食管鳞癌中 *DACT2* 基因表达及甲基化状态研究

刘　磊[1],周　珍[2],邝　刚[1],沈素朋[1],梁　佳[1],郭　炜[1],郭艳丽[1],董稚明[1]
(1.河北医科大学第四医院,河北 石家庄 050011;2.邯郸市第一医院,河北 邯郸 056002)

摘　要:[目的]检测食管鳞状细胞癌(ESCC)中 *DACT2* 基因表达及启动子区甲基化状态,探讨 *DACT2* 基因在食管鳞癌发生发展中的作用。[方法]分别应用逆转录—聚合酶链反应(RT-PCR)以及甲基化特异性 PCR(MSP)的方法检测 DNA 甲基转移酶抑制剂 5-氮杂-2′-脱氧胞苷(5-aza-dC)处理前后的食管癌细胞系(TE1、TE13、T.Tn、Eca109)以及食管鳞癌组织及相应癌旁组织中 *DACT2* mRNA 表达情况及启动子区甲基化状态。[结果]经 5-aza-dC 处理后 4 种食管癌细胞系中 *DACT2* 基因的表达均增高。4 种未经 5-aza-dC 处理的食管癌细胞系中 *DACT2* 基因呈高甲基化状态。应用 5-aza-dC 处理后,*DACT2* 基因在 4 种细胞系中均呈非甲基化状态。*DACT2* 基因在食管鳞癌组织中的表达显著低于癌旁组织(0.66±0.53 *vs* 0.95±0.64,t=-2.43,P=0.018),并与淋巴结转移密切相关(t=-2.030,P=0.048)。食管鳞癌组织中 *DACT2* 基因的启动子区甲基化率显著高于癌旁组织(50.0% *vs* 21.1%,χ^2=9.439,P=0.002),并与 TNM 分期、组织学分化程度和淋巴结转移密切相关(P均<0.05)。发生 *DACT2* 基因甲基化的食管鳞癌组织中 *DACT2* 基因的表达量显著低于未发生甲基化的食管鳞癌组织(0.46±0.32 *vs* 0.78±0.61,t=-2.341,P=0.023)。[结论]*DACT2* 基因在食管鳞癌中的异常低表达与食管鳞癌的发生、发展密切相关,且其启动子区甲基化可能是导致其表达沉默的机制之一。

关键词:食管鳞癌;*DACT2* 基因;DNA 甲基化
中图分类号:R735.1　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1004-0242(2017)04-0302-06
doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2017.04.A012

Expression and Methylation Status of *DACT2* Gene in Esophageal Squamous Cell Carcinoma

LIU Lei[1],ZHOU Zhen[2],KUANG Gang[1],et al.
(1. The Fourth Hospital of Hebei Medical University,Shijiazhuang 050011,China;2. The First Hospital of Handan,Handan 056002,China)

Abstract:[Purpose] To investigate the expression and methylation status of *DACT2* gene in esophageal squamous cell carcinoma(ESCC). [Methods] The mRNA expression and methylation status of *DACT2* gene in esophageal cancer cell lines(TE1,TE13,T.TN,Eca109) treated or untreated with DNA methyltransferase inhibitor 5-aza-2′-detoxycytidine(5-aza-dC),and in ESCC tissues and corresponding non-cancerous tissues were detected by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and methylation specific PCR (MSP),respectively. [Results] Relatively low expression and hypermethylation of *DACT2* was detected in 4 esophageal cancer cell lines untreated with 5-aza-dC. After treatment with 5-aza-dC,the expression of *DACT2* was enhanced,and the methylation status of *DACT2* was reversed in esophageal cancer cell lines. The expression of *DACT2* in ESCC tumor tissues was significantly reduced compared to corresponding non-cancerous tissues (0.66±0.53 *vs* 0.95±0.64,t=-2.43,P=0.018),and was associated with lymph node metastasis(t=-2.030,P=0.048). The methylation frequency of *DACT2* promoter in ESCC tissues was significantly higher than that in corresponding normal tissues(50.0% *vs* 21.1%,χ^2=9.439,P=0.002),and was associated with TNM stage,pathological differentiation and lymph node metastasis (all P<0.05). The expressions of *DACT2* in ESCC tumor tissues with methylation of the gene was significantly lower than that in tumor tissues with unmethylation of the gene (0.46±0.32 *vs* 0.78±0.61,t=-2.341,P=0.023). [Conclusion] Aberrant low expression of *DACT2* is closely related to the occurrence and development of ESCC,and promoter methylation may be one of the mechanisms for inactivation of *DACT2* in ESCC.

Key words:esophageal squamous cell carcinoma;*DACT2*;DNA methylation

DACT (Homo sapiens dapper,antagonist of beta-catenin),又名 frodo 或 dapper,是 Wnt/β-catenin 信号通路的负性调节基因家族。DACT2 都是 Dapper 家族成员之一,定位于人染色体 6q27 区域[1]。有研究

收稿日期:2016-07-11;修回日期:2016-09-01
基金项目:河北省自然科学基金(H2015206420)
通讯作者:董稚明,E-mail:dongzhiming2000@163.com

推测 DACT2 的作用机制主要是促进 ALK5 通过溶酶体途径降解来调节细胞膜表面受体，从而来调控 TGF-β 信号转导[2]。DACT2 在人肺癌和肝癌中表达降低可能与其启动子区异常甲基化有关[3,4]。目前关于 DACT2 与肿瘤关系的研究文献报道较少，在食管癌中的表观遗传学变化及功能尚不清楚。

本研究通过检测 4 种食管癌细胞系和 52 例食管癌患者的癌组织及相应癌旁组织中 *DACT2* 基因 mRNA 表达及启动子区的甲基化状态，并分析其基因表达与 DNA 甲基化状态的相关性，结合其与患者临床病理特征的关系，进一步探讨 *DACT2* 基因在食管鳞癌中的作用及其表达调控的可能机制，以期为食管癌的临床诊断及治疗提供新思路。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择河北医科大学第四医院 2008~2011 年间的 52 例食管鳞癌患者手术切除肿瘤组织及相应的癌旁正常组织作为研究对象。其中男性 39 例，女性 13 例，年龄 45~74 岁，≥60 岁 29 例，<60 岁 23 例，中位年龄 61 岁。按照国际抗癌联盟 (Union for International Cancer Control)标准进行 TNM 分期，Ⅰ期 12 例，Ⅱ期 30 例，Ⅲ期 7 例，Ⅳ期 3 例。按照 WHO 肿瘤病理学分级标准，高、中分化组 26 例，低分化组 26 例。根据有无淋巴结转移分组，有淋巴结转移组 32 例，无淋巴结转移组 20 例。每例食管癌患者均选取癌旁正常黏膜及食管癌原发灶作为标本，全部患者术前均未经过放化疗。手术切除的一部分新鲜标本放入液氮保存，提取 DNA 和 RNA，一部分标本以 4%中性甲醛溶液固定并制作蜡块保存，用于 HE 染色以确定其构成成分主要为肿瘤组织，且癌细胞未浸润癌旁非肿瘤组织。本研究经所有患者知情同意，并经伦理委员会评审通过。

1.2 试剂及来源

实验用 RPMI 1640 培养液、胎牛血清和 0.25%胰蛋白酶购自美国 Gibco 公司，青霉素和链霉素购自华北制药集团有限责任公司；DNA 甲基转移酶抑制剂 5-氮杂 2'-脱氧胞苷(5-aza-2'-deoxycitydine，5-aza-dC）购自美国 Sigma 公司，TRIzol 购自美国 SBS 公司，反转录试剂盒购自加拿大 Fermentas 公司；蛋白酶 K 购自美国 Sigma 公司，亚硫酸氢盐购自美国 Sigma-Aldrich 公司，Wizard DNA 纯化试剂盒购自美国 Promega 公司，Sss Ⅰ甲基化酶购自美国 NEB 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。

1.3 方 法

1.3.1 食管癌细胞及其培养

食管癌 TE1、TE13、T.Tn 和 Eca109 细胞由河北医科大学第四医院肿瘤研究所病理研究室保存。4 种细胞均用含 10%胎牛血清的 DMEM/H 培养液置于 37℃、5%CO_2 培养箱中进行培养。常规培养同时应用 5μmol/L 5-aza-dC 作用于上述 4 种细胞，每 24h 更换 1 次培养液，培养 2d，第 3d 换成不含 5-aza-dC 的完全培养液继续培养 24h 后收集细胞，并提取 DNA 和总 RNA。

1.3.2 *DACT2* 基因 mRNA 表达检测

RT-PCR 法检测 5-aza-dC 处理前后食管癌细胞和食管鳞癌及其癌旁组织中 *DACT2* 基因 mRNA 表达，Trizol 实际说明书提取 5-aza-dC 处理前后的细胞系和 52 例食管鳞癌及癌旁组织中的总 RNA，并参照逆转录试剂盒说明书的比例加样，将 RNA 逆转录成 cDNA。以 *GAPDH* 为内参照，所有 PCR 产物进行 2%琼脂糖凝胶电泳鉴定(Table 1)。并应用凝胶成像分析软件 Gel Pro Analysizer 3.1 测定条带灰度值，以目的基因的灰度值/内参灰度值的比值表示 mRNA 的相对表达水平。

1.3.3 *DACT2* 基因甲基化状态的检测

甲基化特异性 PCR (methylation specific polymerase chain reaction，MSP) 检测 5-aza-dC 处理前后的食管癌细胞和食管鳞癌组织及其癌旁组织中 *DACT2* 基因的甲基化状态，应用酚/氯仿抽提法提取 5-aza-dC 处理前后的食管癌细胞和 52 例食管鳞癌组织及其癌旁正常组织中的 DNA，用紫外分光光度法进行定量。取 7μg DNA 加双蒸水定容至 18μl，120℃水浴变性 10min，立即冰浴 5min；加入 3mol/L NaOH 2μl，42℃水浴变性 20min；加入由亚硫酸氢盐和对苯二酚配制的处理液 380μl；加入 200μl 矿物油，避光，50℃水浴反应 12~16h；应用 Wizard DNA 纯化试剂盒进行 DNA 纯化。

应用在线软件 Methprimer CpG 岛预测软件分析，发现 *DACT2* 基因 5′端 CpG 岛情况，在其启动子

区富含 CpG 岛区域(−53bp~+86bp)设计甲基化和非甲基化引物进行分析(Figure 1)。食管鳞癌组织中的 *DACT2* 基因甲基化状态可分为以下 3 种情况:①完全甲基化,甲基化特异引物扩增出目的条带,而非甲基化特异引物未扩增出目的条带;②非甲基化,非甲基化特异引物扩增出目的条带,而甲基化引物未扩增出目的条带;③不完全甲基化,甲基化特异引物和非甲基化特异引物均扩增出目的条带,将不完全甲基化归入甲基化。MSP 阳性对照采用基因组 DNA 经甲基化酶 Sss Ⅰ处理以后进行 PCR,阴性对照用灭菌双蒸水取代 DNA 模板进行 PCR。随机选取 10% 的组织标本重复实验,以验证实验结果的可靠性。

1.4 统计学处理

采用 SPSS13.0 软件包进行数据统计分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,食管鳞癌组织与癌旁组织间的比较采用配对 t 检验,甲基化检测结果与患者临床病理资料间的关系分析采用 χ^2 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 5-aza-dC 处理前后食管癌细胞系中 *DACT2* mRNA 表达及甲基化状态

4 种未处理的食管癌细胞系中,TE13 细胞株中 *DACT2* 基因 mRNA 表达呈弱阳性,TE1、T.Tn、E-ca109 细胞株中 *DACT2* 基因表达缺失。用甲基化抑制剂 5-aza-dC 处理后,4 种细胞株中均检测出 *DACT2* 基因 mRNA 的表达(Figure 2)。

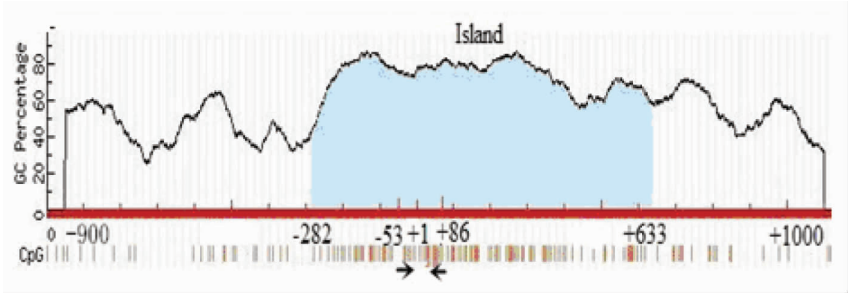
甲基化检测结果显示,未经处理的 4 种食管癌细胞系中,在 TE13 细胞株 *DACT2* 中表现为不完全甲基化状态,其余 3 种细胞系中 *DACT2* 均表现为基因高甲基化状态。应用甲基化抑制剂 5-aza-dC 处理后,4 种细胞株中 *DACT2* 基因均表现为非甲基化状态(Figure 2)。

2.2 食管鳞癌组织中 *DACT2* mRNA 的表达及其与临床病理特征的关系

在 RT-PCR 结果显示,*DACT2* mRNA 在食管鳞癌组织中的相对表达量显著低于其相应癌旁组织(0.66±0.53 *vs* 0.95±0.64,t=−2.43,P=0.018) (Figure 3)。分组分析发现,有淋巴结转移组的 *DACT2* mRNA 相对表达量显著低于无淋巴结转移组(0.55±0.44 *vs* 0.85±0.62,t=−2.030,P=0.048)。而按照病理分级、TNM 分期、年龄、性别分组,各组间食管鳞癌组织中 *DACT2* mRNA 相对表达量差异均无统计学意义 (P>0.05)(Table 2)。

2.3 食管鳞癌组织中 *DACT2* 基因的甲基化状态及其与临床病理特征的关系

MSP 法检测结果显示,食管鳞癌组织中 *DACT2* 基因启动子区甲

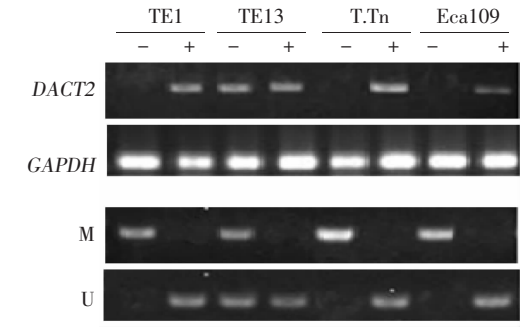


("→ ←": methylation primer set)

Figure 1 *DACT2* CpG island prediction results(set the transcription initiation site as "+1")

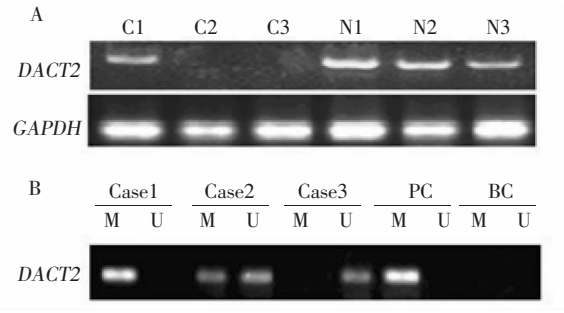
Table 1 The primer sequences for reverse transcription PCR and methylation-specific PCR (MSP)

Types	Primer sequence(5′-3′)	Annealing temperature (℃)	Product size (bp)
RT-PCR			
DACT2	F: 5′-ACTATGGACGAGGCAACA-3′ R: 5′-GGTGGACTCAGAACAGGA-3′	57.0	335
GAPDH	F: 5′-AGGTGAAGGTCGGAGTCAACG-3′ R: 5′-AGGGGTCATTGATGGCAACA-3′	56.7	104
MSP			
DACT2			
Methylation	F:5′-GATTTTAGTTTATTTTGGCGATTTGC-3′ R:5′-CACATCTCCCGAACAAAATCCCG-3′	55.0	140
Unmethylation	F:5′-TAGATTTTAGTTTATTTTGGTGATTTGT-3′ R:5′-TCCACATCTCCCAAACAAAATCCCA-3′	54.0	142



Note: M: methylated primer; U: unmethylated primer; −: 5-aza-dC-untreated; +: 5-aza-dC-treated.

Figure 2 The expression and methylation status of *DACT2* gene in the four esophageal cancer cell lines



Note: T: tumor tissues; N: non-cancerous tissues; M: methylated primer; U: unmethylated primer. *GAPDH* was used as an internal control for RT-PCR.

Figure 3 mRNA expression (A) and methylation status (B) of *DACT2* gene in patients with ESCC

基化率显著高于其相应癌旁组织[50.0%(26/52) *vs* 21.1%(11/52), χ^2=9.439, *P*=0.002](Figure 3)。分析 52 例食管鳞癌患者的临床病理资料发现,低分化鳞癌组 *DACT2* 基因启动子区甲基化率显著高于高中分化鳞癌组[65.4%(17/26) *vs* 34.6%(9/26), χ^2=4.923, *P*=0.027]; Ⅲ、Ⅳ期鳞癌组 *DACT2* 基因启动子区甲基化率显著高于Ⅰ、Ⅱ期[90.0%(9/10) *vs* 40.5%(17/42), χ^2=7.924, *P*=0.005];有淋巴结转移组的甲基化率显著高于无淋巴结转移组 [65.6%(21/32) *vs* 25.0%(5/20), χ^2=8.125, *P*=0.004]。而年龄、性别分组,各组间 *DACT2* 基因甲基化状态差异均无统计学意义(*P*>0.05)(Table 2)。

2.4 食管鳞癌组织中 *DACT2* mRNA 表达与其甲基化间的关系

DACT2 基因启动子区甲基化阳性的食管鳞癌组织中其 mRNA 相对表达量显著低于甲基化阴性的食管鳞癌组织(0.46±0.32 *vs* 0.78±0.61, *t*=−2.341, *P*=0.023)。

3 讨 论

肿瘤的发生发展是一个繁杂的生物学过程,是一个多基因、多因素、多阶段的复杂调控过程,与许多肿瘤相关的癌基因和抑癌基因改变有密切联系,其中表观遗传学机制在食管鳞癌的发病机理中起重要作用[5]。在表观遗传学众多修饰形式中 DNA 甲

Table 2 The relationships between the expression level and methylation status of *DACT2* gene in ESCC tissues and the clinicopathologic features of ESCC patients

Groups	N	Expression of *DACT2* mRNA			Methylation of promoter		
		$\bar{x}$±s	*t*	*P*	n(%)	χ^2	*P*
Gender							
Male	36	0.57±0.53	−1.048	0.300	17(47.2)	0.361	0.548
Female	16	0.73±0.45			9(56.3)		
Age(years)							
<60	23	0.55±0.44	0.987	0.328	14(60.9)	1.949	0.163
≥60	29	0.70±0.60			12(41.4)		
Lymph node metastasis							
+	32	0.55±0.44	−2.030	0.048	21(65.6)	8.125	0.004
−	20	0.85±0.62			5(25.0)		
Histological grade							
Well	26	0.67±0.57	0.060	0.952	9(34.6)	4.923	0.027
Poorly	26	0.68±0.57			17(65.4)		
TNM stage							
Ⅰ+Ⅱ	42	0.70±0.60	0.746	0.459	17(40.5)	7.924	0.005
Ⅲ+Ⅳ	10	0.55±0.37			9(90.0)		

基化模式是最重要的一类形式并与食管鳞癌的发生密切相关。大量研究表明,DNA 甲基化可能为肿瘤的早期诊断和恶性程度评估提供依据[6]。与基因突变或缺失不同,DNA 甲基化导致的基因失活是可逆的,通过应用去甲基化药物 5-aza-dC 可使沉默的基因恢复表达，因此利用药物改变细胞的表观遗传学状态可能成为治疗癌症的新途径[7]。

DACT 最早由 Cheyettee 等在对非洲爪蟾的研究中分离出来，他们的研究表明 DACT 与一些 Wnt 信号通路的关键因子分散蛋白有关[1,8]。DACT 家族包括 DACT1、DACT2、DACT3。有研究表明 DACT1 和 DACT3 可能发挥肿瘤抑制作用,其机制可能与其基因甲基化等表观遗传学调控有关[9~11]。DACT2 可能在 Wnt/β-catenin 和 Nodal/TGF-β 两种信号通路中均发挥作用[12]。人 *DACT2* 是由 Katoh 等[13]于2003年利用生物信息学方法发现，位于人类染色体 6q27,并在人胎盘、泌尿系统肿瘤和子宫内膜癌中检测到该基因的表达,但是 *DACT2* 的功能及在肿瘤发生中的机制尚不清楚。

本课题通过 RT-PCR 方法检测 *DACT2* 基因在 52 例食管鳞癌组织和相应癌旁组织中的表达情况，发现 *DACT2* 在食管鳞癌组织中的表达均明显低于相应癌旁黏膜组织，提示该基因在食管鳞癌中可能起抑制作用。为进一步检测 *DACT2* 基因在食管鳞癌中下调的可能机制，本研究检测了经去甲基化药物（5-aza-dC）处理前后 4 种食管癌细胞系 TE1、TE13、T.Tn、Eca109 中 *DACT2* 的表达情况,发现 4 种未处理的食管癌细胞系中,TE13 细胞株在 *DACT2* 中表现为不完全甲基化状态,其余 3 种细胞系中 *DACT2* 表现为基因高甲基化状态；应用甲基化抑制剂 5-aza-dC 处理后,4 种细胞株中 *DACT2* 基因均表现为非甲基化状态。推测基因甲基化可能是 *DACT2* 基因表达下调的机制之一。Zhao 等[14]研究发现 *DACT2* 在人甲状腺癌中表达缺失可能与其基因启动子区甲基化有关;Yu 等[15]也发现 *DACT2* 在人类胃癌中有很高的甲基化发生率，可能是导致该基因在胃癌中表达下降的主要机制之一,均与本研究结果相一致。

本实验研究还发现食管鳞癌组织中 *DACT2* 基因启动子区甲基化率显著高于癌旁黏膜组织，再次提示甲基化可能是 *DACT2* 基因表达下调的机制之一。同时研究发现部分发生 *DACT2* 基因启动子区甲基化的食管鳞癌组织中仍可见其 mRNA 表达,推测可能有以下三方面原因：可能是肿瘤组织中混有正常组织;某个等位基因发生了甲基化;或者由于肿瘤组织中发生甲基化的程度不够。*DACT2* 基因在结肠癌[16]、肺癌[3]和肝癌[4]中也存在基因甲基化导致的表达沉默情况,与本研究结果一致。并且 *DACT2* 基因的表达、甲基化状态与食管鳞癌患者的淋巴结转移、临床分期和分化相关,提示 *DACT2* 基因甲基化可能对食管鳞癌患者的预后有一定的提示作用。Hou 等[3]的研究表明在食管鳞癌中恢复 DACT2 的表达会很大程度上抑制癌症的发展、转移和体外食管癌细胞的入侵，并减少体内肿瘤的发生。因此，他们预言 DACT2 可能对食管鳞癌的预后有一定的参考价值。

总之,*DACT2* 基因启动子区的异常甲基化可能是导致其在食管鳞癌中表达下降的机制之一，从而导致食管鳞癌的发生发展。可以通过对肿瘤相关抑癌基因启动子区甲基化情况的检测，进一步明确食管鳞癌发生发展的机制，为食管鳞癌的生物靶向治疗提供更为精确可靠的理论依据。

参考文献：

[1] Cheyette BN,Waxman JS,Miller JR,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.

[2] Meng F,Cheng X,Yang L,et al. Accelerated re-epithelialization in Dpr2-deficient mice is associated with enhanced response to TGF-beta signaling[J]. J Cell Sci,2008,121(Pt 17):2904-2912.

[3] 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.

[4] 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.

[5] Li X,Zhou F,Jiang C,et al. Identification of a DNA methylome profile of esophageal squamous cell carcinoma and potential plasma epigenetic biomarkers for early diagnosis[J]. PLoS One,2014,9(7):e103162.

[6] Li B,Wang B,Niu LJ,et al. Hypermethylation of multiple tumor-related genes associated with DNMT3b up-regulation served as a biomarker for early diagnosis of

esophageal squamous cell carcinoma[J]. Epigenetics,2011,6(3):307-316.
[7] Das PM,Singal R. DNA methylation and cancer [J]. J Clin Oncol,2004,22(22):4632-4642.
[8] Zhang L,Gao X,Wen J,et al. Dapper 1 antagonizes Wnt signaling by promoting dishevelled degradation[J]. J Biol Chem,2006,281(13):8607-8612.
[9] Puiggros A,Blanco G,Espinet B. Genetic abnormalities in chronic lymphocytic leukemia:where we are and where we go [J]. Biomed Res Int,2014,2014:435983.
[10] 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.
[11] Xue H,Xiao Z,Zhang J,et al. Disruption of the Dapper3 gene aggravates ureteral obstruction-mediated renal fibrosis by amplifying Wnt/beta-catenin signaling[J]. J Biol Chem,2013,288(21):15006-15014.
[12] Su Y,Zhang L,Gao X,et al. The evolutionally conserved activity of Dapper2 in antagonizing TGF-beta signaling [J]. FASEB J,2007,21(3):682-690.
[13] Katoh M,Katoh M. Identification and characterization of human DAPPER1 and DAPPER2 genes in silico [J]. Int J Oncol,2003,22(4):907-913.
[14] 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.
[15] 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.
[16] Wang S,Dong Y,Zhang Y,et al. DACT2 is a functional tumor suppressor through inhibiting Wnt/beta-catenin pathway and associated with poor survival in colon cancer [J]. Oncogene,2015,34(20):2575-2585.

作者/通讯作者校对文稿须知

作者/通讯作者自校拟发排校样稿,是期刊出版工作中不可缺少的重要环节,也是确保期刊质量的重要手段。特此重申,请作者/通讯作者务必按以下要求进行校对:

1. 首先全面校对全文,对编辑提出的校样稿中需特别注意校对及需补充的内容,必须予以改正或解释。

2. 所有需修改和补充的内容,均请用红笔将正确的字符书写清楚(避免使用不规范的汉字);必须改动的字符,直接在校样稿的空白处写出,所增删字数最好相符。

3. 文题、作者、单位名称、邮政编码、通讯作者等信息,务必确认无误。

4. 对正文文字(包括外文字母及大小写)、标点符号、数据、图表、计量单位、参考文献等应认真细致逐一校对;请用规范的通用药品名称(不用商品名)和医学名词,认真核查并使用标准计量单位及药物剂量。

5. 参考文献缺项的部分,应按本刊规定的著录格式进行补充。请作者务必认真核实所引用文献是否正确,并核查正文中角码是否与文后所列参考文献序号对应。

6. 校对完毕请作者/通讯作者签名,并在规定的日期内将校样稿寄回编辑部。如有要求补充的资料,也需一并寄回。

7. 由于出版周期的限制,如作者/通讯作者不能在规定时间校对寄回,请及时联系本刊编辑部说明原因,否则可能造成该文稿延期出版,或者取消刊发。

《中国肿瘤》编辑部