

结肠癌Lovo细胞*RUNX3*基因的表达与其增殖及凋亡的关系

倪志, 鲍缦夕, 刘南植, 赵秋, 覃华, 杨彦, 邱艺坚, 王婷婷

倪志, 鲍缦夕, 杨彦, 邱艺坚, 王婷婷, 武警海南总队医院消化内科 海南省海口市 570203

刘南植, 赵秋, 覃华, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030

倪志, 2003年华中科技大学同济医学院硕士, 主治医师, 主要从事消化系统疾病临床及基础研究。

作者贡献分布: 此课题由倪志、刘南植、赵秋及覃华共同设计; 研究过程由刘南植指导; 倪志、鲍缦夕、覃华及杨彦操作完成; 研究所用分析工具由刘南植、赵秋提供; 数据分析由倪志、邱艺坚和王婷婷完成; 本论文写作由倪志、鲍缦夕和刘南植完成。

通讯作者: 倪志, 570203, 海南省海口市文明东路49号, 武警海南总队医院消化内科。hknizhi@163.com

电话: 0898-65343033

收稿日期: 2007-07-05 修回日期: 2008-02-19

Relationship between tumor suppressor gene *RUNX3* expression and cell proliferation and apoptosis in colonic cancer cell line Lovo

Zhi Ni, Man-Xi Bao, Nan-Zhi Liu, Qiu Zhao, Hua Qin, Yan Yang, Yi-Jian Qiu, Ting-Ting Wang

Zhi Ni, Man-Xi Bao, Yan Yang, Yi-Jian Qiu, Ting-Ting Wang, Department of Gastroenterology, Hainan Corps Hospital, Chinese People Armed Police Army, Haikou 570203, Hainan Province, China

Nan-Zhi Liu, Qiu Zhao, Hua Qin, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Zhi Ni, Department of Gastroenterology, Hainan Corps Hospital, Chinese People Armed Police Army, 49 Wenming Eastern Road, Haikou 570203, Hainan Province, China. hknizhi@163.com

Received: 2007-07-05 Revised: 2008-02-19

Abstract

AIM: To investigate the expression and methylation status of tumor suppressor gene *RUNX3* in human colon cancer cell line Lovo and explore the effects of 5-aza-2'-deoxycytidine (5-Aza-CdR) on the proliferation and apoptosis of Lovo cells and the expression of *RUNX3* gene.

METHODS: Human colon cancer cell line Lovo was treated with 5-Aza-CdR, a specific methyltransferase inhibitor, at the concentrations of 0.4, 4 and 40 $\mu\text{mol/L}$ for 3 d, and then cultured in RPMI 1640 medium for 5 d. The activation of Lovo cells was respectively observed by Tetrazolium salt colorimetric (MTT) assay before and after 5-Aza-CdR treatment. The change in expression of *RUNX3* mRNA was observed by semi-quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). The apoptosis was analyzed by flow cytometry. The methylation status of gene promoter was determined by methylation-specific PCR (MSP).

razolium salt colorimetric (MTT) assay before and after 5-Aza-CdR treatment. The change in expression of *RUNX3* mRNA was observed by semi-quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). The apoptosis was analyzed by flow cytometry. The methylation status of gene promoter was determined by methylation-specific PCR (MSP).

RESULTS: Lovo cells treated with 5-Aza-CdR (0.4, 4, 40 $\mu\text{mol/L}$) displayed a slowed growth rate in different degrees in contrast with those in the control group and their growth rates decreased accordingly with the increase of 5-Aza-CdR concentration. There were significant increases in *RUNX3* mRNA expression (0.46 ± 0.06 , 0.71 ± 0.06 , 0.84 ± 0.07 vs 0, $P < 0.01$) and apoptotic rates of Lovo cells ($10.95\% \pm 2.09\%$, $17.61\% \pm 1.51\%$, $26.60\% \pm 1.89\%$ vs $2.92\% \pm 0.93\%$, $P < 0.01$) after 5-Aza-CdR treatment in comparison with those in the control group. The level of *RUNX3* mRNA expression and the apoptotic rates of Lovo cells were increased in correlation with 5-Aza-CdR concentration ($F = 168.4$, $F = 145.7$, $P < 0.01$). Methylation of *RUNX3* promoter region was confirmed in Lovo cells of control group and detected partly in 5-Aza-CdR-treated group.

CONCLUSION: 5-Aza-CdR is able to reverse the methylation status of *RUNX3* promoter region. The re-expression of *RUNX3* gene can inhibit Lovo cell growth and partly induce Lovo cell apoptosis.

Key Words: *RUNX3* gene; Methylation; 5-aza-2'-deoxycytidine; Tetrazolium salt colorimetric assay; Flow cytometry; Polymerase chain reaction

Ni Z, Bao MX, Liu NZ, Zhao Q, Qin H, Yang Y, Qiu YJ, Wang TT. Relationship between tumor suppressor gene *RUNX3* expression and cell proliferation and apoptosis in colonic cancer cell line Lovo. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 711-715

摘要

目的: 探讨5-氮-2'-脱氧胞苷(5-Aza-CdR)对结肠癌Lovo细胞增殖凋亡及抑癌基因*RUNX3*表达的影响。

背景资料

抑癌基因启动过甲基化现象普遍存在于恶性肿瘤中。*RUNX3*是一种新发现的抑癌基因, *RUNX3*与胃癌的发生关系密切, 其启动子区域CpG岛的过甲基化可能是其失活的主要方式。结肠癌与胃癌组织具有同源性, 因此推测*RUNX3*与结肠癌的发生有一定相关性。

同行评议者
沈琳, 副教授, 北京大学肿瘤医院
消化内科

创新盘点
本文初步探讨了*RUNX3*在结肠癌细胞Lovo中的表达情况,发现其启动子区域过甲基化可能是导致其失活的机制。

方法: 用特异性甲基转移酶抑制剂5-Aza-CdR 0.4, 4, 40 $\mu\text{mol/L}$ 处理人结肠癌细胞株Lovo 3 d, 继续常规培养5 d后, 采用四唑盐法(MTT)比色法观察细胞经药物处理前后的生长活性, 以半定量RT-PCR检测细胞处理前后抑癌基因*RUNX3* mRNA的表达, 以甲基化特异性PCR(methylation-specific PCR, MSP)检测细胞处理前后*RUNX3*的甲基化状态, 应用流式细胞仪进行细胞凋亡率的检测。

结果: 与对照组相比, 0.4, 4, 40 $\mu\text{mol/L}$ 的5-Aza-CdR处理细胞后, 细胞*RUNX3* mRNA的相对表达量(0.46 ± 0.06 , 0.71 ± 0.06 , 0.84 ± 0.07 vs 0, $P < 0.01$)和细胞凋亡率均增高($10.95\% \pm 2.09\%$, $17.61\% \pm 1.51\%$, $26.60\% \pm 1.89\%$ vs $2.92\% \pm 0.93\%$, $P < 0.01$), 呈剂量依赖性($F = 168.4$, $F = 145.7$), 结肠癌Lovo细胞生长速率下降, *RUNX3* mRNA重新表达, 其基因启动子区域部分甲基化。

结论: 5-Aza-CdR可逆转*RUNX3*启动子高甲基化状态, 抑制细胞生长, 诱导部分细胞凋亡。

关键词: *RUNX3*基因; 甲基化; 5-氮-2'-脱氧胞苷; 四唑盐比色法; 流式细胞术; 聚合酶链反应

倪志, 鲍曼夕, 刘南植, 赵秋, 覃华, 杨彦, 邱艺坚, 王婷婷. 结肠癌Lovo细胞*RUNX3*基因的表达与其增殖及凋亡的关系. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 711-715
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/711.asp>

0 引言

结肠癌是最常见的恶性肿瘤之一, 其发生、发展与多种因素相关, 抑癌基因失活是关键因素之一。目前研究表明, 抑癌基因失活的主要方式有基因的缺失、突变和启动子区域的过甲基化等^[1-4]。*RUNX3*是一种新发现的抑癌基因, 研究证实在胃癌组织细胞其表达明显下调, 启动子区域CpG岛的过甲基化可能是其失活的方式^[4-5]。结肠癌中该基因的表达研究尚少。我们采用5-氮-2'-脱氧胞苷(5-Aza-CdR)对肠癌细胞株进行处理, 检测*RUNX3*基因表达及其甲基化状态, 并分析肿瘤细胞的生物学行为改变, 以探讨肠癌的发生机制并寻求新的治疗靶点。

1 材料和方法

1.1 材料 小牛血清, RPMI 1640培养基(Gibco公司), 5-Aza-CdR, MTT, DMSO, RNA酶A(RNase A)及碘化嘧啶(PI)(Sigma公司), RT-PCR试剂盒(大连宝生物公司), CpGenomeTM DNA修饰试剂

盒(Intergen公司), TRIzol(MRC公司)。目的基因*RUNX3*及内参照GAPDH的引物均由Primer5.0软件自行设计, 引物序列如下:*RUNX3*上游引物: 5'-CAGCCAAATCTTGCGACTC-3', 下游引物: 5'-ACCAGAAGGACTGCCTAACC-3', 产物片段长度852 bp; GAPDH上游引物: 5'-CCATGTTTCGT CATGGGTGTGAACCA-3', 下游引物: 5'-GCCA GTAGAGGCAGGGATGATGTTC-3', 产物片段长度251 bp; MSP引物序列参考文献[4], 均由上海生工公司合成, 人结肠癌细胞株Lovo为华中科技大学同济医学院附属协和医院惠赠。

1.2 方法 将细胞以适宜密度接种, 加入含5-Aza-CdR的RPMI 1640培养基, 使其药物终浓度分别为0.4, 4, 40 $\mu\text{mol/L}$, 每24 h更换为新鲜药液, 浓度同前, 连续作用3 d后弃去药液, 以含100 mL/L小牛血清的RPMI 1640培养基继续培养5 d。以未经药物干预的Lovo细胞作为对照组。

1.2.1 药物作用前后Lovo细胞增殖活性: 上述经药物处理后的细胞及对照组细胞, 以每孔 3×10^3 个细胞接种于96孔板, 各组设5个复孔, 共接种6板。待细胞6 h贴壁后, 及其后每隔24 h取出1板, 每孔加入5 g/L的MTT 20 μL , 置培养箱内孵育4 h后, 小心吸去培养液, 加入DMSO 150 μL , 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水平摇床振摇15 min, 待晶体充分溶解后, 置全自动酶标仪于570 nm波长处读取吸光度(A), 上述实验均重复3次。细胞增殖能力以平均吸光度(A)值分析, 以A值为纵坐标, 时间(d)为横坐标, 绘制生长曲线。

1.2.2 用药后*RUNX3* mRNA的表达: 上述经药物处理后的细胞及对照组细胞, 按TRIzol试剂说明书一步法提取总RNA。通过分光光度计检测RNA的260 nm与280 nm吸光度, 计算出RNA浓度。RNA 1 μg 加入逆转录反应体系, 以随机引物Random 9 mers为引物进行逆转录反应, 逆转录反应条件参照试剂盒说明。取逆转录反应产物2 μg , 按试剂盒说明书比例配成25 μL 的PCR反应体系。PCR反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性4 min, 1个循环; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性45 s, 57 $^{\circ}\text{C}$ 退火45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸45 s, 共35个循环; 再以72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸7 min。扩增产物于15 g/L琼脂糖凝胶电泳, 用凝胶成像系统进行半定量分析, *RUNX3*的相对表达水平 = *RUNX3*基因的RT-PCR产物电泳条带的密度/GAPDH基因的RT-PCR产物电泳条带的密度。

1.2.3 MSP分析*RUNX3*甲基化状态: 上述经药物处理后的细胞及对照组细胞, 用酚-氯仿法提取细胞的DNA。以分光光度计测定DNA的浓度

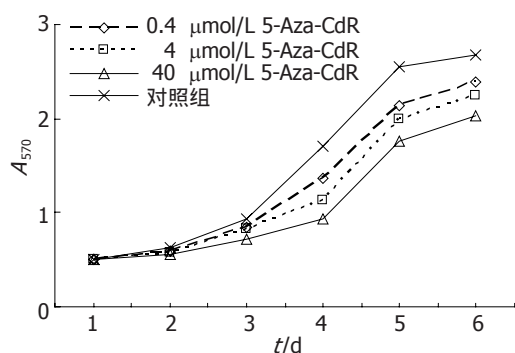


图1 Lovo细胞经5-Aza-CdR处理后的生长曲线。

(260 nm), 260/280 nm的光密度比值应在1.8以上。按CpGenome™ DNA修饰试剂盒说明书, 对DNA进行亚硫酸氢盐修饰处理。取2 μg经亚硫酸氢盐修饰的DNA, 分别加入甲基化及非甲基化特异性引物, 配成PCR反应体系25 μL。PCR反应条件: 95℃预变性3 min, 1个循环; 95℃变性30 s, 62℃退火30 s, 72℃延伸30 s, 共40个循环; 再以72℃延伸5 min。扩增产物于15 g/L琼脂糖凝胶电泳, 用凝胶成像系统观察结果。

1.2.4 细胞凋亡的检测: 上述经药物处理后的细胞及对照组细胞均以每孔 2×10^5 个接种于六孔板上, 以含100 mL/L小牛血清的RPMI 1640培养基培养4 d。按常规方法消化收集细胞, 以PBS洗涤2次, 以-20℃预冷的800 g/L乙醇固定, 充分振荡均匀, 置-20℃冰箱保存24 h以上。检测前离心(1500 r/min, 10 min), 弃乙醇, 以PBS洗涤2次, 以PBS调节细胞密度至 1×10^9 /L, 洗涤后加入由50 mmol/L磷酸钠和25 mmol/L枸橼酸按体积比9:1组成的PC缓冲液(pH7.8)50 μL, 室温放置15 min, 加PBS 0.5 mL, 100 mg/L PI 50 μL和5 mg/L RNaseA 10 μL于室温、暗处放置染色30 min, 以流式细胞仪(BD公司)进行细胞凋亡率检测。

统计学处理 实验数据用mean±SD表示, 多样本均数比较采用单因素方差分析, 两组均数比较采用t检验, 所有数据均由SPSS12.0统计软件进行处理, $P < 0.05$ 为统计学上差异有显著性。

2 结果

2.1 Lovo细胞形态及生长速度 光镜下观察结肠癌细胞Lovo, 于5-Aza-CdR处理前为多角形, 形态不规则; 药物处理3 d后, 可见细胞皱缩, 多角形形态趋于规则。继续培养5 d后, 可见细胞密度低, 部分细胞体积缩小, 死亡细胞数多。细胞经3种不同浓度5-Aza-CdR处理后, 细胞的生长速度受到不同程度的抑制, 随着药物浓度的增加抑

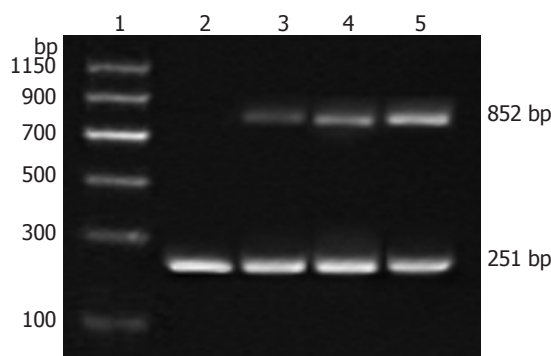


图2 5-Aza-CdR处理Lovo细胞后*RUNX3* mRNA的表达。1: marker; 2: 对照组; 3-5: 0.4, 4, 40 μmol/L 5-Aza-CdR。

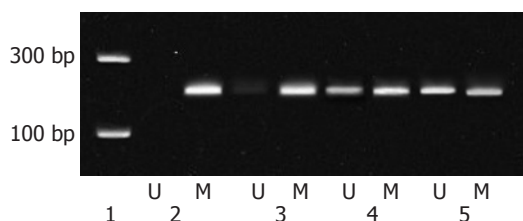


图3 5-Aza-CdR处理Lovo细胞前后*RUNX3*甲基化状态。1: marker; 2: 对照组; 3-5: 0.4, 4, 40 μmol/L 5-Aza-CdR; U: 未甲基化; M: 甲基化。

制作用增强(图1)。

2.2 Lovo细胞*RUNX3* mRNA的表达 RT-PCR检测对照组细胞未见*RUNX3*基因的mRNA表达, 5-Aza-CdR处理后的细胞*RUNX3*基因的mRNA重新表达(图2), 分别用浓度0.4, 4, 40 μmol/L的5-Aza-CdR处理细胞后, 细胞*RUNX3* mRNA的相对表达量分别为 0.46 ± 0.06 , 0.71 ± 0.06 和 0.84 ± 0.07 , 且具有剂量依赖关系($n = 3$, $F = 168.4$, $P < 0.01$)。

2.3 Lovo细胞*RUNX3*的甲基化状态 MSP检测对照组细胞*RUNX3*基因处于完全甲基化状态, 经5-Aza-CdR处理细胞后, *RUNX3*基因转化为部分甲基化(图3)。

2.4 5-Aza-CdR对Lovo细胞凋亡率的影响 经流式细胞仪检测分析, 对照组细胞凋亡率为 $2.92\% \pm 0.93\%$, 经5-Aza-CdR 0.4, 4, 40 μmol/L处理后在细胞周期G1峰前出现明显的凋亡峰, 细胞凋亡率逐渐增高, 凋亡率分别为 $10.95\% \pm 2.09\%$, $17.61\% \pm 1.51\%$ 和 $26.60\% \pm 1.89\%$, 均与对照组相比较有统计学意义($P < 0.01$), 细胞凋亡率与5-Aza-CdR浓度水平具有剂量依赖关系($n = 4$, $F = 145.7$, $P < 0.01$)。

3 讨论

结肠癌是我国发病率增长最快的恶性肿瘤之

应用要点
*RUNX3*可能成为一个结肠癌的生物标志和肿瘤基因治疗的靶点, 为结肠癌的诊断和治疗提供了一条新途径。

名词解释

RUNX3: 是一种新发现的定位于1p36.1的抑癌基因,他是**RUNT**基因家族成员之一,其编码蛋白是一种DNA结合转录因子,在细胞的生长、发育及凋亡过程中起着重要的作用。

一,严重地威胁着人们的健康^[6]。其发生和发展是一个多基因、多步骤的过程,癌基因的激活和/或抑癌基因的失活是其分子学基础。研究表明,DNA甲基化在基因表达调控、细胞增殖、分化、发育及基因组印迹等方面起着重要的作用,并与肿瘤的发生发展关系密切^[7-9]。DNA启动子过甲基化是引起抑癌基因失活的重要方式。DNA过甲基化并不是基因序列发生改变,而只是部分碱基对发生甲基化修饰,这种异常的甲基化模式是可以逆转的^[10-11]。**RUNX3**是一种新发现的定位于1p36.1的抑癌基因,广泛表达于消化道上皮细胞、间叶细胞、血液细胞及神经细胞等^[12-14]。**RUNX3**是**RUNT**基因家族的成员之一,**RUNT**基因家族是由**RUNX1**,**RUNX2**,**RUNX3**等3个成员组成,其编码蛋白是一组DNA结合转录因子,在细胞的生长、发育及凋亡过程中起着重要的作用^[15-18]。许多研究发现,**RUNX3**-/-的胃黏膜上皮细胞的过度增生和凋亡减少与细胞对TGF- β 诱导凋亡的敏感性降低有关,TGF- β 作为诱导抑制增生因子其诱导凋亡的作用在**RUNX3**-/-的胃黏膜上皮细胞中完全失活,结果提示,**RUNX3**可能是TGF- β 信号传导途径的关键作用靶点^[4,19]。**RUNX3**蛋白是TGF- β 信号通路下游的一个转录因子,TGF- β 信号通路对维持细胞正常生长发育起重要作用,并可能与肿瘤发生发展密切相关^[19]。进一步研究证实,在TGF- β 信号传导过程中,TGF- β 与被激活的Smad形成的复合物由胞质转入胞核内后需在**RUNX3**蛋白的指导下与核内特异性的靶点相结合,并增强其结合力,共同调节相关靶基因的转录。**RUNX3**表达沉默可导致TGF- β 信号途径紊乱,引起TGF- β 信号失活,进而引发细胞的凋亡障碍,导致肿瘤的发生^[19-22]。

我们发现,结肠癌细胞株Lovo的**RUNX3**基因启动子区域完全甲基化,不表达其mRNA,而经过5-Aza-CdR处理后的细胞**RUNX3**基因部分甲基化,并重新表达其mRNA,提示在结肠癌细胞中**RUNX3**表达失活可能是由于启动子区域的CpG岛过甲基化所致。Oshimo *et al*^[23]在对胃癌的研究中也有类似发现,进一步证实**RUNX3**启动子区域的CpG岛过甲基化与胃肠肿瘤的发生密切相关。

5-Aza-CdR是一种DNA甲基转移酶1(DNMT1)抑制剂,他是一种脱氧胞苷类似物,在DNA复制过程中与DNA分子相结合,并与DNMT1形成一共价复合物,抑制该酶的甲基转

移活性,生成低甲基化子链,从而实现去甲基化功能^[24-27]。我们发现,Lovo细胞经过5-Aza-CdR处理后,细胞的增殖受到抑制,细胞凋亡率明显提高。上述结果显示,5-Aza-CdR能使因甲基化失活的**RUNX3**基因去甲基化而重新表达,恢复其抑癌功能,从而导致抑制结肠癌细胞生长并诱导其凋亡的作用。**RUNX3** mRNA重新表达后,随着mRNA表达增强,结肠癌细胞生长明显减慢,提示**RUNX3**可能直接或间接参与调控细胞DNA的复制合成。

RUNX3作为一种新发现的抑癌基因,其表达可通过TGF- β 信号途径抑制细胞的过度增殖并诱导凋亡。**RUNX3**可能成为结肠癌的一个新的生物学标志和基因治疗的靶点,为结肠癌的诊断和治疗提供一条新的途径。我们仅考察了**RUNX3**在体外结肠癌细胞株中的表达情况,而**RUNX3**在体内结肠癌及癌旁组织中的表达情况有待进一步研究。

4 参考文献

- 1 Zöchbauer-Müller S, Fong KM, Virmani AK, Geradts J, Gazdar AF, Minna JD. Aberrant promoter methylation of multiple genes in non-small cell lung cancers. *Cancer Res* 2001; 61: 249-255
- 2 Attari J, Srinivasan R, Majumdar S, Radotra BD, Wig J. Alterations of tumor suppressor gene p16INK4a in pancreatic ductal carcinoma. *BMC Gastroenterol* 2005; 5: 22
- 3 Hustinx SR, Leoni LM, Yeo CJ, Brown PN, Goggins M, Kern SE, Hruban RH, Maitra A. Concordant loss of MTAP and p16/CDKN2A expression in pancreatic intraepithelial neoplasia: evidence of homozygous deletion in a noninvasive precursor lesion. *Mod Pathol* 2005; 18: 959-963
- 4 Li QL, Ito K, Sakakura C, Fukamachi H, Inoue K, Chi XZ, Lee KY, Nomura S, Lee CW, Han SB, Kim HM, Kim WJ, Yamamoto H, Yamashita N, Yano T, Ikeda T, Itohara S, Inazawa J, Abe T, Hagiwara A, Yamagishi H, Ooe A, Kaneda A, Sugimura T, Ushijima T, Bae SC, Ito Y. Causal relationship between the loss of **RUNX3** expression and gastric cancer. *Cell* 2002; 109: 113-124
- 5 Waki T, Tamura G, Sato M, Terashima M, Nishizuka S, Motoyama T. Promoter methylation status of DAP-kinase and **RUNX3** genes in neoplastic and non-neoplastic gastric epithelia. *Cancer Sci* 2003; 94: 360-364
- 6 Wang HD, Ren J, Zhang L. CDH1 germline mutation in hereditary gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 3088-3093
- 7 Ehrlich M. The controversial denouement of vertebrate DNA methylation research. *Biochemistry (Mosc)* 2005; 70: 568-575
- 8 Pufulete M, Al-Ghnam R, Rennie JA, Appleby P, Harris N, Gout S, Emery PW, Sanders TA. Influence of folate status on genomic DNA methylation in colonic mucosa of subjects without colorectal adenoma or cancer. *Br J Cancer* 2005; 92: 838-842
- 9 Kim TY, Jong HS, Jung Y, Kim TY, Kang GH,

- Bang YJ. DNA hypermethylation in gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20 Suppl 1: 131-142
- 10 Bae SI, Lee HS, Kim SH, Kim WH. Inactivation of O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter CpG island hypermethylation in gastric cancers. *Br J Cancer* 2002; 86: 1888-1892
- 11 Esteller M, Corn PG, Baylin SB, Herman JG. A gene hypermethylation profile of human cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 3225-3229
- 12 Inoue K, Ozaki S, Shiga T, Ito K, Masuda T, Okado N, Iseda T, Kawaguchi S, Ogawa M, Bae SC, Yamashita N, Itohara S, Kudo N, Ito Y. Runx3 controls the axonal projection of proprioceptive dorsal root ganglion neurons. *Nat Neurosci* 2002; 5: 946-954
- 13 Woolf E, Xiao C, Fainaru O, Lotem J, Rosen D, Negreanu V, Bernstein Y, Goldenberg D, Brenner O, Berke G, Levanon D, Groner Y. Runx3 and Runx1 are required for CD8 T cell development during thymopoiesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 7731-7736
- 14 Levanon D, Bettoun D, Harris-Cerruti C, Woolf E, Negreanu V, Eilam R, Bernstein Y, Goldenberg D, Xiao C, Fliegau M, Kremer E, Otto F, Brenner O, Lev-Tov A, Groner Y. The Runx3 transcription factor regulates development and survival of TrkC dorsal root ganglia neurons. *EMBO J* 2002; 21: 3454-3463
- 15 Bangsow C, Rubins N, Glusman G, Bernstein Y, Negreanu V, Goldenberg D, Lotem J, Ben-Asher E, Lancet D, Levanon D, Groner Y. The RUNX3 gene--sequence, structure and regulated expression. *Gene* 2001; 279: 221-232
- 16 Habtemariam B, Anisimov VM, MacKerell AD Jr. Cooperative binding of DNA and CBFbeta to the Runt domain of the CBFalpha studied via MD simulations. *Nucleic Acids Res* 2005; 33: 4212-4222
- 17 Javed A, Barnes GL, Jasanya BO, Stein JL, Gerstenfeld L, Lian JB, Stein GS. runt homology domain transcription factors (Runx, Cbfa, and AML) mediate repression of the bone sialoprotein promoter: evidence for promoter context-dependent activity of Cbfa proteins. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 2891-2905
- 18 Telfer JC, Rothenberg EV. Expression and function of a stem cell promoter for the murine CBFalpha2 gene: distinct roles and regulation in natural killer and T cell development. *Dev Biol* 2001; 229: 363-382
- 19 Fainaru O, Woolf E, Lotem J, Yarmus M, Brenner O, Goldenberg D, Negreanu V, Bernstein Y, Levanon D, Jung S, Groner Y. Runx3 regulates mouse TGF-beta-mediated dendritic cell function and its absence results in airway inflammation. *EMBO J* 2004; 23: 969-979
- 20 Kano MR, Bae Y, Iwata C, Morishita Y, Yashiro M, Oka M, Fujii T, Komuro A, Kiyono K, Kaminishi M, Hirakawa K, Ouchi Y, Nishiyama N, Kataoka K, Miyazono K. Improvement of cancer-targeting therapy, using nanocarriers for intractable solid tumors by inhibition of TGF-beta signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 3460-3465
- 21 Gayther SA, Batley SJ, Linger L, Bannister A, Thorpe K, Chin SF, Daigo Y, Russell P, Wilson A, Sowter HM, Delhanty JD, Ponder BA, Kouzarides T, Caldas C. Mutations truncating the EP300 acetylase in human cancers. *Nat Genet* 2000; 24: 300-303
- 22 Li J, Kleeff J, Guweidhi A, Esposito I, Berberat PO, Giese T, BUCHler MW, Friess H. RUNX3 expression in primary and metastatic pancreatic cancer. *J Clin Pathol* 2004; 57: 294-299
- 23 Oshimo Y, Oue N, Mitani Y, Nakayama H, Kitadai Y, Yoshida K, Ito Y, Chayama K, Yasui W. Frequent loss of RUNX3 expression by promoter hypermethylation in gastric carcinoma. *Pathobiology* 2004; 71: 137-143
- 24 Nakano T, Tani M, Nishioka M, Kohno T, Otsuka A, Ohwada S, Yokota J. Genetic and epigenetic alterations of the candidate tumor-suppressor gene MYO18B, on chromosome arm 22q, in colorectal cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2005; 43: 162-171
- 25 Kim SH, Bae SI, Lee HS, Kim WH. Alteration of O6-methylguanine-DNA methyltransferase in colorectal neoplasms in sporadic and familial adenomatous polyposis patients. *Mol Carcinog* 2003; 37: 32-38
- 26 Zhang S, Kong WJ, Wang YJ, Han YC, Zhang D. Inhibitory effect of 5-Aza-2'-deoxycytidine on human nasopharyngeal carcinoma xenograft in nude mice. *Ai Zheng* 2005; 24: 1201-1205
- 27 Bender CM, Pao MM, Jones PA. Inhibition of DNA methylation by 5-aza-2'-deoxycytidine suppresses the growth of human tumor cell lines. *Cancer Res* 1998; 58: 95-101

同行评价
本文讨论RUNX3
基因的表达与结
肠癌的关系。该方
面的研究较少, 此
论文有新意。

编辑 潘伯荣 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确. (常务副总编辑: 张海宁 2008-03-08)