

## Wip-1 基因在子宫内膜癌组织中的表达及其与细胞凋亡的关系研究\*

蒙荣钦<sup>1</sup>, 王 阳<sup>1</sup>, 杜泽东<sup>1</sup>, 虞小林<sup>1</sup>, 李昌林<sup>2△</sup>, 王 敏<sup>3</sup>(1. 中航工业 363 医院肿瘤科, 成都 610041; 2. 四川省成都市第一人民医院肿瘤科 610016;  
3. 中国医科大学第四医院肿瘤科, 沈阳 110032)

**[摘要]** 目的 探讨野生型 p53 诱导磷酸酶 1(Wip-1)基因在子宫内膜癌组织中的表达及与细胞凋亡的关系。方法 选取子宫内膜癌患者 68 例, 子宫内膜不典型增生患者 30 例, 并留取正常子宫内膜组织标本 40 份。培养子宫内膜癌细胞系 ECC-1 (ER 阳性) 和 KLE (ER 阴性), 将细胞分为 Wip-1 siRNA 组、siRNA 对照组和空白对照组。利用实时荧光定量聚合酶链式反应 (PCR) 技术检测不同组织及不同转染组细胞中 Wip-1 基因表达, 四甲基嘧啶蓝 (MTT) 比色法检测不同处理组细胞增殖能力, Annexin V-异硫氰酸荧光素 (FITC)/碘化丙啶 (PI) 双染色检测不同处理组细胞凋亡及细胞周期。结果 子宫内膜癌组织中 Wip-1 mRNA 表达水平 ( $2.37 \pm 0.16$ ) 高于子宫内膜不典型增生组织 ( $1.59 \pm 0.14$ ) 和正常子宫内膜组织 ( $1.14 \pm 0.12$ ), 且子宫内膜不典型增生组织高于正常子宫内膜组织, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 子宫内膜癌组织中 Wip-1 mRNA 表达水平与病理分期、病理分级、淋巴结转移、p53 有关 ( $P < 0.01$ ); Wip-1 siRNA 组 ECC-1 细胞和 KLE 细胞在转染后 24、48、96 h 细胞存活率均低于 siRNA 对照组和空白对照组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); Wip-1 siRNA 组 ECC-1 细胞和 KLE 细胞  $G_0 + G_1$  期比例均高于 siRNA 对照组和空白对照组, 而 S 期和  $G_2 + M$  期比例均低于 siRNA 对照组和空白对照组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); Wip-1 siRNA 组 ECC-1 细胞和 KLE 细胞凋亡率均高于 siRNA 对照组和空白对照组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论 Wip-1 基因参与了子宫内膜癌细胞增殖和凋亡过程。

**[关键词]** 子宫内膜癌; Wip-1 基因; RNA, 小分子干扰; 凋亡**[中图分类号]** R737.33**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)35-4934-04**Expression of Wip-1 gene in endometrial carcinoma and its correlation with apoptosis\***Meng Rongqin<sup>1</sup>, Wang Yang<sup>1</sup>, Du Zedong<sup>1</sup>, Yu Xiaolin<sup>1</sup>, Li Changlin<sup>2△</sup>, Wang Min<sup>3</sup>

(1. Department of Oncology, the 363 Hospital of China Aviation Industry, Chengdu, Sichuan 610041, China;

2. Department of Oncology, The First People's Hospital of Chengdu, Chengdu, Sichuan 610016, China;

3. Department of Oncology, The Fourth Hospital of China Medical University, Shenyang, Liaoning 110032, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the expression of Wip-1 gene in endometrial carcinoma and its correlation with apoptosis. **Methods** Totally 68 cases of patients with endometrial carcinoma, 30 cases of patients with endometrial atypical hyperplasia and 40 cases of normal endometrium specimens were selected. The endometrial carcinoma cell line ECC-1 (ER-positive) and KLE (ER-negative) were cultured. The cells were divided into Wip-1 siRNA group, siRNA-control group and blank control group. The expressions of Wip-1 in different tissues and different transfected cells were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. The cell proliferations in different groups were tested by MTT assay. The cell apoptosis and cell cycle of the different transfected groups were detected by Annexin V-FITC/PI double staining method. **Results** The expression level of Wip-1 mRNA in endometrial carcinoma tissues were ( $2.37 \pm 0.16$ ), which were higher than that of atypical endometrial hyperplasia tissues and normal endometrial tissues, which were ( $1.59 \pm 0.14$ ) and ( $1.14 \pm 0.12$ ), respectively, and that of atypical endometrial hyperplasia tissues were higher than that of normal endometrium tissues, the differences were statistically significant ( $P < 0.01$ ). The expression level of Wip-1 mRNA in endometrial carcinoma tissues were related with pathological stage, pathological grade, lymph node metastasis and p53 ( $P < 0.001$ ). The cell survival rates after transfected 24, 48, 96 h of ECC-1 cells and KLE cells in Wip-1 siRNA group were lower than those in siRNA-control group and blank control group, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The proportions of  $G_0 + G_1$  phase of ECC-1 cells and KLE cells in Wip-1 siRNA group were higher than those in siRNA-control group and blank control group, while the proportions of S stage and  $G_2 + M$  stage were lower than those in siRNA-control group and blank control group, the differences were statistically significant ( $P < 0.01$ ). The cell apoptosis rates of ECC-1 cells and KLE cells in Wip-1 siRNA group were higher than those in siRNA-control group and blank control group, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Wip-1 gene is involved in the processes of proliferation and apoptosis in endometrial carcinoma cells.

**[Key words]** endometrial carcinoma; Wip-1 gene; RNA, small interfering; apoptosis

子宫内膜癌作为女性生殖系统常见恶性肿瘤, 发病率呈逐年上升趋势, 且呈现低龄化, 严重影响妇女健康<sup>[1]</sup>。目前, 有关子宫内膜癌发生的相关机制尚未研究清楚。p53 作为重要的肿瘤抑制因子, 可通过修复损伤的 DNA 及抑制癌基因激活而

抑制肿瘤发生, p53 激活可阻滞细胞周期并诱导细胞发生凋亡<sup>[2]</sup>。研究表明, 肿瘤发生时抑癌基因 p53 突变率高达 50%<sup>[3]</sup>。野生型 p53 诱导磷酸酶 1 (wild-type p53-induced phosphatase 1, Wip-1) 作为具有丝/苏氨酸酶活性的蛋白磷酸

酶,可负性反馈调节 p53 而下调 p53 表达并诱导 p53 突变<sup>[4]</sup>。研究表明,Wip-1 参与了肿瘤细胞增殖、凋亡过程<sup>[5]</sup>。本研究拟对 Wip-1 基因在子宫内膜癌组织中的表达及与临床病理特征之间的关系进行探讨,并利用小分子干扰 RNA(siRNA)技术特异性抑制 Wip-1 基因,观察其对子宫内膜癌细胞增殖及凋亡的影响,以期为子宫内膜癌机制研究提供基础资料。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 2 月至 2015 年 8 月在中航工业 363 医院择期行手术治疗的子宫内膜癌患者 68 例,所有患者均经术后病理学确诊,且术前未接受任何治疗;年龄 29~71 岁,平均(55.6±9.7)岁;I 期 48 例,II 期 11 例,III 期 9 例;G<sub>1</sub> 13 例,G<sub>2</sub> 34 例,G<sub>3</sub> 21 例。同期,选取在该院手术治疗的子宫内膜不典型增生患者 30 例,并留取正常子宫内膜组织标本 40 份。所有组织标本均保存于-80℃液氮中以备检。本研究通过医院伦理委员会批准,所有研究对象均知情同意。

1.2 仪器与试剂 Trizol 总 RNA 提取试剂盒购自上海格敏生物科技有限公司;cDNA 逆转录及 PCR 试剂盒均由上海生工公司提供;Wip-1 基因序列和 siRNA 及内参引物均由宝生物工程(大连)有限公司设计合成;子宫内膜癌细胞系 ECC-1(ER 阳性)和 KLE(ER 阴性)均由美国典型微生物菌种保藏中心提供;RPMI 1640 和 DMEM/F-12 培养基、胎牛血清和胰酶均购自美国 Gibco 公司;OPT1 无血清培养基和 Lipofectimane 2000 脂质体转染试剂盒均购自美国 Invitrogen 公司;四甲基嘧啶蓝(MTT)细胞增殖检测试剂盒购自上海经科化学科技有限公司;异硫氰酸荧光素标记的 Annexin-V(FITC-Annexin V)细胞凋亡试剂盒购自上海高创化学科技有限公司;实时荧光定量 PCR 仪购自美国 ABI 公司;流式细胞仪购自美国 Beckman 公司;全自动酶标仪购自美国 Bio-Rad 公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养及转染 将 ECC-1 细胞置于 RPMI 1640(含 10%胎牛血清)培养基中,KLE 细胞置于 DMEM/F-12(含 10%胎牛血清)培养基中,于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中进行培养。细胞转染处理前 24 h,分别将适量 ECC-1 细胞和 KLE 细胞接种于 6 孔板中,于细胞生长丰度达到 80%左右时,利用 Lipofectimane 2000 脂质体转染试剂盒对细胞进行转染,根据转染物质不同,分别将细胞分为 Wip-1 siRNA 组、siRNA 对照组和空白对照组。Wip-1 siRNA 组细胞转染 Wip-1 siRNA 质粒,Wip-1 特异性 siRNA 靶序列:5'-CCA ATG AAG ATG AGT TAT G-3';siRNA 对照组细胞转染 Wip-1 siRNA 基因无同源性的阴性对照序列:5'-CTG GAC TTT CAG AAG AAC A-3';空白对照组细胞转染空白质粒。

1.3.2 实时荧光定量 PCR 技术检测不同组织及不同转染组细胞中 Wip-1 基因表达 取不同组织标本,研磨后用细胞裂解液裂解,取转染培养 48 h 后的 ECC-1 和 KLE 细胞,加入细胞裂解液,按照 Trizol 总 RNA 提取试剂盒说明对总 RNA 进行提取,并检测纯度,取 260 nm 与 280 nm 处的吸光度(A)比值(A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub>)≥1.80 样品作为合格样品。用逆转录试剂盒将总 RNA 逆转录为模板链 cDNA,以 cDNA 为模板,按照 PCR 试剂盒要求进行 PCR。Wip-1 引物:上游 5'-GTT CGT AGC AAT GCC TTC TCA-3',下游 5'-CAC TTT CTT GGG CTT TCA TTT G-3';β-actin 引物:上游 5'-CAC TGT GTT GGC GTA CAG GTC T-3',下游 5'-GCG AGA TGA CCC AGA TCA T-3'。PCR 反应条件:94℃ 2 min,92℃ 60 s,56℃ 30 s,74℃ 30 s,连续进行 38 个循环。每份样品均设置 3 个平行反应复孔。以内参为参考,用 2<sup>-△△C<sub>t</sub></sup>法获得不同组织及不同转染组细胞中 Wip-1 基因表达量。

1.3.3 MTT 比色法检测不同处理组细胞增殖能力 取对数

生长期各处理组细胞,接种于 96 孔板中,每孔体积 200 μL,含细胞 5×10<sup>3</sup> 个。分别在培养 24、48、72、96 h 时终止培养,将 20 μL MTT 溶液于终止培养前 4 h 加入,继续培养,将各孔培养基去除,加入二甲亚砜(DMSO),充分振荡后,用全自动酶标仪于 490 nm 波长处检测各孔 A 值。每份样品均设 3 个平行反应复孔。

1.3.4 Annexin V-FITC/碘化丙啶(PI)双染色检测不同处理组细胞凋亡及细胞周期 取转染培养 48 h 后各处理组细胞,消化后收集细胞,细胞凋亡检测:用 4℃ 预冷磷酸盐缓冲液(PBS)洗 3 次,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,用结合缓冲液再次重悬细胞,调整细胞浓度为每毫升 1×10<sup>6</sup> 个,取 100 μL 细胞悬液置于流式管内,分别加入 Annexin V-FITC 和 PI,避光摇匀 15 min,上机检测细胞凋亡情况。细胞周期检测:用 70%预冷乙醇对细胞进行过夜固定,离心,收集细胞,用 PBS 洗涤细胞 3 次,加入核糖核酸酶(RNase)于 37℃ 下孵育 25 min,加入 PI 于 4℃ 下避光孵育 25 min,用流式细胞仪检测细胞周期情况。

1.4 统计学处理 利用 SPSS21.0 统计分析软件进行统计学处理,计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-t 检验,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组织中 Wip-1 基因表达比较 子宫内膜癌组织中 Wip-1 mRNA 表达水平为 2.37±0.16,高于子宫内膜不典型增生组织中的 1.59±0.14 和正常子宫内膜组织中的 1.14±0.12,且子宫内膜不典型增生组织高于正常子宫内膜组织,差异有统计学意义(F=955.008,P<0.01)。

2.2 子宫内膜癌组织中 Wip-1 mRNA 表达水平与临床病理特征的关系 子宫内膜癌组织中 Wip-1 mRNA 表达水平与年龄无关(P>0.05),而与病理分期、病理分级、淋巴结转移、p53 有关(P<0.01),见表 1。

表 1 子宫内膜癌组织中 Wip-1 mRNA 表达水平与临床病理特征的关系( $\bar{x} \pm s$ )

项目	n	Wip-1 mRNA 表达水平	t	P
年龄(岁)			1.522	0.066
≥55	41	2.35±0.15		
<55	27	2.39±0.12		
病理分期			26.831	<0.01
I~II 期	59	1.86±0.12		
III 期	9	2.91±0.17		
病理分级			37.948	<0.01
G <sub>1</sub> ~G <sub>2</sub>	47	1.71±0.15		
G <sub>3</sub>	21	2.99±0.19		
淋巴结转移			21.894	<0.01
无	62	1.76±0.13		
有	6	2.86±0.18		
p53			42.061	<0.01
阳性	30	1.62±0.11		
阴性	38	3.12±0.17		

2.3 不同转染组细胞中 Wip-1 mRNA 表达水平比较 Wip-1 siRNA 组 ECC-1 细胞和 KLE 细胞中 Wip-1 mRNA 表达水平均低于 siRNA 对照组和空白对照组,差异均有统计学意义(P<0.05),见表 2。

2.4 不同转染组细胞增殖情况 Wip-1 siRNA 组 ECC-1 细胞和 KLE 细胞在转染后 24、48、96 h 细胞存活率均低于 siRNA 对照组和空白对照组,差异均有统计学意义(P<0.05),见图 1、2。

表 2 不同转染组细胞中 Wip-1 mRNA 表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	ECC-1 细胞	KLE 细胞
Wip-1 siRNA 组	1.72±0.15	1.69±0.13
siRNA 对照组	1.96±0.14*	2.05±0.14*
空白对照组	1.99±0.13*	2.03±0.12*
F	63.657	114.466
P	<0.01	<0.01

\*: P<0.05, 与 Wip-1 siRNA 组比较。

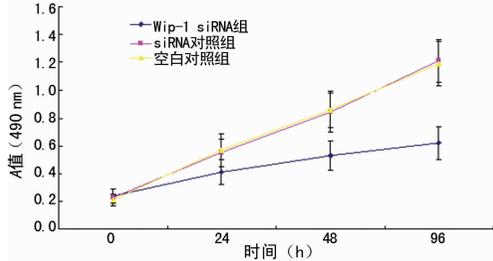


图 1 不同转染组 ECC-1 细胞增殖情况

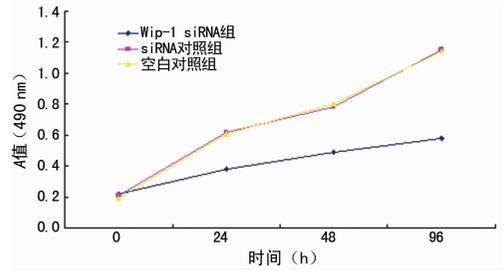


图 2 不同转染组 KLE 细胞增殖情况

2.5 不同转染组细胞周期情况 Wip-1 siRNA 组 ECC-1 细胞和 KLE 细胞 G<sub>0</sub>+G<sub>1</sub> 期比例均高于 siRNA 对照组和空白对照组,而 S 期和 G<sub>2</sub>+M 期比例均低于 siRNA 对照组和空白对照组,差异均有统计学意义(P<0.01),见表 3。

2.6 不同转染组细胞凋亡情况 Wip-1 siRNA 组 ECC-1 细胞和 KLE 细胞凋亡率均高于 siRNA 对照组和空白对照组,差异均有统计学意义(P<0.01),见表 4、图 3。

表 3 不同转染组各细胞周期比例比较( $\bar{x}\pm s, \%$ )

组别	ECC-1 细胞			KLE 细胞		
	G <sub>0</sub> +G <sub>1</sub> 期	S 期	G <sub>2</sub> +M 期	G <sub>0</sub> +G <sub>1</sub> 期	S 期	G <sub>2</sub> +M 期
Wip-1 siRNA 组	63.7±2.9	17.6±1.4	18.7±1.8	59.8±1.9	19.2±1.7	21.0±1.8
siRNA 对照组	43.9±2.7*	26.2±2.6*	29.9±2.1*	38.7±2.1*	28.7±2.5*	32.6±2.3*
空白对照组	44.8±2.3*	26.1±2.2*	29.1±1.9*	39.4±2.3*	27.8±2.2*	32.8±2.1*
F	926.726	895.684	729.534	695.612	595.157	538.746
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

\*: P<0.05, 与 Wip-1 siRNA 组比较。

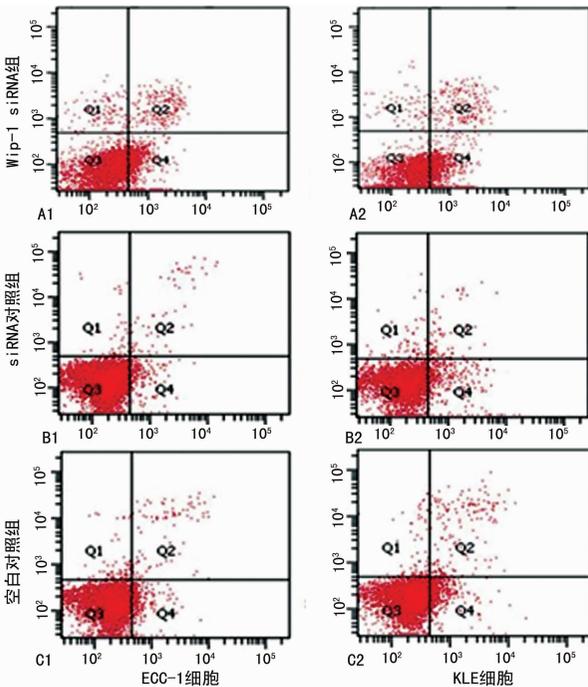


图 3 流式细胞技术检测不同转染组细胞凋亡情况

表 4 不同转染组细胞凋亡率比较( $\bar{x}\pm s, \%$ )

组别	ECC-1 细胞	KLE 细胞
Wip-1 siRNA 组	15.5±0.8	20.7±1.2
siRNA 对照组	5.7±0.2*	9.7±0.3*
空白对照组	6.1±0.3*	10.2±0.5*
F	69.835	99.572
P	<0.01	<0.01

\*: P<0.05, 与 Wip-1 siRNA 组比较。

### 3 讨论

子宫内膜癌是妇科第 3 位致死性恶性肿瘤,仅次于卵巢癌及宫颈癌,与生活方式关系密切,发生机制较为复杂,目前尚未完全研究清楚,但多项研究发现子宫内膜癌的发生、进展是涉及多基因和多步骤的复杂过程<sup>[6]</sup>,包括抑癌基因失活和癌基因激活。Wip-1 基因位于人染色体 17q22/q24 区域,可编译具有丝/苏氨酸酶活性的蛋白磷酸酶,是 PP2C 和 p53 靶向基因家族成员<sup>[4]</sup>,能够通过直接或间接路径使抑癌基因 p53 磷酸化进程被抑制,从而使 p53 失活<sup>[7]</sup>,导致肿瘤的发生及进展。研究表明,Wip-1 在多种肿瘤组织中呈高表达<sup>[8]</sup>。张文军等<sup>[5]</sup>研究发现,Wip-1 蛋白和 mRNA 在甲状腺组织中呈高表达,且与甲状腺癌淋巴结转移、肿瘤临床分期及肿瘤分化有关。罗树春等<sup>[9]</sup>发现小细胞肺癌细胞株 H69AR 和 H69 中 Wip-1 呈高表达,参与了小细胞肺癌多药耐药的调节。王鹏等<sup>[10]</sup>研究发现靶向沉默 Wip-1 基因可显著增加替莫唑胺对胶质瘤细胞增殖的抑制作用。本研究显示,子宫内膜癌组织中 Wip mRNA 表达水平高于子宫内膜不典型增生组织和正常子宫内膜组织,且子宫内膜不典型增生组织高于正常子宫内膜组织,说明 Wip-1 基因在子宫内膜癌组织中呈高表达。本研究显示,子宫内膜癌组织中 Wip-1 mRNA 表达水平与病理分期、病理分级、淋巴结是否转移、p53 是否阳性有关,病理分期越高、病理分级越高、发生淋巴结转移及 p53 阴性组织中,Wip-1 mRNA 表达水平明显增加,进一步说明 Wip-1 基因参与了子宫内膜癌的病理进展过程,且与 p53 失活关系密切,进一步证实,高表达 Wip-1 基因可打破体内稳定的内环境,通过使 p53 失活而促进肿瘤的发生<sup>[11]</sup>。

本研究为进一步从细胞水平探讨 Wip-1 基因在子宫内膜癌发生中的意义,Wip-1 siRNA 组 ECC-1 细胞和 KLE 细胞中 Wip-1 mRNA 表达水平均低于 siRNA 对照组和空白对照组,而 siRNA 对照组和空白对照组无明显差异,说明本试验可以

将 Wip-1 基因特异性沉默。本研究结果显示, Wip-1 siRNA 组 ECC-1 细胞和 KLE 细胞在转染后 24、48、96 h 细胞存活率均低于 siRNA 对照组和空白对照组, 说明特异性沉默 Wip-1 基因可抑制子宫内膜癌 ECC-1 和 KLE 细胞增殖能力。Tan 等<sup>[12]</sup>利用 siRNA 技术靶向沉默人子宫颈癌细胞 HeLa 细胞中 Wip-1 基因, 亦发现可减弱细胞增殖能力。本研究显示, Wip-1 siRNA 组 ECC-1 细胞和 KLE 细胞 G<sub>0</sub>+G<sub>1</sub> 期比例均高于 siRNA 对照组和空白对照组, 而 S 期和 G<sub>2</sub>+M 期比例均低于 siRNA 对照组和空白对照组, Wip-1 siRNA 组 ECC-1 细胞和 KLE 细胞凋亡比率均高于 siRNA 对照组和空白对照组, 说明特异性干扰 Wip-1 基因, 可通过影响细胞周期而加速子宫内膜癌 ECC-1 和 KLE 细胞凋亡。多项研究指出, Wip-1 可能参与了核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)、Wnt 等信号通路过程, 而这些信号通路与细胞增殖、周期改变及凋亡等密切相关<sup>[13-14]</sup>。

综上所述, Wip-1 在子宫内膜癌组织中呈高表达, 与病理分期、病理分级、淋巴结转移、p53 阴性有关, 特异性干扰 Wip-1 基因可对子宫内膜癌 ECC-1 和 KLE 细胞增殖、凋亡及细胞周期产生影响, 提示 Wip-1 参与了子宫内膜癌细胞增殖、凋亡等生物学过程。

#### 参考文献

- [1] 代敏, 任建松, 李霓, 等. 中国 2008 年肿瘤发病和死亡情况估计及预测[J]. 中华流行病学杂志, 2012, 33(1): 57-61.
- [2] Meek DW. Regulation of the p53 response and its relationship to cancer[J]. Biochem J, 2015, 469(3): 325-346.
- [3] Zhu J, Sammons MA, Donahue G, et al. Gain-of-function p53 mutants co-opt chromatin pathways to drive cancer growth[J]. Nature, 2015, 525(7568): 206-211.
- [4] Zhang H, Wang Z, Zhang Z. PP1 $\alpha$ , PP1 $\beta$  and Wip-1 regulate H4S47 phosphorylation and deposition of histone H3 variant H3.3[J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41(17): 8085-8093.

- [5] 张文军, 郑立春, 柴连海, 等. Wip-1 在甲状腺癌细胞中表达的临床及生物学意义[J]. 中国肿瘤临床, 2014, 41(21): 1348-1352.
- [6] 侯新新, 赵萌, 张贵宇. PPAR $\gamma$  基因表达对子宫内膜癌细胞迁移、侵袭及增殖能力的影响[J]. 中华妇产科杂志, 2014, 49(5): 360-365.
- [7] Kotsinas A, Papanagnou P, Galanos P, et al. MKK7 and ARF; new players in the DNA damage response scenery[J]. Cell Cycle, 2014, 13(8): 1227-1236.
- [8] 彭飞, 孙文靖, 于畅. 丝/苏氨酸磷酸酶 Wip1 的研究进展[J]. 国际遗传学杂志, 2014, 37(2): 70-72.
- [9] 罗树春, 白义凤, 兰海涛. 干扰 WIG-1 的表达对小细胞肺癌多药耐药的影响[J]. 中华肿瘤杂志, 2014, 36(10): 733-738.
- [10] 王鹏, 侯崇显, 詹升全, 等. 靶向沉默 Wip1 基因协同替莫唑胺抑制脑胶质瘤细胞增殖的作用[J]. 临床神经外科杂志, 2015, 12(1): 1-4.
- [11] Yi W, Hu X, Chen Z, et al. Phosphatase Wip1 controls antigen-independent B-cell development in a p53-dependent manner[J]. Blood, 2015, 126(5): 620-628.
- [12] Tan X, Zhang J, Jin W, et al. Wip1 phosphatase involved in lipopolysaccharide-induced neuroinflammation [J]. J Mol Neurosci, 2013, 51(3): 959-966.
- [13] Lowe JM, Cha H, Yang Q, et al. Nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) is a novel positive transcriptional regulator of the oncogenic Wip1 phosphatase [J]. J Biol Chem, 2010, 285(8): 5249-5257.
- [14] González-Sancho JM, Greer YE, Abrahams CL, et al. Functional consequences of Wnt-induced dishevelled 2 phosphorylation in canonical and noncanonical Wnt signaling[J]. J Biol Chem, 2013, 288(13): 9428-9437.

(收稿日期: 2016-06-26 修回日期: 2016-09-13)

(上接第 4933 页)

结果可见, CC 型在男女之间的分布差异有统计学意义 ( $P=0.003$ ), 男性患者明显多于女性患者, 但其余两种基因型并无明显差异。本文将重庆地区与豫北地区脑卒中患者 MTHFR 基因型的多态性分布做了简单的比较, 结果表明 C677C 与 T677T 两种基因型的分布存在明显差异 ( $P<0.05$ )。本次研究中 TT 型的 Hcy 水平明显高于 CC、CT 型, 这说明 MTHFR C677T 基因多态性与 Hcy 水平相关。

作者建议脑卒中患者, 尤其是男性患者, 在条件允许的情况下都能同时检测自身 MTHFR C677T 基因类型及 Hcy 水平, 以利于医生更早、更好地采取预防及治疗措施, 制订良好的个体化用药方案, 从而降低疾病带来的不良后果。

#### 参考文献

- [1] 蔡高宇, 卢钟娇, 傅毅. 基因多态性与脑卒中相关性研究进展[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2015, 15(2): 92-97.
- [2] 杨立平, 金霖, 包同新, 等. MTHFR 基因多态性与脑卒中的关系[J]. 中国航天医药杂志, 2003, 5(1): 22-24.
- [3] 周宪梁, 胡爱华, 惠汝太, 等. MTHFR 基因多态性及血浆同型半胱氨酸水平与脑卒中的关系[J]. 中华心血管病杂志, 1999, 27(2): 40-42.
- [4] 张海洋, 张金华, 张会敏. MTHFR 基因多态性与脑卒中

的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(4): 690-691.

- [5] 李忠, 陈晓虹, 魏艳花, 等. 青年与老年缺血性卒中危险因素的比较[J]. 中国脑血管病杂志, 2010, 7(3): 150-151.
- [6] Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis[J]. N Eng J Med, 1998, 338(15): 1042-1050.
- [7] 高国栋, 林凯, 黎映兰. 高同型半胱氨酸血症与缺血性脑卒中的关系及成因分析[J]. 南方医科大学学报, 2007, 27(11): 1769-1770.
- [8] Hong YS, Lee MJ, Kim KH, et al. The C677 mutation in methylene tetrahydrofolate reductase gene; correlation with uric acid and cardiovascular risk factors in elderly Korean men[J]. J Korean Med Sci, 2004, 19(2): 209-213.
- [9] Zuo M, Nishio H, Lee MJ, et al. The C677T mutation in the methylene tetrahydrofolate reductase gene increases serum uric acid in elderly men[J]. J Hum Genet, 2000, 45(4): 257-262.
- [10] 黄一宁, 赵宇岚, 李舜伟. 同型半胱氨酸和 MTHFR 基因多态性与缺血性脑血管病的关系[J]. 中华医学杂志, 2002, 82(2): 50-53.

(收稿日期: 2016-07-12 修回日期: 2016-10-15)