

# 微阵列技术及其在消化系疾病研究中的应用进展

李新华, 张万岱, 肖冰, 张振书

李新华, 张万岱, 肖冰, 张振书, 中国人民解放军第一军医大学南方医院消化科 广东省广州市 510515  
李新华, 中国人民解放军第四军医大学西京医院消化科 陕西省西安市 710032  
项目负责人: 李新华, 510515, 广东省广州市, 中国人民解放军第一军医大学南方医院消化科. doclixh@sina.com  
收稿日期: 2002-12-05 接受日期: 2002-12-25

## 摘要

微阵列技术是近年来兴起的一项前沿生物技术, 他利用分子杂交的原理, 将生物学中许多不连续的分析过程, 移植到固相的递质芯片上, 进行样品的多方位分析, 首次提供了高通量或平行监测基因表达变化和功能的新方法. 已广泛应用于基因表达分析、新基因发现及功能研究、基因组文库作图、基因突变及多肽性分析、疾病诊断、药物筛选、基因测序等领域. 利用基因微阵列研究消化系统疾病将会有助于从整体水平上认识疾病发生中相应的分子事件, 更深刻地了解消化系肿瘤与疾病的基因变化路径和机制. 本文综述了微阵列技术原理及近年来在消化系疾病研究中的应用.

李新华, 张万岱, 肖冰, 张振书. 微阵列技术及其在消化系疾病研究中的应用进展. 世界华人消化杂志 2003;11(7):1054-1058

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1054.asp>

## 0 引言

人类基因组测序草图的公布, 使人类所有 DNA 的遗传信息得以解码<sup>[1]</sup>. 但是, 这解决了遗传信息库的问题, 我们还需要尽快读懂人类全部基因的含义(功能), 并能阐明其相互内在关系及多层次分类的生物信息, 以建立对生命现象的整体认识, 为疾病的诊断、新药物的研制和新疗法的探索带来一场革命. 而传统的从基因到基因(gene-by-gene)的研究方法已经无法完成如此复杂的工作, 非常有必要对生物进程从全局的观念(global views)进行理解, 也就是同时解析生物体相关所有组份. 基因芯片的出现则首次提供了对这种全局观念的解决之道, 他提供了高通量(high throughput)或平行监测基因表达变化和功能的新技术新方法. 被评为21世纪最有发展前途的20项高新技术之一, 有可能成为未来生物学研究和临床诊断的通用手段<sup>[2]</sup>.

## 1 定义与原理

微阵列(microarray)技术突出特点在于高度并行性、多样性、微型化和自动化<sup>[3,4]</sup>. 他是利用分子杂交的原理, 将许多特定的寡核苷酸片段、基因片段或其他生物信息作为探针, 有规律地排列固定于支持物上, 然后与待测的标记样品的基因按碱基配对原理进行杂交, 最

后检测杂交信号强弱, 并配以计算机系统对每一探针上的荧光信号做出比较和检测, 从而迅速得出所要的信息<sup>[5,6]</sup>. 含有大量生物信息的固相基质被称为微阵列, 又称生物芯片(biochip). 根据储存的生物信息的类型, 微阵列可分为组织微阵列(tissue microarray)<sup>[7]</sup>, 蛋白质芯片<sup>[8,9]</sup>, 寡核苷酸微阵列<sup>[10]</sup>(oligonucleotide microarray, 又称 DNA 微阵列或 DNA 芯片), cDNA 微阵列(cDNA microarray, 又称 cDNA 芯片)等. DNA 微阵列和 cDNA 微阵列一起又称基因芯片. 从广义上讲, 一切以芯片为基础的生物分析过程均可称为微阵列技术, 其中以大规模 DNA 杂交技术为基础的基因芯片技术尤为人们所瞩目.

## 2 微阵列的技术要点

2.1 微阵列的片基或支持物(substrate or support matrix)可以分为无机片基和有机合成物片基<sup>[11-13]</sup>. 前者主要有半导体硅片和玻璃片等, 其上的探针主要以原位聚合的方法合成; 后者主要有特定孔径的硝酸纤维膜和尼龙膜, 其上的探针主要是预先合成后通过特殊的微量点样装置或仪器滴加到片基上. 另有以聚丙烯膜支持物用传统的亚磷酸胺固相法原位合成的高密度探针序列. 作原位合成的支持物在聚合前要使其表面衍生出羟基或氨基(视所要固定的分子为核酸或寡肽而定)并与保护基建立共价连接; 作点样用的支持物为使其表面带上正电荷以黏附带负电荷的探针分子, 通常需包被以氨基硅烷或多聚赖氨酸等.

2.2 微阵列的制备方法 (1)原位合成 (in situ synthesis)法<sup>[10,14-16]</sup>: 即在片基上直接合成寡核苷酸探针阵列, 目前应用的主要有光引导合成技术(light-directed synthesis)(也称光刻法)和压电打印法(piezoelectric printing)等, 其关键是高空间分辨率的模板定位技术和高合成产率的 DNA 化学合成技术, 适用于寡核苷酸及寡肽分子制作大规模 DNA 探针芯片, 以实现高密度芯片的标准化和规模化生产. (2)合成后点样<sup>[10-12,14]</sup>(off-chip DNA synthesis): 是将合成好的探针、cDNA 或基因组 DNA 通过特殊的点样装置或仪器将其以较高密度分布于硝酸纤维膜或经过处理的玻片上, 通过共价键和离子键使之固定. 直接打印时针头与芯片接触, 而在喷印时针头与芯片保持一定距离. 其多用于大片段 DNA, 主要优点是: 保持样品原形, 操作迅速, 成本低廉, 适合于研究者根据需要制备点阵规模适中的基因芯片.

2.3 待分析样品的制备 是基因芯片实验流程的一个重要环节, 靶基因在与芯片探针杂交前必须进行分离、

扩增及标记. 通常是在待测样品的PCR扩增、逆转录或体外转录过程中实现对靶基因的标记. 目前常用荧光物质直接标记核苷酸, 也可用生物素化的核苷酸, 用荧光物质-亲和素结合物间接检测杂交结果, 花青素(Cyanin, Cy3、Cy5)是目前使用最广泛的荧光标记物<sup>[3,17]</sup>. 另外也有人用放射性<sup>32</sup>P标记核苷酸<sup>[18]</sup>.

2.4 杂交 基因芯片与靶基因的杂交过程与一般的分子杂交过程基本相同, 杂交反应条件要根据探针的类型和长度、GC碱基含量以及芯片的类型来优化, 如用于基因表达检测, 杂交的严格性较低; 若用于突变检测的芯片, 其杂交温度高, 杂交时间短, 条件较严格<sup>[11,19]</sup>.

2.5 信号检测及分析 目前荧光检测方法主要有两种<sup>[11,13,15]</sup>: 一是激光共聚焦荧光显微扫描, 二是电荷藕联装置照相机(charge-coupled device camera CCD)荧光显微照相检测. 前者检测灵敏度、分辨率均较高, 但扫描时间长; 后者扫描时间短, 但灵敏度和分辨率不如前者. 虽然荧光检测在芯片技术中得到了广泛的应用, 但其灵敏度较低且不能区分干扰信号, 因而有研究者正试图建立更灵敏、更快速的检测系统, 如质谱法、化学发光法、光导纤维法以及生物传感器法等.

对检测得到的数据, 现有专门的软件进行图像分析和数据库相连, 进行信息处理, 如: 根据时间、功能、染色体位置、代谢途径和其他表型或实验参数进行查询、分类、综合.

### 3 微阵列技术在消化系疾病研究中的应用

基因芯片技术自其问世起就得到了广泛的应用<sup>[20,21]</sup>. 应用领域包括(1)基因表达谱监测, 这是其应用最广泛的领域. 即同时、快速、准确地检测培养细胞和组织标本中上千个已知或未知序列在转录水平的表达状况, 系统地提供基因在发育过程、生理反应、疾病过程和调控网络表达上的时空差别的信息, 从而达到阐述基因功能、探索疾病原因及机制、发现可能的诊断及治疗靶分子等目的.(2)DNA变异研究, 包括DNA测序及突变的检测, 基因型和多态性分析. 人类基因组计划分析出了3.5万个基因序列. 下一步, 就是要分析这些基因的多态性与生物功能和疾病(包括遗传疾病)易感性的关系. 结合单核苷酸多态性标记物系统(single nucleotide polymorphisms, SNP), 应用DNA芯片确定基因多态性和疾病的关系的能力将大大提高, 同时也可确定致病的机制和患者对治疗的反应等.(3)基因测序.

3.1 消化系肿瘤研究中的微阵列技术 利用cDNA阵列中所包含的基因信息的大容量和检测上的简便性, 运用cDNA阵列的方法分析正常组织和不同病理分类肿瘤的表达谱型和差异, 对其分析比较后, 有望为肿瘤的临床分类提供更客观的分子水平的标准, 并为肿瘤临床治疗提供新的靶位分子, 其中还包括为抗肿瘤药物的研制提供很好的实验模板. 从肿瘤的基础理论研究来看, 肿瘤表达谱型的比较研究, 对了解肿瘤的发生、

发展、转移等涉及肿瘤研究领域的一些核心问题, 也可提供依据. 目前, cDNA阵列分析肿瘤基因表达谱型已广泛用于各种肿瘤的研究<sup>[22-28]</sup>. 消化系肿瘤亦是其研究的热点领域. (1)肝癌: 日本东京大学医学院分子医学研究室<sup>[29]</sup>用包含23 040个基因的cDNA微阵列研究了20例原发性肝细胞癌(HCC)及其对应非癌组织基因表达谱. 结果提示绝大多数肿瘤组织中有丝分裂启动基因上调表达. HBV阳性的HCCs其基因表达方式不同于HCV阳性的HCCs, 他们编码一些代谢酶类致癌物及/或抗癌因子. 另外鉴定了一定数量与恶性表型或侵袭表型相关的基因. 这样有可能弄清楚个体肿瘤的本质, 提供线索确定新的治疗靶因子, 最终优化每个患者的治疗. (2)食管癌: 目前临床分类的依据主要是根据肿瘤形态学上的差异, 并籍以指导临床治疗方案. 如何从分子水平阐明肿瘤的发病机制和由此所产生的繁多的病理种类, 是一项涉及多个学科领域的综合性系统工程. 刘芝华 et al<sup>[30]</sup>用cDNA微阵列的方法研究了食管癌的表达谱, 结果显示在所分析的588种已知基因中, cdc25B、MMP、MET等61个在食管癌组织中表达上调, cytoke-  
ratin4、BAD、IL-1 Receptor Antagonist、IL6等22个表达下调, 参与细胞增生、凋亡、分化和转移调控的多种基因的表达水平发生了明显改变. 在其后的研究中<sup>[31]</sup>, 他们又以5 760个点阵的滤膜(包括530个命名的基因, 4654个表达序列标签, 168个看家基因和24个空白点)分析了食管癌发生不同病理阶段(正常, I度异型增生, II度异型增生, 原位癌, 食管细胞癌)的基因表达谱, 通过比较分析这些表达谱, 发现I度异型增生很多基因表达水平已发生改变, 其他4个阶段一些已知的肿瘤相关基因呈高表达或低表达, 对一些重要组分的分析发现一些基因包括 $\alpha$ -TNF, keratin6B和S100 calcium-binding protein A9等在肿瘤的发生发展过程中起了重要的作用. 这些基因的表达改变首次为食管癌细胞的恶性表型提供了分子遗传学参考数据, 一些与肿瘤发生相关的差异表达基因为发展生物标记物或肿瘤早期诊断和治疗提供了线索. (3)结肠癌: 结肠癌是欧美国家最常见的恶性肿瘤, 通过芯片技术对结肠癌基因表达谱的筛选可以发现若干与癌发生发展有关的基因表达变化, 将这些特异表达变化的基因序列重新排列用于结肠癌的诊断, 理论上是可行的. Notterman et al<sup>[32]</sup>进行了有益的尝试. 他们首先构建了包括人类3 200个全长cDNA和3 400个EST的基因芯片, 然后以此筛选了18例结肠腺癌、4例结肠腺瘤和配对的正常结肠黏膜的转录表达情况. 与正常黏膜相比, 结肠癌有19个基因上调表达, 47个基因下调表达. 其中的一些不同也出现在腺瘤标本中. 两步聚类分析能够成功地将腺瘤与腺癌和正常组织区分开来, 由此得到的系统树恰好代表了所研究的三种组织类型. Kitahara et al<sup>[33]</sup>的实验用含9 216个人类基因的cDNA芯片比较了经显微切割(LCM)的8例结肠癌和相应非癌结肠上皮的基因表达谱差异. 一半的肿瘤组

织表达谱发生了改变,有44个上调表达和191个下调表达的基因.这些基因涉及信号转导相关基因、代谢酶类、转录相关、有丝分裂以及凋亡相关基因. Favis et al<sup>[34]</sup>把PCR和链接酶反应(ligase detection resction, LDR)结合,在一个反应管里同时检测上百个突变,再结合寡核苷酸阵列,就能同时迅速分析大量样本.他们应用该方法成功地描绘出结肠癌的K-ras和P-53突变.

3.2 炎症 Honda et al<sup>[35]</sup>用基因芯片技术发现慢性乙型肝炎和慢性丙型肝炎所致肝损伤的基因表达类型不同.基因表达的分层聚类分析显示,HBV感染的肝细胞中,以炎症相关基因表达水平的下调改变较为突出,而HCV感染的肝细胞中,以抗炎基因表达上调为主,提示两型肝炎发病的不同分子机制.1997年,法国Livache et al<sup>[36]</sup>就成功的利用基因芯片技术,对人血中的HCV病毒进行了基因型分析.

基因芯片也被用于胰腺炎的研究. Samir et al<sup>[37]</sup>应用高密度小鼠cDNA芯片分析急性胰腺炎期间胰腺细胞基因表达谱的改变.并对筛选出的一条新基因:胰腺炎诱导蛋白49(PIP)的克隆、序列和表达进行了研究.该基因在胰腺炎急性期迅速而强烈表达.对PIP49初期及后期结构分析显示他是编码跨膜蛋白的基因.

cDNA芯片亦被用到了宿主-病源体相互作用的研究中: Eckmann et al<sup>[38]</sup>用高密度芯片研究了培养的结肠上皮细胞感染沙门氏菌后基因表达的变化,发现了一些与感染相关的基因,其中细胞因子(G-CSF, inhibin A, EB病毒诱导基因3, IL-8, 巨噬细胞炎症蛋白-2a),一些激酶(TKT, Eck, HEK),转录因子(INF诱导因子1)以及HLA I等变化明显,进一步研究发现NF- $\kappa$ B在调节基因表达中具有重要作用.使这方面的知识得到了拓展.

3.3 Hp研究 Hp的诊断迄今为止仍然是一个未被很好解决的问题,基因芯片目前也用到了对Hp的基因分型、寻找毒力相关基因以及与宿主细胞相互作用基因表达水平影响的研究上.

Israel et al<sup>[39]</sup>用Hp全基因组芯片分析从不同临床相关疾病分离的Hp基因组差异,寻找与致病作用有关的毒力基因.发现与致十二指肠溃疡菌株G1.11相比,B128菌株感染沙土鼠后引起更严重的胃炎、溃疡和黏膜细胞增生凋亡紊乱;杂交还发现致十二指肠溃疡菌株G1.11具有大量致病岛(PAI)组分缺失.证明Hp致炎作用是PAI依赖性的. Salama et al<sup>[40]</sup>用Hp全基因组基因芯片检测不同Hp菌株之间基因的改变,发现22%的基因对于一个或多个Hp菌株是非必需的,进而确定了Hp的1281条核心基因.核心基因编码大多数细菌代谢和细胞生命过程必需的蛋白.菌株特异性基因包括Hp特有的基因、限制性修饰基因、转座酶和编码细胞表面蛋白的基因,这些变化是细菌在长期感染宿主过程中的改变.通过基因芯片杂交方法,在菌株特异性基因中,发现了一批相对保守的与PAI有共同遗传性的候

选毒力相关基因.还有学者试图为Hp的研究开辟新的领域, Ang et al<sup>[41]</sup>用含1534个开放读框(ORF)的Hp基因芯片研究了不同酸度条件下(pH7.2, pH5.5)生长的Hp基因组表达的差异.在两种酸性条件下有53个ORF均上调表达.在低酸条件下有80个ORF上调表达,另有4个ORF表达受抑.这一研究为Hp的研究开辟新的思路. Maeda et al<sup>[42]</sup>用高密度cDNA芯片监测与Hp共同培养的人胃癌细胞(MKN-45, AGS)基因表达谱的改变. CagA阳性Hp上调胃癌细胞株2304条基因中的8条.等位基因cagE阴性突变Hp则不能上调这些基因的表达.

3.4 毒物作用和抗肿瘤药物研究 Reilly et al<sup>[43]</sup>用基因芯片技术监测大鼠对乙酰氨基酚所致肝损伤的基因表达改变.得到了一些与加速或抑制进一步肝损伤有关的基因. Waring et al<sup>[44]</sup>又用基因芯片技术分析了四氯化碳、氨甲蝶呤、卡马西平等15种肝毒性物质对体外培养肝细胞基因表达谱改变的影响,表明此技术是毒理学研究的好方法.

NCI(美国国立癌症研究所)在癌症治疗发展计划中观察了65000种以上化合物对9种肿瘤组织来源的60个肿瘤细胞系的作用效应,所得数据为癌症药物的开发和研究提供了很有价值的参考作用,在此基础上,肿瘤生物学家可以利用基因芯片评估药物对肿瘤治疗的可行性及其反应<sup>[45,46]</sup>. Clarke et al<sup>[47]</sup>用基因芯片研究了肠癌患者化疗前和治疗期间肿瘤基因表达情况,发现丝裂霉素C和5-氟尿嘧啶治疗均可使糖苷合成酶和尿嘧啶-DNA糖基酶的基因表达增加.这类研究说明基因芯片是研究药物作用机制潜在的强有力工具<sup>[48]</sup>,有助于确定药物作用的靶基因,为新药研究提供线索.

生物芯片一经出现,就显示出了强大的生命力,其发展速度及其中所运用的技术是传统杂交技术所无法比拟的,令人瞩目,他顺应了人类基因组计划及后基因组计划的实施,必将给生命科学研究和临床诊断带来无法预知的广阔空间.利用基因微阵列研究消化系统疾病将会有助于从整体水平上认识疾病发生过程中相应的分子事件,更深刻地了解消化系肿瘤与疾病的基因变化路径和机制.并最终为消化系疾病发病机制的阐明和诊断、预防和治疗以及药物作用机制和新药物的研制带来一场革命.

#### 4 参考文献

- 1 Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, Smith HO, Yandell M, Evans CA, Holt RA, Gocayne JD, Amanatides P, Ballew RM, Huson DH, Wortman JR, Zhang Q, Kodira CD, Zheng XH, Chen L, Skupski M, Subramanian G, Thomas PD, Zhang J, Gabor Miklos GL, Nelson C, Broder S, Clark AG, Nadeau J, McKusick VA, Zinder N, Levine AJ, Roberts RJ, Simon M, Slayman C, Hunkapiller M, Bolanos R, Delcher A, Dew I, Fasulo D, Flanigan M, Florea L, Halpern A, Hannenhalli S, Kravitz S, Levy S, Mobarry C, Reinert K, Remington K, Abu-Threideh J, Beasley E, Biddick K, Bonazzi V, Brandon R, Cargill M, Chandramouliswaran I, Charlab R, Chaturvedi K, Deng Z, Di Francesco V, Dunn P, Eilbeck K, Evangelista C, Gabrielian AE, Gan W, Ge W, Gong F, Gu Z,

- Guan P, Heiman TJ, Higgins ME, Ji RR, Ke Z, Ketchum KA, Lai Z, Lei Y, Li Z, Li J, Liang Y, Lin X, Lu F, Merkulov GV, Milshina N, Moore HM, Naik AK, Narayan VA, Neelam B, Nusskern D, Rusch DB, Salzberg S, Shao W, Shue B, Sun J, Wang Z, Wang A, Wang X, Wang J, Wei M, Wides R, Xiao C, Yan C, Yao A, Ye J, Zhan M, Zhang W, Zhang H, Zhao Q, Zheng L, Zhong F, Zhong W, Zhu S, Zhao S, Gilbert D, Baumhueter S, Spier G, Carter C, Cravchik A, Woodage T, Ali F, An H, Awe A, Baldwin D, Baden H, Barnstead M, Barrow I, Beeson K, Busam D, Carver A, Center A, Cheng ML, Curry L, Danaher S, Davenport L, Desilets R, Dietz S, Dodson K, Doup L, Ferreira S, Garg N, Gluecksmann A, Hart B, Haynes J, Haynes C, Heiner C, Hladun S, Hostin D, Houck J, Howland T, Ibegwam C, Johnson J, Kalush F, Kline L, Koduru S, Love A, Mann F, May D, McCawley S, McIntosh T, McMullen I, Moy M, Moy L, Murphy B, Nelson K, Pfannkoch C, Pratts E, Puri V, Qureshi H, Reardon M, Rodriguez R, Rogers YH, Romblad D, Ruhfel B, Scott R, Sitter C, Smallwood M, Stewart E, Strong R, Suh E, Thomas R, Tint NN, Tse S, Vech C, Wang G, Wetter J, Williams S, Williams M, Windsor S, Winn-Deen E, Wolfe K, Zaveri J, Zaveri K, Abril JF, Guigo R, Campbell MJ, Sjolander KV, Karlak B, Kejariwal A, Mi H, Lazareva B, Hatton T, Narechania A, Diemer K, Muruganujan A, Guo N, Sato S, Bafna V, Istrail S, Lippert R, Schwartz R, Walenz B, Yooshep S, Allen D, Basu A, Baxendale J, Blick L, Caminha M, Carnes-Stine J, Caulk P, Chiang YH, Coyne M, Dahlke C, Mays A, Dombroski M, Donnelly M, Ely D, Esparham S, Fosler C, Gire H, Glanowski S, Glasser K, Glodek A, Gorokhov M, Graham K, Gropman B, Harris M, Heil J, Henderson S, Hoover J, Jennings D, Jordan C, Jordan J, Kasha J, Kagan L, Kraft C, Levitsky A, Lewis M, Liu X, Lopez J, Ma D, Majoros W, McDaniel J, Murphy S, Newman M, Nguyen T, Nguyen N, Nodell M, Pan S, Peck J, Peterson M, Rowe W, Sanders R, Scott J, Simpson M, Smith T, Sprague A, Stockwell T, Turner R, Venter E, Wang M, Wen M, Wu D, Wu M, Xia A, Zandieh A, Zhu X. The sequence of the human genome. *Science* 2001;291:1304-1351
- 2 Lander ES. Array of hope. *Nat Genet* 1999;21(Suppl 1):3-4
- 3 Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 1995;270:467-470
- 4 DeRisi J, Penland L, Brown PO, Bittner ML, Meltzer PS, Ray M, Chen Y, Su YA, Trent JM. Use of a cDNA microarray to analyse gene expression patterns in human cancer. *Nat Genet* 1996;14:457-460
- 5 Lemkin PF, Thornwall GC, Walton KD, Hennighausen L. The microarray explorer tool for data mining of cDNA microarrays: application for the mammary gland. *Nucleic Acid Res* 2000;28:4452-4459
- 6 Service RF. Microchip arrays put DNA on the spot. *Science* 1998;282:396-399
- 7 Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, Barlund M, Schraml P, Leighton S, Torhorst J, Mihatsch MJ, Sauter G, Kallioniemi OP. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Net Med* 1998;4:844-847
- 8 Emili AQ, Cagney G. Large-scale functional analysis using peptide or protein arrays. *Nat Biotechnol* 2000;18:393-397
- 9 Service RF. Protein arrays step out of DNA's shadow. *Science* 2000;289:1673
- 10 Heller MJ. DNA microarray technology: devices, systems, and applications. *Annu Rev Biomed Eng* 2002;4:129-53
- 11 Marshall A, Hodgson J. DNACHips: an array of possibilities. *Nat Biotechnol* 1998;16:27-31
- 12 Ramsay G. DNACHip: stat-theart. *Nat Biotechnol* 1998;16:40-44
- 13 LeProust E, Zhang H, Yu P, Zhou X, Gao X. Characterization of oligodeoxyribonucleotide synthesis on glass plates. *Nucleic Acids Res* 2001;29:2171-2180
- 14 Schena M, Heller RA, Theriault TP, Konrad K, Lachenmeier E, Davis RW. Microarrays: biotechnology's discovery platform for functional genomics. *Trends Biotechnol* 1998;16:301-306
- 15 Barone AD, Beecher JE, Bury PA, Chen C, Doede T, Fidanza JA, McGall GH. Photolithographic synthesis of high-density oligonucleotide probe arrays. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2001;20:525-531
- 16 Pease AC, Solas D, Sullivan EJ, Cronin MT, Holmes CP, Fodor SP. Light-generated oligonucleotide arrays for rapid DNA sequence analysis. *Pro Natl Acad Sci USA* 1994;91:5022-5026
- 17 Shalon D, Smith SJ, Brown PO. A DNA microarray system for analyzing complex DNA samples using two-color fluorescent probe hybridization. *Genome Res* 1996;6:639-645
- 18 Xu L, Hui L, Wang S, Gong J, Jin Y, Wang Y, Ji Y, Wu X, Han Z, Hu G. Expression profiling suggested a regulatory role of liver-enriched transcription factors in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2001;61:3176-3181
- 19 Drobyshev A, Mologina N, Shik V, Pobedimskaya D, Yershov G, Mirzabekov A. Sequence analysis by hybridization with oligonucleotide microchip: identification of  $\beta$ -thalassemia mutations. *Gene* 1997;188:45-52
- 20 Young RA. Biomedical discovery with DNA arrays. *Cell* 2000;102:9-15
- 21 Liotta L, Petricoin E. Molecular profiling of human cancer. *Nat Rev* 2000;1:48-56
- 22 Golub TR, Slonim DK, Tamayo P, Huard C, Gaasenbeek M, Mesirov JP, Coller H, Loh ML, Downing JR, Caligiuri MA, Bloomfield CD, Lander ES. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science* 1999;286:531-537
- 23 Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, Boldrick JC, Sabet H, Tran T, Yu X, Powell JJ, Yang L, Marti GE, Moore T, Hudson Jr, Lu L, Lewis DB, Tibshirani R, Sherlock G, Chan WC, Greiner TC, Weisenburger DD, Armitage JO, Warnke R, Staudt LM. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000;403:503-511
- 24 Ono K, Tanaka T, Tsunoda T, Kitahara O, Kihara C, Okamoto A, Ochiai K, Takagi T, Nakamura Y. Identification by cDNA microarray of genes involved in ovarian carcinogenesis. *Cancer Research* 2000;60:5007-5011
- 25 Bittner M, Meltzer P, Chen Y, Jiang Y, Seftor E, Hendrix M, Radmacher M, Simon R, Yakhini Z, Ben-Dor A, Sampas N, Dougherty E, Wang E, Marincola F, Gooden C, Lueders J, Glatfelter A, Pollock P, Carpten J, Gillanders E, Leja D, Dietrich K, Beaudry C, Berens M, Alberts D, Sondak V. Molecular classification of cutaneous malignant melanoma by gene expression profiling. *Nature* 2000;406:536-540
- 26 Hedenfalk I, Duggan D, Chen Y, Radmacher M, Bittner M, Simon R, Meltzer P, Gusterson B, Esteller M, Kallioniemi OP, Wilfond B, Borg A, Trent J. Gene-expression profiles in hereditary breast cancer. *N Engl J Med* 2001;344:539-548
- 27 Dyrskjot L, Thykjaer T, Kruhoffer M, Jensen JL, Marcussen N, Hamilton-Dutoit S, Wolf H, ORntoft TF. Identifying distinct classes of bladder carcinoma using microarrays. *Nat Gene* 2003;33:90-96
- 28 Luo J, Duggan DJ, Chen Y, Sauvageot J, Ewing CM, Bittner ML, Trent JM, Isaacs WB. Human prostate cancer and benign prostatic hyperplasia: molecular dissection by gene expression profiling. *Cancer Res* 2001;61:4683-4688
- 29 Okabe H, Satoh S, Kato T, Kitahara O, Yanagawa R, Yamaoka Y, Tsunoda T, Furukawa Y, Nakamura Y. Genome-wide analysis of gene expression in human hepatocellular carcinomas using cDNA microarray: identification of genes involved in viral carcinogenesis and tumor progression. *Cancer Research* 2001;61:2129-2137
- 30 刘芝华, 周津, 王秀琴, 周传农, 赵峻, 张汝刚. 食管癌及癌旁组织中基因表达的初步研究. *中华医学遗传学杂志* 1999;16:303-306
- 31 Lu J, Liu Z, Xiong M, Wang Q, Wang X, Yang G, Zhao L, Qiu Z, Zhou C, Wu M. Gene expression profile changes in initiation and progression of squamous cell carcinoma of esophagus. *Int J Cancer* 2001;91:288-294
- 32 Notterman DA, Alon U, Sierk AJ, Levine AJ. Transcriptional gene expression profiles of colorectal adenoma, adenocarcinoma, and normal tissue examined by oligonucleotide arrays. *Cancer Research* 2001;61:3124-3130
- 33 Kitahara O, Furukawa Y, Tanaka T, Kihara C, Ono K, Yanagawa R, Nita ME, Takagi T, Nakamura Y, Tsunoda T. Alteration of gene expression during colorectal carcinogenesis revealed by cDNA microarrays after laser-capture microdissection of tu-

- mor tissues and normal epithelia. *Cancer Research* 2001;61:3544-3549
- 34 Favis R, Barany F. Mutation detection in K-ras, BRCA1, BRCA2, and p53 using PCR/LDR and a universal DNA microarray. *Ann N Acad Sci* 2000;906:39-43
- 35 Honda M, Kaneko S, Kawai H, Shiota Y, Kobayashi K. Differential gene expression between chronic hepatitis B and C hepatic lesion. *Gastroenterology* 2001;120:955-966
- 36 Livache T, Fouque B, Roget A, Marchand J, Bidan G, Teoule R, Mathis G. Polypyrrole DNACHIP on a silicon device: example of hepatitis C virus genotyping. *Anal Biochem* 1998;255:188-194
- 37 Samir AA, Ropolo A, Grasso D, Tomasini R, Dagorn JC, Dusetti N, Iovanna JL, Vaccaro MI. Cloning and expression of the mouse PIP49 (Pancreatitis Induced Protein 49) mRNA which encodes a new putative transmembrane protein activated in the pancreas with acute pancreatitis. *Mol Cell Bio Res Commun* 2000;4:188-193
- 38 Eckmann L, Smith JR, Housley MP, Dwinell MB, Kagnoff MF. Analysis by high density cDNA arrays of altered gene expression in human intestinal epithelial cells in response to infection with the invasive enteric bacteria *Salmonella*. *J Biol Chem* 2000;275:14084-14094
- 39 Israel DA, Salama N, Arnold CN, Moss SF, Ando T, Wirth HP, Tham KT, Camorlinga M, Blaser MJ, Falkow S, Peek RM Jr. *Helicobacter pylori* strain-specific differences in genetic content, identified by microarray, influence host inflammatory responses. *J Clin Invest* 2001;107:611-620
- 40 Salama N, Guillemin K, McDaniel TK, Sherlock G, Tompkins L, Falkow S. A whole-genome microarray reveals genetic diversity among *Helicobacter pylori* strains. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:14668-14673
- 41 Ang S, Lee CZ, Peck K, Sindici M, Matrubutham U, Gleeson MA, Wang JT. Acid-induced gene expression in *Helicobacter pylori*: study in genomic scale by microarray. *Infection And Immunity* 2001;69:679-1686
- 42 Maeda S, Otsuka M, Hirata Y, Mitsuno Y, Yoshida H, Shiratori Y, Masuho Y, Muramatsu M, Seki N, Omata M. cDNA microarray analysis of *Helicobacter pylori*-mediated alteration of gene expression in gastric cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;284:443-449
- 43 Reilly TP, Bourdi M, Brady JN, Pise-Masison CA, Radonovich MF, George JW, Pohl LR. Expression profiling of acetaminophen liver toxicity in mice using microarray technology. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;282:321-328
- 44 Waring JF, Ciurlionis R, Jolly RA, Heindel M, Ulrich RG. Microarray analysis of hepatotoxins in vitro reveals a correlation between gene expression profiles and mechanisms of toxicity. *Toxicol Lett* 2001;120:359-368
- 45 Zembutsu H, Ohnishi Y, Tsunoda T, Furukawa Y, Katagiri T, Ueyama Y, Tamaoki N, Nomura T, Kitahara O, Yanagawa R, Hirata K, Nakamura Y. Genome-wide cDNA microarray screening to correlate gene expression profiles with sensitivity of 85 human cancer xenografts to anticancer drugs. *Cancer Res* 2002;62:518-527
- 46 Kihara C, Tsunoda T, Tanaka T, Yamana H, Furukawa Y, Ono K, Kitahara O, Zembutsu H, Yanagawa R, Hirata K, Takagi T, Nakamura Y. Prediction of sensitivity of esophageal tumors to adjuvant chemotherapy by cDNA microarray analysis of gene-expression profiles. *Cancer Res* 2001;61:6474-6479
- 47 Clarke PA, George M, Cunningham D, Swift I, Workman P. Analysis of tumor gene expression following chemotherapeutic treatment of patients with bowel cancer. In: 'Proc. Nature Genetics Microarray Meeting 99'. Scottsdale: Arizona, 1999:39
- 48 Cronin MT, Pho M, Dutta D, Frueh F, Schwarcz L, Brennan T. Utilization of new technologies in drug trials and discovery. *Drug Metab Dispos* 2001;29:586-590

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2003 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

## 提供您使用世界华人消化杂志和 World J Gastroenterol 电子版

本刊讯 世界华人消化杂志 (原新消化病学杂志) 从 1993-2002 年的电子版全部出版. 世界华人消化杂志过去发行: 新消化病学杂志, 1993 (1-4 期); 新消化病学杂志, 1994(1-4 期); 新消化病学杂志, 1995(1-4 期); 新消化病学杂志, 1996(1-12 期); 新消化病学杂志, 1997(1-12 期); 华人消化杂志, 1998(1-12 期); 世界华人消化杂志, 1999(1-12 期); 世界华人消化杂志, 2000 (1-12 期); 世界华人消化杂志, 2001(1-12 期). 世界华人消化杂志, 2002(1-12 期). 当前发行世界华人消化杂志, 2003(1-7 期).

World Journal of Gastroenterology (原中国新消化病学杂志) 从 1995-2002 年的电子版全部出版. 过去发行: China Natl J New Gastroenterol, 1995 (1 期); China Natl J New Gastroenterol, 1996 (1-4 期); China Natl J New Gastroenterol, 1997(1-4 期); World J Gastroenterol, 1998 (1-6 期); World J Gastroenterol, 1999(1-6 期); World J Gastroenterol, 2000(1-6 期); World J Gastroenterol, 2001(1-6 期); World J Gastroenterol, 2002(1-6 期). 当前发行 World J Gastroenterol, 2003(1-7 期).

世界华人消化杂志网址: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.asp>. World J Gastroenterol 网址: <http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.asp>

(世界胃肠病学杂志社 2003-07-05)