

• 论 著 •

甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 在子痫前期孕妇中表达水平 及其对疾病的预测价值*

张 阔, 陈 莹, 刘 丹, 汪俊红
唐山市妇幼保健院产科, 河北唐山 063000

摘要:目的 探究子痫前期孕妇血浆中甲基化 DNA 的表达水平及对子痫前期发生的预测价值。方法 纳入 2022 年 1—12 月在该院确诊的 82 例子痫前期孕妇作为观察组, 另外纳入 82 例健康孕妇作为对照组。提取患者游离总 DNA, 经过 DNA 亚硫酸氢盐修饰后通过实时荧光定量 PCR 反应(qRT-PCR)检测患者血浆中甲基化单意同源物 2(SIM2)、结缔组织生长因子(CTGF)及鸟嘌呤核苷酸结合蛋白(GNA12)基因的相对表达水平, 并采用相关性分析及受试者工作特征(ROC)曲线对各甲基化 DNA 预测子痫前期发生的价值进行评估。结果 观察组血浆甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 相对表达水平均高于对照组($P < 0.05$), 且重度子痫前期孕妇各甲基化 DNA 相对表达水平更高($P < 0.05$)。相关性分析结果表明, 血浆甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 相对表达水平与孕妇发生子痫前期均呈正相关($P < 0.05$)。ROC 曲线分析结果表明, 血浆甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 相对表达水平单独及联合检测对预测孕妇子痫前期的效能均较好, 且三者联合检测的预测效能最高(曲线下面积为 0.888, 95%CI: 0.827~0.949)。结论 相较于健康孕妇, 子痫前期孕妇血浆中甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 相对表达水平均较高, 且其与孕妇子痫前期的发生率呈正相关, 血浆甲基化 SIM2、GNA12 及 CTGF 相对表达水平有望成为判断子痫前期是否发生的重要指标。

关键词:子痫前期; 甲基化 DNA; 单意同源物 2; 鸟嘌呤核苷酸结合蛋白; 结缔组织生长因子

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.01.009 **中图法分类号:**R446.9

文章编号:1673-4130(2024)01-0044-05 **文献标志码:**A

Expression levels of methylated SIM2, GNA12 and CTGF in pregnant women with preeclampsia and its predictive value for disease*

ZHANG Kuo, CHEN Ying, LIU Dan, WANG Junhong

Department of Obstetrics, Tangshan Maternal and Child Health Hospital, Tangshan, Hebei 063000, China

Abstract: **Objective** To investigate the plasma levels of methylated DNA in the pregnant women with preeclampsia and its predictive value for the occurrence of preeclampsia. **Methods** A total of 82 pregnant women with preeclampsia admitted to the hospital from January to December 2022 were included as the observation group, and another 82 healthy pregnant women were included as the control group. Total DNA was extracted, and the relative expression levels of methylated single-intention homolog 2 (SIM2), guanine nucleotide-binding protein (GNA12), and connective tissue growth factor (CTGF) genes in plasma were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) after DNA bisulfite modification. The value of methylated DNA in predicting preeclampsia was evaluated by correlation analysis and receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** The relative expression levels of methylated SIM2, GNA12 and CTGF in plasma in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$), and the relative expression levels of methylated SIM2, GNA12 and CTGF in severe preeclampsia group was higher ($P < 0.05$). Correlation analysis showed that the relative expression levels of methylated SIM2, GNA12 and CTGF in plasma were significantly positively correlated with the occurrence of preeclampsia in pregnant women ($P < 0.05$). ROC curve analysis results showed that the relative expression levels of plasma methylation SIM2, GNA12, and CTGF, both individually and in combination, had good predictive efficacy in predicting preeclampsia in pregnant women, and the combined detection of the three had the highest predictive efficacy (area under the

* 基金项目: 河北省医学科学研究课题计划项目(20191527)。

作者简介: 张阔, 女, 主治医师, 主要从事妇产科方向的研究。

curve was 0.888, 95%CI: 0.827—0.949). **Conclusion** Compared with healthy pregnant women, the relative expression levels of methylated SIM2, GNA12 and CTGF in plasma are higher in pregnant women with pre-eclampsia, which are positively correlated with the occurrence of preeclampsia and the severity of the disease. The relative expression levels of methylated SIM2, GNA12 and CTGF are expected to be important predicting indicators for preeclampsia.

Key words: pre-eclampsia; methylated DNA; single-intention homolog 2; guanine nucleotide-binding protein; connective tissue growth factor

子痫前期是指女性妊娠期出现的不明原因的高蛋白血症和高血压,严重时可导致孕妇多脏器衰竭甚至死亡^[1]。关于子痫前期发病机制目前仍有较多争论,大多数学者认为其致病过程与机体免疫、遗传、炎症、内分泌及外周环境等多因素相互作用有关^[2]。研究表明,DNA 甲基化可以在不改变 DNA 顺序的情况下影响基因表达和表型状态,从而影响生物遗传学特征^[2]。而有研究发现,生殖细胞表观遗传学改变可致胎盘缺陷,最终诱导子痫前期发生^[3]。以往研究发现,子痫前期患者单意同源物 2(SIM2)、结缔组织生长因子(CTGF)及基因鸟嘌呤核苷酸结合蛋白(GNA12)等游离 DNA 与子痫前期的发生及疾病严重程度具有一定相关性,但上述基因的甲基化水平是否与子痫前期有关尚不明晰^[4-6]。基于此,本研究将探究子痫前期孕妇血浆中甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 相对表达水平及其对子痫前期发生的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2022 年 1—12 月在本院确诊的 82 例子痫前期孕妇作为观察组。纳入标准:(1)年龄>18 岁;(2)临床表现及实验室检查结果符合子痫前期的诊断标准,孕 20 周后出现收缩压 ≥ 140 mmHg,或舒张压 ≥ 90 mmHg,伴有 24 h 尿蛋白 ≥ 0.3 g、随机蛋白尿 1+以上^[7];(3)经超声确诊为单胎妊娠,且为自然受孕;(4)未合并其他妊娠期特殊疾病(如妊娠期糖尿病等);(5)患者及家属均知情同意。排除标准:(1)入组时存在严重心血管、脑、肺等器官功能障碍及严重基础疾病;(2)合并任何类型恶性肿瘤;(3)合并急、慢性感染;(4)接受过任何类型降血压药物治疗;(5)身体一般状况较差,需要终止妊娠。将观察组进一步分为重度子痫前期组和轻度子痫前期组,符合以下任意 1 项即判定为重度子痫前期:(1)血压持续升高至收缩压 ≥ 160 mmHg、舒张压 ≥ 110 mmHg;(2)蛋白尿 > 3 g/24 h;(3)血肌酐 ≥ 90 μ mol/L;(4)少尿 ≤ 500 mL/24 h 或 ≤ 25 mL/h;(5)血小板计数减少 $< 100 \times 10^9$ /L;(6)肝细胞坏死伴丙氨酸氨基转移酶或天门冬氨酸氨基转移酶 > 2 倍正常值;(7)持续性或严重的上腹疼痛或右肋痛;(8)伴随胸痛、呼吸困难或急性肺水肿;(9)合并严重神经系统症状^[7]。另选

取同期 82 例健康孕妇作为对照组。观察组平均年龄(28.87 $\pm$ 1.26)岁,平均体质量指数(25.59 $\pm$ 1.54) kg/m²,平均孕周(30.43 $\pm$ 1.63)周,既往有妊娠史 16 例,既往有吸烟史 13 例,既往有饮酒史 17 例。对照组平均年龄(28.70 $\pm$ 1.25)岁,平均体质量指数(25.97 $\pm$ 1.58) kg/m²,平均孕周(30.76 $\pm$ 1.59)周,既往有妊娠史 17 例,既往有吸烟史 15 例,既往有饮酒史 15 例。两组孕妇的一般资料比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 标本采集及处理 通过含 EDTA 抗凝剂的负压采血管收集所有患者空腹外周静脉血 5 mL,2 h 内以 3 000 r/min 在室温下离心 15~20 min,弃去下层血细胞并分离获得患者上层血浆。通过血浆游离 DNA 提取试剂盒分离获得各样本中总 DNA,最终分离柱中总 DNA 溶解于洗脱缓冲液 TB 中并分装在 EP 管中,置于一 20℃ 冰箱中短期保存或直接用于后续 DNA 亚硫酸氢盐修饰。

1.2.2 SIM2、GNA12、CTG 亚硫酸氢盐修饰 所有提取的样本 DNA 通过 DNA 甲基化修饰试剂盒(伯信生物有限公司,货号:Bes5201)进行 DNA 亚硫酸氢盐转化、提纯。严格参照说明书步骤进行,所有修饰后 DNA 置于 EP 管中并冻存于一 80℃ 冰箱保存或直接用于后续甲基化 DNA 检测。

1.2.3 甲基化 SIM2、GNA12、CTG 检测 通过 Pubmed 中 NCBI 软件设计甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 及内参基因 GAPDH 的引物,具体引物序列见表 1,所有引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。取 1 μ L 处理好的样本甲基化 DNA,加入 TaqMan GEx MASTER Mix 10 μ L,对应甲基化 DNA 正、反向引物各 1 μ L 并调整体系至 20 μ L,通过实时定量荧光 PCR(qRT-PCR)扩增目的基因及内参基因,反应条件设置为:90℃ 1 min,95℃ 30 s,65℃ 1 min,72℃ 30 s,共循环 40 次。甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 均以 GAPDH 作为内参,分别计算各样本 Ct 值,并根据公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算出各样本中目的基因相对表达水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS23.0 软件及 GraphPad

Prism 8.0 进行数据分析及绘图。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料采用频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 Spearman 相关性检验分析甲基化 SIM2、

GNA12、CTGF 与孕妇产前期发生率的相关性,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 对预测孕妇产前期发生的临床价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 引物序列

基因	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
SIM2	TTCCCCGAAGGTTTAGGAGACG	ATGGACAGAAGCGGTCTCGGAT
GNA12	CCGCGAGTTCGACCAGAAG	TGATGCCAGAATCCCTCCAGA
CTGF	TTGTTTTGGTTGATAGTTTT	CAAAACCCATACTAACAACA
GAPDH	GGTGAAGGTCGAGTCAACG	CAAAGTTGTCATGGATGATCC

2 结 果

2.1 两组血浆甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 相对表达水平比较 观察组血浆甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 相对表达水平均高于对照组($P < 0.05$),见表 2。

2.2 不同严重程度子痫前期孕妇临床特征及血浆甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 相对表达水平比较 不同严重程度子痫前期孕妇年龄、BMI、孕周、既往有妊娠史比较差异无统计学意义($P > 0.05$),轻度子痫前期组血浆甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 相对表达水平低于重度子痫前期组($P < 0.05$),见表 3。

2.3 血浆甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 相对表达水平与孕妇产前期发生率的相关性 Spearman 相关性分析表明,血浆甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 相对表达水平与孕妇产前期发生率呈正相关($r = 0.513、0.584、0.585, P < 0.05$)。

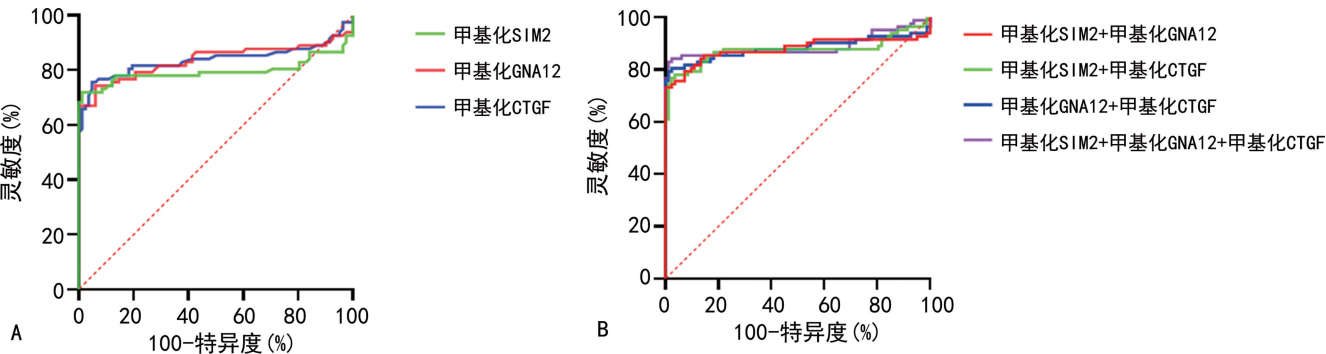
2.4 血浆甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 单独及联合预测孕妇产前期的 ROC 曲线分析 ROC 曲线分析结果表明,血浆甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 单独及联合预测孕妇产前期的效能均较高,三者联合检测的曲线下面积(AUC)大于各项单独检测及二者联合检测。见表 4、图 1。

表 2 两组患者血浆甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 相对表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	甲基化 SIM2	甲基化 GNA12	甲基化 CTGF
观察组	82	3.40 ± 1.84	4.09 ± 1.95	2.45 ± 1.23
对照组	82	1.74 ± 0.33	2.13 ± 0.40	1.23 ± 0.26
<i>t</i>		8.041	8.923	8.762
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05

表 3 不同严重程度子痫前期孕妇临床特征及血浆甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 相对表达水平比较[$\bar{x} \pm s$ 或 $n(\%)$]

组别	<i>n</i>	年龄 (岁)	BMI (kg/m ²)	孕周 (周)	既往有妊娠史	甲基化 SIM2	甲基化 GNA12	甲基化 CTGF
轻度子痫前期组	52	28.77 ± 1.41	25.72 ± 1.41	30.37 ± 1.61	42(80.77)	2.36 ± 1.17	3.24 ± 1.48	1.70 ± 0.66
重度子痫前期组	30	29.03 ± 0.96	25.37 ± 1.75	30.53 ± 1.68	24(80.00)	5.20 ± 1.29	5.56 ± 1.80	3.76 ± 0.83
<i>t</i> / χ^2		0.91	1.005	0.448	0.007	10.186	6.310	12.379
<i>P</i>		0.366	0.318	0.655	0.933	<0.05	<0.05	<0.05



注:A为甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 单独检测的 ROC 曲线,B为甲基化 SIM2 联合甲基化 GNA12、甲基化 SIM2 联合甲基化 CTGF、甲基化 GNA12 联合甲基化 CTGF、甲基化 SIM2 联合甲基化 GNA12 联合甲基化 CTGF 检测的 ROC 曲线。

图 1 血浆甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 单独及联合预测孕妇产前期的 ROC 曲线分析

表 4 血浆甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 单独及联合预测孕妇产前子痫前期的效能

指标	AUC	95%CI	
		下限	上限
甲基化 SIM2	0.796	0.715	0.878
甲基化 GNA12	0.837	0.767	0.907
甲基化 CTGF	0.838	0.767	0.909
甲基化 SIM2 联合甲基化 GNA12	0.878	0.814	0.941
甲基化 SIM2 联合甲基化 CTGF	0.874	0.811	0.938
甲基化 GNA12 联合甲基化 CTGF	0.882	0.819	0.944
三者联合	0.888	0.827	0.949

3 讨 论

部分孕妇在妊娠期间可能发展为子痫前期,若不及时控制可能造成多脏器损害、胎儿宫内生长受限等不良结局,严重时甚至造成孕妇和胎儿死亡^[8]。目前临床对于子痫前期孕妇无特效治疗手段,以终止妊娠作为主要治疗方式^[9]。因此,寻找早期预测、诊断子痫前期的方法是临床亟需解决的问题。尽管已有大量关于子痫前期的临床及基础研究,但其发生发展的具体机制仍不明确。有研究认为,各种原因导致的胎盘缺氧缺血、孕妇机体氧化应激水平增高、体液及细胞免疫失衡、螺旋动脉畸形等均可能导致子痫前期的发生,而遗传因素可能贯穿子痫前期病理生理机制的各个阶段^[10-12]。近几年表观遗传学在子痫前期发生发展过程中扮演的角色逐渐受到人们关注,存在潜在相关性的表观遗传学修饰包括组蛋白修饰、非编码 RNA 调控、染色质重构等,其中游离 DNA 甲基化相关研究逐渐成为子痫前期早期诊断和治疗的新热点^[13-15]。这种在 DNA 甲基转移酶介导下发生的 CpG 二核苷酸胞嘧啶甲基化过程往往会引起基因转录受到抑制或表型发生改变,目前已有多项研究认为子痫前期中相关功能基因表达异常可能与基因不同位点甲基化有关^[16-17]。

SIM2 基因属于碱性螺旋-环-螺旋家族,作为一种重要的转录相关调控因子,其在多种代谢相关生理及病理过程中发挥重要作用^[18]。GNA12 基因编码的蛋白是一类具有跨膜信号监管作用的蛋白。以往研究发现,子痫前期患者 GNA12 蛋白表达水平较健康孕妇明显升高,但关于甲基化 GNA12 基因水平是否也有差异尚不可知^[19-20]。CTGF 基因及其编码的蛋白具有促进血管生成、细胞外基质重塑及细胞再生的功能,特别是在子痫前期孕妇及其胎儿血清中可发现 CTGF 转录水平明显升高^[21-22]。然而,关于此类基因甲基化与子痫前期发病的相关性的研究尚少。在本研究中,笔者发现发生子痫前期的孕妇血浆甲基化

SIM2、GNA12、CTGF 相对表达水平均明显高于健康孕妇,且重度子痫前期孕妇各甲基化 DNA 相对表达水平更高($P<0.05$)。相关性分析及 ROC 曲线分析结果表明,血浆甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 相对表达水平独立及联合预测孕妇产前子痫前期的效能均较好,且三者联合预测的效能最高($AUC=0.888,95\%CI:0.827\sim0.949$)。分析其原因,以往研究认为 SIM2 参与了胎盘早剥所致胎儿智力障碍的发生发展过程,这可能表明 SIM2 基因表达水平变化可能与血管生成异常或胎盘血管痉挛相关,当孕妇体内检测到高水平的甲基化 SIM2 时,表明胎盘功能受到一定程度影响,进而可能诱导子痫前期的发生及胎儿脏器发育不成熟^[23]。此外,以往研究发现,健康孕妇的胎盘细胞中 SIM2 甲基化相对表达水平并不高,这也提示 SIM2 可能只在甲基化后参与子痫前期的发生发展过程^[24]。甲基化 GNA12 在子痫前期孕妇中相对表达水平较高可能是由于其作为醛固酮增多症发病的候选基因之一参与调控子痫前期发生。有研究发现,GNA12 基因启动子上 CpG63 位点的甲基化率在子痫前期孕妇中高于未发生子痫前期的孕妇,进一步印证 GNA12 甲基化程度与子痫前期发生率的相关性^[25]。而 CTGF 作为参与血管生成的重要调控基因,可能通过调控螺旋动脉血管重塑功能影响子痫前期的进展及严重程度^[26]。当甲基化 CTGF 相对表达水平升高时,患者体内血管内皮细胞活性及增殖可能受到影响,导致胎盘血管、螺旋动脉血管等生成障碍或畸形,进而导致孕妇出现子痫前期。但关于上述基因参与并调控子痫前期发生发展的具体机制及作用仍需通过细胞生物学、动物模型等基础实验进一步探究。

本研究存在一定局限性。首先,由于仅在单中心进行病例对照研究,纳入的样本量相对较少,病例特征可能存在地域性的局限。其次,虽然笔者发现子痫前期孕妇血浆甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 相对表达水平存在变化,但仅代表了患者某一时间节点的横断面结果,这可能导致本研究结果与既往研究结论存在一定差异,后续笔者会以上述基因为潜在靶点,通过构建前瞻性队列探究其与子痫前期发生的潜在机制。尽管如此,本研究发现相比于健康孕妇,子痫前期孕妇血浆中甲基化 SIM2、GNA12、CTGF 相对表达水平均较高,且与孕妇产前子痫前期的发生率呈正相关,联合分析孕妇甲基化 SIM2、GNA12 及 CTGF 相对表达水平有望成为判断子痫前期是否发生的重要指标。

参考文献

[1] 刘姿.早发型重度子痫前期发病机制的研究进展[J/CD].实用妇科内分泌杂志(电子版),2019,6(2):10-11.

[2] 李可,朱大伟,陈建昆,等.子痫前期发病机制与临床治疗研究进展[J].解放军医学杂志,2019,44(5):423-429.

[3] 于慧,李格格,冯雪芹,等.表观遗传调控在子痫前期中的研究进展[J].中国现代医生,2022,60(29):94-96.

[4] 李盈盈.子痫前期、早产和正常足月胎盘组织的 DNA 甲基化组学研究[D].郑州:郑州大学,2020.

[5] 邢燕平,徐晓英,李松丽.联合检测血清白细胞介素-10 和基质金属蛋白酶-9 及松弛素水平评估妊娠期子痫患者病情程度的价值[J].中华实用诊断与治疗杂志,2021,35(12):1254-1257.

[6] 马强,刘睿,徐娜,等.重度子痫前期血清对滋养细胞中组织因子的表达及甲基化的影响[J].西安交通大学学报(医学版),2018,39(5):725-728.

[7] 蓝湘鑫,宋宁宁,张迅,等.2019 年国际妇产科联盟(FIGO)子痫前期的妊娠早期筛查与预防指南要点解读[J].现代妇产科进展,2020,29(5):385-388.

[8] 赵春梅,徐伯兰.子痫前期的诊治进展[J].医疗装备,2021,34(10):182-185.

[9] 王链链,杜鹃.子痫前期的高危因素及预测指标的研究进展[J].中华实用诊断与治疗杂志,2018,32(11):1129-1131.

[10] 张晓丽,赵晓勇. STAT3 基因介导表观遗传学调控对子痫前期发病的影响机制[J].实用妇产科杂志,2021,37(2):121-126.

[11] 周蓓,谢恺俐.子痫前期发病机制研究进展[J].中南大学学报(医学版),2020,45(9):1136-1141.

[12] 杨莉莉,孙晓彤,何彦彦,等.子痫前期的发病机制及诊断治疗的研究进展[J/CD].世界最新医学信息文摘(连续型电子期刊),2021,21(6):117-118.

[13] LADD-ACOSTA C,VANG E,BARRETT E S,et al. Analysis of pregnancy complications and epigenetic gestational age of newborns[J]. JAMA Netw Open,2023,6(2):e230672.

[14] KAUR L,SUNDRANI D,DAVE K,et al. Hypoxia Inducible Factors (HIF1 α and HIF3 α) are differentially methylated in preeclampsia placentae and are associated with birth outcomes[J]. Mol Cell Biochem,2023,478(10):1007.

[15] ZHENG X,WU W,ZHOU Q,et al. Targeted bisulfite resequencing of differentially methylated cytosines in preeclampsia reveals a skewed dynamic balance in the DNA methylation of enhancers[J]. Clin Sci (Lond),2023,137(3):265-279.

[16] SUBRAMANIAN A,WEISS D,NYHAN K,et al. Circulating miRNAs in the first trimester and pregnancy complications;a systematic review[J]. Epigenetics,2023,18(1):2152615.

[17] SPINELLI M,ZDANOWICZ J A,KELLER I,et al. Hypertensive disorders of pregnancy share common cfDNA methylation profiles[J]. Sci Rep,2022,12(1):19837.

[18] ZHU W Z,FENG D C,XIONG Q,et al. An autophagy-related gene prognostic index predicting biochemical recurrence, metastasis, and drug resistance for prostate cancer[J]. Asian J Androl,2022,25(2):208-216.

[19] YE W,SHEN L,XIONG Y,et al. Preeclampsia is associated with decreased methylation of the GNA12 promoter[J]. Ann Hum Genet,2016,80(1):7-10.

[20] NAPSO T,ZHAO X,LLIGONÀ M I,et al. Placental secretome characterization identifies candidates for pregnancy complications[J]. Commun Biol,2021,4(1):701.

[21] PHILLIPS L,DENNERMALM N,ÖRTQVIST L,et al. A qualitative content analysis of the experience of hypospadias care;the importance of owning your own narrative[J]. Front Pediatr,2023,11:1118586.

[22] ZHANG L,ZHAO F,YANG C,et al. Hypomethylation of CTGF promoter in placenta and peripheral blood of pre-eclampsia women[J]. Reprod Sci,2020,27(2):468-476.

[23] MARINELLI L M,KISIEL J B,SLETTEDAHL S W,et al. Methylated DNA markers for plasma detection of ovarian cancer;discovery,validation,and clinical feasibility[J]. Gynecol Oncol,2022,165(3):568-576.

[24] GHOREIFI A,SEYEDIAN S L,PIATTI P,et al. A urine-based DNA methylation marker test to detect upper tract urothelial carcinoma;a prospective cohort study[J]. J Urol,2023,209(5):854-862.

[25] GOODIN B R,OVERSTREET D S,PENN T M,et al. Epigenome-wide DNA methylation profiling of conditioned pain modulation in individuals with non-specific chronic low back pain[J]. Clin Epigenetics,2022,14(1):45.

[26] PONCE D,RODRÍGUEZ F,MIRANDA J P,et al. Differential methylation pattern in pubertal girls associated with biochemical premature adrenarche[J]. Epigenetics,2023,18(1):2200366.

(收稿日期:2023-05-10 修回日期:2023-10-12)