

原发性肝癌染色体 8p、16q 遗传变异的研究 *

周后龙¹ 巩 丽¹ 李艳红³ 刘小艳² 兰 淼² 张贺龙¹ 张 伟^{2Δ} 冯英明^{1Δ}

(1 第四军医大学唐都医院肿瘤科 陕西 西安 710038 2 第四军医大学唐都医院病理科 陕西 西安 710038 ;

3 第四军医大学唐都医院妇产科 陕西 西安 710038)

摘要 目的 :分析人肝癌(HCC)组织中染色体 8p、16q 部分基因及染色体片段的遗传变异及与临床病理关系 ,初步筛选 HCC 相关的抑癌基因。**方法 :**应用聚合酶链反应 - 变性聚丙烯酰胺凝胶 - 银染法分析 45 例 HCC 组织标本中染色体 8p 和 16q 的杂合性丢失 (LOH) 及微卫星不稳定性 (MSI)。**结果 :**发生 LOH 的总频率为 68.89%(31/45), 其中 D16S511 位点的发生 LOH 率最高为 53.33%(24/45) 其次是 D8S261(39.02% ,16/41)和 D8S499(34.88% ,15/43)。MSI 出现的总频率为 11.11%(5/45) ,出现在三个微卫星位点(D8S261、D8S499 及 D16S511)上。**结论 :**染色体 16q23、8p22-21.3 及 8p12 区域的 LOH 发生频率高 ,其可能存在与 HCC 发生发展相关的新的抑癌基因 ,特定位点的遗传变异可能与 HBV 感染、临床病理恶性程度等预后因素相关。

关键词 遗传变异 ;杂合性丢失 ;微卫星不稳定 ;肝细胞肝癌 ;染色体

中图分类号 R735.7 **文献标识码** A **文章编号** :1673-6273(2011)05-844-06

Study on Genetic Alterations in Chromosomes 8p and 16q
in Primary Hepatocellular Carcinoma*ZHOU Hou-long¹, GONG Li¹, LI Yan-hong³, LIU Xiao-yan², LAN Miao², ZHANG He-long¹, ZHANG Wei^{2Δ}, FENG Ying-ming^{1Δ}

(1 Department of Oncology ,Department of Pathology ,Tangdu Hospital ,Fourth Military Medical University ,Xi'an 710038 ,China ;

2 Department of Pathology ,Tangdu Hospital ,Fourth Military Medical University ,Xi'an 710038 ,China 3 Department of

Obstetrics and Gynecology ,Tangdu Hospital ,Fourth Military Medical University ,Xi'an 710038 ,China)

ABSTRACT Objective: To investigate the genetical alterations on chromosomes 8p and 16q in primary hepatocellular carcinoma (HCC), investigate the relationship between the genetical alterations and clinicopathologic features and try to screened some HCC-related tumor suppressor genes. **Methods:** Loss of heterozygosity (LOH) and microsatellite instability (MSI) on chromosome 8p and 16q in samples from thirty-five patients with HCC were examined by PCR-denaturing PAGE-silver staining. **Results:** The overall LOH frequency was 68.89%(31/45) at least one locus of 8 loci on the chromosomes. The frequency of Loci were 53.33% (31/45),39.02% (16/41)and34.88%(15/43)for D16S511, D8S261 and D8S499, respectively. The frequency of MSI was 11.11%(5/45) and the MSI was distributed on the three microsatellite markers (D16S511、D8S261 and D8S499). **Conclusion:** There may be a new putative tumor suppressor gene related to the occurrence and development on specific chromosome region 16q23, 8p22-21.3 or 8p12 with high-frequent LOH. The genetic alterations on some specific loci were associated with prognosis factors as the positive HBsAg, differentiated degrees of HCC.

Key words Genetic alterations ;Loss of heterozygosity ;Microsatellite instability ;Human hepatocellular carcinoma ;Chromosome

Chinese Library Classification R735.7 **Document code** A

Article ID :1673-6273(2011)05-844-06

前言

目前 肝癌仍是发展中国家中最主要的恶性肿瘤之一 ,其发病率及死亡率呈逐年上升之势。病因学调查研究表明 HBV 感染、黄曲霉菌和化学致癌剂等外在环境危险因子在肝癌发生发展过程发挥了一定作用 ,但其内在的分子机理作用仍不明确^[1]。近年来肿瘤分子遗传学研究表明癌发生是有多个因素参与 ,是

多阶段、多步骤逐渐累积的结果 ,其中原癌基因的激活和抑癌基因的失活起了相当关键的作用 ,因此抑癌基因作用机制的研究越来越受到重视 ,而染色体杂合性丢失、微卫星不稳定性等遗传变异正是引起抑癌基因失活的可能机制^[2,3]。

最近多个研究中心提示在肝癌组织中发现染色体 1p ,1q ,4q ,6q ,8p ,10q ,13q ,14q ,16q ,17p 和 22q 等多个区域存在杂合子高频丢失^[4]。为进一步弄清染色体遗传变异在癌发生发展过程

* 基金项目 国家自然科学基金资助项目 No.30800147 No.30672013

作者简介 :周后龙(1975-) 男 ,硕士研究生 ,主治医师 ,主要研究方向 :肝癌的基础研究及临床诊治 ;

电话 :15191439689; E-mail:dragonsay@tom.com.

巩丽(1976-) 女 ,硕士 ,助教 ,主要研究方向 :肝癌的基础研究及病理诊断;e-mail:glzwd16@ fmmu.edu.cn

Δ通讯作者 冯英明 教授 ,主任医师(Tel:029-84774431;E-mail:fengym@fmmu.edu.cn) ;

Δ张伟 教授 ,主任医师 Tel:029-84777467; E-mail: w-zhang66@yohoo.com)

(收稿日期 2010-12-23 接受日期 2011-01-20)

中的作用机制 本研究在前期研究的基础上选取在原发性肝癌遗传变异高频发生的 8、16 号染色体片段的微卫星位点进行 LOH 和 MSI 分析 ,以期为 HCC 的早期诊断、分子分型及预后预警提供可能的新分子标记。

1 材料与方法

1.1 肿瘤组织标本

本研究所选 45 例肝癌及癌旁组织取自第四军医大学唐都医院病理科 2007 年 1 月 -2010 年 6 月存档组织 ,标本均经组织学检查 ,经两位病理医生确诊。肝癌组织标本的患者年龄 28-76 岁 ,平均 50 岁 ;其中男 29 例 ,女 16 例 ;血清甲胎蛋白 (AFP)≥ 20 μg/L 的 29 例 ,HBsAg 阳性 32 例 ,按照 WHO(2000 年)分级 ,Edmondson - 级 12 例 , - 级 33 例 ,肝内转移 28

例 ,伴有肝硬化者 22 例。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 每例标本选取 3 mm× 3 mm× 3 mm 大小组织块 ,剪碎、匀浆 ,TE 裂解、蛋白酶 K 消化 48 ℃ 孵育 16 小时 ,蛋白酶 K 和 10 μl 30%SDS ,48 ℃ 孵育过夜 ,待消化完全后 ,酚 / 氯仿抽提 ,梯度酒精冲洗 ,加 TA 缓冲液。紫外分光光度计测 A260/A280 ,合格者 -20 ℃ 保存待用。

1.2.2 微卫星位点选取 选取染色体 8、16 上微卫星位点分别 5 和 3 个 (依据 GenBank 数据库 :Accession:D8S261:Z16628; D8S499:L18081;D8S1125:G08665;D8S1810:Z51480;D8S1827: Z50970;D8S402:Z16451;D16S422:Z17135; D16S511:Z24321) ,各微卫星点标记、定位等信息见表 1 所示 ,引物由上海生工生物公司合成。

表 1 HCC 组织染色体 DNA 微卫星位点相关参数
Table 1 Characteristics of microsatellite markers on some chromosomes in HCC

Locus	Location	Primer(5'-3')	Annealing(℃)	Allelic size(bp)
D8S261	8p22-21.3	TGCCACTGTCTTGAAAATCC TATGGCCCAGCAATGTGTAT	50	128-144
D8S499	8p12	GGGTGACAGAGCAGAATTC CCTTGCCATTTTCACACGTG	55	155
D8S1810	8p12	ATGATGCTGAGTCCCCA CAGAGGGCTGATTTTATGC	50	155-207
D8S1827	8p22	GACAGAATCATGTGGCCTTT TTTTGTAAAATGTAAAATTGGCTTT	50	142-164
D8S1125	8p12	CCCCCTAAAATTTAGCTCCA TATGCCTAGCCCTCCTTTCT	50	228-241
D16S511	16q23	CCCGGAGCAAGTTCA CAGCCCAAAGCCAGATTA	50	182-222
D16S402	16q23.3	TTTTGTAACCATGTACCCCC ATTTATAGGGCCATGACCAG	50	161-187
D16S422	16q23.3	CAGTGTAACCTGGGGGC CTTTCGATTAGTTTAGCAGAATGAG	55	188-212

1.2.3 标本组织微卫星 DNA-PCR 扩增 以所提 DNA 为模板及上述合成引物 ,由 PCR 仪(购自美国 BIO-RAD 公司)进行扩增 ,反应体系及条件 :总体积 50 μl 中加 DNA 模板 1 μl ,RCR mix Kit 中 10× PCR buffer 5 μl+dNTP Mixture 1.25 μl+TaqDNA 聚合酶 0.25 μl (购自大连 TaKaRa 公司) ,上下游引物 20 pmol/L 各 1 μl (购自上海生工公司) ,按以上比例去离子水加至 50 μl ,预热 94 ℃ 5 min ,变性 94 ℃ 40 sec ,退火 50 或 55 ℃ 50 sec ,延长 72 ℃ 1min ,共 35 个循环后 72 ℃ 延长 5 min ,4 ℃ 结束反应。
1.2.4 电泳检测 PCR 产物进行 2%琼脂糖凝胶电泳 (AGE)检测 ,80 V-100 V 电压 ,电泳 60 min 左右 ,紫外灯光凝胶分析系统(ultraviolet photometry ,UVP)观察结果 :目的条带弱者则需调整反应条件再次行 PCR ,目的条带清晰者进行 10%变性聚丙烯酰胺凝胶 (2.5 ml 38%丙烯酰胺 /2%双叉丙烯酰胺 +60 μl 10%过硫酸胺 +6 μlTEMED)电泳。取 PCR 产物与 6× Loading Buffer 各 4 μl 混匀 ,点样予提前制备好的凝胶梳孔中 ,接通电源 ,稳压 100 V ,电流>10 mA ,电泳 3.5 h。

1.2.5 银染 电泳结束后 ,从电泳板上剥下凝胶 ,置冲洗皿中 ,10%乙醇 +1 ml 冰醋酸溶液 200 ml 固定 4 min ,1%HNO3 溶液浸泡 5 min ,0.48%AgNO3+1%甲醛 100 ml 溶液染色 45 min ,10%NaCO3 溶液显色 5 min ,显色适当后 10 ml 冰醋酸终止反应。以上步骤予去离子水漂洗两次。光学照相记录数据。
1.2.6 结果判定标准 参照 Tomlinson 等的判断标准 ,当正常组织 DNA 扩增产物凝胶电泳条带有 2 条带以上者判断为杂合性 ,为有意义信息个体 ,若仅有 1 条带判断为纯合性个体 ,为无意义信息个体。肿瘤标本中的一条带减弱 50%以上或消失 ,判断为杂合子丢失(LOH)^[6] ;与正常对照相比 ,肿瘤标本出现额外或位移条带 ,判断为微卫星不稳定(MSI)。假如一个肿瘤 DNA 位点 LOH 缺失率>30% ,则提示有抑癌基因的存在 ,可认为此位点与肿瘤有相关性。对出现 LOH、MSI 阳性结果者均再次重复验证。
1.2.7 统计学分析 本研究采用 SPSS14.0 软件对选取的微卫星位点的遗传变异与临床病理分期关系进行 Chi-square 检验或

Fisher exact probability 检验 ,设定双侧 $P<0.05$ 有统计学差异。

2 结果

2.1 LOH 检测频率

45 例 HCC 组织的 8 个微卫星位点的 LOH 检出频率 (见

表 2)。癌组织中发现至少一个位点发生 LOH 的总频率为 68.89%(31/45), 其中未见在所有位点都出现 LOH 的病例 ,其中在 D16S511 位点发生 LOH 频率最高 ,为 53.33%(24/45) ,依次是 D8S261(39.02% ,16/41)和 D8S499(34.88% ,15/43)位点。

表 2 HCC 组织染色体各微卫星位点 LOH 发生频率
Table 2 The detected frequent of LOH on some specific loci of microsatellite markers in HCC

Locus	Informative cases(n)	LOH(n)	LOH rate(%)
D8S261	41	16	39.02
D8S499	43	15	34.88
D8S1125	26	4	15.38
D8S1810	41	8	19.51
D8S1827	41	4	9.76
D16S402	42	8	19.04
D16S422	33	7	21.21
D16S511	45	24	53.33

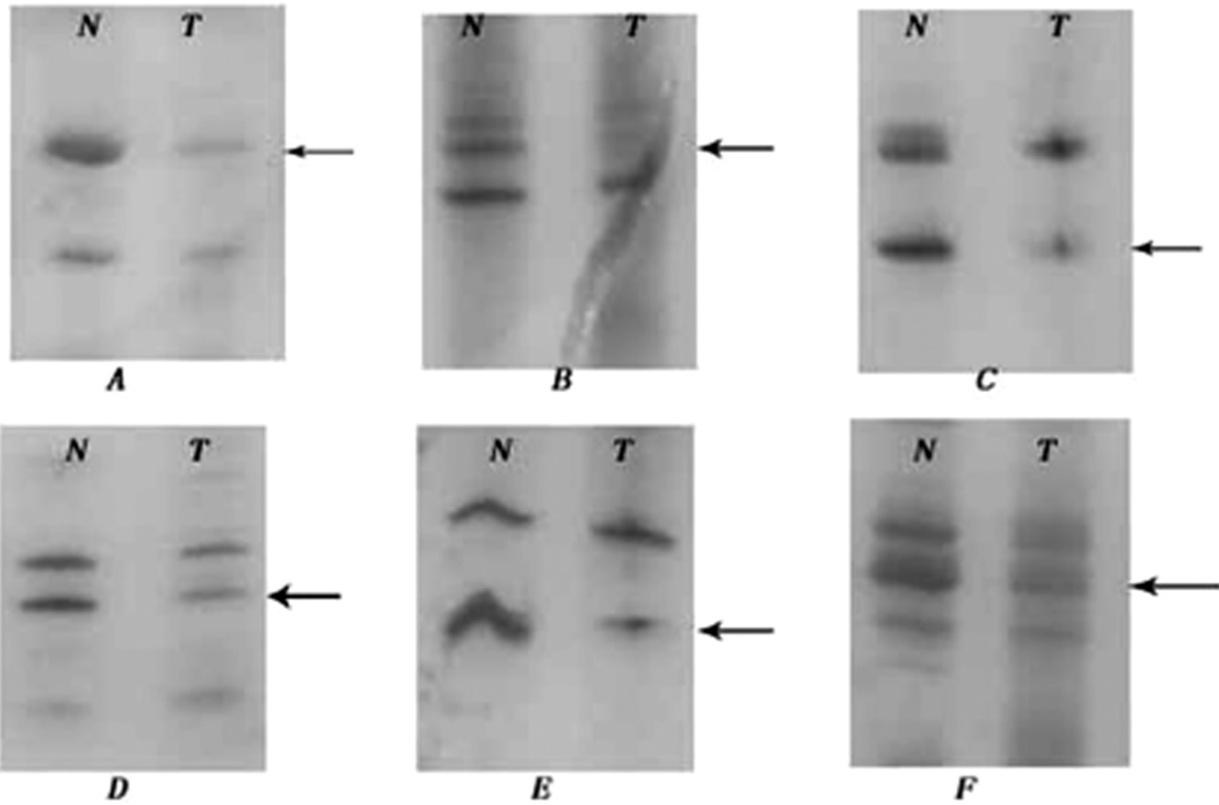


图 1 HCC 组织染色体微卫星位点 LOH 分析结果图示 :N 为癌旁组织 ,T 为肿瘤组织 ,箭头指示为发生减弱或丢失 :A :D8S261 B :D8S499 C :DS1810 D :D16S402 E :D16S422 F :D16S511

Fig 1 LOH on the loci of some specific microsatellite markers in HCC.N:non-tumor live tissue,T:tumor tissue;Arrow:weaken or loss. A :D8S261 B :D8S499 C :DS1810 D :D16S402 E :D16S422 F :D16S511

2.2 LOH 与 HCC 的临床病理特征的关系

HCC 组织染色体微卫星位点 LOH 与临床病理关系参数见表 3。表中数据表明 8 个微卫星位点在病史、HBsAg 感染、血清 AFP、肿瘤大小、分化程度、伴有肝硬化、肝内转移等临床病

理指标中的总 LOH 分布频率无统计学差异 ;但有个别位点存在差异。在 D8S261 位点 ,HBsAg 阳性感染患者 LOH 分布高于阴性者($P<0.028$) ;在 D8S1810 位点 ,伴有肝硬化者的 LOH 分布高于无肝硬化者($P<0.045$) ;在 D16S511 和 D8S499 位点 ,

Edmondson - 级以上患者的 LOH 分布高于 - 级 ,有统计 差异(分别为 $P<0.003$, $P<0.033$)。

表 3 HCC 组织染色体微卫星位点 LOH 与临床病理关系参数
Table 3 clinicopathologic features of LOH in HCC

n		D8S261	D8S499	D8S1125	D8S1810	D8S51827	D16S402	D16S422	D16S511
		n/N* p	n/N p	n/N p	n/N p	n/N p	n/N p	n/N p	n/N p
Gender		0.570	0.295	1.000	0.692	1.000	0.689	0.686	0.338
Male	29	11/26	11/27	3/18	6/27	3/26	6/27	4/21	17/29
Female	16	5/15	4/16	1/8	2/14	1/15	2/15	3/12	7/16
Age		0.222	0.811	1.000	0.436	0.637	0.709	0.676	0.979
<50	21	7/16	7/19	1/7	5/19	2/16	3/18	2/13	11/21
≥ 50	24	9/25	8/24	3/19	3/22	2/25	5/22	5/20	13/24
HBsAg		0.028	1.000	1.000	0.659	1.000	0.662	0.370	0.082
+	32	15/30	11/31	3/18	7/32	3/29	7/33	4/23	13/32
-	13	1/11	4/12	1/8	1/9	1/12	1/9	3/9	9/13
AFP		0.620	0.700	1.000	0.411	0.637	1.000	0.676	0.360
<20	16	7/16	5/16	1/10	4/14	2/16	3/15	2/13	10/16
≥ 20	29	9/25	10/27	3/16	4/27	2/25	5/27	5/20	14/29
Tumor size		0.480	0.127	0.563	0.320	0.559	1.000	0.642	0.147
≤ 3	10	3/10	1/10	2/8	3/8	0/9	2/9	1/9	3/10
>3	35	14/31	14/33	2/18	5/33	4/32	6/33	6/24	21/35
Edmondson grade		0.485	0.033	0.598	1.000	1.000	1.000	0.661	0.003
- grade	12	6/12	1/12	1/12	2/11	1/9	2/11	3/11	2/12
- grade	33	10/29	14/31	3/14	6/30	3/32	6/31	4/22	22/33
cirrhosis		0.444	0.396	0.593	0.045	1.000	1.000	0.398	0.449
-	23	7/21	6/21	1/13	1/20	2/20	4/20	2/16	11/23
+	22	9/20	9/22	3/13	7/21	2/21	4/22	5/17	13/22
Intrahepatic metastasis		0.923	0.543	0.625	0.692	0.615	1.000	0.680	0.203
-	17	6/15	5/17	2/10	3/13	2/15	3/15	3/15	7/17
+	28	10/26	10/26	2/16	5/28	2/26	5/26	4/28	17/28

注 : * LOH/ 信息例数 ; **AFP 单位 lg/l
Notes: * LOH/ Informative cases; ** Unit AFP lg/l

2.3 MSI 检测频率

45 例癌组织中发现有 MSI 的频率为 11.11%(5/45)，发生位点分布在 D8S261、D8S499 及 D16S511。见图 2。

3 讨论

肿瘤细胞遗传学研究认为癌是一系列体细胞突变的结果，在某些情况有下具有遗传背景，发现癌的特征性标记对认识其内在的发生演化、预后预警及诊治指导具有非常的现实意义。近年来的研究表明肿瘤细胞基因组的变异在不同染色体上的定位已不再完全依赖于染色体组型分型，随着人类 DNA 序列图谱的构建，可能通过 DNA 分子的分析来识别特定基因组区域丢失及扩增，而从可变数目串联重复序列基础上发展起来的

DNA 序列微卫星序列标记成为研究肿瘤分子机制的热点^[7]。微卫星 DNA 序列是一种最常见的重复序列之一，在人类基因组中有很高的比例，一般具有 2-6bp，形象上称为“结巴”基因，其易于发生拷贝数变异和序列交换，重复拷贝数的减少常可导致致病性缺失。这种重得序列拷贝数在家族成员中表现相对稳定，具有丰富的多态性、高度杂合性、重组率等优点。因微卫星 DNA 序列在染色体上有明确的定位，通过比较其与正常组织重复拷贝数，可以发现可能的遗传变异，发现与癌发生过程中起关键作用的候选抑癌基因密切相关^[7]。有研究证实这种遗传变异正是肿瘤发生的常见表现，以染色体水平的等位基因杂合性丢失(LOH)及微卫星不稳定性(MSI)为代表形式，LOH 即位点上父系或母系上两个等位基因中的一个出现丢失，由此可能

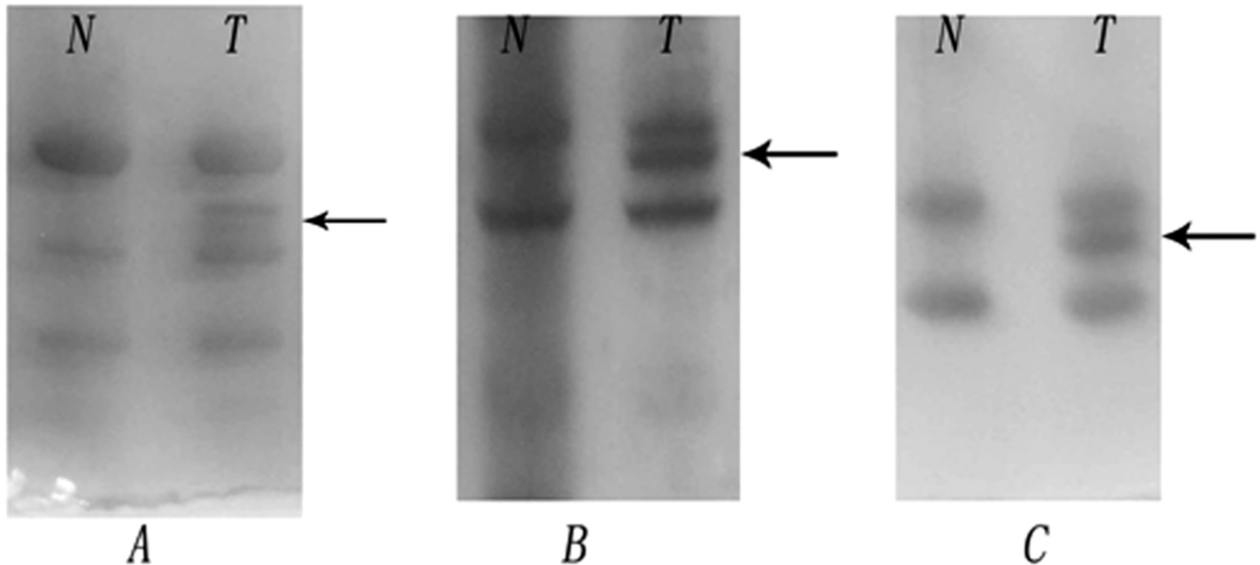


图2 HCC 组织染色体微卫星不稳定分析结果 T 为肿瘤组织 N 为癌旁组织 箭头指示为发生 MSI A D8S261 B D8S499 C D16S511

Figure 2 MSI on the loci of some specific microsatellite markers in HCC. N: non-tumor live tissue, T: tumor tissue; Arrow: MSI of some tumor. A D8S261, B D8S499, C D16S511.

导致处于该部位的基因或其附近部的 DNA 多态性也随之失位,导致抑癌基因的失活^[3,5,8]。本课题依上述原理,利用染色体上的高度多态性微卫星标记,通过同一个体的肿瘤组织与正常对照组织特定染色体区域比较,检测标志性电泳条带的 LOH 频率,初步筛选出 HCC 相关抑癌基因,以期发现可能的 HCC 的早期诊断、分子分型及预后预警提供可能的新的分子标记物。

本研究对 45 例原发性肝癌染色体 8p、16q 片段的 DNA 微卫星的遗传标记对染色体 LOH 进行分析,癌组织中出现至少一个位点发生 LOH 的总频率为 68.89%(31/45),其中未见在所有位点都出现 LOH 的病例;16 号染色体上的长臂区域的 D16S511 位点出现高频 LOH(53.33%,16/41),其次 D16S422 为(21.21%,7/33),8 号染色体短臂区域的 D8S261、D8S499 位点也出现高频 LOH(39.02%,16/41,34.88%,15/43)。表明在这些区域可能存在与 HCC 发生发展相关的潜在抑癌基因。尽管本研究所选其它微卫星位点未见有高频 LOH 的出现,但并不能排除在其它位点区域存在高频 LOH 的可能性。Joon C 等报道通过比较基因组杂交(CGH)方法分析 HCC 组织染色体变异,发现在 8p 与 16q 上高频发生 LOH,分别为 77%与 50%,提示这些区域存在与 HCC 发生发展相关的可能的抑癌基因^[8-11]。另有研究也报道在染色体 8p 和 16q 存在微卫星位点 LOH 的高频丢失,可能存在新的抑癌基因^[10-17]。本研究结果提示在染色体 16q23、8p12 与 8p22-21.3 区域可筛选新的抑癌基因。

结合病人的临床病理资料分析发现,肿瘤染色体遗传变异总体与病史、病毒感染、肿瘤大小、分化程度、伴有肝硬化、肝内转移等指标无统计学意义,仅提示有个别位点存在差异。在 D8S261 位点,感染 HBsV 阳性患者 LOH 偏高;D8S1810 位点,有无肝硬化患者的 LOH 有差异,以上提示在染色体 8p 的相关位点区域的基因存在与癌发生早期事件相关;在 D16S511 和

D8S499 位点,Edmondson 级以上患者的 LOH 有差异,表明分别在染色体 16q23、8p12 的相关位点区域存在与癌恶性进展程度相关的抑癌基因。Matthewt 等报道在 16q24 区域(D16S516)存在与肿瘤大小相关的基因,表明与 HCC 较差的转归有关^[5]。以上结果表明肝癌发生、发展与转归等生物行为可能是多个相关抑癌基因的结果,基因单个位点的遗传改变常难直接引起某一表现型发生根本的改变。

MSI 的发生肿瘤染色体遗传突变另一现象。本研究发现微卫星不稳定性(MSI)发生频率为 11.11%,发生频率较低,且正好出现在 LOH 较高的三个位点上(D8S261、D8S499 及 D16S511),但因其频率低无统计学意义,未见有明显规律。同时 Matthew 等的研究也发现在染色体 16q 区域发生 MSI 频率较低,但 Salvucci 等的报道在 HBsVAg 阳性的 HCC 中微卫星遗传变异较高(86%,18/21),发生 MSI 是其主要遗传变异^[18]。以上提示 MSI 在染色体遗传变异发生机制仍有待进一步研究。

本研究对 HCC 组织中有遗传变异的部分染色体片段进行初步分析后,发现 16q23、8p12 与 8p22-21.3 区域可能存在与 HCC 密切相关的新的抑癌基因,同时特定位点的遗传变异可能与 HBV 感染、临床病理恶性程度等预后因素相关。鉴于本实验标本含量所限后续工作还需继续扩大肿瘤样本含量,进一步对染色体区域上相关抑癌基因图谱进行精确定位,克隆出 HCC 相关抑癌基因并对其分子信号通路、功能表达等机制方面进行更深入探讨。

参考文献(References)

- [1] Bosch FX, Ribes J, Diaz M, et al. Primary liver cancer: worldwide incidence and trends[J]. Gastroenterology, 2004, 127:S15-S16
- [2] Sasco AJ. Cancer and globalization [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2008, 62:110-121

- [3] Sun HK, Chun HI, Kye CK, et al. Microsatellite alterations in hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma[J].Cancer Genetics and Cytogenetics,2003,146:139-144
- [4] Tomoe L, Hiroshi H, Meng CX, et al. Frequent loss of heterozygosity in two distinct regions,8p23.1 and 8p22,in hepatocellular carcinoma [J].World J Gastroenterology, 2007,13:1090-1097
- [5] Matthew K.S.HO, Joyce M.F.Lee, Chris K.L.Chan, et al.Allelic alterations in Nontumorous Liver Tissues and Corresponding Hepatiocellular Carcinomas From Chinese Patients [J].Human Pathology,2003,34:699-705
- [6] Tomlinson IP, Lambros MB, Roylance RR, et al. Loss of heterozygosity analysis:practically and conceptually flawed[J].Gene Chromosomes Cancer,2002,34:349-353
- [7] 斯特罗恩(英)等著;孙开来主译.人类分子遗传学(原书第三版)[M].北京 科学出版社 2007 212-412
Tom Strachan, Andrew P. Read. Human Molecular Genetics,3 rd,ed [M].Bei Jing: Science Press,2007 212-412
- [8] Tomoe L, Hiroshi H. Identification of minimal regions of deletion at 8p23.1-22associated with metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. Liver International, 2007, 27:782-790
- [9] Joon C, Nam-Gyun K, Zhe P, et al. Assessment of chromosomal losses and gains in hepatocellular carcinoma [J].Cancer Letters,2002,182: 193-202
- [10] Cong WM, Zhang SH, Xian ZH, et al. Study on loss of heterozygosity and microsatellite instability in hepatocellular carcinoma [J]. Chinese Journal of pathology,2005,34:71-74
- [11] Chan KL, Joyce MFL, Guan XY, et al.High-Density Allelotyping of Chromosome 8p in Hepatiocellular Carcinoma and Clinicopathologic Correlation [J].Cancer,2002,94:3179-3185
- [12] Yutaka M, Shogo Y, Shingo T, et al. Allelic imbalances and homozygous deletion on 8p23.2 for stepwise progression of hepatocarcinoma genesis[J]. Hepatology, 2009, 49:513-522
- [13] Zhang SH, Cong WM, Xian ZH, et al. Clinicopathological significance of heterozygosity and microsatellite instability in hepatocellular carcinoma in China[J].World J Gastroenterol,2005,11:3034-3039
- [14] Cengiz Y, Patricia L, Christelle V, et al.Identification of Homozygous deletions at chromosome 16q23 in Aflatoxin B1 exposed hepatocellular carcinoma[J]. Oncogene, 2001,20:5232-5238
- [15] Wai MT, Hu L, Zhang MY, et al. Characterization of rearrangements involving 4q,13q and 16q in hepatocellular carcinoma cell lines using region-specific multiplex-FISH probes [J].Cancer Letters,2007,250: 92-99
- [16] Tricia ED, Maja HO, Melissa JF, et al. Prognostic and predictive value of 16p21.1 and 16q22.1 copy number changes in human breast cancer[J]. Cancer Genetics and Cytogenetics, 2010,198(4):52-61
- [17] 邵建永,李晓明,刘宗石,等.原发性肝癌患者 17 号和 16 号染色体等位基因杂合性丢失的研究 [J]. 中华医学杂志 ,1999 ,79(6): 428-430
SHAO Jian-yong, LI Xiao-ming, LIU Zong-shi, et al. Loss of heterozygosity on chromosomes 17 and 16 in primary hepatocellular carcinomas[J]. Natl Med J china,1999,79:428-430
- [18] Salvucci M, Lemoine A, Azoulay K, et al. Frequent microsatellite instability in post-hepatitis B viral cirrhosis [J]. Oncogene, 1996,13: 2681-2685

(上接第856页)

- [8] Zhang H, Li C, Baci PC.Expression of integrins and MMPs during alkaline burn induced corneal angiogenesis [J].Invest Ophthalmol VisSci,2002, 43: 955- 962
- [9] 朱可建,周伟芳,郑敏. $1\alpha, 25$ -二羟维生素 D3 及其类似物对单核细胞衍生的树突状细胞吞噬功能的调节作用 [J]. 药学报, 2002 ,37(2) 94-97
Zhu Ke-jian, Zhou Wei-fang, Zheng Min. $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin D₃ and its analogues modulate the phagocytosis of human monocyte-derived dendritic cells [J].Acta Pharmaceutica Sinica, 2002 ,37(2):94-97
- [10] 章爱斌,郑树森.骨化三醇诱导锌指蛋白 A20 抑制下游基

因表达延长肝移植大鼠生存期 [J]. 中华普通外科杂志, 2006 ,21(6) :408-410

- Zhang Ai-bin, Zheng Shu-seng. Calcitriol prolongs recipient survival by inducing expression of zinc-finger protein A20 and inhibiting down-stream genes following rat allogeneic orthotopic liver transplantation[J].Chin J Gen Surg, 2006 ,21(6) :408-410
- [11] 陆培荣,李龙标,张学光.小鼠角膜碱烧伤后前炎症因子、趋化因子及其受体的表达[J].眼科研究,2007 ,25(4):256-260.
Lu Pei-rong, Li Long-biao, Zhang Xue-guang. Expression of proinflammatory cytokine, chemokine and its receptor in mouse cornea after alkali injury [J]. Chinese Ophthalmic Research, 2007,25(4):256-260