

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.24.008

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20201105.1329.004.html>(2020-11-06)

肝癌组织 PCDH8、RIZ1 基因甲基化状态及临床意义^{*}

陈素云¹,赵志新²,褚邦勇¹

(台州恩泽医疗中心(集团)台州医院:1.检验科;2.神经外科 317000)

[摘要] **目的** 探讨肝癌组织 PCDH8、RIZ1 基因甲基化状态及其临床意义。**方法** 选取 80 例肝癌组织、癌旁组织及 50 例正常肝组织作为研究标本,采用甲基化特异性聚合酶链式反应技术检测组织 PCDH8、RIZ1 基因甲基化状态,分析其与肝癌患者临床病理、预后的关系。**结果** 肝癌组织、癌旁组织、正常肝组织中 PCDH8 基因甲基化阳性率分别为 61.25%、27.50%、0,RIZ1 基因甲基化阳性率分别为 70.00%、12.50%、2.00%,各组织间比较差异有统计学意义($P<0.05$);有肝硬化、包膜侵犯、远处转移的患者 PCDH8 基因甲基化阳性率显著高于无肝硬化、包膜侵犯、远处转移的患者($P<0.05$);有包膜侵犯的患者 RIZ1 基因甲基化阳性率显著高于无包膜侵犯患者($P<0.05$);PCDH8、RIZ1 基因甲基化阳性患者生存率低于 PCDH8、RIZ1 基因甲基化阴性患者($P<0.05$)。COX 单因素分析显示,临床分期、肝硬化、包膜侵犯、远处转移、PCDH8 基因甲基化阳性、RIZ1 基因甲基化阳性是肝癌患者总生存时间的影响因素($P<0.05$);多因素分析显示,矫正其他因素后,PCDH8 基因甲基化阳性是肝癌总生存时间的独立影响因素($P<0.05$)。**结论** 肝癌组织 PCDH8、RIZ1 基因甲基化状态与肿瘤发生、发展及预后相关,临床可考虑将基因甲基化状态辅助用于肝癌诊断、病情评估及预后预测中。

[关键词] 肝肿瘤;DNA 甲基化;抑癌基因;预后

[中图分类号] R651 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2020)24-4075-05

Methylation status and clinical significance of PCDH8 and RIZ1 genes in liver cancer tissues^{*}

CHEN Suyun¹,ZHAO Zhixin²,CHU Bangyong¹

(1. Department of Clinical Laboratory;2. Department of Neurosurgery, Taizhou Hospital, Taizhou Enze Medical Center (Group), Taizhou, Zhejiang 317000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the methylation status of PCDH8 and RIZ1 genes in liver cancer tissues and its clinical significance. **Methods** Eighty cases of liver cancer tissues, paracancerous tissues and 50 cases of normal liver tissues were selected as study specimens. The methylation status of PCDH8 and RIZ1 genes was detected by adopting the methylation-specific polymerase chain reaction (msPCR). And their relationship with clinicopathology and prognosis of liver cancer patients was analyzed. **Results** The positive rates of PCDH8 gene methylation in liver cancer tissues, paracancerous tissues and normal liver tissues were 61.25%, 27.50% and 0 respectively, the positive rates of RIZ1 gene methylation were 70.00%, 12.50% and 2.00% respectively, and the differences among groups were statistically significant ($P<0.05$). The positive rate of PCDH8 gene methylation in the patients with cirrhosis, capsule invasion and distant metastasis was significantly higher than that without cirrhosis, capsule invasion and distant metastasis ($P<0.05$). The methylation positive rate of RIZ1 gene in the patients with capsular invasion was significantly higher than that without capsular invasion ($P<0.05$). The survival rate in the patients with PCDH8 and RIZ1 gene methylation-positive was lower than that with methylation-negative ($P<0.05$). The COX univariate analysis showed that the clinical stage, cirrhosis, capsule invasion, distant metastasis, methylation-positive of PCDH8 and RIZ1 genes were the influencing factor of the total survival time in the patients with liver cancer ($P<0.05$). The multivariate analysis showed that after correcting other factors, the methylation positive of PCDH8 gene was

^{*} **基金项目:** 浙江省自然科学基金项目(LY19H200001);恩泽医疗中心(集团)科学研究基金(17EJC3)。

作者简介: 陈素云(1984—),主管技师,硕士,主要从事肝癌的诊断及肝癌发病机制方面研究。

an independent influencing factor of the total survival time of liver cancer ($P<0.05$). **Conclusion** The methylation status of PCDH8 and RIZ1 genes in liver cancer tissues is related with the occurrence, development and prognosis of the tumor. Clinically, the gene methylation status can be considered to be applied in liver cancer auxiliary diagnosis, disease severity assessment and prognosis prediction.

[Key words] liver cancer; DNA methylation; tumor suppressor gene; prognosis

原发性肝癌是临床常见恶性肿瘤,我国是肝癌的高发地区,死亡人数占全世界肝癌死亡人数的45%^[1]。尽管目前肝癌的诊疗有了显著进步,但其高复发及转移的特性使得患者5年内生存率仍较低,肿瘤的早期诊断、复发及预后的预测是临床研究的重要课题。随着分子生物学及表观遗传学的发展,肿瘤的发病机制也逐渐明朗。目前认为肝细胞癌的发生及发展是多基因参与的复杂过程,其中原癌基因及抑癌基因结构、功能异常在这一过程中发挥重要作用^[2-3]。DNA甲基化是一种重要的表观遗传学修饰方式,是指在甲基化转移酶的作用下,基因组CpG二核苷酸的胞嘧啶5'碳共价键结合一个甲基基团的过程,目前认为抑癌基因启动子区CpG岛上的高甲基化可招募甲基化结合蛋白及复合物,改变染色质的空间结构,阻止抑癌基因的表达,因此其高甲基化状态的发生与肿瘤的形成有密切关系。目前有关肝癌抑癌基因启动子区域高甲基化状态逐渐被报道,但各地肝癌具有一定异质性,同时个体DNA甲基化可受多种因素影响,各研究针对肝癌抑癌基因的甲基化状态研究也有较大差异^[4-5]。本研究以本地区肝癌患者作为研究对象,分析其癌组织PCDH8、RIZ1基因甲基化状态与肿瘤发生、发展及预后的关系,以期能为肝癌患者的诊断、治疗、预后评估提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究标本为肝癌患者癌组织、癌旁组织及正常肝组织,其中80例肝癌癌组织及癌旁组织来源于本院2015年2月至2018年12月收治的原发性肝癌患者,所有患者均符合《原发性肝癌诊疗规范(2011年版)》^[6]中诊断标准,获取标本前未接受其他抗肿瘤治疗,无免疫疾病及其他内分泌疾病;50例正常肝组织来源于本院同期收治的肝血管瘤、肝外伤患者,术前检测乙肝相关标志物抗体均为阴性且无肝硬化病程。80例肝癌患者男59例,女21例;年龄39~65岁,平均(56.47±8.52)岁;有肝硬化者62例;乙型肝炎表面抗原(HBsAg)阳性者60例;存在包膜侵犯者42例;临床分期为Ⅰ期15例,Ⅱ期14例,Ⅲ期32例,Ⅳ期19例;低分化47例,中高分化33例;有远处转移者44例。50例正常肝组织来源受试者中男37例,女13例;年龄33~63岁,平均(55.78±9.86)岁。本研究经医院伦理委员会批准,患者知情并签署同意书。

1.2 方法

1.2.1 组织采集

(1)肝癌组织:于无菌条件下切取0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm的癌组织,避开出血坏死区域;(2)癌旁组织:肝癌组织边缘1.5 cm以内的肝组织,大小0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm,术后经病理证实无癌细胞浸润;(3)正常肝组织:组织大小为0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm。

1.2.2 甲基化分析

(1)采用组织DNA提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司)操作说明提取肝脏组织DNA,在Nano-Drop2000紫外分光光度计上测定DNA浓度及纯度,保存备用;(2)引物设计:选择第一外显子上游200 bp内启动子区域中CpG岛丰富的区域,采用Oligo7软件进行引物设计,基因引物序列及长度见表1;(3)按照DNA甲基化修饰及纯化试剂盒(北京白奥莱博科技有限公司)操作说明进行修饰。采用甲基化特异性聚合酶链式反应(PCR)进行DNA扩增,各基因引物及退火温度(T_m)见表1,PCR体系为:PCR Mixture 15 μ L,前、后引物0.5 μ L,DNA 1 μ L,双蒸水补至30 μ L。反应条件:94 $^{\circ}$ C预变性3 min;94 $^{\circ}$ C变性30 s, T_m 退火30 s,72 $^{\circ}$ C延伸30 s,40个循环;72 $^{\circ}$ C延伸10 min,4 $^{\circ}$ C保存;(4)取10 μ L扩增产物电泳,甲基化引物扩增出现条带判定该组织为甲基化阳性;甲基化引物不出现条带而非甲基化引物扩增出现条带,则判定该组织为甲基化阴性。

1.2.3 预后随访

对肝癌患者进行随访,以电话随访为主,记录总生存时间,总生存时间为开始随访至全因性死亡的时间。

1.3 统计学处理

采用SPSS19.0软件进行统计学分析。计数资料以率表示,比较采用 χ^2 检验或Fisher精确检验;采用Kaplan-Meier法及Log-rank检验进行生存时间及生存率的分析。检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3种组织中PCDH8、RIZ1基因甲基化情况

肝癌组织、癌旁组织及正常肝组织PCDH8、RIZ1基因甲基化阳性率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见图1、表2。

2.2 PCDH8、RIZ1基因甲基化与肝癌患者临床资料的关系

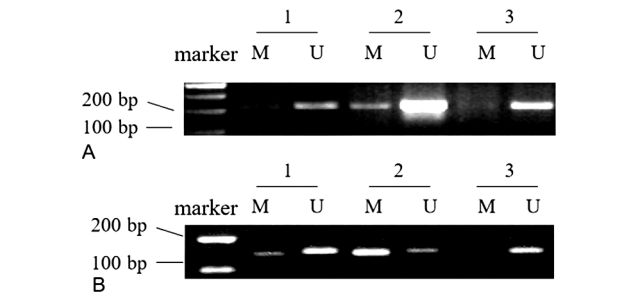
有肝硬化、包膜侵犯、远处转移的患者PCDH8基因甲基化阳性率显著高于无肝硬化、包膜侵犯、远处

转移的患者($P<0.05$);肝癌患者 RIZ1 基因甲基化与包膜侵犯相关,有包膜侵犯的患者 RIZ1 基因甲基化阳性率显著高于无包膜侵犯患者($P<0.05$),见表 3。

表 1 甲基化特异性 PCR 扩增引物

项目	M/U	序列	温度	长度
PCDH8	M	(F)5'-ACG AGG GGC GGT CAC GCG GG-3'	66 ℃	210 bp
		(R)5'-AAA ACG ACC GAC GCG AAG CCT CC-3'		
	U	(F)5'-TTA GAG GGG TGG TTG TAT GTG GG-3'	62 ℃	210 bp
		(R)5'-AAA ACA ACC AAC ACA AAC AAC TCC-3'		
RIZ1	M	(F)5'-GGA TTC GCG GTG ATT TAC -3'	69 ℃	161 bp
		(R)5'-AAC TCC AAT CGA AAA AAA CG -3'		
	U	(F)5'-ATG GGA TTT GTG GTG ATT TAT-3'	58 ℃	161 bp
		(R)5'-CTT AAC TCC AAT CAA AAA AAA CA-3'		

M:甲基化产物条带;U:非甲基化产物条带。



A:PCDH8 基因;B:RIZ1 基因。1:肝癌组织;2:癌旁组织;3:正常肝组织;M:甲基化产物条带;U:非甲基化产物条带。

图 1 3 种组织中 PCDH8 基因、RIZ1 基因甲基化情况

2.3 PCDH8、RIZ1 基因甲基化与肝癌患者预后的关系

肝癌患者均获得随访,随访时间为 3~52 个月,绘制 PCDH8、RIZ1 基因甲基化阳性及阴性患者的 Kaplan-Meier 生存曲线,Log-rank 检验显示 PCDH8、RIZ1 基因甲基化阳性患者生存率低于 PCDH8、RIZ1 基因甲基化阴性患者($P<0.05$),见图 2、3。

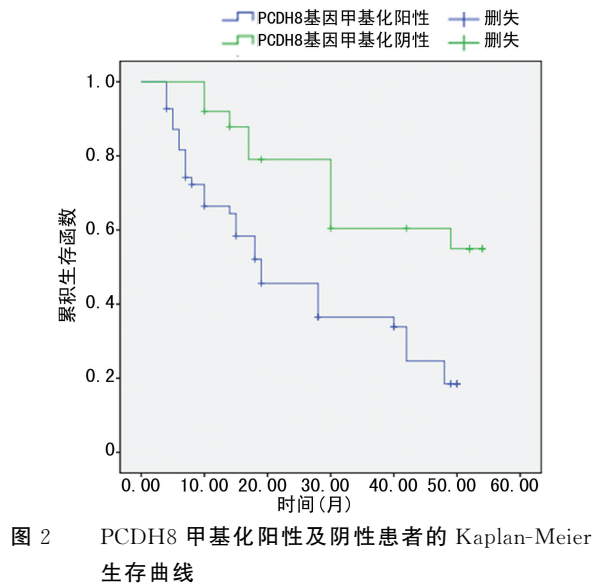
表 2 3 种组织中 PCDH8、RIZ1 基因甲基化阳性率比较[n(%)]

项目	n	PCDH8 基因甲基化阳性	RIZ1 基因甲基化阳性
肝癌组织	80	49(61.25)	56(70.00)
癌旁组织	80	22(27.50)	10(12.50)
正常肝组织	50	0	1(2.00)

表 3 PCDH8、RIZ1 基因甲基化与肝癌患者临床资料的关系[n(%)]

项目	<i>n</i>	PCDH8 基因甲基化阳性率	χ^2	<i>P</i>	RIZ1 基因甲基化阳性率	χ^2	<i>P</i>
性别							
男	59	38(64.41)	0.944	0.331	40(67.80)	0.519	0.471
女	21	11(52.38)			16(76.19)		
年龄							
<50 岁	29	15(51.72)	1.739	0.187	20(68.97)	2.447	0.118
≥50 岁	51	34(66.67)			26(50.98)		
肿瘤大小							
<5 cm	37	22(59.46)	0.093	0.760	26(70.27)	0.002	0.961
≥5 cm	43	27(62.79)			30(69.77)		
肝硬化							
无	18	7(38.89)	4.893	0.026	10(55.56)	2.307	0.129
有	62	42(67.74)			46(74.19)		
HbsAg							
阳性	60	39(65.00)	1.433	0.233	40(66.67)	1.270	0.259
阴性	20	10(50.00)			16(80.00)		
包膜侵犯							
无	38	15(39.47)	14.462	0.001	18(47.37)	17.654	0000
有	42	34(80.95)			38(90.48)		
分化程度							
高中分化	33	19(57.58)	0.319	0.572	23(69.70)	0.003	0.960
低分化	47	30(63.83)			33(70.21)		

续表 3 PCDH8、RIZ1 基因甲基化与肝癌患者临床资料的关系[n(%)]							
项目	n	PCDH8 基因甲基化阳性率	χ^2	P	RIZ1 基因甲基化阳性率	χ^2	P
临床分期							
I ~ II 期	29	15(51.72)	1.739	0.187	17(58.62)	2.805	0.094
III ~ IV 期	51	34(66.67)			39(76.47)		
远处转移							
无	36	14(38.89)	13.789	0.001	29(80.56)	3.473	0.062
有	44	35(79.55)			27(61.36)		
AFP($\mu\text{g/L}$)							
<200	55	35(63.64)	0.422	0.516	42(76.36)	3.394	0.065
≥ 200	25	14(56.00)			14(56.00)		



2.4 肝癌患者预后的单因素和多因素分析

COX 单因素分析显示,临床分期、肝硬化、包膜侵犯、远处转移、PCDH8 基因甲基化阳性、RIZ1 基因

甲基化阳性是肝癌患者总生存时间的影响因素;多因素分析显示,在矫正其他临床资料后,PCDH8 基因甲基化阳性是肝癌总生存时间的独立影响因素($P < 0.05$),见表 4、5。

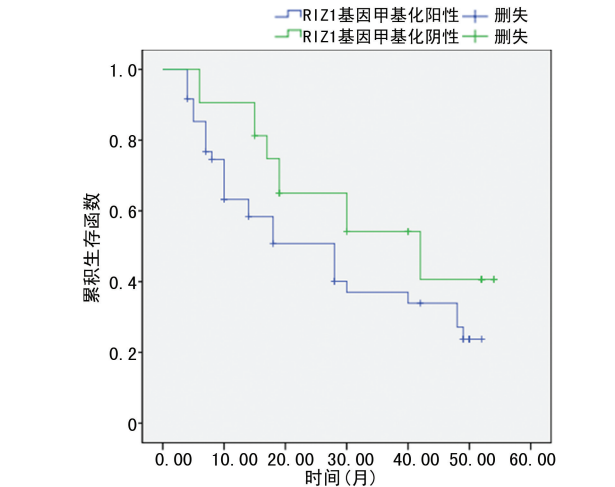


表 4 患者预后的 COX 单因素分析						
项目	β	SE	wald χ^2	OR	95%CI	P
临床分期(III ~ IV 期 vs. I ~ II 期)	0.385	0.147	6.859	1.470	1.012~1.960	0.009
肝硬化(有 vs. 无)	0.301	0.120	6.292	1.351	1.068~1.709	0.013
包膜侵犯(有 vs. 无)	0.526	0.203	6.714	1.692	1.137~2.519	0.010
远处转移(有 vs. 无)	0.566	0.108	27.465	1.761	1.425~2.176	0.000
PCDH8 基因甲基化(阳性 vs. 阴性)	0.329	0.107	9.454	1.390	1.127~1.714	0.002
RIZ1 基因甲基化阳性(阳性 vs. 阴性)	0.259	0.116	4.947	1.294	1.031~1.625	0.027

表 5 患者预后的 COX 多因素分析						
项目	β	SE	wald χ^2	OR	95%CI	P
临床分期(III ~ IV 期 vs. I ~ II 期)	0.415	0.210	3.905	1.514	1.003~2.286	0.049
包膜侵犯(有 vs. 无)	0.625	0.239	6.839	1.868	1.169~2.985	0.009
远处转移(有 vs. 无)	0.715	0.356	4.023	2.042	1.016~4.103	0.046
PCDH8 基因甲基化(阳性 vs. 阴性)	0.289	0.107	7.296	1.335	1.083~1.647	0.007

3 讨 论

肝癌的发生是多种原癌基因活化、抑癌基因失活共同作用的结果,其中抑癌基因的失活是导致肿瘤发生的重要机制^[7]。DNA 甲基化作为癌变早期的异常分子之一,对于肿瘤的诊断、治疗及预后均有一定临床意义。

PCDH8 是原钙黏蛋白成员,其生物学作用为调控细胞生长、参与细胞间信号转导及细胞间黏附作用。既往研究表明其在乳腺癌、胃癌等恶性肿瘤中均存在基因启动子甲基化现象,可导致 PCDH8 表达沉默,导致肿瘤细胞生物学行为的改变^[8-9]。本研究结果显示,肝癌组织 PCDH8 基因甲基化阳性率高达 61.23%,显著高于癌旁组织及正常肝组织,提示 PCDH8 基因甲基化与肝癌的发生相关,与既往研究结果类似^[10]。分析 PCDH8 基因甲基化状态与肝癌临床参数的关系,结果显示 PCDH8 基因甲基化阳性状态与肝癌患者肝硬化、包膜侵犯、远处转移等参数相关,提示 PCDH8 基因甲基化与肝癌患者肿瘤侵袭性相关。既往关于 PCDH8 基因甲基化与肝癌发生及发展之间关系的研究不多,既往国外学者就 PCDH8 基因甲基化与胃癌组织的表达开展的研究证实该基因高甲基化状态与胃癌的侵袭性相关^[11],本研究结果与其研究结果类似。另外本研究结果证实,PCDH8 基因甲基化状态与肝癌患者预后相关,PCDH8 基因甲基化阳性患者生存时间较短,且多因素分析也证实在矫正其他因素后,PCDH8 基因甲基化是肝癌患者预后不良的危险因素。分析 PCDH8 基因甲基化阳性患者预后不良的可能原因,一方面,PCDH8 基因甲基化状态可提示机体抑癌基因的持续失活,肿瘤细胞的侵袭性更强,病情进展更快,预后更差;另一方面,有体外研究表明 PCDH8 基因的低表达可降低鼻咽癌细胞株对顺铂化疗药物的敏感性^[12],这一研究提示 PCDH8 基因甲基化也可能降低恶性肿瘤患者后期放化疗的效果,预后较差。

RIZ1 也是肿瘤抑癌基因,属于核蛋白甲基转移酶超家族成员,研究表明,RIZ1 基因失活可在多种恶性肿瘤中常见,而 RIZ1 启动子区甲基化是其 mRNA 不表达的常见原因^[13-14]。本研究中肝癌患者 RIZ1 启动子甲基化率为 70.00%,显著高于正常肝组织及癌旁组织,提示其甲基化状态可能与肿瘤的发生相关。值得注意的是,本研究中肝癌癌旁组织也出现少量个体甲基化异常状态,提示该基因的甲基化可能是肝癌发生的频繁事件,检测其甲基化状态可能可评估肝癌风险。分析 RIZ1 基因与临床参数及预后的关系,结果显示,RIZ1 基因甲基化与包膜侵犯相关,且该基因甲基化阳性个体预后更差,提示基因甲基化状态可一定程度反映肝癌患者病情进展及预后。既往张军等^[15]开展的一项研究证实,与胰腺瘤组比较,卵巢浆液性腺癌组织中 RIZ1 表达量降低,且 RIZ1 表达阳性

患者生存率显著高于阴性患者;而国外一项研究也证实,肝癌组织中 RIZ1 基因启动子区甲基化与术后肿瘤复发相关^[16],这些可能是肝癌组织 RIZ1 基因甲基化阳性患者预后较差的原因。本研究中单因素分析结果显示 RIZ1 基因甲基化与患者预后相关,但该参数并未纳入多因素方程,但 RIZ1 甲基化状态仍可作为判断患者预后的参考指标。

综上所述,肝癌组织 PCDH8、RIZ1 基因甲基化状态与肿瘤发生、发展及预后相关,临床可考虑将检测基因甲基化状态辅助用于肝癌诊断、病情评估及预后预测。但本研究样本量较少,且较少有研究支持本研究结论,PCDH8、RIZ1 基因甲基化在肝癌中的应用价值仍需进一步扩大样本进行深入探讨。

参考文献

- [1] 张爽,王锋,孟庆玲,等.原发性肝癌患者流行病学与乙型肝炎病毒感染调查[J].中国疫苗和免疫,2018,24(2):133-136,151.
- [2] 李婷,高怡瑾.P53 基因突变与人类肿瘤关系的研究进展[J].国际输血及血液学杂志,2018,41(6):543-546.
- [3] KADARA H,NEMER G,SAFI R,et al. Erythropoietic protoporphyria a clinical and molecular study from Lebanon:ferrochelatase a potential tumor suppressor gene in colon cancer[J]. Clin Genet,2017,92(5):18-20.
- [4] LI Z,LI Z,WANG L,et al. ZCCHC13-mediated induction of human liver cancer is associated with the modulation of DNA methylation and the AKT/ERK signaling pathway[J]. J Transl Med,2019,17(1):108-109.
- [5] 黎毓光,孙奋勇.肝癌中 DNA 甲基化标志物的研究进展[J].中华检验医学杂志,2016,39(2):79-81.
- [6] 中华人民共和国卫生部.原发性肝癌诊疗规范(2011 年版)[J].临床肿瘤学杂志,2011,5(10):71-88.
- [7] CHEN T, LONG B, REN G, et al. Protocadherin 20 Acts as a tumor suppressor gene: epigenetic inactivation in nasopharyngeal carcinoma [J]. J Cell Biochem, 2015, 116(8): 1766-1775.
- [8] ZHANG P, WANG H, WANG J, et al. Association between protocadherin 8 promoter hypermethylation and the pathological status of prostate cancer[J]. Oncol Lett, 2017, 14(2): 1657-1664.
- [9] YE M, LI J, GONG J. PCDH10 gene inhibits cell proliferation and induces (下转第 4084 页)

- 621-627.
- [7] BOGHDADLY K E, PAWA A. The erector spinae plane block: plane and simple[J]. *Anaesthesia*, 2017, 72(4): 434-438.
 - [8] KI J C, LAITH M, ANAHI P. The erector spinae plane block provides visceral abdominal analgesia in bariatric surgery: a report of 3 cases[J]. *Reg Anesth Pain Med*, 2017, 42(3): 372-376.
 - [9] DANIELE B, LORENZO T, ANGELO G, et al. Bilateral ultrasound-guided erector spinae plane blocks in breast cancer and reconstruction surgery[J]. *J Clin Anesth*, 2018, 44(1): 3-4.
 - [10] YUICHI O, TOSHIKI I, KIYOYASU K. Continuous erector spinae plane block provides effective perioperative analgesia for breast reconstruction using tissue expanders; a report of two cases[J]. *J Clin Anesth*, 2018, 44(1): 1-2.
 - [11] SERKAN T, OZGUR S. Ultrasound guided Erector Spinae Plane block at L-4 transverse process level provides effective postoperative analgesia for total hip arthroplasty[J]. *J Clin Anesth*, 2018, 44(1): 68.
 - [12] TIAN X B, YANG P, SU T F, et al. Intraperitoneal ropivacaine and early postoperative pain and postsurgical outcomes after laparoscopic herniorrhaphy in toddlers: a randomized clinical trial[J]. *Pediatr Anesth*, 2016, 26(9): 891-898.
 - [13] ELKOUNDI A, BENTALHA A, KETTANI S, et al. Erector spinae plane block for pediatric hip surgery - a case report[J]. *Korean J Anesthesiol*, 2019, 72(1): 68-71.
 - [14] 董金春, 王胜斌, 居霞, 等. 不同阿片类药物复合局麻药用于肌间沟臂丛神经阻滞的临床观察[J]. *临床麻醉学杂志*, 2015, 31(4): 395-396.
 - [15] 杨旭刚, 冯昌盛. 右美托咪定联合罗哌卡因连续股神经阻滞用于全膝关节置换术的镇痛效果分析[J]. *重庆医学*, 2018, 47(22): 2978-2980.
 - [16] YUKA K, SHOICHI M, HARUSHI U, et al. Comparison of the analgesic effects of modified continuous intercostal block and paravertebral block under surgeon's direct vision after video-assisted thoracic surgery: a randomized clinical trial[J]. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*, 2018, 66(7): 425-431.
 - [17] JAMES M H, TOBY C, KELLY M. An evaluation of intranasal sufentanil and dexmedetomidine for pediatric dental sedation[J]. *Pharmaceutics*, 2014, 6(1): 175-184.

(收稿日期: 2020-02-21 修回日期: 2020-07-02)

(上接第 4079 页)

- cell apoptosis by inhibiting the PI3K/Akt signaling pathway in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(6): 3167-3174.
- [10] ZHANG C, PENG Y, YANG F, et al. PCDH8 is frequently inactivated by promoter hypermethylation in liver cancer: diagnostic and clinical significance[J]. *J Cancer*, 2016, 7(4): 446-452.
 - [11] ZHANG D, ZHAO W, LIAO X, et al. Frequent silencing of protocadherin 8 by promoter methylation, a candidate tumor suppressor for human gastric cancer[J]. *Oncol Rep*, 2012, 28(5): 1785-1791.
 - [12] 石宇良, 曾泉, 龙表利, 等. PCDH8 基因表达对鼻咽癌细胞生物学效应的影响[J]. *第三军医大学学报*, 2013, 35(14): 1455-1458.
 - [13] YANG S, XING L, GU L, et al. Combination of RIZ1 overexpression and radiotherapy contributes to apoptosis and DNA damage of HeLa and SiHa cervical cancer cells[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2018, 5(10): 55-57.
 - [14] 张晨冉, 吴小军, 胡刘华, 等. 人脑胶质瘤细胞株中 RIZ1 基因启动子甲基化状态的研究[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2014, 21(3): 288-292.
 - [15] 张军, 马立, 李月红, 等. 卵巢浆液性腺癌 BRMS1、RIZ1 和 SATB1 蛋白表达及其与预后的关系[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2015, 31(11): 1214-1218.
 - [16] FORMEISTER E J, TSUCHIYA M, FUJII H, et al. Comparative analysis of promoter methylation and gene expression endpoints between tumorous and non-tumorous tissues from HCV-positive patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Mutat Res*, 2010, 692(1/2): 26-33.

(收稿日期: 2020-03-26 修回日期: 2020-07-22)