

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.03.009

· 临床研究 ·

JAK-STAT 信号通路与人类直肠癌发生发展的关系

蔡勋全, 潘勤聪, 沈强, 陈凤媛, 袁胜忠(上海市第五人民医院 消化科, 上海 200040)

[摘要] **目的:** 探究正常直肠组织和直肠癌组织中 JAK-STAT 信号通路重要成员以及通路下游重要蛋白的表达变化情况及其临床意义, 并通过体外实验观察 STAT3 对直肠癌细胞侵袭、转移以及增殖的影响。**方法:** 收集 2013 年 5 月 1 日至 2014 年 5 月 1 日在本院行手术切除并经病理证实为直肠癌患者的癌组织和非直肠癌(痔疮、肛瘘肛裂、结肠炎、肠息肉等)患者正常直肠组织各 50 份, 采用 Western blotting 法检测组织中 STAT3、p-STAT3 及 JAK-STAT 信号通路下游 Cyclin D1、Bcl2 的表达, 分析 STAT3 蛋白表达与直肠癌临床病理特征关系。以慢病毒介导的 STAT3-shRNA 转染直肠癌细胞 Colo320, 采用 MTT 法和 Transwell 侵袭和迁移实验检测 sh-RNA 干扰 STAT3 表达对直肠癌 Colo32 细胞增殖、侵袭和转移的影响。**结果:** 与正常组织相比, 直肠癌组织中 STAT3 蛋白的表达显著升高 ($P < 0.01$), p-STAT3、Cyclin D1 和 Bcl2 蛋白的表达也明显高于正常直肠组织 ($P < 0.05$); STAT3 蛋白表达水平与直肠癌分化程度、淋巴转移有关 ($P < 0.05$), 而与肿瘤大小无关 ($P > 0.05$)。慢病毒介导的 shRNA 转染 Colo320 细胞可有效抑制其 STAT3 和 p-STAT3 表达, 沉默 STAT3 后 Colo320 细胞的增殖和侵袭转移能力显著下降 ($P < 0.05$)。**结论:** STAT3 能通过影响 JAK-STAT 信号通路下游重要蛋白的表达, 促进直肠癌的增殖、侵袭和转移, 研究结果为直肠癌的防治提供潜在的新靶点。

[关键词] JAK-STAT 信号通路; STAT3; 直肠癌; 侵袭; 转移; 增殖

[中图分类号] R735.3; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)03-0331-06

Correlation between JAK-STAT signal pathway and the development of human rectal cancer

Cai Xunquan, Pan Qincong, Shen Qiang, Chen Fengyuan, Yuan Shengzhong(Department of Gastroenterology, Shanghai Fifth People's Hospital, Shanghai 200040, China)

[Abstract] **Objective:** To study the possible role for the JAK-STAT signaling pathway in the pathogenesis of rectal cancer. **Methods:** Cancerous and non-cancerous (control) tissue specimens were collected at surgical resection from 50 rectal cancer patients and 50 non-rectal cancer patients, respectively, who were admitted to our hospital between May, 2013 and May, 2014. Levels of STAT3, p-STAT3 and the two major protein molecules, cyclin D1 and Bcl2, downstream of the JAK-STAT signal pathway in these clinical specimens were assessed by Western blotting analysis and were analyzed statistically for their correlations with the clinical pathological features of the patients. To further evaluate the influence of STAT3 on rectal cancer cell growth, the proliferative activity and invasion ability of colonic carcinoma Colo320 cells after siRNA-mediated silencing of the STAT3 gene was assessed by MTT Transwell migration assays, respectively. **Results:** Levels of STAT3 were significantly higher in rectal cancer specimens than in non-cancerous control specimens ($P < 0.01$), so were levels of p-STAT3, cyclin D1 and Bcl2 ($P < 0.05$). STAT3 protein levels in cancerous specimens were significantly correlated with the differentiation degree and lymphatic metastasis of rectal cancer ($P < 0.05$), but not with the tumor size ($P > 0.05$). STAT3 silencing resulted in significant decreases in Colo320 cell proliferation, invasion and metastasis ($P < 0.05$). **Conclusion:** STAT3 is involved in the proliferation, invasion and metastasis of colorectal cancer through a JAK-STAT signaling-dependent mechanism and thus may serve as a potential therapeutic target for colorectal cancer.

[作者简介] 蔡勋全(1980-),男,上海市人,博士生,主治医师,主要从事消化道肿瘤的基础与临床研究, E-mail: caixunquan01@126.com

[通信作者] 潘勤聪(Pan Qincong, corresponding author), E-mail: panqincong@163.com

[优先发表] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20150615.1635.006.html>

[**Keywords**] JAK-STAT signal pathway; STAT3; rectal cancer; invasion; metastasis; proliferation

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(3): 331-336]

直肠癌因其位置深入盆腔,解剖关系复杂,手术不易彻底,术后复发率较高^[1]。我国直肠癌发病年龄中位数在45岁左右,青年人发病率有升高的趋势^[2]。目前认为,直肠癌的病因是动物脂肪和蛋白质摄入过高、膳食纤维摄入不足^[3]。对直肠癌的信号通路的研究有助于加强对直肠癌发生机制的认识,也可为直肠癌的防治提供新靶点。

JAK-STAT信号通路是近年来发现的一条参与细胞的增殖、分化、凋亡等许多重要生物学过程的信号转导通路^[4],其主要由酪氨酸激酶相关受体、酪氨酸激酶 JAK 和转录因子 STAT 三个成分组成。信号通路的激活主要是配体与受体结合导致受体二聚化,二聚化受体激活 JAK, JAK 将 STAT 磷酸化, STAT 形成二聚体,暴露出入核信号, STAT 进入核内,调节基因表达^[5]。研究^[6]发现, STAT3 在人体结直肠癌组织和细胞系中异常活化,因此,本课题主要探讨直肠癌发生过程中 JAK-STAT 信号通路发挥的调控作用,旨在为临床上直肠癌的防治提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 研究对象和标本来源

收集2013年5月1日至2014年5月1日本院收治并经病理确诊为直肠癌患者50例作为实验组(分别在手术中钳取距癌灶边缘2~5cm处的肿瘤组织),其中男性30例、女性20例,平均年龄(40.23±2.53)岁;直肠癌患者标本T1期4例,T2期13例,T3期33例;N0期24例,N1期13例,N2期13例;M0期44例,M1期6例。同时收集非直肠癌(痔疮、肛瘘肛裂、结肠炎、肠息肉等)患者50例作为对照组(肛肠镜检查 and 活检时钳取距癌灶边缘2~5cm处的正常组织),其中男性28例、女性22例,平均年龄(41.4±1.42)岁。所有患者在直肠镜检查前均未进行放、化疗,手术(实验组)或直肠镜检查(对照组)时立即取材,标本经常规处理后,一部分进行病理组织学观察,一部分冻存于-80℃保存待用。本研究经本院伦理委员会批准(2013-04-06),家属或患者签署知情同意书。

1.2 细胞株和主要实验材料

人直肠癌 Colo320 细胞株购自上海拜力生物科技有限公司,以10% FBS 的 R1640 培养基于5% CO₂、37℃正常培养,每3d换液1次,1周1:3

传代1次。SDS-PAGE 上样缓冲液、BCA 试剂盒、MTT 试剂盒均购自上海博谷生物科技有限公司, STAT3 抗体、p-STAT3 抗体、Cyclin D1 抗体、Bcl2 抗体均购自 Cell Signaling Technology(CST)公司, Transwell 培养皿购于 Corning 公司。

1.3 Western blotting 检测癌组织和正常组织中 STAT3、p-STAT3、Cyclin D1、Bcl2 的表达

采用 BCA 工作液对样品组织匀浆进行定量,在样品中加入 SDS-PAGE 上样缓冲液。沸水浴中3min后上样,电泳、电转仪转膜90min。用5%脱脂牛奶封闭,随后于摇床上孵育一抗1h,洗膜3次,5min/次;孵育二抗2h,洗膜3次,10min/次。用自动显影仪显影,并分析条带灰度^[7]。细胞实验重复3次,组织样本全部测定。

1.4 STAT3-shRNA 慢病毒构建与病毒滴定

靶向人 STAT3-shRNA 引物序列为 F:5'-TGCAG-CAGCTGAACAACATGTT-CAAGAGACATGTTGTTTCAG-CTGCTGCTTTTTTC-3', R:5'-TCGAGAAAAA-GCAG-CAGCTGAACAACATGTCTCTTGAACATGTTGTTTCAGC-TGCTGCA-3'。PCR 扩增:将11μl 双蒸水、12.5μl PCR Master、1μl 正向引物、1μl 反向引物、1μl DNA 模板混匀后加入 PCR 管中。放入 PCR 仪,设定变性、退火、延伸温度和时间,分别为:(1)95℃ 300s;(2)95℃ 30s;(3)58℃ 30s;(4)72℃ 30s(2至4步骤,35循环);(5)72℃ 30s;(6)4℃ 1000s。XhoI 和 HpaI 双酶切 pSicoR 载体,在 T4 DNA 连接酶的作用下与 PCR 退火产物连接,构建重组质粒,转化感受态大肠杆菌 DH5α,筛选阳性克隆,提取质粒,双酶切鉴定阳性质粒并送测序,测序鉴定重组质粒 pSicoR-STAT3-shRNA。把包装了 pSicoR-STAT3-shRNA(10μg)、pMDLg/pRRE(6.53μg)、pRSV-REV(2.32μg)、pMD2G(3.55μg)和100μl 无血清无双抗的 DMEM 于250μl Ep 管内轻柔漩涡混匀,再加入67.2μl X-tremeGENE HP DNA Transfection Reagent,混匀后加入对数培养 HEK293 细胞培养72h。3500×g 离心,收集细胞上清液,0.45μm 滤膜过滤后,然后6000×g 离心2.5h,并用 PBS 重悬,病毒滴定后于-80℃保存备用。

1.5 慢病毒介导 sh-RNA 干扰 STAT3 在 Colo320 结肠癌细胞中的表达

STAT3-shRNA 慢病毒转染按照说明书进行。Colo320 细胞置于无血清培养基与50、100、200 MOI

STAT3-shRNA 共孵育 6 h, 弃掉培养基, 加入含 10% FBS 的 RIMP 1640 继续培养 48 h, 转染后细胞用 Western blotting 和 Transwell chamber 检测。

1.6 Western blotting 方法检测慢病毒 STAT3-shRNA 感染后 Colo320 细胞 STAT3 的表达

收集转染后细胞并提取蛋白, 采用 BCA 工作液对样品进行定量, 在样品中加入上样缓冲液。沸水浴中 3 min 后上样, 电泳、电转仪转膜, 用 5% 脱脂牛奶封闭, 随后于摇床上孵育一抗 1 h, 洗膜 3 次, 5 min/次, 孵育二抗 2 h, 洗膜 3 次, 10 min/次。用自动显影仪显影, 并分析条带灰度进行定量。

1.7 MTT 法检测沉默 STAT3 表达对 Colo320 细胞增殖的影响

收集对数期细胞, 调整细胞悬液浓度, 每孔加入 100 μ l, 铺板, 使待测细胞密度为 1 000 ~ 10 000 个/孔; 5% CO₂、37 $^{\circ}$ C 孵育, 至细胞单层铺满孔底(96 孔平底板), 加入浓度梯度的药物, 在 5% CO₂、37 $^{\circ}$ C 条件下孵育 48 h, 每孔加入 20 μ l MTT 溶液(5 mg/ml, 即 0.5% MTT), 继续培养 4 h。终止培养, 吸去孔内培养液, 加入 DMSO 155 μ l/孔, 待结晶充分溶解后, 酶标仪检测 570 nm 波长处各孔的光密度(*D*)值^[8]。细胞存活率(%) = (实验组 *D* 值/对照组 *D* 值) \times 100%。做标准曲线孔, 根据样品 *D* 值和标准曲线, 计算样品细胞数。实验重复 3 次。

1.8 Transwell 法检测沉默 STAT3 表达对 Colo320 细胞侵袭和转移能力的影响

Matrigel 胶预冷为液态, 在冰上将无血清培养基与 Matrigel 胶 1:8 混合, 混匀后每孔加入 Transwell 小室中, 在室温下风干 5 h。每孔加入 100 μ l 无血清培养基水化基底膜, 37 $^{\circ}$ C 温箱中放置 30 min。调整细胞密度为 2.5×10^5 个/ml, 取 200 μ l 加入小室内, 底部培养室内加入 500 μ l 含 20% FBS 的高糖完全培养基。在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件培养 36 min。弃小室内液体, 用棉棒擦掉小室底部内面细胞, 将小室侵入 95% 乙醇固定 5 min, 加入 4 g/L 结晶紫 200 μ l 染色 10 min。以每个视野的平均细胞数表示肿瘤细胞的侵袭能力^[9]。实验重复 3 次。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件, 计数数据以百分率表示, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 样本间率的比较以及 N0、N1、N2 三组间与 STAT3 表达量的比较采用 χ^2 检验, 对 STAT3、p-STAT3、Cyclin D1、Bcl2 蛋白量的比较采用单因素方差分析, 细胞侵袭率之间的比较采用独立 *t* 检验或者单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 p-STAT3、Cyclin D1、Bcl2 蛋白在直肠癌组织高表达

Western blotting 检测结果(图 1, 表 1)显示, 与正常组织相比, 直肠癌组 p-STAT3 蛋白表达水平显著升高($P < 0.01$), Cyclin D1 蛋白表达水平也明显升高($P < 0.05$), 而 Bcl2 表达水平却显著降低($P < 0.05$)。

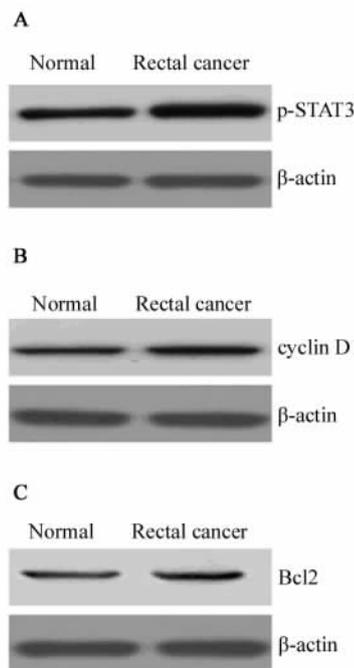


图 1 直肠癌组织和正常直肠组织中 p-STAT3、Cyclin D1、Bcl2 的表达情况

Fig. 1 Expressions of p-STAT3, Cyclin D1 and Bcl2 in rectal cancer tissues and normal rectal tissues

A: p- STAT3; B: Cyclin D1; C: Bcl2

2.2 p-STAT3 蛋白表达与临床病理特征关系

临床因素分析结果(表 2)表明, 与 N0 组相比, 3 组分期直肠癌中 N1 组、N2 组 p-STAT3 蛋白的表达水平明显升高($P < 0.05$)。T 分期中, p-STAT3 在 T2 和 T3 期中高表达($P < 0.05$), 且 p-STAT3 与直肠癌分化程度、淋巴转移有关($P < 0.05$), 但与年龄、性别、肿瘤大小和 M 分期无关($P > 0.05$)。

2.3 STAT3-shRNA 慢病毒转染后 Colo320 中 STAT3、p-STAT3 的表达

分别转入 STAT3-shRNA 慢病毒不同浓度 50、100、200 MOI 干扰 48 h 后, 用 Western blotting 法检测 STAT3 在 Colo320 的表达情况, 结果显示, STAT3-shRNA 慢病毒转染后, Colo320 中 STAT3 和 p-STAT3

表 1 p-STAT3、Cyclin D1、Bcl2 在直肠癌组织以及正常直肠组织中的表达情况($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Expressions of p-STAT3, Cyclin D1 and Bcl2 in rectal cancer tissues and normal rectal tissues($\bar{x} \pm s$)

| Protein | Total sample (n) | Positive sample (n) | Expression value | | P |
|-----------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------|-------|
| | | | Normal rectal tissues | Rectal cancer tissues | |
| p-STAT3 | 50 | 43 | 1 | 1.705 ± 0.192 | <0.01 |
| Cyclin D1 | 50 | 39 | 1 | 2.123 ± 0.126 | <0.05 |
| Bcl2 | 50 | 37 | 1 | 0.486 ± 0.032 | <0.05 |

表 2 p-STAT3 蛋白表达情况与直肠癌临床病理特征的关系

Tab. 2 Relationship between p-STAT3 protein expression and clinical pathological features in rectal cancer tissues

| Feature | Total sample (n) | Positive sample (n) | Positive rate (%) | χ^2 | P |
|----------------------|-----------------------|--------------------------|------------------------|----------|------|
| Gender | | | | | |
| Male | 30 | 25 | 83.3 | 0.07 | 0.89 |
| Female | 20 | 18 | 90.0 | | |
| Age(t/a) | | | | | |
| ≥ 45 | 30 | 26 | 86.7 | 0.06 | 0.93 |
| < 45 | 20 | 17 | 85 | | |
| Differentiation | | | | | |
| High | 15 | 10 | 66.7 | 7.36 | 0.02 |
| Moderate | 20 | 18 | 90.0 | | |
| Poor | | | | | |
| Lymphatic metastasis | 15 | 15 | 100.0 | | |
| Positive | 40 | 37 | 92.5 | 15.51 | 0.00 |
| Negative | | | | | |
| Tumor size | 10 | 6 | 60.0 | | |
| ≥ 5 cm | 22 | 20 | 90.9 | 1.33 | 0.12 |
| < 5 cm | | | | | |
| T stage | 28 | 23 | 82.1 | | |
| T1 | 4 | 1 | 25.0 | 16.55 | 0.00 |
| T2 | 13 | 10 | 76.9 | | |
| T3 | 33 | 32 | 96.7 | | |
| N stage | | | | | |
| N0 | 24 | 10 | 41.7 | 12.35 | 0.00 |
| N1 | 13 | 11 | 84.6 | | |
| N2 | 13 | 12 | 92.3 | | |
| M stage | | | | | |
| M0 | 44 | 29 | 65.9 | 0.08 | 0.07 |
| M1 | 6 | 4 | 66.7 | | |

表达均降低($P < 0.05$)。其中,图 2A 显示,空白对照组 STAT3 的表达量[标准化后(STAT3/ β -actin)]为 1;阴性对照组 STAT3 表达量为(0.962 ± 0.023),两者差异无统计学意义。分别转染 STAT3- shRNA

慢病毒 50、100、200 MOI 时,与阴性对照组相比, STAT3 表达量明显降低[(0.082 ± 0.009)、(0.122 ± 0.012)、(0.0681 ± 0.007) vs (0.962 ± 0.023)],均 $P < 0.05$]。图 2B 显示,空白对照组

p-STAT3的表达量[标准化后(p-STAT3/ β -actin)]为 1;阴性对照组 p-STAT3 表达量为(0.976 \pm 0.016), 两者差异无统计学意义。分别转染 STAT3- shRNA 慢病毒 50、100、200 MOI 时,与阴性对照组相比,

STAT3 表达量明显降低 [(0.168 \pm 0.011)、(0.143 \pm 0.009)、(0.148 \pm 0.013) vs (0.976 \pm 0.016),均 $P < 0.05$]。

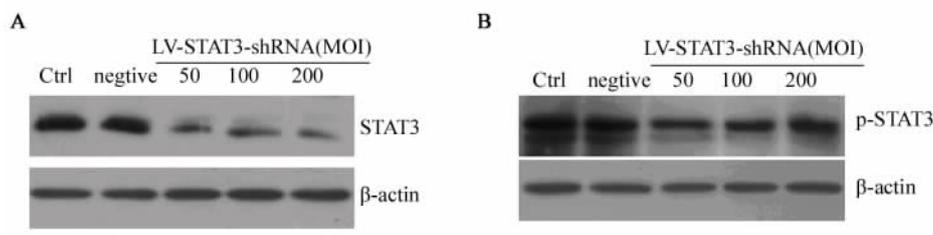


图 2 STAT3-shRNA 慢病毒转染后 Colo320 细胞中 STAT3 和 p-STAT3 的表达

Fig. 2 Expressions of STAT3 and p-STAT3 after transfection with STAT3-shRNA lentivirus in Colo320 cells

2.4 沉默干扰 STAT3 对 Colo320 细胞增殖的影响

MTT 法检测结果(表 3)显示,沉默 STAT3 后, Colo320 细胞数量明显减少($P < 0.05$)。

2.5 沉默 STAT3 对 Colo320 细胞侵袭的影响

Transwell 法检测结果(图 3)显示,空白对照组(486 \pm 29)和阴性对照组(452 \pm 34)相比,两者差异无统计学意义。不同浓度(50、100、200 MOI)慢病毒介导 sh-RNA 干扰 STAT3 表达组(STAT3-shRNA 组)与阴性对照组相比,细胞穿膜数明显减少 [(237 \pm 13)、(193 \pm 25)、(251 \pm 18) vs (452 \pm 34), 均 $P < 0.05$],提示肿瘤细胞的侵袭能力降低。

表 3 慢病毒介导 sh-RNA 干扰 STAT3 基因对 Colo320 细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s, \%$)

Tab. 3 Effect of lentivirus mediated STAT3-shRNA on the proliferation of Colo320 cells($\bar{x} \pm s, \%$)

| Virus titer (MOI) | Cell proliferation (%) | P |
|---------------------|--------------------------|------|
| Control | 100.00 \pm 0.00 | |
| STAT3- shRNA 50 | 82.96 \pm 5.12 | 0.02 |
| STAT3- shRNA 100 | 75.68 \pm 4.08 | 0.03 |
| STAT3- shRNA 200 | 68.44 \pm 3.14 | 0.03 |

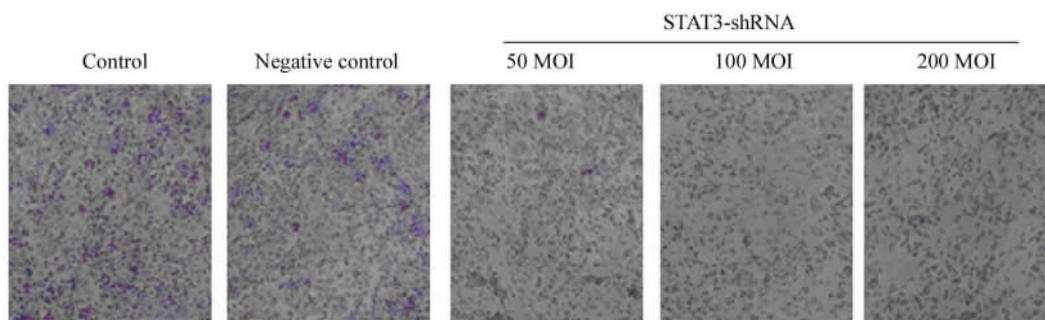


图 3 干扰 STAT3 基因抑制 Colo320 细胞侵袭($\times 200$)

Fig. 3 Knockdown STAT3 inhibited Colo320 cells invasion($\times 200$)

3 讨论

中国在上世界上属于直肠癌低发地区,但其发生率在不少地区有程度不等的增加趋势^[12-13]。而直肠癌中晚期因癌肿得不到有效地控制就会发生转移,直肠癌转移到其他的器官和组织,是造成直肠癌

患者死亡的最主要的原因之一。

JAK-STAT 信号对直肠癌的转移和侵袭有重要作用。STAT 在肿瘤发生和进展中的作用主要表现为酪氨酸激酶选择性激活 STAT 蛋白致癌,而 STAT 突变体能阻断酪氨酸激酶诱导的 STAT 依赖性转录和活化,STAT 异常激活会导致肿瘤进程中细胞增

殖^[14]。

本研究表明, 直肠癌组织中 STAT3 的含量和磷酸化水平远远高于非直肠癌组织 ($P < 0.01$); 同时 Cyclin D1、Bcl2 还在直肠癌组织中的表达明显高于正常肠道组织 ($P < 0.05$)。本研究还发现, STAT3 蛋白的表达水平与直肠癌的分化程度、淋巴转移有关 ($P < 0.05$); 而与肿瘤大小无关 ($P > 0.05$); 沉默 STAT3 后, Colo320 细胞的增殖能力有不同程度的抑制 ($P < 0.05$) 且肿瘤细胞的侵袭转移能力降低 ($P < 0.05$)。

由实验结果分析可知, STAT3 基因在人直肠癌组织和细胞系中异常活化, 提示 STAT3 的过度激活可能在直肠癌的发生发展中起到了重要的作用, 并且与直肠癌的侵袭和转移有密切的关系。在 JAK-STAT 信号通路中, JAK 激活后催化受体上的酪氨酸残基发生磷酸化修饰, 继而这些磷酸化的酪氨酸位点与周围的氨基酸序列形成“停泊位点”, 同时含有 SH2 结构域的 STAT 蛋白被招募到这个“停泊位点”。最后, 激酶 JAK 催化结合在受体上的 STAT 蛋白发生磷酸化修饰, 活化的 STAT 蛋白以二聚体的形式进入细胞核内与靶基因结合, 调控基因的转录^[15]。推测分析, 一方面可能是 STAT3 直接与 cyclin D1 启动子结合而启动转录, 或者 STAT3 与 Bcl2 启动子结合而启动转录; 另一方面, 阻断 JAK-STAT 信号通路不仅能抑制肿瘤细胞的侵袭转移能力, 还能促进凋亡, Cyclin D1、Bcl2 等抗凋亡蛋白在 JAK-STAT 信号通路被激活的状态下表达明显上调, 抑制 JAK-STAT 信号通路即刻下调抗凋亡蛋白的表达, 使肿瘤细胞的凋亡增加; 也有研究表明, STAT3 的活化能增加金属基质蛋白酶的表达, 这说明 STAT3 参与肿瘤的浸润和转移。

本研究表明, JAK-STAT 信号通路对直肠癌的发生发展发挥了重要的调控作用, STAT3 能促进直肠癌的增殖以及侵袭转移, 为临床上直肠癌的防治提供了潜在的靶点。

[参 考 文 献]

- [1] Bracey T, Mathew J. Metastatic intramucosal colorectal adenocarcinoma A case to support review of current concepts (and staging) of early colorectal cancer [J]. *Histopathology*, 2014, 92(2): 14-16.
- [2] Akbar A, Bhatti AB, Khattak S, et al. Outcome of rectal cancer

in patients aged 30 years or less in the pakistani population [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2010, 15(15): 6339-6342.

- [3] Murphy N, Norat T, Ferrari P, et al. Dietary fibre intake and risks of cancers of the colon and rectum in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(6): e39361.
- [4] Wang SW, Sun YM. The IL-6/JAK/STAT3 pathway: potential therapeutic strategies in treating colorectal cancer (Review) [J]. *Int J Oncol*, 2014, 44(4): 1032-1040.
- [5] Slattery ML, Lundgreen A, Kadlubar SA, et al. JAK/STAT/SOCS-signaling pathway and colon and rectal cancer [J]. *Mol Carcinog*, 2013, 52(2): 155-166.
- [6] Monnier F, Zaki H, Borg C, et al. Prognostic value of phosphorylated STAT3 in advanced rectal cancer: A study from 104 French patients included in the EORTC 22921 trial [J]. *J Clin Pathol*, 2010, 63(10): 873-678.
- [7] Shin JS, Tut TG, Ho V, et al. Predictive markers of radiotherapy-induced rectal cancer regression [J]. *J Clin Pathol*, 2011, 12(4): 131-135.
- [8] Kim CH, Huh JW, Kim HR, et al. Indeterminate pulmonary nodules in colorectal cancer: Follow-up guidelines based on a risk predictive model [J]. *Ann Surg*, 2014, 34(5): 45-49.
- [9] Maguire A, Sheahan K. Controversies in the pathological assessment of colorectal cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(29): 9850-9861.
- [10] Tsang JS, Vencken S, Sharaf O, et al. Global DNA methylation is altered by neoadjuvant chemoradiotherapy in rectal cancer and may predict response to treatment-A pilot study [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2014, 10(17): 748-748.
- [11] Dar RA, Chowdri NA, Parray FQ, et al. Pre-operative staging of rectal cancer using multi-detector row computed tomography with multiplanar reformations: Single center experience [J]. *Indian J Cancer*, 2014, 51(2): 170-175.
- [12] Joye I, Haustermans K. Early and late toxicity of radiotherapy for rectal cancer [J]. *Recent Results Cancer Res*, 2014, 72(3): 189-201.
- [13] Gavaruzzi T, Giandomenico F, Del Bianco P, et al. Quality of life after surgery for rectal cancer [J]. *Recent Results Cancer Res*, 2014, 203: 117-149.
- [14] Akgun Z, Saglam S, Yucel S, et al. Neoadjuvant chronomodulated capecitabine with radiotherapy in rectal cancer: A phase II brunch regimen study [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2010, 22(9): 115-117.
- [15] Slattery ML, Lundgreen A, Kadlubar SA, et al. JAK/STAT/SOCS-signaling pathway and colon and rectal cancer [J]. *Mol Carcinog*, 2013, 52(2): 155-166.

[收稿日期] 2015 - 04 - 08

[修回日期] 2015 - 05 - 07

[本文编辑] 阮芳铭