基础研究 文章编号:0253-3626(2010)12-1782-05

# 金黄地鼠颊癌差异表达基因谱的构建及相关生物信息学分析

梅 杰[1],杨 凯[2],张国栋[2],张福军[2],陈 丹[2],陈 睿[2]

(1.重庆医科大学附属口腔医院牙周黏膜科,重庆 400015;2.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:构建二甲基苯并蒽(9,10-Dimethylen-1,2Benzanthracene,DMBA)诱导金黄地鼠颊囊黏膜癌变过程中基因差异表达谱,用相关生物信息学分析方法筛选在癌变过程中起重要作用的基因和信号通路。方法:用 DMBA 诱导建立金黄地鼠颊鳞癌模型,以 Ratio≥2 和 Ratio≤0.5 为阈值,用 Agilent 全基因表达谱芯片检测金黄地鼠颊囊黏膜癌变的差异表达基因,并对这些差异基因进行(Gene ontology,GO)功能分类和 Pathway 通路分析。结果:金黄地鼠正常颊黏膜和癌变组织之间共有 1 943 条差异表达基因,其中上调基因 787 条,下调基因 1 156 条;GO 分析差异表达基因涉及结构分子相关基因群、转录调控相关基因群和代谢相关基因群等 10 类;Pathway 分析在颊黏膜癌变中共有 27 条通路发生显著性异常改变,有 136 条差异基因在以上 27 条异常通路上发生富集,其中 Ppp3r2、Actn1、Src 等 13 条基因均分别富集在 3 条以上异常改变的通路上。结论:金黄地鼠颊癌的发生共有 1 943 条基因发生差异表达和 27 条通路发生异常改变,其中 Ppp3r2、Actn1、Src 等 13 条基因是导致细胞通路改变而最终发生癌变的重要致病基因,针对以上基因和通路的深入研究,将有助于揭示口腔黏膜癌变的分子机制,并为基因治疗提供新的靶点。

【关键词】金黄地鼠;颊黏膜;癌变;全基因表达谱;生物信息学

【中国图书分类法分类号】R739.86;R730.45 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-07-19

# The establishment of golden hamster cheek mucosa carcinoma related gene differential expression profile and bioinformatics analysis

*MEI Jie, et al*

(*Department of Mucous Membrane, the Affiliated Hospital of Stomatology, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To construct differential gene expression profile in the DMBA (9,10-Dimethylen-1, 2Benzanthracene, DMBA) induced hamster cheek pouch mucosa carcinogenesis process, using bioinformatics analysis methods in screening the genes and signaling pathways which play an important role in carcinogenesis. *Methods*: The DMBA-induced hamster buccal squamous cell carcinoma model was established; screening criteria of Ratio≥2 and Ratio≤0.5 were used; Agilent whole gene expression profiling microarray was used to detect the differentially expressed genes in hamster cheek pouch mucosa carcinogenesis, and then Gene Ontology for biological function and Pathway analysis were performed with those important virulent genes. *Results*: A total of 1 943 differentially expressed genes between normal hamster buccal mucosa and cancerous tissue were detected, of which 787 up-regulated and 1 156 down-regulated; GO analysis of differentially expressed genes involved structural elements, transcription regulation, metabolism and so on; pathway analysis found that 27 channels had significant changes, involving a total of 136 different genes. Among them, 13 genes, including Ppp3r2, Actn1 and Src involved three or more pathways. *Conclusion*: During the occurrence of the golden hamster cheek cancer, a total of 1 943 genes were differentially expressed and 27 pathways abnormally changed, among which 13 genes including Ppp3r2, Actn1 and Src lead to changes in cellular pathways and eventually become an important cause of cancer. An in-depth study of those important genes will reveal the molecular mechanism of carcinogenesis of oral mucosa and provide an effective method of targeted therapy.

【Key words】Golden hamster; Cheek pouch mucosa; Carcinogenesis; Entire gene expression profile; Bio-informatics

口腔鳞状细胞癌(Oral squamous cell carcinoma,OSCC)占口腔颌面部恶性肿瘤的 90%[1]。目前公认:癌症的发生发展涉及多基因和多通路的改变[2-4]。本研究用二甲基苯并蒽(9,10-Dimethylen-1,2 Benzanthracene,DMBA)诱导叙利亚金黄地鼠颊囊黏膜癌变建立金黄地鼠颊黏膜癌变模型,并结合(Gene ontology,GO)功能分类分析和 Pathway 通路分析等相关生物

作者介绍:梅 杰(1982-),男,硕士,
研究方向:口腔颌面-头颈肿瘤的防治。

通讯作者:杨 凯,男,教授,E-mail:cqfyyk@yahoo.com.cn。

基金项目:重庆市卫生局科研项目(编号:03-2-073)。

信息学方法,从全基因组水平对口腔颊黏膜癌变中相关致病基因和异常信号通路进行筛选,为进一步深入研究 OSCC 的发生、发展提供科学基础和新的思路。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要试剂和仪器

叙利亚金黄地鼠 20 只(卫生部成都生物制品研究所)、DMBA;美国 SIGMA 公司)、Agilent 扫描仪(G2565AA,Agilent 公司)、杂交炉(G-2545A,Agilent 公司)、分光光度计(ND1000,Nanodrop 公司)、单标 Agilent 大鼠全基因表达谱芯片(美国 Agilent 公司)。

### 1.2 实验方法

1.2.1 金黄地鼠颊癌模型的建立 叙利亚品系金黄地鼠 20 只,体重 90~120 g,6~8 周龄,雌雄各半,按随机数字表法随机分为两组,Ⅰ组为实验组,Ⅱ组为正常对照组,每组 10 只。将Ⅰ组金黄地鼠固定于自制鼠架上,拉开颊囊,用 1 号油画笔在金黄地鼠双侧颊囊涂 0.5%DMBA 丙酮液,每周一、三、五涂擦,涂擦后禁食禁水 2 h,共涂擦 12 周后停止,留查到14 周时处死Ⅰ组和Ⅱ组所有动物,取颊囊组织,每例取材后一半立即置于液氮中保存,另一半置 10%福尔马林液中常规固定、石蜡包埋、切片、HE 染色、封片,光镜下观察病变情况,挑选癌变标本。

1.2.2 金黄地鼠正常颊囊黏膜和癌变组织 RNA 的提取及纯化 采用 Invitrogen 的 TRIzol 试剂盒分别提取Ⅰ组和Ⅱ组标本中的总 RNA,使用 QIAGEN Raeasy Kit 分别纯化总 RNA,具体步骤参照试剂盒操作说明。分别将鳞癌组织和正常黏膜的总 RNA 等量完全溶解于 Mili-Q 水中,-80℃冻存待用。

1.2.3 cDNA 标记与合成 应用逆转录法荧光标记以上提取的标本 RNA,各组均用 Cy3 单标标记。实验步骤如下:向 2 支 1.5 ml 的试管中分别加入以上 2 种标本 RNA 各 2 μg,然后向 2 试管中分别加入引物 5 μl,用 Rnase-free 水补足到 11.5 μl,然后充分混匀,60℃水浴 10 min,冰水冷却 5 min。然后分别再加入 DDT 2 μl(浓度为 100 mmol/L),DNTP 1 μl,Buffer 4 μl,RNase OUT 0.5 μl,MMLV RT 1 μl,共计 8.5 μl,然后混匀,离心,热盖 65℃,40℃反应 2 h,合成各组 cDNA。然后用 aaUTP 标记合成的 cDNA,通过 QIAGEN Raeasy Mini Kit 纯化标记合成的 cDNA,并用分光光度计测定其浓度,浓度测定后的 cDNA 用荧光标记后再次纯化。

1.2.4 cDNA 样品片段化及芯片杂交 分别提取用 Cy3 标记好的癌组织和正常颊黏膜的 cDNA 各 875 μg,加入 Blocking Agent 11 μl,Fragmentation Buffer 2.2 μl,最后加入 Nuclease-free 水至总体积到 55 μl,将上述配置好的混合液加热至60℃温浴 30 min 进行片段化;然后向片段化溶液中加入GEX Hybridization Buffer 55 μl;最后加上述溶液 100 μl 于芯片上,然后在 65℃、17 h、10 r/min 滚动杂交。取出芯片于洗液 1 中洗涤 1 min,然后再将芯片放入洗液 2 中于 37℃洗涤 1 min。

### 1.3 芯片扫描和数据处理

2 张芯片结果均采用 Agilent G2565AA 荧光扫描仪进行扫描,Feature Extraction 软件读取,扫描仪分辨率为 5 μm,光电欧联管分别设置为 100%,10%,最后采用 Feature Extraction 进行 Normalize 处理。本次实验的均一化系数为 0.853,2 张芯片的平均信号强度与平均背景的比值均大于 3,符合 Agilent 表达谱芯片的实验成功标准。

### 1.4 生物信息学分析

以 Ratio≥2 和 Ratio≤0.5 为阈值筛选显著性差异表达基因;用 Genespring 10.0 软件对差异表达基因进行 GO 功能分类分析;然后用 www.biorag.com 网站提供的 Pathway 通路分析 3 个数据库 KECG、GENMAPP 和 BIOCARTA 行信号通路分析,通过 $P<0.05$ 来判断通路的显著性,筛选有意义的目标通路。

## 2 结 果

### 2.1 金黄地鼠颊鳞癌模型的建立

正常对照组 14 周颊黏膜未见溃烂和新生物,黏膜完整,颜色红润,质地光滑,与邻近组织无差异(图 1);镜下见地鼠颊囊黏膜为 4~6 层细胞组成的复层角化上皮,上皮和肌层之间为薄层结缔组织,少量散在的纤维细胞和血管(图 2)。实验组 14 周后颊部均可见新生物形成,质地硬,与周围组织分界不清,表面部分组织出现坏死(图 3);镜下见细胞排列紊乱,层次不清,细胞间桥消失,核仁增大,核分裂象增加,多核细胞增多,细胞呈多形性,癌细胞呈团块状或条索状分布(图 4)。

### 2.2 样品 RNA 浓度和纯度的检测

提取的总 RNA 经紫外分光光度计检测,正常黏膜 RNA

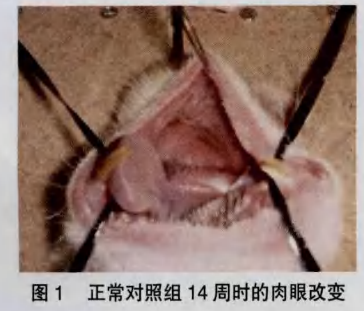


图 1 正常对照组 14 周时的肉眼改变

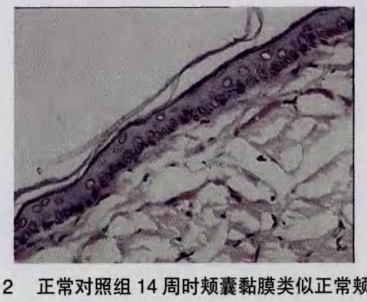


图 2 正常对照组 14 周时颊囊黏膜类似正常颊囊黏膜(HE×200)



图 3　DMBA 涂擦颊囊 14 周时的肉眼改变

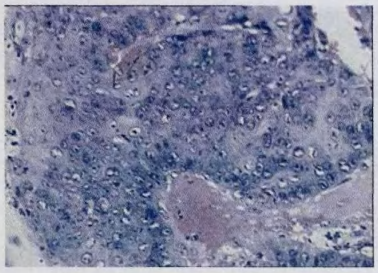


图 4　DMBA 涂擦颊囊 14 周时的镜下改变（HE×400）

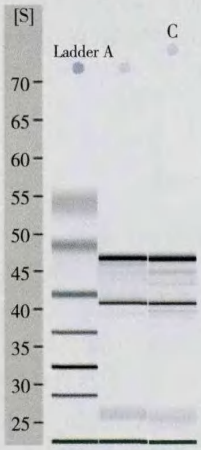
表 1　RNA 样品基本信息

| 样品编号 | 浓度(μg/μl) | $A_{260}/A_{280}$ | 纯化前总量（μg） | 2 100 RIN | 28S/18S | 质检结果 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| A | 0.37 | 2.01 | 36.54 | 9.00 | 1.85 | 合格 |
| C | 2.33 | 2.05 | 232.62 | 8.41 | 1.76 | 合格 |

浓度为 0.365 μg/μl，鳞癌为 2.326 μg/μl，$A_{260}/A_{280}$ 比值分别为 2.01 和 2.05，达到 1.9～2.1，2 100 RNA 完整性（RNA integnity number，RIN）>=7.0 并且 28S/18S >=0.7，样品合格，可以进行下一步实验（表 1）；1%琼脂糖凝胶电泳，28S 和 18S 清晰可见，两者的亮度之比约为 2:1，表明 RNA 完整性好（图 5）。

2.3　芯片杂交结果及生物信息学分析

2.3.1　颊部正常粘膜和鳞癌显著性差异表达基因的筛选　共得到 1 943 条差异表达基因，其中上调基因 787 条，占差异表达基因的 40.5%；下调基因 1 156 条，占差异表达基因的59.5%。




A. 金黄地鼠正常颊囊黏膜；C. 金黄地鼠颊囊鳞状细胞癌

图 5　RNA 琼脂糖凝胶电泳图

2.3.2　差异表达基因的 GO 功能分类　1 943 条差异表达基因分为 10 大类功能基因（见表 2）。

2.3.3　差异表达基因的通路分析　通路分析表明：共有 27条通路发生显著性改变，在 1 943 条差异表达基因中只有 136 条差异基因在以上 27 条通路上富集（见表 3），其中以下 13 条基因均分别富集在 3 条以上改变的通路上，即：Ppp3r2 富集在 5 条通路上，Actn1 和 Src 分别富集在 4 条通路上，Adcy2、Adcy3、Casp9、Chrm3、Cldn1、Gnai3、Jam3、Mapk12、Pla2g4a 和 Tgfb1 分别富集在 3 条通路上（见表 4）。

## 3　讨　论

肿瘤的发生是一个多因素、多基因参与的复杂过程，不同的基因扮演着不同的角色。基因表达谱芯片的应用提供了相关基因的基因组学证据，突破了以往单个或几个基因孤立研究的局限，从整体上全面了解整个基因组众多基因的变化，为在全基因组范围内寻找与肿瘤发生、发展相关的基因变化提供了一个强有力的手段[5,6]。本实验用 DMBA 丙酮液诱导建立金黄地鼠颊癌动物模型，是因为该模型不仅与人类口

表 2　差异表达基因的 GO 分类

| 功能分类 | 上调基因数目 | 下调基因数目 | 总数 | 百分比(%) |
|---|---|---|---|---|
| 凋亡和肿瘤相关基因 | 13 | 21 | 34 | 1.75 |
| 结构分子相关基因 | 106 | 248 | 354 | 18.22 |
| 代谢相关基因 | 154 | 128 | 282 | 14.51 |
| 信号传导相关基因 | 24 | 36 | 60 | 3.09 |
| 分子定位相关基因 | 15 | 8 | 23 | 1.18 |
| 细胞周期相关基因 | 14 | 25 | 39 | 2.01 |
| 物质转运相关基因 | 13 | 15 | 28 | 1.44 |
| 转录调控相关基因 | 137 | 166 | 303 | 15.59 |
| 免疫应答相关基因 | 25 | 87 | 112 | 5.76 |
| 未知基因 | 86 | 79 | 165 | 8.49 |

表 3 Pathway 通路分析结果

| 通路名称 | P 值 | 命中基因 |
|---|---|---|
| 花生四烯酸代谢信号通路 | 0.000 1 | Up:Pla2g4a、Gpx2<br>Down:Ptgds2、Cyp4a12、Gpx3、Cyp2c7、Ephx2、Cyp2b13、Ggtl3 |
| 丝裂原活化蛋白激酶信号通路 | 0.001 3 | Up:Cacna1c、Tgfb1、Pdgfrb、Mras、<br>Down:Fgf7、Map4k3、Bdnf、Casp8、Cacna2d3、Hspb2、Fgf9、Mapt、Mapk12、Cacna2d1、Fgf13、 |
| 肌动蛋白细胞骨架调节信号通路 | 0.001 6 | Up:Fn1、Baiap2、Vav1、Actn1、Itgal、Pdgfrb、Mras、<br>Down:Myl1、Gsn、Chrm3、Scin、Fgf9、Fgf7、Fgf13 |
| 细胞粘附分子信号通路 | 0.002 4 | Up:RT1-DOb、RT1-A2、Vcam1、Ncam1、Nrxn2、RT1-CE3、RT1-Da、Cdh2、Itgal、Cd6<br>Down:RT1-DOb、RT1 class Ⅱ, locus Bb、Protein tyrosine phosphatase, receptor type, M、Jam3、Cldn1、L1cam |
| 嘌呤代谢信号通路 | 0.003 3 | Up:Pde1c、Ada、Prim2、Pde3b<br>Down:Gucy2c、Enpp2、Pde4b、Entpd1、Pde8a、Ak1、Ampd1、Adcy2、Phosphodiesterase 4D, cAMP specific |
| 紧密连接信号通路 | 0.004 7 | Up:Magi3、Src、LOC304000、Actn1、<br>Down:Ppp2r2b、Epb4.1l1、Rab3b、Jam3、Cldn1、Gnai3 |
| 刺激神经的配体-受体相互作用信号通路 | 0.004 9 | Up:Grin2a、Ptger4 Npy1r、Drd4、Apln、Gzma、Gabrp、Cnr1<br>Down:Cnr2、Chrm3、P2ry14、Ghr、Adrb2、Ptgfr、 |
| 钙离子信号通路 | 0.005 5 | Up:Atp2a2、Adcy3、Gna14、Ppp3r2、Oxt、Ptger1<br>Down:Phkg1、Camk2b、Chrm3、Plcd4、Slc25a4、Tnnc2、Adcy2、Adrb2、Ptgfr |
| 白细胞跨内皮迁移信号通路 | 0.006 1 | Up:Vcam1、Vav1、Actn1、Cxcl12、Mmp9、Cxcr4、Itgal、<br>Down:Cxcl12、Jam3、Cldn1、Gnai3、Mapk12 |
| 细胞色素 P450 代谢通路 | 0.006 4 | Up:Ugt2b、Aldh3a1<br>Down:Cyp2c7、Ephx2、Gstm2、Cyp2b13 |
| 细胞周期信号通路 | 0.007 4 | Up:Tgfb1、Orc1l、Ywhae<br>Down:Mcm3_predicted、Mcm7、Ccnb1、Plk1、Cdkn1c |
| 血管内皮(细胞)生长因子信号通路 | 0.007 9 | Up:Hspb2、Ppp3r2、Src、Vegfa、Mapk12、Pla2g4a、Casp9<br>Down:None |
| wnt 信号通路 | 0.008 2 | Up:Ppp2r2b、Ppp3r2<br>Down:Wif1、Fzd3、Camk2b、、Btrc |
| 谷光苷肽代谢通路 | 0.008 7 | Up:Gpx2、Gsr<br>Down:Gpx3、Gstm2、Ggtl3 |
| 细胞凋亡信号通路 | 0.009 0 | Up:Birc3、Casp9、Ppp3r2<br>Down:Capn2、Casp8、Capn3 |
| 胰岛素信号通路 | 0.010 0 | Up:cccc、Pde3b、Inpp5d、Mras<br>Down:Phkg1、Pygm、Ppargc1a、Ppp1r3c |
| 抗原加工和提成信号通路 | 0.012 4 | Up:RT1-DOb、Nfyc、RT1 class Ⅱ, locus Bb<br>Down:Hspa1a |
| ECM-受体交互作用信号通路 | 0.013 2 | Up:Col3a1、Tnn_predicted、Col1a2、Fn1、Col5a3、Col5a1<br>Down:None |
| 转化生长因子 β 信号通路 | 0.013 4 | Up:Nog、Bmp4、Tgfb1、Inhba<br>Down n:Bmp2、Bmp4、Sp1 |
| 氧化磷酸化信号通路 | 0.017 4 | Up:Uqcrb_predicted、Atp6v0d2、Ndufa11、Atp5c1<br>Down:Cox6a2、Cox8h、Atp6v1e1、Ndufa11、Atp6v1c1 |
| 糖酵解/葡萄糖异生信号通路 | 0.025 3 | Up:None<br>Down:Gpx3、Gstm2、Ggtl3 |
| 间隙连接信号通路 | 0.029 7 | Up:Pdgfrb、Pdgfd、Mras<br>Down:Gucy2c、Gnai3、Adcy2 |
| 细胞交流信号通路 | 0.036 8 | Up:Col3a1、Tnn_predicted、Col1a2、Fn1、Col5a3、Col5a1、Inexa<br>Down:Ka26、Kb1、Des |
| 粘附接点信号通路 | 0.040 3 | Up:Insr、Baiap2、Actn1、Fyn<br>Down:None |
| 生理节律信号通路 | 0.041 2 | Up:None<br>Down:Per2、Nr1d1、Per3 |
| 脂肪酸代谢通路 | 0.045 8 | Up:Cyp4a12<br>Down:Acsl1、Acsl6 |
| 细胞因子间受体交互作用信号通路 | 0.048 8 | Up:Tnfrsf1b、Il10、Il5ra、Hgf、Cxcr4、Cxcl12、Ccr1、Ccl5<br>Down:None |

表 4 单基因富集多个通路列表

| 基因名称 | 富集通路 |
|---|---|
| Ppp3r2 | 丝裂原活化蛋白激酶信号通路，钙离子信号通路，血管内皮(细胞)生长因子信号通路，wnt 信号通路，细胞凋亡信号通路。 |
| Actn1 | 肌动蛋白细胞骨架调节信号通路，紧密连接信号通路，白细胞跨内皮迁移信号通路，粘附接点信号通路。 |
| Src | 紧密连接信号通路，血管内皮(细胞)生长因子信号通路，间隙连接信号通路，粘附接点信号通路。 |
| Adcy2 | 嘌呤代谢通路，钙离子信号通路，间隙连接信号通路。 |
| Adcy3 | 嘌呤代谢信号通路，钙离子信号通路，间隙连接信号通路。 |
| Casp9 | 丝裂原活化蛋白激酶信号通路，血管内皮(细胞)生长因子信号通路，细胞凋亡信号通路。 |
| Chrm3 | 肌动蛋白细胞骨架调节信号通路，刺激神经的配体－受体相互作用信号通路，钙离子信号通路 |
| Cldn1 | 细胞粘附分子信号通路，紧密连接信号通路，白细胞跨内皮迁移信号通路。 |
| Gnai3 | 紧密连接信号通路，白细胞跨内皮迁移信号通路，间隙连接信号通路。 |
| Jam3 | 细胞粘附分子信号通路，紧密连接信号通路，白细胞跨内皮迁移信号通路。 |
| Mapk12 | 丝裂原活化蛋白激酶信号通路，白细胞跨内皮迁移信号通路，血管内皮(细胞)生长因子信号通路。 |
| Pla2g4a | 花生四烯酸代谢通路，丝裂原活化蛋白激酶信号通路，血管内皮(细胞)生长因子信号通路。 |
| Tgfb1 | 丝裂原活化蛋白激酶信号通路，转化生长因子 β 信号通路，细胞周期信号通路。 |

腔黏膜上皮癌变病理变化过程极其相似，而且具有相似的生长特性和生物学行为，因而该模型目前被认为是研究口腔颊黏膜癌变最为理想的动物模型。但金黄地鼠相关基因组目前了解不多，网上公共数据库资源太少，因此本实验用与金黄地鼠接近的大鼠芯片进行实验，但考虑到涉及异种杂交，如果用短探针芯片经常会出现检出率低的情况，因此本实验用长探针芯片（Agilent 的表达谱芯片，60 个碱基的 oligo）进行检测，实验证明结果较好。

本研究用包含 41 000 条基因/ESTs 的 Agilent 全基因表达谱芯片全面分析正常颊黏膜和鳞癌组织基因表达谱的差异，发现在两组间差异表达基因共有 1 943 条，这些差异表达基因涉及到凋亡和肿瘤相关基因、结构分子相关基因、代谢相关基因、信号传导相关基因等 10 类相关基因。对 1 943 条差异表达基因行通路分析表明：在癌变的发生中共有 27 条通路发生显著性改变，而 1 943 条差异表达基因中只有 136 条差异基因在以上 27 条通路上富集，这证明正是这 136 条基因表达的改变最终导致口腔颊黏膜的癌变，进一步分析发现：其中以下 13 条基因 Actn1、Adcy2、Adcy3、Casp9、Chrm3、Cldn1、Gnai3、Jam3、Mapk12、Pla2g4a、Ppp3r2、Src、Tgfb1 均分别富集在 3 条以上改变的通路上，因此我们认为以上 13 条基因是金黄地鼠颊黏膜癌变的重要基因。

本研究虽然是一个初步的研究，但该研究首次从基因和通路 2 个层面全面初步摸清了口腔颊黏膜癌变的“家底”，为进一步的研究提供正确的方向，同时针对以上重要基因的深入研究，将有助于为基因治疗提供新的靶点。

（衷心感谢上海生物芯片有限公司对本研究中芯片检测和生物信息学分析的指导和帮助）

## 参 考 文 献

[1] Kademani D, Bell R B, Scbmidt B L, et al. Oral and maxillofacial surgeons treating oral cancer: a preliminary report from the american association of qral and maxillofacial surgeons task force on oral cancer [J]. J Oral Maxillofac Surg, 2008, 66(10): 2151-2157.

[2] Ragin C R, Modugno F, Gollin S M. The epidemiology and risk factors of head and neck cancer: a focus on human papilloma virus[J]. J Dent Res, 2007, 86(2): 104-114.

[3] Choi S, Myers J N. Molecular pathogenesis of oral squamous cell carcinoma: implications for therapy[J]. J Dent Res, 2008, 87(1): 14-32.

[4] Reshmi S C, Gollin S M. Chromosomal instability in oral cancer cells [J]. J Dent Res, 2005, 84(2): 107-117.

[5] Ostrowski J, Wyrwicz L S. Integrating genomics, proteomics and bioi nformatics in translational studies of molecular medicine[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2009, 9(6): 23-30.

[6] Yang K, Zhang G D, 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.

（责任编辑：冉明会）