

# 脆性组氨酸三联体、甲基-CpG-结合蛋白2异常表达与宫颈癌变的关系及交互作用

杨倩 李颖 王璐 宋志超 冯美娟 丁玲 王金桃

030001 太原,山西医科大学公共卫生学院流行病学教研室

通信作者:王金桃, Email:wangjt59@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.05.030

**【摘要】** 目的 探讨脆性组氨酸三联体(FHIT)与甲基-CpG-结合蛋白2(MeCP2)异常表达在宫颈癌变中的交互作用。方法 选择经病理学确诊的宫颈鳞状细胞癌(SCC)患者73例,宫颈上皮内瘤样变(CIN)患者113例(CIN I 45例;CIN II/III 68例)和宫颈正常(NC)妇女60人作为研究对象,分别采用荧光定量PCR和Western blot检测宫颈组织中FHIT及MeCP2 mRNA和蛋白的表达量,甲基化特异性PCR(MSP)检测FHIT基因CpG岛甲基化状态。利用SPSS 20.0软件进行相关资料的Kruskal-Wallis  $H$  检验、 $\chi^2$  检验、 $\chi^2$  趋势检验和Spearman秩相关分析,应用广义多因子降维模型(GMDR)评价交互作用。结果 随着宫颈癌变的进展,FHIT基因CpG岛甲基化率( $\chi^2=18.64, P<0.001$ , 趋势检验 $\chi^2=18.08, P<0.001$ )逐渐升高,FHIT mRNA( $H=27.32, P<0.001$ ; 趋势检验 $\chi^2=12.65, P<0.001$ )与蛋白( $H=47.10, P<0.001$ ; 趋势检验 $\chi^2=29.79, P<0.001$ )表达量逐渐降低,且FHIT基因CpG岛甲基化率与FHIT蛋白表达量呈负相关( $r=-0.226, P<0.001$ )。MeCP2 mRNA( $H=26.19, P<0.001$ ; 趋势检验 $\chi^2=11.81, P=0.001$ )与蛋白( $H=69.02, P<0.001$ ; 趋势检验 $\chi^2=47.44, P<0.001$ )表达量均逐渐升高。MeCP2蛋白表达量与FHIT mRNA  $Ct$  比值呈正相关( $r=0.254, P<0.001$ ),与FHIT蛋白表达量呈负相关( $r=-0.213, P=0.001$ )。GMDR交互作用分析表明,在CIN II/III组,MeCP2蛋白高表达、FHIT基因CpG岛甲基化及mRNA和蛋白低表达存在交互作用;在SCC组,MeCP2 mRNA和蛋白高表达、FHIT基因CpG岛甲基化及mRNA和蛋白低表达存在交互作用。结论 MeCP2 mRNA和蛋白高表达、FHIT基因CpG岛甲基化及mRNA和蛋白低表达,均可增加宫颈癌变的风险,且在宫颈癌变中具有协同作用。

**【关键词】** 宫颈癌变;脆性组氨酸三联体;甲基-CpG-结合蛋白2

**基金项目:**国家自然科学基金(30872166,81273157,81473060);国家卫生和计划生育委员会公益性行业科研专项(201402010);山西省优势和特色重点学科建设项目

**Interaction between abnormal expression of fragile histidine triad and methyl-CpG-binding protein 2 on cervical cancerization** Yang Qian, Li Ying, Wang Lu, Song Zhichao, Feng Meijuan, Ding Ling, Wang Jintao

Department of Epidemiology, School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China  
Corresponding author: Wang Jintao, Email:wangjt59@163.com

**【Abstract】** **Objective** To explore the relationship between abnormal expression of fragile histidine triad (FHIT) gene and methyl-CpG-binding protein 2 (MeCP2) as well as their interaction on cervical cancerization. **Methods** A total of 73 patients with cervical squamous cell carcinoma (SCC), 113 patients with cervical intraepithelial neoplasia (CIN I,  $n=45$ ; CIN II/III,  $n=68$ ) and 60 women with normal cervix (NC) were included in the study. Real time PCR and Western blot were performed to detect the expression levels of mRNA and protein about FHIT and MeCP2, respectively. The methylation status of FHIT gene CpG island was tested by methylation-specific PCR (MSP). Kruskal-Wallis  $H$  test,  $\chi^2$  test, trend  $\chi^2$  test and Spearman correlation analysis were conducted with software SPSS 20.0. The interaction was evaluated by generalized multifactor dimensionality reduction (GMDR) model. **Results** With the deterioration of cervical lesion, the methylation rates of FHIT gene CpG island ( $\chi^2=18.64, P<0.001$ ; trend  $\chi^2=18.08, P<0.001$ ) increased gradually, while the expression levels of FHIT mRNA ( $H=27.32, P<0.001$ ; trend  $\chi^2=12.65, P<0.001$ ) and protein ( $H=47.10, P<0.001$ ; trend  $\chi^2=29.79, P<0.001$ ) decreased gradually. There was a negative correlation

between the methylation rates of FHIT gene CpG island and the expression level of FHIT protein ( $r=-0.226$ ,  $P<0.001$ ). The levels of MeCP2 mRNA ( $H=26.19$ ,  $P<0.001$ ; trend  $\chi^2=11.81$ ,  $P=0.001$ ) and protein ( $H=69.02$ ,  $P<0.001$ ; trend  $\chi^2=47.44$ ,  $P<0.001$ ) increased gradually with the aggravation of cervical lesions. There was a positive correlation between the expression level of MeCP2 protein and the FHIT mRNA *Ct* ratio ( $r=0.254$ ,  $P<0.001$ ). Expression of proteins were negatively correlated between MeCP2 and FHIT ( $r=-0.213$ ,  $P=0.001$ ). The results analyzed by GMDR model showed that there were interactions among high MeCP2 protein expression, the CpG island methylation of FHIT and mRNA and protein expression in CIN II/III group, and among high MeCP2 mRNA and protein expression, the CpG island methylation of FHIT and low mRNA and protein expression in SCC group. **Conclusion** High expression of MeCP2 mRNA and protein, the CpG island methylation and low mRNA and protein expression of FHIT could increase the risk of cervical carcinogenesis, and there might be a synergistic effect on cervical carcinogenesis.

**【Key words】** Cervical carcinogenesis; Fragile histidine triad; Methyl-CpG-binding protein 2

**Fund programs:** National Natural Science Foundation of China (30872166, 81273157, 81473060); National Nonprofit Scientific Research Industry Special Fund of China (201402010); Key Discipline Construction Project with Superiority and Characteristics in Shanxi Province

DNA 甲基化是表观遗传的核心内容,在肿瘤的发生发展中扮演着重要角色<sup>[1]</sup>。研究表明,抑癌基因启动子区 CpG 岛的异常甲基化可造成基因表达沉默,肿瘤抑制功能丧失,从而引发肿瘤<sup>[2]</sup>。肿瘤抑制基因脆性组氨酸三联体(FHIT)定位于人类染色体 3p14.2,具有管理细胞凋亡,抑制细胞增殖扩散等多种生物学功能<sup>[3]</sup>。FHIT 基因功能丧失与肿瘤的发生发展密切相关,而启动子区 CpG 岛高甲基化使其自身表达水平下降或缺失是 FHIT 基因失活的重要机制<sup>[4]</sup>。在 DNA 甲基化致抑癌基因失活的过程中,有多种蛋白和核因子的参与,其中 DNA 甲基化 CpG 岛结合蛋白(MBD)起着阅读和传递甲基化信息的重要作用,甲基-CpG-结合蛋白 2(MeCP2)是首个被发现的 MBP 家族成员,研究提示 MeCP2 可以特异性识别并结合 DNA 甲基化位点,广泛参与抑癌基因高甲基化导致的转录沉默过程<sup>[5]</sup>。本课题组前期研究显示, FHIT 蛋白表达降低与宫颈癌变有密切关系<sup>[6]</sup>,但其与 MeCP2 异常表达在宫颈癌变中的关系尚不明确。为此本研究纳入不同宫颈病变患者探讨 FHIT、MeCP2 异常表达与宫颈癌变的关系及交互效应。

## 对象与方法

1. 研究对象:选取 2009 年 9 月至 2011 年 3 月在山西省肿瘤医院、山西医科大学第二医院妇科和介休市妇幼保健院妇科经病理学确诊的宫颈鳞状细胞癌(SCC)患者 73 例,宫颈上皮内瘤样变(CIN)患者 113 例(CIN I 45 例, CIN II/III 68 例)以及宫颈正常(NC)妇女 60 人为研究对象。经知情同意,应用结构式问卷收集人口学特征、生殖情况、生活习惯、妇科病史、肿瘤家族史等资料,同时采集全部研究对象

的手术或活检宫颈组织标本,于-80℃冰箱贮存待检。

## 2. 研究方法:

(1)检测 HPV 感染:采用酚-氯仿蛋白酶 K 法从宫颈组织中提取 DNA,参照课题组前期建立的 PCR 扩增方法检测 HPV 感染状况<sup>[7]</sup>。

(2)荧光定量 PCR 检测 FHIT 及 MeCP2 mRNA 表达量:提取总 RNA(Trizol 法),参照课题组前期建立的方法<sup>[8]</sup>,分别获得 FHIT 及 MeCP2 的特异性扩增曲线和溶解曲线。以 FHIT *Ct* 值/ $\beta$ -actin *Ct* 值及 MeCP2 *Ct* 值/ $\beta$ -actin *Ct* 值分别表示 FHIT 及 MeCP2 mRNA 的相对表达量。*Ct* 比值越大,表示对应的 mRNA 表达水平越低,反之亦然。

(3)Western blot 检测 FHIT 及 MeCP2 蛋白表达水平:提取蛋白,经 BCA 定量。参照课题组前期建立的方法检测 FHIT 及 MeCP2 蛋白表达水平<sup>[6]</sup>。FHIT、MeCP2 一抗分别为 1:800 和 1:2 000 稀释的兔抗人单克隆抗体;内参蛋白( $\beta$ -actin)一抗为 1:1 000 稀释的兔抗人 $\beta$ -肌动蛋白抗体。在相对分子质量 16.8、53 和 43 KD 处分别获得 FHIT、MeCP2 和 $\beta$ -actin 蛋白条带。利用 Quantity One 软件分析各条带的光密度值(A 值),将目的条带与 $\beta$ -actin 条带 A 值的比值作为 FHIT 及 MeCP2 蛋白的相对表达量。

(4)MSP 检测 FHIT 基因 CpG 岛甲基化状况:参照课题组前期建立的方法检测 FHIT 基因 CpG 岛甲基化状况<sup>[9]</sup>,采用酚-氯仿法提取宫颈组织总 DNA,亚硫酸盐进行 DNA 甲基化修饰,55℃避光孵育过夜,经 Wizard DNA clean up system 试剂纯化后,溶于 40  $\mu$ l 三蒸水,在 PTC200-PCR 仪上进行扩增。FHIT 基因 CpG 岛甲基化引物:5'-TTG GGG CGC GGG TTT GGG TTT TTA CGC-3', 5'-CGT AAA CGA CGC CGA CCC CAC TA-3';非甲基化引物:

5'-TTG GGG TGT GGG TTT GGG TTT TTA TG-3', 5'-CAT AAA CAA CAC CAA CCC CAC TA-3'。对PCR扩增产物进行2%琼脂糖凝胶电泳,在VILBER CV-A50C凝胶成像仪下观察,于74 bp处分别获得FHIT基因甲基化和未甲基化条带。

3. 统计学分析:采用SPSS 20.0软件进行 $\chi^2$ 检验、 $\chi^2$ 趋势检验、Kruskal-Wallis *H*检验、Spearman秩相关分析、因素与宫颈疾病之间关联强度(*OR*值及其95%*CI*)分析;采用广义多因子降维法(GMDR)进行交互作用评价<sup>[10]</sup>。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

### 结 果

1. 样本特征:NC、CIN I、CIN II/III及SCC组的年龄中位数分别为45(27~69)、48(29~63)、49(30~65)、50(28~70)岁。各组在民族、出生地、居住地、婚姻状况、吸烟、饮酒、首次性交年龄、经期性生活、产次、绝经、肿瘤家族史方面的差异无统计学意义( $P>0.05$ ),但在HPV感染( $\chi^2=28.30, P<0.001$ )、年龄( $\chi^2=18.06, P=0.034$ )、文化程度( $\chi^2=36.75, P<0.001$ )、职业( $\chi^2=29.90, P<0.001$ )、洗澡频率( $\chi^2=19.90, P=0.003$ )、阴部清洗频率( $\chi^2=44.34, P<0.001$ )、性生活后清洗( $\chi^2=13.82, P=0.003$ )、首次生育年龄( $\chi^2=18.72, P=0.004$ )、孕次( $\chi^2=18.16, P=0.006$ )、人工流产史( $\chi^2=35.07, P<0.001$ )、人工流产次数( $\chi^2=23.99, P<0.001$ )、月经初潮年龄( $\chi^2=14.35, P=0.023$ )、妇科病史( $\chi^2=25.46, P<0.001$ )的差异均有统计学意义。

2. FHIT基因甲基化及其表达与宫颈病变的关系:FHIT基因CpG岛甲基化率呈逐渐升高趋势( $\chi^2=18.08, P<0.001$ ),且NC组与SCC组的差异有统计学意义;经Kruskal-Wallis *H*检验,各组间FHIT mRNA( $H=27.32, P<0.001$ )与蛋白( $H=47.10, P<0.001$ )表达量总体分布不全相同。采用Bonferroni法(调整检验水准 $\alpha=0.05/比较次数=0.05/6=0.0083$ )

两两比较发现,FHIT mRNA和蛋白表达量CIN II/III组和SCC组均低于NC组,SCC组的蛋白表达量低于CIN I组。进一步以NC组的FHIT mRNA和蛋白表达量的 $P_{50}$ 值(1.24和1.28)作为FHIT低表达的分界点进行定性分析发现,随着宫颈病变的进展,FHIT mRNA和蛋白低表达率均呈逐渐升高趋势(表1)。Spearman秩相关分析显示,FHIT基因CpG岛甲基化率与FHIT蛋白表达量( $r=-0.226, P<0.001$ )呈负相关,而与FHIT mRNA *Ct*比值( $r=0.057, P=0.375$ )未显示差异有统计学意义。

3. MeCP2表达与宫颈病变的关系:经Kruskal-Wallis *H*检验,各组间MeCP2 mRNA( $H=26.19, P<0.001$ )与蛋白( $H=69.02, P<0.001$ )表达量总体分布不全相同。采用Bonferroni法(调整检验水准 $\alpha=0.05/比较次数=0.05/6=0.0083$ )两两比较显示,MeCP2 mRNA和蛋白表达量在NC组与CIN II/III组和SCC组及CIN I组与SCC组的差异有统计学意义。进一步以NC组的MeCP2 mRNA和蛋白表达量的 $P_{50}$ 值(1.22和1.02)作为MeCP2高表达的分界点进行定性分析,结果显示,随着宫颈病变的进展,MeCP2 mRNA和蛋白高表达率均呈逐渐升高趋势(表2)。

4. MeCP2与FHIT在各宫颈病变组中的相关性及其交互作用:在分析了MeCP2、FHIT表达与宫颈病变关系的基础上,对两变量进行了相关性分析。经Spearman秩相关分析显示,MeCP2蛋白表达量与FHIT mRNA *Ct*比值( $r=0.254, P<0.001$ )呈正相关,即与FHIT mRNA表达量呈负相关;与FHIT蛋白表达量( $r=-0.213, P=0.001$ )呈负相关(图1)。为评价MeCP2与FHIT基因在宫颈癌变中的交互作用,将MeCP2 mRNA和蛋白、FHIT mRNA和蛋白及FHIT基因CpG岛甲基化状况纳入GMDR模型,调整影响宫颈癌变的相关因素,以检验平衡集精度(TBA)和交叉验证一致性(CVC)最高且置换检验有统计学意

表1 脆性组氨酸三联体(FHIT)基因CpG岛甲基化、mRNA及蛋白表达量与宫颈病变的关系

组别	例数	FHIT基因CpG岛甲基化		FHIT mRNA			FHIT蛋白		
		甲基化例数 (率, %)	aOR值 (95%CI)	mRNA <i>Ct</i> 比值 ( <i>M</i> ± <i>Q</i> )	低表达例数 (率, %)	aOR值 (95%CI)	表达量 ( <i>M</i> ± <i>Q</i> )	低表达例数 (率, %)	aOR值 (95%CI)
NC	60	4(6.67) <sup>a</sup>	1.00	1.24±0.17 <sup>a</sup>	32(53.33)	1.00	1.28±0.15 <sup>a</sup>	28(46.67)	1.00
CIN I	45	6(13.33) <sup>a,b</sup>	2.58(1.20~5.56)	1.27±0.12 <sup>a,b</sup>	27(60.00)	3.42(1.18~9.85)	1.23±0.12 <sup>a,b</sup>	32(71.11)	2.36(0.85~6.55)
CIN II/III	68	15(22.06) <sup>a,b</sup>	3.35(1.41~7.95)	1.29±0.11 <sup>b</sup>	51(75.00)	6.91(2.28~20.99)	1.15±0.21 <sup>b</sup>	51(75.00)	3.21(1.12~9.16)
SCC	73	26(35.62) <sup>b</sup>	6.72(1.97~22.89)	1.32±0.12 <sup>b</sup>	58(79.45)	9.26(2.79~30.77)	1.11±0.19 <sup>c</sup>	66(90.41)	12.57(3.45~45.77)
		$\chi^2=18.64, P<0.001$ 趋势检验 $\chi^2=18.08, P<0.001$		$H=27.32, P<0.001; \chi^2=13.24, P=0.004$ 趋势检验 $\chi^2=12.65, P<0.001$			$H=47.10, P<0.001; \chi^2=31.66, P<0.001$ 趋势检验 $\chi^2=29.79, P<0.001$		

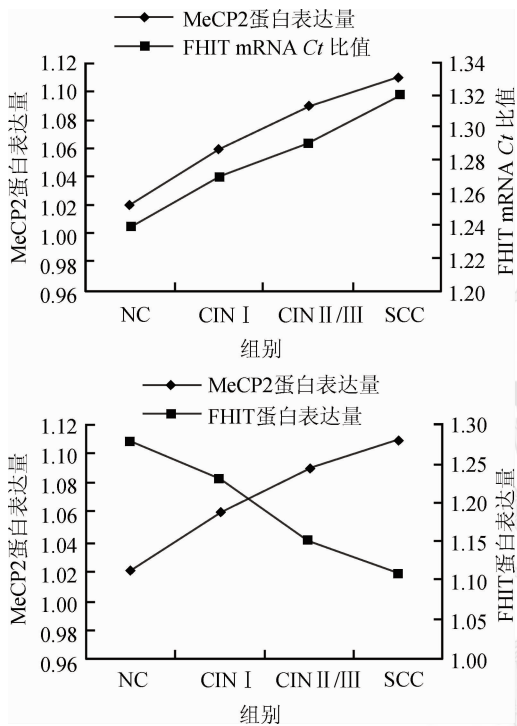
注:NC为正常宫颈,CIN为宫颈上皮内瘤样变,SCC为宫颈鳞状细胞癌;*M*±*Q*为中位数±四分位数间距;<sup>a,b,c</sup>相同字母表示组间比较时差异无统计学意义,不同字母差异有统计学意义;mRNA *Ct* 比值为FHIT *Ct*/β-actin *Ct*值;aOR值为对HPV感染、年龄、文化程度、职业、洗澡频率、阴部清洗频率、性生活后清洗、首次生育年龄、孕次、人工流产史、人工流产次数、妇科病史、月经初潮年龄调整的OR值



表 2 宫颈病变与甲基-CpG-结合蛋白 2(MeCP2)mRNA 及蛋白表达量的关系

组别	例数	MeCP2 mRNA			MeCP2 蛋白			
		mRNA Ct 比值 (M±Q)	高表达例数 (率,%)	aOR 值(95%CI)	表达量(M±Q)	高表达例数 (率,%)	aOR 值(95%CI)	
NC	60	1.22±0.24 <sup>a</sup>	30(50.00)	1.00	1.02±0.15 <sup>a</sup>	31(51.67)	1.00	
CIN I	45	1.19±0.22 <sup>a,b</sup>	32(71.11)	2.82(1.02~7.77)	1.06±0.14 <sup>a,b</sup>	28(62.22)	1.54(0.70~3.39)	
CIN II/III	68	1.17±0.16 <sup>b</sup>	50(73.53)	3.31(1.19~9.21)	1.09±0.12 <sup>b</sup>	60(88.24)	7.02(2.87~17.17)	
SCC	73	1.12±0.19 <sup>c</sup>	58(79.45)	3.39(1.12~10.29)	1.11±0.10 <sup>c</sup>	70(95.89)	33.21(7.46~147.91)	
				$H=26.19, P<0.001; \chi^2=13.80, P=0.003$ 趋势检验 $\chi^2=11.81, P=0.001$	$H=69.02, P<0.001; \chi^2=49.41, P<0.001$ 趋势检验 $\chi^2=47.44, P<0.001$			

注:NC 为正常宫颈, CIN 为宫颈上皮内瘤样变, SCC 为宫颈鳞状细胞癌; M±Q 为中位数±四分位数间距; <sup>a,b,c</sup> 相同字母表示组间比较时差异无统计学意义, 不同字母差异有统计学意义; mRNA Ct 比值为 MeCP2 Ct/β-actin Ct 值; aOR 值为对 HPV 感染、年龄、文化程度、职业、洗澡频率、阴部清洗频率、性生活后清洗、首次生育年龄、孕次、人工流产史、人工流产次数、妇科病史、月经初潮年龄调整的 OR 值



注:NC 为正常宫颈, CIN 为宫颈上皮内瘤样变, SCC 为宫颈鳞状细胞癌; MeCP2 为甲基-CpG-结合蛋白 2; FHIT 为脆性组氨酸三联体; mRNA Ct 比值为 FHIT Ct/β-actin Ct 值

图 1 各宫颈病变组 MeCP2 与 FHIT mRNA(上)及蛋白(下)表达的关系

义 ( $P<0.05$ ) 为最佳交互作用模型, 结果显示, CIN II/III 组为 MeCP2 蛋白高表达、FHIT 基因 CpG 岛甲基化及 mRNA 和蛋白低表达 (TBA=0.784 8, CVC=10/10); SCC 组为 MeCP2 mRNA 和蛋白高表达、FHIT 基因 CpG 岛甲基化及 mRNA 和蛋白低表达 (TBA=0.768 7, CVC=10/10), CIN I 组未见交互作用存在 ( $P>0.05$ ), 见表 3。

讨 论

抑癌基因启动子区甲基化与肿瘤的关系密切, 能使基因转录抑制或沉默。FHIT 基因表达缺失可能阻断了生长信号抑制途径, 使细胞凋亡受阻, 从而

表 3 甲基-CpG-结合蛋白 2(MeCP2) 与脆性组氨酸三联体(FHIT) 在各宫颈病变组中交互作用的广义多因子降维分析

组别	模型	TBA	CVC	P 值
CIN I	A1	0.450 5	4/10	0.945 3
	A1A3	0.572 2	7/10	0.054 7
	A1A3A4	0.446 8	4/10	0.945 3
	A1A2A3A4	0.483 9	6/10	0.623 0
	A1A2A3A4A5	0.540 6	10/10	0.623 0
CIN II/III	A3	0.698 1	10/10	0.001 0
	A2A3	0.776 3	10/10	0.001 0
	A2A3A5	0.771 9	8/10	0.001 0
	<b>A2A3A4A5</b>	0.784 8	10/10	0.001 0
	A1A2A3A4A5	0.738 8	10/10	0.054 7
SCC	A2	0.565 4	8/10	0.377 0
	A2A3	0.769 9	8/10	0.054 7
	A2A3A5	0.748 9	10/10	0.054 7
	A1A2A3A4	0.729 7	6/10	0.054 7
	<b>A1A2A3A4A5</b>	0.768 7	10/10	0.010 7

注: A1~A5 分别表示 MeCP2 mRNA 表达量、MeCP2 蛋白表达量、FHIT mRNA 表达量、FHIT 蛋白表达量、FHIT 基因 CpG 岛甲基化状况; TBA 为检验平衡集精度; CVC 为交叉验证一致性; 黑体字表示交互作用最佳模型

导致肿瘤发生<sup>[4]</sup>。在宫颈癌组织中 FHIT 蛋白的失活与 FHIT 基因异常高甲基化有关, FHIT 蛋白在 FHIT 基因高甲基化的组织中表达降低而在正常组织中表达正常<sup>[11]</sup>。Banzai 等<sup>[4]</sup> 研究显示, 宫颈癌组织中 FHIT 基因 CpG 岛甲基化率明显高于宫颈上皮内瘤样变和正常宫颈组织。本课题组前期研究发现, 宫颈癌组 FHIT 基因 CpG 岛甲基化率远高于正常宫颈组<sup>[6]</sup>。本研究从 FHIT 基因 CpG 岛甲基化、FHIT mRNA 和蛋白三方面综合分析了 FHIT 基因异常表达与宫颈病变的关系, 并进一步探究 FHIT 基因 CpG 岛甲基化与 FHIT mRNA 和蛋白表达的相关性。结果显示, 随着宫颈病变的进展, FHIT 基因 CpG 岛甲基化率逐渐升高, 而 FHIT mRNA 和蛋白的表达量呈下降的趋势, 提示 FHIT 基因 CpG 岛高甲基化及 FHIT mRNA 和蛋白低表达均可增加宫颈

癌变的危险性。相关性分析显示, FHIT 基因 CpG 岛甲基化率与 FHIT 蛋白表达在宫颈癌变中呈负相关, 提示 FHIT 蛋白表达降低与 FHIT 基因 CpG 岛高甲基化有关。

Bernard 等<sup>[12]</sup>发现 MeCP2 能促进前列腺癌细胞的生长, 其过量表达可能增加机体细胞恶变的危险性。有研究报道在乳腺癌<sup>[13]</sup>、结直肠癌<sup>[14]</sup>等肿瘤中存在 MeCP2 蛋白的异常高表达。本课题组发现 MeCP2 与宫颈癌变有关, 此次研究从不同宫颈病变阶段 MeCP2 的转录和翻译两个水平分析显示, MeCP2 mRNA 和蛋白在 SCC 组的表达量均显著高于 NC 组和 CIN I 组, 随宫颈病变的进展均逐渐增加, 提示 MeCP2 表达异常增高, 可增加宫颈癌及其癌前病变的风险, 特别是在宫颈上皮内瘤样变阶段即有 MeCP2 mRNA 和蛋白的增高, 对宫颈癌变具有一定的预警意义。

基因的表达一方面受到甲基化的影响, 另一方面与 MBD 密切相关。MeCP2 是 MBD 家族的重要成员, 能识别并结合甲基化的 CpG 残基区, 形成稳定的转录抑制复合体, 同时引起染色质结构的修饰与重塑, 使之发生浓缩、凝聚, 导致基因表达沉默, 这被认为是甲基化序列长期沉默的主要原因<sup>[5]</sup>。本研究发现, MeCP2 蛋白表达与 FHIT mRNA 和蛋白的表达呈负相关, 提示 FHIT 表达下降可能与 MeCP2 蛋白高表达有关。尽管有细胞实验发现, MeCP2 通过结合到 LIN28A 甲基化的 CpG 岛抑制其在胰腺癌细胞中的表达<sup>[15]</sup>, 但两者间的相互关系尚待深入研究。

本研究基于 FHIT 基因表达缺失既与其 CpG 岛甲基化有关也与 MeCP2 高表达有关的生物学基础, 运用 GMDR 进一步探讨了 FHIT、MeCP2 在宫颈癌变中的交互作用发现, 在 CIN II/III 组中, MeCP2 蛋白高表达、FHIT 基因 CpG 岛甲基化及 mRNA 和蛋白低表达存在交互作用, MeCP2 mRNA 和蛋白高表达、FHIT 基因 CpG 岛甲基化及 mRNA 和蛋白低表达在 SCC 组中存在交互作用, 提示 MeCP2 与 FHIT 异常表达可能在宫颈癌变中存在协同作用。此发现补充了本课题组前期研究发现的 MeCP2 蛋白可能进一步抑制了甲基化 p16 的表达活性, 促进了宫颈癌变的发生<sup>[16]</sup>。本研究虽然揭示出 MeCP2 与 FHIT 在宫颈癌变中具有交互作用, 但其详细的分子学机制及因果推论尚待前瞻性队列研究及实验性研究提供更为有力的证据。

利益冲突 无

## 参 考 文 献

- Peedicayil J. The role of DNA methylation in the pathogenesis and treatment of cancer [J]. *Curr Clin Pharmacol*, 2012, 7(4): 333-340. DOI: 10.2174/157488412803305858.
- Lu Q, Ma DH, Zhao SP. DNA methylation changes in cervical cancers [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 863: 155-176. DOI: 10.1007/978-1-61779-612-8\_9.
- Huang Q, Liu Z, Xie F, et al. Fragile histidine triad (FHIT) suppresses proliferation and promotes apoptosis in cholangiocarcinoma cells by blocking PI3K-Akt pathway [J]. *Sci World J*, 2014, 2014: 179698. DOI: 10.1155/2014/179698.
- Banzai C, Nishino K, Quan JH, et al. Promoter methylation of *DAPK1*, *FHIT*, *MGMT*, and *CDKN2A* genes in cervical carcinoma [J]. *Int J Clin Oncol*, 2014, 19(1): 127-132. DOI: 10.1007/s10147-013-0530-0.
- Baubec T, Ivánek R, Lienert F, et al. Methylation-dependent and -independent genomic targeting principles of the MBD protein family [J]. *Cell*, 2013, 153(2): 480-492. DOI: 10.1016/j.cell.2013.03.011.
- 陈霄, 王金桃, 白丽霞, 等. 宫颈癌变中叶酸缺乏与脆性组氨酸三联体基因表达异常的相互作用 [J]. *中华流行病学杂志*, 2015, 36(4): 387-392. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.04.020.  
Chen X, Wang JT, Bai LX, et al. Interaction between folate deficiency and aberrant expression related to fragile histidine triad gene in the progression of cervical cancerization [J]. *Chin J Epidemiol*, 2015, 36(4): 387-392. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.04.020.
- 王金桃, 高尔生, 程玉英, 等. 内源性雌、孕激素与人乳头瘤病毒在宫颈癌发生中的协同作用研究 [J]. *中华流行病学杂志*, 2005, 26(5): 370-373. DOI: 10.3760/j.issn: 0254-6450.2005.05.017.  
Wang JT, Gao ES, Cheng YY, et al. Analysis on synergistic action between estrogen, progesterone and human papillomavirus in cervical cancer [J]. *Chin J Epidemiol*, 2005, 26(5): 370-373. DOI: 10.3760/j.issn: 0254-6450.2005.05.017.
- 王金桃, 吴婷婷, 白兰, 等. 叶酸对 DNMT1 和 MeCP2 在宫颈癌细胞中表达调节的实验研究 [J]. *中华流行病学杂志*, 2013, 34(2): 173-177. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2013.02.016.  
Wang JT, Wu TT, Bai L, et al. Effect of folate in modulating the expression of DNA methyltransferase 1 and methyl-CpG-binding protein 2 in cervical cancer cell lines [J]. *Chin J Epidemiol*, 2013, 34(2): 173-177. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2013.02.016.
- 吴婷婷, 王金桃, 丁玲, 等. 叶酸缺乏和 p16 基因 CpG 岛甲基化对宫颈癌变的作用 [J]. *中华疾病控制杂志*, 2013, 17(1): 9-12.  
Wu TT, Wang JT, Ding L, et al. Folate deficiency and aberrant methylation of p16 CpG islands on cervical cancer and its precancerous lesions [J]. *Chin J Dis Control Prev*, 2013, 17(1): 9-12.
- 陈卿, 唐迅, 胡永华. 应用广义多因子降维法分析数量性状的交互作用 [J]. *中华流行病学杂志*, 2010, 31(8): 938-941. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2010.08.024.  
Chen Q, Tang X, Hu YH. Detecting interaction for quantitative trait by generalized multifactor dimensionality reduction [J]. *Chin J Epidemiol*, 2010, 31(8): 938-941. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2010.08.024.
- Lando M, Fjeldbo CS, Wilting SM, et al. Interplay between promoter methylation and chromosomal loss in gene silencing at 3p11-p14 in cervical cancer [J]. *Epigenetics*, 2015, 10(10): 970-980. DOI: 10.1080/15592294.2015.1085140.
- Bernard D, Gil J, Dumont P, et al. The methyl-CpG-binding protein MeCP2 is required for prostate cancer cell growth [J]. *Oncogene*, 2006, 25(9): 1358-1366. DOI: 10.1038/sj.onc.1209179.
- Xu XM, Jin HY, Liu YF, et al. The expression patterns and correlations of claudin-6, methyl-CpG binding protein 2, DNA methyltransferase 1, histone deacetylase 1, acetyl-histone H3 and acetyl-histone H4 and their clinicopathological significance in breast invasive ductal carcinomas [J]. *Diagn Pathol*, 2012, 7: 33. DOI: 10.1186/1746-1596-7-33.
- Song N, Li KQ, Wang Y, et al. Lentivirus-mediated knockdown of MeCP2 inhibits the growth of colorectal cancer cells *in vitro* [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 13(1): 860-866. DOI: 10.3892/mmr.2015.4612.
- Xu M, Bian SH, Li J, et al. MeCP2 suppresses LIN28A expression via binding to its methylated-CpG islands in pancreatic cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(12): 14476-14485. DOI: 10.18632/oncotarget.7507.
- 梁雅丽. 叶酸、p16 甲基化、MeCP2 蛋白表达在宫颈癌变中的作用 [D]. 太原: 山西医科大学, 2010.  
Liang YL. The role of folate and p16 gene promoter region CpG island methylation and MeCP2 protein expression in cervical lesions [D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2010.

(收稿日期: 2017-10-17)

(本文编辑: 张林东)