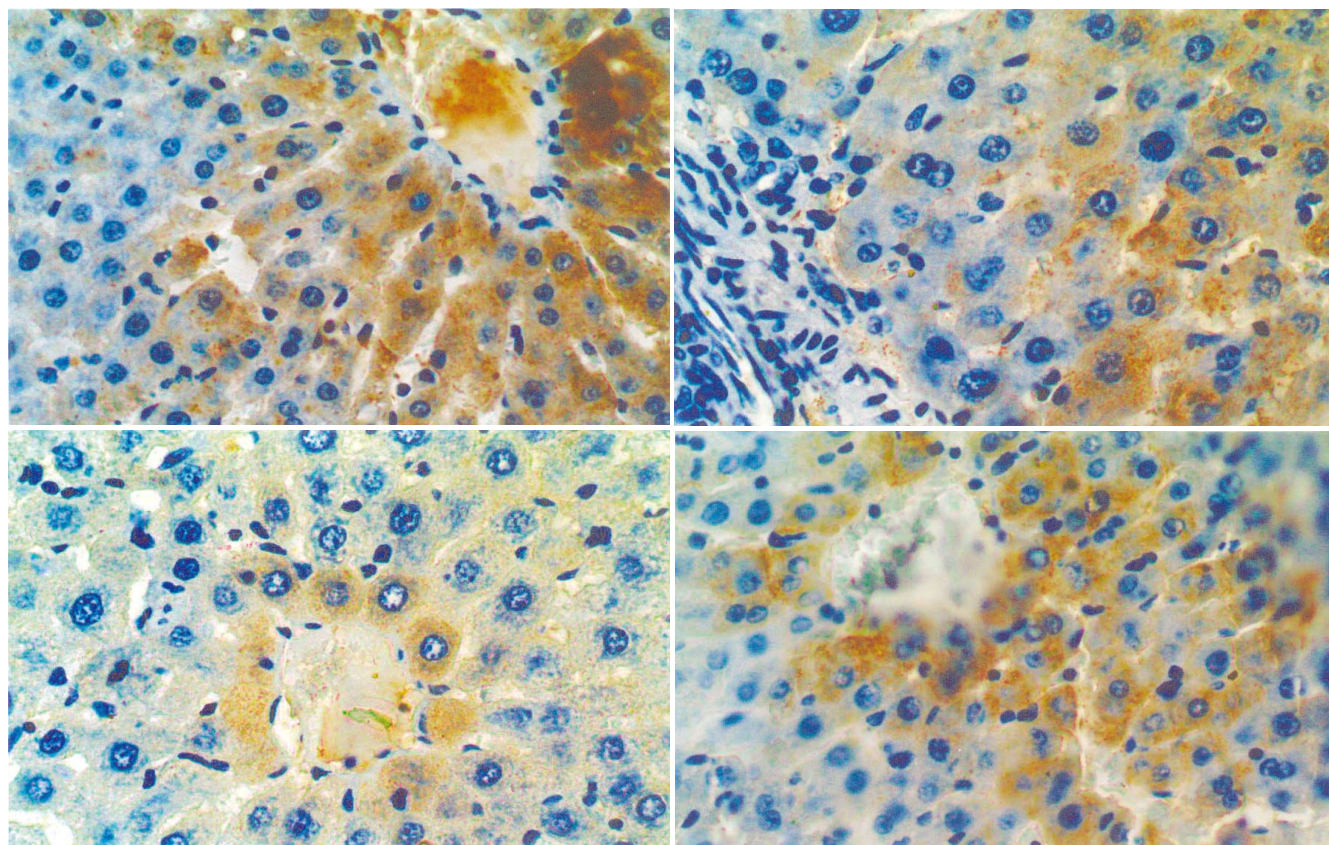


世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2005 年 10 月 15 日 第 13 卷 第 19 期 (Volume 13 Number 19)



19/2005

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

2005年10月15日

第13卷

第19期

(总第147期)

述评

- 2289 胃癌表遗传学的研究进展 滕玥, 戴冬秋
2294 胃肠癌术后应用抗生素致伪膜性肠炎 马振海, 戴冬秋, 徐惠绵

基础研究

- 2297 谷氨酰胺对大鼠肝脏缺血再灌注损伤时肝组织谷胱甘肽含量和Bcl-2、Bax蛋白表达的影响
贾昌俊, 戴朝六, 张旭, 徐锋, 崔凯, 许永庆
2302 生存素siRNA表达质粒对MGC-803细胞增殖的影响
赵伟红, 郭俊明, 肖丙秀, 管忠, 肖东升
2306 人F3-GRIM19基因的克隆与表达 孙厚良, 刘洋, 李甲初, 曾昭淳
2310 解偶联蛋白-2在大鼠非酒精性脂肪肝中的表达
顾小红, 张云东, 冯爱娟
2314 COX-2在Barrett食管和食管腺癌中的表达及意义
刘心娟, 王邦茂, 阎雪燕, 刘文天, 吕宗舜, 张洁
2318 奥曲肽联合汉防己甲素对人胃癌细胞增殖的影响
王龙, 朱金水, 陈维雄, 朱励, 达伟, 王秀玲
2323 EB潜伏膜蛋白表达与肠上皮化生胃黏膜幽门螺杆菌感染的相关性
刘东屏, 于继红, 李茵茵, 王炳元
2327 瘦素及硬脂酰CoA去饱和酶-1在高脂饮食大鼠非酒精性脂肪肝发病中的作用
陆元善, 范建高, 方继伟, 丁晓东, 杨兆瑞
2332 从肠肌间神经丛抑制性神经递质的改变探讨IBS不同亚型的发病机制
徐俊荣, 罗金燕, 尚磊, 孔武明

临床研究

- 2339 便秘型肠易激综合征结肠黏膜组织蛋白质组双向凝胶电泳分析
彭丽华, 杨云生, 孙刚, 王巍峰
2343 生理盐水冲洗提高多层CT门脉造影图像质量的临床研究 肖亮, 徐克

文献综述

- 2349 与胃癌相关的DNA甲基化研究进展 张晔, 袁媛
2355 胃肠黏膜抗损伤和修复新进展 王玮, 孙梅
2360 钙和维生素D预防结直肠癌的机制及其临床应用 陆嵘, 房静远
2364 重症急性胰腺炎并发肾损害的发病机制 张喜平, 王蕾

研究快报

- 2371 应用抑制性消减杂交技术克隆乙型肝炎病毒DNA PTP1的反式调节基因
高学松, 成军, 甄真, 郭江, 张黎颖, 陶明亮
2375 活血健脾补肾法对结肠炎小鼠结肠组织TNF- α 及其mRNA表达的影响
张永锋, 陈如山, 吴正治, 李明, 陈曼茵
2378 蜜调通关散及其拆方对家兔肠道作用机制 梁劲军, 黄阳勇, 庆方
2381 复方甘草甜素下调细胞周期素依赖性激酶1启动子表达
王志凌, 成军, 张连峰, 邵凤娟, 刘蔚, 刘妍, 陶明亮

临床经验

- 2386 内镜下双重色素法联合超声内镜对食管早期癌及癌前病变的诊断价值
刘一品, 黄留业, 李延青
2389 中医药对乙型肝炎患者肝癌前期状态的干预17例
屠红, 张菁, 成伟中, 韩镭, 陆敏, 曹宏伟, 陈复华, 耿沁
2392 奥沙拉秦钠对溃疡性结肠炎一氧化氮合酶表达的影响 郝俊鸣, 江学良, 佟艳铭
2395 应用SELDI-TOF-MS技术建立直肠癌筛选血清蛋白质指纹图谱模型
闫志勇, 钱冬萌, 丁守怡, 宋旭霞, 王斌
2398 消化道肿瘤CT动脉造影分析83例 朱晓玲, 冯妹婷
2401 脐血与新鲜冰冻血浆治疗慢性重型肝炎的疗效比较
卢家桀, 唐红, 王晓辉, 刘真真, 叶慧

致 谢	2404 致谢世界华人消化杂志编委
消 息	2293 欢迎订阅2006年《世界华人消化杂志》 2301 第11届全国中西医结合结直肠肛门病学术会议征文通知 2309 2006年世界华人消化杂志由半月刊改为旬刊出版发行 2317 第一届全国临床营养支持学术会议通知 2326 2006年即将召开的国际会议 2331 消化道肿瘤外科治疗2006高级论坛征文通知 2338 《世界华人消化杂志》欢迎投稿 2348 WJG和世界华人消化杂志全文网站免费开通 2363 首届北京地坛感染病学术会议 2385 2006年第5届全国肝脏疾病学术研讨会议征文通知
封面故事	贾昌俊, 戴朝六, 张旭, 徐锋, 崔凯, 许永庆. 谷氨酰胺对大鼠肝脏缺血再灌注损伤时肝组织谷胱甘肽含量和 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响. 世界华人消化杂志 2005;13(19):2297-2301 http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2297.asp
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 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 2005-10-15
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: wcjd @ 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

World Chinese Journal of Digestology

October 2005 Contents in Brief Volume 13 Number 19

EDITORIAL

Advancement in research of gastric cancer epigenetics

Teng Y, Dai DQ 2289

Pseudomembrane colitis induced by usage of antibiotic after gastric intestinal cancer operation

Ma ZH, Dai DQ, Xu HM 2294

BASIC RESEARCH

Effects of glutamine on glutathione content and expression of Bcl-2 and Bax protein during hepatic ischemia and reperfusion injury in rats

Jia CJ, Dai CL, Zhang X, Xu F, Cui K, XU YQ 2297

Effects of survivin siRNA expression plasmid on proliferation of MGC-803 cells

Zhao WH, Guo JM, XIAO BX, Guan Z, Xiao DS 2302

Cloning and expression of human F3-GRIM19 gene

Sun HL, Liu Y, Li JC, Zeng ZC 2306

Expression of uncoupling protein 2 in nonalcoholic fatty liver of rats

Gu XH, Zhang YD, Feng AJ 2310

Expression of COX-2 in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma and its significance

Liu XJ, Wang BM, Yan XY, Liu WT, LV ZS, Zhang J 2314

Inhibitory effects of tetrandrine combined with octreotide on proliferation of gastric cancer cell lines cultured *in vitro*

Wang L, Zhu JS, Chen WX, Zhu L, Da W, Wang XL 2318

Relationship between expression of Epstein-Barr virus latent membrane protein and *H pylori* infection in gastric mucosa with intestinal metaplasia

Liu DP, Yu JH, Li YY, Wang BY 2323

Roles of leptin and stearyl-CoA desaturase-1 in pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease induced by a fat-rich diet

Lu YS, Fan JG, Fang JW, Ding XD, Yang ZR 2327

Role of inhibitory neurotransmitter of myoenteric plexus in carcinogenesis of irritable bowel syndrome with different subtypes

Xu JR, Luo JY, Shang L, Kong WM 2332

CLINICAL RESEARCH

Proteomic analysis of colonic mucosa by two-dimensional gel electrophoresis in constipation-predominant irritable bowel syndrome

Peng LH, Yang YS, Sun G, Wang WF 2339

Clinical application of normal saline flush in multi-detector CT photography on portal vein

Xiao L, Xu K 2343

REVIEW

Advancement in research of gastric cancer related DNA methylation

Zhang Y, Yuan Y 2349

New advancement in rehabilitation and anti-damage of gastric intestinal mucosa

Wang W, Sun M 2355

Mechanism and clinical usage of calcium and vitamin D in prevention of rectal cancer

Lu R, Fang JY 2360

Mechanism of severe acute pancreatitis combined with renal damage

Zhang XP, Wang L 2364

BRIEF REPORT

Cloning of hepatitis B virus DNA PTP1 transactivating genes by suppression subtractive hybridization technique

Gao XS, Cheng J, Zhen Z, Guo J, Zhang LY, Tao ML 2371

Effects of *Huoxue*, *Jianpi* and *Bushen* recipe on expression of TNF- α and its mRNA in mice with colitis

Zhang YF, Chen RS, Wu ZZ, Li M, Chen MY 2375

Effects of *Mitiao Tongguansan* decoction and its different ingredients on function of intestinal tract in rabbits

Liang JJ, Huang YY, Qing F 2378

Down-regulatory effects of glycyrrhizin on expression of cyclin-dependent kinase 1 gene promoter

Wang ZL, Cheng J, Zhang LF, Shao FJ, Liu W, Liu Yan, Tao ML 2381

CLINICAL PRACTICE

Evaluation of double staining combined with endosonography in detection of early esophageal cancer and precancerous lesions

Liu YP, Huang LY, Li YQ 2386

Traditional Chinese Medicine intervention for development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B: an analysis of 17 cases

Tu H, Zhang J, Cheng WZ, Han L, Lu M, Cao HW, Chen FH, Geng Q 2389

Effects of olsalazine sodium on expression of nitric oxide synthase in patients with ulcerative colitis: an analysis of 36 cases

Hao JM, Jiang XL, Tong YM 2392

Establishment of serum protein pattern model for screening rectal carcinoma by SELDI-TOF-MS

Yan ZY, Qian DM, Ding SY, Song XX, Wang B 2395

Analysis of artery computed tomography angiography for digestive tumor in 83 cases

Zhu XL, Feng ST 2398

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica and Abstract Journals

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

World Chinese Journal of Digestology Monthly
Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date October 15, 2005

Honorary-Editor-in-Chief

Bo-Rong Pan

President and Editor-in-Chief

Lian-Sheng Ma

Edited by Editorial Board of

World Chinese Journal of Digestology
PO Box 2345, Beijing 100023, China

Published by The WJG Press

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Overseas Distributor

China International Book Trading Corporation
PO Box 399, Beijing 100044, China

Code No.M4481

Mail-Order Circulation Section, The WJG Press
PO Box 2345, Beijing 100023, China

Telephone: +86-10-85381901

Fax: +86-10-85381893

Email: wjcd @ wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

Copyright © 2005 by The WJG Press

与胃癌相关的 DNA 甲基化研究进展

张晔, 袁媛

张晔, 袁媛, 中国医科大学附属第一医院肿瘤研究所第三研究室 辽宁省沈阳市 110001
国家自然科学基金资助项目, No. 30171054
国家“十五”科技攻关资助项目, No. 2004BA703BA703B04-02
通讯作者: 袁媛, 110001, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属第一医院肿瘤研究所第三研究室. yyuan@mail.cmu.edu.cn
电话: 024-23256666-6153
收稿日期: 2005-08-29 接受日期: 2005-09-06

摘要

甲基化紊乱与胃癌的发生有关, 近年来甲基化已成为肿瘤研究的热点. DNA甲基化是人类后成论学说的主要复制后修饰方式. 对DNA甲基化的研究发现, 甲基化水平与肿瘤的生物学特性密切相关, 调控增殖、凋亡与分化的基因较多, 其表达多受基因甲基化影响. 因此, 随着技术方法的改进, DNA甲基化状态的分析有可能成为判断肿瘤生物学特性及临床预后的重要指标之一. 我们就与胃癌相关的癌基因、抑癌基因、与凋亡相关基因及DNA错配修复基因的CpG岛甲基化情况作一综述, 说明胃癌的发生与DNA甲基化的关系, 探讨利用基因甲基化的检测作为胃癌早期诊断的生物学标记的可能性.

关键词: 胃癌; DNA甲基化

张晔, 袁媛. 与胃癌相关的DNA甲基化研究进展. 世界华人消化杂志 2005;13(19):2349-2354
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2349.asp>

0 引言

甲基化紊乱与胃癌的发生有关, 近年来甲基化已成为肿瘤研究的热点. DNA甲基化是人类后成论学说的主要复制后修饰方式^[1,2]. 它通常发生在胞嘧啶和鸟嘌呤的CpG二核苷酸中的胞嘧啶残基上. 多种基因的启动子区和第一外显子富含CpG, 而CpG相对集中的区域称为CpG岛. 散在的CpG为甲基化者, 而生理情况下, CpG岛多为非甲基化. DNA甲基化不仅在胚胎发育和细胞分化过程中起着关键作用, 而且在癌变过程中扮演着重要角色. 早期的研究曾强调DNACpG位点异常低甲基化使癌基因得以表达, 从而使细胞恶性转化. 近年来的研究发现在多种人类肿瘤基因组中, 广泛低甲基化和部分区域的高甲基化共存是DNA甲基化水平总的特征. 提示5'端CpG岛甲基化致抑癌基因失活是引起细胞恶性转化的重要步骤^[3-9]. 因此DNA甲基化的改变通过影响癌基因和抑癌基因的表达而参与癌的发生. 在肿瘤发生过程中, 甲基化模式发生逆转, 相关基因的甲基化紊乱发生

率很高. Costello *et al*^[10-16]曾研究了98种人类主要肿瘤的非选择性的1 184个CpG岛的甲基化状态, 结果癌基因组的4 500个CpG岛中平均600个有甲基化紊乱, 包括早期癌, 并有CpG岛的甲基化特殊肿瘤组织特异性. 近年来, 人们通过对几种癌、癌旁组织和正常组织DNA的分析, 确定某些癌基因(H-Ras、c-Myc)低甲基化和抑癌基因(Rb、p16)的高甲基化改变是细胞癌变的一个重要特征. 同时甲基化状态的改变与基因点突变、基因缺失及基因表达异常的发生有密切关系. DNA甲基化状态的改变可导致基因结构和功能的异常, 在真核生物中最重要的甲基化碱基是胞嘧啶, 通常发生在CpG双核苷酸区域. 限制性内切酶Hap II和Msp I均能识别CCGG, 但是当CCGG序列中某些碱基出现甲基基团修饰时, 则这两种酶识别能力不同, Msp I可识别CmCGG, 而Hap II则不能. 但这两种酶均不能识别mCmGG结构. 因此, 可利用Hap II和Msp I酶解情况确定细胞中DNA甲基化状态. 对DNA甲基化的研究发现, 甲基化水平与肿瘤的生物学特性密切相关, 调控增殖、凋亡与分化的基因较多, 其表达多受基因甲基化影响. 因此, 随着技术方法的改进, DNA甲基化状态的分析有可能成为判断肿瘤生物学特性及临床预后的重要指标之一^[17-28]. 我们就与胃癌相关的癌基因、抑癌基因、与凋亡相关基因及DNA错配修复基因的CpG岛甲基化情况作一综述, 说明胃癌的发生与DNA甲基化的关系, 探讨利用基因甲基化的检测作为胃癌早期诊断的生物学标记的可能性.

1 与胃癌相关的抑癌基因甲基化

人类很多肿瘤(包括胃肠道肿瘤)是由于细胞增殖与凋亡两者平衡失调所造成的. 任何细胞群体只有增殖而无细胞凋亡或者细胞增殖太快, 凋亡停止或速度太慢, 都将导致细胞群体数量增加. 细胞增殖过程是生长促进因子和生长抑制因子相互调节的结果. 当细胞接受到生长因子提供的信号后, 将进入细胞增殖周期. 细胞周期是由细胞周期素(cyclin)和细胞周期素依赖性激酶两者之间的相互作用所调控的, 并且从G1到S期的过渡是由细胞周期素依赖性激酶抑制因子(CKI)所调控, 根据CKI结构特征, 可以分为两个家族: 一是周期素依赖性激酶相互作用蛋白家族, 包括P21^{WAF1}、P27^{KIP1}和P57^{KIP2}等; 另一个为细胞周期素-细胞周期依赖性激酶(CYC-CDK)特异抑制家族, 包括P15^{INK4B}、P16^{INK4A}、P14、P18^{INK4C}和P19^{INK4D}. 细胞凋亡是基因编程控制的死亡, 涉及凋亡过

程的基因很多,按其功能可以分为凋亡诱导基因p53、bax和fas等及凋亡抑制基因bcl-2、survivin和bag-1等。总之,调控增殖与凋亡的基因较多,其表达多受基因甲基化影响。如前所述,胞嘧啶鸟嘌呤(CpG)二核苷酸上的甲基化修饰是脊椎动物基因组最常见的后生遗传修饰方式,它在基因表达的调控上发挥着重要的作用。一些癌症相关基因启动子区CpG岛甲基化的紊乱或异常能够导致这些基因的表达沉默。近几年研究较多的是,正常时处于静息状态的肿瘤抑制基因显示出高甲基化,途径有从头合成甲基化(De Nove methylation)和维持甲基化水平增高。基因启动子区域甲基化是基因表达调控的一种重要机制。肿瘤抑制基因抑制细胞进入增生周期,促进细胞成熟,朝向终末分化或凋亡。当抑制基因出现异常,影响其功能的发挥时,则可能导致肿瘤形成。

1.1 p14、p15和p16基因 它们是细胞周期抑制基因。p14属于INK4a/ARP位点的肿瘤抑制基因。在胃肠道的肿瘤中,大多数有相同特点的甲基化谱,而该基因就属于甲基化谱中一员。关于p14,曾认为散发型胃癌中的甲基化率比肠型胃癌更多^[29,30]。Esteller *et al*^[23-27,31]应用MSP、RT-PCR,发现p14启动子的高甲基化出现在约1/4的原发结直肠癌中。p14启动子的高甲基化可看作结直肠癌发生的早期现象,但它独立于p16甲基化,与p53突变边缘相关。P14蛋白质能够抑制细胞增殖周期,主要通过阻止MDM2在核质内流动,这样通过减弱MDM2介导的降解而稳定p53,并能够中和由MDM2所抑制的p53的转录活性,从而终止p53/p21途径所导致的肿瘤细胞无控性增殖^[32]。通过对胃癌细胞株的分析发现^[33]: 7个细胞株中有5个不表达该基因mRNA,对不表达者进一步分析,发现其启动子高度甲基化。对胃癌标本分析发现^[34],扩散型胃癌p14启动子甲基化率为45.5%。另外, p14启动子甲基化而失活者,在细胞质中可以发现MDM2并且p53表达失活,用去甲基化试剂处理后,MDM2又回到细胞核而且, p53也表达。说明该基因的高甲基化是MDM2在细胞核内定位紊乱的关键因素之一^[29,30]。这些结果表明由甲基化所导致的p14基因的沉默在消化系统肿瘤的发生发展中起着一定的作用。

p16是近年来研究的又一热点,作为CDKIs(cyclin-dependent kinase)家族的重要成员,其与肿瘤的发生有密切的关系,同p14一样,属于INK4a/ARP位点的肿瘤抑制基因,其翻译产物P16蛋白,是CYC-CDK4抑制剂。P16能与CDK4亚单位结合,而使CYC不能再与CDK4结合,因此Rb蛋白不能被磷酸化,阻止细胞从G1期到S期,从而在细胞周期调节中起开关作用,抑制细胞分裂增生,阻止细胞进入S期而停滞于G1期。已清楚p16基因5'端CpG岛的高甲基化与其在食管鳞状上皮细胞癌中的表达缺少有关, Wong *et al*^[35]发现原发性胃癌中p15和p16基因的突变并不多见。mRNA转录缺陷多因DNA甲基化的紊乱所

致。他们认为DNA甲基化可能是p16基因失活的一条途径,进而发展为胃癌。5'端和第1外显子的异常甲基化,使p16基因在人胃癌细胞系中不能检出,且此转录抑制可用5-氮胞苷(一种去甲基化制剂)逆转。Shim *et al*^[16]用MSP检测胃癌中的p16甲基化水平,42%胃癌有高甲基化,甲基阳性病例中(19/22)有完全的p16免疫活性丢失,而甲基阴性病例19例只有2例。p16高甲基化同免疫活性的相关性表明,甲基化是胃癌中p16失活的重要机制。Song *et al*^[40]用mapping分析了9个胃癌细胞系,发现p16表达失活伴有启动子区的高甲基化。28例患者中的6例有p16表达缺失,5例有启动子区的高甲基化。这表明启动子区特殊CpG岛的从头合成甲基化与p16的转录静息有明显关系。Wong *et al*^[35-39]从22例肝细胞肝癌(HCC)患者肿瘤组织和外周血中提取DNA,经MSP发现73%HCC组织中p16基因甲基化,且其中81%也在血清或血清样本中有p16基因的甲基化。有体外研究表明,胃癌患者因p16启动子甲基化而不表达P16蛋白的为22%,反之,胃炎患者该基因启动子没有甲基化现象,而43%的胃癌和59%的癌组织附近的癌前病变组织出现p16启动子甲基化现象,这说明该基因启动子甲基化发生在胃癌形成的早期,而且频率较高,可成为胃癌危险性的预测性生物标记^[25,41-46]。

p15为CDKIs抑制剂,属于肿瘤抑制基因。在胃癌中p15缺失或突变十分少见,但由于其CpG岛甲基化而导致其mRNA转录异常,这样就导致该基因失活,从而成为影响胃癌形成的一种方式。Lee *et al*^[34,35]发现6种胃癌细胞株没有表达p15 mRNA,用去甲基化剂处理后又得到表达。Leung *et al*^[46-48]用甲基化特异的PCR法对5种胃癌细胞株,26例冰冻胃癌组织的p15和p16的甲基化状态进行检测发现,4个胃癌细胞株有p15的甲基化紊乱,3个细胞株有p16的甲基化紊乱,26例胃癌患者有73.1%存在p15的高甲基化,64.5%存在p16的高甲基化。这一结果表明多肿瘤抑制基因p15和p16基因的失活与胃癌的发生有关。

1.2 p21^{WAF1}、p27^{KIP1}和p57^{KIP2}基因 p21^{WAF1}、p27^{KIP1}和p57^{KIP2}的基因产物分别为P21、P27和P57蛋白,它们在结构上具有部分同源性,几乎可与每一种CYC-CDK复合物结合而使其丧失激酶活性,使Rb蛋白和P53蛋白不被磷酸化而抑制细胞进入S期。p21^{WAF1}是一种多信号诱导的生长抑制因子,对细胞内信号如p53和细胞外信号TGF- β 均能作出反应。p27与G1期的细胞停顿有关,可由TGF- β 和细胞接触导致的细胞生长停滞诱导产生。对多种人类肿瘤中p21^{WAF1}、p27^{KIP1}和p57^{KIP2}进行研究发现,仅有少量肿瘤表现出其遗传性的改变,这表明CDKIs家族突变性的失活并不常见,因此有人猜测启动子区的高甲基化可能是它们失活的机制。Shin *et al*^[49]采用甲基化特异性的限制性内切酶酶解后PCR测定胃癌细胞株中p21^{WAF1}、p57^{KIP2}启动子区的甲基化状态发现, p21^{WAF1}和p57^{KIP2}在这8株胃癌细胞中都是失活的,但这8株胃癌细胞却无一例外

存在p21启动子的高甲基化, 而有5株细胞存在p57的甲基化, 且能被去甲基化制剂5-氮-2'脱氧胞嘧啶(5-aza-2'-deoxycytidine, 5-aza-dC)重新激活. Shin的结果显示, 胃癌细胞中p21基因启动子并未甲基化, 即甲基化并不是胃癌细胞中p21失活的机制. 反之, 胃癌中p57基因的失活与启动子区的甲基化有关. 同时, 他们也发现在这8株胃癌细胞中不存在p27基因的失活. Shannon *et al*^[50]也发现结肠癌组织细胞中p21基因的失活与甲基化无关.

1.3 APC基因 APC(adenomatous polyposis coli)最初是在结肠腺瘤性息肉病中发现的. 在5q21位的APC基因因为一个典型的抑癌基因, APC编码产生的蛋白质含2 843个氨基酸, 其蛋白参与修饰转录性活化和细胞周期的调节. 在人类多种肿瘤中发现其结构异常, 该基因突变后所产生的突变蛋白较野生型APC蛋白明显缩短, 突变蛋白以显性抑制方式(dominant negative manner)与野生型APC蛋白结合, 抑制后者的正常功能^[51-55], 这说明APC基因可能涉及广谱人类肿瘤的发生^[56,57]. 通过对胃癌APC基因的分析发现^[58,59]APC基因没有发生突变, 通过MSP对胃癌标本和胃癌细胞株的分析发现: 82.5%的原发性胃癌、97.5%胃癌患者的癌旁胃黏膜和10个胃癌细胞株APC启动子1A呈高甲基化, 而启动子1B却没有发生甲基化. 由于甲基化, 在10个细胞株中, 外显子1A没有出现APC表达, 而外显子1B却出现APC表达. 说明APC启动子1A甲基化在胃癌形成的早期就出现, 是有用的生物标记.

2 与胃癌相关的癌基因甲基化

DNA甲基化是维持细胞遗传稳定性的重要因素之一, 某些癌基因的甲基化水平降低或模式改变与癌基因的激活和表达及细胞的恶变有关^[60]. 目前有学者对胃癌组织中c-myc、c-Ha-ras癌基因位点的甲基化状态进行了研究.

2.1 c-myc、c-Ha-ras癌基因 c-Ha-ras癌基因参与细胞生长、分化的调控以及多种肿瘤的形成和发展. c-myc是一种高度保守的DNA结合蛋白类癌基因, 参与包括复制、生长发育、新陈代谢、细胞增殖分化和凋亡在内的多种细胞功能. 杨丽 *et al*^[61]应用限制性内切酶Hap II和Msp I结合Southern杂交方法, 对人胃癌及其癌旁组织中c-myc和c-Ha-ras基因的甲基化模式进行了检测, 结果表明与正常组织相比, 约40-50%的胃癌组织两者甲基化水平降低. 进一步的研究显示, c-myc基因的第3外显子是基因启动与否的关键点, 许多肿瘤细胞通过此部位DNA的去甲基化使c-myc癌基因的转录发生改变. 沈兰兰 *et al*^[62]将22例进展期胃癌的癌区、癌旁和外周正常区组织的DNA, 以限制性内切酶Hap II/Msp I消化、Southern blot分析其c-myc癌基因片段的甲基化情况. 结果发现10/22的胃癌区和13/22的胃癌旁组织的c-myc癌基因呈低甲基化状态. 杨定成 *et al*^[63]研究结果表明, 胃癌组织中c-Ha-ras基因低甲基化发生频率较高(45%), 所以去甲基化是

胃癌发生过程中c-Ha-ras癌基因激活的一个重要方式. 研究还发现临床II期胃癌其c-Ha-ras基因低甲基化发生率是62.5%, 显著高于临床III期和IV期, 提示c-Ha-ras低甲基化是胃黏膜细胞早期癌变的一个重要遗传学事件.

3 与凋亡相关基因的甲基化

3.1 fas fas基因为凋亡促进基因, 它主要是通过Fas-Fas配体系统介导肿瘤细胞凋亡. 在活化T淋巴细胞膜上表达, 产生死亡信号. 在结肠癌组织中存在fas基因的表达减少或消失. 但是Fas基因的杂合性缺失或重排却并不是引起其表达沉默的主要因素. 因此有人认为fas基因启动子的高甲基化可能是导致其不表达的一种因素. 但Butler *et al*^[64]的实验不支持这一说法. 他们检测了46例结肠癌的组织未发现存在fas基因启动子区的高甲基化.

3.2 bcl-2 bcl-2基因是一凋亡抑制基因. 它不同于一般意义上加速细胞增殖而致癌的癌基因, 它是通过抵抗多种形式的细胞死亡, 延长细胞寿命, 使细胞数目累积增多来促进肿瘤形成的. 而且, bcl-2还可以通过抑制c-myc和p53等基因诱导细胞的凋亡. 在结肠癌中经常存在着bcl-2基因的表达紊乱. Babidge *et al*^[65]研究发现, 在结肠癌中bcl-2基因的第2号外显子的CpG位点存在着从头(De novo)甲基化, 但这个特定地点的甲基化与bcl-2 mRNA的表达并无直接关联.

3.3 survivin 关于该凋亡抑制基因, 只有卵巢癌的相关研究^[66], 目前尚无消化系细胞或肿瘤细胞的研究报道.

4 DNA错配修复基因

错配修复基因(mismatch repair genes, MMR genes)是细胞内负责对碱基错配进行修复的基因, 它们的缺陷导致癌相关基因突变不能及时有效纠正, 从而肿瘤易感. 20多年前, DNA错配修复系统首先在原核生物中被发现, 随后在酵母及更高等的真核生物中亦发现相似的MMR活性. 而对人类MMR基因的研究随近几年对遗传性非多发性息肉型结肠癌(HNPCC)的遗传性的研究得到了快速的发展. 自1993年由Fishel *et al*^[67]分离克隆到第一个人类MMR基因hMSH2后, 到目前为止, 相继6种MMR基因被分离克隆并定位, 它们的基因产物及功能(表1). 而1997、1998年又发现的hMSH4、hMSH5目前只知它们和细胞有丝分裂有关, 还不能肯定它们是否具有错配修复作用, 故而未列入下表.

目前MMR基因的作用机制仍不很清楚, 通过对酵母和人类肿瘤细胞错配修复功能的研究, 推测可能是MMR基因编码的错配修复蛋白之间相互作用形成异二聚体, 参与细胞错配修复反应. hMSH2蛋白与其它两个MMR蛋白即hMSH6、hMSH3形成各自的异二聚体, 其复合物分别为hMutS- α 和hMutS- β , 它们分别对碱基-碱基错配及插入-缺失突变进行识别, 并与错配位点结合^[68]. hMLH1和hPMS2蛋白结合形成hMutL- α 二聚体, 与结合到DNA链

表 1 错配修复基因的产物及其功能

基因	(年代)	定位	开放阅读框架全长	产物	功能
HMSH2 (1993)		2p16	2 802 bp	934aa	与DNA双链中的G-T、A-C错配特异结合与(CA) ₄ 及含14个碱基的IDL型错配结合
HMLH1 (1994)		3p21.3	2 268 bp	756aa	形成多聚体复合物,参与错配修复反应,可能与细胞烷化剂耐受及细胞周期检验点有关
HPMS1 (1994)		2q31-q33	2 796 bp	932aa	形成多聚体复合物,参与错配修复反应
HPMS2 (1995)		7p22	2 586 bp	862aa	与Hmlh1形成二聚体hMutL- α 识别新生DNA链可能与基因重组及染色体联会有关
GTBP/HMSH6 (1995)		2p16	全长4.2 kb	160 ku 蛋白	与hMSH2形成二聚体复合物hMutS- α 结合到错配区
HMSH3 (1995)		5q11-13	全长160 kb	不明	可能是一些显示微卫星序列不稳定而又无明显错配修复功能或其他已知错配修复基因缺陷的肿瘤发生的相关基因

上的hMutS形成一种暂时性的复合物,从而启动错配修复,与有关的酶(如核酸外切酶、DNA聚合酶、复制因子等)相互配合,切除含有错配碱基的一段DNA链,然后重新合成一段DNA链,以代替被切除的DNA链,这样就修复了含错配碱基的DNA核苷酸序列,从而有效防止DNA复制错误或微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)的产生.通过对hMLH1基因在胃癌中的特点进行分析发现^[68-72],在胃癌中出现hMLH1蛋白表达异常,用MSP分析发现该基因启动子高甲基化.有MSI者由于hMLH1高甲基化而导致其不表达,而没有MSI者因为该基因未甲基化而表达,说明hMLH1基因启动子高甲基化可能是MSI在胃癌中频繁出现的原因.在乳头状腺癌中,由于hMLH1 CpG岛甲基化与基因错配修复有一定的相关性,通过对hMLH1启动子甲基化的胃癌患者没有癌变的胃黏膜进行甲基化分析发现,有71%也出现甲基化,说明该基因甲基化是早期胃癌发展过程中最初的重要的特点,可以预测乳头状腺癌MSI型的发展程度.

5 前景与展望

通过对与胃癌相关的癌基因、抑癌基因、与凋亡相关的基因和DNA错配修复基因的甲基化情况分析发现,胃癌可出现多种基因甲基化状态改变. Lee *et al*^[42]对54例胃癌患者的肿瘤组织及血浆中发生高甲基化的基因进行检测,发现60%的胃癌细胞株和84.6%的胃癌标本出现2种或2种以上的基因甲基化,69.2%的胃癌标本出现3种以上的基因甲基化.多种基因甲基化是胃癌形成的重要机制.对胃癌基因甲基化特点的分析发现,由于启动子区甲基化改变在肿瘤初期即可发生,揭示了肿瘤形成的可能机制,这为胃癌的早期诊断提供了生物学标记,也为胃癌的治疗和预后提供了新的思路.综上,近几年由于研究甲基化手段的进步,使更多的胃癌相关基因的甲基化情况得以明确,但迄今为止尚未见临床上利用上述胃癌相关基因甲基化状态的改变进行胃癌的早期诊断及干预甲基化的基因治疗来防治胃肠系肿瘤的发生.如何充分利用上述研究成果,尚有很多问题有待解决:(1)胃癌发生、发展的分子机制目前尚未有确切定论;(2)是否存在胃癌特异性基因发生甲基化状态改变,国内、外未见相关文献报道;(3)究竟基因的甲基化状态改变与胃癌的

发生、发展相互间关系如何,尚有待于进一步研究;(4)目前的研究多集中在已建立的胃癌细胞系或遗传家系上,而对散发性肿瘤的相关研究相对较少,弄清楚散发性胃癌中基因甲基化状态的改变及其作用方式并建立相应的筛查技术,将为胃癌的研究带来更深入的发展;(5)能否找到一些特异、灵敏、相对简单的实验方法来筛查高危人群,实现胃癌的早期诊断,为肿瘤学的临床应用开辟一个新的领域.

6 参考文献

- Baylin SB, Herman JG, Graff JR, Vertino PM, Issa JP. Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia. *Adv Cancer Res* 1998; 72: 141-196
- Baylin SB. Reversal of gene silencing as a therapeutic target for cancer--roles for DNA methylation and its interdigitation with chromatin. *Novartis Found Symp* 2004; 259: 226-233
- Gonzalez-Zulueta M, Bender CM, Yang AS, Nguyen T, Beart RW, Van Tornout JM, Jones PA. Methylation of the 5' CpG island of the p16/CDKN2 tumor suppressor gene in normal and transformed human tissues correlates with gene silencing. *Cancer Res* 1995; 55: 4531-4535
- Herman JG, Merlo A, Mao L, Lapidus RG, Issa JP, Davidson NE, Sidransky D, Baylin SB. Inactivation of the CDKN2/p16/MTS1 gene is frequently associated with aberrant DNA methylation in all common human cancers. *Cancer Res* 1995; 55: 4525-4530
- Galm O, Wilop S, Reichelt J, Jost E, Gehbauer G, Herman JG, Osieka R. DNA methylation changes in multiple myeloma. *Leukemia* 2004; 18: 1687-1692
- Gilbert J, Gore SD, Herman JG, Carducci MA. The clinical application of targeting cancer through histone acetylation and hypomethylation. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 4589-4596
- Herman JG. Circulating methylated DNA. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1022: 33-39
- Herman JG. Epigenetics in lung cancer: focus on progression and early lesions. *Chest* 2004; 125: 1195-1225
- Spinella F, Rosano L, Di Castro V, Nicotra MR, Natali PG, Bagnato A. Inhibition of cyclooxygenase-1 and -2 expression by targeting the endothelin a receptor in human ovarian carcinoma cells. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 4670-4679
- Costello JF, Fruhwald MC, Smiraglia DJ, Rush LJ, Robertson GP, Gao X, Wright FA, Feramisco JD, Peltomaki P, Lang JC, Schuller DE, Yu L, Bloomfield CD, Caligiuri MA, Yates A, Nishikawa R, Su Huang H, Petrelli NJ, Zhang X, O'Dorisio MS, Held WA, Cavenee WK, Plass C. Aberrant CpG-island methylation has non-random and tumour-type-specific patterns. *Nat Genet* 2000; 24: 132-138
- He B, You L, Uematsu K, Zang K, Xu Z, Lee AY, Costello JF, McCormick F, Jablons DM. SOCS-3 is frequently silenced by hypermethylation and suppresses cell growth in human lung cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 14133-14138
- Feltus FA, Lee EK, Costello JF, Plass C, Vertino PM. Predicting

- aberrant CpG island methylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 12253-12258
- 13 Costello JF. DNA methylation in brain development and gliomagenesis. *Front Biosci* 2003; 8: s175-184
- 14 Costello JF, Vertino PM. Methylation matters: a new spin on maspin. *Nat Genet* 2002; 31: 123-124
- 15 Smiraglia DJ, Rush LJ, Fruhwald MC, Dai Z, Held WA, Costello JF, Lang JC, Eng C, Li B, Wright FA, Caligiuri MA, Plass C. Excessive CpG island hypermethylation in cancer cell lines versus primary human malignancies. *Hum Mol Genet* 2001; 10: 1413-1419
- 16 Shim YH, Kang GH, Ro JY. Correlation of p16 hypermethylation with p16 protein loss in sporadic gastric carcinomas. *Lab Invest* 2000; 80: 689-695
- 17 Shim YH, Choi JH, Park CD, Lim CJ, Cho JH, Kim HJ. Molecular differentiation of Panax species by RAPD analysis. *Arch Pharm Res* 2003; 26: 601-605
- 18 Shim YH, Park HJ, Choi MS, Kim JS, Kim H, Kim JJ, Jang JJ, Yu E. Hypermethylation of the p16 gene and lack of p16 expression in hepatoblastoma. *Mod Pathol* 2003; 16: 430-436
- 19 Choi MS, Shim YH, Hwa JY, Lee SK, Ro JY, Kim JS, Yu E. Expression of DNA methyltransferases in multistep hepatocarcinogenesis. *Hum Pathol* 2003; 34: 11-17
- 20 Esteller M, Herman JG. Generating mutations but providing chemosensitivity: the role of O6-methylguanine DNA methyltransferase in human cancer. *Oncogene* 2004; 23: 1-8
- 21 Shim YH, Yoon GS, Choi HJ, Chung YH, Yu E. p16 Hypermethylation in the early stage of hepatitis B virus-associated hepatocarcinogenesis. *Cancer Lett* 2003; 190: 213-219
- 22 Esteller M, Toyota M, Sanchez-Cespedes M, Capella G, Peinado MA, Watkins DN, Issa JP, Sidransky D, Baylin SB, Herman JG. Inactivation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is associated with G to A mutations in K-ras in colorectal tumorigenesis. *Cancer Res* 2000; 60: 2368-2371
- 23 Ballestar E, Esteller M. Methyl-CpG-binding proteins in cancer: blaming the DNA methylation messenger. *Biochem Cell Biol* 2005; 83: 374-384
- 24 Ballestar E, Esteller M. The epigenetic breakdown of cancer cells: from DNA methylation to histone modifications. *Prog Mol Subcell Biol* 2005; 38: 169-181
- 25 Esteller M. Aberrant DNA methylation as a cancer-inducing mechanism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005; 45: 629-656
- 26 Esteller M. Dormant hypermethylated tumour suppressor genes: questions and answers. *J Pathol* 2005; 205: 172-180
- 27 Esteller M. DNA methylation and cancer therapy: new developments and expectations. *Curr Opin Oncol* 2005; 17: 55-60
- 28 Galm O, Esteller M. Beyond genetics--the emerging role of epigenetic changes in hematopoietic malignancies. *Int J Hematol* 2004; 80: 120-127
- 29 Iida S, Akiyama Y, Nakajima T, Ichikawa W, Nihei Z, Sugihara K, Yuasa Y. Alterations and hypermethylation of the p14(ARF) gene in gastric cancer. *Int J Cancer* 2000; 87: 654-658
- 30 Iida S, Morita Y, Choi JD, Park KI, Hoshino A. Genetics and epigenetics in flower pigmentation associated with transposable elements in morning glories. *Adv Biophys* 2004; 38: 141-159
- 31 Esteller M, Tortola S, Toyota M, Capella G, Peinado MA, Baylin SB, Herman JG. Hypermethylation-associated inactivation of p14(ARF) is independent of p16(INK4a) methylation and p53 mutational status. *Cancer Res* 2000; 60: 129-133
- 32 Kurokawa K, Tanaka T, Kato J. p19ARF prevents G1 cyclin-dependent kinase activation by interacting with MDM2 and activating p53 in mouse fibroblasts. *Oncogene* 1999; 18: 2718-2727
- 33 Esteller M, Cordon-Cardo C, Corn PG, Meltzer SJ, Pohar KS, Watkins DN, Capella G, Peinado MA, Matias-Guiu X, Prat J, Baylin SB, Herman JG. p14ARF silencing by promoter hypermethylation mediates abnormal intracellular localization of MDM2. *Cancer Res* 2001; 61: 2816-2821
- 34 Lee YY, Kang SH, Seo JY, Jung CW, Lee KU, Choe KJ, Kim BK, Kim NK, Koeffler HP, Bang YJ. Alterations of p16INK4A and p15INK4B genes in gastric carcinomas. *Cancer* 1997; 80: 1889-1896
- 35 Wong IH, Lo YM, Zhang J, Liew CT, Ng MH, Wong N, Lai PB, Lau WY, Hjelm NM, Johnson PJ. Detection of aberrant p16 methylation in the plasma and serum of liver cancer patients. *Cancer Res* 1999; 59: 71-73
- 36 Wong IH, Chan J, Wong J, Tam PK. Ubiquitous aberrant RASSF1A promoter methylation in childhood neoplasia. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 994-1002
- 37 Hu XC, Wong IH, Chow LW. Tumor-derived aberrant methylation in plasma of invasive ductal breast cancer patients: clinical implications. *Oncol Rep* 2003; 10: 1811-1815
- 38 Wong IH, Zhang J, Lai PB, Lau WY, Lo YM. Quantitative analysis of tumor-derived methylated p16INK4a sequences in plasma, serum, and blood cells of hepatocellular carcinoma patients. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1047-1052
- 39 Wong IH, Lo YM. New markers for cancer detection. *Curr Oncol Rep* 2002; 4: 471-477
- 40 Song SH, Jong HS, Choi HH, Kang SH, Ryu MH, Kim NK, Kim WH, Bang YJ. Methylation of specific CpG sites in the promoter region could significantly down-regulate p16(INK4a) expression in gastric adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2000; 87: 236-240
- 41 Jang TJ, Kim DI, Shin YM, Chang HK, Yang CH. p16(INK4a) Promoter hypermethylation of non-tumorous tissue adjacent to gastric cancer is correlated with glandular atrophy and chronic inflammation. *Int J Cancer* 2001; 93: 629-634
- 42 Lee TL, Leung WK, Chan MW, Ng EK, Tong JH, Lo KW, Chung SC, Sung JJ, To KF. Detection of gene promoter hypermethylation in the tumor and serum of patients with gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1761-1766
- 43 Chan AW, Chan MW, Lee TL, Ng EK, Leung WK, Lau JY, Tong JH, Chan FK, To KF. Promoter hypermethylation of Death-associated protein-kinase gene associated with advanced stage gastric cancer. *Oncol Rep* 2005; 13: 937-941
- 44 Yu J, Leung WK, Lee TL, Tse PC, To KF, Sung JJ. Promoter hypermethylation of cyclooxygenase-2 in gastric carcinoma. *Int J Oncol* 2003; 22: 1025-1031
- 45 Kim YS, Kim JS, Jung HC, Lee CH, Kim CW, Song IS, Kim CY. Regression of low-grade gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma after eradication of Helicobacter pylori: possible association with p16 hypermethylation. *J Gastroenterol* 2002; 37: 17-22
- 46 Leung WK, Yu J, Ng EK, To KF, Ma PK, Lee TL, Go MY, Chung SC, Sung JJ. Concurrent hypermethylation of multiple tumor-related genes in gastric carcinoma and adjacent normal tissues. *Cancer* 2001; 91: 2294-2301
- 47 Leung WK, To KF, Man EP, Chan MW, Bai AH, Hui AJ, Chan FK, Sung JJ. Quantitative detection of promoter hypermethylation in multiple genes in the serum of patients with colorectal cancer. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 2274-2279
- 48 Leung WK, To KF, Chu ES, Chan MW, Bai AH, Ng EK, Chan FK, Sung JJ. Potential diagnostic and prognostic values of detecting promoter hypermethylation in the serum of patients with gastric cancer. *Br J Cancer* 2005; 92: 2190-2194
- 49 Shin JY, Kim HS, Park J, Park JB, Lee JY. Mechanism for inactivation of the KIP family cyclin-dependent kinase inhibitor genes in gastric cancer cells. *Cancer Res* 2000; 60: 262-265
- 50 Shannon BA, Iacopetta BJ. Methylation of the hMLH1, p16, and MDR1 genes in colorectal carcinoma: associations with clinicopathological features. *Cancer Lett* 2001; 167: 91-97
- 51 Su LK, Johnson KA, Smith KJ, Hill DE, Vogelstein B, Kinzler KW. Association between wild type and mutant APC gene products. *Cancer Res* 1993; 53: 2728-2731
- 52 Su LK, Abdalla EK, Law CH, Kohlmann W, Rashid A, Vauthey JN. Biallelic inactivation of the APC gene is associated with hepatocellular carcinoma in familial adenomatous polyposis coli. *Cancer* 2001; 92: 332-339
- 53 Su LK, Qi Y. Characterization of human MAPRE genes and their proteins. *Genomics* 2001; 71: 142-149

- 54 Su LK, Burrell M, Hill DE, Gyuris J, Brent R, Wiltshire R, Trent J, Vogelstein B, Kinzler KW. APC binds to the novel protein EB1. *Cancer Res* 1995; 55: 2972-2977
- 55 Su LK, Vogelstein B, Kinzler KW. Association of the APC tumor suppressor protein with catenins. *Science* 1993; 262: 1734-1737
- 56 Virmani AK, Rathi A, Sathyanarayana UG, Padar A, Huang CX, Cunningham HT, Farinas AJ, Milchgrub S, Euhus DM, Gilcrease M, Herman J, Minna JD, Gazdar AF. Aberrant methylation of the adenomatous polyposis coli (APC) gene promoter 1A in breast and lung carcinomas. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1998-2004
- 57 Esteller M, Sparks A, Toyota M, Sanchez-Cespedes M, Capella G, Peinado MA, Gonzalez S, Tarafa G, Sidransky D, Meltzer SJ, Baylin SB, Herman JG. Analysis of adenomatous polyposis coli promoter hypermethylation in human cancer. *Cancer Res* 2000; 60: 4366-4371
- 58 Kang GH, Lee S, Kim WH, Lee HW, Kim JC, Rhyu MG, Ro JY. Epstein-barr virus-positive gastric carcinoma demonstrates frequent aberrant methylation of multiple genes and constitutes CpG island methylator phenotype-positive gastric carcinoma. *Am J Pathol* 2002; 160: 787-794
- 59 Tsuchiya T, Tamura G, Sato K, Endoh Y, Sakata K, Jin Z, Motoyama T, Usuba O, Kimura W, Nishizuka S, Wilson KT, James SP, Yin J, Fleisher AS, Zou T, Silverberg SG, Kong D, Meltzer SJ. Distinct methylation patterns of two APC gene promoters in normal and cancerous gastric epithelia. *Oncogene* 2000; 19: 3642-3646
- 60 Wainfan E, Poirier LA. Methyl groups in carcinogenesis: effects on DNA methylation and gene expression. *Cancer Res* 1992; 52: 2071s-2077s
- 61 杨丽, 房静远, 陈紫珉, 陆娟, 朱红音, 沈冠凤, 罗鸿仔. 甲基化修饰对人胃癌细胞系中多种基因的调控. *中华胃肠病学杂志* 2003; 8: 70-74
- 62 沈兰兰, 房静远, 张腾飞, 邱德凯, 萧树东. 人胃癌、肝癌的c-myc癌基因甲基化的研究. *中华消化杂志* 1997; 17: 4-5
- 63 杨定成, 李通, 吕有勇, 张青云, 李诤, 谢山海, 李文梅. c-Ha-ras癌基因低甲基化在胃癌形成中的作用. *北京医科大学学报* 1994; 26: 102-104
- 64 Butler LM, Dobrovic A, Bianco T, Cowled PA. Promoter region methylation does not account for the frequent loss of expression of the Fas gene in colorectal carcinoma. *Br J Cancer* 2000; 82: 131-135
- 65 Babidge WJ, Butler LM, Burton MA, Cowled PA. Methylation of CpG sites in exon 2 of the bcl-2 gene occurs in colorectal carcinoma. *Anticancer Res* 2001; 21: 2809-2814
- 66 Fishel M, Sakamoto H, Satoh K, Yamamoto T. DNA demethylase is expressed in ovarian cancers and the expression correlates with demethylation of CpG sites in the promoter region of c-erbB-2 and survivin genes. *Cancer Lett* 2001; 169: 155-164
- 67 Fishel R, Lescoe MK, Rao MR, Copeland NG, Jenkins NA, Garber J, Kane M, Kolodner R. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell* 1993; 75: 1027-1038
- 68 Marsischky GT, Filosi N, Kane MF, Kolodner R. Redundancy of *Saccharomyces cerevisiae* MSH3 and MSH6 in MSH2-dependent mismatch repair. *Genes Dev* 1996; 10: 407-420
- 69 Fleisher AS, Esteller M, Tamura G, Rashid A, Stine OC, Yin J, Zou TT, Abraham JM, Kong D, Nishizuka S, James SP, Wilson KT, Herman JG, Meltzer SJ. Hypermethylation of the hMLH1 gene promoter is associated with microsatellite instability in early human gastric neoplasia. *Oncogene* 2001; 20: 329-335
- 70 Kang YH, Bae SI, Kim WH. Comprehensive analysis of promoter methylation and altered expression of hMLH1 in gastric cancer cell lines with microsatellite instability. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002; 128: 119-124
- 71 房殿春, 罗元辉, 刘为纹. 胃癌组织hMLH1和hMSH2基因启动子区甲基化状态研究. *第三军医大学学报* 2001; 23: 1010-1011
- 72 Sakata K, Tamura G, Endoh Y, Ohmura K, Ogata S, Motoyama T. Hypermethylation of the hMLH1 gene promoter in solitary and multiple gastric cancers with microsatellite instability. *Br J Cancer* 2002; 86: 564-567

电编 张敏 编辑 张海宁