

· 论 著 ·

# UHRF1、UHRF2 蛋白表达与结直肠癌关系的研究

景皓月, 曾宪东, 刘琳, 宋治

沈阳医学院附属中心医院普外科, 辽宁 沈阳 110034

**摘要:** **目的** 探讨类泛素样含 PHD 和环指域蛋白(UHRF)1、UHRF2 蛋白在结直肠癌组织中的表达,并分析其对结直肠癌患者预后的判断价值。**方法** 采用组织芯片联合免疫组化染色技术,检测 2009 年 1 月至 2014 年 9 月手术治疗患者 294 例结直肠癌组织及其中 254 例配对癌旁正常组织中 UHRF1 及 UHRF2 蛋白的表达情况,分析两者与结直肠癌发生发展的相关性及其与结直肠癌患者临床病理指标和预后的关系。**结果** 免疫组织化学结果显示,UHRF1、UHRF2 阳性表达定位于细胞核,UHRF1、UHRF2 蛋白阳性表达率在结直肠癌组织中均显著高于癌旁正常组织(49.6% vs 3.5%, $P=0.000$ ;60.2% vs 3.1%, $P=0.000$ ),且两者呈正相关( $r=0.358$ , $P=0.008$ );两种蛋白的表达与肿瘤的分化程度、淋巴结转移及临床分期密切相关( $P<0.05$ , $P<0.01$ ),而与患者年龄、性别、肿瘤位置、肿瘤类型、肿瘤大小无关( $P$ 均 $>0.05$ );Kaplan-Meier 生存分析显示,UHRF1、UHRF2 阳性表达患者术后生存率低于阴性表达患者,两者均阳性表达患者术后生存率更低;Cox 回归分析表明,UHRF1 及 UHRF2 均为结直肠癌患者术后预后的独立影响因素( $RR=3.436$ , $P=0.016$ ;  $RR=3.499$ , $P=0.033$ )。**结论** UHRF1、UHRF2 与结直肠癌的发生发展密切相关,二者的表达可做为患者预后判断的重要依据。

**关键词:** 结直肠癌; 类泛素样含 PHD 和环指域蛋白 1; 类泛素样含 PHD 和环指域蛋白 2; 组织芯片; 免疫组化  
**中图分类号:** R 737.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2020)01-0001-05

## Relationship between UHRF1, UHRF2 protein expression and colorectal cancer

JING Hao-yue, ZENG Xian-dong, LIU Lin, SONG Zhi

Department of General Surgery, Affiliated Central Hospital of Shenyang Medical College, Shenyang Liaoning 110034, China

Corresponding author: ZENG Xian-dong, E-mail: zengxiandong@sina.com

**Abstract: Objective** To explore the significance of the expression of UHRF1 and UHRF2 proteins in colorectal cancer tissues, and to analyze their value in judging the prognosis of colorectal cancer patients. **Methods** Tissue chip combined with immunohistochemical staining were used to detect the expression of UHRF1 and UHRF2 proteins in 294 colorectal cancer tissues and 254 matched paracancerous normal tissues. The correlation between UHRF1 and UHRF2 proteins and the occurrence and development of colorectal cancer, as well as their relationship with the clinicopathological indexes and prognosis of colorectal cancer patients were analyzed. **Results** The results of immunohistochemistry showed that the positive expression of UHRF1 and UHRF2 were localized in the nucleus. The positive expression rate of UHRF1 and UHRF2 in colorectal cancer was significantly higher than those in normal tissues (49.6% vs 3.5%,  $P=0.000$ ; 60.2% vs 3.1%,  $P=0.000$ ), and there was a positive correlation between them ( $r=0.358$ ,  $P=0.008$ ). The expression of the two proteins was closely correlated to the degree of tumor differentiation, lymph node metastasis and clinical stage ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), but not to the patient's age, sex, tumor location, tumor type and tumor size (all  $P>0.05$ ). Kaplan-Meier survival analysis showed that the postoperative survival rate of patients with positive expression of UHRF1 and UHRF2 was lower than those of patients with negative expression, and patients with both positive expressions had lower postoperative survival rates. Cox regression analysis showed that UHRF1 and UHRF2 were independent factors influencing the prognosis of patients with colorectal cancer ( $RR=3.436$ ,  $P=0.016$ ;  $RR=3.499$ ,  $P=0.033$ ). **Conclusion** UHRF1 and UHRF2 are closely related to the occurrence and development of colorectal cancer, and their expressions can be used as an important basis for judging the prognosis of patients.

**Key words:** Colorectal cancer; Ubiquitin-like PHD and ring finger domains 1; Ubiquitin-like PHD and ring finger domains 2; Tissue chip; Immunohistochemistry

**Fund program:** Science and Technology Plan Program of Liaoning Province (2015020377)

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是最常见的消化系统恶性肿瘤之一,近年来, CRC 的发病率呈逐年攀升的趋势<sup>[1]</sup>,其发生发展是多阶段、多因素影响的极其复杂的病变过程,目前 CRC 患者的治疗手段仍以手术治疗为主,辅以放化疗来改善患者的预后,尽管如此,其治愈率及死亡率仍不容乐观。新近研究发现,类泛素样含 PHD 和环指域蛋白(ubiquitin-like PHD and ring finger domains, UHRF)1,是一个多功能域蛋白,不同的功能域能够识别不同的染色质修饰,从而发挥不同的生物学功能,现已证实其在细胞增殖过程中发挥重要的作用<sup>[2]</sup>,高表达于增殖细胞中<sup>[3]</sup>,在结直肠癌、甲状腺癌、肺癌等多种肿瘤细胞中高表达于正常组织;UHRF2 是 UHRF1 的同源蛋白,由于具有多个结构域,其功能十分复杂,包括维持基因组稳定性<sup>[4-5]</sup>、调节细胞周期<sup>[6]</sup>和表观遗传学<sup>[7]</sup>,UHRF2 参与了多种人类疾病,特别是在恶性肿瘤中<sup>[8-10]</sup>。目前国内关于 UHRF1 及 UHRF2 两种蛋白与结直肠癌患者预后相关分析的文献较少,本文通过对制备的组织芯片进行免疫组化染色的方法,来检测 UHRF1、UHRF2 蛋白在结直肠癌组织中的表达水平,从而探讨两种蛋白与结直肠癌患者临床病理资料间的关系,以期对结直肠癌的诊治提供新的方向。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 收集 2009 年 1 月至 2014 年 9 月在沈阳医学院附属中心医院接受手术治疗的 294 例结直肠癌患者的临床资料,均经病理证实为结直肠癌,术前均未接受化疗及放疗等新辅助治疗,并具有完整的临床资料和随访资料。所有患者均签署知情同意书,并经我院伦理委员会批准。采集 294 例患者手术切除的癌组织及其中 254 例患者相应的癌旁正常组织(距肿瘤边缘 >5 cm 的正常组织)的蜡块标本。男性 170 例,女性 124 例;年龄为 32 ~ 89 (67 ± 11.6) 岁;直肠癌 105 例,结肠癌 189 例(右半结肠癌 92 例,左半结肠癌 97 例);高分化 37 例,中分化 209 例,低分化 48 例;肿瘤 T1 ~ 2 分期 34 例, T3 ~ 4 分期 260 例;无淋巴结转移 163 例,有淋巴结转移 131 例;临床分期 I ~ II 期 154 例, III ~ IV 期 140 例。

1.2 试剂 鼠抗人 UHRF1 多克隆抗体、鼠抗人 UHRF2 多克隆抗体均购自 SAB 公司;免疫组化 SP 试剂盒及 DAB 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术。

### 1.3 实验方法

1.3.1 制作组织芯片 将标本蜡块切片后进行 HE

染色,在显微镜下阅片,对相应的癌组织及正常组织进行标记,每例标本标记 2 个典型的癌组织点及 2 个正常组织点,穿刺前将蜡块置入 42 °C 恒温箱中烘烤,软化蜡块以便于穿刺,利用直径为 1 mm 的穿刺针将穿刺深度固定为受体基座蜡块的厚度,对供体蜡块进行穿刺,并将穿刺取下的标本移入受体蜡块,受体蜡块的前两个组织点填入空白蜡,制作成 14 × 9 点的组织微阵列 4 块, 9 × 6 点的组织微阵列 1 块。制备完毕组织芯片,将组织芯片蜡块于 52 °C 恒温箱中加热,使供体蜡块与受体蜡块基座相溶,切片待用。

1.3.2 免疫组化染色 免疫组化 SP 法严格按照产品说明进行操作,以 PBS 替代一抗作为阴性对照。将组织芯片置于 60 °C 烤箱中烤 2 h,常规二甲苯脱蜡及梯度乙醇水化,蒸馏水洗 3 min × 3 次;3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 室温孵育 10 min 以消除内源性过氧化物酶的活性,蒸馏水洗 3 min × 3 次;将组织芯片浸泡在柠檬酸钠缓冲液中,放入不锈钢压力锅进行高压抗原修复,恒压后计时 2.5 min,水浴降温 10 min 后蒸馏水冲洗 3 min × 1 次、PBS 浸洗 3 min × 3 次;山羊血清封闭 20 min 以消除非特异性染色;滴加鼠抗人 UHRF1 单克隆抗体(用 PBS 按 1:100 配制),4 °C 孵育过夜;常温复温 20 min 后, PBS 浸洗 3 min × 3 次;滴加二抗工作液室温孵育 15 min, PBS 浸洗 3 min × 3 次;滴加三抗工作液室温孵育 15 min, PBS 浸洗 5 min × 4 次;配置 DAB 溶液滴加于组织芯片,显微镜下观察,用蒸馏水洗涤终止显色反应;苏木素复染 6 min 后用蒸馏水洗涤;1% 酒精盐酸分化,返蓝,蒸馏水洗涤 5 min;梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。UHRF2 免疫组化染色方法同上(抗体溶液用 PBS 按 1:50 浓度配制)。

1.4 免疫组化染色结果评分 染色组织芯片切片在双盲情况下由两名病理科医师观察和评分,评分主要依据免疫组化染色阳性细胞比例和染色强度<sup>[11]</sup>,阳性信号定位于细胞核,不同病例蛋白表达差异主要在于阳性染色强度的不同。阳性染色细胞构成比 = 0 为 0 分, 0 ~ 25% 为 1 分, 26% ~ 50% 为 2 分, 51% ~ 75% 为 3 分, >75% 为 4 分。无阳性着色为 0 分,浅黄色染色为 1 分,棕黄色染色为 2 分,深黄色染色为 3 分。将阳性细胞比例和染色强度得分相乘得出最后评分,绘制 ROC 曲线,得出 UHRF1 和 UHRF2 蛋白表达截断值为 7 分,故均以 ≥7 分判定为阳性表达, <7 分为阴性表达。

1.5 统计学分析 用统计学软件 SPSS 22.0 进行分

析。用双侧  $\chi^2$  检验分析两种蛋白在癌组织和正常组织中的表达差异,两者相关性行 Spearman 等级相关分析;用双侧  $\chi^2$  检验分析两种蛋白表达与临床病理指标的相关性;用 Kaplan-Meier 法分析 UHRF1、UHRF2 蛋白表达及两者均阳性表达的患者与其术后总生存率的关系,用 Cox 回归分析不同临床病理指标与 UHRF1、UHRF2 蛋白阳性表达及两者均阳性表达对患者术后生存时间的影响。 $\alpha = 0.05$  为检验水准。

## 2 结果

2.1 UHRF1、UHRF2 在 254 例结直肠癌组织及癌旁正常组织中的表达 UHRF1 蛋白(图 1)在结直肠癌组织中阳性率(49.6%)显著高于癌旁正常组织(3.5%,  $P = 0.000$ )。UHRF2 蛋白(图 2)在结直肠癌组织中表达阳性率(60.2%)显著高于癌旁正常组织(3.1%,  $P = 0.000$ )。见表 1。

2.2 UHRF1 与 UHRF2 表达与结直肠癌的关系 Spearman 相关分析示,结直肠癌组织中 UHRF1 与 UHRF2 的表达呈正相关( $r = 0.358, P = 0.008$ )。见表 2。

2.3 UHRF1、UHRF2 在 294 例结直肠癌患者癌组织中的表达及其与临床病理特征的关联性 UHRF1 蛋白在癌组织中的表达与肿瘤的分化程度( $P = 0.006$ )、淋巴结转移(N 分期,  $P = 0.000$ )及临床分期( $P = 0.001$ )有关联性,而与患者性别、年龄、肿瘤位置、肿瘤类型及肿瘤大小(T 分期)无关联性( $P$  均  $> 0.05$ )。UHRF2 蛋白在癌组织中的表达与肿瘤的淋巴结转移( $P = 0.010$ )及临床分期( $P = 0.006$ )有关联性,与患者性别、年龄、肿瘤位置、肿瘤类型、分化程度及肿瘤大小无关联性( $P$  均  $> 0.05$ )。见表 3。

2.4 UHRF1、UHRF2 的表达与结直肠癌患者预后的关系 Kaplan-Meier 生存曲线分析结果表明,UHRF1、UHRF2 蛋白阳性表达患者生存率显著低于阴性表达患者,均与结直肠癌患者术后的不良预后相关( $P$  均  $< 0.05$ ),见图 3a、3b。图 3c 示,UHRF1、UHRF2 蛋白均阳性表达患者生存率显著低于均阴性表达患者;与图 3a、3b 所示相比,可见 UHRF1、UHRF2 蛋白均阳性表达患者的生存率较单一蛋白表达阳性患者更低。单因素及多因素 Cox 回归分析表明(表 4),肿瘤分化程度、淋巴结转移、临床分期、UHRF1 及 UHRF2 蛋白表达与结直肠癌患者术后预后密切相关( $P < 0.05, P < 0.01$ ),UHRF1 及 UHRF2 均为结直肠癌患者术后预后的独立影响因素。

## 3 讨论

结直肠癌在我国发病率逐年升高,晚期结直肠癌

患者生存率仍然不甚理想,但早期结直肠癌患者可以治愈,5 年生存率十分可观,故早期诊治对结直肠癌患者预后及生存率有着举足轻重的影响。UHRF1 蛋白是研究最为深入的 UHRF 家族蛋白,它包含 UBL、TTD 和 PHD 结构域、SET-环指状结构域及 RING finger 功能域<sup>[12]</sup>,在细胞增殖、周期调控、DNA 损伤与修复以及细胞放射敏感性等方面发挥重要作用<sup>[13]</sup>,UHRF1 蛋白的表达与细胞的分化程度和增殖能力正相关<sup>[14]</sup>,即分化程度越低、增殖能力越强,其表达水平也越高,在非肿瘤细胞的 G1 末期和 G2/M 期表达水平最高<sup>[15]</sup>。UHRF1 在诸多肿瘤中明显高表达,通

表 1 UHRF1、UHRF2 在癌组织和癌旁组织中的表达

项目	例数	蛋白表达[例(%)]		$\chi^2$ 值	P 值
		阳性	阴性		
<b>UHRF1</b>					
癌组织	254	126(49.6)	128(51.2)	138.10	0.000
癌旁组织	254	9(3.5)	245(96.5)		
<b>UHRF2</b>					
癌组织	254	153(60.2)	101(39.8)	191.18	0.000
癌旁组织	254	8(3.1)	246(96.9)		

表 2 UHRF1 和 UHRF2 表达在结直肠癌组织中的关系 (例)

项目	UHRF1		r 值	P 值
	+	-		
UHRF2	+	92	0.358	0.008
	-	27		

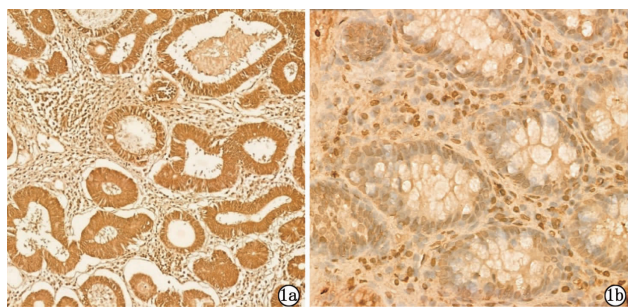
表 3 UHRF1、UHRF2 的表达与结直肠癌术后患者临床病理资料的关联性 例(%)

临床病理资料	例数	UHRF1 表达		P 值	UHRF2 表达		P 值
		阳性	阴性		阳性	阴性	
<b>性别</b>							
男	170	85(50.0)	85(50.0)	0.438	100(58.8)	70(41.2)	0.721
女	124	64(51.6)	60(48.4)		70(56.5)	54(43.5)	
<b>年龄</b>							
<60 岁	83	35(42.2)	48(57.8)	0.071	46(55.4)	37(44.6)	0.347
≥60 岁	211	114(54.0)	97(46.0)		124(58.8)	87(41.2)	
<b>肿瘤位置</b>							
右半结肠	92	40(43.5)	52(56.5)	0.069	52(56.5)	40(43.5)	0.444
左半结肠	97	58(59.8)	39(40.2)		61(62.9)	36(37.1)	
直肠	105	51(48.6)	54(51.4)		57(54.3)	48(45.7)	
<b>肿瘤类型</b>							
浸润型	80	42(52.5)	38(47.5)	0.176	40(50.0)	40(50.0)	0.142
肿块型	131	59(45.0)	72(55.0)		79(60.3)	52(39.7)	
溃疡型	83	48(57.8)	35(42.2)		51(61.4)	32(38.6)	
<b>分化程度</b>							
低分化	48	33(68.8)	15(31.2)	0.006	28(58.3)	20(41.7)	0.071
中分化	209	94(45.0)	115(55.0)		127(60.8)	82(39.2)	
高分化	37	22(59.5)	15(40.5)		15(40.5)	22(59.5)	
<b>T 分期</b>							
T1~2	34	12(35.3)	22(64.7)	0.068	15(44.1)	19(55.9)	0.098
T3~4	260	137(52.7)	123(47.3)		155(59.6)	105(40.4)	
<b>N 分期</b>							
N0	163	67(41.1)	96(58.9)	0.000	84(51.5)	79(48.5)	0.010
N1~2	131	82(62.6)	49(37.4)		86(65.6)	45(34.4)	
<b>临床分期</b>							
I~II 期	154	64(41.6)	90(58.4)	0.001	78(50.6)	76(49.4)	0.006
III~IV 期	140	85(60.7)	55(39.3)		92(65.7)	48(34.3)	

表 4 UHRF1、UHRF2 结直肠癌患者术后生存时间的 Cox 回归分析

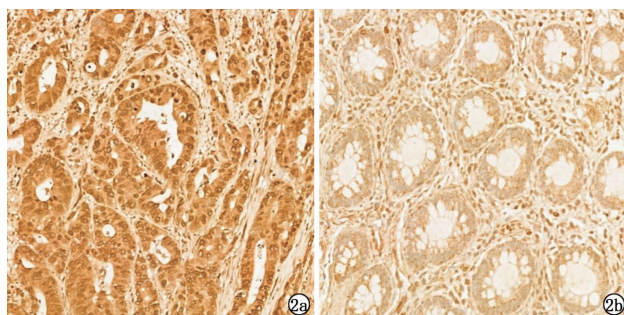
因素	单因素分析			多因素分析		
	RR	95% CI	P 值	RR	95% CI	P 值
性别	1.912	0.949 ~ 2.312	0.167	-	-	-
年龄	2.314	1.330 ~ 5.158	0.128	-	-	-
肿瘤位置	0.024	0.734 ~ 1.272	0.876	-	-	-
肿瘤类型	0.001	0.642 ~ 1.147	0.978	-	-	-
分化程度	4.493	0.261 ~ 0.702	0.034	0.374	0.229 ~ 0.611	0.012
T 分期	2.542	0.761 ~ 3.600	0.111	-	-	-
N 分期	4.062	1.283 ~ 3.189	0.044	2.278	1.437 ~ 3.610	0.000
临床分期	3.960	1.156 ~ 2.955	0.047	2.106	1.328 ~ 3.340	0.002
UHRF1 表达	14.328	1.266 ~ 9.488	0.016	3.436	1.254 ~ 9.411	0.016
UHRF2 表达	12.269	1.090 ~ 10.975	0.035	3.499	1.103 ~ 11.100	0.033

注:性别:男、女;年龄:<60岁,≥60岁;肿瘤位置:右半结肠、左半结肠、直肠;肿瘤类型:浸润型、肿块型、溃疡型;分化程度:低分化、中分化、高分化;T分期:T1~2、T3~4;N分期:N0、N1~2;UHRF1表达:阴性、阳性;UHRF2表达:阴性、阳性。



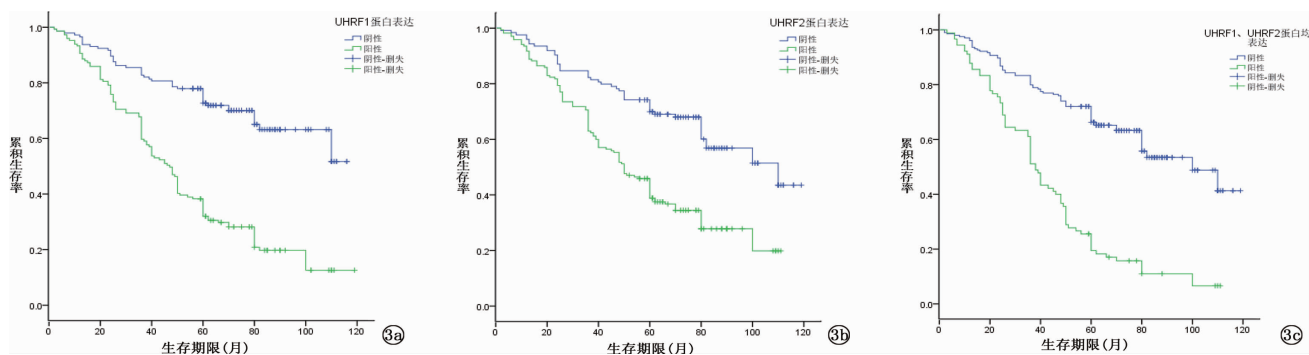
注:1a:癌组织;1b:癌旁正常组织。

图 1 UHRF1 在结直肠癌组织及正常组织中表达的病理图(免疫组化,×400)



注:2a:癌组织;2b:癌旁正常组织。

图 2 UHRF2 在结直肠癌组织及正常组织中表达的病理图(免疫组化,×400)



注:3a:UHRF1 蛋白阳性和阴性表达患者术后生存比较;3b:UHRF2 蛋白阳性和阴性表达患者术后生存比较;3c:UHRF1 和 UHRF2 蛋白均阳性和均阴性患者术后生存比较。

图 3 结直肠癌患者 UHRF1、UHRF2 蛋白表达的 Kaplan-Meier 生存分析图

过高表达维持细胞的增殖状态并阻止细胞分化<sup>[16]</sup>,在恶性肿瘤的发生发展中扮演了重要角色;同时,UHRF1 对 DNA 甲基化状态的维持发挥关键性作用,使得 DNA 甲基化状态在复制和传代过程中得到维持,参与细胞周期调控<sup>[17]</sup>。已有研究报道,沉默 UHRF1 的表达能致细胞周期停滞甚至细胞凋亡,从而抑制肿瘤的发生发展<sup>[18]</sup>,现已证实 UHRF1 与肿瘤放化疗的敏感性密切相关<sup>[19-20]</sup>,这有可能为恶性肿瘤的治疗提供新方向。UHRF2 蛋白是 UHRF1 的同源蛋白,尽管两者在序列及结构上高度相似,但在功能上并不完全一致,甚至相反。UHRF2 是一个多功

能域蛋白,包含 UBL、Tudor、PHD、YDG/SRA 和 RING finger 5 个结构域和一个 Rb 结合位点<sup>[21]</sup>,不同的结构域具有不同的生理学功能,在细胞增殖调控及表观遗传学修饰等方面发挥着重要作用<sup>[22]</sup>,也正因如此,其在肿瘤发生发展中的作用有时相互矛盾。相关研究报道,UHRF2 蛋白在结直肠癌<sup>[8]</sup>、乳腺癌<sup>[23]</sup>中起到癌基因的作用,而在白血病中抑制肿瘤的发展<sup>[9-10]</sup>,故 UHRF2 蛋白对肿瘤的影响尚存争议,其机制仍未十分明确。此外,有研究提出沉默 UHRF1 的表达不仅可提高患者对放化疗的敏感性,还抑制肿瘤发生发展<sup>[24]</sup>,可能为患者抗肿瘤的辅助治疗提供

新方向。

本研究结果显示 UHRF1 蛋白在结直肠癌组织中的表达显著高于正常组织,与不良病理类型、淋巴结转移及临床分期显著相关,阳性表达患者的预后差于阴性表达患者。UHRF2 蛋白在结直肠癌组织中的表达也高于正常组织,与淋巴结转移、临床分期密切相关。且 UHRF1 及 UHRF2 阳性表达均为结直肠癌患者术后的独立预后因子,两者同时表达的患者预后更差。然而本研究纳入的病例数较少,关于 UHRF1、UHRF2 蛋白表达与结直肠癌的关系仍需大量大样本临床试验来探讨。

综上所述,UHRF1、UHRF2 蛋白在结直肠癌中高表达,与肿瘤分化程度、淋巴结转移、临床分期及患者预后密切相关;两者同时表达时结直肠癌患者的术后生存率更低,提示联合检测两种蛋白的表达可考虑作为判断患者预后的指标。但其在结直肠癌发生发展中的具体机制及相互作用仍有待进一步研究。

#### 参考文献

[1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): E359 - E386.

[2] Bronner C, Achour M, Arima Y, et al. The UHRF family: oncogenes that are drugable targets for cancer therapy in the near future? [J]. *Pharmacol Ther*, 2007, 115(3): 419 - 434.

[3] Hervouet E, Lalier L, Debieu E, et al. Disruption of Dnmt1/PCNA/UHRF1 interactions promotes tumorigenesis from human and mice glial cells[J]. *PLoS One*, 2010, 5(6): e11333.

[4] Zhou T, Xiong J, Wang MZ, et al. Structural basis for hydroxymethylcytosine recognition by the SRA domain of UHRF2[J]. *Mol Cell*, 2014, 54(5): 879 - 886.

[5] 段昌柱, 蒲淑萍, 等. NIRF 对 P53 蛋白泛素化作用的研究[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2006, 33(2): 163 - 168.

[6] Zeng S, Wang Y, Zhang T, et al. E3 ligase UHRF2 stabilizes the acetyltransferase TIP60 and regulates H3K9ac and H3K14ac via RING finger domain[J]. *Protein Cell*, 2017, 8(3): 202 - 218.

[7] Lu HR, Bhoopatraju S, Wang HB, et al. Loss of UHRF2 expression is associated with human neoplasia, promoter hypermethylation, decreased 5-hydroxymethylcytosine, and high proliferative activity[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(46): 76047 - 76061.

[8] Lu S, Yan DW, Wu ZH, et al. Ubiquitin-like with PHD and ring finger domains 2 is a predictor of survival and a potential therapeutic target in colon cancer[J]. *Oncol Rep*, 2014, 31(4): 1802 - 1810.

[9] Mori T, Ikeda DD, Fukushima T, et al. NIRF constitutes a nodal point in the cell cycle network and is a candidate tumor suppressor [J]. *Cell Cycle*, 2011, 10(19): 3284 - 3299.

[10] Li X, Liu Y, Salz T, et al. Whole-genome analysis of the methylome and hydroxymethylome in normal and malignant lung and liver[J]. *Genome Res*, 2016, 26(12): 1730 - 1741.

[11] 许良中, 杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[J]. *中国癌症杂志*, 1996, 6(4): 229 - 231.

[12] Fujimori A, Matsuda Y, Takemoto Y, et al. Cloning and mapping of Np95 gene which encodes a novel nuclear protein associated with cell proliferation[J]. *Mamm Genome*, 1998, 9(12): 1032 - 1035.

[13] Greiner VJ, Kovalenko L, Humbert N, et al. Site-selective monitoring of the interaction of the SRA domain of UHRF1 with target DNA sequences labeled with 2-aminopurine [J]. *Biochemistry*, 2015, 54(39): 6012 - 6020.

[14] Sheng Y, Wang HT, Liu DC, et al. Methylation of tumor suppressor gene CDH13 and SHP1 promoters and their epigenetic regulation by the UHRF1/PRMT5 complex in endometrial carcinoma[J]. *Gynecol Oncol*, 2016, 140(1): 145 - 151.

[15] Alhosin M, Omran Z, Zamzami MA, et al. Signalling pathways in UHRF1-dependent regulation of tumor suppressor genes in cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35(1): 174.

[16] Bronner C, Krifa M, Mousli M. Increasing role of UHRF1 in the reading and inheritance of the epigenetic code as well as in tumorigenesis[J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 86(12): 1643 - 1649.

[17] 周林, 张伟, 李乃义, 等. UHRF1 在胃癌侵袭和转移中的作用及其机制[J]. *肿瘤防治研究*, 2016, 43(4): 258 - 262.

[18] Mulder KW, Wang X, Escricu C, et al. Diverse epigenetic strategies interact to control epidermal differentiation[J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(7): 753 - 763.

[19] Daskalos A, Oleksiewicz U, Filia A, et al. UHRF1-mediated tumor suppressor gene inactivation in nonsmall cell lung cancer[J]. *Cancer*, 2011, 117(5): 1027 - 1037.

[20] Un F, Qi C, Prosser M, et al. Modulating ICBP90 to suppress human ribonucleotide reductase M2 induction restores sensitivity to hydroxyurea cytotoxicity[J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(4B): 2761 - 2767.

[21] Lai M, Liang LZ, Chen JW, et al. Multidimensional proteomics reveals a role of UHRF2 in the regulation of epithelial-mesenchymal transition (EMT) [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2016, 15(7): 2263 - 2278.

[22] Mori T, Ikeda DD, Yamaguchi Y, et al. NIRF/UHRF2 occupies a central position in the cell cycle network and allows coupling with the epigenetic landscape [J]. *FEBS Lett*, 2012, 586(11): 1570 - 1583.

[23] Wu J, Liu S, Liu G, et al. Identification and functional analysis of 9p24 amplified genes in human breast cancer[J]. *Oncogene*, 2012, 31(3): 333 - 341.

[24] Asayama M, Kadowaki S, Yamaguchi K. Issues of molecular targeted therapies in combination with chemotherapy in metastatic colorectal cancer[J]. *Nippon Rinsho*, 2011, 69 Suppl 3: 464 - 471.

收稿日期: 2019-04-01 修回日期: 2019-05-05 编辑: 王国品