DOI:10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2004.0088

O^6- 烷基鸟嘌呤 -DNA 烷基转移酶基因多态性与肿瘤易感性的关系

孙 莉[1]，何晓阳[2]，江 伟[3]，洪钧言[2]

(1. 桂林医学院组织胚胎学教研室，广西 桂林 541004；2. 美国新泽西州医科牙科大学公共卫生学院/环境与职业健康研究所，美国 新泽西 08854；3. 桂林医学院附属医院中医科，广西 桂林 541004)

摘 要：【目的】通过比较表达在中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中野生型和突变型 O^6- 烷基鸟嘌呤 -DNA 烷基转移酶(AGT)对二氯乙基亚硝脲(BCNU)细胞毒性作用的反应差异，探测 AGT 错译突变体的功能意义。【方法】将野生型及不同突变型 AGT cDNA 分别转染 CHO 细胞，选择稳定表达 AGT 的细胞株，用 BCNU 作用细胞，以存活细胞簇的数量作为判断细胞毒性标准。【结果】表达 AGT Leu84Phe 和 Leu84Phe/Ile143Val/Lys178Arg 突变体的细胞对 BCNU 的毒性作用抵抗力显著减弱，与此不同的是，其余突变体 Ile143Val、Lys178Arg、Ser184Asn 以及 Ile143Val/Lys178Arg 对 BCNU 毒性作用的抵抗性较野生型 AGT 无明显差异。【结论】AGT Leu84Phe 突变体在修复 BCNU 造成的 DNA 损伤过程中酶活性降低。提示 AGT 基因多态性可能与肿瘤易感性有关。

关键词：O^6- 烷基鸟嘌呤 -DNA 烷基转移酶；多态现象(遗传学)；仓鼠；卡氮芥

中图分类号：R711.75 文献标识码：A 文章编号：1672-3554(2004)04-0330-04

Relationship Between Genetic Polymorphisms of Human O^6-Alkylguanine-DNA Alkyltransferase (AGT) Gene and Susceptibility to Tumors

SUN Li[1], HE Xiao-yang[2], JIANG Wei[3], HONG Jun-yan[2]

(1. Department of Histology and Embryology, Guilin Medical College, Guilin 541004, China; 2. School of Public Health/Environmental and Occupational Health Sciences Institute, University of Medicine and Dentistry of New Jersey, NJ 08854, USA; 3. Department of TCM, Affiliated Hospital, Guilin Medical College, Guilin 541004, China)

Abstract: 【Objective】To determine the functional significance of several missense O^6- alkylguanine-DNA alkyltransferase (AGT) variants by comparing the toxic response to 1, 3-bis-(2-chloroethyl)-1-nitrosourea (BCNU) between wild-type and variant AGT expressed by Chinese hamster ovary (CHO) cells. 【Methods】Wild-type and variant AGT cDNAs were used to transfect the CHO cells. The stable transfectants were then treated with BCNU. Cytotoxicity was determined by the number of surviving colonies. 【Results】The CHO cells expressing the AGT Leu84Phe and Leu84Phe/ Ile143Val/ Lys178Arg variants were less resistant to BCNU-induced cytotoxicity. In contrast, there was no difference in the toxic response to BCNU between wild-type AGT and the other AGT variants including Ile143Val, Lys178Arg, Ser184Asn, and le143Val/Lys178Arg. 【Conclution】AGT Leu84Phe variant has a reduced activity in repairing BCNU-induced DNA damage, indicating that AGT genetic polymorphism may be related to the susceptibility of tumors.

Key words: O^6-alkylguanine-DNA alkyltransferase; polymorphisms (genetics); hamster carmustine

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2004, 25(4): 330 – 333, 346]

收稿日期：2004-02-25

基金项目：美国 NIH 课题

作者简介：孙 莉(960 –)，女，广东兴宁人，副教授.

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

大多数环境致癌物如亚硝胺类物质以及肿瘤化疗药物如二氯乙基亚硝脲（BCNU）均属于烷基化合物，其分子中一个或多个活性烷基可转移到 DNA 分子碱基上，使 DNA 链上的鸟嘌呤第六位上的氧原子（O^6）烷基化，形成 O^6- 烷基鸟嘌呤加合物，造成 DNA 损伤，导致基因突变及细胞死亡[1]。人 O^6- 烷基鸟嘌呤 -DNA 烷基转移酶（AGT）是存在于生物体内的一种高度专一的 DNA 修复酶，能有效地修复 DNA 分子中鸟嘌呤 O^6 位的烷基化损伤，从而维持基因组的精确性和完整性，防止环境中亚硝胺等烷化剂诱导的致癌及致突变的作用。目前已有大量报道人群中存在多种 O^6- 烷基鸟嘌呤 -DNA 烷基转移酶（O^6-alkylguanine-DNA alkyltransferase，AGT）的突变体，如 AGT Gly160Arg[2]、Trp65Cys、Leu84Phe[3]、Ile143Val、Ile143Val / Lys178Arg 等[4]。近年来的研究表明 AGT 基因多态性是造成不同个体间 DNA 修复功能差异的主要因素。另有文献报道，染色体畸变率升高对诱变因素敏感性增加或修复能力下降的个体患肺癌的危险度增加[5]。因此，开展对 AGT 基因多态性与功能变化的研究从而揭示其与肿瘤易感性的关系具有重要意义。本实验选用 BCNU 作用于转染了野生型及多种突变型 AGT cDNA 的中国仓鼠卵巢（CHO）细胞，在野生型及突变型 AGT 转染细胞之间，比较它们对 BCNU 毒性抵抗力的差异，从而确定不同突变型 AGT 酶活性的变化及其功能意义，旨在探索 AGT 基因多态性与癌症易感性的关系。

1　材料与方法

1.1　主要试剂

二氯乙基亚硝脲（BCNU）购自 National Cancer Institute（Bethesda, MD, USA）。O^6- 苄基鸟嘌呤（O^6-BG）由 Dr. Robert C. Moschel（Frederick, MD, USA）惠增。Flp-In System 包括 pcDNA5/FRT 质粒、pOG44 质粒和携带 FRT 位点的 CHO 细胞株）购自 Invitrogen 公司（San Diego, CA, USA）；细胞转染试剂盒（Lipofectamine 2000）、Ham′s F12 细胞培养液、小牛血清购自 GIBCO BRL 公司（Grand Island, NJ, USA）；鼠抗人 AGT 抗体购自 PharMingen 公司（San Diego, CA, USA），羊抗鼠 IgG 抗体购自 Bio-Rad 公司（Hercules, CA, USA）。细胞裂解液（Cell Culture Lysis 5X Reagent）购自 Promega 公司（Madison WI, USA）。

1.2　pcDNA5-AGT 重组质粒的构建

野生型及带有点突变的 AGT cDNA（原实验室经 PCR 点突变得到）全长经 *Kpn*I 和 *Apa*I 双重酶切后插入 pcDNA5/FRT 质粒相应位点，构建成 pcDNA5-AGTwt；pcDNA5-AGT84；pcDNA5-AGT143；pcDNA5-AGT178；pcDNA5-AGT184; pcDNA5-AGT84/143; pcDNA5-AGT84/143/178 重组质粒。转化 DH5α 感受态大肠杆菌，37 ℃孵育 1 h 后，涂抹菌液于含氨苄青霉素的 LB 平板上，置 37 ℃孵育过夜，挑取单个菌落，分别接种在含氨苄青霉素的 LB 培养液中震荡培养 18 ~ 20 h；用缄裂解法抽提质粒 DNA 并作 DNA 序列分析，确保没有额外突变。

1.3　细胞培养

Flp-In CHO 细胞株常规培养于 Ham′s F12 培养液中，其中含 100 mL/L 小牛血清，10 000 U/L 青霉素 - 链霉素，2 mmol/L 谷氨酸以及抗生素 Zeocin 100 mg/L；筛选已经转染了 AGT 的 CHO 细胞则改抗生素 Zeocin 为 潮霉素（Hygromycin）500 mg/L。用含体积分数为 5% CO_2，95% 的湿度 37 ℃条件培养。

1.4　重组质粒的转染与筛选

采用脂质介导的基因转染法，按 GIBCO 公司操作指南进行。CHO 细胞按 5×10^5 个细胞/孔接种于 6 孔板，24 h 后待细胞生长至覆盖率达 90% 时开始转染。用无血清细胞培养液（Opti-MEM）洗涤细胞 2 次，按每孔 1 mL 配制转染液：A 溶液：取脂质体（LipofectAMIN 2000）6 μL（1 μg/μL），加入 Opti-MEM 至 100 μL；B 溶液：取 2 μg DNA（0.2 μg pcDNA5/FRT/AGT + 1.8 μg pOG44），加至 100 μL Opti-MEM 中，将 A、B 两溶液混匀，室温静置 25 ~ 30 min，按每孔 1 mL 轻轻覆盖于细胞表面，置于体积分数 5% CO_2，37 ℃ 培养过夜，第 2 天更换 Ham′s F12 培养液（含 100 mL/L 小牛血清），放回培养箱过夜，第 3 天经胰酶消化，将细胞移至 100 mm 培养皿、含 500 μg/mL 潮霉素的筛选培养液中，经过 4 ~ 6 周培养，可筛选获得稳定表达 AGT 的 CHO 细胞。

1.5　免疫印迹检测及蛋白质表达水平

在潮霉素的筛选培养液中生长良好的细胞，弃去细胞上层培养液，用 PBS 洗 2 遍，加入细胞裂解液处理 5 min，将细胞裂解物收集于离心管

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

中，12 000 r/min (10 000 × *g*)离心 2 min，取上清，Lawry's 法测蛋白含量，等量蛋白上样，用 4% ~ 20% SDS-PAGE 聚丙烯酰胺梯度胶电泳分离。然后转移至硝酸纤维素膜上，室温下，5 g/mL 脱脂奶粉封闭 1 h，一抗用鼠抗人 AGT 单克隆抗体 (1∶1 000 稀释)孵育 1 h，TBS Tween20(Tween20 1 mL/L TBS) 洗 3 遍 (5 min/次)，二抗用羊抗鼠 IgG 抗体 (Bio-Rad 公司，1∶2 000 稀释)孵育 1 h，然后用 ECL 显色。为使野生型及突变型 AGT 蛋白质在同一表达水平上进行比较，我们选用了 Flp-In System，其中包括：① Flp-In CHO 细胞株：在细胞染色体组内事先插入了一个 FRT 位点；② pcDNA5/FRT 及 pOG44 质粒载体：pcDNA5/FRT 携带了一个 FRT 位点，pOG44 携带有 Flp 连接酶，后者可使携带了目的基因的 pcDNA5/FRT 重组质粒转化后经同源交换，将目的基因 cDNA 直接整合到 Flp-In CHO 细胞株的 FRT 位点上，从而限制了多个位点的插入，保证蛋白质表达水平一致。

1.6 细胞毒性试验

用乙醇溶解配制 BCNU(25 μmol/L) 和 BG (12.5 μmol/L) 储备液，用不含小牛血清的 Ham′s F12 培养液稀释成工作液。于实验前 1 d 将 CHO 细胞按 5×10^5 个细胞/孔接种于 6 孔板，待生长 24 h 后，加入 BG(100 μmol/L) 预处理细胞 2 h，然后加入 BCNU(80 μmol/L)共同作用细胞 2 h。更换培养液 (含 100 mL/L 小牛血清)、100 μmol/L BG 后继续培养 16 ~ 18 h。收集细胞，计数。接种 400 个细胞于 100 mm 培养皿，常规培养液 (Hygromycin 500 μg/mL)培养 7 ~ 8 d。AGT 对 BCNU 损伤 DNA 的修复活性，反映为转染细胞对 BCNU 毒性的耐受能力，在本实验中，以细胞存活率/细胞簇形成数量作为判断指标。0.005 g/mL 结晶紫染色，记数细胞簇。通过检测细胞簇形成数量，可检测表达野生型和不同突变型 AGT 蛋白质的细胞对 BCNU 毒性作用的耐受能力，进而判断不同突变型 AGT 蛋白的 DNA 修复酶活性。

2 结 果

2.1 BG 对野生型 AGT 表达抑制作用

表达野生型 AGT 的 Flp-In CHO 细胞，其细胞簇形成率在未加 BCNU 及 BG 处理时，为 58%；单独加 BCNU(80 μmol/L)处理后为 34%，BCNU (80 μmol/L) 及 BG (100 μmol/L)同时处理为 6%。

2.2 AGT 在 Flp-In CHO 细胞中的表达

Western blot 结果显示 (图 1)，野生型 AGT 和各突变株：AGT84、143、178、184、143/178、84/143/178 的蛋白表达水平基本相同。表明，实验屏除了因 AGT 蛋白表达量不同造成的误差，在不同转基因细胞中 AGT 蛋白表达水平一致的条件下，比较各突变型 AGT 修复 BCNU 损伤 DNA 功能的差异。



图 1 Western-blot 检测 CHO 细胞中 AGT 蛋白表达

Fig. 1 Analysis of AGT protein expressing in CHO cell by Western blot.

1: wild type(wt) AGT, 2: AGT84, 3: AGT143, 4: AGT178, 5: AGT 143/178, 6: AGT84/143/178, 7: AGT184, 8: negative control(untransfected CHO cell), 9: AGT protein as a marker

2.3 BCNU 对 AGT 转基因 CHO 细胞的毒性

BCNU 因其强烈的 DNA O^6 烷化作用，导致无 AGT 酶的 CHO 细胞 100% 死亡。而稳定表达野生型及上述 6 种突变型 AGT 蛋白质的 CHO 细胞，均显示对 BCNU 细胞毒性的抗性。不同的突变体 AGT 蛋白，其 DNA 损伤修复酶活性存在着一定的差异。存活细胞簇计数结果显示(图 2)，表达突变型 AGTLeu84Phe 及 Leu84Phe/Ile143Val/Lys178Arg 的 CHO 细胞对 BCNU 毒性作用的抵抗力下降，

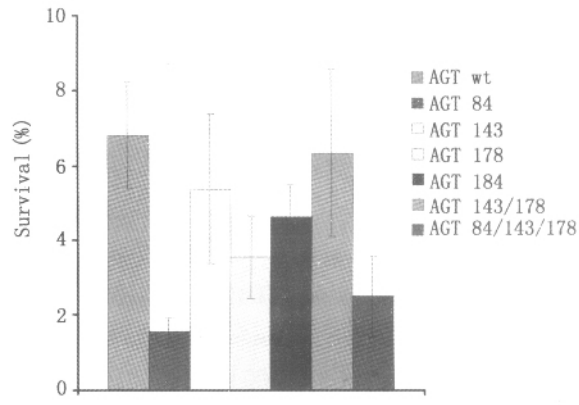


图 2 不同突变体 AGT 对 BCNU 细胞毒性抗性的比较

Fig. 2 Cytotoxicity induced by BCNU (80 mmol/L) and BG (100 mmol/L)) was determined by loss of colony-forming ability

The mutants of AGT84 and AGT 84/143/178 were significantly different from the AGT wt ($P < 0.05$ by *t*-test)

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

与野生型 AGT 相比较有显著性差异（$P \leqslant 0.05$）；与此相反，其他突变体：Ile143Val、Lys178Arg、Leu184Phe、Ile143Val/Lys178Arg 的酶活性与野生型 AGT 之间无明显差异。

3　讨　论

DNA 分子鸟嘌呤 O^6 位上的烷基化是导致 DNA 突变性损伤的主要方式。由环境中致癌物和烷基类化疗药物如亚硝胺、亚硝基脲及相关的一些化合物引起的 DNA 严重损伤是在 DNA O^6 位置上形成 O^6 烷基加合物，这些加合物可使 DNA 复制时的突变频率升高。目前的研究也支持这样一种假说，即突变是癌变的早期表现，因此检测 DNA 的修复能力，可以视为对多数肿瘤风险因子的预测[6]。

人 O^6- 烷基鸟嘌呤 -DNA 烷基转移酶（AGT）是体内重要的 DNA 修复蛋白，主要修复因烷基化合物造成的 DNA 损伤。目前已知 AGT 在保护细胞抵抗烷基化合物的致癌及致毒作用中扮演了非常重要的角色，同时它也是一个决定烷化剂化疗药物对细胞毒性及疗效的主要因子。人 AGT 蛋白活性在不同个体存在很大差异，约 10 到 178 倍[7]。然而这些个体差异的分子学基础以及对环境中烷基化合物致癌及致突变作用的易感性如何却了解不多。自 1995 年 Imai 等[2]人发现在 AGT 基因第 5 外显 160 位密码子的第一个碱基 G 被 A 取代，导致错译突变（GGA→AGA）、氨基酸由甘氨酸（Gly）变成了精氨酸（Arg）以来，目前已在人群中发现了多种突变体，如 65 位点上的突变（Trp65Cys）、84 位点上的突变（Leu84Phe）[3]、143 位点上的突变（Ile143Val）、143/178 位点上的双重突变（Ile143Val/Lys178Arg）[4]. 本实验室近期在 963 例中国河南林县胃癌高发人群 AGT 基因多态性研究中又发现了新的 Ser184Asn 突变体（尚未报道）。在不同的种群中 AGT 基因突变的频率分布亦有不同，例如，约 20% 健康白种人携带 143/178 双重突变，而这种突变在健康中国人和日本人中却十分稀少[3]。在 AGT 基因表达与肿瘤相关性研究方面近来已有报道，如 Oue 等[8]人对 26 例胃癌患者和 8 个胃癌细胞株的 AGT 基因表达研究表明，其中 31% 的胃癌患者同时伴有 AGT 蛋白表达减少。Kaur 等[9]报道了他们最近的发现，即 AGT143 位点的突变与肺癌的发生有一定关联。王立东等[10]发现有 2% 的食管癌患者中存在 Ile143Val/Lys178Arg 的双重改变。最近还有报道指出，通过大肠杆菌 E. coli 体外构建 AGT Ile143Val 和 AGT Ile143Val/Lys178Arg 突变体以进行功能分析，结果显示其 DNA 修复活性与野生型 AGT 相比无明显降低[11]。这个结果，也为我们的 CHO 细胞都毒性实验所证实。由此可见，AGT 基因多态性与环境致癌及致毒物质以及个体/人群癌症易感性的关系已日渐成为环境毒理学与分子流行病学中一个十分活跃的领域，同时与临床关系极其密切的 AGT 突变对烷化剂化疗药物疗效影响的研究也成为热点研究。

实验所涉及的大多为自然界存在的突变体，对它们的功能进行研究更具有临床意义，这也是本实验研究的目的所在。在被检测的多个错译突变体，包括对 AGT84、143、178、184、双重突变体 143/178 和三重突变体 84/143/178（AGT 84/143/178 为人为设计的三重突变体，目的在于根据突变体的功能改变与否，结合 AGT 分子模型研究，探索 AGT 酶的结构与功能的关系以及分子内部氨基酸之间的相互作用）在内的 6 个突变体，其所分别转染的 CHO 细胞对 BCNU 毒性作用反应测定的结果显示：表达突变型 AGT Leu84Phe 及 Leu84Phe/Ile143Val/Lys178Arg 的 CHO 细胞对 BCNU 毒性作用的抵抗力较弱，与野生型 AGT 相比较有显著性差异（$P \leqslant 0.05$），而其余突变体如 Ile143Val、Lys178Arg、Leu184Phe、Ile143Val/Lys178Arg 细胞对 BCNU 毒性作用的抵抗性与野生型 AGT 之间无明显差异。这一结果提示：AGT84 突变体在修复 BCNU 造成的 DNA 损伤过程中酶活性降低。由于 AGT84 及 AGT143 与野生型 AGT 比较无明显差别，故考虑 Leu84Phe/Ile143Val/Lys178Arg 三重突变体酶功能的改变很大一部分原因是 Leu84Phe 所致。人 AGT 的活性位点处于第 145 位的半胱氨酶残基，Ile143Va 位置最靠近酶活性中心，照此推理，此突变体本应造成较大酶功能活性的改变，但事实并未如此。这一结果也说明，除基因突变造成酶功能发生变化外，蛋白质的空间结构是影响酶活性的另一重要因素。

虽然 AGT 在正常机体及肿瘤患者体内的分布有很强的个体差异，但 AGT 在正常组织中的缺乏将导致肿瘤易感性上升已有报道[13]，基因多态性导致的酶功能活性改变以及与癌症患病危险性提

（下转第 346 页　to page 346）

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

参考文献：

[1] Roufail E, Stringer M, Rees S. Nitric oxide synthase immunoreactivity and NADPH diaphorase staining are co-localised in neurons closely associated with the vasculature in rat and human ratina [J]. Brain Research, 1995, 684 (): 36-46.

[2] López-Costa J J, Goldstein J, Saavedra P. Neuronal and macrophagic nitric oxide synthase isoforms distribution in normal rat retina [J]. Neurosci Letters, 1997, 232 (3): 155-8.

[3] Schmetterer L, Polak K. Role of nitric oxide in the control of ocular blood flow [J]. Prog Retin Eye Res, 2001, 20(6): 823-47.

[4] 王 梅，蓝育青，刘嫣芬，等. 糖尿病大鼠视网膜血流变化的彩色多谱勒分析[J]. 中山大学学报(医学科学版)，2003，24 (): 56-9.

[5] do Carmo A, Lopes C, Santos M, *et al*. Nitric Oxide synthase activity and L-arginine metabolism in the retinas from streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Gen Pharmacol, 1998, 30 (): 319-24.

[6] Ellis E A, Guberski D L, Hutson B, *et al*. Time course of NADH oxidase, inducible nitric oxide synthase and peroxynitrite in diabetic retinopathy in the BBZ/WOR rat [J]. Nitric Oxide, 2002, 6 (3): 295-304.

[7] Bolanos J P, Almeida A. Role of nitric oxide in brain hypoxia-ischemia [J]. Biochim Biophys Acta, 1999, 1411(2-3): 415-36.

[8] Chakravarthy U, Hayes R G, Stitt AW, *et al*. Constitutive nitric oxide synthase expression in retinal vascular endothelial cells is suppressed by high glucose and advanced glycation end products [J]. Diabetes, 1998, 47 (6): 945-52.

[9] Takeda M, Mori F, Yoshida A, *et al*. Constitutive nitric oxide synthase is associated with retinal vascular permeability in early diabetic rats [J]. Diabetologia, 2001, 44 (8): 1043-50.

(编辑 刘清海)

(上接第333页 from page 333)

高相关也已经得到证实，本实验结果也为AGT基因多态性成为未来探测肿瘤易感性的标记物提供了重要依据。

参考文献：

[1] Teicher B A, Hellman S, Rosenberg S A, *et al*. Cancer: principles and practice of oncology[M]. 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997. 405-18.

[2] Imai Y, Oda H, Nakatsuru Y, *et al*. A polymorphism at codon 160 of human O^6-methylguanine-DNA methyltransferase gene in young patients with adult type cancers and functional assay[J]. Carcinogenesis, 1995, 16(10): 2441-5.

[3] Otsuka M, Abe M, Nakabeppu Y, *et al*. Polymorphism in the human O^6-methylguanine-DNA methyltransferase gene detected by PCR-SSCP analysis[J]. Pharmacogenetics, 1996, 6(4): 361-3.

[4] Deng C, Xie D, Capasso H, *et al*. Genetic polymorphism of human O^6-alkylguanine-DNA alkyltransferase: identification of a missense variation in the active site region[J]. Pharmacogenetics, 1999, 9(1): 81-7.

[5] Wei Q, Spitz M R. The role of DNA repair capacity in susceptibility to lung cancer[J]. Cancer Metastasis Rev, 1997, 16(3-4): 295-307.

[6] Yao X, Buermeyer A B, Narayanan L, *et al*. Different mutator phenotypes in Mlh1- versus Pms2-deficient mice [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96(12): 6850-5.

[7] Magee PN. The experimental basis for the role of nitroso compounds in human cancer[J]. Cancer Surv, 1989, 8 (2): 207-39.

[8] Oue N, Shigeishi H, Kuniyasu H, *et al*. Promoter hypermethylation of MGMT is associated with protein loss in gastric carcinoma[J]. Int J Cancer, 2001, 93(6): 805-9.

[9] Kaur T B, Travaline J M, Gaughan J P, *et al*. Role of polymorphisms in codons 143 and 160 of the O^6-alkylguanine DNA alkyltransferase gene in lung cancer risk[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2000, 9(3): 339-42.

[10] 王立东、邹建湘、洪钧言，等. 食管癌患者 O^6-烷基鸟嘌呤-DNA烷基转移酶基因多态性研究[J]. 世界华人消化杂志，1998，6 (): 560-3.

[11] Ma S, Egyhazi S, Ueno T, *et al*. O^6-methylguanine-DNA-methyltransferase expression and gene polymorphisms in relation to chemotherapeutic response in metastatic melanoma[J]. Br J Cancer, 2003, 89(8): 1517-23.

[12] Xing D, Tan W, Lin D. Genetic polymorphisms and susceptibility to esophageal cancer among Chinese population (review) [J]. Oncol Rep, 2003, 10(5): 1615-23.

编辑 张恩健)

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net