

世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2004 年 2 月 15 日 第 12 卷 第 2 期 (Volume 12 Number 2)



2/2004

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊,
2003年百种中国杰出学术期刊,
《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学
类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊.
世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》,
荷兰《医学文摘库/医学文摘》,
俄罗斯《文摘杂志》收录.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2004 年 2 月 15 日 第 12 卷 第 2 期 (总第119期)

述 评	253 肝炎病毒蛋白对肝细胞基因组转录调节及信号转导机制的影响 成军
胃 癌	258 胃癌线粒体DNA拷贝量的变化 韩琤波, 李凡, 杨雪飞, 毛晓韵, 吴东瑛, 辛彦 262 胃癌前病变p21 ^{ras} , c-erbB-2, p53表达与中医证候的关系 胡玲, 劳绍贤 266 胃癌淋巴结转移预测的多因素分析 黄宝俊, 徐惠绵, 赵雨杰, 王天骄, 田大彤, 陈峻青
肝 癌	271 人鼠嵌合Fab抗体通用表达载体的构建和抗人肝癌相关抗原HAb18G嵌合Fab抗体的表达 邢金良, 杨向民, 张思河, 姚西英, 梁瑞安, 陈志南 276 肝癌细胞H ₂₂ 与树突状细胞杂交瘤苗的实验研究 张娟, 张锦堃, 卓少宏 280 肝细胞癌hOGG1 mRNA及其蛋白的表达 周秀敏, 林菊生, 章金艳, 张莉, 周鹤俊 283 小鼠AFP-CTLA4融合蛋白真核表达载体的构建及鉴定 田耕, 易继林
病毒性肝炎	286 丙型肝炎病毒核心蛋白结合视黄醇脱氢酶11蛋白 成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟 291 丙型肝炎病毒非结构蛋白5A结合蛋白37小鼠同源基因的克隆化及结构分析 成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟 298 新生儿HBe Ag在HBV宫内感染中的作用 邵中军, 门可, 徐剑秋, 徐德忠, 闫永平, 张景霞 302 应用抑制性消减杂交技术筛选TAHCCP2的反式调节基因 王建军, 刘妍, 成军, 杨倩, 纪冬, 党晓燕, 徐志强, 王春花 306 基因表达谱芯片筛选NS5ATP3转染细胞差异表达基因 刘妍, 杨倩, 成军, 王建军, 纪冬, 党晓燕, 王春花 311 基因表达谱芯片技术筛选NS5A-TP4蛋白反式调节基因 杨倩, 成军, 刘妍, 王建军, 洪源, 张树林 315 HCV包膜糖蛋白E2基因的克隆、蛋白表达及纯化 杜德伟, 贾战生, 秦鸿雁, 刘秋平, 周永兴, 韩 骅 319 应用表达谱芯片技术对NS5ATP7反式调节基因的研究 张健, 刘妍, 成军, 王琳, 邵清, 梁耀东, 李强, 刘 敏 323 应用表达谱芯片技术筛选NS5ATP9反式调节基因的研究 李强, 梁耀东, 成军, 王琳, 王建军, 张健, 刘妍, 程明亮 327 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒反式调节靶基因的抑制性消减杂交和基因芯片分析结果的比较 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩, 王琳 332 多对型特异性引物巢式PCR检测湖南省乙肝病毒基因型 温志立, 谭德明
基础研究	336 人肝素酶基因正反义腺病毒表达载体的构建及鉴定 蔡永国, 房殿春, 杨仕明, 罗元辉, 杨孟华, 王东旭 339 正常与硬化肝组织基因表达差异的初步分析 刘连新, 陈志宏, 武林枫, 李宏伟, 刘芝华, 姜洪池, 王秀琴, 吴 旻 344 癌基因对大鼠肝卵圆细胞分化和转化的影响 廖 冰, 薛 玲, 何萍, 赵国强, 车丽洪 347 中药抗纤软肝颗粒抑制PDGF诱导的肝星状细胞MEK-1和c-fos表达 杨 玲, 朱清静, 笪邦红, 张赤志

	<p>351 实验性肝硬化大鼠小肠血红素氧合酶的表达 田德安, 周晓黎</p> <p>355 胃黏膜保护剂预防幽门螺杆菌培养上清液所致小鼠胃黏膜损伤 崔梅花, 胡伏莲, 董欣红</p> <p>359 结肠充气CT对检测大肠肿瘤的敏感性和特异性 王毅, 龚水根, 张伟国, 陈金华, 张连阳, 陈金萍</p> <p>363 胃溃疡大鼠胃泌素、生长抑素和GD细胞的变化 孙凤莲, 宋于刚, 覃汉荣</p> <p>367 当归多糖对大鼠乙酸性结肠炎的保护作用 刘少平, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平, 吴东方</p> <p>371 达纳康对大鼠溃疡性结肠炎细胞因子的影响 周燕红, 于皆平, 何小飞, 余细球</p>
临床研究	<p>376 恶性腹水基质金属蛋白酶活性分析 孙晓敏, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平</p> <p>379 慢性浅表性胃炎脾胃湿热证与水通道蛋白4蛋白表达的关系 周正, 劳绍贤, 黄志新, 张向菊, 黄烈平, 匡忠生</p> <p>382 肠易激综合征患者肠黏膜肥大细胞的变化 王静, 梁列新, 张志雄, 李国华, 钱伟, 侯晓华</p> <p>385 MRI评估肝硬化再生结节和退变结节 徐海波, 孔祥泉, 熊茵, 冯敢生</p>
焦点论坛	<p>390 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒</p> <p>391 乙型肝炎病毒DNA聚合酶末端蛋白研究进展 陈国凤, 成军, 张玲霞, 李莉</p> <p>393 乙型肝炎病毒DNA 多聚酶P结构域研究进展 陈国凤, 成军, 王琳, 张玲霞, 李莉</p> <p>397 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对转录因子ATF-1的调节 王春花, 成军, 郎振为, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕</p> <p>401 乙型和丙型肝炎病毒与胱冬肽酶3的关系 纪冬, 成军, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕, 王春花</p> <p>403 乙型和丙型肝炎病毒对转录因子Nur77的调节 成军</p> <p>406 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对层粘连蛋白表达的调节 王建军, 成军, 刘妍, 杨倩, 纪冬, 王春花</p> <p>408 转录因子C/EBPb的生物学功能 成军</p> <p>412 活性氧簇与肝炎病毒的关系 梁耀东, 成军, 吴君, 程明亮</p> <p>414 趋化因子与病毒性肝炎的关系 陆荫英, 成军, 张玲霞</p> <p>417 病毒性肝炎发病机制中环氧合酶的作用 刘敏, 成军, 张树林</p>
文献综述	<p>420 乙型肝炎病毒DNA整合的机制及后果 成军</p> <p>428 基质金属蛋白酶及其抑制物与实验性肝纤维化 郑伟达, 王小众</p> <p>432 建议将亚临床型肝性脑病更名为轻微型肝性脑病 贾林</p> <p>434 右叶部分肝移植临床解剖进展 刘静, 高毅, 钟世镇</p> <p>439 肝素酶: 抗肿瘤转移的新靶点 陈陵, 杨仕明, 房殿春, 王东旭</p> <p>443 肠道上皮特异性基因CDX2 宋艳, 李凌</p> <p>446 细胞凋亡与肝移植免疫耐受 刘静, 汪爽, 高毅, 孙尔维</p> <p>450 自身免疫性肝炎诊断与治疗 欧强, 谭德明</p> <p>454 VEGF在肝癌中作用 邓靖宇, 何生</p>
研究快报	<p>459 胰腺癌组织中COX-2和Bcl-2蛋白的表达及其意义 刘希双, 李玉军, 田宇彬, 张翠萍, 孙显路, 魏良洲, 薛会光, 刘思良</p> <p>461 3种富集胃癌患者外周血中胃癌细胞方法的比较 陈健, 郭俊明, 金之瑾, 肖丙秀</p> <p>464 肠缺血再灌注对小肠屏障、吸收、通透和传输功能的影响 黎君友, 孙丹, 吕艺, 晋桦, 胡森, 盛志勇</p> <p>467 MUC5AC蛋白在大肠肿瘤中的表达及意义 卜晓东, 李俐, 黄培林, 樊克武, 赵建华</p> <p>469 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒</p> <p>471 肛管直肠原发性恶性黑色素瘤临床病理特点 赵尔增, 张建中, 岳茂兴</p> <p>473 细胞周期蛋白D1 RT-PCR ELISA的建立及其初步应用 陈兵, 张雪, 府伟灵, 常杭花, 刘为纹, 徐采朴, 史景泉</p> <p>476 胃肠激素与不同类型反流所致食管炎的相关性 王雯, 李兆申, 许国铭, 张志坚, 林克荣</p> <p>477 尼美舒利对结肠癌细胞ICAM-1 mRNA表达的影响 刘伟, 张超</p>

临床经验

- 480 腹腔镜次/全结肠切除术治疗结肠慢传输性便秘4例 张连阳, 刘宝华, 陈金萍, 文亚洲
- 481 内镜下氩离子凝固术治疗胃肠息肉 毛振彪, 黄介飞, 陆静娴, 俞智华, 倪润洲
- 483 肝硬化门脉系统食管侧支血流动力学与血浆内皮素的关系 肖际东, 李瑞珍, 周平, 朱文晖
- 485 大黄与促肝细胞生长素联合治疗重型肝炎 黄以群, 林珍辉, 纪树梅, 王喻, 王崇国
- 487 5 km长跑对新兵胆囊排空及胃肠激素的影响 李小丽, 郝悦, 杨凤江, 邹勤, 李智力, 李晓春
- 488 药物性肝病41例 苏淑慧, 王春平, 李迎新, 冯永毅
- 490 数字化成像结肠双对比造影检查345例 何发清, 官泳松, 王小林, 郭兵文, 孙龙
- 492 胃十二指肠隐匿性穿孔的诊断与治疗4例 詹世林, 吴良平, 蒲森水
- 494 胃癌及癌前病变中胃黏膜上皮细胞增生及凋亡相关基因蛋白表达 孟华, 刘丽娜, 吕申
- 497 胃十二指肠疾病与幽门螺杆菌感染的相关性分析 周惠萌, 范欣敏
- 499 原发性胆汁性肝硬化37例临床分析 董正芳, 程留芳
- 501 射频消融联合局部热化疗治疗特殊部位肝脏恶性肿瘤 田伏洲, 陈涛, 蔡忠红, 陈琪
- 503 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒

封面故事

- 371 达纳康对大鼠溃疡性结肠炎细胞因子的影响
周燕红, 于皆平, 何小飞, 余细球 世界华人消化杂志 2004; 12(2): 371-375
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v12/i2/371.htm>

国际会议

- 13th United European Gastroenterology Week, UEGW
October 15-20, 2005
- American College of Gastroenterology Annual Scientific Meeting
October 28-November 2, 2005
- ISGCON 2005
November 11-15, 2005
isgcon2005@yahoo.co.in
www.isgcon2005.com
- Advanced Capsule Endoscopy Users Course
November 18-19, 2005
www.asge.org/education
- II Latvian Gastroenterology Congress
November 29, 2005
gec@stradini.lv
www.gastroenterologs.lv
- 2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases
December 1-3, 2005
c.chase@imedex.com
www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm
- 10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus
February 22-25, 2006
isde@sapmea.asn.au
www.isde.net

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
(半月刊)

创刊 1993-01-15

改刊 1998-01-25

出版 2004-02-15

原刊名 新消化病学杂志

名誉总编辑 潘伯荣 社长总编辑 马连生

编辑部主任 张海宁 中文编辑 潘伯荣 张海宁

英文编辑 张海宁 排版校对 张敏 张勇 李琪

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街77号

出版 世界胃肠病学杂志社

100023, 北京市2345信箱

E-mail: wjgd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

电话: 010-85381901

传真: 010-85381893

印刷 北京科信印刷厂

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, 北京市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: 010-85381901

传真: 010-85381893

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊, 2003年百种中国杰出学术期刊, 《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊。世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录。

特别声明

本刊刊出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。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

2005年版版权归世界胃肠病学杂志社所有

ISSN 1009-3079

CN 14-1260/R

邮发代号

82-262

国外代号

M 4481

国内定价

每期24.00元 全年576.00元

广告经营许可证

1401004000050

www.wjgnet.com

肝细胞癌 hOGG1 mRNA 及其蛋白的表达

周秀敏, 林菊生, 章金艳, 张莉, 周鹤俊

周秀敏, 林菊生, 章金艳, 张莉, 周鹤俊, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肝病研究所 湖北省武汉市 430030

周秀敏, 女, 1977-10-24 生, 湖北省孝感人, 汉族, 2000 年邵阳医学院本科毕业, 2000-2002 年华中科技大学同济医学院硕士研究生, 2002 年硕博连读攻读博士学位, 主要从事肝脏疾病的研究。

项目负责人: 林菊生, 200080, 湖北省武汉市解放大道 1095 号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肝病研究所。linjusheng2001@163.net

电话: 027-83663595

收稿日期: 2003-04-15 接受日期: 2003-06-04

Expression of hOGG1 mRNA and protein in hepatocellular carcinoma

Xiu-Min Zhou, Ju-Sheng Lin, Jin-Yan Zhang, Li Zhang, He-Jun Zhou

Xiu-Min Zhou, Ju-Sheng Lin, Jin-Yan Zhang, Li Zhang, He-Jun Zhou, Institute of Liver Diseases, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Dr. Ju-Sheng Lin, Institute of Liver Diseases, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China. linjusheng2001@163.net

Received: 2003-04-15 Accepted: 2003-06-04

Abstract

AIM: To study the expression of DNA repair enzyme hOGG1 mRNA and protein in normal liver cell, hepatoma cell lines and hepatocellular carcinoma (HCC) tissues, and to investigate their function in the progress of HCC.

METHODS: Expression of hOGG1 in normal liver cell L-02, hepatoma cell lines HepG2, SMMC7721 and HCC tissues (26 cases) as well as surrounding tissues of HCC (21 cases) were detected by semi-quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction. hOGG1 protein was detected in corresponding HT tissues (17 cases HT) and their surrounding liver tissues (15 cases HST) by immunohistochemistry.

RESULTS: The expression level of hOGG1 mRNA in normal liver cell line was lower than that in two hepatoma cell lines (0.270 ± 0.014 vs 0.662 ± 0.011 , 0.624 ± 0.020 , $P < 0.05$). The expression of hOGG1 mRNA in HepG2 was similar to that in SMMC7721. The expression of hOGG1 mRNA in HT was lower than that in HST ($P < 0.05$). hOGG1 protein was 87.2% (41 of 47) positive in HT and HST and was mainly distributed in liver cells. The protein level of hOGG1 in HCC tissues was correspondingly lower than in their surrounding tissues ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Overexpression of hOGG1 in hepatoma cell lines and the surrounding liver tissues of HCC may be one of the key events which promote the malignant growth. These results suggest a role for hOGG1 expression in the course of the multistage process of carcinogenesis in hepatocellular carcinoma.

Zhou XM, Lin JS, Zhang JY, Zhang L, Zhou HJ. Expression of hOGG1 mRNA and protein in hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2004;12(2):280-282

摘要

目的: 通过检测 DNA 修复酶 hOGG1 mRNA 及其蛋白在肝细胞癌中表达程度, 探讨 hOGG1 在肝细胞癌发生、发展中的作用。

方法: 应用 RT-PCR 研究正常肝细胞株 L-02、肝癌细胞株 SMMC7721, HepG2 和肝癌(26 例)及癌旁组织(21 例)中 hOGG1 mRNA 的表达, 同时用免疫组织化学方法检测了上述肝癌组织(17 例)及癌旁组织(15 例)中 hOGG1 蛋白的表达。

结果: 三株细胞均有 hOGG1 mRNA 表达, 但 hOGG1 mRNA 在正常肝细胞株 L-02 中的表达显著低于肝癌细胞株 SMMC7721、HepG2 中的表达(分别为 0.270 ± 0.014 , 0.66 ± 0.011 , 0.624 ± 0.020 , $P < 0.05$)。肝癌组织 hOGG1 mRNA 表达较癌周组织明显降低($P < 0.05$)。hOGG1 蛋白肝组织表达阳性率为 87.2%, 主要在肝细胞胞质表达, 在肝癌组织中表达比癌周组织明显降低($P < 0.05$)。

结论: hOGG1 mRNA 及其蛋白在肝癌细胞株及癌周组织中表达量升高, 这可能是肝细胞癌恶性演变过程中的一个早期预警指标。

周秀敏, 林菊生, 章金艳, 张莉, 周鹤俊. 肝细胞癌 hOGG1 mRNA 及其蛋白的表达. 世界华人消化杂志 2004;12(2):280-282

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/280.asp>

0 引言

多种理化因素, 如紫外线、电离辐射、化学诱变剂等可损伤细胞 DNA。如果 DNA 损伤得不到及时和有效的修复, 细胞将发生基因突变和癌变等严重后果。Oh8Gua 是肿瘤发生过程中 DNA 损伤的主要产物, 是一种高度致突变性损伤。hOGG1 基因产物 hOGG1 蛋白具有 DNA 糖苷酶和 AP 裂解酶活性, 可特异切除修复 Oh8Gua 以及因自发碱基丢失、或因 DNA 糖苷化作用产生的阻断 DNA 复制的脱嘌呤或脱嘧啶(AP)位点。我们以 β -microglobulin 基因为内参, 采用 RT-PCR 技术和免疫组织化学 SP 方法检测正常肝细胞株 L-02、肝癌细胞株 SMMC7721, HepG2 和肝癌及癌旁组织中 hOGG1 mRNA 及其蛋白质表达, 来揭示 hOGG1 表达与肝细胞癌恶性演变的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 正常肝细胞株 L-02、肝癌细胞株 SMMC7721、HepG2 均由同济医院肝病研究所传代培养, 均为贴壁生长的真核细胞, 用含 100 mL/L 的胎牛血清(FCS)和 100 kU/L 的青/链霉素的 DMEM(dulbeccos modified engle medium)培养液在 37 °C, 50 mL/L CO₂ 条件下培养. 2001-09/2002-01 在武汉同济医院肝胆外科中心手术切除, 并经病理证实为肝癌及癌旁组织各 26、21 例, 经病理证实为肝癌及肝硬化组织. 逆转录试剂及 PCR 扩增试剂均购自 Promega 公司, Trizol 购自 Omega 公司. 兔抗人 hOGG1 多克隆抗体购自美国 Santa Cruz Biotech 公司, 由国内深圳晶美公司代理. 免疫组织化学 SP 试剂盒购自北京中山公司. 引物和内参 β -microglobulin 参照文献[1] (Oncogene 1998;16:3083-3086) 中的引物序列, 扩增片段分别为 250 bp 和 190 bp, 两对引物由上海生物工程研究所合成. hOGG1 上游引物序列: 5' -GCGAC TGCTGCGACAAGAC-3', 下游引物序列: 5' -TCGGGCACTGGCACTCAC-3'; β -microglobulin 上游引物序列 5' -TACTCTCTCTTTCTGGCCTG-3', 下游引物序列: 5' -GACAAGTCTGAATGCTCCAC-3'.

1.2 方法 吸干六孔板培养液, 加 Trizol 1 mL 后吹打、混匀、按照 Trizol 试剂说明书步骤提取总 RNA, 溶于无 RNase 酶水中, 用紫外分光光度仪测定 RNA 浓度和纯度, -75 °C 保存备用. 组织用预冷的 PBS 漂洗干净后, 组织匀浆器研碎, 其他步骤同细胞提取过程相同. 取总 RNA 2 μ L, 5 \times RT Buffer 5 μ L, 10 mmol/L dNTP 1 μ L, 50 mU/L 的 RNasin 0.5 μ L, 0.5 g/L 的 oLigodT 1 μ L, 200 mU/L 的 M-MLV RT 1 μ L, 去离子水补至 25 μ L, 42 °C 反应 60 min, 99 °C 灭活 5 min. 阴性对照为不加模板的反应体系. 取上述 cDNA 4 μ L, 加入 10 \times Buffer 5 μ L, 10 mmol/L dNTP 2 μ L, 25 mmol/L MgCl₂ 4 μ L, 10 pmol/L 引物各 2 μ L, 10 pmol/L β -microglobulin 各 1 μ L. 混匀后 97 °C, 5 min 热启动, 3 mU/L Taq 酶 1 μ L, 总体积 50 μ L, 加矿物油 50 μ L 覆盖. 扩增条件: 94 °C 变性 50 s, 57 °C 退火 50 s, 72 °C 延伸 20 s, 32 个循环, 72 °C 补偿 7 min, 分别扩增 hOGG1 及 β -microglobulin 基因片段. 实验过程设立空白对照, 为不加模板的反应体系. 取 PCR 产物 10 μ L, PCR 上样缓冲液 5 μ L, 于 20 g/L 琼脂糖凝胶上电泳(含 0.5 mg/L 溴化乙锭), 80V, 30 min, 然后在紫外灯下观察结果. UVP 凝胶分析系统摄像分析结果. hOGG1 蛋白的表达用 SP 法检测, 石蜡切片常规脱蜡至水, 然后加 3% H₂O₂ 甲醇孵育 10 min, 0.01 mol/L 枸橼酸钠缓冲液微波 90 °C, 10 min 抗原修复, PBS 洗后加正常兔血清, 再滴加一抗(1:100) 4 °C 孵育过夜. 滴加二抗, PBS 洗后用 DAB 显色, 苏木素复染, 中性树脂封片.

统计学处理 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 率的显著性差异检验选用方差分析(SNK 软件).

2 结果

2.1 正常肝细胞和肝癌细胞中 hOGG1 mRNA 的表达 正常肝细胞株 L-02 平均 hOGG1/ β 2 比值为 0.270 ± 0.014 , SMMC7721 为 0.662 ± 0.011 , HepG2 为 0.624 ± 0.020 . 其中 hOGG1 mRNA 的水平在 L-02 中比在 SMMC7721, HepG2 中相对下降 ($P < 0.05$, SNK test), 但两株肝癌细胞 SMMC7721 和 HepG2 中 hOGG1 mRNA 表达无明显差异 ($P > 0.05$, SNK test, 图 1).

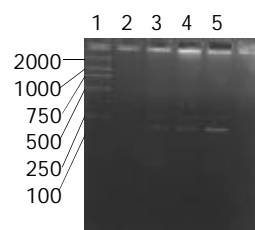


图 1 hOGG1 mRNA 在三株细胞中的表达. 1: marker; 2: 不加 cDNA 的 PCR 反应体系; 3: SMMC7721 肝癌细胞株; 4: HepG2 肝癌细胞株; 5: L-02 正常肝细胞株.

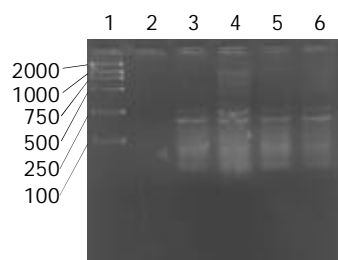


图 2 hOGG1 mRNA 在肝癌及癌旁组织表达. 1: marker; 2: 为不加 cDNA 的 PCR 反应体系; 3: 肝癌组织; 4: 相应癌旁组织 1; 5: 肝癌组织 2; 6: 相应癌旁组织 2.

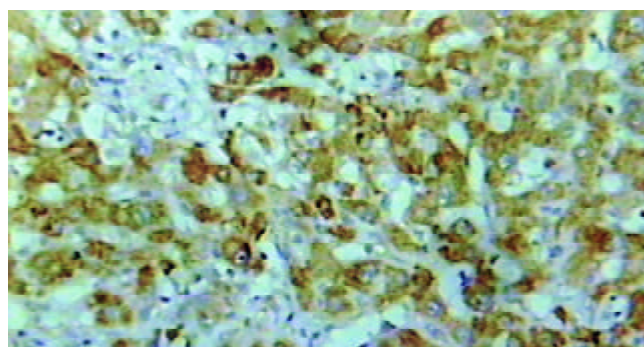


图 3 hOGG1 蛋白在肝癌癌旁组织中表达免疫组化($\times 200$).

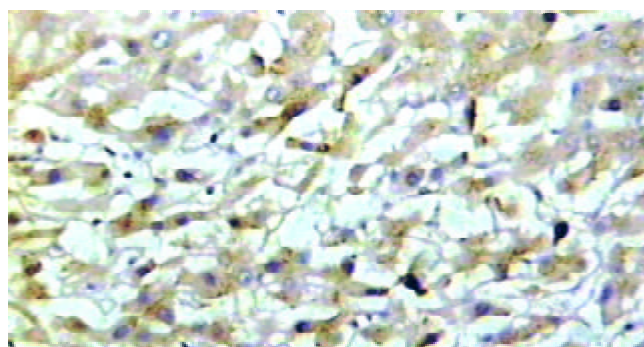


图 4 hOGG1 蛋白在肝癌组织中表达免疫组化($\times 200$).

2.2 肝癌组织及癌旁组织 hOGG1 mRNA 表达 肝癌组织 hOGG1/ β 2 比值为 0.31 ± 0.08 , 癌旁组织为 0.68 ± 0.15 , 两组差异有显著性($P < 0.05$). hOGG1 蛋白表达阳性率为 87.2% (41/47), 阳性物质呈棕黄色, 在肝癌及癌旁组织中主要分布于肝细胞胞质内见图 3-4. 肝癌组织中 hOGG1 蛋白表达的阳性均值 0.126 ± 0.02 , 癌旁组织中 hOGG1 蛋白表达的阳性均值为 0.137 ± 0.08 , 两组均值有统计学差异($t = 5.358$, $P < 0.05$).

3 讨论

在 DNA 氧化损伤中, 8-羟基鸟嘌呤(Oh8Gua)形成频率最高, 致突变能力最强, 是 DNA 氧化损伤的代表性产物, 是肿瘤发生和发展的重要因素^[1-10]. 因此, Oh8Gua 的修复能力可能与个体癌症易感性密切相关^[11-17]. hOGG1 基因产物 hOGG1 蛋白具有 DNA 糖苷酶和 AP 裂解酶活性, 可特异切除修复 Oh8Gua 以及自发碱基丢失、或因 DNA 糖苷化作用产生的阻断 DNA 复制的脱嘌呤或脱嘧啶(AP)位点. hOGG1 基因及其表达产物与肿瘤的发生发展关系密切, 在多种肿瘤里发现 hOGG1 基因表达异常, 故很多学者认为: hOGG1 基因及其表达产物可能是肿瘤恶变的一个早期预警指标. Li et al 发现乳腺癌患者的正常乳腺组织较正常人的乳腺组织 Oh8Gua 含量高, 同时也发现其 hOGG1 蛋白含量也较正常人乳腺组织高. Cheng et al 研究了女性肺癌的致癌因素, 发现厨房的油烟是主要的因素之一. 发现肺癌细胞 C L - 3 经油烟处理后, Oh8Gua 含量增高, hOGG1 mRNA 含量也相应升高; 同时他们研究了经常接触油烟的 94 名女厨师和 43 名家庭妇女, 101 名没有接触厨房油烟的正常女性作为对照. 发现前二者肺组织 hOGG1 mRNA 含量较对照组高. 因此他们认为: hOGG1 mRNA 水平可能作为油烟刺激后肺癌发生的一个预警指标. Kondo et al 发现 hOGG1 mRNA 在结肠癌组织中比相应癌旁组织表达增高, Oh8Gua 在结肠癌组织中比相应癌旁组织中含量增高.

本研究结果显示 hOGG1 mRNA 在三株细胞中均有表达. 其中, hOGG1 mRNA 在正常肝细胞株 L-02 中表达量较肝癌细胞株 SMMC7721、HepG2 中相对较少($P < 0.05$), 而 2 株肝癌细胞株中的 hOGG1 mRNA 基因表达则无显著性($P > 0.05$). 肝癌细胞株 SMMC7721, HepG2 中 hOGG1 mRNA 基因表达比正常肝细胞株 L-02 中表达量增加, 这可能是肝癌的演进过程中氧化应激加剧, 机体 DNA 修复酶系统反馈性从转录水平进行调节的机制. 同时发现肝癌组织 hOGG1 mRNA 及蛋白表达较癌周肝硬化组织明显降低, 其机制可能为肝癌在恶性演变过程中, 在其肝硬化阶段已发生 DNA 修复酶系统 hOGG1 从转录水平进行代偿性调节, 在肝癌形成阶段 DNA 修复酶系统失代偿所致. 我们从 DNA 氧化损伤及其修复酶系统探讨肝细胞癌的发生机制, 研究氧化应激和 DNA 修复酶在肝细胞癌发生发展中的地位与作用. 试图为肝癌的发生预测和早期诊断寻求新的指标, 为肝癌的预

防和早期治疗开辟一条新的途径.

4 参考文献

- Mistry P, Herbert KE. Modulation of hOGG1 DNA repair enzyme in human cultured cells in response to pro-oxidant and antioxidant challenge. *Free Radic Biol Med* 2003;35:397-405
- Collins AR, Harrington V, Drew J, Melvin R. Nutritional modulation of DNA repair in a human intervention study. *Carcinogenesis* 2003;24:511-515
- Karim MR, Wanibuchi H, Wei M, Morimura K, Salim EI, Fukushima S. Enhancing risk of ethanol on MeIQx-induced rat hepatocarcinogenesis is accompanied with increased levels of cellular proliferation and oxidative stress. *Cancer Lett* 2003;192:37-47
- Tsuruya K, Furuichi M, Tominaga Y, Shinozaki M, Tokumoto M, Yoshimitsu T, Fukuda K, Kanai H, Hirakata H, Iida M, Nakabeppu Y. Accumulation of 8-oxoguanine in the cellular DNA and the alteration of the OGG1 expression during ischemia-reperfusion injury in the rat kidney. *DNA Repair (Amst)* 2003;2:211-229
- Potts RJ, Watkin RD, Hart BA. Cadmium exposure down-regulates 8-oxoguanine DNA glycosylase expression in rat lung and alveolar epithelial cells. *Toxicology* 2003;184:189-202
- Hazra TK, Izumi T, Boldogh I, Imhoff B, Kow YW, Jaruga P, Dizdaroğlu M, Mitra S. Identification and characterization of a human DNA glycosylase for repair of modified bases in oxidatively damaged DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:3523-3528
- Saitoh T, Shinmura K, Yamaguchi S, Tani M, Seki S, Murakami H, Nojima Y, Yokota J. Enhancement of OGG1 protein AP lyase activity by increase of APEX protein. *Mutat Res* 2001;486:31-40
- Kim HN, Morimoto Y, Tsuda T, Ootsuyama Y, Hirohashi M, Hirano T, Tanaka I, Lim Y, Yun IG, Kasai H. Changes in DNA 8-hydroxyguanine levels, 8-hydroxyguanine repair activity, and hOGG1 and hMTH1 mRNA expression in human lung alveolar epithelial cells induced by crocidolite asbestos. *Carcinogenesis* 2001;22:265-269
- Burner SD, Norman DP, Verdine GL. Structural basis for recognition and repair of the endogenous mutagen 8-oxoguanine in DNA. *Nature* 2000;403:859-866
- Nishioka K, Ohtsubo T, Oda H, Fujiwara T, Kang D, Sugimachi K, Nakabeppu Y. Lular localization of two major forms of human 8-oxoguanine DNA glycosylase encoded by alternatively spliced OGG1 mRNAs. *Mol Biol Cell* 1999;10:1637-1652
- Cheng B, Jungst C, Lin J, Caselmann WH. In process citation. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci* 2002;22:206-211
- Riis B, Risom L, Loft S, Poulsen HE. Increased rOGG1 expression in regenerating rat liver tissue without a corresponding increase in incision activity. *DNA Repair (Amst)* 2002;1:419-424
- Morland I, Rolseth V, Luna L, Rognes T, Bjoras M, Seeberg E. Human DNA glycosylases of the bacterial Fpg/MutM superfamily: an alternative pathway for the repair of 8-oxoguanine and other oxidation products in DNA. *Nucl Acids Res* 2002;30:4926-4936
- Vogel U, Moller P, Dragsted L, Loft S, Pedersen A, Sandstrom B. Inter-individual variation, seasonal variation and close correlation of OGG1 and ERCC1 mRNA levels in full blood from healthy volunteers. *Carcinogenesis* 2002;23:1505-1509
- Kinoshita A, Wanibuchi H, Imaoka S, Ogawa M, Masuda C, Morimura K, Funae Y, Fukushima S. Formation of 8-hydroxydeoxyguanosine and cell-cycle arrest in the rat liver via generation of oxidative stress by phenobarbital: association with expression profiles of p21(WAF1/Cip1), cyclin D1 and Ogg1. *Carcinogenesis* 2002;23:341-349
- He YH, Xu Y, Kobune M, Wu M, Kelley MR, Martin WJ 2nd. Escherichia coli FPG and human OGG1 reduce DNA damage and cytotoxicity by BCNU in human lung cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002;282:L50-55
- Araneda S, Mermet N, Verjat T, Angulo JF, Radicella JP. Expression of Kin17 and 8-OxoG DNA glycosylase in cells of rodent and quail central nervous system. *Brain Res Bull* 2001;56:139-146



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

