

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.16.013

乳腺浸润性导管癌中 CDH1 基因甲基化状态及其临床意义*

杨亮,迪力夏提·金斯汗,赵倩,朱丽萍,吴涛,李丹,杜露,王波,王喜艳[△]

(新疆医科大学附属肿瘤医院乳腺外科一病区,乌鲁木齐 830000)

[摘要] **目的** 探讨 CDH1 启动子基因甲基化在乳腺浸润性导管癌中的意义。**方法** 采用甲基特异性 PCR 和免疫组织化学染色方法分别检测乳腺癌组织、癌旁组织和乳腺正常组织中 CDH1 基因启动子甲基化状况及上皮型钙黏蛋白(E-cadherin)表达情况。收集相关临床病理资料(遗传背景、年龄、肿瘤大小、腋窝淋巴结转移情况、肿瘤细胞分级、临床分期和分子亚型),分析 CDH1 基因甲基化在乳腺癌中的意义。**结果** 250 例乳腺癌患者共发现 113 例 CDH1 基因启动子甲基化,甲基化率为 45.20%,CDH1 基因启动子甲基化组和非甲基化组相比 E-cadherin 蛋白表达水平明显减低,差异有统计学意义($\chi^2=21.360, P<0.01$)。单因素分析结果显示,CDH1 基因甲基化组和非甲基化组在腋窝淋巴结转移($\chi^2=19.086, P<0.01$)、肿瘤组织学分级($\chi^2=8.487, P=0.014$)、人表皮生长因子受体 2(CerbB-2)表达($\chi^2=9.475, P=0.002$)和分子分型($\chi^2=25.482, P<0.01$)比较,差异有统计学意义。COX 回归分析显示,CDH1 基因启动子甲基化和非甲基化组 5 年生存率比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。**结论** CDH1 基因启动子甲基化引起基因 mRNA 表达下降,CDH1 基因甲基化与乳腺癌的腋窝淋巴结转移相关,提示 CDH1 基因启动子甲基化在乳腺癌疾病进程中发挥了一定作用。

[关键词] 乳腺肿瘤;CDH1 基因;DNA 甲基化;上皮型钙黏蛋白;淋巴结转移

[中图分类号] R737.9

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)16-2165-05

Methylation status of CDH1 gene in invasive ductal carcinoma of breast and its clinical significance*

YANG Liang, DILIXIATI · Jingsihan, ZHAO Qian, ZHU Liping, WU Tao, LI Dan,

DU Lu, WANG Bo, WANG Xiyan[△]

(Department of Breast Surgery, the Affiliated Tumor Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang Uygur Autonomous Region 830000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the significance of gene promoter methylation of CDH1 in breast invasive ductal carcinoma. **Methods** The gene promoter methylation of CDH1 and E-cadherin expression status in breast cancer tissues, adjacent tissues and normal breast tissues were detected by using methylation specific polymerase chain reaction (PCR) and immunohistochemistry (SP) method. The clinicopathological data (genetic background, age, tumor size, axillary lymph node metastasis, tumor cells grading, clinical staging and molecular subtype) were collected, and analysed the clinical significance of gene promoter methylation of CDH1 in breast cancer. **Results** Among the 250 patients with breast cancer, 113 cases were found gene promoter methylation of CDH1, and the methylation rate was 45.20%. Compared with patients with unmethylated CDH1 gene promoter, the E-cadherin protein expression was reduced in patients with methylated CDH1 gene promoter, there was statistically significant difference ($\chi^2=21.360, P<0.01$). The univariate analysis showed that statistically significant differences were found in axillary lymph node metastasis ($\chi^2=19.086, P<0.01$), histological grading of tumor ($\chi^2=8.487, P=0.014$), CerbB-2 expression ($\chi^2=9.475, P=0.002$) and molecular typing ($\chi^2=25.482, P<0.01$) between patients with methylated and unmethylated CDH1 gene promoter. The COX regression analysis showed that there was significant difference in 5-year survival rate between patients with methylated and unmethylated CDH1 gene promoter ($P<0.01$). **Conclusion** Methylation of CDH1 gene promoter causes decreased expression of mRNA, and is associated with axillary lymph node metastasis in breast cancer, which suggests that methylation of CDH1 gene promoter plays a certain role in breast cancer progression.

[Key words] breast neoplasms; CDH1 gene; DNA methylation; E-cadherin; lymph-node metastasis

乳腺癌的发生、发展是一个多因素及多阶段复杂的过程,乳腺癌治疗后复发、转移是困扰临床的难题。恶性肿瘤浸润及转移机制一直是肿瘤研究的热点。细胞间黏附性下降是导致肿瘤转移的因素之一。肿瘤细胞转移首先是细胞黏附性改变,黏附分子介导的肿瘤细胞彼此之间的黏附力减少,出现上皮间叶性改变,肿瘤开始浸润及转移。CDH1 基因是上皮型钙黏蛋白(E-cadherin)的编码基因,而 E-cadherin 是重要的黏附分子。CDH1 基因的失活与多种肿瘤发生、发展密切相关。本研究对 250 例乳腺浸润性导管癌组织标本中 CDH1 基因启动子区域 5'-CpG 岛的甲基化状态进行检测,探讨 CDH1 基因启动子甲基化在乳腺癌发生、发展过程中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2010 年 1 月至 2011 年 1 月本院收治的 250 例初诊原发乳腺浸润性导管癌患者,年龄 28~75 岁,中位年龄 48 岁;其中绝经前患者 147 例,绝经后患者 103 例。纳入标准:(1)病理确诊为乳腺浸润性导管癌患者(患者病理切片均由 3 位病理学专家进行病理会诊);(2)入院前无放、化疗及内分泌治疗史;(3)卡式功能状态评分(KPS 评分) ≥ 80 分,接受手术治疗;(4)无其他系统恶性肿瘤病史;(5)乳腺癌患者手术前同意采集标本并签署知情同意书。排除标准:排除乳腺浸润性小叶癌及原位癌,术前行化疗、放疗或内分泌治疗,排除乳腺癌转移肿瘤及其他特殊类型乳腺肿瘤(家族性乳腺癌、肉瘤、微乳头状癌、淋巴瘤、妊娠期乳腺癌、炎性乳腺癌等)。本研究经过本院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 取患者乳腺癌组织、相应癌旁组织、淋巴结组织及正常乳腺组织。取基因组 DNA,提取的 DNA 经紫外分光光度计定量后, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.2.2 免疫组织化学法检测 E-cadherin 乳腺癌组织标本脱蜡、水化,按试剂说明书步骤采用免疫组织化学 SP 法染色,抗原修复采用微波法。E-cadherin 染色结果的判断标准:由 3 位病理专科医师分别判定免疫组织化学染色结果;免疫组织化学染色的切片中随机选取 5 个高倍视野($\times 400$ 倍),计算镜下阳性细胞百分比及着色程度。E-cadherin 表达以半定量法判定:中等以上染色阳性细胞数 $0\sim <11\%$ 记为 0 分, $11\%\sim <26\%$ 记为 1 分, $26\%\sim <51\%$ 记为 2 分, $51\%\sim 75\%$ 记为 3 分, $>75\%$ 记为 4 分;评分 ≤ 2 分为低表达或阴性组,评分 ≥ 3 分为高表达或阳性组。

1.2.3 基因组 DNA 的亚硫酸氢钠修饰方法 使用亚硫酸氢钠法进行 DNA 修饰并纯化保存,按使用说明书操作(EpiTect Bisulfite, 美国 Qiagen 公司)。取

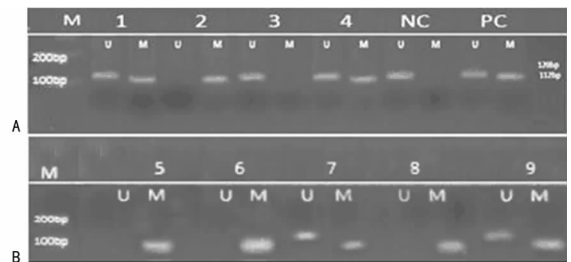
$10\text{ }\mu\text{g}$ DNA 加入 3 mol/L NaOH 裂解液 $5\text{ }\mu\text{L}$, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性,放置 20 min ,加入 2 mol/L 亚硫酸氢钠(pH 5.0) $520\text{ }\mu\text{L}$ 和 0.2 mol/L 氢醌 $30\text{ }\mu\text{L}$, $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴 18 h 。在 1 mL DNA 纯化树脂中加入处理的 DNA 样品及 8% 异丙醇 2 mL 滤析, 100% 乙醇与 3 mol/L 醋酸钠沉淀,离心,弃去上清液,干燥,加 $2\text{ }\mu\text{L}$ TE 溶解液, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.2.4 甲基特异性 PCR 分析 CDH1 基因甲基化引物(CDH1-M), MR: $5'$ -TAA CTA AAA ATT CAC CTA CCG AC- $3'$, MF: $5'$ -TTA GGT TAG AGG GTT ATC GCG T- $3'$, 扩增片段长度 112 bp 。CDH1 基因非甲基化引物(CDH1-U), UF: $5'$ -TAA TTT TAG GTT AGA GGG TTA TTG T- $3'$, UR: $5'$ -CAC AAC CAA TCA ACA ACA CA- $3'$, 扩增片段长度 120 bp 。PCR 产物用 2.0% 琼脂糖凝胶电泳分离,凝胶成像系统观察试验结果:电泳中出现甲基化条带且没有非甲基化条带判定为 CDH1 基因甲基化(M);条带中出现非甲基化条带且没有甲基化条带判定为 CDH1 基因非甲基化(U);同时出现甲基化和非甲基化条带判定为半甲基化(UM)。在体外经过甲基转移酶处理过的乳腺组织基因组 DNA(美国 NEB 公司)作为阳性对照,未处理的健康人乳腺组织 DNA 作为阴性对照,使用蒸馏水作为空白对照。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,两组间比较采用两独立样本 t 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法;生存分析采用 COX 回归分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CDH1 基因启动子甲基化在散发性乳腺癌的发生率 250 例患者乳腺癌组织标本共发现 113 例 CDH1 基因启动子甲基化,甲基化率为 45.20% ;癌旁组织标本中有 55 例 CDH1 基因启动子甲基化,甲基化率为 22.0% ;CDH1 基因启动子甲基化率在乳腺癌组织与癌旁组织中比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 30.156, P<0.01$)。见图 1、2。



M: Marker; A、B: CDH1 基因启动子甲基特异性 PCR 分析; 1、2、4~9: CDH1 基因启动子甲基化条带; 3: CDH1 基因启动子未甲基化条带; NC: 阴性对照; PC: 阳性对照

图 1 CDH1 基因启动子甲基化与非甲基化电泳图

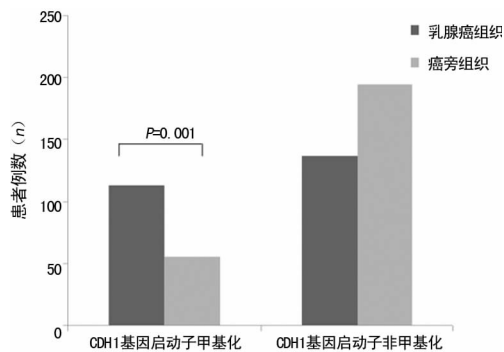


图 2 乳腺癌组织与癌旁组织 CDH1 基因启动子甲基化情况比较

2.2 E-cadherin 蛋白在 CDH1 基因启动子甲基化与非甲基化乳腺癌组织的表达 113 例患者乳腺癌组织 CDH1 基因甲基化标本中 E-cadherin 高表达 22 例 (19.47%), 低表达 91 例 (80.53%); 137 例患者乳腺癌组织 CDH1 基因非甲基化标本 E-cadherin 高表达 65 例 (47.44%), 低表达 72 例 (52.55%); E-cadherin 表达情况在乳腺癌组织 CDH1 基因甲基化与未甲基化标本中比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 21.360, P < 0.01$)。见图 3、表 1。

表 1 乳腺癌组织 CDH1 基因启动子甲基化与 E-cadherin 蛋白表达的关系

E-cadherin 蛋白	n	CDH1 基因启动子[n(%)]		χ^2	P
		甲基化	无甲基化		
阳性	87	22 (25.3)	65 (74.7)	21.360	0.001
阴性	163	91 (55.8)	72 (44.2)		

2.3 E-cadherin 在乳腺癌组织和癌旁组织中的表达 在正常乳腺组织中 E-cadherin 主要分布在乳腺导管上皮和乳腺腺泡上皮。免疫组织化学法染色 E-

cadherin 阳性为细胞膜呈棕黄色颗粒着色, E-cadherin 在乳腺癌组织中多呈低表达 (图 4A), 而在癌旁组织中多为高表达 (图 4B)。E-cadherin 在浸润性乳腺导管癌细胞细胞膜表达减弱 (图 5B), 甚至缺失 (图 5A)。在 250 例患者乳腺癌组织中 E-cadherin 高表达的比率为 34.80% (87/250), 低表达的比率为 65.20% (163/250), 乳腺癌组织 E-cadherin 高表达与低表达在乳腺癌和癌旁组织存在差异, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 19.435, P < 0.01$)。

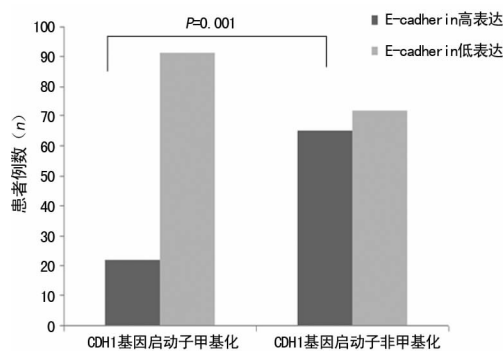
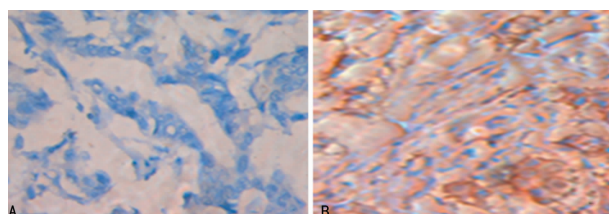
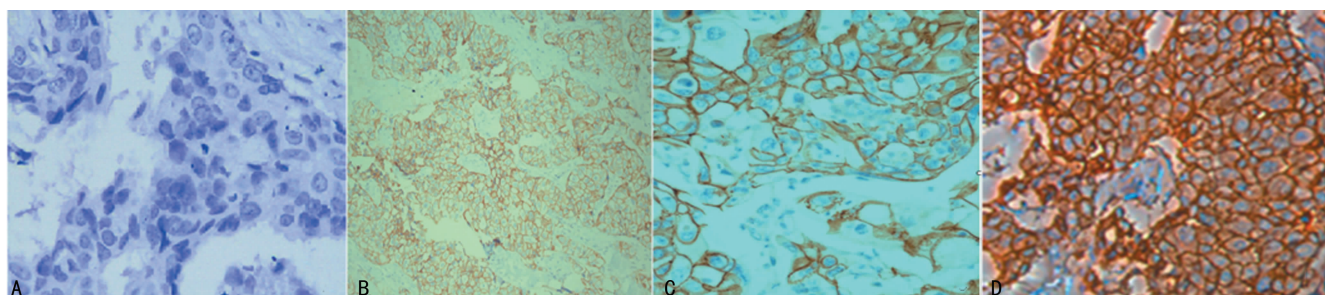


图 3 CDH1 基因启动子甲基化与未甲基化乳腺癌组织中 E-cadherin 蛋白表达情况比较



A: E-cadherin 在乳腺癌组织中低表达; B: E-cadherin 在癌旁组织中高表达

图 4 E-cadherin 在乳腺癌组织及癌旁组织中的表达 (SP, $\times 100$)



A: E-cadherin 不表达 (-); B: E-cadherin 低表达 (+); C: E-cadherin 高表达 (++) ; D: E-cadherin 高表达 (++++)

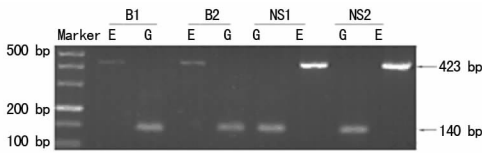
图 5 乳腺浸润性导管癌组织中免疫组织化学染色 E-cadherin 在病灶中表达 (SP, $\times 200$)

2.4 CDH1 基因 mRNA 的表达情况 通过反转录定量 PCR 法检测 CDH1 基因 mRNA 在原发性乳腺癌、淋巴结转移乳腺癌和正常乳腺组织标本中的表达情况, 见图 6。CDH1 基因 mRNA 在乳腺癌组织 CDH1 基因启动子甲基化标本中表达水平低 (0.538 ± 0.108), 在乳腺癌组织 CDH1 基因启动子非甲基化标本中表达水平较高 (0.734 ± 0.072), 二者差异有统计学意义 ($t = 16.99, P < 0.01$), 见图 7A。

CDH1 基因 mRNA 的表达水平在乳腺癌淋巴结转移组、淋巴结未转移组及正常乳腺组织比较, 差异有统计学意义 ($F = 43.515, P < 0.01$), 见图 7B。

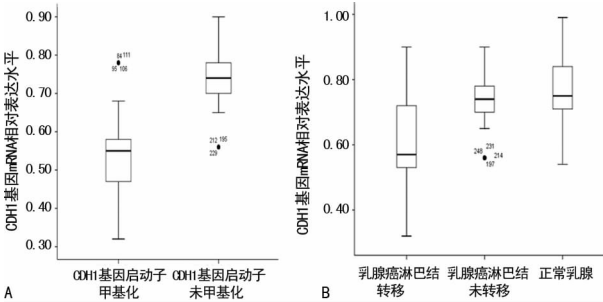
2.5 乳腺浸润性导管癌组织 CDH1 基因启动子甲基化与患者病理临床特征的关系 CDH1 基因启动子甲基化组和未甲基化组在淋巴结是否转移、人表皮生长因子受体 2 (CerbB-2) 表达、分子分型及肿瘤细胞组织学分级中差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而在民族、

年龄、是否绝经、ER 表达、肿块直径及 Ki-67 表达等因素中差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。



E:CDH1 基因 mRNA(423 bp);G:内部控制基因 GAPDH(140 bp);B:乳腺癌组织;NS:正常乳腺组织

图 6 乳腺癌和正常乳腺组织中 CDH1 基因 mRNA 的表达



A:CDH1 基因启动子甲基化与未甲基化乳腺癌组织比较;B:乳腺癌淋巴结转移、淋巴结未转移及正常乳腺组织比较

图 7 不同组织 CDH1 基因 mRNA 表达水平比较

表 2 CDH1 启动子甲基化与乳腺癌患者临床病理的关系

临床病理因素	n	CDH1 基因		甲基化率(%)	χ^2	P
		甲基化(n)	无甲基化(n)			
民族					0.600	0.439
汉族	124	53	71	42.742		
维吾尔族	126	60	66	47.619		
年龄(岁)					3.981	0.137
<35	45	20	25	44.444		
35~60	154	76	78	49.351		
>60	51	17	34	33.333		
是否绝经					0.013	0.909
否	147	66	81	44.900		
是	103	47	56	45.631		
淋巴结阳性数目					19.086	<0.001
无转移	82	22	60	26.829		
1~3 个	121	61	60	50.413		
≥4 个	47	30	17	63.830		
乳腺肿块直径(cm)					1.348	0.510
<2	132	56	76	42.424		
2~5	68	31	37	45.588		
>5	50	26	24	52.000		
ER					0.241	0.623
阳性	137	60	77	43.796		
阴性	113	53	60	46.903		
组织学分级					8.487	0.014
I	28	8	20	28.571		
II	121	49	72	40.496		
III	101	56	45	54.455		
CerbB-2					9.475	0.002
阳性	75	45	30	60.000		
阴性	175	68	107	38.857		
Ki-67(%)					0.814	0.367
≤14	27	10	17	37.037		
>14	223	103	120	46.188		

续表 2 CDH1 启动子甲基化与乳腺癌患者临床病理的关系

临床病理因素	n	CDH1 基因		甲基化率(%)	χ^2	P
		甲基化(n)	无甲基化(n)			
分子分型					25.482	0.001
Luminal A	26	10	16	38.462		
Luminal B	92	24	68	26.087		
HER-2+	75	45	30	60.000		
三阴性	57	34	23	59.649		

淋巴结转移:腋下淋巴结、前哨淋巴结镜下宏转移,同时包括淋巴结微转移,直径<2.0 mm 的肿瘤转移病灶、成簇肿瘤细胞及单个肿瘤细胞

2.5 CDH1 启动子甲基化组和非甲基化组乳腺癌 COX 回归生存分析 乳腺浸润性导管癌 CDH1 启动子甲基化和非甲基化组随访 60 个月,CDH1 启动子甲基化(n=113)和非甲基化(n=137)组 COX 回归分析乳腺癌 5 年生存率存在差异,差异有统计学意义($P<0.01$),见图 8。COX 多因素回归分析提示:淋巴结阳性、组织学分级高、CerbB-2 阳性、三阴性分子分型、CDH1 基因启动子甲基化患者乳腺癌死亡危险性高,见表 3、4。

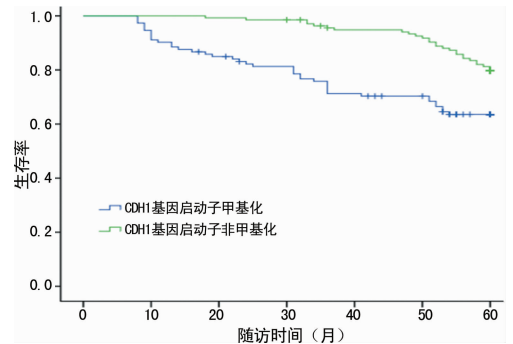


图 8 CDH1 基因启动子甲基化和非甲基化生存分析

表 3 临床病理因素 COX 回归变量赋值表

变量	变量分类及赋值
分组	非甲基化=0,甲基化=1
淋巴结情况	无=0,1~3 个=1,≥4 个=2
组织学分级	I 级=1,II 级=2,III 级=3
腋窝淋巴结转移	N0=0,N1=1,N2=2,N3=3
CerbB-2	阴性=0,阳性=1
分子分型	Luminal A=1,Luminal B=2,HER-2(+)=3,三阴性=4

表 4 CDH1 基因启动子甲基化和非甲基化患者生存曲线 COX 多因素回归分析

变量	B	SE	Wald χ^2	P	Exp(B)	95.0%CI
淋巴结阳性数目	1.231	0.302	21.360	0.001	2.254	1.315~4.578
CerbB-2	1.057	0.103	8.495	0.004	1.543	0.823~2.362
组织学分级	1.016	0.270	13.618	0.002	1.048	0.985~2.436
分子分型	1.448	0.211	7.649	0.001	3.465	1.055~4.822
甲基化	1.085	0.287	10.893	0.001	2.023	0.796~2.832

3 讨 论

乳腺癌的发病率逐渐增高,已成为女性最常见的恶性肿瘤^[1-2]。乳腺癌复发及转移是导致死亡的主要原因^[3],恶性肿瘤浸润及转移机制中首先是细胞黏附性改变,肿瘤细胞彼此之间的黏附力减少,肿瘤出现倾向浸润及转移。因此,细胞间黏附性改变是导致肿瘤转移的重要因素之一。E-cadherin 是钙黏附家族中重要的一员,目前研究发现 E-cadherin 参与不同肿瘤的早期发生、浸润及转移^[4-6]。其表达与多种肿瘤的浸润转移、临床预后有密切联系^[7]。CDH1 是 E-cadherin 蛋白编码基因,是一种抑癌基因,抑癌基因甲基化是肿瘤发生、发展过程中基因表达沉默的主要机制,且在某些情况下是抑癌基因失活的惟一机制。在多种肿瘤组织中均有 CDH1 基因表达的下调,CDH1 基因的表达下调除了受基因多态性、外显子突变等因素影响外,其启动子区域的 5'-CpG 岛异常甲基化作用近年来被越来越多的研究者所关注^[8-9]。

本研究对新疆地区 250 例患者乳腺癌组织标本 CDH1 基因甲基化进行了检测,研究发现乳腺癌组织中 CDH1 基因甲基化和 E-cadherin 蛋白低表达相关($\chi^2=21.360, P<0.01$),可能是引起 E-cadherin 蛋白低表达的主要因素。同时研究发现 CDH1 基因甲基化和淋巴结转移相关,有局部淋巴结转移的乳腺癌组织的甲基化表达率明显高于无局部淋巴结转移乳腺癌组织,二者之间差异有统计学意义($\chi^2=19.086, P<0.01$)。推测 CDH1 基因甲基化抑制了 E-cadherin 蛋白表达,使 E-cadherin 不能发挥正常作用维持细胞形态及连接,导致细胞自肿瘤组织中脱落进而引起肿瘤的转移,这说明 CDH1 基因改变和乳腺癌转移密切相关。当然,基因表达下调除甲基化外,还有其他的一些 CDH1 基因改变,如基因突变也是引起基因表达下调的原因之一。章海波等^[10]在肺癌中研究发现,CDH1 基因 rs16260C>A 遗传变异可显著增加非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLS)患者确诊时为晚期并发生转移的概率,CDH1 基因 rs16260C>A 遗传变异可促进 NSCLS 的进展^[10]。因此,CDH1 基因的甲基化也不能完全反映出 E-cadherin 的表达缺失程度。也有可能一部分肿瘤细胞的 CDH1 基因没有甲基化而失活,这也可以解释肿瘤组织中 E-cadherin 蛋白表达的异质性。本研究提示:CDH1 基因启动子甲基化和非甲基化乳腺癌患者 5 年生存率比较,差异有统计学意义($P<0.01$),和部分研究基本一致^[9]。当然乳腺癌预后和多种因素相关,CDH1 启动子甲基化改变是否与乳腺癌的不良预后有关仍需要大量的研究。本研究由于样本量偏小,研究数据尚不能确切说明影响肿瘤预后,还需要进一步大样本的研究。

CDH1 基因甲基化的表观遗传学改变已经成为肿瘤研究中重要的分子之一^[11-12],目前,DNA 甲基化

导致转录失活这一机制已基本明确,但乳腺癌中 CDH1 基因甲基化改变的原因及其调控机制尚不清楚。因此,需进一步积累更多的临床资料、扩大样本量进行深入研究。CDH1 基因信号传导通路及调控机制仍需要继续深入研究。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer Statistics 2016[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1):7-30.
- [2] CHEN W, ZHENG R, BAADA P D, et al. Cancer Statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2):115-132.
- [3] 田茗源, 王林辉, 张雄, 等. 肺癌组织中 E-cadherin 和 Vimentin 的表达及其与上皮-间质转化的相关性[J]. 中国生物制品学杂志, 2011, 24(9):1068-1071.
- [4] WENDT M K, TAYLOR M A, SCHIEMANN B J, et al. Down-regulation of epithelial cadherin is required to initiate metastatic outgrowth of breast cancer[J]. Mol Biol Cell, 2011, 22(14):2423-2435.
- [5] BODNAR L, STANCZAK A, CIERNIAK S, et al. Wnt/ β -catenin pathway as a potential prognostic and predictive marker in patients with advanced ovarian cancer[J]. J Ovarian Res, 2014, 7:16.
- [6] KABBAGE M, TRIMECHE M, BEN NASR H, et al. Expression of the molecular chaperone α B-crystallin in infiltrating ductal breast carcinomas and the significance thereof: an immunohistochemical and proteomics-based strategy[J]. Tumor Biol, 2012, 33(6):2279-2288.
- [7] LI Y, TANG Y, ZHOU R, et al. Genetic polymorphism in the 3'-untranslated region of the E-cadherin gene is associated with risk of different cancers[J]. Mol Carcinog, 2011, 50(11):857-862.
- [8] NAGHITORABI M, MOHAMMADI-ASL J, SADEGHI H M M, et al. Quantitation of CDH1 promoter methylation in formalin-fixed paraffin-embedded tissues of breast cancer patients using differential high resolution melting analysis[J]. Adv Biomed Res, 2016, 5:91.
- [9] LIU J, SUN X, QIN S, et al. CDH1 promoter methylation correlates with decreased gene expression and poor prognosis in patients with breast cancer[J]. Oncol Lett, 2016, 11(4):2635-2643.
- [10] 章海波, 马庆荣, 李智佳, 等. 钙粘蛋白 E 基因的基因多态性与非小细胞肺癌进展的相关性研究[J]. 中国现代医学杂志, 2014, 24(13):18-22.
- [11] KIM S A, INAMURA K, YAMAUCHI M, et al. Loss of CDH1 (E-cadherin) expression is associated with infiltrative tumour growth and lymph node metastasis[J]. Br J Cancer, 2016, 114(2):199-206.
- [12] CORSO G, INTRA M, TRENTIN C, et al. CDH1 germline mutations and hereditary lobular breast cancer[J]. Fam Cancer, 2016, 15(2):215-219.