

# CDKN2A 位点 p16<sup>INK4a</sup>、p14<sup>ARF</sup> 基因变异与胃癌发生的关系

汤绍辉 杨冬华 罗和生 于皆平 舒建昌

**【摘要】** 目的 探讨 p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup>基因变异与胃癌发生的关系。方法 应用聚合酶链反应(PCR)、PCR-单链构象多态性(SSCP)、PCR 甲基化分析法和 RT-PCR 分别检测 48 例胃癌及癌旁组织中 p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup>基因纯合性缺失、突变、CpG 岛甲基化及 mRNA 表达状况。结果 (1)胃癌组织 p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup>基因总缺失率为 35.4%(17/48),癌旁组织均未见纯合性缺失。(2)31 例无纯合性缺失的胃癌及癌旁组织均未见 p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup>基因点突变。(3)胃癌组织 p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup>基因总甲基化率为 47.9%(23/48),癌旁组织仅 2 例甲基化,两者差异有显著性( $P < 0.01$ )。(4)胃癌组织 p16<sup>INK4a</sup> mRNA 缺失率为 47.9%(23/48),其中 E1 $\alpha$  和 E2 共甲基化者 p16<sup>INK4a</sup> mRNA 缺失率(100%, 6/6)明显高于其他类型甲基化者(11.8%, 2/17)( $P < 0.01$ );胃癌组织 p14<sup>ARF</sup> mRNA 缺失率为 45.8%(22/48),其中 E1 $\beta$  和 E2 共甲基化者 p14<sup>ARF</sup> mRNA 缺失率(100%, 3/3)明显高于其他类型甲基化者(15%, 3/20)( $P < 0.05$ )。(5)低未分化癌组 p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup> mRNA 共同缺失率(36.7%, 11/30)明显高于高中分化癌组(5.6%, 1/18)( $P < 0.05$ )。结论 胃癌中 p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup>基因失活多由纯合性缺失和 5' CpG 岛甲基化所致,其表达缺失与胃癌的发生密切相关。

**【关键词】** 胃肿瘤;基因

## Relationship between alterations of p16<sup>INK4a</sup> and p14<sup>ARF</sup> genes of CDKN2A locus and gastric carcinogenesis

TANG Shao-hui\*, YANG Dong-hua, LUO He-sheng, YU Jie-ping, SHU Jian-chang. \*Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510630, China  
Corresponding author: YANG Dong-hua. Email: thdyang@jun.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To investigate the relationship between alterations of p16<sup>INK4a</sup> and p14<sup>ARF</sup> genes and gastric carcinogenesis. **Methods** Tumors and gastric tissues neighboring carcinoma from 48 patients with gastric cancer were studied. Homozygous deletion, mutation, methylation of the CpG islands, mRNA expression of p16<sup>INK4a</sup> and p14<sup>ARF</sup> genes were assessed by polymerase chain reaction(PCR), PCR-single strand conformation polymorphism(SSCP), PCR based methylation assay, and reverse transcription(RT)-PCR. **Results** (1)The overall homozygous deletion rate of p16<sup>INK4a</sup> and p14<sup>ARF</sup> was 35.4%(17/48), and no homozygous deletion was examined in all the gastric tissues neighboring tumor. (2)There was no point mutation of p16<sup>INK4a</sup> and p14<sup>ARF</sup> in 31 gastric cancers without homozygous deletion and in the matched gastric tissues adjacent to tumor. (3)Methylation of the CpG islands of p16<sup>INK4a</sup> and p14<sup>ARF</sup> was detected in 47.9%(23/48) of gastric cancers, while methylation was observed only in 2 of 48 gastric tissues neighboring cancers with a significant difference( $P < 0.01$ ). (4)The rate of p16<sup>INK4a</sup> mRNA loss was 47.9%(23/48) in gastric cancer, and the cases of combined methylation of exons 1 $\alpha$  and 2 had a higher loss rate(100%, 6/6) of p16<sup>INK4a</sup> mRNA than those of methylation from the other exon(11.8%, 2/17)( $P < 0.01$ ). The loss rate of p14<sup>ARF</sup> mRNA was 45.8%(22/48) in gastric cancer, and patients with combined methylation of exons 1 $\beta$  and 2 had a higher loss rate(100%, 3/3) of p14<sup>ARF</sup> mRNA than those of the methylation from the other exons(15%, 3/20)( $P < 0.05$ ). (5)The combined loss of p16<sup>INK4a</sup> and p14<sup>ARF</sup> mRNAs was examined in 1(5.6%) of 18 cases of well and moderately-differentiated carcinomas, and 11(36.7%) of 30 cases of poorly and not-differentiated carcinomas with significant difference( $P < 0.05$ ). **Conclusion** p16<sup>INK4a</sup> and p14<sup>ARF</sup> genes were frequently inactivated by homozygous deletion and methylation of the 5' CpG islands in gastric cancer, which might have played an important role in the development of gastric cancer.

**【Key words】** Gastric cancer; Genes

人 CDKN2A 基因位点定位于染色体 9p21, 它编码两种结构不同的抑癌蛋白 p16<sup>INK4a</sup> 和 p14<sup>ARF</sup> (小鼠为 p19<sup>ARF</sup>), 分别通过 pRb 和 p53 途径参与细胞周期负调控。p16<sup>INK4a</sup> 和 p14<sup>ARF</sup> 具有不同的编码外显子 E1 (前者为 E1 $\alpha$ , 后者为 E1 $\beta$ ), 却共用 E2 和 E3<sup>[1-2]</sup>。研究表明, CDKN2A 基因位点纯合性缺失、突变和 5' CpG 岛甲基化变异引起 p16<sup>INK4a</sup> 和/或 p14<sup>ARF</sup> 蛋白表达缺失与人类多种肿瘤发生密切相关<sup>[2-5]</sup>。但有关胃癌中变异国内外报道甚少。我们通过观察胃癌中 p16<sup>INK4a</sup> 和 p14<sup>ARF</sup> 基因变异, 探讨其与胃癌发生的关系及意义。

## 材料与方 法

1. 标本 : 48 例胃癌及相应癌旁组织 (距癌灶肉眼边缘 5~6 cm) 标本, 其中男性胃癌患者 30 例, 女性 18 例, 年龄 18~69 岁, 平均年龄 42.8 岁。所有标本均经病理组织学诊断, 其中高中分化腺癌 18 例、低分化腺癌 15 例、黏液腺癌 10 例、未分化癌 4 例、髓样癌 1 例。手术切除标本迅速置 -80℃ 冰箱中冻存储备用。用于 DNA 提取的癌组织癌细胞百分比为 80%~90%, 最大限度减少间质细胞的污染。

### 2. 方法 :

(1) DNA 提取 : 采用常规酚-氯仿抽提法。

(2) 聚合酶链反应 (PCR) : ① 引物设计及合成<sup>[6-8]</sup> : 由 GIBCO BRL 公司合成, CDKN2A E1 $\alpha$  (346 bp) 为 5'-GAA GAA AGA GGA GGG GCT G-3' 及 5'-GCG CTA CCT GAT TCC AATTC-3', E1 $\beta$  (439 bp) 为 5'-TCC CAG TCT GCA GTT AAG G-3' 及 5'-GTC TAA GTC GTT GTA ACC CG-3', E2 (335 bp) 为 5'-GGA AAT TGG AAA CTG GAA GC-3' 及 5'-TAC CGT GCG ACA TCG CGA T-3'; 内对照  $\beta$ -globin (268 bp) 为 5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3' 及 5'-GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC-3'。② PCR 反应 : 含 25 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 1.8  $\mu$ l, 10 $\times$  PCR buffer 3.0  $\mu$ l, 2.5 mmol/L dNTPs 2.0  $\mu$ l, 50 pmol/ $\mu$ l 引物各 0.5  $\mu$ l, DNA 模板 0.1~1.0  $\mu$ g, 高保真 Pfu DNA 聚合酶 1 U, 加双蒸水至总体积为 30  $\mu$ l。扩增参数为 94℃ 变性 55 s, 61℃ 退火 55 s, 72℃ 延伸 55 s, 循环 28 个周期后, 取扩增 DNA 样品 5  $\mu$ l 在 1.5%~2.0% 琼脂糖凝胶电泳 0.5~1 h, 紫外透射仪下观察结果。

(3) PCR-单链构象多态性 (SSCP) 分析 : 取扩增的 E1 $\alpha$ , E1 $\beta$ , E2 PCR 阳性产物 5  $\mu$ l, 加 10  $\mu$ l 甲酰胺

变性上样液, 混匀, 90℃ 水浴 5 min, 冰浴后, 上样至 5% 中性聚丙烯酰胺凝胶, 300 V 电泳 1.5~3 h。标准硝酸银法染色, 干燥凝胶并摄片。

(4) PCR 甲基化检测 : ① 1  $\mu$ g 基因组 DNA 加入 10 U 甲基化敏感酶 Hpa II 及 Cfo I 或甲基化非敏感酶 Msp I 消化 2 h, 前者不能切割识别序列中被甲基化修饰的位点, 后者则可。为排除不完全消化可能性, 所有标本均用酶消化 2 次。② 酶切后的 DNA 分别进行 CDKN2A E1 $\alpha$ , E1 $\beta$ , E2 PCR 扩增, 引物序列、扩增条件和循环参数同前。扩增前用 Msp I 消化基因组 DNA 作为限制性内切酶消化对照, 未用限制性内切酶消化的 DNA 作为 PCR 扩增阳性对照。为了保证结果的可重复性, 每个 PCR 扩增至少重复 2 次。取扩增产物 5  $\mu$ l 在 2% 琼脂糖凝胶上电泳 0.5 h, 紫外透射仪下观察结果。③ 结果判断 : E1 $\alpha$  有 2 个 Cfo I 和 1 个 Hpa II 位点, E1 $\beta$  有 7 个 Cfo I 和 1 个 Hpa II 位点, E2 有 7 个 Cfo I 和 4 个 Hpa II 位点<sup>[9]</sup>。应用 Cfo I、Hpa II 消化后扩增结果为阴性, 表明检测的酶切位点至少有一个未被甲基化修饰, 如扩增结果为阳性, 则表明所有检测的酶切位点均被甲基化。

(5) 逆转录 PCR (RT-PCR) 分析 : ① 组织总 RNA 提取按照试剂盒说明进行。② RT-PCR 扩增反应 : 反应体系及扩增条件参见文献<sup>[10]</sup>, p16<sup>INK4a</sup> (250 bp) 上游引物为 5'-CAC GGC CGC GGC CCG GGG TC-3', p14<sup>ARF</sup> (235 bp) 上游引物为 5'-GCC AGG GGC GCC CGC CGC TG-3', p16<sup>INK4a</sup> 和 p14<sup>ARF</sup> 共用下游引物为 5'-GGC CCG GTG CAG CAC CAC CA-3'<sup>[10]</sup>。反应完毕, 取扩增产物 5  $\mu$ l 在 2% 琼脂糖凝胶电泳 0.5 h, 紫外透射仪下观察结果。内对照  $\beta$ -globin 的扩增条件同前。

3. 统计学分析 : 所有资料及数据采用 SPSS 10.0 软件进行  $\chi^2$  检验处理,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1. p16<sup>INK4a</sup> 和 p14<sup>ARF</sup> 纯合性缺失检测 : 48 例胃癌中, p16<sup>INK4a</sup> 和 p14<sup>ARF</sup> 纯合性缺失共计 17 例, 总缺失率为 35.4%。其中, 单纯 E1 $\alpha$  缺失 2 例, 单纯 E1 $\beta$  缺失 4 例, 单纯 E2 缺失 3 例, E1 $\alpha$  和 E1 $\beta$  共同缺失 3 例, E1 $\alpha$  和 E2 共同缺失 2 例, E1 $\beta$  和 E2 共同缺失 3 例。48 例癌旁组织 E1 $\alpha$ , E1 $\beta$ , E2 均未见纯合性缺失, 所有胃癌和癌旁组织的内对照  $\beta$ -globin PCR 扩

增均为阳性。

2. p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup>点突变银染PCR-SSCP 检测 31 例无纯合性缺失的胃癌及癌旁组织分别进行 p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup>银染PCR-SSCP 对比分析,无一例发生点突变。

3. PCR 甲基化检测 :48 例胃癌中 ,p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup>甲基化共计 23 例 ,总甲基化率为 47.9%。其中 ,单纯 E2 甲基化 15 例 ,E1 $\alpha$  和 E2 共同甲基化 5 例 ,E1 $\beta$  和 E2 共同甲基化 2 例 ,E1 $\alpha$ 、E1 $\beta$ 、E2 三者共同甲基化 1 例(图 1、2)。48 例相应癌旁组织仅 2 例(均为 E2)甲基化 ,与癌组织相比 ,差异有显著性(表 1,  $P < 0.01$ )。

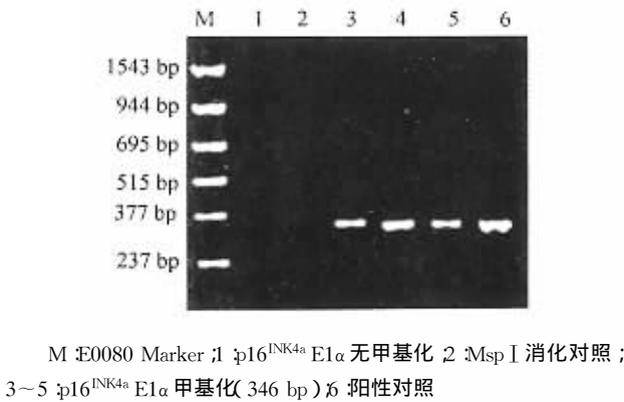


图1 胃癌组织 p16<sup>INK4a</sup> E1 $\alpha$  PCR 甲基化分析

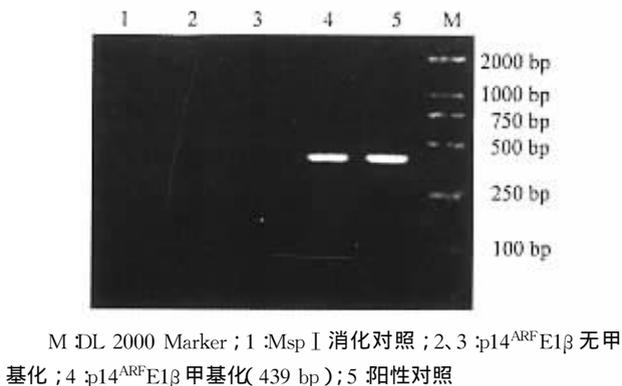


图2 胃癌组织 p14<sup>ARF</sup> E1 $\beta$  PCR 甲基化分析

表1 48 例胃癌和癌旁组织 p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup>甲基化结果

p16 <sup>INK4a</sup> 和 p14 <sup>ARF</sup> 外显子	胃癌甲基化		癌旁甲基化	
	例数	发生率 (%)	例数	发生率 (%)
单纯 E2	15	31.25	2	4.17
E1 $\alpha$ + E2	5	10.42	0	0.00
E1 $\beta$ + E2	2	4.17	0	0.00
E1 $\alpha$ + E1 $\beta$ + E2	1	2.08	0	0.00
合计	23	47.90*	2	4.17*

\*  $P < 0.01$

4. RT-PCR 检测 :

(1)p16<sup>INK4a</sup> 转录子 :胃癌组织 p16<sup>INK4a</sup> mRNA 缺失率为 47.9% (23/48) ,其中 13 例表现为 E1 $\alpha$ 、E2 纯合性缺失 ,8 例见于 E1 $\alpha$ 、E2 CpG 岛甲基化 ,2 例 DNA 水平检测无异常。6 例 E1 $\alpha$  和 E2 共甲基化者 RT-PCR 结果均为阴性 (6/6 ,100%) ,余下 17 例其他类型甲基化者仅 2 例为阴性 (2/17 ,11.8%) ,两者差异有显著性 ( $P < 0.01$  ,图 3)。



图3 胃癌组织 p16<sup>INK4a</sup>转录子 RT-PCR 电泳分析

(2)p14<sup>ARF</sup> 转录子 :胃癌组织 p14<sup>ARF</sup> mRNA 缺失率为 45.8% (22/48) ,其中 15 例表现为 E1 $\beta$ 、E2 纯合性缺失 ,6 例见于 E1 $\beta$ 、E2 CpG 岛甲基化 ,1 例 DNA 水平检测无异常。3 例 E1 $\beta$  和 E2 共甲基化者 RT-PCR 结果均为阴性 (3/3 ,100%) ,其余 20 例其他类型甲基化者仅 3 例为阴性 (3/20 ,15%) ,两者差异有显著性 ( $P < 0.05$  ,图 4)。

所有病例  $\beta$ -globin 内对照 RT-PCR 结果均为阳性。

5. p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup> mRNA 表达缺失与胃癌分化程度的关系 :48 例胃癌中 ,高中分化癌组 ( $n = 18$ ) 与低未分化癌组 ( $n = 30$ ) p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup> mRNA 共同无表达分别为 1 例 (5.6%) 和 11 例 (36.7%) ,两者差异有显著性 (表 2,  $P < 0.05$ )。

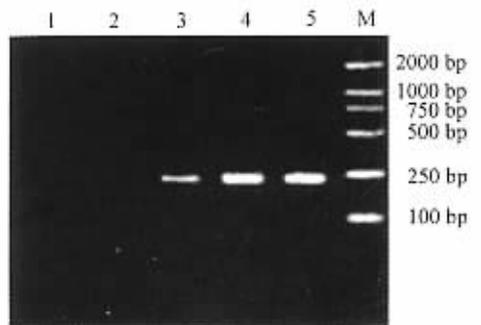


图4 胃癌组织 p14<sup>ARF</sup>转录子 RT-PCR 电泳分析

图4 胃癌组织 p14<sup>ARF</sup>转录子 RT-PCR 电泳分析

表2 p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup> mRNA 共同缺失与胃癌分化程度的关系

分化程度	例数	p16 <sup>INK4a</sup> 和 p14 <sup>ARF</sup> mRNA 共同无表达 (%)
高中分化癌	18	1(5.6)*
低未分化癌	30	11(36.7)*
合计	48	12

\*  $P < 0.05$

## 讨 论

### 1. CDKN2A 基因位点结构及其表达产物功能:

CDKN2A 基因位点又称为 INK4a/ARF, 可转录生成两种不同的 mRNA, 分别编码 p16<sup>INK4a</sup>和 ARF 蛋白(人鼠分别称为 p14<sup>ARF</sup>和 p19<sup>ARF</sup>)。两种 mRNA 差别仅在于其编码区第 1 外显子不同, 前者为 E1 $\alpha$ , 后者为 E1 $\beta$ , 而 E2 和 E3 则完全相同<sup>[1, 2]</sup>。E1 $\beta$  位于 E1 $\alpha$  上游 20 kb 处, 长约 268 bp, 富含 CpG 岛, 有高度保守性。虽然 p16<sup>INK4a</sup>和 ARF 具有相同的 E2 和 E3, 但开放读码框(ORF)完全不同<sup>[7, 10, 11]</sup>。

正常情况下, p16<sup>INK4a</sup>通过抑制 CDK4/6 介导的 pRb 蛋白磷酸化, 阻止细胞通过 G1 $\rightarrow$ S 调控点滞留在 G1 期, 抑制细胞增殖<sup>[12, 13]</sup>。ARF 也是一种细胞周期调控子, 作用于 G1 $\rightarrow$ S 和 G2 $\rightarrow$ M 调控点, 阻止细胞周期进展。目前认为, ARF 与 mdm2 直接相互作用, 阻止 mdm2 诱导 p53 快速降解, 使 p53 更趋稳定, 并上调其活性。最近发现, ARF 还可通过 p53 非依赖途径调节肿瘤血管生成而发挥抑癌作用。除此以外, 这两种蛋白还参与细胞凋亡过程<sup>[4, 12, 14, 15]</sup>。

### 2. 胃癌中 p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup> 基因纯合性缺失、突变与表达失活的关系:

研究发现, 在肝癌、结肠癌、口腔癌、黑色素瘤等多种人类肿瘤中, CDKN2A 位点 E1 $\alpha$ , E1 $\beta$ , E2 存在纯合性缺失、突变, 同时 RT-PCR 或免疫组化显示 p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup> 表达失活<sup>[2-5]</sup>。Iida 等<sup>[16]</sup>研究证实, 在人胃癌细胞系, p14<sup>ARF</sup> mRNA 表达失活多由纯合性缺失所致。本组资料显示, 胃癌组织 E1 $\alpha$ , E1 $\beta$ , E2 总缺失率为 35.4%(17/48), 而相应癌旁组织未发现纯合性缺失。在所有纯合性缺失患者中, p16<sup>INK4a</sup>和/或 p14<sup>ARF</sup> mRNA 无表达, 提示纯合性缺失是其表达失活机制之一, 并与人类胃癌的发生发展关系密切。31 例无纯合性缺失的胃癌及癌旁组织均未见 E1 $\alpha$ , E1 $\beta$ , E2 点突变, 而且 mRNA 表达均正常, 提示胃癌中 E1 $\alpha$ , E1 $\beta$ , E2 不产生或很少产生点突变, 对两种

转录子表达及胃癌发生无明显影响。

3. 胃癌中 p16<sup>INK4a</sup>、p14<sup>ARF</sup> 基因 CpG 岛甲基化对表达的影响: 研究证实, 在人类多种肿瘤中, CDKN2A 位点 5' CpG 岛存在异常甲基化, 并且是其表达失活机制之一<sup>[2, 3, 9]</sup>。Iida 等<sup>[16]</sup>报道, p14<sup>ARF</sup> 启动子区甲基化多见于弥散型胃癌, 而且异常甲基化病例其 mRNA 表达缺失。本组资料显示, 胃癌组织 E1 $\alpha$ , E1 $\beta$ , E2 总甲基化率为 47.9%(23/48), 而相应癌旁组织仅 2 例甲基化, 两者差异有显著性 ( $P < 0.01$ ), 提示胃癌组织 p16<sup>INK4a</sup>、p14<sup>ARF</sup> 存在高甲基化现象。研究同时发现, 6 例 E1 $\alpha$  和 E2 共甲基化者 p16<sup>INK4a</sup> mRNA 均无表达, 17 例其他类型甲基化者仅 2 例无表达, 两者差异有显著性 ( $P < 0.01$ ); 3 例 E1 $\beta$  和 E2 共甲基化者 p14<sup>ARF</sup> mRNA 均无表达, 20 例其他类型甲基化者仅 3 例无表达, 两者差异有显著性 ( $P < 0.05$ )。这些结果提示 CDKN2A 5' CpG 岛(E1 $\alpha$ , E1 $\beta$ )甲基化可分别导致 p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup> mRNA 表达缺失, 而其他外显子甲基化与基因转录失活无明显相关性。另有 2 例和 1 例患者 p16<sup>INK4a</sup>与 p14<sup>ARF</sup> mRNA 分别表达缺失, 而相应 E1 $\alpha$ , E1 $\beta$ , E2 未检测到变异, 提示两种转录子表达失活除了与外显子缺失、突变、异常甲基化有关外, 还有其他机制参与, 有待进一步研究阐明。

4. 两种转录子表达缺失对胃癌分化程度的影响及意义: 本组资料显示, 低未分化癌 p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup> mRNA 共同缺失率明显高于高中分化癌 ( $P < 0.05$ ), 提示两种 mRNA 共同缺失与胃癌的恶性程度呈正相关, 对胃癌细胞的恶性进展具有协同作用, 使其向分化差的病理类型发展, 导致患者预后欠佳。因此, 两者共同缺失可作为判断胃癌恶性程度的指标之一。

总之, 本研究提示, 胃癌组织 p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup> 基因变异是一个较常见事件, 其变异方式主要表现为 E1 $\alpha$ , E1 $\beta$ , E2 纯合性缺失及 5' CpG 岛甲基化, 导致两种 mRNA 表达缺失, 使 p16<sup>INK4a</sup>和 p14<sup>ARF</sup> 蛋白不表达, 从而加速细胞通过 G1 $\rightarrow$ S 和 G2 $\rightarrow$ M 调控点, 使细胞呈无限制增殖生长, 最终导致胃癌的形成和发展。

## 参 考 文 献

- Rizos H, Puig S, Badenas C, et al. A melanoma-associated germline mutation in exon 1 $\beta$  inactivates p14<sup>ARF</sup>. *Oncogene*, 2001, 20: 5543-5547.

- 2 Tannapfel A, Busse C, Weinans L, et al. INK4a-ARF alterations and p53 mutations in hepatocellular carcinomas. *Oncogene*, 2001, 20:7104-7109.
- 3 Burri N, Shaw P, Bouzourene H, et al. Methylation silencing and mutations of the p14<sup>ARF</sup> and p16<sup>INK4a</sup> genes in colon cancer. *Lab Invest* 2001 81:217-229.
- 4 Shahnavaz SA, Bradkey G, Regezi JA, et al. Patterns of CDKN2A gene loss in sequential oral epithelial dysplasias and carcinomas. *Cancer Res* 2001 61:2371-2375.
- 5 Hashemi J, Lindstrom M, Asker C, et al. A melanoma-predisposing germline CDKN2A mutation with functional significance for both p16 and p14<sup>ARF</sup>. *Cancer Lett* 2002 180:211.
- 6 Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, et al. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types. *Science*, 1994 264:436-440.
- 7 Mao L, Merlo A, Bedi G, et al. A novel p16<sup>INK4a</sup> transcript. *Cancer Res*, 1995, 55:2995-2997.
- 8 Myerson D, Lingenfelter PA, Gleaves CA, et al. Diagnosis of cytomegalovirus pneumonia by the polymerase chain reaction with archived frozen lung tissue and bronchoalveolar lavage fluid. *Am J Clin Pathol*, 1993, 100:407-413.
- 9 Gonzalgo ML, Hayashida T, Bender CM, et al. The role of DNA methylation in expression of the p19/p16 locus in human bladder cancer cell lines. *Cancer Res*, 1998, 58:1245-1252.
- 10 Magdinier F, Wolffe AP. Selective association of the methyl-CpG binding protein MBD2 with the silent p14/p16 locus in human neoplasia. *Pro Natl Acad Sci USA*, 2001 98:4990-4995.
- 11 Gazzeri S, Della Valle V, Chaussade L, et al. The human p19<sup>ARF</sup> protein by the  $\beta$  transcript of the p16<sup>INK4a</sup> gene is frequently lost in small cell lung cancer. *Cancer Res*, 1998, 58:3926-3931.
- 12 Ivanchuk SM, Mondal S, Dirks PB, et al. The INK4a/ARF locus: role in cell cycle control and apoptosis and implications for glioma growth. *J Neurooncol*, 2001 51:219-229.
- 13 Watanabe T, Nakamura M, Yonekawa Y, et al. Promoter hypermethylation and homozygous deletion of the p14<sup>ARF</sup> and p16<sup>INK4a</sup> genes in oligodendrogliomas. *Acta Neuropathol*, 2001, 101:185-189.
- 14 Tsuji K, Mizumoto K, Sudo H, et al. p53-independent apoptosis is induced by the p19<sup>ARF</sup> tumor suppressor. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002 295:621-629.
- 15 McKeller RN, Fowler JL, Cunningham JJ, et al. The Arf tumor suppressor gene promotes hyaloid vascular regression during mouse eye development. *Pro Natl Acad Sci USA*, 2002 99:3848-3853.
- 16 Iida S, Akiyama Y, Nakajima T, et al. Alterations and hypermethylation of the p14(ARF) gene in gastric cancer. *Int J Cancer*, 2000 87:654-658.

(收稿日期 2003-04-08)

(本文编辑:尹廉)

## · 疾病控制 ·

### 以急腹症就诊的艾滋病病毒感染一例报告

王国荣 胡超峰

患者女性 20 岁,无业,小学文化,未婚。2003 年 9 月 16 日 20 时就急诊,自诉持续性下腹疼痛 2 天,畏寒发热 1 天,晨起腹痛加剧,下午进行性加重。末次月经 2003 年 9 月 9 日。

查体:急性病容,体温 38.5℃,脉搏 100 次/min,呼吸 16 次/min,心肺听诊无异常发现,全身浅表淋巴结未及肿大,下腹部压痛、反跳痛<sup>+</sup>。妇科检查:外阴已婚未产式,外阴及阴道黏膜充血明显,黏膜完整,见泡沫状黄色白带,量中等,宫颈略肥大,光滑,充血明显。子宫后位压痛、双侧附件压痛<sup>+</sup>。实验室检查:白细胞  $2.1 \times 10^9/L$ ,中性 94.8%,血红蛋白 98 g/L,白带脓球<sup>++</sup>,以急性盆腔腹膜炎转入妇科病房。入院

检查:宫颈分泌物培养衣原体阳性,淋球菌、支原体、梅毒血清试验均阴性。HIV 抗体检测阳性,经浙江省疾病预防控制中心确证试验结果为 HIV 1 型抗体阳性。患者经住院治疗,后病情好转,于 9 月 20 日自动出院,出院诊断:急性盆腔炎; HIV 感染;衣原体性宫颈炎。

经流行病学调查,患者系河南省上蔡县人,2 年前在广东省某宾馆当服务员,本次入院前 3 个月曾在美容院工作,有多个异性性伙伴,偶尔使用安全套,无卖血、吸毒史。本地区艾滋病感染者以往曾在出国劳务输出渔民、静脉吸毒者及性病感染者中检出,该病例提示在临床实践中,思路应宽,对艾滋病高发地区来的流动人口要结合病史、流行病学史做出正确诊断。

作者单位:316100 浙江省舟山市普陀区疾病预防控制中心(王国荣);舟山市普陀区人民医院妇产科(胡超峰)

(收稿日期 2003-12-18)

(本文编辑:张林东)