

DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2000.01.04

人肺癌中nm23 等位基因缺失的研究

陈军 周清华 覃扬 孙芝琳 孙泽芳 刘伦旭

【摘要】 目的 探讨人肺癌中 nm23 等位基因缺失与肺癌转移的关系。方法 应用 Southern 印迹杂交对 52 例人肺癌组织中 nm23-H₁ 和 nm23-H₂ 等位基因缺失进行了研究,并以自身远离癌灶的肺组织作对照。结果 52 例肺癌中 14 例存在 nm23-H₁ 等位基因的杂合缺失(26.92%)。47 例有 nm23-H₂ 杂交信号的肺癌中,2 例存在 nm23-H₂ 等位基因缺失(4.26%)。伴有淋巴结和/或远处转移的肺癌中,nm23-H₁ 等位基因缺失率(42.86%)明显高于不伴有转移的肺癌(8.33%) ($P < 0.01$);低分化和未分化癌 nm23-H₁ 等位基因缺失率(45.45%)亦明显高于中~高分化癌(13.33%) ($P < 0.05$)。nm23-H₁ 等位基因缺失与肺癌组织学类型、P-TNM 分期、原发肿瘤大小、部位,以及患者年龄等无明显关系 ($P > 0.05$)。结论 本研究结果表明 nm23 基因可能参与调控肺癌的细胞分化和转移过程,且 nm23-H₁ 基因在肺癌转移和细胞分化中的调节作用较 nm23-H₂ 基因更为显著。

【关键词】 nm23 基因 肺肿瘤 等位基因缺失 Southern 印迹杂交

A study on the allelic deletion of nm23 genes in human lung cancer CHEN Jun, ZHOU Qinghua, QIN Yang, SUN Zhilin, SUN Zefang, LIU Lunxu. Department of Thoracocardiac Surgery, The First University Hospital, West China University of Medical Sciences, Chengdu 610041, P. R. China

【Abstract】 Objective To explore the role of allelic deletions of nm23 genes in human lung cancer. **Methods** Allelic deletions of nm23 genes were detected in 52 lung cancer tissue samples and their corresponding normal tissues as control by Southern blotting. **Results** Loss of heterozygosity (LOH) of nm23-H1 gene was found in 14 out of 52 informative lung cancers, with a LOH rate of 26.92%; 2 of the 47 informative lung cancer tissues existed allelic deletion of nm23-H2 gene, with a allelic deletion rate of 4.26%. The LOH rate of nm23-H1 gene in cancer with lymph node or distant metastasis (42.86%) was significantly higher than that in lung cancer without metastasis (8.33%) ($P < 0.01$). nm23-H1 LOH rate was also remarkably higher in undifferentiated and poor differentiated cancer (45.45%) than in moderate to well differentiated cancer (13.33%) ($P < 0.05$). No relationship was found among the allelic deletion of the nm23-H1 and histoclassification of the tumor, P-TNM stages, size of the primary tumor, location of the cancer, and age of the patients ($P > 0.05$). **Conclusion** nm23 gene may be involved in the differentiation and metastasis of human lung cancer, and nm23-H1 gene may play a more important role in the regulation of cell differentiation and metastasis of lung cancer than nm23-H2 gene.

【Key words】 nm23 gene Lung neoplasms Allelic deletion Southern blotting

This work was supported in part by a grant from the National Natural Sciences Foundation of China (to Zhou Qinghua) (No. 39470687) and a grant from the Chinese Medical Board of New York (to Zhou Qinghua) (Y9316).

自 1988 年美国国立癌症研究所的 Steeg 等^[1]发现 nm23 基因以来,目前人类发现了四种 nm23 基因: nm23-H₁、nm23-H₂^[2], DRnm23^[3] 和 nm23-H₄^[4]。其中,研究较多的是 nm23-H₁ 和 nm23-H₂。现有的研究表明,在人乳腺癌、肝癌、胃癌、恶性黑色素瘤和卵巢癌等

肿瘤中,nm23 基因表达与肿瘤转移表型呈负相关;而在神经母细胞瘤、甲状腺癌及前列腺癌中,其表达与肿瘤增殖及浸润有关^[5]。nm23 等位基因缺失与肺癌的发生、发展和转移关系的研究国内外报道不多。我们已进行了 nm23 基因的 mRNA 和蛋白表达水平与肺癌发生、发展和转移关系的研究^[6,7],提示 nm23 基因可能与肺癌的发生和发展有一定关系。为了进一步探讨 nm23 等位基因缺失与肺癌发生、发展和转移的关系,本研究应用 Southern 印迹杂交的方法检测了 52 例肺

本课题受国家自然科学基金(39470687)、卫生部优秀青年科技人才专项基金(Q9436)和美国纽约中华医学基金(Y9316)资助
作者单位:610041 成都,华西医科大学附属第一医院胸心外科(陈军、周清华、刘伦旭),华西医科大学生化教研室(覃扬、孙芝琳、孙泽芳)

癌中 nm23-H₁ 和 nm23-H₂ 等位基因缺失的情况,以分析其与肺癌临床病理生理特征的关系。

1 材料与方法

1.1 组织标本 52 例原发肺癌组织及其远离癌灶的非癌肺组织,来源于华西医科大学附一院胸心外科手术切除的标本,并经病理检查确诊(表 1)。52 例肺癌患者中,伴有淋巴结和/和远处转移者 28 例,无转移者 24 例。其中,鳞癌 29 例(低分化 15 例,中、高分化 14 例; ~ 期 9 例, ~ 期 20 例),腺癌 14 例(低分化 2 例,中、高分化 12 例; ~ 期 3 例, ~ 期 11 例),腺鳞癌 6 例(低分化 2 例,中、高分化 4 例; ~ 期 2 例, ~ 期 4 例),小细胞肺癌 2 例(1 例 ~ 期,1 例 ~ 期),未分化大细胞癌 1 例,为 ~ 期。病理分期采用国际抗癌联盟(UICC)1997 年修订的分期标准。

1.2 探针的制备 人类 Pnm23-H₁ 和 Pnm23-H₂ 重组质粒由美国国立癌症研究所的 Steeg 教授惠赠。Pnm23-H₁ 和 Pnm23-H₂ 重组质粒载体分别为 Okyama-berg 和 Bluescript,宿主菌为 DH5a 和 JM109,经限制性核苷酸内切酶 BamH₁ 和 EcoR 消化后,可分别获得

900 bp 和 700 bp 的 cDNA 插入片段。采用玻璃乳 DNA 分离法回收插入片段。参考地高辛 DNA 标记和检测试剂盒(Boehringer Mannheim 产品)提供的方案,采用随机引物法,以非放射性地高辛标记回收插入片段制成探针。

1.3 DNA 的制备 用传统方法提取肺组织 DNA,0.8%琼脂糖凝胶电泳鉴定,分光光度仪测定 OD 值,计算出 DNA 含量。

1.4 Southern 印迹杂交 每个标本各取两份 20 μg 组织 DNA,分别经 EcoR 和 Bgl 酶切完全后,0.8%琼脂糖凝胶电泳,用毛细管转移法将凝胶中的 DNA 转至尼龙膜上,80 固定 DNA 2 h。42 预杂交 2 h,预杂交液为 High-SDS 缓冲液(7% SDS,50% 甲酰胺,5 × SSC,2% 封闭剂,50 mmol/L 磷酸钠 pH 7.0,0.1% Sarcosine)。42 杂交 24 h,探针浓度为 30 ng/ml。按试剂盒提供的方法进行杂交信号检测。将尼龙膜与 X 线片于暗盒内室温曝光 5 ~ 15 min,显影定影,读片。本实验每张膜分别经 nm23-H₁ 和 nm23-H₂ 探针进行两次杂交。

1.5 统计学处理 采用 ² 检验和 t 检验, P < 0.05 为差异有显著性。

表 1 nm23-H₁ 等位基因缺失与肺癌患者临床病理生理特征的关系

Tab 1 The relationship between the allelic deletion of nm23-H1 gene and clinicopathologic characteristics of the 52 patients with lung cancer

Characteristics	n	nm23-H1		P value
		Deleted	Non-deleted	
Age ($\bar{x} \pm s$)	-	58 ± 5	60 ± 7	> 0.05
Sex				> 0.05
Female	7	3	4	
Male	45	11	34	
Tumor size (cm, $\bar{x} \pm s$)	-	5.1 ± 3	5.4 ± 2	> 0.05
Localization				> 0.05
Center	27	10	17	
Periphery	25	4	21	
Histologic classification				> 0.05
Squamous cell carcinoma	29	10	19	
Adenocarcinoma	14	3	11	
Small cell lung cancer	2			
Large cell lung cancer	1			
Adenosquamous carcinoma	6	0	6	
Differentiated degree				< 0.05
Undifferentiated	3	1	2	
Poor differentiated	19	9	10	
Moderate to well differentiated	30	4	26	
Stage				> 0.05
~	16	3	13	
~	36	11	25	
Metastasis				< 0.01
Lymph node or distant metastasis	28	12	16	
No metastasis	24	2	22	

2 结果

2.1 nm23 等位基因缺失情况 人组织 DNA 经 EcoR 酶切后,与 nm23-H₁ 探针杂交显示,在杂合子出现 4.6、2.4 和 2.2 kb 杂交带,而在纯合子则为 4.6 或 2.4 kb 以及 2.2 kb 杂交带,21 kb 杂交带为常带;与 nm23-H₂ 探针杂交在本组病例中只显示出一种类型的杂交图:即有 21、6.7 和 3.9 kb 三条杂交带。经 Bgl 酶切

后,与 nm23-H₁ 探针杂交显示,在杂合子出现 7.6 和 2.3 kb 两条杂交带,而在纯合子则仅有 7.6 或 2.3 kb 杂交带,18 kb 杂交带为常带;与 nm23-H₂ 探针杂交在本组病例中显示出两种类型的杂交图:第一种为 17.5、13.8、2.8 和 2.4 kb 四条杂交带(占 36%),第二种为 17.5、13.8、4.2、2.8 和 2.4 kb 五条杂交带(占 64%)。肺癌组织杂交带与相应的远癌肺组织杂交带相比,前者如有杂交带缺失则为等位基因缺失(图 1)。

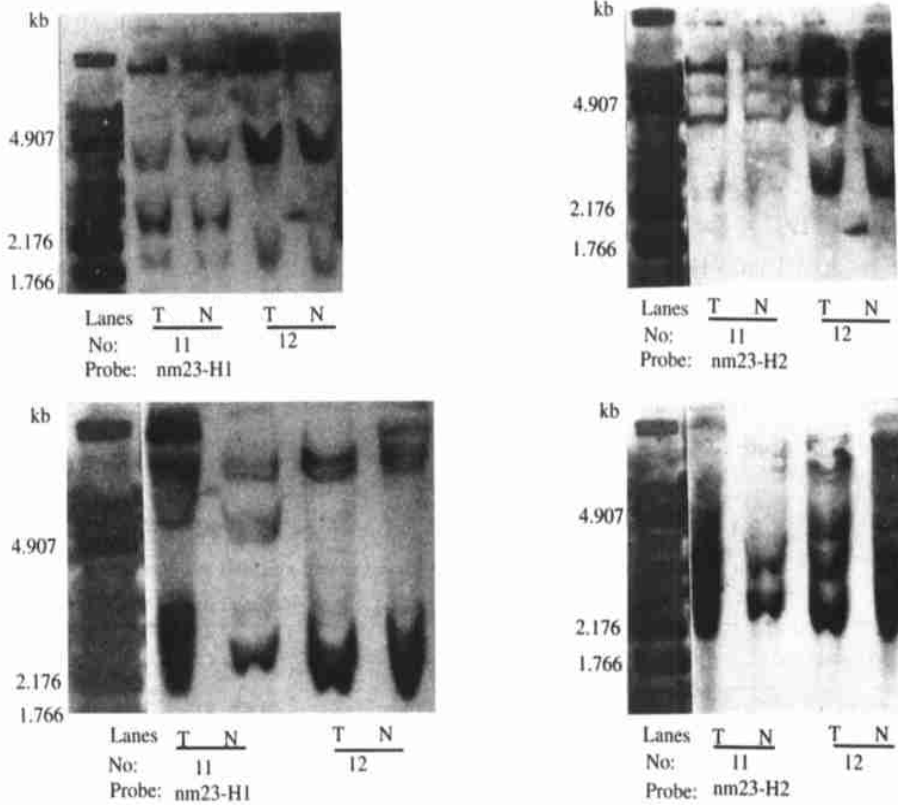


图 1 EcoR 和 Bgl 消化后 nm23 基因的限制性片段长度多态性

T:肿瘤组织 DNA;N:远癌肺组织 DNA。A、B 为同一张膜,人组织 DNA 经 EcoR 酶切后分别进行了 nm23-H₁ 和 nm23-H₂ 探针杂交。nm23-H₁ 杂交后(A):11 号为杂合子,含有 4.6、2.4 及 2.2 kb 杂交带,12 号为纯合子,仅含 4.6 及 2.2 kb 杂交带;nm23-H₂ 杂交后(B)只有一种杂交图(21、6.7、3.9 kb 三条杂交带)。

C、D 为同一张膜,人组织 DNA 经 Bgl 酶切后分别进行了 nm23-H₁ 和 nm23-H₂ 探针杂交, nm23-H₁ 杂交后(A),11 号为杂合子,含有 7.6 和 2.3 kb 杂交带,12 号为纯合子,仅有 2.3 kb,无 7.6 kb 杂交带;nm23-H₂ 杂交后(B),11 号为第一种类型杂交图,含有 2.8 和 2.4 kb 杂交带,12 号为第二种类型杂交图,含有 4.2、2.8 和 2.4 kb 杂交带。

Fig 1 The EcoR and Bgl RFLPs in human nm23 genes

T: DNA from tumors; N: DNA from their corresponding normal tissues. Human genomic DNA from two individuals was digested with EcoR, and a southern blot was prepared. The blot was hybridized with BamHI restriction fragment of Pnm23-H1 (A). An allelic pattern of hybridizing nm23-H1 bands was obtained, including homozygotes for 4.6 and 2.2 kilobase band (No. 12), or for 4.6, 2.4 and 2.2 kilobase band (No. 11). The probe was removed from the southern blot, and it was rehybridized to the EcoR restriction fragment of Pnm23-H2 (B). Bands distinct from the alleles of nm23-H1 was observed at 21, 6.7 and 3.9 kilobases. Size of DNA bands were calculated from the electrophoretic mobility of pBR328 DNA/BamHI Bgl-Hinf markers.

Human genomic DNA from the same two individuals was digested with Bgl. The blot was hybridized with nm23-H1 probe (C). An allelic pattern of hybridizing nm23-H1 bands was obtained, including homozygotes for 2.3 kilobase band (No. 12), or for 7.6 and 2.3 kilobase band (No. 11). The probe was removed from the southern blot, and it was rehybridized to the nm23-H2 probe (D). Bands distinct from the alleles of nm23-H1 was observed at 4.2, 2.8 and 2.4 kilobases (No. 12), or at 2.8 and 2.4 kilobases (No. 11).

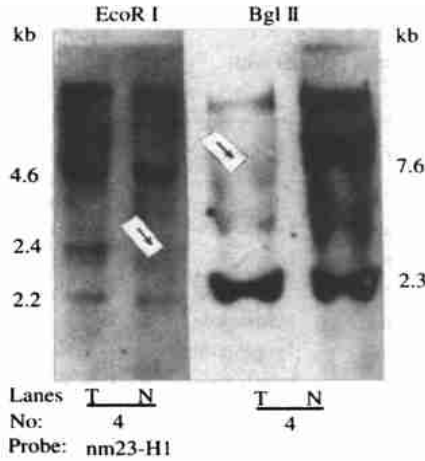


图 2 nm23-H₁ 等位基因缺失

T: 肿瘤组织 DNA; N: 远癌肺组织 DNA。EcoR 酶切后肿瘤组织 2.4 kb 杂交带发生了缺失; Bgl 酶切后肿瘤组织 7.6 kb 杂交带发生缺失 (如箭头所示)。

Fig 2 Loss of heterozygosity at the nm23-H1 gene locus in lung cancer patients (No. 4). Genomic DNA samples of lung tumor (T) and corresponding normal lung tissue (N) from the same patient were digested with EcoR and Bgl and were blotted with a nm23-H1 cDNA probe in a Southern blot analysis. EcoR identifies a two-allele polymorphism with bands at 4.6 or 2.4 kb and 2.2 kb, and constant band at 21 kb. The Bgl digestion identifies a two-allele polymorphism with bands at 2.3 kb and 7.6 kb and a constant band at 18 kb. The tumor sample showed a loss of constitutional heterozygosity (arrows).

本组 52 例肺癌患者中,用 nm23-H₁ 探针杂交显示 78% 为杂合子,其中有 14 例发生了 nm23-H₁ 等位基因的杂合缺失,缺失率为 26.92%,未见纯合缺失。该 14 例患者中 9 例同时有 EcoR 和 Bgl 酶切杂交带的缺失,2 例仅有 EcoR 酶切杂交带缺失,3 例仅有 Bgl 酶切杂交带缺失 (表 2、图 2)。在 52 例病例中,经 nm23-H₁ 探针杂交显示杂交信号的有 47 例, EcoR 酶切杂交带未见有缺失, Bgl 酶切后有 2 例发生了等位基因缺失 (图 3),缺失率为 4.26%。nm23-H₁ 等位基因缺失率明显高于 nm23-H₂ ($P < 0.05$)。

2.2 nm23-H₁ 等位基因缺失与肺癌患者临床病理生理特征关系 (表 1) 在伴有淋巴结转移的肺癌患者中 nm23-H₁ 等位基因缺失发生率 (42.86%, 12/28) 明显高于不伴有转移者 (8.33%, 2/24) ($P < 0.01$); 低分化和未分化癌的等位基因缺失率 (45.45%, 10/22) 亦明显高于中~高分化癌 (13.33%, 4/30) ($P < 0.05$)。而 nm23-H₁ 等位基因缺失与肺癌原发肿瘤大小、部位、病理类型、TNM 分期以及患者性别和年龄均无明显关系 ($P > 0.05$)。

2.3 由于 nm23-H₂ 等位基因缺失发生率较低,故无法分析其与肺癌患者临床病理生理特征的关系 (表 3)。

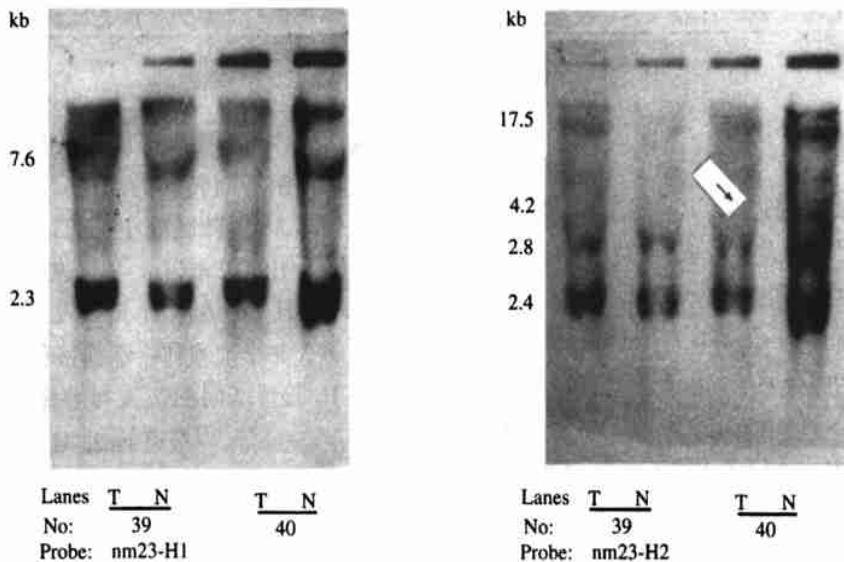


图 3 nm23-H₂ 等位基因缺失

T: 肿瘤组织 DNA; N: 远癌肺组织 DNA。A、B 为同一张膜。组织 DNA 经 Bgl 酶切后, A 图经 nm23-H₁ 探针杂交, 两标本均为杂合子, 无等位基因缺失。洗脱 nm23-H₁ 探针, 再杂交 nm23-H₂ 探针后, 见 40 号标本肿瘤组织的 4.2 kb 条带缺失 (如箭头所示)。

Fig 3 Loss of heterozygosity at the nm23-H2 gene locus in lung cancer patient

Genomic DNA samples of lung tumor (T) and corresponding normal lung tissue (N) were digested with Bgl and blotted with a nm23-H₁ cDNA probe in a Southern blot analysis (A), and there was no loss of heterozygosity. The probe was removed from the southern blot, and it was rehybridized with a nm23-H₂ cDNA probe in a Southern blot analysis (B). The No. 40 tumor sample showed a loss of the constitutional heterozygosity (arrow).

表 2 14 例 nm23-H₁ 等位基因缺失的肺癌患者的病理生理特征

Tab 2 Pathophysiological characteristics in 14 lung cancer patients with allelic deletions of nm23-H₁ gene

No.	Age/ Sex	Tumor location	LOH		Histology	Metastasis	Stage
			EcoR	Bgl			
2	68/ M	Center	No	7.6 kb	SCC ,well	No	T ₂ N ₀ M ₀ B
4	50/ M	Center	2.4 kb	7.6 kb	SCC ,poor	Lymph node	T ₃ N ₂ M ₀ A
5	60/ M	Center	2.4 kb	7.6 kb	SCC ,poor	Lymph node	T ₃ N ₁ M ₀ A
9	57/ F	Center	No	2.3 kb	SCC ,mod+well	No	T ₂ N ₀ M ₀ B
13	55/ F	Center	2.4 kb	7.6 kb	ADC ,mod	Lymph node	T ₄ N ₂ M ₀ B
14	49/ M	Center	No	7.6 kb	SCC ,poor	Lymph node	T ₃ N ₂ M ₀ A
20	58/ M	Center	2.4 kb	No	SCC ,poor	Lymph node	T ₃ N ₁ M ₀ A
22	54/ M	Periphery	4.6 kb	2.3 kb	SCC ,poor	Lymph node	T ₃ N ₂ M ₀ A
28	65/ M	Periphery	2.4 kb	7.6 kb	SCC ,poor	Lymph node	T ₂ N ₁ M ₀ B
32	45/ M	Center	2.4 kb	7.6 kb	ADC ,poor	Liver	T ₄ N ₀ M ₁
39	39/ F	Center	4.6 kb	2.3 kb	SCLC	Lymph node	T ₃ N ₂ M ₀ A
40	43/ M	Center	2.4 kb	No	SCC ,poor	Lymph node	T ₃ N ₂ M ₀ A
43	63/ M	Periphery	2.4 kb	7.6 kb	ADC ,mod	Lymph node	T ₃ N ₁ M ₀ A
45	59/ M	Periphery	4.6 kb	2.3 kb	SCC ,poor	Lymph node	T ₃ N ₂ M ₀ A

M:Male; F:Female; LOH:Loss of heterozygosity; SCC:Squamous cell carcinoma; ADC:Adenocarcinoma; SCLC:Small cell lung cancer; well :Well differentiated; mod:moderate differentiated; poor :poor differentiated

表 3 2 例 nm23-H₂ 等位基因缺失的肺癌患者的病理生理特征

Tab 3 Pathophysiological characteristics in 2 lung cancer patients with allelic deletions of nm23-H₂ gene

No.	Age/ Sex	Tumor location	LOH		Histology	Metastasis	Stage
			EcoR	Bgl			
33	60/ M	Center	No	2.8 kb	SCC ,mod	No	T ₂ N ₀ M ₀ (B)
40	43/ M	Center	No	4.2 kb	SCC ,poor	Lymph node	T ₃ N ₂ M ₀ (A)

3 讨论

自 nm23 基因被发现以来,其在临床各种肿瘤中均有较多的研究,但结果差异较大,支持和不支持其肿瘤转移抑制性的观点并存。

本实验应用 Southern 杂交的方法检测了 52 例肺癌,其中 14 例存在 nm23-H₁ 等位基因的杂合缺失,缺失率为 26.92%;在 47 例有 nm23-H₂ 杂交信号肺癌中,2 例发生了 nm23-H₂ 等位基因的缺失,缺失率为 4.26%。结果提示在本组病例中,nm23-H₁ 和 nm23-H₂ 等位基因缺失发生率不同,nm23-H₁ 等位基因缺失发生率明显高于 nm23-H₂ (P<0.05)。Leone^[8]报道人非小细胞肺癌中 nm23-H₁ 的缺失率为 42%。但 Gazeri^[9]分析了 104 例肺癌,未发现 nm23-H₁ 等位基因缺失、突变。此前,尚未见有关人肺癌中 nm23-H₂ 等位基因缺失的报道。

nm23 基因可因基因缺失、低表达及突变而失活。在乳腺癌、肝癌、黑色素瘤等肿瘤中,nm23-H₁ 基因的

低表达与肿瘤转移有密切关系并与不良预后相关,显示出其抑制肿瘤转移的功能。在肺癌中,Higashiyama 等^[10]报道 88 例肺腺癌中 nm23 的表达与肿瘤病理生理指标无明显关系,Lai 等^[11]发现 期非小细胞肺癌中,nm23-H₁ 表达低者易发生术后远处转移。Lau 等^[12]将人非小细胞肺癌细胞接种到裸鼠皮下后发现,nm23-H₁ 等位基因的缺失与肺癌的转移有密切关系。国内,陈晓峰等^[6,7]报道 nm23-H₁ 基因蛋白表达与肺癌转移呈负相关,并与预后有关,刘伦旭等^[13]报道 nm23 基因 mRNA 的表达与肺癌的细胞分化有关。本研究观察到在伴有淋巴结或/和远处转移的肺癌中,nm23-H₁ 等位基因缺失率 (42.85%) 显著高于无转移者。(8.33%) (P<0.01);未分化和低分化癌中,nm23-H₁ 等位基因缺失率 (45.45%) 亦显著高于中、高分化癌 (13.33%) (P<0.05)。这表明在本实验研究的肺癌组织中,nm23-H₁ 等位基因缺失与肺癌的细胞分化和转移有密切关系,进一步支持了 nm23-H₁ 基因在肺癌中具有抑制肿瘤转移作用的结论。由于 nm23-H₂ 等位基

因缺失率较低,无法分析其与肺癌的临床病理生理指标的关系。本实验同一张膜分别经 nm23-H₁ 和 nm23-H₂ 探针杂交后的杂交图不同,而且两者在肺癌中的等位基因缺失率也不同,这直接和间接地提示了 nm23-H₁ 和 nm23-H₂ 两基因在结构和功能上是不同的,具有组织类型的差异性,与 Stahl^[2]报道的在人乳腺癌中,nm23-H₁ 比 nm23-H₂ 与肿瘤转移关系更密切的结果相似。

Campo 等^[14]在直肠癌 nm23 等位基因缺失的研究中指出,用 EcoR 和 Bgl 两个限制性片段长度多态性(RFLP)的分析明显优于单用 Bgl 的 RFLP 分析。本研究结果也提示了单用 EcoR 或 Bgl 酶切不及两者合用检测到的缺失率高,从而也支持了 Campo 的结论。

本实验中组织 DNA 经 Bgl 酶切后,用 nm23-H₂ 探针杂交所得杂交图有两种类型,第一种类型的杂交带由 17.5、13.8、2.8 和 2.4 kb 四个条带组成,占 36%,第二种类型的杂交带有 17.5、13.8、4.2、2.8 和 2.4 kb 五个条带,占 64%,两种类型杂交图的不同主要在于 4.2 kb 杂交带的变化,而且从检测到的 2 例 nm23-H₂ 等位基因缺失的杂交图中也可看出,杂交条带的缺失主要发生在 4.2 kb 和 2.8 kb 条带上,故提示人组织 DNA 经 Bgl 酶切和 nm23-H₂ 探针杂交后,17.5 kb 和 13.8 kb 杂交带可能为常带等位基因,而 4.2、2.8 及 2.4 kb 杂交带可能为多态性等位基因。

迄今,有关 nm23 基因抑制肿瘤转移的作用机理尚未完全阐明,但现有的研究表明,nm23-H₁ 和 nm23-H₂ 基因蛋白产物是 NDPK,而 NDPK 在细胞生长和肿瘤转移中至少具有两个主要作用:通过催化 $GTP \rightleftharpoons GDP$ 的转化参与微管蛋白的解聚与聚合,利用微管系统,包括有丝分裂纺锤体形成和细胞移动,来调节细胞功能;通过调节 GTP 合成而参与 G 蛋白调控的跨膜信息传递,从而对细胞分化及癌基因的转化起作用。而关于 nm23 基因对肿瘤作用具有组织差异性,以及 nm23-H₁ 和 nm23-H₂ 两基因在不同肿瘤组织中所起作用不同的机理,目前认为:由于 NDPK/nm23 的状态不同和所涉及的不同信号传递途径,使其在不同肿瘤中作用不同;由于 nm23-H₁ 和 nm23-H₂ 基因的转录启动部位含有与已知转录因子相结合的位点,能参与

其它基因的转录调节,以及二者转录启动部位的结合位点的不同,也是引起其作用多样性和细胞类型差异性的原因。总之,目前对 nm23 基因的作用机制,特别是发挥作用的具体生化途径尚未完全明了,尚需进行更深入的研究。

参 考 文 献

- 1 Steeg PS, Berilacqua G, Kopper L, et al. Evidence for a novel gene associated with low tumor metastatic potential. *J Natl Cancer Inst*, 1988, 80(3): 200-206.
- 2 Stahl JA, Leone A, Rosengard AM, et al. Identification of a second human nm23 gene, nm23-H₂. *Cancer Res*, 1991, 51(1): 445-449.
- 3 Martinez R, Venturelli D, Perotti D, et al. Gene structure, promoter activity, and chromosomal location of the DR-nm23 gene, a related member of the nm23 gene family. *Cancer Res*, 1997, 57(6): 1180-1187.
- 4 Milon L, Rousseau Merck MF, Munier A, et al. nm23-H₄: A new member of the family of human nm23/ nucleoside diphosphate kinase genes localized on chromosome 16p^{13.3}. *Hum Genet*, 1997, 99(4): 550-557.
- 5 刘伦旭,石应康,周清华. 癌转移抑制基因: nm23 的研究进展. *中国胸心血管外科临床杂志*, 1995, 2(1): 48-51.
- 6 陈晓峰,周清华,石应康,等. 转移抑制基因 nm23-H₁ 在人肺癌组织中的表达研究. *中国胸心血管外科临床杂志*, 1997, 4(2): 89-92.
- 7 陈晓峰,周清华,刘伦旭,等. 转移抑制基因 nm23 在肺癌中的表达及其与预后的关系. *中华实验外科杂志*, 1998, 15(6): 508.
- 8 Leone A, McBride OW, Weston A, et al. Somatic allelic deletion of nm23 in human cancer. *Cancer Res*, 1991, 51(9): 2450-2453.
- 9 Gazzeri S, Brambilla E, Negrescu A, et al. Overexpression of nucleoside diphosphate kinase A/ nm23-H1 protein in human lung tumors: association with tumor progression in squamous carcinoma. *Lab Invest*, 1996, 74(1): 158-162.
- 10 Higashiyama M, Doi O, Yokouchi H, et al. Immunohistochemical analysis of nm23 gene product/NDP kinase expression in pulmonary adenocarcinoma: lack of prognostic value. *Br J Cancer*, 1992, 66(3): 533-537.
- 11 Lai WW, Wu MH, Yan JJ, et al. Immunohistochemical analysis of nm23-H1 in stage non-small cell lung cancer: a useful marker in prediction of metastasis. *Ann Thorac Surg*, 1996, 62(5): 1500-1505.
- 12 Lau DH, Lu D, Hammond WG, et al. Loss of nm23 and Alu DNA in human lung cancer propagated in nude mice. *Cancer Lett*, 1995, 97(2): 163-169.
- 13 刘伦旭,覃扬,周清华,等. Northern 印迹杂交分析 nm23 基因在人肺癌中的表达研究. *中华肿瘤杂志*, 1998, 20(5): 342-344.
- 14 Campo E, Miques R, Jares P, et al. Prognostic significance of the loss of heterozygosity of nm23-H1 and p53 gene in human colorectal carcinomas. *Cancer*, 1994, 79(12): 2912-2913.

(收稿:1999-09-16 修回:1999-11-05)

(本文编辑 李蓓兰)