

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.23.004

## 口腔鳞状细胞癌和颊黏膜癌前病变基因表达和细胞通路的差异性研究\*

张福军, 张国栋, 杨凯<sup>△</sup>, 梅杰

(重庆医科大学附属第一医院口腔颌面外科, 重庆 400016)

**[摘要]** **目的** 筛选出口腔鳞状细胞癌与颊黏膜癌前病变组织中的差异基因, 并进行生物信息分析, 探讨癌前病变转向鳞癌的分子机制。**方法** 通过二羟甲基丁酸(DMBA)诱导金黄地鼠来建立颊黏膜癌前病变和鳞癌模型, 提取病变组织总 RNA, 合成单标 Cy3 荧光标记的 cRNA, 采用基因芯片技术, 筛选出两组模型口腔组织中表达差异的基因, 对筛选出的差异基因进行功能分类(GO)和信号通路(Pathway)分析, 最后用 RT-PCR 验证其中部分差异基因。**结果** 口腔鳞状细胞癌与颊黏膜癌前病变模型组织相比, 有 1 981 条基因差异表达(120 条为未知基因), 其中 1 037 条为上调基因, 944 条为下调基因。GO 分析显示差异表达基因包括代谢、细胞结构、机体发育等 14 类相关的功能基因。通路分析结果显示有 9 条通路发生异常改变, 在已知的 1 861 条差异表达基因中, 有 14 条基因富集于以上 9 条改变的通路上。**结论** 颊黏膜癌前病变恶性转变到鳞癌共有 1 981 条基因产生差异表达和 9 条通路发生异常改变, 其中 Casp3 和 CXCL12 等 14 条基因参与了改变细胞通路, 很可能就是癌前病变恶性转变成鳞癌的重要致病基因。

**[关键词]** 口腔; 癌前病变; 肿瘤; 鳞状细胞; 基因; 通路**[中图分类号]** R739.81**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)23-3180-03

The gene expression of oral squamous cells carcinomas and buccal mucosa premalignant lesions and the research on the difference of cellular pathways\*

Zhang Fujun, Zhang Guodong, Yang Kai<sup>△</sup>, Mei Jie

(Department of Oral and Maxillofacial Surgery, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**[Abstract]** **Objective** To screen and analysis the virulent genes and pathways in golden hamster cheek pouch mucosa precancerous lesions and squamous cell carcinomas. **Methods** The experimental models of golden hamster cheek pouch mucosa precancerous lesions and squamous cell carcinomas were induced by DMBA. The total RNA of precancerous lesions and squamous cell carcinomas of golden hamster cheek pouch was extracted and the cRNA was labeled by Cy3. Then gene chip was used to screen the differentially expressed genes. At last, the Gene Ontology and pathway was used to analysis the biology function of important virulent genes. Meanwhile, we confirmed the correctness of the results by using the RT-PCR. **Results** A total of 1 981 differentially expressed genes were detected during the process from precancerous lesions to squamous cell carcinomas (120 genes remained known). One thousand and thirty-seven genes were up-regulated and 944 genes down-regulated. GO analysis showed that these differentially expressed genes mainly related to the macromolecular metabolism, signal transduction and so on. Pathway analysis showed that 9 pathways were significant changes. 14 genes were enriched in above 9 change pathways. **Conclusion** There were 1 981 differentially expressed genes and 9 abnormal changes pathways during the process from precancerous lesions to squamous cell carcinomas, in which 14 differentially expressed genes led to changes in cellular pathways. These genes might be likely to have the important pathogenic genes in the process of transformation.

**[Key words]** oral; precancerous lesion; neoplasms, squamous cell; gene; pathway

口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)是一类口腔颌面部恶性肿瘤, 近些年其发病率呈逐年递增趋势, 临床调查显示, 口腔癌患者中大约有 90% 患有该病<sup>[1-3]</sup>, 因而关于口腔黏膜癌变机制的研究是当今口腔科学一个重要研究方向。目前有研究表明约有 80% 的口腔癌是由癌前病变发展而来的<sup>[4]</sup>。口腔癌前病变转变成 OSCC 的过程是由多基因共同作用的, 需要历经不同阶段和步骤。这是一个非常复杂的病理过程, 在不同的阶段中, 不同基因所发挥的作用也不同。目前, 临床上还未研究出药物能有效地阻断或干预口腔癌前病变的发生, 从分子水平上研究能够干预或阻止癌前病变的发展, 对于预防和治疗口腔癌具有重要意义<sup>[5]</sup>。本文通过对颊鳞癌

和癌前病变组织中总 RNA 的提取, 合成并片段化 cRNA, 用 Agilent 全基因表达谱芯片(包含 41 000 条基因/ESTs)筛选出口腔颊黏膜癌前病变向鳞癌转变过程中差异表达基因, 并对这些基因进行功能分类和信号通路方面的分析, 本文从生物过程、分子功能和信号通路 3 个方面研究了口腔黏膜癌前病变转变成鳞癌过程的分子机制, 为进一步研究口腔黏膜癌前病变发生的分子机制和阻止其癌变提供一定的理论依据。

**1 材料与方法**

**1.1 材料** 实验对象: 金黄地鼠采购于成都生物制品研究所; 主要仪器: 二羟甲基丁酸(DMBA, 美国 Sigma 公司)、Agilent 扫描仪(G2565AA, Agilent 公司)、单标 Agilent 大鼠全基因芯

\* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30872925)。 作者简介: 张福军(1970—), 副主任医师, 硕士, 主要从事口腔颌面-头颈肿瘤的防治研究。 <sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: cqfyyk@aliyun.com。

片(美国 Agilent 公司)、PCR 仪(PTC-100, MJ 公司)、杂交炉(G-2545A, Agilent 公司)、分光光度计(ND1000, Nanodrop 公司)、RT-PCR 试剂盒(Bioflux, 日本)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立 挑选出 12 只, 6~8 周龄, 体质量 90~120 g 的健康金黄地鼠作为研究对象, 其中雌雄各半数。用随机数字表法分为两组, 即 I 组和 II 组(每组 6 只)。每周 1、3、5 下午用 0.5%DMBA 丙酮液涂擦金黄地鼠双侧颊囊。在第 6 周时, 处死 I 组地鼠, 作为颊癌前病变组; 在第 12 周时, 处死 II 组, 作为颊鳞癌组。取两组地鼠颊部病变组织, 每只所取病变组织平均分为 2 份, 一份立即放入液氮中冷藏保存, 另一份用 10% 福尔马林液固定, 石蜡包埋, 切片, 苏木素-伊红(HE)染色, 最后在光镜下观察两组的病变情况。

1.2.2 总 RNA 的提取及纯化 各取两组 100 mg 的病变组织加入 1 mL TRIzol, 按照 TRIzol 试剂盒(Invitrogen 美国)说明书进行操作, 分别提取模型颊癌前病变组织和颊鳞癌组织的总 RNA。再用胍盐法对两组提取得到的总 RNA 分别进行纯化, 按照试剂盒说明书进行操作。最后再将两组提取得到的相同量的总 RNA 溶解在 Mili-Q 水中, 并置于 -80 °C 冷藏室内, 备用。用 A260×40 ng/μL 公式计算 RNA 浓度。

1.2.3 cRNA 的标记与合成 对提取得到的样本 RNA, 使用逆转录法做荧光标记, 并用 Cy3 单标标记。具体方法和步骤按试剂盒操作说明进行, 合成两组的 cRNA 后再用 aaUTP 标记, 然后用胍盐法纯化标记合成的 cRNA, 最后用分光光度计测定浓度后再次进行纯化。

1.2.4 cRNA 样品片段化和芯片杂交 将 Cy3 标记的 I 组和 II 组的 cRNA 分别各取 875 ng, 按试剂盒操作说明的方法和步骤进行片段化, 然后将片段化溶液 100 μL 和芯片滚动杂交 17 h(65 °C, 10 r/min)。

1.2.5 芯片扫描和数据分析 用 Agilent 荧光扫描仪(G2565AA)对洗涤后的芯片进行扫描, 得到的数据用特征提取识别法进行归一化处理。两张芯片均达到成功标准, 它们的平均信号强度和背景比值均不小于 3。以差异表达倍数(Ratio)≥2 和 Ratio≤0.5 为阈值, 筛选出差异表达基因。

1.2.6 生物信息学分析 应用 Genespring 10.0 软件进行基因功能分类分析, 以及应用 KEGG、GENMAPP、BIOCARTA 3 个数据库对其生物学通道的信号通路进行分析, 筛选有异常改变的信号通路。

1.2.7 逆转录 PCR(RT-PCR)法验证芯片结果 在芯片结果中按随机数字表法随机选取上调基因 Sparc 和下调基因 Casp3 行 RT-PCR 验证。方法和步骤按说明书使用 Invitrogen 的 TRIzol 试剂盒进行。采用 Primeor3.0 设计 Sparc、Casp3 和内参基因 β-actin 的引物, 见表 1。

表 1 验证基因 RT-PCR 引物

基因	基因文库号	引物序列(5'-3')	产物长度(bp)
Casp3	NP_037054	F: ACCCTGAAATGGGCTTGT	348
		R: GTTTCGGCTTTCCAGTCA	
Sparc	NM_012656	F: GTGCCAGGACCCACCAG	504
		R: ATGGGAATGAGGGGAGCG	
β-actin	NM_031144.2	F: GTAAAGACCTCTATGCCAACA	227
		R: GGACTCATCGTACTCTCTGCT	

2 结果

2.1 动物模型的建立 通过 HE 染色, 观察两组的病变情况, 6 例癌前病变(I 组)中有 5 例为中度异常增生, 1 例为轻度异常增生, 本实验选用这 5 例中度异常增生组织进行实验; II 组中 6 例均为鳞状细胞癌。

2.2 RNA 浓度和纯度的检测 260 nm 处读值为 1 表示 RNA 浓度为 40 ng/μL。A260/A280 比值为 2.05, 证明是较纯的 RNA, 符合 Agilent 芯片检测标准。

2.3 芯片杂交结果 芯片金黄地鼠颊部癌前病变到鳞癌的恶性转变中, 有 1 981 条基因发生差异表达, 其中有 1 861 条为已知基因, 120 条为未知基因; 上调的基因共 1 037 条, 下调的基因共 944 条。

2.4 功能分类结果 通过对差异表达的基因进行功能分类, 结果发现, 差异表达的 1 861 条基因可分为 14 类功能基因(表 2), 其中与代谢相关的差异基因最多, 共有 483 条, 占总数的 24.38%, 其次是与机体发育相关的差异基因, 有 391 条, 占 19.74%, 与细胞结构相关基因有 311 条, 占 15.70%。

表 2 差异表达基因分类

Gene Ontology 分类	上调基因数目(n)	下调基因数目(n)	总数(n)	占总基因百分比(%)
机体发育相关基因	179	212	391	19.74
免疫相关基因	41	52	93	4.69
应激相关基因	72	107	179	9.04
转录相关基因	25	9	34	1.72
细胞定位相关基因	19	32	51	2.57
物质运输相关基因	47	15	62	3.13
细胞结构相关基因	133	178	311	15.70
细胞黏附相关基因	17	24	41	2.07
细胞发育相关基因	13	19	32	1.62
细胞分化相关基因	23	8	31	1.56
细胞周期相关基因	7	3	10	0.50
细胞凋亡相关基因	6	12	18	0.91
信号传导相关基因	83	42	125	6.31
代谢相关基因	298	185	483	24.38
功能未知的基因	74	46	120	6.06

同一基因可能会涉及不同的功能。

2.5 通路分析结果 用 Pathway 对 1 861 条已知差异表达基因进行通路分析, 发现有 9 条通路发生异常改变, 但在以上 1 861 条基因中只有 14 条基因在这 9 条通路上富集, 见表 3。

表 3 Pathway 通路分析

通路	gene symbol
趋化因子受体黏附活性通路	上调: Cc15; CXCL12; Cc124
	下调: 0
G <sub>1</sub> /S 期过渡相关调控通路	上调: 0
	下调: Dhfr; Tmys
Caspase-3 激活通路	上调: 0
	下调: Casp3
脂蛋白代谢通路	上调: Apoe; Alb
	下调: 0
血小板细胞溶质钙升高相关反应	上调: Alb; Fn1, Serping1; Sparc
	下调: 0

续表 3 Pathway 通路分析

通路	gene symbol
细胞表面整联蛋白相互作用通路	上调:Vcam1; Vtn; Fn1 下调:0
细胞色素 P450 代谢通路	上调:0 下调:Cyp2b13
花生四烯酸代谢通路	上调:0 下调:Cyp2b13
E2F 转录因子对 DNA 复制调节通路	上调:0 下调:Dhfr; Tyms

**2.6 RT-PCR 验证结果** 通过 RT-PCR 验证芯片杂交结果的可靠性,随机挑选出 Sparc 基因(上调)和 Casp3 基因(下调)进行验证。测得两条基因的激光密度比率值(表 4)。结果 Sparc 基因 A 值比值增大,Casp 基因 A 值比值减小,说明 Sparc 表达量上调,Casp 表达量下调,这与芯片结果一致。

表 4 RT-PCR 与芯片结果的比较

基因名称	目的基因 mRNA / $\beta$ -actin( $\bar{x}\pm s$ )	mRNA ( $\bar{x}\pm s$ )	B/A 比值	芯片 比值
Sparc	0.115 7 $\pm$ 0.003 1	0.502 3 $\pm$ 0.013 1	4.34	4.70
Casp3	0.440 1 $\pm$ 0.002 4	0.146 7 $\pm$ 0.000 8	0.32	0.30 <sup>a</sup>

A:癌前病变;B:鳞癌;<sup>a</sup>:芯片中比值( $-3.2$ )的倒数绝对值。

### 3 讨 论

口腔鳞状细胞癌是当前发病率较高的口腔颌面部恶性肿瘤,研究发现,口腔黏膜癌前病变最终恶化成为鳞癌的比例有 9%~19%<sup>[6-8]</sup>,因而研究口腔黏膜癌前病变与鳞癌 RNA 表达谱的差异,以及差异基因功能分析和生物学通道,对于更进一步的研究干扰或阻止口腔黏膜癌前病变发生癌变具有深远意义<sup>[9]</sup>。早在 2010 年,张国栋等<sup>[10]</sup>即利用全基因芯片技术对口腔颊黏膜癌前病变发生的相关致病基因进行了筛选,研究发现:口腔颊黏膜癌前病变的发生与众多基因表达的改变有关。本文采用全基因表达谱芯片分析比较了由 DMBA 诱导的金黄地鼠颊癌前病变和颊鳞癌模型间的差异表达基因,结果证明,颊黏膜癌前病变与颊鳞癌间有 1 981 条基因发生差异表达,其中有 1 861 条为已知基因。这些已知的差异表达基因共涉及 14 类功能基因,多数与代谢、机体发育和细胞结构等相关。与代谢有关的差异基因有 483 个,其中表达上调的有 298 个,下调的有 185 个,说明鳞癌细胞代谢增强;与机体发育相关的基因有 391 个,有 179 个表达量上调,212 个下调;与细胞结构相关的基因有 311 个,其中 133 个表现上调,178 个为下调,此外,还涉及免疫、转录、应激、细胞周期、细胞发育、物质运输、信号传导、细胞分化、细胞定位、细胞凋亡、细胞黏附等 11 类功能基因<sup>[11]</sup>,说明口腔癌前病变是由多个生命过程共同调控发展最终成为鳞癌的。

本研究有进一步对这些已知的差异表达基因进行了通路分析,结果发现,发生异常改变的通路有 9 条,但 1 861 条基因中,仅有 14 条基因富集在这 9 条通路上。此外,本研究还发现,这些差异表达的基因与改变的通路间有着错综复杂的关系,有些通道与多个基因有关,如趋化因子受体黏附活性信号通路同时受 Cc15、CXCL12、Cc124 基因调控,Vcam1、Vtn、Fn1 基因又同时富集在细胞表面整联蛋白相互作用信号通路等,这两个通道的改变与癌细胞的转移和侵袭有着密切的关系,6 个

基因均表现上调,有利于癌细胞的转移并侵袭正常细胞。同时,有些基因与多个通路有关,如 Cyp2b13 基因同时与花生四烯酸代谢通路和细胞色素 P450 代谢通路有关<sup>[12-14]</sup>,Cyp2b13 基因表达量下调,调控了花生四烯酸代谢通路,抑制了花生四烯酸代谢物的生成,从而阻碍了机体对癌细胞生长和转移的抑制作用。上述研究结果进一步说明了癌前病变向鳞癌恶性转变是受多条基因调控的复杂通路调控的。

本研究从基因和通路两个层面全面研究了口腔黏膜癌前病变向鳞癌恶性转变的改变情况,为进一步的深入研究提供了方向。根据上述研究结果,可初步推出(Vtn、Fn1、Apoe、Alb、Serping1、Casp3、Cc15、CXCL12、Cc124、Dhfr、Tyms、Vcam1、Sparc、Cyp2b13)等相关基因可能参与了由 DMBA 诱导的金黄地鼠黏膜癌前病变转变成为鳞癌的生物过程,通过这些功能基因的异常表达,致使它们调控的信号通道发生改变,从而促进口腔黏膜癌前病变最终发展成为鳞癌。深入研究以上 14 个基因及相关的 9 条信号通路对于预防和治疗口腔癌前病变转变成为鳞癌具有重要的指导意义<sup>[15]</sup>。

### 参考文献

- [1] 汤根兄,吴国英.口腔黏膜癌前病变和口腔鳞状细胞癌中 Stat3 的表达及意义[J].口腔医学,2008,28(5):256-258.
- [2] Kurokawa A, Nagata M, Kitamura N, et al. Diagnostic value of integrin alpha3, beta4, and beta5 gene expression levels for the clinical outcome of tongue squamous cell carcinoma[J]. Cancer, 2008, 112(6):1272-1281.
- [3] Kademani D, Bell RB, Schmidt BL, et al. Oral and maxillofacial surgeons treating oral cancer: a preliminary report from the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons Task Force on Oral Cancer[J]. J Oral Maxillofac Surg, 2008, 66(10):2151-2157.
- [4] 高扬,周延民,张颖奇,等. STAT3、EGF 和 EGFR 在口腔鳞癌中的表达及其意义[J]. 口腔医学研究, 2009, 25(3): 258-261.
- [5] 平飞云,孙钢,何虹. SELDI-TOF-MS 技术在口腔黏膜癌前病变和口腔鳞癌的唾液诊断模型中的应用[J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26(1):203-208.
- [6] Yang K, Zhang G, Mei J, et al. Screening and analysis of pathogenic genes during DMBA-induced buccal mucosa carcinogenesis in golden hamsters[J]. Oncol Rep, 2010, 23(6):1619-1624.
- [7] 孙乐刚,刘玲,王静静,等. 口腔鳞癌中转化生长因子  $\beta$ 1 mRNA 的表达及其与血管生成的关系[J]. 实用口腔医学杂志, 2013, 29(1):40-43.
- [8] Alves Pereira KM, Soares RC, Oliveira MC, et al. Immunohistochemical staining of Langerhans cells in HPV-positive and HPV-negative cases of oral squamous cells carcinoma[J]. J Appl Oral Sci, 2011, 19(4):378-383.
- [9] 林耿冰,贾静,林李嵩,等. 口腔鳞癌中 survivin、cyclinD1 和 p53 基因的表达及其相关性[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2009, 25(12):1194-1195,1198.
- [10] 张国栋,杨凯,梅杰. 用全基因芯片技术对金黄地鼠口腔颊黏膜癌前病变相关基因的筛选和分析[J]. 重庆医科大学学报, 2010, 35(5):706-710.
- [11] 邱明,冯志刚,柳宏志,等. S100A4 基因(下转第 3186 页)

本实验结果显示,EGCG 可以减少 MIN6 胰岛细胞凋亡率,并且增加细胞活性以及提高细胞胰岛素分泌功能,说明 EGCG 可保护 MIN6 细胞的功能,减轻 IL-1 $\beta$  诱导的胰岛细胞凋亡。不同浓度 EGCG 与 IL-1 $\beta$  作用的细胞孵育后都表现出 ATP 的含量明显增加,线粒体膜电位也升高,同时活性氧降低,表明 EGCG 可通过增加抗氧化活性,清除氧自由基,减轻细胞的氧化应激,抑制胰岛细胞的氧化损伤,保护线粒体功能,从而减少 MIN6 细胞凋亡,达到保护胰岛细胞的作用。Lee 等<sup>[18]</sup> 实验结果发现 EGCG 促进脂肪细胞 3T3-L1 的分化的机制与可增加 ROS 生成而,与本研究结果不一致,推测可能是与是实验采用不同的细胞种类有关。

## 参考文献

- [1] 翁建平. 对糖尿病流行病学、循证医学及基础研究的探索[J]. 中山大学学报:医学科学版,2010,31(2):166-171,178.
  - [2] Santin I, Eizirik DL. Candidate genes for type 1 diabetes modulate pancreatic islet inflammation and  $\beta$ -cell apoptosis[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2013, 15(3):71-81.
  - [3] Wali JA, Masters SL, Thomas HE. Linking metabolic abnormalities to apoptotic pathways in Beta cells in type 2 diabetes[J]. *Cells*, 2013, 2(2):266-283.
  - [4] Susick L, Veluthakal R, Suresh MV, et al. Regulatory roles for histone deacetylation in IL-1 $\beta$ -induced nitric oxide release in pancreatic beta-cells[J]. *J Cell Mol Med*, 2008, 12(5A):1571-1583.
  - [5] Dula SB, Jecmenica M, Wu R, et al. Evidence that low-grade systemic inflammation can induce islet dysfunction as measured by impaired Calcium handling[J]. *Cell Calcium*, 2010, 48(2/3):133-142.
  - [6] Mbaya E, Oulès B, Caspersen C, et al. Calcium signalling-dependent mitochondrial dysfunction and bioenergetics regulation in respiratory chain Complex II deficiency[J]. *Cell Death Differ*, 2010, 17(12):1855-1866.
  - [7] Verma G, Bhatia H, Datta M. JNK1/2 regulates ER-mitochondrial Ca<sup>2+</sup> cross-talk during IL-1 $\beta$ -mediated cell death in RINm5F and human primary  $\beta$ -cells[J]. *Mol Biol Cell*, 2013, 24(12):2058-2071.
  - [8] Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase[J]. *Nat Med*, 2002, 8(11):1288-1295.
  - [9] Hase M, Babazono T, Karibe S, et al. Renol protective effects of tea catechin in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Int Urol Nephrol*, 2006, 38(3/4):693-699.
  - [10] Yao K, Ye P, Zhang L, et al. Epigallocatechin gallate protects against oxidative stress-induced mitochondria-dependent apoptosis in human lens epithelial cells[J]. *Mol Vis*, 2008, 14(1):217-223.
  - [11] Han MK. Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, suppresses cytokine-induced pancreatic beta-cell damage[J]. *Exp Mol Med*, 2003, 35(2):136-139.
  - [12] 郑倩, 刘红, 曹弟勇, 等. 虫草菌丝提取物对白介素 1 $\beta$  损伤的胰岛细胞损伤保护作用的实验研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2008, 14(10):765-767.
  - [13] 郑倩, 刘红, 曹弟勇, 等. 血红素加氧酶/一氧化碳系统在 1,6-二磷酸果糖抗 IL-1 $\beta$  致胰岛细胞凋亡中的作用[J]. 中国应用生理学杂志, 2009, 25(4):548-552.
  - [14] Prodiut-Zengaffinen N, Davis-Lameloise N, Perreten H, et al. Increasing uncoupling protein-2 in pancreatic beta cells does not alter glucose-induced insulin secretion but decreases production of reactive oxygen species[J]. *Diabetologia*, 2007, 50(1):84-93.
  - [15] Ortsäter H, Grankvist N, Wolfram S, et al. Diet supplementation with green tea extract epigallocatechin gallate prevents progression to glucose intolerance in db/db mice[J]. *Nutr Metab (Lond)*, 2012, 9:11.
  - [16] Raza H, John A. In vitro protection of reactive oxygen species-induced degradation of lipids, proteins and 2-deoxyribose by tea catechins[J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45(10):1814-1820.
  - [17] Meng Q, Velalar CN, Ruan R. Regulating the age-related oxidative damage, mitochondrial integrity, and antioxidative enzyme activity in Fischer 344 rats by supplementation of the antioxidant epigallocatechin-3-gallate[J]. *Rejuvenation Res*, 2008, 11(3):649-660.
  - [18] Lee H, Lee YJ, Choi H, et al. Reactive oxygen species facilitate adipocyte differentiation by accelerating mitotic clonal expansion[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(16):10601-10609.
- (收稿日期:2015-02-08 修回日期:2015-07-16)
- 
- (上接第 3182 页)
- 与口腔鳞癌相关性分析[J]. 口腔医学研究, 2011, 27(7):630-632.
- [12] Qu Y, Qu H, Luo M, et al. MicroRNAs related polymorphisms and genetic susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Mol Genet Genomics*, 2014, 289(6):1123-1130.
  - [13] 马杰, 朴松林, 陈红应, 等. 口腔鳞状细胞癌组织中 USP22 的表达及其意义[J]. 口腔医学研究, 2014, 30(1):37-39, 43.
  - [14] Bowles DW, Senzer N, Hausman D, et al. A multicenter phase 1 study of PX-866 and cetuximab in patients with metastatic colorectal carcinoma or recurrent/metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. *Invest New Drugs*, 2014, 32(6):1197-1203.
  - [15] 王任钦, 唐瞻贵. Skp2 和 P27 在口腔疣状癌中表达的研究[J]. 口腔医学研究, 2014, 30(3):230-231, 234.
- (收稿日期:2015-02-18 修回日期:2015-07-15)