

食管鳞癌患者血浆中 DAPK 基因异常甲基化及临床意义研究

郑吉^{1,2}, 凌志强^{2,3}, 李波^{1,2}, 毛伟敏^{2,3}

(1. 浙江省中医药大学 2010 级硕士研究生, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江省肿瘤医院, 浙江省肿瘤医院研究所, 浙江 杭州 310022; 3. 浙江省胸部肿瘤(肺、食管)诊治技术研究重点实验室, 浙江 杭州 310022)

摘要: [目的] 研究食管鳞癌患者癌组织及血浆中 DAPK 基因甲基化的情况, 探讨血浆中 DAPK 甲基化检测在食管鳞癌早期诊断、治疗、预后评估中的作用。[方法] 食管鳞癌患者 155 例, 分别提取血浆、癌组织及癌旁正常组织中 DAPK 基因的 DNA, 并结合临床病理以及随访结果, 进行 DAPK 甲基化分析。[结果] 癌组织与癌旁正常组织中 DAPK 的甲基化率差异有统计学意义 ($P=0.000$), 癌组织和血浆 DAPK 基因的甲基化在是否淋巴结转移、是否远处转移、不同分期时差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。癌组织和血浆中 DAPK 基因甲基化的相关系数 r 为 0.849 ($P<0.000$)。癌组织中和血浆中 DAPK 基因非甲基化患者具有明显的生存优势 (P 均为 0.000)。Cox 回归分析显示血浆 DAPK 甲基化是食管鳞癌患者生存的独立影响因素。[结论] 食管鳞癌癌组织和血浆中 DAPK 基因甲基化均与肿瘤分期、淋巴结转移、远处转移相关; 癌组织和血浆中 DAPK 基因甲基化有显著相关性, 血浆中 DAPK 高甲基化可作为食管鳞癌预后不良的生物标志物。

关键词: 食管肿瘤; 鳞状细胞癌; 甲基化; 死亡相关蛋白激酶(DAPK); 血浆; 癌组织
中图分类号: R735.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2013)05-0346-06

Abnormal Methylation of Death Association Protein Kinase (DAPK) Gene in Plasma of Patients with Esophageal Squamous Cell Carcinoma and Its Clinical Significance

ZHENG Ji^{1,2}, LING Zhi-qiang^{2,3}, LI Bo^{1,2}, et al.

(1. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2. Zhejiang Cancer Hospital, Zhejiang Cancer Research Institute, Hangzhou 310022, China; 3. Zhejiang Key Laboratory of Diagnosis & Treatment Technology on Thoracic Oncology(Lung and Esophagus), Hangzhou 310022, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the status of death association protein kinase (DAPK) methylation in cancer tissue and plasma in patients with esophageal squamous cell carcinoma (ESCC), and to assess the role of plasma DAPK methylation detection for early diagnosis, treatment and prognosis in patients with ESCC. [Methods] DAPK DNA was extracted from cancer tissues, cancer adjacent tissues and plasma from 155 cases with ESCC respectively, and correlation of DAPK methylation with clinicopathological and follow-up results was analyzed. [Results] DAPK methylation was significantly different between cancer tissues and cancer adjacent tissues ($P=0.000$). DAPK methylation in both cancer tissues and plasma was statistically significant between positive lymph node and negative lymph node, distant metastasis and non distant metastasis, and different stages ($P<0.05$). The correlation coefficient of DAPK methylation between cancer tissue and plasma was 0.849 ($P<0.000$). Patients with DAPK nonmethylation in cancer tissues and plasma were superior survival to DAPK methylation patients ($P=0.000, P=0.000$). Cox regression analysis showed that plasma DAPK methylation was an independent influencing factor for survival in patients with ESCC. [Conclusion] DAPK methylation of cancer tissues and plasma in patients with ESCC correlate with tumor stage, lymph node metastasis and distant metastasis. DAPK methylation between cancer tissues and plasma has significant correlation. Plasma DAPK methylation might be used as biological marker of poor prognosis for ESCC.

Subject words: esophageal neoplasms; squamous cell cancer; methylation; death association protein kinase (DAPK); plasma; tumor tissue

食管鳞癌具有恶性度高、远处转移快、预后差等

基金项目: 浙江省重大科技专项计划项目(2011C13039-1); 卫生部科学研究基金——浙江省医药卫生重大科技计划项目(WKJ2011-2-015); 浙江省医药卫生平台重点资助计划(2011ZDA004)

通讯作者: 毛伟敏, 院长, 浙江省胸部肿瘤(肺、食管)诊治技术研究重点实验室主任, 教授, 主任医师, 博士生导师, 硕士; 浙江省肿瘤医院胸外科, 浙江省杭州市半山桥广济路 38 号(310022); E-mail: maowm1218@163.com.

收稿日期: 2013-03-27; **修回日期:** 2013-05-02

特征。全世界范围内, 食管鳞癌的发病率位居第 8 位, 死亡率居第 6 位, 在最发达的城市里, 它的 5 年生存率仅为 10%~16%^[1], 我国也处于食管鳞癌的高发区, 特别是在中国的北部, 太行山附近区域^[2], 食管鳞癌是最主要的组织病理类型^[3]。目前针对食管鳞癌个体预后上所有策略的应用, 却不尽人意^[4], DAPK 基因, 即死亡相关蛋白激酶 (death associated protein

kinase, *DAPK*)是一种抑癌基因,通过多种途径诱导肿瘤细胞凋亡。本课题对食管鳞癌组织、癌旁正常组织和血浆中 *DAPK* 甲基化状态进行了观察,研究了食管鳞癌患者 *DAPK* 异常甲基化表达与临床、病理、预后等参数之间的相关性;以期为食管鳞癌早期诊断、治疗和预后的评估等提供生物标志物。

1 资料与方法

1.1 资料

收集 2004 年 12 月至 2009 年 7 月浙江省肿瘤医院胸外科食管鳞癌患者 155 例。手术切除后,组织标本立即由专人负责留取。癌组织标本取自癌巢,正常组织取自距肿瘤边缘 5cm 外区域,为肉眼下正常组织。上述组织切取后,立即置于液氮中,然后在 -76°C 冰库中保存。取癌组织和正常组织的器械是两套完全分开的器械,以确保无交叉污染。

所有入选的病例经病理诊断均为食管鳞癌患者,其中男性 141 例,女性 14 例,年龄 44~85 岁,中位年龄 60 岁。按照国际抗癌联盟(UICC)与美国癌症联合会 (AJCC)2009 第 7 版标准进行 TNM 分期。上/中段病变 83 例,下段 70 例(因 2 例为全段食管,弃用);高/中分化 115 例,低分化 40 例; I、II 期 39 例, III、IV 期 116 例。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取

新鲜冰冻组织标本在室温下解冻,光学显微镜下采用 27G 号针分别挑取少许癌巢细胞及正常细胞,分别获取 100~500 个目标细胞,将其置入 DNA 提取液中。用 MACHEREY-NAGEL 公司的组织 DNA 基因提取试剂提取基因组,抽提得到的 DNA 在 -20°C 保存。

取患者外周静脉血 5ml, $3\ 500\text{r}/\text{min}$ 离心 10min, 分离血浆,用 MACHEREY-NAGEL 公司基因提取试剂提取血浆中的 DNA,抽提得到的 DNA 在 -20°C 保存;取 DNA 样本以紫外分光光度计测定 DNA 浓度、 A_{260} 和 A_{280} 光密度值,理想 A_{260}/A_{280} 比值应在 1.8~2.0 之间。

1.2.2 基因组 DNA 亚硫酸氢盐修饰及纯化

基因组 DNA 亚硫酸氢盐修饰及纯化按 EpiTect Bisulfite 试剂盒 (Qiagen) 说明书进行操作。

1.2.3 Real-time 甲基化特异性 PCR(MSP)扩增

根据 *DAPK* 基因序列设计其因 5'-CpG 岛特异的甲基化和非甲基化引物如下:*DAPK_M* (F): 5'-GGA TAG TCG GAT CGA GTT AAC GTC-3',*DAPK_M* (R): 5'-CCC TCC CAA ACG CCG A-3', 扩增片段: 98bp;*DAPK_U* (F): 5'-GGA GGA TAG TTG GAT TGA GTT AAT GTT-3',*DAPK_U* (F): 5'-CAA ATC CCT CCC AAA CAC CAA -3', 扩增片段: 106bp。

使用 SYBR Premix Taq Ex Taq kit 试剂盒,具体操作按照试剂盒说明书。

反应总体积 (25 μl), 反应过程: 50°C 2min 激活聚合酶; 95°C 10min 预变性; 95°C 15s 变性, 60°C 1min 退火和延伸, 60°C 10min 延伸, 共 40 个循环; 95°C 15s, 60°C 1min, 85°C 15s, 60°C 15s, 溶解曲线分析反应结束后, 确认扩增曲线和溶解曲线, 进行结果分析。

1.3 随访

全部患者由研究组成员跟踪随访, 收集完整的随访资料, 均自手术日计生存和随访时间, 至患者死亡或研究指定结束日。以复发、转移或者死亡作为随访终点事件, 统计无病生存期 (disease-free survival, DFS)

1.4 统计学处理

采用 SPSS18.0 统计软件对 *DAPK* 基因甲基化在食管鳞癌组织、癌旁正常组织中表达情况, 及两者之间的关系进行统计学分析。采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法及 Pearson 相关分析进行数据分析, 用乘积极限法 (Kaplan-Meier) 进行单因素生存分析并绘制生存曲线, 对数秩检验 (Log-Rank test) 进行生存曲线比较, 用 Cox 比例风险回归模型进行多因素生存分析, 显著性检验用 Wald 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 癌组织和癌旁正常组织 *DAPK* 甲基化的比较

155 例食管鳞癌患者肿瘤组织中有 106 例发生了 *DAPK* 启动子区域 5'-CpG 岛甲基化, 甲基化率为 68.4% (106/155); 癌旁正常组织中有 12 例出现了甲基化, 甲基化率为 7.7% (12/155), 两者之间差异有统计学意义 ($\chi^2=120.902, P=0.000$)。

2.2 癌组织 DAPK 基因甲基化与临床病理参数关系分析

癌组织中 DAPK 基因的甲基化在不同性别、年龄、肿瘤生长部位、分化程度、局部浸润深度时差异均无统计学意义 ($P>0.05$), 而在是否淋巴结转移 ($P=0.022$)、是否远处转移 ($P=0.000$)、不同分期 ($P=0.000$) 下差异均有统计学意义 (Table 1)。

2.3 血浆中 DAPK 基因甲基化与临床病理参数关系分析

血浆中 DAPK 基因的甲基化在不同性别、年龄、肿瘤生长部位、分化程度、局部浸润深度时差异均无统计学意义 ($P>0.05$), 而在是否淋巴结转移 ($P=0.010$)、是否远处转移 ($P=0.000$)、不同分期 ($P=0.000$) 下差异均有统计学意义 (Table 2)。

2.4 食管鳞癌患者血浆与癌组织中 DAPK 基因甲基化的相关性

Pearson 相关性分析结果显示, 癌组织和血浆中 DAPK 基因甲基化水平具有相关性 ($r=0.849, P<0.000$)。

2.5 DAPK 基因甲基化与患者预后的关系

随访截止到 2012 年 6 月, 154 例 (失访 1 例) 病例中, 在癌组织中 DAPK 基因未甲基化共 48 例, 只有 3 例出现进展或者死亡, 45 均无进展或者死亡; 甲基化病例 106 例, 共 73 例出现进展或者死亡, 33 例无进展或者死亡, 两者之间差异显著, 作 Kaplan-Meier 分析, 提示癌组织中 DAPK 基因非甲基化的患者具有明显的生存优势 ($P=0.000$)。

在血浆中 DAPK 基因未甲基化共 69 例, 只有 5 例出现进展或者死亡, 64 均无进展或者死亡; 甲基化病例 85 例, 共 71 例出现进展或者死亡, 14 例无进展或者死亡, 两者之间差异显著, 作 Kaplan-Meier 分析, 提示 DAPK 基因非甲基化的患者具有明显的生存优势 ($P=0.000$)。

同时, 无远处转移的患者比远处转移的有明显的生存优势 ($P=0.002$); I / II 期患者比 III / IV 的有明显的生存优势 ($P=0.034$) (Table 3)。

由于血浆中 DAPK 基因甲基化与癌组织中 DAPK 基因甲基化具有相关性, 故仅将分期、远处转移、血浆中 DAPK 基因甲基化状态进行 Cox 回归分析, 提示外周血中的 DAPK 甲基化状态

Table 1 The relationship between the status of DAPK methylation in cancer tissues and clinicopathological data

Variables	n	Methylation	Nonmethylation	P
Age(years)				
≥ 60	71	54	17	0.059
< 60	84	52	32	
Gender				
Male	141	97	44	0.964
Female	14	9	5	
Site				
Up and middle	83	56	27	0.737
Low	70	49	21	
Differentiation				
High and moderate	115	80	35	0.593
Poor	40	26	14	
T stage				
T ₁₋₂	40	25	15	0.353
T ₃₋₄	115	81	34	
N stage				
N ₀	50	28	22	0.022
N ₁₋₃	105	78	27	
M stage				
M ₀	117	49	68	0.000
M ₁	38	37	1	
TNM stage				
I / II	39	17	22	0.000
III / IV	116	89	27	

Table 2 The relationship between the status of DAPK methylation in plasma and clinicopathological data

Variables	n	Methylation	Nonmethylation	P
Age(years)				
≥ 60	71	42	29	0.321
< 60	84	43	41	
Gender				
Male	141	76	65	0.456
Female	14	9	5	
Site				
Up and middle	83	46	37	0.888
Low	70	38	32	
Differentiation				
High and moderate	115	65	50	0.475
Poor	40	20	20	
T stage				
T ₁₋₂	40	18	22	0.147
T ₃₋₄	115	67	48	
N stage				
N ₀	50	20	30	0.010
N ₁₋₃	105	65	40	
M stage				
M ₀	117	50	67	0.000
M ₁	38	35	3	
TNM stage				
I / II	39	11	28	0.000
III / IV	116	74	42	

Table 3 The patients' survival and clinicopathologic characteristics

Variables	n	DFS(%)	χ^2	P
Gender				
Male	140	49.3	0.899	0.343
Female	14	64.3		
Age(years)				
<60	83	54.2	0.280	0.597
≥60	71	46.5		
T stage				
T ₁ /T ₂	40	50.0	0.755	0.385
T ₃ /T ₄	114	50.9		
N stage				
N ₀	50	58.0	0.004	0.952
N ₁₋₃	104	47.1		
M stage				
M ₀	116	61.2	9.871	0.002
M ₁	38	18.4		
TNM Stage				
I / II	39	71.8	4.520	0.034
III/IV	115	43.5		
Site				
Up/middle	83	45.8	2.826	0.093
Low	69	56.5		
Differentiation				
High and moderate	114	49.1	0.007	0.935
Poor	40	55.0		
Cancer tissue DAPK				
Methylation	106	31.1	27.809	0.000
Nonmethylation	48	93.8		
Plasma DAPK				
Methylation	85	16.5	45.594	0.000
Nonmethylation	69	92.8		

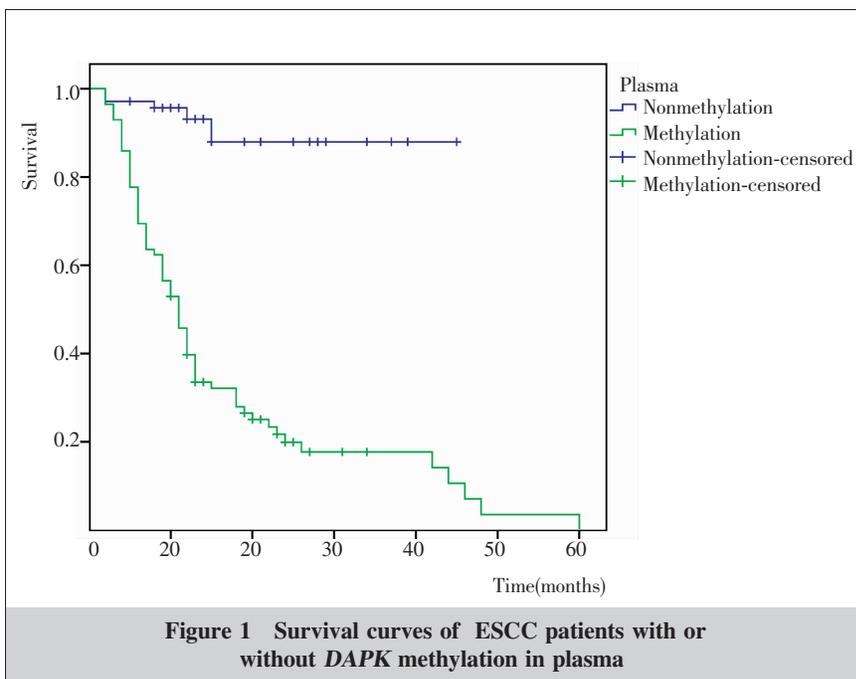


Figure 1 Survival curves of ESCC patients with or without DAPK methylation in plasma

是食管鳞癌患者生存率的独立影响因子, 相对危险度(RR)为 12.277(95%CI:4.943~30.492, $P=0.000$), 即血浆中 *DAPK* 基因甲基化患者发生复发、转移或死亡的可能性是未甲基化患者的 12.277 倍(Figure 1)。

3 讨论

经典遗传学和表观遗传学因素在食管鳞癌中起了重要作用, 影响了不同的凋亡调控基因、癌基因、抑癌基因, 基因启动子区 CpG 岛的高甲基化在食管癌的基因沉默中是常见的表观遗传学事件, 影响了如细胞凋亡相关蛋白 *DAPK*^[5]。*DAPK* 基因是一种 γ -干扰素诱导细胞程序性死亡的正性调节基因, 它编码一个结构独特的依赖丝氨酸苏氨酸激酶的钙调素, 功能上是一个肿瘤抑制基因^[6]。如果 *DAPK* 基因启动子区 CpG 岛的高甲基化, 就使该抑癌基因的失活, 导致肿瘤发生, 本研究结果表明, 食管鳞癌患者癌组织抑癌基因 *DAPK* 高甲基化; 癌旁正常组织低甲基化, 两者显著差异。很多研究表明 *DAPK* 能通过第二信使来调节细胞凋亡, 许多学者也对其信号通路进行了探索。Yoo 等^[7]发现通过 NF-KappaB 信号通路, *DAPK* 基因调节 TNF- α 和 INF- γ 的细胞凋亡作用来达到促进细胞死亡的目的。Liu 等^[8]检测了胆管癌 36 例, 检测了 *TMS1/ASC* 和 *DAPK*, 他们认为上述 2 个基因的甲基化在胆管癌形成的信号通路 P3-Bax 凋亡通路中扮演重要角色, 发现在胆管癌组织中 *TMS1/ASC* 和 *DAPK* 的甲基化率分别为 36.1% 和 30.6%, 而在癌旁正常组织中这 2 个基因的甲基化发生率很低, 考虑 *TMS1/ASC* 和 *DAPK* 的甲基化导致了基因沉默和胆管癌的发生。在食管鳞癌中, 也许不止一条信号通路, 甲基化的 *DAPK* 基因功能上的失活导致了肿瘤细胞的增殖, 具体机制尚待进一步的研究。

我们的研究结果也证实了癌组织和血浆中的 *DAPK* 基因甲基化水平有相关性, 可以认为

我们的研究结果也证实了癌组织和血浆中的 *DAPK* 基因甲基化水平有相关性, 可以认为

通过检测血浆中 *DAPK* 甲基化, 来反映癌组织中的 *DAPK* 基因甲基化水平。在许多肿瘤中有类似的发现, Liu 等^[9]在口腔癌组织中的 *DAPK* 甲基化率为 46.9%, 血液中为 52.2%, 两者之间有显著相关性(相关系数 r 为 0.49, $P < 0.000$); 同样, Häfner 等^[10]发现来自卵巢癌的癌组织和血浆中 *DAPK* 基因的甲基化水平有显著相关性。这种现象的出现可能与肿瘤细胞的血行转移有关, 肿瘤组织中的癌细胞医源性(手术、穿刺检测)或者自发的进入血液循环, 形成了循环肿瘤细胞, 成为了远处播散和复发的根源。由于两者存在显著相关性, 可以用血浆中 *DAPK* 基因甲基化的检测来反映组织中 *DAPK* 基因甲基化的状态。

正是由于血浆中肿瘤细胞的全身循环, 那么应该与肿瘤患者的某种病理特征, 比如 TNM 分期、部位、肿瘤的生长相关, 这一点我们在本研究中也发现了 *DAPK* 甲基化与肿瘤分期、淋巴结转移、远处转移显著相关, 可能不只血浆中肿瘤细胞的循环这一途径, 有证据表明 *DAPK* 的表现遗传沉默与非小细胞肺癌新生血管生成相关, 可能是引起治疗后复发的因素, 影响患者的总体生存率^[11,12]。那么在食管鳞癌中, *DAPK* 基因的甲基化可能也会导致新生血管的生成, 可能由于循环肿瘤细胞和促进新生血管的生成这两种机制, 在很多肿瘤中, *DAPK* 基因的甲基化都会与临床病理特征有一定的相关性, 例如 Niyazi 等^[13]发现 *DAPK* 基因甲基化与癌组织局部浸润的深度有关联, 检测有利于早期发现宫颈癌。Takeuchi 等^[14]认为 *DAPK* 甲基化、高甲基化都是和年龄、病理类型有相关性; Hu 等^[15]检测显示 *DAPK* 甲基化水平和淋巴结转移有显著相关性。当然, 也有不一致的结果, Li 等^[16]对 45 例食管鳞癌患者和 15 名健康人的血浆分析, *DAPK* 基因虽然是 4 个甲基化频率最高的基因之一 (46.8%), 却并未发现 *DAPK* 基因的甲基化与分化和远处转移等因素相关, 这个可能与样本的例数比较少以及样本的分期较早存在一定的关联。

我们的研究表明血浆中 *DAPK* 基因非甲基化的患者具有明显的生存优势 ($P=0.000$), 血浆中的 *DAPK* 甲基化状态是食管鳞癌患者生存的独立影响因素。由于血浆中的癌细胞 *DAPK* 基因来源于癌组织中的癌细胞(自发或者医源性), 可以认为血浆中 *DAPK* 基因的甲基化状态高度反映了癌组织中的

DAPK 基因甲基化状态, 这个跟我们上述的实验结果也是吻合的。那么我们就可以通过检测血浆中 *DAPK* 基因甲基化状态来对食管鳞癌患者的预后作出一定程度的判断。类似的研究前人也做了很多, Krajnović 等^[17]在滤泡性淋巴瘤(FL)中分析了 *DAPK* 甲基化显著降低总体生存率, 不仅仅在肿瘤中, 在癌前病变, 比如, 外阴硬化性苔藓转变为恶性疾病的过程中, *DAPK* 基因的高甲基化状态也可能预示着恶性转变的可能^[18]。因此, 由于上述可能的信号通路和 *DAPK* 基因与临床病理特征的显著关联性, 可以认为血浆中 *DAPK* 基因的甲基化状态对食管鳞癌患者的生存、预后有一定的预示作用。

总之, *DAPK* 基因启动子区域 CpG 岛高甲基化是 *DAPK* 基因沉默的机制之一, 在食管鳞癌中有着重要作用。食管鳞癌患者血浆中的 *DAPK* 基因甲基化水平可以在一定程度上体现肿瘤的进展程度, 同时提示患者预后不佳, 可以作为食管鳞癌诊治及预后评估的生物标志物。

参考文献:

- [1] Zhang HB, Lu P, Guo QY, et al. Baicalein induces apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma cells through modulation of the PI3K/Akt pathway[J]. *Oncol Lett*, 2013, 5(2):722-728.
- [2] Qi YJ, Chao WX, Chiu JF. An overview of esophageal squamous cell carcinoma proteomics[J]. *J Proteomics*, 2012, 75(11):3129-3137.
- [3] Xu J, Chen Y, Zhang R. Global and targeted metabolomics of esophageal squamous cell carcinoma discovers potential diagnostic and therapeutic biomarkers [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2013, 24(7):1471-1477.
- [4] Xing D, Tan W, Lin D. Genetic polymorphisms and susceptibility to esophageal cancer among Chinese population (review)[J]. *Oncol Rep*, 10 (7):1615-1623.
- [5] Baba Y, Watanabe M, Baba H. A review of the alterations in DNA methylation in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Surg Today*, 2013, 5(5):589-595.
- [6] Wu PR, Tsai PI, Chen GC, et al. DAPK activates MARK1/2 to regulate microtubule assembly, neuronal differentiation, and tau toxicity[J]. *Cell Death Differ*, 2011, 18(9):1507-1520.
- [7] Yoo HJ, Byun HJ, Kim BR. DAPK1 inhibits NF- κ B activation through TNF- α and INF- γ -induced apoptosis[J]. *Cell Signal*, 2012, 24(7):1471-1477.

- [8] Liu PL, Tang K, Yu SP, et al. Correlation between promoter methylation of p14 (ARF), TMS1/ASC, and DAPK, and p53 mutation with prognosis in cholangiocarcinoma[J]. *World J Surg Oncol*, 2012, 10: 5.
- [9] Liu Y, Zhou ZT, He QB. DAPK promoter hypermethylation in tissues and body fluids of oral pre cancer patients[J]. *Med Oncol*, 2012, 29(2):729-733.
- [10] Häfner N, Diebolder H, Jansen L. Hypermethylated DAPK in serum DNA of women with uterine leiomyoma is a biomarker not restricted to cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 121(1):224-229.
- [11] Liu R, Gao L, Lu GX, et al. Methylation status of RASSF1A and DAPK promoter in retinoblastoma[J]. *Chinese Journal of Ophthalmology*, 2009, 45(7):631-635. [刘茹, 高玲, 卢光琇, 等. RAS 相关区域家族 1A 和死亡相关蛋白激酶基因启动子在视网膜母细胞瘤中的甲基化状态[J]. *中华眼科杂志*, 2009, 45(7):631-635.]
- [12] Zhang Y, Wang R, Song H. Methylation of multiple genes as a candidate biomarker in non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Lett*, 2011, 303(1):21-28.
- [13] Niyazi M, Liu XW, Zhu KC. Death-associated protein kinase promoter (DAPK) hypermethylation in uterine cervical cancer and intraepithelial neoplasia in Uyghur nationality women[J]. *Chinese Journal of Oncology*, 2012, 34(1):31-34. [玛依努尔·尼牙孜, 刘晓婉, 朱开春. 维吾尔族妇女宫颈癌及癌前病变组织中死亡相关蛋白激酶启动子甲基化水平的研究[J]. *中华肿瘤杂志*, 2012, 34(1):31-34.]
- [14] Takeuchi S, Matsushita M, Zimmermann M. Clinical significance of aberrant DNA methylation in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leuk Res*, 2011, 35(10):1345-1349.
- [15] Hu SL, Kong XY, Cheng ZD. Promoter methylation of p16, Runx3, DAPK and CHFR genes is frequent in gastric carcinoma[J]. *Tumori*, 2010, 96(5):726-733.
- [16] Li B, Wang B, Niu LJ. 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.
- [17] Krajnović M, Radojković M, Davidović R. Prognostic significance of epigenetic inactivation of p16, p15, MGMT and DAPK genes in follicular lymphoma[J]. *Med Oncol*, 2013, 30(1):441.
- [18] Aidé S, Lattario FR, Almeida G. Promoter hypermethylation of death-associated protein kinase and p16 genes in vulvar lichen sclerosus[J]. *J Low Genit Tract Dis*, 2012, 16(2):133-139.

2013 浙江胸腹部恶性肿瘤图像引导放射治疗(IGRT)国际研讨会预告 (暨 IGRT 在胸腹部恶性肿瘤中的应用全国继续再教育学习班)

由浙江省肿瘤医院、浙江省胸部肿瘤中心主办,肿瘤学杂志社协办的 2013 浙江胸腹部恶性肿瘤图像引导放射治疗(IGRT)国际研讨会,暨 IGRT 在胸腹部恶性肿瘤中的应用全国继续再教育学习班,将于 2013 年 9 月 6~8 日在浙江杭州举行。本次会议将邀请国内外著名肿瘤放射治疗专家就 IGRT/SBRT 在胸腹部恶性肿瘤中的应用进行专题演讲,并对如何开展与 IGRT/SBRT 相关的临床研究进行讨论,届时还将实地观摩浙江省肿瘤医院胸腹部恶性肿瘤 IGRT/SBRT 治疗操作流程。欢迎全国肿瘤放射治疗界同道们积极参与!

会务组联系方式:地址:杭州市半山桥广济路 38 号浙江省肿瘤医院放疗科(310022);联系人:许亚萍(13857101269),朱远(13588819010),狄小云(13858065669);传真:0571-88122082;电子邮箱:xuyaping1207@gmail.com, zhuyuan63@hotmail.com, dxy0612@yahoo.com.cn。(9 月 8 日计划到浙江省肿瘤医院观摩 IGRT/SBRT 治疗操作流程者请提前联系!)