

# 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

陈霄 王金桃 白丽霞 丁玲 吴婷婷 白兰 许娟 孙雪松

**【摘要】目的** 探讨叶酸缺乏与脆性组氨酸三联体(FHIT)基因异常表达在宫颈癌发生发展中的相互作用。**方法** 选取经病理学确诊的宫颈炎(CI)患者80例、低度宫颈上皮内瘤样变(CIN I)患者55例、高度宫颈上皮内瘤样变(CIN II/III)患者55例以及宫颈鳞状细胞癌(SCC)患者64例作为研究对象。采用微生物法测定其血清叶酸水平、甲基化特异性PCR检测FHIT基因CpG岛甲基化状况。Western blot法检测宫颈组织中FHIT蛋白的表达水平。同时采用体外细胞试验方法,对宫颈癌细胞CaSki(HPV16阳性)进行叶酸干预,检测不同叶酸浓度下的相关指标的变化。利用SPSS 17.0软件进行相关资料的 $\chi^2$ 检验、Kruskal-Wallis检验、Spearman秩相关分析,应用相加模型进行交互作用评价。**结果** 随着宫颈病变的加重,血清叶酸含量逐渐降低( $H=59.08, P<0.001$ ),FHIT基因CpG岛甲基化率逐渐升高(趋势检验 $\chi^2=28.34, P<0.001$ ),FHIT蛋白表达量逐渐降低( $H=50.93, P<0.001$ )。血清叶酸含量与FHIT蛋白表达量呈正相关( $r=0.213, P=0.001$ ),在CIN I、CIN II/III、SCC组中两者均呈现正相加交互作用。细胞试验显示,随着叶酸浓度增加,宫颈癌细胞的增殖抑制率( $r=0.98, P<0.001$ )和凋亡率( $r=0.99, P<0.001$ )逐渐增高,FHIT基因CpG岛甲基化程度逐渐减弱,FHIT蛋白的表达量逐渐升高( $r=0.97, P<0.001$ )。**结论** 叶酸缺乏和FHIT蛋白异常低表达均可增加宫颈癌和癌前病变的发生风险,两者在宫颈癌变中存在正相加交互作用。

**【关键词】** 宫颈肿瘤;血清叶酸;脆性组氨酸三联体基因

**Interaction between folate deficiency and aberrant expression related to fragile histidine triad gene in the progression of cervical cancerization** Chen Xiao, Wang Jintao, Bai Lixia, Ding Ling, Wu Tingting, Bai Lan, Xu Juan, Sun Xuesong. Department of Epidemiology, School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Corresponding author: Wang Jintao, Email: wangjt59@163.com

This work was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (No. 30872166, No. 81273157, No. 81473060) and Natural Science Foundation of Shanxi Province (No. 2008011075-1).

**【Abstract】 Objective** To explore the interaction between folate deficiency and aberrant expression related to fragile histidine triad (FHIT) gene in the progression of cervical cancerization. **Methods** A total number of 80 patients with histological diagnosis of cervix inflammation (CI), 55 cervical intraepithelial neoplasm I (CIN I), 55 cervical intraepithelial neoplasm II/III (CIN II/III) and 64 cervical squamous cell carcinoma (SCC) were included in this study. Levels of serum folate were detected by microbiological assay method and the methylation status of FHIT gene CpG islands was tested by methylation-specific PCR (MSP). FHIT protein levels were measured by Western blot. In vitro, cervical cancer cell lines CaSki (HPV16-positive) was treated with different concentrations of folate. Proliferation and apoptosis of cells, methylation of FHIT gene and the levels of FHIT protein expression were measured in each group. All analyses were performed with SPSS (version 17.0) statistical software. Differences among groups were assessed by chi-square test, Kruskal-Wallis test. Spearman correlation, and the interaction effects were evaluated by additive model. **Results** The levels of serum folate ( $H=59.08, P<0.001$ ) and FHIT protein expression ( $H=50.93, P<0.001$ ) decreased gradually along with the severity of cervix lesions, while the methylation rates of FHIT gene

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.04.020

基金项目:国家自然科学基金(30872166,81273157,81473060);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

通信作者:王金桃, Email: wangjt59@163.com

CpG islands increased (trend  $\chi^2=28.34, P<0.001$ ). Both levels of serum folate levels and FHIT protein expression were positively correlated ( $r=0.213, P=0.001$ ), with an additive interaction seen between them in CIN I, CIN II/III, SCC groups. In vitro, both rates related to proliferation inhibition ( $r=0.98, P<0.001$ ) and apoptosis ( $r=0.99, P<0.001$ ) together with the levels of FHIT protein expression ( $r=0.97, P<0.001$ ) were all increased gradually with the increase of folate concentration while the methylation status of FHIT gene CpG islands all changed from positive to negative gradually. **Conclusion** Results from our study revealed that both folate deficiency and FHIT protein aberrant low expression might increase the risk of developing cervical cancer and cervix precancerous lesions, and thus play a synergistic action in the progression of cervical cancerization.

**【Key words】** Uterine cervical neoplasms; Serum folate; Fragile histidine triad gene

叶酸具有参与和调节DNA甲基化的生物学功能。研究显示,叶酸缺乏和异常的DNA甲基化与宫颈癌发生密切相关<sup>[1-2]</sup>。本课题组前期研究和国外多数研究结果均提示,叶酸缺乏与宫颈癌的发生存在剂量-反应关系<sup>[3-4]</sup>,但其机制尚不清楚。脆性组氨酸三联体(FHIT)基因是一种特殊的抑癌基因,其异常表达与宫颈癌的发生发展密切相关,而FHIT基因CpG岛甲基化是导致自身功能失活的重要机制之一<sup>[5-6]</sup>。鉴于叶酸在体内作为甲基供体直接参与DNA甲基化,叶酸缺乏可导致抑癌基因CpG岛高甲基化,进而推测叶酸可能通过影响FHIT基因甲基化及蛋白的表达,在宫颈病变中发挥作用,但目前国内外均未见相关报道。本研究综合分析不同宫颈病变患者及宫颈癌细胞,探讨叶酸和FHIT蛋白在宫颈癌及癌前病变中的作用及其相互关系,为宫颈癌病因和发病机制研究提供科学依据。

## 对象与方法

1. 研究对象:选取2009年9月至2010年12月在山西省肿瘤医院、山西医科大学第二医院、介休市妇幼保健院经病理学确诊的新发宫颈炎(CI)患者80例、低度宫颈上皮内瘤样变(CIN I)患者55例、高度宫颈上皮内瘤样变(CIN II/III)患者55例以及宫颈鳞状细胞癌(SCC)患者64例作为研究对象。所有研究对象均排除营养性巨幼细胞性贫血、溶血性疾病、消化道疾病、其他肿瘤患者以及3个月内B族维生素使用者,在知情同意下,采用结构式问卷收集研究对象的人口学特征、宫颈癌相关因素等资料,同时采集全部研究对象入院后、系统治疗前清晨空腹静脉血5 ml和手术或活检宫颈组织标本,常规处理,置于-80℃保存待检。本研究通过山西医科大学伦理委员会审查。

## 2. 试验方法:

(1)细胞系选择及培养:选择人乳头瘤病毒16型(HPV16)阳性宫颈癌细胞CaSki,用含10%小牛血清的RP MI1640培养液培养、传代,取对数生长期的

CaSki细胞培养24 h后,转入含不同浓度叶酸培养液中培养。以叶酸浓度1 μg/ml为对照组,以叶酸浓度10、100、250、500、1 000 μg/ml为5个干预组。各不同浓度均设3个平行孔,检测不同叶酸浓度下细胞的生长情况、FHIT基因甲基化状况和蛋白的表达水平。

(2)宫颈组织HPV16 DNA检测:采用酚-氯仿法提取宫颈组织总DNA,参照本课题组前期建立的PCR扩增方法进行HPV16 DNA的扩增,确定HPV16感染状态<sup>[7]</sup>。

(3)血清叶酸含量测定:用1%抗坏血酸溶液处理血清样本,离心取上清,参照本课题组前期建立的微生物法检测血清叶酸浓度<sup>[8]</sup>。

(4)FHIT基因CpG岛甲基化测定:采用酚-氯仿抽提法提取宫颈组织和宫颈癌细胞的总DNA,参照本课题组前期建立的甲基化特异性PCR(MSP)法检测FHIT基因CpG岛甲基化状况<sup>[9]</sup>。FHIT基因的甲基化引物:上游5'-TTG GGG CGC GGG TTT GGG TTT TTA CGC-3',下游5'-CGT AAA CGA CGC CGA CCC CAC TA-3';非甲基化引物:上游5'-TTG GGG TGT GGG TTT GGG TTT TTA TG-3',下游5'-CAT AAA CAA CAC CAA CCC CAC TA-3',产物长度均为74 bp。对PCR扩增产物行2%琼脂糖凝胶电泳,在VILBER CV-A50C凝胶成像仪下观察,分别获得FHIT基因甲基化和未甲基化条带。

(5)FHIT蛋白表达的检测:取宫颈组织(50 mg)或宫颈癌细胞(细胞密度 $1 \times 10^6$  cell/ml),分别加适量WIP裂解液和PMSF的混合液,冰浴中匀浆,充分裂解。10 464 g离心,取上清后参照本课题组前期建立的方法(Western blot)检测FHIT蛋白表达水平<sup>[3]</sup>。一抗为1:800兔抗人FHIT单克隆抗体,在相对分子质量 $43 \times 10^3$ 和 $16.8 \times 10^3$ 处分别获得内参照蛋白β-actin和FHIT蛋白条带。利用Quantity One软件分析条带的A值,以目的条带与内参β-actin条带的A值之比作为FHIT蛋白的相对表达量。

(6)细胞增殖检测:取对数生长期的CaSki细胞(细胞密度 $1 \times 10^5$  cell/ml),接种于含不同浓度叶酸

的培养液中培养48 h, 0.25%的胰蛋白酶液消化, 制成细胞悬液, 显微镜下进行活细胞计数。抑制率=(对照组细胞总数-干预组细胞总数)/对照组细胞总数。

(7) 细胞凋亡检测: 按上述方法制成细胞悬液。采用流式细胞术(FCM)收集细胞, 离心, 弃上清, PBS洗涤, 过滤, 离心, 弃上清。PE染色(Annexin V-PE凋亡试剂)15 min, 加入150  $\mu$ l binding buffer, 于流式细胞仪检测, 获得宫颈癌细胞的凋亡率。

3. 统计学分析: 采用SPSS 17.0软件进行相关资料的 $\chi^2$ 检验、Kruskal-Wallis(K-W)检验、Spearman秩相关分析, 计算相关因素与宫颈癌变之间关联强度的OR值及其95%CI。应用相加模型及交互作用指标超额相对危险度(RERI)、交互作用归因比(API)和交互作用指数(S)进行交互作用定性和定量评估。检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

## 结 果

1. 人口学特征及相关因素: CI组、CIN I组、CIN II/III组、SCC组的年龄M值分别为45.0岁(27~57岁)、46.0岁(29~67岁)、44.0岁(28~64岁)和51.0岁(28~70岁)。各组间在民族、出生地、居住地、婚姻状况、肿瘤家族史等方面的差异均无统计学意义( $P>0.05$ ), 但在年龄、文化程度、职业、人工流产史、妇科病史、HPV16感染等方面的差异均有统计学意义( $P<0.05$ ), 见表1。

2. 血清叶酸水平与宫颈癌变的关系: 血清叶酸含量为非正态分布, 经K-W检验, 各组间血清叶酸水平的总体分布差异有统计学意义( $H=59.08, P<0.001$ ), 其含量随着宫颈病变的加重而降低。以调整检验水准 $\alpha=0.0083$  ( $\alpha=0.05/$ 比较次数 $=0.05/6$ ), 采用Bonferroni法两两比较发现, SCC组和CIN II/III组的血清叶酸含量低于CIN I组和CI组, 差异均有统计学意义, 但SCC组与CIN II/III组、CIN I组与CI组间的差异均无统计学意义。进一步以CI组血清叶酸含量的50%点值为界,  $\leq 5.96$  ng/ml为低叶酸水平进行分析, 结果显示, 低血清叶酸率在SCC组、CIN II/III组和CIN I组均高于CI组, 随宫颈病变程度的加重低血清叶酸率逐渐升高(趋势 $\chi^2=32.71, P<0.001$ ), 见表2。

3. FHIT基因甲基化和蛋白表达与宫颈癌变的关系: FHIT基因的甲基化率随着宫颈病变的加重逐渐升高(趋势 $\chi^2=28.34, P<0.001$ )。FHIT蛋白表达

表1 研究对象的人口学特征及相关因素分析

因素	CI组	CIN I组	CIN II/III组	SCC组	$\chi^2$ 值	P值
年龄组(岁)					25.79	0.002
<35	10(12.5)	5(9.1)	9(16.4)	3(4.7)		
35~	33(41.3)	20(36.4)	24(43.6)	12(18.8)		
45~	33(41.3)	23(41.8)	14(25.5)	34(53.1)		
>55	4(5.0)	7(12.7)	8(14.5)	15(23.4)		
文化程度					21.14	<0.001
初中以下	17(21.3)	19(34.5)	21(38.2)	39(60.9)		
初中以上	63(78.8)	36(65.5)	34(61.8)	25(39.1)		
职业					17.12	<0.001
农民	48(60.0)	27(49.1)	30(54.5)	53(82.8)		
非农民	32(40.0)	28(50.9)	25(45.5)	11(17.2)		
人工流产史					15.81	0.001
是	51(63.8)	23(41.8)	22(40.0)	21(32.8)		
否	29(36.3)	32(58.2)	33(60.0)	43(67.2)		
妇科病史					21.19	<0.001
是	6(7.5)	16(29.1)	19(34.5)	24(37.5)		
否	74(92.5)	39(70.9)	36(65.5)	40(62.5)		
性生活后清洗					9.11	0.028
是	60(70.5)	37(67.3)	31(56.4)	34(53.1)		
否	20(25.0)	18(32.7)	24(43.6)	30(46.7)		
洗阴频率					31.79	<0.001
>3次/周	46(57.5)	18(32.7)	26(47.3)	16(25.0)		
3次/周~1次/月	32(40.0)	31(56.4)	16(29.1)	33(51.6)		
<1次/月	2(2.5)	6(10.9)	13(23.6)	15(23.4)		
洗澡频率					14.57	0.024
>1次/周	56(70.0)	27(49.1)	25(45.5)	32(50.0)		
1次/周~1次/月	17(21.3)	14(25.5)	13(23.6)	18(28.1)		
<1次/月	7(8.8)	14(25.5)	17(30.9)	14(21.9)		
孕次					15.94	0.014
>4	38(47.5)	27(49.1)	18(32.7)	20(31.3)		
3~4	30(37.5)	17(30.9)	15(27.3)	21(32.8)		
$\leq 2$	12(15.0)	14(25.5)	22(40.0)	23(35.9)		
月经初潮年龄(岁)					20.93	0.001
<14	38(47.5)	17(30.9)	21(38.2)	17(26.6)		
14~18	38(47.5)	28(50.9)	34(61.8)	44(68.8)		
>18	4(5.0)	10(18.2)	0(0.0)	3(4.7)		
HPV16感染					36.86	<0.001
阳性	14(17.5)	23(41.8)	31(56.4)	41(64.1)		
阴性	66(82.5)	32(58.2)	24(43.6)	23(35.9)		

注: 括号外数据为例数, 括号内数据为构成比(%)

量为非正态分布, 经K-W检验, 各组间FHIT蛋白表达量总体分布差异有统计学意义( $H=50.93, P<0.001$ ), 其含量随着宫颈病变的加重而降低。调整检验水准, 采用Bonferroni法两两比较发现, SCC组、CIN II/III组和CIN I组的FHIT蛋白表达量均低于CI组, 差异均有统计学意义, 但三组间相互的差异均无统计学意义。进一步以CI组FHIT蛋白表达量的50%点值为界,  $\leq 1.26$ 为低蛋白表达进行分析, 结

表 2 血清叶酸含量、FHIT 基因甲基化和 FHIT 蛋白表达与宫颈癌变的关系

组别	例数	血清叶酸		FHIT 甲基化	FHIT 蛋白	
		含量( $M \pm Q$ , ng/ml)	低水平( $\leq 5.96$ ng/ml)		表达量( $M \pm Q$ )	低表达( $\leq 1.26$ )
CI	80	5.96 ± 3.93 <sup>a</sup>	41(51.3)	4(5.0)	1.26 ± 0.11 <sup>a</sup>	41(51.3)
CIN I	55	5.08 ± 3.43 <sup>a</sup>	33(60.0)	9(16.4)	1.21 ± 0.20 <sup>a</sup>	41(74.5)
CIN II/III	55	3.92 ± 2.59 <sup>b</sup>	44(80.0)	14(25.5)	1.14 ± 0.20 <sup>b</sup>	51(92.7)
SCC	64	3.18 ± 2.71 <sup>b</sup>	59(92.2)	26(40.6)	1.13 ± 0.19 <sup>b</sup>	61(95.3)
H/趋势 $\chi^2$ 值		$H=59.08$	$\chi^2=32.71$	$\chi^2=28.34$	$H=50.93$	$\chi^2=44.96$
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:同表 1;  $M \pm Q$  为中位数 ± 四分位数间距; <sup>a, b</sup> 组间比较时相同字母表示差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 不同字母表示差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )

果显示, FHIT 蛋白低表达率在 SCC 组、CIN II/III 组和 CIN I 组均高于 CI 组, 随宫颈病变程度的加重 FHIT 蛋白低表达率逐渐升高 (趋势  $\chi^2=44.96, P < 0.001$ ), 见表 2。

4. 血清叶酸与 FHIT 蛋白表达在宫颈癌变中的相互关系: 采用 Spearman 秩相关分析显示, 宫颈病变患者总体血清叶酸含量与 FHIT 蛋白表达量呈正相关 ( $r=0.213, P=0.001$ ), 见图 1。进一步以 CI 组血清叶酸含量的 50% 点值 (5.96 ng/ml) 和 FHIT 蛋白表达量的 50% 点值 (1.26) 分别作为低血清叶酸水平和 FHIT 蛋白低表达的界值, 应用相加作用模型进行交互效应分析。结果显示, 叶酸缺乏和 FHIT 蛋白低表达在 CIN I 组、CIN II/III 组和 SCC 组均呈现正相加交互作用, 交互作用指标 RERI、API 和 S 均显示正相加效应, 调整宫颈癌相关因素后这种交互作用模式仍然存在, 各组间调整 OR (aOR) 值均有统计学意义 (表 3)。

5. 叶酸干预对宫颈癌细胞增殖凋亡及 FHIT 基因表达的影响: 随着叶酸浓度的增加, 宫颈癌细胞的增殖抑制率 ( $r=0.98, P < 0.001$ ) 和凋亡率 ( $r=0.99, P < 0.001$ ) 均逐渐上升, 与叶酸水平呈正相关; FHIT 基因甲基化程度逐渐减弱; FHIT 蛋白表达水平均逐

渐增高, 与叶酸水平呈正相关 ( $r=0.97, P < 0.001$ ), 见表 4。

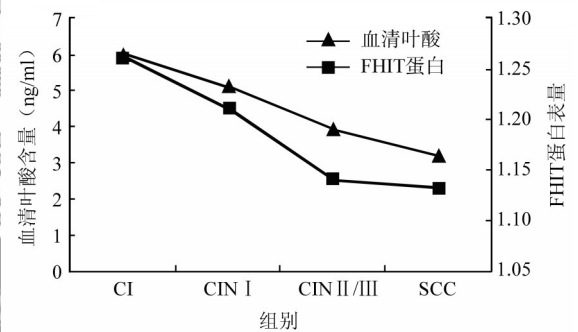


图 1 不同宫颈病变组血清叶酸含量与 FHIT 蛋白表达量的关系

讨论

宫颈癌是女性第二大恶性肿瘤, 全球新发病例 80% 以上来自发展中国家<sup>[10]</sup>。目前已证实 HPV 感染, 特别是高危型 HPV (HR-HPV) 感染是宫颈癌发生的主要病因<sup>[11]</sup>。HPV 与宿主细胞 DNA 整合是致癌过程的必要环节, 该整合最易发生在染色体脆性位点 FRA3B 处, 而叶酸缺乏可导致这种整合的概率增加<sup>[12]</sup>, 提示叶酸缺乏可能导致 HPV 的持续性感染进而增加宫颈癌的发生风险。研究表明, 高血清叶

表 3 血清叶酸与 FHIT 蛋白在各宫颈病变组中的交互作用

组别	叶酸含量 (ng/ml)	FHIT 蛋白表达量	OR 值 (95%CI)	aOR 值 (95%CI) <sup>a</sup>	RERI 值	API 值	S 值
CIN I	>5.96	>1.26	1.00	1.00	0.56	0.14	1.24
	>5.96	≤1.26	2.91(0.90 ~ 9.48)	2.73(0.70 ~ 10.70)			
	≤5.96	>1.26	1.54(0.44 ~ 5.45)	1.66(0.10 ~ 6.87)			
	≤5.96	≤1.26	4.32(1.36 ~ 13.71)	3.95(1.02 ~ 15.32)			
CIN II/III	>5.96	>1.26	1.00	1.00	30.77	0.87	9.06
	>5.96	≤1.26	3.86(0.74 ~ 20.21)	5.08(0.61 ~ 42.66)			
	≤5.96	>1.26	0.86(0.11 ~ 6.72)	0.74(0.06 ~ 9.90)			
	≤5.96	≤1.26	18.90(3.99 ~ 89.48)	35.58(4.61 ~ 274.94)			
SCC	>5.96	>1.26	1.00	1.00	121.36	0.95	22.86
	>5.96	≤1.26	3.43(0.35 ~ 33.52)	2.81(0.18 ~ 44.09)			
	≤5.96	>1.26	1.71(0.14 ~ 20.50)	4.74(0.25 ~ 89.78)			
	≤5.96	≤1.26	51.30(6.43 ~ 409.44)	127.91(10.49 ~ 1 559.14)			

注: 调整年龄、文化程度、职业、人工流产史、妇科病史、HPV16 感染等因素

表4 不同叶酸水平对宫颈癌细胞生长和FHIT蛋白表达量的影响

叶酸水平 ( $\mu\text{g/ml}$ )	抑制率 (%)	凋亡率 (%)	FHIT蛋白 ( $\bar{x}\pm s$ )
1.0	0.00	6.48	1.38 $\pm$ 0.05
10	2.16	9.11	1.43 $\pm$ 0.04
100	7.97	10.10	1.60 $\pm$ 0.03
250	14.32	13.40	1.73 $\pm$ 0.04
500	22.57	15.37	1.85 $\pm$ 0.05
1 000	39.50	16.81	1.91 $\pm$ 0.03
相关性检验	$r=0.98$ , $P<0.001$	$r=0.99$ , $P<0.001$	$r=0.97$ , $P<0.001$

酸水平的妇女感染HR-HPV的风险较低,补充叶酸对宫颈癌前病变有逆转作用<sup>[13]</sup>。本课题组前期对叶酸与宫颈癌关系的Meta分析显示随着叶酸水平降低,患宫颈癌的危险性增加<sup>[14]</sup>。本次研究显示随着宫颈病变的加重,血清叶酸含量呈现逐渐降低的趋势,且SCC组和CIN II/III组的叶酸水平明显低于CIN I组和CI组,再次验证了叶酸缺乏可增加宫颈癌发生风险的结论。在此基础上,本次进一步采用叶酸干预的体外实验研究,结果显示随着叶酸浓度的增加,宫颈癌细胞的增殖抑制率和凋亡率均逐渐上升,且均与叶酸浓度呈正相关。说明叶酸可以有效抑制宫颈癌细胞生长,提示在人群中适当补充叶酸对宫颈癌及癌前病变的预防和控制具有重要意义。

近年研究显示,HPV感染的妇女发展为宫颈癌者仅占较小比例,提示单纯HPV感染不足以引起宫颈癌的发生,很可能存在其他致癌因子或HPV协同因子。研究表明,宫颈癌的发生发展与多个抑癌基因的失活有关,FHIT基因定位于染色体3p14.2,覆盖了染色体脆性位点FRA3B及HPV16 DNA整合点,FHIT基因异常与HPV可协同触发宫颈癌发生与进展<sup>[15]</sup>。研究发现,随着宫颈病变程度的加重,FHIT蛋白表达水平逐渐下降<sup>[5,16]</sup>。本次研究分别采用甲基化特异性PCR和Western blot法测定组织和细胞中FHIT基因甲基化状态和蛋白表达水平。结果显示,随着宫颈病变的进展,FHIT基因的甲基化率逐渐升高,FHIT蛋白的表达水平逐渐降低,且SCC组和CIN组明显低于CI组。提示FHIT基因高甲基化和FHIT蛋白低表达均与宫颈癌及癌前病变的发生密切相关,特别发现FHIT蛋白这一代表基因功能状态的指标,在宫颈癌前病变的早期阶段即发生了下调,提示FHIT蛋白的检测对宫颈癌变的早期发现具有重要的预警意义。

研究显示,宫颈组织中FHIT基因的异常甲基化

是FHIT蛋白失活的重要机制之一<sup>[6,17-18]</sup>。而叶酸作为甲基供体参与DNA的甲基化过程,叶酸缺乏可导致抑癌基因异常甲基化,提示叶酸可能通过影响FHIT基因的甲基化状态,进而对FHIT蛋白的表达产生影响,但目前尚未见相关报道。本次研究显示,随着宫颈病变的加重,血清叶酸含量和FHIT蛋白表达量均呈降低趋势,两者间存在正相关关系;在CIN I组、CIN II/III组和SCC组,叶酸缺乏和FHIT蛋白低水平表达均存在正相加交互作用,且该交互作用随着宫颈病变的加重逐渐增大。体外研究发现,随着叶酸干预浓度的增加,FHIT基因的甲基化程度逐渐减弱,FHIT蛋白的表达水平逐渐升高,验证了宫颈病变妇女中的研究结果,同时提示,补充叶酸可能逆转FHIT基因的高甲基化和蛋白低表达。本次研究从患病群体和体外干预实验研究两个层面,均揭示叶酸缺乏和FHIT基因的功能降低或缺失在宫颈病变的恶性演进中均具有重要作用,当两者同时存在时,其作用具有正相加交互效应,同时提出叶酸缺乏可能通过引起FHIT基因高甲基化和蛋白低表达进而在宫颈病变中起重要作用的分子机制,为后续进行宫颈癌及其癌前病变病因和机制的研究提供了新线索,为该病干预和治疗的策略和方案的制定开拓了新思路。

## 参 考 文 献

- [1] Pathak S, Bhatla N, Singh N. Cervical cancer pathogenesis is associated with one-carbon metabolism [J]. Mol Cell Biochem, 2012, 369(1/2): 1-7.
- [2] Flatley JE, McNeir K, Balasubramani L, et al. Folate status and aberrant DNA methylation are associated with HPV infection and cervical pathogenesis [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2009, 18(10): 2782-2789.
- [3] Wang JT, Ding L, Jiang SW, et al. Folate deficiency and aberrant expression of DNA methyltransferase 1 were associated with cervical cancerization [J]. Curr Pharm Des, 2014, 20(11): 1639-1646.
- [4] Wang JT, Ma XC, Cheng YY, et al. A case-control study on the association between folate and cervical cancer [J]. Chin J Epidemiol, 2006, 27(5): 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 [J]. 中华流行病学杂志, 2006, 27(5): 424-427.
- [5] Huang LW, Chao SL, Chen TJ. Reduced fhit expression in cervical carcinoma: correlation with tumor progression and poor prognosis [J]. Gynecol Oncol, 2003, 90(2): 331-337.
- [6] Wu Y, Meng L, Wang H, et al. Regulation of DNA methylation on the expression of the FHIT gene contributes to cervical carcinoma cell tumorigenesis [J]. Oncol Rep, 2006, 16(3): 625-629.

[7] Wang JT, Gao ES, Cheng YY, et al. Analysis on synergistic action between estrogen, progesterone and human papillomaviruses in cervical cancer[J]. Chin J Epidemiol, 2005, 26(5):370-373. (in Chinese)  
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.

[8] Sun XS, Ding L, Chen F, et al. Effects of folate deficiency with HPV16 infection on cervix cancerization[J]. Chin J Epidemiol, 2014, 35(4):437-441. (in Chinese)  
孙雪松,丁玲,陈芳,等.叶酸缺乏及其与HPV16感染的交互效应对宫颈癌变的影响[J].中华流行病学杂志, 2014, 35(4): 437-441.

[9] 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. (in Chinese)  
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.

[10] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics, 2002 [J]. CA: Cancer J Clin, 2005, 55(2):74-108.

[11] Clifford GM, Smith JS, Plummer M, et al. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide a meta-analysis[J]. Br J Cancer, 2003, 88(1):63-73.

[12] 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[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94(7):3290-3295.

[13] Piyathilake CJ, Badiga S, Paul P, et al. Indian women with higher serum concentrations of folate and vitamin B12 are significantly less likely to be infected with carcinogenic or high-risk (HR) types of human papillomaviruses (HPVs) [J]. Int J Womens Health, 2010, 2:7-12.

[14] Ma JL, Wang JT, Ding L. Meta-analysis of the relationship between serum folic acid status and the risk of cervical cancer [J]. Mod Prev Med, 2008, 35(21):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[J].现代预防医学, 2008, 35(21):4121-4124.

[15] Butler D, Collins C, Mabruk M, et al. Loss of Fhit expression as a potential marker of malignant progression in preinvasive squamous cervical cancer [J]. Gynecol Oncol, 2002, 86(2): 144-149.

[16] Connolly DC, Greenspan DL, Wu R, et al. Loss of fhit expression in invasive cervical carcinomas and intraepithelial lesions associated with invasive disease [J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(9):3505-3510.

[17] Ki KD, Lee SK, Tong SY, et al. Role of 5-CpG island hypermethylation of the FHIT gene in cervical carcinoma [J]. J Gynecol Oncol, 2008, 19(2):117-122.

[18] Shi HR, Wu QH, Suo ZH, et al. Correlation between methylation of 5'-CpG islands and inactivation of FHIT gene in cervical cancer [J]. Chin J Cancer, 2005, 24(1):7-11. (in Chinese)  
史惠蓉,吴庆华,索振河,等.宫颈癌组织中FHIT基因5'端CpG岛甲基化及其与基因失活的关系[J].癌症, 2005, 24(1):7-11.  
(收稿日期:2014-11-19)  
(本文编辑:张林东)

## 中华流行病学杂志第七届编辑委员会成员名单

(按姓氏汉语拼音排序)

名誉总编辑	郑锡文(北京)	王滨有(黑龙江)	乌正赉(北京)	张孔来(北京)	赵仲堂(山东)	庄辉(北京)
顾问	曲成毅(山西)					
总编辑	李立明(北京)					
副总编辑	曹务春(北京)	冯子健(北京)	顾东风(北京)	何耀(北京)	贺雄(北京)	姜庆五(上海)
	汪华(江苏)	徐建国(北京)	詹思延(北京)			
编辑委员	毕振强(山东)	蔡琳(福建)	曹广文(上海)	曹务春(北京)	陈峰(江苏)	陈坤(浙江)
	陈可欣(天津)	陈维清(广东)	程锦泉(广东)	杜建伟(海南)	段广才(河南)	方向华(北京)
	冯子健(北京)	龚向东(江苏)	顾东风(北京)	郭志荣(江苏)	何耀(北京)	何剑峰(广东)
	贺雄(北京)	胡东生(广东)	胡国良(江西)	胡永华(北京)	胡志斌(江苏)	贾崇奇(山东)
	姜宝法(山东)	姜庆五(上海)	阚飙(北京)	康德英(四川)	李丽(宁夏)	李群(北京)
	李敬云(北京)	李俊华(湖南)	李立明(北京)	廖苏苏(北京)	刘静(北京)	刘民(北京)
	刘殿武(河北)	刘天锡(宁夏)	卢金星(北京)	陆林(云南)	栾荣生(四川)	罗会明(北京)
	吕繁(北京)	吕筠(北京)	马文军(广东)	孟蕾(甘肃)	米杰(北京)	潘凯枫(北京)
	祁禄(美国)	乔友林(北京)	邱洪斌(黑龙江)	仇小强(广西)	沈洪兵(江苏)	施榕(上海)
	施小明(北京)	时景璞(辽宁)	苏虹(安徽)	谭红专(湖南)	唐金陵(香港)	汪华(江苏)
	汪宁(北京)	王蓓(江苏)	王岚(北京)	王鸣(广东)	王定明(贵州)	王建华(天津)
	王全意(北京)	王素萍(山西)	吴凡(上海)	吴先萍(四川)	吴尊友(北京)	夏洪波(黑龙江)
	项永兵(上海)	徐飏(上海)	徐爱强(山东)	徐建国(北京)	许汴利(河南)	闫永平(陕西)
	严延生(福建)	杨维中(北京)	叶冬青(安徽)	于普林(北京)	于雅琴(吉林)	余宏杰(北京)
	俞敏(浙江)	詹思延(北京)	张瑜(湖北)	张博恒(上海)	张建中(北京)	张顺祥(广东)
	张作风(美国)	赵方辉(北京)	赵根明(上海)	赵亚双(黑龙江)	周宝森(辽宁)	周晓农(上海)
	朱谦(河南)	庄贵华(陕西)				