

肾细胞癌中 DACT2 基因启动子区甲基化状态与 mRNA 表达的研究

樊博, 齐盼, 张爱莉[△], 赵志红, 倪晓辰, 刘彬, 马永良, 任宗涛

(河北医科大学第四医院泌尿外科, 石家庄 050000)

[摘要] **目的** 探讨 DACT2 基因在肾细胞癌(RCC)发生、发展中的作用。**方法** 收集该院 2014 年 8 月至 2015 年 8 月 59 例住院 RCC 患者肾癌根治术后 RCC 及相应癌旁组织、正常组织标本, 分别应用甲基化特异性 PCR(MSP)、实时荧光定量 PCR(RT-PCR)法检测其 DACT2 基因甲基化状态、mRNA 表达情况, 应用免疫组织化学过氧化酶标记的链霉卵白素(SP)法检测其细胞质内 β -catenin 蛋白的表达, 并分析 RCC 组织 DACT2 基因甲基化状态及 mRNA 表达与临床病理特征的关系, 以及 DACT2 基因甲基化与 mRNA 及 β -catenin 表达的关系。**结果** RCC 组织中 DACT2 mRNA 相对表达水平(0.427 ± 0.025)明显低于癌旁组织(0.801 ± 0.047)和正常组织(0.872 ± 0.022), RCC 组织中 DACT2 基因甲基化阳性率(45.76%)明显高于癌旁组织(6.78%)及正常组织(5.08%), 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 而癌旁组织与正常组织比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。在 RCC 组织中 DACT2 基因 mRNA 相对表达水平及启动子区甲基化发生率与患者的年龄、性别、肿瘤大小、临床分期、Fuhrman 分级等临床资料间均无明显相关性($P > 0.05$)。甲基化组中 DACT2 基因的 mRNA 相对表达水平低于非甲基化组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。RCC 组织中 β -catenin 蛋白在细胞质中的表达率高于癌旁组织和正常组织, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 且 DACT2 基因甲基化与 β -catenin 蛋白表达呈正相关($r = 0.324, P = 0.012$)。**结论** DACT2 基因启动子区甲基化及其 mRNA 相对表达水平降低可能参与 RCC 的发生, 但与 RCC 的临床进展无关, DACT2 基因启动子区发生甲基化可能是引起其 mRNA 相对表达降低的原因之一, 且肾癌组织 DACT2 基因甲基化的发生可能与 β -catenin 的高表达有关。

[关键词] 肾肿瘤; DACT2; 启动子; 甲基化; RNA, 信使**[中图分类号]** R692.6**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)21-2895-03

DACT2 gene promoter area methylation status and mRNA expression in renal cell carcinoma

Fan Bo, Qi Pan, Zhang Aili[△], Zhao Zhihong, Ni Xiaochen, Liu Bin, Ma Yongliang, Ren Zongtao

(Department of Urology Surgery, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the role of the DACT2 gene in the occurrence and development of renal cell carcinoma (RCC). **Methods** The samples of RCC tissues and corresponding tumor-adjacent tissues after radical operation and normal kidney tissues were collected. The methylation specific PCR (MSP) and real time fluorescence reverse transcriptase-PCR (RT-PCR) methods were adopted to detect the methylation status and mRNA expression of DACT2. The streptavidin-peroxidase (SP) method labeled by immunohistochemistry peroxidase was used to examine the expression of β -catenin protein. Then the relationship between DACT2 gene methylation status and mRNA expression with the clinicopathologic characteristics was analyzed. The relationship between DACT2 gene methylation with mRNA and β -catenin expression was analysed, as well. **Results** The DACT2 mRNA relative expression level in RCC tissues was 0.427 ± 0.025 , which was significantly lower than (0.801 ± 0.047) in tumor-adjacent tissues and (0.872 ± 0.022) in normal tissue, the positive rate of DACT2 gene methylation in RCC tissues was 45.76%, which was significantly higher than 6.78% in tumor-adjacent tissues and 5.08% in normal tissues, the difference was statistically significant ($P < 0.05$), while the difference between tumor-adjacent tissues and normal tissues had no statistical significance ($P > 0.05$). The DACT2 gene mRNA expression level in RCC tissues and promoter area methylation occurrence rate had no obvious correlation with the clinical data such as patients age, gender, tumor size, clinical stage and Fuhrman grade ($P > 0.05$). The DACT2 gene mRNA relative level in the methylation group was lower than that in the non-methylation group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The expression rate of β -catenin protein in cytoplasm in RCC tissues was higher than that in the tumor-adjacent tissues and normal tissues, the difference was statistically significant ($P < 0.05$), moreover, DACT2 gen methylation had a positive correlation with β -catenin protein expression ($r = 0.324, P = 0.012$). **Conclusion** The decrease of DACT2 gene promoter area methylation and mRNA relative expression level may participate in the RCC occurrence, but has no relationship with RCC clinical progression. Methylation occurred in DACT2 gene promoter area may be one of reasons causing mRNA relative expression decrease. DACT2 gene methylation occurrence in RCC tissue might be related to the high expression of β -catenin.

[Key words] kidney neoplasms; DACT2; promoter; methylation; RNA, messenger

DACT 家族基因是近年来研究较多的一种新的信号通路调控因子, 其主要通过对 Wnt/ β -catenin 信号传导通路进行负调控来抑制肿瘤的形成。近年来也有研究表明, 由于 DACT2 基因启动子区发生甲基化导致其表达失活, 在肝癌、胃癌、食管

癌、乳头状甲状腺癌及结肠癌等恶性肿瘤的发生中起着重要的作用。然而, DACT2 基因在肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)中的功能及其相应的表观遗传学作用尚未见报道。本研究提取 59 例 RCC 患者术后所得正常肾组织、癌旁组织及癌组织的

表 1 RT-PCR 及 MSP 引物序列及反应条件

类型	引物序列	退火温度(°C)	长度(bp)
RT-PCR			
DACT2	上游:5'- GGC CGA CCT AGT GTC TCT TTT C -3' 下游:5'- TTT GGG TGT TTG TGT ATG CTG A -3'	57	248
GADPH	上游:5'- GAC CAC AGT CCA TGC CAT CAC -3' 下游:5'- GTC CAC CAC CCT GTT GCT GTA -3'	57	458
MSP			
Methylation	上游:5'- GAT TTT AGT TTA TTT TGG CGT TTG C-3' 下游:5'- CAC ATC TCC CGA ACA AAA TCC CG -3'	55	140
Unmethylation	上游:5'- TAG ATT TTA GTT TAT TTT GGT GAT TTG T -3' 下游:5'- TCC ACA TCT CCC AAA CAA AAT CCC A -3'	59	142

RNA 与 DNA,应用实时荧光定量 PCR (RT-PCR) 检测 DACT2 基因 mRNA 的相对表达水平,并应用甲基化特异性 PCR(MSP)技术对 DACT2 基因启动子甲基化状态进行检验。此外,本研究还通过分析各组织中 DACT2 基因 mRNA 相对表达水平及其启动子区甲基化状态与临床资料之间的关系,并结合免疫组织化学方法检测其在肾癌组织、癌旁及正常组织中的表达情况,并进行相应统计学分析,以进一步揭示 RCC 的发病机制,为 RCC 的早期发现、诊治与预后的判断提供相应的理论基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2014 年 8 月至 2015 年 8 月本院泌尿外科 59 例住院患者肾癌根治术后标本,术后病理结果均确诊为 RCC。其中男 36 例,女 23 例;年龄 24~82 岁,中位年龄为 61 岁;术前均未接受放、化疗;根据 1997 年世界卫生组织(WHO)推荐 Fuhrman 分级:高分化 34 例,中分化 18 例,低分化 7 例;按照 2002 年美国肿瘤研究联合会(AJCC)分期标准分为:I 期 42 例,II 期 14 例,III+IV 期 3 例。每例患者术后均取癌组织、癌旁组织(距癌组织 2 cm 处)与正常组织标本 3 份。

1.2 主要仪器与试剂 蛋白酶 K(上海生工生物公司)、TRNzol(天根生化科技有限公司)、互补 DNA(cDNA)第一链合成试剂盒(天根生化科技有限公司)、DNA 重亚硫酸盐转化试剂盒(天根生化科技有限公司)、MSP 试剂盒(天根生化科技有限公司)、蓝色体系(康为世纪有限公司)、RT-PCR 引物(北京六合华大基因)、MSP 引物(上海生工生物公司)、 β -catenin 鼠单克隆抗体(北京中衫金桥生物技术有限公司),鼠二抗免疫组化试剂盒[通用型 Biotin 链霉卵白素-辣根过氧化物酶复合物(SP-HRP)免疫组织化学试剂盒,北京中衫金桥生物技术有限公司]。

1.3 方法

1.3.1 RT-PCR 检测 DACT2 mRNA 的表达 标本提取后及时按 TRIzol 试剂说明书提取总 RNA,并参照反转录试剂盒(cDNA 第一链合成试剂盒)说明书的比例加样,将 RNA 反转录成 cDNA 保存于 -80 °C 冰箱备用。三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)作为内参照,引物及退火温度见表 1。将 PCR 产物进行 2% 琼脂糖凝胶电泳,采用 Gelwork22 ID 软件,对电泳图像中 DACT2 的表达进行半定量。以 DACT2 条带的吸光度(A)值与 GAPDH 条带的 A 值的比值作为 DACT2 基因的相对表达量。

1.3.2 MSP 检测 DACT2 基因的甲基化状态 酚/氯仿抽提法提取癌组织、癌旁组织及正常组织基因组 DNA。参照 DNA 重亚硫酸盐转化试剂盒说明书的比例加样,经亚硫酸氢盐处理后,DNA 中的 C 转变为 U,而基因的 CpG 岛发生甲基化后,则

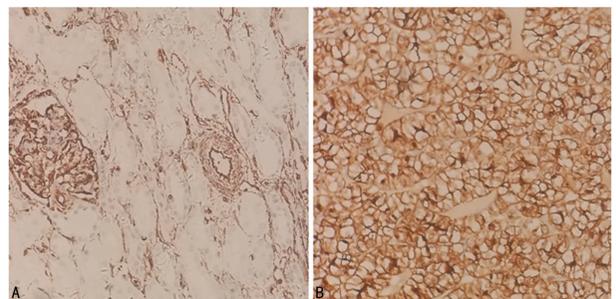
不能发生这种改变,根据此原理设计相应的甲基化和非甲基化引物,检测该基因是否发生甲基化。具体引物序列及退火温度见表 1。扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳,用凝胶电泳成像及图像分析系统进行图像分析。MSP 阳性对照采用健康人外周血淋巴细胞 DNA,经 CpG 甲基转移酶处理后进行 PCR,阴性对照用灭菌双蒸水取代 DNA 模板进行 PCR。

1.3.3 免疫组织化学法检测 β -catenin 的表达 β -catenin 采用常规 SP 法。4 μ m 组织切片常规脱蜡至水,3% 过氧化氢甲醇室温孵育 20 min;pH 8.0 乙二胺四乙酸(EDTA)高压锅抗原修复 2 min,蒸馏水洗涤,磷酸盐缓冲液(PBS)浸泡 5 min,2 次,其后的试验步骤按 SP 试剂盒说明书进行,二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木精复染,常规梯度乙醇脱水、二甲苯透明、中性树胶封片,显微镜下观察。设 PBS 代替一抗为空白对照,已知阳性片作阳性对照,作为质量控制标准。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件进行统计分析,计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本间比较采用独立样本 *t* 检验或 *t'* 检验,多样本间比较采用方差分析;两变量间相关性分析采用 Spearman 等级相关分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RCC 中 DACT2 mRNA 表达 检测 59 例 RCC 组织及相应的癌旁及正常组织中 DACT2 mRNA 表达情况,见图 1。DACT2 mRNA 在 RCC 和癌旁及正常组织中的相对表达水平分别为 0.427 ± 0.025 、 0.801 ± 0.047 、 0.872 ± 0.022 。RCC 组织中 DACT2 mRNA 相对表达水平明显低于癌旁组织和正常组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。在 RCC 患者中,DACT2 mRNA 表达与患者的临床分期及肿瘤的组织分化程度、年龄、性别、肿瘤大小等均无相关性($P > 0.05$),见表 2。



A: 正常组织; B: RCC 组织

图 1 正常及 RCC 组织中 β -catenin 蛋白免疫组织化学结果(IHC $\times 200$)

2.2 RCC 中 DACT2 基因甲基化状态 DACT2 基因在检测的 59 例患者 RCC 组织及相应的癌旁及正常组织中甲基化发

生率分别为 45.76%(27/59),6.78%(4/59),5.08%(3/59)。RCC 组织中 DACT2 基因甲基化阳性率明显高于癌旁组织及正常组织($P<0.05$)。癌旁组织及正常组织中 DACT2 基因甲基化发生率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。在 RCC 组织中 DACT2 基因启动子区甲基化的发生率与患者的年龄、性别、肿瘤大小、临床分期、Fuhrman 分级(组织学分级)等临床资料间均无明显相关性($P>0.05$),见表 3。

表 2 RCC 组织中 DACT2 mRNA 表达与患者临床病理特征的关系(n)

临床资料	n	DACT2 mRNA 的表达	t/F	P
年龄(岁)			0.727	0.470
≥60	29	0.429±0.025		
<60	30	0.425±0.024		
性别			0.283	0.778
男	38	0.428±0.025		
女	21	0.426±0.023		
肿瘤直径(cm)			-1.096	0.278
≥7	12	0.420±0.021		
<7	47	0.429±0.025		
临床分期			-0.386	0.736
I、II	56	0.427±0.023		
III、IV	3	0.436±0.045		
Fuhrman 分期			0.784	0.462
I、II	34	0.430±0.024		
III	18	0.423±0.024		
IV	7	0.421±0.030		

表 3 RCC 组织中 DACT2 甲基化状态与患者临床病理特征的关系(n)

临床资料	患者总例数 (n=59)	甲基化阳性 (n=27)	甲基化阴性 (n=32)	χ^2	P
年龄(岁)				0.441	0.506
≥60	29	12	17		
<60	30	15	15		
性别				0.111	0.739
男	38	18	20		
女	21	9	12		
临床分期				0.556	0.456
I、II	56	25	31		
III、IV	3	2	1		
肿瘤直径(cm)				0.959	0.327
≥7	12	7	5		
<7	47	20	27		
Fuhrman 分期				0.059	0.971
I、II	34	16	18		
III	18	8	10		
IV	7	3	4		

2.3 RCC 组织中 DACT2 基因甲基化发生率与 mRNA 相对表达水平的关系 59 例患者 RCC 组织中甲基化者 DACT2 基因的 mRNA 相对表达水平(0.405±0.014)明显低于非甲基化者(0.445±0.015),差异有统计学意义($t = -10.868, P = 0.000$)。

2.4 RCC 中 β -catenin 的表达 β -catenin 在正常肾小管上皮细胞细胞质低表达或不表达;在肾癌中细胞质高表达或蓄积

(图 1)。在 RCC 组织中的阳性表达率为 77.97%(46/59),明显高于癌旁 15.25%(9/59)及正常组织 11.86%(7/59),差异有统计学意义($P<0.05$)。进一步分析 DACT2 基因甲基化状态与 β -catenin 表达间的关系,在 DACT2 基因甲基化阳性的 RCC 组织中,其 β -catenin 表达率为 92.59%(25/27),经 Spearman 等级相关分析,二者呈明显正相关($r = 0.324, P = 0.012$),见表 4。

表 4 肾癌组织中 DACT2 基因甲基化与 β -catenin 蛋白表达的关系

β -catenin	DACT2 基因甲基化		合计
	+	-	
+	25	21	46
-	2	11	13
合计	27	32	59

3 讨论

恶性肿瘤是在内部和外部多种因素共同作用下,使某些细胞在基因水平上丧失正常的生长调控功能,导致细胞的异常生长及分化而发生的。因此,从本质上讲恶性肿瘤是一种基因病。随着人类基因组研究的不断深入,1939 年有研究者提出了表观遗传学的概念。表观遗传学是一门研究 DNA 序列不变而其基因表达发生可遗传改变的遗传学分支学科^[1]。其参与细胞调控的主要形式为:DNA 核苷酸胞嘧啶的甲基化修饰、组蛋白修饰、非编码 RNA 干扰的调节等。目前科学家们认为,DNA 甲基化和组蛋白修饰是最常见的两种关系到基因调控和细胞癌变的表观遗传学事件^[2]。近年来已有大量的文献报道称,抑癌基因启动子区异常甲基化是肾癌发生的重要原因之一。抑癌基因启动子区的 CpG 岛发生甲基化后,会导致抑癌基因表达沉默失活,进而影响细胞正常的生长调控,细胞过度增殖最终导致肿瘤的发生^[3]。国外已有报道称,抑癌基因的异常甲基化可视为一种有效诊断癌症的分子标记物。同时有研究发现,体外给予去甲基化药物后能够改变一些恶性肿瘤的病理生理学行为。这表明抑癌基因启动子区 CpG 岛的异常甲基化状态与恶性肿瘤的发生有关,给予相应的去甲基化治疗,去除其 CpG 岛的异常甲基化状态具有治疗恶性肿瘤的潜能^[4]。

DACT2 基因位于人类染色体 6q27。近年来,众多研究表明,DACT2 基因在肝癌、肺癌、食管鳞状癌及乳头状甲状腺癌等许多癌症中均表达下调^[5-9]。同时 DACT2 基因启动子区高度甲基化也是引起甲状腺乳头状癌发生转移的重要原因之一^[7]。本研究结果表明,在 59 例 RCC 患者的 3 种不同组织中,其 RCC 组织的 DACT2 基因启动子区甲基化的发生率明显高于癌旁组织和正常肾组织。同时发现,RCC 组织中 DACT2 基因 mRNA 的相对表达水平低于癌旁组织和正常肾组织。进一步比较发现,发生甲基化的 RCC 组织中 DACT2 基因 mRNA 的相对表达水平低于未发生甲基化的 RCC 组织。进一步研究发现,在 RCC 组织中 DACT2 基因的高甲基化率与 β -catenin 蛋白在细胞质中的高表达呈明显正相关。由此推断 DACT2 可能通过 β -catenin 起作用, β -catenin 功能异常是导致细胞向癌变方向发展的原因之一。

综上所述,本研究显示 DACT2 基因启动子区异常甲基化可能会导致 DACT2 基因的表达下降,且二者的发生均与 RCC 的发生有关,但二者发生与 RCC 的临床进展未见明显相关。笔者认为可以进一步研究给予去甲基化药物(下转第 2901 页)

- [2] 潘亦林,朱燕亭,李满祥. 支气管哮喘气道重塑的研究进展[J/CD]. 中华肺部疾病杂志(电子版),2015,8(6):97-100.
- [3] 尹娟,戴元荣,徐慧,等. 阿奇霉素对哮喘大鼠气道平滑肌细胞生长的影响[J]. 浙江医学,2010,32(5):685-687.
- [4] Smith R. Is VEGF a potential therapeutic target in asthma? [J]. *Pneumologia*,2014,63(4):194,197-199.
- [5] 邹晖,徐永健,张珍祥. 血管内皮生长因子及其受体 2 与哮喘模型大鼠气道平滑肌细胞增殖关系的研究[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,2010,19(4):321-326.
- [6] Luo X, Hong H, Tang J, et al. Increased expression of miR-146a in children with allergic rhinitis after allergen-specific immunotherapy [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*,2016,8(2):132-140.
- [7] Dong LH, Li L, Song Y, et al. TRAF6-mediated SM22 α K21 ubiquitination promotes G6PD activation and NADPH production, contributing to GSH homeostasis and VSMC survival in vitro and in vivo [J]. *Circ Res*,2015,117(8):684-694.
- [8] Riba M, Garcia Manteiga JM, Bošnjak B, et al. Revealing the acute asthma ignome, characterization and validation of uninvestigated gene networks [J]. *Sci Rep*,2016,6:24647.
- [9] Qiu H, Huang F, Xiao H, et al. TRIM22 inhibits the TRAF6-stimulated NF- κ B pathway by targeting TAB2 for degradation [J]. *Virol Sin*,2013,28(4):209-215.
- [10] Zhu T, Wang DX, Zhang W, et al. Andrographolide protects against LPS-induced acute lung injury by inactivation of NF- κ B [J]. *PLoS One*,2013,8(2):e56407.
- [11] Huang CQ, Li W, Wu B, et al. *Pheretima aspergillum* decoction suppresses inflammation and relieves asthma in a mouse model of bronchial asthma by NF- κ B inhibition [J]. *J Ethnopharmacol*,2016,189:22-30.
- [12] Zha WJ, Su M, Huang M, et al. Administration of pigment epithelium-derived factor inhibits airway inflammation and remodeling in chronic OVA-induced mice via VEGF suppression [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*,2016,8(2):161-169.
- [13] Gannon SC, Cantley MD, Haynes DR, et al. Azithromycin suppresses human osteoclast formation and activity in vitro [J]. *J Cell Physiol*,2013,228(5):1098-1107.
- [14] Wan YF, Huang ZH, Jing K, et al. Azithromycin attenuates pulmonary inflammation and emphysema in smoking-induced COPD model in rats [J]. *Respir Care*,2015,60(1):128-134.
- [15] Zhao L, Wu J, Zhang X, et al. The effect of Shenmai injection on the proliferation of rat airway smooth muscle cells in asthma and underlying mechanism [J]. *BMC Complement Altern Med*,2013,13:221.
- [16] 郑湘榕,张珊珊,杨于嘉,等. 内皮细胞特异性表达血管内皮生长因子基因载体的构建及表达特性验证 [J]. 中国现代医学杂志,2010,20(21):3205-3209.
- [17] 郭敏,郭悦鹏. 阿奇霉素对哮喘大鼠气道重塑的影响 [J]. 新乡医学院学报,2013,30(5):364-367.
- [18] 韦江红,莫碧文,黄剑伟. TLR4/NF- κ B 对哮喘大鼠气道平滑肌细胞增殖、凋亡的影响 [J]. 中国现代医学杂志,2011,21(25):3110-3115.
- [19] 郭彩霞. 阿奇霉素经 TLR-4/NF- κ B 信号通路干预 COPD 大鼠炎症的机制研究 [J]. 重庆医学,2016,45(12):1612-1615.
- [20] Bruneau S, Datta D, Flaxenburg JA, et al. TRAF6 inhibits proangiogenic signals in endothelial cells and regulates the expression of vascular endothelial growth factor [J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2012,419(1):66-71.

(收稿日期:2017-02-05 修回日期:2017-04-10)

(上接第 2897 页)

物后,RCC 细胞系中 DACT2 基因表达的恢复情况及 RCC 细胞系的变化情况,以期进一步探讨 DACT2 基因与 RCC 发生、发展的关系,为 RCC 的发病机制提供更深入的理论依据。同时,为 RCC 的早期诊断与治疗提供一个可能的生物学标志。

参考文献

- [1] Baylin SB, Ohm JE. Epigenetic gene silencing in cancer - a mechanism for early oncogenic pathway addiction? [J]. *Nat Rev Cancer*,2006,6(2):107-116.
- [2] Jones PA, Baylin SB. The fundamental role of epigenetic events in cancer [J]. *Nat Rev Genet*,2002,3(6):415-428.
- [3] Jones PA, Takai D. The role of DNA methylation in mammalian epigenetics [J]. *Science*,2001,293(5532):1068-1070.
- [4] Cooney CA, Dave AA, Wolff GL. Maternal methyl supplements in mice affect epigenetic variation and DNA methylation of offspring [J]. *J Nutr*,2002,132(8 Suppl):S2393-2400.
- [5] Jia Y, Yang Y, Brock MV, et al. Epigenetic regulation of DACT2, a key component of the Wnt signalling pathway in human lung cancer [J]. *J Pathol*,2013,230(2):194-204.
- [6] Wang S, Dong Y, Zhang Y, et al. DACT2 is a functional tumor suppressor through inhibiting Wnt/ β -catenin pathway and associated with poor survival in colon cancer [J]. *Oncogene*,2015,34(20):2575-2585.
- [7] Zhao Z, Herman JG, Brock MV, et al. Methylation of DACT2 promotes papillary thyroid cancer metastasis by activating Wnt signaling [J]. *PLoS One*,2014,9(11):e112336.
- [8] Yu Y, Yan W, Liu X, et al. DACT2 is frequently methylated in human gastric cancer and methylation of DACT2 activated Wnt signaling [J]. *Am J Cancer Res*,2014,4(6):710-724.
- [9] Hou J, Liao LD, Xie YM, et al. DACT2 is a candidate tumor suppressor and prognostic marker in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Prev Res (Phila)*,2013,6(8):791-800.

(收稿日期:2017-02-25 修回日期:2017-04-30)