

叶酸与DNA甲基转移酶1在宫颈癌及癌前病变中的作用

王金桃 霍晓旭 丁玲 郝敏 樊金荣 张丽 赵维敏

【摘要】 目的 探讨叶酸和DNA甲基转移酶1(DNMT1)与宫颈癌发生发展的关系及其在宫颈癌变中的相互作用。方法 选择经病理学确诊的宫颈鳞状细胞癌(SCC)患者100例、宫颈上皮内瘤样变(CIN)患者101例和宫颈炎(CI)患者109例为研究对象。在收集全部对象人口学特征、生殖因素等相关资料的同时,检测血清叶酸水平(RIA法)、人乳头瘤病毒16的感染状况(PCR法)和DNMT1蛋白的表达量(Western blot法)。采用SPSS 16.0分析软件,进行相关资料的 t 检验、 χ^2 检验、因素与疾病之间关联强度指标(OR 值95% CI)的计算及交互作用分析。结果 在SCC、CIN和CI组,血清叶酸含量分别为 (2.60 ± 1.61) 、 (3.14 ± 2.08) 和 (3.32 ± 1.74) ng/ml, DNMT1蛋白表达水平分别为 2.40 ± 0.99 、 1.88 ± 0.33 和 0.89 ± 0.29 ,随着宫颈病变的加重叶酸含量逐渐降低, DNMT1蛋白表达水平逐渐增高,两者呈负相关关系($r = -0.186, P = 0.001$)。交互作用分析显示,叶酸水平低和DNMT1蛋白高表达在CIN和SCC组均存在正相加交互作用, OR 值分别为2.50(95% CI : 1.21~9.22)和6.03(95% CI : 2.79~21.72),交互作用指标超额危险度、交互作用归因危险比和交互作用指数在CIN组分别为0.92、0.36和2.59,在SCC组分别为2.47、0.41和1.96。结论 血清叶酸水平低及DNMT1蛋白高表达均是导致宫颈癌和癌前病变发生的危险因素,两者存在协同作用。

【关键词】 宫颈肿瘤; 癌前病变; 叶酸; DNA甲基转移酶1

Effect of folic acid and DNA methyltransferase 1 on cervical cancer and its precancerous lesion

WANG Jin-tao¹, HUO Xiao-xu², DING Ling¹, HAO Min³, FAN Jin-rong⁴, ZHANG Li¹, ZHAO Wei-min¹.

1 Department of Epidemiology, School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 2 Shanghai Institute of Planned Parenthood Research; 3 Department of Obstetrics and Gynecology, Second Hospital of Shanxi Medical University; 4 Family Planning Maternal and Child Health Care Center of Jiexiu City

Corresponding author: WANG Jin-tao, Email: wjtxw@yahoo.com.cn

This work was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (No. 30872166) and the Natural Science Foundation of Shanxi Province (No. 2008011075-1).

【Abstract】 Objective To explore the effect of folic acid and DNA methyltransferase 1 (DNMT1) on cervical cancer and cervix precancerous lesion. **Methods** 100 patients with cervix squamous cell carcinoma (SCC), 101 patients with cervical intraepithelial neoplasm (CIN) and 109 patients with cervix inflammation (CI) diagnosed by histology were included in this study. Radioimmunoassay (RIA), polymerase chain reaction (PCR) and Western blot were used to detect the levels of serum folate, HPV16 infection and the expression of DNMT1 protein, respectively. **Results** The average levels of serum folate were (2.60 ± 1.61) ng/ml, (3.14 ± 2.08) ng/ml and (3.32 ± 1.74) ng/ml, and the expression of DNMT1 protein were 2.40 ± 0.99 , 1.88 ± 0.33 and 0.89 ± 0.29 in the group of SCC, CIN and CI, respectively. The relationship of folate levels and DNMT1 protein expression showed inverse correlation ($r = -0.186, P = 0.001$). The results in our study indicated that there was an additive interaction between low-level of serum folate and high-expression of DNMT1 protein related to the risk of CIN and SCC, with OR value as 2.50(95% CI : 1.21-9.22) and 6.03 (95% CI : 2.79-21.72) respectively. The relative excess risk of interaction ($RERI$), attributable

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.06.019

基金项目:国家自然科学基金(30872166);山西省自然科学基金(2008011075-1)

作者单位:030001 太原,山西医科大学公共卫生学院流行病学教研室(王金桃、丁玲、张丽、赵维敏);上海市计划生育科学研究所(霍晓旭);山西医科大学第二医院妇科(郝敏);山西省介休市计划生育妇幼保健中心(樊金荣)

通信作者:王金桃, Email: wjtxw@yahoo.com.cn

proportion of interaction (*API*) and synergy index (*S*) were 0.92, 0.36 and 2.59 in the CIN group while 2.47, 0.41 and 1.96 in the SCC group. **Conclusion** The low level of serum folate and high expression of DNMT1 protein seemed to be associated with high risk of cervical cancer and its precancerous lesion. It suggested that there might be a synergistic action between serum folate and DNMT1 in the progression of cervix carcinogenesis.

[Key words] Cervical neoplasms; Cervix precancerous lesion; Folic acid; DNA methyltransferase 1

叶酸参与 DNA 合成和 DNA 甲基化,具备了诱变效应和提高肿瘤风险的生物学基础。研究显示,采用叶酸缺乏饮食可诱导小鼠发生肝癌、结肠癌、乳腺癌等多种肿瘤^[1]。国外多数研究显示叶酸缺乏可使宫颈癌发生风险上升,补充叶酸具有逆转宫颈癌前病变的作用。本组前期研究也提示,叶酸缺乏与宫颈癌发生的风险存在剂量反应关系^[2],但其机制尚不清楚。随着表观遗传学与肿瘤关系研究的深入, DNA 甲基化被认为是在肿瘤发生过程中重要的表观遗传事件,在多种肿瘤发生中扮演着重要角色^[3,4]。DNA 甲基转移酶(DNMT)是甲基化过程中的关键酶,包括 DNMT1、DNMT2 和 DNMT3 三种类型,其中 DNMT1 在哺乳动物细胞中起着维持甲基化的作用,成为目前进行 DNA 甲基化研究的焦点。研究表明,在多种肿瘤细胞中出现了 DNMT1 蛋白的异常高表达,进而促进了 DNA 高甲基化和 DNA 点突变的发生,参与肿瘤形成^[5,6]。

鉴于叶酸缺乏和 DNA 甲基化在肿瘤发生过程中均有不可忽视的作用,叶酸与 DNA 甲基化之间又存在不可分割的内在联系,而 DNMT 在催化和维持 DNA 甲基化中起着关键作用,提示叶酸势必可通过调控 DNMT 蛋白的表达参与宫颈癌的发生发展,但目前尚无相关证据。本研究旨在探讨叶酸和 DNMT1 在宫颈癌及癌前病变中的作用及其相互关系,提出叶酸缺乏-DNA 甲基化在宫颈癌变中可能的表观遗传机制,为进行宫颈癌病因和发病机制的研究提供科学依据。

对象与方法

1. 研究对象:选择 2008 年 6 月至 2009 年 8 月在山西省肿瘤医院经病理学确诊的宫颈鳞状细胞癌(SCC)新发患者 100 例,宫颈上皮内瘤样变(CIN)患者 101 例(其中 CIN I 41 例, CIN II 29 例, CIN III 31 例),以及同一时期在山西医科大学第二医院确诊的宫颈炎(CI)患者 109 例为研究对象。全部研究对象均排除营养性巨幼细胞贫血、溶血性疾病、白血病、局限性肠炎、肝脏疾病、其他肿瘤患者,以及 3 个月内 B 族维生素使用者。均在知情同意的情况下进入

研究。

2. 资料收集:本研究方案获得山西医科大学科学研究伦理审查委员会批准。采用结构式问卷,收集研究对象的人口学特征、生活方式、个人卫生习惯、月经史、婚姻史、孕产史、维生素使用史、既往病史、肿瘤家族史等。每名研究对象均于入院后、系统治疗前采集清晨空腹静脉血 3 ml,离心分离血清,置 -80 °C 保存;获取全部研究对象宫颈组织标本(手术或活检),立即放入液氮罐,低温运至实验室后放入 -80 °C 冰箱贮存待检。

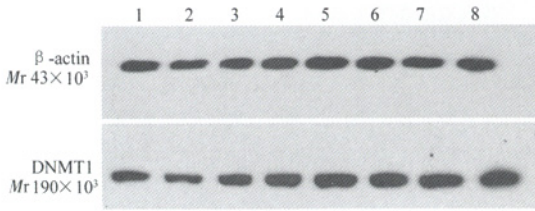
3. 实验方法:

(1) PCR 方法检测宫颈组织人乳头瘤病毒(HPV) 16 DNA:采用酚-氯仿法提取宫颈组织 DNA,按照本组前期报道的方法进行 HPV16 DNA 的扩增^[2],确定高危型感染状态。

(2)放射免疫法(RIA)测定血清叶酸水平:采用 RIA 试剂盒(北京东亚生物医学研究所)定量测定血清叶酸水平,在 FT-646A 微机放射测定仪计数,由软件自动绘出标准曲线,计算待检血清叶酸含量。每批测定均设高、中、低双质控管,操作步骤严格按照说明书进行。

(3) Western blot 法检测 DNMT1 蛋白的表达:用超声细胞破碎仪破碎宫颈组织,离心,取上清 30 μl (约含蛋白质 30 μg),行 8% SDS-PAGE 凝胶电泳,电转至 PVDF 膜(Osmonics Inc, USA),5%脱脂奶粉封闭非特异性抗原,加入 1:400 兔抗人 DNMT1 单克隆抗体(Abcam Inc, British),室温摇床孵育 1 h 后 4 °C 冰箱过夜,洗膜后,加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 二抗,37 °C, 1 h, ECL 显色,化学发光显影、定影,分别在相对分子质量(*Mr*) 43 × 10³ 和 190 × 10³ 处获得内参蛋白 β-actin 和 DNMT1 特异性抗体结合蛋白条带(图 1)。利用 Quantity One 软件分析各条带的光密度值,将目的条带与内参 β-actin 条带 A 值的比值作为 DNMT1 蛋白的相对表达量。

4. 统计学分析:利用 SPSS 16.0 软件进行相关资料的 *t* 检验、方差分析、Kruskal-Wallis 检验、 χ^2 检验、趋势 χ^2 检验,因素与宫颈癌变之间关联强度的 OR 值 95% CI 计算。应用相加效应模型进行交互作用分



注: 1, 2: CI; 3, 4: CIN; 5 ~ 8: SCC

图 1 DNMT1 在不同宫颈病变中的表达

析,并计算交互作用相对超额危险度(*RERI*)、交互作用归因危险比(*API*)和交互作用指数(*S*)进行交互作用的定量分析。

结 果

1. 研究对象的人口学特征及相关因素分析: SCC 组、CIN 组和 CI 组的年龄中位数分别为 49.75 (31 ~ 75)、48.12 (29 ~ 67) 和 47.50 (24 ~ 81) 岁, 各组平均年龄间的差异无统计学意义。3 组研究对象在年龄构成、民族、出生地、居住地、职业、婚姻状况分布的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 在 HPV16 感染、首次性行为年龄、孕次、产次和文化程度方面分布的差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2. 血清叶酸与宫颈病变的关系: 血清叶酸的分布为非正态分布, 经 Kruskal-Wallis 检验, 3 组血清叶酸水平的总体分布不同 ($H = 12.01, P = 0.002$), 其含量随着宫颈病变的加重而降低。以调整检验水准 $\alpha' = 0.017$ (α 比较的次数 = $0.05/3$), 采用 Bonferroni 法两两比较后发现, SCC 组 (2.60 ± 1.61) ng/ml 明显低于 CI 组 (3.32 ± 1.74) ng/ml, 差异有统计学意义 ($Z = 3.45, P < 0.017$), 但 SCC 组与 CIN 组、CIN 组与 CI 组之间差异均无统计学意义 (表 1)。进一步以 CI 组叶酸含量的分布界定 4 个等级 (四分位数) 进行分级分析, 结果显示, 随着血清叶酸水平的下降, CIN 和 SCC 组的 OR 值和 aOR 值均呈上升趋势, 尤其在 SCC 组该趋势有统计学意义 (趋势: $\chi^2 = 14.84, P < 0.001$), 但 CIN 组未见统计学意义 (趋势: $\chi^2 = 2.30, P = 0.129$), 见表 2。

表 1 310 例不同宫颈病变患者血清叶酸水平 (ng/ml) 比较

组别	例数	叶酸水平 ^a	H 值 ^b	P 值
SCC	100	2.60 ± 1.61		
CIN	101	3.14 ± 2.08	12.01	0.002
CI	109	3.32 ± 1.74		

注: ^a中位数 ± 四分位数间距; ^bH 为各组间总体比较的统计值, 组间两两比较, SCC: CI, $Z = 3.45, P < 0.017$; SCC: CIN, $Z = 2.06, P > 0.017$; CIN: CI, $Z = 1.35, P > 0.01$

3. DNMT1 在不同宫颈病变组织中的表达: DNMT1 蛋白的表达量在 CI、CIN 和 SCC 组分别为 0.89 ± 0.29 、 1.88 ± 0.33 和 2.40 ± 0.99 , 随着宫颈病变的加重表达量增加。各组间总体比较差异有统计学意义 ($F = 159.96, P < 0.001$), 进一步进行两两比较, 3 组间 DNMT1 表达水平的差异均有统计学意义 ($P < 0.001$), SCC 组和 CIN 组的表达量均明显高于 CI 组。

4. 叶酸与 DNMT1 蛋白表达在宫颈病变中的交互作用: 由图 2 可见, CI → CIN → SCC 叶酸水平逐渐降低, 而 DNMT1 蛋白的表达量逐渐上升, 两者间呈负相关关系 ($r = -0.186, P = 0.001$)。以 CI 组叶酸含量的 50% 点值 (3.19 ng/ml) 和 DNMT1 蛋白表达量的 50% 点值 (0.94) 分别作为低叶酸水平和 DNMT1 蛋白高表达的界值, 应用相加效应模型, 通过分层分析叶酸与 DNMT1 在宫颈癌及癌前病变中的交互作用。结果显示, 叶酸缺乏和 DNMT1 蛋白高表达对 CIN 和宫颈癌的发生均呈现正相加交互作用, 调整相关因素后这种交互模式仍然存在, 交互作用指标 *RERI*、*API* 和 *S* 在 CIN 组分别为 0.92、0.36 和 2.59, 在 SCC 组分别为 2.47、0.41 和 1.96, 显示正相加效应 (表 3)。

讨 论

HPV 感染是目前全球公认的导致宫颈癌发生的必要病因。HPV DNA 与宿主细胞 DNA 发生整合是引起宫颈癌变的关键环节, 这种整合最易在脆性位点发生, 而体内低叶酸营养状态可使 HPV DNA 整合到脆性位点的概率增加^[7]。叶酸作为嘌呤和嘧

表 2 叶酸水平与宫颈癌及癌前病变的关系

叶酸水平 (ng/ml)	CI 组 例数	CIN 组		SCC 组			
		例数	OR 值(95%CI)	aOR 值(95%CI) ^a	例数	OR 值(95%CI)	aOR 值(95%CI) ^a
<1.85	27	34	1.70(0.79 ~ 3.66)	1.49(0.69 ~ 4.17)	49	4.08(1.79 ~ 9.33)	3.87(1.65 ~ 7.96)
1.85 ~ 3.19	26	25	1.30(0.59 ~ 2.88)	1.13(0.45 ~ 3.30)	23	1.99(0.82 ~ 4.81)	1.76(0.64 ~ 5.12)
3.19 ~ 4.35	29	22	1.02(0.46 ~ 2.28)	0.86(0.32 ~ 2.87)	16	1.24(0.50 ~ 3.10)	1.01(0.42 ~ 3.83)
≥4.35	27	20	1.00	1.00	12	1.00	1.00
趋势检验		$\chi^2 = 2.30, P = 0.129$		$\chi^2 = 14.84, P < 0.001$			

注: ^a调整 HPV16 感染、首次性行为年龄、孕次、产次和文化程度后的 OR 值

表3 血清叶酸与DNMT1蛋白对宫颈癌及CIN的交互作用

叶酸 (ng/ml)	DNMT1 表达量	CI组	CIN组			SCC组		
			例数	OR值(95%CI)	aOR值(95%CI) ^a	例数	OR值(95%CI)	aOR值(95%CI) ^a
≥3.19	<0.94	29	13	1.00	1.00	7	1.00	1.00
<3.19	<0.94	25	16	1.43(0.57 ~ 3.56)	1.03(0.46 ~ 4.23)	19	3.15(1.16 ~ 8.54)	2.11(0.96 ~ 10.12)
≥3.19	≥0.94	27	29	2.40(1.04 ~ 5.52)	1.55(0.86 ~ 5.64)	21	3.22(1.21 ~ 8.58)	2.45(1.02 ~ 11.87)
<3.19	≥0.94	28	43	3.43(1.55 ~ 7.59)	2.50(1.21 ~ 9.22)	53	7.84(3.26 ~ 18.88)	6.03(2.79 ~ 21.72)
相加模式		$(R_{11}-R_{00})=1.50 > (R_{10}-R_{00})+(R_{01}-R_{00})=0.58$			$(R_{11}-R_{00})=5.03 > (R_{10}-R_{00})+(R_{01}-R_{00})=2.56$			
交互效应指标		$RERI=0.92, API=0.36, S=2.59$			$RERI=2.47, API=0.41, S=1.96$			

注：^a 同表2

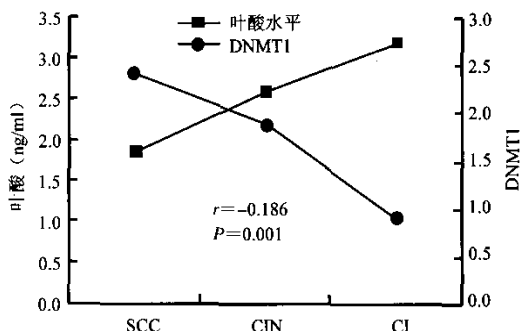


图2 不同宫颈病变组叶酸和DNMT1平均水平的关系

嘧合成的前体,参与DNA的合成;作为体内一碳单位的主要供体,参与DNA的甲基化^[8],这些生物学功能提示叶酸水平的改变具有提高肿瘤发生风险的生物学基础。近年来多数研究显示,膳食叶酸、红细胞叶酸和血清叶酸缺乏均可增加CIN III和宫颈癌发生的风险^[9,10]。本组曾对国内外公开发表的关于叶酸与宫颈癌关系的文献进行的Meta分析结果显示,低血清叶酸水平可增加宫颈癌的发病风险($OR=1.84, 95\%CI: 1.03 \sim 3.29$),随着叶酸水平降低,患宫颈癌的危险性逐渐增加^[11]。本次研究结果显示,从CI组、CIN组到SCC组,叶酸水平逐渐降低,血清叶酸水平与宫颈癌发生的风险存在剂量反应关系(趋势检验: $\chi^2=14.84, P<0.001$),提示低叶酸状态可增加罹患宫颈癌的危险性。本次研究中CIN组与CI组比较,虽然叶酸水平及剂量反应关系均无统计学意义,但CIN组叶酸含量比CI组较低的结果,提示在宫颈癌的癌前期低叶酸水平的作用不可忽视。

随着表观遗传学的发展,DNA甲基化与肿瘤的关系日益受到人们的重视。在肿瘤细胞中基因组甲基化模式常常发生改变,出现整体的低甲基化伴随着特定区域CpG岛的高甲基化^[3]。在肿瘤的发生发展过程中,DNA甲基转移酶(DNMT)蛋白表达增高往往先于甲基化的变化^[12,13]。Sawada等^[14]的研究显

示,在宫颈癌及癌前病变中DNMT1蛋白呈高表达,国内林贞花等^[15]采用免疫组织化学法对117例宫颈良、恶性病变组织中DNMT1的定性研究也显示,阳性率在SCC组显著高于CIN组和CI组。本次采用Western blot检测方法进行定量研究,结果显示,随着宫颈病变的加重,DNMT1蛋白的表达量增加,SCC组和CIN组的表达量均明显高于CI组($P<0.001$),提示DNMT1蛋白高表达对宫颈癌和CIN的发生均具有重要作用,可作为宫颈癌及癌前病变发生的预警指标。

DNMT的主要功能是催化甲基基团与胞嘧啶环结合,而叶酸作为甲基的主要供体参与了DNA甲基化过程,两者间生物学功能的联系提示叶酸对宫颈癌发生发展的影响可能与DNMT的活性和功能有关^[16]。基于动物研究的资料显示,叶酸可以改变DNMT1的表达继而影响癌细胞的增殖^[17,18],但在人群中相关资料甚少,在宫颈癌变中的研究尚未见报道。本次研究结果显示,叶酸水平和DNMT1蛋白含量呈负相关关系,低叶酸水平与DNMT1蛋白高表达在CIN组和SCC组均存在正相加作用模型,交互作用定量分析结果也显示有正相加的交互效应,提示叶酸和DNA甲基转移酶的改变可能在宫颈癌及癌前病变的形成与发展中具有重要协同作用。

本研究采用多组比较的病例对照研究方法,尽管不能确定叶酸、DNMT1蛋白表达与宫颈病变的先后关系,但本次选择CI、CIN、SCC 3组人群为研究对象,形成了炎症-癌前病变-癌症的病变阶梯,可从疾病自然史的角度宏观揭示叶酸、DNMT1在宫颈癌发生发展中的作用。当然,叶酸缺乏-DNA甲基化在宫颈癌变中的作用及表观遗传机制是一个复杂的过程,其详细关系及其机制仍需在后续研究中进一步深入探讨。

参 考 文 献

[1] Oaks BM, Dodd KW, Meinhold CL, et al. Folate intake, post-folic acid grain fortification, and pancreatic cancer risk in the

- prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial. *Am J Clin Nutr*, 2010, 91: 449-455.
- [2] Wang JT, Ma XC, Cheng YY, et al. A case-control study on the association between folate and cervical cancer. *Chin J Epidemiol*, 2006, 27: 424-427. (in Chinese)
王金桃, 马晓晨, 程玉英, 等. 叶酸与宫颈癌关系的病例对照研究. *中华流行病学杂志*, 2006, 27: 424-427.
- [3] Cheung HH, Lee TL, Rennett OM, et al. DNA methylation of cancer genome. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 2009, 87: 335-350.
- [4] Kim MS, Lee J, Sidransky D. DNA methylation markers in colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev*, 2010, 29(1): 181-206.
- [5] Bird A. The essentials of DNA methylation. *Cell*, 1992, 70: 461-467.
- [6] Rodriguez-Osorio N, Wang H, Rupinski J, et al. Comparative functional genomics of mammalian DNA methyltransferases. *Reprod Biomed Online*, 2010, 20: 243-255.
- [7] Blount BC, Mack MM, Wehr CM, et al. Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 3290-3295.
- [8] Ziegler RG, Weinstein SJ, Fears TR. Nutritional and genetic inefficiencies in one-carbon metabolism and cervical cancer risk. *J Nutr*, 2002, 132: S2345-2349.
- [9] Ghosh C, Baker JA, Moysich KB, et al. Dietary intakes of selected nutrients and food groups and risk of cervical cancer. *Nutr Cancer*, 2008, 60: 331-341.
- [10] Flatley JE, McNeir K, Balasubramani L, et al. Folate status and aberrant DNA methylation are associated with HPV infection and cervical pathogenesis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2009, 18: 2782-2789.
- [11] Ma JL, Wang JT, Ding L. Meta-analysis of the relationship between serum folic acid status and the risk of cervical cancer. *Mod Prev Med*, 2008, 35: 4121-4124. (in Chinese)
马景丽, 王金桃, 丁玲. 血清叶酸与宫颈癌发病关系的 Meta 分析. *现代预防医学*, 2008, 35: 4121-4124.
- [12] Jones PA, Takat D. The role of DNA methylation in mammalian epigenetics. *Science*, 2001, 293: 1068-1070.
- [13] Hermann A, Gowher H, Jeltsch A. Biochemistry and biology of mammalian DNA methyltransferases. *Cell Mol Life Sci*, 2004, 61: 2571-2587.
- [14] Sawada M, Kanai Y, Arai E, et al. Increased expression of DNA methyltransferase 1 (DNMT1) protein in uterine cervix squamous cell carcinoma and its precursor lesion. *Cancer Lett*, 2007, 251: 211-219.
- [15] Lin ZH, Li ZH, Ren XS, et al. Clinical significance of *dnmt-1* expression and aberrant methylation of P16/MGMT gene promoter in uterine cervical neoplasm. *Chin J Mod Med*, 2007, 17: 394-397. (in Chinese)
林贞花, 李柱虎, 任香善, 等. 子宫颈肿瘤中 DNA 甲基化转移酶-1 表达和 P16/MGMT 基因启动子甲基化的临床意义. *中国现代医学杂志*, 2007, 17: 394-397.
- [16] Kim KC, Friso S, Choi SW. DNA methylation, an epigenetic mechanism connecting folate to healthy embryonic development and aging. *J Nutr Biochem*, 2009, 20: 917-926.
- [17] Ghoshal K, Li X, Datta J, et al. A folate- and methyl-deficient diet alters the expression of DNA methyltransferases and methyl CpG binding proteins involved in epigenetic gene silencing in livers of F344 rats. *J Nutr*, 2006, 136: 1522-1527.
- [18] Trasler J, Deng L, Melnyk S, et al. Impact of *Dnmt1* deficiency, with and without low folate diets, on tumor numbers and DNA methylation in min mice. *Carcinogenesis*, 2003, 24: 39-45.

(收稿日期: 2010-12-09)

(本文编辑: 张林东)

· 消息 ·

中华医学会系列杂志已标注数字对象惟一标识符

数字对象惟一标识符(digital object identifier, DOI)是对包括互联网信息在内的数字信息进行标识的一种工具。

为了实现中华医学会系列杂志内容资源的有效数字化传播,同时保护这些数字资源在网络链接中的知识产权和网络传播权,为标识对象的版权状态提供基础,实现对数字对象版权状态的持续追踪,自 2009 年第 1 期开始,中华医学会系列杂志纸版期刊和数字化期刊的论文将全部标注 DOI。即中华医学会系列杂志除科普和消息类稿件外,其他文章均需标注 DOI, DOI 标注于每篇文章首页脚注的第 1 项。由中华医学会杂志社各期刊编辑部为决定刊载的论文标注 DOI。

参照 IDF 编码方案(美国标准 ANSI/NISO Z39.84-2000)规定,中华医学会系列杂志标注规则如下:“DOI:统一前缀/学会标识.信息资源类型.杂志 ISSN.****-****.年.期.论文流水号”。即:“DOI:10.3760/cma.j.issn.****-****.yyyy.nn.zzz”。

中华医学会系列杂志标注 DOI 各字段释义:“10.3760”为中文 DOI 管理机构分配给中华医学会系列杂志的统一前缀;“cma”为中华医学会(Chinese Medical Association)缩写;“j”为 journal 缩写,代表信息资源类别为期刊;“issn.****-****”为国际标准连续出版物号(ISSN);“yyyy”为 4 位出版年份;“nn”为 2 位期号;“zzz”为 3 位本期论文流水号。