

食管鳞状细胞癌组织中 miR-34a 的表达及其临床意义

季文豪¹, 杨诗舟^{1,2}, 毛伟敏¹, 凌志强¹

(1. 浙江省肿瘤医院浙江省肿瘤研究所, 浙江省胸部肿瘤(肺、食管)诊治技术研究重点实验室, 浙江 杭州 310022; 2. 浙江大学医学院 2013 级博士研究生, 浙江 杭州 310058)

摘要: [目的] 研究食管鳞状细胞癌组织中 miR-34a 表达水平及其临床意义。[方法] 采用实时反转录聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)技术检测 75 例食管鳞状细胞癌组织及配对癌旁组织中 miR-34a 的表达水平, 2^{-ΔΔCt} 法计算食管鳞状细胞癌组织中 miR-34a 相对表达量, 进一步结合临床、病理及随访资料进行统计分析。[结果] miR-34a 在 75 例食管鳞癌组织中相对表达量高于癌旁组织; 多因素分析显示, 吸烟史和临床分期是食管鳞癌组织中 miR-34a 表达的独立影响因素。miR-34a 低表达组的无进展生存期和总生存期均明显劣于高表达组; 多因素分析显示 miR-34a 低表达是无进展生存期和总生存期缩短的独立影响因素。[结论] 食管鳞癌组织中 miR-34a 表达水平可作为预测预后的一项重要指标。

主题词: 食管肿瘤; 鳞状细胞癌; microRNA-34a; 无进展生存期; 总生存期

中图分类号: R73-3; R735.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2016)12-1026-06
doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2016.12.B009

The Expression of MiR-34a in Esophageal Squamous Cell Carcinoma and Its Clinical Significance

Ji Wen-hao¹, Yang Shi-zhou^{1,2}, Mao Wei-min¹, et al.

(1. Zhejiang Cancer Hospital, Hangzhou 310022, China; 2. Medical College of Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the expression of miR-34a in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and its clinical significance. [Methods] The expression of miR-34a in 75 cases with ESCC and adjacent cancer tissues was tested by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). 2^{-ΔΔCt} method was used to calculate the relative quantitative expression of miR-34a, which was analyzed together with clinicopathological and follow-up data. [Results] The expression of miR-34a was higher in the tumor tissues than that in cancer adjacent tissues. Multivariate analysis showed that smoking and clinical stage were independent factors influencing the expression of miR-34a in ESCC. Progression-free survival and overall survival in lower miR-34a expression group were worse than those in higher miR-34a expression group. Multivariate analysis indicated that lower miR-34a expression was independently associated with poorer progression-free survival and overall survival. [Conclusions] MiR-34a might be an important indicator for prediction of prognosis of ESCC.

Subject words: esophageal neoplasms; squamous cell carcinoma; microRNA-34a; progression-free survival (PFS); overall survival (OS)

中国是食管鳞状细胞癌的高发地区, 目前, 肿瘤

诊断和治疗水平的不断提高, 然而食管鳞状细胞癌的预后却无明显改善^[1,2]。因此, 寻找与食管鳞状细胞癌预后相关的生物学标志物具有重要意义。

MicroRNAs(miRNAs)是一类长约 22 个核苷酸片段的非编码小 RNA 分子, 并从转录后水平调节基因表达^[3]。目前已有研究表明多种 miRNA 在胚胎发育、肿瘤形成、肿瘤转移、代谢等多项生理及病理过程中发挥作用^[4]。miR-34 家族包括 miR-34a、miR-

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81172081, 81572822); 浙江省科技重大专项(2011C13039-1); 国家卫生计生委科学研究基金—浙江省医药卫生重大科技计划项目(WKJ-ZJ-1505); 浙江省胸部肿瘤(肺、食管)诊治技术研究重点实验室专项基金项目; 浙江省卫生高层次创新人才培养工程项目; 浙江省新世纪 151 人才工程重点资助项目

通讯作者: 毛伟敏, 院长, 主任医师, 教授, 博士生导师, 硕士; 浙江省肿瘤医院胸部肿瘤外科, 浙江省杭州市拱墅区半山山东路 1 号(310022); E-mail: maowm@163.com

收稿日期: 2015-11-22; **修回日期:** 2016-01-17

34b 和 miR-34c, 是 p53 抑制肿瘤形成通路中的重要成员^[5], 对细胞周期、细胞侵袭、细胞迁移、肿瘤干细胞等发挥抑制作用^[6]。miR-34a 通过靶向调控致癌基因 *TPD52* 而抑制乳腺癌细胞侵袭和迁移^[7]。其他一些研究也得出了相似的结论^[8-10]。因此, miR-34a 被认为是抑癌 miRNA。多项研究证实 miR-34a 低表达提示肿瘤患者预后不良^[11-13], 但也有研究认为 miR-34a 低表达与肿瘤患者预后无明显相关性, 甚至是相反的结论^[14,15]。miR-34a 表达水平对食管鳞状细胞癌预后评价的研究鲜见, 故本研究对其在食管鳞状细胞癌中的表达水平及其对临床病理、预后的影响进行研究。

1 资料与方法

1.1 组织标本

75 例组织标本来自 2010 年 1~7 月于浙江省肿瘤医院胸部肿瘤外科行食管癌根治手术的标本, 所有患者术前均未接受辅助化疗或(和)放疗、无严重并发症或并存症, 手术为 R0 切除, 病理证实为食管鳞状细胞癌。入院后 24h 内询问并记录患者性别、年龄、并存疾病史、吸烟史、饮酒史及肿瘤家族史, 查胃镜、胸腹部 CT、心电图、肺功能、肝肾功能等以排除手术禁忌证。患者临床参数见表 1(Table 1)。

术后标本处理: 标本离体后立即取肿瘤组织及癌旁组织于冻存管内, 并迅速置于液氮罐中低温保存, 随后转移至-80℃冰箱保存。

1.2 实验试剂及仪器

购买于 Qiagen 公司的 RNA 提取试剂盒 (MiRNeasy Mini Kit), TaKaRa 公司的逆转录试剂盒 (PrimeScript® miRNA cDNA Synthesis Kit) 及 real time RT-PCR 试剂盒 SYBR® Premix Ex Taq™ II。Real time RT-PCR 下游引物: 取自 PrimeScript® miRNA cDNA Synthesis Kit 试剂盒, 上游引物: miR-34a: CCCGTTGGCAGTGTCTTAGCT (上海 Invitrogen 公司), 内参基因: *RNU6B* (U6 small nuclear RNA) 5'-CGCAAGGATGACACGCA AATTC-3', Sigma 公司的焦炭酸二乙酯 (DEPC) 和琼脂糖 (Agarose)。实时荧光定量 PCR 仪 (ABI 7500PCR, Applied Biosystems 公司) 用于 PCR 扩增。梯度 PCR 仪 (Bio-Rad S1000, Bio-Rad 公司) 用于逆转录。

1.3 实验方法

1.3.1 总 RNA 提取

将保存于-80℃冰箱中的食管鳞癌组织及配对的癌旁组织取出, 不经解冻直接将标本转移至内置钢珠 (DEPC 处理并高压灭菌, 实验前 4℃冰箱预冷 30min) 的 EP 管中, 并按照 MiRNeasy Mini Kit 试剂盒说明书要求进行组织破碎、总 RNA 提取。待提取结束后用紫外分光光度计检测 RNA 浓度, 要求光密度值 $A_{260}/A_{280} > 1.8$; 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性, 电泳结束后将凝胶置于紫外灯下观察, 可见 5s、18s、28sRNA 3 条清晰条带。浓度及完整性均符合要求的 RNA 即可行逆转录或可暂保存于-80℃冰箱备用。

1.3.2 逆转录

取 1μg 总 RNA 按 PrimeScript® miRNA cDNA Synthesis Kit 试剂盒操作说明进行 cDNA 的合成。合成 cDNA 可行 PCR 扩增或可暂保存于-30℃冰箱备用。

1.3.3 PCR 扩增

在冰上配制 20μl 的反应体系, 每个样本重复 3 次, 求平均 Ct 值。具体操作根据 SYBR® Premix Ex Taq™ II 的使用说明。实验结果按照 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行处理, 以癌旁组织为对照, 以癌旁组织的 miR-34a 表达量为 1, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值即为食管癌组织相对癌旁组织 miR-34a 表达的倍数, 测定值以 $2^{-\Delta\Delta C_t} > 1$ 为高表达, $2^{-\Delta\Delta C_t} < 1$ 为低表达^[16]。

1.4 随访

所有患者在 2 年内每 3 个月随访 1 次, 之后每半年随访 1 次。要求患者返院复查随访, 未返院复查的患者采用电话随访的方式进行随访。复查内容包括: 病史采集、体格检查、血液检验, 根据情况行胸、腹部 CT、超声检查、食管造影、胃镜检查, 必要时行 PET-CT 检查。随访终末事件定为疾病进展或患者死亡。末次随访时间为 2016 年 1 月 5 日, 中位随访时间 55.5 个月。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 22.0 (MAC 版) 统计软件进行统计分析, GraphPad Prism 6.0c 用以绘制生存曲线。计数资料的比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法; miR-34a 低表达的危险因素分析采用多因素 Logistic 回归分析; 生存分析采用 Kaplan-Meier 法, 两组间无进展

生存率(PFS)及总生存率(OS)比较采用 Log-rank 检验;PFS 及 OS 相关的预后因素采用多因素 Cox 回归分析。定义 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-34a 在食管鳞状细胞癌组织中的表达水平及与临床病理资料的关系

miR-34a 在 75 例食管鳞状细胞癌患者手术标本中, 中位相对表达倍数为 1.7886 (95% CI: 0.0004 ~ 8.2409), 34 例 (45.3%) 低表达, 41 例 (54.7%) 高表达。其中, 性别、吸烟史、饮酒史、淋巴结转移、分期及神经/脉管浸润与肿瘤组织中 miR-34a 表达水平有关 (Table 1)。

2.2 miR-34a 低表达的危险因素分析

单因素 Logistic 回归分析显示性别、吸烟、饮酒、分期、神经/脉管浸润是食管鳞状细胞癌组织中 miR-34a 低表达的危险因素 (Table 2), 进一步多因素 Logistic 回归分析显示吸烟史和分期是食管鳞状细胞癌组织中 miR-34a 低表达的独立危险因素 (OR=3.848, 95% CI: 1.182~12.524, $P=0.025$; OR=3.785, 95% CI: 1.359~19.542, $P=0.011$)。

2.3 食管鳞状细胞癌组织中 miR-34a 表达水平与预后的关系

Kaplan-Meier 生存分析结果显示 miR-34a 高表达组的 PFS (Figure 1) 以及 OS (Figure 2) 均明显优于低表达组。miR-34a 高表达组和低表达组的 5 年 PFS 分别为 73.2% 和 17.2%, 5 年 OS 分别为 75.6% 和 17.6%。单因素 Cox 回归分析结果显示性别、吸烟、饮酒、分期、miR-34a 表达水平是 OS 的影响因素 (Table 3), 进一步多因素 Cox 回归分析显示性别及 miR-34a 是 OS 独立影响因素 (HR=0.194, 95% CI: 0.046~0.817, $P=0.025$; HR=6.559, 95% CI: 3.202~13.437, $P=0.000$)。单因素 Cox 回归分析结果显示性别、吸烟、饮

Table 1 Association of miR-34a expression with the clinicopathological features of ESCC

Parameters	N	Low expression	High expression	χ^2	P
Gender					
Male	61	32	29	6.695	0.010
Female	14	2	12		
Age (years old)					
<60	34	17	17	0.547	0.460
≥60	41	17	24		
Smoking					
Yes	52	29	23	7.452	0.006
No	23	5	18		
Drinking					
Yes	31	8	23	8.130	0.004
No	44	26	18		
Family history of cancer					
Yes	15	5	10	1.089	0.297
No	60	29	31		
Tumor location					
Upper	7	31	37	-	1.000
Middle/lower	68	3	4		
Depth of invasion					
T ₁₋₂	15	4	11	2.636	0.104
T ₃	60	30	30		
Lymph node metastasis					
N ₀	28	7	21	7.454	0.006
N ₁₋₃	47	27	20		
TNM stage					
I ~ II	34	9	25	8.929	0.003
III	41	25	16		
Differentiation					
High/moderately	60	29	31	1.089	0.297
Poorly/undifferentiation	15	5	10		
Nerve/vascular invasion					
Yes	48	27	21	6.412	0.011
No	27	7	20		

Table 2 Univariate analysis of factors related to low miR-34a expression in 75 cases with esophageal squamous cell carcinoma

Parameters	OR	95%CI	P
Gender (female vs male)	0.151	0.031~0.733	0.019
Age (≥60 vs <60 years old)	0.708	0.284~1.769	0.460
Smoking (yes vs no)	4.539	1.464~14.07	0.009
Drinking (yes vs no)	4.153	1.521~11.33	0.005
Family history of cancer (yes vs no)	0.534	0.163~1.752	0.301
Tumor location (upper vs middle/lower)	0.895	0.186~4.308	0.890
TNM stage (III vs I ~ II)	4.340	1.618~11.64	0.004
Differentiation (poorly/undifferentiation vs high/moderately)	0.534	0.163~1.752	0.301
Nerve/vascular invasion (yes vs no)	3.673	1.308~10.31	0.014

酒、分期、miR-34a 表达水平是 PFS 的影响因素 (Table 3), 进一步多因素 Cox 回归分析显示性别及 miR-34a 是 PFS 独立影响因素 (HR=0.078, 95%CI:

0.011 ~0.572, $P=0.012$; HR =5.395, 95% CI: 2.681 ~ 10.857, $P=0.000$)。

3 讨论

肿瘤抑制基因 *p53* 在多种肿瘤中是最常见的突变基因之一, miR-34a 参与 *p53* 肿瘤抑制网络, 是 *p53* 作用的靶点, 可通过调节多种靶蛋白来促进细胞分裂、衰老、凋亡以及抑制细胞增殖^[17]。miR-34a 在多种肿瘤组织中呈低表达状态^[18,19]。近年来, 研究发现 miR-34a 表达水平与多种肿瘤的预后相关^[20]。本研究针对食管鳞癌组织中 miR-34a 表达水平以及 miR-34a 对食管鳞癌患者预后影响进行分析研究。

我们的研究结果显示食管鳞癌组织中 miR-34a 表达水平较食管癌旁组织高, 与目前多数研究结果并不一致^[9,21,22]。一项关于慢性淋巴细胞白血病研究显示, 在白血病无症状阶段, 白血病模型小鼠的 miR-34a 低于正常小鼠, 然而, 当模型小鼠出现肿瘤侵犯淋巴器官后 miR-34a 明显升高; 在人类慢性淋巴细胞白血病患者中也发现 miR-34a 较正常对照明显升高, 根据 *p53* 状态分组, *p53* 野生型患者 miR-34a 升高, 而突变或缺失的患者 miR-34a 降低^[23]。在本研究中, 并未对 75 例食管鳞癌患者的 *p53* 状态进行检测以

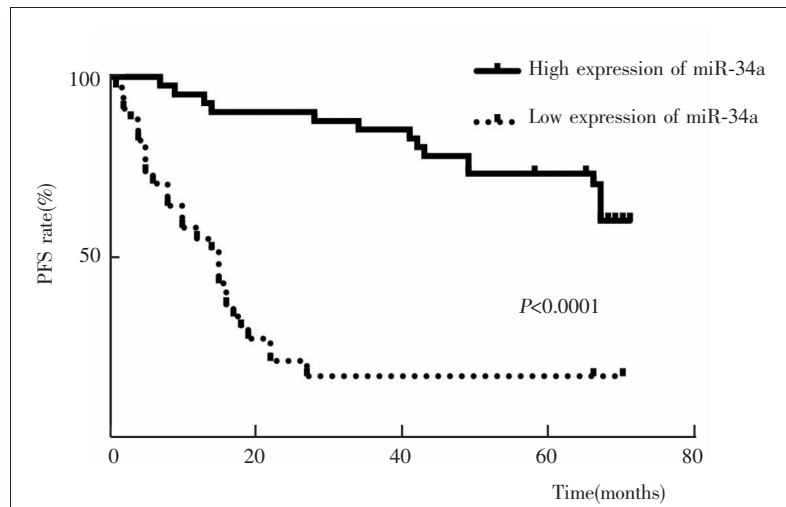


Figure 1 PFS curves of esophageal squamous cell carcinoma patients with high or low expression of miR-34a

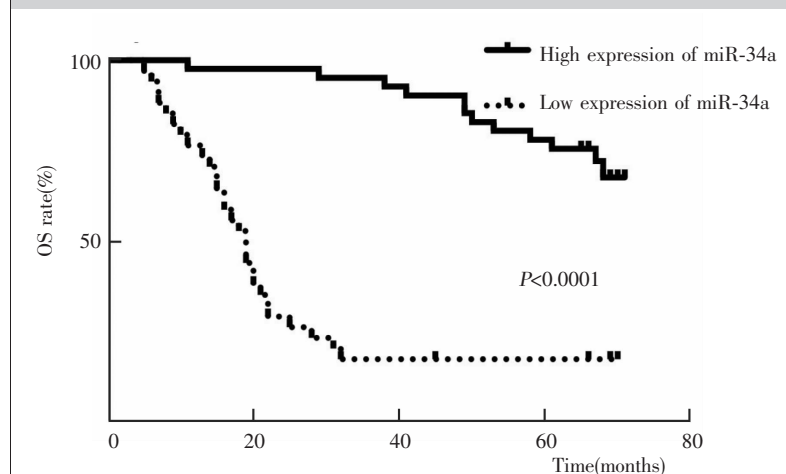


Figure 2 OS curves of esophageal squamous cell carcinoma patients with high or low expression of miR-34a

Table 3 Univariate analysis of factors related to OS and PFS in 75 cases with esophageal squamous cell carcinoma

Parameters	OS			PFS		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	P
Gender(female vs male)	0.144	0.035~0.600	0.008	0.063	0.009~0.460	0.006
Age(≥ 60 vs <60 years old)	0.723	0.388~1.344	0.305	0.787	0.429~1.443	0.439
Smoking(yes vs no)	3.710	1.550~8.881	0.003	4.053	1.697~9.679	0.002
Drinking(yes vs no)	2.463	1.225~4.949	0.011	3.192	1.561~6.529	0.001
Family history of cancer(yes vs no)	0.575	0.241~1.372	0.212	0.676	0.300~1.523	0.345
Tumor location(upper vs middle/lower)	0.634	0.195~2.056	0.447	0.406	0.098~1.680	0.213
TNM-stage(III vs I ~ II)	2.378	1.223~4.623	0.011	2.634	1.364~5.085	0.004
Differentiation(poorly/undifferentiation vs high/moderately)	1.185	0.564~2.491	0.654	0.947	0.438~2.047	0.890
Nerve/vascular invasion(yes vs no)	1.132	0.596~2.151	0.704	1.483	0.771~2.855	0.238
miR-34a expression(low vs high)	7.388	3.639~14.998	0.000	6.082	3.071~12.046	0.000

及分组分析,由此,我们推测本研究中 miR-34a 表达水平升高有由 *p53* 状态引起的结果。这也是本研究的缺陷之处,在后续的研究中,我们将对 *p53* 状态进行检测和分组,独立分析 *p53* 野生型和 *p53* 突变型患者的 miR-34a 表达水平。

本研究中性别、吸烟史、饮酒史、淋巴结转移、分期及神经/脉管浸润与肿瘤组织中 miR-34a 表达水平有关。由于吸烟对 miRNA 表达水平存在一定影响,进一步多因素分析显示有吸烟史及分期为Ⅲ期是 miR-34a 低表达的独立危险因素。吸烟对 miRNA 表达的影响首次在 2010 年报道^[24],最近一项研究认为吸烟可导致肺泡巨噬细胞中的 miRNA 表达水平降低^[25]。吸烟诱导 miRNA 表达降低的原因可能是由于吸烟导致 miRNA 功能缺陷,从而加强了 miRNA 的降解或初级 miRNA 转录的改变。食管鳞癌分期为Ⅲ期是 miR-34a 低表达的另一因素,这一现象在其他肿瘤中也有报道^[26]。其内在机制可能是由于肿瘤进展过程中,*p53* 状态发生变化,从而影响其靶基因 miR-34a 的表达水平。吸烟以及分期对 miR-34a 表达影响的更为确切的机制有待进一步研究。

miR-34a 对肿瘤患者预后的影响已在多种肿瘤中进行探讨。在本研究中,miR-34a 低表达与肿瘤进展和总生存相关。进一步多因素分析发现 miR-34a 低表达是预后不良的独立因素。此结论在其他类型肿瘤的研究中也报道^[12,27],最近的一项 Meta 分析结果显示,miR-34a 可作为消化系统肿瘤患者评价预后的理想指标,高表达 miR-34a 的消化系统肿瘤患者预后明显优于低表达组^[20]。miR-34a 可调节多条信号通路中的靶基因而实现抑制肿瘤增殖、促进肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞侵袭和迁徙等^[28,29]。众所周知,肿瘤干细胞或者有干细胞特性的肿瘤细胞与肿瘤发生、复发、转移及肿瘤耐药性的产生相关,研究显示 miR-34a 可抑制前列腺癌干细胞以及前列腺癌细胞的转移^[30]。miR-34a 与肿瘤进展及预后之间的内在机制可能涉及多个基因及调控通路,有待进一步发掘研究。

综上所述,miR-34a 在食管鳞癌中的表达水平仍需进一步研究,可进一步根据 *p53* 的状态分组分析。吸烟以及肿瘤进展可影响食管鳞癌组织中 miR-34a 的表达水平。miR-34a 可作为预测食管鳞癌患者肿瘤进展和远期生存的重要标志物。

参考文献:

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] van Hagen P, Hulshof MC, van Lanschot JJ, et al. Preoperative chemoradiotherapy for esophageal or junctional cancer[J]. N Engl J Med, 2012, 366(22): 2074-2084.
- [3] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. Elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14[J]. Cell, 1993, 75(5): 843-854.
- [4] Ambros V. MicroRNA pathways in flies and worms: growth, death, fat, stress, and timing[J]. Cell, 2003, 113(6): 673-676.
- [5] Wang AM, Huang TT, Hsu KW, et al. Yin Yang 1 is a target of microRNA-34 family and contributes to gastric carcinogenesis[J]. Oncotarget, 2014, 5(13): 5002-5016.
- [6] Bader AG. MiR-34—a microRNA replacement therapy is headed to the clinic[J]. Front Genet, 2012, 3: 120.
- [7] Li G, Yao L, Zhang J, et al. Tumor-suppressive microRNA-34a inhibits breast cancer cell migration and invasion via targeting oncogenic TPD52[J]. Tumour Biol, 2015, Dec 17. [Epub ahead of print]
- [8] Kumamoto K, Spillare EA, Fujita K, et al. Nutlin-3a activates p53 to both down-regulate inhibitor of growth 2 and up-regulate miR-34a, miR-34b, and miR-34c expression, and induce senescence[J]. Cancer Res, 2008, 68(9): 3193-3203.
- [9] Adams BD, Wali VB, Cheng CJ, et al. MiR-34a silences c-SRC to attenuate tumor growth in triple negative breast cancer[J]. Cancer Res, 2015, Dec 16. [Epub ahead of print]
- [10] Ye Z, Fang J, Dai S, et al. MicroRNA-34a induces a senescence-like change via the down-regulation of SIRT1 and up-regulation of p53 protein in human esophageal squamous cancer cells with a wild-type p53 gene background[J]. Cancer Lett, 2016, 370(2): 216-221.
- [11] Gao H, Zhao H, Xiang W. Expression level of human miR-34a correlates with glioma grade and prognosis[J]. J Neurooncol, 2013, 113(2): 221-228.
- [12] He M, Gao L, Zhang S, et al. Prognostic significance of miR-34a and its target proteins of FOXP1, p53, and BCL2 in gastric MALT lymphoma and DLBCL [J]. Gastric Cancer, 2014, 17(3): 431-441.
- [13] Ogawa T, Saiki Y, Shiga K, et al. MiR-34a is downregulated in cis-diamminedichloroplatinum treated sinonasal squamous cell carcinoma patients with poor prognosis[J]. Cancer Sci, 2012, 103(9): 1737-1743.
- [14] Hu Y, Correa AM, Hoque A, et al. Prognostic significance of differentially expressed miRNAs in esophageal cancer [J]. Int J Cancer, 2011, 128(1): 132-143.
- [15] Rucker FG, Russ AC, Cocciardi S, et al. Altered miRNA and gene expression in acute myeloid leukemia with com-

- plex karyotype identify networks of prognostic relevance [J]. *Leukemia*, 2013, 27(2):353-361.
- [16] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method [J]. *Methods*, 2001, 25(4):402-408.
- [17] Chen F, Hu SJ. Effect of microRNA-34a in cell cycle, differentiation, and apoptosis: a review [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2012, 26(2):79-86.
- [18] Zhang H, Li S, Yang J, et al. The prognostic value of miR-34a expression in completely resected gastric cancer: tumor recurrence and overall survival [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(2):2635-2641.
- [19] Kumar B, Yadav A, Lang J, et al. Dysregulation of microRNA-34a expression in head and neck squamous cell carcinoma promotes tumor growth and tumor angiogenesis [J]. *PLoS One*, 2012, 7(5):e37601.
- [20] Wang J, Dan G, Zhao J, et al. The predictive effect of overexpressed miR-34a on good survival of cancer patients: a systematic review and meta-analysis [J]. *Oncotargets Ther*, 2015, 8:2709-2719.
- [21] Li N, Fu H, Tie Y, et al. MiR-34a inhibits migration and invasion by down-regulation of c-Met expression in human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Cancer Lett*, 2009, 275(1):44-53.
- [22] Li Y, Guessous F, Zhang Y, et al. MicroRNA-34a inhibits glioblastoma growth by targeting multiple oncogenes [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(19):7569-7576.
- [23] Asslaber D, Pinon JD, Seyfried I, et al. MicroRNA-34a expression correlates with MDM2 SNP309 polymorphism and treatment-free survival in chronic lymphocytic leukemia [J]. *Blood*, 2010, 115(21):4191-4197.
- [24] Guo H, Ingolia NT, Weissman JS, et al. Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels [J]. *Nature*, 2010, 466(7308):835-840.
- [25] Graff JW, Powers LS, Dickson AM, et al. Cigarette smoking decreases global microRNA expression in human alveolar macrophages [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8):e44066.
- [26] Kang L, Mao J, Tao Y, et al. MicroRNA-34a suppresses the breast cancer stem cell-like characteristics by down-regulating Notch1 pathway [J]. *Cancer Sci*, 2015, 106(6):700-708.
- [27] Cui X, Wu Y, Wang Z, et al. MicroRNA-34a expression is predictive of recurrence after radiofrequency ablation in early hepatocellular carcinoma [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(5):3887-3893.
- [28] Jia LF, Wei SB, Mitchelson K, et al. MiR-34a inhibits migration and invasion of tongue squamous cell carcinoma via targeting MMP9 and MMP14 [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9):e108435.
- [29] Shen Z, Zhan G, Ye D, et al. MicroRNA-34a affects the occurrence of laryngeal squamous cell carcinoma by targeting the antiapoptotic gene surviving [J]. *Med Oncol*, 2012, 29(4):2473-2480.
- [30] Liu C, Tang DG. MicroRNA regulation of cancer stem cells [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(18):5950-5954.

《肿瘤学杂志》编辑部关于启用稿件远程处理系统的通知

本刊已启用稿件远程处理系统,该系统包括作者在线投稿/查询、主编办公、专家审稿、编辑办公等功能,通过网上投稿、网上查稿、网上审稿,实现作者、编辑、审稿专家的一体化在线协作处理,从而构建一个协作化、网络化、角色化的编辑稿件业务处理平台。对于广大作者而言,该系统最大的优点是支持在线投稿,方便作者及时了解稿件处理进程,缩短稿件处理时滞。

使用过程中具体注意事项如下:

(1)第1次使用本系统投稿的作者,必须先注册,才能投稿。注册时各项信息请填写完整。作者自己设定用户名和密码,该用户名密码长期有效。

(2)已注册过的作者,请不要重复注册,否则将导致查询稿件信息不完整。如果遗忘密码,可以致电编辑部查询。

(3)作者投稿请点击“作者登录”,登录后按照提示操作即可。投稿成功后,系统自动发送回执邮件,作者投稿后请随时关注邮箱提示,也可随时点击“作者登录”,获知该稿件的审理情况、处理进展、审稿意见等。

(4)网上投稿成功1周内,请将以下文件邮寄至编辑部:①单位介绍信;②作者投稿无学术不端行为承诺书(本处理系统中下载后填写);③文章若属于基金项目资助,附上基金项目批文的复印件。编辑部收到上述文件后,稿件将进入审稿程序。

稿件远程处理系统启用后,本刊只接受网上投稿,不再接收电子邮件投稿和纸质稿。

《肿瘤学杂志》网址: <http://www.chinaoncology.cn>

如有任何问题,请与编辑部联系! 联系电话:0571-88122280。