

# 良性脑膜瘤中 IL-1 $\beta$ 对 NF2 基因甲基化调控的作用研究

李 峰<sup>1</sup>, 张 超<sup>2</sup>

(1. 陕西省核工业二一五医院, 陕西 咸阳 712000; 2. 汉中市中心医院, 陕西 汉中 723000)

**摘要:** [目的] 探讨良性脑膜瘤中炎症因子 IL-1 $\beta$  在 NF2 甲基化中的作用及调控机制。 [方法] 利用 2 个脑膜瘤患者手术后的标本做原代细胞培养, 不同浓度 IL-1 $\beta$  (0, 0.2, 0.4, 0.8, 1.0, 10ng/ml) 处理细胞, 利用 RT-PCR 和 Western blot 检测 NF2、merlin 和 DNMTs 的表达, 利用甲基化特异性 PCR 检测 NF2 启动子甲基化水平。通过共同添加 IL-1 $\beta$  和 DNMT 抑制剂或 siRNA, 观察 IL-1 $\beta$  与 NF2 甲基化的关系。 [结果] IL-1 $\beta$  能促进脑膜瘤细胞的增殖。RT-PCR 及 Western blot 结果显示, IL-1 $\beta$  能降低脑膜瘤细胞 NF2 和 merlin 的表达。IL-1 $\beta$  能诱导脑膜瘤细胞 NF2 启动子甲基化; 同时 IL-1 $\beta$  能增加脑膜瘤细胞中 DNMT1 的表达, 而 IL-1 $\beta$  诱导脑膜瘤细胞的 NF2 启动子甲基化可以被 DNMT 抑制剂和 siRNA 抑制。 [结论] IL-1 $\beta$  通过 DNMT1 诱导 NF2 基因启动子的甲基化, 这种甲基化可以下调 NF2 基因的转录。抑制 DNMTs 可以考虑作为调控 NF2 表达和抑制脑膜瘤发展的治疗靶点。

**关键词:** 良性脑膜瘤; IL-1 $\beta$ ; NF2; 甲基化; 甲基化转移酶

**中图分类号:** R739.41 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2019)02-0116-05

**doi:** 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.02.B008

## IL-1 $\beta$ Regulates NF2 Gene Methylation in Benign Meningioma

LI Feng<sup>1</sup>, ZHANG Chao<sup>2</sup>

(1. No.215 Hospital of Shaanxi Nuclear Industry, Xianyang 712000, China;

2. Hanzhong Central Hospital, Hanzhong 723000, China)

**Abstract:** [Objective] To investigate the role of IL-1 $\beta$  in regulating the NF2 gene methylation in benign meningioma. [Methods] The primary meningioma cells obtained from 2 patients were cultured, and the cells were treated with IL-1 $\beta$  at different concentrations (0, 0.2, 0.4, 0.8, 1.0, 10ng/ml). The mRNA and protein expressions of NF2, merlin and DNMT were detected by RT-PCR and Western blot, respectively. The methylation level of NF2 promoter was detected by MS-PCR. The relationship between IL-1 $\beta$  and NF2 methylation was observed by co-treatment with IL-1 $\beta$  and DNMT inhibitors or siRNA. [Results] IL-1 $\beta$  promoted the proliferation of meningioma cells. RT-PCR and Western blot results showed that IL-1 $\beta$  reduced the expression of NF2 and Merlin in meningioma cells. IL-1 $\beta$  induced methylation of NF2 gene promoter in meningioma cells, and increased the expression of DNMT1 in meningioma cells, while this effect was inhibited by DNMT inhibitors and siRNA. [Conclusion] IL-1 $\beta$  induces methylation of NF2 gene promoter through DNMT1, which can downregulate the transcription of NF2 gene. Inhibition of DNMTs might be used as a therapeutic approach for regulating the expression of NF2 and inhibiting the development of meningioma.

**Subject words:** benign meningioma; IL-1 $\beta$ ; NF2; methylation; DNMTs

脑膜瘤起源于大脑, 人群发病率 1.3/10 万到 7.8/10 万<sup>[1]</sup>。根据 2007 WHO 分类, 约 90% 的脑膜瘤

为良性肿瘤 (I 级)<sup>[2,3]</sup>。常规手术是脑膜瘤的主要治疗手段, 但病理性良性脑膜瘤在肿瘤完全切除后仍可复发, 其复发率约为 7%~25%<sup>[4]</sup>。研究表明, 脑膜瘤切除程度、骨侵犯和肿瘤组织病理学是其主要的预后因素<sup>[5]</sup>。神经纤维瘤病 2 型 (neurofibromatosis

**通信作者:** 张超, 副主任医师, 硕士; 汉中市中心医院神经外科, 陕西省汉中市汉台区劳动西路中段 557 号 (723000); E-mail: zhangchao2735@163.com

**收稿日期:** 2018-03-06; **修回日期:** 2018-05-14

type 2, NF2) 是一种常染色体显性遗传性疾病, NF2 基因的失活在肿瘤的发生、发展过程中起重要作用, 但和脑膜瘤的生长无关<sup>[6]</sup>。研究表明, 约 60% 的零星脑膜瘤和 NF2 基因突变导致的失活、杂合性缺失及启动子甲基化有关<sup>[7,8]</sup>。NF2 基因的转录产物 merlin, 已被证实在控制细胞增殖中起着重要作用<sup>[8]</sup>。NF2 基因启动子甲基化水平是恶性脑膜瘤中 merlin 的表达与肿瘤生长的一个关键因素。大量研究表明, 促炎性细胞因子白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ) 在多种肿瘤包括脑膜瘤中表达升高, 并在肿瘤的生长、转移和血管生成中发挥重要作用<sup>[9-11]</sup>。本研究通过对良性脑膜瘤中 IL-1 $\beta$  和 NF2 启动子甲基化的关系进行研究, 探讨脑膜瘤发生的分子机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞分离与培养

两个原发性脑膜瘤细胞来自外科手术标本 (WHO I 级)<sup>[12]</sup>。肿瘤组织切成小于 1mm<sup>3</sup> 0.25% 胰蛋白酶消化 1h。室温离心 1000g $\times$ 5min, 弃上清; 沉淀加入适量含 10% FBS 的 DMEM/F12 培养基 (含 100 IU/ml 青霉素, 100  $\mu$ g/ml 链霉素) 重悬细胞, 接种于 35 mm 培养皿中, 置于 37 $^{\circ}$ C、含 5%CO<sub>2</sub>、99% 湿度的培养箱中培养过夜, 次日换液。组织标本的获取及实验研究计划获得医院伦理委员会批准, 术前告知患者及患者家属并签署知情同意书。

### 1.2 试剂与仪器

PCR 仪购自德国 Eppendorf 公司; 激光共聚焦购自德国 Zeiss 公司, 凝胶图像分析系统购自美国 Bio-Rad 公司; 100/500 型电泳仪和转移仪购自美国 Bio-Rad 公司; 酶标仪购自美国 Thermo 公司; DN-MTs 的抑制剂 AZA 购自美国 Sigma 公司。

### 1.3 细胞增殖实验

通过 CCK-8 试剂盒测定细胞活性 (碧云天, 中国)。根据说明书, 2 $\times$ 10<sup>3</sup>/孔细胞接种于 96 孔平底板, 在 37 $^{\circ}$ C 培养箱放置 24h。然后, 用不同浓度 (0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、10ng/ml) 的 IL-1 $\beta$  处理细胞不同时间。将 10 $\mu$ l CCK-8 溶液分别添加到每个孔中, 混合培养 2h 后, 用酶标仪在 450nm 测定吸光度。

### 1.4 实时定量 PCR 实验

采用 Trizol 法提取细胞的总 RNA, 并通过 RT

Master Mix 试剂盒 (Takara, 日本) 反转录成 cDNA。检测系统为 Applied Biosystems Real-Time PCR, 反应条件如下: 95 $^{\circ}$ C 30s, 95 $^{\circ}$ C 5s, 60 $^{\circ}$ C 34s 循环 40 次。通过测定 Ct 值表示目的基因 mRNA 表达量, 基因表达的相对变化用 2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup> 法分析表示。

### 1.5 甲基化特异性 PCR 实验 (MS-PCR)

根据说明书, 用 Takara MiniBEST Universal Genomic DNA Extraction Kit (TaKaRa, 日本) 抽提细胞中的 DNA, 然后用 CpGenome Turbo Bisulfite Modification Kit (MERCK MILLIPORE, 德国) 进行 DNA 的重亚硫酸氢化处理。通过 MethPrimer 设计用来区分 NF2 启动子 CpG 岛的甲基化特异性引物, 甲基化正向引物: 5'-AGTTTGACGAATATGGAGAAA-TTTC-3', 反向引物: 5'-ACTAAAATACAATAACGCG-ATCTCG-3'; 非甲基化正向引物: 5'-TTAGTTTGAT-GAATATGGAGAAATTTT-3', 反向引物: 5'-ACTAAAATACAATAACACAATCTCAAC-3'。用 EpiScope MSP kit (TaKaRa, 日本) 进行 MS-PCR 实验。取 5 $\mu$ l PCR 产物在含有溴化乙锭的 2.0% 琼脂糖电泳上检测, 用 Gene Genius 生物成像系统 (Syngene, 美国) 照相、分析。

### 1.6 Western blot 实验

将细胞用含蛋白酶抑制剂的 RIPA (Thermo, 美国) 冰上裂解 30min。用干净的刮棒将细胞刮于培养皿的一侧, 然后用移液枪将细胞碎片和裂解液移至 1.5ml 离心管中。4 $^{\circ}$ C, 12 000 rpm 离心 5 min, 上清即为细胞总蛋白。将蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳分离 (每孔 40  $\mu$ g 上样), 转至 PVDF 膜。室温下用含 5% 牛血清白蛋白的 TBS 缓冲液封闭 1 h。然后与一抗 (1:1000) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 次日再与 HRP 标记的二抗 (1:5000) 室温孵育 1 h。TBST 洗涤 3 次后, 用 ECL 试剂盒显影成像。

### 1.7 siRNA 实验

设计 DNMT1 基因的 siRNA 引物序列, 上游: GGCGGCTCAAAGATTTGGATT, 下游: TCCAAATC-TTTGAGCCGCTG。构建 DNMT1 基因的 siRNA 载体。转染前 1d, 将细胞消化、接种至培养板中, 并加入不含双抗的完全培养基, 培养箱中继续培养, 使转染前细胞融合至 40% 左右。转染前, 去除培养板中的培养基, PBS 冲洗 2 遍。每个孔加入 1.5ml 无血清的 DMEM/F12 培养基。将 5 $\mu$ l 质粒储存液稀释于

250μl 不含血清的 Opti-MEM 培养基中,轻轻混匀,室温放置 5min。将 5μl lipo2000 稀释于 250μl 不含血清的 Opti-MEM 培养基中,轻轻混匀,室温放置 5min。将上述稀释液逐一混合,轻轻混匀,室温放置 20min; 将上述质粒 lipo2000 混合液每孔 500μl 加入培养板各孔中,轻轻混匀,放入培养箱中继续培养;6h 后,移除培养基,更换为完全培养基。SYBR Green 荧光定量 PCR 法检测 DNMT1 的表达,确定转染成功及抑制率, DNMT1 基因的 mRNA 表达抑制率为 52.54%。

### 1.8 统计学处理

采用 SPSS 20.0 进行统计分析, 计量资料以均数±标准差表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验, 3 组及以上比较采用单因素方差分析, P<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 IL-1β 促进脑膜瘤细胞增殖

不同浓度 IL-1β (0,0.2,0.4, 0.8,1.0,10ng/ml) 处理细胞 24h,结果显示,脑膜瘤细胞存活率高于对照组,且呈剂量依赖性。见 Figure 1,Table 1。

### 2.2 IL-1β 对 NF2 和 merlin 的表达及 NF2 启动子甲基化的作用

1ng/ml IL-1β 处理细胞 6h 细胞后与对照组相比, NF2 基因的表达受到抑制 (Table 2)。不同浓度的 IL-1β (0,0.2,0.4,0.8,1.0,10ng/ml) 处理细胞 12h, merlin 蛋白表达呈剂量依赖性降低 (Figure 2)。

不同浓度的 IL-1β (0,0.2,0.4,0.8,1.0,10ng/ml) 处理细胞 12h 后结果显示, 脑膜瘤细胞中观察到大量 NF2 启动子发生甲基化, NF2 启动子非甲基化水平呈显著的剂量依赖性降低 (Table 3)。

### 2.3 IL-1β 增加脑膜瘤细胞中 DNMT1 的表达

不同浓度 IL-1β (0, 0.2,0.4,0.8,1.0,10ng/ml) 处理细胞 12h。Western blot 检测 DNMT1, DNMT3A 和 DNMT3B 的蛋白表达水平, β-actin 作为内参。甲基化转移酶 DNMT1, DNMT3A 和 DNMT3B 检测结果显

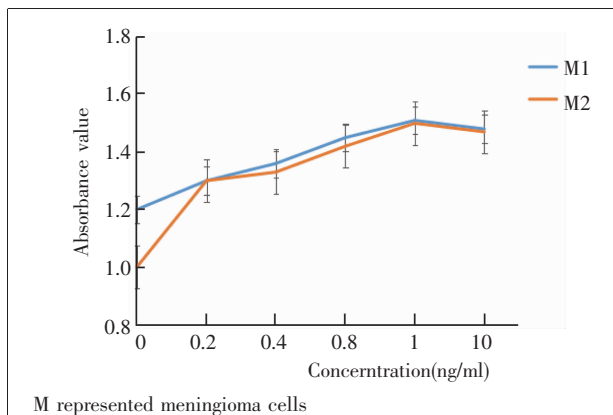


Figure 1 Comparison of absorbance of CKK-8 in meningioma cells after treated with different concentration of IL-1 β

Table 1 IL-1 β promotes the viability of meningioma/meningeal cells

Cells	Control	0.2	0.4	0.8	1.0	10
M1	1.20±0.10	1.30±0.17	1.36±0.19*	1.45±0.06*	1.51±0.05*	1.48±0.20*
M2	1.00±0.15	1.30±0.12*	1.33±0.08*	1.42±0.05*	1.50±0.21*	1.47±0.12*

Note: Compared with control group, \*P<0.05

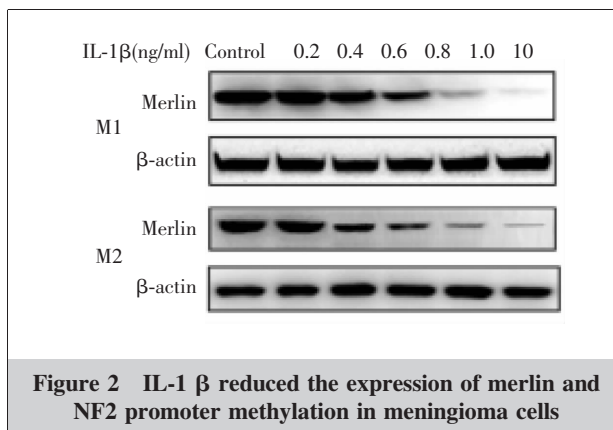


Figure 2 IL-1 β reduced the expression of merlin and NF2 promoter methylation in meningioma cells

Table 2 The relative expression of NF2 mRNA

Cells	Control group	IL-1 β treatment group	t	P
M1	0.98±0.23	0.65±0.16	2.034	0.025
M2	1.06±0.29	0.42±0.21	7.026	<0.001

Table 3 NF2 gene promoter methylation level

Index	Control	0.2	0.4	0.8	1.0	10
M1-M	0.21±0.08	0.46±0.06*	0.55±0.12*	1.34±0.31*	1.69±0.15*	1.48±0.22*
M1-UM	0.73±0.05	0.58±0.07*	0.52±0.08*	0.54±0.02*	0.38±0.03*	0.29±0.03*
M2-M	0.62±0.18	0.49±0.10	0.98±0.15*	1.96±0.20*	1.89±0.28*	3.95±0.38*
M2-UM	1.20±0.32	0.58±0.14*	0.42±0.12*	0.28±0.07*	0.19±0.05*	0.15±0.19*

Note: M1-M represents the level of methylation of the NF2 promoter of the meningioma cell M1, and M1-UM represents the level of the non methylation of the NF2 gene promoter of the meningioma cells M1. Compared with control group, \*P<0.05.

示: 脑膜瘤细胞中只有 *DNMT1* 基因表达明显增加 ( $P<0.001$ ), 而 *DNMT3a* 和 *DNMT3b* 没有受到 *IL-1 $\beta$*  处理的影响 ( $P>0.05$ )。见 Table 4、5。

#### 2.4 *IL-1 $\beta$* 诱导脑膜瘤细胞的 NF2 启动子甲基化可被 DNMT 抑制剂和 siRNA 抑制

*IL-1 $\beta$*  (1ng/ml) 和 AZA 或 siRNA 共同处理脑膜瘤细胞 12h 后结果显示: *IL-1 $\beta$*  诱导脑膜瘤细胞的 NF2 启动子甲基化可以被 DNMT 抑制剂和 siRNA 抑制 (Figure 3A, Table 6), 提示 DNMTs 在 *IL-1 $\beta$*  和 NF2 启动子甲基化之间的关键作用。Merlin 的表达结果显示: 与对照组相比, *IL-1 $\beta$*  明显下调。与 *IL-1 $\beta$*  组相比, AZA 或 *DNMT1* siRNA 共培养组 merlin 表达升高 (Figure 3B, Table 7)。

### 3 讨论

脑膜瘤原发于蛛网膜的蛛网膜内皮细胞, 绝大多数为良性肿瘤。目前临床上多采用手术治疗, 效果较好, 但有部分脑膜瘤即使病理学特征是良性肿瘤, 包膜完整, 手术切除后仍出现复发。脑膜瘤术后复发是神经外科治疗脑膜瘤的一大难题, 为寻找良性脑膜瘤术后复发相关因素, 本研究从分子角度研究发病机制。在本研究中, 探讨了良性脑膜瘤 *IL-1 $\beta$*  在 *NF2* 基因甲基化中的调控机制, 发现 *IL-1 $\beta$*  通过 *DNMT1* 诱导 *NF2* 基因启动子的甲基化, 而且这种甲基化可以下调 *NF2* 基因的转录。表明 *IL-1 $\beta$*  是脑膜瘤中异常的 *NF2* 启动子甲基化的一种可能因素, *DNMTs* 在 *IL-1 $\beta$*  诱导的 *NF2* 基因启动子甲基化过程中起着至关重要的作用。

慢性炎症增加肿瘤发生的风险, 促进肿瘤的发展和转移扩散<sup>[11]</sup>。在肿瘤发生发展的初级阶段, 炎症介质如细胞因子、活性氧 (ROS) 和活性氮 (RNS) 引起的表观遗传学改变导致肿瘤抑制基因沉默<sup>[12]</sup>。表观遗传学机制, 尤其是 DNA 甲基化, 被认为是慢

Table 4 The relative expression of DNMTs mRNA

Index	Control group	<i>IL-1<math>\beta</math></i> treatment group
M1-DNMT1	1.15±0.23	13.55±2.68*
M1-DNMT3a	1.11±0.12	1.28±0.20
M1-DNMT3b	0.98±0.21	1.19±0.14
M2-DNMT1	1.03±0.15	5.21±0.48*
M2-DNMT3a	1.18±0.30	1.34±0.17
M2-DNMT3b	1.05±0.28	1.20±0.13

Note: Compared with control group, \* $P<0.01$

Table 5 The relative expression of DNMTs protein

Index	Control	0.2	0.4	0.8	1.0	10
M1-DNMT1	0.48±0.25	0.51±0.27	0.62±0.30	0.85±0.18**	1.38±0.32*	1.62±0.20**
M1-DNMT3a	1.40±0.12	1.49±0.16	1.42±0.11	1.39±0.22	1.34±0.20	1.36±2.56
M1-DNMT3b	1.15±0.33	1.12±0.25	1.10±0.27	0.98±0.12	1.14±0.30	0.97±0.38
M2-DNMT1	0.32±0.18	0.30±0.12	0.35±0.10	0.62±0.22*	0.66±0.20*	0.52±0.14*
M2-DNMT3a	1.38±0.18	1.46±0.15	1.52±0.20	1.41±0.18	1.42±0.21	1.45±0.25
M2-DNMT3b	0.52±0.10	0.54±0.18	0.53±0.09	0.56±0.16	0.54±0.15	0.49±0.20

Note: Compared with control group, \* $P<0.05$

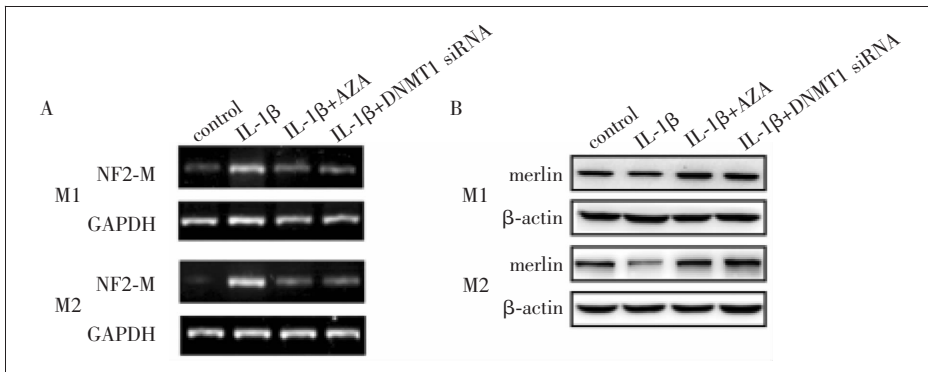


Figure 3 Inhibition of DNMTs down-regulation of *NF2* methylation induced by *IL-1 $\beta$*  and restoration of merlin expression

Table 6 The methylation level of *NF2* gene promoter

Cells	Control	<i>IL-1<math>\beta</math></i>	<i>IL-1<math>\beta</math></i> +AZA	<i>IL-1<math>\beta</math></i> +DNMT siRNA
M1	1.05±0.08	3.82±0.21	1.62±0.15*	1.88±0.19*
M2	1.10±0.12	1.91±0.13	1.42±0.14*	1.40±0.16*

Note: Compared with control group, \* $P<0.05$

Table 7 The relative expression of merlin protein

Cells	Control	<i>IL-1<math>\beta</math></i>	<i>IL-1<math>\beta</math></i> +AZA	<i>IL-1<math>\beta</math></i> +DNMT siRNA
M1	1.02±0.10	0.81±0.22	1.55±0.13***	1.47±0.15***
M2	1.14±0.32	0.78±0.23	1.48±0.12**	1.51±0.11**

Note: Compared with control group, \* $P<0.05$

性炎症和肿瘤发生之间的转换, 如胃癌、肝细胞癌和结肠癌<sup>[13]</sup>。以往的研究也支持这一想法, 沉默的 *NF2* 基因表达与脑膜瘤的<sup>[5,13]</sup>的初始阶段有关。本研究进一步证实了脑膜瘤中 *NF2* 基因的甲基化是 *IL-1 $\beta$*  所致, 这一结果也提示炎症微环境对脑膜瘤的表观遗



传改变的作用。

DNA 甲基化是哺乳动物基因表达的表观遗传调控过程中的一个关键过程。DNMT1、DNMT3a 和 DNMT3b 在哺乳动物细胞 DNA 甲基化中扮演不同的角色。最近的研究表明,在肿瘤发生中 DNMTs 起着重要的作用,并且在不同肿瘤中表达明显不同<sup>[14]</sup>。DNMT1 和 DNMT3a 在散发性乳腺癌中高表达,和雌激素受体  $\alpha$  表达减少及预后差相关<sup>[15]</sup>。然而,在胶质瘤中, DNMT1 和 DNMT3b 高表达<sup>[16]</sup>。我们的结果也显示,在正常脑膜瘤细胞中 DNMTs 可以被诱导表达。脑膜瘤细胞经 IL-1 $\beta$  处理后,只有 DNMT1 的表达上调, DNMT3a 和 DNMT3b 未受明显影响。

目前, DNMTs 被认为是癌症预防和治疗的新靶点<sup>[17]</sup>。几种酶的抑制剂已被开发,如 AZA, 4-脱氧尿苷,他们已被用于治疗血液系统恶性肿瘤、妇科肿瘤和肺癌。本实验使用了 AZA 和 DNMT1 siRNA, 结果表明, IL-1 $\beta$  诱导的 NF2 基因甲基化可以被 DNMT 抑制剂抑制, IL-1 $\beta$  抑制 merlin 表达也可以被逆转。脑膜瘤复发或残留是临床面临的一大挑战, 临床分析显示复发与性别、部位、组织学特征、骨或软组织侵犯有关。分子标记可能包括更高的 PI、PR 阴性表达, 而 p53、bcl2 和 Her-2 的阳性表达。其他基因, 包括 Wnt、CKS2、UCHL1, 也在脑膜瘤的发生和复发中显著异常表达。本研究通过对分子机制的阐述, 有助于理解炎症环境和 NF2 基因的表观遗传改变导致脑膜瘤复发“再生”。

综上所述, 表观遗传学机制是炎症与肿瘤发生之间的“桥梁”, 甲基化转移酶表达的异常和 NF2 基因的甲基化在 IL-1 $\beta$  诱导的细胞增殖过程中发挥了关键作用, 抑制 DNMTs 可以考虑作为调控脑膜瘤 NF2 表达和抑制肿瘤发展的治疗靶点。

## 参考文献:

- [1] Baldi I, Engelhardt J, Bonnet C, et al. Epidemiology of meningiomas[J]. Neurochirurgie, 2014, 64(1):5-14.
- [2] Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system[J]. Acta Neuro pathol, 2007, 114(2):97-109.
- [3] Zhao J, Li X, Liang J, et al. Morphological coding analysis of meningioma [J]. Chinese Medical Record, 2017, 18(3):28-30. [赵杰, 李想, 梁健, 等. 脑膜瘤形态学编码分析[J]. 中国病案, 2017, 18(3):28-30.]
- [4] Abdelzaher E, El-Gendi SM, Yehya A, et al. Recurrence of benign meningiomas: predictive value of proliferative index, BCL2, p53, hormonal receptors and HER2 expression [J]. Br J Neurosurg, 2011, 25(6):707-713.
- [5] Liu X, Wang SS, Mei JH. Research progress in treatment of meningioma [J]. Journal of Nanchang University(Medical Science), 2017, 57(1):93-96. [刘漩, 王珊珊, 梅金红. 脑膜瘤治疗的研究进展 [J]. 南昌大学学报(医学版), 2017, 57(1):93-96.]
- [6] Agarwal S, Amin KS, Jagadeesh S, et al. Mahanine restores RASSF1A expression by down-regulating DNMT1 and DNMT3B in prostate cancer cells[J]. Mol Cancer, 2013, 12(1):99.
- [7] Huang FY, Chan AO, Lo RC, et al. Characterization of interleukin-1beta in Helicobacter pylori-induced gastric inflammation and DNA methylation in interleukin-1 receptor type 1 knockout (IL-1R1 (-/-)) mice [J]. Eur J Cancer, 2013, 49(12):2760-2770.
- [8] Yang X, Zhang JQ, Wei CM. Research progress of p53 and NF2 gene methylation in cervical cancer [J]. Advances in Modern Obstetrics and Gynecology, 2016, 25(11):862-863. [杨杏, 张建青, 魏春梅. p53 和 NF2 基因甲基化在宫颈癌中研究进展 [J]. 现代妇产科进展, 2016, 25(11):862-863.]
- [9] Liu Y, Mayo MW, Nagji AS, et al. Phosphorylation of RelA/p65 promotes DNMT-1 recruitment to chromatin and represses transcription of the tumor metastasis suppressor gene BRMS1[J]. Oncogene, 2012, 31(9):1143-1154.
- [10] Kar S, Deb M, Sengupta D, et al. An insight into the various regulatory mechanisms modulating human DNA methyltransferase 1 stability and function[J]. Epigenetics, 2012, 7(9):994-1007.
- [11] Jiao YY, Fu P. Research progress in relationships between thyroid carcinoma and interferon- $\gamma$  and interleukin-6 [J]. Practical Oncology Journal, 2017, 31(1):88-92. [教玉颖, 付鹏. 甲状腺癌与干扰素- $\gamma$ 、白介素-6 关系的研究进展 [J]. 实用肿瘤学杂志, 2017, 31(1):88-92.]
- [12] Huang FY, Chan AO, Rashid A, et al. Helicobacter pylori induces promoter methylation of E-cadherin via interleukin-1beta activation of nitric oxide production in gastric cancer cells[J]. Cancer, 2012, 118(20):4969-4980.
- [13] Cairo S, Buendia MA. How transient becomes stable: an epigenetic switch linking liver inflammation and tumorigenesis[J]. J Hepatol, 2012, 57(4):910-912.
- [14] Zhao SL, Wang J. New progress of the research on the DNA methyltransferases in the pathogenesis of carcinoma [J]. Practical Oncology Journal, 2014, 12(1):75-80. [赵淑磊, 王京. DNA 甲基转移酶在肿瘤发病机制中的研究进展 [J]. 实用肿瘤学杂志, 2014, 12(1):75-80.]
- [15] Forde PM, Brahmer JR, Kelly RJ. New strategies in lung cancer: epigenetic therapy for non-small cell lung cancer [J]. Clin Cancer Res, 2014, 20(9):2244-2248.
- [16] Kyriakis JM, Avruch J. Mammalian MAPK signal transduction pathways activated by stress and inflammation: A 10-year update[J]. Physiol Rev, 2012, 92(2):689-737.
- [17] Subramaniam D, Thombre R, Dhar A, et al. DNA methyltransferases: a novel target for prevention and therapy[J]. Front Oncol, 2014, 4(4):80.