

论 著

基础研究

DNA 甲基化转移酶 1 介导的启动子甲基化调控 *VHL* 基因表达对肺腺癌生长的影响

王婧, 李梦梦, 程涛, 马群

南阳市第一人民医院呼吸与危重症医学科, 河南南阳 473000

[中图分类号] R734.2 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.1924.2026.0129

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 王婧, 李梦梦, 程涛, 等. DNA 甲基化转移酶 1 介导的启动子甲基化调控 *VHL* 基因表达对肺腺癌生长的影响 [J]. 解放军医学杂志, 2026, 51(4): 599-605.

[收稿日期] 2025-09-12 [录用日期] 2025-12-03 [上线日期] 2026-01-29

[摘要] **目的** 探究 DNA 甲基化转移酶 1(DNMT1)介导的启动子甲基化调控 von Hippel-Lindau 肿瘤抑制因子(*VHL*)基因表达对肺腺癌(LUAD)肿瘤生长的影响。**方法** (1)基于基因表达谱交互(GEPIA)分析 *DNMT1*、*VHL* 在 LUAD 中的表达水平及其对患者生存期的影响。(2)收集 2020 年 1 月—2021 年 12 月南阳市第一人民医院收治的 100 例 LUAD 及癌旁组织标本, 采用甲基化特异性 PCR、RT-qPCR、Western blotting 检测 LUAD 组织中 *VHL* 基因启动子甲基化及 *DNMT1*、*VHL* mRNA 和蛋白水平; 分析 *DNMT1* 与 *VHL* 表达的相关性及 *VHL* 水平与临床病理参数的关系。(3)将 LUAD A549 细胞随机分为对照组、*DNMT1* 组、5-Aza-CdR 组、*DNMT1*+5-Aza-CdR 组、低表达(sh)-NC 组、sh-*DNMT1* 组。细胞经过相应慢病毒感染及甲基化抑制剂 5-Aza-CdR 处理后, 检测细胞 *VHL* 启动子甲基化及 *DNMT1*、*VHL* mRNA 和蛋白水平; CCK-8 法检测细胞增殖能力。(4)30 只裸鼠随机分为 sh-NC 组、sh-*DNMT1* 组, 每组 15 只; 分别皮下注射已感染慢病毒的 A549 细胞。造模 1 个月后, 检测肿瘤体积、重量和肿瘤组织 *VHL* 启动子甲基化及 *DNMT1*、*VHL* mRNA 和蛋白水平。**结果** (1)与正常肺组织比较, LUAD 组织中 *DNMT1* 水平增高($P<0.05$), *VHL* 水平降低($P<0.05$); 高表达 *DNMT1* 或低表达 *VHL* 的患者生存期均较短($P<0.05$)。(2)与癌旁组织比较, LUAD 中 *VHL* 启动子甲基化及 *DNMT1* 水平升高($P<0.05$), *VHL* 水平降低($P<0.05$), *DNMT1* 与 *VHL* 水平呈负相关($P<0.05$), *VHL* 水平低的患者肿瘤 TNM 分期更高、肿瘤分化程度更低($P<0.05$)。(3)与对照组比较, *DNMT1* 组细胞 *VHL* 启动子甲基化和 *DNMT1* 水平、增殖能力增高($P<0.05$), *VHL* 水平降低($P<0.05$); 与 sh-NC 组相比, sh-*DNMT1* 组细胞 *VHL* 启动子甲基化和 *DNMT1* 水平、增殖能力降低($P<0.05$), *VHL* 水平升高($P<0.05$); 与 5-Aza-CdR 组比较, *DNMT1*+5-Aza-CdR 组细胞 *VHL* 启动子甲基化水平、增殖能力升高($P<0.05$), *VHL* 水平降低($P<0.05$)。(4)与 sh-NC 组比较, sh-*DNMT1* 组裸鼠肿瘤体积、重量减小($P<0.05$), 肿瘤组织 *VHL* 启动子甲基化及 *DNMT1* 水平降低($P<0.05$), *VHL* 水平升高($P<0.05$)。**结论** *DNMT1* 介导的启动子甲基化可抑制 *VHL* 表达, 促进 LUAD 肿瘤生长。

[关键词] 肺腺癌; DNA 甲基化转移酶 1; 启动子甲基化; von Hippel-Lindau 肿瘤抑制因子**DNMT1-mediated promoter methylation inhibits *VHL* gene expression and promotes the growth of lung adenocarcinoma**

Wang Jing, Li Meng-Meng, Cheng Tao, Ma Qun

Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Nanyang First People's Hospital, Nanyang, Henan 473000, China

[Abstract] **Objective** To explore the effect of DNA methyltransferase 1 (DNMT1)-mediated promoter methylation on the regulation of von Hippel-Lindau tumor suppressor (*VHL*) gene expression and its impact on tumor growth in lung adenocarcinoma (LUAD). **Methods** (1) Based on the Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA) database, the expression levels of *DNMT1* and *VHL* in LUAD tissues and their correlations with the overall survival of LUAD patients were analyzed. (2) A total of 100 pairs of LUAD tissues and their adjacent non-tumor tissues were collected from patients admitted to Nanyang First People's Hospital from January 2020 to December 2021. Methylation-specific PCR (MSP), reverse transcription-quantitative PCR (RT-qPCR) and Western blotting were performed to detect *VHL* gene promoter methylation status, as well as the mRNA and protein expression levels

[作者简介] 王婧, 医学硕士, 主治医师, 主要从事感染机制、炎症因子、病原微生物及肺癌方面的研究

of *DNMT1* and *VHL* in LUAD tissues. The correlation between *DNMT1* and *VHL* expression was analyzed, and the association of *VHL* expression level with clinicopathological parameters of patients was also analyzed. (3) Human LUAD A549 cells were randomly divided into control group, *DNMT1* group, sh-NC group, sh-*DNMT1* group, 5-Aza-CdR group, and *DNMT1*+5-Aza-CdR group. After the cells were treated with the corresponding lentiviral infection and the methylation inhibitor 5-Aza-CdR, *VHL* promoter methylation status, mRNA and protein levels of *DNMT1* and *VHL* were detected; the Cell Counting Kit-8 (CCK-8) assay was used to evaluate the proliferative capacity of the cells. (4) Thirty nude mice were randomly divided into sh-NC group and sh-*DNMT1* group, with 15 mice in each group. The lentivirus-infected A549 cells were subcutaneously injected into the nude mice of each group. One month after tumor model establishment, the tumor volume and weight were measured; *VHL* promoter methylation status, as well as the mRNA and protein expression levels of *DNMT1* and *VHL* in tumor tissues were detected. **Results** (1) Compared with normal lung tissues, the expression level of *DNMT1* was significantly increased ($P<0.05$) and the expression level of *VHL* was significantly decreased in LUAD tissues ($P<0.05$). LUAD patients with high *DNMT1* or low *VHL* expression had a shorter overall survival time ($P<0.05$). (2) Compared with adjacent non-tumor tissues, *VHL* promoter methylation level and *DNMT1* expression level in LUAD tissues were significantly elevated ($P<0.05$), while *VHL* expression level was reduced ($P<0.05$). *DNMT1* expression level was negatively correlated with *VHL* expression level in LUAD tissues ($P<0.05$). LUAD patients with low *VHL* expression level had a higher TNM stage and a lower degree of tumor differentiation ($P<0.05$). (3) Compared with control group, *VHL* promoter methylation level, *DNMT1* expression level and cell proliferative capacity were significantly increased ($P<0.05$), while *VHL* expression level was decreased in *DNMT1* group ($P<0.05$). Compared with sh-NC group, *VHL* promoter methylation level, *DNMT1* expression level, and cell proliferative capacity were significantly reduced ($P<0.05$), while *VHL* expression level was elevated in sh-*DNMT1* group ($P<0.05$). Compared with 5-Aza-CdR group, *VHL* promoter methylation level and cell proliferative capacity were significantly increased ($P<0.05$), while *VHL* expression level was decreased in *DNMT1*+5-Aza-CdR group ($P<0.05$). (4) Compared with sh-NC group, the tumor volume and weight of nude mice in sh-*DNMT1* group were significantly reduced ($P<0.05$), *VHL* promoter methylation level and *DNMT1* expression level in tumor tissues were significantly decreased ($P<0.05$), while *VHL* expression level was increased ($P<0.05$). **Conclusion** *DNMT1*-mediated promoter methylation can inhibit *VHL* gene expression and thereby promote LUAD tumor growth.

[Key words] lung adenocarcinoma; DNA methyltransferase 1; promoter methylation; von Hippel-Lindau tumor suppressor

肺癌居全球恶性肿瘤死亡原因的首位,肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)是其常见病理类型^[1-2]。LUAD早期相对隐蔽,多数患者就诊时已伴有肿瘤转移,且癌细胞易产生耐药性,致生存率较低^[3-5]。在LUAD中,多种抑癌基因[如 von Hippel-Lindau 肿瘤抑制因子(*VHL*)]的表达受调控区超甲基化抑制^[6]。DNA甲基化是DNA甲基化转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)介导的表观遗传修饰,通过共价键添加甲基基团,不改变DNA序列但影响遗传表现^[7-8]。*DNMT1*是最丰富的DNMT,主要负责甲基化模式的建立与维持,可促进抑癌基因超甲基化,诱导癌症进展^[9]。例如,肺癌组织中*DNMT1*呈高表达,且与MutL同源物1(*MLH1*)基因和MutS同源物2(*MSH2*)基因启动子甲基化水平呈正相关^[10]。*DNMT1*还可调控启动子甲基化,抑制抑癌基因*p53*的表达;而甲基化抑制剂可逆转该恶性表型^[11]。

*VHL*基因位于染色体3p25-26区,其编码的VHL蛋白失活可诱导低氧诱导因子- α (hypoxia-inducible factor α , HIF- α)等下游底物表达升高,促进促癌因子释放^[12]。在多种疾病中,*DNMT1*可调控*VHL*甲基化。例如,在慢性高原病中,*DNMT1*表达升高可增强*VHL*启动子CpG位点甲基化,降低*VHL*表达,并通过HIF-2 α 通路导致红细胞过度增多^[13];在三阴

性乳腺癌中,一种卟啉类化合物SH-I-14可抑制*DNMT1*的相关作用,诱导*VHL*启动子去甲基化并恢复其表达,发挥抗癌作用^[14]。*DNMT1*能否通过甲基化调控LUAD及其他肿瘤中*VHL*表达而影响肿瘤生长,尚不明确。本研究观察*DNMT1*对LUAD生长的影响,探究其与启动子甲基化调控*VHL*表达相关的机制,以期去甲基化药物治疗LUAD提供参考。

1 材料与方法

1.1 临床资料与标本采集 回顾性选取2020年1月—2021年12月在南阳市第一人民医院进行手术治疗的100例LUAD患者为研究对象。收集患者LUAD及癌旁组织(距肿瘤边缘至少5 cm)标本及病历资料。采用实时荧光定量PCR(real time quantitative PCR, RT-qPCR)检测患者LUAD及癌旁组织中*VHL* mRNA表达水平。以*VHL* mRNA水平的均值为临界值,将患者分为高表达组($n=34$)与低表达组($n=66$)。本研究获南阳市第一人民医院伦理委员会审批(20220127),所有患者均自愿提供LUAD及癌旁组织标本。

1.2 细胞、动物、试剂和仪器 人正常肺上皮细胞系BEAS-2B(AW-CN004)和肺腺癌细胞系A549、H1299、H441(AW-CCH011、AW-CCH038、AW-CCH590)

购自长沙艾碧维生物科技有限公司；30只雄性BALB/c裸鼠，8周龄，体重22~25 g，购自北京百奥赛图基因生物技术有限公司[实验动物生产许可证号：SCXK(京)2020-0007]；胎牛血清、RPMI 1640培养液(1921005PJ、12633020)购自美国Gibco公司；甲基化抑制剂5-氮杂脱氧胞苷(5-Aza-CdR, 855049)购自美国Sigma公司；DNMT1、VHL引物购自南京金斯瑞生物科技股份有限公司；TRIzol试剂(15596026CN)购自美国Invitrogen公司；抗DNMT1、VHL、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(bsm-61399R、bs-7883R、bs-10900R)及辣根过氧化物酶标记的IgG二抗(bs-0295Gs)购自北京博奥森生物技术有限公司；ABI7500型RT-qPCR仪购自美国Thermo公司；1658033型电泳仪购自美国Bio-rad公司。

1.3 基于基因表达谱交互分析(Gene Expression Profiling Interactive Analysis, GEPIA; <https://gepia.cancer-pku.cn/>)DNMT1、VHL在LUAD中的表达水平 采用GEPIA分析DNMT1、VHL在正常肺组织和LUAD组织中的表达水平，以及DNMT1、VHL表达水平与LUAD患者总体生存期的关系。

1.4 甲基化特异性PCR(methylation specific PCR, MSP)检测LUAD组织和细胞系中VHL启动子甲基化水平 取LUAD组织或细胞系，使用酚氯仿法提取总DNA，随后对DNA进行甲基化修饰，并进行扩增反应。取适量PCR产物进行核酸电泳，通过凝胶成像系统(美国UVP公司)观察甲基化情况。

1.5 RT-qPCR检测LUAD组织和细胞系中DNMT1、VHL mRNA水平 取LUAD组织或细胞，使用TRIzol法提取总RNA，反转录为cDNA，并进行扩增。以GAPDH作内参，采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算DNMT1、VHL mRNA相对表达水平。引物序列：DNMT1，上游5'-ATCTAGCTGCCAAACGGAGG-3'，下游5'-CTGAATGCACTTGGGAGGGT-3'；VHL，上游5'-GCGTCGTGCTGCCCGTATG-3'，下游5'-TTCTGCACATTTGGGTGGTCTTC-3'；GAPDH，上游5'-GTATGACAA CGAATTTGGCTACAG-3'，下游5'-AGCACAGGGTA CTTTATTGATGGT-3'。

1.6 Western blotting检测LUAD组织和细胞系中DNMT1、VHL蛋白表达水平 取LUAD组织或细胞，使用RIPA法提取总蛋白，随后将蛋白变性，并进行电泳。电泳后转至聚偏二氟乙烯膜，将膜置于封闭液中封闭，滴加特异性一抗(DNMT1、VHL, 1:1000)4℃孵育过夜，洗涤后滴加IgG二抗(1:5000)室温孵育2 h。经显色，显影后，以GAPDH作内参，计算DNMT1、VHL蛋白相对表达水平。

1.7 细胞感染及分组 将A549细胞随机分为对照

组、过表达DNMT1组(DNMT1组)、5-Aza-CdR组、过表达DNMT1+5-Aza-CdR组(DNMT1+5-Aza-CdR组)、敲低对照组(sh-NC组)、敲低DNMT1组(sh-DNMT1组)。将A549细胞接种于24孔板中(1×10^6 个/孔)常规培养。当细胞汇合至80%时收集细胞，使用过表达或敲低DNMT1表达的慢病毒及其对照慢病毒(滴度为 1×10^9 TU/ml，感染复数值为20)感染A549细胞。感染48 h后收集细胞，通过RT-qPCR法检测细胞DNMT1 mRNA表达，以判断是否感染成功。随后5-Aza-CdR组、DNMT1+5-Aza-CdR组中加入5-Aza-CdR(终浓度为5 μ mol/L)，培养72 h后收集细胞，采用MSP、RT-qPCR、Western blotting分别检测VHL启动子甲基化及DNMT1、VHL相对表达水平。

1.8 CCK-8法检测细胞增殖活力 A549细胞接种于96孔板中常规培养1、2、3 d；培养完成后收集细胞，加入含10% CCK-8溶液的培养基37℃孵育4 h。随后检测450 nm处的吸光度，并绘制增殖曲线。

1.9 裸鼠体内移植瘤实验观察DNMT1敲低对肿瘤生长的影响 30只裸鼠按随机数字表法分为sh-NC组与sh-DNMT1组，每组15只。两组裸鼠分别皮下注射0.2 ml敲低DNMT1表达的A549细胞及对照A549细胞(注射量为 1×10^7 个/ml)；1个月后处死裸鼠，测定肿瘤体积和重量。取LUAD肿瘤组织，分别采用MSP、RT-qPCR、Western blotting法检测VHL启动子甲基化及DNMT1、VHL相对表达水平。

1.10 统计学处理 采用SPSS 16.0软件进行统计分析，GraphPad Prism 5.0软件制图。计数资料以例(%)表示，组间比较采用 χ^2 检验；计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用LSD-*t*检验。采用Spearman分析LUAD组织中DNMT1、VHL mRNA的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DNMT1、VHL在LUAD组织中的表达情况及对患者生存期的影响 基于GEPIA平台的分析结果显示，LUAD组织中DNMT1表达水平高于正常肺组织($P < 0.05$)，VHL表达水平低于正常肺组织($P < 0.05$)；且高表达DNMT1或低表达VHL的患者生存期均较短($P < 0.05$)(图1)。

2.2 LUAD组织中DNMT1、VHL表达情况 与正常肺组织比较，LUAD组织中VHL启动子甲基化水平、DNMT1 mRNA和蛋白水平增高($P < 0.05$)，VHL mRNA和蛋白水平降低($P < 0.05$)；DNMT1 mRNA与VHL mRNA水平呈负相关($P < 0.05$)(图2)。与高表达组比较，VHL低表达组患者TNM分期较高、肿瘤分化程度较低、淋巴结转移率较低($P < 0.05$)(附表1)。

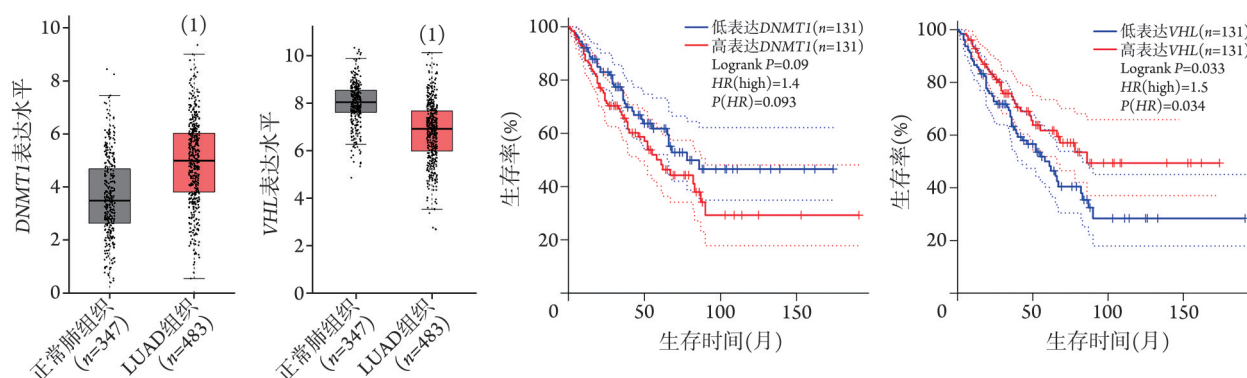


图1 LUAD组织中DNMT1、VHL表达水平[基于基因表达谱交互分析(GEPIA)平台]及对患者生存的影响

Fig.1 Expression of DNMT1 and VHL (GEPIA analysis) in LUAD tissues and its effects on survival of patients

与正常肺组织比较, (1) $P<0.05$ 。LUAD. 肺腺癌; VHL. Von Hippel-Lindau肿瘤抑制因子

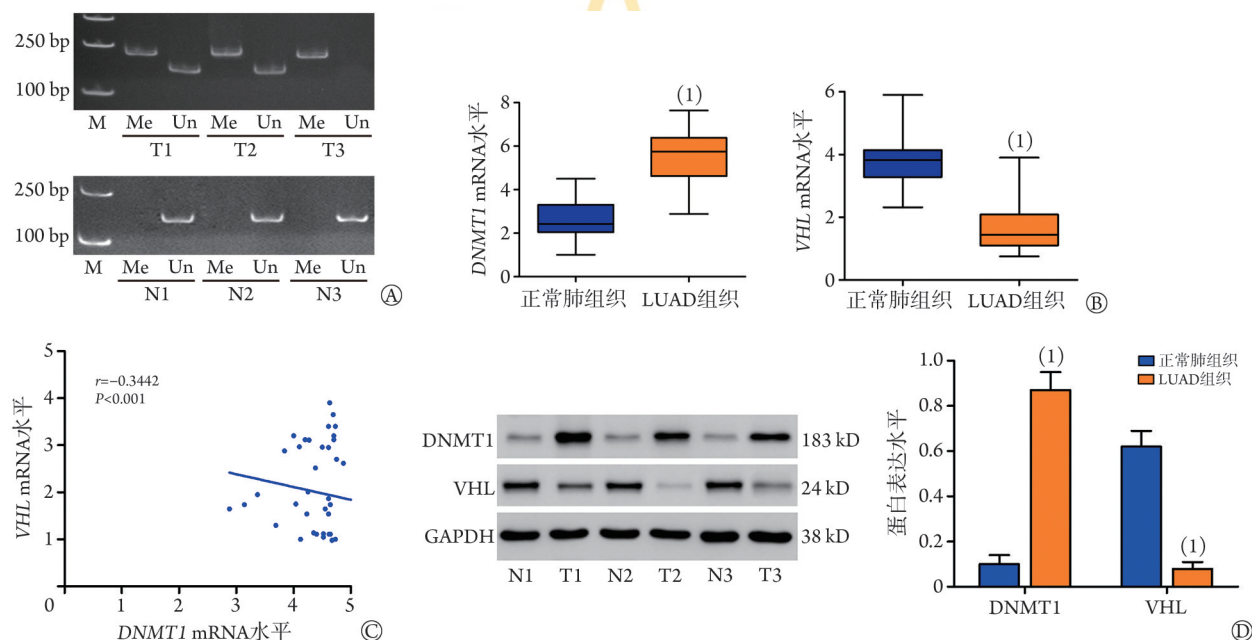


图2 肺腺癌(LUAD)组织中DNMT1、VHL表达情况

Fig.2 Expression of DNMT1 and VHL in LUAD tissues

A. 甲基化特异性PCR检测结果; B. RT-qPCR检测结果; C. Spearman相关性分析结果; D. Western blotting检测结果; 与正常肺组织比较, (1) $P<0.05$ 。M. 蛋白分子量标记; T(1—3). 肺腺癌组织; N(1—3). 正常肺组织; Me. 甲基化; Un. 非甲基化; DNMT1. DNA甲基化转移酶1; VHL. Von Hippel-Lindau肿瘤抑制因子

2.3 LUAD细胞中DNMT1、VHL表达情况 与BEAS-2B细胞比较, A549、H1299、H441细胞中VHL启动子甲基化水平、DNMT1 mRNA和蛋白表达水平均增高($P<0.05$), VHL mRNA和蛋白表达水平均降低($P<0.05$, 图3A—C)。

与对照组比较, DNMT1组A549细胞中VHL启动子甲基化水平、DNMT1 mRNA和蛋白水平及细胞培养3 d后的OD值均增高($P<0.05$), VHL mRNA和蛋白水平降低($P<0.05$); 5-Aza-CdR组细胞VHL启动子甲基化水平和细胞培养3 d后的OD值降低($P<0.05$), VHL mRNA和蛋白水平增高($P<0.05$)。与DNMT1组比较, DNMT1+5-Aza-CdR组A549细胞VHL启动子甲基化水平和细胞培养3 d后的OD值降低($P<0.05$),

VHL mRNA和蛋白水平增高($P<0.05$)。与5-Aza-CdR组比较, DNMT1+5-Aza-CdR组细胞VHL启动子甲基化水平、DNMT1 mRNA和蛋白水平及细胞培养3 d后的OD值增高($P<0.05$), VHL mRNA和蛋白水平降低($P<0.05$)。与sh-NC组比较, sh-DNMT1组细胞VHL启动子甲基化水平、DNMT1 mRNA和蛋白水平及细胞培养3 d后的OD值降低($P<0.05$), VHL mRNA和蛋白水平增高($P<0.05$, 图3D—G)。

2.4 移植瘤中DNMT1、VHL表达情况 与sh-NC组比较, sh-DNMT1组裸鼠肿瘤体积、重量较小($P<0.05$), 肿瘤组织中VHL启动子甲基化水平、DNMT1 mRNA和蛋白水平降低($P<0.05$), VHL mRNA和蛋白水平增高($P<0.05$, 图4)。

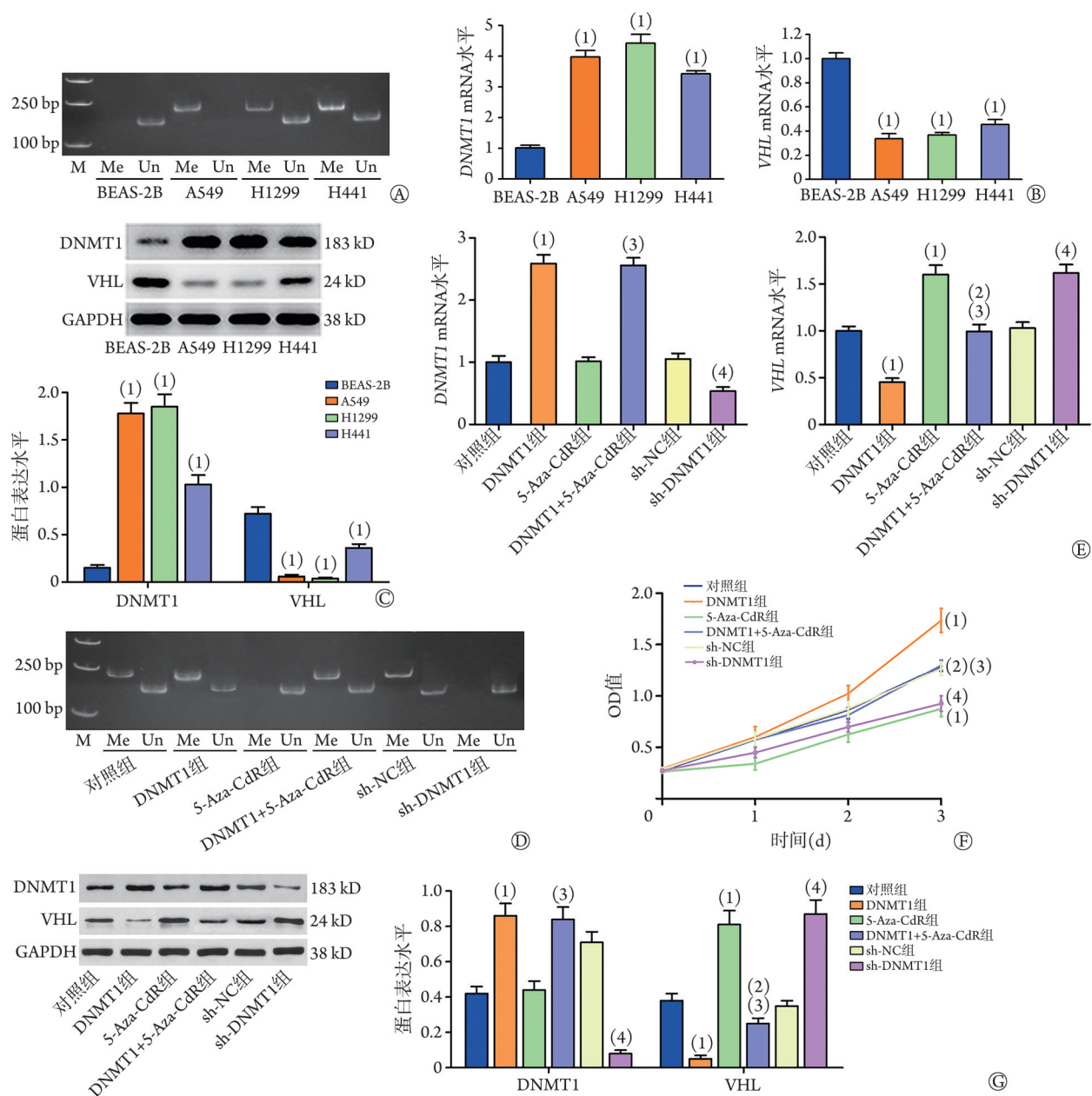


图3 肺腺癌(LUAD)细胞中DNMT1、VHL表达情况

Fig.3 Expression of DNMT1 and VHL in LUAD cells

A、D. MSP 检测结果；B、E. RT-qPCR 检测结果；C、G. Western blotting 检测结果；F. CCK-8 实验结果。与对照组比较，(1) $P < 0.05$ ；与 DNMT1 组比较，(2) $P < 0.05$ ；与 5-Aza-CdR 组比较，(3) $P < 0.05$ ；与 sh-NC 组比较，(4) $P < 0.05$ 。M. 蛋白分子量标记；Me. 甲基化；Un. 非甲基化；DNMT1. DNA 甲基化转移酶 1；VHL. Von Hippel-Lindau 肿瘤抑制因子；5-Aza-CdR. 甲基化抑制剂 5-氮杂脱氧胞苷

3 讨 论

表观遗传异常是肺癌发生发展的重要驱动因素，其中以 DNMT1 介导的抑癌基因沉默尤为关键。研究显示，DNMT1 在乳腺癌、胃癌等多种恶性肿瘤中高表达，且与细胞恶性增殖及患者不良预后相关^[15-16]；在 LUAD 中，DNMT1 可通过调控靶基因甲基化促进肿瘤进展^[17-18]。本研究结果也显示，LUAD 患者和 LUAD 细胞中 DNMT1 表达升高，且其高表达与 VHL 低表达共同提示患者预后不良；通过临床病

理关联分析发现，VHL 低表达与 LUAD 患者 TNM 分期进展、低分化相关。这与已有研究报道“VHL 缺失是 LUAD 患者生存率低的独立预后因素”的结论相互印证^[19]，提示 DNMT1 可促进 LUAD 发展，而 VHL 可能有抑癌作用。

已有研究报道 DNMT1 可通过甲基化调控 LUAD 中蛋白酶丝氨酸 3^[20]、层黏连蛋白 $\alpha 3$ ^[21] 等基因表达，但未涉及 VHL 抑癌基因。在其他疾病领域，仅慢性高原病和三阴性乳腺癌中报道过 DNMT1 对 VHL 的甲基化调控^[13-14]，LUAD 中的相关调控关系尚不清

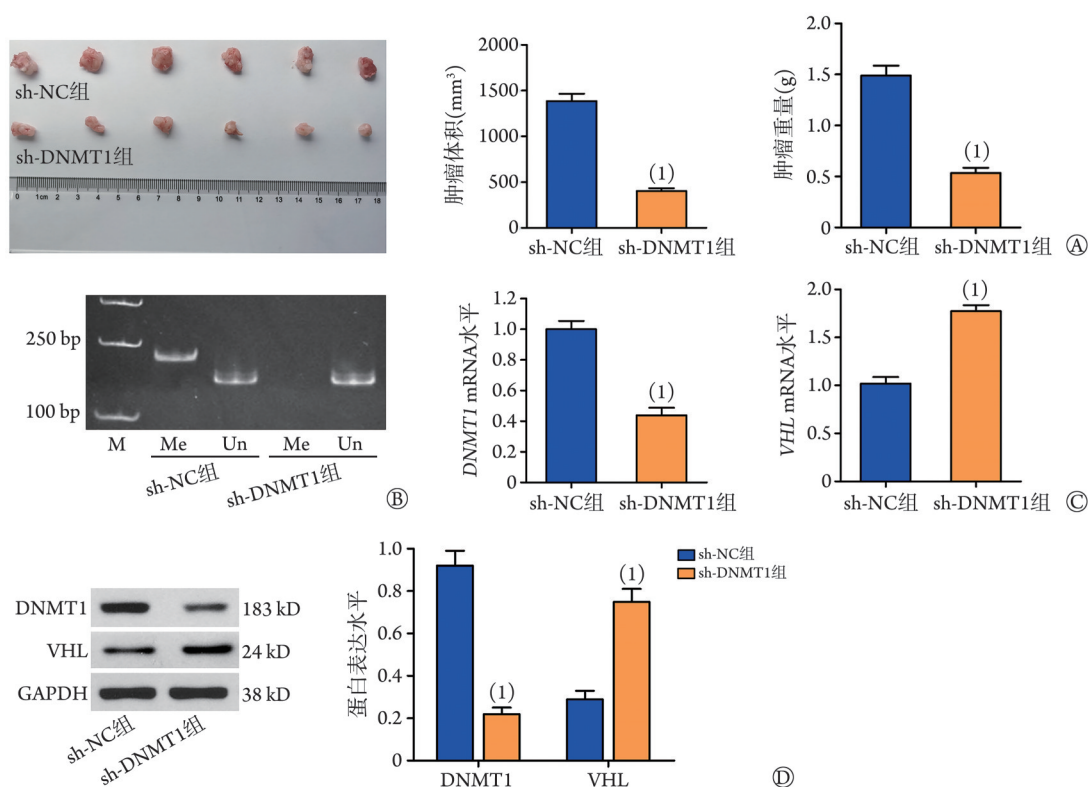


图4 裸鼠移植瘤中DNMT1、VHL表达情况

Fig.4 Expression of DNMT1 and VHL in transplanted tumors

A. 裸鼠移植瘤体积与重量; B. 甲基化特异性PCR检测结果; C. RT-qPCR检测结果; D. Western blotting检测结果。与sh-NC组比较, (1) $P<0.05$ 。M. 蛋白分子量标记; Me. 甲基化; Un. 非甲基化; DNMT1. DNA甲基化转移酶1; VHL. Von Hippel-Lindau肿瘤抑制因子

楚。本研究通过过表达或敲低DNMT1实验发现, LUAD中VHL启动子甲基化水平较高, 而过表达DNMT1能够提高A549细胞VHL甲基化水平, 并降低VHL mRNA和蛋白水平; 敲低DNMT1表达则能逆转这一效应; 提示DNMT1通过调控VHL基因启动子的甲基化水平, 可实现对LUAD中VHL表达的表观遗传抑制。5-Aza-CdR作为经典甲基化抑制剂, 可抑制DNMT1活性, 进而降低基因组甲基化水平^[22]。本研究也显示, 经5-Aza-CdR处理后, A549细胞DNMT1 mRNA和蛋白水平未发生明显变化, 而VHL启动子甲基化水平降低, VHL表达升高; 这提示5-Aza-CdR以胞苷类似物掺入DNA后, 可与DNMT1活性位点结合, 抑制其甲基转移酶功能(并非通过降解DNMT1蛋白), 从而解除对VHL启动子的甲基化抑制。此外, 裸鼠成瘤实验进一步验证了上述调控机制的生物学意义: 即敲低DNMT1表达能够抑制肿瘤生长, 降低VHL启动子甲基化水平, 并提高VHL水平。这提示, 在体内微环境中DNMT1仍可通过介导启动子甲基化抑制VHL表达, 进而促进LUAD肿瘤生长, 支持DNMT1-VHL轴在LUAD进展中的核心调控作用。

综上所述, DNMT1介导的启动子甲基化可抑制VHL表达, 促进LUAD肿瘤生长; 提示去甲基化药

物可作为LUAD的潜在治疗方案, DNMT1与VHL水平可作为LUAD预后评估的潜在生物标志物。另外, 针对DNMT1高表达或VHL低表达的LUAD患者, 靶向DNMT1的去甲基化治疗(如优化5-Aza-CdR给药方案), 有望成为改善预后的个体化治疗策略, 为临床精准治疗提供新的思路。本研究尚存在如下局限: 未检测DNMT1-VHL轴对细胞凋亡、迁移及侵袭等恶性表型的影响, 无法全面阐明该通路对肿瘤进展的调控作用。后续将补充对LUAD细胞恶性表型的检测, 扩大动物实验的干预维度(如增加5-Aza-CdR治疗组), 以全面揭示DNMT1-VHL轴对LUAD细胞多维度恶性生物学行为的调控作用。

【附加材料】

附表1见 <https://dx.doi.org/10.11855/j.issn.0577-7402.1924.2026.0129FJ>。
请扫描右方二维码获取。



【参考文献】

- Li HJ, Qiu ZB, Wang MM, et al. Radiomics-based support vector machine distinguishes molecular events driving the progression of lung adenocarcinoma[J]. J Thorac Oncol, 2025, 20(1): 52-64.
- 赵洋, 林世清, 陈兰兰, 等. 肺腺癌骨转移癌痛患者外周血转录组学分析及其初步验证[J]. 解放军医学杂志, 2025, 50(4):

- 427-435.
- [3] Wang PY, Wang GX, Li HR, *et al.* Nicotinamide N-methyltransferase negatively regulates metastasis-promoting property of cancer-associated fibroblasts in lung adenocarcinoma [J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2025, 45(2): 110-137.
 - [4] Daley BR, Sealover NE, Finniff BA, *et al.* SOS1 inhibition enhances the efficacy of KRASG12C inhibitors and delays resistance in lung adenocarcinoma [J]. *Cancer Res*, 2025, 85(1): 118-133.
 - [5] 李沙沙, 张瑞, 李为民. 中国肺癌筛查的新策略与应用前景[J]. *中国实用内科杂志*, 2025, 45(6): 503-507.
 - [6] Kuhlman JJ, Frier QJ, Sumarriva D, *et al.* Germline VHL mutation discovered in association with EGFR-positive lung cancer and metachronous hepatocellular carcinoma: a case report [J]. *Case Rep Oncol*, 2021, 14(3): 1392-1398.
 - [7] Zeng YH, Feng Q. ULK1 methylation promotes TGF- β 1-induced endometrial fibrosis *via* the FOXP1/DNMT1 axis [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2025, 41(1): e12915.
 - [8] 王佩佩, 岳云, 曹丽翠, 等. 枸杞多糖对Hcy诱导的小鼠肝细胞损伤的保护作用及其机制[J]. *解放军医学杂志*, 2024, 49(5): 542-549.
 - [9] Xie H, Wang H, Li RH, *et al.* DNMT1 promotes the proliferation and migration of gastric cancer cells by inducing microRNA-125a-5p methylation to promote SERPINE1 protein [J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2025, 17(3): 98703.
 - [10] 刘俊, 孙宇, 王延宁, 等. 非小细胞肺癌组织中DNMT1表达和hMLH1、hMSH2甲基化状态的变化及意义[J]. *山东医药*, 2017, 57(41): 20-23.
 - [11] 彭峰, 彭奕华, 张宏华. 浅谈甲基化抑制剂5-Aza-CdR对肺癌A549细胞株DNA甲基转移酶1及c-myc、MKi-67、p53基因表达的影响[J]. *黑龙江医学*, 2017, 41(1): 10-12.
 - [12] Li CY, Fu C, Zhou WH, *et al.* Lactylation modification of HIF-1 α enhances its stability by blocking VHL recognition [J]. *Cell Commun Signal*, 2025, 23(1): 364.
 - [13] Yang M, Zhu MM, Song K, *et al.* VHL gene methylation contributes to excessive erythrocytosis in chronic mountain sickness rat model by upregulating the HIF-2 α /EPO pathway [J]. *Life Sci*, 2021, 266: 118873.
 - [14] Kang HJ, Yi YW, Hou SJ, *et al.* Disruption of STAT3-DNMT1 interaction by SH-I-14 induces re-expression of tumor suppressor genes and inhibits growth of triple-negative breast tumor [J]. *Oncotarget*, 2015, 8(48): 83457-83468.
 - [15] Wu WJ, Wu WJ, Xie XJ, *et al.* DNMT1 is required for efficient DSB repair and maintenance of replication fork stability, and its loss reverses resistance to PARP inhibitors in cancer cells [J]. *Oncogene*, 2025, 44(27): 2283-2302.
 - [16] Wei J, Xue S, Du XL, *et al.* DNMT1 blocks SOX21-repressed CKS2 transcription to promote gastric cancer progression [J]. *BMC Cancer*, 2025, 25(1): 1182.
 - [17] Shi Q, Zheng XX, Hu Y, *et al.* Methylation of hypoxia-inducible factor 3 subunit alpha contributes to poor prognosis in lung adenocarcinoma [J]. *J Appl Genet*, 2023, 64(4): 769-777.
 - [18] 郭超, 法楠, 黄景涛, 等. 肺腺癌中DNMT1表达和TFF1甲基化水平的相关性及临床意义[J]. *河北医学*, 2025, 31(3): 420-425.
 - [19] Zhao YS, Li Y, Wang SF, *et al.* The relationship between EGFR gain and VHL loss in lung adenocarcinoma and poor patient survival [J]. *Int J Clin Oncol*, 2011, 16(6): 679-685.
 - [20] Lin SY, Xu HL, Qin L, *et al.* UHRF1/DNMT1-MZF1 axis-modulated intragenic site-specific CpGI methylation confers divergent expression and opposing functions of PRSS3 isoforms in lung cancer [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2023, 13(5): 2086-2106.
 - [21] Xu SF, Zheng Y, Zhang L, *et al.* Long non-coding RNA LINC00628 interacts epigenetically with the LAMA3 promoter and contributes to lung adenocarcinoma [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 18: 166-182.
 - [22] 姜应传, 陈炳, 郭嘉波, 等. 5-氮杂-2-脱氧胞苷对MEG3启动子超甲基化逆转及膀胱癌细胞凋亡的作用[J]. *浙江医学*, 2021, 43(12): 1284-1286, 1294, 1368.

(责任编辑: 蒋铭敏)

解放军医学杂志®