

DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2011.04.012

HGF、c-Met 和 VEGF-C 在宫颈癌中的表达

张雪玉¹,张咏梅¹,杨彩虹¹,刘莉莉²,吴蔚²

Expression of HGF, c-Met and VEGF-C in Cervical Carcinoma

ZHANG Xue-yu¹, ZHANG Yong-mei¹, YANG Cai-hong¹, LIU-Li-li², WU Wei²

1. Department of Gynecology, Affiliated Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 2. Graduate School of Ningxia Medical University

Corresponding Author: ZHANG Yong-mei, E-mail: zhangyongmei008@163.com

Abstract: Objective To investigate the expression level of hepatocyte growth factor(HGF) and its receptor, the proto-oncogene c-Met, and vascular endothelial growth factor-C(VEGF-C) in cervical carcinoma. **Methods** The mRNA levels of HGF, c-Met and VEGF-C were detected by Real Time fluorescence Quantitative PCR(FQ RT-PCR) method in 43 cervical carcinoma tissues, 30 cervical intraepithelial neoplasm III (CIN III) tissues and 27 normal cervical, respectively. **Results** The positive expression of HGF mRNA, c-Met mRNA and VEGF-C mRNA increased remarkably from normal tissue to CIN III and then to cervical carcinoma ($P < 0.05$). In cervical carcinoma, the expression of these three genes was positive correlated with the clinical stage, tumor size, the invasion of deep muscular layer and the lymph node metastasis ($P < 0.05$). These three genes were significant positive correlation ($P < 0.01$). **Conclusion** Over expression of HGF, c-Met and VEGF-C together may participate in the invasion and metastasis of cervical carcinoma. To investigate them together would be facilitated to the treatment and prognosis of cervical carcinoma.

Key words: Cervical carcinoma; HGF; c-Met; VEGF-C

摘要:目的 检测宫颈癌组织中 HGF 及其受体原癌基因 c-Met 和 VEGF-C 的分子表达水平及三者间的关系。**方法** 采用实时荧光定量 RT-PCR(Real Time fluorescence Quantitative PCR, FQ RT-PCR)技术相对定量检测 43 例宫颈浸润癌, 30 例 CIN III 和 27 例正常宫颈组织标本中 HGF mRNA、c-Met mRNA 和 VEGF-C mRNA 的表达水平。**结果** HGF mRNA、c-Met mRNA 和 VEGF-C mRNA 在正常宫颈、CIN III 和宫颈浸润癌组织中的表达水平依次升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。宫颈癌组织中三者表达水平与肿瘤临床分期、肿瘤直径大小、浸润深度、淋巴结转移有关 ($P < 0.05$)。HGF mRNA 与 c-Met mRNA 和 VEGF-C mRNA 表达相关 ($P < 0.01$)。**结论** HGF、c-Met 和 VEGF-C 在宫颈癌发生、发展、转移中发挥重要作用, 它们参与了宫颈癌新生血管和淋巴管的形成, 对宫颈癌的诊断、治疗及预后具有指导意义。

关键词: 宫颈癌; 肝细胞生长因子; c-Met; 血管内皮生长因子 C

中图分类号: R711.74; R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2011)04-0411-04

0 引言

宫颈癌是危及全球妇女健康的重要疾病, 在妇科恶性肿瘤中居首位。但宫颈发生癌变的确切机制以及宫颈癌侵袭转移的分子机制目前尚不完全清楚。肿瘤新生血管和新生淋巴管形成与肿瘤转移的关系已成为研究的热点。

实时荧光定量 RT-PCR 法, 是一种应用广泛的研究基因表达模式的方法, 具有操作简便, 速度快, 敏感度高、重复性好、定量准确、结果判断更客观真实的特点。本研究采用实时荧光定量 RT-PCR 法, 从分子水平研究肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 及其受体原癌基因 c-Met 以及 VEGF-C 的 mRNA 表达情况, 并结合宫颈癌临床病理特征, 分析它们在宫颈癌发生、发展、转移中的作用以及它们间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料及标本采集

患者年龄 27~67 岁, 平均 43.78 岁。标本均选

收稿日期: 2010-04-12; 修回日期: 2010-11-19

基金项目: 宁夏自然科学基金资助项目 (NZ08104; NZ10144)

作者单位: 1. 750004 银川, 宁夏医科大学附属医院妇科; 2. 宁夏医科大学研究生院

通信作者: 张咏梅, E-mail: zhangyongmei008@163.com

作者简介: 张雪玉 (1960-), 女, 硕士, 教授, 主要从事妇科肿瘤临床工作

自 2009 年 3 月至 2009 年 9 月在宁夏医科大学附属医院妇科经术前活检, 术后病理证实诊断的活检或手术切除的宫颈标本。所有患者取标本前均未接受化疗或放疗, 既往无其他恶性肿瘤史。其中宫颈浸润癌 43 例(11 例为宫颈活检标本), 宫颈上皮内瘤变 III (CIN III) 30 例。正常宫颈标本 27 例来自于同期因子宫肌瘤行子宫全切的正常宫颈组织。手术切除的宫颈标本离体后, 立即于无菌状态下沿肿瘤边缘取较为新鲜无坏死的瘤组织, 切成直径 3 mm 的小碎块, 装入无菌、无 RNA 酶的 EP 管并立即放入液氮罐中, 转存入 -80℃ 冰箱内保存。活检标本离体后直接入 EP 管存入 -80℃ 冰箱内保存。

1.2 引物

均委托上海生工公司合成。内参基因为 GAPDH。HGF 引物序列(90bp): 上游 5'-AGAAATG-CAGCCAGCATCATC-3'; 下游 5'-CACATGGTC-CTGATCCAATCTTT -3'。c-Met 引物序列(222bp): 上游 5'-TCTTGGGACATCAGAG GGTC-3', 下游 5-TGACTGCAGG ACTGGAAATG-3'。VEGF-C 引物序列(140bp): 上游 5'-GCAACACTACCA-CAGTGTCA-3', 下游 5'-TGGAAT CCATCTGT-TGAGTC-3'。

1.3 材料与方法

分三步进行: 包括 RNA 提取, 逆转录合成 cDNA, 荧光定量 PCR。试剂均购自爱思进生物技术有限公司(杭州)。前两步均在无菌、无 RNA 酶环境下在冰上严格按照说明书操作。荧光定量 PCR 用 BIO-RAD 荧光 PCR 仪进行检测(美国)。25 μl 反应体系含 cDNA 3 μl, 上下游引物各 0.4 μl, Mix: 12.5 μl, Passive Reference Dye 0.5 μl, 加水至 25 μl。PCR 循环: 50℃ 2 min, 95℃ 10 min, 95℃ 15 s, 60℃(58℃) 30 s, 72℃ 30 s, 共 45 个循环。每次扩增均设内参基因组和目的基因组以及 2 管空白对照组(由 DEPC 水代替 cDNA)。每一样本均设 2 个重复。

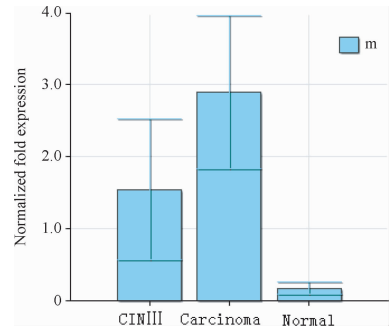
1.4 统计学方法

结果以均数 ± 标准差表示, 用 SPSS17.0 统计软件进行分析。所有资料均进行正态性及方差齐性检验。用单因素方差分析、SNK 检验、两个独立样本 t 检验以及 Pearson 相关系数法分析。P < 0.05 认为具有统计学意义。

2 结果

HGF mRNA、c-Met mRNA 和 VEGF-C mRNA 在宫颈浸润癌组织中的表达水平高于 CIN III 和正常宫颈组织, 见表 1, 与宫颈癌患者临床分期、肿瘤直径大小、浸润深度、淋巴结转移有关(P 均 <

0.05), 见表 2。73 例宫颈癌(宫颈浸润癌 43 例和 CIN III 30 例)组织中 HGF mRNA 和 c-Met mRNA 显著相关($r = 0.602, P < 0.01$), HGF mRNA 和 VEGF-C mRNA 在宫颈癌组织中表达存在相关关系($r = 0.368, P < 0.01$), 见图 1。



P < 0.05, vs. control; m: objective gene

图 1 CIN III、宫颈浸润癌和正常宫颈组织中 HGF mRNA 的表达量

Figure 1 Expression level of HGF mRNA in cervical carcinoma tissues, CIN III tissues and normal cervical tissues

3 讨论

宫颈癌的发展是从宫颈不典型增生到宫颈原位癌再到宫颈浸润癌的渐进过程, CIN III 是重度宫颈不典型增生和宫颈原位癌的总称。研究肿瘤相关因子在正常宫颈、CIN III 和宫颈浸润癌中的变化规律, 对宫颈癌的早期诊断、治疗及预后具有指导意义。

3.1 HGF/ c-Met 和 VEGF-C 与宫颈癌发生发展的关系

HGF 是一种具有刺激多种类型细胞的增殖、分化、形态发生和侵袭运动的多肽生长因子, 其受体为原癌基因 c-Met 编码的具有自主磷酸化活性的跨膜受体。HGF 与其单一受体 c-Met 结合后可激活受体酪氨酸蛋白激酶系统, 形成 HGF/c-Met 信号通路, 具有强大的促分裂、组织成形、诱导上皮细胞迁移、侵袭以及诱发血管生成的作用^[1]。大量研究证实, HGF 与 c-Met 特异地结合在调节肿瘤侵袭、转移和血管生成中发挥了重要的作用。

血管内皮生长因子家族是一种能产生多种生物学效应的细胞因子。具有促进血管内皮细胞分裂、增殖、细胞质钙聚集以及诱导血管生成等作用。VEGF-C 是 VEGF 家族的新成员, VEGF-C 与其受体结合后, 可激活丝裂原活化蛋白(MAPK)和磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)信号通路, 诱导淋巴管内皮细胞有丝分裂产生细胞增殖效应, 刺激新生淋巴管和血管生成, 从而为肿瘤组织提供营养物质, 加速肿瘤的转移过程^[2]。由于 VEGF-C 能穿过组织屏障, 故产生 VEGF-C 的肿瘤细胞有

表 1 三种宫颈组织中 HGF mRNA、c-Met mRNA 和 VEGF-C mRNA 表达情况
Table 1 Expression of HGF mRNA, c-Met mRNA and VEGF-C mRNA in these three tissues

	Normal	CINⅢ	Carcinoma	F	P
n	27	30	43		
HGF mRNA	0.220 ± 0.034	1.473 ± 0.295	3.360 ± 0.493	16.296	<0.01
c-Met mRNA	1.654 ± 0.107	2.983 ± 0.225	5.280 ± 0.532	20.276	<0.01
VEGF-C mRNA	2.399 ± 0.166	3.959 ± 0.231	6.037 ± 0.510	28.792	<0.01

表 2 宫颈浸润癌组织中 HGF mRNA、c-Met mRNA 和 VEGF-C mRNA 的表达量与病理参数间的关系
Table 2 Relationship among the expression of HGF mRNA, c-Met mRNA and VEGF-C mRNA with clinical pathological parameters in cervical carcinoma

	n	HGF mRNA	P	c-Met mRNA	P	VEGF-C mRNA	P
Clinic stage							
I b	29	2.208 ± 0.442		4.129 ± 0.457		5.340 ± 0.471	
II a	14	5.746 ± 0.941	0.003	7.664 ± 1.107	0.009	7.623 ± 0.746	0.011
Clinic Pathology							
Squamous cancer	30	4.382 ± 0.617		3.850 ± 0.615		5.630 ± 0.501	
Adenocarcinoma	13	1.001 ± 0.14	0.000	2.229 ± 0.742	0.103	7.129 ± 0.767	0.109
Differentiation							
Poor	23	4.232 ± 0.720		5.796 ± 0.863		7.750 ± 0.532	
Good or Moderate	20	2.357 ± 0.605	0.053	4.688 ± 0.562	0.289	4.168 ± 0.368	0.000
Tumor size							
<4cm	21	1.453 ± 0.313		4.157 ± 0.558		4.535 ± 0.575	
≥4cm	22	5.180 ± 0.733	0.000	6.352 ± 0.842	0.036	6.602 ± 0.623	0.015
Stromal invasion							
Superficial	23	1.257 ± 0.151		4.094 ± 0.530		4.091 ± 0.317	
Deep	20	5.778 ± 0.741	0.000	6.305 ± 0.937	0.040	8.374 ± 0.469	0.000
Lymph node							
Positive	26	4.865 ± 0.663		6.237 ± 0.721		7.440 ± 0.476	
Negative	17	1.058 ± 0.116	0.000	3.818 ± 0.642	0.016	4.008 ± 0.478	0.000

较高的侵袭和转移潜能^[3]。

本研究发现 HGF mRNA、c-Met mRNA 和 VEGF-C mRNA 从正常宫颈上皮、CINⅢ到宫颈浸润癌 I b 期和 II a 期组织中表达水平依次升高(P 均<0.05),并且在临床分期晚、深肌层浸润、肿瘤直径≥4cm、有淋巴结转移的宫颈癌患者组织中均呈高表达,差异有统计学意义(P 均<0.05),证明 HGF、c-Met 和 VEGF-C 的过度表达与宫颈癌的发展、侵袭、转移有关。吴恒香等^[4]得出了与此相似的结论:正常宫颈、CIN 和宫颈鳞癌组织中 c-Met 表达依次增高,宫颈癌的临床分期越晚,c-Met 表达越强。Ueda 等^[5]也认为,在宫颈癌组织中表达 VEGF-C 的肿瘤细胞具有较高的侵袭和转移潜能,并影响宫颈癌患者的预后。韩世愈等^[6]用传统 RT-PCR 法半定量对宫颈癌和正常宫颈研究认为 c-Met 与宫颈癌临床分期、分化程度、淋巴结转移有关,而与肿瘤大小无相关性,而 HGF 在宫颈癌中表达与正常组织差异无统计学意义。本研究用实时荧光定

量 RT-PCR 法从分子水平相对定量研究认为,HGF 与 c-Met 在宫颈癌中共同表达以及表达的一致性,证明 HGF 可通过作用于肿瘤细胞上的受体 c-Met,激活 HGF/ c-Met 信号通路,通过旁分泌,直接促进肿瘤的生长。

3.2 VEGF-C 和 HGF 在宫颈癌淋巴管生成和淋巴转移中的作用

直接蔓延和淋巴道转移是宫颈癌主要的转移途径,宫颈癌早期就可发生淋巴转移。临床多以有无淋巴结转移来指导治疗及评估预后,因而早期预测和发现有无淋巴结转移具有重要临床意义。

VEGF 家族有 3 个血管内皮生长因子受体。VEGF-C 可与受体 VEGFR-2 和 VEGFR-3 结合,提高微血管的通透性,便于肿瘤细胞转移的发生^[7]。VEGFR-2 在血管及淋巴管均有表达,主要表达于血管内皮细胞,VEGFR-3 在成人组织主要表达于淋巴内皮细胞,且在同一组织中,VEGF-C 结合 VEGFR-3 的亲合力比结合 VEGFR-2 的亲合力高

3 倍多。因此, VEGF-C 的生物学作用主要表现在能够通过旁分泌结合 VEGFR-3, 诱导淋巴管内皮细胞有丝分裂产生细胞增殖效应, 导致淋巴管增生, 促进肿瘤组织生成新的淋巴管^[8]。针对 VEGFR-3 信号转导系统的抗淋巴管生成治疗, 有望成为抗淋巴转移的一个有效途径, 而其中每一个环节都可能成为控制肿瘤生长、转移以及治疗肿瘤的潜在靶点^[9]。而肿瘤内淋巴管的形成, 可通过增加肿瘤细胞脱离原发灶的机会而促进其转移。本研究发现, 有淋巴结转移组 VEGF-C mRNA 表达量显著高于无淋巴结转移组 ($P < 0.05$), 证实了 VEGF-C 作为重要的促淋巴管生成因子, 在宫颈癌淋巴转移中发挥着重要作用。

HGF 在增生活跃的淋巴管内皮细胞表面有表达, 而在正常的淋巴管基本不表达。Cao 等^[10]通过研究提出 HGF 是一种新的淋巴管生成因子, 当它在肿瘤中过表达时, 能促进癌细胞的淋巴道转移。魏松锋等^[11]采用免疫组织化学法对易发生淋巴结转移的甲状腺乳头状癌 70 例研究发现, 有淋巴结转移组的 HGF 阳性表达率明显高于无淋巴结转移组 ($P < 0.05$), 认为 HGF 可能影响癌细胞的迁移能力, 通过促进癌细胞的运动及诱导新生淋巴管生成对甲状腺乳头状癌淋巴结转移起促进作用。对于同样易发生淋巴结转移的宫颈癌, HGF 的作用如何, 国内外尚无明确报道。本试验结果表明 HGF 对预测宫颈癌的淋巴结转移非常有帮助, 但 HGF 在恶性肿瘤淋巴管生成和淋巴道转移的作用尚待进一步研究证实。

3.3 HGF/ c-Met 和 VEGF-C 在宫颈癌血管生成中的作用

血管形成为肿瘤的快速增殖提供必要的营养物质, 也为肿瘤的转移提供通道。HGF 是一种强大的血管生成诱导剂, 受到 HGF 活化的 c-Met 受体可动员骨髓内皮祖细胞分化为血管内皮细胞, 刺激内皮细胞的增殖、迁移, 形成血管样结构^[12-13]。HGF 起到一种重要的“血管生成开关”的作用^[14]。苏畅等^[15]研究认为, 受体 c-Met 阳性表达组的微血管密度(MVD)明显高于 c-Met 表达阴性组 ($P < 0.01$), c-Met 的表达与 MVD 密切相关。表明 c-Met 参与了宫颈癌血管形成, 可作为宫颈癌诊断和判断预后的一个指标。

VEGF-C 既有诱导肿瘤相关淋巴管生成、增加淋巴管数量的作用, 又有诱导肿瘤血管生成的潜能^[16]。VEGF-C 对肿瘤血管形成的作用主要依赖于受体 VEGFR-2, 但由于同一组织中 VEGF-C 结合 VEGFR-3 的亲和力较强, 因此 VEGF-C 对肿瘤

新生血管形成作用不明显。

3.4 HGF 与 c-Met 和 VEGF-C 的相互作用

本研究结果表明, HGF mRNA 和 c-Met mRNA 在宫颈癌中表达密切相关 ($r = 0.666, P < 0.01$)。HGF 和 c-Met 共同表达以及表达的一致性, 说明在宫颈癌中, HGF 可通过作用于肿瘤细胞上的受体, 直接促进肿瘤的生长。HGF mRNA 和 VEGF-C mRNA 在宫颈癌中表达存在正相关 ($r = 0.666, P < 0.01$)。宫颈癌中 HGF 和 VEGF-C 均呈过表达的病例更具有侵袭性, 常有深肌层浸润和淋巴结转移。因此 HGF 和 VEGF-C 联合检测对判断病情、指导治疗、评价预后更有价值。有研究认为 HGF/c-Met 能够刺激 VEGF 的表达, 后者可特异性促进内皮细胞分裂和增加血管通透性, 从而刺激肿瘤血管形成, 同时改变肿瘤基质, 促进肿瘤生长和发生转移^[17]。HGF 可以在多种细胞中表现出强有力的上调 VEGF 表达作用^[18]。并且 HGF 和 VEGF 具有协同作用^[19]。但 HGF 和(或)c-Met 能否上调 VEGF-C 的表达, 在肿瘤血管或淋巴管形成中共同发挥作用尚未见报道。

近年来肿瘤治疗的热点集中在抗血管生成和抗淋巴管生成上, 取得了一定的进展, 但未获得抗肿瘤转移的预期效果, 其原因就在于肿瘤淋巴管和血管系统不是相互独立的, 二者之间有着密切的关系, 单纯阻断某一条转移途径并不能很好地控制肿瘤细胞远处转移。HGF/c-Met 与 VEGF-C 不仅在宫颈癌的发生、发展、侵袭中发挥着重要作用, 还与肿瘤新生血管形成和淋巴管形成有关, 有望成为抗肿瘤治疗的另一个突破点。

参考文献:

- [1] Jeffers M, Rong S, Woude GF. Hepatocyte growth factor/scatter factor-Met signaling in tumorigenicity and invasion/metastasis[J]. *J Mol Med*, 1996, 74(9):505-513.
- [2] Su JL, Yang PC, Shih JY, et al. The VEGF-C/Flt-4 axis promotes invasion and metastasis of cancer cells[J]. *Cancer Cell*, 2006, 9(3):209-223.
- [3] Ueda M, Terai Y, Kumagai K, et al. Vascular endothelial growth factor C gene expression is closely related to invasion phenotype in gynecological tumor cells[J]. *Gynecol Oncol*, 2001, 82(1):162-166.
- [4] 吴恒香, 纪新强, 周成军. c-Met, TIMP2 与宫颈鳞癌浸润转移的相关性[J]. *肿瘤防治研究*, 2007, 34(5):366-368.
- [5] Ueda M, Terai Y, Yamashita Y, et al. Correlation between vascular endothelial growth factor-C expression and invasion phenotype in cervical carcinomas[J]. *Int J Cancer*, 2002, 98(3):335-343.
- [6] 韩世愈, 贾爽, 贾长茹, 等. 肝细胞生长因子及 c-Met 的表达与宫颈癌浸润和转移的关系[J]. *中国肿瘤临床*, 2006, 33(21):1214-1216.
- [7] Dadras SS, Langf-Asschenfeldt B, Velasco P, et al. Tumor

lymphangiogenesis predicts melanoma metastasis to sentinel lymph nodes[J]. *Mod Pathol*, 2005, 18(9):1232-1242.

[8] Hirakawa S, Brown LF, Kodama S, et al. VEGF-C-induced lymphangiogenesis in sentinel lymph nodes promotes tumor metastasis to distant sites[J]. *Blood*, 2007, 109(3): 1010-1017.

[9] 任为正,叶鸿飞,毕玉顺. 肿瘤淋巴管生成与肿瘤的淋巴道转移[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2007, 14(6):596-600.

[10] Cao R, Björndahl MA, Gallego MI, et al. Hepatocyte growth factor is a lymphangiogenic factor with an indirect mechanism of action[J]. *Blood*, 2006, 107(9): 3531-3536.

[11] 魏松峰,高明,于洋,等. HGF/CXCR-4、VEGF-D 表达与甲状腺乳头状癌淋巴结转移的关系[J]. *现代肿瘤医学*, 2008, 16(8):1295-1297.

[12] Maulik G, Shrikhande A, Kijima T, et al. Role of the hepatocyte growth factor receptor, c-met, in oncogenesis and potential for therapeutic inhibition [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2002, 13(1):41-59.

[13] Ishizawa K, Kubo H, Yamada M, et al. Hepatocyte growth factor induces angiogenesis in injured lungs through mobilizing endothelial progenitor cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 324(1): 276-280.

[14] Zhang YW, Su Y, Volpert OV, et al. Hepatocyte growth factor/scatter factor mediates angiogenesis through positive

VEGF and negative thrombospondin 1 regulation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(22): 12718-12723.

[15] 舒畅,费军伟,徐鹏,等. 宫颈癌中肝细胞生长因子受体蛋白表达及其与血管生成的关系[J]. *中国妇幼保健*, 2008, 23(24): 3440-3443.

[16] Veikkola T, Jussila L, Makinen T, et al. Signaling via vascular endothelial growth factor receptor-3 is sufficient for lymphangiogenesis in transgenic mice[J]. *EMBO J*, 2001, 20(6): 1223-1231.

[17] Yamaguchi R, Yano H, Nakashima O, et al. Expression of vascular endothelial growth factor-c in human hepatocellular carcinoma[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2006, 21(1 pt1): 152-160.

[18] Dong G, Chen Z, Li ZY, et al. Hepatocyte growth factor/scatter factor-induced activation of MEK and PI3K signal pathways contributes to expression of proangiogenic cytokines interleukin-8 and vascular endothelial growth factor in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(15):5911-5918.

[19] 韩振国,王岩,李国栋. 肝细胞生长因子/离散因子和血管内皮生长因子对肿瘤血管再生的影响[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2004, 30(3):376-378.

[编辑:安 凤;校对:黄园玲]

(上接第 410 页)

组织中并未发现甲基化的状况,这可能和我们组织标本的取材和数量偏少都有一定的关系。

总之,研究 RAR-β₂ 的启动子的异常甲基化与散发性乳腺癌发生发展的关系,有助于对散发性乳腺癌的表观遗传学机制提供依据。在后续的实验中,将进一步对健康人及乳腺肿瘤患者的血清进行 RAR-β₂ 的基因启动子甲基化的检测, RAR-β₂ 基因启动子甲基化能否作为散发性乳腺癌的诊断以及预后判断的分子诊断的标志物,还需要在以后的研究和跟踪随访中去进一步证实。

参考文献:

[1] Jones PA, Laird PW. Cancer epigenetics comes of age[J]. *Nat Genet*, 1999, 21(2): 163-167.

[2] Jones PA, Takai D. The role of DNA methylation in mammalian epigenetics[J]. *Science*, 2001, 293(5532):1068-1070.

[3] Issa JP. Aging, DNA methylation and cancer[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 1999, 32(1):31-43.

[4] Lund AH, van Lohuizen M. Epigenetics and cancer[J]. *Genes Dev*, 2004, 18(19):2315-2335.

[5] Baylin SB, Esteller M, Rountree MR, et al. Aberrant patterns of DNA methylation, chromatin formation and gene expression

in cancer[J]. *Hum Mol Genet*, 2001, 10(7): 687-692.

[6] Alvarez S, Germain P, Alvarez R, et al. Structure, function and modulation of retinoic acid receptor beta, a tumor suppressor[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(7-8): 1406-1415.

[7] Xu XC. Tumor-suppressive activity of retinoic acid receptor-beta in cancer[J]. *Cancer Lett*, 2007, 253(1):14-24.

[8] Fontana JA. Interaction of retinoids and tamoxifen on the inhibition of human mammary carcinoma cell proliferation [J]. *Exp Cell Res*, 1987, 55(3): 136-144.

[9] Khodyrev DS, Loginov VI, Pronina IV, et al. Methylation of promoter region of RAR-beta 2 gene in renal cell, breast, and ovarian carcinomas[J]. *Genetika*, 2008, 44(8):1126-1132.

[10] Shukla S, Mirza S, Sharma G, et al. Detection of RASSF1A and RARbeta hypermethylation in serum DNA from breast cancer patients[J]. *Epigenetics*, 2006, 1(2): 88-93.

[11] Jerónimo C, Costa I, Martins MC, et al. Detection of gene promoter hypermethylation in fine needle washings from breast lesions[J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(9):3413-3417.

[12] Zhu WZ, Qin WY, Hewett JE, et al. Quantitative evaluation of DNA hypermethylation in malignant and benign breast tissue and fluids[J]. *Int J Cancer*, 2010, 126(2):474-482.

[13] Lewis CM, Cler LR, Bu DW, et al. Promoter hypermethylation in benign breast epithelium in relation to predicted breast cancer risk[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(1):166-172.

[编辑:安 凤;校对:黄园玲]