



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2022.08.009  
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2022.08.009  
Chinese Journal of General Surgery, 2022, 31(8):1064-1070.

· 基础研究 ·

## RUNX3在结直肠癌中的表达与作用及其与TGF- $\beta$ /SMAD4信号通路的关系

贾光辉, 丁一冰, 赵永强, 高增润

(内蒙古乌兰察布市中心医院 普通外科, 内蒙古 乌兰察布 012000)

### 摘要

**背景与目的:** 转化生长因子 $\beta$  (TGF- $\beta$ ) /SMAD4信号传导通路在结直肠癌发生与发展中起了重要作用。runt相关转录因子3 (RUNX3) 在结直肠癌组织中的表达水平显著降低, 且可能发挥抑癌作用。但RUNX3的作用与TGF- $\beta$ /SMAD4通路的关系尚未见报道。因此, 本研究旨在探讨RUNX3与SMAD4在结直肠癌中的表达及作用, 以及两者的关系。

**方法:** 收集98例结直肠癌组织和癌旁正常组织标本, 分别用Western blot检测RUNX3和SMAD4蛋白的水平, qRT-PCR检测SMAD4 mRNA的水平, 并分析两者表达的相关性。将人结直肠癌细胞SW480分别转染RUNX3过表达载体 (RUNX3组)、SMAD4过表达载体 (SMAD4组)、RUNX3+SMAD4过表达载体 (RUNX3+SMAD4组), 以转染阴性对照质粒的SW480细胞为对照组, 分别用Western blot与qRT-PCR检测各组细胞RUNX3与SMAD4表达的变化; 用CCK-8实验与Transwell实验分析各组细胞的增殖与侵袭能力的差异。

**结果:** 结直肠癌组织中的RUNX3蛋白表达量明显低于癌旁正常组织, 而SMAD4的mRNA与蛋白表达水平均明显高于癌旁正常组织 (均 $P<0.05$ ); 结直肠癌组织中RUNX3蛋白表达与SMAD4 mRNA和蛋白表达均呈负相关 ( $r=-0.511, P=0.004; r=-0.487, P=0.009$ )。与对照组比较, RUNX3组的RUNX3蛋白水平明显升高, 但SMAD4 mRNA和蛋白水平明显降低 (均 $P<0.05$ ); SMAD4组的RUNX3蛋白水平无明显变化 ( $P>0.05$ ), 但SMAD4 mRNA和蛋白的表达水平明显升高 (均 $P<0.05$ ); RUNX3+SMAD4组的RUNX3蛋白水平明显升高 ( $P<0.05$ ), SMAD4 mRNA和蛋白水平变化不明显 (均 $P>0.05$ )。RUNX3组细胞增殖与侵袭能力均明显低于对照组 (均 $P<0.05$ ), SMAD4组的细胞增殖和侵袭能力均明显高于对照组 (均 $P<0.05$ ), RUNX3+SMAD4组的细胞增殖和侵袭能力介于RUNX3组与SMAD4组之间, 与对照组比较, 差异无统计学意义 (均 $P>0.05$ )。

**结论:** RUNX3在结肠癌组织中表达降低, 上调RUNX3的表达对结肠癌细胞的恶性生物学行为有抑制作用, 其机制可能与抑制TGF- $\beta$ /SMAD4通路的活性有关。

### 关键词

结直肠肿瘤; 核心结合因子 $\alpha 3$ 亚基; SMAD4蛋白质; 细胞增殖; 肿瘤浸润

中图分类号: R735.3

**基金项目:** 内蒙古乌兰察布市科技计划基金资助项目。

**收稿日期:** 2021-10-15; **修订日期:** 2022-03-23。

**作者简介:** 贾光辉, 内蒙古乌兰察布市中心医院主任医师, 主要从事肝胆胰、结直肠肿瘤方面的研究。

**通信作者:** 贾光辉, Email: jgh5558zxyy@126.com

## Expression and action of RUNX3 in colorectal cancer and its association with TGF- $\beta$ /SMAD4 signaling pathway

JIA Guanghui, DING Yibing, ZHAO Yongqiang, GAO Zengrun

(Department of General Surgery, Ulanqab Center Hospital, Ulanqab, Inner Mongolia 012000, China)

### Abstract

**Background and Aims:** The transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ )/SMAD4 signaling pathway plays an important role in the occurrence and development of colorectal cancer. The expression of runt-related transcription factor 3 (RUNX3) was found to be remarkably decreased in colorectal tissues and it may exert tumor-suppressing effects. However, the relationship between the actions of RUNX3 and TGF- $\beta$ /SMAD4 pathway has not yet been reported. Therefore, this study was conducted to investigate the expressions and effects of RUNX3 and SMAD4 in colorectal cancer tissue, and their mutual relationship.

**Methods:** A total of 98 paired samples of colorectal tissue and adjacent normal tissue were collected. The protein expressions of RUNX3 and SMAD4 were detected by Western blot, and the mRNA expression of SMAD4 was detected by qRT-PCR, respectively. The correlation between RUNX3 and SMAD4 expressions were analyzed. Human colorectal cancer SW480 cells were transfected with RUNX3 overexpression plasmid (RUNX3 group), SMAD4 overexpression plasmid (SMAD4 group) and RUNX3 and SMAD4 overexpression plasmid (RUNX3+SMAD4 group) respectively, using SW480 cells transfected with negative control plasmid as control group. In each group of cells, the changes in RUNX3 and SMAD4 expressions were determined by Western blot and qRT-PCR, and the differences in proliferative and invasion abilities were examined by CCK-8 assay and Transwell assay, respectively.

**Results:** The protein expression level of RUNX3 in colorectal cancer tissue was significantly lower than that in adjacent normal tissue, and the mRNA and protein expression levels of SMAD4 were significantly higher in colorectal cancer tissue than those in adjacent normal tissue (all  $P < 0.05$ ); RUNX3 protein expression was negatively correlated with SMAD4 mRNA and protein expressions in colorectal cancer tissue ( $r = 0.511$ ,  $P = 0.004$ ;  $r = 0.487$ ,  $P = 0.009$ ). Compared with control group, the RUNX3 protein expression was significantly increased, while the mRNA and protein expressions of SMAD4 were significantly decreased in the RUNX3 group (all  $P < 0.05$ ); the RUNX3 protein expression showed no significant change ( $P > 0.05$ ), while the mRNA and protein expressions SMAD4 were significantly increased in SMAD4 group (all  $P < 0.05$ ); the RUNX3 protein expression was significantly increased ( $P < 0.05$ ), while the mRNA and protein expressions SMAD4 showed no significant changes in RUNX3+SMAD4 group (both  $P > 0.05$ ). The cell proliferation and invasion abilities were significantly lower in RUNX3 group and were significantly higher in SMAD4 group than those in control group (all  $P < 0.05$ ); both cell proliferation and invasion abilities in RUNX3+SMAD4 represented an intermediate state between RUNX3 group and SMAD4 group, which showed no significant differences with control group (both  $P > 0.05$ ).

**Conclusion:** The expression of RUNX3 is down-regulated in colorectal cancer tissue. RUNX3 up-regulation can suppress the malignant biological behavior of colorectal cancer cells, and the mechanism may be associated with its inhibiting the activity of the TGF- $\beta$ /SMAD4 signaling pathway.

### Key words

Colorectal Neoplasms; Core Binding Factor Alpha 3 Subunit; SMAD4 Protein; Cell Proliferation; Neoplasm Invasiveness

**CLC number:** R735.3

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是临床常见的消化道恶性肿瘤, 也是我国肿瘤发病率上升最快的肿瘤之一<sup>[1]</sup>。虽然不断有新的方法应用于临床, 但是结直肠癌患者的5年生存率仍不足30%, 分析结直肠癌发生和进展的机制对于临床诊断和治疗具有重要意义<sup>[2]</sup>。TGF- $\beta$ 通路是促进结直肠癌发生和转移的重要通路, SMAD4蛋白是该通路的下游终点蛋白, 其可通过促进促癌因子的转录进而参与结直肠癌的发生和发展<sup>[3]</sup>, 若SMAD4蛋白的表达水平被抑制, 则TGF- $\beta$ 通路就会被阻断<sup>[4]</sup>。Runt相关转录因子3 (Runt-related transcription factor 3, RUNX3) 是一种参与上皮细胞发育的转录因子, 其参与调节了多种促癌或者抑癌基因的转录<sup>[5]</sup>。临床研究显示结直肠癌组织中RUNX3蛋白的表达水平显著降低, 提示其抑癌作用<sup>[6]</sup>, 但是抑制结直肠癌的机制是否与TGF- $\beta$ /SMAD4通路有关仍不清楚。综上, 本文主要分析RUNX3和SMAD4参与结直肠癌的发生发展的机制, 以期为进一步研究提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 临床标本

收集2019年6月—2021年6月间内蒙古乌兰察布市中心医院普通外科收治的原发性结直肠癌患者临床及病理资料、患者肿瘤组织或者癌旁正常组织 (距离肿瘤外缘>3 cm), 在-80 °C下保存。纳入标准: (1) 年龄在40~65岁之间; (2) 经过组织学检验确诊为结直肠癌; (3) 知情同意。排除标准: (1) 组织收集前3个月内接受过抗肿瘤相关治疗; (2) 合并其他恶性肿瘤、血液学疾病、感染或其他炎症; (3) 合并其他消化道疾病。本研究经内蒙古乌兰察布市中心医院伦理委员会的批准[2020-11]。最终纳入患者98例, 其中男52例, 女46例; 年龄41~65岁, 平均(49.42 $\pm$ 3.71)岁。

### 1.2 主要实验材料

人结直肠癌细胞系SW480 (ATCC公司, 美国)。DMEM培养基血清和抗体 (Invitrogen公司, 美国)。TRIzol和M-MLV逆转录酶 (Invitrogen, 美国)。One-Step qRT-PCR Kit试剂盒 (北京CWbio公司, 美国)。RUNX3和SMAD4过表达质粒, 以及阴性对照 (NC) 质粒 (GenePharma公司, 中国)。

Lipofectamine™ 2000 (Sigma-Aldrich公司, 美国)。RUNX3抗体 (Abcam公司, 美国)。PVDF膜 (Bio-Rad公司, 美国)。

### 1.3 细胞处理

SW480细胞均培养在DMEM完全培养基中, 培养基含有10%的胎牛血清、0.1 mg/mL的链霉素和100 U/mL的青霉素。将细胞在5% CO<sub>2</sub>培养箱中于37 °C和95%湿度下培养。

将细胞分为对照组、RUNX3组、SMAD4组和RUNX3+SMAD4组。通过转染, 过表达RUNX3和(或)SMAD4。细胞在6孔板中培养, 当细胞达到60%汇合后, 添加Opti (100  $\mu$ L) 和Lipofectamine™ 2000 (5  $\mu$ L) 并孵育5 min作为试剂A。加入Opti (100  $\mu$ L) 和RUNX3和/或SMAD4质粒 (20 ng/ $\mu$ L) 并孵育5 min作为试剂B。将A和B混合在一起并孵育20 min。16 h后, 更换培养基并收获细胞。通过转染等量的阴性对照质粒作为对照。

### 1.4 检测方法

**1.4.1 Western blot** 组织样本或者细胞研磨后裂解, 通过离心 (4 °C, 12 000 r/min, 5 min) 收集总蛋白。通过8%的SDS-PAGE分离每个样品中等量 (50  $\mu$ g) 的蛋白质, 并将其转移到PVDF膜上。利用脱脂牛奶 (5%, 2 h) 进行封闭。随后, 将膜与1:800稀释的RUNX3或者SMAD4抗体在4 °C下孵育过夜, 然后将膜与相应的二抗在室温下孵育1 h。使用化学发光试剂显示, 使用Quantum One软件分析灰度计算RUNX3和SMAD4蛋白相对于GAPDH的表达量。

**1.4.2 qRT-PCR** TRIzol被用于提取组织或者细胞中总RNA, 使用M-MLV逆转录酶将RNA合成互补DNA, 然后通过One-Step qRT-PCR Kit试剂盒进行逆转录, 共进行40个循环: 95 °C 30 s、95 °C 5 s和60 °C 30 s。内参为GAPDH, 通过2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup>计算SMAD4 mRNA的相对表达水平。

**1.4.3 CCK-8实验检测细胞增殖活力** 将100  $\mu$ L的细胞悬浮液添加到96孔板的孔中, 孵育48 h和72 h后, 将体积为10  $\mu$ L的CCK-8溶液添加到每个孔中并孵育2 h。在450 nm波长下, 用酶标仪检测每个孔的光密度 (OD) 值。

**1.4.4 Transwell实验检测侵袭** 在37 °C下将细胞培养在无血清DMEM中将细胞 (5 $\times$ 10<sup>4</sup>细胞/mL) 进

行血清饥饿处理 24 h。然后将细胞接种到 24 孔 Transwell 装置的上部腔室中,将含有 15% 胎牛血清的 DMEM 充满下部腔室。24 h 后,清洗掉未侵入的细胞,并将渗透到下部腔室中的细胞用 95% 乙醇固定,并在室温下用 0.1% 结晶紫染色 20 min。

### 1.5 统计学处理

设立 3 个平行实验。使用 SPSS 19.0 进行统计,数据以平均值 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ),多组间比较使用方差检验,两两比较采用 *t* 检验。Pearson 检验用于分析 RUNX3 与 SMAD4 的相关性。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 RUNX3 与 SMAD4 在结直肠癌组织中的表达特点

结直肠癌组织中的 RUNX3 蛋白表达明显低于癌旁正常组织 (*P*<0.05),而 SMAD4 mRNA 和蛋白表达均明显高于癌旁正常组织 (均 *P*<0.05)。结直肠癌组织中 RUNX3 蛋白分别与 SMAD4 mRNA 和蛋白表达水平呈负相关 (*r*=0.511, *P*=0.004; *r*=0.487, *P*=0.009) (图 1) (表 1)。

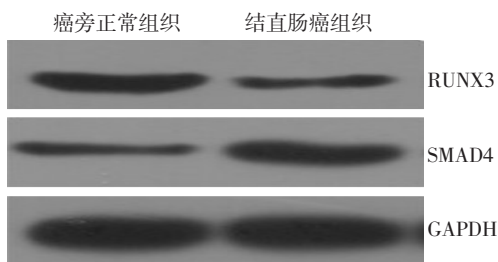


图 1 Western blot 检测结直肠癌组织与癌旁组织 RUNX3 和 SMAD4 蛋白表达

Figure 1 Western blot detection of RUNX3 and SMAD4 protein expressions in colorectal cancer and adjacent tissues

表 1 RUNX3 蛋白与 SMAD4 mRNA 和蛋白的相对表达量 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 The relative expression levels of RUNX3 protein and SMAD4 mRNA and protein ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	RUNX3	SMAD4 mRNA	SMAD4 蛋白
癌旁正常组织	1.00±0.18	1.00±0.15	1.00±0.15
结直肠癌组织	0.31±0.05 <sup>1)</sup>	4.12±0.67 <sup>1)</sup>	3.34±0.52 <sup>1)</sup>

注:1)与癌旁正常组织比较,*P*<0.05

Notes: 1) *P*<0.05 vs. normal tissue adjacent to cancer

### 2.2 转染后各组细胞中 RUNX3、SMAD4 mRNA 和蛋白的表达水平

与对照组比较, RUNX3 组的 RUNX3 蛋白水平均明显升高,但 SMAD4 mRNA 和蛋白水平明显降低 (均 *P*<0.05); SMAD4 组的 SMAD4 mRNA 和蛋白的表达水平明显升高 (均 *P*<0.05),但 RUNX3 蛋白水平无明显变化 (*P*>0.05); RUNX3+SMAD4 组的 RUNX3 蛋白水平均明显升高 (*P*<0.05), SMAD4 mRNA 和蛋白水平变化不明显 (均 *P*>0.05) (图 2) (表 2)。

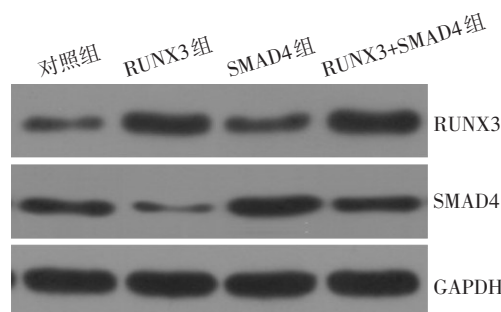


图 2 Western blot 检测各组细胞中 RUNX3 与 SMAD4 蛋白的表达

Figure 2 Western blot detection of the RUNX3 and SMAD4 protein expressions in each group of cells

表 2 各组细胞中 RUNX3 蛋白、SMAD4 mRNA 和蛋白相对表达量 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 The relative expression levels of RUNX3 protein and SMAD4 mRNA and protein in each group of cells ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	RUNX3 蛋白	SMAD4 mRNA	SMAD4 蛋白
对照组	1.00±0.08	1.00±0.07	1.00±0.06
RUNX3 组	3.92±0.36 <sup>1)</sup>	0.21±0.02 <sup>1)</sup>	0.24±0.02 <sup>1)</sup>
SMAD4 组	1.03±0.07	3.56±0.31 <sup>1)</sup>	3.24±0.28 <sup>1)</sup>
RUNX3+SMAD4 组	3.98±0.35 <sup>1),2)</sup>	1.03±0.09 <sup>2),3)</sup>	0.96±0.08 <sup>2),3)</sup>

注:1)与对照组比较,*P*<0.05;2)与 SMAD4 组比较,*P*<0.05;3)与 RUNX3 组比较,*P*<0.05

Notes: 1) *P*<0.05 vs. control group; 2) *P*<0.05 vs. SMAD4 group; 3) *P*<0.05 vs. RUNX3 group

### 2.3 RUNX3 和 SMAD4 对结直肠癌细胞增殖的影响

各组细胞增殖能力差异有统计学意义 (*P*<0.05)。RUNX3 组细胞增殖能力明显低于对照组 (*P*<0.05), SMAD4 组的细胞增殖能力明显高于对照组 (*P*<0.05), RUNX3+SMAD4 组的细胞增殖能力明显高于 RUNX3 组,但明显低于 SMAD4 组 (*P*<0.05),与对照组间无明显差异 (*P*>0.05) (表 3)。

**表3 RUNX3和SMAD4对结直肠癌细胞增殖的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )**  
**Table 3 Effects of RUNX3 and SMAD4 on the proliferation of colorectal cancer cells ( $\bar{x} \pm s$ )**

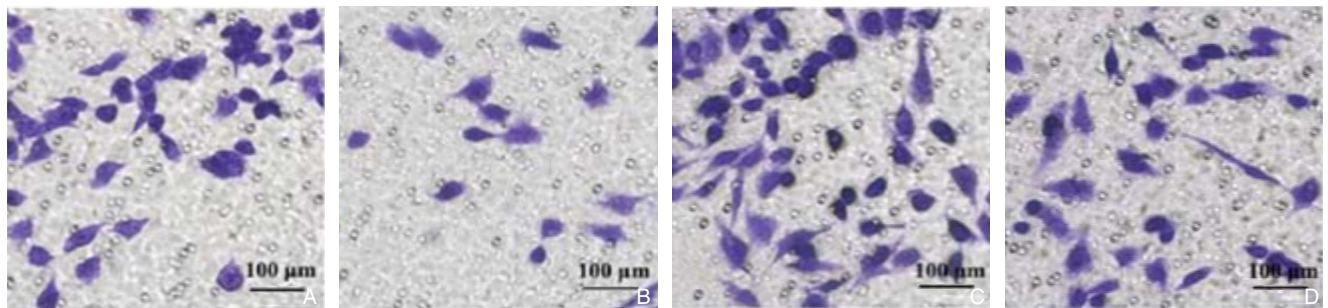
组别	48 h	72 h
对照组	0.67±0.05	1.20±0.10
RUNX3组	0.55±0.06 <sup>1)</sup>	0.97±0.11 <sup>1)</sup>
SMAD4组	0.79±0.08 <sup>1)</sup>	1.39±0.12 <sup>1)</sup>
RUNX3+SMAD4组	0.69±0.08 <sup>2),3)</sup>	1.25±0.11 <sup>2),3)</sup>

注: 1) 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与RUNX3组比较,  $P < 0.05$ ; 3) 与SMAD4组比较,  $P < 0.05$

Notes: 1)  $P < 0.05$  vs. control group; 2)  $P < 0.05$  vs. RUNX3 group; 3)  $P < 0.05$  vs. SMAD4 group

## 2.4 RUNX3和SMAD4对结直肠癌细胞侵袭的影响

各组细胞侵袭能力差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。



**图3 Transwell检测各组细胞的侵袭能力** A: 对照组; B: RUNX3组; C: SMAD4组; D: RUNX3+SMAD4组

**Figure 3 Invasion ability of each group of cells detected by Transwell assay** A: Control group; B: RUNX3 group; C: SMAD4group; D: RUNX3+SMAD4 group

## 3 讨论

结直肠癌以40~50岁年龄段发病率最高<sup>[7-8]</sup>。尽管近年来检测方法、放疗、化疗和内镜技术得到了长足的发展,但结直肠癌的5年生存率仍然较差<sup>[9-10]</sup>。研究结直肠癌相关基因的调控机制具有重大现实意义。本研究旨在讨论RUNX3与TGF- $\beta$ /SMAD4信号通路的关系,以及RUNX3在结直肠癌发展中的作用机制。

RUNX3蛋白是一种转录因子,研究<sup>[11-12]</sup>表明其可与许多增强子和启动子的核心位点5'-PYG PYG GT-3'结合,从而促进或抑制基因的转录水平。RUNX3在多种肿瘤中发挥抑癌作用,如胰腺癌<sup>[13-14]</sup>、食道癌<sup>[15-16]</sup>、肾癌等<sup>[17-18]</sup>。最近研究也显示RUNX3也与结直肠癌有关,如Li等<sup>[19]</sup>的研究显示RUNX3基因结直肠癌组织中显著下调,并且与结直肠癌的分期和转移有关。此外,也有研究<sup>[20]</sup>

RUNX3组细胞侵袭能力明显低于对照组 ( $P < 0.05$ ), SMAD4组的细胞侵袭能力明显高于对照组 ( $P < 0.05$ ), RUNX3+SMAD4组的细胞侵袭能力明显高于RUNX3组,但明显低于SMAD4组 (均  $P < 0.05$ ),与对照组间无明显差异 ( $P > 0.05$ ) (表4) (图3)。

**表4 各组结直肠癌细胞侵袭细胞数的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )**  
**Table 4 Number of the invaded cells of each group ( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	侵袭细胞数目(个)
对照组	58.34±2.06
RUNX3组	24.15±1.42 <sup>1)</sup>
SMAD4组	127.36±3.85 <sup>1)</sup>
RUNX3+SMAD4组	55.37±2.57 <sup>2),3)</sup>

注: 1) 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与RUNX3组比较,  $P < 0.05$ ; 3) 与SMAD4组比较,  $P < 0.05$

Notes: 1)  $P < 0.05$  vs. control group; 2)  $P < 0.05$  vs. RUNX3 group; 3)  $P < 0.05$  vs. SMAD4 group

显示RUNX3通过上调结直肠癌中的DR5增强TRAIL诱导的细胞凋亡。本研究收集了98例结直肠癌组织和癌旁正常组织,通过Western blot实验发现RUNX3蛋白在结直肠癌组织低表达。通过细胞实验构建了RUNX3过表达的结直肠癌细胞模型,发现RUNX3蛋白升高会抑制结直肠癌细胞的增殖和侵袭,RUNX3的降低与结直肠癌发生和发展有关,提高RUNX3则会抑制结直肠癌细胞的增殖和侵袭。

为进一步分析RUNX3抑制结直肠癌的机制,本研究也检测了TGF- $\beta$ 信号通路中SMAD4的水平。SMAD4是TGF- $\beta$ 信号的终点蛋白,TGF- $\beta$ 信号通路的激活会最终引起SMAD4蛋白的功能激活,而直接抑制SMAD4蛋白的表达水平则可从根本上阻断TGF- $\beta$ 信号通路<sup>[21-23]</sup>。SMAD4是一种促癌蛋白,研究显<sup>[24-25]</sup>示在结直肠癌中,SMAD4显著高表达,且与结直肠癌患者的恶性病理特点和不良预后有关。体外研究<sup>[26]</sup>也证实了提高SMAD4的表达会促进结

直肠癌细胞的增殖和侵袭。本研究结果显示,结直肠癌组织中的SMAD4 mRNA和蛋白水平显著高于癌旁正常组织,且SMAD4 mRNA和蛋白水平均与RUNX3蛋白负相关,这提示RUNX3可能负调控SMAD4的转录和蛋白表达。为进一步验证这一推测,本研究利用结直肠癌细胞构建了RUNX3和(或)SMAD4过表达的细胞模型,结果显示过表达RUNX3会抑制SMAD4 mRNA和蛋白的水平;而过表达SMAD4不仅显著促进结直肠癌细胞的增殖和侵袭,还会显著的削弱RUNX3对结直肠癌细胞的抑制作用。在另一种消化系统肿瘤—胰腺癌相关研究<sup>[27-29]</sup>中也显示,RUNX3与SMAD4的表达水平负相关,且与不良预后有关。肾癌相关研究<sup>[30]</sup>亦显示,可通过微小RNA-93抑制RUNX3蛋白的表达,从而抑制SMAD4的表达,提高细胞的增殖和转移能力。结合既往文献与本研究结果,推测结直肠癌中RUNX3蛋白的降低会导致SMAD4转录和蛋白表达水平的升高,从而参与结直肠癌的发生和发展。

然而,本研究也有一定的局限性,关于RUNX3和SMAD4与结直肠癌患者预后的关系仍需要扩大样本,延长随访时间进行分析;RUNX3通过调控SMAD4抑制结直肠癌发生和发展的作用机制仍需行体内实验验证。

综上所述,RUNX3可通过抑制SMAD4抑制结直肠癌的发生和发展,提示RUNX3可能成为诊断和治疗结直肠癌的新靶点。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

## 参考文献

- [1] 杨照微,王晶莹,李时孟,等.结直肠癌组织中泛素化修饰蛋白的蛋白质组学分析[J].分析化学,2019,47(3):355-362. doi: 10.19756/j.issn.0253-3820.181661.  
Yang ZW, Wang JY, Li SM, et al. Proteomic Analysis of Ubiquitinated Proteins in Colorectal Cancer Tissues[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2019, 47(3): 355-362. doi: 10.19756/j.issn.0253-3820.181661.
- [2] 李志彬,李闯,丁战伟.直肠癌经肛门与腹腔镜全直肠系膜切除术治疗的可行性和安全性比较[J].中华生物医学工程杂志,2019,25(5):641-645. doi: 10.3760/cma.j.issn.1674-1927.2019.05.024.  
Li ZB, Li C, Ding ZW. Feasibility and safety of transanal vs laparoscopic total mesorectal excision of rectal cancer[J]. Chinese Journal of Biomedical Engineering, 2019, 25(5): 641-645. doi: 10.3760/cma.j.issn.1674-1927.2019.05.024.
- [3] Itatani Y, Kawada K, Sakai Y. Transforming growth factor- $\beta$  signaling pathway in colorectal cancer and its tumor microenvironment[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(23): 5822. doi: 10.3390/ijms20235822.
- [4] Zhang QT, Xiao M, Gu SC, et al. ALK phosphorylates Smad4 on tyrosine to disable TGF- $\beta$  tumour suppressor functions[J]. Nat Cell Biol, 2019, 21(2):179-189. doi: 10.1038/s41556-018-0264-3.
- [5] Gao QQ, Zhou B, Yu XZ, et al. Transcriptome changes induced by RUNX3 in cervical cancer cells in vitro[J]. Oncol Lett, 2020, 19(1): 651-662. doi: 10.3892/ol.2019.11128.
- [6] 贾光辉. Runx3和C-myc在结直肠癌组织中的表达及其临床意义分析[J].临床医药文献电子杂志,2020,7(15):3-4. doi: 10.16281/j.cnki.jocml.2020.15.003.  
Jia GH. Clinical expressions and significance of Runx3 and C-myc in the colorectal carcinoma tissues[J]. Journal of Clinical Medical Literature: Electronic Edition, 2020, 7(15): 3-4. doi: 10.16281/j.cnki.jocml.2020.15.003.
- [7] Thanikachalam K, Khan G. Colorectal cancer and nutrition[J]. Nutrients, 2019, 11(1):164. doi: 10.3390/nu11010164.
- [8] 曹慧,刘馨莲,张录顺.生物信息数据库分析INHBA在结直肠癌中的表达及临床意义[J].电子科技大学学报,2022,51(2):295-304. doi: 10.12178/1001-0548.2021348.  
Cao H, Liu XL, Zhang LS. Expression and clinical significance of INHBA in colorectal cancer based on bioinformatics databases[J]. Journal of University of Electronic Science and Technology of China, 2022, 51(2):295-304. doi: 10.12178/1001-0548.2021348.
- [9] Karl H. Hereditary colorectal cancer: clinics, diagnostics and management[J]. Ther Umsch, 2018, 75(10):601-606. doi: 10.1024/0040-5930/a001046.
- [10] 米迷,翁姗姗,陆德珉,等.2021年晚期结直肠癌治疗研究进展[J].实用肿瘤杂志,2022,37(1):23-28. doi: 10.13267/j.cnki.syzlzz.2022.004.  
Mi M, Weng SS, Lu DM, et al. Advances in treatment of metastatic colorectal cancer in 2021[J]. Journal of Practical Oncology, 2022, 37(1):23-28. doi: 10.13267/j.cnki.syzlzz.2022.004.
- [11] Hideura E, Suehiro Y, Nishikawa J, et al. Blood free-circulating DNA testing of methylated RUNX3 is useful for diagnosing early gastric cancer[J]. Cancers, 2020, 12(4): 789. doi: 10.3390/cancers12040789.
- [12] 高树全,张迎春,张超,等.新辅助放疗联合TME术对ⅢB期直肠癌肿瘤组织内RUNX3、Survivin、ki-67的影响[J].现代消化及介入诊疗,2020,25(9):1146-1150. doi: 10.3969/j.issn.1672-2159.2020.09.003.  
Gao SQ, Zhang YC, Zhang C, et al. Effect of neoadjuvant radiotherapy and chemotherapy combined with TME on RUNX3, survivin and Ki-67 in IIIB stage rectal cancer[J]. Modern Digestion & Intervention, 2020, 25(9): 1146-1150. doi: 10.3969/j.issn.1672-2159.2020.09.003.
- [13] 黄耀星,余丹纯,孙小娟,等. CD74与RUNX3在人胰腺癌细胞内存在相互作用[J].分子影像学杂志,2019,42(3):393-396. doi: 10.12122/j.issn.1674-4500.2019.03.26.

- Huang YX, Yu DC, Sun XJ, et al. Interaction between CD74 and RUNX3 in human pancreatic cancer cells[J]. *Journal of Molecular Imaging*, 2019, 42(3): 393–396. doi: 10.12122/j.issn.1674–4500.2019.03.26.
- [14] 杜渐, 谭广, 罗海峰, 等. 下调组蛋白甲基转移酶EZH2对人胰腺癌细胞RUNX3基因表达及增殖、凋亡的影响[J]. *中华肝胆外科杂志*, 2016, 22(4): 249–252. doi: 10.3760/cma.j.issn.1007–8118.2016.04.008.
- Du J, Tan G, Luo HF, et al. Impact of down-regulation of histone methyltransferase enhancer of zeste homolog 2 on RUNX3 expressions, proliferation and apoptosis in human pancreatic cancer[J]. *Chinese Journal of Hepatobiliary Surgery*, 2016, 22(4): 249–252. doi: 10.3760/cma.j.issn.1007–8118.2016.04.008.
- [15] Rehman AU, Iqbal MA, Sattar RSA, et al. Elevated expression of RUNX3 co-expressing with EZH2 in esophageal cancer patients from India[J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20:445. doi: 10.1186/s12935–020–01534–y.
- [16] Xiao ZH, Tian Y, Jia Y, et al. RUNX3 inhibits the invasion and migration of esophageal squamous cell carcinoma by reversing the epithelial-mesenchymal transition through TGF- $\beta$ /Smad signaling[J]. *Oncol Rep*, 2020, 43(4): 1289–1299. doi: 10.3892/or.2020.7508.
- [17] 蔡波, 邢钱伟, 吴优, 等. 人源性RUNX3相关转录因子1在肾癌中的表达及生物学功能[J]. *医学研究生学报*, 2020, 33(5):509–514. doi: 10.16571/j.cnki.1008–8199.2020.05.012.
- Cai B, Xing QW, Wu Y, et al. Expression and biological function of human-derived RUNX3 gene in renal cancer[J]. *J Med Postgrad*, 2020, 33(5):509–514. doi: 10.16571/j.cnki.1008–8199.2020.05.012.
- [18] Zheng JB, Mei YH, Zhai GS, et al. Downregulation of RUNX3 has a poor prognosis and promotes tumor progress in kidney cancer[J]. *Urol Oncol*, 2020, 38(9): 740. e11–740. e20. doi: 10.1016/j.urolonc.2020.05.021.
- [19] Li GF. Expression of RUNX3 gene and miR-363 in colorectal cancer and the relationship with clinicopathological features[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(3):2278–2285. doi: 10.3892/ol.2019.10566.
- [20] Kim BR, Park SH, Jeong YA, et al. RUNX3 enhances TRAIL-induced apoptosis by upregulating DR5 in colorectal cancer[J]. *Oncogene*, 2019, 38(20): 3903–3918. doi: 10.1038/s41388–019–0693–x.
- [21] Wu N, Jiang MZ, Liu HM, et al. LINC00941 promotes CRC metastasis through preventing Smad4 protein degradation and activating the TGF- $\beta$ /SMAD2/3 signaling pathway[J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(1):219–232. doi: 10.1038/s41418–020–0596–y.
- [22] 白登彦, 王冠, 张海军, 等. TGF- $\beta$ 1/Smad4信号通路对去卵巢骨质疏松大鼠骨髓微环境的影响及针刺干预机制[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2021, 27(8): 1140–1146. doi: 10.3969/j.issn.1006–7108.2021.08.009.
- Bai DY, Wang G, Zhang HJ, et al. Effect of TGF- $\beta$ 1/Smad4 signaling pathway on bone marrow microenvironment in ovariectomized osteoporosis rats and mechanism of acupuncture intervention[J]. *Chinese Journal of Osteoporosis*, 2021, 27(8):1140–1146. doi: 10.3969/j.issn.1006–7108.2021.08.009.
- [23] 方闯, 田伟军. TGF- $\beta$ /Smad4信号通路中基因突变对胰腺癌患者生存的影响[J]. *天津医科大学学报*, 2020, 26(5): 450–453.
- Fang C, Tian WJ. The effect of mutations in TGF- $\beta$ /Smad4 signal pathway on the survival of patients with pancreatic cancer[J]. *Journal of Tianjin Medical University*, 2020, 26(5): 450–453.
- [24] Wasserman I, Lee LH, Ogino S, et al. Smad4 loss in colorectal cancer patients correlates with recurrence, loss of immune infiltrate, and chemoresistance[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(6): 1948–1956. doi: 10.1158/1078–0432.CCR–18–1726.
- [25] 申连东, 曹光材, 齐文海, 等. TGF- $\beta$ 1磷酸化Smad4调控结直肠癌对奥沙利铂的反应性[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2020, 28(6):437–443. doi:10.3969/j.issn.1671–038X.2020.06.08.
- Shen LD, Cao GC, Qi WH, et al. TGF- $\beta$ 1 regulates the sensitivity of colorectal cancer cells to oxaliplatin by phosphorylating Smad4[J]. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine on Digestion*, 2020, 28(6):437–443. doi:10.3969/j.issn.1671–038X.2020.06.08.
- [26] 章帅, 黄迪, 王晓元, 等. 长链非编码RNA linc-PINT通过调控Smad4抑制结直肠癌的恶性进展[J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(23):3946–3951. doi: 10.3969/j.issn.1006–5725.2018.23.025.
- Zhang S, Huang D, Wang XY, et al. Long non-coding RNA linc-PINT inhibits proliferation and migration of colorectal cancer cells through Smad4[J]. *The Journal of Practical Medicine*, 2018, 34(23): 3946–3951. doi: 10.3969/j.issn.1006–5725.2018.23.025.
- [27] Whittle MC, Izeradjene K, Rani PG, et al. RUNX3 controls a metastatic switch in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Cell*, 2015, 161(6):1345–1360. doi: 10.1016/j.cell.2015.04.048.
- [28] Whittle MC, Hingorani SR. Runx3 and Cell Fate Decisions in Pancreas Cancer[J]. *Adv Exp Med Biol*. 2017, 962:333–352. doi: 10.1007/978–981–10–3233–2\_21.
- [29] Lee Y, Lee H, Park H, et al. Combination immunohistochemistry for Smad4 and Runt-related transcription factor 3 may identify a favorable prognostic subgroup of pancreatic ductal adenocarcinomas[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(44): 76699–76711. doi: 10.18632/oncotarget.20815.
- [30] Liu LJ, Yu JJ, Xu XL. microRNA-93 inhibits apoptosis and promotes proliferation, invasion and migration of renal cell carcinoma ACHN cells via the TGF- $\beta$ /Smad signaling pathway by targeting RUNX3[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(7):3499–3513.

( 本文编辑 姜晖 )

**本文引用格式:**贾光辉, 丁一冰, 赵永强, 等. RUNX3在结直肠癌中的表达与作用及其与TGF- $\beta$ /SMAD4信号通路的关系[J]. *中国普通外科杂志*, 2022, 31(8): 1064–1070. doi: 10.7659/j.issn.1005–6947.2022.08.009

**Cite this article as:** Jia GH, Ding YB, Zhao YQ, et al. Expression and action of RUNX3 in colorectal cancer and its association with TGF- $\beta$ /SMAD4 signaling pathway[J]. *Chin J Gen Surg*, 2022, 31(8): 1064–1070. doi: 10.7659/j.issn.1005–6947.2022.08.009