

喉癌组织中 miR-34a 和 Survivin 表达与临床病理特征和预后的关系

要兆旭, 韩海平, 冯志星

邯郸市中心医院耳鼻咽喉头颈部外科, 河北 邯郸 056000

摘要: **目的** 探讨喉癌组织中微小核糖核酸(microRNA, miR)-34a 和 Survivin 表达与临床病理特征和预后的关系。**方法** 选取 2010 年 5 月至 2013 年 12 月手术治疗的 96 例喉癌患者为研究对象, 分别取手术切除的喉癌组织及癌旁正常黏膜组织。采用 RT-PCR 检测 miR-34a 和 Survivin mRNA 表达, 免疫组织化学法检测 Survivin 蛋白表达, 分析 miR-34a 和 Survivin 表达与患者临床病理特征的关系。Spearman 等级相关分析喉癌组织 miR-34a 和 Survivin 表达的相关性, Kaplan-Meier 法分析 miR-34a 和 Survivin 表达对喉癌患者生存率的影响, Cox 比例风险回归模型分析影响喉癌患者的预后因素。**结果** 与癌旁正常黏膜组织相比, 喉癌组织中 miR-34a 表达水平显著降低($P < 0.01$), Survivin mRNA 表达水平显著升高($P < 0.01$)。Survivin 主要表达于细胞质。与癌旁正常黏膜组织相比, 喉癌组织 Survivin 蛋白阳性表达率显著升高(67.71% vs 7.29%, $P < 0.01$)。喉癌组织中 miR-34a 和 Survivin mRNA 高表达、低表达在 TNM 分期、肿瘤分化程度以及淋巴结是否转移方面有统计学差异($P < 0.05$, $P < 0.01$)。Spearman 相关性分析显示, 喉癌组织中 miR-34a 和 Survivin 表达呈负相关($r = -0.461$, $P < 0.05$)。miR-34a 高表达患者 5 年生存率高于低表达患者(80.65% vs 63.08%, $P < 0.05$); Survivin 高表达患者 5 年生存率低于低表达患者(62.32% vs 85.19%, $P < 0.05$)。Cox 回归模型分析结果显示, miR-34a 和 Survivin 均是影响喉癌患者预后的独立因素($P < 0.01$)。**结论** 喉癌组织中 miR-34a 表达下调, Survivin 表达上调, 两者呈明显负相关, 可能是喉癌诊治的新靶点和预后判断标记物。

关键词: 喉癌; 微小核糖核酸-34a; Survivin; 临床病理特征; 预后

中图分类号: R 739.65 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2020)02-0145-05

Correlation of miR-34a and Survivin expression with clinicopathological characteristics and prognosis in laryngeal cancer tissues

YAO Zhao-xu, HAN Hai-ping, FENG Zhi-xing

Department of Otolaryngology and Head Surgery, Handan Central Hospital, Handan, Hebei 056000, China

Abstract: Objective To investigate the correlation between microRNA (miR)-34a and Survivin expression and clinicopathological features and prognosis in laryngeal cancer tissues. **Methods** A total of 96 patients with laryngeal cancer from May 2010 to December 2013 were selected as research subjects, and resected laryngeal cancer tissue and normal mucosa tissue adjacent to the cancer were used as the research objects. Real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to detect the expression of miR-34a and Survivin mRNA, and immunohistochemical method was used to detect the expression of Survivin protein. Spearman rank correlation analysis was used to analyze the correlation between miR-34a and Survivin expression in laryngeal cancer tissue, Kaplan-Meier method was used to analyze the effect of miR-34a and Survivin expression on the survival of laryngeal cancer patients, and Cox proportional hazard regression model was used to analyze the prognostic factors of laryngeal cancer patients. **Results** Compared with the normal mucosa tissue adjacent to the cancer, the expression level of miR-34a in laryngeal cancer tissue was significantly reduced ($P < 0.01$), and Survivin mRNA expression level was significantly increased ($P < 0.01$). Survivin is mainly expressed in the cytoplasm. Compared with normal mucosa tissue adjacent to the cancer, the positive expression rate of Survivin protein in laryngeal cancer tissue was significantly increased (67.71% vs 7.29%, $P < 0.01$). The high expression and low expression of miR-34a and Survivin mRNA in laryngeal cancer tissues were statistically different in TNM stage, tumor differentiation and whether lymph nodes metastasized ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Spearman correlation analysis showed that miR-34a expression

were negatively correlated with Survivin expression in laryngeal cancer tissues ($r = -0.461, P < 0.05$). The 5-year survival of patients with high expression of miR-34a was higher than that of patients with low expression (80.65% vs 63.08%, $P < 0.05$); while the 5-year survival of patients with high expression of Survivin was lower than that of patients with low expression (62.32% vs 85.19%, $P < 0.05$). Cox regression model analysis showed that miR-34a and Survivin were independent factors affecting the prognosis of patients with laryngeal cancer ($P < 0.01$). **Conclusions** The expression of miR-34a is down-regulated and the expression of Survivin is up-regulated in laryngeal cancer tissues, and there was a significant negative correlation between them, which may be new targets and prognostic markers for diagnosis and treatment of laryngeal cancer.

Key words: Laryngeal cancer; MicroRNA-34a; Survivin; Clinicopathological features; Prognosis

Fund program: Medical Science Research Key Project Plan of Hebei Province (20181667)

喉癌是耳鼻喉部较为常见的一种恶性肿瘤,占全身恶性肿瘤的 6% 左右,发病率逐年上升。喉癌早期诊断比例较低,70% 喉癌患者在确诊时往往已处于晚期,错过根治性手术治疗的最佳时间,死亡率较高,预后较差^[1],因此,寻找喉癌诊治的靶点及预后判断标志物尤为重要。微小核糖核酸(microRNA, miR)-34a 是一种小分子非编码 RNA,可抑制细胞周期、细胞侵袭和迁移等。研究发现,miR-34a 低表达与非小细胞肺癌、乳腺癌、结肠癌等多种肿瘤预后不良相关^[2-4]。Survivin 是细胞内质网络激活后产生的抗凋亡蛋白,其主要通过 Caspase-3 和 Caspase-7 途径阻断细胞凋亡过程,并可调节细胞有丝分裂,促使肿瘤细胞逃避 G₂/M 细胞周期检测点,进而诱导肿瘤细胞异常增殖^[5]。Survivin 在膀胱癌、胃癌、肺癌等多种肿瘤中过度表达^[6-8],其过表达与肿瘤的发生发展及预后较差密切相关。研究表明,Survivin 可能是 miR-34a 的靶基因,miR-34a 通过负调控 Survivin 表达调控细胞凋亡的病理过程^[9-10]。本研究利用 RT-PCR 技术检测喉癌组织及对应癌旁组织的 miR-34a 和 Survivin mRNA 表达,免疫组织化学法检测 Survivin 蛋白表达,分析两者表达的相关性以及患者临床病理特征和生存期的关系,以期对喉癌的诊治及预后判断提供一种新思路。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2010 年 5 月至 2013 年 12 月本院手术治疗的 96 例喉癌患者为研究对象。纳入标准:(1)所有患者均为首次接受手术治疗;(2)术前未进行化疗及放疗等治疗;(3)本研究经本院伦理委员会批准,且患者自愿签署知情同意书。排除标准:(1)合并其他肿瘤患者;(2)患有心脏、肝、肾等重要器官疾病患者;(3)合并自身免疫病、精神病患者。96 例中男性 84 例,女性 12 例;年龄 35~83(61.26 ± 7.83)岁;吸烟患者 54 例,未吸烟患者 42 例;按照 TNM 分期分类:I 期 23 例,II 期 31 例,III 期 25 例,IV

期 17 例;依据肿瘤分化程度分类,高分化 26 例,中分化 35 例,低分化 35 例;按照病理类型分类,鳞癌 90 例,腺癌 6 例;发生淋巴结转移患者 43 例,淋巴结未转移患者 53 例。以喉癌切除标本中距离癌组织大于 1 cm 术后病理检测未发现癌细胞的癌旁正常黏膜组织作为对照,对 96 例喉癌患者手术切除的癌组织和癌旁正常黏膜组织标本进行相关检测。

1.2 主要试剂与仪器 TRIzol 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司;逆转录试剂盒和 RT-PCR 试剂盒购自 TaKaRa 公司;Survivin 多克隆抗体购自 Santa Cruz 公司,稀释浓度 1:50;生物素标记的二抗和辣根酶标记链酶卵白素均购自武汉博士德生物公司;ABI 7500 PCR 仪购自 Applied Biosystems 公司。

1.3 RT-PCR 检测 miR-34a 和 Survivin mRNA 表达

按照相关试剂盒操作说明进行操作。采用 TRIzol 试剂提取组织中总 RNA,逆转录为 cDNA,以 cDNA 为模板进行扩增。逆转录反应体系:逆转录缓冲液 1.5 μl(10 ×),dNTP 0.15 μl(10 mmol/L),逆转录酶 1 μl,RNase 抑制剂 0.19 μl,逆转录引物 3 μl,总 RNA 5 μl,加水补足 15 μl,30 °C 孵育 30 min,42 °C 孵育 45 min,80 °C 孵育 5 min。荧光体系:PCR 缓冲液 10 μl(2 ×),20 × 特异引物 1 μl,荧光探针 1 μl,逆转录产物 1 μl,加水补足 20 μl,置荧光 PCR 仪检测。反应条件为:95 °C 预变性 5 min,95 °C 变性 30 s,60 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 1 min,总共进行 40 个循环。miR-34a 上游引物:5'-ACA CTC CAG CTG GGT GGC AG-3',下游引物:5'-TGT CGT GGA GTC GGC AAT TC-3'。内参 U6 上游引物:5'-CGG TTC GGC AGC ACA TAT AC-3',下游引物:5'-AAC TAT GGA ACG CTT CAC GA-3'。Survivin 上游引物:5'-GGC ATG GGT GCC CCG ACG TT-3',下游引物:5'-AGA GGC CTC AAT CCA TGG CA-3'。β-actin 上游引物:5'-GAG CTA CGA GCT GCC TGA C-3',下游引物 5'-GGT AGT TTC GTG GAT GCC ACA-3'。引物由上海 Invitrogen 公司设计合成。依据所得 Ct 值,采用

$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 miR-34a 和 Survivin mRNA 相对表达水平。

1.4 免疫组织化学法检测 Survivin 蛋白表达 喉癌组织及癌旁正常黏膜组织石蜡切片经脱蜡、脱苯、梯度乙醇水化,3% 过氧化氢阻断内源性过氧化物酶活性,高压高温抗原修复。清洗后,封闭 10 min,滴加 Survivin 抗体,4 ℃ 孵育 12 h。孵育后洗涤,滴加生物素标记的二抗和辣根酶标记链酶卵白素,4 ℃ 孵育过夜。PBS 洗涤,滴加 DAB 显色 5 min,经水洗、苏木精复染、脱水干燥后封片,显微镜观察。从每个切片中随机选取 5 个高倍视野,对阳性细胞数和细胞总数进行计数。(1)按染色强度计分为无色(0分)、淡黄色(1分)、棕黄色(2分)和棕褐色(3分);(2)按阳性细胞所占的百分比计分:≤10%(0分)、10%~25%(1分)、26%~50%(2分)、>50%(3分)。取两项结果的乘积作为 Survivin 蛋白表达强度:≤3分为阴性表达,>3分为阳性表达。

1.5 随访 通过复诊、电话等方式对患者或其家人进行随访。随访 5 年,末次随访时间为 2018 年 12 月,记录患者死亡时间。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件对数据进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验;计数资料用例表示,采用 χ^2 检验;采用 Spearman 相关分析 miR-34a 与 Survivin 表达的相关性。采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析 miR-34a 和 Survivin 表达与患者存活率的关系,Cox 比例风险回归模型分析影响喉癌患者预后因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 正常黏膜组织和喉癌组织 miR-34a 和 Survivin mRNA 表达水平比较 与癌旁正常黏膜组织相比,喉癌组织中 miR-34a 表达水平显著降低($P < 0.01$),Survivin mRNA 表达水平显著升高($P < 0.01$)。见表 1。

2.2 喉癌组织中 Survivin 蛋白表达 Survivin 主要表达于细胞质,染色结果见图 1。癌旁正常黏膜组织和喉癌组织 Survivin 蛋白阳性表达率分别为 7.29% (7/96) 和 67.71% (65/96),后者较前者显著升高($\chi^2 = 74.756, P < 0.01$)。

2.3 喉癌组织中 miR-34a 和 Survivin mRNA 表达与临床病理情况 喉癌组织中 miR-34a 和 Survivin mRNA 高表达、低表达患者在年龄、性别、是否吸烟及病理类型方面无统计学差异($P > 0.05$),在 TNM 分期、肿瘤分化程度以及淋巴结是否转移方面有统计学差异($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2。

2.4 miR-34a 和 Survivin 表达的相关性 Spearman

相关性分析显示,喉癌组织中 miR-34a 和 Survivin 表达呈负相关($r = -0.461, P < 0.05$)。见图 2。

2.5 miR-34a 和 Survivin 表达对患者生存期的影响 miR-34a 高表达患者 5 年生存率高于低表达患者 (80.65% vs 63.08%, $P < 0.05$)。Survivin 高表达患者 5 年生存率低于低表达患者 (62.32% vs 85.19%, $P < 0.05$)。见图 3。

2.6 影响喉癌患者预后因素分析 Cox 回归模型分析结果显示,miR-34a 和 Survivin 均是影响喉癌患者预后的独立因素($P < 0.01$)。见表 3。

表 1 喉癌组织中 miR-34a 和 Survivin mRNA 表达水平比较

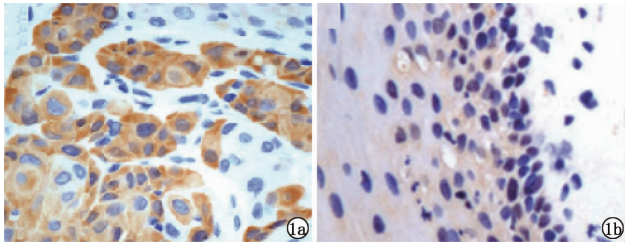
组别	例数	miR-34a	Survivin mRNA
癌旁正常黏膜组织	96	1.01 ± 0.27	1.00 ± 0.26
喉癌组织	96	0.54 ± 0.15	1.68 ± 0.47
t 值		14.909	12.404
P 值		0.000	0.000

表 2 喉癌组织中 miR-34a 和 Survivin mRNA 表达与临床病理参数关系 (例)

项目	例数	miR-34a		χ^2 值	P 值	Survivin		χ^2 值	P 值
		高表达 ($n=31$)	低表达 ($n=65$)			高表达 ($n=69$)	低表达 ($n=27$)		
年龄(岁)									
≤60	17	7	10	0.746	0.388	10	7	1.741	0.187
>60	79	24	55			59	20		
性别				0.333	0.564	59	25	0.891	0.345
男	84	28	56			10	2		
女	12	3	9	0.061	0.805	39	15	0.007	0.932
吸烟						30	12		
是	54	18	36						
否	42	13	29						
TNM 分期				11.324	0.010	10	13	13.326	0.004
I 期	23	13	10			23	8		
II 期	31	11	20			21	4		
III 期	25	5	20			15	2		
IV 期	17	2	15						
肿瘤分化程度				8.165	0.017	13	13	8.723	0.013
高分化	26	14	12			29	6		
中分化	35	10	25			27	8		
低分化	35	7	28						
病理类型				0.918	0.338	64	26	0.416	0.519
鳞癌	90	28	62			5	1		
腺癌	6	3	3						
淋巴结转移				4.598	0.032	37	6	7.738	0.005
是	43	9	34			32	21		
否	53	22	31						

表 3 影响喉癌患者预后的 Cox 回归分析

变量	单因素分析			多因素分析		
	HR 值	95% CI	P 值	HR 值	95% CI	P 值
TNM 分期	2.019	1.098 ~ 3.714	0.024	1.542	0.943 ~ 2.522	0.084
肿瘤分化程度	1.995	1.139 ~ 3.495	0.016	1.390	0.827 ~ 2.337	0.214
淋巴结转移	2.307	1.297 ~ 4.105	0.004	1.172	0.641 ~ 2.143	0.606
miR-34a	2.706	1.445 ~ 5.067	0.002	2.588	1.522 ~ 4.402	0.000
Survivin	2.218	1.249 ~ 3.939	0.007	2.387	1.434 ~ 3.973	0.001



注:1a:喉癌组织;1b:癌旁正常黏膜组织。

图 1 Survivin 表达免疫组化结果($\times 400$)

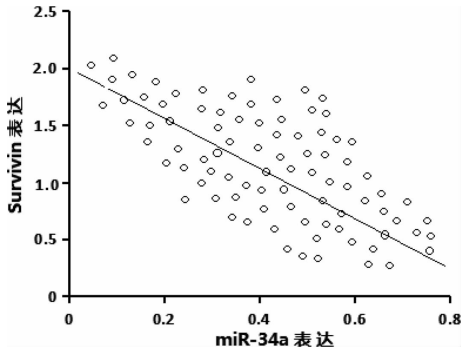


图 2 miR-34a 和 Survivin 表达的相关性

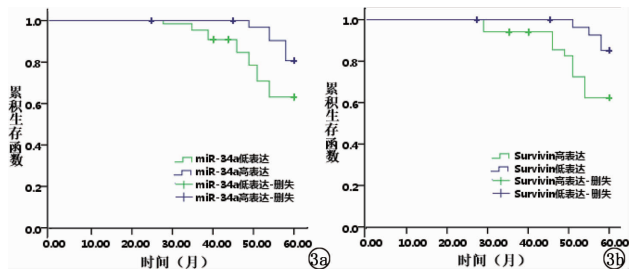


图 3 miR-34a 和 Survivin 高、低表达患者的生存曲线

3 讨论

喉癌是耳鼻喉部最为常见的恶性肿瘤。近几年,喉癌的发病率及死亡率均呈增长趋势。原因主要是早期喉癌症状不明显,早期诊断比例较低,患者易错过最佳治疗时间^[11]。除此之外,喉癌的转移率及复发率较高、预后较差^[12]。目前,喉癌的发病病因尚不十分明确,从分子生物学的角度寻找喉癌治疗的新靶点和预后生物标记物是研究的重点。

miRNAs 是一类内源性非编码 RNA,可通过与 mRNA 的 3'非翻译区靶向结合降解 mRNA 或者抑制其翻译,实现对靶基因的调控,在生命学进程中发挥重要作用,如细胞增殖和分化等^[13]。近年研究发现,miRNAs 除调控细胞发育、分化之外,在肿瘤的早期诊断、治疗、预后判断中都有良好的应用前景,是潜在的肿瘤生物标记物^[14]。miR-34a 属 miR-34 家族成员,主要表达于脑组织。研究发现,miR-34a 在肿瘤中低表达或表达缺失可通过作用不同的靶基因调控肿瘤细胞增殖、侵袭、迁移、凋亡等生物学过程^[15-17]。Ye 等^[18]研究发现,喉癌患者 miR-34a 的表达水平较邻近正常组织显著下调,miR-34a 表达与淋巴结转移

和临床分期相关,其异位表达可抑制喉癌细胞增殖和迁移,提示 miR-34a 可作为新的潜在诊断标志物,miR-34a 的异位表达可用作喉癌的治疗靶点。本研究表明,喉癌组织中 miR-34a 表达水平较癌旁正常黏膜组织显著降低,TNM 分期越高、肿瘤分化程度越低以及发生淋巴结转移的喉癌患者 miR-34a 表达越低,miR-34a 低表达患者随访 5 年存活率显著低于高表达患者,是影响喉癌患者预后不良的独立因素,与相关报道结果一致,提示 miR-34a 低表达可促进喉癌的发展进程,或可作为预测喉癌预后的生物分子标记物。

分析 miRNAs 及其调控的靶基因,寻找相关恶性肿瘤潜在的治疗靶点是近年来研究的热点。Survivin 是凋亡蛋白抑制因子家族成员之一,具有调节细胞分裂和抑制细胞凋亡的双重作用。研究显示,Survivin 蛋白表达受 miR-34a 负调控,可能是 miR-34a 的靶基因。Cao 等^[19]研究发现,胃癌细胞系 HGC-27 的 miR-34a 表达水平较正常细胞显著降低,其低表达可促进 HGC-27 细胞凋亡,转染了 miR-34a 的 HGC-27 细胞 Survivin 基因表达较未转染的细胞明显下调,证明 miR-34a 可靶向调控 Survivin 表达调节胃癌细胞的凋亡过程。成兵等^[20]研究发现,人膀胱移行细胞癌 T24 细胞 miR-34a 表达显著降低,Survivin 表达显著升高,而在转染 miR-34a 后,miR-34a 表达升高的同时,Survivin 蛋白表达受到抑制,miR-34a 可通过抑制其靶基因 Survivin 的表达影响人膀胱移行细胞癌 T24 细胞的多种生物学行为,是膀胱癌潜在的治疗靶点。管海涛等^[21]研究发现,乳腺癌组织中 Survivin 高表达,是影响乳腺癌患者无病生存时间的独立预后因素,与患者预后不良相关,对判断乳腺癌预后有一定参考价值。杨光等^[22]研究发现,喉癌组织中 Survivin 阳性表达率明显高于癌旁组织,III ~ IV 期患者高于 I ~ II 期患者,有淋巴结转移患者高于无淋巴结转移患者。本研究表明,喉癌组织中 Survivin 基因和蛋白表达均显著升高,其高表达与患者 TNM 分期、肿瘤分化程度以及淋巴结转移相关,且 Survivin 高表达患者 5 年存活率显著低于低表达患者,提示 Survivin 参与喉癌的发生和发展过程,高表达与患者预后不良密切相关。相关性分析结果显示,miR-34a 和 Survivin 表达呈负相关,与相关研究报道结果一致^[23],提示 miR-34a 可能也通过调控 Survivin 蛋白表达促进喉癌肿瘤侵袭和转移。利用基因技术提高喉癌细胞中 miR-34a 表达以下调 Survivin 蛋白表达,促进喉癌细胞的凋亡,进而抑制肿瘤的生长、侵袭和转移,可能是喉癌潜在的治疗方法。

综上所述,喉癌组织中 miR-34a 表达下调, Survivin 表达上调, miR-34a 可能通过靶向调控 Survivin 促进肿瘤生长、侵袭和转移,是潜在的预后标记物以及治疗靶点。深入研究 miR-34a 和 Survivin 在喉癌中的作用机制或 miR-34a 调控 Survivin 对喉癌细胞生物学行为的影响,将对喉癌的治疗提供新思路。

参考文献

- [1] Xuan LJ, Qu LM, Zhou H, et al. Circular RNA: a novel biomarker for progressive laryngeal cancer [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(2): 932 - 939.
- [2] Chakraborty S, Mazumdar M, Mukherjee S, et al. Restoration of p53/miR-34a regulatory axis decreases survival advantage and ensures Bax-dependent apoptosis of non-small cell lung carcinoma cells [J]. *FEBS Lett*, 2014, 588(4): 549 - 559.
- [3] Kim do Y, Park EY, Chang E, et al. A novel miR-34a target, protein kinase D1, stimulates cancer stemness and drug resistance through GSK3/ β -catenin signaling in breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(12): 14791 - 14802.
- [4] Wang LH, Bu PC, Ai YW, et al. A long non-coding RNA targets microRNA miR-34a to regulate colon cancer stem cell asymmetric division [J]. *Elife*, 2016, 5: e14620.
- [5] Garg H, Suri P, Gupta JC, et al. Survivin: a unique target for tumor therapy [J]. *Cancer Cell Int*, 2016, 16: 49.
- [6] Zhang JJ, Wang S, Han F, et al. MicroRNA-542-3p suppresses cellular proliferation of bladder cancer cells through post-transcriptionally regulating survivin [J]. *Gene*, 2016, 579(2): 146 - 152.
- [7] 刘光耀, 刘莉. Survivin 与 c-MYC 在胃癌组织中的表达及意义 [J]. *癌症进展*, 2017, 15(12): 1426 - 1429.
- [8] 高立伟, 兰守丽, 闫江涛, 等. 上调 miRNA-335 表达对肺癌细胞增殖、凋亡及对 survivin 表达的影响 [J]. *癌症进展*, 2018, 16(4): 425 - 427, 441.
- [9] Yang BR, Huang J, Liu H, et al. MiR-335 directly, while miR-34a indirectly modulate survivin expression and regulate growth, apoptosis, and invasion of gastric cancer cells [J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(2): 1771 - 1779.
- [10] 施学清. miR-34a 通过靶向抗凋亡基因 Survivin 抑制皮肤鳞状细胞癌增殖的研究 [J]. *大连医科大学学报*, 2015, 37(6): 547 - 551.
- [11] 曹晶, 刘鸣. 长链非编码 RNA 在喉癌中的研究进展 [J]. *医学综述*, 2017, 23(13): 2540 - 2543, 2548.
- [12] 张定富, 吴秋芳, 戈长征. miRNA-145 在喉癌中的表达及临床意义 [J]. *中国临床研究*, 2017, 30(1): 48 - 50.
- [13] 彭永华, 杨文飞, 卢绍伟, 等. miRNA 在喉癌中作用机制的研究进展 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2017, 31(14): 1134 - 1139.
- [14] Mishra S, Yadav T, Rani V. Exploring miRNA based approaches in cancer diagnostics and therapeutics [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2016, 98: 12 - 23.
- [15] 庄彪, 闵志均, 王廷峰, 等. miRNA-34a 对人结肠癌细胞 HCT116 增殖及侵袭转移的影响 [J]. *实用癌症杂志*, 2016, 31(2): 179 - 182, 186.
- [16] El Bezawy R, De Cesare M, Pennati M, et al. Antitumor activity of miR-34a in peritoneal mesothelioma relies on c-MET and AXL inhibition: persistent activation of ERK and AKT signaling as a possible cytoprotective mechanism [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1): 19.
- [17] Chen X, Chen XG, Hu XJ, et al. MiR-34a and miR-203 inhibit survivin expression to control cell proliferation and survival in human osteosarcoma cells [J]. *J Cancer*, 2016, 7(9): 1057 - 1065.
- [18] Ye J, Li LS, Feng PN, et al. Downregulation of miR-34a contributes to the proliferation and migration of laryngeal carcinoma cells by targeting cyclin D1 [J]. *Oncol Rep*, 2016, 36(1): 390 - 398.
- [19] Cao WG, Fan R, Wang LF, et al. Expression and regulatory function of miRNA-34a in targeting survivin in gastric cancer cells [J]. *Tumor Biol*, 2013, 34(2): 963 - 971.
- [20] 成兵, 吴信华. miR-34a 调控 Survivin 表达对膀胱癌细胞生物学行为的影响 [J]. *南通大学学报(医学版)*, 2012, 32(5): 381 - 385, 443.
- [21] 管海涛, 代志军, 马宇光, 等. 乳腺癌中 GRP78、Survivin 表达的相关性及与预后的关系 [J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(7): 1054 - 1057.
- [22] 杨光, 赵佳佳, 陈晏, 等. Bax、Survivin 及 Ki67 在喉癌中的表达及意义 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2017, 16(14): 1360 - 1363.
- [23] Wang JX, Zhang QJ, Pei SG, et al. Effect and mechanism of miR-34a on proliferation, apoptosis and invasion of laryngeal carcinoma cells [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2016, 9(5): 494 - 498.

收稿日期: 2019-05-26 修回日期: 2019-06-20 编辑: 王国品