

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.12.007

错配修复基因 hMSH2 与慢性粒细胞白血病相关性研究 *

王志刚^{1,2,3,△} 吕小林⁴ 戴 革^{1,2,3} 袁利亚^{1,2,3}赵 林^{1,2,3} 胡银英^{1,2,3} 黄艳琴^{1,2,3} 袁 铿^{1,2,3}

(1 江西省医学科学研究院 江西 南昌 330006; 2 江西省医学免疫和免疫治疗重点实验室 江西 南昌 330006;

3 南昌大学免疫与免疫治疗研究所 江西 南昌 330006; 4 南昌大学第一附属医院 江西 南昌 330006)

摘要 目的:通过对慢性粒细胞白血病(chronic myeloid leukemia, CML)患者骨髓细胞中错配修复基因(mismatch repair, MMR) hMSH2 的表达水平及其调控机制的分析,探讨 hMSH2 与慢性粒细胞白血病疾病进展的联系。**方法:**用实时定量 PCR 方法检测 10 例对照, 27 例 CML 患者(包括慢性期 9 例, 进展期 8 例, 急变期 10 例)骨髓中 4 个 MMR 基因(hMSH2、hMSH6、hMLH1、hPMS2)mRNA 的表达;用 MSP 方法检测 MMR 基因启动子区甲基化水平;用 Western blot 方法观察 MMR 蛋白水平在各组之间的差异。**结果:**与正常对照比较, CML 患者的 hMSH2 的表达明显降低($P < 0.05$),其表达随疾病恶化而下降,依次为急变期 < 加速期 < 慢性期,而 hMLH1、hPMS2、hMSH6 的表达却未见异常;27 例 CML 患者中出现 3 例 hMSH2 启动子区高甲基化。**结论:**CML 患者的 hMSH2 表达水平比正常人显著降低,且随着疾病恶化其表达水平逐下降,提示 hMSH2 可能与 CML 疾病进展相关。

关键词:慢性粒细胞白血病;错配修复基因;hMSH2

中图分类号:R733.72 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)12-2225-05

Study on the Relationship of Mismatch Repair Gene hMSH2 and Chronic Myeloid Leukemia*

WANG Zhi-gang^{1,2,3,△}, LV Xiao-lin⁴, DAI Ge^{1,2,3}, YUAN Li-ya^{1,2,3}, ZHAO Lin^{1,2,3}, HU Yin-ying^{1,2,3}, HUANG Yan-qin^{1,2,3}, YUAN Keng^{1,2,3}

(1 Jiangxi Academy of Medical Science, Nanchang, Jiangxi, 330006, China; 2 Jiangxi Key Laboratory of Medical Immunology and Immunotherapy, Nanchang, Jiangxi, 330006, China; 3 Immunology and Immunotherapy Institute of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi, 330006, China; 4 the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi, 330006, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression and regulation mechanism of mismatch repair (MMR) gene hMSH2 of bone marrow in chronic myeloid leukemia (CML), and study the relationship of mismatch repair gene hMSH2 and chronic myeloid leukemia progression. **Methods:** Expression of MMR genes hMSH2, hMSH6, hMLH1 and hPMS2 mRNAs in 27 CML patients (including chronic phase 9, accelerated phase 8 and blast crisis 10 cases) and the normal control group (10 cases) were detected by quantitative polymerase chain reaction (Q-PCR); methyl-specific PCR (MSP) was used to analyze methylation status of hMLH1 and hMSH2 promoters in CML; the expression of hMSH2 protein was detected by Western blot. **Results:** The expression of hMSH2 was significantly lower in CML than in normal control ($P < 0.05$), and decreased gradually with the deterioration of disease (blast crisis < accelerated phase < chronic phase), but there was no statistical significance in the expression of hMSH6, hMLH1 and hPMS2 between CML and the control groups. In addition, hMSH2 promoter hypermethylation existed in 3 of 27 CML patients. **Conclusion:** Expression of hMSH2 was significantly lower in CML than in the control group and showed a gradual decline according to CML progress, which indicated that hMSH2 might be correlated with CML progress.

Key words: Chronic myeloid leukemia; Mismatch repair gene; hMSH2

Chinese Library Classification(CLC): R733.72 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2015)12-2225-05

前言

慢性粒细胞白血病(chronic myeloid leukemia, CML)急变期的治疗一直是临床上的一大难点,研究显示,有将近 1/3 的

CML 患者由于耐药等原因而导致急性变,并最终治疗失败^[1,2],其机制迄今未清楚。而当 CML 患者从慢性期进展到急变期时, CML 急变期患者细胞中可以观察到明显的微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)现象,同时伴随更多的染色体畸形

* 基金项目:江西省自然科学基金项目(20114BAB205021)

作者简介:王志刚(1973-),男,博士,助理研究员,主要研究方向:肿瘤与表观遗传,

电话:0791-86362745, E-mail: wzg2700@sohu.com

(收稿日期:2014-09-30 接受日期:2014-10-20)

^[3]。此外,CML 急性变过程中诸多原癌基因,转录因子以及相关信号通路分子的基因突变也频繁发生^[4-6]。由于微卫星不稳定是错配修复 (mismatch repair, MMR) 功能缺陷的重要信号,而 MMR 是维护细胞内基因组稳定性的一种重要机制,其功能缺陷将导致细胞未能精确修复 DNA 复制过程中产生的错配,导致遗传物质的完整性和稳定性受损,进而引起遗传物质发生突变。因此,在 CML 急性变的过程中,MMR 可能扮演一种重要的角色,然而,其机制尚未完全清楚。

在本研究中,我们将对 CML 各期患者骨髓中的 MMR 基因表达水平进行研究,并观察其可能的调控机制,进而探讨 MMR 系统与 CML 疾病进展的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象

CML 患者 27 例,男 15 例,女 12 例,年龄 16-67 岁,其中慢性期 9 例,加速期 8 例,急变期 10 例,均经临床、细胞形态学及细胞遗传学确诊;所有患者的 Ph 染色体阳性。正常对照 10 名,男 7 名,女 3 名,年龄 21-62 岁,骨髓象均正常。

1.2 主要试剂

AMV 逆转录试剂盒、实时定量 PCR SYBR Green 试剂盒为大连宝生物公司产品;hMSH2 兔抗人抗体由 Santa Cruz 公司处购得。DNA/RNA/ 蛋白提取试剂盒为 Omega 产品,EZ DNA methylation-Gold TM kit 来自 ZYMO RESEACORP。

1.3 DNA/RNA/ 蛋白提取

使用 Omega 试剂盒同时提取骨髓细胞中总 DNA、RNA 与总蛋白,具体步骤按 Omega 操作手册。

1.4 荧光定量 RT-PCR

检测 4 个 MMR 基因 (hMSH2、hMSH6、hMLH1、hPMS2) mRNA 的表达。提取细胞总 RNA 后,取 1 μ g RNA 用逆转录试剂盒合成 cDNA,然后进行荧光定量 PCR 检测。4 个 MMR 基因(hMSH2、hMSH6、hMLH1、hPMS2) 及内参照 β -actin 引物根据基因文库公布的序列,利用计算机软件 primier5.0 设计 (引物序列见表 1)。荧光定量 PCR 仪为 CFX96™(Bio-Rad,美国)。SYBR Green 实时定量 PCR 实验数据应用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 进行处理,计算各样本平均 C_t 值、 ΔC_t 和 $\Delta\Delta C_t$ 值,计算 $2^{-\Delta\Delta C_t}$,其数值用于表示实验组相对于对照组的基因表达量。

表 1 实时定量 PCR 引物
Table1 Primer sequences for Q-PCR

Name	Primer sequences
hMLH1	Sense:5-TGTTCTCAGGTTATCGGAGC-3 Antisense:5-CATCAATTTCCAAAGAGAAATAGTCT-3
hMSH2	Sense:5-AATGACTTGGAAGAAGATGC-3 Antisense:5-TTAAAGAAGTCAATTTGCTGTTG-3
hMSH6	Sense:5-AACAAGGGGCTGGGTTAG-3 Antisense:5-CGTTGCATTGCTCTCAGTATTC-3
hPMS2	Sense:5-GAGTCAAGCAGATGTTTGCCCTC-3 Antisense:5-TGTGTCTCATGGTTGGCCTT-3
β -actin	Sense:5-ACACTGTGCCCATCTACGAGG-3 Antisense:5-AGGGGCCGACTCGTCATACT-3

表 2 MSP 引物
Table 2 Primer sequences for MSP

Name	Primer sequences	Tm(°C)	Product(bp)
The first of the primers			
hMLH1	F:GTATTTTGTGTTTATTGGTTGGA R:TTCCTCAACTATAACTTACRCC	53	252
hMSH2	F:GTAGTTTGGAAAGTTGATTGGGT R:CCCCCTAAATCTTAAACACCTC	58	322
the second of the primers			
hMLH1-um	F:AGAGTGGATAGTGATTTTAAATGT R:ACTCTATAAAATACTAAATCTCTTCA	60	100
hMLH1-m	F:GATAGCGATTTTAAACGC R:TCTATAAAATACTAAATCTCTTCG	60	92
hMSH2-um	F:GGTTGTTGTGGTTGGATGTTGTTT R:CAACTACAACATCTCCTTCAACTACACCA	65	137
hMSH2-m	F:TCGTGGTCGGACGTCGTTT R:CAACGTCTCCTTCGACTACACCG	65	132

注:um,m 分别代表非甲基化和甲基化。

Note: um and m represent unmethylated and methylated respectively.

1.5 Western blot

使用 Omega 试剂盒提取各组样本蛋白,进行蛋白定量确定蛋白浓度并相应调整上样量为 20 μ g。经聚丙烯酰胺凝胶电泳后转膜至 NC 膜上,5 %脱脂牛奶封闭 2 h,根据预染蛋白 Marker 及靶蛋白分子量,剪下相应蛋白条带,分别与兔抗人 hMSH2 抗体(1:500 稀释)、兔抗人 β -actin 抗体(1:500 稀释)于摇床上 4℃ 孵育过夜,随后与标记有辣根过氧化物酶的羊抗兔二抗孵育 2 h,最终 ECL 法暗室曝光显带,其中 β -actin 蛋白为内参。

1.6 甲基化特异性 PCR(MSP)

提取后的样本 DNA 以 DNA EZ DNA methylation-Gold TM kit 按说明书进行基因组亚硫酸盐修饰。修饰后 DNA 先经过巢式 PCR 第一对引物扩增靶基因启动子区,然后再通过特异性 U 和 M 引物进行 PCR,产物经 2 %琼脂糖电泳分析结果(MSP 引物见表 2)。

1.7 统计学分析

数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{X}\pm S$)表示,多个实验组与对照组均

数间的两两比较采用方差分析,两组均数之间比较采用 t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 有统计学意义。应用 SPSS 19.0 统计学软件进行统计分析。

2 结果

2.1 CML 患者中 hMSH2 mRNA 表达水平下降

我们采用 SYBR Green 荧光定量 PCR 方法分析了 10 例对照和 27 例 CML 患者骨髓中 hMSH2 表达,以 β -actin 为内参。27 例 CML 分别为慢性期 9 例,加速期 8 例,急变期 10 例。SYBR Green 实时定量 PCR 实验数据应用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 进行处理,其数值用于表示实验样本相对于对照样本的基因表达相对量。我们的结果显示:1) 与正常对照比较,CML 患者骨髓 hMSH2 mRNA 表达明显降低 ($P<0.05$),CML 各期与对照相比,hMSH2 mRNA 表达均明显降低且有显著性差异 ($P<0.05$)(见图 1,表 3)。2)CML 各期之间未见显著性表达差异($P>0.05$),然而随着病情的恶化,而显现出逐渐降低的趋势,从高到底依次是:对照组>慢性期>加速期>急变期(见图 2)。

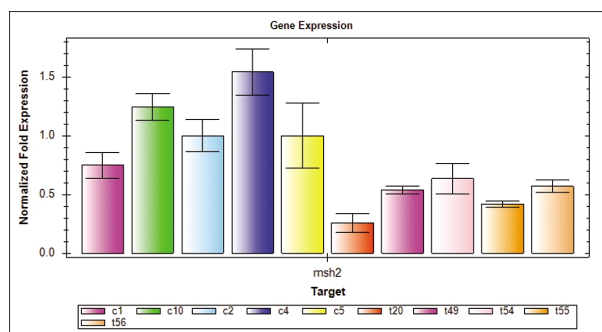


图 1 hMSH2 在 CML 和对照组中的表达差异

Fig.1 Expression of hMSH2 in CML and control groups

注:c 为对照,t 为 CML。

Note: c:control group; t:CML group.

表 3 hMSH2 在 CML 和对照组中的表达差异
Table 3 Different expression of hMSH2 between CML and control groups

Groups	Cases	$\bar{X}\pm S$
Control	10	1.1310 $\pm$ 0.32614
CML	27	0.5671 $\pm$ 0.24808*
CP	9	0.6689 $\pm$ 0.15902
AP	8	0.5725 $\pm$ 0.28207
BC	10	0.4711 $\pm$ 0.26982

注:CP,BP,BC,分别代表慢性期、加速期和急变期。与正常对照组比较, $P<0.05$ 。

*Note: CP, BP, BC represent the chronic phase, accelerated phase and blast crisis respectively. * $P<0.05$, compared with control group.

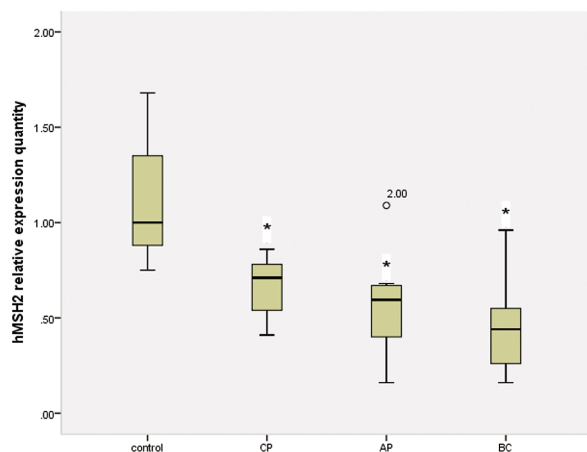


图 2 CML 中 hMSH2 的 mRNA 表达水平

Fig.2 Expression of hMSH2 mRNA in CML

注:CP,BP,BC 分别代表慢性期、加速期和急变期。与正常对照组比较,* $P<0.05$ 。

Note: CP, BP, BC represent the chronic phase,accelerated phase and blast crisis respectively. * $P<0.05$, compared with normal control group.

2.2 部分 CML 患者中 hMSH2 启动子区显示高甲基化

为了了解上述 MMR 基因的表达异常是否受 DNA 甲基化水平影响,我们使用 MSP 方法进一步分析各 MMR 基因启动子区甲基化状态。由于经亚硫酸盐修饰后 DNA 样品甲基化检出率下降,故此,我们首先应用巢式 PCR 扩增靶基因启动子区,然后再通过特异性 U 和 M 引物进行 MSP。我们分析了 27 例 CML 中 hMLH1 和 hMSH2 启动子区甲基化状态,结果显示,27 例 CML 患者中 3 例出现 hMSH2 启动子区高甲基化,CP、AP、BC 各 1 例,图 4 显示了其中 2 例。而在 27 例 CML 患者中并未观测到 hMLH1 基因启动子区异常甲基化(结果见图 3,图 4)。

2.3 CML 中 hMSH2 蛋白表达下降

随后我们应用 Western blot 检测了相应样品的 hMSH2 的蛋白水平,结果用 Image J 2x 软件分析,统计数据以目的蛋白条带灰度与 β -actin 蛋白条带灰度的比值表示。在 27 例 CML 患者中 12 例出现 hMSH2 蛋白表达下降,与 hMSH2 mRNA 结果相符合,另外 15 例未见明显下降(见图 5,6)。

3 讨论

遗传物质持续、稳定的传递依赖于把突变概率维持在低水

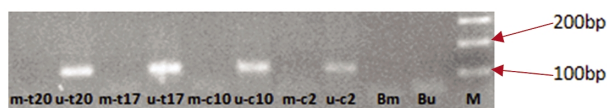


图3 hMLH1-MSP 电泳图

Fig.3 Electrophoretogram of methylation analysis of hMLH1 promoter sequences by MSP

注: Bu: 非甲基化阴性对照; Bm: 甲基化阴性对照; U: 未甲基化产物; m: 甲基化产物; c2, c10: 对照组; t20: BC 组; t17: AP 组。

Note: Bu: unmethylated negative control; Bm: methylated negative control; U: unmethylated product; m: methylated product; c2, c10: control group; t20: BC group; t17: AP group.

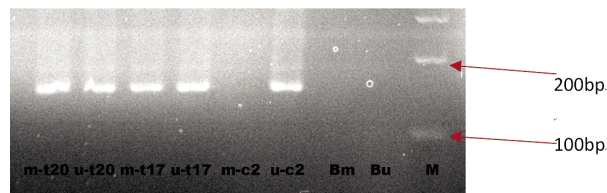


图4 hMSH2-MSP 电泳图

Fig.4 Electrophoretogram of methylation analysis of hMSH2 promoter sequences by MSP

注: Bu: 非甲基化阴性对照; Bm: 甲基化阴性对照; U: 未甲基化产物; m: 甲基化产物; c2, c10: 对照组; t20: BC 组; t17: AP 组。

Note: Bu: unmethylated negative control; Bm: methylated negative control; U: unmethylated product; m: methylated product; c2, c10: control group; t20: BC group; t17: AP group.

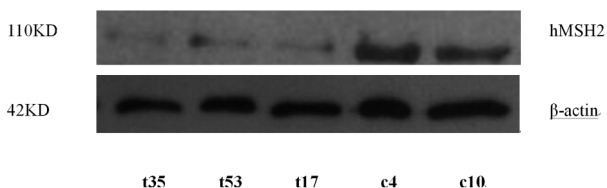


图5 Western blot 检测 CML 中 hMSH2 蛋白表达水平

Fig.5 Protein level of hMSH2 in CML by Western blot

注: c2, c10: 对照组; t35: BC 组; t17: AP 组; t53: CP 组。

Note: c2, c10: control group; t35: BC group; t17: AP group; t53: CP group.

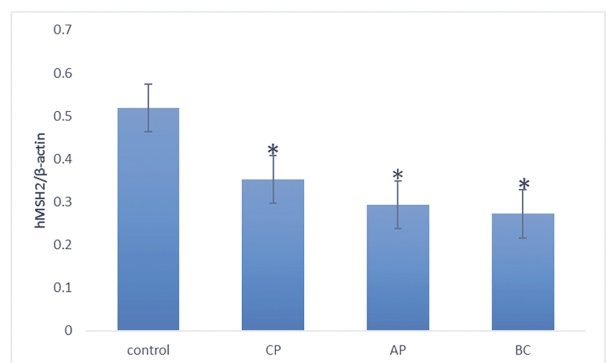


图6 CP、AP、BC 和对照组中的 hMSH2 蛋白表达水平

Fig.6 Protein level of hMSH2 in CP, AP, BC and control groups

注: 与正常对照组比较, * $P < 0.05$ 。

Note: * $P < 0.05$, compared with normal control group.

平上, 机体的多种生物机制共同维护基因组的稳定性。错配修复是保持遗传物质的完整性和稳定性, 避免遗传物质发生突变

的一种重要机制。大量的体内实验证实: 在 CML 急性变过程中, 常有微卫星不稳定现象的存在, 同时诸多原癌基因、转录因子以及相关信号通路分子的基因突变也经常发生。这种错综复杂的突变基因分布进一步加深了 CML 研究的复杂性^[7]。基因组不稳定可能是 CML 中酪氨酸激酶抑制剂耐药以及恶性进展的原因之一, 广泛的 DNA 损伤并伴有低效或容易出错的 DNA 修复机制可能在白血病祖细胞中产生大量基因突变和染色体畸变, 引起耐药最终导致急性变^[8]。

本研究中, 我们首先利用定量 PCR 分析 27 例 CML 患者骨髓中 4 个错配修复基因 hMSH2、hMSH6、hMLH1、hPMS2 的表达, 其中慢性期 9 例, 加速期 8 例, 急变期 10 例, 以 10 例骨髓象正常人为对照。我们的结果显示, CML 患者骨髓中 hMSH2 表达显著降低, 而其他 3 个错配修复基因 hMSH6、hMLH1、hPMS2 表达未见异常 (数据未显示)。有文章报道, CML 患者骨髓 MNC 及 K562 细胞的 hMSH2、hMSH3、hMLH1 mRNA 表达明显降低^[9]。我们的结果与之有所差异, 除了 hMSH2 表达下降与其相符外, 其他基因表达正常或轻度增高, 但未见显著差异。我们推测这可能是检测方法不同所造成的, 我们使用的是荧光定量 PCR 方法, 以前研究多采用半定量 PCR 方法, 定量 PCR 法灵敏度更高, 也是现在分析 mRNA 表达的常规检测方法。值得注意的是, 虽然 hMSH2 在 CML 中显著下降, 然而慢性期、进展期和急变期之间未见明显差异, 但依然显现出一定的趋势: 急变期 < 进展期 < 慢性期。由于 MMR 的功能多样, 其在细胞中的作用也日益复杂。它不但修复 DNA 复制过程中产生的错配, 而且也参与细胞的凋亡与耐药^[10,11]。通过 hMSH2 直接与信号激酶如 ATR、CHK1 和 CHK2 的结合, 或者 PMS2 与 P73 结合组成复合物, MMR 可识别 DNA 损伤并引发细胞生长停滞和凋亡, 而 MSH2-MSH6 依赖性激活的 P53 也可以对 MMR 依赖性的凋亡途径进行调控^[12-14]。很有可能, 在 CML 患者细胞中, 由于 hMSH2 表达下降, 从而导致 MMR 功能缺陷。这种 MMR 缺陷可能使 DNA 重组的有效性和忠实性受到极大影响, 或者导致同源重组频率增加, 基因交换的片段更大, 同时影响细胞周期和凋亡的调控, 增加了疾病恶化的风险^[15,16]。为了进一步确定 hMSH2 在 CML 中的表达变化, 我们还使用免疫印迹方法分析了相应样品中 hMSH2 蛋白的表达水平。结果显示, 27 例 CML 患者中 12 例出现 hMSH2 蛋白表达下降, 与 hMSH2 mRNA 结果相符合, 另外 15 例未见明显下降。表明 hMSH2 表达下降可能是 CML 发生发展的因素之一, 且随着 CML 病情恶化, 其表达也逐步降低。

研究证实, 异常的 DNA 甲基化水平与 CML 患者的疾病进程、耐药现象以及生存时间相关, 慢性期患者人均 4.5 个基因被甲基化, 而加速期、急变期人均被甲基化基因分别为 6.2 和 6.6 个^[17,18]。Mizuno S 很早就指出, 与 CML 慢性期相比, 急变期患者白血病细胞内 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferases, dnmts) dnmt1、dnmt3a 以及 dnmt3b 表达水平分别增长 3.2、4.5 和 3.4 倍^[19]。MMR 基因的表达受多种机制调控, 其中启动子区高甲基化是一种重要调控因素^[20]。近来研究者证实, 使用甲基化试剂处理细胞会引起 P53 磷酸化并诱导凋亡, 这个过程依赖于 hMutS α 和 hMutL α 的功能性存在^[21]。由于 hMLH1 和 hMSH2 蛋白分别是 hMutL α 和 hMutS α 的重要组成部分, 因

此,我们使用 MSP 方法分析了 hMLH1 和 hMSH2 启动子区甲基化状态。结果显示,3 例 CML 样品中出现 hMSH2 启动子区高甲基化,而 hMLH1 启动子区未见甲基化模式改变。我们的结果表明,启动子区高甲基化可能是导致 CML 中 hMSH2 表达下降的机制之一,但不排除还存在其他调控手段。

总之,错配修复是维持基因组稳定性的重要机制,其功能缺陷可能导致细胞突变频率的增加,并进而导致细胞死亡或恶变。我们的结果表明,hMSH2 在 CML 患者骨髓中表达显著下降,且随着疾病的恶化,其表达水平呈现逐渐下降的趋势。我们的研究还存在一些不足,样本例数较少,尤其是缺乏同一个患者不同疾病阶段的样本。hMSH2 与 CML 各期的相关性,还需要进一步的证实。

参考文献(References)

- [1] Kantarjian HM, Giles FJ, Bhalla KN, et al. Nilotinib is effective in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase following imatinib resistance or intolerance: 24-month follow-up results [J]. Blood, 2011, 117(4): 1141-1145
- [2] Bixby D, Talpaz M. Seeking the causes and solutions to imatinib-resistance in chronic myeloid leukemia[J]. Leukemia, 2011, 25(1): 7-22
- [3] Kantarjian HM, Dixon D, Keating MJ, et al. Characteristics of accelerated disease in chronic myelogenous leukemia [J]. Cancer, 1988, 61(7): 1441-1446
- [4] Notari M, Neviani P, Santhanam R, et al. A MAPK/HNRPK pathway controls BCR/ABL oncogenic potential by regulating MYC mRNA translation[J]. Blood, 2006, 107(6): 2507-2516
- [5] Melo JR, Barnes DJ. Chronic myeloid leukaemia as a model of disease evolution in human cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2007, 7(6): 441-453
- [6] Honda H, Ushijima T, Wakazono K, et al. Acquired loss of p53 induces blastic transformation in p210 (bcr/abl)-expressing hematopoietic cells: a transgenic study for blast crisis of human CML [J]. Blood, 2000, 95(4): 1144-1450
- [7] Chen Y, Peng C, Li D, et al. Molecular and cellular bases of chronic myeloid leukemia[J]. Protein Cell, 2010, 1(2): 124-132
- [8] Radich JP. The Biology of CML blast crisis [J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2007, 1: 384-391
- [9] 罗军, 彭志刚, 陈燕, 等. 慢性粒细胞白血病错配修复基因的研究[J]. 中华血液学杂志, 2006, 27(2): 103-106
- Luo Jun, Peng Zhi-gang, Chen Yan, et al. Study on mismatch repair genes of chronic myeloid leukemia [J]. Chinese Journal of Hematology, 2006, 27(2): 103-106
- Hematology, 2006, 27(2): 103-106
- [10] Calderó n-Montano JM, Burgos-Moró n E, Orta ML, et al. Effect of DNA Repair Deficiencies on the Cytotoxicity of Drugs Used in Cancer Therapy - A Review[J]. Curr Med Chem, 2014 [Epub ahead of print]
- [11] Davis TW, Wilson-Van Patten C, Meyers M, et al. Defective expression of the DNA mismatch repair protein, MLH1, alters G2-M cell cycle checkpoint arrest following ionizing radiation [J]. Cancer Res, 1998, 58(4): 767-778
- [12] Honda M, Okuno Y, Hengel SR, et al. Mismatch repair protein hMSH2-hMSH6 recognizes mismatches and forms sliding clamps within a D-loop recombination intermediate[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(3): E316-325
- [13] Wang Y, Qin J. MSH2 and ATR form a signaling module and regulate two branches of the damage response to DNA methylation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(26): 15387-15392
- [14] Heinen CD, Cyr JL, Cook C, et al. Human MSH2 (hMSH2) protein controls ATP processing by hMSH2-hMSH6 [J]. J Biol Chem, 2011, 286(46): 40287-40295
- [15] Clay MR, Allison KH, Folkins AK, et al. Risk of Secondary Malignancy (Including Breast) in Patients With Mismatch-repair Protein Deficiency[J]. Am J Surg Pathol, 2014[Epub ahead of print]
- [16] Belcheva A, Irrazabal T, Robertson SJ, et al. Gut microbial metabolism drives transformation of msh2-deficient colon epithelial cells[J]. Cell, 2014, 158(2): 288-299
- [17] Jelinek J, Gharibyan V, Estecio MR, et al. Aberrant DNA methylation is associated with disease progression, resistance to imatinib and shortened survival in chronic myelogenous leukemia [J]. PLoS One, 2011, 6(7): e22110
- [18] Uehara E, Takeuchi S, Yang Y, et al. Aberrant methylation in promoter-associated CpG islands of multiple genes in chronic myelogenous leukemia blast crisis[J]. Oncol Lett, 2012, 3(1): 190-192
- [19] Mizuno S, Chijiwa T, Okamura T, et al. Expression of DNA methyltransferases DNMT1, 3A, and 3B in normal hematopoiesis and in acute and chronic myelogenous leukemia [J]. Blood, 2001, 97(5): 1172-1179
- [20] Herman JG, Umar A, Polyak K, et al. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998, 95(12): 6870-6875
- [21] Kantarjian HM, O'Brien S, Cortes J, et al. Results of decitabine (5-aza-2'-deoxycytidine) therapy in 130 patients with chronic myelogenous leukemia[J]. Cancer, 2003, 98(3): 522-528