

谷胱甘肽 S-转移酶 A1 在鼻咽癌中的异常表达

钟素华,肖希灵,廖志鹏,冯国飞,黄光武

(广西医科大学第一附属医院 耳鼻咽喉头颈外科,广西 南宁 530021)

摘要: **目的** 比较谷胱甘肽 S-转移酶 A1 (glutathione S-transferase A1, GSTA1) 在鼻咽癌组织与正常鼻咽上皮组织中转录和表达的差异,并探究其与鼻咽癌患者临床特征的相关性。**方法** 通过 GCBI (gene-cloud of biotechnology information) 在线分析平台分析鼻咽癌表达谱芯片数据 (GSE12452, GSE64634),探索 GSTA1 基因在鼻咽癌组织与正常对照组织中的转录水平差异;分别通过实时荧光定量 PCR 和免疫组织化学染色验证和检测 GSTA1 在鼻咽癌组织和正常鼻咽上皮中转录和表达差异;通过人类肿瘤基因组 (the cancer genome atlas, TCGA) 数据库,分析 GSTA1 的转录水平与头颈肿瘤临床分期的相关性。**结果** GSTA1 基因在鼻咽癌中转录和表达均显著下调,且 GSTA1 的 mRNA 水平在头颈肿瘤不同分期有显著差异。**结论** GSTA1 转录和表达下调是鼻咽癌的分子特征,提示其可能通过影响细胞代谢参与鼻咽癌的发生和演进。

关键词: 谷胱甘肽 S-转移酶 A1;鼻咽癌;异常表达
中图分类号: R739. 63 **文献标识码:** A [中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2018,24(3):213–218]

Abnormal expression of Glutathione S-transferase A1 in nasopharyngeal carcinoma

ZHONG Su-hua, XIAO Xi-ling, LIAO Zhi-peng, FENG Guo-fei, HUANG Guang-wu

(Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Abstract: **Objective** To investigate the differences of Glutathione S-transferase A1 (GSTA1) expression on mRNA and protein level between nasopharyngeal carcinoma (NPC) tissues and normal nasopharyngeal epithelial tissues and assess the association between the expression level of GSTA1 and clinical characteristics of NPC patients. **Methods** The expression difference of GSTA1 gene at the transcription level between NPC tissues and normal control tissues was explored via analysis of cDNA microarray data (GSE12452, GSE64634) from GEO by GCBI (Gene-Cloud of Biotechnology Information) platform. The relative mRNA and protein level of GSTA1 was determined in NPC tissues and normal control tissues by real-time RT-PCR and immunohistochemistry (IHC), respectively. In addition, the correlation between the transcription level of GSTA1 and the clinical stage of head and neck tumors was analyzed using data from TCGA (The Cancer Genome Atlas) database. **Results** The transcription and expression of GSTA1 gene were significantly down-regulated in NPC. The mRNA levels of GSTA1 were significantly different among different stages of head and neck tumors. **Conclusion** Down-regulation of GSTA1 is a noteworthy molecular feature of NPC, which indicates that GSTA1 may be involved in the occurrence and progression of NPC by affecting tumor metabolism.

Key words: Glutathione S-transferase A1; Nasopharyngeal neoplasm; Abnormal expression
[Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery, 2018, 24(3):213–218]

鼻咽癌 (nasopharyngeal carcinoma, NPC) 是一种极具特色的恶性肿瘤,其发病具有独特的地理和种族分布特征。在大部分欧美国家,鼻咽癌是罕见疾患,男女的年发病率低于 1/10 万人。而在我国华南地区常见,尤其在广东、广西、湖南及香港等地高发,男性和女性的年发病率为分别为 (20 ~ 50)/10 万人和 (5 ~ 10)/10 万人^[1-2]。目前认为,鼻咽癌的发生和发展与遗传、环境因素以及 Epstein-Barr 病毒

基金项目:国家自然科学基金 (81760489)。
作者简介:钟素华,女,在读硕士研究生。
通信作者:黄光武,Email:hgw1288@126.com

(EBV)感染之间的交互作用密切相关,但具体的机制尚未完全明了^[3]。

已知的参与鼻咽癌发生的环境风险因素包括摄入咸鱼、吸烟、饮酒和不良口腔卫生状况等^[4-7]。环境风险因素产生的致癌物由人体的毒物代谢酶降解,故该类酶表达下调或活性降低可引起致癌物在体内蓄积,进而诱发肿瘤发生^[8]。

我们前期研究发现活性氧(reactive oxygen species, ROS)在鼻咽癌的发生和发展中扮演重要角色^[9-10],可能与细胞内清除 ROS 的相关分子表达下调或活性降低相关。谷胱甘肽 S-转移酶是一组广泛存在于生物界,并参与体内生物转化Ⅱ相结合反应的同功酶系^[11]。其主要功能是催化还原型谷胱甘肽(Glutathione, GSH)与亲电子底物结合,将体内各种潜在毒性的化学物质、ROS、致癌物及亲脂性化合物降解排出,以达到解毒的目的。谷胱甘肽 S-转移酶 A1(glutathione S-transferase A1, GSTA1)在潜在致癌物介导的毒性过程中,对人体具有重要的保护作用^[12]。研究表明 GSTA1 在肝癌组织中表达下调^[13],导致个体的解毒能力下降,进而诱发肿瘤并促进其进展^[14]。而 GSTA1 在鼻咽癌中的表达水平未见报道,本文通过整合生物信息学分析,并进一步通过实时荧光定量 PCR 和组织芯片技术从 mRNA 到蛋白水平验证、探索 GSTA1 在鼻咽癌中的异常转录和表达,及其与鼻咽癌患者临床特征的相关性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 组织标本 鼻咽癌组织芯片购买于上海芯超生物科技有限公司,阵列编号:HNasC0770PG01,芯片编号:XT16-02,芯片上共有 68 例鼻咽癌组织,具体信息见 <http://www.superchip.com.cn>。

收集在我院经病理科确诊为鼻咽癌的组织样本共 20 例,36 例病理科诊断为慢性鼻窦炎的正常鼻咽上皮组织样本(normal nasopharyngeal epithelial, NNE)作为对照。其中选取 20 例鼻咽癌组织和 16 例正常对照组织用于 mRNA 抽提。样本保存于 RNA store 溶液中,4℃ 浸泡过夜后,-20℃ 条件下冻存。另外 20 例正常鼻咽组织用于免疫组化染色检测。样本使用福尔马林固定后,进行常规石蜡包埋,温室保存。以上所有样本均经广西医科大学附属第一医院医学伦理审查委员会批准后获取,入选者均签署知情同意书。

1.1.2 表达谱芯片信息 本研究采用的两组与鼻咽癌相关的全基因组 cDNA 芯片数据(登录号为:GSE12452 和 GSE64634)均从 GCBI(Gene-Cloud of Biotechnology Information)在线分析平台中的 GEO 数据库下载。GSE12452 基因芯片拥有组织共 41 例,31 例鼻咽癌组织标本来源于台湾地区的鼻咽癌患者,10 例正常鼻咽上皮组织中有 6 例来源于鼻咽癌病例的癌旁组织,另外 4 例来源于诊断为鼻咽癌阴性的正常对照^[15]。GSE64634 基因芯片拥有组织 16 例,12 例鼻咽癌组织来源于湖南地区的鼻咽癌患者,4 例正常鼻咽上皮组织来源于诊断为鼻咽癌阴性的正常对照^[16]。

1.1.3 主要试剂与仪器 免疫组化试剂盒(小鼠/兔链霉卵白素-生物素法检测系统, Lot:SP-9000,北京中杉金桥生物技术有限公司),兔抗人 GSTA1 多克隆抗体(美国 SIGMA 公司),DAB 显色液(北京中杉金桥生物技术有限公司),苏木素(北京索莱宝生物技术有限公司),Trizol 试剂(Invitrogen 公司),TransScript® First-Strand cDNA Synthesis SuperMix 试剂盒(全式金公司),引物(奥科生物技术有限公司),实时免疫荧光试剂盒(ABI 公司),实时荧光定量 PCR 仪(ABI 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 整合生物信息分析 从 GCBI 数据库下载鼻咽癌基因芯片数据(GSE64634, GSE12452),分析 GSTA1 在鼻咽癌组织和对照组织中的转录水平差异并以 $P < 0.05$ 作为判断差异有无统计学意义的标准。利用 Bio-conductor/TCGA-biolinks 从 TCGA(The Cancer Genome Atlas)数据库(<https://cancergenome.nih.gov>)获取头颈部肿瘤患者数据集,包括 400 例头颈部肿瘤患者与 44 例健康人的转录组测序数据和患者相应的临床资料,分析头颈部肿瘤中 GSTA1 的转录表达与头颈部肿瘤临床分期的关系。

1.2.2 实时荧光定量 PCR 采用 Trizol 法提取组织总 RNA,再经 TransScript® First-Strand cDNA Synthesis SuperMix 试剂盒逆转录为 cDNA。引物通过 pubmed 的 primer-blast 设计,各基因的上下游引物序列如下:管家基因 GAPDH 上游引物 5'-GCTCAGACACCATGGGGAAG-3',下游引物 5'-TGTAGTTGAGGTCAATGAAGGGG-3',扩增引物片段长度为 138 bp;GSTA1 上游引物 5'-TGATCCTCCTTCTGCCGTA-3',下游引物 5'-ACCAGATGAATGT-CAGCCCG-3',扩增引物片段长度为 169 bp。

1.2.3 免疫组织化学染色 通过免疫组化试剂盒、兔抗人 GSTA1 多克隆抗体检测鼻咽癌组织、正常鼻

咽上皮组织,工作浓度均为 1:20。免疫组化染色程序按试剂盒说明书进行,以人正常肝组织作阳性对照。

进行免疫组化染色评分,染色强度的评分标准为:0 分为无色,1 分为淡黄色,2 分为棕黄色,3 分为棕褐色;阳性细胞所占的百分比评分标准为:0 分为阴性,1 分为阳性细胞≤10%,2 分为 11%~50%,3 分为 51%~75%,4 分为 >75%。染色强度与阳性细胞百分比的乘积得到“免疫组化染色综合得分”反映该蛋白的表达水平,染色强度与阳性细胞百分比的乘积≥3 分为免疫反应(+) [17]。

1.3 统计学处理

所有数据均使用软件 SPSS 22.0 进行统计学分析。两组间比较采用两独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 GSTA1 在鼻咽癌中转录下调

我们在 GEO 数据库中提取了包括了鼻咽癌组织及正常对照组织的表达谱芯片数据(GSE64634, GSE12452),应用 GCBI 平台对 GSTA1 的转录水平进行分析(两套鼻咽癌表达谱芯片中所有差异基因的聚类分析见图 1a、b)。结果显示:对比正常鼻咽上皮组织,鼻咽癌中 GSTA1 转录表达水平下调,差异具有统计学意义(图 1c、d)。

为验证生物信息学分析的结果,通过实时荧光定量 PCR 比较了 20 例鼻咽癌组织及 16 例正常鼻咽上皮组织中 GSTA1 基因的转录水平差异,结果显示 GSTA1 基因在鼻咽癌组织中呈表达下调($P<0.05$),见图 1e、f。这一结果和整合生物信息分析的结果相符。

2.2 GSTA1 在鼻咽癌组织中表达下调

我们采用组织芯片技术,分析了 68 例鼻咽癌组织和 22 例正常鼻咽上皮组织中 GSTA1 蛋白表达水平的差异。结果显示:鼻咽癌组织芯片免疫组织化学染色见图 2a, GSTA1 在 20 例正常鼻咽上皮组织中分布于细胞浆和(或)胞核内(图 2c),阳性表达率为 72.7%(16/22),68 例鼻咽癌组织的阳性表达率为 0%(0/68),差异具有统计学意义($P<0.001$),见图 2b、c。

为探究 GSTA1 与鼻咽癌患者临床特征的相关性,我们分析了本组患者中性别、年龄、病理类型及临床分期与 GSTA1 相对表达量的关系,结果显示:

鼻咽癌组织中 GSTA1 蛋白表达水平与性别、年龄、病理类型和临床分期之间无相关性(表 1)。

2.3 GSTA1 转录水平在头颈部肿瘤不同临床分期中的表达

从 TCGA 数据库中提取了 400 例头颈肿瘤的转录组测序数据和患者相应的临床资料,从中分析头颈部肿瘤中 GSTA1 的表达与肿瘤临床分期的关系,结果显示, GSTA1 在肿瘤Ⅱ期和Ⅳ期中的 mRNA 表达水平高于其他分期,且各肿瘤分期之间的表达水平差异均具有统计学意义($P=0.008$),见图 3。

表 1 GSTA1 在鼻咽癌组织芯片中的蛋白表达水平与鼻咽癌患者临床参数的关系 ($\bar{x}\pm s$)			
临床参数	例数	GSTA1 蛋白表达水平	<i>P</i>
性别			0.463
男	43	0.33±0.47	
女	25	0.24±0.44	
年龄(岁)			0.829
<55	32	0.28±0.46	
≥55	36	0.31±0.46	
临床分期			0.960
Ⅱ	7	0.29±0.49	
Ⅲ、Ⅳ	61	0.30±0.46	
病理分型			0.775
非角化性鳞状细胞癌	60	0.30±0.46	
其他	8	0.25±0.46	

3 讨论

GSTs 是一组广泛存在于生物界的多基因药物解毒酶家族,通过催化结合谷胱甘肽与各种亲电物质,参与体内生物代谢Ⅱ相结合反应的同工酶系。GSTs 也涉及脂质过氧化反应产物的解毒过程 [18], 及调控细胞信号通路控制细胞分化及凋亡 [19]。目前的研究发现 GSTs 至少分为包括 α -GSTs、 μ -GSTs、 π -GSTs 在内的七大类, GSTA1 属于 α -GSTs 的基因之一,由 GSTA1 编码的同源二聚体蛋白在人类血浆和肝组织中的含量约占 α -GSTs 含量的一半。

目前对 GSTA1 的研究主要集中于药物代谢、急性肝损伤、肝癌、肺癌等,暂缺乏 GSTA1 与鼻咽癌关系的研究。Ma 等 [20] 通过 CCl4 诱导的急性肝损伤的小鼠模型研究 GSTA1 对肝损伤的影响,结果表明 GSTA1 可能被肝脏作为抗氧化剂释放,以预防肝损伤。另一项在肝脏中的研究通过限制性片段长度多态性分析肝癌组织与正常白细胞之间的 DNA 表达差异,发现 GSTA1 在肝癌组织中表达下调 [14]。而

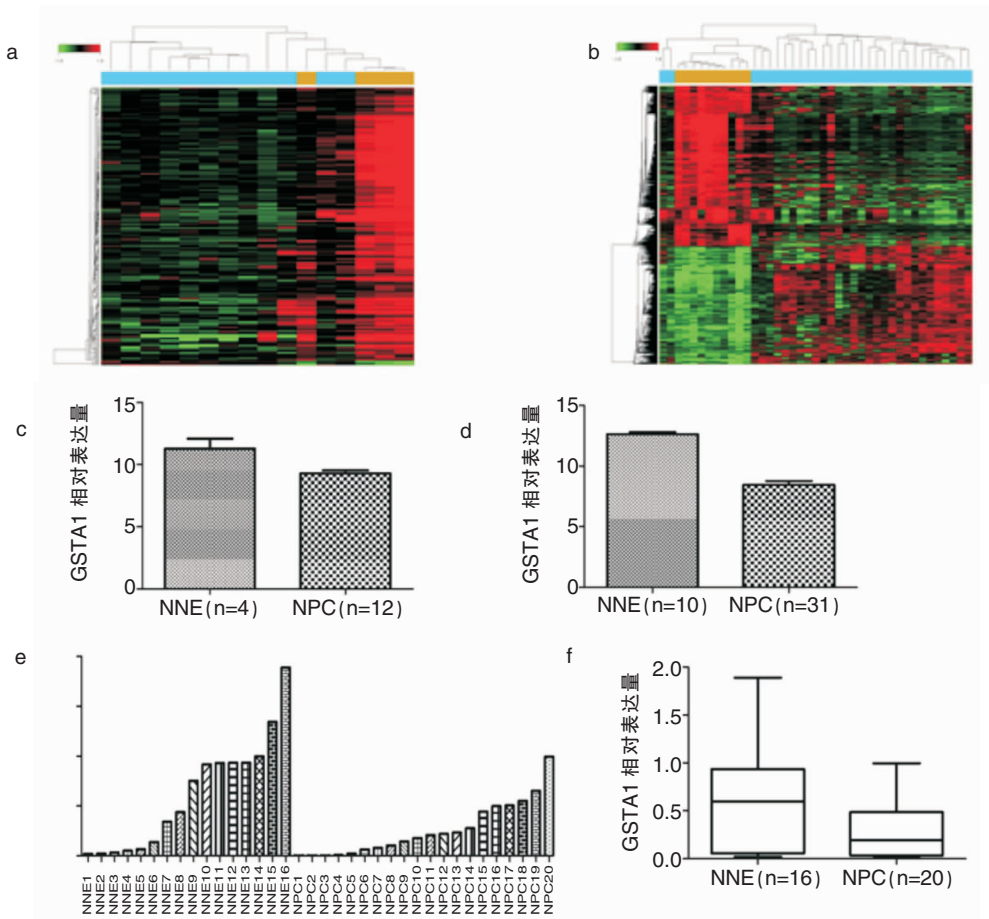


图1 GSTA1 基因在鼻咽癌中转录下调 a、b 分别为表达谱芯片 GSE64634 和 GSE12452 中所有差异基因的聚类分析;c、d 分别为表达谱芯片 GSE64634 和 GSE12452 中 GSTA1 在鼻咽癌中均转录下调;e、f 实时荧光定量 RT-PCR 检测出 GSTA1 的相对 mRNA 水平在鼻咽癌组织中下调

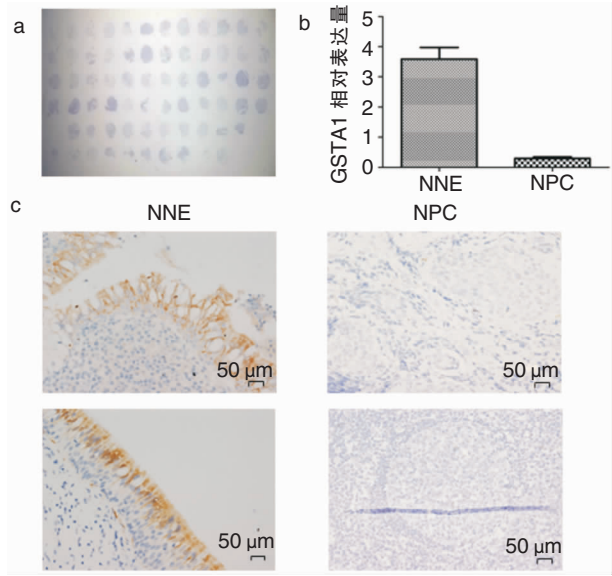


图2 GSTA1 在鼻咽癌中的表达下调 a:鼻咽癌组织芯片免疫组织化学染色;b: 免疫组织化学染色显示 GSTA1 在鼻咽癌组织中相对表达下调(NNE 20 例,NPC 68 例);c:免疫组织化学染色法显示 GSTA1 在鼻咽癌组织中低表达 (免疫组化 ×200)

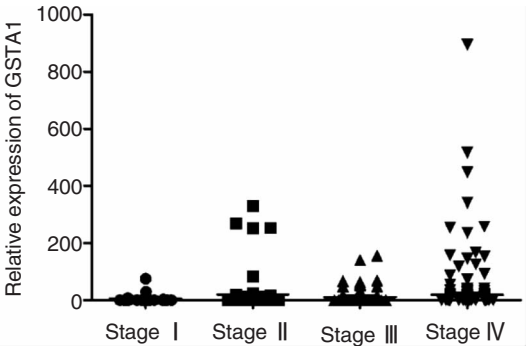


图3 GSTA1 的转录水平在头颈肿瘤不同分期中的表达

GSTA1 在肺癌细胞中呈高表达,可促进肺癌细胞的增殖、侵袭和黏附能力,及通过上皮间质转化促进肺癌细胞转移,提示 GSTA1 可能是肺癌治疗的新型靶标^[21-22]。结合本研究的结果,我们推测 GSTA1 在不同来源的恶性肿瘤表达存在差异,可能与不同类型肿瘤间的异质性相关并和这些器官的代谢特征相关。

本文通过对 GEO 数据库中鼻咽癌全基因组表达谱芯片数据 (GSE64634, GSE12452) 用整合生物信息学分析发现 GSTA1 基因在鼻咽癌中转录下调。利用 GCBI 平台的 Gene Signal Network 和 Pathway 在鼻咽癌基因芯片中分析了与 GSTA1 代谢作用相关的基因,结果显示与 GSTA1 代谢作用表达相关的基因有 CYP2B6、CYP2C8、CYP2E1、CYP2F1 等 21 个,GSTA1 在鼻咽癌基因芯片中差异表达涉及的通路有药物代谢-细胞色素 P450 (CYP)、化学致癌作用、CYP 参与的外源性物质的新陈代谢和谷胱甘肽新陈代谢。进一步验证了与正常鼻咽上皮比较,GSTA1 在鼻咽癌组织的转录和表达均下调。而通过 TCGA 数据库分析 GSTA1 的表达与头颈部肿瘤临床分期的关系,发现各肿瘤分期之间的表达水平差异具有统计学意义。

在对 GSTs 家族基因多态性的研究中,一项开展于印度东北地区的研究,关于生物代谢阶段 I (CYPs) 和阶段 II (GSTs) 基因多态性、基因-基因和基因-环境之间的相互作用对鼻咽癌易感性的影响,通过 PCR 和 Sanger 测序分析 GSTM1 和 GSTT1 的基因多态性,发现环境风险因素 (吸烟、烟熏肉、发酵鱼制品) 可以引起 null 基因型和代谢中和基因的突变,这些基因的改变可作为鼻咽癌早期检测的生物标记物^[23]。另一项基于医院的病例对照研究发现,吸烟及携带低活性的 GSTA1-AB/BB、GSTM-null 基因型显著增加膀胱癌的发病风险^[24]。腌制食物和烟草中致癌物质的代谢产物可促进机体产生 ROS,而 ROS 可以引起 DNA 损伤,参与肿瘤的发生和发展^[25-26]。在鼻咽癌中解毒分子 GSTA1 的低表达水平,可能增加了致癌物质在体内的蓄积进而诱导鼻咽癌发生并促进其发展。

GSTA1 的表达水平在不同恶性肿瘤中不一致,且表达水平与环境因素密切相关^[13, 23-24, 27-28]。本文结果提示 GSTA1 在鼻咽癌中普遍存在转录失活 (100%),并存在于早期患者中,提示 GSTA1 的转录下调可能在鼻咽癌的早期阶段已发生。研究表明影响鼻咽癌的环境风险因素包括咸鱼、吸烟、饮酒和口腔卫生^[4-7],以及鼻咽部的慢性炎症^[29],在这些环境暴露风险因素的作用下,GSTA1 的异常低表达可能起了协同作用,使个体失去了对致癌物的降解能力,共同参与了鼻咽癌的发生发展。有趣的是,GSTA1 在不同分期的头颈部肿瘤中转录水平具有显著差异,而肿瘤在不同分期和进展阶段具有不同的代谢特征^[30-31]。肿瘤细胞通常可通过上调细胞内 ROS

水平促进肿瘤细胞增殖、转移,而在肿瘤细胞面临高氧化应激的环境时可通过调节 ROS 代谢相关酶的表达,下调活性氧水平进而降低 ROS 对其本身的杀伤作用^[32]。这些研究结果和我们的结果提示:GSTA1 在不同分期的肿瘤中有不同的转录水平,可能与肿瘤在不同的分期阶段面临的氧化应激环境不同,肿瘤主动调节 ROS 代谢相关酶的表达,参与肿瘤氧化还原内环境的调节。

综上所述,GSTA1 在鼻咽癌中转录和表达下调,可作为鼻咽癌诊断的一个分子标志物。GSTA1 可能通过调节活性分子代谢参与肿瘤的发生和发展。

参考文献:

[1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-92.

[2] Parkin DM, Muir CS, Whelan SL, et al. Cancer incidence in five continents. Comparability and quality of data[J]. Iarc Sci Publ, 1992, 120: 45-173.

[3] Zheng H, Dai W, Cheung AK, et al. Whole-exome sequencing identifies multiple loss-of-function mutations of NF-κB pathway regulators in nasopharyngeal carcinoma[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113(40): 11283-11288.

[4] Chang ET, Liu Z, Hildesheim A, et al. Active and passive smoking and risk of nasopharyngeal carcinoma: A population-based case-control study in Southern China[J]. Am J Epidemiol, 2017, 185(12): 1272-1280.

[5] Liu Z, Chang ET, Liu Q, et al. Oral hygiene and risk of nasopharyngeal carcinoma-a population-based case-control study in China[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2016, 25(8): 1201-1207.

[6] Jia WH, Luo XY, Feng BJ, et al. Traditional Cantonese diet and nasopharyngeal carcinoma risk: a large-scale case-control study in Guangdong, China[J]. BMC Cancer, 2010, 10(1): 446.

[7] Chen L, Gallicchio L, Body-Lindsley K, et al. Alcohol consumption and the risk of nasopharyngeal carcinoma: a systematic review[J]. Nutr Cancer, 2008, 61(1): 1-15.

[8] Tiwawech D, Srivatanakul P, Karalak A, et al. Cytochrome P450 2A6 polymorphism in nasopharyngeal carcinoma[J]. Cancer lett, 2006, 241(1): 135-141.

[9] Luo W, Qin L, Li B, et al. Inactivation of HMGCL promotes proliferation and metastasis of nasopharyngeal carcinoma by suppressing oxidative stress[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 11954.

[10] He F, Wei L, Luo W, et al. Glutaredoxin 3 promotes nasopharyngeal carcinoma growth and metastasis via EGFR/Akt pathway and independent of ROS[J]. Oncotarget, 2016, 7(24): 37000-37012.

[11] Armstrong RN. 4. 16-Glutathione Transferases A2-McQueen [A]// Charlene A. Comprehensive Toxicology[M]. 2nd ed. Ox-

- ford; Elsevier, 2010; 295 – 321.
- [12] Dreij K, Sundberg K, Johansson AS, et al. Catalytic activities of human alpha class glutathione transferases toward carcinogenic dibenzo[*a,l*] pyrene diol epoxides[J]. *Chem Res Toxicol*, 2002, 15(6): 825 – 831.
 - [13] Akhdar H, El Shamieh S, Musso O, et al. The rs3957357C > T SNP in GSTA1 is associated with a higher risk of occurrence of hepatocellular carcinoma in European individuals[J]. *PLoS One*, 2016, 11(12): e0167543.
 - [14] Qi DC, Wu B, Tao SL, et al. Analysis of differentially expressed genes in malignant biliary strictures[J]. *Genet Mol Res*, 2014, 13(2): 2674 – 2682.
 - [15] Sengupta S, den Boon JA, Chen IH, et al. Genome-wide expression profiling reveals EBV-associated inhibition of MHC class I expression in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(16): 7999 – 8006.
 - [16] Bo H, Gong Z, Zhang W, et al. Upregulated long non-coding RNA AFAP1-AS1 expression is associated with progression and poor prognosis of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(24): 20404 – 20418.
 - [17] 许良中, 杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[J]. *中国癌症杂志*, 1996, 6(4): 229 – 231.
Xu LZ, Yang WT. Judgment criterion for immunohistochemistry assay[J]. *China Oncology*, 1996, 6(4): 229 – 231.
 - [18] Balogh LM, Roberts AG, Shireman LM, et al. The stereochemical course of 4-hydroxy-2-nonenal metabolism by glutathione S-transferases[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(24): 16702 – 16710.
 - [19] Holley SL, Fryer AA, Haycock JW, et al. Differential effects of glutathione S-transferase pi (GSTP1) haplotypes on cell proliferation and apoptosis[J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28(11): 2268.
 - [20] Ma X, Liu F, Li M, et al. Expression of glutathione S-transferase A1, a phase II drug-metabolizing enzyme in acute hepatic injury on mice[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(4): 3798 – 3804.
 - [21] Wang W, Liu F, Wang C, et al. Glutathione S-transferase A1 mediates nicotine-induced lung cancer cell metastasis by promoting epithelial-mesenchymal transition[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(2): 1783 – 1788.
 - [22] Pan XD, Yang ZP, Tang QL, et al. Expression and function of GSTA1 in lung cancer cells[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(20): 8631 – 8635.
 - [23] MARIE-GENICA Consortium on Genetic Susceptibility for Menopausal Hormone Therapy Related Breast Cancer Risk. Genetic polymorphisms in phase I and phase II enzymes and breast cancer risk associated with menopausal hormone therapy in postmenopausal women[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 119(2): 463 – 474.
 - [24] Matic M, Pekmezovic T, Djukic T, et al. GSTA1, GSTM1, GSTP1, and GSTT1 polymorphisms and susceptibility to smoking-related bladder cancer: a case-control study [J]. *Urol Oncol*, 2013, 31(7): 1184 – 1192.
 - [25] Wood RD, Mitchell M, Sgouros J, et al. Human DNA repair genes[J]. *Science*, 2001, 291(5507): 1284 – 1289.
 - [26] O'Donovan P, Perrett CM, Zhang X, et al. Azathioprine and UVA light generate mutagenic oxidative DNA damage [J]. *Science*, 2005, 309(5742): 1871 – 1874.
 - [27] Adnan H, Quach H, MacIntosh K, et al. Low levels of GSTA1 expression are required for Caco-2 cell proliferation [J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e51739.
 - [28] Daorueang D, Thuwajit P, Roittrakul S, et al. Secreted Opisthorchis viverrini glutathione S-transferase regulates cell proliferation through AKT and ERK pathways in cholangiocarcinoma[J]. *Parasitol Int*, 2012, 61(1): 155 – 161.
 - [29] Mantovani A. Cancer: inflaming metastasis[J]. *Nature*, 2009, 457(7225): 36 – 37.
 - [30] 杜依青, 刘慧鑫, 刘春雷, 等. 代谢相关因素与肾细胞癌分级、分期的相关研究[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2016, 48(4): 612 – 617.
Du YQ, Liu HX, Liu CL, et al. Analysis of metabolic factors and relevance with the grade and stage in patients with renal cell carcinoma[J]. *Journal of Peking University (Health Sciences)*, 2016, 48(4): 612 – 617.
 - [31] El-Galaly TC, Gormsen LC, Hutchings M. PET/CT for staging; past, present, and future[J]. *Semin Nucl Med*, 2018, 48(1): 4 – 16.
 - [32] Galadari S, Rahman A, Pallichankandy S, et al. Reactive oxygen species and cancer paradox: To promote or to suppress [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 104:144 – 164.

(收稿日期:2018-05-01)