

转录因子 Runx1 对 RPL4 启动子的调节作用

张 寒, 郝慧芳, 郑胡镛* (首都医科大学 附属北京儿童医院 血液病中心, 北京 100045)

[摘要] 目的: 儿童白血病细胞全基因组芯片数据聚类分析发现,核糖体蛋白 L4(ribosomal protein L4, RPL4)启动子区域具有转录因子 Runx1 的结合位点 TTCATTCT,由此推测 Runx1 可能与该基因启动子之间存在调控作用。本研究通过观察 Runx1 蛋白与 RPL4 启动子之间的相互作用,了解 Runx1 对 RPL4 启动子转录活性的影响,探讨其在儿童白血病发生机制中的意义。方法: 构建含 RPL4 启动子及其突变体的荧光素酶报告质粒,与 Runx1 的表达质粒共转染 293T 细胞,进行荧光素酶活性分析。结果: Runx1 蛋白可使 RPL4 启动子的转录活性降低 ($P < 0.01$);随着 Runx1 剂量的增加,RPL4 启动子的转录水平呈剂量依赖性降低 ($P < 0.01$);Runx1 蛋白对 RPL4 启动子的突变体转录活性无调控作用 ($P > 0.05$)。结论: Runx1 蛋白对 RPL4 启动子具有转录抑制作用,且具有明显的剂量依赖性;Runx1 蛋白通过结合 RPL4 启动子区域的 TTCATTCT 位点发挥调控作用。

[关键词] Runx1; 核糖体蛋白 L4(RPL4); 白血病; 转录调控

[中图分类号] R730.2; R733.7

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2008)05-0412-05

Regulation of RPL4 promoter activity by transcription factor Runx1

ZHANG Han, GAO Hui-fang, ZHENG Hu-yong* (Hematological Center, Beijing Children's Hospital, Capital Medical University, Beijing 100045, China)

[Abstract] **Objective:** Previous genome-wide microarray analysis found TTCATTCT motif (DNA binding site of Runx1) in the RPL4 promoter of childhood leukemia cells, suggesting that Runx1 may regulate the expression of RPL4. This study is to investigate the relationship between Runx1 and RPL4 so as to better understand the effects of Runx1 on RPL4 gene transcription, laying a foundation for further studying leukemogenesis of childhood leukemia. **Methods:** The luciferase plasmids containing RPL4 promoter and its mutant were constructed and were co-transfected into 293T cells with the expression plasmid of Runx1. The transactivity of RPL4 promoter was assayed by luminometer. **Results:** Runx1 significantly decreased the transcriptional activity of RPL4 promoter ($P < 0.01$), and the decreasing degree was associated with the increase of Runx1 dose ($P < 0.01$). Runx1 protein had no significant effect on the transcriptional activity of RPL4 promoter mutant ($P > 0.05$). **Conclusion:** Runx1 can inhibit RPL4 gene transcription in a dose-dependent manner through binding to the TTCATTCT motif.

[Key words] runt-related protein 1 (Runx1); ribosomal protein L4 (RPL4); leukemia; transcription regulation

[Chin J Cancer Biother, 2008, 15(5): 412-416]

Runx1 (runt-related protein 1),亦称作急性髓系白血病 1 (acute myeloid leukaemia 1, AML1),是在 1991 年根据 t(8;21)(q22;q22)断裂点的克隆首次鉴定的一个新型转录因子^[1]。Runx1 基因位于染色体 21q22.3,由 12 个外显子组成,全长超过 260 kb。它在正常及恶性造血、血管形成、胸腺 T 细胞发育及细胞分化等多方面具有十分重要的作用^[2-5]。Runx1 可调节大量造血相关基因的表达,包括 T 细胞受体(TCR)、白细胞介素-3(IL-3)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、髓系过氧化酶(MPO)及中性粒细胞弹性蛋白酶等。Runx1 与这些靶基因的启动子结合后启动转录,从而对其进行转

录调控,促进造血干细胞的发育和分化。最近研究^[6]表明,Runx1 还具有参与调控调节性 T 细胞的功能,并与自身免疫性疾病如系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎及牛皮癣的易感性相关。

[基金项目] 国家高技术研究发展(863)计划现代医学技术专项项目(No. 2006AA02Z4Z2);北京市优秀人才培养专项资助(No. 2004 1D 0300830)。Supported by the National High Technology Research and Development (863) Program-BioTec Project (No. 2006AA02Z4Z2); Beijing Excellent Talents Support Program (No. 2004 1D 0300830)

[作者简介] 张 寒(1982-),女,北京市人,硕士,主要从事儿童白血病的研究,E-mail:jennifer6320@hotmail.com

* Corresponding author. E-mail: zhenghuyong@vip.sina.com

本课题组前期研究中通过儿童白血病细胞全基因组芯片技术和芯片数据处理的基因聚类分析发现,核糖体蛋白 L4(ribosomal protein L4, *RPL4*) 基因启动子区域含有 *Runx1* 的结合位点:TTCATTCT。由此推测,*Runx1* 可能与 *RPL4* 启动子之间存在相互作用。为了证明 *Runx1* 对 *RPL4* 启动子的转录调控关系,本实验观察 Runx1 蛋白对 *RPL4* 启动子转录活性的影响。

1 材料与方 法

1.1 主要实验材料

1.1.1 表达载体与细胞株 荧光素酶报告基因质粒 pCMV-Luc 由 MD 安德森癌症中心 Lei Li 教授馈赠;海肾荧光素酶报告基因质粒 pRL-TK(Renilla-Luc)由中科院遗传与发育所韩敬东教授提供;293T 细胞由中科院遗传与发育所鲍时来教授提供。

1.1.2 试剂来源 DMEM 培养基和胎牛血清购于 Hyclone 公司,Pfu 聚合酶购自申能博彩生物技术有限公司,T4 DNA 连接酶、T4 DNA 聚合酶、RNase 及所有限制性内切酶均购自 TaKaRa 生物技术(大连)有限公司,Lipofectamine 2000 购自 Invitrogen 公司,双荧光素酶测试试剂盒购自 Promega 公司。

1.2 细胞培养

293T 细胞采用 DMEM 培养基(含有 10% 胎牛血清),在 37 °C 孵箱 5% CO₂ 条件下培养。

1.3 质粒构建

携野生型 *Runx1* 的真核表达质粒 pCMV-Tag2B-Runx1b 由日本京都大学 Masahiro Ono 教授馈赠,其表达产物含有 453 个氨基酸(本研究使用的是 Runx1b)。克隆 *RPL4* 启动子以人类细胞基因组 DNA 为模版,上下游引物分别为 CCCCCGGTGAT-TCTGATGCATGC 和 AGACAGCCACGCTCCTCTC AGC,将 *RPL4* 启动子插入 pCMV-Luc 质粒的 *Bgl* II 及 *Hind* III 酶切位点,构建成 pCMV-Luc-RPL4 启动子质粒,命名为 RPL4 GJ。在 RPL4 GJ 的 3'端及 5'端通过 *Kpn* I 及 *Bgl* II 酶切位点去除含有 TTCAT-TCT 碱基序列的作用片段,构建成 pCMV-Luc-RPL4 启动子突变质粒作对照,命名为 RPL4 Δ。此外,在 pCMV-Luc 质粒 3'端及 5'端通过 *Bgl* II 及 *Hind* III 酶切位点将其启动子区域去除,构建成 pCMV-Luc Δ 质粒作为阴性对照。

1.4 基因转染

转染前 24 h 将 293T 细胞传代,接种于 24 孔板中,500 μl/孔,待细胞增殖融合度达到 50% ~ 60% 时进行转染,转染方法参照 Lipofectamine 2000 说明

书,将不同剂量(0.1、0.5、1.0 μg)pCMV-Tag2B-Runx1b(pCMV-Tag2B 作为对照组)、0.1 μg 荧光素酶构建产物及 0.01 μg 海肾荧光素酶表达载体 Renilla 共转染。实验每组设 2 个平行孔,重复 3 次。转染后培养 20 h 后收获细胞。

1.5 荧光素酶报告基因分析

转染 20 h 后,将培养液移走,加入足够量的 1 × PBS 溶液,轻轻振荡并吹打细胞,将其转移到 1.5 ml 离心管中,4 °C,1 000 × g 离心 3 min,去除 1 × PBS 溶液,按照 Promega 公司的荧光素酶试剂盒说明,每个离心管中加入 100 μl 裂解缓冲液(1 × PLB)重悬细胞,室温充分反应 30 min,将 5 μl 的细胞裂解液加入反应管中,加入 50 μl 荧光素酶测定缓冲液(LARII),测定 10 s 的光输出值,此后加入 50 μl 荧光淬灭剂(Stop & Glo),淬灭萤火虫荧光素酶,同时启动海肾荧光素酶反应,测定 10 s 后的光输出值,两者的比值即为荧光素酶相对转录活性。

1.6 统计学处理

所有的结果数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据的统计采用 *t* 检验分析,使用统计学软件 SPSS 10.0 进行相应的统计学分析。

2 结 果

2.1 Runx1 蛋白抑制 *RPL4* 启动子的转录活性

为了研究 Runx1 蛋白对 *RPL4* 启动子转录活性的影响,将 RPL4 GJ 与 pCMV-Tag2B-Runx1b、Renilla 荧光素酶表达质粒在 293T 细胞中进行共转染,通过双荧光检测仪检测荧光素酶活性。结果显示,与对照组相比,0.1 μg 的 pCMV-Tag2B-Runx1b 可使 *RPL4* 启动子的转录活性降低约 30%,两者间差异有显著统计学意义($P < 0.01$,图 1、表 1)。

2.2 Runx1 蛋白对 *RPL4* 启动子转录抑制作用的量效关系

为了研究 Runx1 蛋白对 *RPL4* 启动子转录抑制作用的量效关系,将 pCMV-Tag2B-Runx1b 的剂量增加至 0.5 μg 及 1.0 μg,分别与 RPL4 GJ、Renilla 荧光素酶表达质粒共转染 293T 细胞,通过双荧光检测仪检测荧光素酶活性。结果显示,随着 Runx1b 剂量的增加,*RPL4* 启动子的转录活性较对照组分别降低约 66% 和 68%。可见,Runx1 蛋白对 *RPL4* 启动子的转录抑制作用呈剂量依赖性(图 2,表 2)。

2.3 Runx1 蛋白对 *RPL4* 启动子突变体无转录调控作用

本研究将相应剂量(0.1、0.5、1.0 μg)的 pCMV-Tag2B-Runx1b 分别与 RPL4 Δ、Renilla 荧光素

酶表达质粒在 293T 细胞中共转染,进一步观察 Runx1 蛋白与基因启动子相互作用的区域。荧光素酶活性测定结果显示,Runx1 蛋白对 RPL4 Δ 的转录活性的影响无统计学意义($P > 0.05$),即 Runx1 蛋白对该基因的启动子突变体无转录调控作用(图 2,表 3)。

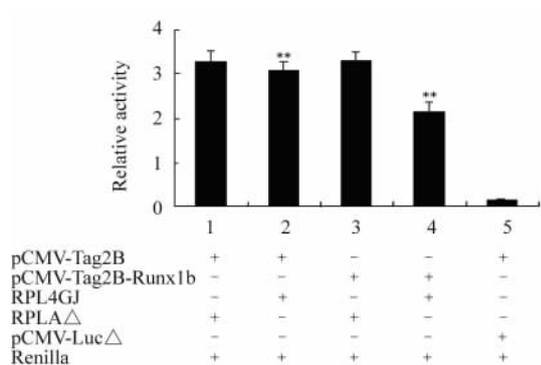


图 1 293T 细胞中 RPL4 的荧光素酶相对活性

Fig. 1 Relative luciferase activity of RPL4 in 293T cells

293T cells were transiently transfected with RPL4 luciferase plasmid and pCMV-Tag2B-Runx1b or pCMV-Tag2B empty plasmid together with internal Renilla plasmid. Luciferase activity was detected after 20 h incubation
1: Co-transfected pCMV-Tag2B with RPL4 Δ; 2: Co-transfected pCMV-Tag2B with RPL4 GJ; 3: Co-transfected pCMV-Tag2B-Runx1b with RPL4 Δ; 4: Co-transfected pCMV-Tag2B-Runx1b with RPL4 GJ; 5: Co-transfected pCMV-Tag2B with pCMV-Luc Δ as negative control
** $P < 0.01$ vs empty plasmid transfected cells. $n = 3$

表 1 Runx1 蛋白对 RPL4 转录的抑制作用

Tab. 1 Inhibitory effect of Runx1 on RPL4 transcription

Group	Target gene	Parallel well	Relative transcription activity($\bar{x} \pm s$)
Runx1b	RPL4	6	2.149 ± 0.230**
Control	RPL4	6	3.075 ± 0.223

Control: pCMV-Tag2B. ** $P < 0.01$ vs control

3 讨论

白血病是儿童最常见的恶性肿瘤,但其发病机制至今仍不清楚。在儿童白血病细胞中,至今已发现有 10 多种非随机的染色体易位,其中 Runx1 受累最多,约占儿童白血病病例的 30% 以上,如 t(12;21)(TEL-Runx1)、t(8;21)(Runx1-ETO/

MTG8)、t(16;21)(Runx1-MTG16)、t(3;21)(Runx1-Evi1)及 t(X;21)(Runx1-Fog2)等^[7]。在成人白血病患者中,Runx1 亦受累最多,其中 t(8;21)(q22;q22)是急性髓系白血病(acute myeloid leukaemia, AML)最常见的染色体易位^[8]。

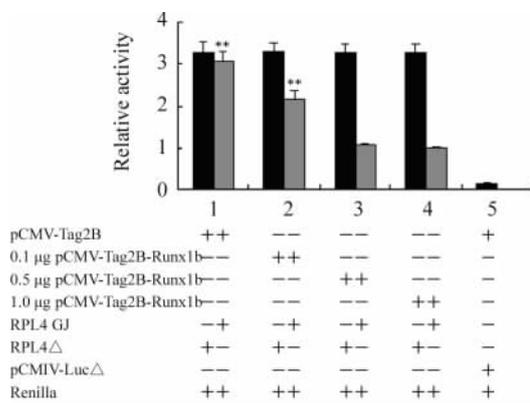


图 2 不同剂量 Runx1 蛋白对 RPL4 启动子转录活性的影响

Fig. 2 Influence of different doses of Runx1 on transactivation of RPL4

293T cells were transiently transfected with RPL4 luciferase plasmid and different doses of pCMV-Tag2B-Runx1b or pCMV-Tag2B empty plasmid together with internal Renilla plasmid. Luciferase activity was detected after 20 h incubation
1: Co-transfected pCMV-Tag2B with RPL4 Δ (black) and RPL4 GJ (grey), respectively; 2: Co-transfected 0.1 μg pCMV-Tag2B-Runx1b with RPL4 Δ (black) and RPL4 GJ (grey), respectively; 3: Co-transfected 0.5 μg pCMV-Tag2B-Runx1b with RPL4 Δ (black) and RPL4 GJ (grey), respectively; 4: Co-transfected 1.0 μg pCMV-Tag2B-Runx1b with RPL4 Δ (black) and RPL4 GJ (grey), respectively; 5: Co-transfected with pCMV-Tag2B and pCMV-Luc Δ as negative control
** $P < 0.01$ vs empty plasmid transfected cells. $n = 3$

表 2 不同剂量 Runx1 蛋白对 RPL4 的转录抑制作用

Tab. 2 Transcriptional effects of different doses of Runx1 on the transactivation of RPL4

Group	Target gene	Parallel well	Relative transcription activity($\bar{x} \pm s$)
0.1 μg Runx1b	RPL4	6	2.149 ± 0.230**
0.5 μg Runx1b	RPL4	6	1.037 ± 0.028**
1.0 μg Runx1b	RPL4	6	0.981 ± 0.043**
Control	RPL4	6	3.075 ± 0.223

Control: pCMV-Tag2B. ** $P < 0.01$ vs control

表3 不同剂量 Runx1 蛋白对 RPL4 Δ 转录活性的影响

Tab.3 Transcription effects of different doses of Runx1 on the transactivation of RPL4 Δ

Group	Target gene	Parallel well	Relative transcription activity($\bar{x} \pm s$)
0.1 μ g Runx1b	RPL4	6	3.316 \pm 0.186
0.5 μ g Runx1b	RPL4	6	3.280 \pm 0.208
1.0 μ g Runx1b	RPL4	6	3.288 \pm 0.193
Control	RPL4	6	3.284 \pm 0.247

Control:pCMV-Tag2B

3.1 Runx1 蛋白以剂量依赖方式抑制 RPL4 启动子的转录活性

本研究将 RPL4 GJ 与 pCMV-Tag2B-Runx1b、Renilla 荧光素酶表达质粒在 293T 细胞中共转染,通过双荧光检测仪检测荧光素酶活性,结果显示 Runx1b 蛋白抑制 RPL4 启动子的转录活性。此外,Runx1 蛋白与 RPL4 启动子间的量效关系实验结果显示,Runx1 蛋白对 RPL4 启动子的转录抑制作用呈剂量依赖性。由此可见,Runx1 蛋白是以剂量依赖方式抑制 RPL4 启动子的转录活性。

自从 1991 年鉴定出新型转录因子 Runx1 以来,Runx1 的结构及功能一直备受人们关注,目前已经成为研究热点。大量研究表明,Runx1 可作为一个转录激活因子,招募共激活因子及基本转录元件至靶基因的启动子位置激活基因的转录。研究人员发现,Runx1 除了具有转录激活能力外,还可作为转录抑制因子抑制基因的转录。这取决于启动子的结构、靶基因及细胞的环境。到目前为止,Runx1 相关的抑制因子复合物包括三种:转录共抑制因子 Groucho/TLE 复合物、mSin3A 复合物及细胞核受体 Ear-2 复合物^[9-10]。其中,Runx1 可通过 RD 区域的 VWRPY 基序招募转录抑制因子 Groucho/TLE。此外,Runx1 的 RD 区域可与细胞核受体 Ear-2 及 mSin3A 相互作用发挥抑制功能。其中,Ear-2 是细胞核激素受体超家族中的成员之一,它与 Runx1 的 C 末端 RD 区域相结合,阻止转录激活作用。mSin3A 则是通过招募组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDACs),与 Runx1 蛋白的 RD 区域相结合,阻止染色质解螺旋,从而发挥抑制作用,下调靶基因的转录功能。

此外,Runx1 蛋白可接受多种翻译后修饰,包括磷酸化、乙酰化、甲基化及泛素化,且其转录活性可

受这些翻译后修饰的影响。其中,有实验报道了 Runx1 与组蛋白赖氨酸甲基转移酶 SUV39H1 之间的相互作用,结果表明 SUV39H1 可与 Runx1 的 RHD 区域及 RD 区域上的多个赖氨酸位点相结合,从而发挥转录抑制作用。关于作用机制,一方面,SUV39H1 可能与 Runx1 的共激活因子竞争性结合 RHD 区域,阻止 Runx1 与 DNA 的结合;另一方面,它可与 Runx1 蛋白的转录抑制区域结合沉默靶基因的表达^[11-14]。

因此,关于 Runx1 蛋白对 RPL4 启动子的调控途径,推测存在以下两种可能:(1)Runx1 与 RPL4 启动子区域结合后,同时招募了转录共抑制因子。这些因子与 Runx1 蛋白的转录抑制区域相结合后发挥转录抑制作用,最终导致 RPL4 启动子的转录活性下降;(2)Runx1 蛋白在细胞中发生了甲基化修饰,其转录抑制区域与甲基转移酶相结合,使靶基因的转录受到抑制,最终导致 RPL4 及 SFRS 启动子的转录活性下降。

3.2 Runx1 蛋白通过结合 RPL4 启动子区域 TTCATTCT 位点发挥调控作用

本研究构建了 RPL4 Δ 突变体,该突变体缺失 TTCATTCT 作用区域。荧光素酶活性测定结果显示,Runx1 蛋白对 RPL4 Δ 转录活性的影响无统计学意义,提示 Runx1 蛋白对该基因启动子的突变体无转录调控作用,进一步支持野生型 Runx1 蛋白是通过 TTCATTCT 区域与 RPL4 启动子结合,从而发挥其转录调控作用。

Runx1 基因编码异二聚体转录因子的 α 亚基。该亚基是一个核蛋白,可与 CBF β 形成异二聚体结构。Runx1 蛋白中研究最多的功能结构域即为 RHD 作用区域。该结构域由 128 个氨基酸组成,具有高度保守性,RHD 可介导 Runx1 与 β 亚单位的异二聚体化并促进其与 DNA 的结合。Runx1 几乎全部通过 RHD 区域与靶基因 DNA 之间相互结合,从而发挥其转录调控作用。

因此,本实验推测 Runx1-RPL4 的转录调控模型为:Runx1 蛋白的 RHD 区域与 RPL4 基因启动子上的 TTCATTCT 区域相结合,同时招募转录共抑制因子或赖氨酸甲基转移酶与 Runx1 的 RD 区域相互结合,进而发挥转录抑制作用,导致 RPL4 基因启动子的转录活性下降。

3.3 未来的研究方向

在人类肿瘤中,越来越多的研究表明,核糖体蛋白的异常表达与肿瘤的发生密切相关。核糖体蛋白具有广泛的生物学功能,主要参与核糖体的组装及

蛋白质的合成,参与细胞周期进程、细胞生长、凋亡及 DNA 损伤反应等生理过程^[15]。该过程在肿瘤细胞中常常表现异常,导致蛋白质合成速率增加,细胞生长速度及细胞周期进展加快。*RPL4* 基因隶属于核糖体蛋白家族,定位于 15q22,编码 60 S 核糖体亚基的一个蛋白组分;它是核糖体蛋白 L4E 家族的成员,表达于胞质中,可与 RNA 结合,参与核糖体结构形成和蛋白质的生物合成。近年来,由于基因芯片技术等高通量技术的大量应用,人们鉴定出多个在肿瘤中高表达的核糖体蛋白,其中,*RPL4* 在结肠癌、卵巢癌、胃癌及肝癌细胞中均存在过量表达^[16-19],可见,该基因在肿瘤的发生发展中具有十分关键的作用。

儿童白血病细胞中,Runx1 参与了多种非随机的染色体易位,如 t(12;21)(TEL-Runx1)、t(8;21)(Runx1-ETO/MTG8)等。由此可见,进一步深入研究 Runx1 融合基因对 *RPL4* 基因启动子的转录调控作用,将更有助于探究两者间的相互作用,进一步揭示白血病的发病机制。

致谢:本文承蒙中国科学院遗传与发育生物研究所、清华大学分子生物实验室在实验技术及设备方面给予的大力支持,特此致谢!

[参 考 文 献]

- [1] Miyoshi H, Shimizu K, Kozu T, *et al.* t(8;21) breakpoints on chromosome 21 in acute myeloid leukemia are clustered within a limited region of a single gene, AML1 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88(23): 10431-10434.
- [2] Okuda T, van Deursen J, Hiebert SW, *et al.* AML1, the target of multiple chromosomal translocations in human leukemia, is essential for normal fetal liver hematopoiesis [J]. *Cell*, 1996, 84(2): 321-330.
- [3] Kurokawa M. AML1/Runx1 as a versatile regulator of hematopoiesis: regulation of its function and a role in adult hematopoiesis [J]. *Int J Hematol*, 2006, 84(2): 136-142.
- [4] Okumura AJ, Peterson LE, Lo MC, *et al.* Expression of AML/Runx and ETO/MTG family members during hematopoietic differentiation of embryonic stem cells [J]. *Exp Hematol*, 2007, 35(6): 978-988.
- [5] North TE, de Bruijn MF, Stacy T, *et al.* Runx1 expression marks long-term repopulating hematopoietic stem cells in the midgestation mouse embryo [J]. *Immunity*, 2002, 16(5): 661-672.
- [6] Ono M, Yaquchi H, Ohkura N, *et al.* Foxp3 controls regulatory T-cell function by interacting with AML1/Runx1 [J]. *Nature*, 2007, 446(7136): 685-689.
- [7] Yamagata T, Maki K, Mitani K. Runx1/AML1 in normal and abnormal hematopoiesis [J]. *Int J Hematol*, 2005, 82(1): 1-8.
- [8] Kurokawa M, Hirai H. Role of AML1/Runx1 in the pathogenesis of hematological malignancies [J]. *Cancer Sci*, 2003, 94(10): 841-846.
- [9] Lutterbach B, Westendorf JJ, Linggi B, *et al.* A mechanism of repression by acute myeloid leukemia-1, the target of multiple chromosomal translocations in acute leukemia [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(1): 651-656.
- [10] Levanon D, Goldstein RE, Bernstein Y, *et al.* Transcriptional repression by AML1 and LEF-1 is mediated by the TLE/Groucho corepressors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(20): 11590-11595.
- [11] Aikawa Y, Nguyen LA, Isono K, *et al.* Roles of HIPK1 and HIPK2 in AML1- and p300-dependent transcription, hematopoiesis and blood vessel formation [J]. *EMBO*, 2006, 25(17): 3955-3965.
- [12] Yamaguchi Y, Kurokawa M, Imai Y, *et al.* AML1 is functionally regulated through p300-mediated acetylation on specific lysine residues [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(15): 15630-15638.
- [13] Chakraborty S, Sinha KK, Senyuk V, *et al.* SUV39H1 interacts with AML1 and abrogates AML1 transactivity. AML1 is methylated *in vivo* [J]. *Oncogene*, 2003, 22(34): 5229-5237.
- [14] Reed-Inderbitzin E, Moreno-Miralles I, Vanden-Eynden SK, *et al.* Runx1 associates with histone deacetylases and SUV39H1 to repress transcription [J]. *Oncogene*, 2006, 25(42): 5777-5786.
- [15] Amsterdam A, Sadler KC, Lai K, *et al.* Many ribosomal protein genes are cancer genes in zebrafish [J]. *PLoS Biol*, 2004, 2(5): 690-698.
- [16] Chatterjee M, Mohapatra S, Ionan A, *et al.* Diagnostic markers of ovarian cancer by high-throughput antigen cloning and detection on arrays [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(2): 1181-1190.
- [17] Kim NS, Hahn Y, Oh JH, *et al.* Gene cataloging and expression profiling in human gastric cancer cells by expressed sequence tags [J]. *Genomics*, 2004, 83(6): 1024-1045.
- [18] Lee CH, Bang SH, Lee SK, *et al.* Gene expression profiling reveals sequential changes in gastric tubular adenoma and carcinoma *in situ* [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(13): 1937-1945.
- [19] Yoon SY, Kim JM, Oh JH, *et al.* Gene expression profiling of human HBV- and/or HCV-associated hepatocellular carcinoma cells using expressed sequence tags [J]. *Int J Oncol*, 2006, 29(2): 315-327.

[收稿日期] 2008 - 08 - 24 [修回日期] 2008 - 09 - 16
[本文编辑] 韩 丹