

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.12.006

◇ 药物分析 ◇

# 一测多评法同时测定保肝丸中4个指标性成分的含量

任莹, 吕晓军, 李德林, 王虎

作者单位: 太和县中医院制剂室, 安徽 阜阳 236600

**摘要:**目的 建立一种一测多评法(QAMS)同时测定保肝丸中芍药苷、黄芩苷、五味子醇甲、大黄素4种指标性成分含量的方法,为其质量控制提供依据。方法 采用依利特 Hypersil ODS2 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);以乙腈和0.01%磷酸水溶液为流动相,梯度洗脱;流速为1.0 mL/min;柱温为30 ℃;检测波长分别为230 nm(芍药苷)、280 nm(黄芩苷)、254 nm(五味子醇甲、大黄素);以黄芩苷为内参物,建立其与芍药苷、五味子醇甲、大黄素之间的相对校正因子( $f_{i/m}$ );采用外标法计算保肝丸中黄芩苷的含量,通过 $f_{i/m}$ 计算芍药苷、五味子醇甲、大黄素的量,并将QAMS测定的结果与外标法测定的结果进行比较分析。结果 芍药苷、黄芩苷、五味子醇甲、大黄素在一定范围内浓度与峰面积呈良好的线性关系;精密性、稳定性、重现性等均符合方法学要求;在线性范围内,芍药苷、五味子醇甲、大黄素与黄芩苷之间的 $f_{i/m}$ 分别为1.42、0.344、0.332,且重现性良好;QAMS计算得到的各成分含量与外标法无明显差异,说明实验所得校正因子可信。结论 所建立的QAMS可作为保肝丸的质量控制方法。

**关键词:** 色谱法, 高压液相; 一测多评; 相对校正因子; 质量控制; 黄芩苷; 保肝丸

## Simultaneous determination of four index components in Baogan pills by a single marker

REN Ying, LYU Xiaojun, LI Delin, WANG Hu

Author Affiliation: Department of Pharmaceutics, Taihe County Hospital of Traditional Chinese Medicine, Fuyang, Anhui 236600, China

**Abstract: Objective** To develop a method for simultaneous determination of paeoniflorin, baicalin, schisandrin, emodin in Baogan pills by one-test-multiple-assessment method (QAMS) to provide a scientific basis for the quality control of Baogan pills. **Methods** Using Elite Hypersil ODS2 chromatographic column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), with acetonitrile and 0.01% phosphoric acid aqueous solution as mobile phase, gradient elution. The mobile phase flow rate was 1.0 mL/min. The temperature was 30 ℃. The detection wavelengths were 230 nm (paeoniflorin), 280 nm (baicalin), and 254 nm (schisandrin A, emodin), respectively. With baicalin as an internal reference, the relative correction factors ( $f_{i/m}$ ) of paeoniflorin, schisandrin, and emodinto baicalin were calculated, respectively. The content of baicalin was determined by external standard method and the contents of paeoniflorin, schisandrin, and emodin were calculated by  $f_{i/m}$ . The results between external standard method (ESM) and quantitative analysis of multi-components by a single marker (QAMS) method were compared. **Results** The standard curves of paeoniflorin, baicalin, schisandrin, emodin had good linear relationship in ranges of the tested concentrations. The precision, stability and repeatability complied with the requirements of methodology. Within a certain range, the  $f_{i/m}$  of paeoniflorin, schisandrin, and emodinto baicalin were 1.42, 0.344, 0.332, with good repeatability in different conditions. The  $f_{i/m}$  of the components was accurate and reliable, and there was no significant difference between QAMS and ESM method. **Conclusion** The QAMS method can be used for quality control of Baogan pills.

**Key words:** Chromatography, high pressure liquid; QAMS; Relative correction factor; Quality control; Baicalin; Baogan pills

一测多评法(quantitative analysis of multi-components by single-marker, QAMS)是指在对中药进行多指标评价时,以样品中某一组分(相对稳定、廉价、易得)为内标,建立该组分与其他组分之间的相对校正因子,通过校正因子计算其他组分的含量<sup>[1]</sup>。QAMS具有检测成本低、分析效率高等优点,一经提出,就在国内外引起巨大反响。自《中国药典》2010年版黄连项下首次采用QAMS测定4种生物碱含

量,至2015年版《中国药典》将该方法的应用扩展至提取物及中药制剂的多指标质量控制,新增丹参药材、生姜药材、咳特灵片、咳特灵胶囊、银杏叶胶囊等的典型成分含量测定<sup>[2]</sup>。近年来,QAMS应用于中药制剂质量控制的研究迅速增加,如芪白平肺颗粒<sup>[3]</sup>、咽立爽口含滴丸<sup>[4]</sup>、双清咽喉片<sup>[5]</sup>、五子衍宗丸<sup>[6]</sup>、舒血宁注射液<sup>[7]</sup>等,QAMS已经成为中药制剂最具发展潜力的质量控制及评价方法<sup>[8]</sup>。

保肝丸是太和县中医院国家级重点科室肝病临床应用多年的专用方,主要由党参、白芍、大黄等中药组成。保肝丸作为疗效显著且临床应用多年的医院传统中药制剂,亟须建立完善的质量控制及评价方法,为该制剂的物质基础研究和临床推广应用奠定基础。本研究于2018年6—12月以对照品便宜易得的黄芩苷为内标,建立保肝丸中主要药味的指标性成分芍药苷、五味子醇甲、大黄素含量的QAMS,以期为保肝丸的质量控制提供更全面可靠的依据,进而保证制剂质量,确保临床疗效。

## 1 仪器与试剂

UltiMate3000 高效液相色谱仪[二极管阵列检测器(DAD),赛默飞世尔科技有限公司]; Agilent1220 型高效液相色谱仪(紫外检测器,安捷伦科技有限公司); XP205DR 型十万分之一分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); KQ-500DE 超声波清洗仪(昆山超声仪器有限公司), 万能粉碎机(上海贺帆仪器有限公司)。

对照品黄芩苷(110715-201720), 芍药苷(110736-201640), 五味子醇甲(110857-201714), 大黄素(110756-201512)均购自中国食品药品检定研究院; 乙腈、甲醇,均为色谱纯,美国天地公司; 磷酸,分析纯,天津北方天医化学试剂厂; 哇哈哈纯净水。

保肝丸为太和县中医院中药制剂室生产,批号分别为20170826、20171012、20171221、20180127、20180306、20180509。缺味阴性样品均由中药制剂室自制。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 混合对照品溶液的制备** 分别取芍药苷、黄芩苷、五味子醇甲、大黄素对照品适量,精密称定,加甲醇制成浓度分别为0.683 1、0.442 1、0.374 5、0.368 1 g/L的对照品储备液。分别精密吸取芍药苷、黄芩苷、五味子醇甲、大黄素储备液0.1、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 mL置10 mL容量瓶中,加甲醇定容制成6个质量浓度不同的混合对照品溶液,分别编号1、2、3、4、5、6。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 取保肝丸适量,粉碎,过四号筛,精密称取约1 g,加甲醇25 mL,称重,超声处理30 min,放冷,称重,用甲醇补足减失的质量,摇匀,用0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

**2.1.3 保肝丸缺白芍溶液的制备** 按保肝丸的制备工艺制得缺白芍的阴性样品,按“2.1.2”项下的制备方法制备缺白芍阴性供试液。

**2.1.4 保肝丸缺黄芩溶液的制备** 按保肝丸的制备工艺制得缺黄芩的阴性样品,按“2.1.2”项下的制备方法制备缺黄芩阴性供试液。

**2.1.5 保肝丸缺五味子溶液的制备** 按保肝丸的制备工艺制得缺五味子的阴性样品,按“2.1.2”项下的制备方法制备缺五味子阴性供试液。

**2.1.6 保肝丸缺大黄溶液的制备** 按保肝丸的制备工艺制得缺大黄的阴性样品,按“2.1.2”项下的制备方法制备缺大黄阴性供试液。

**2.2 色谱条件** UltiMate3000 高效液相色谱仪,依利特Hypersil ODS2 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),以乙腈和0.01%磷酸水溶液为流动相,梯度洗脱,梯度洗脱时间及比例见表1,流速1.0 mL/min,柱温30 ℃,分段变波长测定0~25 min, 230 nm、>25~50 min, 280 nm、>50~90 min, 254 nm。

表1 UltiMate3000 高效液相色谱仪梯度洗脱时间表

时间/min	乙腈/%	0.1%磷酸/%
0~15	5→15	95→85
>15~30	15→20	85→80
>30~45	20→28	80→72
>45~60	28→47	72→53
>60~75	47→67	53→33
>75~90	67→77	33→23

### 2.3 方法学考察

**2.3.1 专属性考察** 按“2.2”色谱条件,分别精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液、各缺味阴性对照溶液,依次注入高效液相色谱仪,记录色谱图,结果显示,各阴性对照均无干扰(图1),说明该方法专属性较好。

**2.3.2 线性关系考察** 分别精密吸取“2.1.1”项下系列混合对照品溶液各5 μL,注入高效液相色谱仪。以进样量为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,得各成分的回归方程、相关系数,具体见表2。

表2 混合对照品溶液4种成分线性关系考察结果

成分	回归方程	相关系数	线性范围/μg
芍药苷	$Y = 16.711X - 0.00217$	0.9999	0.034155~0.6831
黄芩苷	$Y = 23.471X - 0.00509$	0.9998	0.022105~0.4421
五味子醇甲	$Y = 68.324X - 0.00745$	0.9998	0.018725~0.3745
大黄素	$Y = 70.869X - 0.01062$	0.9996	0.018405~0.3681

**2.3.3 精密度试验** 取保肝丸样品(批号20180127),按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,连续进样6次,记录芍药苷、黄芩苷、五味子醇甲、大黄素的峰面积,计算各成分峰面积的相对标准偏差

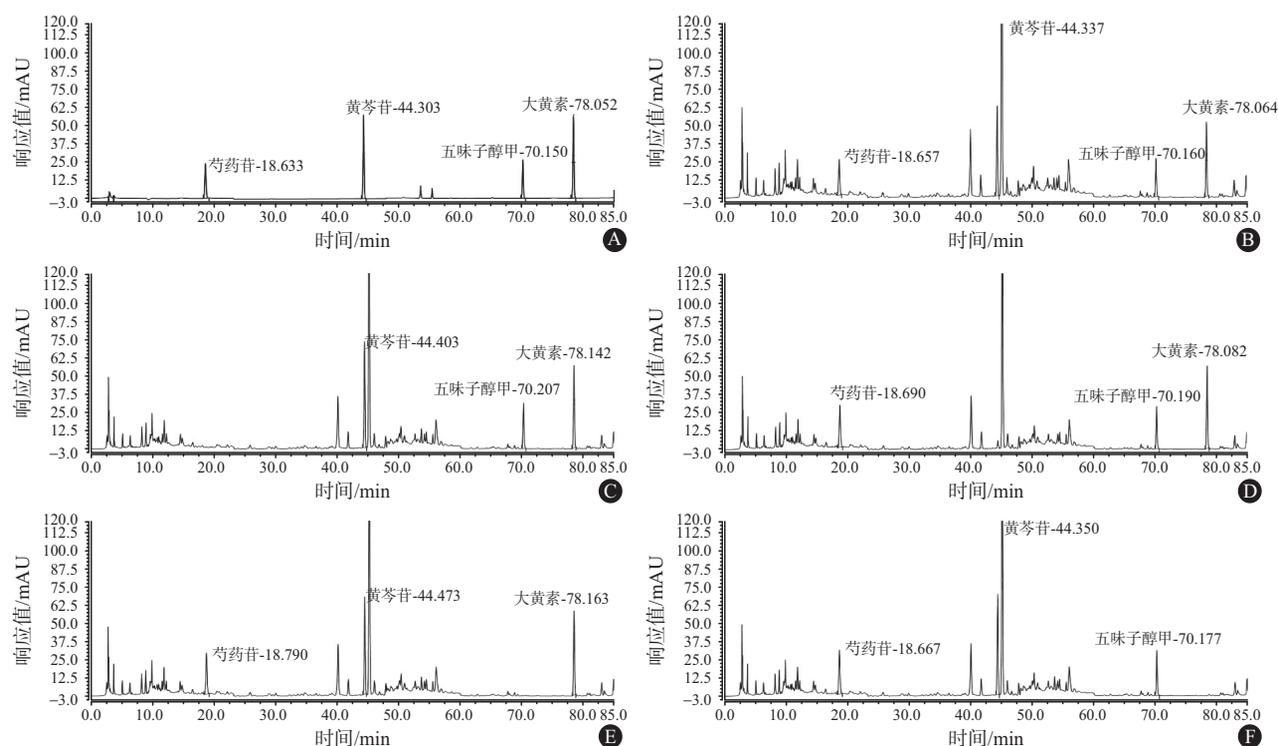


图1 混合对照品(A)、保肝丸供试品(B)、缺白芍对照(C)、缺黄芩对照(D)、缺五味子对照(E)、缺大黄对照(F)的高效液相色谱图

(RSD)分别为0.34%、0.62%、0.21%、0.22%，表明仪器精密度良好。

**2.3.4 重复性试验** 取保肝丸样品(批号20180127),按照“2.1.2”项下方法平行制备供试品溶液6份,分别进样,记录各色谱峰的峰面积。计算结果显示芍药苷、黄芩苷、五味子醇甲、大黄素的平均含量分别为1.708、1.106、0.935、0.921 mg/g, RSD分别为1.02%、0.87%、1.16%、0.68%,表明该方法的重复性良好。

**2.3.5 稳定性试验** 取保肝丸样品(批号20180127),按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,分别于样品制备后0、2、4、8、12、24 h进样,记录各色谱峰的峰面积。计算得芍药苷、黄芩苷、五味子醇甲、大黄素峰面积的RSD分别为0.65%、0.79%、1.04%、0.92%,表明供试品溶液在24 h内较为稳定。

**2.3.6 加样回收率试验** 取保肝丸样品(批号20180127)6份,每份约0.5 g,精密称定,加入一定量对照品溶液,使样品中待测成分量与对照品加入量大致相等,按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,进样并记录各色谱峰的峰面积。计算得芍药苷、黄芩苷、五味子醇甲、大黄素的平均加样回收率分别为98.65%、101.23%、99.32%、97.58%, RSD分别为1.26%、1.04%、1.35%、1.13%。表明该方法准确度较高。

## 2.4 相对校正因子的确定

**2.4.1 相对校正因子的测定** 本实验采用多点校

正法<sup>[1]</sup>,取“2.1.1”项下制备的系列混合对照品溶液,按照“2.2”项下色谱条件分别进样5  $\mu\text{L}$ ,记录各对照品色谱峰面积,按照公式 $f_{i/m} = f_i/f_m = (W_i \times A_m)/(W_m \times A_i)$ (式中 $A_i$ 为内参物的峰面积, $W_i$ 为内参物的质量或浓度; $A_m$ 为待测物的峰面积, $W_m$ 为待测物的质量或浓度),以黄芩苷为内参物,分别计算芍药苷、五味子醇甲、大黄素的相对校正因子<sup>[9]</sup>,结果见表3。

表3 指标性成分的相对校正因子

进样浓度编号	芍药苷	五味子醇甲	大黄素
1	1.43	0.342	0.333
2	1.41	0.344	0.332
3	1.41	0.343	0.331
4	1.42	0.344	0.331
5	1.41	0.344	0.331
6	1.42	0.345	0.332
平均值	1.42	0.344	0.332
相对标准偏差/%	0.6	0.3	0.2

**2.4.2 不同仪器和色谱柱对校正因子的影响** 分别采用赛默飞UltiMate3000、Agilent1220型高效液相色谱仪;依次利用依利特Hypersil ODS2、Thermo Syncrois C18、Agilent ZORBAX SB C18色谱柱,取系列对照品进样检测,按照“2.4.1”项下公式,计算各成分的相对校正因子,考察不同色谱仪器和色谱柱对各待测成分的相对校正因子的影响,结果见表4、5。结果表明不同仪器和不同色谱柱对各成分的相对校正因子无明显影响。

表4 不同仪器对相对校正因子的影响

色谱柱	仪器	芍药苷	五味子醇甲	大黄素
依利特 Hypersil ODS2	UltiMate3000	1.429	0.344	0.332
	Agilent1220	1.440	0.346	0.331
	相对标准偏差/%	0.5	0.4	0.2
Thermo Syncrois C18	UltiMate3000	1.431	0.345	0.333
	Agilent1220	1.452	0.347	0.332
	相对标准偏差/%	1.0	0.4	0.2
Agilent ZORBAX SB C18	UltiMate3000	1.443	0.346	0.332
	Agilent1220	1.432	0.344	0.331
	相对标准偏差/%	0.5	0.4	0.2

表5 不同色谱柱对相对校正因子的影响

仪器	色谱柱	芍药苷	五味子醇甲	大黄素
UltiMate3000	依利特 Hypersil ODS2	1.429	0.344	0.332
	Thermo Syncrois C18	1.431	0.345	0.333
	Agilent ZORBAX SB C18	1.443	0.346	0.332
	相对标准偏差/%	0.5	0.3	0.2
	Agilent1220	依利特 Hypersil ODS2	1.440	0.346
Agilent1220	Thermo Syncrois C18	1.452	0.347	0.332
	Agilent ZORBAX SB C18	1.432	0.344	0.331
	相对标准偏差/%	0.7	0.4	0.2

**2.5 样品测定及准确性验证** 分别采用外标法和一测多评法(QAMS)测定6批保肝丸中4种指标性成分芍药苷、黄芩苷、五味子醇甲、大黄素的含量,并将两种方法的计算结果进行比较,结果表明外标法和本实验建立的一测多评法所得结果无明显差异,各待测成分的相对校正因子可靠,该一测多评法准确度较高。见表6。

### 3 讨论

中药具有多成分、多靶点的作用特点,中药的多种活性成分是其发挥疗效的物质基础,因此多成分的质控模式已成为中药质量控制的重点<sup>[10-12]</sup>。本实验测定的4种成分芍药苷、黄芩苷、五味子醇甲、大黄素是处方中主要指标性成分。研究表明黄芩

苷能改善炎症及肝细胞凋亡,减轻肝细胞损伤程度,且效果与黄芩苷用量相关<sup>[13]</sup>,另有动物实验表明黄芩苷对肝纤维化的发生和发展具有抑制作用<sup>[14]</sup>;芍药苷能抑制肝损伤中炎性因子的产生,提高肝组织中胆盐输出泵(BSEP)和多药耐药蛋白(MRP2)的表达<sup>[15-16]</sup>;五味子醇甲能抗氧化、对肝损伤具有保护作用<sup>[17]</sup>;大黄素能降低肝细胞炎症反应,减少肝细胞凋亡,进而减轻肝细胞损伤程度<sup>[18]</sup>,对胆汁淤积引起的肝损伤具有保护作用<sup>[19]</sup>。

本实验测定的4种指标性成分,化学结构差异较大,为能够同时分离检测4种成分,对各实验条件及参数进行了反复摸索。首先采用单因素变量法考察了提取条件,包括提取溶剂、提取方式、提取时间,优选出25倍甲醇超声处理30 min。其次,流动相方面选择洗脱能力较强的乙腈和0.1%磷酸水溶液,各个目标峰均能达到较好的分离度且峰型较好。最后检测波长考察,根据4种成分的紫外全波长扫描结果,选择分段检测,即230 nm检测芍药苷,280 nm检测黄芩苷,254 nm检测五味子醇甲和大黄素。

该实验利用梯度洗脱的方法使4种成分均能达到较高的分离度,并通过专属性实验证明各成分的含量测定均无干扰;选择DAD检测器进行分波段检测,虽然化学结构差异较大,各成分仍能有较高的信号相应,精密度较高;同时线性关系考察结果显示在一定范围内各成分的峰面积与进样量呈良好线性关系;加样回收实验的结果显示含量测定的准确度较高。以上试验作为该方法的前期方法学考察,显示了该方法在分离检测上的准确性和可靠性,为下一步的数学模式分析奠定基础。QAMS是以一种组分为内参,通过建立其与其他待测成分的相对校正因子,实现以一种对照品同时测定多个指标成分的目的。故相对校正因子是影响QAMS的准确度的决定性因素,而实际运用中,待测组分的浓度及色谱系统因素均会对相对校正因子产生影响。实验在充分考虑浓度因素的情况下,运用多点校正

表6 4种指标性成分外标法和一测多评法(QAMS)定量测定结果/(mg/g)

批号	芍药苷			黄芩苷			五味子醇甲			大黄素		
	外标法	QAMS	RSD/%	外标法	外标法	QAMS	RSD/%	外标法	QAMS	RSD/%		
20170826	1.714	1.716	0.083	1.136	0.938	0.944	0.451	0.932	0.935	0.227		
20171012	1.726	1.730	0.164	1.123	0.930	0.936	0.455	0.917	0.922	0.385		
20171221	1.731	1.734	0.122	1.121	0.947	0.951	0.298	0.933	0.937	0.303		
20180127	1.709	1.713	0.165	1.107	0.935	0.938	0.227	0.921	0.925	0.306		
20180306	1.734	1.736	0.082	1.106	0.937	0.941	0.301	0.923	0.926	0.229		
20180509	1.735	1.737	0.082	1.128	0.944	0.947	0.224	0.930	0.934	0.303		

注:一测多评法(QAMS)以黄芩苷为内参物;RSD为相对标准偏差

法<sup>[1]</sup>计算相对校正因子;并进一步重点考察了不同色谱仪、不同色谱柱的相对校正因子,结果显示RSD均小于2%,表明该方法的系统适应性较好。最后,通过比较外标法和QAMS的测定结果,两种方法无明显差异,说明各待测成分的相对校正因子可靠,该QAMS准确度较高。

综上,本实验建立了以黄芩苷为对照品,同时测定保肝丸中芍药苷、黄芩苷、五味子醇甲、大黄素4种指标性成分的方法,与常规的一测一评法比较大降低了质控的成本,缩短了检测周期,经验证该方法专属性强、重复性好,准确度高,为保肝丸的全面质量控制提供了更为便捷经济的途径。

### 参考文献

- [1] 王智民,钱忠直,张启伟,等.一测多评法建立的技术指南[J].中国中药杂志,2011,36(6):657-658.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2015年版一部[M].北京:中国医药科技出版社,2015.
- [3] 靳瑞婷,杨素德,付娟,等.一测多评法测定芪白平肺颗粒中8种皂苷类成分[J].中草药,2015,46(24):3682-3686.
- [4] 游正琴,罗奕,吴琳琳,等.一测多评法测定咽立爽口含滴丸中的4种成分[J].中成药,2016,38(5):1180-1183.
- [5] 何兵,刘艳,杨世艳,等.HPLC一测多评法同时测定双青咽喉片中10种成分[J].中草药,2013,44(8):974-981.
- [6] 董秋菊,周园,冯薇,等.指纹图谱结合一测多评法在五子衍宗丸质量评价中的应用[J].中药材,2019,42(3):579-583.
- [7] 陈晶晶,周媛,黄晓蕾,等.基于一测多评的舒血宁注射液定量测定方法研究[J].中草药,2016,47(11):1890-1896.
- [8] 秦昆明,杨冰,胡静,等.一测多评法在中药多组分质量控制中

的应用现状与思考[J].中草药,2018,49(3):725-731.

- [9] 何兵,杨世艳,张燕.一测多评中待测成分校正和定位的新方法研究[J].药学报,2012,47(12):1653-1659.
- [10] KONG M, LIU HH, XU J, et al. Quantitative evaluation of Radix Paeoniae Alba sulfur-fumigated with different durations and purchased from herbal markets: simultaneous determination of twelve components belonging to three chemical types by improved high performance liquid chromatography - diode array detector [J]. J Pharm Biomed Anal, 2014, 98:424-433.
- [11] 刘艳,吁海超,章军,等.以质量为核心的优质中成药评价标准研究[J].中国中药杂志,2018,43(21):4356-4360.
- [12] 陈振华,刘苏珍,周斌,等.浅谈中药质量标准现状与几种质量评价方法[J].时珍国医国药,2016,27(3):694-696.
- [13] 孙庆宇,朱晟,胡玉霆,等.黄芩苷对急性胆道感染大鼠血清炎症指标及肝细胞损伤的影响[J].中华医院感染学杂志,2019,29(18):2726-2730.
- [14] 吴雄健.黄芩苷通过上调miR-3595靶向ACSL4表达抑制大鼠肝纤维化的机制研究[D].广州:南方医科大学,2018.
- [15] ZHAO Y, HE X, MA X, et al. Paeoniflorin ameliorates cholestasis via regulating hepatic transporters and suppressing inflammation in ANIT-fed rats[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 89:61-68.
- [16] 郭心怡,尹昕茹,袁红梅,等.芍药苷减轻四氯化碳诱导的急性肝损伤[J].基因组学与应用生物学,2018,37(8):3693-3698.
- [17] 王陈萍,宣东平,陈霞,等.五味子醇甲和五味子甲素对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤的保护作用及机制[J].中国临床药理学杂志,2019,35(8):791-794.
- [18] 寇小妮,解新科,郝明霞,等.基于SIRT3/FXO1信号通路探讨大黄素对NASH大鼠肝细胞损伤和肝组织炎症的影响[J].肝脏,2019,24(5):510-514.
- [19] 陈志霖.大黄素通过FXR/BSEP信号通路干预胆汁淤积的机制研究[D].武汉:华中科技大学,2019.

(收稿日期:2019-09-22,修回日期:2019-10-27)

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.12.007

◇ 临床医学 ◇

## 卵圆细胞恶性转化相关差异性甲基化基因的筛选及验证

汪鑫<sup>a</sup>, 闫亮亮<sup>b</sup>, 安然<sup>a</sup>, 程亚<sup>a</sup>, 王恒毅<sup>a</sup>

作者单位:安徽医科大学第一附属医院,<sup>a</sup>急诊外科,<sup>b</sup>风湿免疫科,安徽 合肥 230032

通信作者:王恒毅,男,副主任医师,硕士生导师,研究方向为肝癌的发育生物学机制,E-mail:why00606@sina.com

基金项目:安徽省自然科学基金资助项目(1608085QH182)

**摘要:**目的 通过对卵圆细胞恶性转化相关差异性甲基化基因的筛选及验证,初步探索卵圆细胞发生恶性转化的表观遗传学调控机制。方法 利用简化甲基化测序(Reduced representation bisulfite sequencing, RRBS)对转染肝细胞癌基因HBV X(HBX)发生恶性转化的卵圆细胞(HBX-LE6)与正常大鼠肝卵圆细胞(LE6)进行甲基化测序,获得差异性甲基化区域(Differentially methylated region, DMR)与相关差异性甲基化基因(Differentially methylated gene, DMG),通过实时定量聚合酶链反应(Real-time qPCR)、蛋白质印迹法(Western Blot)、甲基化特异性聚合酶链反应(methylation specific polymerase chain reaction, MSP)进行检测,验证甲基化对DMG表达的调控作用。结果 共筛选相关DMR 1 434个,其中高甲基化DMR 623个(位于启动子128个);低甲基化DMR 811个(位于启动子216个),DMG共1 987个。挑选启动子均存在高甲基化DMR的相关基因如泛素特异性蛋白酶18基因(USP18)、有丝分裂原活化蛋白激酶激酶6(MAP3K6)、SWI/SNF染色质重塑复合物(SMARCB1)、表