文章编号 1006-8147(2019)02-0189-05

综 述

DNA 甲基化在胃癌中的研究进展

杜迎新 综 述 邓靖宇,梁 寒 审 校
(天津医科大学肿瘤医院胃部肿瘤科,国家肿瘤临床医学研究中心,天津市"肿瘤防治"重点实验室,天津市恶性肿瘤临床医学研究中心,天津 300060)

摘要 胃癌发生和进展是多因素、多基因、多步骤参与的复杂分子机制调控过程,其中 DNA 甲基化研究为深入了解胃癌的发病机制提供了新的思路和方向。肿瘤相关基因甲基化失衡导致的基因激活或失活与胃癌的发生、进展密切相关。抑癌基因启动子区高甲基化是胃癌发生的重要机制,可与之发生在同一肿瘤中的变化还包括局部 CpG 岛高甲基化和整个基因组广泛低甲基化。胃癌相关基因启动子区 CpG 岛甲基化异常改变对其表达造成的影响可稳定遗传给子代细胞。目前 DNA 甲基化作为潜在可行的肿瘤生物标志物为胃癌的发生和进展提供了一个合理的分子机制解释而引起了广泛的关注。笔者就目前胃癌研究领域常见 DNA 甲基化研究报道作一综述,以期阐明 DNA 甲基化在胃癌发生及进展中的意义和价值。

关键词 表观遗传;基因;甲基化;胃;肿瘤
中图分类号 R735.2 **文献标志码** A

胃癌是消化系统最为常见的恶性肿瘤之一,在所有恶性肿瘤中其发病率位居第四,死亡率居第二位[1]。相关研究机构的统计分析结果显示全球每年有超过 95 万新发胃癌病例,且年死亡病例超过 72 万[2],总体来说胃癌患者生存状况不容乐观。尽管近年来胃癌在全球范围内总体发病率呈下降趋势,但由于胃癌早期常缺乏相应特异性症状而延误了其早期发现和治疗。

胃癌发生和进展是由多因素、多基因参与,同时涉及多步骤的复杂过程。许多研究证实[3-5]胃癌发生和进展与表观遗传学密切相关。表观遗传学这一术语是由 Waddington [6]于 1939 年首次提出,指的是非 DNA 序列改变所致基因表达发生可遗传且可逆改变的现象,是基因与表型之间的因果交互作用。表观遗传特性改变促进癌症发生的机制可能与某些信号通路激活或抑制有关,涉及 DNA 甲基化、组蛋白修饰、遗传印记、RNA 调控、X 染色体失活等方面。随着表观遗传学发展和研究的不断深入,DNA 甲基化异常已成为胃癌研究中最为广泛和深入的表观遗传机制,其与肿瘤的关系也已成为研究热点。因此了解 DNA 甲基化相关知识及其与肿瘤尤其是胃癌之间的关系,胃癌相关基因甲基化异常的研究进展,DNA 甲基化分子标志物的临床意义以及去甲基化药物的临床应用就显得尤为必要。

基金项目 国家自然科学基金资助项目(81572372);重大慢性非传染性疾病防控研究(2016YFC1303202);国家重点研发计划"精准医学研究"计划(2017YFC0908300);天津市应用基础与前沿技术研究计划(15JCYBJC24800)

作者简介 杜迎新(1988-),男,硕士在读,研究方向:胃癌的临床及基础研究;通信作者:梁寒,E-mail:tjlianghan@126.com。

1 DNA 甲基化

DNA 甲基化(DNA methylation)是由 S-腺苷蛋氨酸(SAM)提供甲基,经 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)催化,在 CpG 二核苷酸胞嘧啶残基上添加甲基基团的共价修饰,是最常见的表观遗传现象。DNA 甲基化参与了包括染色质重塑和基因表达调控等在内的重要生理过程,调节着真核生物中细胞周期、细胞增殖、分化、凋亡等众多重要生命活动。DNA 甲基化作用可以维持基因组稳定性,同时也可以降低因重复序列间同源重组造成的染色体缺失和重排,对维持细胞遗传稳定具有重要作用。哺乳动物中已知的 DNA 甲基转移酶包括 DNMT1、DNMT2、DNMT3a、DNMT3b 和 DNMT3l 等 5 种,但能在甲基化过程中发挥甲基转移酶活性的只有 DNMT1、DNMT3a 和 DNMT3b。其中 DNMT1 在整个甲基化过程中发挥着主导作用,维持着新生 DNA 复制链的甲基化模式。DNMT3a 和 DNMT3b 被称为从头 DNA 甲基转移酶,催化甲基基团向胞嘧啶转移,参与早期甲基化形成。DNA 甲基化是一个可逆过程,mbd2 的小分子片段 mbd2b 是一种去甲基化酶,可作用于因甲基化而沉默的基因,使其重新恢复转录表达[7]。通常所说的 CpG 位点可分为两种不同类型,其中一种称为甲基化的 CpG 位点,其特点是 CpG 位点散在分布于 DNA 中,且甲基化率高达 70% 以上。另一种则存在于基因某些特定区域,常出现 CpG 二核苷酸较多地聚集于基因 5′端启动子区和(或)第一外显子区,这些部位分子量 > 500 bp,CG 含量 > 60%,且未被甲基化,这些 CpG 聚集区域称为 CpG 岛(CpG islands),超过 50%人类

基因启动子区含有这一结构。

2 DNA甲基化异常与肿瘤

人类基因组中约70%~80%的CpG二核苷酸生理条件下呈甲基化状态，而在基因CpG岛区域则处于严格的非甲基化状态。甲基化失衡时可出现基因组广泛低甲基化和CpG岛高甲基化共存，因基因空间结构改变而导致其表达紊乱，引起细胞增殖与分化异常。DNA低甲基化可通过其诱导产生的内源性逆转录病毒物质或通过表观遗传效应而激活ras、myc等原癌基因从而参与肿瘤发生[8]，但其在肿瘤发生中的具体作用机制尚未明确。另有学者认为DNA低甲基化还可导致基因组不稳定和突变率增加，并促进杂合性缺失而诱发肿瘤[9]。研究者在对肿瘤进一步研究中还发现除了整个基因组中出现普遍性低甲基化，还伴随着特定基因启动子区高甲基化现象。与DNA低甲基化相比，CpG岛区域高甲基化在肿瘤中更为常见，与肿瘤发生、进展的关系也更为密切。抑癌基因高甲基化是除基因突变和基因缺失外第三种致使基因失活的分子机制，其甲基化程度与基因表达水平呈负相关，被认为是致使抑癌基因转录沉默的关键途径之一。DNA高甲基化导致肿瘤发生、进展的可能作用机制简单概括如下：(1)发生于启动子的甲基化异常会造成某些转录因子与其特异性识别位点结合受阻，进而影响到癌基因或抑癌基因的转录调控，即DNA甲基化抑制基因表达的直接方式。但由于转录因子结合的DNA序列并非都含有CpG二核苷酸，故该机制并不具有普遍性；(2)DNA甲基化转移酶可通过染色质重构抑制基因转录；(3)甲基化的胞嘧啶还可以与甲基化CpG结合蛋白家族(MeCPs)特异性结合，而后在甲基化位点募集转录共抑制子(如组蛋白脱乙酰酶、甲基转移酶等)形成紧密包裹的染色质结构，阻止转录因子和调控元件结合为转录复合物，同时组蛋白发生脱乙酰化或甲基化修饰导致染色质构象改变，这种DNA甲基化和组蛋白修饰共同作用方式是抑制基因转录的主要途径。

3 抑癌基因甲基化异常与胃癌

在胃癌发生、进展过程中，基因启动子区发生高甲基化可使其表达沉默，进而影响相关细胞生物学行为，如细胞周期、细胞凋亡、信号转导等。

3.1 细胞周期相关基因甲基化

3.1.1 P16 该基因亦称多肿瘤抑制1(multiple tumor suppressor 1，MTS1)，属于细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白基因家族，是一种位于人类染色体9p21上的多肿瘤抑制基因。该基因的功能产物p16蛋白通过cyclinD1-CDK4/CDK6-PRb-E2F环路发挥负反馈调节作用，其可以与细胞周期素依赖激酶CDK4和CDK6结合，通过抑制激酶活性来阻断细胞由G1期向S期过渡，从而控制细胞增殖。若p16基因有突变、缺失或甲基化改变，其表达会发生异常，导致上述环路的无限循环，进而使组织细胞过度增殖而癌变。Goto等[10]使用定量甲基化特异性PCR(qMSP)对49名胃癌患者组织中p16基因甲基化状态进行检测时发现17例(34%)检测到p16基因启动子区域发生异常高甲基化，后将临床病理数据与这些结果相关联发现淋巴转移(P=0.046)和肿瘤部位(P=0.010)存在显著性差异。这些结果表明p16基因是胃癌相关的肿瘤抑制因子，在淋巴浸润性胃癌中甲基化的发生更为常见。Ding等[11]对p16基因外显子1和外显子2的甲基化模式的研究过程中发现20例胃癌组织中分别有25%和45%的p16基因外显子1和外显子2发生甲基化改变，而正常组织未见甲基化异常，这同样也证明了p16基因高甲基化在胃癌发生、进展中起到了重要作用。

3.1.2 PAX5 PAX5是配对盒基因(paired box gene)家族的一员，定位于染色体9p13，长度190kb。是由Barberis等[12]于1989年首次发现的一种存在于B细胞中的核反式转录因子，编码B细胞特异性激活蛋白，参与器官发育和组织分化调控。PAX5在胃癌中作为一种抑癌基因发挥着对肿瘤增殖和迁移的抑制作用，也可因其启动子发生甲基化异常使p53信号通路上调而导致表达“沉默”。Li等[13]通过免疫共沉淀法发现PAX5可在与p53作用过程中促进其表达，还可抑制原癌基因MET的表达，间接抑制转移抑制因子1(MTSS1)和组织金属蛋白酶1抑制剂(TIMP1)，从而抑制胃癌细胞转移。由此可知PAX5作为抑癌基因可因其启动子发生甲基化而失活，进而促进胃癌发生和进展。他们还发现PAX5在沉默胃癌细胞中异位表达可以抑制集落形成和细胞活性、阻滞细胞周期、诱导细胞凋亡、抑制细胞迁移及侵袭和抑制裸鼠致瘤性。他们通过研究还证实在77%的原发性胃癌中检测到PAX5的甲基化现象，PAX5启动子有两个或多个甲基化CpG位点的患者要比PAX5启动子有一个或没有甲基化位点患者的生存期短，由此可见该基因甲基化改变与胃癌患者生存状况相关。

3.2 细胞凋亡相关基因甲基化

3.2.1 DAPK 死亡相关蛋白激酶(death-associated protein kinase，DAPK)，分子量约为160KD，位于9p34.1，其产物具有丝氨酸/苏氨酸激酶活性，且受

钙调蛋白调节。该凋亡相关蛋白激酶可通过多种途径参与细胞凋亡，其激活状态会从凋亡初期持续到细胞发生不可逆自毁为止，而此该蛋白表达缺失又与肿瘤形成、侵袭和转移等生物学行为密切相关。许多研究也发现 DAPK 表达缺失常出现于多种肿瘤中，并能抑制 c-myc 基因的致癌性转化，同时其表达水平与肿瘤转移率呈负相关。Sugita 等 [14]对 80 名胃癌患者术后采用氟嘧啶化疗治疗，并对化疗反应和预后进行了比较，发现 DAPK 发生甲基化的患者其有效率显著低于无甲基化发生患者（21% vs 49%，*P*=0.012），且 DAPK 发生甲基化患者的无进展生存时间短于无甲基化发生患者（*P*=0.007 ）。故 DAPK 基因启动子区域发生高甲基化可以使其表达沉默，导致其肿瘤抑制作用显著减弱，出现患者预后不良。Jia 等[15]在评估 DAPK 基因启动子甲基化在胃癌中的作用时进行了一项 Meta 分析，结果发现在 DAPK 基因启动子甲基化和胃癌之间存在着显著相关性（OR=3.23，95%CI=1.70-6.14，*P* < 0.001 ），同时 DAPK 启动子甲基化与肿瘤分期和淋巴结状态相关（OR=0.69，95%CI=0.49-0.96，*P*=0.03 和 OR=1.50，95%CI=1.12-2.01，*P*=0.007 ）。由此可见 DAPK 基因启动子甲基化在胃癌发生和进展中发挥了关键作用。

3.2.2　RNF180　环指蛋白 180（the finger protein 180，RNF180）定位于染色体 5q12.3，是一种膜结合 E3 泛素连接酶，属于泛素-蛋白酶体系统中泛素连接酶家族，在蛋白质降解中具有重要作用，参与细胞凋亡、DNA 修复、细胞周期调控等多个重要细胞生理过程。RNF180 基因甲基化异常与肿瘤的发生、进展密切相关。Cheung 等[16]在体外实验中发现其核心启动子区（-202/372）甲基化可致使其表达沉默，7 株胃癌细胞系中有 6 株 RNF180 基因表达沉默，与癌旁正常组织相比 RNF180 在胃癌组织中表达明显下调（*P* =0.001）。198 例原发性胃癌中 150 例检测到 RNF180 启动子甲基化，20 例肠上皮化生中检测出 11 例，但 23 例正常胃组织中均未发现甲基化的发生，且 56% 的胃癌患者血浆中检测到了甲基化的 RNF180。由此可见基因表达缺失与启动子甲基化有关。通过上调抗增殖调节剂 MTSS1、CDKN2A 和促凋亡介质 TIMP3 可以使 RNF180 重新表达，从而抑制细胞生长和诱导细胞凋亡。上述结果表明，RNF180 是胃癌发生过程中的抑癌因子，可作为胃癌诊断的生物标志物，并且具有潜在临床应用价值。Xie 等[17]在判定 RNF180 启动子甲基化 CpG 位点个数与患者预后的关系时，发现 RNF180 基因启动子 7 个或 7 个以上甲基化 CPG 位点患者存活率较高（*P*=0.008），从而认定 RNF180 基因启动子甲基化 CPG 位点计数可用于评估胃癌患者预后。

3.3　信号转导相关基因甲基化

3.3.1　RUNX3　Runt 相关转录因子 3（Runt-related transcription factor 3，RUNX3）是 RUNX 家族成员之一，定位于染色体 1p36.1，全长约 67kb，作为肿瘤抑制基因参与人类多种肿瘤的发生和进展，且对胃粘膜上皮生长、T 细胞分化和脊神经节发育等均具有重要调控作用。RUNX3 蛋白在人体内广泛表达，且作为转化生长因子信号通路下游转录因子发挥作用。RUNX3 基因表达可因启动子区高甲基化、杂合性缺失及点突变等发生异常，影响到上述信号通路并最终导致肿瘤发生。Wang 等[18]对 76 例胃癌和 24 例正常胃组织 RUNX3 基因启动子区域 8 个 CpG 位点甲基化状态进行定量分析，发现 RUNX3 基因启动子甲基化水平显著高于正常且总体甲基化水平与肿瘤侵袭和 TNM 分期密切相关，而 -1415 位点甲基化可导致胃癌患者预后不良。Chen 等[19]在对选取的 70 例胃癌组织进行研究时发现 Runx3 基因表达与正常胃黏膜相比具有统计学差异（*P* <0.05），同时也发现 Runx3 基因蛋白表达水平在胃癌中显著低于邻近正常组织。以上结果均表明 DNA 甲基化引起 Runx3 基因表达下调常与胃癌进展具有相关性，Runx3 基因可作为胃癌独立预后因素和潜在治疗靶点。

3.3.2　DACT1　β- 环连蛋白抑制基因 1（disheveled-binding antagonist of beta-catenin 1, DACT 1）又称为 HDPR 1，定位于染色体 14q23.1 区域，是 DAPPER 家族成员之一。因其编码的蛋白 Dapper 1 可通过对 NF-κB[20]、Wnt[21-22]、TGF-β[23]等多种信号通路的影响而作用于肿瘤的发生和进展，故这些通路的异常激活与多种肿瘤密切相关，许多研究表明 DACT1 基因表达水平在胃癌[20]、膀胱癌[24]、乳腺癌[22]等多种恶性肿瘤组织中较正常对照组低，且患者预后普遍较差。同时其他研究也证实 DACT1 基因启动子区甲基化增高与其表达下调具有相关性[25-26]。Deng 等[27]在对 459 例胃癌患者 DACT1 基因启动子 CpG 位点甲基化状态进行分析时发现 28.32% 的患者中 DACT1 启动子发生甲基化改变，并且提出 DACT1 启动子甲基化 CpG 位点在 4 个及以上时胃癌患者生存质量较差（*P* = 0.19）。同时他们还对 CpG-515、CpG -435 和 CpG-430 位点甲基化状态进行了鉴定，为 459 例胃癌患者提供了详细的生存判别（*P*=0.049，*P*=0.006，和 *P*=0.037）。由此可见胃癌组织中 DACT1 基因 CpG 岛出现高甲基化与 DACT

l启动子区甲基化CPG位点数量和胃癌患者预后存在相关性。另外，Katoh等[28]通过研究发现人DACT l的mRNA在肿瘤组织中主要分布于胃印戒细胞肿瘤中，其次是生殖细胞肿瘤、软骨肉瘤、甲状旁腺肿瘤等。

4 原癌基因甲基化异常与胃癌

表观遗传学改变中整体基因组低甲基化是最早开始研究的类型，这种甲基化模式的改变可以促使惰性基因尤其是原癌基因活化并使其表达增高，还可以阻止染色体凝集并影响中期染色体配对和分离，导致染色体断裂、易位和缺失，从而诱发肿瘤。这种低甲基化可能与染色质重塑异常、DNA甲基转移酶表达量降低、组蛋白修饰缺失等原因有关。许多研究结果表明可经低甲基化诱导胃癌发生的原癌基因包括ras、c-myc等。

4.1 Ras 该基因广泛存在于真核生物中，具有重要生理功能，是研究较多的一种原癌基因。人类肿瘤中的ras基因家族可分为3种功能基因型，分别为Harvey-ras(H-ras)、Kirsten-ras(K-ras)和Neurob-lastoma(N-ras)。它们各自位于不同染色体但却具有相似结构，编码产物均为21KD的p21蛋白。该蛋白位于细胞膜内侧且具有较弱的GTP酶活性，可与GDP或GTP结合而分别处于失活和激活状态，并可通过两种结合形式的相互转换来调节信息传递从而参与细胞生理功能调节。胃癌中活化的基因型以H-ras和K-ras为主，且活化频率变化较大，在我国H-ras活化较为常见。Luo等[29]研究发现H-ras基因启动子在胃癌和结肠癌细胞中均呈现低甲基化。MTT测定中，经S-腺苷蛋氨酸处理的癌细胞生长抑制效率显著高于正常细胞，且这种差异具有统计学意义($P<0.05$)。在进行集落形成测定时发现这种抑制效果在癌细胞中较正常细胞明显，且差异显著($P<0.05$)。通过甲基化特异性PCR(MSP)对H-ras启动子区域CpG岛甲基化状态测定时发现经S-腺苷蛋氨酸处理后该基因启动子发生重新甲基化，而与之形成鲜明对比的是和正常细胞CpG岛相对的高甲基化模式并没有显示出显著变化。而在随后的定量RT-PCR检测中也发现由于低甲基化改变使癌基因的mRNA和蛋白质水平下调。这些结果表明S-腺苷蛋氨酸可以特异性诱导癌基因H-ras上的DNA甲基化使其表达下调，从而抑制肿瘤细胞生长。

4.2 c-myc 禽类髓细胞病毒MC-29的v-myc基因同源序列(v-myc avian myelocytomatosis viral oncogene homolog, c-Myc)定位于人染色体8q24，经DNA序列分析发现该基因具有3个外显子及2个内含子，外显子中也只有第二和第三个具有编码功能，且其编码产物为含439个氨基酸的蛋白质，由于该蛋白分子量约为62KD且位于核内，因而被称为p62核蛋白。该基因具有转化细胞的能力，还可与DNA、染色体结合，通过表达产物对细胞生长、分化及恶性转化发挥重要调节作用。在探讨S-腺苷蛋氨酸(SAM)对人胃癌细胞抑制作用及其抗肿瘤机制中，Zhao等[30]通过MTT法检测了SAM对胃癌SGC-7901细胞增殖的影响，又分别用不同浓度的SAM处理胃癌细胞72 h后对其表达和甲基化水平进行了检测，还通过皮下注射胃癌SGC-7901细胞在裸鼠中建立肿瘤异种移植物，再将这些小鼠按照SAM使用浓度不同和有无分为低浓度组[192 μmol/(kg·day)]、高浓度组[768 μmol/(kg·day)]和对照组[生理盐水(NS)]，15 d后对肿瘤大小进行测量。研究发现SAM明显抑制SGC-7901细胞生长，且随着SAM浓度和处理时间延长，SAM作用逐渐增强。SGC-7901细胞中c-myc基因的mRNA表达显著降低，SAM处理后，SGC-7901细胞中的c-myc基因部分或完全甲基化。低浓度组和高浓度组肿瘤体积显著低于对照组(均$P<0.01$)。低浓度组肿瘤生长抑制率为39.26%，高浓度组抑制率为56.36%。S-腺苷蛋氨酸处理后，c-myc蛋白和mRNA表达量显著降低(均$P<0.01$)，c-myc基因的低甲基化水平均发生改变。由此可见，S-腺苷蛋氨酸可抑制人胃癌细胞在体内和体外的生长，其机制可能是S-腺苷蛋氨酸可改变c-myc基因的低甲基化，减少其表达，进而抑制肿瘤生长。

5 展望

鉴于胃癌在我国的高发病率和高死亡率，早期且准确的诊断以及据此选取最佳治疗方法就显得尤为重要。越来越多的研究表明肿瘤相关基因启动子区甲基化异常在许多肿瘤发生、进展过程中为一早期频发事件，相对于其他分子生物学分析技术，DNA甲基化测定因其灵敏度高可实现组织中少数细胞甲基化变化的测定。另外，基因组DNA稳定性高于mRNA和蛋白质，其甲基化模式并不会随外界的影响而短期内发生改变，且能随细胞分裂而稳定遗传。某些基因甲基化状态改变既能在胃癌活组织检查中被发现，也可以在血浆、尿液、唾液等非侵入性体液中检测出，这对胃癌患者早期诊断、病情监测和预后评估等方面都具有重要意义。

DNA甲基化作为动态可逆过程，为肿瘤的预防和治疗提供了新思路，甲基转移酶抑制剂的应用正是基于这一点，其可使甲基化的抑癌基因去甲基化

而使之重新激活并发挥抑制肿瘤作用。5-氮-2′-脱氧胞苷（5-Aza-CdR）作为去甲基化治疗肿瘤的代表性药物，通过与甲基转移酶抑制剂共价结合而抑制其活性从而阻止或改变 DNA 甲基化异常。虽然 DNA 甲基转移酶可以有效降低甲基化的发生并能延长患者生命，但这类药物由于缺乏基因和组织特异性而易导致全基因组的普遍低甲基化，若使用不当甚至还可以诱导促癌基因活化并加速细胞癌变。

随着对 DNA 甲基化在胃癌中发生机制研究不断深入和相关检测技术的不断进步与成熟，当前所面临的一系列问题都将得到解决，届时胃癌的诊疗必将翻开其新篇章。

参考文献：

[1] Van Cutsem E, Sagaert X, Topal B, et al. Gastric cancer[J]. Lancet, 2016,388(10060):2654

[2] Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012[J]. Eur J Cancer,2013,49(6):1374

[3] Stutes M, Tran S, Demorrow S. Genetic and epigenetic changes associated with cholangiocarcinoma: from DNA methylation to microRNAs[J]. World J Gastroenterol,2007,13(48):6465

[4] Tischoff I, Wittekind C, Tannapfel A. Role of epigenetic alterations in cholangiocarcinoma[J]. J Hepatobiliary Pancreat Surg,2006,13(4):274

[5] Isomoto H. Epigenetic alterations associated with cholangiocarcinoma (review)[J]. Oncol Rep,2009,22(2):227

[6] Waddington C H. Preliminary Notes on the Development of the Wings in Normal and Mutant Strains of Drosophila[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,1939,25(7):299

[7] Cervoni N, Bhattacharya S, Szyf M. DNA demethylase is a processive enzyme[J]. J Biol Chem,1999,274(13):8363

[8] Gaudet F, Hodgson J G, Eden A, et al. Induction of tumors in mice by genomic hypomethylation[J]. Science,2003,300(5618):489

[9] Dodge J E, Okano M, Dick F, et al. Inactivation of Dnmt3b in mouse embry onic fibroblasts results in DNA hypomethylation ,chromosomal instability , and spontaneous immortalization[J]. J Biol Chem, 2005,280(18):17986

[10] Goto T, Mizukami H, Shirahata A, et al. Methylation of the p16 gene is frequently detected in lymphatic-invasive gastric cancer[J]. Anticancer Res,2010,30(7):2701

[11] Ding Y, Le XP, Zhang Q X, et al. Methylation and mutation analysis of p16 gene in gastric cancer[J]. World J Gastroenterol,2003,9(3): 423

[12] Barberis A, Superti-Furga G, Vitelli L, et al. Developmental and tissue-specific regulation of a novel transcription factor of the sea urchin[J]. Genes Dev,1989,3(5):663

[13] Li X, Cheung K F, Ma X, et al. Epigenetic inactivation of paired box gene 5, a novel tumor suppressor gene, through direct upregulation of p53 is associated with prognosis in gastric cancer patients[J]. Oncogene,2012,31(29):3419

[14] Sugita H, Iida S, Inokuchi M, et al. Methylation of BNIP3 and DAPK indicates lower response to chemotherapy and poor prognosis in gastric cancer[J]. Oncol Rep,2011,25(2):513

[15] Jia W, Yu T, Cao X, et al. Clinical effect of DAPK promoter methylation in gastric cancer[J]. Medicine,2016,95(43):e5040

[16] Cheung K F, Lam C N, Wu K, et al. Characterization of the gene structure, functional significance, and clinical application of RNF180, a novel gene in gastric cancer[J]. Cancer,2012,118(4):947

[17] Xie X M, Deng J Y, Hou Y C, et al. Evaluating the clinical feasibility: The direct bisulfite genomic sequencing for examination of methylated status of E3 ubiquitin ligase RNF180 DNA promoter to predict the survival of gastric cancer[J]. Cancer Biomark,2015,15(3): 259

[18] Wang N, Sui F, Ma J, et al. Site-specific Hypermethylation of RUNX3 Predicts Poor Prognosis in Gastric Cancer[J]. Arch Med Res,2016, 47(4):285

[19] Chen W, Gao N, Shen Y, et al. Hypermethylation downregulates Runx3 gene expression and its restoration suppresses gastric epithelial cell growth by inducing p27 and caspase3 in human gastric cancer[J]. J Gastroenterol Hepatol,2010,25(4):823

[20] 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-kappaB signaling pathway[J]. Mol Med,2012,18:1402

[21] 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

[22] Yin X, Xiang T, Li L, et al. DACT1, an antagonist to Wnt/beta-catenin signaling, suppresses tumor cell growth and is frequently silenced in breast cancer[J]. Breast Cancer Res,2013,15(2):R23

[23] Schubert F R, Sobreira D R, Janousek R G, et al. Dact genes are chordate specific regulators at the intersection of Wnt and Tgf-beta signaling pathways[J]. BMC Evol Biol,2014,14:157

[24] 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

[25] Yau T O, Chan C Y, Chan K L, et al. HDPR1, a novel inhibitor of the WNT/beta-catenin signaling, is frequently downregulated in hepatocellular carcinoma: involvement of methylation-mediated gene silencing[J]. Oncogene,2005,24(9):1607

[26] 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

[27] 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

[28] Katoh M, Katoh M. Identification and characterization of human DAPPER1 and DAPPER2 genes in silico[J]. Int J Oncol,2003,22(4): 907

[29] Luo J, Li Y N, Wang F, et al. S-adenosylmethionine inhibits the growth of cancer cells by reversing the hypomethylation status of c-myc and H-ras in human gastric cancer and colon cancer[J]. Int J Biol Sci,2010,6(7):784

[30] Zhao Y, Li J S, Guo M Z, et al. Inhibitory effect of S-adenosylmethionine on the growth of human gastric cancer cells in vivo and in vitro[J]. Chin J Cancer,2010,29(8):752

（2018-06-14 收稿）