

DNA 甲基转移酶在宫颈癌组织中的表达及其与 HPV 的相关性分析*

黄团明,王 婉,闫晓欢,郑英如[△]

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所妇产科,重庆 400042)

[摘要] **目的** 探讨 5 种 DNA 甲基转移酶(DNMTs)在宫颈癌组织中的表达情况及其与高危型人乳头瘤病毒(HPV)感染的关系。**方法** 应用荧光定量 PCR、Western blotting、免疫组化检测 40 例宫颈癌组织、对应癌旁组织及 20 例正常宫颈组织中 DNMT1、DNMT2、DNMT3a、DNMT3b 和 DNMT3l 的表达情况,应用质谱法检测 HPV 感染情况。**结果** 宫颈癌组织中 DNMT1、DNMT3a、DNMT3b、DNMT3l 的阳性表达率分别为 90.0%、85.0%、70.0%、80.0%,在癌旁组织内的阳性表达率分别为 87.5%、85.0%、72.5%、77.5%,均明显高于正常宫颈组织内的阳性表达率(分别为 25.0%、15.0%、20.0%和 30.0%),而 DNMT2 在宫颈癌和癌旁组织中阳性表达率仅为 12.5%和 17.5%,明显低于正常宫颈组织(约 85.0%),且 DNMT1、DNMT3a、DNMT3b 与 HPV 阳性呈显著正相关(r 值分别为 0.709、0.538 和 0.536, $P < 0.05$)。**结论** 宫颈癌组织中 DNMT 的表达谱发生明显改变,且 HPV 高危亚型感染与 DNMT1、DNMT3a、DNMT3b 的表达升高密切相关。

[关键词] 宫颈肿瘤;甲基转移酶类;人乳头瘤病毒**[中图分类号]** R711.74**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)13-1752-04**Expression of DNA methyltransferases in cervical cancer tissue and its relationship with HPV infection***Huang Tuanming, Wang Wan, Yan Xiaohuan, Zheng Yingru[△]

(Department of Gynecology and Obstetrics, Research Institute of Field Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression situation of 5 kinds of DNA methyltransferases (DNMTs) in human cervical cancer tissues and its relationship with high risk-human papillomavirus (HR-HPV) infection. **Methods** The mRNA expressions of DNMT1, DNMT2, DNMT3a, DNMT3b and DNMT3l were detected in 20 cases of cervical cancer specimen and 20 cases of normal cervical tissues by real-time quantitative PCR, the protein expressions were detected by immunohistochemistry and Western blot. The HPV infection was detected by the mass spectrography. The results and clinical pathological parameters were analyzed. **Results** The positive expression rates of DNMT1, DNMT3a, DNMT3b and DNMT3l in cervical cancer tissues were 90.0%, 85.0%, 70.0% and 80.0% respectively. The positive expression rates of DNMT1, DNMT3a, DNMT3b and DNMT3l in paracarcinomatous tissues were 87.5%, 85.0%, 72.5% and 77.5% respectively. All of them were significantly higher than those in the normal cervical tissues (25.0%, 15.0%, 20.0% and 30.0%). However, the positive expression rate of DNMT2 was 12.5% in the cervical cancer tissues and 17.5% in the paracarcinomatous tissues, which were significantly lower than that in normal cervical tissues (85.0%). Moreover the expressions of DNMT1, DNMT3a and DNMT3b were significantly positively correlated with the HPV positive ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression spectrum of DNMT has obvious changes in the cervical tissues, moreover HPV high-risk subtype infection is closely correlated with the increased expression of DNMT1, DNMT3a and DNMT3b.

[Key words] uterine cervical neoplasms; methyltransferases; human papillomavirus

宫颈癌是女性生殖系统最常见的恶性肿瘤,每年新增患者数约 500 000 人,新增死亡人数超过 270 000 例^[1]。高危型人乳头瘤病毒(high risk human papilloma viruses, HR-HPV)的持续感染被证实是宫颈癌病因学最重要的危险因素,但其引起宫颈癌变的分子生物学机制尚不十分清楚。近年来,越来越多的研究表明表观遗传学的异常也参与了宫颈癌的发生、发展,特别是 DNA 甲基化在宫颈癌的发生、发展中起着重要的作用。DNA 甲基化是在 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)的催化下,使甲基基团共价结合到胞嘧啶 5' 端碳原子上形成 5-甲基胞嘧啶的过程,是真核生物 DNA 最普遍的一种修饰方式。甲基化以后核苷酸的顺序并没有发生改变,而基因的表达则受到一定程度的影响。在 DNA 甲基化过程中, DNA 甲基转移酶的表达水平和功能的改变是导致异常

DNA 甲基化模式的关键因素之一。既然 HPV 高危亚型的感染和 DNA 甲基化均是宫颈癌发生、发展的重要因素,那么它们二者之间是否存在必然的联系,目前国内鲜见报道。因此,本文拟对宫颈癌、癌旁组织及正常宫颈组织 DNMT 的表达情况进行分析,并分析其与 HPV 高危亚型感染之间的关系。

1 材料与方法

1.1 标本和试剂 所有组织标本均来自重庆第三军医大学大坪医院野战外科研究所妇产科,宫颈癌组织及对应癌旁组织均经病理证实(38 例为鳞癌,2 例为腺癌),正常宫颈组织为子宫肌瘤或子宫脱垂并行子宫全切者。TRIzol RNA 提取试剂购自北京康为世纪公司;2×QPCR master mix 购自 Takara 公司,所有引物均由上海生工生物工程公司合成;RIPA 蛋白裂解液、BCA 蛋白浓度测定盒、GAPDH 内参一抗均购自碧云天

表 1 各目的基因的引物序列及内参序列

目的基因	正义链引物	反义链引物
DNMT1	F:5'-AAC CTT CAC CTA GCC CCA G-3'	R:5'-CTC ATC CGA TTT GGC TCT TTC A-3'
DNMT2	F:5'-GCT TCA GTC AGA GCC ATT ACC-3'	R:5'-GGT TCA CGT CAG TGT CAT CTT C-3'
DNMT3a	F:5'-GAC AAG AAT GCC ACC AAA GC-3'	R:5'-CGT CTC CGA ACC ACA TGA C-3'
DNMT3b	F:5'-AGG GAA GAC TCG ATC CTC GTC-3'	R:5'-GTG TGT AGC TTA GCA GAC TGG-3'
DNMT3l	F:5'-GGG GTG CAT CAG GGA TCT GA-3'	R:5'-GTG TGT AGC TTA GCA GAC TGG-3'
GAPDH	F:5'-AGG TGA AGG TCG GAG TCA-3'	R:5'-GGT CAT TGA TGG CAA CAA-3'

技术有限公司;DNMT1、DNMT2、DNMT3a、DNMT3b 和 DNMT3l 抗体购自 Abcam 公司,免疫组化与免疫荧光相关试剂、羊抗鼠、羊抗兔 IgG 购自北京中杉金桥公司。

1.2 方法

1.2.1 HPV 分型检测 HPV DNA 检测由深圳华大基因科技有限公司采用飞行时间质谱检测法对宫颈刷片标本进行 HPV 亚型测定,包括 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68、6、11,共 16 种亚型。

1.2.2 荧光定量 PCR 检测宫颈癌、癌旁组织及正常宫颈组织的 mRNA 表达情况 取 30~50 mg 组织按 TRIzol 试剂说明提取组织总 RNA,Manodrop lite 测定 RNA 浓度,并取 3 μg 按试剂说明书反转录成 cDNA。反应体系:取 1 μL cDNA 模板,上、下游引物 0.5 μL,10 μL SYB Green Mix 及 8 μL 去离子水行定量 PCR 反应,以 GAPDH 为内参,各引物序列见表 1;反应条件为:50 °C 2 min,95 °C 10 min 预变性;随后 95 °C 30 s,60 °C 30 s,共 40 个循环;最后 72 °C 延伸 10 min。根据 ABI 7500 型荧光定量仪所得 Ct 值,以 GAPDH 为内参,计算各组 mRNA 相对表达量,结果用 2^{-ΔΔCt} 值表示,ΔCt=Ct_{目的基因} - Ct_{GAPDH},ΔΔCt=ΔCt_{实验组} - ΔCt_{对照组}。

1.2.3 免疫组织化学法检测宫颈癌、癌旁组织及正常宫颈组织的蛋白表达情况 新鲜组织标本用甲醛固定并行石蜡包埋,切片机切片;40 °C 水浴伸展,60 °C 烘箱烤片 2 h,脱水,柠檬酸钠高压锅抗原修复,3% H₂O₂ 室温孵育 15 min,PBS 洗片 5 min×3 次,滴加一抗(工作浓度均为 1:100),4 °C 孵育过夜;PBS 冲洗 3 次,二抗 37 °C 孵育 25 min,PBS 冲洗 2 min×3 次,DAB 显色(1 min),自来水冲洗 1 min×3 次,苏木精染色 20 s,盐酸乙醇分化,自来水冲洗 1 min×3 次,脱水、透明、封片、镜检(Olympus)。

1.2.4 Western blotting 检测宫颈癌组织、癌旁组织及正常宫颈组织的蛋白表达情况 取 30~50 mg 组织,加入 RIPA 裂解液(含 10:1 cocktail)400 μL,冰上裂解 30 min,取上清液于 1.5 mL 离心管中,BCA 法酶标仪测定蛋白浓度,并标准化样品,100 °C 水浴 15 min 使蛋白变性。按照每孔 60 μg 蛋白进行 SDS-PAGE 电泳(80 V 跑过上层胶,120 V 跑至溴酚蓝刚跑出即终止),半干转法[横流,电流(mA)=膜面积(cm²)×2(mA)]将蛋白转印到 0.2 μm PVDF 膜上,然后用含 5% 脱脂奶粉的 PBST 缓冲液室温封闭 2 h,漂洗后与一抗 4 °C 缓慢摇动过夜;次日用 PBST 洗膜 3×10 min,洗脱后与相应 HRP 标记的二抗室温孵育 2 h,相同条件再次洗膜后用化学发光试剂显影,凝胶成像系统曝光获取图像,并用 Quantity one 计算目的条带与内参 GAPDH 的灰度比值。

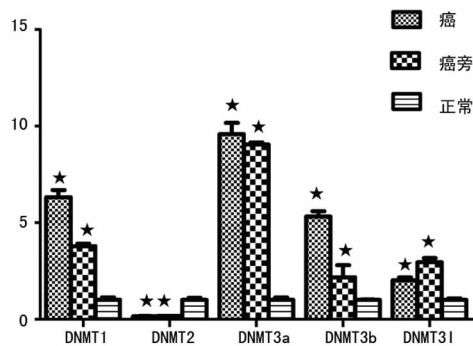
1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行处理,组间的差异显著性检验采用 t 检验,样本阳性率比较采用卡方检

验,相关性分析采用 Spearman 等级相关分析,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HPV 分型检测结果 60 例标本中有 40 例检出 HR-HPV,其中癌组织 38 例,正常宫颈组织 2 例。宫颈癌组织中 HR-HPV 感染率为 95.0%,正常宫颈组织感染率为 10.0%,两组相比差异有统计学意义(P<0.01)。在宫颈癌组中,HPV 16、52、58、31、18 感染率较高;而 2 例正常宫颈组织的 HPV 检出亚型均为 HPV 16。所有 HPV 阳性的宫颈组织中,单一亚型感染 23 例,占 57.5%;双重感染及多重感染 17 例,占 42.5%。

2.2 宫颈癌组织、对应癌旁组织及正常宫颈组织中 DNMTs 的 mRNA 表达情况 各目的基因表达情况如图 1 所示,癌组织及癌旁组织与正常宫颈组织相比, DNMT1、DNMT3a、DNMT3b、DNMT3l 表达显著升高, DNMT2 表达显著降低(P<0.05)。



*: P<0.05,与正常宫颈组织相比。

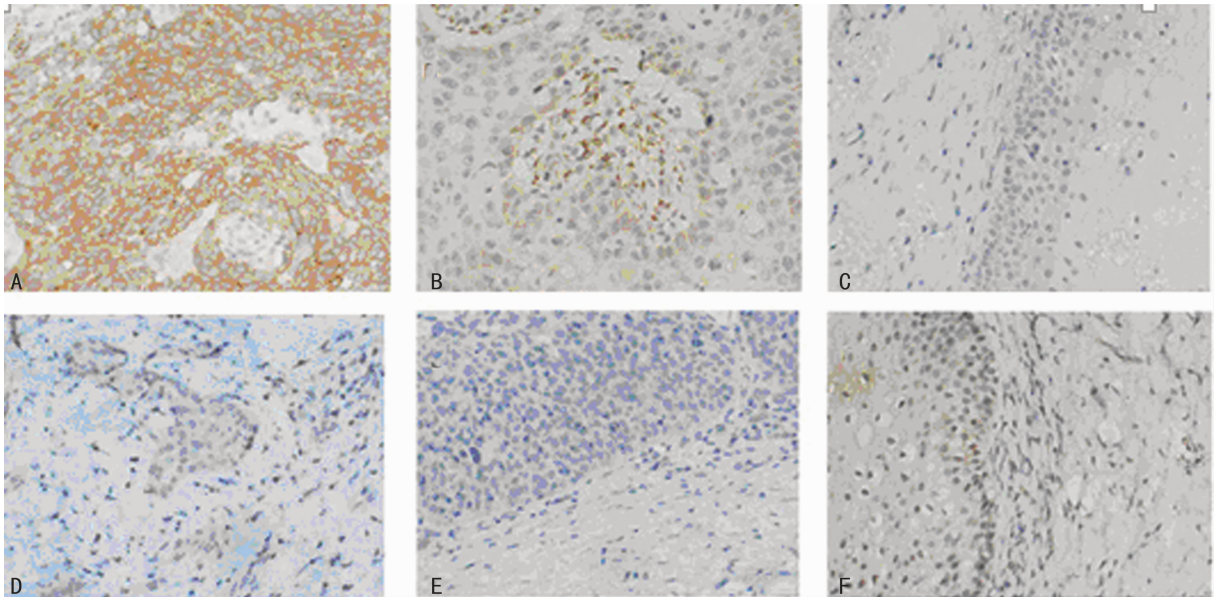
图 1 各目的基因中宫颈癌、对应癌旁组织及正常宫颈组织 mRNA 的表达情况

2.3 宫颈癌组织、对应癌旁组织及正常宫颈组织 DNMTs 的蛋白表达情况 各目的蛋白的免疫组化结果见图 2。癌组织 DNMT1 表达率 90.0%(36/40),DNMT2 表达率 12.5%(5/40),DNMT3a 表达率 85.0%(34/40),DNMT3b 表达率 70%(28/40),DNMT3l 表达率 80.0%(32/40);癌旁组织 DNMT1 表达率 87.5%(35/40),DNMT2 表达率 17.5%(7/40),DNMT3a 表达率 85.0%(34/40),DNMT3b 表达率 72.5%(29/40),DNMT3l 表达率 77.5%(31/40),正常宫颈组织 DNMT1 表达率 25%(5/20),DNMT2 表达率 85.0%(17/20),DNMT3a 表达率 15.0%(3/20),DNMT3b 表达率 20.0%(4/20),DNMT3l 表达率 30.0%(6/20)。可见除 DNMT2 外,其余 DNMT 在宫颈癌、癌旁组织的表达率均明显高于正常组织(P<0.05)。5 种蛋白的表达部位均在细胞核内。

宫颈癌组织、对应癌旁组织及正常宫颈组织中 DNMTs 的

Western blotting 情况如图 3 所示。癌组织 DNMT1 表达率 90.0% (36/40), DNMT2 表达率 15.0% (6/40), DNMT3a 表达率 85.0% (34/40), DNMT3b 表达率 70% (28/40), DNMT3l 表达率 80.0% (32/40); 癌旁组织 DNMT1 表达率 87.5% (35/40), DNMT2 表达率 10.0% (4/40), DNMT3a 表达率 80.0% (32/40), DNMT3b 表达率 75.0% (30/40), DNMT3l 表达率

77.5% (31/40); 正常宫颈组织 DNMT1 表达率 20.0% (4/20), DNMT2 表达率 90.0% (18/20), DNMT3a 表达率 15.0% (3/20), DNMT3b 表达率 20.0% (4/20), DNMT3l 表达率 25.0% (5/20), 与免疫组化结果基本吻合。除 DNMT2 外, 其余 DNMT 在宫颈癌、癌旁组织的表达率均明显高于正常组织 ($P < 0.05$)。

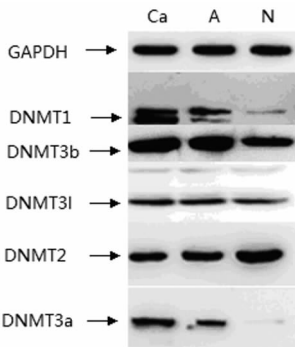


A: 宫颈癌组织 DNMT3a 的表达; B: 癌旁组织 DNMT3a 的表达; C: 正常宫颈组织 DNMT3a 的表达; D: 宫颈癌组织 DNMT2 的表达; E: 癌旁组织 DNMT2 的表达; F: 正常宫颈组织 DNMT2 的表达。

图 2 DNMT3a 和 DNMT2 在宫颈癌组织、癌旁组织和正常宫颈组织的表达 (SP×400)

表 2 HPV 感染与 DNMT 蛋白阳性表达之间的相关性 (n)

组别	DNMT1		DNMT2		DNMT3a		DNMT3b		DNMT3l	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
HPV 阳性	35	3	9	29	31	7	28	10	26	12
HPV 阴性	5	17	15	7	6	16	4	18	11	11
P	0.000		0.000		0.000		0.000		0.163	
r	0.709		-0.438		0.538		0.536		0.183	



Ca: 宫颈癌组织; A: 癌旁组织; N: 正常宫颈组织。

图 3 各 DNMT 蛋白的 Western blotting 检测情况

2.4 DNMT 的阳性表达与宫颈组织 HPV 感染的相关性 各 DNMT 蛋白的表达情况与 HPV 感染的相关性分析见表 2。可见, DNMT1, 3a, 3b 的阳性表达与 HPV 感染呈明显的正相关 (r 值分别为 0.709, 0.538 和 0.536, $P < 0.05$), 而 DNMT2 的阳性表达与 HPV 感染呈明显的负相关 ($r = -0.438, P < 0.05$), DNMT3l 的阳性表达则与 HPV 感染无明显关系 ($r =$

0.163, $P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 甲基转移酶及其与宫颈癌的关系 目前已知的 DNA 甲基化转移酶家族包括 DNMT1、DNMT3a、DNMT3b、DNMT3l 和 DNMT2。DNMT3a 和 DNMT3b 是胚胎早期发育中建立起 DNA 甲基化模式的重新甲基转移酶, 主要参与甲基化从头合成^[2]; DNMT1 是作用于半甲基化 DNA 的维持甲基化转移酶, 它对新合成的 DNA 单链进行甲基化修饰, 并将甲基化信息传递给子代细胞。DNMT3l 不具有酶活性, 主要作用是调节 DNMT3a 和 3b 的活性从而调节从头甲基化^[3]。而 DNMT2 实质上是一种 tRNA 甲基化转移酶, 在体外无酶活性, 但因其结构与其他 DNMT 相似, 故也归类在 DNMT 家族中。关于 DNMT2 的作用目前尚不清楚^[4], 也有研究称 DNMT2 具有微弱 DNA 甲基转移酶活性^[5]。一般认为, DNMT 在胚胎早期为高表达, 随着细胞分化的成熟和基因组甲基化模式的稳定, DNMTs 就在体细胞中表达降低甚至是消失。早在 1999 年 Robertson 等^[6]就发现 DNMT1、3a、3b 在宫颈癌组织的 mRNA 表达水平高于正常宫颈组织, 并且揭示 DNMTs 的表达异常是引起宫颈癌发生、发展的重要因素。本研究结果显示 DN-

MT1、3a、3b、3l 无论是在 mRNA 水平还是蛋白水平上,癌组织中表达水平均高于正常宫颈组织,而 DNMT2 在癌组织中表达水平明显低于正常宫颈组织,同样提示 DNA 甲基化转移酶尤其是 DNMT1、3a 和 3b 的过表达在宫颈癌的发生、发展中扮演了重要角色,而 DNMT2 不具备 DNA 甲基转移酶活性,可能与宫颈癌的发生、发展无明显关系。但是,宫颈癌组织中是什么导致了 DNMT 的表达增高,目前机制尚不明确。

3.2 HPV 感染及其与宫颈癌的关系 HPV 感染是导致宫颈发生癌变最主要的原因,然而大部分 HPV 感染者只是一过性感染,只有不到 10% 的 HPV 感染者会发展为重度损伤,甚至是浸润性宫颈癌,90% 以上的 HPV 急性感染者虽在初期会有轻度损伤,但在 3 年内可以自发清除其感染及伤害^[7]。浸润性宫颈癌患者最常见的 HPV 感染亚型为 HPV 16/18,总检出率高达 70%,亚洲地区其他常见的 HPV 高危亚型还包括 HPV 52、58 和 33^[8-9]。本实验检测结果显示,HPV 感染最常见的亚型依次为 HPV 16、52、58、31 和 18,与其他文献报道基本相符。其中单一亚型感染以 HPV 16 多见,大多数学者认为,这部分 HPV 通过整合到宿主细胞,进而引起其发生改变,可能机制为:(1)HPV 16 整合到宿主细胞后导致 E6/E7 的永久表达,通过使原癌基因 p53 和 Rb 及其他一些参与细胞黏附、凋亡、细胞周期、DNA 修复、细胞代谢、调节转录和翻译的信号转导通路的蛋白失活,进而促进细胞的转化和无限增殖;(2)病毒整合到基因内或其附近会最终导致细胞生长及分化的改变;(3)病毒整合可以诱导病毒和宿主基因表观遗传学的改变,进而影响其表达^[10]。

3.3 甲基化与 HPV 感染之间的关系及其对宫颈的作用 有学者认为,HPV 感染与 DNA 甲基化的分子机制存在着相互联系,这种联系既有可能是宿主对外来基因的一种防御方式,也有可能是 DNA 甲基化直接参与了病毒的复制周期。Chen 等^[11]发现丙型肝炎病毒相关性肝癌中, DNMT1、3b 的异常表达与丙型肝炎病毒感染密切相关。同时,亦有研究证实宫颈癌细胞的 HPV 特定基因启动子存在异常甲基化,如 IGF2、PEG1/MEST、DAPK I、RAR β 、TWIST I、CDH13 等^[12-13]。Yeung 等^[14]通过敲除宫颈癌细胞株中的 HPV16 E6,观察到 DNMT1 的表达下降,且 E6 过表达时,其 DNMT1 的表达也升高,说明了 HPV16 E6 对 DNMT1 表达的作用。这些均证明 HPV 的感染确实与 DNA 的异常甲基化存在关系。Burgers 等^[15]认为 HPV E7 蛋白有可能通过两种途径影响 DNMT 的表达:(1)E7 蛋白间接的结合到 pRb 上,进而释放 E2F 转录因子,从而引起 DNMT 启动子的活性增高;(2)E7 蛋白直接结合到 DNMT 上,形成 E7/DNMT 复合物,使得 DNMT 的激活位点暴露,促进 DNMT 与 DNA 和腺苷蛋氨酸的结合。这种甲基化的改变会使得某些抑癌基因表达沉默,进而导致宫颈癌的发生。本研究中发现 HR-HPV 阳性和阴性者,其 DNMT 的表达谱存在明显异常,这可能提示了宫颈癌中 DNMT 的表达与 HPV 高危亚型的感染存在一定的相关性,二者之间的相互作用最终导致了宫颈癌的发生、发展。但 HPV 感染引起 DNMT 的表达谱发生变化的具体机制目前尚不清楚,需待进一步的研究。

综上所述,5 种 DNMT 在宫颈癌组织中的表达谱发生明显改变,以 DNMT1、DNMT3a、DNMT3b 为主,HR-HPV 感染与宫颈癌组织中 DNMT1、DNMT3a、DNMT3b 的过表达呈正相关,提示 HR-HPV 感染可能影响宫颈癌组织中 DNMT 的表达,进而引起宫颈癌的发生、发展,但 HR-HPV 感染引起 DNMT 异常的机制及此机制是否与宫颈癌相关均需进一步探索。

参考文献

- [1] Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008 [J]. *Ann Oncol*, 2011, 22(12): 2678-2686.
- [2] Okano M, Bell DW, Haber DA, et al. DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development [J]. *Cell*, 1999, 99(4): 247-257.
- [3] Hermann A, Goyal R, Jeltsch A, et al. The Dnmt1 DNA-(cytosine-C5)-methyltransferase methylates DNA processively with high preference for hemimethylated target sites [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(46): 48350-48359.
- [4] Defossez PA. Ceci n'est pas une DNMT: recently discovered functions of DNMT2 and their relation to methyltransferase activity [J]. *Bioessays*, 2013, 35(12): 1024.
- [5] Goll MG, Kirpekar F, Maggert KA, et al. Methylation of tRNA Asp by the DNA methyltransferase homolog Dnmt2 [J]. *Science*, 2006, 311(5759): 395-398.
- [6] Robertson KD, Uzvolgyi E, Liang G, et al. The human DNA methyltransferases (DNMTs) 1, 3a and 3b: coordinated RNA expression in normal tissues and overexpression in tumors [J]. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(11): 2291-2298.
- [7] Ho GY, Bierman R, Beardsley L, et al. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women [J]. *N Engl J Med*, 1998, 338(7): 423-428.
- [8] Bao YP, Li N, Smith JS, et al. Human papillomavirus type distribution in women from Asia: a meta-analysis [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2008, 18(1): 71-79.
- [9] Woodman CB, Collins SI, Young LS. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues [J]. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(1): 11-22.
- [10] Jimenez-Wences H, Peralta-Zaragoza O, Fernandez-Tilapa G. Human papilloma virus, DNA methylation and microRNA expression in cervical cancer (Review) [J]. *Oncol Rep*, 2014, 31(6): 2467-2476.
- [11] Chen C, Pan D, Deng A, et al. DNA methyltransferases 1 and 3B are required for hepatitis C virus infection in cell culture [J]. *Virology*, 2013, 441(1): 57-65.
- [12] Vidal AC, Henry NM, Murphy SK, et al. PEG1/MEST and IGF2 DNA methylation in CIN and in cervical cancer [J]. *Clin Transl Oncol*, 2014, 16(3): 266-272.
- [13] Sova P, Feng Q, Geiss G, et al. Discovery of novel methylation biomarkers in cervical carcinoma by global demethylation and microarray analysis [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006, 15(1): 114-123.
- [14] Yeung CL, Tsang WP, Tsang TY, et al. HPV-16 E6 up-regulation of DNMT1 through repression of tumor suppressor p53 [J]. *Oncol Rep*, 2010, 24(6): 1599-1604.
- [15] Burgers WA, Blanchon L, Pradhan S, et al. Viral oncoproteins target the DNA methyltransferases [J]. *Oncogene*, 2007, 26(11): 1650-1655.