

• 论 著 •

肺癌患者胸腔积液中 UHRF1 mRNA 的表达和临床意义*

王小燕^{1,2}, 严 枫^{1△}(1. 南京医科大学附属肿瘤医院检验科, 江苏南京 210009; 2. 南京医科大学
附属江宁医院检验科, 江苏南京 211100)

摘要:目的 探讨肺癌患者胸腔积液中脱落细胞的泛素样含 PHD 和环指域 1(UHRF1) mRNA 表达水平及临床诊断价值。方法 选取 2015 年 10 月至 2017 年 2 月南京医科大学附属江宁医院收治的胸腔积液患者 124 例, 根据病理学诊断结果分为恶性胸腔积液组(60 例)和良性胸腔积液组(64 例), 采用实时荧光定量聚合酶链反应技术检测两组 UHRF1 mRNA 表达水平, 分别与胸腔积液中脱落细胞学检查结果、癌胚抗原(CEA)和 DNA 异倍体细胞检测结果进行比较, 并分析其与临床病理因素的关系。结果 恶性胸腔积液组中 UHRF1 mRNA 相对表达量为 (4.53 ± 4.33) , 明显高于良性胸腔积液组 (1.61 ± 1.56) , 差异有统计学意义($t=5.057, P=0.000$)。受试者工作特征曲线分析显示, UHRF1 mRNA、CEA 单独检测及联合检测的曲线下面积分别为 0.753、0.879、0.861, 灵敏度分别为 53.48%、78.18%、74.42%, 特异度分别为 88.24%、93.44%、86.27%。在不同年龄、性别、肿瘤定位、组织学分型、CEA 水平及有无吸烟史患者的胸腔积液中, UHRF1 mRNA 相对表达量差异无统计学意义($P>0.05$); 脱落细胞阳性和异倍体细胞阳性患者胸腔积液中 UHRF1 mRNA 相对表达量高于阴性患者, 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 UHRF1 mRNA 对恶性胸腔积液具有较高的临床诊断价值。

关键词: UHRF1; 肺癌; 胸腔积液; 实时荧光定量 PCR

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.22.002

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)22-3077-04

Expression and clinical significance of UHRF1 mRNA in pleural effusion of patients with lung cancer*

WANG Xiaoyan^{1,2}, YAN Feng^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Tumor Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210009, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Jiangning Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 211100, China)

Abstract: Objective To investigate the expression levels and clinical diagnostic value of ubiquitin-like with PHD and ring finger domains 1 (UHRF1) mRNA in exfoliated cells of pleural effusion in the patients with lung cancer. Methods A total of 124 patients with pleural effusion in Jiangning Hospital affiliated to Nanjing Medical University from October 2015 to February 2017 were selected and divided into the malignant pleural effusion group (60 cases) and the benign pleural effusion group (64 cases) according to the pathological diagnosis results. The expression levels of UHRF1 mRNA in the two groups were detected by real-time quantitative polymerase chain reaction, and their detection results were compared with the those of exfoliative cytology, carcinoembryonic antigen(CEA) and DNA aneuploid cell in pleural effusion. Their relationship with clinical pathological factors was analyzed. Results The relative expression level of UHRF1 mRNA in the malignant pleural effusion group was (4.53 ± 4.33) , which was significantly higher than (1.61 ± 1.56) in the benign pleural effusion group, the difference was statistically significant($t=5.057, P=0.000$). The receiver operating characteristic(ROC) curve analysis showed that the areas under the curve of UHRF1 mRNA, CEA single detection and combined detection were 0.753, 0.879, 0.861, and the sensitivities were 53.48%, 78.18%, 74.42%, and the specificities were 88.24%, 93.44%, 86.27% respectively. In different age, gender, tumor location, histological type, CEA level and smoking history in patients with pleural effusion, there was no significant difference in the relative expression of UHRF1 mRNA ($P>0.05$); the relative expression of UHRF1 and mRNA in pleural effusion positive cells and aneuploid cells positive patients was higher than that in negative patients, and the difference was statistically significant($P<0.05$). Conclusion UHRF1 mRNA has high clinical diagnostic value in malignant pleural effusion.

Key words: UHRF1; lung cancer; pleural effusion; real-time quantitative PCR

泛素样含 PHD 和环指域 1(UHRF1)是新发现的一种与细胞生长有关的核蛋白基因^[1]。有研究表明, UHRF1 在人类多种肿瘤组织和细胞中呈高表达, 并且与肿瘤的分化、侵袭、转移和预后密切相关^[2-6]。有文献报道 UHRF1 在肺癌组织和细胞中过表达^[7-8], 但在肺癌引起的恶性胸腔积液中的表达情况尚未见报道。本研究采用实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)

检测肺癌患者胸腔积液中脱落细胞的 UHRF1 mRNA 表达水平, 分析其与肺癌患者各临床病理因素间的关系, 探讨 UHRF1 mRNA 在恶性胸腔积液中的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 10 月至 2017 年 2 月南京医科大学附属江宁医院收治的胸腔积液住院患者 124 例, 根据病理

* 基金项目: 江苏省南京市卫生和计划生育委员会项目(YKK15202)。

作者简介: 王小燕, 女, 副主任技师, 主要从事免疫学检验研究。 △ 通信作者, E-mail: yanfeng2007@sohu.com。

学诊断结果分为:恶性胸腔积液组 60 例,其中男 47 例,女 13 例,平均年龄(65.9±12.9)岁;良性胸腔积液组 64 例,其中男 50 例,女 14 例,平均年龄(63.11±20.7)岁。恶性胸腔积液组中,经细胞学证实的恶性胸腔积液患者 33 例,经胸膜穿刺活检或胸腔镜下胸膜活检证实的恶性胸腔积液患者 27 例。良性胸腔积液组中,经细菌学及病理学等临床检查排除肿瘤的结核性胸腔积液患者 36 例,其他感染性胸腔积液患者 21 例,慢性阻塞性肺气肿患者 5 例,脓胸患者 2 例。排除标准:恶性肿瘤消耗引起的低蛋白血症所致的胸腔积液,抽取前未接受过抗肿瘤治疗的胸腔积液,充血性心力衰竭、失代偿性肝硬化及肾病综合征等疾病引起的漏出液。本研究得到南京医科大学附属江宁医院伦理委员会批准,所有研究对象均签署知情同意书。两组患者性别、年龄差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 仪器与试剂 Trizol™ 试剂、无核糖核酸酶水等购自美国 thermo 公司,逆转录试剂、普通 PCR 试剂、荧光实时定量试剂均购自大连宝生物公司,qPCR 扩增仪、Veriti 热循环仪购自美国 ABI 公司,高速低温离心机购自德国 Eppendorf 公司。UHRF1 的 2 对引物序列为 5'-AGG TGG TCA TGC TCA ACT ACA-3'和 5'CAC GTT GGC GTA GAG TTC CC-3',内参基因 β -actin 的 2 对引物序列为 5'-GAG CTA CGA GCT GCC TGA CG-3'和 5'-GTA GTT TCG TGG ATG CCA CAG-3',均由南京金斯瑞生物公司合成。

1.3 方法

1.3.1 标本的收集与处理 所有标本按照完全统一的方法收集和储存,严格排除污染因素。采用超声定位胸腔穿刺抽液,抽取患者胸腔积液 200 mL,混匀后取约 15 mL,收集到高压灭菌的离心管中,4℃下 2 000 r/min 离心 10 min,弃去上清液;沉渣用 10 mL 生理盐水洗涤 2 遍,离心后弃去上清液;吸取白膜层至无菌无酶的 1.5 mL EP 管中,加入 Trizol™ 试剂 1 mL,轻轻混匀,室温静置 5 min,置-80℃冰箱保存,编号并登记相关临床资料。

1.3.2 总 RNA 提取 将保存的脱落细胞进行室温解冻,按说明书分别加入氯仿、异丙醇等提取总 RNA,用 20 μ L 无核糖核酸酶水进行溶解,通过紫外分光光度计测定总 RNA 的吸光度比值(A_{260}/A_{280}),选取比值在 1.7~2.0 间的标本用于逆转录反应。此过程均在冰盒上操作。

1.3.3 逆转录反应 第一步去除基因组 DNA:加入 5×gDNA Eraser Buffer 2 μ L、gDNA Eraser 1 μ L、总 RNA 2 μ L、无核糖核酸酶水 5 μ L,轻轻混匀并瞬时离心,于 42℃中反应 2 min;第二步逆转录:加入 5×PrimeScript Buffer 2 4 μ L、PrimeScript RT Enzyme Mix I 1 μ L、RT Primer Mix 1 μ L、无核糖核酸酶水 4 μ L,轻轻混匀并瞬时离心,与第一步的反应液混匀,进行逆转录反应。反应条件如下:37℃ 15 min,85℃ 5 s。合成好的 cDNA 置于-20℃备用。

1.3.4 RT-PCR 检测 取 cDNA 1 μ L 进行 PCR 反应,反应条件为:95℃预变性 30 s,95℃ 5 s,60℃ 30 s,共 45 个循环。每个反应孔的荧光信号达到所设定的阈值时所进行的循环数即为 Ct 值,以 β -actin 作为内参基因,同时实验设置 3 个复孔,用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算目标基因的相对表达量。

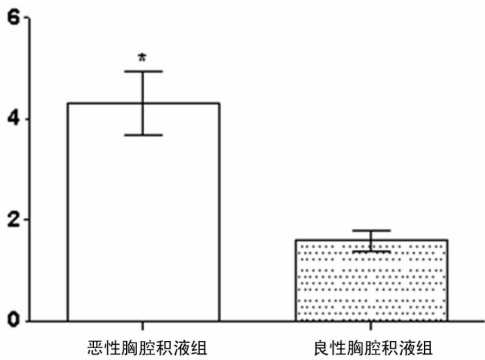
1.3.5 胸腔积液 DNA 异倍体细胞和脱落细胞检测 胸腔积液 DNA 异倍体细胞和脱落细胞均检测由本院病理科完成。DNA 指数大于 2.5 为异倍体细胞阳性,恶性胸腔积液中找到肿瘤细胞即为肿瘤细胞阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行统计学处

理;计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析;通过绘制受试者工作特征(ROC)曲线及计算曲线下面积(AUC)以评估 UHRF1 mRNA 对良恶性胸腔积液的诊断效能,并通过 Youden 指数确定诊断临界值;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 UHRF1 mRNA 相对表达量比较 恶性胸腔积液组中 UHRF1 mRNA 相对表达量为 4.53±4.33,明显高于良性胸腔积液组(1.61±1.56),差异有统计学意义($t=5.057$, $P=0.000$)。见图 1。



注:与良性胸腔积液组比较,* $P<0.01$ 。

图 1 两组 UHRF1 mRNA 相对表达量

2.2 UHRF1 mRNA、癌胚抗原(CEA)对恶性胸腔积液的诊断价值 UHRF1 mRNA 单独检测结果:AUC 为 0.753、灵敏度为 53.48%、特异度为 88.24%。CEA 单独检测结果:AUC 为 0.879、灵敏度为 78.18%、特异度为 93.44%。UHRF1 mRNA 和 CEA 联合检测结果:AUC 为 0.861、灵敏度为 74.42%、特异度 86.27%。见图 2。

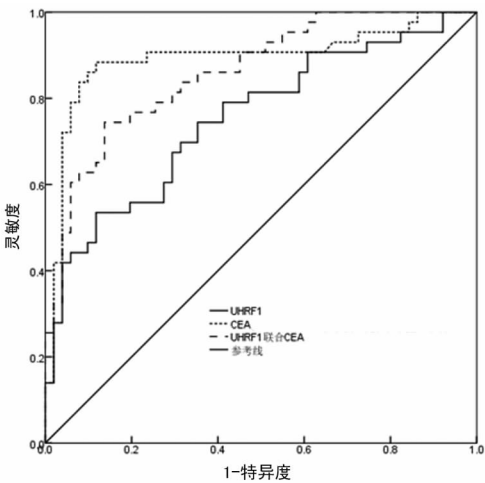


图 2 UHRF1、CEA 单独检测和联合检测的 ROC 曲线

2.3 UHRF1、脱落细胞和 DNA 异倍体对恶性胸腔积液的诊断灵敏度 在恶性胸腔积液组中,细胞学检查阳性 33 例,细胞学检查阴性 27 例,灵敏度为 55.0%(33/60);DNA 异倍体阳性 43 例,异倍体阴性 17 例,灵敏度为 71.67%(43/60)。恶性胸水组中,UHRF1 与脱落细胞同时阳性或其中一项阳性 42 例,灵敏度为 70%;UHRF1 与 DNA 异倍体同时阳性或其中一项阳性 51 例,灵敏度为 85%。

2.4 恶性胸腔积液中 UHRF1 mRNA 与临床病理因素间的关系 采用 Youden 指数最大的切点为临界点,确定诊断临界点为 2.73。恶性胸腔积液组中 55%(33/60)患者的 UHRF1

mRNA 表达水平较高。在不同年龄、性别、肿瘤定位、组织学分型、CEA 水平及有无吸烟史患者的胸腔积液中, UHRF1 mRNA 相对表达量差异无统计学意义($P>0.05$); 脱落细胞阳性和异倍体细胞阳性患者胸腔积液中 UHRF1 mRNA 相对表达量高于阴性患者, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 恶性胸腔积液中 UHRF1 mRNA 与临床病理因素间的关系

病理因素	组别	<i>n</i>	UHRF1 mRNA 相对表达量($\bar{x}\pm s$)	<i>t</i>	<i>P</i>
年龄	<65 岁	22	6.07±3.87	1.880	0.065
	≥65 岁	38	3.92±4.48		
性别	男	47	4.55±4.11	0.109	0.914
	女	13	4.70±5.38		
肿瘤定位	左	21	3.85±3.66	1.093	0.279
	右	39	5.18±4.88		
组织学分型	腺癌	39	5.39±4.97	1.579	0.215
	鳞癌	7	3.73±2.18		
	小细胞癌	14	3.11±3.09		
吸烟史	>20 年	32	4.34±4.35	0.515	0.609
	≤20 年	28	4.93±4.52		
脱落细胞	阳性	33	5.88±4.97	2.700	0.009
	阴性	27	3.01±2.65		
DNA 异倍体细胞	阳性	43	5.36±4.70	2.802	0.007
	阴性	17	2.09±1.47		
CEA	<10 ng/mL	14	6.28±2.77	1.906	0.060
	≥10 ng/mL	46	4.30±4.55		

3 讨 论

乳腺癌、卵巢癌和肺巢癌等中晚期恶性肿瘤多伴发胸腔积液, 肺结核等肺部良性病变和其他一些非特异性感染也会伴发胸腔积液。恶性胸腔积液可作为肺癌的首发症状出现, 也可作为肺癌治疗后的复发症状出现^[9]。恶性肿瘤患者一旦出现恶性胸腔积液, 即意味着病变已到晚期, 故早诊断、早治疗十分重要。目前, 恶性胸腔积液最可靠的诊断方法是组织细胞学诊断, 但其阳性率极低^[10]。

在 DNA 复制过程中, UHRF1 蛋白对 DNA 甲基化状态的维持起关键性作用, 它可以识别半甲基化的 DNA 子链, 并召集 DNA 甲基转移酶 1 聚合在 DNA 链上, 将半甲基化 DNA 双链转变成完全甲基化 DNA, 从而使得 DNA 甲基化状态在复制和传代过程中得到维持^[11], 这种重要的生物学功能在肺癌诊断中发挥了重要的作用^[12-13]。Unoki 等^[7]研究发现: UHRF1 mRNA 在肺癌所有病理类型组织中都呈高表达; 非腺癌组织中 UHRF1 mRNA 表达水平明显高于腺癌组织; UHRF1 mRNA 表达水平与性别、吸烟史密切相关, 与年龄无关。TNM 分期越晚、淋巴结转移越多的男性患者, 其预后越差、UHRF1 mRNA 表达水平越高, 表明 UHRF1 mRNA 水平的高表达预示肿瘤有较高的侵袭性和不良预后。Daskalos 等^[8]研究表明 UHRF1 是关键基因开关, 使得 CDKN2A、RASSF1 肿瘤抑制基因启动子高甲基化, 从而维持肿瘤抑制基因转录沉默。本研究发现, 恶性胸腔积液组的 UHRF1 mRNA 表达水平明显

高于良性胸腔积液组, 在不同年龄、性别、肿瘤定位、组织学分型、CEA 水平及有无吸烟史患者的胸腔积液中, UHRF1 mRNA 相对表达量差异无统计学意义($P>0.05$)。与上述结论不一致的原因可能是由于标本种类不同、检测方法不同、样本容量小和患者个体差异等因素影响。随着恶性胸腔积液中肿瘤细胞与 DNA 异倍体细胞含量的升高, UHRF1 mRNA 表达水平呈上升趋势。

本研究结果显示, UHRF1 mRNA 在恶性胸腔积液中呈高表达, 其检测的灵敏度、特异度分别为 53.48%、88.24%。这表明 UHRF1 mRNA 诊断恶性胸腔积液的灵敏度不高而特异度较高, 灵敏度不高的原因可能与恶性胸腔积液中肿瘤细胞含量有关。CEA 表达于上皮性肿瘤细胞中, 是目前公认的成熟的恶性胸腔积液诊断的分子标志物之一, 在本研究中其检测的灵敏度、特异度分别为 78.18%、93.44%, 与文献报道一致^[13]。UHRF1 mRNA 诊断恶性胸腔积液的灵敏度和特异度均不及 CEA, 但两者联合检测的灵敏度、特异度分别为 74.42%、86.27%, 提高了 UHRF1 mRNA 对恶性胸腔积液的诊断效率。胸腔积液中脱落细胞学检查、DNA 异倍体细胞检测的灵敏度分别为 55.00%、71.67%, UHRF1 mRNA 联合脱落细胞学检查、UHRF1 mRNA 联合 DNA 异倍体细胞检测的灵敏度分别为 70%、85%, 高于各自单独检测时的灵敏度。

UHRF1 mRNA 在恶性胸腔积液中存在着高表达, 对恶性胸腔积液诊断具有较高价值, 且与其他肿瘤指标联合检测, 能进一步提高诊断的灵敏度和特异度。在后续的研究中, 将扩大样本数, 增加乳腺癌、淋巴瘤、消化道肿瘤、妇科肿瘤等转移肿瘤标本, 更全面深入分析恶性胸腔积液中 UHRF1 基因的表达情况、生物学功能及作用机制, 为恶性胸腔积液诊断提供一个新的辅助方法。

参考文献

[1] Mousli M, Hopfner R, Abbady AQ, et al. ICBP90 belongs to a new family of proteins with an expression that is de-regulated in cancer cells[J]. Br J Cancer, 2003, 89(1): 120-127.

[2] Saidi S, Popov Z, Janevska V, et al. Overexpression of UHRF1 gene correlates with the major clinicopathological parameters in urinary bladder cancer[J]. Int Braz J Urol, 2017, 43(2): 224-229.

[3] Liu X, Ou H, Xiang L, et al. Elevated UHRF1 expression contributes to poor prognosis by promoting cell proliferation and metastasis in hepatocellular carcinoma[J]. Oncotarget, 2017, 8(6): 10510-10522.

[4] Zhang ZY, Cai JJ, Hong J, et al. Clinicopathological analysis of UHRF1 expression in medulloblastoma tissues and its regulation on tumor cell proliferation[J]. Med Oncol, 2016, 33(9): 99.

[5] Abu-Alainin W, Gana T, Liloglou T, et al. UHRF1 regulation of the Keap1-Nrf2 pathway in pancreatic cancer contributes to oncogenesis[J]. J Pathol, 2016, 238(3): 423-433.

[6] Liu W, Qiao RH, Wang DM, et al. UHRF1 promotes human osteosarcoma cell invasion by downregulating the expression of E-cadherin in an Rb1-dependent manner[J]. Mol Med Rep, 2016, 13(1): 315-320. (下转第 3082 页)

膝、枸杞子均为常用的补肾中药^[5]；黄芪、白术、茯苓、猪苓具有健脾作用。药理实验证明黄芪不仅对骨髓抑制模型有明显的治疗作用，而且能增强正常动物的免疫功能^[6]。

红细胞和血红蛋白的生成不足在肿瘤患者中比较常见^[7]，白细胞减少的发生在肿瘤患者的治疗中也比较普遍^[8]，环磷酰胺化疗可在短时间内引起患者外周血红细胞、白细胞、血小板减少^[9]。本研究中环磷酰胺造模的剂量为 100 mg/kg，属于短期内大剂量给药，可引起白细胞和造血干细胞明显下降，且作用比较持续稳定^[10]。造血干细胞又叫做多能干细胞，具有造血功能，Sca-1、CD34、c-Kit 是小鼠造血干细胞常见的几个标记物^[11]。本研究中小鼠骨髓细胞经造血干细胞标记抗体 anti-Mouse CD34-PE、anti-Mouse c-Kit-PerCP/Cy5. 5 和 anti-Mouse Sca-1-FITC 染色后检测，结果显示：小鼠骨髓细胞数目在环磷酰胺作用下出现明显下降，Model 组骨髓单个核细胞增殖能力明显低于 Naive 组，差异有统计学意义 ($P<0.01$)；但是经补肾健脾方治疗后，小鼠骨髓细胞数目出现恢复，BSJP 组骨髓单个核细胞增殖能力明显高于 Model 组，差异有统计学意义 ($P<0.05$)。这表明环磷酰胺能抑制骨髓造血，补肾健脾方能改善环磷酰胺所致的小鼠骨髓造血抑制状态。

本研究中，各组红细胞计数水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)，与赵静梅等^[12]研究相似。这可能是由于红细胞的更新周期为 120 d，而本研究从造模开始至检测一共才 17 d，因此环磷酰胺还未曾影响到红细胞的生成。Model 组白细胞较 Naive 组出现明显下降，经补肾健脾方治疗后，BSJP 组白细胞数目有所上升，其水平高于 Model 组 ($P>0.05$)。这可能是 BSJP 组标本量较少引起的偶然误差，后续的深入研究将扩大标本量进一步统计其差异。

综上所述，补肾健脾方具有改善环磷酰胺所致小鼠骨髓造血抑制状态，其作用机制可能是通过增加骨髓造血干细胞数目，增强造血干细胞增殖能力，从而促进骨髓抑制小鼠造血功能的恢复。本研究为临床减轻环磷酰胺化疗不良反应提供了新的中医治疗思路。

参考文献

[1] Xu M, He RR, Zhai YJ, et al. Effects of carnosine on cyclophosphamide-induced hematopoietic suppression in mice[J]. *Am J Chin Med*, 2014, 42(1):131-142.
[2] 刘启华, 王旭. 益气补血汤治疗化疗后白细胞减少 89 例

疗效观察[J]. *中国中医药科技*, 2007, 14(6):447-447.
[3] 苗文红. 补肾健脾法治疗肿瘤放、化疗所致骨髓抑制 98 例[J]. *陕西中医*, 2000, 21(7):289-289.
[4] 马增春, 谭洪玲, 肖成荣, 等. 环磷酰胺损伤小鼠骨髓造血的机制[J]. *毒理学杂志*, 2007(4):332-332.
[5] 赵文静, 王历, 王芝兰, 等. 淫羊藿的药理作用及临床应用研究进展[J]. *中医药信息*, 2016, 33(2):105-108.
[6] 赵谔, 高永翔. 黄芪多糖的免疫调节作用研究进展[J]. *中医临床研究*, 2012, 04(5):4-6.
[7] Grant MD, Piper M, Bohlius J, et al. Epoetin and darbepoetin for managing anemia in patients undergoing cancer treatment: comparative effectiveness update [M]. Rockville: Agency for Healthcare Research and Quality, 2013: 203-210.
[8] Liu K, Wang GB, Cheng B, et al. Clinical comparison of GC regimen (gemcitabine and cisplatin) versus FEC regimen (fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide) as neoadjuvant chemotherapy for breast cancer [J]. *Ai Zheng*, 2007, 26(4):427-430.
[9] Petrucci MT, Avvisati G, La Verde G, et al. Intermediate-dose cyclophosphamide and granulocyte colony-stimulating factor is a valid alternative to high-dose cyclophosphamide for mobilizing peripheral blood CD34+ cells in patients with multiple myeloma[J]. *Acta Haematol*, 2003, 109(4):184-188.
[10] Feng L, Huang Q, Huang Z, et al. Optimized animal model of cyclophosphamide-induced bone marrow suppression [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2016, 119(5):428-435.
[11] Saleh M, Shamsasanjan K, Movassaghpourakbari A, et al. The impact of mesenchymal stem cells on differentiation of hematopoietic stem cells[J]. *Adv Pharm Bull*, 2015, 5(3):299-304.
[12] 赵静梅, 杨旭辉, 王广占, 等. 补肾解毒活血法对骨髓抑制小鼠造血功能的影响[J]. *环球中医药*, 2012, 5(1):12-15.

(收稿日期:2017-03-29 修回日期:2017-07-18)

(上接第 3079 页)

[7] Unoki M, Daigo Y, Koinuma J, et al. UHRF1 is a novel diagnostic marker of lung cancer[J]. *Br J Cancer*, 2010, 103(2):217-222.
[8] Daskalos A, Aleksiewicz U, Filia A, et al. UHRF1-mediated tumor suppressor gene inactivation in nonsmall cell lung cancer[J]. *Cancer*, 2011, 117(5):1027-1037.
[9] Morgensztern D, Waqar S, Subramanian J, et al. Prognostic impact of malignant pleural effusion at presentation in patients with metastatic non-small-cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2012, 7(10):1485-1489.
[10] 于瑞珍, 于国厚, 徐传胜. 胸腔积液脱落细胞与肿瘤标志物联合检查的临床价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2015, 36(16):2414-2416.

[11] Bostick M, Kim JK, Estève PO, et al. UHRF1 plays a role in maintaining DNA methylation in mammalian cells[J]. *Science*, 2007, 317(5845):1760-1764.
[12] Rottach A, Frauer C, Pichler G, et al. The multi-domain protein Np95 connects DNA methylation and histone modification[J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(6):1796-1804.
[13] Unoki M, Brunet J, Mousli M. Drug discovery targeting epigenetic codes: the great potential of UHRF1, which links DNA methylation and histone modifications, as a drug target in cancers and toxoplasmosis[J]. *Biochem Pharmacol*, 2009, 78(10):1279-1288.

(收稿日期:2017-03-27 修回日期:2017-07-16)