

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.20.053

DNA 异常甲基化在宫颈癌中的研究进展

温耀兰 张轶清[△]

(芜湖市皖南医学院第一附属医院弋矶山医院妇产科 安徽 芜湖 241000)

摘要:长期以来人们一直认为基因突变或基因缺失参与肿瘤的形成。近年来众多研究表明,表观遗传修饰对肿瘤的发展也具有非常重要的意义,它的主要表现形式有 DNA 甲基化、组蛋白修饰、微小 RNA 调节、染色质重组等。DNA 异常甲基化可通过影响染色质结构、癌基因及抑癌基因表达而参与肿瘤的形成。了解目前宫颈癌中 DNA 甲基化的研究进展不仅有助于宫颈癌的早期诊断,对其分子靶向治疗及预后评估亦显示出良好的应用前景。

关键词:宫颈癌;表观遗传学;DNA 甲基化;抑癌基因

中图分类号:R737.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)20-3997-04

Research Progress of DNA Abnormal Methylation in Cervical Carcinoma

WEN Yao-lan, ZHANG Yi-qing[△]

(Yijishan Wannan Medical College Hospital, Anhui, Wuhu, 241000, China)

ABSTRACT: Although the importance of genetic mutation or deficiency in cancer has long been recognized, many studies have shown that the epigenetic modification also has a very important significance in tumor development. It's mainly in the form of DNA methylation, histone modifications, microRNA regulation and chromatin reorganization. The DNA methylation may contribute to the genesis of tumor by affecting the structure of chromatin and the expression of oncogenes or tumor suppressor genes. Understanding progress in the research of the DNA methylation is not only helpful for early diagnosis of cervical cancer, but also shows a good prospect in molecular targeted therapy and evaluation of prognosis for cervical cancer.

Key words: Cervical cancer; Epigenetics; DNA methylation; Tumor suppressor genes

Chinese Library Classification(CLC): R737.31 **Document Code:** A

Article ID:1673-6273(2014)20-3997-04

宫颈癌是最常见的女性生殖道恶性肿瘤之一,其发生是多因素、多步骤、多阶段的过程。众多学者研究认为高危型人类乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV)持续无对抗性感染是宫颈癌发生的重要危险因素,虽然目前尚不能清楚解释其感染后确切的分子机制,但它的感染对宫颈癌的发生发展是不容忽视的因素之一。在肿瘤的发生发展过程中包含两类机制:一是遗传学机制,即 DNA 序列改变造成基因突变;二是表观遗传学机制,即不依赖 DNA 序列的改变,而是通过碱基修饰调整染色质结构导致基因表达改变,是一种可逆的变化过程,其分子机制包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰、微小 RNA 调节等。近年来研究发现宫颈癌的发生发展可能与表观遗传学有很大的联系。自 1983 年 Feinberg 等首次在癌细胞中发现基因组总体甲基化水平偏低后,越来越多的研究表明:肿瘤发生时,细胞 DNA 甲基化水平和模式会发生紊乱,包括基因组整体低甲基化和特定基因启动子区域高甲基化,而且早在临床诊断之前就可检测出特异基因的甲基化异常现象。表明对特异基因甲基化状态进行筛查有望用于肿瘤的早期诊断,从而改善患者的预后。本文就目前国际上对宫颈癌中 DNA 异常甲基化的研究进展进行综述。

1 DNA 甲基化

DNA 甲基化属于表观遗传学范畴,它是指在 DNA 甲基化转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)作用下,将 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)提供的甲基共价结合到 CpG 二核苷酸的胞嘧啶 5' 碳位上生成 5-甲基胞嘧啶(5-mC)的过程。在哺乳动物的基因组中, DNA 甲基化主要发生在 CpG 二核苷酸,它在基因组中呈不均匀分布,通常将 CpG 含量大于 50%,长度大于 200bp 的 DNA 序列,称为 CpG 岛。CpG 岛多位于启动子区和基因编码区,这些基因为管家基因或组织特异表达基因。其正常状态下处于非甲基化状态,基因能正常表达。某些抑癌基因启动子区的 CpG 岛发生甲基化,可阻碍蛋白与 DNA 的相互作用,从而影响基因转录过程中模板与 RNA 聚合酶的结合,降低其转录活性,使基因表达沉默,导致细胞增殖异常而产生恶性肿瘤[1]。由此表明 DNA 甲基化的过程即基因表达抑制的过程, DNA 甲基化与基因的表达呈负相关关系。甲基化程度越高,基因的表达越低,去甲基化又可使基因的表达增强。随着人们对甲基化认识的不断深入,发现启动子区异常甲基化可导致抑癌基因等失活,而且在肿瘤发生的早期可被发现,被认为是研究早期肿瘤的一个非常有效的分子标志。

1.1 DNA 甲基转移酶

DNA 甲基化是人类基因调控的重要方式之一,主要受 DNMT 家族的调控。哺乳动物的 DNMT 的催化区域中存在含

作者简介:温耀兰(1987-),女,硕士研究生,主要方向:妇科肿瘤,电话:15155342562, E-mail: annabilan0929@163.com

△通讯作者:张轶清, E-mail: zhangyiqing5612@sina.com

(收稿日期:2013-10-17 接受日期:2013-11-15)

500 个氨基酸残基的保守序列,是催化 CpG 岛甲基化的活性部位。目前发现 DNMT 家族成员至少包括 DNMT1、DNMT3A 和 DNMT3B^[2],根据作用将其分为两种:一种是重新甲基化酶 DNMT3A 和 DNMT3B,使原来没有甲基化的 DNA 双链上进行甲基化。这两种酶发生在胚胎发育的早期,细胞分化之后和在成体细胞组织中表达下调,但在肿瘤细胞中则过度表达^[3]。另一种是维持甲基化酶 DNMT1,主要是继重新甲基化作用后维持稳定的甲基化状态,即在 DNMT1 的作用下根据亲链上的甲基化位点进行相应的甲基化修饰,使 DNA 分子未甲基化的那一条子链甲基化,从而将 DNA 甲基化信息传递给子代细胞。DNMT1 表达失调与细胞转化和抑制 DNMT1 活性从而发挥抗肿瘤作用有关^[4]。Zhang 等^[5]研究显示 DNMT1 表达沉默可抑制人宫颈癌 Hela 和 Siha 细胞增殖和诱导细胞凋亡。此外还发现 DNMT1 表达沉默可增强人宫颈癌 Hela 和 Siha 细胞系中的抑癌基因的 mRNA 表达,同时使它们发生去甲基化。由此表明 DNMT1 蛋白的表达可影响宫颈癌中的抑癌基因的甲基化状态,并有潜力成为宫颈癌治疗的有效靶点。在肿瘤的发生发展中,DNMT 蛋白表达增高往往先于甲基化的变化,因此对 DNMT1 的研究将为宫颈癌的早期诊断提供新的启示。

2 DNA 异常甲基化使抑癌基因失活

近年来,已有大量关于 DNA 甲基化与宫颈癌关系的研究报道,人们普遍认为肿瘤抑制基因的启动子区域 CpG 岛高甲基化导致抑癌基因失活是引起宫颈癌的一个重要原因。目前研究的与宫颈癌发生密切相关的抑癌基因主要有 P16INK4a、肺癌肿瘤抑制因子 1(TSLC1)、脆性组氨酸三联体(FHIT)和 Ras 相关区域家族 1A(RASSF1A)。

2.1 P16INK4a 基因

P16INK4a 基因是 1994 年 Kamb 等发现的一种参与细胞周期调控的抑癌基因,产物 P16INK4a 蛋白与细胞周期素 D (cyclin D)竞争地结合周期蛋白依赖性激酶(cyclin dependent kinase,CDK)4 和 6,并特异性抑制 CDK4 和 CDK6 的活性,阻止细胞由 G1 期进入 S 期,从而抑制细胞增殖。Furtado 等^[6]研究发现,20 例正常宫颈组织 (NC) 样本和 27 例宫颈上皮内瘤变 (CIN)组织样本中 P16INK4a 甲基化率分别为 20%和 55.6%,两者之间有显著性差异。Attaleb 等^[7]在 22 例宫颈癌患者组织标本中检测到 P16INK4a 启动子区 CPG 岛的甲基化率高达 59.1%。最近国际妇女联合会在对近 5 年的 126 例晚期宫颈癌放射治疗的患者的回顾性研究中发现:P16INK4a 表达阳性的患者,其生存率和复发率分别为 63%和 34%;而 P16INK4a 表达阴性的患者,其生存率和复发率分别为 33%和 57%,提示 P16INK4a 表达可反映晚期宫颈癌患者放射治疗的预后情况^[8]。上述研究表明,P16INK4a 启动子区的甲基化是 P16INK4a 基因失活的原因之一,随着对 P16INK4a 基因的深入了解,检测其表达有望成为晚期宫颈癌患者预后评估的手段。

2.2 肺癌肿瘤抑制因子 1 (tumor suppressor in lung cancer 1, TSLC1)

TSLC1 基因即 CADM1,位于染色体 11q23.2。CADM1 基因启动子甲基化导致其表达沉默从而诱发肿瘤的形成,它与高危型 HPV 感染的宫颈癌有关。Overmeer 等^[9]研究显示:在 NC、

CINIII 及鳞状细胞癌(SCC)的不同组织中,CADM1 基因甲基化密度依次为:5%、30%、83%,提示 CADM1 甲基化的密度随病变程度的进展而增加。最近研究发现 CADM1 参与细胞骨架的构建和维持细胞黏附功能的稳定性,当 CADM1 失活时会引起肿瘤的侵袭和转移^[10]。由此表明 CADM1 基因异常甲基化和宫颈癌的发生发展有关,且其可作为评估患者预后的指标。

2.3 脆性组氨酸三联体(fragile histidine triad, FHIT)

FHIT 基因位于人类染色体 3p14.2 上,它可通过细胞周期阻滞和诱导细胞凋亡,从而抑制细胞的生长。在许多正常组织中均有表达,尤其在乳腺、肝脏和肾脏等组织中表达较丰富,而在宫颈组织中表达相对偏少^[11]。Giarnieri 等^[12]研究发现从 CIN I、CINII 进展到 CINIII 时,FHIT 蛋白缺失同比增长 31.8%,说明 FHIT 蛋白缺失随宫颈病变程度的增加而增长,从而在浸润性宫颈癌的进展中成为一个重要的分子事件。Ki 等^[13]研究表明,25.9%的宫颈癌组织标本中 FHIT 基因表达减少,100%的宫颈癌组织中检测到了 FHIT 基因启动子发生异常甲基化现象,表明 FHIT 基因表达缺失及甲基化异常与宫颈癌的发生有关。Yoon^[14]通过对 35 例宫颈腺癌的研究发现 FHIT 蛋白的表达与临床分期($P=0.032$)、淋巴结的转移($P=0.02$)及组织学分级($P=0.000$)显著相关,并认为 FHIT 的表达状态与肿瘤的侵袭度密切相关,因此它可作为判断患者预后情况的方法。

2.4 Ras 相关区域家族 1A (Ras association domain family 1A, RASSF1A)

RASSF1A 基因是继 P16INK4a 之后发现的甲基化范围最广、程度最深的肿瘤抑制基因。RASSF1A 基因启动子 CpG 岛高甲基化导致该基因失活。Kim 等^[15]研究显示 RASSF1A 基因在 NC、低度鳞状上皮内病变 (LSIL)、高度鳞状上皮内病变 (HSIL)及 SCC 中的甲基化频率明显不同($P<0.01$),其甲基化程度随着宫颈病变程度增加而呈上升趋势。Pan 等^[16]研究 40 例正常宫颈上皮组织样本和 65 例宫颈癌组织中 RASSF1A 基因启动子甲基化率分别为 0%和 20%,其中无淋巴道转移的组织样本中 RASSF1A 基因甲基化率为 15%,而有淋巴道转移的组织样本中 RASSF1A 基因甲基化率为 32%,表明 RASSF1A 基因的改变与宫颈癌的发生发展和预后相关。Mittra 等^[17]研究 RASSF1A 在宫颈癌前病变及宫颈癌中改变的临床意义显示:RASSF1A 基因表达在宫颈癌前病变中明显降低,RASSF1A 在 23 例 CIN 中的甲基化率是 35%,缺失率达 26%;在 110 例宫颈癌中的甲基化率是 33%,缺失率达 50%,这说明 RASSF1A 基因甲基化改变与基因表达减少有一致性。综上所述,RASSF1A 基因在宫颈癌的早期诊断和评估预后风险中起着重要的作用。

3 甲基化分析对宫颈癌的诊断价值

对宫颈癌的肿瘤抑制基因 DNA 甲基化的研究为其早期诊断开辟了新的前景,它具有如下的临床实用性:

虽然目前宫颈癌的 "三步曲" 检查能使患者早筛查、早诊断、早治疗,但对基因甲基化的研究发现癌细胞能够向外周血和累及器官的分泌物中释放 DNA,故除肿瘤组织外,还可用血浆、尿液、唾液等^[18]进行 DNA 甲基化分析,可使宫颈癌更早期的被发现,且这些标本无创并易于获得,有利于成为简便、快捷的宫颈癌早期诊断方式。

在肿瘤发生的早期就存在 DNA 异常甲基化,通过检测一些特异基因的甲基化状态对肿瘤进行早期诊断是可行的方法。近年来,有研究者尝试采用甲基化基因标记来筛选宫颈癌。Kim 等^[19]采用荧光定量 MSP 技术分析 SCC、HSIL、LSIL 和 NC 的宫颈刮片中 RASSF1A 和 Twist 基因启动子的甲基化水平。结果发现它们在 HSIL/SCC 的甲基化水平高于 LSIL/NC,同时发现它们检测 HSIL/SCC 的特异性和敏感性分别为 90.7%、74.1%。说明 RASSF1A 和 Twist 基因的甲基化标记可用于区分 HSIL/SCC 和 LSIL/NC。Overmeer 等^[20]研究表明对伴有高危型 HPV 感染的妇女进行联合检测 CADM1 和 T-淋巴细胞成熟相关蛋白(MAL)甲基化状态可作为筛查宫颈癌的一种分子工具。已有实验发现 HPV 联合 DNA 甲基化的检测方法对宫颈癌筛查的敏感性明显高于单纯使用 HPV 的检测方法。在 Lai 等^[21]实验中对宫颈拭子进行 HPV 和配对核基因 X1(PAX1)联合检测 HSIL/SCC 的灵敏度和特异度分别为 80%、63%,而单独进行 HPV 检测的灵敏度和特异度分别为 60%、64%,提示可采用 HPV 和 DNA 甲基化联合的检测方法来筛查宫颈癌。从临床意义上来说,对 HPV 检查结果阳性的患者,可通过进一步检测 DNA 甲基化,能够筛查出一部分 HPV 感染阳性却无严重宫颈病变的患者,同时减少了阴道镜下活检对组织的创伤^[22]。

在肿瘤的发展过程中,DNA 甲基化的动态改变反映了肿瘤的病变程度、侵袭转移及患者的预后情况。首先,异常甲基化与肿瘤的病理分期相关。如宫颈鳞癌中 DAPK、RASSF1A 等基因异常甲基化率随病理分期升高而呈上升趋势^[23]。其次,DNA 异常甲基化与肿瘤的侵袭转移相关。Yang 等^[24]在研究中发现 CADM1 基因甲基化与宫颈癌的浸润程度和宫颈淋巴血管间隙浸润有关,提示 CADM1 在宫颈癌的浸润和转移中有重要作用。最后,异常甲基化与肿瘤的复发有关。Abudukadeer 等^[25]研究结果表明血清 E 钙粘素(CDH1)基因甲基化阳性的宫颈癌患者有 92.8 倍的复发风险(95%CI:3.9-2207.1, $P=0.005$),提示对宫颈癌患者的血清样本中 CDH1 基因甲基化分析,可能作为评估宫颈癌患者预后的分子标志物。我们对 DNA 甲基化的研究尚处于初级阶段,随着研究的不断深入,开发研究特异的甲基化标志物,不但能使宫颈癌的早期诊断有了新的突破,而且为宫颈癌的转移程度及临床预后提供了一个很好的评估指标。

4 甲基化分析在宫颈癌治疗中的应用

由于 DNA 异常甲基化具有可逆性,故应用 DNMT 抑制剂使肿瘤相关基因启动子去甲基化,可重新激活抑癌基因并抑制肿瘤生长,从而达到治疗肿瘤的目的。目前国内外正在作这方面的尝试研究,其中代表性的药物有胍屈嗪,它通过细胞外信号调节激酶(ERK)通路降低 DNMT1 在 T 细胞的表达。Song 等^[26]将胍屈嗪作用于人宫颈癌 HeLa 和 CaSki 细胞系,发现 40 $\mu\text{mol/L}$ 的胍屈嗪作用 72 h 后能使抑癌基因腺瘤性结肠息肉病(adenomatous polyposis coli, APC)启动子去甲基化而重新激活,从而抑制肿瘤的生长。目前关于胍屈嗪和丙戊酸联合应用于宫颈癌的 III 期临床试验已在进行之中^[27]。最近研究发现从中草药的活性成分中提取的天花粉蛋白(TCS)可降低 DNMT1 的活性。Huang 等^[28]将 TCS 作用于人宫颈癌 HeLa 和 CaSki 细胞系

48 h 后,能诱导抑癌基因 APC 和 TSLC1 发生去甲基化,同时使 DNMT1 的活性降低,表明 TCS 能使表达沉默的肿瘤抑制基因发生去甲基化,有望用于宫颈癌的临床治疗。其他 DNMT 抑制剂还有地西他滨(5-Aza-CdR),其作用机制是抑制 DNMT 活性,逆转肿瘤抑制基因启动子高甲基化导致的基因沉默,在肿瘤治疗中起重要作用。Yao 等^[29]用不同浓度的 5-Aza-CdR 干预培养人宫颈癌细胞系 HeLa 和 SiHa,检测细胞凋亡蛋白酶活化因子-1(APAF-1)基因在干预前后的表达变化情况。结果发现经 5-Aza-CdR 处理的宫颈癌细胞中 APAF-1 基因的表达增强,细胞增殖明显受到抑制。虽然 DNMT 抑制剂在宫颈癌治疗中的研究尚未成熟,但我们相信它可逆转肿瘤基因的启动子异常甲基化,从而激活抑癌基因的功能,将会成为宫颈癌治疗的新靶点。

5 展望

目前,国内外已有大量关于宫颈癌中 DNA 异常甲基化的研究报道,发现了许多与宫颈癌有关的基因甲基化,但尚未真正筛选出能满足临床需要的最合适的甲基化标志物,因此采用全基因组筛选宫颈癌甲基化基因的方法,找到灵敏度和特异度均强的甲基化标志物,进而在宫颈涂片样本中检测甲基化标志物将是未来宫颈癌筛查的研究方向。未来 DNA 甲基化标志物将成为宫颈癌的早期诊断、病情评估及判断预后的新手段。对 DNA 甲基化在宫颈癌中的研究将有着非常重要和深远的意义。

参考文献(References)

- [1] Asadollahi R, Hyde CA, Zhong XY. Epigenetics of ovarian cancer: from the lab to the clinic[J]. Gynecol Oncol, 2010, 118(1): 81
- [2] Castilla MA, Moreno-Bueno G, Romero-Pé rez L, et al. Micro-RNA signature of the epithelial-mesenchymal transition in endometrial carcinosarcoma[J]. J Pathol, 2011, 223(1): 72-80
- [3] Cui M, Wen Z, Chen J, et al. 5-Aza-2'-deoxycytidine is a potent inhibitor of DNA methyltransferase 3B and induces apoptosis in human endometrial cancer cell lines with the up-regulation of hMLH1 [J]. Med Oncol, 2010, 27(2): 278-285
- [4] You JS, Kang JK, Lee EK, et al. Histone deacetylase inhibitor apicidin downregulates DNA methyltransferase I expression and induces repressive histone modifications via recruitment of corepressor complex to promoter region in human cervix cancer cells[J]. Oncogene, 2008, 27(10): 1376-86
- [5] Zhang Y, Chen FQ, Sun YH, et al. Effects of DNMT1 silencing on malignant phenotype and methylated gene expression in cervical cancer cells[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2011, 30(1): 98
- [6] Furtado YL, Almeida G, Lattario F, et al. The presence of methylation of the p16INK4A gene and human papillomavirus in high-grade cervical squamous intraepithelial lesions[J]. Diagn Mol Pathol, 2010, 19(1): 15-19
- [7] Attaleb M, El hamadani W, Khyatti M, et al. Status of p16(INK4a) and E-cadherin gene promoter methylation in Moroccan patients with cervical carcinoma[J]. Oncol Res, 2009, 18(4): 185-192
- [8] Schwarz JK, Lewis JS Jr, Pfeifer J, et al. Prognostic significance of p16 expression in advanced cervical cancer treated with definitive radiotherapy[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2012, 84(1): 153-157

- [9] Overmeer RM, Henken FE, Snijders PJ, et al. Association between dense CADM1 promoter methylation and reduced protein expression in high-grade CIN and cervical SCC[J]. *J Pathol*, 2008, 215(4): 388-397
- [10] Li Q, Zhou L, Yang F, et al. MicroRNA-10b promotes migration and invasion through CADM1 in human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Tumor Biology*, 2012, 33(5): 1455-1465
- [11] Joannes A, Bonnomet A, Bindels S, et al. FHIT regulates invasion of lung tumor cells[J]. *Oncogene*, 2010, 29(8): 1203-1213
- [12] Giarnieri E, Zanesi N, Bottori A, et al. Reduction of the most common fragile site tumor suppressor proteins in cervical cancer[J]. *Cancer Lett*, 2010, 289(1): 40-45
- [13] Ki KD, Lee SK, Tong SY, et al. Role of 5'-CpG island hypermethylation of the FHIT gene in cervical carcinoma [J]. *J Gynecol Oncol*, 2008, 19(2): 117-122
- [14] Yoon SO. Abnormal fragile histidine triad (Fhit) expression in invasive cervical adenocarcinoma: association with tumor aggressiveness[J]. *Hum Pathol*, 2007, 38(2): 326-331
- [15] Kim J H, Choi Y D, Lee J S, et al. Assessment of DNA methylation for the detection of cervical neoplasia in liquid-based cytology specimens[J]. *Gynecol Oncol*, 2010, 16(1): 99-104
- [16] Pan Z, Li J, Pan X, et al. Methylation of the RASSF1A gene promoter in Uigur women with cervical squamous cell carcinoma [J]. *Tumori*, 2009, 95(1): 76-80
- [17] Mitra D, Basu PS, Mondal RK, et al. Alterations of RASSF1A in premalignant cervical lesions: Clinical and prognostic significance[J]. *Molecular Carcinogenesis*, 2012, 51(9): 723-733
- [18] Wakabayashi T, Natsume A, Hatano H, et al. p16 promoter methylation in the serum as a basis for the molecular diagnosis of gliomas[J]. *Neurosurgery*, 2009, 64(3): 455-461
- [19] Kim JH, Choi YD, Lee JS, et al. Quantitative assessment of DNA methylation for the detection of cervical neoplasia in liquid-based cytology specimens[J]. *Virchows Arch*, 2010, 457(1): 35-42
- [20] Overmeer RM, Louwers JA, Meijer CJ, et al. Combined CADM1 and MAL promoter methylation analysis to detect(pre) malignant cervical lesions in high risk HPV positive women[J]. *Int J Cancer*, 2011, 129(9): 2218-2225
- [21] Lai HC, Lin YW, Huang TH, et al. Identification of novel DNA methylation markers in cervical cancer[J]. *Int J Cancer*, 2008, 123(1): 161-167
- [22] Lin CJ, Lai HC, Wang KH, et al. Testing for methylated PCDH10 or WT1 is superior to the HPV test in detecting severe neoplasms(CIN3 or greater) in the triage of ASC-US smear results [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2011, 204(1): e12-e13
- [23] Kim JH, Choi YD, Lee JS, et al. Assessment of DNA methylation for the detection of cervical neoplasia in liquid-based cytology specimen [J]. *Gynecol Oncol*, 2010, 116(1): 99-104
- [24] Yang N, Nijhuis ER, Volders HH, et al. Gene promoter methylation patterns throughout the process of cervical carcinogenesis [J]. *Cell Oncol*, 2010, 32(1/2): 131-143
- [25] Abudukadeer A, Bakry R, Goebel G, et al. Clinical Relevance of CDH1 and CDH13 DNA-Methylation in Serum of Cervical Cancer Patients[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(7): 8353-8363
- [26] Song Y, Zhang C. Hydralazine inhibits human cervical cancer cell growth in vitro in association with APC demethylation and re-expression[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2009, 63(4): 605-613
- [27] Coronel J, Cetina L, Pacheco I, et al. A double-blind, placebo-controlled, randomized phase III trial of chemotherapy plus epigenetic therapy with hydralazine valproate for advanced cervical cancer. Preliminary results [J]. *Med Oncol*, 2011, 28 Suppl 1: S540-546
- [28] Huang Y, Song H, Hu H, et al. Trichosanthin inhibits DNA methyltransferase and restores methylation-silenced gene expression in human cervical cancer cells[J]. *Mol Med Rep*, 2012, 6(4): 872-878
- [29] Yao TT, Mo SM, Liu LY, et al. 5-Aza-2'-deoxycytidine may influence the proliferation and apoptosis of cervical cancer cells via demethylation in a dose-and time-dependent manner [J]. *Genet Mol Res*, 2013, 12(1): 312-318

(上接第 3972 页)

- [28] Yam J W, Ko F C, Chan C Y, et al. Interaction of deleted in liver cancer 1 with tensin2 in caveolae and implications in tumor suppression[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(17): 8367-8372
- [29] Syed V, Mukherjee K, Lyons-Weiler J, et al. Identification of ATF-3, caveolin-1, DLC-1, and NM23-H2 as putative antitumorigenic, progesterone-regulated genes for ovarian cancer cells by gene profiling[J]. *Oncogene*, 2005, 24(10): 1774-1787
- [30] Qian X, Li G, Asmussen H K, et al. Oncogenic inhibition by a deleted in liver cancer gene requires cooperation between tensin binding and Rho-specific GTPase-activating protein activities [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(21): 9012-9017
- [31] Seng T J, Low J S, Li H, et al. The major 8p22 tumor suppressor DLC1 is frequently silenced by methylation in both endemic and sporadic nasopharyngeal, esophageal, and cervical carcinomas, and inhibits tumor cell colony formation[J]. *Oncogene*, 2007, 26(6): 934-944
- [32] Peng H, Long F, Wu Z, et al. Downregulation of DLC-1 gene by promoter methylation during primary colorectal cancer progression [J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 181384
- [33] Du X, Qian X, Papageorge A, et al. Functional interaction of tumor suppressor DLC1 and caveolin-1 in cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(17): 4405-4416
- [34] Peng H, Long F, Wu Z, et al. Downregulation of DLC-1 gene by promoter methylation during primary colorectal cancer progression [J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 181384
- [35] Avraham A, Uhlmann R, Shperber A, et al. Serum DNA methylation for monitoring response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients[J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(7): E1166-E1172
- [36] Heyn H, Carmona F J, Gomez A, et al. DNA methylation profiling in breast cancer discordant identical twins identifies DOK7 as novel epigenetic biomarker[J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(1): 102-108