

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.12.005

DACT2 基因启动子甲基化与宫颈癌细胞化疗敏感性的相关性研究*

李臻¹ 李帆^{2Δ} 王佳¹ 姚彦³ 郭莉⁴ 岳玉光⁴

(1 西安交通大学第一附属医院妇产科 陕西 西安 710061; 2 陕西省人民医院妇科 陕西 西安 710056;

3 空军军医大学第一附属医院检验病理科 陕西 西安 710054; 4 空军军医大学第一附属医院第九门诊部 陕西 西安 710054)

摘要 目的: 探讨与研究 DACT2 基因启动子甲基化与宫颈癌细胞化疗敏感性的相关性。**方法:** 人宫颈癌顺铂耐药细胞系 SIHA/DDP 根据实验目的分为三组 - 对照组、DACT 1 组与 DACT 2 组, 组分别加入含 0.0 μmol/L、1.0 μmol/L、10.0 μmol/L DACT2 基因启动子甲基化抑制剂 -5-aza-dC 进行治疗, 采用 MTT 法检测细胞增殖指数, 流式细胞法检测细胞凋亡指数, PCR 法检测甲基化水平, 流式细胞仪检测细胞周期, Western Blot 检测 Wnt 蛋白与 TGF-β1 蛋白表达情况。**结果:** 治疗后 24 h、36 h 的 DACT 1 组与 DACT 2 组 DACT2 基因启动子甲基化相对水平低于对照组 ($P<0.05$), DACT 2 组低于 DACT 1 组 ($P<0.05$)。治疗后 24 h、36 h 的 DACT 1 组与 DACT 2 组细胞增殖指数低于对照组 ($P<0.05$), 细胞凋亡指数高于对照组 ($P<0.05$), DACT 2 组与 DACT 1 组对比差异都有统计学意义 ($P<0.05$)。治疗后 24 h、36 h 的 DACT 1 组与 DACT 2 组 G2/M 期细胞比例高于对照组 ($P<0.05$), G0/G1 期细胞比例低于对照组 ($P<0.05$), DACT 1 组与 DACT 2 组对比差异有统计学意义 ($P<0.05$)。治疗后 24 h、36 h 的 DACT 1 组与 DACT 2 组的 Wnt 蛋白与 TGF-β1 蛋白相对表达水平低于对照组 ($P<0.05$), DACT 2 组低于 DACT 1 组 ($P<0.05$)。**结论:** 抑制 DACT2 基因启动子甲基化能抑制宫颈癌细胞的 Wnt/TGF-β1 信号通路的激活, 能调节宫颈癌细胞周期平衡, 能抑制顺铂耐药性宫颈癌细胞增殖, 促进细胞凋亡, 并增强化疗敏感性, 且在本研究设置范围内, 作用剂量越高, 效果越显著。

关键词: 化疗敏感性; DACT2 基因; 启动子; 甲基化; 宫颈癌; 细胞增殖; 细胞周期; 细胞凋亡

中图分类号: R-33; R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2022)12-2222-05

The Relationship between DACT2 Gene Promoter Methylation and Chemotherapy Sensitivity of Cervical Cancer Cells*

LI Zhen¹, LI Fan^{2Δ}, WANG Jia¹, YAO Yan³, GUO Li⁴, YUE Yu-guang⁴

(1 Department of Obstetrics and Gynecology, First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710061, China;

2 Department of Gynecology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710056, China; 3 Department of Laboratory

Pathology, First Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710054, China;

4 The Ninth Outpatient Department of the First Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710054, China)

ABSTRACT Objective: To explore and study the correlation of Homo sapiens dapper, antagonist of beta-catenin (DACT)2 gene promoter methylation and chemotherapy sensitivity of cervical cancer cells. **Methods:** The cisplatin-resistant human cervical cancer cell line SIHA/DDP was divided into three groups according to the experimental purpose-control group, DACT 1 group and DACT 2 group. Submethylation inhibitor-5-aza-dC were used for treatment. MTT method were used to detect cell proliferation index, loss cell method to detect cell apoptosis index, PCR method to detect methylation level, flow cytometry to detect cell cycle, Western Blot The expression of Wnt protein and TGF-β1 protein were detected. **Results:** At 24h and 36h after treatment, the relative levels of DACT2 gene promoter methylation in DACT 1 and DACT 2 groups were lower than those in the control group ($P<0.05$), and the DACT 2 group were lower than that in the DACT 1 group ($P<0.05$). The cell proliferation index in DACT 1 group and DACT 2 group were lower than that in the control group ($P<0.05$), and the apoptosis index were higher than that in the control group ($P<0.05$). There were also statistical significance compared between the DACT 2 group and the DACT 1 group ($P<0.05$). At 24h and 36h after treatment, the proportion of cells in G2/M phase in DACT 1 group and DACT 2 group were higher than that in control group ($P<0.05$), and the proportion of cells in G0/G1 phase were lower than that in control group ($P<0.05$). There were also statistical significance compared between the DACT 2 group and the DACT 1 group ($P<0.05$). The relative expression levels of Wnt protein and TGF-β1 protein in DACT 1 group and DACT 2 group at 24h and 36h after treatment were lower than those in control group ($P<0.05$), and DACT 2 group were lower than DACT 1 group ($P<0.05$). **Conclusion:** Inhibition of DACT2 gene promoter methylation can inhibit the activation of Wnt/TGF-β1 signaling

* 基金项目: 陕西省科技计划项目 (2020SF-030)

作者简介: 李臻 (1987-), 女, 硕士, 住院医师, 研究方向: 妇科肿瘤妇科内分泌, 电话: 18691553099, E-mail: lz20218888cx@163.com

Δ 通讯作者: 李帆 (1974-), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 妇科肿瘤方向, 电话: 13679298561, E-mail: lifan06132021@163.com

(收稿日期: 2022-01-06 接受日期: 2022-01-30)

pathway in cervical cancer cells, regulate the balance of cervical cancer cell cycle, inhibit the proliferation of cisplatin-resistant cervical cancer cells, and promote cell apoptosis, thereby increasing chemosensitivity. And within the setting range of this study, the higher the dose, the more significant the effect.

Key words: Chemosensitivity; DACT2 gene; Promoter; Methylation; Cervical cancer; Cell proliferation; Cell cycle; Apoptosis

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R737.33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)12-2222-05

前言

宫颈癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,在部分地区长期位居妇科恶性肿瘤的首位。手术切除、化疗、放疗、内分泌药物是宫颈癌的主要治疗手段,但是因复发或耐药等问题导致宫颈癌患者的死亡率一直居高不下^[1,2]。根治性放射治疗具有比较好的效果,但会引起泌尿和肠道系统副作用及性功能障碍等并发症^[3,4]。同时宫颈癌对于化疗的耐药性一直是治疗失败的主要原因,且化疗也存在个体差异性,为此在临床上需寻找增加化疗敏感性的方法。宫颈癌的发生、进展的过程是复杂的,与基因与蛋白表达的改变都有显著关联性^[5,6]。DACT 是可参与调节 Wnt/TGF- β 1 信号通路的调控因子,从而对肿瘤的增殖与侵袭具有抑制调控作用,DACT2 为 DACT 家族的主要成员,在多个恶性肿瘤组织中都有所表达^[7,8]。如果 DACT2 启动子区域发生甲基化可导致 DACT2 基因失活,则 DACT2 蛋白不能正常表达,导致 Wnt/TGF β 信号通路失常,从而抑癌作用会有所降低^[9,10]。5-氮杂-2'-脱氧胞苷简称为 aza-dC,是 DNA 甲基转移酶 I (DNA methyltransferase I, DNMT I) 的抑制剂,它主要通过共价键与 DNMTI 结合后可逆转 DNA 的甲基化,从而促进相关沉默基因的重新表达^[11,12]。本文探讨与分析了 DACT2 基因启动子甲基化与宫颈癌细胞化疗敏感性的相关性,希望为宫颈癌的去甲基化治疗提供新的策略。

1 材料与方法

1.1 实验材料

人宫颈癌顺铂耐药细胞系 SIHA/DDP 购自协和医学院基础所,培养在含 10 % FBS 的 1640 培养基中,培养条件:5.0 % 二氧化碳、相对湿度 95.0 %、37 °C 细胞专用培养箱,48 h 更换一次培养基。MTT 检测试剂盒购自上海生工公司,5-aza-dC 购自美国 sigma 公司,抗 Wnt 抗体、抗 TGF- β 1 抗体购自武汉三鹰公司,凋亡试剂盒购自上海碧云天生物公司。

1.2 细胞分组与干预

将 SIHA/DDP 细胞按照实验设置分为三组 - 对照组、DACT 1 组与 DACT 2 组,SIHA/DDP 细胞细胞稀释至密度 5×10^4 /mL,接种于 96 孔板,每孔 100 μ L。将 5-aza-dC 稀释为 3 个浓度梯度 -0.0 μ mol/L、1.0 μ mol/L、10.0 μ mol/L,每次浓度设 3 个复孔。上述细胞贴壁后弃原培养液,对照组、DACT 1 组与 DACT 2 组分别加入含 0.0 μ mol/L、1.0 μ mol/L、10.0 μ mol/L 5-aza-dC 的培养基,培养 24 h 与 36 h 后加入常规培养基 100 μ L 进行常规培养。

1.3 MTT 法检测细胞增殖指数

将各时间点治疗后的细胞加入 10 μ L MTT 溶液,继续培养 4 h,去掉上清后加入 150 μ L 二甲基亚砷,震荡摇匀 10 min,

溶解结晶物,酶联检测仪测量 570 nm 处各孔吸光值,计算细胞增殖指数。

1.4 流式细胞法检测细胞凋亡指数

将各时间点治疗后的细胞转移入标记好的离心管中,采用预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次。采用 Binding Buffer 重悬细胞,调整细胞密度。分装到流式管中,向每个流式管中加入 5 μ L Annexin V-PE 和 5 μ L Annexin V-FITC,避光孵育 15 min,然后在流式细胞仪检测细胞凋亡指数。

1.5 PCR 法检测甲基化水平

将各时间点治疗后的细胞提取核酸后,设计 DACT2 基因启动子区域的引物,逆转录后 PCR 反应条件:95 °C 5 min; 95 °C 45 s, 56 °C 45 s, 40 个循环,Ct 值 $\leq$ 38 判断为 DACT2 基因启动子甲基化,计算 DACT2 基因启动子甲基化的相对水平。

1.6 流式细胞仪检测胞周期

将各时间点治疗后的细胞调整浓度为 1×10^6 个 /mL,使用 70 %乙醇 4 °C 重悬固定,磷酸盐缓冲液离心沉淀去除固定液。用碘化丙啶染液重悬细胞(每 1×10^6 个细胞加 1 mL PI 染液),室温避光孵育 30 min。过滤细胞悬液后进行上流式细胞仪分析,检测与计算各个细胞周期的比例。

1.7 Western Blot 检测 Wnt 蛋白与 TGF- β 1 蛋白表达情况

收集将各时间点治疗后的细胞,提取细胞总蛋白,SDS-PAGE 电泳、转膜后,4 °C 孵育一抗(抗 Wnt 抗体、抗 TGF- β 1 抗体,稀释度均 1:1000)过夜,洗涤后室温下孵育二抗至工作浓度(1:1000),孵育 1 h,洗涤后进行显色扫描。

1.8 统计学方法

本次研究分析实验数据通过 SPSS24.00 软件。通过均数 $\pm$ 标准差表示计量资料,通过 t-test 进行两组间对比,通过单因素方差分析进行多组间对比,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 DACT2 基因启动子甲基化情况

治疗后 24 h、36 h 的 DACT 1 组与 DACT 2 组 DACT2 基因启动子甲基化相对水平低于对照组($P<0.05$),DACT 2 组低于 DACT 1 组($P<0.05$)。见表 1。

2.2 细胞增殖与凋亡指数对比

治疗后 24 h、36 h 的 DACT 1 组与 DACT 2 组细胞增殖指数低于对照组 ($P<0.05$),细胞凋亡指数高于对照组($P<0.05$),DACT 2 组与 DACT 1 组对比差异都有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 细胞周期比例对比

治疗后 24 h、36 h 的 DACT 1 组与 DACT 2 组 G2/M 期细胞比例高于高于对照组 ($P<0.05$),G0/G1 期细胞比例低于对照组 ($P<0.05$),DACT 1 组与 DACT 2 组对比差异有统计学意义

($P<0.05$)。见表 3。

表 1 三组治疗后不同时间点的 DACT2 基因启动子甲基化相对水平对比

Table 1 Comparison of the relative promoter methylation levels of DACT2 gene promoters at different time points after treatment in the three groups

Groups	n	24 h	36 h
DACT 2 group	3	0.56±0.06 [°]	0.43±0.03 [°]
DACT 1 group	3	1.49±0.11 [°]	1.11±0.09 [°]
Control group	3	2.74±0.14	2.75±0.26
F		12.833	17.482
P		<0.001	<0.001

Note: Compared with the control group, [°] $P<0.05$; compared with the DACT 1 group, [°] $P<0.05$. The same below.

表 2 三组治疗后不同时间点的细胞增殖与凋亡指数对比(%)

Table 2 Comparison of cell proliferation and apoptosis index at different time points after treatment in three groups(%)

Groups	n	Cell proliferation index		Apoptotic index	
		24 h	36 h	24 h	36 h
DACT 2 group	3	22.99±3.12 [°]	28.44±2.67 [°]	18.09±3.11 [°]	24.21±2.22 [°]
DACT 1 group	3	34.22±4.20 [°]	43.90±4.44 [°]	11.29±3.85 [°]	17.02±1.01 [°]
Control group	3	41.89±3.22	67.48±3.99	8.44±4.22	11.30±0.98
F		17.103	24.103	25.024	27.858
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 3 三组治疗后不同时间点的细胞周期比例对比(%)

Table 3 Comparison of cell cycle ratios at different time points after treatment for the three groups (%)

Groups	n	24 h			36 h		
		Phase G2/M	Phase G0/G1	Phase S	Phase G2/M	Phase G0/G1	Phase S
DACT 2 group	3	24.67±2.98 [°]	51.43±4.13 [°]	24.22±2.49	28.33±3.02 [°]	47.98±3.29 [°]	25.01±2.74
DACT 1 group	3	22.42±3.13 [°]	62.00±3.87 [°]	24.99±2.84	25.09±2.10 [°]	60.20±2.48 [°]	25.98±3.10
Control group	3	19.29±3.09	66.49±4.09	25.22±3.10	19.26±2.22	66.20±3.02	25.20±2.84
F		9.991	10.293	0.533	11.949	14.509	0.483
P		<0.001	<0.001	0.510	<0.001	<0.001	0.615

2.4 Wnt 蛋白与 TGF-β1 蛋白相对表达水平对比

治疗后 24 h、36 h 的 DACT 1 组与 DACT 2 组的 Wnt 蛋白

与 TGF-β1 蛋白相对表达水平低于对照组($P<0.05$),DACT 2 组

低于 DACT 1 组($P<0.05$)。见表 4。

表 4 三组治疗后不同时间点的 Wnt 蛋白与 TGF-β1 蛋白相对表达水平对比

Table 4 Comparison of the relative expression levels of Wnt protein and TGF-1 protein at different time points after treatment in the three groups

Groups	n	Wnt		TGF-β1	
		24 h	36 h	24 h	36 h
DACT 2 group	3	1.02± 0.22 [°]	0.78±0.05 [°]	1.23±0.24 [°]	1.00±0.14 [°]
DACT 1 group	3	2.83± 0.21 [°]	2.34±0.09 [°]	3.10±0.32 [°]	2.87±0.16 [°]
Control group	3	4.29± 0.22	4.27±0.13	5.10±0.17	5.09±0.22
F		28.193	32.488	29.993	35.052
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

3 讨论

宫颈癌为女性的常见恶性肿瘤,随着诊断技术的发展,越

来越多的人被检测出患有宫颈癌,目前手术为宫颈癌的主要治疗方法^[13]。若发展为难治性宫颈癌,往往需要放疗或化疗,通常中晚期患者可行姑息性放疗可改善症状,延长生存期^[14]。目前

宫颈癌化疗药物最主要的一种就是顺铂,该要去进入细胞后能优先结合 β -微管蛋白,破坏细胞的正常有丝分裂,细胞在G2/M期后就不再分裂,直至细胞凋亡。但是随着顺铂的广泛使用,其耐药性越来越高^[15,16]。

DNA甲基化属于表观遗传学的一种,许多恶性肿瘤的发生也已被证实与DNA甲基化密切相关^[17]。其中,DACT2基因表达异常可导致细胞迁移发生变化,促进细胞增殖^[18]。有研究显示:DACT2基因启动子区甲基化可能参与恶性肿瘤的发生,该基因表达可使恶性肿瘤细胞停滞于分裂期的G0/G1期,并抑制Wnt通路信号的转导进而抑制恶性肿瘤的发展^[19]。本研究显示治疗后24h、36h的DACT1组与DACT2组DACT2基因启动子甲基化相对水平低于对照组($P<0.05$),DACT2组低于DACT1组($P<0.05$),表明5-aza-dC能有效抑制DACT2基因启动子甲基化水平。

铂类仍为癌正治疗的一线用药,但其耐药性极大地影响了宫颈癌的化疗效果,甚或长期进行顺铂治疗还可引起肿瘤的复发、转移甚至死亡,有研究显示当铂类药物进入体内后,可与肿瘤细胞核内的DNA形成多种复合物,这可能是耐药性发生的机制之一^[20,21]。本研究显示治疗后24h、36h的DACT1组与DACT2组细胞增殖指数低于对照组($P<0.05$),细胞凋亡指数高于对照组($P<0.05$),DACT2组与DACT1组对比差异都有统计学意义($P<0.05$),表明抑制DACT2基因启动子甲基化能抑制顺铂耐药性宫颈癌细胞增殖,促进细胞凋亡。结合相关研究分析:在恶性肿瘤中,DACT2启动子区发生高度甲基化,因此该基因表达下调或缺失,这也是多种恶性肿瘤发生和转移的机制之一^[22,23]。DNA甲基化是表型遗传修饰的主要内容之一,是在DNA甲基转移酶催化下,可使得异常甲基化的抑癌基因表达沉默,从而导致恶性肿瘤患者病情恶化^[24]。5-Aza-CdR为一种胞苷类似物,也为甲基化抑制剂,可通过与DNA甲基化酶共价结合,降低酶的生物学活性而发挥作用^[25]。本研究显示治疗后24h、36h的DACT1组与DACT2组G2/M期细胞比例高于对照组($P<0.05$),G0/G1期细胞比例低于对照组($P<0.05$),DACT1组与DACT2组对比差异有统计学意义($P<0.05$),表明抑制DACT2基因启动子甲基化能调节宫颈癌细胞周期平衡,结合上述研究从机制上分析,抑制DACT2基因启动子甲基化可使异常甲基化的DACT2基因重新表达,则DACT2蛋白可恢复活性,影响细胞周期状况,可以抑制肿瘤细胞增殖。

现代研究表明恶性肿瘤的发生是内在和外界多种因素共同作用下,使肿瘤细胞在基因水平上丧失了正常的生长调控功能,导致细胞的异常生长及分化,其中Wnt/TGF- β 1信号通路发挥了重要的作用^[26,27]。有研究显示与基因突变或缺失不同,异常的DNA甲基化是可以逆转的,DNA甲基转移酶抑制剂的应用可能通过去甲基化作用使异常甲基化的DACT2蛋白基因重新表达,则DACT2蛋白可恢复活性,使得Wnt/TGF- β 1为信号传导被抑制,从而抑制肿瘤细胞增殖^[28]。本研究显示治疗后24h、36h的DACT1组与DACT2组的Wnt蛋白与TGF- β 1蛋白相对表达水平低于对照组($P<0.05$),DACT2组低于DACT1组($P<0.05$),结合相关研究分析:DACT2的甲基化可使得DACT2失活,其失活主要机制之一为DACT2基因CpG岛的

异常甲基化修饰,抑制DACT2基因启动子甲基化能抑制Wnt/TGF- β 1信号通路的激活^[29,30]。本研究也有一定的不足,DACT2的具体作用机制还不明确,其在宫颈癌中的明确靶基因还不清楚,将在后续研究中深入分析。

总之,抑制DACT2基因启动子甲基化能抑制宫颈癌细胞的Wnt/TGF- β 1信号通路的激活,能调节宫颈癌细胞周期平衡,能抑制顺铂耐药性宫颈癌细胞增殖,促进细胞凋亡,从而增强化疗敏感性,且在本研究设置范围内,作用剂量越高,效果越显著。

参考文献(References)

- [1] Gu M, He T, Yuan Y, et al. Single-Cell RNA Sequencing Reveals Multiple Pathways and the Tumor Microenvironment Could Lead to Chemotherapy Resistance in Cervical Cancer [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 753386
- [2] Hou H, Yu R, Zhao H, et al. LncRNA OTUD6B-AS1 Induces Cisplatin Resistance in Cervical Cancer Cells Through Up-Regulating Cyclin D2 via miR-206[J]. *Front Oncol*, 2021, 11(9): 777220
- [3] Chi R A, Van Der Watt P, Wei W, et al. Inhibition of Kpn β 1 mediated nuclear import enhances cisplatin chemosensitivity in cervical cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 21(1): 106-111
- [4] Dessources K, Hari A, Pineda E, et al. Socially determined cervical cancer care navigation: An effective step toward health care equity and care optimization[J]. *Cancer*, 2020, 126(23): 5060-5068
- [5] Li R, Song Y, Chen X, et al. METTL3 increases cisplatin chemosensitivity of cervical cancer cells via downregulation of the activity of RAGE[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2021, 22: 245-255
- [6] 罗静,王红,王春佟,等. 昂丹司琼联合泮托拉唑对宫颈癌同步放疗所致恶心呕吐的临床疗效 [J]. *现代生物医学进展*, 2020, 20(24): 4735-4738
- [7] Lan T, Yin L, Zhang H, et al. Diagnostic value of DACT-2 methylation in serum of prostate cancer patients[J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(3): 2421-2428
- [8] Liu H, Song M, Sun X, et al. T-box transcription factor TBX1, targeted by microRNA-6727-5p, inhibits cell growth and enhances cisplatin chemosensitivity of cervical cancer cells through AKT and MAPK pathways[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 565-577
- [9] Sun Y, Feng Y, Zhang G, et al. The endonuclease APE1 processes miR-92b formation, thereby regulating expression of the tumor suppressor LDLR in cervical cancer cells [J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2019, 11(13): 17588-15597
- [10] Xu H, Sun Y, Zeng L, et al. Inhibition of cytosolic phospholipase A2 alpha increases chemosensitivity in cervical carcinoma through suppressing β -catenin signaling [J]. *Cancer Biol Ther*, 2019, 20(6): 912-921
- [11] Xu J, Ma X, Yang H, et al. MiR-509-3p Induces Apoptosis and Affects the Chemosensitivity of Cervical Cancer Cells by Targeting the RAC1/PAK1/LIMK1/Cofilin Pathway [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2021, 69(4): 325-332
- [12] Yu M, Xu B, Yang H, et al. MicroRNA-218 regulates the chemosensitivity of cervical cancer cells through targeting survivin [J]. *Oncogene*, 2019, 11(9): 6511-6519
- [13] 刘朝阳,杨晓花,张恩娣,等. 三种宫颈癌筛查方法的临床效果比

- 较及筛查阳性者认知状况调查 [J]. 现代生物医学进展, 2021, 21 (19): 3773-3777
- [14] Guo L, Wang X, Yang Y, et al. Methylation of DACT2 contributes to the progression of breast cancer through activating WNT signaling pathway[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(3): 3287-3294
- [15] 楚蔚琳,刘永华,刘新荣.洛铂与顺铂同步放化疗对ⅡB~ⅢB期宫颈癌患者近期疗效及免疫-炎症因子的影响[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2020, 21(05): 458-460
- [16] Wang Y, Cen A, Yang Y, et al. miR-181a, delivered by hypoxic PTC-secreted exosomes, inhibits DACT2 by downregulating MLL3, leading to YAP-VEGF-mediated angiogenesis [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 24: 610-621
- [17] 李思其,高兴林. DNA 甲基化调控实体肿瘤免疫反应的研究现状 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2021, 44(10): 921-926
- [18] Hou J, Huang S, Long Y, et al. DACT2 regulates structural and electrical atrial remodeling in atrial fibrillation[J]. *J Thorac Dis*, 2020, 12(5): 2039-2048
- [19] Yi Z, Ouyang J, Sun W, et al. Comparative exome sequencing reveals novel candidate genes for retinitis pigmentosa [J]. *EBioMedicine*, 2020, 56(9): 102792
- [20] Wang S, Li MY, Liu Y, et al. The role of microRNA in cisplatin resistance or sensitivity [J]. *Expert Opin Ther Targets*. 2020, 24(9): 885-897
- [21] Yuan M, Zhao S, Chen R, et al. MicroRNA-138 inhibits tumor growth and enhances chemosensitivity in human cervical cancer by targeting H2AX[J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 19(1): 630-638
- [22] Lu L, Wang Y, Ou R, et al. DACT2 Epigenetic Stimulator Exerts Dual Efficacy for Colorectal Cancer Prevention and Treatment [J]. *Pharmacol Res*, 2018, 129(9): 318-328
- [23] Jalilvand A, Soltanpour MS. Investigating the methylation status of DACT2 gene and its association with MTHFR C677T polymorphism in patients with colorectal cancer [J]. *Mol Biol Res Commun*, 2019, 8 (2): 53-58
- [24] Lau CE, Robinson O. DNA methylation age as a biomarker for cancer [J]. *Int J Cancer*, 2021, 148(11): 2652-2663
- [25] 梁书卿,魏枫,孙洪莉,等. 5-氮杂-2'-脱氧胞苷对人甲状腺乳头状癌细胞 DNA 甲基化及 DAPK 基因表达的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(12): 1861-1865
- [26] Jalilvand A, Soltanpour M S. Investigating the methylation status of DACT2 gene and its association with MTHFR C677T polymorphism in patients with colorectal cancer [J]. *Mol Biol Res Commun*, 2019, 8 (2): 53-58
- [27] Roudaut M, Idriss S, Caillaud A, et al. PCSK9 regulates the NODAL signaling pathway and cellular proliferation in hiPSCs [J]. *Stem Cell Reports*, 2021, 16(12): 2958-2972
- [28] Zhao C, Lu E, Hu X, et al. S100A9 regulates cisplatin chemosensitivity of squamous cervical cancer cells and related mechanism[J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10(9): 3753-3764
- [29] Lan T, Yin L, Zhang H, et al. Diagnostic value of DACT-2 methylation in serum of prostate cancer patients [J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(3): 2421-2428
- [30] Zou X. MicroRNA-708 Suppresses Cell Proliferation and Enhances Chemosensitivity of Cervical Cancer Cells to cDDP by Negatively Targeting Timeless[J]. *BMC Cancer*, 2020, 13(9): 225-235