

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.03.006

· 基础研究 ·

Bin1 甲基化对食管鳞状细胞癌 TE13 细胞侵袭能力的影响

王雪晓, 刘天旭, 邓佳, 段玉青, 吕微, 刘丽华(河北医科大学第四医院 生物治疗科, 河北 石家庄 050035)

[摘要] **目的:** 检测食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)细胞株 TE13 中(bridge integration factor 1, *Bin1*)甲基化状态, 分析去甲基化药物 5-Aza-dC 去甲基化前后 *Bin1* 表达水平、甲基化状态及细胞生物活性的变化, 探讨 ESCC 发生的可能机制及治疗策略。**方法:** 采用 qRT-PCR 方法检测去甲基化前后 TE13 细胞 *Bin1* mRNA 的表达, MSP 法检测 ESCC 细胞株 TE13 中 *Bin1* 启动子区甲基化状态, 划痕实验及 Transwell 实验分别检测去甲基化对 TE13 细胞迁移及侵袭能力的影响, Western blotting 法检测 *Bin1* 与基质金属蛋白酶 2(MMP-2)及基质金属蛋白酶 9(MMP-9)蛋白的表达变化。**结果:** TE13 细胞株中 *Bin1* 表现为完全甲基化状态, *Bin1* mRNA 呈低表达, 经 5-Aza-dC 处理后 *Bin1* mRNA 表达显著升高($P < 0.01$); 划痕试验及 Transwell 试验显示去甲基化处理可明显降低 TE13 细胞迁移、侵袭能力($P < 0.01$); 经 5-Aza-dC 处理后 *Bin1* 蛋白表达显著升高($P < 0.01$), MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达显著降低(均 $P < 0.01$)。**结论:** DNA 甲基化是 *Bin1* 低表达或缺失的重要机制之一, 并可能通过调节 MMP-2 和 MMP-9 蛋白的表达, 影响食管鳞状细胞癌细胞株 TE13 迁移、侵袭能力。

[关键词] 食管鳞状细胞癌; 桥接整合因子-1; 脱氧核糖核酸甲基化; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R735.1; R730.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2017)03-0247-06

Effect of *Bin1* methylation on invasion ability of esophageal squamous cell carcinoma TE13 line cell

WANG Xuexiao, LIU Tianxu, DENG Jia, DUAN Yuqing, LYU Wei, LIU Lihua (Department of Biotherapy, The 4th Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050035, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To detect methylation status of *Bin1* in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) TE13 line cell, to analyze changes of expression level of *Bin1*, its methylation status and bioactivity of the TE13 cell before and after demethylation with demethylation agent 5-Aza-dC, and to explore possible mechanism and therapeutical strategies of ESCC. **Methods:** Using qRT-PCR, expression of bridge integration factor 1 (*Bin1*) mRNA in the TE13 cell at pre- and post-demethylation of *Bin1* was detected. Methylation status of *Bin1* promoter region in the TE13 cells were detected by SDP assay. Effects of demethylation on abilities of migration and invasion of the TE13 cell were respectively tested by scratch and Transwell assays. To use Western blotting assay, expressions of *Bin1*, matrix metalloproteinases-2 (MMP-2) and MMP-9 proteins in the TE13 cell were detected. **Results:** *Bin1* in the TE13 cell was presented as a complete methylation. Expression of *Bin1* mRNA was low, and after the treatment of 5-Aza-dC, expression of *Bin1* mRNA was significantly increased ($P < 0.01$). Results of scratch and Transwell assays showed that treatment of demethylation evidently decreased migration and invasion abilities of the TE13 cell (all $P < 0.01$). After the treatment with 5-Aza-dC, expression of *Bin1* protein was markedly increased, expressions of MMP-2 and MMP-9 proteins were significantly decreased (all $P < 0.01$). **Conclusion:** DNA methylation could be one of important mechanisms for low expression or absence of *Bin1*, and the methylation could affected migration and invasion abilities of the TE13 cell by regulating expressions of MMP-2 and MMP-9 proteins.

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81201607); 河北省杰出青年基金资助项目(No. H2014206320); 河北省高层次人才项目资助(A201401040)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81201607), the Outstanding Youth Foundation of Hebei Province (H2014206320), and the Fundation for High Level Talents of Hebei Province (A201401040)

[作者简介] 王雪晓(1989-), 男, 硕士生, 主要从事肿瘤生物治疗的临床与基础研究, E-mail: wangxuexiao217@163.com

[通信作者] 刘丽华(LIU Lihua, corresponding author), 博士, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事肿瘤免疫与生物治疗, E-mail: lihualiu567@hotmail.com

[**Key words**] esophageal squamous cell carcinoma(ESCC); bridge integration factor 1 (Bin1); DNA methylation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(3): 247-252. DOI:10.3872/j. issn. 1007-385X. 2017. 03. 006]

食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是我国最常见的消化道恶性肿瘤之一,虽然近年来食管癌的诊疗水平不断提高,但其总生存期并没有显著改善^[1],侵袭转移仍是食管癌预后差的重要原因之一。越来越多的研究表明表观遗传学改变特别是 DNA 甲基化在食管癌发生发展中发挥重要作用^[2-3]。桥接整合因子-1(bridging integrator-1, Bin1)是具有抑癌功能的配体蛋白,在多种实体肿瘤中呈低表达或缺失状态^[4-5],但其低表达或缺失的原因及所影响的细胞生物学特征的相关研究目前甚少。DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)抑制剂 5-氮杂-2'-脱氧胞苷(5-Aza-2'-deoxycytidine, 5-Aza-dC)可以通过去甲基化作用使多种 CpG 岛处于高甲基化状态的抑癌基因表达增加或重新表达,从而恢复这些抑癌基因的抑癌功能^[6-7]。本课题组的前期研究发现 *Bin1* 在 ESCC 中呈低表达状态,并与其预后密切相关^[8],并发现在 ESCC 中 *Bin1* 启动子区 CpG 岛存在异常甲基化状态。作为一个功能比较强大的抑癌基因,研究造成其低表达原因并通过调节其表达使 *Bin1* 在 ESCC 中行使其抑癌功能意义重大。本研究通过体外实验检测 *Bin1* 在食管癌细胞中的甲基化状态,并用 5-Aza-dC 干预食管癌细胞,分析 *Bin1* 甲基化与食管癌细胞迁移、侵袭的关系,旨在探讨 *Bin1* 甲基化在 ESCC 中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 试剂

TRIzol 购于美国 Invitrogen 公司。反转录试剂盒、Wizard DNA 纯化试剂盒、均购于美国 Promega 公司。蛋白酶 K 购于美国 Ambion 公司,小牛血清购于美国 Gibco 公司。RPMI 1640 培养液和 5-Aza-dC 购于美国 Sigma 公司。qRT-PCR 及甲基化特异性 PCR(methylation specific PCR, MSP)引物(表 1)均由北京赛百盛基因技术有限公司合成。*Bin1*、基质金属蛋白酶 2(MMP-2),基质金属蛋白酶 9(MMP-9)单克隆抗体购自美国 CST 公司, β -actin 单抗购自美国 Abcam 公司。

1.2 ESCC 细胞培养

食管鳞状细胞癌 TE13 株细胞保存于河北医科大学第四医院科研中心,用含 10% 小牛血清、青霉

素(1 00 U/ml)、链霉素(100 μ g/ml) 的 RPMI1640 培养液,置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱培养。同时加入 DNA 甲基转移酶抑制剂 5-Aza-dC (5 μ mol/L)处理 TE13 细胞,培养 48 h,第 3 天换含 10% 小牛血清的培养液继续培养 24 h,收集细胞。

表 1 MSP 及 qRT-PCR 引物序列

Tab.1 Primer sequences of MSP and qRT-PCR

Target	Primer sequence
Methylation	F: 5'-GGAAGATTAAGACGTTAGGTCGGCG-3'
	R: 5'-ACCGAACCTCAAACCGCGATCGACG-3'
Unmethylation	F: 5'-GGAAGATTAAGATGTTAGGTTGGTG-3'
	R: 5'-ACCAAACCTCAAACCACAATCAACA-3'
<i>Bin1</i>	F: 5'-CAAGTCCCCATCTCAGCCAG-3'
	R: 5'-GGATCACCAGCACCACATCA-3'
β -actin	F: 5'-GTCACCTTCACCGTTCCAGTTTT-3'
	R: 5'-CTTAGTTGCGTTACACCCTTTCTT-3'

F: Forward primer; R: Reverse primer

1.3 qRT-PCR 法检测 5-Aza-dC 处理对 *Bin1* 在 TE13 细胞中表达的影响

按 TRIzol 试剂盒操作步骤提取 5-Aza-dC 处理前后的 ESCC 细胞及 10 例正常食管上皮组织的总 RNA,用紫外分光光度计测量 RNA 的浓度及纯度,以 $D_{260}/D_{280} > 1.8$ 并且 $D_{260}/D_{230} > 2.0$ 的 RNA 为模板,按反转录试剂盒步骤将其反转录为 cDNA,用 qRT-PCR 反应体系扩增,以 β -actin 作为内参照。扩增条件: 95 $^{\circ}$ C 10 min; 95 $^{\circ}$ C 45 s, 45 s, 72 $^{\circ}$ C 50 s, 共 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 7 min。用 Real-time PCR 仪分析 TE13 细胞去甲基化前后 *Bin1* mRNA 表达水平,绘制溶解曲线。以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ [$\Delta\Delta CT = ($ 去甲基化前 CT 值 - 去甲基化前内参 CT 值) - (去甲基化后 CT 值 - 去甲基化后内参 CT 值)] 作为 TE13 细胞去甲基化前后 mRNA 的相对表达水平。用不同传代次数的 TE13 细胞重复实验 3 次。

1.4 MSP 检测去甲基化前后 TE13 细胞中 *Bin1* 的甲基化状态

用酚/氯仿抽提法提取去甲基化前后 TE13 细胞 DNA,用紫外分光光度计测量 DNA 浓度及纯度。

用亚硫酸氢盐处理纯化 DNA,由于亚硫酸氢盐不能使甲基化 DNA 的“C”转变为“U”,但可以使未甲基化 DNA 的“C”转变为“U”,并在随后的扩增中将“U”转化为“T”,根据这一原理设计甲基化与非甲基化引物(见表 1)检测是否甲基化。扩增条件:95 °C 5 min;95 °C 30 s,30 s,72 °C 60 s,共 35 个循环;72 °C 5 min。MSP 扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳,用 GeneSys 图像分析系统分析。若甲基化引物扩增获得目的条带而非甲基化引物扩增未获得目的条带,为完全甲基化;若甲基化引物和非甲基化引物扩增均获得目的条带为不完全甲基化;若甲基化和非甲基化引物扩增均未获得目的条带,为未甲基化。用双蒸水代替 DNA 为阴性对照,用甲基化酶 *Sss* I 处理 DNA 为阳性对照。用不同传代次数的 TE13 细胞重复实验 3 次。

1.5 划痕实验检测去甲基化前后 TE13 细胞迁移能力的变化

分别将 5-Aza-dC 处理前后两组 TE13 细胞(2×10^4 个)接种于 6 孔板,当细胞呈单层贴壁且接近 100% 融合时,使用 10 μ l 无菌移液器头在 6 孔板中划痕,清洗悬浮脱落细胞后,用无血清培养液,放置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱内,分别于划痕后 0 和 48 h 在倒置光学显微镜下拍照,计算其划痕愈合率,实验重复 3 次。划痕愈合率 = (0 h 划痕距离 - 48 h 后划痕距离) / 0 h 划痕距离 $\times 100\%$ 。

1.6 Transwell 小室实验检测去甲基化前后 TE13 细胞迁移、侵袭能力的变化

将混匀的去甲基化前后 TE13 细胞悬液分别加入 Transwell 板上室,将 Transwell 板放置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱内,培养 24 h 后取出上室,PBS 清洗,甲醇固定后,0.1% 结晶紫染色,于倒置光学显微镜观察计数。随机选取 5 个视野,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,实验重复 3 次。

1.7 Western blotting 检测去甲基化前后 TE13 细胞中 *Bin1*、MMP-2 和 MMP-9 蛋白的表达

将去甲基化处理前后 TE13 细胞用蛋白裂解液处理,蛋白定量后,经 SDA-PAGE,随后将蛋白转移至 PVDF 膜,分别加入兔抗人 *Bin1*,MMP-2,MMP9 一抗(1:500)和兔抗人 β -actin 一抗(1:1 000),于 4 °C 过夜后加入辣根过氧化物酶标记抗兔二抗,ECL 放射自显影。实验重复 3 次。

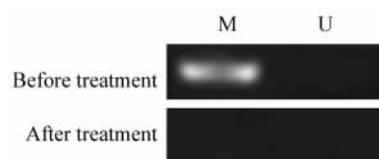
1.8 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,qPCR 结果比较用 *t* 检验,组间比较用方差分析,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 5-Aza-dC 处理后 TE13 细胞中 *Bin1* 启动子去甲基化

MSP 检测结果(图 1)显示,ESCC 细胞株 TE13 经 5-Aza-dC 去甲基化处理前,*Bin1* 表现为高甲基化状态且为完全甲基化,经 5-Aza-dC 处理后 *Bin1* 表现为非甲基化状态,说明经 5-Aza-dC 处理后,ESCC 细胞株 TE13 中 *Bin1* 基因发生了去甲基化。



M: Methylation primer; U: Unmethylation primer

图 1 5-Aza-dC 处理前后食管鳞状细胞癌 TE13 细胞 *Bin1* 甲基化状态

Fig. 1 Methylation status of *Bin1* in the TE13 line cell of ESCC before and after treatment with 5-Aza-dC

2.2 5-Aza-dC 处理前后 ESCC 细胞株 TE13 *Bin1* mRNA 的表达情况

qRT-PCR 检测结果显示,经 5-Aza-dC 处理后,TE13 细胞中 *Bin1* mRNA 的表达水平明显高于处理前[(1.05 ± 0.05) vs (2.23 ± 0.08), $t = -21.308$, $P < 0.01$],说明经去甲基化处理后,TE13 细胞的 *Bin1* mRNA 表达升高。

2.3 5-Aza-dC 处理前后 TE13 细胞迁移、侵袭能力的改变

划痕实验结果(图 2)显示,经 5-Aza-dC 处理组 TE13 细胞划痕愈合率明显低于未处理组[(63.91 ± 3.83)% vs (83.26 ± 4.17)%, $t = -4.686$, $P < 0.01$],说明去甲基化处理后 TE13 细胞迁移力降低。Transwell 迁移实验结果(图 3)显示,经 5-Aza-dC 处理后 TE13 细胞侵袭穿膜数明显低于处理前[(45.00 ± 6.00)个 vs (283.00 ± 16.52)个, $t = -23.451$, $P < 0.01$],说明去甲基化处理后 TE13 细胞迁移能力降低,经 5-Aza-dC 处理后 TE13 细胞穿膜数明显低于处理前[(52.33 ± 6.03)个 vs (320.67 ± 17.50)个, $t = -25.107$, $P < 0.01$],说明去甲基化处理后 TE13 细胞侵袭能力降低。

2.4 5-Aza-dC 处理前后 TE13 细胞中 *Bin1*、MMP-2、MMP-9 蛋白的表达情况

Western blotting 检测 5-Aza-dC 处理前后 *Bin1*、MMP-2、MMP-9 蛋白表达结果(图 4)显示,5-Aza-dC

处理后 Bin1 蛋白表达升高[(0.76 ± 0.06) vs (0.16 ± 0.02), $t = -17.566, P < 0.01$], MMP-2 蛋白表达降低[(0.37 ± 0.05) vs (0.81 ± 0.07), $t = 9.083, P < 0.01$], MMP-9 蛋白表达降低[(0.15 ± 0.02) vs (0.58 ± 0.05), $t = 13.830, P < 0.01$],说明去甲基化处理可以调高 Bin1 表达,可能是 MMP-2, MMP-9 表达降低的原因之一。

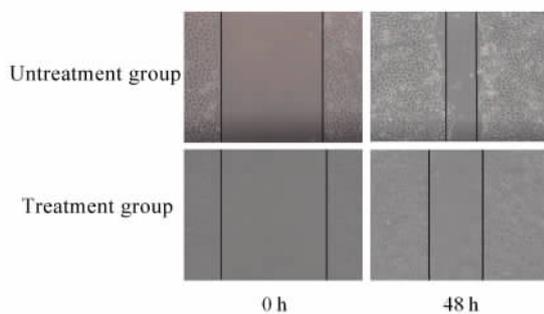


图2 5-Aza-dC 处理前后 TE13 细胞株划痕愈合率
Fig.2 Rate of wound healing of the TE13 line cell before and after treatment with 5-Aza-dC

3 讨论

DNA 甲基化作为表观遗传学的重要表现形式之一^[9],其特征是在不改变 DNA 本身序列和基因产物的前提下,发生基因组广泛的低甲基化和局部的异常高甲基化,前者导致基因的不稳定性,导致基因突变;后者可以使位于抑癌基因启动子区 CpG 岛发生局部异常高甲基化状态,导致基因表达沉默或低

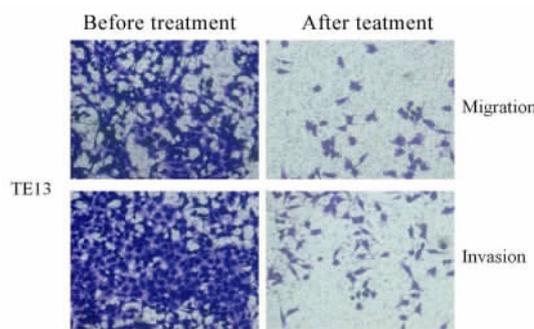
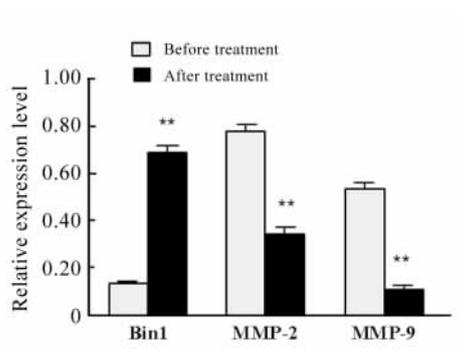


图3 5-Aza-dC 处理前后 TE13 细胞系的迁移和侵袭能力
Fig.3 Migration and invasion abilities of the TE13 line cell before and after treatment with 5-Aza-dC



** $P < 0.01$ vs before treatment group

图4 5-Aza-dC 处理前后 Bin1, MMP-2 及 MMP-9 蛋白的表达情况
Fig.4 Expressions of Bin1, MMP-2 and MMP-9 proteins in the TE13 cell before and after treatment with 5-Aza-dC detected by Western blotting assay



表达,细胞增殖异常。DNMT 抑制剂利用其不改变 DNA 本身序列和基因产物这一可逆机制,通过 DNA 去甲基化作用,使 CpG 岛高甲基化的抑癌基因重新表达或表达提高,从而恢复其抑癌功能^[10-11]。5-Aza-dC 作为一种 DNMT 抑制剂,可以高效地与 DNMT 发生不可逆结合发挥去甲基化作用,恢复表观遗传学沉默基因表达水平,纠正肿瘤细胞的异常生物学特征^[12-13]。

Bin1 作为现今发现的唯一具有抑癌功能的配

体蛋白,在 DNA 修复、细胞膜动力学、细胞周期调控中功能复杂,这与其分布模式的多样性、选择性剪接和蛋白质的相互作用等有关^[14]。本课题组前期研究发现 Bin1 在 ESCC 中呈低表达状态,并且其启动子区 CpG 岛异常高甲基化可能是导致 Bin1 在 ESCC 中低表达或缺失的重要机制,但是 Bin1 基因甲基化在体外实验中对细胞生物学功能的影响尚无报道。本研究检测 ESCC 的 TE13 株细胞 Bin1 基因甲基化状态及表达结果发现,TE13 株细胞的 Bin1 呈完全

甲基化状态,并且呈 *Bin1* 低表达状态,与本课题组前期实验结果一致,说明 *Bin1* 在 ESCC 中呈低表达并且 *Bin1* 启动子区 CpG 岛异常高甲基化可能是导致 *Bin1* 在 ESCC 中低表达或缺失的重要机制在体外细胞实验中依然成立。

本研究检测去甲基化药物 5-Aza-dC 处理 TE13 细胞,去甲基化前后 TE13 细胞株中 *Bin1* 甲基化和 *Bin1* mRNA 表达状态,结果发现 5-Aza-dC 处理后 TE13 细胞 *Bin1* 基因发生去甲基化,*Bin1*mRNA 呈高表达,提示 DNA 甲基化是 *Bin1* 低表达或缺失的重要原因之一。Ding 等^[15]在骨肉瘤组织和细胞中发现去甲基化药物可以增加骨肉瘤细胞中 microRNA-142 的 mRNA 表达,Li 等^[16]在胃癌细胞系中发现,5-Aza-dC 通过使 miR-495 甲基化状态降低,使 miR-495 表达升高,导致 PRL-3 表达降低,从而抑制胃癌细胞系的侵袭能力,Liu 等^[17]发现在 ESCC 细胞系中,去甲基化处理后抑癌基因 miR-203a 和 miR-203b 的表达增加。上述实验与本实验结果相一致,说明 *Bin1* 启动子区甲基化是导致 *Bin1* 低表达或缺失的重要机制之一。

本研究通过划痕实验及 Transwell 实验检测去甲基化前后 TE13 株细胞的迁移、侵袭能力,结果发现经 5-Aza-dC 处理后 TE13 株细胞迁移、侵袭能力明显降低,提示去甲基化后 *Bin1* 高表达抑制 TE13 株细胞的迁移、侵袭能力,与 Jiang 等^[18]发现在肾透明细胞癌细胞系中 5-Aza-dC 通过使抑癌基因 miR-200c 表达升高,抑制其迁移、侵袭能力的结果一致。MMP-2, MMP-9 作为 MMP 家族中的成员,可以分解基底膜的重要组成部分,与肿瘤的侵袭转移密切相关^[19-20]。本研究检测 TE13 细胞株去甲基化前后 *Bin1*、MMP-2 及 MMP-9 蛋白的表达,结果发现 *Bin1* 蛋白明显升高,MMP-2 及 MMP-9 蛋白明显降低,提示 TE13 株细胞去甲基化后 *Bin1* 表达增高,可能通过调低 MMP-2、MMP-9 的表达抑制其迁移、侵袭能力。

本研究不但在体外细胞实验中发现 *Bin1* 异常高甲基化可能是导致 *Bin1* 在 ESCC 中低表达或缺失的重要机制,其与本课题组在 ESCC 组织中的结果一致^[21],而且为 *Bin1* 功能、机制研究以及将 *Bin1* 甲基化水平作为评估去甲基化药物是否有效的生物标志物奠定基础,为 ESCC 的临床治疗提供新的潜在分子靶点和治疗策略。

[参 考 文 献]

- [1] OHASHI S, MIYAMOTO S, KIKUCHI O, et al. Recent advances from basic and clinical studies of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Gastroenterology, 2015, 149: 1700-1715. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.08.054.
- [2] BAI J, ZHANG X, HU K, et al. Silencing DNA methyltransferase 1 (DNMT1) inhibits proliferation, metastasis and invasion in ESCC by suppressing methylation of RASSF1A and DAPK[J]. Oncotarget, 2016, 7(28):44129-44141. DOI: 10.18632/oncotarget.9866.
- [3] MA K, CAO B, GUO M. The detective, prognostic, and predictive value of DNA methylation in human esophageal squamous cell carcinoma[J]. Clin Epigenetics, 2016, 8: 43. DOI: 10.1186/s13148-016-0210-9.
- [4] MULLER A J, DUHADAWAY J B, DONOVER P S, et al. Targeted deletion of the suppressor gene *Bin1*/*Amphiphysin2* enhances the malignant character of transformed cells[J]. Cancer Biol Ther, 2004, 3(12): 1236-1242. DOI: 10.4161/cbt.3.12.1232.
- [5] KUZNETSOVA E B, KEKEEVA T V, LARIN S S, et al. Methylation of the *Bin1* gene promoter CpG island associated with breast and prostate cancer[J]. J Carcinog, 2007, 6:9. DOI: 10.1186/1477-3163-6-9.
- [6] ZYCH J, STIMAMIGLIO M A, SENEGAGLIA A C, et al. The epigenetic modifiers 5-aza-2-deoxycytidine and trichostatin influence adipocyte differentiation in human mesenchymal stem cells [J]. Braz J Med Biol Res, 2013, 46(5): 405-416. DOI: 10.1590/1414-431x20132893.
- [7] LIU R, ZHANG X H, ZHANG K, et al. 5-Aza-2'-deoxycytidine inhibits retinoblastoma cell by reactivating epigenetically silenced RASSF1A gene[J]. Int J Ophthalmol, 2014, 7(1): 51-56. DOI: 10.3980/j.issn.2222-3959.
- [8] JIA Y L, WANG H Y, WANG Y, et al. Low expression of *Bin1*, along with high expression of IDO in tumor tissue and draining lymph nodes, are predictors of poor prognosis for esophageal squamous cell cancer patients[J]. Int J Cancer, 2015, 137(5):1095-1106. DOI: 10.1002/ijc.29481.
- [9] HAQUE M M, NILSSON E E, HOLDER L B, et al. Genomic clustering of differential DNA methylated regions (epimutations) associated with the epigenetic transgenerational inheritance of disease and phenotypic variation[J]. BMC Genomics, 2016, 17(1): 418. DOI: 10.1186/s12864-016-2748-5.
- [10] LI D, XU C Y, CUI R J, et al. DNA methylation inhibitor, decitabine, promotes MGC803 gastric cancer cell migration and invasion via the upregulation of NEDD4-1[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(6):8201-8208. DOI: 10.3892/mmr.2015.4424.
- [11] WANG J, LAI Q, PAN H, et al. Evaluation of specific marker CK13 and CK10/13 combined with APM staining for the diagnosis of amniotic fluid embolism and aspiration[J]. Forensic Sci Int, 2014, 238: 108-112. DOI: 10.1016/j.foresciint.2014.02.032.
- [12] LINDNER D J, WU Y, HANEY R, et al. Thrombospondin-1 expression in melanoma is blocked by methylation and targeted reversal by 5-Aza-deoxycytidine suppresses angiogenesis[J]. Matrix Biol, 2013, 32(2): 123-132. DOI: 10.1016/j.matbio.2012.11.010.

[13] SHIRE A, LOMBERK G, LAI J P, et al. Restoration of epigenetically silenced SULF1 expression by 5-aza-2-deoxycytidine sensitizes hepatocellular carcinoma cells to chemotherapy-induced apoptosis [J]. Med Epigenet, 2015, 3 (1): 1-18. DOI: 10.1159/000375461.

[14] THOMAS S, MERCADO J M, DUHADAWAY J, et al. Novel colitis immunotherapy targets Bin1 and improves colon cell barrier function[J]. Dig Dis Sci, 2016, 61(2): 423-432. DOI: 10.1007/s10620-015-3804-8.

[15] DING M, H U J, NI J, et al. Demethylation of microRNA-142 induced by demethylation agents plays a suppressive role in osteosarcoma cells[J]. Oncol Lett, 2015, 9(5): 2261-2267. DOI: 10.3892/ol.2015.3036.

[16] LI Z, ZHANG G, LI D, et al. Methylation-associated silencing of miR-495 inhibit the migration and invasion of human gastric cancer cells by directly targeting PRL-3[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 456(1): 344-350. DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.11.083.

[17] LIU Y, DONG Z, LIANG J, et al. Methylation-mediated repression of potential tumor suppressor miR-203a and miR-203b contributes to esophageal squamous cell carcinoma development[J]. Tumor Biology, 2016, 37(4): 5621-5632. DOI: 10.1007/s13277-015-4432-9.

[18] JIANG J, YI B O, DING S, et al. Demethylation drug 5-Aza-2'-deoxycytidine-induced upregulation of miR-200c inhibits the migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition of clear cell renal cell carcinoma in vitro[J]. Oncol Lett, 2016, 11(5): 3167-3172. DOI: 10.3892/ol.2016.4364.

[19] XU H, LI M, ZHOU Y, et al. S100A4 participates in epithelial-mesenchymal transition in breast cancer via targeting MMP2[J]. Tumour Biol, 2016, 37(3): 2925-2932. DOI: 10.1007/s13277-015-3709-3.

[20] YANG Y, ZHANG X, SONG D, et al. Piwil2 modulates the invasion and metastasis of prostate cancer by regulating the expression of matrix metalloproteinase-9 and epithelial-mesenchymal transitions[J]. Oncol Lett, 2015, 10(3): 1735-1740. DOI: 10.3892/ol.2015.3392.

[21] 王雪晓, 安入征, 张翔宇, 等. 食管鳞状细胞癌组织 Bin1 基因启动子甲基化状态及其临床意义[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2016, 23(3): 382-386. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2016.03.015.

[收稿日期] 2016 - 10 - 07 [修回日期] 2017 - 01 - 29
[本文编辑] 宋关鸿

• 读者 • 作者 • 编者 •

《中国肿瘤生物治疗杂志》“转化医学”栏目征稿启事

转化医学(translational medicine)是近年国际医学领域出现的新热潮,是实验研究与临床研究双向转化(bench to bedside and bedside to bench)的研究体系,转化医学为基础研究和临床医疗之间架起了桥梁,从而把基础医学研究的最新成果快速、有效地转化为临床疾病诊治的药物、技术和手段,有力地推动医学科学的发展。

为了顺应转化医学的发展热潮,为我国广大肿瘤防治工作者提供有关“转化医学”信息传播和学术交流的平台,促进转化医学在肿瘤学领域的发展,本刊特开辟“转化医学”新栏目,并向广大肿瘤防治工作者征集“转化医学”相关稿件。

本刊“转化医学”栏目文稿内容包括以下几个方面:

- (1)宣传“转化医学”的观念、理论、研究体系、研究模式和方法、发展趋势等;
- (2)讨论我国肿瘤学领域深入开展“转化医学”研究的策略和措施;
- (3)介绍国外肿瘤学领域“转化医学”发展的新闻、成功案例和发展动向;
- (4)我国作者肿瘤学领域“转化医学”的研究成果和经验体会;
- (5)与“转化医学”有关的在肿瘤学领域有发表价值的其他文稿。

“转化医学”文稿的写作格式要求,如果是(4)类中的原创性研究成果文稿,格式同本刊论著(基础研究和临床研究);如果是(1)、(2)、(3)和(5)类的文稿,格式类似于本刊的综述,篇幅在 5 000 字以内,附中文摘要(报道式、非结构式),文内图表用中文表达,参考文献应精选最主要的 20 篇左右。文稿的文字力求简洁明了、通顺流畅、层次清楚、重点突出。如文稿有新颖性,可进入本刊快速发表通道,在 3 个月左右发表。

(本刊编辑部)