

错配修复基因 *hMLH1* 和 *hMSH2* 甲基化及突变 与地方性砷中毒关系

赵转地^{1,2}, 张爱华^{1*}, 梁冰¹, 黄晓欣³

摘要: [目的] 探讨错配修复基因 *hMLH1* 和 *hMSH2* 启动子区 CpG 岛甲基化及第 12 外显子(exon12)突变与燃煤污染型地方性砷中毒发生发展乃至癌变的关系。[方法] 以砷中毒患者 110 例为病例组, 按临床诊断分为轻、中、重度组; 按皮肤病理诊断分为非癌变组和癌变组。采用甲基化特异性聚合酶链反应(MSP)法检测其中 105 例砷中毒患者和 82 例对照人群外周血中 *hMLH1* 和 *hMSH2* 基因启动子区的甲基化情况; 采用聚合酶链反应-单链构象多态性分析(PCR-SSCP)检测 110 例砷中毒患者和 110 例对照人群外周血中 *hMLH1* 和 *hMSH2* 基因 exon12 突变情况。[结果] ①轻、中、重度组砷中毒患者 *hMSH2* 基因甲基化阳性率分别为 11.76%、16.28% 和 32.14%, 均明显高于对照组, 重度组亦明显高于轻度组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 癌变组患者 *hMLH1* 和 *hMSH2* 基因甲基化阳性率分别为 11.11% 和 27.78%, 均明显高于对照组($P < 0.05$); *hMLH1* 和 *hMSH2* 基因甲基化阳性率均随临床病情和皮肤病变程度加重而增高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。②病例组和对照组均未发现 *hMLH1* 和 *hMSH2* 基因 exon12 突变。[结论] 错配修复基因 *hMLH1* 和 *hMSH2* 启动子区甲基化是砷中毒发生发展乃至癌变的早期分子特征, 亦可能是导致错配修复功能缺陷的主要方式之一。

关键词: 砷中毒; 煤; 错配修复基因 *hMLH1*; 错配修复基因 *hMSH2*; 甲基化; 突变

A Study on Relationship of the Methylation and Mutation of Mismatch Repair Gene *hMLH1* and *hMSH2* in Patients with Endemic Arsenism ZHAO Zhuan-di^{1,2}, ZHANG Ai-hua^{1*}, LIANG Bing¹, HUANG Xiao-xin³ (1. School of Public Health, Guiyang Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China; 2. Songgang Disease Prevention and Health Care Institute of Baoan District, Shengzhen, Guangdong 518105, China; 3. The 44th Hospital of People's Liberation Army, Guiyang, Guizhou 550009, China). *Address correspondence to ZHANG Ai-hua; E-mail: aihiagy@yahoo.com.cn

Abstract: [Objective] To explore the relationship of the promoter 5' CpG island methylation of mismatch repair gene *hMLH1* and *hMSH2* and the mutation of their exon12 with the effect of arsenism development caused by coal-burning, and also the process of canceration. [Methods] A total of 110 cases of arsenism patients were selected as case group, classified as mild, moderate and severe subgroups according to their clinical diagnosis, and also divided into non-cancerous and carcinoma subgroups according to the pathology of their skin lesions. Methylation status of the *hMLH1* and *hMSH2* promoter region were assayed by methylation-specific polymerase chain reaction (MSP) in peripheral blood of 105 arsenism patients and 82 normal controls. The mutations of *hMLH1* and *hMSH2* exon12 were analyzed by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) in peripheral blood DNA of 110 arsenism patients and 110 normal controls. [Results] ① The positive rates of *hMSH2* methylation were 11.76%, 16.28% and 32.14% in mild, moderate and severe patients respectively, all significantly higher than those in controls, and the rate in severe patients were significantly higher than that in moderate. The positive rates of *hMLH1* and *hMSH2* were 11.11% and 27.78% in non-cancerous and carcinoma groups respectively, both significantly higher than that in controls. With the severity of clinical condition and skin lesions the positive rates of *hMLH1* and *hMSH2* methylation increased. ② There were no mutations of mismatch repair gene *hMLH1* and *hMSH2* exon12 in patients and controls. [Conclusion] The promoter hypermethylation of the mismatch repair gene *hMLH1* and *hMSH2* is an early incident in the development of arsenism and in the process of carcinogenesis, and it may be one of the main reasons leading to its defect or deactivation of gene function.

Key Words: arsenism; coal; mismatch repair gene *hMLH1*; mismatch repair gene *hMSH2*; methylation; mutation

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(编号: 30760225, 30960337);

贵州省重大专项基金(编号: 黔科合重大专项字[2006]6016)

[作者简介] 赵转地(1981-), 男, 硕士生; 研究方向: 分子毒理学;

E-mail: 89597563@qq.com

[*通信作者] 张爱华教授; E-mail: aihiagy@yahoo.com.cn

[作者单位] 1. 贵阳医学院公共卫生学院, 贵州 贵阳 550004; 2. 深圳

市宝安区松岗预防保健所, 广东 深圳 518105; 3. 中国军民解放军第 44 医院, 贵州 贵阳 550009

地方性砷中毒可以造成近期人体多脏器、多系统损害, 尤为严重的是其远期效应所致各种肿瘤高发威胁生命; 然而迄今砷中毒乃至癌变的机制仍不清楚。较多研究表明, 疾病或肿瘤的发生与遗传及表遗传改变有关, DNA 损伤修复系统在其发生发展中起重要作用。正常情况下, 人体内存在完整的DNA损伤修复系统, 可及时有效地修复受损的DNA, 保证机体基因组稳定性和复制的准确性。作为DNA主要修复途径之一的错配修复(mismatch

repair)与各种疾病的发生发展关系密切^[1], 其中该系统中 *hMLH1* 和 *hMSH2* 基因在错配修复过程中扮演着重要角色^[2]。

研究表明微卫星不稳定性(MSI)是错配修复基因功能缺陷或失活的重要标志^[3]。袁伟等^[4]研究发现燃煤污染型砷中毒患者皮损组织存在 MSI 改变; 张爱华等^[5]检测发现错配修复基因 *hMSH2* mRNA 表达随砷中毒患者皮肤病变的加重逐渐降低。上述结果提示燃煤污染型砷中毒患者存在错配修复基因功能缺陷或失活, 但这种改变的原因及其更深层次的分子机制尚不清楚。

本研究拟通过检测 *hMLH1* 和 *hMSH2* 基因启动子区 CpG 岛甲基化及第 12 外显子(exon12)突变情况, 分析其与地方性砷中毒发生发展的关系; 并利用砷中毒病例组中 33 例自愿手术者皮肤标本, 依病理诊断分为皮肤癌变与非皮肤癌变组进行分析, 为了解皮肤癌变与非皮肤癌变病人的甲基化状况, 探索砷致皮肤癌变的敏感或特异性标志提供线索。

1 材料与方法

1.1 调查对象及分组

课题组 2006 年 12 月以贵州省兴仁县交乐乡燃煤污染型地方性砷中毒(以下简称砷中毒)病区的 2 个村庄为调查点, 选择按地方性砷中毒诊断标准(WS/T 211—2001)^[6]确诊的 110 例砷中毒患者为病例组, 对其中 33 例自愿手术治疗患者进行病损皮肤病理组织学检查, 按病理学诊断结果分为非癌变组(包括表皮增生和过度角化)15 例(其中轻、中、重度组分别为 2、8、5 例)和癌变组(包括 Bowen's 病、基底细胞癌、鳞状细胞癌和非典型增生)18 例(其中轻、中、重度组分别为 3、6、9 例)。另选择该病区相邻约 13 km, 除无燃煤砷暴露外其他条件相近、年龄性别经配比均衡并经体检合格的 110 例居民作为对照组。以上对象均排除: 既往肝炎病史, 职业病史, 长期吸烟饮酒史, 传染病史, 遗传及肿瘤家族史, 半年内无电离辐射、服用细胞毒性药物史等。受血样本量及扩增条件等限制, 本实验中甲基化检测病例组为 105 例[按标准中临床分度将其分为轻度(34 例)、中度(43 例)和重度组(28 例)], 对照组为 82 例; 突变检测病例与对照组均为 110 例。

1.2 样本采集及处理

在知情同意原则下, 获取调查对象清晨空腹上肢静脉血 2~3 mL, 乙二胺四乙酸二钠(EDTA Na₂)抗凝。经典酚-氯仿抽提取基因 DNA, 核酸蛋白分析仪(美国安玛西亚公司, Ultrospec2100pro 型)测定纯度和浓度, D_{260}/D_{280} 比值在 1.8~2.0 之间。

1.3 *hMLH1* 和 *hMSH2* 基因启动子区甲基化检测

参照 HERMAN 等^[7]的方法进行基因组 DNA 的亚硫酸氢钠修饰。针对 *hMLH1* 和 *hMSH2* 基因启动子 CpG 岛丰富区, 设计非甲基化和甲基化引物。*hMLH1* 非甲基化上游引物为 5'-TTT TGA TGT AGA TGT TTT ATT AGG GTT GT-3', 下游引物为 5'-ACC ACC TCA TCA TAA CTA CCC ACA-3'; 甲基化上游引物为 5'-ACG TAG ACG TTT TAT TAG GGT CGC-3', 下游引物为 5'-CCT CAT CGT AAC TAC CCG CG-3'。*hMSH2* 非甲基化上游引物为 5'-GGT TGT TGT GGT TGG ATG TTG TTT-3', 下游引物为 5'-CAA CTA CAA CAT CTC CTT CAA CTA CAC CA-3'; 甲基化上游引物为 5'-TCG TGG TCG GAC GTC GTT C-3', 下游引物为 5'-CAA CGT

CTC CTT CGA CTA CAC CG-3'。采用甲基化特异性聚合酶链反应(MSP)检测, *hMLH1* 反应条件: 95℃ 5 min、94℃ 45 s、56℃(非甲基化)/59℃(甲基化)45 s、72℃ 45 s、35 次循环、72℃再延伸 10 min; *hMSH2* 反应条件: 95℃ 5 min、94℃ 45 s、62℃(非甲基化)/64℃(甲基化)45 s、72℃ 45 s、30 次循环、72℃再延伸 10 min; 聚合酶链反应(PCR)产物以 2.0%(质量分数)的琼脂糖凝胶电泳, 凝胶成像分析系统(美国 BIO-RAD 公司)上成像。以 M.Sss-I 甲基化酶(美国 NEB 公司)处理的胎盘组织 DNA 为阳性对照, 以未经修饰处理胎盘组织 DNA 为阴性对照, 以无菌双蒸水代替模板作为空白对照, 每次扩增时均设阳性对照、阴性对照和空白对照。当甲基化特异性引物扩增出相应目的条带为甲基化阳性, 只扩增出非甲基化目的条带为甲基化阴性; 甲基化和非甲基化两对引物中须至少有一个有扩增条带。

1.4 *hMLH1* 和 *hMSH2* 基因 exon12 突变检测

采用 PCR-单链构象多态性分析(PCR-SSCP)检测, 参照相关文献设计引物, 其中 *hMLH1* exon12 引物序列: 上游为 5'-ACA GAC TTG CTA CCA GGA CTT G-3', 下游为 5'-TGT CTA TCC TCT GTG ACA ATG G-3', 217 bp; *hMSH2* exon12 引物序列: 上游为 5'-CAG GCT ATG TAG AAC CAA T-3', 下游为 5'-TAC CCC CAC AAA GCC CAA A-3', 283 bp。反应条件: 95℃ 预变性 5 min、94℃ 变性 45 s、55℃ 退火 45 s、72℃ 延伸 45 s、循环 30 次、72℃ 再延伸 10 min。取 8 μL PCR 产物与 8 μL SSCP 变性缓冲液混匀 → 98℃ 10 min → 立即冰浴 3 min → 8% (质量分数) 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 → 0.2% (质量分数) AgNO₃ 染色 → 6.25% (质量分数) Na₂CO₃ + 0.05% (体积分数) 甲醛显色分析。以经 DNA 测序确认其序列无异常的 DNA 样本为对照, 每次扩增均设对照, 若待测样本出现条带的增加、减少或位置改变等异常泳动条带者视为阳性样本, 阳性样本需经重复检测验证其一致性; 随机抽取 10% 的 DNA 样本进行 DNA 测序验证。

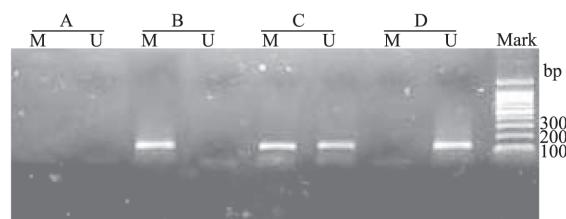
1.5 统计分析

实验数据采用 SPSS 12.0 统计软件进行 χ^2 检验、趋势 χ^2 检验、Fisher's 确切概率法分析, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 砷中毒患者 *hMLH1* 和 *hMSH2* 基因启动子区甲基化检测结果

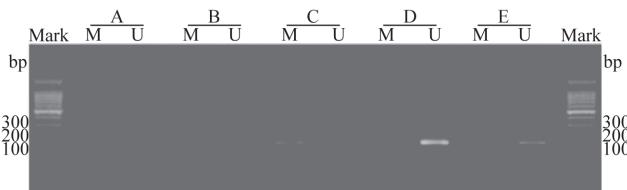
病例组砷中毒患者 *hMLH1* 和 *hMSH2* 基因甲基化阳性率分别为 4.76% (5/105) 和 19.05% (20/105), 其中 *hMSH2* 基因甲基化阳性率明显高于对照组($P < 0.01$)。电泳结果见图 1、图 2。



[注]A: 阴性对照(Negative control); B: 阳性对照(Positive control); C: 阳性样本(Positive sample); D: 阴性样本(Negative sample); M: 甲基化引物扩增(Strap of methylation primer); U: 非甲基化引物扩增(Strap of unmethylated primer)。

图 1 MSP 法检测 *hMLH1* 启动子区甲基化的电泳图

Figure 1 The situation of *hMLH1* gene promoter methylation assayed by MSP



[注]A: 阴性对照(Negative control); B: 阳性对照(Positive control); C: 阳性样本1(Positive sample 1); D: 阳性样本2(Positive sample 2); E: 阴性样本(Negative sample); M: 甲基化引物扩增(Strap of methylation primer); U: 非甲基化引物扩增(Strap of unmethylated primer)。

图2 MSP法检测hMSH2启动子区甲基化的电泳图

Figure 2 The situation of hMSH2 gene promoter methylation assayed by MSP

按临床诊断分组结果显示,轻、中、重度组砷中毒患者hMSH2基因甲基化阳性率分别为11.76%、16.28%和32.14%,均明显高于对照组($P < 0.01$),且重度组明显高于轻度组($P < 0.05$);经趋势 χ^2 检验显示hMLH1和hMSH2基因甲基化阳性率均随病情程度加重而增高($P < 0.05$)(表1)。

表1 各病组砷中毒患者hMLH1和hMSH2启动子区甲基化情况

Table 1 The situation of hMLH1 and hMSH2 gene promoter hypermethylation in different arsenism groups

| 组别 Group | hMLH1 ^① | | | hMSH2 ^② | | |
|-----------------------|--------------------|------------------------|-------------------------|--------------------|------------------------|-------------------------|
| | n | 阳性数 Positive number | 阳性率(%) Positive rate | n | 阳性数 Positive number | 阳性率(%) Positive rate |
| 对照组 Control group | 82 | 0 | 0.00 | 82 | 1 | 1.22 |
| 轻度组 Mild group | 34 | 1 | 2.94 | 34 | 4 | 11.76* |
| 中度组 Moderate group | 43 | 2 | 4.65 | 43 | 7 | 16.28** |
| 重度组 Severe group | 28 | 2 | 7.14 | 28 | 9 | 32.14**▲ |

[注]*: 与对照组比较(Compared with the control group), $P < 0.05$, **: $P < 0.01$; 与轻度组比较(Compared with the mild group), ▲: $P < 0.05$; 趋势 χ^2 检验(Trend chi-square test), ^①: $\chi^2 = 4.992$, $P < 0.05$; ^②: $\chi^2 = 4.998$, $P < 0.05$ 。

按皮肤病理诊断分组结果显示,癌变组砷中毒患者hMLH1和hMSH2基因甲基化阳性率分别为11.11%和27.78%,均明显高于对照组($P < 0.05$),经趋势 χ^2 检验,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);但癌变组和非癌变组间差异无统计学意义($P > 0.05$)(表2)。

表2 癌变、非癌变组患者hMLH1和hMSH2启动子区甲基化状况

Table 2 The situation of hMLH1 and hMSH2 gene promoter hypermethylation in peripheral blood of arsenism patients with skin carcinoma and without skin carcinoma

| 组别 Group | hMLH1 ^① | | | hMSH2 ^② | | |
|-----------------------------|--------------------|------------------------|-------------------------|--------------------|------------------------|-------------------------|
| | n | 阳性数 Positive number | 阳性率(%) Positive rate | n | 阳性数 Positive number | 阳性率(%) Positive rate |
| 对照组 Control group | 82 | 0 | 0.00 | 82 | 1 | 1.22 |
| 非癌变组 Non-cancerous group | 15 | 0 | 0.00 | 15 | 1 | 6.67 |
| 癌变组 Carcinoma group | 18 | 2 | 11.11* | 18 | 5 | 27.78** |

[注]*: 与对照组比较(Compared with the control group), $P < 0.05$, **: $P < 0.01$; 趋势 χ^2 检验(Trend chi-square test), ^①: $\chi^2 = 8.732$, $P < 0.05$, ^②: $\chi^2 = 16.79$, $P < 0.01$ 。

2.2 砷中毒患者hMLH1和hMSH2基因突变检测结果

110例砷中毒患者与110例对照人群外周血hMLH1和hMSH2基因exon12经PCR反应均扩增到目的DNA片段,SSCP分析未发现异常泳动条带;随机抽取10%的患者DNA样本进行直接测序验证,亦未发现hMLH1和hMSH2基因exon12有突变存在。

3 讨论

现有的研究认为,砷中毒的发生发展乃至癌变与砷致机体DNA及染色体损伤有关。课题组前期研究已观察到燃煤砷暴露可导致人体出现姐妹染色单体互换(SCE)、DNA链断裂、染色体畸变、微核等改变。SCE、DNA链断裂等的出现增加复制期间碱基错配、插入或缺失等错误,这些错误如得不到及时修复将造成错误的累积,甚至发生细胞恶变。错配修复基因hMLH1编码的蛋白以形成多聚复合物的方式参与错配修复反应,与提高对错配位点的识别与结合的效率有关;此外,可能还与细胞烷化剂耐受及细胞周期调控有关^[8]。hMSH2基因产物参与甲基导向错配修复,起DNA错配识别并启动修复反应的作用;体外实验表明,hMSH2蛋白主要负责对碱基-碱基错配及碱基插入或缺失错配的纠正^[9]。错配修复基因hMLH1和hMSH2功能缺陷或丧失,将导致整个错配修复系统缺陷,使细胞在增殖过程中的碱基错配、错误插入与缺失等异常不能及时修复,表现为随机突变率增高、MSI,进而致整个基因组不稳定,影响一系列靶基因如涉及细胞生长、分化、凋亡等相关基因的改变,最终导致疾病或肿瘤的形成^[10-11]。

基因突变是导致基因功能缺陷或丧失的重要遗传学机制。研究表明错配修复基因hMLH1和hMSH2突变是许多肿瘤或疾病发生发展的原因之一^[12]。本研究检测了错配修复基因hMLH1和hMSH2突变频率较高的exon12^[13-14],结果未观察到燃煤型砷中毒患者hMLH1和hMSH2基因exon12的突变,提示可能存在该基因突变之外的导致基因功能缺陷或失活的方式。DNA甲基化是近年来研究较为深入的可能导致基因功能缺陷或失活的表遗传学机制。DNA甲基化尤其是启动子区DNA甲基化对基因的表达有重要的调控作用,DNA启动子区域发生甲基化后,DNA的双螺旋结构变得更加紧密而影响解链过程,从而抑制基因的转录过程,导致其基因功能缺陷^[15]。研究表明肿瘤组织中hMLH1和hMSH2基因启动子区甲基化可以抑制其转录表达从而导致其功能缺陷或失活^[16-17]。本研究结果显示,临床诊断不同病情组患者hMSH2基因启动子区甲基化阳性率均明显高于对照组,病理诊断之癌变组hMLH1和hMSH2启动子区甲基化阳性率亦明显高于对照组,两种分组方式其甲基化改变趋势一致,即随砷中毒病情和皮肤病理改变程度的加重甲基化阳性率增高,表明砷中毒患者hMSH2基因和hMLH1基因启动子区甲基化与砷所致皮肤损害密切相关。鉴于基因的表遗传改变在基因表达调控及维持基因功能中起重要作用,结合本课题组前期研究的发现,hMSH2 mRNA的表达随砷中毒患者皮肤病变的加重而逐渐降低^[5],推论砷可能通过导致hMLH1和hMSH2启动子区甲基化改变影响DNA解链过程,抑制该基因的转录,继而导致其功能缺陷或失活,不能及时修复DNA

及染色体损伤以及复制过程中的错误，导致基因组的不稳定及 MSI 的出现。此外，它还可能是引起抑癌基因如 *p53* 基因的突变、癌基因如 *ras* 的活化以及抑癌基因 *p53*、*p16* 失活、细胞周期调控因子 CyclinD1、*p21WAF1/CIP1* 表达异常^[18] 的原因之一。上述异常改变共同导致细胞周期紊乱和细胞恶性增殖，最终导致砷中毒发生发展乃至癌变。本研究癌变组和非癌变组 *hMSH2* 基因和 *hMLH1* 基因启动子区甲基化状况尽管差异无统计学意义，但两组间甲基化阳性率差异较大，其结果是否与病例数较少有关，我们将进一步加大例数深入探讨。

综上所述，错配修复基因 *hMLH1* 和 *hMSH2* 启动子区甲基化是燃煤污染型砷中毒发生发展乃至癌变的早期分子特征，亦可能是导致错配修复功能缺陷的主要方式之一，进一步深入研究对揭示砷致病或致癌机制具有重要价值。

(致谢：本课题得到解放军第四十四医院、贵州省卫生厅、黔西南州卫生局、兴仁县地方病防治办公室等单位以及潘雪莉、陈强等人的支持和帮助，在此一并致谢。)

参考文献：

- [1] 孙敬芬, 周平坤, 吴德昌. DNA 修复与人类疾病研究进展 [J]. 癌变·畸变·突变, 2005, 14(4): 261-265.
- [2] 庞新兰, 白明. 错配修复基因 *hMLH1*、*hMSH2* 及 PCNA 在肺癌组织中的表达及意义 [J]. 肿瘤防治研究, 2004, 31(7): 390-392.
- [3] 王怡, 孙孟红, 施达仁. 错配修复基因功能缺陷与相关肿瘤发生 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2003, 19(5): 547-550.
- [4] 袁伟, 张信江, 瓦庆彪, 等. 燃煤型砷中毒皮损中 2 个 DNA 微卫星位点的变化 [J], 中华皮肤科杂志, 2004, 37(2): 88-90.
- [5] 张爱华, 李健, 潘雪莉, 等. 砷中毒患者皮肤组织中 DNA 修复基因的表达变化 [J]. 中国地方病学杂志, 2005, 24(2): 121-123.
- [6] 中华人民共和国卫生部. WS/T 211—2001 地方性砷中毒诊断标准 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2001.
- [7] HERMAN J G, GRAFF J R, MYOHANEN S, et al. Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93(18): 9821-9826.
- [8] BERENDS M, WU Y, SIJMONS R H, et al. Molecular and clinical characteristic of *MSH6* variants of 25 index carriers of a germ line variant [J]. Am J Hum Genet, 2002, 70: 26-37.
- [9] BI LI-JUN, ZHANG XIAN-EN, ZHOU YA-FENG, et al. Observation of the interaction between muts and mutl mismatch repair proteins by fusion protein systems [J]. Prog Biochem Biophys, 2005, 32(12): 1178-1184.
- [10] HANSEN L T, THYKJAER T, ORNTOFU T F, et al. The role of mismatch repair in small-cell lung cancer cells [J]. Eur J Cancer, 2003, 39(10): 1456-1467.
- [11] LUCCI-CORDISCO E, ZITO I, GENSINI F, et al. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer and related conditions [J]. Am J Med Genet A, 2003, 122(4): 325-334.
- [12] SCARTOZZI M, BLANCHI F, ROSATI S, et al. Mutation of *hMLH1* and *hMSH2* in patient with suspected instability and abnormalities of mismatch repair protein expression [J]. J Clin Oncol, 2002, 20: 1203-1208.
- [13] 范凯, 马坚妹, 王彦, 等. 散发性大肠癌错配修复基因 *hMLH1* 的突变及甲基化研究 [J]. 癌变·畸变·突变, 2005, 17(3): 167-170.
- [14] 庞英杰, 王传新, 冯进波, 等. 基因 *hMSH2*、*hMLH1* 与 *p53* 突变型在散发性大肠癌患者的表达 [J]. 山东大学学报: 医学版, 2005, 43(1): 83-85.
- [15] 邓大君. 表观遗传变异与肿瘤 [J]. 医学研究通讯, 2004, 33(8): 4-6.
- [16] 杨振华, 蔡映云, 孙丽华. 非小细胞肺癌中 *hMLH1* 启动子的甲基化 [J]. 肿瘤防治研究, 2007, 34(1): 11-13.
- [17] HSU H S, WEN C K, TANG Y A, et al. Promoter hypermethylation is the predominant mechanism in *hMLH1* and *hMSH2* deregulation and is a poor prognostic factor in nonsmoking lung cancer [J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(15): 5410-5416.
- [18] 张爱华, 黄晓欣, 罗鹏, 等. 燃煤砷污染对人体多脏器损害及分子机理研究 [J]. 中国地方病学杂志, 2005, 24(6-1): 11-14.

(收稿日期: 2010-02-07)

(英文编审: 黄建权; 编辑: 王晓宇; 校对: 徐新春)

【告知栏】

Proceedings of the 8th National Postgraduate Symposium on Environmental and Occupational Medicine 被 CPCI-S 收录

由《环境与职业医学》编辑委员会、苏州大学医学部放射医学与公共卫生学院联合主办，并由《环境与职业医学》编辑部编撰的 *Proceedings of the 8th National Postgraduate Symposium on Environmental and Occupational Medicine* (23-25 Apr. 2009, Suzhou, China) (《第八届全国环境与职业医学研究生学术研讨会论文集》，2009 年 4 月 23—25 日，中国苏州) 经国际检索系统咨询部推荐，日前已被美国《会议录引文索引》(CPCI-S, Conference Proceedings Citation Index-Science) 评估后收录。

目前此论文集印刷版尚有少量余存，欲购者请通过 E-mail: jeom@scdc.sh.cn 联系。

《环境与职业医学》编辑部

