文章编号:1000-5404(2010)13-1429-04

论著

幽门螺杆菌感染增强胃癌组织 *Runx3* 基因甲基化与患者生存的关系

赵永勋[1],关泉林[1],张兴旺[2],赵 鹏[1],汪晓炜[1],袁文臻[1],曹 农[3] (730000 兰州,兰州大学第一医院:肿瘤外科[1],普外科[3];730000 兰州,甘肃省人民医院检验中心[2])

[摘要] **目的** 研究胃癌 *Runx3* 基因甲基化和幽门螺杆菌(*H. pylori*)感染、临床病理特征及患者生存的关系。**方法** 筛选我院肿瘤外科 2004 年 6 月至 2005 年 12 月 86 例病理确诊的原发性胃癌患者,男性 52 例,女性 34 例,平均年龄 52(28~78)岁。20 例正常对照选自同期我院消化内科门诊。用甲基化特异性 PCR(MSP)法检测胃癌组织、癌旁组织及正常对照组织中 *Runx3* 基因甲基化状况;用快速尿素酶诊断法和 Warthin-Starry 染色法检测胃癌患者及对照组 *H. pylori* 感染状况;用 Kaplan-Meier 限乘法计算生存率;用 Cox 比例风险回归模型进行多因素生存分析。**结果** ①胃癌组织 *Runx3* 甲基化率(65.1%,56/86)明显高于相应癌旁组织(8.1%,7/86)和正常对照组织(0/20)($P<0.01$)。②*Runx3* 甲基化与组织分化($P=0.017$)、浸润深度($P=0.004$)及淋巴结转移($P=0.001$)等显著相关。③*H. pylori* 感染的胃癌组织 *Runx3* 甲基化率较未感染的胃癌组织高($P=0.003$)。④Kaplan-Meier 生存曲线经 Log-rank 检验发现 *Runx3* 甲基化与生存相关($P<0.01$)。⑤多因素生存分析显示浸润深度、*Runx3* 甲基化是胃癌的独立预后因素($P<0.05$)。**结论** 胃癌 *Runx3* 甲基化与肿瘤进展和转移有关,*H. pylori* 感染增加 *Runx3* 甲基化,*Runx3* 甲基化是胃癌的独立预后因素。

[关键词] 胃肿瘤;*Runx3*;幽门螺杆菌;甲基化;幸存;预后
[中图法分类号] R735.2; R181.23; R730.4 **[文献标志码]** A

Correlation between *H. pylori* infection-increased *Runx3* methylation in gastric cancer tissue and survival rate of gastric cancer patients

Zhao Yongxun[1], Guan Quanlin[1], Zhang Xingwang[2], Zhao Peng[1], Wang Xiaowei[1], Yuan Wenzhen[1], Cao Nong[3] ([1]Department of Oncology Surgery, [3]Department of General Surgery, First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu Province, 730000; [2] Laboratory Center, People's Hospital of Gansu Province, Lanzhou, Gansu Province, 730000, China)

[Abstract] Objective To study the correlation between *Runx3* methylation in gastric cancer tissue, *H. pylori* infection, clinicopathologic features and survival rate of gastric cancer patients. Methods Eighty-six patients with primary gastric cancer (52 males and 34 females) at the age of 28 – 78 years (mean 52 years), admitted to Department of Oncology Surgery from June 2004 to December 2005, were selected as an experimental group, and 20 patients admitted to Department of Gastroenterology during the same period were selected as a control group. *Runx3* methylation was detected by methylation specific (MSP) PCR in gastric cancer tissue, its adjacent and normal gastric tissues. *H. pylori* infection was detected by fast urea enzyme test with Warthin-Starry staining in experimental and control groups. Survival rate was calculated by Kaplan-Meier survival curves. Multivariate survival analysis was performed with Cox proportional hazard regression model. Results The *Runx3* methylated rate was significantly higher in gastric cancer tissue (65.1%,56/86) than in adjacent gastric tissue (8.1%,7/86) and normal gastric tissue (0/20) ($P<0.01$). The *Runx3* methylation was significantly correlated with tissue differentiation, depth of invasion, and lymph node metastasis ($P=0.05$). The *Runx3* methylation rate was higher in gastric cancer tissue infected with *H. pylori* than in those not infected with *H. pylori* ($P=0.003$). Kaplan-Meier survival curves and Log rank test showed that *Runx3* methylation was correlated with survival rate of gastric cancer patients ($P<0.01$). Multivariate survival analysis revealed that depth of invasion and *Runx3* methylation were the independent prognostic factors for gastric cancer. Conclusion *Runx3* methylation is correlated with the development and metastasis of gastric cancer. *H. pylori* infection increases *Runx3* methylation, and *Runx3* methylation is an independent prognostic factor for gastric cancer.

[Key words] gastric tumor; *Runx3*; *H. pylori*; methylation; survival; prognosis

Corresponding author: Cao Nong, Tel: 86-931-8625200-6595, E-mail: zxw200509@126.com

[通信作者] 曹 农,电话:(0931)8625200-6595,E-mail:zxw200509@126.com

胃癌是常见的消化道恶性肿瘤之一,其发病与多种因素相关。人类 Runt 相关转录因子3(human runt-related transcription factor 3,*Runx*3)是 Runx 家族成员之一,定位于人染色体1号短臂1p36上[1]。*Runx*3作为一个新的抑癌基因,对细胞的信号转导和生长发育起重要的转录调节作用,*Runx*3的表达缺失参与胃癌的发生、发展过程,*Runx*3基因甲基化是表达缺失的主要机制,而*Runx*3基因启动子转录起始点附近位点的甲基化对于*Runx*3基因沉默有更重要的意义[2]。1994年国际癌症研究中心(IARC)将*H. pylori*列为Ⅰ类致癌因子。流行病学调查显示,胃癌的发生与*H. pylori*感染密切相关[3]。日本学者最近研究表明,*H. pylori*感染导致胃癌组织中*Runx*3基因甲基化发生;*H. pylori*感染长期作用于胃体、胃窦可能会诱发*Runx*3基因甲基化,使*Runx*3表达缺失,从而导致胃癌发生[4]。本研究对胃癌组织中*Runx*3基因甲基化、*H. pylori*感染进行检测,探讨它们之间的相互关系及与胃癌临床病理特征、患者生存之间的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

收集我科2004年6月至2005年12月86例病理确诊的原发性胃癌组织及相应的癌旁组织(距癌灶边缘>5 cm,病理证实为非肿瘤组织)标本,病例均经术前内镜活检病理确诊,术后组织标本均经石蜡切片病理诊断证实,术前均未行放疗或化疗。男性52例,女性34例,平均年龄52(28~78)岁。组织分化程度:高中分化48例,低分化38例。有淋巴结转移54例,无淋巴结转移32例。浸润深度:浸润黏膜层9例,浸润肌层36例,浸润浆膜层29例,浸润浆膜外及远处12例。癌旁组织包括正常胃黏膜30例,浅表性胃炎21例,萎缩性胃炎20例,胃黏膜不典型增生15例。所有组织标本离体后立即置液氮中速冻,然后于-80 ℃低温冰箱中保存。除ⅠA期之外其余患者术后均给予5-Fu为主4个周期全身静脉化疗。全部患者由本科随访室专人跟踪随访,具有完整的随访资料,均自手术日计生存和随访时间,至患者死亡或截止时间2009年6月,全部病例术后随访3~60个月。20例健康对照选自我院消化内科门诊2004年6月至2005年12月,排除肿瘤和消化系统疾病的健康体检者胃黏膜(胃镜取材)作为健康对照组,其中男性12例,女性8例,平均年龄49岁,取胃窦部黏膜组织3块,1块行快速尿素酶试验,1块速冻保存,1块常规石蜡包埋。

1.2 方法

1.2.1 *H. pylori*感染检测 所有患者术前胃镜活检时行快速尿素酶诊断法检测*H. pylori*感染状况(福建三强公司试剂盒),加入活检组织样本后黄色试纸1 min内变为樱红色为*H. pylori*(+);石蜡包埋标本行Warthin-Starry染色法检测*H. pylori*感染状况,*H. pylori*呈棕褐色弯曲短杆状,散在或成堆分布为阳性,无*H. pylori*检出者为阴性;二者均阳性为*H. pylori*感染。

1.2.2 基因组DNA提取 切取30 mg组织标本放入小研钵中,在液氮中研磨成粉末,并转移至1.5 ml的离心管中,按UNIQ-10柱式动物基因组DNA抽提试剂盒说明书(上海生工生物工程公司)提取基因组DNA。

1.2.3 基因组DNA纯化和亚硫酸氢钠修饰 取DNA 10 μl加水至50 μl,加2 mol/L NaOH 5.5 μl,37 ℃水浴10 min,产生单链DNA。加入新鲜配制的10 mmol/L氢醌30 μl,新鲜配制的3 mol/L亚硫酸氢钠520 μl充分混合,短暂离心后在液面上复盖1层石蜡油,50 ℃水浴16 h。除盐、纯化:按UNIQ-10柱式通用DNA纯化试剂盒说明书(上海生工生物工程公司)纯化基因组DNA。后加入等体积0.6 mol/L的NaOH,37 ℃水浴5 min,再加入3 mol/L乙酸钠5 μl,立即混匀,冰浴中加入冰冷的无水乙醇120 μl,-20 ℃放置10 min,12 000 r/min 0 ℃冰冻离心10 min,70%乙醇洗涤2次,50 μl灭菌蒸馏水溶解,-20 ℃保存。

1.2.4 甲基化特异性PCR(MSP)法检测 采用文献[5]引物,*Runx*3甲基化特异性引物:5′-TTACGAGGGCGGTCG-TACGCGGG-3′(正义),5′-AAAACGACCGACGCGAACGCCTCC-3′(反义),扩增产物长度234 bp;*Runx*3非甲基化特异性引物:5′-TTATGAGGGGTGGTTGTATGTGGG-3′(正义),5′-AAAA-CAACCAACACAAACACCTCC-3′(反义),扩增产物长度234 bp(上海生工生物工程公司合成)。甲基化特异性PCR:反应体系为50 μl:10×反应缓冲液5 μl,Mg^{2+}(25 mmol/L)5 μl,dNTP(2 mmol/L)5 μl,*Taq*(5 U/μl)1.5 μl,甲基化*Runx*3上游引物(20 μmol/L)0.5 μl,甲基化*Runx*3下游引物(20 μmol/L)0.5 μl,标本DNA 2 μl,灭菌双蒸水30.5 μl。PCR反应参数:95 ℃预变性1 min后,94 ℃变性30 s,63 ℃退火30 s,72 ℃延伸30 s,共35个循环,72 ℃再延伸5 min。非甲基化特异性PCR:反应体系不变,将引物替换为非甲基化引物,退火温度改为60 ℃。每次PCR均设阴性对照,用灭菌双蒸水代替DNA进行PCR扩增。取扩增产物4.5 μl与0.5 μl上样缓冲液混匀后,2%的琼脂糖凝胶电泳,在紫外灯下观察结果并记录。

1.3 统计学处理

采用SPSS 13.0统计软件,计数资料的比较采用χ^2检验,生存率的计算和比较使用Kaplan-Meier限乘法和Log-rank检验,用Cox比例风险回归模型进行多因素生存分析,显著性检验采用Wald检验。

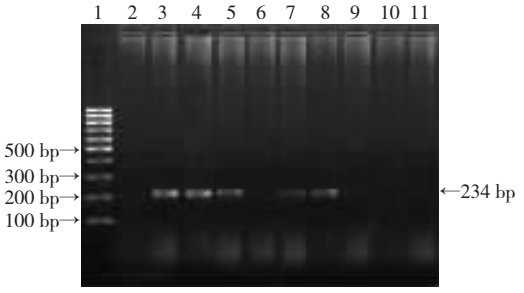
2 结果

2.1 *Runx*3在胃组织中的甲基化状况

胃组织中*Runx*3甲基化与非甲基化引物扩增产物片段大小均约为234 bp,与实验预期理论值相符。*Runx*3基因甲基化引物扩增出234 bp片段记为发生甲基化,非甲基化引物扩增出234 bp片段记为未发生甲基化,甲基化与非甲基化引物均扩增出234 bp片段记为发生甲基化。健康对照组20例无1例发生甲基化,胃癌与癌旁组织*Runx*3甲基化率分别为65.1%(56/86)和8.1%(7/86),癌旁组织中正常胃黏膜和浅表性胃炎无1例发生甲基化,萎缩性胃炎10.0%(2/20),不典型增生胃黏膜33.3%(5/15)。随病变发展,*Runx*3甲基化率呈逐渐增高趋势,胃癌与健康对照组织、癌旁组织差异具有统计学意义($P<0.01$)。见图1。

2.2 *Runx*3甲基化与胃癌患者临床病理特征的关系

*Runx*3甲基化在肿瘤组织分化差($P<0.05$)、浸润较深($P<0.01$)、有淋巴结转移($P<0.01$)的胃癌组织中甲基化率更高,而与患者年龄、性别等临床特征无关($P>0.05$,表1)。



1:标准;2、3:健康对照胃黏膜组织;4、5、8、9:胃癌组织;6、7:癌旁浅表性胃炎组织;10、11: H_2O 阴性对照;2、4、6、8、10: 甲基化引物扩增; 3、5、7、9、11: 非甲基化引物扩增

图 1　MSP 法检测胃组织中 *Runx3* 甲基化电泳结果

表 1　胃癌 *Runx3* 甲基化与临床病理特征的关系

病理特征	*n*	甲基化[例(%)]	χ^2	*P*
年龄(岁)				
≥52	46	33(71.7)	1.910	0.167
<52	40	23(57.5)		
性别				
男	52	36(69.2)	0.980	0.322
女	34	20(58.8)		
组织分化				
高、中	48	26(54.2)	5.734	0.017
低	38	30(78.9)		
浸润深度				
T_1、T_2	45	23(51.1)	8.151	0.004
T_3、T_4	41	33(80.5)		
淋巴结转移				
有	54	42(77.8)	10.242	0.001
无	32	14(43.8)		

2.3　胃癌组织中 *Runx3* 甲基化与 *H. pylori* 感染的关系

86 例胃癌患者中 *H. pylori* 感染 58 例(67.4%),20 例健康对照中 *H. pylori* 感染 8 例(40.0%)($\chi^2 = 5.201$, $P = 0.023$)。在 *H. pylori* 感染组 58 例胃癌中 *Runx3* 甲基化 44 例,甲基化率为 75.9%;无 *H. pylori* 感染组 28 例胃癌中 *Runx3* 甲基化 12 例,甲基化率为 42.9%($\chi^2 = 9.056$, $P = 0.003$)。提示在 *H. pylori* 感染组胃癌中 *Runx3* 甲基化较未感染者高,*H. pylori* 感染促进 *Runx3* 甲基化。

2.4　*Runx3* 甲基化与胃癌患者生存率的关系

Kaplan-Meier 生存曲线提示 *Runx3* 甲基化组患者 3 年和 5 年生存率分别为 40.6% 和 29.9%,*Runx3* 非甲基化组患者分别为 82.9% 和 72.0%,Log-rank 检验提示 *Runx3* 甲基化组患者生存率明显低于 *Runx3* 非甲基化组患者的生存率,胃癌组织中 *Runx3* 甲基化与患者生存率显著相关(检验统计量的值为 15.603, $P < 0.01$,图 2)。

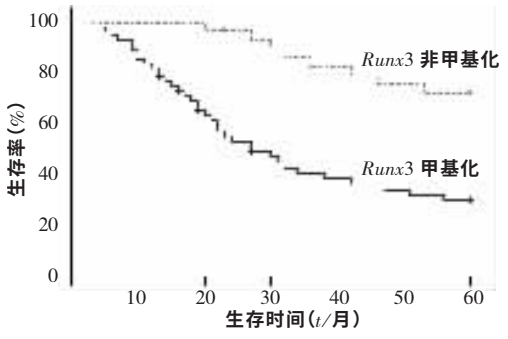


图 2　胃癌患者 *Runx3* 甲基化组和非甲基化组的 Kaplan-Meier 生存曲线

2.5　Cox 比例风险回归模型多因素生存分析

采用 Cox 逐步回归分析的方法,以生存时间作因变量,年龄、性别、组织分化、淋巴结转移、*H. pylori* 感染等协变量均从模型中剔除,均不是其危险因素,而浸润深度、*Runx3* 甲基化两协变量进入模型,是影响胃癌患者生存时间的独立因素;相对危险度表明浸润深度是其最主要的危险因素,其次为 *Runx3* 甲基化,*Runx3* 甲基化的相对危险度($RR = 2.744$),说明胃癌患者 *Runx3* 发生甲基化死亡的风险是非甲基化死亡的风险的 2.744 倍。组织浸润越深、*Runx3* 甲基化的患者,生存时间越短。

3　讨论

Runx3 基因是 Runx 家族成员之一,位于人染色体 1 号短臂 1P36.1 上,总长约为 67 kb,含有 2 个大的高度保守的 CpG 岛。*Runx3* 基因的转录由 2 个结构不同的启动子(P1 和 P2)控制,*Runx3* mRNA 主要来自 P2 启动子转录的产物,P2 启动子周围有一个大的 CpG 岛,这一高度保守区域在启动子转录过程中发挥重要作用[1]。Li 等[5]报道在胃癌标本中由于 *Runx3* 基因启动子 CpG 岛甲基化而致 *Runx3* 基因表达下调或缺失达 45% ~60%。Homma 等[2]研究了 45 例胃癌标本和相应癌旁正常组织 *Runx3* 启动子 CpG 岛连续 10 个位点的甲基化状态,结果表明启动子 CpG 岛 5 端甲基化阳性率,胃癌标本和相应癌旁正常组织均为 95.6%,而在转录起始点部位胃癌标本为 53.3%,相应癌旁正常组织为 11.1%,认为甲基化最初可能发生在 *Runx3* 基因启动子 CpG 岛的 5 端,并逐渐向转录起始点方向演进,最终引起 *Runx3* mRNA 表达下调,因此转录起始点附近位点的甲基化对于 *Runx3* 基因沉默的意义更大。本研究表明胃癌与癌旁组织 *Runx3* 甲基化率分别为 65.1%(56/86)和 8.1%(7/86)($P < 0.01$),在癌旁组织中从正常胃黏膜到不典型增生胃黏膜的演进过程中,随病变发展,*Runx3* 甲基化率呈逐渐增高趋势,显示在胃癌发生的早期阶段即发生 *Runx3* 基因甲基化。这与 Zou 等[6]的报道基本一致。本组 *Runx3* 甲基化与组织类型($P = 0.017$)、浸润深度($P = 0.004$)、淋巴结转移($P = 0.001$)显著相关,而与患者年龄、性别等临床病理特征无关($P > 0.05$),组织类型、浸润深度、淋巴转移与胃癌恶性程度、病变早晚相关,提示 *Runx3* 甲基化也参与胃癌的发展。文献[7]已报道基因甲基化在胃癌发生中的作用;已有实验表明 *Runx3* 参与 TGF-β 信号传导通路,与细胞分化、周期调控、凋亡和恶性转化有关[5],*Runx3* 启动子甲基化导致基因功能障碍,引起 TGF-β 信号传导通路调节紊乱,参与胃癌的发生与发展。

H. pylori 感染是胃癌发生的主要的生物因素[8]。

本研究表明胃癌组中 *H. pylori* 感染率明显高于健康对照组($P=0.023$),显示持续 *H. pylori* 感染可使胃黏膜病变逐渐加重,从而使胃癌发病的危险性增高。*H. pylori* 感染组胃癌中 *Runx*3 甲基化率显著高于无 *H. pylori* 感染组甲基化率,提示胃癌中 *H. pylori* 感染可能促进 *Runx*3 甲基化,Kitajima 等[4]也得出相似结论;更有文献报道胃癌中 *H. pylori* 感染诱导基因甲基化[9,10]。*H. pylori* 是胃癌发生的启动因子之一,*H. pylori* 可溶性蛋白可增强巨噬细胞株 iNOS 基因的表达,iNOS 促进 NO 的产生,NO 在氧存在下很快分解产生有内源性致癌作用的 N-亚硝基化合物和多种氮氧化物,NO 还可以形成超氧氮离子而进一步分解为具有高度致突变活性的 OH^-,这些均在胃癌的发生中起重要作用[11]。Katayama 等[12]最近通过胃上皮细胞和巨噬细胞共同培养的方法进行研究发现,*H. pylori* 诱导巨噬细胞产生 NO,NO 引起胃上皮细胞 *Runx*3 甲基化发生,这种甲基化作用能够被特异性的 iNOS 抑制剂所逆转,*H. pylori* 通过 NO 介导诱导 *Runx*3 甲基化发生,NO 在此过程中发挥中枢角色;也表明,脂多糖也可以诱导由 NO 介导的 *Runx*3 甲基化作用,即除 *H. pylori* 之外其他炎症因子也可能诱导 *Runx*3 甲基化发生。因此 *H. pylori* 致癌机制是否由 *H. pylori* 特异性作用引起还是由于非特异性炎症引起尚需要进一步研究。

Kaplan-Meier 生存分析表明 *Runx*3 甲基化与胃癌患者生存率显著相关,甲基化组患者生存率明显低于非甲基化组患者($P<0.01$)。Cox 比例风险回归模型多因素生存分析表明,浸润深度、*Runx*3 甲基化均是影响胃癌患者生存率的独立因素。组织浸润越深、*Runx*3 甲基化的患者,生存时间越短,预后较差。已有研究显示 *Runx*3 能作为胃癌的独立预后因素[13,14]。Araki 等[15]在对 98 例肺腺癌患者 5 年生存率的研究中也得出相同的结论。本研究显示 *Runx*3 甲基化虽然和淋巴结转移有关,但是多因素生存分析显示淋巴结转移不是胃癌患者独立的预后因素,可能是因为早、中期病例较多,Ⅳ期病例较少,病例均实行标准的 D_2 胃癌根治术,已作了足够范围的淋巴结清扫,而Ⅳ期胃癌病例多因病变太晚失去手术机会而没能入组。Kitajima 等[4]多因素分析表明 *H. pylori* 感染是 *Runx*3 甲基化的独立危险因素。而如本研究所示,*Runx*3 甲基化是胃癌患者独立的预后因素,因此 *H. pylori* 感染可能通过介导 *Runx*3 甲基化参与胃癌的发生、发展。

治疗 *H. pylori* 感染可达到对胃癌预防的效果,通过逆转 *Runx*3 甲基化诱导沉默 *Runx*3 基因重新表达,可以为胃癌基因治疗提供新的靶点。*Runx*3 甲基化可作为估计肿瘤具有侵袭行为和恶性程度的重要生物标志,也可以作为一个很好的预后指标,有助于判断胃癌患者预后。

参考文献:

[1] Bangsow C, Rubins N, Glusman G, *et al*. The Runx3 gene——sequence, structure and regulated expression[J]. Gene, 2001, 279(2): 221-232.

[2] Homma N, Tamura G, Honda T, *et al*. Spreading of methylation within Runx3 CpG island in gastric cancer[J]. Cancer Sci, 2006, 97(1): 51-56.

[3] Rozen P. Cancer of the gastrointestinal tract: early detection or early prevention? [J]. Eur J Cancer Prev, 2004, 13(1): 71-75.

[4] Kitajima Y, Ohtaka K, Mitsuno M, *et al*. *Helicobacter pylori* infection is an independent risk factor for *Runx*3 methylation in gastric cancer [J]. Oncol Rep, 2008, 19(1): 197-202.

[5] Li Q L, Ito K, Sakakura C, *et al*. Causal relationship between the loss of Runx3 expression and gastric cancer[J]. Cell, 2002, 109 (1): 113-124.

[6] Zou X P, Zhang B, Zhang X Q, *et al*. Promoter hypermethylation of multiple genes in early gastric adenocarcinoma and precancerous lesions [J]. Hum Pathol, 2009, 40(11): 1534-1542.

[7] 房殿春, 罗元辉, 刘为纹. 胃癌组织 hMLH1 和 hMSH2 基因启动子区甲基化状态研究[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(9): 1010-1011.

[8] Konturek P C, Konturek S J, Brzozowski T. Gastric cancer and *Helicobacter pylori* infection[J]. J Physiol Pharmacol, 2006, 57 Suppl 3: 51-65.

[9] Maekita T, Nakazawa K, Mihara M, *et al*. High levels of aberrant DNA methylation in Helicobacter pylori-infected gastric mucosae and its possible association with gastric cancer risk[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(3 Pt 1): 989-995.

[10] Chan A O, Lam S K, Wong B C, *et al*. Promoter methylation of E-cadherin gene in gastric mucosa associated with Helicobacter pylori infection and in gastric cancer[J]. Gut, 2003, 52(4): 502-506.

[11] Wilson K T, Ramanujam K S, Mobley H L, *et al*. *Helicobacter pylori* stimulates inducible nitric oxide synthase expression and activity in a murine macrophage cell line[J]. Gastroenterology, 1996, 111(6): 1524-1533.

[12] Katayama Y, Takahashi M, Kuwayama H. *Helicobacter pylori* causes Runx3 gene methylation and its loss of expression in gastric epithelial cells, which is mediated by nitric oxide produced by macrophages [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 388(3): 496-500.

[13] Wei D, Gong W, Oh S C, *et al*. Loss of Runx3 expression significantly affects the clinical outcome of gastric cancer patients and its restoration causes drastic suppression of tumor growth and metastasis [J]. Cancer Res, 2005, 65(11): 4809-4816.

[14] Hsu P I, Hsieh H L, Lee J, *et al*. Loss of Runx3 expression correlates with differentiation, nodal metastasis, and poor prognosis of gastric cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2009, 16(6): 1686-1694.

[15] Araki K, Osaki M, Nagahama Y, *et al*. Expression of Runx3 protein in human lung adenocarcinoma: implications for tumor progression and prognosis[J]. Cancer Sci, 2005, 96(4): 227-231.

(**收稿**:2009-11-06;**修回**:2009-12-14)

(编辑 龙 亮)