

Cyclin B1、CDK1在食管鳞癌组织中的表达及临床意义

赵春玲, 陈丽梅, 高志芹, 杜长青, 潘智芳, 于文静

■背景资料

肿瘤是细胞周期调控异常所致的疾病。Cyclin B1与CDK1是在有丝分裂G₂/M期转变中起关键作用的细胞周期蛋白和周期蛋白依赖性蛋白激酶, 近来发现在多种实体瘤中有过表达现象。

赵春玲, 陈丽梅, 高志芹, 杜长青, 潘智芳, 于文静, 潍坊医学院细胞生物学教研室 山东省潍坊市 261053

赵春玲, 博士, 主要从事分子肿瘤学的研究。

作者贡献分布: 此课题由赵春玲与高志芹设计; 研究过程由赵春玲、陈丽梅、高志芹及杜长青操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由陈丽梅提供; 数据分析由杜长青、潘智芳及于文静完成; 本论文写作由赵春玲完成。

通讯作者: 赵春玲, 讲师, 261053, 山东省潍坊市, 潍坊医学院细胞生物学教研室。zhaochunlingbj@163.com

电话: 0536-8462054

收稿日期: 2009-05-01 修回日期: 2009-07-16

接受日期: 2009-07-20 在线出版日期: 2009-08-18

Clinical significance of cyclin B1 and cyclin-dependent kinase 1 expression in human esophageal squamous cell carcinoma

Chun-Ling Zhao, Li-Mei Chen, Zhi-Qin Gao, Chang-Qing Du, Zhi-Fang Pan, Wen-Jing Yu

Chun-Ling Zhao, Li-Mei Chen, Zhi-Qin Gao, Chang-Qing Du, Zhi-Fang Pan, Wen-Jing Yu, Department of Cell Biology, Weifang Medical University, Weifang 261053, Shandong Province, China

Correspondence to: Chun-Ling Zhao, Department of Cell Biology, Weifang Medical University, Weifang 261053, Shandong Province, China. zhaochunlingbj@163.com

Received: 2009-05-01 Revised: 2009-07-16

Accepted: 2009-07-20 Published online: 2009-08-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of cyclin B1 and cyclin-dependent kinase 1 (CDK1) proteins in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and analyze its clinicopathological significance.

METHODS: A total of 52 ESCC specimens were used in the study. Matched normal esophageal mucosal tissues were used as controls. Of all ESCC specimens, 8 had grade I disease, 20 had grade II disease, 24 had grade III disease; 20 had lymph node metastasis, 32 had no lymph node metastasis; 16 had carcinoma in situ, 36 had invasive carcinoma. The expression of cyclin B1 and CDK1 was detected by streptavidin-peroxidase (SP) immunohistochemical method. The correlation of cyclin B1 and CDK1 expression with the clinical features of ESCC was then analyzed.

RESULTS: The expression levels of cyclin B1 and CDK1 were significantly higher in ESCC tissues than in adjacent normal esophageal mucosal tissues (71.2% vs 2.0% and 65.4% vs 3.9%, respectively; both $P < 0.05$). The overexpression of cyclin B1 and CDK1 in ESCC tissues had no correlation with patient gender and age, but had significant correlations with histological grade, depth of invasion and lymph node metastasis (all $P < 0.05$). The overexpression of cyclin B1 in ESCC tissues was positively correlated with that of CDK1 ($r = 0.697$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Overexpression of cyclin B1 and CDK1 proteins can promote the development and progression of ESCC. There is a positive correlation between the expression of cyclin B1 and CDK1 in ESCC. Detection of cyclin B1 and CDK1 expression is useful for evaluation of the biological behavior of ESCC.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; Cyclin B1; Cyclin-dependent kinase 1; Immunohistochemistry

Zhao CL, Chen LM, Gao ZQ, Du CQ, Pan ZF, Yu WJ. Clinical significance of cyclin B1 and cyclin-dependent kinase 1 expression in human esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(23): 2374-2378

摘要

目的: 探讨食管鳞癌组织中细胞周期蛋白 Cyclin B1和细胞周期蛋白依赖性激酶CDK1表达及其临床病理学意义。

方法: 应用免疫组织化学SP法对52例食管鳞癌(组织学 I 级8例, II级20例, III级24例; 有淋巴结转移20例, 无淋巴结转移32例; 原位癌16例, 侵袭性癌36例包括浸润至黏膜下层、肌层、全层)及其配对的癌旁正常组织进行 Cyclin B1、CDK1的检测, 分析其阳性表达与食管鳞癌患者临床病理因素的关系。

结果: 食管鳞癌组织中Cyclin B1、CDK1的阳性表达高于癌旁正常食管黏膜组织, 2组差异都有统计学意义(71.2% vs 2.0%, 65.4%

■同行评议者

邹小明, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外二科; 张军, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院消化内科

vs 3.9%, 均 $P<0.05$). 食管鳞癌组织中Cyclin B1、CDK1的表达都与性别、年龄无关;与组织学分级、浸润深度及淋巴结转移有关(均 $P<0.05$). Cyclin B1阳性表达强度与CDK1的阳性表达强度之间呈正相关($r=0.697, P<0.05$).

结论: Cyclin B1、CDK1的高表达会促进食管鳞癌的发生与发展. 而且食管鳞癌中Cyclin B1与CDK1的表达密切相关, 可作为食管鳞癌生物学行为预测的参考指标.

关键词: 食管鳞癌; Cyclin B1; 细胞周期蛋白依赖性激酶; 免疫组织化学

赵春玲, 陈丽梅, 高志芹, 杜长青, 潘智芳, 于文静. Cyclin B1、CDK1在食管鳞癌组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2009; 17(23): 2374-2378

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/2374.asp>

0 引言

食管癌是世界上10种常见的恶性肿瘤之一, 发病率与死亡率都非常高, 其发病机制尚不明. 食管癌按其组织类型的不同主要分为: 鳞状细胞癌和腺癌. 在我国鳞状细胞癌占90%以上^[1]. 研究表明, 肿瘤是一类渐进性细胞周期调控机制破坏所致的疾病^[2]. 而细胞周期的顺利进行和完成又依赖于一系列正负调节因子的相互作用, 主要有细胞周期蛋白(cyclins)、细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinases, CDKs)和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白(cyclin-dependent kinases inhibitors, CDKIs). 在有丝分裂G₂/M期转变中起关键作用的是Cyclin B1与CDK1, CDK1也称为细胞分裂周期蛋白2(cell division cycle 2, Cdc2)^[3-4]. 近年的研究发现Cyclin B1与CDK1在多种实体瘤中有过表达现象, 而且与恶性肿瘤的增殖、分化、转移和复发等密切相关^[5-9]. 已有研究人员分别在食管癌组织中应用免疫组织化学方法单独检测了Cyclin B1和CDK1的表达^[10-11], 而二者在食管癌中的联合检测国内外未见文献报道. 因此, 我们采用免疫组织化学方法检测食管鳞癌组织及相应的癌旁正常食管黏膜组织中Cyclin B1、CDK1蛋白的表达, 并分析其与食管鳞癌临床病理特征的关系, 为研究细胞周期调控蛋白在食管鳞癌发生、发展中的作用提供实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 收集潍坊医学院附属医院2004-2006年经手术证实的食管鳞癌及配对癌旁正常食管黏

膜组织52例, 所有患者术前均未经放化疗. 其中男28例, 女24例, 年龄30-75(平均 54.6 ± 7.5)岁. 全部标本均在离体30 min内分别于癌灶、癌旁5 cm以内迅速取材, 组织经40 g/L多聚甲醛液固定, 常规石蜡包埋, 连续切片, 切片厚度3-5 μm , 分别用于HE和免疫组织化学染色. 标本的组织学分级: I级8例, II级20例, III级24例; 肿瘤浸润深度: 原位癌16例, 侵袭性癌(浸润至黏膜下层、肌层、全层)36例; 发生淋巴结转移的20例, 无淋巴结转移的32例. 鼠抗人单克隆抗体Cyclin B1和CDK1、SP免疫组织化学试剂盒购于北京中杉金桥生物技术有限公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色: 采用SP法, 操作严格按照说明书进行. 石蜡切片常规脱蜡和水化后, 浸于EDTA液(pH9.5), 高压修复组织抗原20 min. PBS洗涤; 封闭内源性过氧化物酶; PBS洗涤; 非免疫性动物血清孵育10 min; Cyclin B1、CDK1抗体孵育60 min(工作浓度1:100); 生物素标记的第二抗体孵育10 min; PBS洗涤; 链霉素标记的亲合素-过氧化物酶孵育10 min; PBS洗涤; DAB显色; 蒸馏水冲洗; 苏木素复染; 梯度乙醇脱水; 二甲苯透明; 中性树胶封片. 以PBS液代替一抗作为阴性对照. 用已知阳性切片作阳性对照.

1.2.2 结果判断标准: 光镜下每张切片在食管组织中随机选取高倍视野计数500个细胞, 以出现棕黄色颗粒作为阳性细胞, 根据同样物镜下阳性细胞数不同可以分为以下5个等级: <5%为0分; 5%-25%为1分; 25%-50%为2分; 50%-75%为3分; 75%-100%为4分. 依据染色强度进行半定量判定, 分数标准是: 无色为0分; 淡黄色, 即弱阳性为1分; 棕黄色, 即中等染色强度为2分; 棕褐色, 即强阳性为3分. 免疫反应的得分为阳性细胞的百分率得分与免疫染色的强度得分的乘积^[12]. 0-2分为阴性结果, 3-6分为阳性结果.

统计学处理 应用SPSS10.0统计学软件, 采用 χ^2 检验和Spearman相关性分析. 检验水准为0.05.

2 结果

2.1 Cyclin B1、CDK1在食管鳞癌组织和癌旁正常食管组织中的染色定位 在食管鳞癌组织中, Cyclin B1和CDK1多数分布在上皮细胞的细胞质中, 呈棕褐色, 少数在细胞质和细胞核中同时表达. 二者在正常食管黏膜组织中没有表达或弱表达(图1-2).

■研究前沿

细胞周期调控异常与肿瘤关系的研究一直是肿瘤学的热点. 有关Cyclin B1和CDK1在食管癌中的联合检测国内外未见报道.

■ 创新盘点

本文首次采用免疫组织化学SP法联合检测Cyclin B1和CDK1在食管鳞癌组织及相应的癌旁正常食管黏膜组织中的表达,并分析其与食管鳞癌临床病理特征的关系,为研究细胞周期调控蛋白在食管鳞癌发生、发展中的作用提供依据。

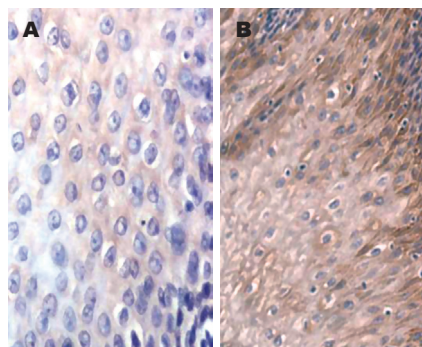


图1 食管黏膜组织中Cyclin B1蛋白的表达(SP×400)。A: 正常食管黏膜组织; B: 食管鳞癌组织。

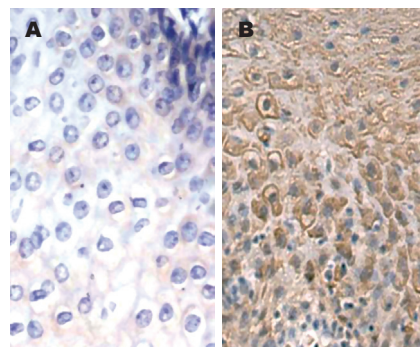


图2 食管黏膜组织中CDK1蛋白的表达(SP×400)。A: 正常食管黏膜组织; B: 食管鳞癌组织。

2.2 Cyclin B1、CDK1在食管鳞癌组织和癌旁正常食管组织中的表达 将免疫组织化学的染色结果进行统计学分析发现(表1), Cyclin B1、CDK1在食管鳞癌组织中表达的阳性率分别为71.2%、65.4%, 在正常食管黏膜组织中表达的阳性率分别为2.0%、3.9%, 两组差异都有统计学意义($P<0.05$), 即同正常食管黏膜组织相比, Cyclin B1、CDK1在食管鳞癌组织中都呈高表达。

2.3 Cyclin B1、CDK1在食管鳞癌组织中的表达与临床病理特征的关系 经统计学分析, Cyclin B1、CDK1蛋白的高表达与患者的性别、年龄无关, 中分化(Ⅱ级)的食管鳞癌组织中Cyclin B1、CDK1蛋白表达的阳性率明显高于高分化(Ⅰ级)食管鳞癌组织中的表达($P<0.05$); 而低分化(Ⅲ级)的食管鳞癌组织中Cyclin B1、CDK1蛋白表达的阳性率明显高于中分化(Ⅱ级)食管鳞癌组织中的表达($P<0.05$)。在侵袭性的食管鳞癌组织中Cyclin B1、CDK1蛋白表达的阳性率明显高于原位癌中的表达($P<0.05$)。伴有淋巴结转移的食管鳞癌组织中Cyclin B1、CDK1蛋白表达的阳性率明显高于没有发生淋巴结转移的食管鳞癌组织中的表达($P<0.05$, 表2)。

2.4 食管癌中Cyclin B1与CDK1表达之间的关系 食管癌中CDK1阳性33例中, Cyclin B1阳性31例, CDK1阴性19例中, Cyclin B1阴性11例。经Spearman等级相关检验显示, Cyclin B1与CDK1在食管癌中呈显著正相关($r=0.697$, $P<0.05$)。

3 讨论

肿瘤是一类细胞周期调控异常引起细胞过度增殖所致的疾病。而细胞周期得以运行的核心机制是在一系列周期蛋白Cyclins时相性起伏的调控下, 相应的CDKs依次激活, 驱动细胞通过G₁、S、G₂期, 达到M期, 细胞一分为二, 实现忠实于亲代的细胞复制。Cyclin B1和CDK1是细胞

表1 Cyclin B1、CDK1蛋白在食管黏膜组织中的表达($n=52$)

组织	Cyclin B1			CDK1		
	(-)	(+)	<i>P</i>	(-)	(+)	<i>P</i>
正常食管黏膜	51	1		50	2	
食管鳞癌组织	15	37	<0.05	18	34	<0.05

周期G₂/M转换阶段最重要的Cyclin和CDK分子。Cyclin B1与CDK1结合所形成的复合物-有丝分裂促进因子(mitosis promoting factor, MPF)促进了G₂/M期的进展和有丝分裂的完成。

近几年的研究表明, Cyclin B1在许多人类恶性肿瘤中呈过表达, 如肺癌、口腔癌、食管癌、胃癌、结肠癌、前列腺癌、结节性非霍奇金淋巴瘤等。一些研究人员认为, Cyclin B1的过表达与肿瘤的恶性行为有关, 可作为肿瘤恶性潜能的指征, 是鳞状细胞癌患者有意义的预后指标如食管癌、肺癌、舌癌^[10,11-14]。Yoshida *et al*^[15]在对非小细胞肺癌的研究中发现, Cyclin B1的过表达与非小细胞肺癌分化级别和血管侵袭有关, Cyclin B1的过表达, 恶性潜力增加, 是非小细胞肺癌患者的有意义的预后指标。Kushner *et al*^[16]报道了头颈部鳞状细胞癌患者中有Cyclin B1过表达的比无Cyclin B1过表达的有更高的临床分期。Cyclin B1过表达与喉部鳞状细胞癌发生的部位、大小、分期及预后相关, 故Cyclin B1很可能与喉部鳞癌的恶性生物学行为有关^[17]。

我们应用免疫组织化学的方法检测了Cyclin B1在食管鳞癌及其配对的癌旁正常食管组织表达情况。Cyclin B1多分布在食管鳞癌上皮细胞的细胞质中, 呈棕褐色, 少数在细胞质和细胞核中同时表达。在正常食管组织中没有表达或着色较弱。统计学分析发现, 食管鳞癌中Cyclin B1表达阳性率明显高于癌旁正常食管黏膜组织, 差异显著($P<0.05$), 有统计学意义。这与

表 2 Cyclin B1、CDK1蛋白表达与食管鳞癌临床病理特征的关系

参数	n	Cyclin B1			CDK1		
		(-)	(+)	阳性率(%)	(-)	(+)	阳性率(%)
性别							
男	28	7	21	75.0	9	19	67.9
女	24	8	16	66.7	9	15	62.5
年龄(岁)							
≤60	30	11	19	63.3	12	18	60.0
>60	22	12	18	81.8	6	16	72.7
组织学分级别							
I 级	8	5	3	37.5	6	2	25.0
II 级	20	8	12	60.0 ^a	8	12	60.0 ^a
III 级	24	2	22	91.7 ^a	4	20	83.3 ^a
浸润深度							
原位癌	16	7	9	56.3	8	8	50.0
侵袭性癌	36	8	28	77.8 ^a	10	26	72.2 ^a
淋巴结转移							
无	32	12	20	62.5	14	18	56.0
有	20	3	17	85.0 ^a	4	16	80.0 ^a

^aP<0.05.

Takeo *et al*的报道是一致的^[10]。我们的研究还发现, Cyclin B1的表达与食管鳞癌组织的分化程度密切相关, 分化程度愈低, Cyclin B1的表达阳性率越高; 而且Cyclin B1的表达的越高, 食管鳞癌的浸润深度越明显, 淋巴结转移的发生率也越高。这表明Cyclin B1的高表达预示食管鳞癌有较高的侵袭性且预后不良。因此, 检测Cyclin B1表达对判定食管鳞癌的预后有一定的价值。

CDK1作为细胞周期G₂/M转换阶段的重要激酶, 在许多肿瘤中也普遍存在着高表达, 与多种肿瘤的恶性表型有相关性^[18-19]。Hansel *et al*^[20]的研究表明, CDK1能够作为食管腺癌和癌前病变的诊断标志物, 并能预测肿瘤进展情况。我们的研究发现, CDK1的高表达与患者的性别、年龄无关, 但与食管鳞癌的分化程度、侵袭性和淋巴结的转移密切相关($P<0.05$)。Nozoe *et al*^[11]则发现CDK1的高表达参与了食管鳞癌的分化。这与我们的研究结果是相一致的。但有关CDK1的高表达与食管鳞癌的侵袭性和淋巴结的转移的相关性研究未见报道。

尽管人们普遍认为食管癌的发生是一个多因素、多阶段、多步骤的渐进过程^[21], 但其确切机制还不清楚。分子生物学的研究表明, 一些基因的异常如p53突变、p16和/或p15表达的缺失、Rb蛋白的表达降低、Cyclin D1基因扩增、c-Myc和环氧合酶2(cyclooxygenase 2, COX-2)

高表达等都能导致食管癌的发生^[22]。我们的研究发现, Cyclin B1、CDK1在食管鳞癌组织中的高表达呈正相关, 这提示Cyclin B1、CDK1的联合高表达可能协同促进了食管鳞癌的发生发展。因为CDK1单独存在时不表现激酶活性, 只有与细胞周期蛋白Cyclin B1结合成复合物MPF, 才表现出激酶活性, 启动有丝分裂, 越过细胞周期限制点, 不能发生正常的细胞周期阻滞以及细胞的生理性凋亡、衰老、或分化, 从而导致细胞失控性的增殖。两者协同促进食管鳞癌的发生发展的分子机制还需要做进一步的研究。

总之, 我们的研究表明, Cyclin B1、CDK1在食管鳞癌组织中高表达且呈正相关, 两者还与食管鳞癌的分化程度、侵袭性和淋巴结的转移密切相关。Cyclin B1、CDK1可能协同促进了食管鳞癌的发生发展。联合检测Cyclin B1和CDK1的表达, 可作为食管鳞癌诊断和评估预后的有潜在价值的标志物。Cyclin B1和CDK1也可能成为食管鳞癌治疗的分子靶点。

4 参考文献

- 1 Dawsey SM, Lewin KJ, Wang GQ, Liu FS, Nieberg RK, Yu Y, Li JY, Blot WJ, Li B, Taylor PR. Squamous esophageal histology and subsequent risk of squamous cell carcinoma of the esophagus. A prospective follow-up study from Linxian, China. *Cancer* 1994; 74: 1686-1692
- 2 Sherr CJ. The Pezcoller lecture: cancer cell cycles

■应用要点

Cyclin B1与CDK1的联合检测为食管鳞癌的诊断、预后提供参考价值, 而且二者有可能成为食管鳞癌双靶点治疗的关键位点。

■同行评价

本研究设计合理, 统计结果分析可靠, 为研究细胞周期调控蛋白在食管鳞癌发生、发展中的作用提供实验依据。

- 3 revisited. *Cancer Res* 2000; 60: 3689-3695
- 4 Ohi R, Gould KL. Regulating the onset of mitosis. *Curr Opin Cell Biol* 1999; 11: 267-273
- 5 Norbury C, Nurse P. Animal cell cycles and their control. *Annu Rev Biochem* 1992; 61: 441-470
- 6 Kim DH. Prognostic implications of cyclin B1, p34cdc2, p27(Kip1) and p53 expression in gastric cancer. *Yonsei Med J* 2007; 48: 694-700
- 7 Chen H, Huang Q, Dong J, Zhai DZ, Wang AD, Lan Q. Overexpression of CDC2/CyclinB1 in gliomas, and CDC2 depletion inhibits proliferation of human glioma cells in vitro and in vivo. *BMC Cancer* 2008; 8: 29
- 8 Nakamura N, Yamamoto H, Yao T, Oda Y, Nishiyama K, Imamura M, Yamada T, Nawata H, Tsuneyoshi M. Prognostic significance of expressions of cell-cycle regulatory proteins in gastrointestinal stromal tumor and the relevance of the risk grade. *Hum Pathol* 2005; 36: 828-837
- 9 Ito Y, Yoshida H, Nakano K, Takamura Y, Kobayashi K, Yokozawa T, Matsuzuka F, Matsuura N, Kuma K, Miyauchi A. Expression of G2-M modulators in thyroid neoplasms: correlation of cyclin A, B1 and cdc2 with differentiation. *Pathol Res Pract* 2002; 198: 397-402
- 10 Jin YH, Park CK. Expression of cyclin B1 and cdc2 in nodal non-Hodgkin's lymphoma and its prognostic implications. *J Korean Med Sci* 2002; 17: 322-327
- 11 Takeno S, Noguchi T, Kikuchi R, Uchida Y, Yokoyama S, Müller W. Prognostic value of cyclin B1 in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer* 2002; 94: 2874-2881
- 12 Nozoe T, Takahashi I, Baba H, Maehara Y. Relationship between intracellular localization of p34cdc2 protein and differentiation of esophageal squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2005; 131: 179-183
- 13 Hao XP, Pretlow TG, Rao JS, Pretlow TP. Beta-catenin expression is altered in human colonic aberrant crypt foci. *Cancer Res* 2001; 61: 8085-8088
- 14 Hassan KA, El-Naggar AK, Soria JC, Liu D, Hong WK, Mao L. Clinical significance of cyclin B1 protein expression in squamous cell carcinoma of the tongue. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 2458-2462
- 15 Soria JC, Jang SJ, Khuri FR, Hassan K, Liu D, Hong WK, Mao L. Overexpression of cyclin B1 in early-stage non-small cell lung cancer and its clinical implication. *Cancer Res* 2000; 60: 4000-4004
- 16 Yoshida T, Tanaka S, Mogi A, Shitara Y, Kuwano H. The clinical significance of Cyclin B1 and Wee1 expression in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2004; 15: 252-256
- 17 Kushner J, Bradley G, Young B, Jordan RC. Aberrant expression of cyclin A and cyclin B1 proteins in oral carcinoma. *J Oral Pathol Med* 1999; 28: 77-81
- 18 Dong Y, Sui L, Watanabe Y, Sugimoto K, Tokuda M. Clinical relevance of cyclin B1 overexpression in laryngeal squamous cell carcinoma. *Cancer Lett* 2002; 177: 13-19
- 19 Kaczmarek P, Tosik D, Majewska E, Baj Z. Quantitative analysis of cyclin E and protein p34 cdc2 expression in superficial bladder cancer. *Pol J Pathol* 2006; 57: 41-44
- 20 Ito Y, Takeda T, Sakon M, Monden M, Tsujimoto M, Matsuura N. Expression and prognostic role of cyclin-dependent kinase 1 (cdc2) in hepatocellular carcinoma. *Oncology* 2000; 59: 68-74
- 21 Hansel DE, Dhara S, Huang RC, Ashfaq R, Deasel M, Shimada Y, Bernstein HS, Harmon J, Brock M, Forastiere A, Washington MK, Maitra A, Montgomery E. CDC2/CDK1 expression in esophageal adenocarcinoma and precursor lesions serves as a diagnostic and cancer progression marker and potential novel drug target. *Am J Surg Pathol* 2005; 29: 390-399
- 22 Mandard AM, Hainaut P, Hollstein M. Genetic steps in the development of squamous cell carcinoma of the esophagus. *Mutat Res* 2000; 462: 335-342
- 23 Stoner GD, Gupta A. Etiology and chemoprevention of esophageal squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis* 2001; 22: 1737-1746

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》标点符号用法

本刊讯 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末。标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU。外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体。(常务副总编辑: 张海宁 2009-08-18)