

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2016.09.010

论著·临床研究

## Wnt 通路中 Wif-1 和 $\beta$ -catenin 在儿童急性淋巴细胞白血病中的表达

高吉照 赵继鸥 谭英

(1. 徐州医科大学附属医院儿科血液与肿瘤病区, 江苏 徐州 221002)

**[摘要]** **目的** 研究 Wnt 通路中 Wnt 通路抑制因子 1 (Wif-1) 和  $\beta$  连环蛋白 ( $\beta$ -catenin) 在儿童急性淋巴细胞白血病 (ALL) 的表达及可能的作用。**方法** 收集初发并且诱导缓解治疗第 33 天完全缓解的 35 例 ALL 患儿的临床资料, 以治疗前作为初发组, 第 33 天达完全缓解时作为缓解组, 对照组为 15 例非恶性血液病患儿。RT-PCR 方法检测 Wif-1 和  $\beta$ -catenin mRNA 的表达, ELISA 法测 Wif-1 蛋白的表达。**结果** 初发组 Wif-1 mRNA 及蛋白的表达明显低于对照组和缓解组,  $\beta$ -catenin mRNA 的表达高于对照组和缓解组 ( $P < 0.05$ )。在初发组和缓解组, 高危患儿的  $\beta$ -catenin mRNA 表达均高于中危和低危患儿, Wif-1 mRNA、蛋白表达低于中危和低危患儿 ( $P < 0.05$ )。在初发组和缓解组, T-ALL 患儿  $\beta$ -catenin mRNA 的表达高于 B-ALL 患儿, Wif-1 mRNA、蛋白表达低于 B-ALL 患儿 ( $P < 0.05$ )。各组 Wif-1 和  $\beta$ -catenin mRNA 表达呈负相关 ( $P < 0.05$ )。**结论** Wif-1 表达下降、 $\beta$ -catenin 表达增高是儿童急淋发病机制之一, Wif-1 下降和 / 或  $\beta$ -catenin 增高的程度可能与预后相关。

[中国当代儿科杂志, 2016, 18(9): 835-839]

**[关键词]** 急性淋巴细胞白血病; Wnt 通路; Wnt 通路抑制因子 1;  $\beta$  连环蛋白; 儿童

### Expression of Wif-1 and $\beta$ -catenin in the Wnt pathway in childhood acute lymphoblastic leukemia

GAO Ji-Zhao, ZHAO Ji-Ou, TAN Ying. Department of Pediatric Hematology and Oncology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221002, China (Email: 843160320@qq.com)

**Abstract: Objective** To investigate the expression and possible roles of Wnt inhibitory factor-1 (Wif-1) and  $\beta$ -catenin in the Wnt pathway in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL). **Methods** The clinical data of 35 children who had newly-diagnosed ALL and achieved complete remission on day 33 of remission induction therapy were retrospectively reviewed. The children before treatment were considered as the incipient group, and those who achieved complete remission on day 33 were considered as the remission group. Fifteen children with non-malignant hematologic diseases were enrolled as the control group. RT-PCR was used to measure the mRNA expression of Wif-1 and  $\beta$ -catenin. ELISA was used to measure the protein expression of Wif-1. **Results** Compared with the control and remission groups, the incipient group had significantly lower mRNA and protein expression of Wif-1 and significantly higher mRNA expression of  $\beta$ -catenin ( $P < 0.05$ ). In the incipient and remission groups, high-risk children showed significantly higher mRNA expression of  $\beta$ -catenin and significantly lower mRNA and protein expression of Wif-1 than the medium- and low-risk children ( $P < 0.05$ ). In the incipient and remission group, the children with T-cell acute lymphoblastic leukemia showed significantly higher mRNA expression of  $\beta$ -catenin and significantly lower mRNA and protein expression of Wif-1 compared with those with B-lineage acute lymphoblastic leukemia ( $P < 0.05$ ). In each group, there was a negative correlation between the mRNA expression of Wif-1 and  $\beta$ -catenin ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Reduced expression of Wif-1 and increased expression of  $\beta$ -catenin may be involved in the pathogenesis of childhood ALL, and the degree of reduction in Wif-1 and/or increase in  $\beta$ -catenin may be related to prognosis.

[Chin J Contemp Pediatr, 2016, 18(9): 835-839]

**Key words:** Acute lymphoblastic leukemia; Wnt pathway; Wnt inhibitory factor-1;  $\beta$ -catenin; Child

[收稿日期] 2016-04-15; [接受日期] 2016-06-24

[作者简介] 高吉照, 男, 主任医师, 副教授。

急性淋巴细胞白血病 (acute lymphocytic leukemia, ALL) 是儿童时期最常见的恶性肿瘤, 占儿童恶性肿瘤的 35%<sup>[1]</sup>, 近年来呈上升趋势, 其发病机制尚不完全清楚。大量研究表明, Wnt/ $\beta$ -连环蛋白 ( $\beta$ -catenin) 通路的异常激活在多种恶性肿瘤的发生发展中起重要作用<sup>[2-5]</sup>, 但在儿童急性淋巴细胞白血病发病中的作用如何罕有报道。本文通过对 Wnt 通路抑制因子 1 (Wnt inhibitor factor 1, Wif-1) 及  $\beta$ -catenin 在儿童急性淋巴细胞白血病中的表达及相关性研究, 探讨 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路在儿童急性淋巴细胞白血病发病中的作用。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

收集徐州医科大学附属医院儿科血液组和徐州市儿童医院血液科 2013 年 7 月至 2015 年 9 月期间初发的急性淋巴细胞白血病住院患儿。入组条件: 经醋酸泼尼松窗口治疗 7 d 后予 VDLP 方案诱导治疗, 诱导治疗第 33 天骨髓达完全缓解者。符合入组条件的共 35 例, 其中男 20 例、女 15 例, 年龄 1~14 岁, 平均年龄  $5.1 \pm 2.8$  岁; 低危 14 例, 中危 11 例, 高危 10 例; T 系急性淋巴细胞白血病 (T-cell acute lymphocytic leukemia, T-ALL) 8 例, B 系急性淋巴细胞白血病 (B-cell acute lymphocytic leukemia, B-ALL) 27 例。以治疗前作为初发组, 诱导治疗第 33 天达完全缓解者作为缓解组。15 例同期住院无心、肝、肺、肾等重要脏器损害的非恶性血液系统疾病患儿作为对照组, 包括血小板减少性紫癜 10 例、营养性贫血 5 例, 其中男 6 例、女 9 例, 年龄 1~11 岁, 平均年龄  $4 \pm 3$  岁。各組年龄和性别构成比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。本研究获得医院伦理委员批准及研究对象监护人书面知情同意。

ALL 诊断、分型及疗效判断符合儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议 (第三次修订) 标准<sup>[6]</sup>, 经骨髓细胞形态学、免疫学分型、细胞遗传学、分子生物学确诊。

### 1.2 主要试剂和器材

淋巴细胞分离液购自美国 MP Biomedicals; Trizol 总 RNA 提取试剂、cDNA 第一链合成试剂盒、 $2 \times$  Taq PCR MasterMix 均购自北京天根生化科技有

限公司; 相关引物由上海生工合成, HAP 纯化; 人 Wif-1 ELISA 试剂盒购自上海西唐生物科技有限公司; PCR 扩增仪购自美国 MJ Research; Gel Doc XR+ 成像系统购自上海柏辰生物科技有限公司; 酶标仪, 型号 DENLEY DRAGON Wellscan MK 3, 购自 Thermo 公司。

### 1.3 标本制备

分别于初诊行白血病免疫分型同时以及诱导治疗第 33 天采集骨髓 2~3 mL, 肝素抗凝, 密度梯度离心法分离单个核细胞, PBS 液洗涤 2 次, 将单个核细胞和血浆分别移至不同 EP 管,  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱冻存待用。

### 1.4 RT-PCR 半定量检测 Wif-1 和 $\beta$ -catenin mRNA 表达水平

Trizol 反复吹打单个核细胞, 提取总 RNA。逆转录 cDNA: 5  $\mu\text{L}$  总 RNA 加 2  $\mu\text{L}$  oligo (dT) 15 Primer、2  $\mu\text{L}$  Super Pure dNTPs, RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 定容至 14.5  $\mu\text{L}$ ,  $70^{\circ}\text{C}$  加热 5 min, 冰上冷却 2 min, 加 4  $\mu\text{L}$   $5 \times$  First-Strand Buffer、0.5  $\mu\text{L}$  RNasin、1  $\mu\text{L}$  TIANScript M-MLV, 混匀,  $42^{\circ}\text{C}$  温浴 50 min,  $95^{\circ}\text{C}$  加热 5 min 终止反应。

PCR 扩增: 取上一步骤样品 3  $\mu\text{L}$ , 上下游引物各 1  $\mu\text{L}$  ( $\beta$ -catenin 上游引物: 5'-GCTGATTTGATGGAGTTGGACATGG-3'、下游引物: 5'-GCCAAACGCTGGACATTAGTGG-3';  $\beta$ -actin 上游引物: 5'-GACAACGGCTCCGGCATGTG-3'、下游引物: 5'-TGAGGATGCCTCTCTTGCTC-3', 扩增产物长度分别为 565 bp 和 166 bp; Wif-1 上游引物: 5'-GGGTGTTTTATTGGGTGTATTGT-3'、下游引物: 5'-AAAAAACTAACACAAACAAATACAAAC-3';  $\beta$ -actin 上游引物: 5'-GGCACCACACCTTCTACAA-TG-3'、下游引物: 5'-GTGGTGGTGAAGCTGTAG-3', 扩增产物长度分别 154 bp 和 369 bp),  $2 \times$  Taq PCR MasterMix 12.5  $\mu\text{L}$ , 补 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 至 25  $\mu\text{L}$  体系,  $94^{\circ}\text{C}$  预变性 3 min, 然后  $94^{\circ}\text{C}$  变性 30 s,  $55^{\circ}\text{C}$  退火 30 s,  $72^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min, 共 30 个循环, 最后  $72^{\circ}\text{C}$  延伸 5 min。

取目的产物 5  $\mu\text{L}$  加内参产物 5  $\mu\text{L}$ , 于琼脂糖凝胶 120 V 电泳 40 min, 留取图像样本, Image J 软件进行图像分析, 计算 Wif-1 和  $\beta$ -catenin 与内参灰度值之比, 作为 Wif-1 和  $\beta$ -catenin mRNA 相对含量。

### 1.5 ELISA 法测定血浆 Wif-1 蛋白表达

参照人 Wif-1 ELISA 试剂盒说明书, 采用双抗体夹心法检测各血浆样本中 Wif-1 蛋白的表达。

### 1.6 统计学分析

采用 SPSS16.0 统计软件进行统计处理。计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两独立样本比较采用 *t* 检验, 相关性分析采用 Spearman 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组 β-catenin 和 Wif-1 mRNA 表达结果及相关性分析

初发组 β-catenin mRNA 相对表达量明显高于缓解组和对照组, Wif-1 mRNA 相对表达量明显低于缓解组和对照组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 缓解组与对照组之间比较, β-catenin 和 Wif-1 mRNA 表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 1、表 1。各组 β-catenin mRNA 和 Wif-1 mRNA 相对表达量呈负相关。见表 2。

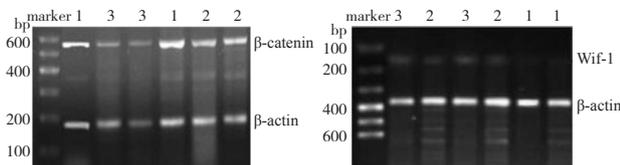


图 1 RT-PCR 检测 各组 β-catenin mRNA (左) 和 Wif-1 mRNA (右) 表达 1 为初发组, 2 为缓解组, 3 为对照组, marker 为标准参照物。

表 1 各组 β-catenin mRNA 和 Wif-1 mRNA 表达水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	β-catenin	Wif-1
对照组	15	0.29 ± 0.04	0.27 ± 0.02
初发组	35	1.75 ± 0.62 <sup>a,b</sup>	0.04 ± 0.02 <sup>a,b</sup>
缓解组	35	0.37 ± 0.14	0.23 ± 0.11
F 值		123.290	81.765
P 值		$P < 0.05$	$P < 0.05$

注: a 示与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b 示与缓解组比较,  $P < 0.05$ 。

表 2 各组 β-catenin mRNA 和 Wif-1 mRNA 的相关性分析

组别	例数	r 值	P 值
对照组	15	-0.628	$< 0.05$
初发组	35	-0.445	$< 0.05$
缓解组	35	-0.908	$< 0.05$

### 2.2 不同临床分型的 ALL 患儿 β-catenin mRNA 和 Wif-1 mRNA 表达比较

在初发组和缓解组中, 高危患儿的 β-catenin mRNA 均高于中危和低危患儿, Wif-1 mRNA 表达低于中危和低危患儿, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); β-catenin 和 Wif-1 的 mRNA 表达在中危患儿和低危患儿之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 初发组、缓解组 T-ALL 患儿的 β-catenin mRNA 表达高于 B-ALL 患儿, Wif-1 mRNA 表达低于 B-ALL, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3~4。

表 3 不同危险度 ALL 患儿的 β-catenin 和 Wif-1 mRNA 相对表达 ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	初发组			缓解组						
	高危 (n=10)	中危 (n=11)	低危 (n=14)	F 值	P 值	高危 (n=10)	中危 (n=11)	低危 (n=14)	F 值	P 值
Wif-1	0.02 ± 0.01	0.05 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.05 ± 0.02 <sup>a</sup>	14.02	$< 0.05$	0.14 ± 0.03	0.29 ± 0.14 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.07 <sup>a</sup>	6.56	$< 0.05$
β-catenin	2.49 ± 0.63	1.54 ± 0.97 <sup>a</sup>	1.39 ± 0.23 <sup>a</sup>	24.05	$< 0.05$	0.52 ± 0.10	0.31 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.30 ± 0.09 <sup>a</sup>	18.32	$< 0.05$

注: a 示与本组高危患儿比较,  $P < 0.05$ 。

表 4 不同免疫分型 ALL 患儿的 β-catenin 和 Wif-1 mRNA 相对表达 ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	初发组				缓解组			
	T-ALL (n=8)	B-ALL (n=27)	t 值	P 值	T-ALL (n=8)	B-ALL (n=27)	t 值	P 值
Wif-1	0.02 ± 0.01	0.05 ± 0.02	8.71	$< 0.05$	0.15 ± 0.03	0.25 ± 0.11	4.15	$< 0.05$
β-catenin	2.59 ± 0.67	1.50 ± 0.30	4.44	$< 0.05$	0.55 ± 0.10	0.32 ± 0.09	5.82	$< 0.05$

### 2.3 Wif-1 蛋白的表达比较

初发组血浆 Wif-1 蛋白表达明显低于缓解组和对对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 缓解组和对对照组之间的 Wif-1 蛋白表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 5。

在初发组和缓解组中, 高危患儿血浆 Wif-1 蛋白表达均明显低于中危及低危患儿, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 而中危、低危患儿之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); T-ALL 患儿 Wif-1 蛋白表达明显低于 B-ALL 患儿, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 6~7。

表 5 各组血浆 Wif-1 蛋白的表达 ( $\bar{x} \pm s$ , pg/mL)

组别	例数	Wif-1
对照组	15	1651 ± 234
初发组	35	902 ± 293 <sup>a,b</sup>
缓解组	35	1563 ± 226
F 值		74.24
P 值		<0.05

注: a 示与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b 示与缓解组比较,  $P < 0.05$ 。

表 6 不同危险度 ALL 患儿血浆 Wif-1 蛋白表达 ( $\bar{x} \pm s$ , pg/mL)

指标	初发组					缓解组				
	高危 (n=10)	中危 (n=11)	低危 (n=14)	F 值	P 值	高危 (n=10)	中危 (n=11)	低危 (n=14)	F 值	P 值
Wif-1	552 ± 190	1004 ± 186 <sup>a</sup>	1071 ± 197 <sup>a</sup>	23.67	<0.001	1334 ± 111	1630 ± 202 <sup>a</sup>	1675 ± 191 <sup>a</sup>	12.12	<0.001

注: a 示与本组高危患儿比较,  $P < 0.05$ 。

表 7 不同免疫分型 ALL 患儿血浆 Wif-1 蛋白表达 ( $\bar{x} \pm s$ , pg/mL)

指标	初发组				缓解组			
	T-ALL (n=8)	B-ALL (n=27)	t 值	P 值	T-ALL (n=8)	B-ALL (n=27)	t 值	P 值
Wif-1	509 ± 188	1018 ± 202	6.61	<0.05	1315 ± 115	1637 ± 197	5.80	<0.05

## 3 讨论

Wnt 信号转导通路是一条多环节、多作用位点的开放式途径, 研究表明, Wnt 通路有两大类, 经典 Wnt 信号通路即 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路, 非经典 Wnt 通路, 包括 Wnt/ $Ca^{2+}$  途径、极性通路等<sup>[7]</sup>, 对 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路目前研究较为深入, 其具体机制为: Wnt 蛋白和细胞表面特异性受体卷曲蛋白受体及辅助受体低密度脂蛋白受体相关蛋白结合后, 受体激活, 抑制下游蛋白质复合物, 包括轴蛋白 (Axin)、糖原合成酶激酶 3 $\beta$  (glycogen synthesis kinase 3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ )、大肠腺瘤息肉蛋白 (adenomatous polyposis coli, APC) 及酪蛋白激酶 1 $\alpha$  (casein kinase 1 $\alpha$ , CK-1 $\alpha$ ), 而 Axin/GSK-3 $\beta$ /APC/CK1 $\alpha$  蛋白复合物可通过磷酸化作用促进细胞内信号分子  $\beta$ -catenin 的降解<sup>[8]</sup>,  $\beta$ -catenin 是 Wnt 信号经典通路具有调控转录活性的关键成员, 其大量累积进入细胞核后可激活 c-myc、cyclin 等一系列靶基因的转录, 最终导致肿瘤的形成<sup>[7]</sup>。Wif-1 为 Wnt 通

路抑制因子之一, 在胞质内合成, 是一种分泌型糖蛋白<sup>[9-10]</sup>, 其在细胞膜表面与 Wnt 配体竞争结合受体从而阻断 Wnt 信号传导, 防止 Wnt 通路异常激活<sup>[11]</sup>, 当 Wif-1 表达降低时, Wnt 通路抑制作用减弱, 下游蛋白质复合物对  $\beta$ -catenin 磷酸化作用减弱, 从而  $\beta$ -catenin 在胞质中大量累积, 有报道, 在肾上腺皮质瘤、结直肠癌、肺癌等肿瘤中 Wif-1 低表达,  $\beta$ -catenin 高表达<sup>[3-4,12]</sup>, 但在儿童 ALL 中少有报道。

本研究显示, 初发 ALL 组 Wif-1 mRNA 和蛋白表达降低,  $\beta$ -catenin mRNA 表达增高, Wif-1 和  $\beta$ -catenin mRNA 表达呈负相关。我们认为, 在儿童 ALL 中, Wif-1 基因启动子通过甲基化作用失活, 使 Wif-1 降低<sup>[13]</sup>, 对 Wnt 通路的抑制作用减弱, 下游蛋白质复合物对  $\beta$ -catenin 磷酸化降解作用降低, 细胞质中  $\beta$ -catenin 大量累积并进入细胞核中, 促进核内 c-myc、cyclin 等癌基因的转录<sup>[7,14]</sup>, 从而导致儿童 ALL 的发生。化疗药物可通过去甲基化恢复 Wif-1 的表达<sup>[15]</sup>, 因此, 诱导缓解治疗后,

缓解组与非肿瘤性血液病患儿的 Wif-1 mRNA 和蛋白、 $\beta$ -catenin mRNA 的表达差异无统计学意义。

本研究发现 T-ALL  $\beta$ -catenin 的表达高于 B-ALL, Wif-1 表达低于 B-ALL, 高危患儿  $\beta$ -catenin 表达高于中危、低危患儿, Wif-1 表达低于中危、低危患儿, 这是由于在 T-ALL 和高危患儿中 Wnt 通路的抑制作用减弱, 最终导致 T-ALL 和高危 ALL 患儿细胞核内 c-myc、cyclin 等癌基因转录过高; T 细胞亚型作为 ALL 高危因素, Wif-1 的低表达是其原因之一, 这也许与 Wif-1 CpG 岛甲基化表型有关<sup>[16]</sup>。

综合本研究结果, 我们认为, Wnt 通路中 Wif-1 和  $\beta$ -catenin 参与了儿童 ALL 的发病, 它们的表达高低可以作为儿童 ALL 预后的重要因素, Wif-1 和  $\beta$ -catenin 定量分析对儿童 ALL 治疗和预后判断有重要的临床意义, 寻找新的治疗方法恢复 Wif-1 的表达, 可能成为儿童 ALL 治疗的手段之一。

#### [参 考 文 献]

- [1] Kuo FC, Wang SM, Shen CF, et al. Bloodstream infections in pediatric patients with acute leukemia: Emphasis on gram-negative bacteria infections[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2015, 103(17): 1033-1039.
- [2] Wang R, Geng N, Zhou Y, et al. Aberrant Wnt-1/ $\beta$ -catenin signaling and WIF-1 deficiency are important events which promote tumor cell invasion and metastasis in salivary gland adenoid cystic carcinoma[J]. *Biomed Mater Eng*, 2015, 26 (Suppl 1): S2145-2153.
- [3] Mitsui Y, Yasumoto H, Nagami T, et al. Extracellular activation of Wnt signaling through epigenetic dysregulation of Wnt inhibitory factor-1 (Wif-1) is associated with pathogenesis of adrenocortical tumor[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(8): 2198-2207.
- [4] 方园, 王鲁平, 张玉萍, 等. 结直肠锯齿状病变的 Wif-1 基因甲基化状态及  $\beta$  连环蛋白的表达 [J]. *中华病理学杂志*, 2014, 43(1): 15-19.
- [5] Zhang J, Zhou B, Liu Y, et al. Wnt inhibitory factor-1 functions as a tumor suppressor through modulating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in neuroblastoma[J]. *Cancer Lett*, 2014, 348(1-2): 12-19.
- [6] 吴敏媛, 李志刚, 崔蕾, 等. 儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议 (第四次修订) [J]. *中华儿科杂志*, 2014, 52(9): 641-644.
- [7] 袁媛, 王前, 司维柯. Wnt 信号转导通路及其与肿瘤相关的调节因素研究进展 [J]. *实用医药杂志*, 2014, 31(10): 943-945.
- [8] Kriehoff E, Behrens J, Mayr B. Nucleo-cytoplasmic distribution of  $\beta$ -catenin is regulated by retention[J]. *J Cell Sci*, 2006, 119(Pt7): 1453-1463.
- [9] 李凤立, 靳卫国. Wnt 蛋白分泌机制的研究进展 [J]. *泰山医学院学报*, 2013, 34(11): 884-886.
- [10] 张义灵, 冯英明. WIF-1 启动子甲基化与肿瘤 [J]. *现代肿瘤医学*, 2011, 19(11): 2345-2348.
- [11] Liepinsh E, Bányai L, Patthy L, et al. NMR structure of the WIF domain of the human Wnt-inhibitory factor-1 [J]. *J Mol Biol*, 2006, 357(3): 942-950.
- [12] Xu JH, Yang HP, Zhou XD, et al. Role of Wnt inhibitory factor-1 in inhibition of Bisdemethoxycurcumin mediated epithelial-to-mesenchymal transition in highly metastatic lung cancer 95D cells [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2015, 128(10): 1376-1383.
- [13] 王焱, 朱传升, 毕可红, 等. 急性白血病患者 WIF-1 基因启动子甲基化及  $\beta$  连环蛋白表达的研究 [J]. *中华医学杂志*, 2011, 91(40): 2858-2860.
- [14] He TC, Sparks AB, Rago C, et al. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway [J]. *Science*, 1998, 281(5382): 1509-1512.
- [15] 胡曼, 戴立里, 曾维政. 普鲁卡因与 5'-氮杂-2'-脱氧胞苷对人肝肿瘤细胞株 HepG2 中 Wif-1 基因启动子甲基化影响的比较研究 [J]. *四川大学学报 (医学版)*, 2013, 44(1): 27-30.
- [16] Roman-Gomez J, Jimenez-Velasco A, Agirre X, et al. Lack of CpG island methylator phenotype defines a clinical subtype of T-cell acute lymphoblastic leukemia associated with good prognosis [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(28): 7043-7049.

( 本文编辑: 俞燕 )