

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.02.018

· 临床研究 ·

贲门腺癌中 *DACT-1* 基因的甲基化状态及其临床意义

郭艳丽,周珍,郭炜,邝钢,杨植彬,董稚明(河北医科大学第四附属医院,河北省肿瘤研究所病理研究室,河北石家庄 050011)

[摘要] **目的:** 检测贲门腺癌(gastric cardia adenocarcinoma, GCA)及相应癌旁非肿瘤组织中 β -环连蛋白抑制基因1(dishevelled-binding antagonist of beta-catenin 1, *DACT-1*)的甲基化状态,并探讨其临床意义。**方法:** 应用甲基化特异性PCR(methylation specific PCR, MSP)、定量RT-PCR的方法分别检测112例贲门腺癌(河北医科大学第四医院外科和磁县肿瘤医院胸外科于2006-2014年收治)及相应癌旁非肿瘤组织中*DACT-1*基因的甲基化状态及其mRNA表达情况。**结果:** 在贲门腺癌组织中,*DACT-1*基因的甲基化率为51.8%(58/112),癌旁非肿瘤组织中该基因的甲基化率为17.6%(20/112),癌组织中*DACT-1*基因发生甲基化的频率明显高于癌旁非肿瘤组织($P < 0.01$);癌组织中*DACT-1*基因mRNA的表达量为 0.580 ± 0.143 ,明显低于癌旁非肿瘤组织($0.654 \pm 0.110, P < 0.01$);在*DACT-1*基因甲基化的贲门癌组织中该基因mRNA的表达量为 0.488 ± 0.097 ,明显低于该基因未甲基化的贲门癌组织(0.675 ± 0.120),且该基因甲基化状态与其mRNA表达量相关($P < 0.01$)。癌组织中*DACT-1*基因的高甲基化状态与肿瘤患者的淋巴结转移情况及上消化道肿瘤家族史有关($P < 0.05$),而与肿瘤患者的年龄、性别及肿瘤组织的病理分级、临床分期均无关($P > 0.05$)。**结论:** 贲门腺癌中基因CpG岛的高甲基化可能是*DACT-1*基因表达下调的机制之一;*DACT-1*基因启动子区的甲基化状态有望为贲门腺癌临床辅助诊断和预后评估提供新的指标。

[关键词] β -环连蛋白抑制基因1;甲基化;贲门腺癌

[中图分类号] R735.2; R730.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2016)02-0261-06

Methylation status of *DACT-1* gene and its clinical significance in gastric cardia adenocarcinoma

GUO Yanli, ZHOU Zhen, GUO Wei, KUANG Gang, YANG Zhibin, DONG Zhiming (Pathology Laboratory of Hebei Cancer Institute, the Fourth Hospital Affiliated to Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To detect the methylation status of dishevelled-binding antagonist of beta-catenin 1 (*DACT-1*) gene in gastric cardia adenocarcinoma (GCA) tissues and adjacent non-cancerous tissues, and to study its clinical significance. **Methods:** Methylation specific PCR (MSP) and quantitative RT-PCR were respectively applied to examine the CpG methylation of the *DACT-1* gene and expression of its mRNA in tumor tissues and corresponding adjacent noncancerous tissues of 112 samples (collected from Department of Surgery, the Fourth Hospital Affiliated to Hebei Medical University and Department of Thoracic Surgery, Cixian Cancer Hospital during 2006 to 2014). **Results:** Methylation rates of *DACT-1* gene in the GCA tissues and the adjacent noncancerous tissues were 51.8% (58/112) and 17.6% (20/112) respectively, indicating that methylation rate of *DACT-1* in the GCA tissues was significantly higher than that in the noncancerous tissues ($P < 0.01$). Expression of *DACT-1* mRNA in the cancer tissues was 0.580 ± 0.143 , which was significantly lower than that in the adjacent noncancerous tissues ($0.654 \pm 0.110, P < 0.01$). Expression of *DACT-1* mRNA in the GCA tissues with methylated *DACT-1* was 0.488 ± 0.097 , which was obviously lower than that in the GCA tissues with unmethylated *DACT-1* (0.675 ± 0.120), and the methylation status of the gene was significantly related with expression of its mRNA ($P < 0.01$). The hypermethylation of *DACT-1* gene in the GCA tissues was significantly related with lymph node metastasis and family history of upper gastrointestinal cancer ($P < 0.05$), but not related with age, gender, pathological grading and clinical staging of the cancer patients ($P > 0.05$). **Conclusion:** The hypermethylation of CpG in *DACT-1* gene

[基金项目] 河北自然科学基金资助项目(No. H2013206315);河北省医学科学研究重点课题计划项目(No.20130543)。Project supported by Natural Science Foundation of Hebei Province (No. H2013206315) and Program of Medical Science Research Key Subject of Hebei Province (No. 20130543)

[作者简介] 郭艳丽(1980-),女,河北省邯郸市人,硕士,主要从事肿瘤病因学研究,E-mail:yanli800224@163.com

[通信作者] 董稚明(DONG Zhiming, corresponding author),E-mail: dongzhiming2000@aliyun.com

[优先发表] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20160331.2035.016.html>

might be one of the mechanisms causing down-regulation of *DACT-1* expression. The methylation status of promoter area in *DACT-1* gene is expected to provide a novel indicator for the clinical diagnosis and prognosis evaluation of GCA.

[**Key words**] dishevelled-binding antagonist of beta-catenin 1 (*DACT-1*) gene; methylation; gastric cardia adenocarcinoma (GCA)

[Chin J Cancer Biother, 2016, 23(2): 261-266. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.02.018]

DACT-1 是新近发现的肿瘤抑制基因, 被认为与多条信号转导通路, 尤其是 Wnt 信号通路密切相关^[1-2]。研究^[3-4]表明 *DACT-1* 基因可通过与 Dishevelled 因子的相互作用促进其降解, 从而调控 Wnt 信号, 进而参与肿瘤的发生和发展, 故该基因可能成为肿瘤基因治疗的新靶点。近年发现多种肿瘤中均存在该基因的表达异常, 但其在贲门癌中的表达情况及在肿瘤中表达异常的具体机制尚未完全阐明。本研究利用 RT-PCR 及 MSP 方法检测了 112 例贲门癌及相应癌旁非肿瘤组织中 *DACT-1* 基因 mRNA 表达情况及基因启动子区甲基化状态, 探讨引起该基因表达异常的可能机制及可能的临床意义, 以期为贲门腺癌患者提供有价值的临床辅助诊断及预后评估指标。

1 材料与方法

1.1 研究对象和主要试剂

选择河北医科大学第四医院及磁县肿瘤医院胸外科 2006-2014 年收治的贲门癌患者 112 例, 其中男性 68 例, 女性 44 例, 平均年龄 58.3 岁 (38~75 岁)。所有患者均知情同意, 并经伦理委员会评审通过。全部患者术前均未经化疗和放疗。每例患者取癌组织原发灶和距癌组织 2~5 cm 处的癌旁非肿瘤组织各一份。所取标本一部分在 -80℃ 低温冰箱保存, 作提取 DNA 及 RNA 备用; 另一部分进行石蜡包埋, 常规 H-E 染色, 用于证实癌旁为非肿瘤组织及癌组织为贲门腺癌。

实验用氢醌和亚硫酸氢钠均购自美国 Sigma 公司; Wizard DNA 纯化试剂盒购自 Promega 公司, 甲基转移酶 (M. Sss I) 购自北京美科美生物技术开发有限公司, TRIzol 试剂购自上海捷瑞生物工程有限公司, 逆转录试剂盒 (Reverse Transcription System A3500) 购自 Promega 公司。本研究所用全部引物均由北京赛百胜基因技术有限公司合成。

1.2 MSP 法检测 *DACT-1* 基因甲基化状态

采用酚/氯仿抽提法提取 DNA, 所提 DNA 用分光光度计定量后, 取适量 DNA 用氢氧化钠 (2 mol/L) 变性处理, 再与氢醌 (10 mmol/L) 和亚硫酸氢钠 (3 mmol/L) 混合于 50℃ 反应 16 h, 随后用 DNA 纯

化试剂盒纯化变性 DNA。

应用 UCSC 基因序列检索软件检索 *DACT-1* 基因启动子区及第一外显子区基因序列, 结合 Methprimer 软件预测该基因的 CpG 岛, 发现在 -543 bp ~ +480 bp 间存在一个跨度为 1 023 bp 的较大 CpG 岛 (图 1 灰色部分 Island1), 包括多个 CG 位点。为了检测关键性 CG 位点的甲基化情况, 应用 Alibaba 转录因子预测软件, 选择可能与重要转录因子结合的 CG 位点 (图 2)。利用 Methprimer 软件设计用于 MSP 检测的 *DACT-1* 基因甲基化及非甲基化引物 (表 1), 引物对应的基因序列在图 1 中用加粗标出, 上游引物包含了 -33、-18、-15 三个 CG 位点, 下游引物包含了 +67、+69、+73、+84 四个 CG 位点 (以转录起始点为 +1)。以这 7 个 CG 位点的甲基化情况来推测整个基因的甲基化状态。图 1 中标出了 *DACT-1* 基因转录起始点上游 1 000 bp、第一外显子区、第一内含子中 CpG 岛的分布情况及部分基因序列, 加粗字体标出了 MSP 检测所用到的引物在基因序列中的位置。图 2 标出了上下游引物中所含盖的 7 个 CG 位点可能结合到的转录因子情况。MSP 反应条件为 95℃ 10 min; 94℃ 40 s + 40 s; 72℃ 40 s, 35 个循环后, 72℃ 10 min。设甲基化酶 (M. Sss I) 处理的基因组 DNA 为甲基化阳性对照, 非肿瘤患者正常人外周血 DNA 为非甲基化阳性对照, 灭菌双蒸水为阴性对照。随机选取 10% 标本作重复实验。

1.3 定量 RT-PCR 法检测 *DACT-1* mRNA 表达水平

按 TRIzol 试剂说明书提取贲门癌组织及癌旁非肿瘤组织总 RNA, 并参照逆转录试剂盒操作说明将 RNA 逆转录成 cDNA。用于检测 *DACT-1* 基因 mRNA 的引物及内参引物见表 1。PCR 反应条件为: 95℃ 3 min; 94℃ 45 s + 45 s; 72℃ 45 s, 35 个循环后再 72℃ 5 min。PCR 产物进行 2% 琼脂糖凝胶电泳, GAPDH 作为内参照。

1.4 统计学处理

数据统计分析采用 SPSS 软件包 (19.0 版)。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两个独立样本和两组间配对差异比较用 *t* 检验, 各组间差异比较用 χ^2 检验。 *P* < 0.05 为有统计学意义。

2 结果

2.1 贲门腺癌组织中 *DACT-1* 基因甲基化率高于癌旁组织

检测结果可分为三种情况:(1)甲基化引物(M)扩增出目的条带,而非甲基化引物(U)未扩增出目的条带,说明该基因上下游引物所含盖的7个CG位点(即关键性CG位点)发生了甲基化(图3B, case3 T);(2)非甲基化引物扩增出目的条带,而甲基化引物未扩增出目的条带,说明该基因上下游引物所含盖的7个CG位点未发生甲基化(图3B,

case2 T,N, case3N);(3)若甲基化及非甲基化引物均扩增出目的条带,说明该基因的这7个CG位点发生了不完全甲基化(图3B, case1 T,N),此种情况亦计入甲基化进行统计。结果显示贲门腺癌组织中 *DACT-1* 基因发生关键性CG位点甲基化的例数为58例,未发生甲基化的例数为54例,其甲基化发生率为51.8%(58/112);相应癌旁非肿瘤组织中仅有20例发生了该基因的甲基化现象,其甲基化发生率为17.6%(20/112),显著低于贲门腺癌组织($\chi^2 = 28.403, P = 0.000$) (图3)。

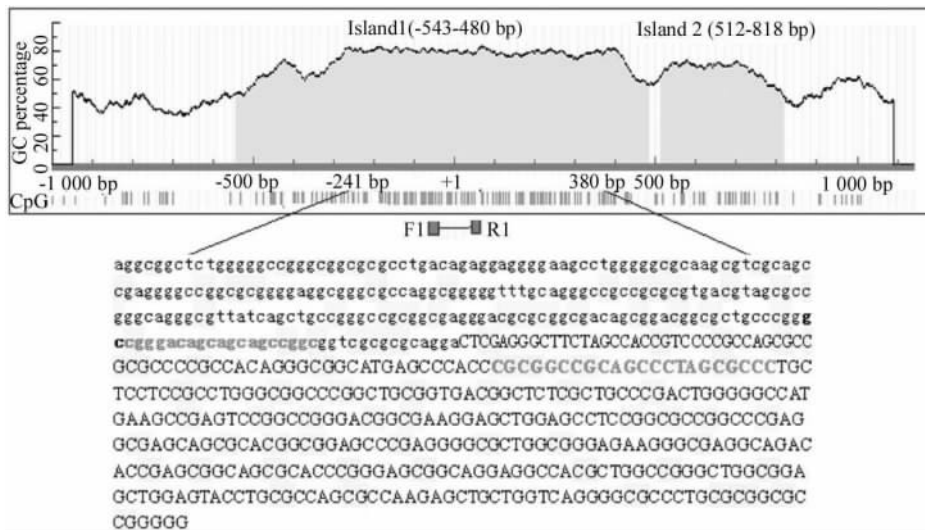


图1 *DACT-1* 基因启动子及第一外显子 CpG 岛分布图

Fig.1 Distribution of CpG islands in promoter and exon 1 region of the *DACT-1* gene

The MSP primers were highlighted in blod. The first exons was showed in upper case, the promoter was showed in lower case. The transcription start point as “+1”.

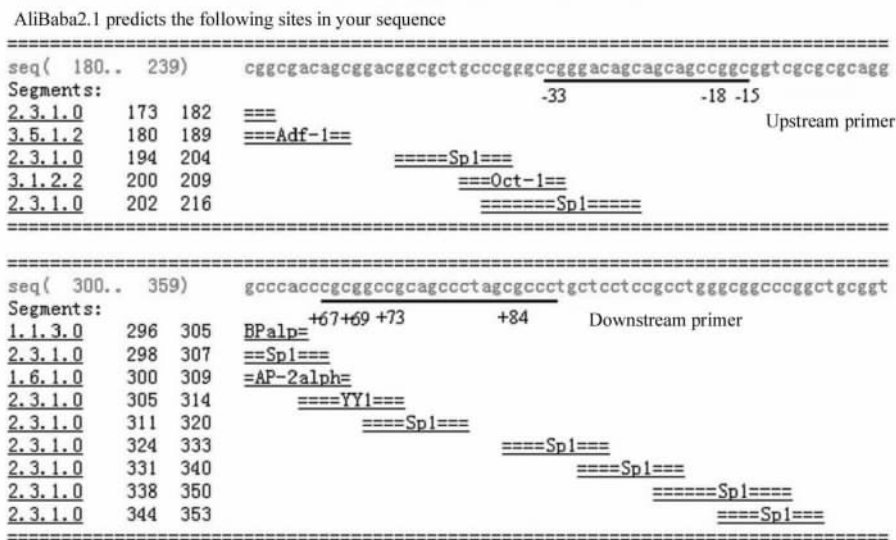


图2 Alibaba 软件预测 *DACT-1* 基因上下游引物包含的 CG 位点可能结合的转录因子

Fig.2 Transcription factors combined with CG site of upstream primer and downstream primer of *DACT-1* gene predicted by Alibaba software

表1 *DACT-1* 基因 PCR 引物, 退火温度及产物大小

Tab. 1 Primer sequences, annealing temperature and product sizes of the *DACT-1* gene

Type	Primer sequence	Annealing temperature (t/°C)	Product size (bp)
MSP			
<i>DACT1</i>			
Methylation	F: 5'-CGGGATAGTAGTAGTCGGC-3' R: 5'-CGCTAAAACACTACGACCGC-3'	59	118
Unmethylation	F: 5'-GTTGGGATAGTAGTAGTTGGT-3' R: 5'-AAACTACTAAAACACTACAACCACA-3'	58	123
RT-PCR			
<i>DACT1</i>	F: 5'-CACAAGCGAACTGACTACCG-3' R: 5'-GTAATGCTCTGCTCGTCCT-3'	55	237
<i>GAPDH</i>	F: 5'-AGGTGAAGGTCGGAGTCAACG-3' R: 5'-AGGGTTCATTCATGGCAACA-3'	57	104

2.2 *DACT-1* 基因甲基化与贲门癌患者淋巴结转移及上消化道肿瘤家族史有相关性

DACT-1 基因关键性 CG 位点发生甲基化的频率在有淋巴结转移组明显高于无淋巴结转移组 ($\chi^2 = 8.060, P = 0.005$), 而该基因的甲基化状态与肿瘤患者的年龄、性别、肿瘤组织的病理分级及患者的临床分期(TNM stage)均无关 ($P > 0.05$)。

将家族中有 1 名以上一级亲属和/或 2 名以上二级亲属患食管癌/贲门癌/胃癌者定义为上消化道肿瘤(upper gastrointestinal cancer, UGIC)家族史阳性。在本次检测的 112 例贲门癌患者中, 有 14 例患者有上消化道肿瘤家族史, 其中有 11 例呈现 *DACT-1* 基因的高甲基化状态, 占 78.6%, 明显高于无上消化道肿瘤家族史患者(48.0%), 该基因的甲基化状态与贲门癌患者上消化道家族史有关 ($\chi^2 = 4.598, P = 0.032$) (表 2)。

2.3 贲门腺癌中 *DACT-1* 基因 mRNA 表达低于相应癌旁非肿瘤组织

112 例贲门癌及相应癌旁非肿瘤组织均成功进行了定量 RT-PCR 检测, 结果显示贲门癌组织中 *DACT-1* 基因 mRNA 的表达量为 0.580 ± 0.143 , 癌旁非肿瘤组织中该基因的表达量为 0.654 ± 0.110 , 癌组织该基因的表达量显著低于癌旁非肿瘤组织 ($t = -4.370, P = 0.000$) (图 3)。

2.4 *DACT-1* 基因甲基化状态与其 mRNA 表达量具有相关性

58 例发生 *DACT-1* 基因关键性 CG 位点甲基化的贲门癌组织中, 其 mRNA 表达量为 0.488 ± 0.097 , 而 54 例未发生该基因甲基化的贲门癌组织中, 其 mRNA 表达量为 0.675 ± 0.120 , 显著高于发生该基因甲基化的贲门癌组织 ($t = -9.094, P = 0.000$), 说明该基因的甲基化状态与其 mRNA 的表达量有关。

表2 *DACT-1* 基因甲基化状态与各临床病理指标的关系

Tab. 2 Relationship of *DACT-1* gene methylation with clinicopathologic features of the patients

Group	GCA			χ^2	P
	n	M	U		
Age (t/a)					
<60	49	27	22	0.384	0.536
≥60	63	31	32		
Gender					
Male	68	31	37	2.663	0.103
Female	44	27	17		
Histopathological grade					
Well	31	14	17	0.753	0.385
Poor	81	44	37		
Lymph node metastasis					
+	71	44	27	8.060	0.005
-	41	14	27		
TNM stage					
I	10	6	4	0.803	0.849
II	12	5	7		
III	49	26	23		
IV	41	21	20		
UGIC					
Positive	14	11	3	4.598	0.032
Negative	98	47	51		

M: methylated gene; U: Unmethylated gene

3 讨论

DACT-1 基因作为新近发现的肿瘤抑制因子, 其基因定位于人类染色体的 14q22.3 上, 编码 Dapper 蛋白, 主要参与影响胚胎发育和肿瘤形成的信号通路, 如经典的和非经典的 Wnt^[2,3]、TGF- β ^[3,5] 及

NF- κ B^[6]等信号通路,尤其与经典的 Wnt/ β -catenin 信号通路关系更为密切。在胚胎发育过程中 *DACT1* 通过与 Wnt 通路中的 Dishevelled 因子相互

作用促进其降解,减弱由 axin、GSK3 β 等组成的降解复合物降解通路中心因子 β -catenin,抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路活化,抑制肿瘤的发生发展^[1-2]。

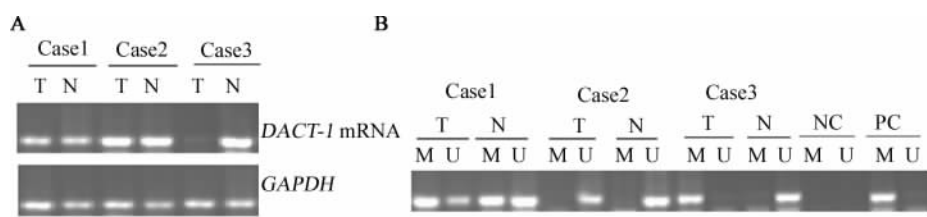


图3 *DACT-1* 基因的甲基化状态及 mRNA 表达情况分析

Fig.3 Methylation and mRNA expression of *DACT-1* gene

A: RT-PCR results of *DACT-1* gene in 3 matched pairs of tumor and non-tumor tissues;

Case1: Expressions of *DACT-1* mRNA in (T) and (N) tissues both are weak;

Case2: Expressions of *DACT-1* mRNA in (T) and (N) tissues both are strong;

Case3: Expression of *DACT-1* mRNA in (T) tissue is lower than that in (N) tissue;

B: MSP results of *DACT-1* gene in 3 matched pairs of (T) and (N) tissues;

Case1: *DACT-1* genes in (T) and (N) tissues both are unfully methylated;

Case2: *DACT-1* genes in (T) and (N) tissues both are unmethylated;

Case3: *DACT-1* gene in (T) tissue is fully methylated and the gene in (N) tissue is unmethylated.

M: Methylated genes; U: Unmethylated genes; NC: Negative control; PC: Positive control

大量研究表明,在多种恶性肿瘤中均出现 *DACT-1* 基因的异常表达,包括乳腺癌^[4]、非小细胞肺癌^[7]、肝细胞癌^[8]、膀胱癌^[9]以及胃癌^[6]。Wang 等^[6]指出,*DACT-1* 在胃癌中作为抑癌基因,通过抑制 NF- κ B 信号通路抑制肿瘤的浸润转移。这些年来贲门癌作为分类独立的上消化道肿瘤,发现其生物学特性有别于胃癌及食管癌。*DACT-1* 基因在贲门癌中的表达情况尚未见报道。本研究利用 RT-PCR 技术检测了 112 例贲门腺癌及相应癌旁非肿瘤组织中 *DACT-1* 基因 mRNA 的表达,发现贲门癌组织该基因 mRNA 的表达量显著低于癌旁非肿瘤组织。提示 *DACT-1* 基因可能参与贲门腺癌的发生发展,并有可能起到一定抑癌基因的作用。这与其他学者^[6,10]对胃癌研究的结果一致。同时,Hou 等^[11]对食管鳞癌的研究也同样发现癌组织中 *DACT-1* 基因的表达较正常黏膜明显下降。提示 *DACT-1* 基因在胃癌、贲门癌及食管癌等上消化道肿瘤中发挥相似的生物学作用。为了进一步明确 *DACT-1* 基因在贲门癌组织中表达下调的具体机制,本研究通过 Methprimer 软件预测发现该基因启动子及第一外显子区存在一较大 CpG 岛,提示基因的高甲基化状态可能是引起其表达减弱的机制之一。一般认为 DNA 甲基化与基因表达呈负相关,启动子区与重要转录因子结合的 CG 位点发生甲基化将会直接阻碍

多种转录因子与启动子结合,而且 5' 末端调控序列发生甲基化后能与甲基化 CpG 结合蛋白相结合,间接阻止转录因子与启动子的结合,这些均可降低基因转录水平,使基因表达下调或完全沉默^[12]。本研究结合 Alibaba 转录因子预测软件,选择可能与重要转录因子结合的 CG 位点,即关键性 CG 位点,检测其甲基化情况。为区分关键性 CG 位点的甲基化情况,本研究应用 MSP 引物设计原理,即组织 DNA 经亚硫酸盐处理后可使单链 DNA 的未甲基化胞嘧啶脱去氨基转变为尿嘧啶,而甲基化胞嘧啶不能发生此转变,最终使得甲基化和非甲基化的 DNA 呈现出不同的基因序列^[13-14],分别设计含盖 7 个关键性 CG 位点的甲基化及非甲基化引物。结果表明,癌组织中该基因关键性 CG 位点甲基化率明显高于癌旁组织,并且该基因甲基化状态与其 mRNA 表达具有负相关性,提示基因 CpG 岛中与重要转录因子结合的 CG 位点的高甲基化可能是引起该基因表达下调的主要机制之一。Yau 等^[8]在肝细胞癌的研究中,同样发现 *DACT-1* 基因 CpG 岛的高甲基化可使其 mRNA 的表达下降;同时在对乳腺癌^[4]、胃癌^[6]及急性淋巴细胞白血病^[15]的研究中也得到了同样的结论。提示 *DACT1* 基因的高甲基化现象存在于多系统肿瘤中,并参与了多种肿瘤的发生发展。同时本研究发现,在淋巴结转移阳性组中 *DACT-1* 基因

的甲基化发生率明显高于淋巴结转移阴性组,提示该基因的高甲基化状态可能促进肿瘤的转移,从而影响预后。Yang 等^[7]在对肺癌的研究中也指出该基因的高甲基化引起的表达沉默与不良预后相关,Deng 等^[10]也同样发现胃癌中该基因的重要 CG 位点的高频率甲基化可提示较差的生存期。本研究发现有上消化道肿瘤家族史的贲门癌患者中 *DACT-1* 基因的甲基化发生率明显高于没有上消化道肿瘤家族史的患者,提示贲门腺癌的发生与上消化道肿瘤家族史有关,说明遗传背景可能在贲门癌的发生中扮演重要角色。

总之,研究表明贲门癌中 *DACT-1* 基因表达下调,基因启动子区关键性 CG 位点的异常高甲基化可能是引起基因表达下调的机制之一。由于基因甲基化状态的可逆性,对甲基化引起表达沉默的候选抑癌基因进行去甲基化激活,可重新诱导肿瘤细胞的凋亡。因此,*DACT-1* 基因有望为贲门癌的治疗提供新的靶点。

[参 考 文 献]

[1] CHEYETTE B N, WAXMAN J S, MILLER J R, et al. Dapper, a Dishevelled-associated antagonist of beta-catenin and JNK signaling, is required for notochord formation [J]. Dev Cell, 2002, 2 (4) : 449-461. DOI : 10.1016/s1534-5807(02)00140-5.

[2] HOU J, WEN Y H, FENG K N, et al. DACT1 is involved in human placenta development by promoting Wnt signaling [J]. Arch Gynecol Obstet, 2015, 291(6) : 1289-1296. DOI : 10.1007/s00404-014-3557-1.

[3] SCHUBERT F R, SOBREIRA D R, JANOUSEK R G, et al. Dact genes are chordate specific regulators at the intersection of Wnt and TGF-β signaling pathways [J]. BMC Evol Biol, 2014, 14(6) : 157. DOI : 10.1186/1471-2148-14-157.

[4] YIN X, XIANG T, LI L, et al. DACT1, an antagonist to Wnt/β-catenin signaling, suppresses tumor cell growth and is frequently silenced in breast cancer [J]. Breast Cancer Res, 2013, 15(2) : R23. DOI : 10.1186/bcr3399.

[5] SENSIATE L A, SOBREIRA D R, DA VEIGA F C, et al. Dact gene expression profiles suggest a role for this gene family in integrating Wnt and TGF-β signaling pathways during chicken limb development [J]. Dev Dyn, 2014, 243(3) : 428-439. DOI : 10.1002/dvdy.23948.

[6] WANG S, KANG W, GO M Y, et al. Dapper homolog 1 is a novel

tumor suppressor in gastric cancer through inhibiting the nuclear factor-κB signaling pathway [J]. Mol Med, 2012, 18(20) : 1402-1411. DOI : 10.2119/molmed.2012.00243.

[7] YANG Z Q, ZHAO Y, LIU Y, et al. Downregulation of HDPR1 is associated with poor prognosis and affects expression levels of p120-catenin and beta-catenin in nonsmall cell lung cancer [J]. Mol Carcinog, 2010, 49(5) : 508-519. DOI : 10.1002/mc.20622.

[8] YAU T O, CHAN C Y, CHAN K L, et al. HDPR1, a novel inhibitor of the WNT/β-catenin signaling, is frequently downregulated in hepatocellular carcinoma: involvement of methylation-mediated gene silencing [J]. Oncogene, 2005, 24(9) : 1607-1614. DOI : 10.1038/sj.onc.1208340.

[9] CHENG H, DENG Z, WANG Z, et al. The role of aberrant promoter hypermethylation of DACT1 in bladder urothelial carcinoma [J]. J Biomed Res, 2012, 26(5) : 319-324. DOI : 10.7555/JBR.26.20110099.

[10] DENG J, LIANG H, ZHANG R, et al. Methylated CpG site count of dapper homolog 1 (DACT1) promoter prediction the poor survival of gastric cancer [J]. Am J Cancer Res, 2014, 4(5) : 518-527. DOI : 10.18632/oncotarget.1888.

[11] HOU J L, LI E M, SHEN J H, et al. Cytoplasmic HDPR1 is involved in regional lymph node metastasis and tumor development via beta-catenin accumulation in esophageal squamous cell carcinoma [J]. J Histochem Cytochem, 2011, 59(7) : 711-718. DOI : 10.1369/0022155411409941.

[12] GHAVIFEKR FAKHR M, FARSHDOUSTI HAGH M, SHANEH-BANDI D, et al. DNA methylation pattern as important epigenetic criterion in cancer [J/OL]. Genet Res Int, 2013, 2013 : 317569 [2015-06-25]. <http://www.hindawi.com/journals/gri/2013/317569/>. DOI : 10.1155/2013/317569.

[13] SASAKI M, ANAST J, BASSETT W, et al. Bisulfite conversion-specific and methylation-specific PCR: a sensitive technique for accurate evaluation of CpG methylation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 309(2) : 305-309. DOI : 10.1016/j.bbrc.2003.08.005.

[14] LI LC. Designing PCR primer for DNA methylation mapping [J]. Methods Mol Biol, 2007, 402 : 371-384. DOI : 10.1007/978-1-59745-528-2_19.

[15] ROMÁN-GÓMEZ J, CORDEU L, AGIRRE X, et al. Epigenetic regulation of Wnt-signaling pathway in acute lymphoblastic leukemia [J]. Blood, 2007, 109(8) : 3462-3469. DOI : 10.1182/blood-2006-09-047043.

[收稿日期] 2015 - 07 - 30 [修回日期] 2016 - 02 - 04

[本文编辑] 宋关鸿

