

DOI:10.7499/j.issn.1008-8830.2013.08.009

论著·临床研究

肾母细胞瘤患儿 p73 基因的表达及其甲基化研究

宋东建¹ 岳丽芳² 张大¹ 杨合英¹ 樊玉霞¹ 岳铭¹ 裴航¹ 王家祥¹

(1. 郑州大学第一附属医院小儿外科, 河南 郑州 450052;
2. 郑州大学第二附属医院妇产科, 河南 郑州 450000)

[摘要] **目的** 探讨肾母细胞瘤患儿血液中 p73 基因的转录表达、启动子甲基化状态及二者之间关系。**方法** 收集 45 例肾母细胞瘤患儿为病例组, 以健康体检或因其他原因就诊的性别、年龄匹配的 15 例(排除肿瘤等恶性疾病)儿童为对照组。采集两组儿童外周血, 运用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 和甲基化特异性 PCR (MSP) 法检测 p73 基因转录表达水平及其启动子甲基化状态, 并分析病例组中 p73 基因的表达及甲基化与临床资料的关系, 及 p73 基因的甲基化对其转录表达的影响。**结果** 病例组中 p73 mRNA 的相对表达量 (3.2 ± 0.9) 高于对照组 (1.6 ± 1.1), 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 病例组 p73 基因甲基化阳性率 (20%) 低于对照组 (73%), 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。病例组中甲基化 p73 mRNA 的相对表达量大于非甲基化 p73 mRNA 的相对表达量 ($P < 0.01$), 且大于对照组中甲基化 p73 mRNA 的相对表达量 ($P < 0.01$); 非甲基化 p73 mRNA 的相对表达量在两组间差异无统计学意义 ($P = 0.810$)。**结论** 肾母细胞瘤外周血中 p73 基因启动子的异常甲基化是其基因表达调节方式之一, 并与肾母细胞瘤的发生发展有关; 发生甲基化的 p73 基因在肾母细胞瘤中有可能充当癌基因的角色, 转录水平的过度表达与其甲基化状态有关。 [中国当代儿科杂志, 2013, 15 (8): 638-643]

[关键词] p73; 肾母细胞瘤; 外周血; 启动子甲基化; 转录表达; 儿童

Relationship between mRNA expression and promoter methylation status of p73 gene in peripheral blood among children with Wilms' tumor

SONG Dong-Jian, YUE Li-Fang, ZHANG Da, YANG He-Ying, FAN Yu-Xia, YUE Ming, PEI Hang, WANG Jia-Xiang. Department of Pediatric Surgery, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China (Wang J-X, Email: wjxiang@zzu.edu.cn)

Abstract: Objective To investigate the mRNA expression and promoter methylation status of p73 gene in the peripheral blood of children with Wilms' tumor (WT), and their relationship. **Methods** Forty-five children with WT were selected as the case group, and 15 sex- and age- matched children (without malignancies) who visited the hospital for physical examination or other reasons were selected as the control group. Peripheral blood was collected from both groups. Real-time quantitative PCR and methylation-specific PCR were used to determine the mRNA expression level and promoter methylation status of p73 gene. Their relationship with clinicopathological features and the effect of promoter methylation on mRNA expression of p73 gene were analyzed in the case group. **Results** The relative quantity (RQ) of p73 mRNA in the case group was significantly higher than in the control group (3.2 ± 0.9 vs 1.6 ± 1.1 ; $P < 0.01$). The positive rate of p73 gene promoter methylation in the case group was significantly lower than in the control group (20% vs 73%; $P < 0.01$). In the case group, the RQ of p73 mRNA was significantly higher in children with methylated p73 gene promoter than in those with unmethylated p73 gene promoter ($P < 0.01$). In children with methylated p73 gene promoter, the RQ of p73 mRNA was significantly higher in the case group than in the control group ($P < 0.01$). In children with unmethylated p73 gene promoter, there was no significant difference in RQ of p73 mRNA between the case and control groups ($P = 0.810$). **Conclusions** Aberrant promoter methylation of p73 gene in peripheral blood is one of the gene expression regulations in children with WT, and it is related to the onset and development of WT. The p73 gene may play a role as oncogene in WT patients with p73 gene promoter methylation and mRNA overexpression is associated with promoter methylation status of p73 gene.

[Chin J Contemp Pediatr, 2013, 15(8): 638-643]

Key words: p73; Wilms' tumor; Peripheral blood; Promoter methylation; mRNA expression; Child

[收稿日期] 2013-01-30; [修回日期] 2013-02-20

[基金项目] 国家自然科学基金 (NO.81172085); 郑州大学研究生科学研究基金 (NO.11Y03403)。

[作者简介] 宋东建, 男, 硕士研究生, 住院医师。

[通信作者] 王家祥, 男, 主任医师, 教授。

肾母细胞瘤 (Wilms' tumor, WT) 是小儿最常见的恶性实体肿瘤, 目前虽经手术和放化疗等综合治疗已取得较为满意的疗效, 但其浸润转移及高复发率仍是本病的治疗难点, 因此进一步探讨其发病机制和寻求更为有效的治疗方法依旧是当前研究热点。除了遗传学机制外, 表观遗传学也可能在肿瘤发生过程中起关键作用, DNA 的基因组印迹和异常甲基化是基因表观遗传学的主要内容, 通过影响基因表达, 激活癌基因或抑制抑癌基因可能会导致癌症^[1]。WT 患儿外周血 p73 基因甲基化状态与转录表达水平相关性研究在国内外报道甚少, 本文拟通过实时荧光定量 PCR 和甲基化特异性 PCR 检测 p73 基因的 mRNA 表达水平和甲基化状态, 并分析二者之间的关系, 以期从表观遗传学角度探讨 WT 的发生机制, 为未来基因靶向治疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 标本和临床病理资料

选取 2008 年 10 月至 2012 年 1 月入我院小儿外科经病理诊断为 WT 的 45 例患儿作为病例组, 其中男 29 例, 女 16 例, 年龄 3~60 个月; 依据 NWTS-5 (美国 WT 研究协作组) 进行临床分期: I~II 期 30 例, III~IV 期 15 例, 病理分型: 预后良好型 37 例, 预后不良型 8 例。45 例患儿中, 病灶出现在左侧 20 例, 右侧 25 例, 发生淋巴转移 6 例, 血管浸润 6 例, 失败 (复发或死亡) 5 例。同时选取同期在我院接受健康检查或小儿骨科门诊就诊或住院治疗的性别、年龄匹配的儿童 15 例 (排除肿瘤性疾病患者) 作为对照组。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 所有患儿均采集 2 mL 外周血, 置于 EDTA 抗凝管中, 提取淋巴细胞并加入适量 RNA 保存液, 分装后于 -80℃ 保存。

1.2.2 试剂及仪器 RNAiso Plus (Takara); 血液基因组提取试剂盒 (Takara); 二步法反转录试剂盒 (Takara); 热启动 Taq 酶 (Takara); SYBR 荧光定量试剂盒 (Takara); EZ DNA Methylation Kit (ZYMO); 甲基转移酶 (NEB), 其余试剂均为国产分析纯。主要仪器包括梯度 PCR 仪 (Applied Biosystems); 7500 Fast Real Time PCR (Applied Biosystems); 紫外分光光度计 (Thermo NANODROP 2000); GDS800 凝胶成像系统 (UVP) 等。

1.2.3 引物 所有引物由上海生工有限公司合成。

p73: 上游 5'-AGCCACTTGTCACTCAGAACAG-3', 下游 5'-TCTTACACGAAAAACACGGATG-3', 片段长度 124 bp (由上海生工设计)。β-actin: 参考文献^[2], 上游 5'-GATGAGATTGGCATGGCTTT-3', 下游 5'-CACCTTCACCGTTCAGTTT-3', 片段长度 100 bp。p73 甲基化 (MP73): 参考文献^[3], 上游 5'-GGACGTAGCGAAATCGGGGTTTC-3', 下游 5'-ACCCCGAACATCGACGTCCG-3', 片段长度 60 bp; p73 非甲基化 (UP73): 参考文献^[3], 上游 5'-AGGGGATGTACTGAAATTGGGGTTT-3', 下游 5'-ATCACAACCCCAAACATCAACATCCA-3', 片段长度 69 bp。

1.2.4 实时荧光定量 PCR 标本置于 4℃ 过夜溶解, RNAiso Plus 提取总 RNA, 紫外分光光度计测定纯度及浓度, 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性, 两步法逆转录合成 cDNA, 反应条件: (1) 基因组 DNA 除去反应: 10 μL 体系, RNA 量为 1 μg, 42℃ 2 min, 然后在冰上迅速冷却 2 min; (2) 反转录反应: 20 μL 体系, 37℃ 15 min, 85℃ 5 s, 4℃ ∞, 反转录得 cDNA 产物置 -20℃ 保存。qRT-PCR: 冰上配样, 避免光照射, 反应体系 20 μL, 其中模板量为 3 μL, p73 及 β-actin 上、下游引物各 0.8 μL (10 μM), 反应条件: 95℃ 30 s; 95℃ 5 s, 60℃ 34 s, 40 个循环; 溶解曲线: 95℃ 15 s, 60℃ 1 min, 95℃ 15 s, 60℃ 15 s。以上体系配置均严格按照说明书进行。

1.2.5 甲基化特异性 PCR 硫化 DNA: 血液基因组提取试剂盒提取标本中的 DNA, 紫外分光光度计测定其纯度及浓度, 取 500 ng DNA 按照说明书进行硫化修饰, 硫化后 DNA 测定纯度及浓度并于 -80℃ 保存。MSP 反应体系 25 μL, 其中硫化 DNA 2 μL, 上、下游引物各 0.5 μL (10 μM), 反应条件: 94℃ 2 min; 94℃ 30 s, 59.5℃ (TM) 或 63.5℃ (UP73) 30 s, 72℃ 1 min, 40 个循环; 72℃ 5 min, 4℃ ∞。甲基化特异性 PCR 产物在 2% 琼脂糖凝胶中电泳, 在凝胶成像仪上分析并照相。用 CpG 甲基转移酶修饰正常外周血淋巴细胞 DNA 做甲基化阳性对照, 去离子水做空白对照。甲基化判定标准: 仅有甲基化引物特异性扩增产物或甲基化和非甲基化引物均有特异性扩增产物; 非甲基化判定标准: 仅有非甲基化引物特异性扩增产物。

1.2.6 随访 通过患者门诊复查结合电话随访完成相关预后资料, 死亡病例记录死亡日期, 失访者记录最后随访时间和随访情况, 截止至 2012 年 11 月, 随访时间为 13~42 个月, 平均随访时间为

20 ± 6 个月，随访终点为死亡，均完成随访。

1.3 统计学分析

用 SPSS17.0 统计分析软件包处理数据，计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间比较采用两独立样本的 *t* 检验或 Mann-Whitney's U 检验；计数资料以率表示，组间比较采用 χ^2 检验，*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组外周血提取 RNA 的鉴定

电泳图可见 18S 和 28S 条带，28S 亮度约为 18S 的两倍，说明 RNA 完整性较好。测定其 A260/A280 值大于 1.90，说明 RNA 纯度较高。见图 1。

2.2 两组 p73 mRNA 相对表达量比较

病例组 p73 mRNA 相对表达量 (RQ 值) 显著高于对照组 (*t* = 5.504, *P* < 0.001)，见图 2、表 1。

2.3 两组 p73 基因启动子甲基化状态比较

病例组甲基化阳性率 (20%) 显著低于对照组 (73%) (χ^2 = 14.400, *P* < 0.001)。见图 2~3，表 1。

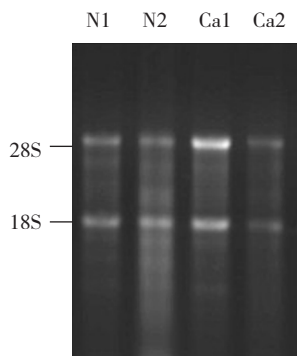


图 1 不同血液中提取 RNA 电泳图 N1、N2 分别代表 2 例对照组儿童；Ca1、Ca2 分别代表 2 例病例组患儿。N1、N2、Ca1、Ca2 均出现 28S 和 18S 条带，且 28S 条带亮度是 18S 条带亮度的两倍，说明 RNA 完整性相对较好。

表 1 两组 P73 mRNA 的相对表达量及甲基化状态

分组	例数	mRNA ($\bar{x} \pm s$)	甲基化阳性率 [例 (%)]
对照组	15	1.6 ± 1.1	11(73)
病例组	45	3.2 ± 0.9	9(20)
<i>t</i> (χ^2) 值		5.504	(14.400)
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.4 病例组中 p73 的 mRNA RQ 值、甲基化状态与临床资料的关系

WT 患儿血液中 p73 mRNA 的 RQ 值在性别、年龄和有无血管浸润方面比较，差异均无统计学意义 (均 *P* > 0.05)；而在肿瘤大小、临床分期、病理分型、有无淋巴转移、治疗转归方面比较，差异均有统计学意义 (*P* < 0.05)；在依据不同临床资料进行分组后，p73 甲基化阳性率在组间比较差异均无统计学意义 (均 *P* > 0.05)，即甲基化状态与各临床资料无关联。见表 2。

2.5 p73 基因甲基化状态与 mRNA RQ 值的关系

两组甲基化 p73 mRNA 的 RQ 值与非甲基化 p73 mRNA 的 RQ 值比较差异均有统计学意义 (均 *P* < 0.01)。病例组甲基化 p73 mRNA 的 RQ 值显著高于对照组 (*t* = 9.534, *P* < 0.01)；非甲基化 p73 mRNA 的 RQ 值在病例组和对照组间比较差异无统计学意义 (*t* = 0.242, *P* = 0.810)，说明 WT 患儿血液中 p73 基因甲基化状态与其 mRNA 的 RQ 值有关。见表 3。

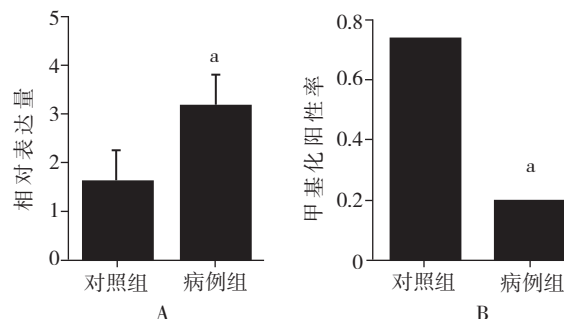


图 2 两组 p73 mRNA 的相对表达量 (A) 及甲基化状态 (B) a: 与对照组相比, *P* < 0.05。

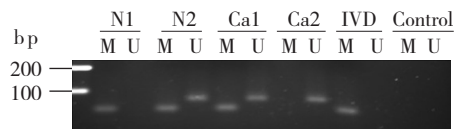


图 3 两组 p73 基因甲基化状态电泳图 M: 甲基化条带; U: 非甲基化条带; N1、N2 分别代表 2 例对照组儿童; Ca1、Ca2 分别代表 2 例病例组患儿; IVD: 甲基化阳性对照; Control: 空白对照。4 例儿童 DNA 硫化后分别用 p73 甲基化引物和非甲基化引物扩增，其中 N1 儿童仅有 M 条带，说明其 p73 启动子区完全甲基化; N2 儿童 M、U 条带均出现，说明其 p73 启动子区部分甲基化; Ca1 患儿 M、U 条带均出现，说明其 p73 启动子区部分甲基化; Ca2 患儿仅有 U 条带出现，说明其 p73 启动子区完全非甲基化; IVD 仅出现 M 条带，p73 启动子区完全甲基化; Control 为去离子水制空白对照，无条带出现。

表 2 WT 患儿外周血中 p73 mRNA 的 RQ 值和甲基化状态与临床资料的关系

临床资料	例数	mRNA ($\bar{x} \pm s$)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	甲基化阳性率 [例 (%)]	χ^2 值	<i>P</i> 值
性别							
男	29	3.2 ± 0.8	0.029	0.977	7(24)	0.297	0.586
女	16	3.2 ± 1.1			2(12)		
年龄 (岁)							
≤ 3	32	3.2 ± 0.8	0.293	0.771	5(16)	0.548	0.459
> 3	13	3.1 ± 1.1			4(31)		
肿瘤大小 (cm)							
≤ 10	36	3.0 ± 0.9	3.267	0.004	6(17)	0.425	0.514
> 10	9	3.8 ± 0.6			3(33)		
临床分期							
I ~ II	30	3.0 ± 0.9	2.621	0.012	5(17)	0.156	0.693
III ~ IV	15	3.7 ± 0.8			4(27)		
病理分型							
FH	37	3.1 ± 0.9	2.582	0.021	8(22)	0.010	0.922
UH	8	3.7 ± 0.6			1(12)		
淋巴结转移							
无	39	3.01 ± 0.79	12.126	<0.001	7(18)	0.108	0.742
有	6	4.65 ± 0.12			2(33)		
血管浸润							
无	39	3.2 ± 1.0	0.295	0.772	6(15)	2.031	0.154
有	6	3.1 ± 0.4			3(50)		
治疗转归							
失败	5	4.4 ± 0.4	6.691	<0.001	0(0)	0.352	0.553
成功	40	3.0 ± 0.8			9(22)		

表 3 p73 基因 mRNA 的 RQ 值与甲基化状态关系 ($\bar{x} \pm s$)

分组	例数	甲基化	非甲基化	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
对照组	15	1.2 ± 0.8	2.9 ± 0.6	4.091	<0.001
病例组	45	3.9 ± 0.5	3.0 ± 0.9	3.871	<0.001
<i>t</i> 值		9.534	0.242		
<i>P</i> 值		<0.001	0.810		

3 讨论

p73 基因是 p53 基因家族的新成员, 通过不同启动子转录和选择性剪接, 可产生十多种不同的亚型, 其中 C 末端的剪接体主要有 p73 α 、p73 β 、p73 γ 、p73 δ 、p73 ϵ 、p73 ζ 和 p73 θ , 统称为 TAp73; N 末端的剪接体有 Δ Np73、 Δ' Np73、 Δ Ex2p73 和 Δ Ex2/3p73, 被统称为 DNp73 或 Δ TAp73, 这些亚型在人类肿瘤和肿瘤细胞株均有表达, 由于结构方面的相似性, TAp73 与 p53 在抑癌和促细胞凋亡等方面具有相似功能; 而 DNp73 则因为与 p53 结构差异较大, 表现出与 p53 不尽相同的功能, DNp73 可通过阻断 TAp73 与 p53 的转录活性, 对其诱导细胞凋亡产生负调控, 呈现抗细胞凋亡和致癌作用^[4-5], 目前认为 DNp73 负调控功能的机制有: (1) 启动子竞争机制, 即

DN 亚型可竞争结合 TA 亚型的目标基因启动子, 抑制其转录; (2) 聚合物形成机制, 即 DN 亚型与 TA 亚型转录后结合形成失活的聚合物。

大量研究结果显示, 在乳腺癌、肺癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、肝癌、食管癌和胸腺上皮性肿瘤等组织可检测到 p73 基因的高表达^[6-8], 并且与病人较差的生存率相关^[9]。Douc-Rasy 等^[10]研究表明在多种肿瘤细胞株和肿瘤组织中, 不管是转录还是翻译水平都存在 DNp73 的表达增加; Ishimoto 等^[11]研究发现 DNp73 是肿瘤中 p73 基因表达的主要形式, 在肿瘤中的表达明显升高; Concin 等^[12]证实 DNp73 亚型在宫颈癌中经常出现表达上调, 在机体内对抑癌基因 p53 有抑制作用。与上述研究不同, 本研究针对 WT, 且研究对象为外周血, 结果显示 WT 患儿外周血中 p73 mRNA 的 RQ 值显著高于正常对照组。该结果说明 p73 基因在 WT 患儿外周血中的表达可能以 DNp73 亚型为主; 进一步分析发现, 病例组中 p73 mRNA 的 RQ 值在年龄、性别及有无血管浸润方面进行比较差异均无统计学意义; 但在肿瘤大小、临床分期、病理分型、有无淋巴结转移及治疗转归方面比较差异有统计学意义。随着肿瘤恶性程度的增加, p73 mRNA 的 RQ 值有增高趋势, 说明 p73 基因可能参与癌细胞的增殖、浸润和转移, 可能机制为: (1) E2F-1

可调控细胞增殖并在多种细胞系过表达, 而 p73 作为 E2F-1 直接转录目标之一, 可被 E2F-1 诱导表达^[13], 且 Ozono 等^[14] 研究证实在人类正常成纤维细胞中, TAp73 基因启动子存在的 ERE73s 能够感应 E2F 的异常表达, 从而 TAp73 与 p53 可能协同上调 DNp73 mRNA 的表达; (2) DNp73 亚型刺激 TGF- β 信号通路受体 PAI-1 和 Colla1 的表达, 进而参与癌细胞的浸润和转移^[9]。

p73 的不同异构体与 p53 在肿瘤中的共同表达以及相互干预赋予了 p73 基因抑癌又致癌的双重特性, 但同时使得 p73 的许多特点又与 p53 不同, p73 很少发生突变, 而是较多地发生杂合性缺失和甲基化^[15]。越来越多的证据表明, p73 基因启动子 CpG 岛的异常甲基化与肿瘤的发生密切相关, Jha 等^[3] 证实 p73 基因启动子在北印度人宫颈癌中高甲基化; Pei 等^[16] 报道非霍奇金淋巴瘤中 p73 基因启动子的高甲基化抑制了其自身的表达; 张妍等^[17] 研究证实 p73 基因甲基化可能在儿童急性白血病尤其是急性淋巴细胞白血病的发病中发挥重要作用; Abd El-Hamid 等^[18] 证实 p73 基因启动子的异常甲基化影响成人急性淋巴细胞白血病的预后; Saito 等^[19] 研究结果显示 p73 基因在 EB 病毒相关性胃癌中高甲基化, 并可能与其发生发展有关; Zhao 等^[20] 证明骨髓增生异常综合征中 p73 基因的高甲基化引起其转录表达的沉默, 且导致患者预后不良; Daskalos 等^[21] 认为在非小细胞肺癌中 p73 基因 P2 启动子的低甲基化可能促进了 DNp73 亚型的过表达。而有关 WT 患者外周血中 p73 基因甲基化的相关报道甚少, 本实验结果显示 WT 患儿外周血中 p73 甲基化阳性率显著低于对照组, 且甲基化阳性率在各临床资料间比较差异均无统计学意义, 这与 Daskalos 等^[21] 的结果一致; 进一步分析发现病例组中甲基化 p73 mRNA 的 RQ 值显著高于非甲基化 p73 mRNA 的 RQ 值; 发生甲基化的病例组中 p73 mRNA 的 RQ 值显著高于正常对照组, 而非甲基化 p73 mRNA 的 RQ 值在两组间差异无统计学意义。该结果说明甲基化 p73 基因在 WT 中可能扮演癌基因的角色, 病例组与对照组中 p73 mRNA 的 RQ 值差异可能与 P73 基因甲基化状态有关。结合荧光定量 PCR 和甲基化结果, p73 基因在 WT 患儿外周血中呈现过度表达, 可能机制为 p73 基因启动子 CpG 岛的相对低甲基化状态促使 DNp73 亚型的表达相对较多, TAp73 促凋亡和 DNp73 抗凋亡能力的平衡被打破, 具有抗细胞凋亡和致癌效应。此外本实验还发现对照组中甲基化 p73 mRNA 的 RQ 值显著低于非甲基化 p73

mRNA 的 RQ 值, 这可能是由于样本含量小, 两组之间样本含量差异较大和检验效能低所致, 有待于增大样本量进一步深入研究。

综上所述, WT 患儿外周血中 p73 基因可能以 DNp73 亚型居多, 启动子的异常甲基化是其基因表达调节方式之一, 并与 WT 的发生发展有关; 发生甲基化的 p73 基因在 WT 中有可能充当癌基因的角色, 转录水平的过度表达与其甲基化状态有关。p73 在未来有助于 WT 的早期诊断及基因治疗, 深入探索 p73 基因的异常甲基化与 WT 发生发展的关系, 通过逆转其甲基化状态来改变基因表达, 具有较好的应用前景。

[参 考 文 献]

- [1] 王先火, 赵秀娟, 邱立华, 王华庆, 王玺. 肿瘤发生的表观遗传学: 进展与临床意义[J]. 北京大学学报, 2012, 5(8): 701-707.
- [2] Murphy AJ, Pierce J, de Caestecker C, Taylor C, Anderson JR, Perantoni AO, et al. SIX2 and CITED1, markers of nephronic progenitor self-renewal, remain active in primitive elements of Wilms' tumor[J]. J Pediatr Surg, 2012, 47(6): 1239-1249.
- [3] Jha AK, Nikbakht M, Jain V, Sehgal A, Capalash N, Kaur J. Promoter hypermethylation of p73 and p53 genes in cervical cancer patients among north Indian population[J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(9): 9145-9157.
- [4] Marabese M, Vikhanskaya F, Broggin M. p73: a chiaroscuro gene in cancer[J]. Eur J Cancer, 2007, 43(9): 1361-1372.
- [5] Gonzalez-Cano L, Herreros-Villanueva M, Fernandez-Alonso R, Ayuso-Sacido A, Meyer G, Garcia-Verdugo JM, et al. p73 deficiency results in impaired self renewal and premature neuronal differentiation of mouse neural progenitors independently of p53[J]. Cell Death Dis, 2010, 1: e109.
- [6] Ye B, Wang X, Yang Z, Sun Z, Zhang R, Hu Y, et al. p53 and p73 expression in esophageal carcinoma correlate with clinicopathology of tumors[J]. Hepatogastroenterology, 2012, 59(119): 2192-2195.
- [7] Ma Y, Li Q, Cui W, Miao N, Liu X, Zhang W, et al. Expression of c-Jun, p73, Casp9, and N-ras in thymic epithelial tumors: relationship with the current WHO classification systems[J]. Diagn Pathol, 2012, 7: 120.
- [8] Moll UM, Slade N. p63 and p73: roles in development and tumor formation[J]. Mol Cancer Res, 2004, 2(7): 371-386.
- [9] Niemantsverdriet M, Nagle P, Chiu RK, Langendijk JA, Kampinga HH, Coppes RP. Δ Np73 Enhances Promoter Activity of TGF- β Induced Genes[J]. PLoS One, 2012, 7(12): e50815.
- [10] Douc-Rasy S, Barrois M, Echeynne M, Kaghad M, Blanc E, Raguenez G, et al. DeltaN-p73 alpha accumulates in human neuroblastic tumours[J]. Am J Pathol, 2002, 160(2): 631-639.
- [11] Ishimoto O, Kawahara C, Enjo K, Obinata M, Nukiwa T, Ikawa S. Possible oncogenic potential of DeltaNp73: a newly identified isoform of human p73[J]. Cancer Res, 2002, 62(3): 636-641.
- [12] Concin N, Becker K, Slade N, Erster S, Mueller-Holzner E, Ulmer H, et al. Transdominant Δ TAp73 isoforms are frequently up-

- regulated in Ovarian Cancer.Evidence for their role as epigenetic p53 inhibitors in vivo[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(7): 2449-2460.
- [13] McKeon F, Melino G. Fog of war: the emerging p53 family[J]. *Cell Cycle*, 2007, 6(3): 229-232.
- [14] Ozono E, Komori H, Iwanaga R, Tanaka T, Sakae T, Kitamura H, et al. Tumor suppressor TAp73 gene specifically responds to deregulated E2F activity in human normal fibroblasts[J]. *Genes Cells*, 2012, 17(8): 660-672.
- [15] Melino G, Laurenzi VD, Vousden KH. p73: friend or foe in tumorigenesis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(8): 605-615.
- [16] Pei JH, Luo SQ, Zhong Y, Chen JH, Xiao HW, Hu WX. The association between non-Hodgkin lymphoma and methylation of p73[J]. *Tumor Bio*, 2011, 32(6): 1133-1138.
- [17] 张妍, 高宇, 王筱金, 朱莎, 施蓉, 金萍, 等. p73 基因 DNA 甲基化与儿童急性白血病的关系 [J]. *上海交通大学报*, 2011, 7(16): 942-946.
- [18] Abd El-Hamid TM, Mossallam GI, Sherisher MA. The Clinical Implications of Methylated p15 and p73 Genes in Adult Acute Lymphoblastic Leukemia[J]. *J Egypt Natl Canc Inst*, 2010, 22(3): 175-184.
- [19] Saito M, Nishikawa J, Okada T, Morishige A, Sakai K, Nakamura M, et al. Role of DNA methylation in the development of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma[J]. *J Med Virol*, 2013, 85(1): 121-127.
- [20] Zhao Y, Fei C, Zhang X, Zhang Y, Guo J, Gu S, et al. Methylation of the p73 gene in patients with myelodysplastic syndromes: correlations with apoptosis and prognosis[J]. *Tumor Biol*, 2013, 34(1): 165-172.
- [21] Daskalos A, Logotheti S, Markopoulou S, Xinarianos G, Gosney JR, Kastania AN, et al. Global DNA hypomethylation-induced Δ Np73 transcriptional activation in non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Lett*, 2011, 300(1): 79-86.

(本文编辑: 周勇)