

肝细胞癌中*Wwox*基因启动子甲基化与蛋白表达的关系

陈军, 吴飞翔, 杨春, 覃思繁

■背景资料

Wwox 也称为 *wox1* 或 *for11*, 是一个候选抑癌基因, 已发现其在多种肿瘤中低表达或缺失。DNA 甲基化状态的改变是肝癌相关基因调控的一种方式, 属于肝癌发生的早期事件, *wwox* 的低表达和失活可能与其启动子区甲基化有关, 检测其启动子区甲基化状态可能对肝癌的发生机制、早期诊断、评价预后以及指导临床治疗有重要意义。

陈军, 覃思繁, 广西医科大学附属肿瘤医院病理科 广西壮族自治区南宁市 530021

吴飞翔, 广西医科大学附属肿瘤医院肝胆外科 广西壮族自治区南宁市 530021

杨春, 广西医科大学附属肿瘤医院实验研究部 广西壮族自治区南宁市 530021

陈军, 副主任医师, 主要从事肿瘤病理诊断及研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 2012GXNSFAA053162

作者贡献分布: 陈军与吴飞翔对此文所作贡献均等; 此课题由陈军设计; 研究过程由陈军、吴飞翔及覃思繁操作完成; 研究所用试剂及分析工具由杨春提供; 数据分析由陈军与杨春完成; 本论文写作由陈军完成。

通讯作者: 陈军, 副主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市青秀区河堤路71号, 广西医科大学附属肿瘤医院病理科。

chenjun2826@163.com

电话: 0771-5332699

收稿日期: 2012-10-21 修回日期: 2012-11-09

接受日期: 2012-11-15 在线出版日期: 2012-12-18

Relationship between promoter methylation status and protein expression of the *wwox* gene in hepatocellular carcinoma

Jun Chen, Fei-Xiang Wu, Chun Yang, Si-Fan Qin

Jun Chen, Si-Fan Qin, Department of Pathology, the Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Fei-Xiang Wu, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Chun Yang, Experimental Research Institute, the Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Guangxi Natural Science Foundation, No. 2012GXNSFAA053162

Correspondence to: Jun Chen, Associate Chief Physician, Department of Pathology, the Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, 71 Hedi Road, Qingxiu District, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. chenjun2826@163.com

Received: 2012-10-21 Revised: 2012-11-09

Accepted: 2012-11-15 Published online: 2012-12-18

Abstract

AIM: To investigate the promoter methylation status and protein expression of the *wwox* gene in hepatocellular carcinoma (HCC).

METHODS: Promoter methylation status and protein expression of the *wwox* gene were ana-

lyzed in 60 cases of HCC tissues and matched tumor-adjacent liver tissues by methylation specific polymerase chain reaction (MSP) and immunohistochemistry (IHC), respectively.

RESULTS: The positive rate of *wwox* gene promoter methylation in tumor tissues was significantly higher than that in matched tumor-adjacent liver tissues (41.67% vs 8.33%, $P = 0.000$), while the positive rate of WWOX protein in tumor tissues was significantly lower than that in matched tumor-adjacent liver tissues (35.00% vs 70.00%, $P = 0.001$). Promoter methylation of the *wwox* gene was correlated with extrahepatic metastasis, tumor diameter, and tumor differentiation. WWOX protein expression was significantly correlated with clinical stage, tumor diameter, and tumor differentiation. Promoter methylation and protein expression of the *wwox* gene showed a significantly negative correlation ($\gamma = -0.408$, $P = 0.001$).

CONCLUSION: Promoter methylation is a crucial mechanism of inactivation of the *wwox* gene. Promoter methylation of the *wwox* gene might be involved in carcinogenesis, development, and progression of HCC.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Tumor suppressor gene; WWOX; Methylation; Immunohistochemistry

Chen J, Wu FX, Yang C, Qin SF. Relationship between promoter methylation status and protein expression of the *wwox* gene in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(35): 3588-3593

摘要

目的: 探讨*wwox*基因启动子甲基化及蛋白表达与肝细胞性肝癌的关系。

方法: 通过甲基化特异性PCR(methylation specific polymerase chain reaction, MSP)方法及免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)法分别检测60例肝细胞性肝癌组织和癌旁组织中*wwox*基因启动子甲基化状态和蛋白表达水平。

■同行评议者

王阔, 教授, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

结果: 癌组织及癌旁组织中 $wwox$ 基因启动子甲基化阳性率分别为41.67%(25/60)和8.33%(5/60)($P = 0.000$). $WWOX$ 蛋白在癌和癌旁组织中的表达具有显著性差异[35.00%(21/60) vs 70.00%(42/60), $P = 0.001$]. $wwox$ 基因启动子甲基化和蛋白表达与肝外转移、肿瘤直径、肿瘤细胞分化密切相关($P = 0.007, 0.014, 0.011$); $WWOX$ 蛋白表达与临床分期、肿瘤直径、肿瘤细胞分化密切相关($P = 0.018, 0.023, 0.001$). $wwox$ 基因启动子甲基化与蛋白表达显著负相关($\gamma = -0.408, P = 0.001$).

结论: 启动子区甲基化是 $wwox$ 基因失活的重要机制. $wwox$ 启动子区异常甲基化可能参与了肝癌的发生发展,在肝癌的进展发挥重要作用.

关键词: 肝细胞癌; 抑癌基因; $WWOX$; 甲基化; 免疫组织化学

陈军, 吴飞翔, 杨春, 覃思繁. 肝细胞癌中 $wwox$ 基因启动子甲基化与蛋白表达的关系. 世界华人消化杂志 2012; 20(35): 3588-3593

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/3588.asp>

0 引言

原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发生是一个涉及多基因、多步骤的复杂过程,相关癌基因的激活和抑癌基因的失活的致病模式逐渐为人们所认识. 真核生物基因组DNA甲基化模式的异常改变可以导致细胞癌变,如抑癌基因或错配修复基因启动区的甲基化会使基因发生沉默或失活,从而诱发肿瘤的形成^[1]. DNA甲基化状态的改变是肝癌相关基因调控的一种方式,属于肝癌发生的早期事件. 因此,揭示其规律对肝癌的发生机制、早期诊断、评价预后以及指导临床治疗有重要意义. $wwox$ (WW domain-containing oxidoreductases),也称为 $wox1$ 或称 $for11$,是2000年由Bednarek等^[2]鉴定出的一个候选抑癌基因,已被发现在多种肿瘤中低表达或缺失,可能与肿瘤的发生进展有密切关系. 我们检测肝细胞癌组织中 $wwox$ 启动子区甲基化状态和蛋白的表达情况,并对他们的临床病理特征进行分析,探讨 $wwox$ 启动子区甲基化状态与肝癌发生、发展的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 60例肝癌组织,取自广西医科大学附属肿瘤医院2008-08/2009-08肝癌患者手术切除的

标本,经术后病理诊断为肝细胞癌. 其中男42例,女18例,年龄22-65岁,平均年龄42.3岁 \pm 12.1岁,中位年龄46岁. 所有患者术前均未行任何治疗. 按UICC 2002年TNM分期,根据按Edmondeon病理分级标准进行组织学分级. 每例均取癌及对应癌旁肝组织(距肿瘤边缘至少2 cm). 手术切下后一部分迅速放入液氮速冻,之后移至-80 °C冰箱冻存用于DNA的提取,备甲基化特异性PCR(methylation specific polymerase chain reaction, MSP)检测;另一部分立即放入40 g/L甲醛内固定后石蜡包埋,用于HE染色及免疫组织化学染色. $WWOX$ 浓缩型鼠抗人单克隆抗体购自美国Santa Cruz公司;即用型快速免疫组织化学MaxVisionTM检测试剂盒及DAB染色试剂盒均购自福州迈新生物技术有限公司;平衡酚、氯仿、蛋白酶K、无水乙醇、乙酸钠、对苯二酚购自上海试剂厂;引物购自上海生物工程公司;EZDNA Methylation Kit购自Zymo公司;TaqDNA聚合酶及甲基化特异性PCR引物购自上海捷瑞生物技术有限公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学: 免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)检查采用酶标聚合物法(labeled dextran polymer, LDP). 操作步骤按照说明书进行, $WWOX$ 抗体稀释浓度为1:100. 每批染色均设已知阳性切片作阳性对照,用磷酸盐缓冲液(phosphatic buffered saline, PBS)代替一抗作阴性对照.

1.2.2 $wwox$ 基因启动子甲基化检测: 所选标本按常规进行蛋白酶K消化、酚/氯仿抽提DNA,紫外分光光度计定量, $A_{260/280}$ 值均为1.7-1.8. 抽提后DNA保存在-20 °C冰箱备用. 基因组DNA的亚硫酸氢盐修饰用Zymo公司EZDNA Methylation Kit,按说明书操作. 分别设计针对启动子区非甲基化和甲基化DNA引物,非甲基化特异性引物:上游5'-TATGGGTGTTGTTTTTTTAHTT-3',下游5'-CAATCTCCACAATATCACAACA-3',扩增产物347 bp;甲基化特异性引物:上游5'-TATGGGCGTCGTTTTTTTAGTT-3',下游5'-CAATCTCCGCAAT ATCGCGACA-3',扩增产物347 bp. PCR反应体系(12.5 μ L): 10 \times Buffer 2.50 μ L, 25 mmol/L $MgCl_2$ 1.50 μ L, 10 μ mol/L Dntp 0.50 μ L, 5 U/ μ L TaqE 0.40 μ L, 灭菌水13.1 μ L, 甲基化或非甲基化特异性上下游引物10 μ mol/L各1.0 μ L, 模板DNA 5 μ L. PCR反应条件: 95 °C 预变性5 min; 95 °C 40 s, 55 °C 45 s, 72 °C

■ 研发前沿

目前国内外对各种肿瘤中 $WWOX$ 的表达情况的研究成为热点,而其启动子区甲基化可能是 $WWOX$ 失活的重要方式之一,值得进一步研究.

■ 相关报道

目前 *WWOX* 基因启动子区甲基化在食管癌、乳腺癌、胃癌等肿瘤中的陆续报道说明其与这些肿瘤的发生与进展密切相关。

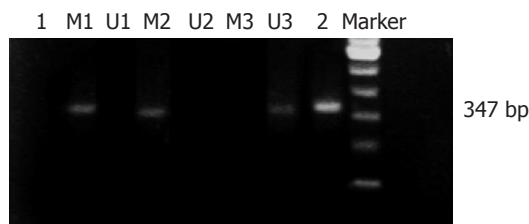


图1 肝癌组织 *WWOX* MSP电泳结果. 1: 阴性对照; M1, U1: 甲基化标本, 甲基化扩增条带阳性; M2, U2: 甲基化标本, 甲基化扩增条带阳性; M3, U3: 非甲基化标本, 非甲基化扩增条带阳性; 2: 甲基化扩增条带阳性对照.

45 s, 共40个循环; 72 °C 延伸10 min. 以已做出甲基化阳性组织作为阳性对照, 未经甲基化酶处理的正常人外周血DNA做非甲基化阳性对照, 阴性对照用灭菌双蒸水代替DNA模板进行PCR. 取5 μ L PCR反应产物, 2 μ L 6 \times Loading buffer, 于2%琼脂糖凝胶上电泳, 自动电泳凝胶成像分析系统扫描分析.

1.2.3 结果判定: (1)免疫组织化学检测: *WWOX* 表达产物定位于胞质, 以胞质出现棕黄色颗粒为阳性细胞. 由两位医师采用双盲法观察每张切片. 判断阳性反应根据以下两个方面: A按切片中显色癌细胞数比例计分: 0分无癌细胞显色; 1分显色癌细胞占癌细胞总数<25%; 2分显色细胞超过切片中癌细胞总数的25%但<50%; 3分显色细胞超过切片中细胞总数的50%. B按切片中癌细胞显色强度计分: 0分细胞无显色; 1分呈浅黄色(弱染色); 2分呈棕黄色(中等染色); 3分呈棕褐色(强染色). A+B>3分记为阳性, \leq 3分记为阴性; (2)甲基化特异性产物扩增产物存在为甲基化阳性. 反之, 其不存在且特异性扩增产物非甲基化为阴性则判定为甲基化阴性.

统计学处理 采用SPSS11.0统计学 χ^2 检验, 相关性分析采用Spearman法, $P<0.05$ 为有统计学意义.

2 结果

2.1 *wwox* 基因启动子甲基化状态 肝癌组织及癌旁组织中 *wwox* 基因启动子甲基化检测阳性率分别为41.67%(25/60)和8.33%(5/60)(图1), 两组间差异有统计学意义($P=0.000$). 癌组织中 *wwox* 甲基化阳性率在肝外转移、肿瘤大小、肿瘤分化程度等分组中比较有显著性差异($P<0.05$), 在临床分期、脉管癌栓、术后复发、肿瘤个数、HBsAg、血清AFP等组间差异无统计学意义($P>0.05$, 表1).

2.2 *WWOX* 蛋白表达 *WWOX* 蛋白表达阳性为胞

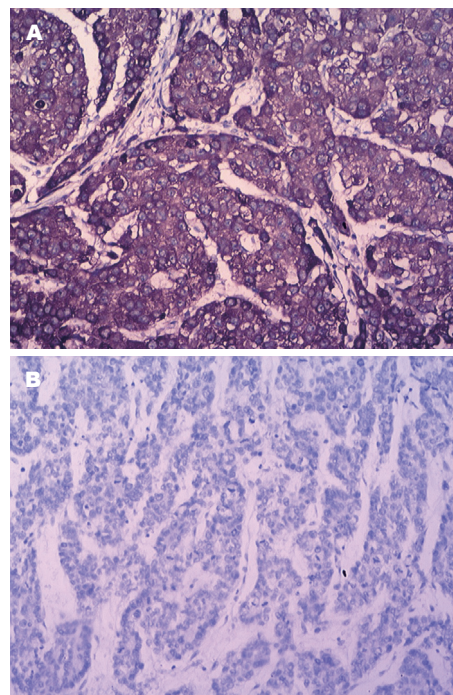


图2 *WWOX*在肝癌组织中的表达($\times 100$). A: 肝癌组织 *WWOX*表达阳性; B: 肝癌组织 *WWOX*表达阴性.

浆出现棕黄色染色(图2). 肝癌组织及癌旁组织中 *WWOX* 蛋白阳性率分别为35.00%(21/60)和癌旁70.00%(42/60), 两组间差异有统计学意义($P=0.000$). *WWOX* 蛋白表达阳性在临床分期、肿瘤直径、肿瘤细胞分化等分组间比较有显著性差异($P<0.05$); 在脉管癌栓、术后复发、肝外转移、肿瘤个数、HBsAg及血清AFP值等分组中比较没有显著性差异($P>0.05$, 表1).

2.3 *wwox* 基因启动子甲基化状态与蛋白表达的关系 39例蛋白表达阴性的标本中有22例启动子区甲基化阳性(56.41%), 25例甲基化阳性标本中有22例蛋白表达阴性(88.00%). 经Spearman相关性分析, 启动子甲基化与蛋白表达呈显著负相关($\gamma=-0.408$, $P=0.001$, 表2).

3 讨论

wwox 基因是2000年由Bednarek等^[2]应用鸟枪基因测序技术结合对感兴趣区域对应的转录子进行分离并分析的方法鉴定出的一个新基因. *wwox* 基因位于染色体16q23.3-24.1区域并跨越了整个常见染色体脆性部位FRA16D. *WWOX* 的氨基末端有两个WW结构域, WW功能域主要与蛋白之间相互作用有关, 与 *WWOX* 作用有关的蛋白如P53^[3]、P73^[4]、ERBB4^[5]、C-Jun^[6]等均作为信号转导途径的关键点, 说明 *WWOX* 在抑制转录、细胞生长和诱导凋亡等信号转导途径中

表 1 $wwox$ 基因启动子甲基化状态和蛋白表达情况与肝癌临床病理特征的关系

临床参数	<i>n</i>	$wwox$ 启动子区甲基化	χ^2 值	<i>P</i> 值	WWOX蛋白表达阳性	χ^2 值	<i>P</i> 值
临床分期							
I – II 期	43	15	2.873	0.09	19	5.629	0.018
III 期	17	10			2		
血管癌栓							
有	24	13	2.571	0.109	5	3.529	0.06
无	36	12			16		
术后复发							
有	25	14	3.623	0.057	7	0.923	0.337
无	35	11			14		
肝外转移							
有	10	8	7.255	0.007	1	3.296	0.069
无	50	17			20		
肿瘤直径 (cm)							
≥5	32	18	6.000	0.014	7	5.192	0.023
<5	28	7			14		
肿瘤个数							
1	41	16	0.372	0.542	13	0.617	0.432
≥2	19	9			8		
血清AFP (μg/L)							
≥400	37	17	0.727	0.394	11	1.178	0.278
<400	23	8			10		
HBsAg							
阳性	39	18	0.923	0.337	11	2.261	0.133
阴性	21	7			10		
肿瘤细胞分化							
I – II 级	26	6	6.524	0.011	15	10.385	0.001
III – IV 级	34	19			6		

■ 创新盘点

国内外关于肝细胞癌组织中 $wwox$ 启动子区甲基化状态及蛋白表达情况的报道较少. 本文通过甲基化特异性PCR(MSP)方法及免疫组织化学(IHC)法分别检测60例肝细胞性肝癌组织和癌旁组织中 $wwox$ 基因启动子甲基化状态和蛋白表达水平, 分析探讨 $wwox$ 基因启动子甲基化及蛋白表达与肝细胞性肝癌的临床病理参数关系.

表 2 肝癌组织中 $wwox$ 基因启动子甲基化状态和蛋白表达的关系 (*n*)

WWOX蛋白表达	$wwox$ 启动子区甲基化		合计
	阴性	阳性	
阴性	17	22	39
阳性	18	3	21
合计	35	25	60

有重要作用. 研究显示, $wwox$ 和 $thit$ 基因在许多肿瘤中表达量减低或缺失, 提示在肿瘤形成中, $wwox$ 与 $thit$ 基因的作用相似, 参与了肿瘤的发生与进展^[7].

CpG岛的高甲基化是肿瘤中普遍现象, 是除突变和缺失外肿瘤中抑癌基因失活的第3种机制^[8]. Iliopoulos等^[9]通过MSP检测肺鳞癌组织、侵袭性乳腺癌、膀胱癌组织及对应的癌旁组织, 发现WWOX在肿瘤中表达减少和DNA甲基化有关. Wang等^[10]研究结果显示在20例乳腺癌组织中WWOX甲基化率为55%, 而对应的癌旁组

织未检测出甲基化, 而且WWOX发生CpG岛甲基化的mRNA及蛋白表达显著低于非甲基化的mRNA及蛋白表达. Gao等^[11]研究食管鳞状细胞癌发现 $wwox$ 启动子及外显子1(exon1)超甲基化在发育不良的上皮中表达, 且在食管鳞状细胞癌中WWOX的甲基化频率显著高于相应的癌旁组织, 并且与具有上消化道癌家族史密切相关. 在我们的研究中, 用MSP法检测出肝癌组织 $wwox$ 启动子区甲基化阳性率为41.67%(25/60), 与国外的研究结果类似, 同时我们检测癌组织及癌旁组织中甲基化阳性率存在显著性差异,

■应用要点

研究发现肝细胞癌组织及癌旁组织中 *wwox* 基因启动子甲基化状态及 WWOX 蛋白表达在癌和癌旁组织中有显著差异; *wwox* 基因启动子甲基化与肝外转移、肿瘤直径、肿瘤细胞分化密切相关; WWOX 蛋白表达与临床分期、肿瘤直径、肿瘤细胞分化密切相关。 *wwox* 基因启动子甲基化与蛋白表达呈显著负相关, 说明肝癌中启动子区甲基化是 *wwox* 基因失活的重要机制, 针对性的检测其甲基化状态, 采取相应的基因靶向治疗, 将为肝癌的检测和治疗提供新的途径。

提示其甲基化可能参与了肝癌的发生过程。Yan 等^[12]用 MSP 法检测 *wwox* 基因启动子区域的甲基化状态显示 50 例胃癌手术标本中 35 例存在启动子区域甲基化, 并进一步通过对幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) 感染的胃癌细胞系的研究发现 *H. pylori* 感染与 *wwox* 基因甲基化有密切关系。而 HBsAg 是引起肝细胞癌的重要危险因素之一, 其引发的炎症反应与癌变之间的关系一直是研究的热点。我们对 HBsAg 阳性及阴性的肝癌组织进行了对比分析, 但未发现 HBsAg 感染与 *wwox* 基因甲基化有密切关系。

Donati 等^[13]检测到 85% 非小细胞性肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 中 WWOX 蛋白表达减少或缺失, 并且 WWOX 表达缺失与肺癌的侵袭性、病理分级密切相关, 证实 WWOX 对 NSCLC 的肿瘤形成过程及肿瘤预后有重要意义。Kuroki 等^[14]使用免疫组织化学方法检测 81 例原发性胃腺癌, 证实 65% 的腺癌组织中 WWOX 表达减少, 并发现其表达与肿瘤的组织学分级密切相关。Lan 等^[15]用免疫组织化学法检测 112 例卵巢癌组织中 WWOX 表达情况, 有 32 例表达缺失, WWOX 的表达缺失与 ER、PR 阴性、FIGO 分期和淋巴结转移密切相关。而我们的研究显示 *wwox* 启动子区甲基化与肝外转移、肿瘤直径、肿瘤细胞分化有显著相关, 其蛋白表达显示亦与临床分期、肿瘤直径、肿瘤细胞分化有显著相关, 提示其可能在肝癌的进展中也有重要作用。 *wwox* 启动子区甲基化是否在不同肿瘤中作用的机制重点不同, 是在肿瘤的发生或在肿瘤的发展或在两者都起着重要作用有待试验研究进一步证明。

此外, 我们的研究发现, *wwox* 启动子区甲基化与其蛋白表达呈显著负相关, 说明在肝癌中启动子区甲基化是 *wwox* 基因失活的重要机制之一。值得一提的是我们发现部分甲基化阳性的病例中也检测到了非甲基化特异性产物的扩增, 这可能是癌组织中混杂了非甲基化的肝细胞或炎症细胞; 另一种可能是 2 个等位基因的半甲基化状态 (hemimethylation)。此外, 部分甲基化阳性病例免疫组织化学结果也呈阳性, 可能是因为基因转录的表达抑制依赖 CpG 岛甲基化的积累剂量。有报道指出 CpG 岛甲基化只有达到一定比例 (>60%) 时才足以完全抑制基因表达, 而低比例的甲基化只能降低基因的转录表达^[16]。

总之, 肝癌发病机制的是一个复杂的过程, DNA 甲基化是其中一个重要的环节。 *wwox* 基因

在抑制肿瘤形成中起着重要作用, 肝癌中启动子区甲基化是 *wwox* 基因失活的重要机制, 针对性的检测其甲基化状态, 采取相应的基因靶向治疗, 将为肝癌的检测和治疗提供新的途径。

4 参考文献

- Robertson KD, Wolffe AP. DNA methylation in health and disease. *Nat Rev Genet* 2000; 1: 11-19
- Bednarek AK, Laflin KJ, Daniel RL, Liao Q, Hawkins KA, Aldaz CM. WWOX, a novel WW domain-containing protein mapping to human chromosome 16q23.3-24.1, a region frequently affected in breast cancer. *Cancer Res* 2000; 60: 2140-2145
- Chang NS, Hsu LJ, Lin YS, Lai FJ, Sheu HM. WW domain-containing oxidoreductase: a candidate tumor suppressor. *Trends Mol Med* 2007; 13: 12-22
- Aqeilan RI, Pekarsky Y, Herrero JJ, Palamarchuk A, Letofsky J, Druck T, Trapasso F, Han SY, Melino G, Huebner K, Croce CM. Functional association between Wwox tumor suppressor protein and p73, a p53 homolog. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 4401-4406
- Määttä JA, Sundvall M, Junttila TT, Peri L, Laine VJ, Isola J, Egeblad M, Elenius K. Proteolytic cleavage and phosphorylation of a tumor-associated ErbB4 isoform promote ligand-independent survival and cancer cell growth. *Mol Biol Cell* 2006; 17: 67-79
- Gaudio E, Palamarchuk A, Palumbo T, Trapasso F, Pekarsky Y, Croce CM, Aqeilan RI. Physical association with WWOX suppresses c-Jun transcriptional activity. *Cancer Res* 2006; 66: 11585-11589
- O'Keefe LV, Richards RI. Common chromosomal fragile sites and cancer: focus on FRA16D. *Cancer Lett* 2006; 232: 37-47
- Olatunji BO, Sawchuk CN, Lee TC, Lohr JM, Tolin DF. Information processing biases in spider phobia: application of the Stroop and "White Noise" Paradigm. *J Behav Ther Exp Psychiatry* 2008; 39: 187-200
- Iliopoulos D, Guler G, Han SY, Johnston D, Druck T, McCorkell KA, Palazzo J, McCue PA, Baffa R, Huebner K. Fragile genes as biomarkers: epigenetic control of WWOX and FHIT in lung, breast and bladder cancer. *Oncogene* 2005; 24: 1625-1633
- Wang X, Chao L, Jin G, Ma G, Zang Y, Sun J. Association between CpG island methylation of the WWOX gene and its expression in breast cancers. *Tumour Biol* 2009; 30: 8-14
- Guo W, Wang G, Dong Y, Guo Y, Kuang G, Dong Z. Decreased expression of WWOX in the development of esophageal squamous cell carcinoma. *Mol Carcinog* 2011 Dec 27. [Epub ahead of print]
- Yan J, Zhang M, Zhang J, Chen X, Zhang X. Helicobacter pylori infection promotes methylation of WWOX gene in human gastric cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 408: 99-102
- Donati V, Fontanini G, Dell'Omodarme M, Prati MC, Nuti S, Lucchi M, Mussi A, Fabbri M, Basolo F, Croce CM, Aqeilan RI. WWOX expression in different histologic types and subtypes of non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 884-891
- Kuroki T, Tajima Y, Furui J, Kanematsu T. Common fragile genes and digestive tract cancers. *Surg Today* 2006; 36: 1-5
- Lan C, Chenggang W, Yulan B, Xiaohui D, Junhui Z, Xiao W. Aberrant expression of WWOX protein in epithelial ovarian cancer: a clinicopathologic and

- immunohistochemical study. *Int J Gynecol Pathol* 2012; 31: 125-132
- 16 Belinsky SA, Nikula KJ, Palmisano WA, Michels R, Saccomanno G, Gabrielson E, Baylin SB, Herman

JG. Aberrant methylation of p16(INK4a) is an early event in lung cancer and a potential biomarker for early diagnosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 11891-11896

■同行评价

本文具有一定的创新性, 为肝癌的发生、进展及治疗提供了可靠理论依据。

编辑 田滢 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

百世登出版集团推出 12 种开放获取生物医学期刊全部被 PubMed 和 PMC 收录

本刊讯 由美国国立医学图书馆(U.S. National Library of Medicine, 简称NLM), 美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, 简称NCBI)和美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, 简称NIH), 共同于2010-2011年, 收录了百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Co., Limited, 简称BPG)出版的12种开放获取生物医学期刊。12种期刊被NLM, NCBI和NIH共同主办的PubMed Central和PubMed平台, 公开面向全球发布, 读者免费阅读和下载全文。12种期刊被收录的名称及网址如下:

- 1 World Journal of Biological Chemistry (世界生物化学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1495/>
- 2 World Journal of Cardiology (世界心脏病学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1320/>
- 3 World Journal of Clinical Oncology (世界临床肿瘤学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1494/>
- 4 World Journal of Diabetes (世界糖尿病杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1498/>
- 5 World Journal of Gastrointestinal Endoscopy (世界胃肠内镜杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1323/>
- 6 World Journal of Gastrointestinal Oncology (世界胃肠肿瘤学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1324/>
- 7 World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology (世界胃肠病理生理学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1496/>
- 8 World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics (世界胃肠药理学与治疗杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1497/>
- 9 World Journal of Gastrointestinal Surgery (世界胃肠外科杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1325/>
- 10 World Journal of Hepatology (世界肝病学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1321/>
- 11 World Journal of Radiology (世界放射学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1322/>
- 12 World Journal of Stem Cells (世界干细胞杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1470/>

(总编辑: 马连生2011-05-30)