

鼻咽癌相关基因 **NAP1** 的克隆及鉴定*

李 峰 蒋卫红 杨旭宇 尹志华 冯湘玲 刘卫东 王 磊 周 文 姚开泰**

(中南大学湘雅医学院肿瘤研究所, 长沙 410078)

摘要 从 UniGene 库中选取编号为 BG231197, 来自人鼻咽组织的 EST 序列. 利用 Blast 检索 GenBank 的 nr 数据库和 EST 数据库, 构建 EST 重叠群. 利用人类基因组草图搜索法从成人正常鼻咽组织中 PCR 扩增获得该基因全长 cDNA, 命名为 NAP1, GenBank 登录号为 AY190326. NAP1 基因 cDNA 序列全长为 573 bp, 编码由 85 个氨基酸组成, 相对分子质量为 9 700 的多肽. 用 α -³²P-dCTP 标记 NAP1 基因片段, 与含 15 种正常成人组织的多组织 RNA 印迹膜杂交, 结果表明 NAP1 基因在淋巴结和气管中高表达, 转录本大小约为 0.6 kb, 在其他组织中不表达. NAP1 蛋白质与滤泡树突状细胞 (follicular dendritic cell, FDC) 的一种分泌肽前体 (FDC-SP) (AF435080) 同源, 与其他已知蛋白质无明显同源性. NAP1 基因定位在染色体 4q13, 基因组跨越 9 179 bp, 含 5 个外显子和 4 个内含子. 采用差异 RT-PCR 检测了 40 例经病理诊断为低分化鳞状上皮癌的鼻咽活检组织及其对侧相应部位的正常鼻咽组织中该基因的表达差异. 在 40 例鼻咽癌中, NAP1 基因表达下调的有 17 例 (42.5%), 表达上调的有 6 例 (15%), 无明显表达差异的有 17 例 (42.5%). 原位杂交和免疫组化结果显示该基因在正常鼻咽和鼻咽癌组织间质中的树突状细胞中表达, 在其他间质细胞和鼻咽上皮中均不表达. 以上结果表明, NAP1 为树突状细胞的一种新的多肽, 该基因在鼻咽癌组织中表达下调的原因, 及其与鼻咽癌发生、发展的关系值得进一步探讨.

关键词 鼻咽癌, NAP1 基因, 基因克隆, 鉴定

学科分类号 Q786

鼻咽癌 (nasopharyngeal carcinoma, NPC) 是我国南方及东南亚地区常见的肿瘤之一. 流行病学调查显示, 鼻咽癌的发生涉及到遗传倾向性和环境致癌因素, 很可能是遗传易感性个体, 接受了致癌物的作用而发生的. 1982 年, 根据湖南省鼻咽癌死亡率的年龄分布, 姚开泰教授提出鼻咽癌发病的三击多步假说^[1], 认为 EB 病毒 (EBV)、化学致癌物和胚性击中 (即遗传因素或自发突变) 构成 NPC 的主要病因, 而发病阶段至少在二个以上. 但迄今为止, 鼻咽癌的具体发病机制仍不十分清楚. 因此, 鼻咽癌相关基因的克隆及其功能研究有着重要意义.

最近, 我们从 Unigene 库中选取一条编号为 BG231197 来自人鼻咽组织的 EST 序列. 研究发现该 EST 序列是一个代表新基因的未知序列. 我们利用人类基因组草图搜索法^[2]从成人正常鼻咽组织中 PCR 扩增获得该基因全长 cDNA, 并对该基因进行了生物信息学分析. 采用差异 RT-PCR 检测了该基因在经病理诊断为低分化鳞状上皮癌的鼻咽活检组织和对应的鼻咽癌变对侧正常鼻咽组织中的表达差异, 并对该基因的表达特征进行了研究.

1 材料与方法

1.1 材料

50 × Advantage 2 DNA 聚合酶混合物购自 Clontech 公司. PCR 扩增引物的合成和 PCR 产物测序由上海博亚生物技术有限公司完成. 电泳试剂、LB 培养基、pUCm-T 载体均购自上海生工生物技术有限公司. 随机引物标记盒、DNA 纯化试剂盒购自美国 Promega 公司. TRIzolTM 试剂盒 (GIBCOL/BRL 公司)、dNTP 为 Promega 公司产品. Reverse Transcription System (Promega 公司). 鼠抗人 S100、鼠抗人 CD20、鼠抗人 CD68、鼠抗人 CD57、鼠抗人 CD3 单克隆抗体为 Zymed 公司产品. Multiple Tissue Northern (MTNTM) Blots (Cat. 7760-1, Cat. 7767-1). Dig DNA Labelling and Detection Kit 为 Boehringer Mannheim GmbH 公司产品.

* 国家重点基础研究发展规划项目 (973) (G1998051200).

** 通讯联系人.

Tel: 0731-4360094, E-mail: ktyao@fimmu.com

收稿日期: 2003-11-24, 接受日期: 2004-01-18

40 例来自湘雅医院耳鼻喉科门诊, 经病理诊断断为低分化鳞状上皮癌的鼻咽活检组织及其对侧相应部位的正常鼻咽组织, 组织石蜡块来自湘雅医院病理科。

1.2 方法

1.2.1 GenBank 数据库检索和 EST 序列拼接: 将 EST 序列 BG231197 (种子序列) 采用 Blast 软件进行 GenBank 的 nr 数据库和 EST 数据库检索, 构建 EST 重叠群^[3]。

1.2.2 人类基因组草图搜索法获得该基因全长 cDNA: 将该 EST 重叠群定位在人类基因组框架草图上, 找到对应的大规模测序片段, 在该 EST 重叠群 5' 端上游对应的大规模测序片段中, 寻找与阅读框架起始密码子处于同一阅读框架的终止密码子, 在终止密码子附近及其上游设计 2 条引物 pFRW-1 (外引物, 5' GATTTTGGTATTTGGTAGT-TTC 3') 和 pFRW-2 (内引物, 5' CTCCATTC-CATTATACCTTTGAG 3')。在阅读框架起始密码子下游设计 2 条引物 pRVS-2 (内引物, 5' GAGAGA-CTGGGAAACCAACAG 3') 和 pRVS-1 (外引物, 5' GGAATTGGTGGAAGTGGCCGA 3')。然后用上述引物, 以正常鼻咽组织 cDNA 为模板, 进行 PCR 扩增。

1.2.3 RNA 印迹确定基因的转录本大小: 以正常鼻咽 cDNA 为模板, 以基因特异性引物进行 PCR 扩增。PCR 纯化试剂盒回收 PCR 产物, 以 α -³²P-dCTP 为标记物, 用随机引物标记试剂盒标记该片段, 探针的比放射活性是每微克 DNA 的放射性活性大于 1×10^8 。Sephadex G-50 柱纯化探针。采用 Multiple Tissue Northern (MTNTM) Blots, Express HybTM 杂交液, 68℃ 预杂交 30 min, 68℃ 杂交 2 h。2 × SSC、0.1% SDS, 37℃, 15 min 洗膜 3 次; 0.1 × SSC、0.1% SDS, 50℃, 20 min 洗膜 2 次。-70℃ 放射自显影 2~4 天, X 光片显影, 定影。

1.2.4 NAPI 基因的染色体定位和基因组结构分析: 将 NAPI 基因 cDNA 序列与人类基因组草图进行相似性比较, 进行基因的染色体定位和确定 cDNA 序列的内含子和外显子结构。

1.2.5 差异 RT-PCR 检测 NAPI 基因在鼻咽活检组织及其对侧相应部位的正常鼻咽组织中的表达差异: DNase I 处理总 RNA, 37℃, 反应 1 h。用 DEPC 水将上述反应物稀释至 200 μ l, 用等量 Trizol 抽提去除蛋白质, 重新用 DEPC 水溶解 RNA, 以 GAPDH 引物进行 PCR 扩增检测有无 gDNA 残留。

采用两步法 RT-PCR。PCR 产物于 1.0% 琼脂糖凝胶电泳。

1.2.6 灰度扫描与数据处理: 以 GAPDH 为内对照, RT-PCR 产物条带用图像分析仪 (Pharmacia 公司产品) 进行灰度扫描, Imagemaster VDS 图像分析软件测定产物条带的扫描积分吸光度值 (IA)。N (IA) 为正常鼻咽组织中目的片段 IA/GAPDH 的 IA, T (IA) 为鼻咽癌组织中目的片段 IA/GAPDH 的 IA; N (IA) / T (IA) 大于 2, 表明 NAPI 基因在鼻咽活检组织中表达下调; N (IA) / T (IA) 小于 0.5 表明 NAPI 基因在鼻咽活检组织中表达上调。

1.2.7 原位杂交: 采用 PCR DIG Probe Synthesis 方法标记基因特异性 cDNA 探针。经预杂交, 杂交, 杂交后处理, 然后进行免疫检测, 核固红复染、二甲苯透明、中性树胶封片, 照相。

1.2.8 免疫组化: 各种组织固定、包埋、切片后, 脱蜡、抗原修复。免疫组化检测采用 Antibody Diagnostica Inc. 的“二步法”系统。二甲苯透明, 中性树胶封片, 显微镜下观察。

2 结果

2.1 GenBank 数据库检索和 EST 序列拼接

以 BG231197 序列为种子序列, 采用 Blast 软件进行 GenBank 的 nr 数据库和 EST 数据库检索。我们得到 CB140082、AI332560、BG059093 和 AI701589 共 4 个具有高度相似性的 EST, 并将其组装为 502 bp 的 EST 重叠群, 经与人类基因组草图进行序列校正, 获得了全长为 502 bp 的 cDNA 序列。

2.2 全长 cDNA 序列的获得和阅读框架的确定

利用 NCBI 的 ORF finder 服务器, 分析发现该序列具有完整的阅读框架。但在 cDNA 序列的 5' 端未见与阅读框架起始密码子处于同一阅读框架的终止密码子。根据 EST 序列拼接的 EST 重叠群, 采用人类基因组草图搜索法获得的理论扩增产物应为 (1) 176 bp (pFRW-2 和 pRVS-2)、(2) 282 bp (pFRW-2 和 pRVS-1)、(3) 296 bp (pFRW-1 和 pRVS-2) 和 (4) 402 bp (pFRW-1 和 pRVS-1)。实验结果显示, 未扩增出 (3) 和 (4) 的目的条带, (1) 和 (2) 的扩增条带大小与理论扩增产物大小基本一致 (图 1)。从而获得了基因的全长 cDNA 序列。在 cDNA 阅读框架的起始密码子和终止密码子段的两侧设计引物, 进行 PCR 扩增, 将

PCR 产物 (294 bp) 克隆到 pUCm-T 载体, 转化 JM109, 进行 PCR 扩增鉴定 (图 2), 测序结果与利用 NCBI 的 ORF finder 服务器分析结果一致.

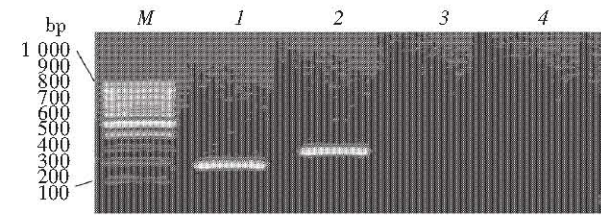


Fig. 1 Identification of 5' end's PCR product NAP1 by using draft human genome searching
1: pFRW-2 and pRVS-2 (176 bp); 2: pFRW-2 and pRVS-1 (282 bp); 3: pFRW-1 and pRVS-2 (no); 4: pFRW-1 and pRVS-1 (no). M: PCR marker.

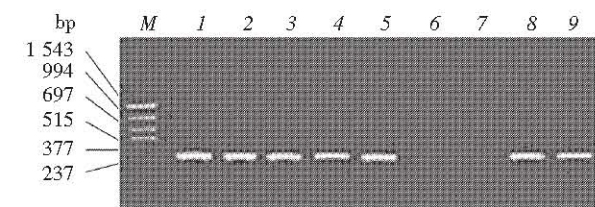


Fig. 2 Identification of recombination clone by PCR amplification using pFRW-3 and pRVS-3 (294 bp)
1 ~9: Clone number. M: PCR marker.

2.3 确定转录本大小

用 α -³²P-dCTP 标记 NAP1 基因片段, 与含 15 种正常成人组织的多组织 RNA 印迹膜杂交. 结果表明该基因在淋巴结和气管中高表达, 转录本大小约为 0.6 kb, 与人类基因组草图搜索法获得的基因全长 cDNA 大小一致. 在大脑、心脏、胎盘、肺、肝脏、骨骼肌、肾、胰腺、胃、甲状腺、脊髓、肾上腺和骨髓中未检测到表达 (图 3).

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15



Fig. 3 Northern blots analysis of NAP1 in 15 kinds of tissues of human
1: heart; 2: brain; 3: placenta; 4: lung; 5: liver; 6: skeletal muscle; 7: kidney; 8: pancreas; 9: stomach; 10: thyroid; 11: spinal cord; 12: lymph node; 13: trachea; 14: adrenal gland; 15: bone marrow.

2.4 DNA 序列和基因组结构分析

NAP1 基因 (GenBank 登录号为 AY190326) cDNA 序列全长为 573 bp, 可读框架位于第 113 ~ 370 位之间, 编码由 85 个氨基酸组成, 相对分子质量为 9 700 的蛋白质 (图 4). NAP1 基因定位在染色体 4q13, 基因组跨越 9 179 bp, 含 5 个外显子和 4 个内含子. 内含子和外显子交界区符合 ag-gt 规则 (表 1).

```
ctccattccattataaccttttgagtataataaaacagctacaatattccagggccagtcactt
*
gccattttctcataacacagcgtcagagagaaagaactgactgaaacggttgagatgaagaaa
M K K
gttctcctctgatcacagccattcttgccagtggtgttggtttccagtcctctcaagac
V L L L I T A I L A V A V G F P V S Q D
caggaacgggaaaaaagaagtatcagtgacagcgtgaattagcttcagggtttttgtg
Q E R E K R S I S D S D E L A S G F F V
ttcccttaccatatecatttgcgccacttccaccaattccatttccaagatttccatgg
F P Y P Y P F R P L P P I P F P R F P W
tttagacgtaattttctattccaatacctgaatctgccctacaactcccttctctagc
F R R N F P I P I P E S A P T T P L P S
gaaaagtaaacagaaggaaaagtccagataaacctggtcacctgaaattgaaattgagc
E K *
cacttcttgaagaatcaaaattctgtttaataaa agaaaaacaaatgtaattgaaatag
cacacagattctctagtcataatcttttagtgatcttctttaataaacttgaaagcaag
attttggtttcttaatttccac (a) 10
```

Fig. 4 cDNA and predicted protein sequence of NAP1
Stop codon is indicated by asterisk (*)

Table 1 Exon-intron junction of NAP1 gene

Exon	Exon size/bp	5'Splice donor	Intron size/bp	3'Splice acceptor	Intron
1	112	TTTGAG g taaga	5 012		1
2	57	TTCCCA g taagt	1 742	ttgc ag ATGAAG	2
3	33	AGAA G gtaagt	993	cttt ag GTCTCT	3
4	196	AACCT G taagt	869	caac ag ATCACT	4
5	165			tttc ag GTCACC	

Uppercase and lowercase letters indicate exon and intron sequences respectively. Conserved splice donor and acceptor dinucleotide sequences are indicated in bold.

2.5 NAPI 基因的染色体定位

将 NAPI 基因序列与人类基因组草图进行相似性比较 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/human/>), 发现该基因与人类 4 号染色体上的 NT_030640.5 序列高度相似, 该序列定位于 4q13.

2.6 DNA 序列及蛋白质序列同源性分析

ExPASy 服务器和 NCBI 的 Blast 软件的分析结果表明, NAPI 蛋白质与滤泡树突状细胞 (follicular dendritic cell, FDC) 的一种分泌肽前体 (FDC-SP) (AF435080) 同源 (相似性为 77%). 与其他已知蛋白质无明显同源性. 蛋白质的理论

pI 为 9.30, 为一种碱性蛋白质. 蛋白质有 1 个亲水区 and 1 个疏水区. 生物信息学 Neural Networks 分析表明, 该蛋白质为分泌型蛋白质, 具有 3 个磷酸化和 1 个脯氨酸富聚区等功能位点.

2.7 NAPI 基因的差异性表达

采用 NAPI 基因序列特异性引物 (pFRW-3 和 pRVS-3), 40 例正常鼻咽组织及鼻咽癌组织 RT-PCR 结果显示, 在 40 例鼻咽癌中, 该基因表达下调的有 17 例 (42.5%), 表达上调的有 6 例 (15%), 无明显表达差异的有 17 例 (42.5%) (表 2).

Table 2 Expression difference between NPC and NP tissues by differential RT-PCR in 40 cases

Case number	<i>N</i> (IA)	<i>T</i> (IA)	<i>N</i> (IA) / <i>T</i> (IA)	Case number	<i>N</i> (IA)	<i>T</i> (IA)	<i>N</i> (IA) / <i>T</i> (IA)
1	2.77	0.06	46.2	2	0.68	0.00	>2
3	3.33	0.41	8.12	4	0.13	0.08	1.63
5	4.03	2.30	1.75	6	2.86	0.00	>2
7	0.47	0.00	>2	8	0.01	0.98	0.01
9	1.43	1.72	0.83	10	0.88	1.84	0.48
11	0.81	0.56	1.43	12	0.89	0.30	3.00
13	0.93	0.98	0.95	14	0.00	0.70	0.01
15	1.06	0.16	6.63	16	0.71	0.46	1.54
17	0.08	0.26	0.31	18	2.48	0.01	248
19	0.16	0.30	0.53	20	1.60	0.48	3.33
21	1.16	0.46	2.52	22	0.53	0.61	0.87
23	0.50	0.32	1.56	24	18.8	6.80	2.76
25	0.83	0.82	1.01	26	0.60	0.00	>2
27	5.34	5.50	0.97	28	8.01	0.45	17.8
29	0.86	0.73	1.18	30	1.03	3.09	0.33
31	1.07	0.97	1.10	32	0.81	1.20	0.68
33	1.36	0.18	7.39	34	0.12	0.27	0.44
35	0.25	0.00	>2	36	0.06	0.00	>2
37	0.27	0.17	1.59	38	0.01	0.00	>2
39	0.68	0.47	1.44	40	0.44	0.75	0.59

IA: Integral absorption of PCR products; $N(IA) = IA(N)/IA(GAPDH)$; $T(IA) = IA(T)/IA(GAPDH)$; $N(IA)/T(IA) > 2$: low expression; $N(IA)/T(IA) < 0.5$: high expression.

2.8 NAPI 基因表达的组织细胞定位

2.8.1 人正常鼻咽和鼻咽癌组织的原位杂交: PCR DIG Probe Synthesis 方法标记的 NAPI 基因特异性 cDNA 探针在人正常鼻咽和鼻咽癌组织中检测

到明显杂交信号. 而且, 杂交信号定位于正常鼻咽和鼻咽癌组织的间质细胞胞浆中 (图 5, 6). 结合 NAPI 基因的差异 RT-PCR 结果, 我们认为 NAPI 为间质细胞中免疫效应细胞的基因表达产物.



Fig. 5 The result of *in situ* hybridization by NAP1 probe in normal NP tissue ($\times 300$)

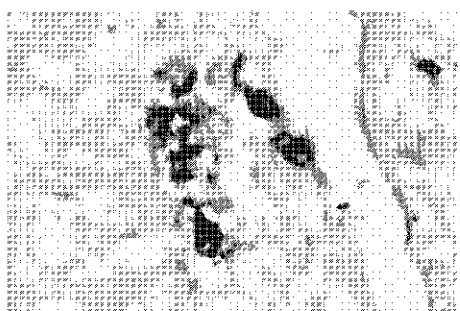


Fig. 6 The result of *in situ* hybridization by NAP1 probe in NPC tissue ($\times 300$)

2.8.2 人正常鼻咽和鼻咽癌组织的免疫组化：免疫组化结果显示，S100 阳性的树突状细胞与 NAP1 基因 cDNA 探针的原位杂交结果一致。NAP1 在鼻咽和鼻咽癌组织中定位于间质的树突状细胞 (DC)，而不是 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、NK 细胞和巨噬细胞等间质细胞 (图 7, 8)。

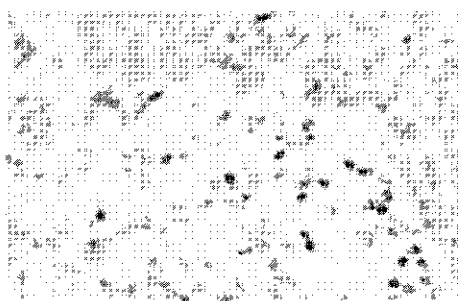


Fig. 7 The result of immunohistochemistry by monoclonal mouse anti-S100 in normal NP tissue ($\times 300$)

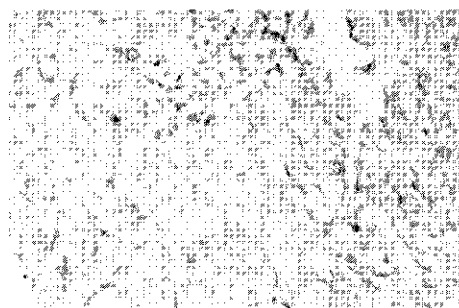


Fig. 8 The result of immunohistochemistry by monoclonal mouse anti-S100 in NPC tissue ($\times 300$)

3 讨 论

UniGene 是基于实验数据而建立的一个系统。它自动地将 GenBank 收录的序列划分成许多以基因为分类依据的非冗余序列簇。对于代表未知新基因的 UniGene 簇所包含的 EST 序列，可以通过核酸序列的电子延伸，对 EST 进行修正、聚类、拼接和组装，获得全长的 cDNA，从而发现新的基因。对于通过核酸序列的电子延伸获得的一段不完整 (非全长) 的 cDNA 序列，可以通过传统的文库筛选、快速 cDNA 末端扩增法和索取 IMAGE 并测序获得全长的 cDNA。人类基因组工作草图已完成，因此，通过“人类基因组草图搜索法”^[3]，结合巢式 PCR 技术获得全长的 cDNA，更加方便、快捷，大大缩短了克隆新基因全长序列所需时间。我们利用人类基因组草图搜索法结合巢式 PCR 技术，应用 4 对引物从成人正常鼻咽组织中扩增，获得一个基因的全长 cDNA。通过测序和 RNA 印迹膜杂交，确定了该基因的转录本大小。该基因命名为 NAP1，GenBank 登录号为 AY190326。

S100 为树突状细胞 (DC) 的主要特异性标记^[4,5]，结合 NAP1 基因 cDNA 探针的原位杂交结果，可进行 NAP1 表达的组织和细胞定位。原位杂交和免疫组化结果显示，该基因是在正常鼻咽和鼻咽癌组织间质中的树突状细胞中表达，在其他间质细胞和鼻咽上皮中均不表达。以上结果表明，NAP1 为树突状细胞产生的一种新的分泌肽，NAP1 基因可能与鼻咽癌病灶局部免疫功能有关。许多研究证明，DC 功能缺陷及 DC 凋亡所致的 DC 缺乏导致肿瘤的发生、发展，而且肿瘤组织中 DC 的浸润

程度与预后有明显相关^[6]。DC 功能缺陷的确切机制尚不清楚。我们的研究表明, NAP1 基因在 42.5% 的鼻咽癌组织中表达下调, 这种表达下调的原因是什么? NAP1 蛋白作为 DC 产生的一种新型免疫分子, 与鼻咽癌发生、发展的关系值得进一步探讨。

参 考 文 献

- 1 姚开泰. 从死因回顾调查资料看湖南省鼻咽癌流行病学的一些特点并探索其发病机理. 湖南医科大学报, 1982, 7 (1): 10 ~ 16
Yao K T. Bulletin of Hunan Medical College, 1982, 7 (1): 10 ~ 17
- 2 刘上峰, 李麓芸, 傅俊江, 等. 利用巢式 PCR 技术和人类基因组草图搜索法快速获得人类睾丸生精细胞凋亡相关基因

- TSARG2. 生物化学与生物物理学报, 2002, 34 (3): 378 ~ 382
Liu S F, Li L Y, Fu J J, *et al.* Acta Biochim Biophys Sin, 2002, 34 (3): 378 ~ 382
- 3 张成岗, 贺福初. 生物信息学. 北京: 科学出版社, 2002. 72 ~ 74
Zhang C G, He F C. Bioinformatics. Beijing: Science Press, 2002. 72 ~ 74
 - 4 Pileri S A, Grogan T M, Harris N L, *et al.* Tumours of histiocytes and accessory dendritic cells: an immunohistochemical approach to classification from the International Lymphoma Study Group based on 61 cases. Histopathology, 2002, 41 (1): 1 ~ 29
 - 5 Fassina A, Marino F, Poletti A, *et al.* Follicular dendritic cell tumor of the mediastinum. Ann Diagn Pathol, 2001, 5 (6): 361 ~ 367
 - 6 Pirtskhalaishvili G, Shurin G V, Gambotto A, *et al.* Transduction of dendritic cells with Bcl-xL increases their resistance to prostate cancer-induced apoptosis and antitumor effect in mice. J Immunol, 2000, 165 (4): 1956 ~ 1964

Cloning and Identification of NAP1: a Novel Human Gene Down-regulated in Nasopharyngeal Carcinoma*

LI Feng, JIANG Wei-Hong, YANG Xu-Yu, YIN Zhi-Hua,

FENG Xiang-Ling, LIU Wei-Dong, WANG Lei, ZHOU Wen, YAO Kai-Tai**

(Cancer Research Institute, Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha 410078, China)

Abstract NPC-related ESTs were selected from UniGene bank. According to nr and EST database BLAST results, BG231197 was found to be a sequence that represents a new gene. The EST contig does not have complete ORF. NAP1 gene cDNA was got from normal nasopharynx tissue cDNA by PCR through searching Human Genome Draft. The Northern blot analysis revealed one transcript (0.6 kb) in lymph node and trachea. GenBank Accession number of the gene is AY190326. The length of NAP1 gene cDNA is 573 bp, ORF is from 113 bp to 370 bp. NAP1 encodes a 9 700 u protein composed of 85 amino acids. The protein resembles to FDC-SP secreted by FDC (AF435080). Bioinformatics analysis suggested that the protein is a secreted protein. NAP1 gene is located at chromosome 4q13. Genome spans 9 179 bp, containing 5 exons and 4 introns. The difference of NAP1 expression between nasopharyngeal carcinoma (NPC) and nasopharynx (NP) tissues of 40 cases was tested by differential RT-PCR. Low expression occurred in 17 NPC cases. High expression occurred in 6 NPC cases. Expression difference did not occur in 17 NPC cases. *In situ* hybridization (ISH) and immunohistochemistry (IH) suggested that it express in dentritic cells of NP and NPC tissues. It is meaningful to do further studies on the reason of low expression in NPC tissue and the function of NAP1 gene.

Key words nasopharyngeal carcinoma, NAP1, gene cloning, identification

* This work was supported by The Special Funds for Major State Basic Research of China (G1998051200).

** Corresponding author. Tel: 86-731-4360094, E-mail: ktyao@fimmu.com

Received: November 24, 2003 Accepted: January 18, 2004