因的正常表达, 这可能是 *H pylori* 致癌的机制之一。

范凯, 马坚妹, 胡少为, 王朝晖, 刘敏, 吕申, 刘丽娜, 许国旺. 胃黏膜细胞 hMSH2, hMLH1 和 p53 基因表达与幽门螺杆菌感染的关系. 世界华人消化杂志 2004;12(12):2904-2907  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2904.asp>

### 0 引言

胃癌的发生发展涉及多种因素, *H pylori* 感染是其中值得关注的高危因素之一<sup>[1-2]</sup>。*H pylori* 感染导致胃癌与癌基因、抑癌基因和错配修复(Mismatch repair, MMR)基因的改变有关。研究证实, MMR 基因能够纠正 DNA 复制过程中产生的碱基错配, 避免癌相关基因的突变, 保证基因的完整性和遗传的稳定性, 从而抑制癌的发生。目前已发现的人类 MMR 基因包括来自 MutS 家族的 hMSH2, hMSH3, hMSH6 及来自 MutL 家族的 hMLH1, hPMS1, hPMS2 和最新被鉴定出来的 hMLH3, 其中, 最早发现的 hMSH2(human MutS homolog 2 gene)和 hMLH1(human MutL homolog 1 gene)与胃癌关系密切<sup>[3-4]</sup>。我们采用