

鼻咽癌中 ADAM17 的表达及其临床意义

吴 婧, 尹 丽, 杜鸣宇, 郭业松, 王婷婷, 樊琰鑫, 周益琴, 徐 池, 何 侠
(江苏省肿瘤医院 & 江苏省肿瘤防治研究所 & 南京医科大学附属肿瘤医院, 江苏
南京 210009)

摘 要: [目的] 探讨 ADAM17 在鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)组织中表达与临床预后的关系, 及其在鼻咽癌细胞中的生物学功能。[方法] 免疫组化检测 72 例鼻咽癌患者和 10 例正常鼻咽组织标本中 ADAM17 的表达; Transwell 小室实验检测 ADAM17 对鼻咽癌细胞侵袭和迁移能力的影响。分析 ADAM17 表达与鼻咽癌患者临床病理特征及预后的关系。[结果] ADAM17 在鼻咽癌组织中的表达水平明显高于正常鼻咽组织 (0.204 ± 0.016 vs 0.034 ± 0.006 , $P < 0.01$); ADAM17 表达水平与年龄、性别、临床分期和肿瘤大小(T)无关($P > 0.05$), 与淋巴结转移(N)及 TNM 分期有关($P < 0.05$)。ADAM17 高表达组与低表达组患者的中位总生存期(overall survival, OS)分别为 97 个月和 109 个月($P = 0.0087$)、中位无进展生存期(progression-free survival, PFS)分别为 89 个月和 109 个月($P = 0.0229$)。COX 回归单因素和多因素分析显示 ADAM17 表达是鼻咽癌 OS 的独立预后因素 (HR=5.974, 95%CI: 1.307~27.298, $P = 0.021$; HR=4.975, 95%CI: 1.016~24.368, $P = 0.048$)。Real-time PCR 和 Western blot 实验结果显示与鼻咽永生上皮细胞 NP69 相比, ADAM17 在鼻咽癌细胞中表达明显增高, 差异有统计学意义; Transwell 小室实验结果显示沉默 ADAM17 后, 与 si-NC 组相比, si-ADAM17 组侵袭与迁移的细胞数量明显减少, 差异有统计学意义。[结论] ADAM17 在鼻咽癌组织和细胞中异常高表达, 并与 NPC 的分期及不良预后密切相关, 沉默 ADAM17 表达能够有效抑制 NPC 细胞的侵袭与迁移能力。提示 ADAM17 在鼻咽癌的侵袭转移进程中具有重要作用, 有望成为 NPC 治疗的新靶点。

主题词: 鼻咽肿瘤; 免疫组化; ADAM17; 预后

中图分类号: R739.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2020)10-0856-07

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2020.10.B002

Expression of ADAM17 in Nasopharyngeal Carcinoma and Its Clinical Significance

WU Jing, YIN Li, DU Ming-yu, GUO Ye-song, WANG Ting-ting, FAN Yan-xin, ZHOU Yi-qin, XU Chi, HE Xia

(Jiangsu Cancer Hospital & Jiangsu Institute of Cancer Research & The Affiliated Cancer Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: [Objective] To investigate the expression of ADAM17 in nasopharyngeal carcinoma(NPC) and its clinical significance. [Methods] ADAM17 expression in 72 samples of primary NPC and 10 samples of normal nasopharyngeal tissues was determined by immunohistochemistry. The effects of ADAM17 on the cell invasion and migration was explored by Transwell assay. The relationship of ADAM17 expression with clinicopathological features and prognosis of NPC patients was analyzed. [Results] The expression of ADAM17 in NPC was significantly higher than that in normal nasopharyngeal tissues (0.204 ± 0.016 vs 0.034 ± 0.006 , $P < 0.01$). ADAM17 expression was not correlated with age, gender, clinical stage and tumor size (T) ($P > 0.05$), but correlated with lymph node metastasis(N) and TNM stages ($P < 0.05$). The median overall survival(OS) of patients with high and low expression of ADAM17 were 97 months and 109 months ($P = 0.0087$), and the median progression-free survival (PFS) was 89 months and 109 months ($P = 0.0229$), respectively. Univariate and Multivariate analysis showed that high expression of ADAM17 was an independent prognostic factor for OS of NPC patients (HR=5.974, 95%CI: 1.307~27.298, $P = 0.021$; HR=4.975, 95%CI: 1.016~24.368, $P = 0.048$). Real-time PCR and Western blot assays showed that ADAM17 expression was higher in NPC cell lines, compared with immortalized nasopharyngeal epithelial cell NP69. Transwell assays exhibited that down-regulation of ADAM17 significantly reduced the cell invasion and migration compared with the controls. [Conclusion] The high expression of ADAM17 in NPC tissues are closely related to clinical stage and poor prognosis of NPC patients. The knockdown of ADAM17 can effectively suppress the invasion and migration of NPC cells. ADAM17 may play an important role in the invasion and metastasis of NPC and might be a new target for NPC therapy.

Subject words: nasopharyngeal carcinoma; immunohistochemistry; ADAM17; prognosis

基金项目: 国家自然科学基金(81702692; 81672989); 中国博士后科学基金(2018M632266); 江苏省科技厅社发重点项目(BE2019756); 江苏省卫生厅青年医学人才基金 (QNRC2016648)

通信作者: 何侠, 副院长, 教授, 主任医师, 博士生导师, 博士; 江苏省肿瘤医院放疗科, 江苏省南京市玄武区百子亭 42 号(210009); E-mail: hexia2003@tom.com

收稿日期: 2019-11-05; **修回日期:** 2019-12-23

鼻咽癌是一种好发于我国南方的恶性肿瘤,主要起源于鼻咽上皮鳞状细胞,具有高度的侵袭性和早期远处转移特点^[1-2]。大量的研究已经证明鼻咽癌的发病与 Epstein-Barr 病毒(EBV)、环境及遗传因素密切相关^[3-4]。近年来,随着放疗技术的发展和同步化疗的不断完善,鼻咽癌患者的5年生存率得到了显著提高,但是频繁的局部复发和远处转移仍然是患者治疗失败的主要原因^[5-7]。所以迫切需要进一步探究鼻咽癌发生和转移的分子机制,从而为治疗鼻咽癌发现新基因,提供新方法。解聚素-金属蛋白酶17(adisintegrin and metalloprotease 17, ADAM17)又称为肿瘤坏死因子 α 转换酶,是细胞多种生物学行为的关键开关,参与调控细胞的增殖、分化和肿瘤发展过程^[8-10]。前期研究中我们发现 miR-145 能够通过靶向抑制 ADAM17 的表达,抑制鼻咽癌的侵袭转移进程,提示 ADAM17 可能在鼻咽癌的肿瘤进程中具有重要作用^[11]。因此,本研究利用免疫组化技术检测了鼻咽癌组织样本中 ADAM17 的表达水平,分析其与临床特征和预后的相关性,明确 ADAM17 在鼻咽癌的功能,为鼻咽癌治疗提供新的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 临床资料及细胞株来源

选取72例江苏省肿瘤医院2006年2月至2012年12月经病理证实为鼻咽癌的蜡块组织标本。纳入标准:①患者既往均未接受过放疗化疗及靶向治疗;②年龄大于18周岁;③没有其他恶性肿瘤病史;④有完整的随访资料。全部患者标本经过 HE 染色检查及病理科医师阅片确诊。72例鼻咽癌患者中,男性57例,女性15例;年龄18~76岁,中位年龄49岁。采用 AJCC/UICC 第8版分期标准制定分期标准:Ⅱ~Ⅲ期患者44例,Ⅳ期患者28例。从出院后开始随访,每隔6个月电话随访1次,随访截至2019年6月1日,无患者失访。4株鼻咽癌细胞 CNE1, CNE2, SUNE1, HNE1 及正常鼻咽上皮细胞 NP69 均由江苏省肿瘤医院放疗科实验室提供。

1.2 免疫组化

将鼻咽癌组织蜡块切片,常规进行脱蜡和水化后,使用 pH 6.0 的柠檬酸钠对切片进行抗原修复,将切片与 ADAM17 一抗(购自 Abcam 公司)在 4℃ 条

件下孵育过夜。随后加入生物素化二抗室温下孵育 1h,使用 DAB 封片剂进行免疫染色,蒸馏水冲洗,苏木素复染,梯度脱水,透明,封片。ADAM17 阳性表达主要在鼻咽癌细胞胞质内,染色由浅黄至棕褐色。选择高倍镜视野($\times 200$),采用积分光密度(integrated option density, IOD)对 ADAM17 表达进行定量分析。每张切片随机选择 3 个视野拍照,使用 ImagePro Plus 软件对结果进行光密度转换,计算目标区域内的平均光密度值(mean density, MD)。

1.3 Western blot 实验

将转染 48h 后的实验细胞,使用裂解液裂解,提取总蛋白。使用 BCA 法检测蛋白浓度,每个样本吸取 15 μ l 蛋白上样缓冲液进行 10% SDS-PAGE 电泳,300mA,120min 转移至 PVDF 膜上,封闭,加入 ADAM17 一抗(1:1000)孵育,加入二抗孵育 1h。最后使用 ECL 显色,在凝胶成像仪中检测信号并收集图像。

1.4 转染

ADAM17 的小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)序列由锐博公司合成。在转染前一天将处于对数生长期的 CNE1 和 CNE2 细胞分别按照每孔 2×10^5 个细胞均匀接种于 6 孔板内,当细胞达到 70%~80% 融合时,开始转染说明书进行转染。使用顺转试剂 Lipofectamin2000 分别将 siRNA-ADAM17 和 siRNA-NC 转染 CNE1 和 CNE2 细胞,每组设立 3 个复孔。转染 6h 后换成含血清的培养基培养。转染 48h 后,提取 RNA,使用 Real-time PCR 技术检测转染效率。

1.5 Real-time PCR

使用 Trizol 提取 4 株鼻咽癌细胞株和永生化鼻咽上皮细胞 NP69 的 RNA。按照试剂盒说明将提取的 RNA 逆转录和实时荧光定量 PCR 进行扩增。ADAM17 的引物序列为:5'-GCATTCTCAAGTCTC-CACAAG-3', 5'-CCTCATTCGGGGCATTCTG-3'。 β -actin 引物序列为:5'-GGACTTCGAGCAAGAGATGG-3' 和 5'-AGCACTGTGTTGGCGTACAG-3'。PCR 反应条件为:95℃ 30s; 95℃ 5s, 60℃ 34s, 40 个循环。完成 Real-time PCR 后进行数据分析,数据按 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 公式计算基因的相对表达量。

1.6 Transwell 小室实验

实验开始前 3h 在需要侵袭铺胶的 transwell 小室中加入 100 μ l 含 10 μ l/matrigel 的无血清 RPMI-1640 培养基,置于温箱中孵育。将转染 48h 后的实验细胞

使用胰酶消化,离心,使用无血清的 RPMI-1640 培养基将实验细胞重悬配置成浓度为 1×10^5 个/ml 的细胞悬液,将 200 μ l 细胞悬液加入铺胶或没有铺胶的 transwell 小室中,外室中加入 500 μ l 含 20%FBS 的 RPMI-1640 培养基,37 $^{\circ}$ C,5% CO₂ 培养箱内孵育 36h。然后取出小室置于 4%多聚甲醛中固定 1h,再将小室浸入 0.25%结晶紫染色液中染色 2h,使用棉签轻轻将未穿过基底膜的细胞擦去,显微镜下观察、拍照,随机选取 5 个高倍视野($\times 200$)进行细胞计数,并计算平均值。

1.7 统计学处理

使用 SPSS 19.0 对数据进行分析,使用 χ^2 检验分析 ADAM17 表达与鼻咽癌患者临床特征的相关性;使用 Kaplan-Meier 分析患者的 OS 和 PFS;Log-rank 检验明确 ADAM17 高表达及低表达组生存率差异;采用多因素 COX 风险回归模型分析预后因素; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ADAM17 在鼻咽癌组织中表达

72 例鼻咽癌患者中,免疫组化结果显示 ADAM17 主要分布在鼻咽癌细胞质中,并且鼻咽癌组织中 ADAM17 的 MD 表达水平 (0.204 ± 0.016) 显著高于正常鼻咽组织 (0.034 ± 0.006) ($P < 0.01$)(Figure 1)。

2.2 鼻咽癌中 ADAM17 表达与临床病理特征的关系

根据免疫组化定量分析的结果,以 MD=0.201 为基准将鼻咽癌患者分为 ADAM17 高表达组($n=35$)和低表达组($n=37$)。结果显示,TNM 分期 IV 期较 II~III 期患者 ADAM17 表达率高 ($\chi^2=4.506$, $P=0.034$),N₂₋₃ 患者 ADAM17 表达率高于 N₀₋₁ 患者 ($\chi^2=9.769$, $P=0.002$);ADAM17 表达水平与年龄、性别、肿瘤体积无明显相关性 ($P > 0.05$)(Table 1)。

2.3 鼻咽癌中 ADAM17 表达与预后的相关性

72 例鼻咽癌患者中位随访时间为 109 个月(11~159 个月),ADAM17 高表达组总生存(overall survival,OS)中位数为 97 个月,而 ADAM17 低表达组的 OS 中位数为 109 个月,差

异有统计学意义 ($P=0.0087$)(Figure 2A);ADAM17 高表达组的无进展生存(progression-free survival, PFS)中位数明显较 ADAM17 低表达组缩短(89 个月 vs 109 个月, $P=0.0229$)(Figure 2B)。COX 回归单因素和多因素分析结果显示,ADAM17 高表达是鼻咽癌 OS 的独立预后因素 ($HR=5.974$, 95%CI:1.307~27.298, $P=0.021$; $HR=4.975$, 95%CI:1.016~24.368, $P=0.048$ (Table 2,3)。

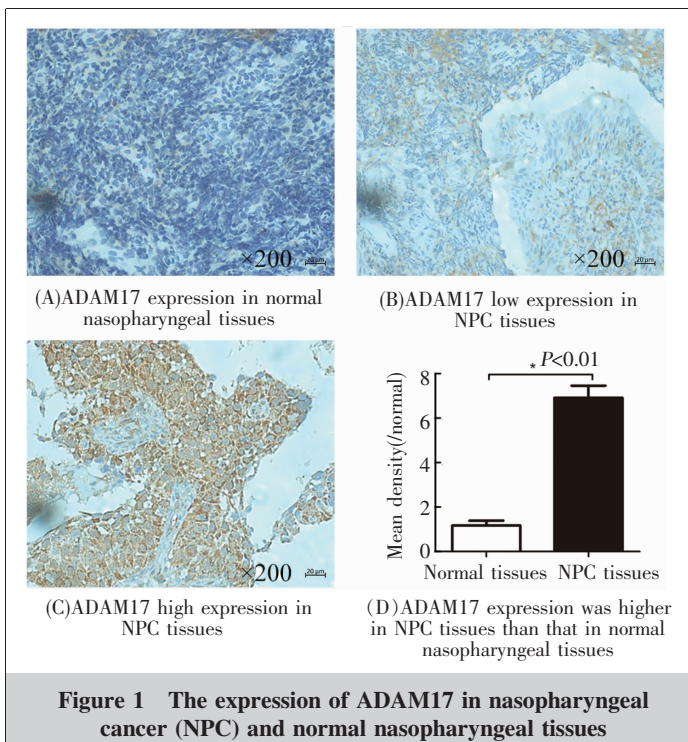


Figure 1 The expression of ADAM17 in nasopharyngeal cancer (NPC) and normal nasopharyngeal tissues

Table 1 Correlation between ADAM17 expression and clinical parameters

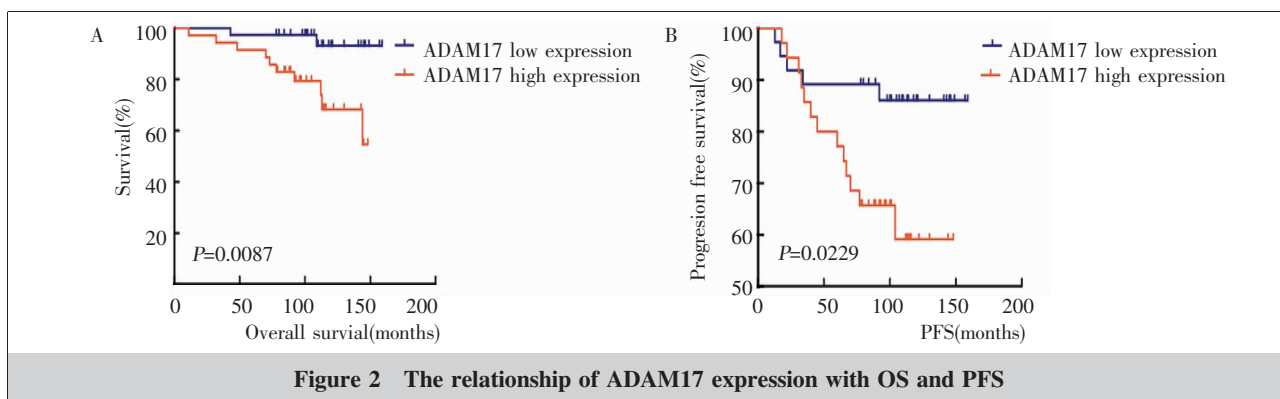
Characteristics	n	ADAM17 low group	ADAM17 high group	χ^2	P
Gender					
Female	15	9	6	0.562	0.453
Male	57	28	29		
Age(years)					
≤ 49	37	19	18	0.000	0.995
> 49	35	18	17		
TNM stage					
II~III	44	27	17	4.506	0.034
IV	28	10	18		
T classification					
T ₁₋₂	29	17	12	1.231	0.267
T ₃₋₄	43	20	23		
N classification					
N ₀₋₁	23	18	5	9.769	0.002
N ₂₋₃	49	19	30		

Table 2 Univariate analysis of prognostic factors for OS and PFS

Characteristics	No.	OS		PFS	
		HR(95%CI)	P	HR(95%CI)	P
Age(years)					
≤49	37	1		1	
>49	35	1.205(0.330~3.181)	0.966	1.344(0.530~3.407)	0.533
Gender					
Female	15	1		1	
Male	57	2.756(0.365~21.419)	0.332	1.260(0.365~4.354)	0.715
TMN stage					
II ~ III	44	1		1	
IV	28	1.247(0.395~3.938)	0.707	0.959(0.372~2.475)	0.931
T classification					
T ₁₋₂	29	1		1	
T ₃₋₄	43	1.067(0.337~3.379)	0.913	0.761(0.300~1.930)	0.566
N classification					
N ₀₋₁	23	1		1	
N ₂₋₃	49	5.817(0.751~45.081)	0.092	2.692(0.778~9.316)	0.118
ADAM17 expression					
Low	37	1		1	
High	35	5.974(1.307~27.298)	0.021	3.131(1.110~8.831)	0.031

Table 3 Multivariate analysis of prognostic factors for OS and PFS

Characteristics	No.	OS		PFS	
		HR(95%CI)	P	HR(95%CI)	P
Age(years)					
≤49	37	1		1	
>49	35	0.848(0.245~2.940)	0.796	1.096(0.408~2.947)	0.856
Gender					
Female	15	1		1	
Male	57	2.637(0.323~21.530)	0.366	1.181(0.329~4.236)	0.798
TMN stage					
II ~ III	44	1		1	
IV	28	0.720(0.181~2.857)	0.640	0.761(0.260~2.223)	0.617
T stage					
T ₁₋₂	29	1		1	
T ₃₋₄	43	0.996(0.266~3.724)	0.720	0.815(0.280~2.373)	0.707
N stage					
N ₀₋₁	23	1		1	
N ₂₋₃	49	4.249(0.511~35.345)	0.181	1.931(0.517~7.210)	0.328
ADAM17 expression					
Low	37	1		1	
High	35	4.975(1.016~24.368)	0.048	2.868(0.946~8.695)	0.063



2.4 ADAM17 在鼻咽癌细胞中表达

Real-time PCR 和 Western blot 检测鼻咽永生上皮细胞 (NP69)和鼻咽癌细胞株中 ADAM17 的表达水平,结果显示 ADAM17 在鼻咽癌细胞株的表达水平明显高于鼻咽永生上皮细胞($P<0.05$)(Figure 3)。

2.5 沉默 ADAM17 后鼻咽癌细胞侵袭迁移能力的变化

使用小干扰 RNA(siRNA)敲低 ADAM17 表达构建 ADAM17 沉默转染模型后,Real-time PCR 实验发现与对照组相比,转染组 ADAM17 表达水平明显被抑制 ($P<0.05$)(Figure 4A,5A)。Transwell 小室实验表明沉默 ADAM17,能够显著抑制鼻咽癌细胞的侵袭与迁移能力 ($P<0.05$)(Figure 4B、C,Figure 5 B、C)。

3 讨论

近年随着调强放疗和同步放化疗综合治疗的应用,鼻咽癌疗效较过去有了较大提高,但局部复发和远处转移仍然是影响患者长期生存的主要障碍^[12]。因此,积极提高鼻咽癌局部控制率、探索降低远处转移的分子机制及寻找有效干预的新靶点,一直是亟待突破的难题和热点。我们在前期研究中发现,ADAM17 为 miR-145 的靶基因,过表达 miR-145 能够通过抑制 ADAM17 的表达

逆转鼻咽癌细胞的 EMT 进程^[11]。但是目前尚少见文献报道 ADAM17 在鼻咽癌患者预后中的临床价值。因此,倘若能明确 ADAM17 表达与鼻咽癌患者临床特征的关系,可为深入研究鼻咽癌的发病机制及疾

病进展奠定理论基础。

ADAM17 是 ADAMs 家族最具代表性的两个成员之一,具有蛋白水解活性,能够释放激活多种膜系细胞因子、生长因子等包括 NOTCH 受体和 EGFR

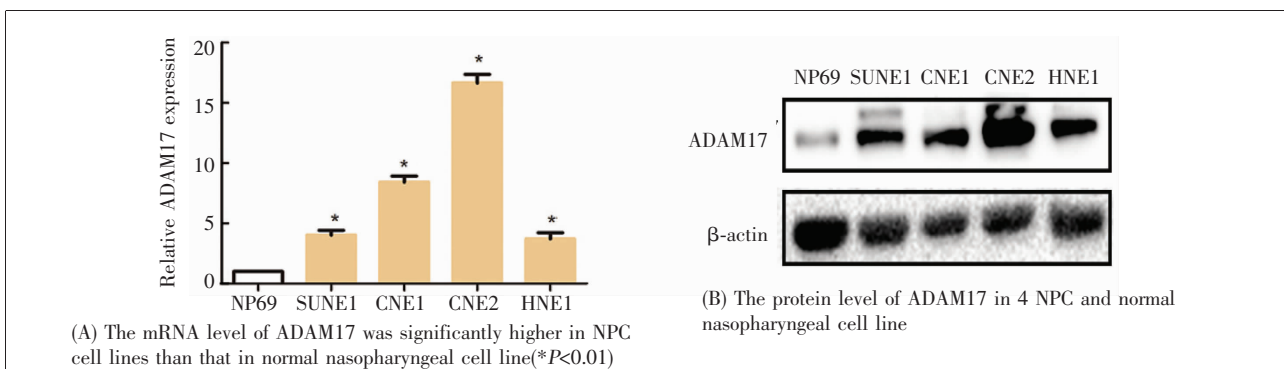


Figure 3 The expression of ADAM17 in NPC cells

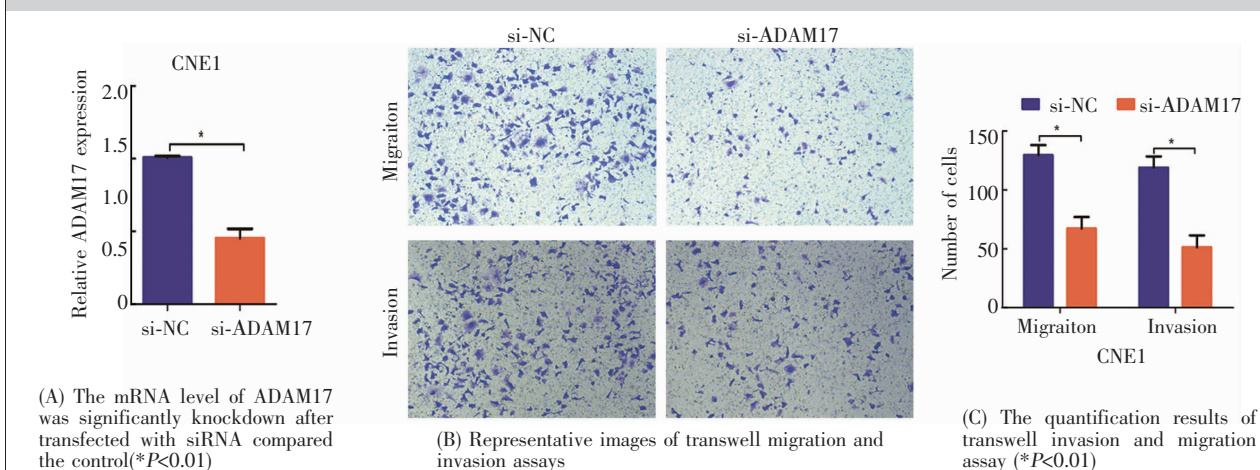


Figure 4 AMAM17 knockdown reduced the cell migration and invasion in CNE1 cell

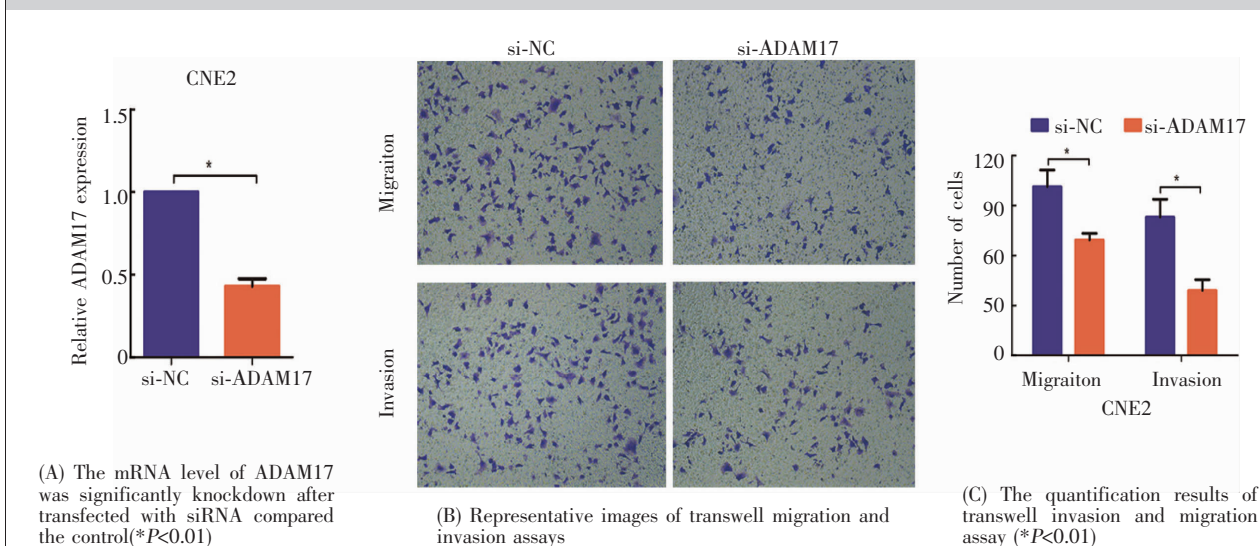


Figure 5 AMAM17 knockdown reduced the cell migration and invasion in CNE2 cell

的配体,进而通过与相应的配体结合,介导细胞内信号转导^[13-15]。ADAM17 是细胞多种生物学行为的关键开关,参与调控细胞的增殖、分化和炎症浸润等^[16-17]。近年来,很多研究者已经开始关注 ADAM17 与肿瘤之间的关系。有研究表明,ADAM17 的表达水平与乳腺癌、胃癌等有密切联系^[8,10]。Walkiewicz 等^[18]研究发现 ADAM17 在直肠癌中呈高表达水平,并且与直肠癌的复发、转移和不良预后密切相关。本研究在 72 例鼻咽癌组织和 10 例正常鼻咽组织中检测了 ADAM17 的表达水平,发现 ADAM17 在鼻咽癌组织中普遍高表达。ADAM17 表达水平越高,淋巴转移越多,TNM 分期越晚,表明其表达水平与 TNM 分期紧密相关。生存分析结果同样显示,高表达 ADAM17 组 OS 和 PFS 较低表达组明显缩短,提示 ADAM17 与鼻咽癌的发生发展有一定相关性。进一步的 COX 风险回归模型单因素和多因素分析结果证明,ADAM17 高表达能够作为患者 OS 的独立预后因素。在体外实验中,本研究结果证明沉默 ADAM17 能够抑制鼻咽癌细胞的侵袭和迁移能力,这些结果也和 ADAM17 在乳腺癌、胃癌等肿瘤中的生物学作用相一致,提示 ADAM17 可能作为促癌基因在肿瘤发生发展过程中具有普遍作用。

但是本研究存在一定的局限性。本研究只纳入了 72 例鼻咽癌患者,样本量偏少,需要进一步的扩大组织样本量,验证 ADAM17 在鼻咽癌患者中的临床价值。大量研究已经证明 ADAM17 可以通过激活 EGFR 酪氨酸酶活性,介导相应的信号通路如 EGFR-PI3k-Akt 促进肿瘤细胞发生侵袭转移^[19-20],或通过诱导肿瘤细胞发生上皮间质转化促进肿瘤发生远处转移^[21-22]。本研究需要深入探究 ADAM17 调控鼻咽癌细胞发生侵袭转移的分子机制,为揭示鼻咽癌发生发展供理论依据。

综上所述,本研究结果显示 ADAM17 在鼻咽癌组织中普遍高表达,高表达 ADAM17 提示患者预后差,ADAM17 高表达是患者的独立预后因素。因此,ADAM17 可能作为促癌基因在鼻咽癌肿瘤过程中促进肿瘤细胞发生侵袭和转移,有望成为将来鼻咽癌治疗新的治疗靶点。

参考文献:

[1] Chen W,Zheng R,Baade PD,et al. Cancer statistics in

China,2015[J]. CA Cancer J Clin,2016,66(2):115-132.

- [2] Lee AW,Ng WT,Chan YH,et al. The battle against nasopharyngeal cancer [J]. Radiother Oncol,2012,104(3):272-278.
- [3] Zhao M,Luo R,Liu Y,et al. MiR-3188 regulates nasopharyngeal carcinoma proliferation and chemosensitivity through a FOXO1-modulated positive feedback loop with mTOR-p-PI3K/AKT-c-JUN [J]. Nat Commun,2016,7:11309.
- [4] Chan KCA,Woo JKS,King A,et al. Analysis of plasma epstein-barr virus DNA to screen for nasopharyngeal cancer[J]. N Engl J Med,2017,377(6):513-522.
- [5] Pan JJ,Ng WT,Zong JF,et al. Proposal for the 8th edition of the AJCC/UICC staging system for nasopharyngeal cancer in the era of intensity-modulated radiotherapy[J]. Cancer,2016,122(4):546-558.
- [6] Wu LR,Liu YT,Jiang N,et al. Ten-year survival outcomes for patients with nasopharyngeal carcinoma receiving intensity-modulated radiotherapy:An analysis of 614 patients from a single center[J]. Oral Oncol,2017,69:26-32.
- [7] Tang L,Li L,Mao Y,et al. Retropharyngeal lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma detected by magnetic resonance imaging:prognostic value and staging categories[J]. Cancer,2008,113(2):347-354.
- [8] Xu M,Zhou H,Zhang C,et al. ADAM17 promotes epithelial-mesenchymal transition via TGF- β /Smad pathway in gastric carcinoma cells[J]. Int J Oncol,2016,49(6):2520-2528.
- [9] Mullooly M,McGowan PM,Crown J,et al. The ADAMs family of proteases as targets for the treatment of cancer [J]. Cancer Biol Ther,2016,17(8):870-880.
- [10] Narita D,Seclaman E,Ursoniu S,et al. Increased expression of ADAM12 and ADAM17 genes in laser-capture microdissected breast cancers and correlations with clinical and pathological Characteristics [J]. Acta Histochem,2012,114(2):131-139.
- [11] Wu J,Yin L,Jiang N,et al. MiR-145,a microRNA targeting ADAM17,inhibits the invasion and migration of nasopharyngeal carcinoma cells [J]. Exp Cell Res,2015,338(2):232-238.
- [12] Lee AW,Ng WT,Chan YH,et al. The battle against nasopharyngeal cancer [J]. Radiother Oncol,2012,104(3):272-278.
- [13] Saad MI,Rose-John S,Jenkins BJ. ADAM17:An Emerging Therapeutic Target for Lung Cancer [J]. Cancers (Basel),2019,11(9):1218.

- [14] Saad MI, Alhayyani S, McLeod L, et al. ADAM17 selectively activates the IL-6 trans-signaling/ERK MAPK axis in KRAS-addicted lung cancer [J]. *EMBO Mol Med*, 2019, 11(4): e9976.
- [15] Burgess AW. EGFR family: structure physiology signalling and therapeutic targets [J]. *Growth Factors*, 2008, 26(5): 263–274.
- [16] Oikawa H, Maesawa C, Tatemichi Y, et al. A disintegrin and metalloproteinase 17 (ADAM17) mediates epidermal growth factor receptor transactivation by angiotensin II on hepatic stellate cells [J]. *Life Sci*, 2014, 97(2): 137–144.
- [17] Rios-Doria J, Sabol D, Chesebrough J, et al. A Monoclonal antibody to ADAM17 inhibits tumor growth by inhibiting EGFR and non-EGFR-mediated pathways [J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(7): 1637–1649.
- [18] Walkiewicz K, Nowakowska-Zajdel E, Strzelczyk J, et al. Serum levels of ADAM10, ADAM12, ADAM17 AND ADAM28 in colorectal cancer patients [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2017, 31(4): 929–934.
- [19] Wang XJ, Feng CW, Li M. ADAM17 mediates hypoxia-induced drug resistance in hepatocellular carcinoma cells through activation of EGFR/PI3K/Akt pathway [J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 380(1–2): 57–66.
- [20] Zhang Q, Yang GH, Liu SP, et al. ADAM17-shRNA promotes apoptosis of colon cancer cells through activation of Akt/ GSK3 β pathway [J]. *Chinese Journal of Basic and Clinical General Surgery*, 2018, 25(5): 534–539. [张琪, 杨光华, 刘少鹏, 等. ADAM17-shRNA 通过 Akt/ GSK3 β 信号通路促进 HT29 结肠癌细胞的凋亡 [J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2018, 25(05): 534–539.]
- [21] Vinchure OS, Sharma V, Tabasum S, et al. Polycomb complex mediated epigenetic reprogramming alters TGF- β signaling via a novel EZH2/miR-490/TGIF2 axis thereby inducing migration and EMT potential in glioblastomas [J]. *Int J Cancer*, 2019, 145(5): 1254–1269.
- [22] Li DD, Zhao CH, Ding HW, et al. A novel inhibitor of ADAM17 sensitizes colorectal cancer cells to 5-Fluorouracil by reversing Notch and epithelial-mesenchymal transition in vitro and in vivo [J]. *Cell Prolif*, 2018, 51(5): e12480.

《肿瘤学杂志》作者/通信作者校对文稿须知

作者/通信作者自拟发排校样稿,是期刊出版工作中不可缺少的重要环节,也是确保期刊质量的重要手段。特此重申,请作者/通信作者务必按以下要求进行校对:

1. 首先全面校对全文,对编辑提出的校样稿中需特别注意校对及需补充的内容,必须予以改正或解释。

2. 所有需修改和补充的内容,均请用红笔将正确的字符书写清楚(避免使用不规范的汉字);必须改动的字符,直接在校样稿的空白处写出,所增删字数最好相符。

3. 文题、作者、单位名称、邮政编码、通信作者等信息,务必确认无误。

4. 对正文文字(包括外文字母及大小写)、标点符号、数据、图表、计量单位、参考文献等应认真细致逐一校对;请用规范的通用药品名称(不用商品名)和医学名词,认真核查并使用标准计量单位及药物剂量。

5. 参考文献缺项的部分,应按本刊规定的著录格式进行补充。请作者务必认真核实所引用文献是否正确,并核查正文中角码是否与文后所列参考文献序号对应。

6. 校对完毕请作者/通信作者签名,并在规定的日期内将校样稿寄回编辑部。如有要求补充的资料,也需一并寄回。

7. 由于出版周期的限制,如作者/通信作者不能在规定时间内校对寄回,请及时联系本刊编辑部说明原因,否则可能造成该文稿延期出版,或者取消刊发。