

基础研究

DOI:10.11699/cyxb20130903

甲基化 CpG 结合结构蛋白 2 在胃癌的表达及靶向抑制

范 晶¹, 何 苗², 幸 宇³, 王子卫²

(1. 重庆医科大学附属第一医院急诊科; 2. 重庆医科大学附属第一医院胃肠外科;

3. 重庆医科大学基础医学院法医学教研室, 重庆 400016)

【摘要】目的:研究甲基化 CpG 结合结构蛋白 2(methyl-CpG-binding domain protein 2, MBD2)在胃癌的表达及靶向抑制。方法:免疫组化法对 40 例胃癌及配对胃黏膜组织,免疫荧光法对胃癌细胞 SGC-7901 行 MBD2 表达研究。构建 3 个靶向抑制 MBD2 的 siRNA(MBD2-siRNA-1、MBD2-siRNA-2、MBD2-siRNA-3)。转染 MBD2-siRNA 入 SGC-7901, RT-PCR 及 Western blot 验证 MBD2 的抑制效果。噻唑蓝比色法检测 SGC-7901 增殖率。**结果:**胃癌组织 MBD2 表达较对照胃黏膜组织增强($\chi^2=6.646$, $P=0.010$);且低分化胃癌与伴幽门螺杆菌感染的胃癌中 MBD2 表达更强(χ^2 值分别为 9.730、8.700, P 值分别为 0.01 和 0.04)。MBD2 蛋白在胃癌细胞核分布。MBD2-siRNA 可成功转染 SGC-7901, 并成功筛选靶向抑制 MBD2 的 siRNA(MBD2-siRNA-2)。发现转染 MBD2-siRNA-2 后 96 h, SGC-7901 增殖率被抑制。**结论:**MBD2 在胃癌表达增强, 抑制 MBD2 可能抑制胃癌增殖。

【关键词】甲基化 CpG 结合结构蛋白 2; 胃癌; RNA 干扰; 表观遗传

【中国图书分类法分类号】R735.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-03-05

Expressions of methyl-CpG-binding domain protein 2
in gastric cancer and their RNA interferencesFAN Jing¹, HE Miao², XING Yu³, WANG Ziwei²

(1. Department of Emergency, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University; 2. Department of Gastrointestinal Surgery, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University; 3. Teaching and Research Section of Forensic Medicine, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the expressions of methyl-CpG-binding domain protein 2 (MBD2) and their RNA interferences (RNAi) in gastric cancer. **Methods:** Immunohistochemistry was used to detect MBD2 expressions in tissues of 40 gastric cancer cases and matched non-cancerous tissues. Immunofluorescence was used to detect the MBD2 distribution in gastric cancer cell (SGC-7901). Three siRNAs (MBD2-siRNA-1, MBD2-siRNA-2, MBD2-siRNA-3) targeting MBD2 were designed. Lipofectamine™2000 was used to transfect MBD2-siRNAs into SGC-7901. RT-PCR and Western blot were used to evaluate the efficiency of MBD2 inhibition. MTT assay was carried out to detect the growth rate of SGC-7901. **Results:** Expressions of MBD2 were higher in gastric cancer tissues than in matched gastric mucosa tissues ($\chi^2=6.646$, $P=0.010$). MBD2 expressions were much higher in gastric cancer tissues with low histological grade and *H.pylori* infection ($\chi^2=9.730$, 8.700 ; $P=0.01$, 0.04). MBD2 protein was distributed in nucleus of gastric cancer cell. Three MBD2-siRNAs all could be transfected into SGC-7901 perfectly and MBD2-siRNA-2 could inhibit the MBD2 mRNA and protein expressions best. At last, 96 h after the MBD2-siRNA-2's transfection, growth rate of SGC-7901 was inhibited. **Conclusions:** MBD2 protein expresses higher in gastric cancer tissues. MBD2 inhibition could suppress the proliferation of gastric cancer cell.

【Key words】 methyl-CpG-binding domain protein 2; gastric cancer; RNA interferences; epigenetics

DNA异常甲基化导致的肿瘤相关基因异常表达是肿瘤发展重要表观遗传机制^[1-2]。DNA 甲基化转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)及甲基化 CpG

结合结构蛋白 2(methyl-CpG-binding domain protein 2, MBD2)是参与基因组 DNA 甲基化修饰的重要功能蛋白^[3]。研究发现 DNMT 在肿瘤细胞高表达,通过促进抑癌基因高甲基化失活而促进肿瘤发展^[4];还发现 DNMT 抑制剂可抑制部分肿瘤细胞增殖^[5]。但作为与甲基化 DNA 结合并发挥抑制基因转录功能的 MBD2(亦有认为 MBD2 是去甲基化酶),其在肿瘤

作者介绍:范 晶, Email:wsz246@sina.com,

研究方向:重症医学和普通外科学。

通信作者:王子卫, Email:wangziwei571@163.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81202385)。

的表达及干预研究尚少,即使仅有的研究也并未明确 MBD2 在肿瘤增殖中的确切作用,例如:MBD2 可能在前列腺癌及膀胱癌的进展中起抑制作用^[6-7],而另有研究却发现 MBD2 在乳腺癌的进展中发挥促进作用^[8],那么在胃癌中其表现如何,目前尚不明确。本文以胃癌为对象,分析 MBD2 蛋白在胃癌的表达及靶向抑制,以期对胃癌乃至肿瘤的表现遗传科研提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

40 对胃癌(胃癌组织临床病理特点见表 1)及配对胃黏膜组织(距癌组织>5 cm)由重庆医科大学附属第一医院胃肠外科提供;胃癌细胞株 SGC-7901 由重庆医科大学附属第一医院实验研究中心馈赠;MBD2 抗体购自 Santa Cruz 公司;免疫组化与免疫荧光试剂购自北京中杉金桥公司;MBD2-siRNA 与 MBD2 引物由广州锐博公司合成;转染剂 Lipofectamine™2000 购自 Invitrogen 公司;RT-PCR 试剂购自 TaKaRa 公司;免疫印迹材料购自碧云天研究所;噻唑蓝购自 Sigma 公司;其他基本实验材料购自重庆惠尔利与鼎国公司。

表 1 不同胃癌临床特征中 MBD2 表达差异

Tab.1 MBD2 expressions corresponding to differential clinical parameters of gastric cancer

指标	例数 (n)	MBD2 表达 率(n, %)	χ^2 值	P 值
性别	男	24	-	0.262
	女	16		
年龄(岁)	≥50	25	0.000	1.000
	<50	15		
肿瘤大小(cm)	≥2	26	0.321	0.571
	<2	14		
组织学分级	低及中度分化	30	9.730	0.010
	高分化	10		
Lauren's 分型	肠型	18	-	0.083
	弥漫型	22		
TNM 分级	I、II	9	1.407	0.236
	III、IV	31		
幽门螺杆菌感染	阳性	35	8.700	0.040
	阴性	5		

注: -, Fisher 确切概率法

1.2 方法

1.2.1 免疫组化 免疫组织化学按中杉金桥提供试剂盒说明进行。一抗孵育采用 4℃过夜(一抗稀释比为 1:50)。区别染色细胞比率(a): 1($a < 25\%$)、2($25\% \leq a < 50\%$)、3($50\% \leq a <$

75%)、4($75\% \leq a$)。区别染色程度(b): 0(无染色)、1(浅黄色)、2(黄褐色)、3(褐红色)。阳性定义: $a \times b > 3$ 。此外,若某胃癌组织 $a \times b$ 值大于配对胃黏膜组织则标记“+”(代表该胃癌组织表达 MBD2 增强);反之标记“-”(代表胃癌组织表达 MBD2 减弱);若某胃癌与配对胃黏膜的 $a \times b$ 值相等则记“0”(代表 MBD2 在这对胃癌与胃黏膜组织表达相似)。

1.2.2 细胞培养 SGC-7901 用加 10%胎牛血清的 RPMI-1640 培养基培养;置于 37℃, 5%CO₂ 孵箱内。3 d 传代或更换培养基 1 次。

1.2.3 免疫荧光 接种 SGC-7901 至 96 孔板, 孵育 24 h。将孔板内细胞按固定(4%多聚甲醛, 室温, 20 min)、打孔(0.5% Triton X-100, 37℃, 20 min)、封闭(山羊血清封闭液, 37℃, 30 min)、一抗孵育(1:50, 4℃, 过夜)、荧光二抗孵育(1:50, 37℃, 1 h)、DAPI 染核(室温, 5 min)的顺序处理。设立 PBS 代替一抗的阴性对照。荧光显微镜观察结果。

1.2.4 siRNA 转染 接种 SGC-7901 至培养板。次日根据广州锐博公司“siRNA 产品使用说明”配制 siRNA-lipo2000 混合液, 并加入细胞培养基中(siRNA 终浓度 50 nmol/L), 培养 6~24 h 观察转染效率。

1.2.5 RT-PCR siRNA 转染细胞后 48 h 按 TaKaRa 试剂说明提取 mRNA。测定并调整 RNA 浓度。再按 TaKaRa 说明书进行 RT-PCR 反应(60℃退火, 30 s 延伸, 30 次循环)。设立空白对照(无转染)与阴性转染对照(无效 siRNA 转染)。产物行琼脂糖凝胶电泳。

1.2.6 Western blot siRNA 转染 72 h 后收集细胞, Western blot 法参照参考文献[9]描述进行。

1.2.7 噻唑蓝比色法 细胞于对数生长期接种至 96 孔板, 细胞数 10^4 个/孔, 250 μl 培养基/孔。siRNA 终浓度 50 nmol/L 处理细胞。于 1、2、3、4 d 和 5 d 加 MTT(5 g/L, 20 μl/孔), 4 h 后弃培养基加二甲亚砜(150 μl/孔), 酶标仪 490 nm 波长测吸光度(absorbance, A)值。设立空白对照(无细胞)、阴性对照(无转染)、空转染(只转染 lipo2000)组, 实验设复孔 5 个。细胞增殖率 = $(A_{\text{目的}} - A_{\text{空白对照}}) / (A_{\text{阴性对照}} - A_{\text{空白对照}})$ 。

1.3 统计学分析

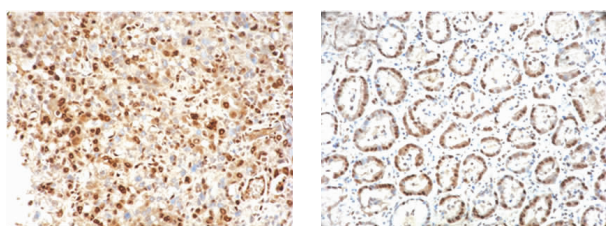
采用 SPSS 17.0 统计软件。计数资料以率表示, 组间差异使用 Wilcoxon 秩和检验, 卡方检验及 Fisher 确切概率法。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两组间均数的差异比较使用 t 检验, 多组间均数的比较使用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD- t 检验。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃癌与配对胃黏膜组织中 MBD2 表达

胃癌组织及胃黏膜组织均有 MBD2 蛋白表达(图 1)。胃癌组织 MBD2 阳性表达率 92.5%(37/40), 高于胃黏膜组织的 70%(28/40), $\chi^2 = 6.646$, $P = 0.010$ 。此外, 用 Wilcoxon 符号秩和

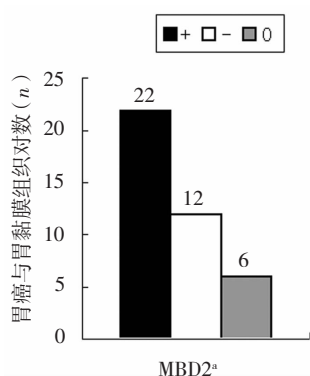
检验分析胃癌组织的 MBD2 表达(图 2),结果仍提示胃癌组织 MBD2 表达较配对胃黏膜组织增强($Z=-2.847, P=0.004$)。此结果与卡方检验相符。最后,MBD2 蛋白在细胞核分布。



A. 低分化胃腺癌组织中 MBD2 表达
B. 胃黏膜组织中 MBD2 表达

图 1 MBD2 在人胃癌及胃黏膜组织表达 (SP 三步法, 400 ×)

Fig.1 Expressions of MBD2 in human gastric cancer and matched mucosa tissues (SP, 400 ×)



“+”:胃癌 MBD2 表达较配对组织增强 ($a \times b$ 值在胃癌较大);
“-”:胃癌 MBD2 表达较配对组织减弱 ($a \times b$ 值在胃癌较小);
“0”:胃癌 MBD2 表达与配对组织相等 ($a \times b$ 值在胃癌与配对胃黏膜相等);胃癌组织表达 MBD2 蛋白较配对胃黏膜组织更强 ($a: P < 0.05$, Wilcoxon 符号秩和检验)

图 2 MBD2 在胃癌与配对胃黏膜组织的表达差异

Fig.2 Comparison of MBD2 expression in gastric cancer and matched mucosa tissues

2.2 MBD2 表达与胃癌临床特征关联

在低分化胃癌及伴幽门螺旋杆菌感染的胃癌中 MBD2 阳性表达率更高(卡方检验及 Fisher 确切概率法), χ^2 值分别为 9.730、8.700, P 值分别为 0.010 和 0.040。

2.3 胃癌细胞 MBD2 定位

MBD2 蛋白在 SGC-7901 细胞核分布见图 3。



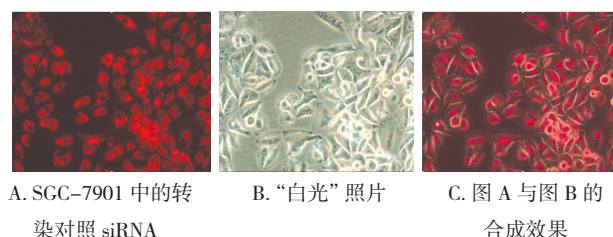
A. MBD2 在 SGC-7901 细胞核分布
B. DAPI 染色 细胞核
C. 图 A 与图 B 合成效果

图 3 MBD2 表达定位 (200 ×)

Fig.3 Distribution of MBD2 in SGC-7901 (200 ×)

2.4 siRNA 转染效率

siRNA 能成功转入 SGC-7901 且转染效率几乎 100% (图 4)。



A. SGC-7901 中的转染对照 siRNA
B. “白光”照片
C. 图 A 与图 B 的合成效果

图 4 转染对照 siRNA (Cy3) 转染效率 (200 ×)

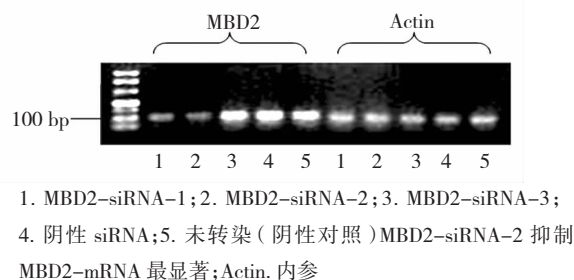
Fig.4 Efficiency of transfecting control siRNA (Cy3) in SGC-7901 (200 ×)

2.5 MBD2-siRNA 的筛选

MBD2 引物、Actin 引物、3 个 MBD2-siRNA 序列见表 2。3 个 siRNA 对 MBD2-mRNA 的抑制效果见图 5、6,发现 siRNA-2 效果较理想。利用 siRNA-2 继续实验。

表 2 MBD2 引物与 siRNA 序列资料
Tab.2 Data of MBD2 primer and siRNA sequence

引物名	序列	长度 (bp)
Actin	上游引物: 5' -TCAAGATCATTGCTCTCC-TGAG-3'	87
	下游引物: 5' -ACATCTGCTGGAAGGTGG-ACA-3'	
MBD2	上游引物: 5' -CCCTGCTGTTTGGCTTAAC-ACATCTC-3'	101
	下游引物: 5' -TGCCTACTTGCTGTACTC-GCTCTTC-3'	
MBD2-siRNA-1	5' -GAAAGAUGAUGCCUAGUAA dTdT -3' 3' -dTdT CUUUCUACUACGGAUCAU -5'	
MBD2-siRNA-2	5' -GUAAGAAGUUCAGAAGCAA dTdT -3' 3' -dTdT CAUUCUUCAGUCUUCGUU -5'	
MBD2-siRNA-3	5' -GCGAAACGAUCCUCUCAAU dTdT -3' 3' -dTdT CGCUUUGCUAGGAGAGUUA -5'	



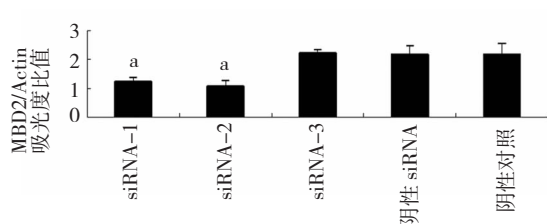
1. MBD2-siRNA-1; 2. MBD2-siRNA-2; 3. MBD2-siRNA-3;
4. 阴性 siRNA; 5. 未转染 (阴性对照) MBD2-siRNA-2 抑制 MBD2-mRNA 最显著; Actin: 内参

图 5 MBD2-siRNA 筛选

Fig.5 Screening of MBD2-siRNA

2.6 Western blot 证实 MBD2 被抑制

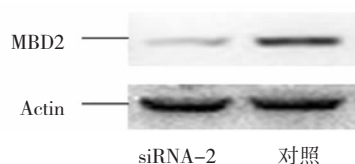
MBD2-siRNA-2 对 MBD2 蛋白确有抑制作用(图 7、图 8)。



MBD2-siRNA-2抑制 MBD2-mRNA 最显著
(a, 与阴性对照组比较, $P < 0.05$, t 检验, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

图 6 siRNA 对 MBD2-mRNA 的抑制

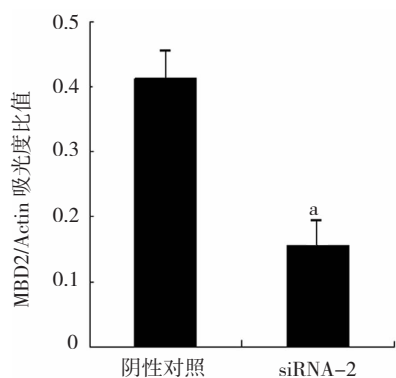
Fig.6 Inhibition on MBD2-mRNA by siRNA in SGC-7901



MBD2-siRNA-2在 SGC-7901 中可抑制 MBD2 蛋白表达;Actin. 内参

图 7 MBD2 蛋白被抑制

Fig. 7 Inhibition on MBD2 protein in SGC-7901



MBD2-siRNA-2可抑制 MBD2 蛋白表达 (a, 与阴性对照组比较, $P < 0.05$, t 检验, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

图 8 siRNA-2 对 MBD2 蛋白的抑制

Fig.8 Inhibition on MBD2 protein by siRNA-2 in SGC-7901

2.7 抑制 MBD2 对胃癌细胞增殖的影响

转染 MBD2-siRNA-2 96 h 后, SGC-7901 增殖率较对照

组降低, 而转染其他物质后 SGC-7901 的增殖率与对照组相比无统计学差异。见表 3。

3 讨论

大量研究发现, MBD2 蛋白在 DNA 甲基化调控基因转录过程中发挥了重要作用。大多数研究认为其具体作用机制为, 甲基化的 DNA 与 MBD2 蛋白结合后通过招募组蛋白去乙酰化酶而形成转录抑制复合物, 使染色体形态结构改变, 不利 DNA 解旋和解链, 进而抑制基因转录^[10-11]。有趣的是, 也有观点认为 MBD2 具有去甲基化酶功能^[12-13]。就肿瘤而言, MBD2 蛋白与异常高甲基化的抑癌基因(tumor suppressor gene, TSG)结合后, 通过抑制 TSG 转录而发挥潜在促癌作用, 如促进肿瘤体积增大, 数目增多等^[14]。所以抑制 MBD2 的表达和作用可能利于抑制部分肿瘤增殖。例如在多形胶质母细胞瘤细胞中, MBD2 表达十分显著, 而靶向抑制 MBD2 可通过激活抑癌基因 BAI1 而抑制胶质母细胞瘤增殖^[15]。又如乳腺癌中, 敲除 MBD2 可通过激活抑癌基因 DAPK1 和 KLK10 而起乳癌抑制作用^[16]。此外, 在肺癌与肠癌中也有类似发现, 且靶向抑制 MBD2 毒副作用小, 对正常细胞及机体的生理功能无显著影响^[17]。上述研究提示干预 MBD2 蛋白的作用可能对肿瘤诊治有重要作用, 并且在关于乳腺癌、肺癌及肠癌的一些研究中得到了证实, 在研究肿瘤的作用机制及诊治方法方面有一定的价值。那么 MBD2 蛋白在胃癌中是否也有类似的表达及作用机制呢? 本研究通过在胃癌组织中对 MBD2 蛋白表达情况以及对 MBD2 靶向抑制后胃癌细胞的增殖、生长情况的研究分析以期了解 MBD2 在胃癌组织的作用。

表 3 转染 MBD2-siRNA-2 后 SGC-7901 的增殖率

Tab.3 Growth rate of SGC-7901 after MBD2-siRNA-2 transfection

组别	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	144 h
空白对照组	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
空转染组	0.993 ± 0.078	0.988 ± 0.095	0.983 ± 0.077	0.982 ± 0.072	0.983 ± 0.069	0.985 ± 0.077
siRNA 组	0.997 ± 0.041	0.987 ± 0.091	0.980 ± 0.069	0.977 ± 0.067	0.973 ± 0.082	0.972 ± 0.072
MBD2-RNAi 组	0.982 ± 0.061	0.948 ± 0.064	0.928 ± 0.080	0.895 ± 0.081 ^a	0.858 ± 0.084 ^a	0.808 ± 0.072 ^a
F 值	0.133	0.568	1.349	3.201	5.369	11.814
P 值 ^b	0.831	0.785	0.663	0.624	0.667	0.688
P 值 ^c	0.915	0.755	0.602	0.534	0.506	0.450
P 值 ^d	0.560	0.235	0.072	0.010 ^a	0.002 ^a	0.000 ^a

注: b, 空转染组与空白对照组相比; c, siRNA 组与空白对照组相比; d, MBD2-RNAi 组与空白对照组相比; a, $P < 0.05$

本文发现,虽正常胃黏膜组织与胃癌组织中均表达 MBD2 蛋白,但 MBD2 蛋白在胃癌的表达增强(细胞核表达),差异具有统计学意义。且部分胃癌临床特征(如组织学分化,幽门螺旋杆菌感染)还与 MBD2 表达相关,MBD2 与胃癌组织分化程度呈反比,与幽门螺旋杆菌的感染率呈正比,这也一定程度上反映了 MBD2 蛋白在胃癌发生、发展中的作用。此外,在实验中,即使仅采用化学合成的 siRNA 瞬时转染 SGC-7901 细胞(胃癌细胞)抑制 MBD2 表达,也发现 SGC-7901 增殖率被一定程度抑制。这些结果提示:与其他肿瘤类似,MBD2 蛋白在胃癌的发展中可能发挥重要作用,与肿瘤的恶性程度可能亦存在相关性,并且对胃癌的诊治具有潜在价值。这些结果进一步证实 MBD2 蛋白在一定程度上具有促癌作用,但其通过何种机制以及参与何种过程促进癌组织发展,目前尚不明确,本实验为其具体作用机制的深入研究提供参考,对肿瘤治疗学的研究进展提供一定的参考。

那么 MBD2 能否成为胃癌临床诊治新靶点,以下工作至关重要:(1)继续大样本多中心资料分析 MBD2 在胃癌的表达;(2)稳定敲除 MBD2 表达后,胃癌细胞增殖抑制能否在动物体内试验中得以证实;(3)明确 MBD2 参与胃癌细胞增值调控的机制(特别是其与胃癌发展表观遗传机制的联系)。所以大量研究仍需继续。

参 考 文 献

- [1] Esteller M. Cancer epigenetics for the 21st century; what's next? [J]. *Genes Cancer*, 2011, 2(6): 604-606.
- [2] 何 苗, 王子卫. DNA 甲基化与肿瘤[J]. *医学分子生物学杂志*, 2011, 8(5): 465-469.
- [3] He M, Wang Z W. DNA methylation in tumor research[J]. *Journal of Medical Molecular Biology*, 2011, 8(5): 465-469.
- [4] Daniel F I, Cherubini K, Yurgel L S, et al. The role of epigenetic transcription repression and DNA methyltransferases in cancer[J]. *Cancer*, 2011, 117(4): 677-687.
- [5] Karahoca M, Momparler R L. Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of 5-aza-2'-deoxycytidine (decitabine) in the design of its dose-schedule for cancer therapy[J]. *Clin Epigenetics*, 2013, 5(1): 3.
- [6] Patra S K, Patra A, Zhao H, et al. DNA methyltransferase and demethylase in human prostate cancer[J]. *Mol Carcinog*, 2002, 33(3): 163-171.
- [7] Zhu Y, Spitz M R, Zhang H, et al. Methyl-CpG-binding domain 2: a protective role in bladder carcinoma[J]. *Cancer*, 2004, 100(9): 1853-1858.
- [8] Mian O Y, Wang S Z, Zhu S Z, et al. Methyl-binding domain protein 2-dependent proliferation and survival of breast cancer cells[J]. *Mol Cancer Res*, 2011, 9(8): 1152-1162.
- [9] Jung Y, Park J, Kim T Y, et al. Potential advantages of DNA methyltransferase 1 (DNMT1)-targeted inhibition for cancer therapy[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2007, 85(10): 1137-1148.
- [10] Chatagnon A, Perriaud L, Nazaret N, et al. Preferential binding of the methyl-CpG binding domain protein 2 at methylated transcriptional start site regions[J]. *Epigenetics*, 2011, 6(11): 1295-1307.
- [11] Berger J, Bird A. Role of MBD2 in gene regulation and tumorigenesis[J]. *Biochem Soc Trans*, 2005, 33(Pt 6): 1537-1540.
- [12] Zhu Y, Spitz M R, Zhang H, et al. Methyl-CpG-binding domain 2: a protective role in bladder carcinoma[J]. *Cancer*, 2004, 100(9): 1853-1858.
- [13] Szyf M. Epigenetic therapeutics in autoimmune disease[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2010, 39(1): 62-77.
- [14] Sansom O J, Berger J, Bishop S M, et al. Deficiency of Mbd2 suppresses intestinal tumorigenesis[J]. *Nat Genet*, 2003, 34(2): 145-147.
- [15] Zhu D, Hunter S B, Vertino P M, et al. Overexpression of MBD2 in glioblastoma maintains epigenetic silencing and inhibits the antiangiogenic function of the tumor suppressor gene BAI1[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(17): 5859-5870.
- [16] Mian O Y, Wang S Z, Zhu S Z, et al. Methyl-binding domain protein 2-dependent proliferation and survival of breast cancer cells[J]. *Mol Cancer Res*, 2011, 9(8): 1152-1162.
- [17] Campbell P M, Bovenzi V, Szyf M. Methylated DNA-binding protein 2 antisense inhibitors suppress tumorigenesis of human cancer cell lines in vitro and in vivo[J]. *Carcinogenesis*, 2004, 25(4): 499-507.

(责任编辑: 冉明会)