

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.06.009

· 基础研究 ·

## 5-Aza-CdR 通过 DNMT1 调控卵巢癌细胞 ERCC1 基因甲基化及其表达

陈慧雁<sup>1,2</sup>, 李晓翠<sup>2</sup>, 沈宗姬<sup>1</sup> (1. 苏州大学附属第一医院 妇产科, 江苏 苏州 215006; 2. 同济大学附属上海市第一妇婴保健院 妇产科, 上海 201204)

**[摘要]** **目的:** 研究 5-氮杂-2'-脱氧胞苷(5-Aza-CdR)在卵巢癌细胞系 SKOV3 中对核苷酸切除交叉修复互补基因 1(excision repair cross complementation group 1, ERCC1)表达的影响及可能的机制。**方法:** 设计特异性针对 DNA 甲基转移酶 1(DNA methyltransferase 1, DNMT1)基因的 shRNA 转染入人卵巢癌细胞系 SKOV3 细胞中, Western blotting 检测 SKOV3 细胞 DNMT1 以及 ERCC1 的表达变化; 利用不同浓度 5-Aza-CdR 于不同时间点处理卵巢癌 SKOV3 细胞, Western blotting 检测 DNMT1 和 ERCC1 蛋白在处理前后的变化, 利用亚硫酸氢钠法检测 ERCC1 基因启动子区域甲基化水平。**结果:** 0.5、1.0、2.0、4.0 μmol/L 的 5-Aza-CdR 作用于 SKOV3 细胞后, DNMT1 表达水平呈浓度依赖性降低, 而 ERCC1 表达水平呈浓度依赖性升高; 使用终浓度为 1.0 μmol/L 的 5-Aza-CdR 处理 SKOV3 细胞 12、24、36 h 后, DNMT1 表达水平呈时间依赖性降低, 而 ERCC1 表达水平呈时间依赖性升高, 亚硫酸氢钠法检测示药物处理前 ERCC1 启动子区域处于高甲基化水平, 在用 1.0 μmol/L 的 5-Aza-CdR 处理后, 其启动子发生了去甲基化。**结论:** 5-Aza-CdR 通过 DNMT1 调控卵巢癌 SKOV3 细胞中 ERCC1 基因的甲基化及其表达水平。

**[关键词]** 卵巢癌; 甲基化; DNA 甲基转移酶 1 基因; 切除交叉修复互补基因 1

**[中图分类号]** R737.31; R730.2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2017)06-0627-05

## 5-Aza-CdR effects the methylation and expression of ERCC1 gene in ovarian cancer cell via DNMT1

CHEN Huiyan<sup>1,2</sup>, LI Xiaocui<sup>2</sup>, SHEN Zongji<sup>1</sup> (1. Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, Jiangsu, China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Shanghai First Maternity and Infant Hospital affiliated to Tongji University, Shanghai 201204, China)

**[Abstract]** **Objective:** Objective: To investigate the effects of 5-Aza-CdR on expression of excision repair cross complementation group 1 (ERCC1) in ovarian cancer cell line SKOV3 and its possible mechanism. **Methods:** shRNA that specifically targeting DNA methyltransferase 1 (DNMT1) was constructed and transfected into SKOV3 cells. Western blotting was applied to determine the expressions of DNMT1 and ERCC1 in SKOV3 cells; Ovarian cancer cell line SKOV3 was treated with 5-Aza-CdR of various concentrations for different time courses, and Western blotting was used to determine the protein changes of DNMT1 and ERCC1 before and after the treatment; and the methylation level of ERCC1 promoter was tested by Sodium Bisulfite method. **Results:** After being treated with 5-Aza-CdR (at the concentrations of 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 μmol/L), the expression of DNMT1 protein in SKOV3 cells was decreased in a dose-dependent manner while the ERCC1 protein was increased in a time-dependent manner; With the treatment of 5-Aza-CdR (concentration of 1.0 μmol/L) for 12, 24 and 36 h, the expression of DNMT1 protein was decreased and the ERCC1 protein was increased in SKOV3 cells, and the expression both changed in a time-dependent manner. Sodium Bisulfite method indicated that the methylation of ERCC1 promoter was at high level before the treatment; However, after the treatment of 5-Aza-CdR at concentration of 1.0 μmol/L, the promoter of ERCC1 showed demethylation. **Conclusion:** 5-Aza-CdR regulates the methylation of ERCC1 promoter and its expression in SKOV3 cells via.

**[作者简介]** 陈慧雁(1969-),女,副主任医师,主要从事妇科肿瘤临床的研究。E-mail:judyhychen@aliyun.com

**[通信作者]** 沈宗姬(SHEN Zongji, corresponding author),博士,教授,博士生导师,主要从事妇科肿瘤临床的研究,E-mail:shensuzhou@163.com

[ **Key words** ] ovarian cancer; methylation; DNA methyltransferase 1( *DNMT1* ); excision repair cross complementation group 1( *ERCC1* )

[ Chin J Cancer Biother, 2017, 24( 6 ): 627-631. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.06.009 ]

卵巢癌是女性生殖系统三大恶性肿瘤之一, 70%以上的卵巢癌患者发现时已为晚期<sup>[1]</sup>, 5年生存率不足30%<sup>[2]</sup>; 手术联合以铂类药物为基础的化疗是其重要治疗手段, 但化疗失败的主要原因是肿瘤细胞对顺铂的敏感性降低<sup>[3]</sup>。因此, 如何提高铂类药物敏感性, 提高患者生存率一直是卵巢癌治疗中研究的热点。核苷酸切除交叉修复互补基因1( excision repair cross complementation group 1, *ERCC1* )在DNA损伤的修复途径中起主导作用, *ERCC1*表达升高可使停滞在G2/M期的损伤迅速修复, 引起卵巢癌细胞对顺铂产生耐药<sup>[4]</sup>。基因DNA甲基化在卵巢癌发生、发展中起重要作用, 不仅能在卵巢癌组织中检测到DNA甲基化异常, 还能在患者体液中检测到DNA甲基化异常<sup>[5]</sup>, 这使得研究DNA甲基化状态成为一种有潜力的肿瘤分子调控方法。本研究拟探讨5-Aza-CdR对卵巢癌SKOV3细胞中DNA甲基转移酶1( DNA methyltransferase 1, *DNMT1* )和*ERCC1*表达的影响, 从而为临床调控*ERCC1*表达水平、改善顺铂化疗敏感性提供实验依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 主要材料与试剂

人卵巢癌细胞系SKOV3细胞株由中国医学科学院上海生命科学院生化细胞研究所细胞库提供。RPMI 1640培养基、胎牛血清、青霉素/链霉素双抗、pcDNA3.1均购自Sigma公司, Lipofectamine™2000转染试剂盒购自美国Invitrogen公司, TIANamp Gonomic DNA kit购自Tiangen Biotech( Beijing ), 一抗Anti-cleaved *ERCC1*( Rabbit, sc-10785)购自Santa-Cruz Biotech), *DNMT1*一抗购自Abclonal Technology, GAPDH抗体和5-Aza-CdR购自Sigma-Aldrich, 兔抗鼠二抗和DAB试剂购自生工生物工程(上海)股份有限公司, 硫化处理试剂盒EZ DNA methylation Gold kit购自ZYMO Research, 其余免疫印迹相关产品均购自上海东寰生物科技有限公司。

### 1.2 *DNMT1* shRNA 干扰载体 pcDNA3.1-DNMT1 的构建

根据Genebank中人*DNMT1*基因mRNA序列(NM\_001379)和pcDNA3.1说明书组成长度为55 nt寡核苷酸链。shRNA上游引物为5'-ATGCCG-GCGCGTACCGCC-3', 下游引物为5'-CTAGTCCT-

TAGCAGCTTCCTCCTCC-3'。PCR的条件为: 95℃, 10 min; 95℃, 15 s; 61℃, 30 s; 72℃, 3 min; 72℃, 10 min; 32个循环。DNA聚合酶为KOD聚合酶。产物进行2%琼脂糖凝胶电泳, 紫外灯下观察结果, 凝胶成像分析仪拍照并割胶回收PCR产物。酶切*DNMT1*的PCR产物, 连接*DNMT1*以及pcDNA3.1(+ )的双酶切(*EcoR*I和*Not*I)产物, 将连接产物转化入DH5 $\alpha$ 感受态细胞, 穿刺菌液接种于LB固体培养基, 抽提质粒备用。

### 1.3 细胞培养及转染方法

卵巢癌SKOV3细胞用10%胎牛血清的RPMI 1640培养液, 于37℃、5%CO<sub>2</sub>、相对湿度90%的条件下培养。转染前1 d, 取对数生长期SKOV3细胞配制细胞悬液, 用0.25%胰蛋白酶消化细胞并计数, 在含血清、不含抗生素的培养基中培养1 d。次日, 用Opti-MEM1培养基分别稀释质粒和Lipofectamine™2000并混合, 室温保存20 min。换为无血清培养基, 将复合物加入细胞中。培养4 h后加入血清, 继续培养24~72 h, 检测各指标。实验分为5组: 未处理组, 阴性对照组(只加脂质体), 转染sh*DNMT1*-1质粒组, 转染sh*DNMT1*-2质粒组; 转染sh*DNMT1*-3质粒组。实验重复3次。

### 1.4 Western blotting 检测 5-Aza-CdR 处理对 SKOV3 细胞内 DNMT1 和 ERCC1 表达的影响

将对数生长期的SKOV3细胞分别接种于6孔板中, 过夜培养后分为两组: 第一组, 取传代24 h后、对数生长期的SKOV3细胞分别加入含终浓度为0.5、1.0、2.0、4.0  $\mu$ mol/L的5-Aza-CdR培养基连续培养3 d, 之后每隔3 d换一次培养液, 并取对数生长期细胞用于实验; 对照组不加药物。第二组, 使用终浓度为1.0  $\mu$ mol/L的5-Aza-CdR处理对数生长期的SKOV3细胞分别于12、24 h后收获细胞; 对照组细胞不加药物。实验重复3次。

### 1.5 Western blotting 检测转染后 SKOV3 细胞中 ERCC1 和 DNMT1 蛋白的表达

转染sh*DNMT1*质粒72 h后收集5组细胞, 用PBS冲洗细胞3次, 收集细胞, 提取蛋白, 测蛋白浓度, 每个泳道上样25  $\mu$ g总蛋白, 经SDS-PAGE分离, 转膜, 封闭, 分别与*DNMT1*一抗(1:1 000)和*ERCC1*一抗(1:500)结合, 4℃孵育过夜, 洗膜, 加二抗(1:500), 孵育2 h; 洗膜, 发光底物作用后, 压

片 1 min 曝光。于相对分子量为 32.5 kD 处和 180 kD 处观察 ERCC1 蛋白和 DNMT1 蛋白的表达条带。GAPDH 作为内参。实验重复 3 次。

### 1.6 亚硫酸氢钠法检测 DNA 甲基化

使用 TIANamp Genomic DNA 试剂盒, 取转染 shDNMT1-1 质粒组处理前、后的细胞, 每孔细胞加入 1 ml 细胞裂解液充分混匀。提取细胞 DNA, 检测 DNA 纯度及含量, 将样品溶于少量含有乙二胺四乙酸的三羟甲基氨基甲烷盐溶液(TE)中, 4 °C 贮存。取 20 μg DNA, 用 EZ DNA Methylation-Gold kit 进行 C 到 T 的转化。同时使用 MethPrimer 分析 ERCC1 启动子 CpG 区并设计 ERCC1 甲基化 PCR 引物。PCR 扩增 ERCC1 基因启动子的甲基化富集区, 上游引物为: 5'-GGATGTTTTATTAAAAAGGTGTT-3'; 下游引物为: 5'-CTTCCCCTCTCTCAACTT-3'。PCR 产物经胶纯化后克隆连接到 pEASY-T1 载体上, 转化 DH5α 感受态细胞, 37 °C 培养过夜, 第 2 天挑选克隆并菌落 PCR 鉴定, 选取阳性克隆测序。每种处理至少测序 5 个独立克隆。PCR 采用 50 μl 体系, PCR 条件如下: 95 °C 变性 5 min; 95 °C, 15 s; 55 °C, 15 s; 35 个循环; 72 °C, 15 s; 72 °C, 10 min。实验重复 3 次。

### 1.7 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件进行分析, 两组间比较采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示为差异有统计学意义。

## 2 结果

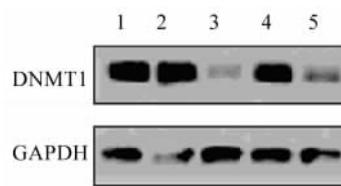
### 2.1 针对 DNMT1 的 shRNA 上调卵巢癌细胞 ERCC1 的表达

为探索 DNMT1 是否能够调控 ERCC1 的表达, 本研究设计并合成了 3 条特异性针对 DNMT1 的 shRNA, 将这 3 条 shDNMT1 分别转染入人卵巢癌细胞系 SKOV3 细胞中, Western blotting 结果显示, 这 3 条 shDNMT1 中有两条能够显著抑制 DNMT1 的表达(图 1)。当特异沉默了 DNMT1 的表达后, SKOV3 细胞 ERCC1 的表达上调(图 2)。

### 2.2 5-Aza-CdR 抑制 DNMT1 表达和促进 ERCC1 表达

本研究检测了不同浓度 5-Aza-CdR 处理 SKOV3 细胞后 DNMT1 和 ERCC1 的蛋白表达情况, 发现处理后的 SKOV3 细胞中的 DNMT1 的表达被抑制; ERCC1 的表达升高(图 3A)。然后用浓度为 1.0 μmol/L 的 5-Aza-CdR 对 SKOV3 细胞进行不同时间段的处理, Western blotting 检测显示, 随着 5-Aza-CdR 处理时间的延长, SKOV3 细胞中 DNMT1 的表

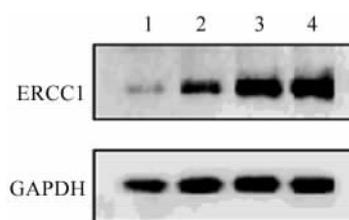
达不断地被抑制, ERCC1 的表达不断地升高(图 3B)。以上结果表明, 5-Aza-CdR 能够抑制 SKOV3 细胞中 DNMT1 的表达和促进 ERCC1 表达, 并且该抑制兼具浓度梯度与时间梯度依赖性。



1: Ctrl; 2: CtrsiRNA; 3: shDNMT1-1;  
4: shDNMT1-2; 5: shDNMT1-3

图 1 两条 DNMT1 shRNA 可抑制 DNMT1 表达

Fig. 1 Two DNMT1 shRNAs inhibited the expression of DNMT1



1: Ctrl; 2: CtrsiRNA; 3: shDNMT1-1; 4: shDNMT1-3

图 2 特异沉默 DNMT1 后促进 SKOV3 细胞 ERCC1 表达

Fig. 2 Expression of ERCC1 in SKOV3 cells was increased after DNMT1 silencing

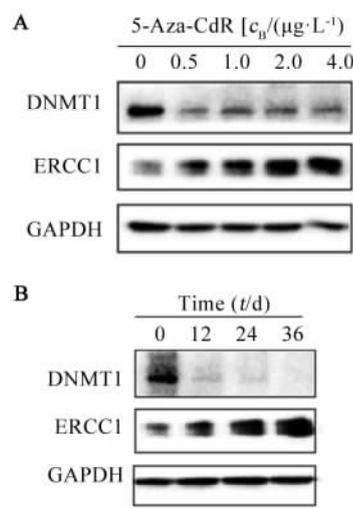


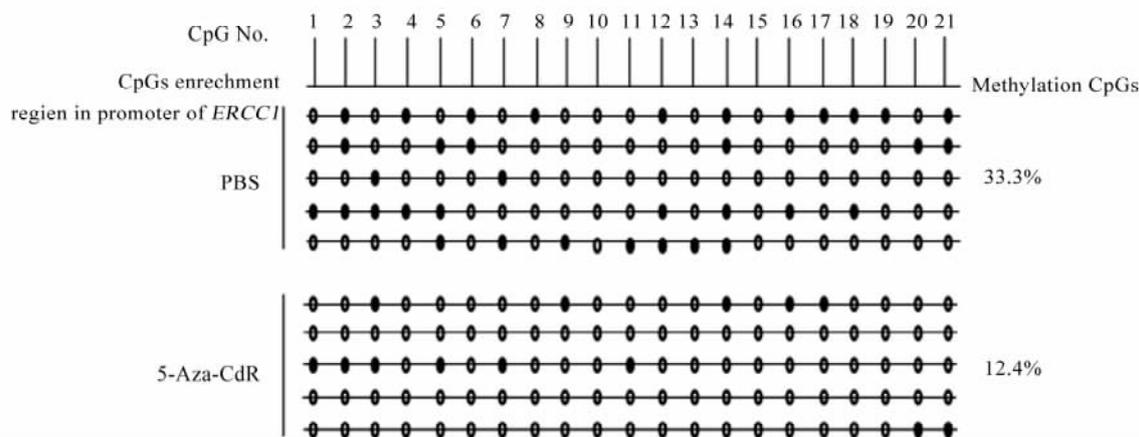
图 3 不同作用浓度( A)和时间( B) 5-Aza-CdR 对 DNMT1 和 ERCC1 表达的影响

Fig. 3 Effects of 5-Aza-CdR at different treatment concentration ( A) and time ( B) on the expressions of DNMT1 and ERCC1

### 2.3 5-Aza-CdR 通过降低 *ERCC1* 启动子区 DNA 甲基化水平促进 *ERCC1* 表达

同时用亚硫酸盐转化的方法检测 1.0  $\mu\text{mol/L}$  的 5-Aza-CdR 作用于 SKOV3 细胞后, *ERCC1* 基因启动子 CPG 岛富集区 DNA 甲基化水平的改变, 与

*ERCC1* 启动子区甲基化岛对照的 33.3% 甲基化水平相比, 5-Aza-CdR 处理后降为 12.4% (图 4) 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 这表明 5-Aza-CdR 通过影响 *DNMT1* 而降低了 *ERCC1* 的甲基化水平。



黑点表示甲基化的 CpG 位点; 黑圈表示非甲基化的 CpG 位点

图 4 5-Aza-CdR 影响 *ERCC1* 启动子区的甲基化状态

Fig. 4 5-Aza-CdR affected the methylation status of *ERCC1* promoter region

### 3 讨论

DNA 甲基化是在 DNA 甲基转移酶 (DNA-methyltransferases, DNMTs) 的催化下, CpG 二核苷酸中的胞嘧啶被选择性地添加甲基, 形成 5-甲基胞嘧啶<sup>[6-7]</sup>, 是最重要的表观遗传修饰方式。DNMTs 有两种, DNMT1 主要起维持甲基化的作用, 能使半甲基化的 DNA 双链分子上与甲基胞嘧啶相对应的胞嘧啶甲基化, 可参与 DNA 复制双链中新合成链的甲基化<sup>[8]</sup>; 而 DNMT3a 和 DNMT3b 主要起形成甲基化的作用, 能在未发生甲基化的 DNA 双链上进行甲基化<sup>[9]</sup>。肿瘤抑制基因的高甲基化会导致抑癌基因的沉默, 并且伴随原癌基因的去甲基化使原癌基因激活, 并最终诱发肿瘤<sup>[11-12]</sup>。因此针对 DNA 甲基化的调控是治疗肿瘤的新途径。

*ERCC1* 基因位于染色体 19q13.2, 包含 10 个外显子, 基因全长 15 kb, 编码含 297 个氨基酸的蛋白质。*ERCC1* 表达降低则难以清除铂-DNA 加合物, 对铂类药物的作用更加敏感, 许多研究已经证实 *ERCC1* 高表达与顺铂耐药之间的关系<sup>[13-15]</sup>。Li 等<sup>[16]</sup>用 Meta 方法分析了卵巢癌 *ERCC1* 表达与顺铂化疗反应的关系, 发现不表达 *ERCC1* 者比阳性表达 *ERCC1* 者对顺铂化疗有更好的治疗反应。对

*ERCC1* 启动子区 CpG 甲基化与脑胶质瘤放射敏感性关系的研究<sup>[17]</sup>表明, *ERCC1* 启动子区 CpG 甲基化状态可能与胶质瘤细胞株放射敏感性相关。Zhou 等<sup>[18]</sup>在研究氯化镉诱导恶性肿瘤形成中发现, DNA 修复基因 *hMSH2*、*ERCC1*、*XRCC1* 和 *hOGG1* mRNA 与蛋白表达减少时, DNA 损伤增强。DNA 甲基化的增强与 DNMT1 过度表达有关, 5-Aza-CdR 能逆转镉诱导的所有 DNA 过度甲基化和 DNMT1 高活性, 并以时间依赖方式沉默 *hMSH2*、*ERCC1*、*XRCC1* 和 *hOGG1*。因而认为 DNMT1 过表达能导致全 DNA 过度甲基化并沉默上述基因。

*DNMT1* 在多种恶性肿瘤中高表达<sup>[19-20]</sup>。有研究<sup>[21]</sup>发现胃癌组织中 *ERCC1* 基因受到 DNA 甲基化的调控。因此推测卵巢癌中 *ERCC1* 启动子高甲基化可能与 *DNMT1* 的表达有密切关系, 抑制卵巢癌细胞 SKOV3 内 *DNMT1* 的表达, 可能调控 *ERCC1* 启动子高甲基化状态。本研究结果显示, shDNMT1 可以高效、特异地抑制 *DNMT1* 基因的表达和促进 *ERCC1* 的表达。5-Aza-CdR 是一种甲基化抑制剂, 为探讨 5-Aza-CdR 对 *ERCC1* 的调控作用, 本研究利用不同浓度 5-Aza-CdR 处理 SKOV3 细胞后检测 DNMT1、*ERCC1* 蛋白的表达以及甲基化水平及其两者间关系, 显示细胞中的 *DNMT1* 的表达被抑

制,并且 5-Aza-CdR 对 *DNMT1* 的抑制兼具浓度梯度与时间梯度依赖性;*ERCC1* 的表达随着 5-Aza-CdR 浓度的升高以及处理时间的延长而升高,这提示 5-Aza-CdR 影响 *ERCC1* 的表达可能是通过抑制 *DNMT1* 的表达实现的。

为进一步探明两者之间的关系,该研究又采用亚硫酸氢钠法检测 *ERCC1* 基因 DNA 在用 5-Aza-CdR 处理前后甲基化率的变化,结果显示用 5-Aza-CdR 处理后,*ERCC1* 启动子甲基化的 CpG 岛含量由 33.3% 下降到 12.4%,*ERCC1* 表达水平明显升高,这说明 5-Aza-CdR 抑制 *DNMT1* 表达后通过甲基化机制影响 *ERCC1* 基因的表达。提示 *DNMT1* 在维持 *ERCC1* 启动子甲基化中的重要作用。下调 *DNMT1* 表达能逆转 *ERCC1* 启动子甲基化水平,因此,调控 *ERCC1* 水平可能成为卵巢癌潜在的基因治疗靶点,调控 *DNMT1* 有望促进 *ERCC1* 启动子甲基化水平,改善卵巢癌对铂类药物的耐药性。

综上所述,5-Aza-CdR 可以抑制 *DNMT1* 在 SKOV3 细胞中的表达,且可能通过改变 *ERCC1* 启动子甲基化状态影响 *ERCC1* 表达,深入研究 *DNMT1* 对 *ERCC1* 的调控将为逆转卵巢癌铂类耐药提供新的思路。

## [ 参考文献 ]

- [ 1 ] POVEDA VELASCO A, CASADO-HERRAEZ A, CERVANTES RUIPEREZ A, et al. Treatment guidelines in ovarian cancer in ovarian cancer[ J ]. Clin Transl Oncol, 2007, 9( 5 ): 308-316.
- [ 2 ] YEUNG T L, LEUNG C S, LI F, et al. Targeting stromal-cancer cell crosstalk networks in ovarian cancer treatment[ J ]. Biomolecules. 2016, 6( 1 ):3. DOI: 10.3390/biom 6010003.
- [ 3 ] ULKER M, DUMAN B B, SAHIN B, et al. *ERCC1* and *RRM1* as a predictive parameter for non-small cell lung, ovarian or pancreas cancer treated with cisplatin and/or gemcitabine[ J ]. Contemp Oncol, 2015, 19( 3 ): 207-213. DOI: 10.5114/wo.2015.52656.
- [ 4 ] 宋志雨,周航. RNA 干扰抑制 *ERCC1* 对非小细胞肺癌化疗敏感性的影响[ J ]. 重庆医学, 2011, 40( 32 ): 3232-3235.
- [ 5 ] HUANG Y W, JANSEN R A, FABBRI E, et al. Identification of candidate epigenetic biomarkers for ovarian cancer detection[ J ]. Oncol Rep, 2009, 22( 4 ): 853-861.
- [ 6 ] BIRD A. DNA methylation patterns and epigenetic memory[ J ]. Genes Dev, 2002, 16( 1 ): 6-21. DOI: 10.1101/gad.947102.
- [ 7 ] GOLL M G, BESTOR T H. Eukaryotic cytosine methyltransferases [ J ]. Annu Rev Biochem, 2005, 74( 6 ): 481-514. DOI: 10.1146/annurev.biochem.74.010904.153721.
- [ 8 ] WEBER M, HELLMANN I, STADLER M B, et al. Distribution,

silencing potential and evolutionary impact of promoter DNA methylation in the human genome[ J ]. Nat Genet, 2007, 39( 4 ): 457-466. DOI: 10.1038/ng1990.

- [ 9 ] OKANO M, BELL D W, HABER D A, et al. DNA methyltransferases *Dnmt3a* and *Dnmt3b* are essential for de novo methylation and mammalian development[ J ]. Cell, 1999, 99( 3 ): 247-257.
- [ 10 ] ESTELLER M. Epigenetics in cancer[ J ]. N Engl J Med, 2008, 358( 11 ): 1148-1159.
- [ 11 ] METIVIER R, GALLAIS R, TIFFOCHE C, et al. Cyclical DNA methylation of a transcriptionally active promoter[ J ]. Nature, 2008, 452( 7183 ): 45-50. DOI: 10.1038/nature06544.
- [ 12 ] 高桂芹,林琬君. DNA 异常甲基化在卵巢癌中的研究进展 [ J ]. 国际妇产科学杂志, 2013, 40( 1 ): 61-63.
- [ 13 ] STEFFENSEN K D, WALDSTRØM M, JAKOBSEN A. The relationship of platinum resistance and *ERCC1* protein expression in epithelial ovarian cancer[ J ]. Int J Gynecol Cancer, 2009, 19( 5 ): 820-825. DOI: 10.1111/IGC.0b013e3181a12e09.
- [ 14 ] MILOVIC KOVACEVIC M, SRDIC RAJIC T, RADULOVIC S, et al. Expression of *ERCC1* protein in biopsy specimen predicts survival in advanced ovarian cancer patients treated with platinum based chemotherapy[ J ]. J BUON, 2011, 16( 4 ): 708-714.
- [ 15 ] SCHEIL BERTRAM S, TYLUS SCHAAF P, DU BOIS A, et al. Excision repair cross complementation group 1 protein overexpression as a predictor of poor survival for high grade serous ovarian adenocarcinoma[ J ]. Gynecol Oncol, 2010, 119( 2 ): 325-331. DOI: 10.1016/j.ygyno.2010.07.018.
- [ 16 ] LI F Y, REN X B, XIE X Y, et al. Meta analysis of excision repair cross complementation group 1 ( *ERCC1* ) association with response to platinum based chemotherapy in ovarian[ J ]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14( 12 ): 7203-7206.
- [ 17 ] 刘志刚,陈华云,夏云飞,等. DNA 修复基因 *ERCC1* 启动子区甲基化与胶质瘤放射敏感性的相关性研究[ J ]. 中国神经肿瘤杂志, 2007, 5( 3 ):156-159.
- [ 18 ] ZHOU Z H, LEI Y X, WANG C X. Analysis of aberrant methylation in DNA repair genes during malignant transformation of human bronchial epithelial cells induced by cadmium[ J ]. Toxicol Sci, 2012, 125( 2 ):412-417. DOI: 10.1093/toxsci/kfr320.
- [ 19 ] LI A, OMURA N, HONG S M, et al. Pancreatic cancer *DNMT1* expression and sensitivity to *DNMT1* inhibitors[ J ]. Cancer Biol Ther, 2010, 9( 4 ):321-329. DOI: 10.4161/cbt.9.4.10750.
- [ 20 ] ZHANG Y, CHEN F Q, SUN Y H, et al. Effects of *DNMT1* silencing on malignant phenotype and methylated gene expression in cervical cancer cells[ J ]. World J Gastroenterol, 2009, 15( 16 ): 2020-2026. DOI: 10.1186/1756-9966-30-98.
- [ 21 ] 王红兵,陈卫昌. 胃癌患者外周血与胃癌组织中 *ERCC1* 基因甲基化的关系及其意义[ J ]. 中国癌症杂志, 2013, 23( 11 ): 900-903. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2013.11.008.

[ 收稿日期 ] 2017 - 03 - 26

[ 修回日期 ] 2017 - 05 - 17

[ 本文编辑 ] 韩丹