

死亡相关蛋白激酶 1、*KLF4*、6-氧-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶甲基化状态检测及与宫颈癌人乳头瘤病毒 16 感染的关系

倪茗¹, 刘婷婷¹, 汪俊¹, 邹学红¹, 周红玉¹, 王燕², 余桂梅¹

(1. 武汉科技大学附属汉阳医院 妇科, 湖北 武汉, 430050;

2. 湖北省妇幼保健院 妇产科, 湖北 武汉, 430070)

摘要: 目的 检测宫颈组织死亡相关蛋白激酶 1 (*DAPK1*)、*KLF4*、6-氧-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶 (*MGMT*) 启动子区域甲基化状态, 初步探讨其甲基化状态与宫颈癌人乳头瘤病毒 16 (HPV16) 感染的关系。方法 选取宫颈癌患者 103 例为宫颈癌组, 另选取同期年龄相匹配的慢性宫颈炎患者 110 例为对照组。检测 2 组宫颈脱落组织 *DAPK1*、*KLF4*、*MGMT* 基因甲基化状态。通过人乳头瘤病毒检测 HPV16 感染情况, 分析宫颈组织 *DAPK1*、*KLF4*、*MGMT* 基因甲基化与 HPV16 感染相关性。结果 与对照组相比, 宫颈癌组患者 HPV16 感染阳性率升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与对照组相比, 宫颈癌组 *DAPK1*、*KLF4*、*MGMT* 基因异常甲基化率升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。分化程度低、TNM 分期 III ~ IV 期、有淋巴结转移及有远处转移患者宫颈癌组织 *DAPK1*、*KLF4*、*MGMT* 甲基化率高于分化程度高、中及 TNM 分期 I ~ II、无淋巴结转移、无远处转移患者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 HPV16 感染阴性相比, HPV16 感染阳性患者中 *DAPK1*、*KLF4*、*MGMT* 甲基化比例升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。HPV16 感染情况与 *DAPK1*、*KLF4*、*MGMT* 甲基化相关 ($r = 0.454, 0.497, 0.307, P < 0.05$)。结论 HPV16 感染可能与 *DAPK1*、*KLF4*、*MGMT* 甲基化有关, HPV16 感染可能通过影响 *DAPK1*、*RAR-β*、*MGMT* 基因甲基化促进宫颈癌的发展。

关键词: 宫颈癌; 人乳头瘤病毒感染; 死亡相关蛋白激酶 1; 6-氧-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶; 甲基化

中图分类号: R 737.33; Q 81 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2022)08-117-05 DOI: 10.7619/jcmp.20214540

Detection of methylation status of death-related protein kinase 1, *KLF4* and O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase and their relationships with human papillomavirus type 16

NI Ming¹, LIU Tingting¹, WANG Jun¹, ZOU Xuehong¹,
ZHOU Hongyu¹, WANG Yan², YU Guimei¹

(1. Department of Gynecology, Hanyang Hospital Affiliated to Wuhan University of Science and Technology, Wuhan, Hubei, 430050; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Maternal and Child Health Hospital in Hubei Province, Wuhan, Hubei, 430070)

Abstract: Objective To detect the methylation status of death-related protein kinase 1 (*DAPK1*), *KLF4* and O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase (*MGMT*) promoter region in cervical cancer tissues, and to preliminarily explore the relationship between their methylation status and human papillomavirus type 16 (HPV16) infection of cervical cancer. **Methods** A total of 103 patients with cervical cancer were selected as cervical cancer group, and another 110 patients of chronic cervicitis with matched age in the same period were selected as control group. The methylation status of *DAPK1*, *KLF4* and *MGMT* genes in cervical exfoliated tissues of the two groups were detected. HPV16 infection was detected by human papillomavirus, and the correlations of *DAPK1*, *KLF4* and *MGMT* gene methylation with HPV16 infection were analyzed. **Results** Compared with the control group, the positive rate of HPV16 infection in cervical cancer group was significantly increased ($P < 0.05$);

compared with the control group, the abnormal methylation rates of *DAPK1*, *KLF4* and *MGMT* genes in cervical cancer group were significantly increased ($P < 0.05$). The methylation rates of *DAPK1*, *KLF4* and *MGMT* in cervical cancer tissues in patients with low differentiation, TNM stage III to IV, lymph node metastases and distant metastases were significantly higher than those in patients with moderate to high differentiation, TNM stage I to II, without lymph node metastasis and without distant metastasis ($P < 0.05$). Compared with the negative HPV16 infection, the methylation rates of *DAPK1*, *KLF4* and *MGMT* in HPV16 positive patients were increased significantly ($P < 0.05$). HPV16 infection was associated with methylation of *DAPK1*, *KLF4* and *MGMT* ($r = 0.454, 0.497$ and $0.307, P < 0.05$). **Conclusion** HPV16 infection may be related to the methylation of *DAPK1*, *KLF4* and *MGMT*. HPV16 infection may promote the development of cervical cancer by influencing methylation of *DAPK1*, *KLF4* and *MGMT* genes.

Key words: cervical cancer; human papilloma virus infection; death-related protein kinase 1; O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase; methylation

宫颈癌是一种常见的妇科恶性肿瘤,随着宫颈筛查技术及疫苗水平不断提高,宫颈癌得以较好预防与治疗,但其发生发展机制尚未完全阐明^[1]。研究^[2]显示,高危型人乳头瘤病毒(HPV)长期感染是宫颈病变的重要因素,其中 HPV-16 较为常见,但仅有 20% 的 HPV-16 感染者会最终发展为宫颈癌,推测 HPV 感染需与其他因素协同作用促进宫颈癌发展。研究^[3]显示,个体对环境暴露因素的遗传易感性在宫颈癌的发病中发挥重要作用。

近年来,基因甲基化引起的抑癌基因表达下调与宫颈癌的关系已成为研究重点。死亡相关蛋白激酶 1(*DAPK1*)是 γ 干扰素介导的凋亡正性调节因子,是一种与多种细胞凋亡相关信号通路联系的抑癌基因^[4]。研究^[5]显示,*DAPK1* 甲基化水平与宫颈癌的疾病进展有关,参与宫颈癌的发生。转录因子 *KLF4* 在肿瘤中发挥抑癌或促癌基因功能^[6-7]。姜雪玲等^[8]研究显示,宫颈癌患者癌组织中 *KLF4* 表达显著低于子宫颈炎患者。6 氧-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶(*MGMT*)是宫颈癌的抑癌基因^[9]。检测 *MGMT* 基因启动子区甲基化可能有助于宫颈癌的早期诊断和筛查^[10]。基于 HPV-16 感染在宫颈癌中的重要作用,本研究分别对慢性子宫颈炎及宫颈癌患者宫颈脱落组织 *DAPK1*、*KLF4*、*MGMT* 甲基化及 HPV 感染状态进行比较,并探讨 *DAPK1*、*KLF4*、*MGMT* 甲基化与 HPV 感染状态相关性,为宫颈癌变的致病机制提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2017 年 9 月—2021 年 6 月武汉科技大

学附属汉阳医院初治宫颈癌患者 103 例作为研究对象(宫颈癌组)。年龄 27 ~ 74 岁,平均(50.38 ± 5.12)岁; I 期 16 例, II 期 18 例, III 期 31 例, IV 期 38 例;高分化 31 例,中分化 51 例,低分化 21 例;鳞癌 31 例,腺癌 57 例,腺鳞癌 15 例。纳入标准:经临床表现、影像学、病理组织切片确诊为宫颈癌者;患者均接受手术切除治疗,且治疗前未经放疗;患者临床病理资料完备。排除标准:合并其他恶性肿瘤者;合并自身免疫疾病者;患者处于急性感染期;合并脏器功能不全者。另选取同期因慢性子宫颈炎进行宫颈筛查的体检者 110 例作为对照组,年龄 26 ~ 73 岁,平均(51.62 ± 5.48)岁。研究对象均签署知情同意书。2 组研究对象在年龄等方面比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取及 *DAPK1*、*KLF4*、*MGMT* 基因甲基化状态检测:采用液基薄层细胞学检测标本收集细胞采集标本。按照 ZR Genomic DNA II Kit™ 试剂盒说明书提取组织 DNA,通过 EZ DNA Methylation Gold™ Kit 试剂盒说明书进行基因甲基化修饰后进行聚合酶链式反应(PCR),上、下游引物序列见表 1。反应体系为 10 × buffer 2.0 μ L, MgCl₂ 1.5 μ L, dNTP 1.5 μ L, 样本 4.0 μ L, 上、下游引物各 1.0 μ L, ddH₂O 8.25 μ L, Taq 酶 0.25 μ L。PCR 反应条件:95 °C 预热 10 min, 95 °C, 57 °C, 72 °C 循环 40 次, 72 °C 延伸 10 min。反应产物 4 °C 保存,行琼脂糖凝胶电泳并对电泳结果进行分析。

1.2.2 HPV16 感染检测:收集研究对象脱落宫颈细胞标本,通过原位杂交法^[11]检测研究对象

表 1 引物序列

引物	正向 5'-3'	反向 5'-3'
甲基化 <i>DAPK1</i>	TTATTAGAGGGTGGGGCGGATCGC	GACCCCGAACCCGCGACCGTAA
非甲基化 <i>DAPK1</i>	TTATTAGAGGGTGGGGTGGATTGT	CAACCCGAACCCGACAACCATAA
甲基化 <i>KLF4</i>	-GAGAGCGCGTTTTGTTTGTC	AACGACGTAAACGAAAATATCG
非甲基化 <i>KLF4</i>	TTTTTTAGATTGTTTGAGAGTG	AACTAACAACATAAACAAAAATATC
甲基化 <i>MGMT</i>	TTGAGAATGTGAGTGATTTA	AACCAATGCAACCAAAAACAA
非甲基化 <i>MGMT</i>	TCGAGAACCGGAGCGATTCC	GACCAATCCAACCGAAACGA

HPV16 感染情况。

1.3 统计学方法

采用统计学软件 SPSS 17.0 进行数据分析, 计数资料用 [n(%)] 表示, 采用检验; 采用 Spearman 相关分析, 分析 HPV16 感染与 *DAPK1*、*KLF4*、*MGMT* 基因异常甲基化间的相关关系。检验水准 $\alpha = 0.05$ (双侧), $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HPV16 感染检测情况

与对照组相比, 宫颈癌组患者 HPV16 感染阳性率升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 对照组与宫颈癌组患者 HPV 感染情况比较

组别	n	HPV16 感染情况		阳性率/%
		阴性	阳性	
对照组	110	96	14	12.7
宫颈癌组	103	54	49	47.6

与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

2.2 宫颈癌组与对照组 *DAPK1*、*KLF4*、*MGMT* 基因甲基化情况

与对照组相比, 宫颈癌组 *DAPK1*、*KLF4*、*MGMT* 基因异常甲基化率升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1、表 3。

2.3 宫颈癌组织中 *DAPK1*、*KLF4*、*MGMT*

基因甲基化状态与临床病理学特征关系

根据 *DAPK1* 甲基化状态将患者分为 *DAPK1* 甲基化组 47 例, *DAPK1* 非甲基化组 56 例; 根据 *KLF4* 甲基化状态分为 *KLF4* 甲基化组 53 例,

KLF4 非甲基化组 50 例; 根据 *MGMT* 甲基化状态分为 *MGMT* 甲基化组 31 例, *MGMT* 非甲基化组 72 例; 观察 *APK1*、*KLF4*、*MGMT* 甲基化状态与宫颈癌患者临床参数的关系。分化程度低、TNM 分期 III ~ IV 期、有淋巴结转移及有远处转移患者宫颈癌组织甲基化率高于分化程度高、中以及 TNM 分期 I ~ II、无淋巴结转移、无远处转移者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 在不同年龄、宫颈癌类型、肿瘤大小患者中比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

2.4 宫颈癌组 *APK1*、*KLF4*、*MGMT* 甲基化与 HPV16 感染相关性

与 HPV16 感染阴性相比, HPV16 感染阳性患者中 *APK1*、*KLF4*、*MGMT* 甲基化比例升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 5。HPV16 感染情况与 *APK1*、*KLF4*、*MGMT* 甲基化呈正相关 ($r = 0.454, 0.307, P < 0.05$)。

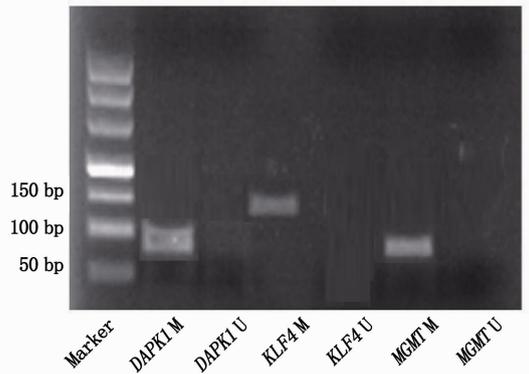


图 1 *DAPK1*、*KLF4*、*MGMT* 基因甲基化 (M) 与未甲基化 (U) 电泳结果

表 3 对照组与宫颈癌组 *DAPK1*、*KLF4*、*MGMT* 基因甲基化情况比较 [n(%)]

组别	n	<i>DAPK1</i>		<i>KLF4</i>		<i>MGMT</i>	
		甲基化	非甲基化	甲基化	非甲基化	甲基化	非甲基化
对照组	110	25(22.7)	85(77.3)	31(28.2)	79(71.8)	18(16.4)	92(83.6)
宫颈癌组	103	47(45.6)*	56(54.4)	53(51.5)*	50(48.5)	31(30.1)*	72(69.9)

与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

表 4 DAPK1、KLF4、MGMT 基因甲基化状态与临床病理特征关系 [n(%)]

临床病理特征	n	DAPK1			KLF4			MGMT			
		甲基化组 (n=47)	非甲基化组 (n=56)	P	甲基化组 (n=53)	非甲基化组 (n=50)	P	甲基化组 (n=31)	非甲基化组 (n=72)	P	
年龄	<50 岁	47	23(48.9)	24(51.1)	0.537	26(55.3)	21(44.7)	0.472	12(25.5)	35(74.5)	0.358
	≥50 岁	56	24(42.9)	32(57.1)		27(48.2)	29(51.8)		19(33.9)	37(66.1)	
分化程度/cm	高、中分化	82	30(36.6)	52(63.4)	<0.001	38(46.3)	44(53.7)	0.040	20(24.4)	62(75.6)	0.013
	低分化	21	17(81.0)	4(19.0)		15(71.4)	6(28.6)		11(52.4)	10(47.6)	
淋巴结转移	无	55	15(27.3)	40(72.7)	<0.001	23(41.8)	32(58.2)	0.036	9(16.4)	46(83.6)	<0.001
	有	48	32(66.7)	16(33.3)		30(62.5)	18(37.5)		22(45.8)	26(54.2)	
远处转移	无	64	21(32.8)	43(67.2)	0.001	28(43.8)	36(56.3)	0.045	12(18.8)	52(81.3)	0.001
	有	39	26(66.7)	13(33.3)		25(64.1)	14(35.9)		19(48.7)	20(51.3)	
临床分期	I ~ II	34	8(23.5)	26(76.5)	0.002	10(29.4)	24(70.6)	0.002	11(32.4)	23(67.6)	0.017
	III ~ IV	69	39(56.5)	30(43.5)		43(62.3)	26(37.7)		20(29.0)	49(71.0)	
类型	鳞癌	31	14(45.2)	17(54.8)	0.056	15(48.4)	16(51.6)	0.290	7(22.6)	24(77.4)	0.551
	腺癌	57	22(38.6)	35(61.4)		25(43.9)	32(56.1)		19(33.3)	38(66.7)	
	腺鳞癌	15	11(73.3)	4(26.7)		10(66.7)	5(33.3)		5(33.3)	10(66.7)	
肿瘤大小	<4 cm	43	21(48.8)	22(51.2)	0.580	25(58.1)	18(41.9)	0.251	12(27.9)	31(72.1)	0.682
	≥4 cm	60	26(43.3)	34(56.7)		28(46.7)	32(53.3)		19(31.7)	41(68.3)	

表 5 宫颈癌组织 APK1、KLF4、MGMT 甲基化与 HPV16 感染相关性 [n(%)]

基因	n	HPV16 阳性 (n=49)	HPV16 阴性 (n=54)
DAPK1 甲基化	47	34(72.3)*	13(27.7)
DAPK1 非甲基化	56	15(26.8)	41(73.2)
KLF4 甲基化	53	38(71.7)*	15(28.3)
KLF4 非甲基化	50	11(22.0)	39(78.0)
MGMT 甲基化	31	22(71.0)*	9(29.0)
MGMT 非甲基化	72	27(37.5)	45(62.5)

与 HPV16 阴性比较, *P < 0.05。

3 讨论

高危 HPV 持续感染是宫颈癌发病的重要原因,其中以 HPV16 为最常见类型,但部分感染 HPV16 患者可转阴,宫颈癌的发病是多种原因共同促进发展的结果。

DAPK1 定位于 9q34.1, 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,广泛参与多种途径介导的细胞凋亡过程,是近年来发现的抑癌基因,与肿瘤的发生发展密切相关^[4]。石雪等^[12]研究显示, DAPK1 基因 CpG 岛甲基化是 DAPK 表达缺失的重要原因。TAN Y L 等^[13]研究显示,宫颈癌患者宫颈组织 DAPK1 高甲基化。本研究中,宫颈癌组织中 DAPK1 基因甲基化率为 45.6%, 显著高于慢性子宫颈炎患者的 22.7%, 提示 DAPK1 基因甲基化与宫颈癌的发生发展密切相关。进一步探究发现,分化程度低、TNM 分期 III ~ IV 期、有淋巴结转移、有远处转移患者宫颈癌组织 DAPK1 基因甲基化率显著高于分化程度高、中以及 TNM 分期 I ~ II、无淋巴结转移、无远处转移者,提示 DAPK1 基因甲基化与宫颈癌的发展紧密相关,而在年龄、宫颈癌类

型、肿瘤大小方面比较差异不显著。本研究发现, DAPK1 甲基化宫颈癌组织中 HPV16 阳性率为 72.3%, 而 DAPK1 未甲基化宫颈癌组织中 HPV16 阳性率仅为 26.8%, 提示 DAPK1 甲基化与 HPV16 感染密切相关。

KLF4 可在不同肿瘤类型中发挥癌基因或抑癌基因作用,存在组织差异,其在胶质瘤中发挥癌基因作用^[7], 而在胃癌、肝癌等上皮癌中发挥抑癌作用^[14-15]。研究^[16]显示, KLF4 基因在宫颈癌的发生进展中作为肿瘤抑制因子失活,且 DNA 甲基化与 KLF4 蛋白表达呈负相关,去甲基化剂 5-Aza 处理宫颈癌 SiHa 和 C33A 细胞, KLF4 蛋白表达恢复。本研究中,宫颈癌患者癌组织 KLF4 甲基化率显著高于慢性子宫颈炎患者,提示 KLF4 甲基化与宫颈癌的发生有关;与病理学关系研究显示, KLF4 甲基化与宫颈癌患者分化程度、临床分期、淋巴结转移、远处转移等临床病理特征有关,而与肿瘤大小、肿瘤类型、年龄无关,提示 KLF4 甲基化在宫颈癌病情及预后中有一定价值。本研究中, KLF4 甲基化与 HPV16 感染呈正相关,提示 HPV16 感染可能通过影响 KLF4 甲基化参与宫颈癌的发生发展。猜测 KLF4 基因甲基化可作为宫颈癌基因层次的标志物,在宫颈癌诊断、病情及预后中发挥作用。

MGMT 基因编码 DNA 修复蛋白,能够保护细胞免受 DNA 损伤^[17]。在宫颈癌中, MGMT 基因沉默, HPV16 病毒大量翻译,细胞倾向癌变。本研究中, MGMT 基因甲基化率高于慢性子宫颈炎者,提示 MGMT 基因甲基化与宫颈癌患者的发病有关。进一步研究发现, MGMT 基因甲基化与宫颈癌患者分化程度、TNM 分期、淋巴结转移、远处转

移等临床病理特征有关,提示 *MGMT* 基因甲基化与宫颈癌的发展关系密切,猜测 *MGMT* 基因甲基化可能作为宫颈癌检测的标志物,但本研究未做研究,有待进一步探讨。研究^[18]显示, *MGMT* 表达下调可增加患者高危 HPV 感染概率。本研究中, *MGMT* 基因甲基化与患者 HPV16 感染呈正相关,提示 *MGMT* 基因甲基化与 HPV16 感染相关。

综上所述, HPV16 感染可能与 *APK1*、*KLF4*、*MGMT* 甲基化密切相关, HPV16 感染可能与 *APK1*、*KLF4*、*MGMT* 协同参与宫颈癌的发生发展。本研究仍存在一定的不足,宫颈癌发病缓慢、机制复杂,是多种因素长期累积结果,鉴于 DNA 甲基化与宫颈癌变关系的复杂性,详细机制有待进一步探讨。

参考文献

- [1] ZHENG M, ZHOU Q, LIU X G, *et al.* CTHRC1 overexpression promotes cervical carcinoma progression by activating the Wnt/PCP signaling pathway[J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(3): 1531-1538.
- [2] KOJI K, KEISUKE N, RIE I, *et al.* Evaluation of HPV16 E7 expression in head and neck carcinoma cell lines and clinical specimens[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 22138.
- [3] HUANG J, LUO J Y, TAN H Z. Associations of *MGMT* promoter hypermethylation with squamous intraepithelial lesion and cervical carcinoma; a meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2019, 14(10): e0222772.
- [4] ASIAT A, AHMAD S T, MALIK A A, *et al.* Association of protein expression and methylation of DAPK1 with clinicopathological features in invasive ductal carcinoma patients from Kashmir[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2019, 20(3): 839-848.
- [5] SUN Y, LI S, SHEN K, *et al.* DAPK1, *MGMT* and RARB promoter methylation as biomarkers for high-grade cervical lesions[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(11): 14939-14945.
- [6] 席剑铭, 张能, 李晓光, 等. 过表达 *KLF4* 通过 Wnt/ β -cate-

- nin 信号途径调控膀胱癌细胞上皮间质转化及迁移[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(8): 862-867.
- [7] 郭春梅, 赵旭. siRNA 沉默 *KLF4* 基因表达对人胶质瘤细胞增殖及凋亡的影响[J]. *肿瘤药理学*, 2019, 9(4): 550-554.
- [8] 娄雪玲, 张占薪, 刘灵, 等. 宫颈癌患者癌组织和外周血 Kruppel 样因子的表达及其临床意义[J]. *中国实用医刊*, 2020, 47(6): 1-4.
- [9] 姚明杰, 陈桂明, 杨雪琴. 放疗对宫颈癌细胞系的增殖抑制及抑癌基因 *p16*、*MGMT* 表达的影响[J]. *临床和实验医学杂志*, 2019, 18(10): 1038-1041.
- [10] 陆欢, 陈莹蓉, 孙立奇, 等. 宫颈癌及宫颈上皮内瘤变 *MGMT* 基因甲基化及其相关性研究[J]. *浙江医学*, 2014, 36(22): 1841-1843.
- [11] 程默羽, 汪旭. 外耳道乳头状瘤与 HPV 感染的病理学及原位杂交研究[J]. *医学临床研究*, 2018, 35(4): 696-699.
- [12] 石雪, 高宏宇, 燕玮, 等. ECGG 对急性早幼粒细胞白血病细胞株 NB4 增殖、细胞周期及 DAPK1 基因甲基化影响的研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2018, 26(5): 1288-1293.
- [13] TAN Y L, CHEN H J, WU Z K, *et al.* Digital loop-mediated isothermal amplification-based absolute methylation quantification revealed hypermethylated DAPK1 in cervical cancer patients[J]. *Anal Chem*, 2021, 93(22): 8077-8083.
- [14] 朱文幼, 徐飞鹏, 许庆文, 等. Kruppel 样因子 4 和驱动蛋白家族 20A 在胃癌组织的表达及其临床意义[J]. *中华实验外科杂志*, 2019, 36(9): 1658-1660.
- [15] 黄智平, 郑浩, 姚乃心, 等. microRNA-449b-5p 通过靶向 *KLF4* 促进肝细胞癌的增殖和转移[J]. *中国医药生物技术*, 2019, 14(1): 21-26.
- [16] YANG W T, ZHENG P S. Promoter hypermethylation of *KLF4* inactivates its tumor suppressor function in cervical carcinogenesis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88827.
- [17] NIDOIEVA Z M, PETERSON A A, RUBAN T P, *et al.* The influence of recombinant interferon α 2b synthesized in plants on the reparative enzyme *MGMT* expression in human somatic cells in vitro[J]. *Cytol Genet*, 2019, 53(6): 467-472.
- [18] SUN L L, LIU Y, SUN X, *et al.* Limited role of promoter methylation of *MGMT* and *C13ORF18* in triage of low-grade squamous intraepithelial lesion[J]. *Chin Med J*, 2018, 131(8): 939-944. (本文编辑: 周娟)

(上接第 116 页)

- [10] WANG J S, QIU C, ZHANG Z J, *et al.* microRNA-506-3p inhibits osteosarcoma cell proliferation and metastasis by suppressing *RAB3D* expression[J]. *Aging*, 2018, 10(6): 1294-1305.
- [11] LIANG T S, ZHENG Y J, WANG J, *et al.* microRNA-506 inhibits tumor growth and metastasis in nasopharyngeal carcinoma through the inactivation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway by down-regulating *LHX2*[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 97.
- [12] GONG M, CHEN C, ZHAO H, *et al.* miR-506 suppresses cervical cancer cell proliferation both in vitro and in vivo[J]. *Neoplasma*, 2018, 65(3): 331-338.
- [13] 王丽娟. 食管鳞状细胞癌 *SATB1* 高表达的临床意义及促转移的作用研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2013.
- [14] LEE K W, LEE S S, HWANG J E, *et al.* Development and validation of a six-gene recurrence risk score assay for gastric cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(24): 6228-6235.

- [15] LI Y, CHEN L L, CHAN T H M, *et al.* SPOCK1 is regulated by *CHD1L* and blocks apoptosis and promotes HCC cell invasiveness and metastasis in mice[J]. *Gastroenterology*, 2013, 144(1): 179-191, e4.
- [16] 周玉兰, 冀俊林, 李玉旺. 白藜芦醇对糖尿病大鼠认知功能损害的改善作用[J]. *实用医药杂志*, 2019, 36(1): 54-58.
- [17] OKATO A, ARAI T, KOJIMA S, *et al.* Dual strands of pre-miR-150 (miR-150-5p and miR-150-3p) act as antitumor miRNAs targeting SPOCK1 in naïve and castration-resistant prostate cancer[J]. *Int J Oncol*, 2017, 51(1): 245-256.
- [18] 吴常文, 子敏, 林双泉, 等. 下调 SPOCK1 基因表达可抑制膀胱癌细胞的增殖、迁移和侵袭[J]. *肿瘤*, 2017, 37(9): 936-943.
- [19] 施银, 冯晓兰, 谢李芬, 等. PI3K/AKT 信号通路在肿瘤中的研究进展[J]. *生命的化学*, 2018, 38(3): 421-426. (本文编辑: 周娟)