

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.03.011

基于 *Keap1* 基因多态性的肾透明细胞癌分子标志物的研究

李燕妮¹, 齐士勇², 颜艳¹, 何振², 徐勇², 邹慧儒¹(1. 天津市口腔医院暨南开大学口腔医院 中心实验室, 天津 300041; 2. 天津医科大学第二医院 泌尿外科, 天津 300211)

[摘要] **目的:** 探讨 *Keap1* 基因单核苷酸多态性与肾透明细胞癌(clear cell renal cell carcinoma, ccRCC)的相关性,为临床诊疗提供有效的分子靶点。**方法:** 采集 ccRCC 组织 108 例与正常对照肾组织 86 例,采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)和基因测序技术检测 *Keap1* 基因单核苷酸多态性,判读两组样本基因型,实时荧光定量 PCR 法检测 *Keap1* 基因在两组中的表达情况。**结果:** *Keap1* 基因 rs1048289 的不同基因型与等位基因频率在肿瘤组和对照组之间的分布不同,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。AA 基因型及 A 等位基因携带者患肾透明细胞癌的风险明显升高,AA 基因型(OR = 2.292, 95% CI: 1.159 ~ 4.533, $P < 0.05$)及 A 等位基因(OR = 2.067, 95% CI: 1.280 ~ 3.342, $P = 0.001$)为肾透明细胞癌患病的危险因素。肿瘤组 *Keap1* 基因表达量比对照组明显降低($P < 0.05$),但不同基因型样本间 *Keap1* 基因表达量无明显差异($P > 0.05$)。**结论:** *Keap1* 基因 rs1048289 与肾透明细胞癌患病显著相关,有望成为肾透明细胞癌早期诊断与基因治疗的有效分子靶点。

[关键词] 单核苷酸多态性;肾透明细胞癌;分子标志物;早期诊断;基因治疗

[中图分类号] R737.1; R730.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2017)03-0278-06

Research on the molecular markers of clear cell renal cell carcinoma based on polymorphisms of the *Keap1* gene

LI Yanni¹, QI Shiyong², YAN Yan¹, HE Zhen², XU Yong², ZOU Huiru¹(1. Research Center, Stomatological Hospital of Nankai University and Tianjin Stomatological Hospital, Tianjin 300041, China; 2 Department of Urinary Surgery, The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin, 300211, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the correlation between single nucleotide polymorphism (SNP) of *Keap1* gene and clear cell renal cell carcinoma (ccRCC), and to provide an effective molecular target for the clinical diagnosis and treatment of the ccRCC. **Methods:** One hundred and eight carcinoma tissues from the patients with ccRCC (tumor group) and 86 normal renal tissues from the tumor-free individuals (control group) were collected. Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) and gene sequencing assays were used to detect NSP of the *Keap1* gene and genotype of the samples of the both groups. Expression status of the *Keap1* gene in the both groups were examined by real-time fluorescence quantitative PCR. **Results:** Distribution frequencies of the *Keap1* gene rs1048289 in different genotypes and alleles were statistically different between the tumor group and the control group ($P < 0.05$). Risk of ccRCC in the patients carrying AA genotype and A allele obviously increased, and AA genotype (OR = 2.292, 95% CI: 1.159 - 4.533, $P < 0.05$) and A allele (OR = 2.067, 95% CI: 1.280 - 3.342, $P < 0.01$) were risk factors of ccRCC. Expression of the *Keap1* gene in the patients of the tumor group was significantly lower than that in the patients of the control group ($P < 0.05$). But there was no obvious difference in expression of the *Keap1* gene among samples with different genotypes ($P < 0.05$). **Conclusion:** The *Keap1* gene rs1048289 could be significantly correlated with ccRCC, and could hopefully become an effective molecular target for early diagnosis and gene therapy of the patients with ccRCC.

[Key words] single nucleotide polymorphism (SNP); clear cell renal cell carcinoma (ccRCC); molecular marker; early diagnosis; gene therapy

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(3): 278-283. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.03.011]

[作者简介] 李燕妮(1980-),女,硕士,主治医师,主要从事肿瘤分子生物学与生物信息学研究,E-mail: liyanni_tj@126.com

[通信作者] 邹慧儒(ZOU Huiru, corresponding author),博士,副主任医师,硕士研究生导师,主要研究方向为分子生物学与组织工程学,E-mail: zouhuiru@163.com

[优先发表] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20170305.1504.022.html>

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)是泌尿系统常见的恶性肿瘤,约占成人全部恶性肿瘤的3%^[1]。世界范围内每年新发病例仍有209 000例,死亡病例可达102 000例,致死率居泌尿系恶性肿瘤首位^[2]。肾透明细胞癌(clear cell RCC, ccRCC)是成人RCC中最常见的亚型(75%)。散发的ccRCC是一种多基因疾病^[3,4],基因组异常与ccRCC的发生发展及预后密切相关^[5]。

单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)是人类遗传变异中最常见的类型,众多研究^[6-8]表明,SNP作为特异性分子标志物,对肿瘤的临床诊断、基因治疗及预后评估有着重要意义。*Keap1*是一个与胞质肌动蛋白结合的多肽,通过*Keap1*-Nrf2-ARE信号通路,参与抵抗氧化攻击和预防肿瘤形成^[9],已有研究^[10-11]报道其在肿瘤中存在异常表达。前期研究^[12]证实,*Keap1*基因位于19p13.2,由6个外显子和5个内含子组成。其编码序列中包含至少8个SNPs,其中rs1048289属于错义突变。rs1048289密码子第一个核苷酸由G变为A,导致所编码的氨基酸由天冬氨酸变为天冬酰胺,该突变可能通过调控/改变该基因的表达影响其在ccRCC中的作用。目前尚未见*Keap1*基因SNPs与ccRCC相关性的报道。本文旨在通过分析ccRCC患者*Keap1*基因SNP,初步探讨该基因在ccRCC中异常表达的分子机制,为精准医疗模式下ccRCC早期诊断及基因治疗提供新的分子靶点。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集天津医科大学第二医院泌尿外科2010年2月至2014年10月108例手术治疗并经病理确诊的ccRCC患者的ccRCC组织作为肿瘤组。其中男性76例、女性32例,年龄35~72岁(平均年龄51.5岁)。肿瘤直径0.6~15.6 cm(平均直径5.2 cm)。Furhman分级:I级28例、II级49例、III级20例、IV级11例。收集同期86例因肾结石、肾积水以及肾外伤行肾切除术并经病理诊断排除ccRCC,无肿瘤史及肿瘤家族史患者的正常肾组织作为对照组,其中男性51例、女性35例,年龄27~69岁(平均年龄46.6岁)。研究对象均签署知情同意书。标本采集与研究程序通过医院伦理委员会审批。

1.2 主要试剂与仪器

基因组DNA提取试剂盒(北京天为时代科技有限公司),柱式法Total RNA小量提取试剂盒(大

连宝生物工程有限公司),PrimeScript RT reagent Kit(大连宝生物工程有限公司)。

根据基因库中的基因序列,应用Primer Premier5.0进行引物设计。用于PCR反应扩增包括SNP位点在内的*Keap1*基因片段的引物序列为:5'-CTGAGCGACTGTTCGGAAGTA-3'(forward),下游引物5'-GGCCAAGCAAGAGGAGTTCT-3'(reverse);用于实时荧光定量PCR扩增*Keap1*基因mRNA的引物序列为:5'-CATCTACATGCATTTTGGGGAG-3'(forward);5'-TAGTCCTTGCAGCGGGAGTT-3'(reverse);内参GAPDH引物为:5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3'(forward);5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'(reverse)。引物合成由生工生物工程(上海)股份有限公司进行。

Trans-Blot转印槽(Bio-Rad Mini Trans-Blot,美国伯乐公司),核酸蛋白仪(Beckman DU800,美国贝克曼库尔特公司),凝胶成像系统(UVP EC3 310,美国UVP公司)。

1.3 基因组DNA与总RNA提取

分别按照基因组DNA提取试剂盒与柱式法Total RNA小量提取试剂盒说明书操作,提取肿瘤组和对照组样本的基因组DNA和总RNA,核酸蛋白仪检测DNA和RNA浓度。

1.4 PCR-RFLP技术分析*Keap1* rs1048289位点的SNP情况

根据前期研究结果选择错义突变的SNP位点rs1048289作为检测位点。以基因组DNA为模板,四种dNTP为底物,同时加入包括SNP位点的*Keap1*基因片段引物,PCR扩增包含待检SNP位点在内的*Keap1*基因片段,片段长度为378 bp。反应条件为95℃预变性5 min;95℃20 s,58℃30 s,72℃20 s,共30个循环;72℃延伸10 min。用限制性内切酶*Mse* I将PCR产物在65℃进行酶切反应。该内切酶可将产物片段在突变的等位基因A位点酶切,若为等位基因G则不能酶切。酶切反应产物进行琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像系统检测电泳结果。

1.5 ccRCC组织中*Keap1*基因的测序与分型

从PCR反应获取的*Keap1*基因样本中随机抽取10%进行基因测序,检测其rs1048289位点的基因突变情况,验证PCR-RFLP实验结果。双盲法判读两组样本的基因型和等位基因,计算基因型和等位基因频率。

1.6 实时荧光定量PCR检测ccRCC组织中*Keap1*基因mRNA水平

应用PrimeScript RT reagent Kit将总RNA逆转

录为 cDNA,在实时荧光定量 PCR 仪上进行热循环反应。PCR 反应体系(20 μl)包括 cDNA 1 μl ,上、下游引物各 0.5 μl ,SYBR Green 反应液 10 μl 以及高压纯水 8 μl 。反应条件为 95 ℃ 30 s;95 ℃ 5 s,58 ℃ 30 s,共 40 个循环。应用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因相对表达量。

1.7 统计学处理

应用 SPSS22.0 软件进行数据分析。样本的群体代表性 Hardy-Weinberg 平衡检验以及两组计数资料间差异的比较采用卡方检验,计量资料间的差异

比较采用单因素方差分析,条件性 Logistic 回归模型计算调整吸烟、饮酒等混杂因素后的 OR 值与 95% CI 评估相对风险度,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床资料比较

肿瘤组与对照组年龄与性别差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),但肿瘤组大量饮酒与吸烟者比例明显高于对照组 ($P < 0.05$) (表 1)。

表 1 两组病例的临床资料 [n(%)]
Tab.1 Clinical data of the patients in the two groups (n[%])

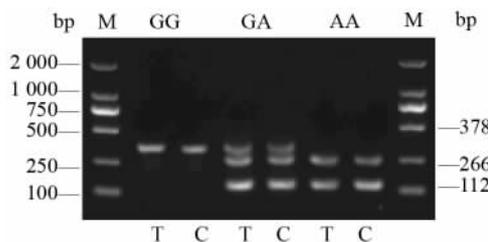
	Tumor group	Control group	χ^2	P
Age (t/a)				
≤50	50(46.3)	47(54.7)	1.337	0.248
>50	58(53.7)	39(45.3)		
Gender				
Male	76(70.4)	51(59.3)	2.594	0.107
Female	32(29.6)	35(40.7)		
Smoking status ^a				
None or few	55(50.9)	61(70.9)	7.969	0.005
A lot	53(49.1)	25(29.1)		
Drinking status ^b				
None or little	73(67.6)	72(83.7)	6.597	0.010
A lot	35(32.4)	14(16.3)		

a. None or few: Smoking amount ≤ 2 packs/d; A lot: Smoking amount >2 packs/d; b. None or little: Alcohol consumption ≤15 g/d; A lot: Alcohol consumption >15 g/d

2.2 两组样本 SNP 检测与基因分型

两组样本 *Keap1* 基因 rs1048289 的 PCR-RFLP 产物酶切后电泳检测结果(图 1)显示,经限制性内切酶 *Mse* I 酶切后,AA 基因型酶切为 112 bp 和 266 bp 两个片段,GA 基因型酶切为 112 bp、266 bp 与 378 bp 三个片段,GG 基因型基因片段不能酶切保持不变(378 bp)。两组分别随机抽取 10% 样本基因测序,测序结果与 PCR-RFLP 结果符合率为 100%。两组样本 *Keap1* 基因 rs1048289 的基因型与等位基因频率分布符合 Hard-Weinberg 平衡定律(图 2)。肿瘤组中 GG、GA、AA 基因型分别为 56、39 和 13 例,G 与 A 的等位基因频率分别为 69.9% (151/216)与 30.1% (65/216)。对照组中 GG、GA、AA 基因型分别为 59、24 和 3 例,G 与 A 的等位基因

频率分别为 82.6% (142/172)与 17.4% (30/172) (表 2)。



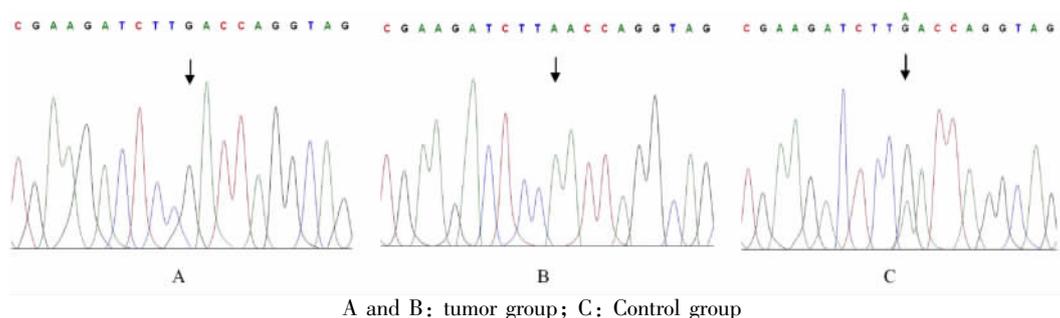
T: Tumor group; C: Control group

图 1 *Keap1* 基因 rs1048289 的 PCR-RFLP 检测电泳图
Fig.1 PCR-RFLP electropherogram of the *Keap1* rs1048289

2.3 两组样本 *Keap1* 基因 SNP 与 ccRCC 的相关性

经卡方检验, *Keap1* 基因 rs1048289 不同基因型 (GG, GA 与 AA) 与等位基因 (G 与 A) 频率在肿瘤组和对照组之间的分布不同 ($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。在调整了吸烟、饮酒等混杂因素后, Logistic

回归模型显示 *Keap1* 基因 rs1048289 的不同基因型和等位基因频率与 ccRCC 患病风险相关, AA 基因型及 A 等位基因携带者患 ccRCC 的风险明显升高, AA 基因型 ($P < 0.05$) 及 A 等位基因 ($P < 0.01$) 为 ccRCC 患病的危险因素 (表 2)。



A and B: tumor group; C: Control group

图 2 *Keap1* 基因 rs1048289 测序图

Fig. 2 Sequencing maps of the *Keap1* rs1048289

表 2 两组样本 *Keap1* 基因 rs1048289 基因型与等位基因频率分布 [n(%)]

Tab. 2 Frequency distribution of genotype and allele in the *Keap1* rs1048289 of the two groups [n(%)]

	Tumor group	Control group	χ^2	P	OR(95% CI)	P
Genotype						
GG	56(51.9)	59(68.6)	7.501	0.024	1(reference)	
GA	39(36.1)	24(27.9)			1.508(0.781 ~ 2.909)	0.221
AA	13(12.0)	3(3.5)			2.292(1.159 ~ 4.533)	0.017
Allele						
G	151(69.9)	142(82.6)	8.288	0.004	1(reference)	
A	65(30.1)	30(17.4)			2.067(1.280 ~ 3.342)	0.008

不同组别及基因型样本中 *Keap1* 基因 mRNA 表达情况 (表 3) 显示, 与对照组样本相比, 肿瘤组 *Keap1* 基因 mRNA 表达量显著降低 ($P < 0.05$), 即 *Keap1* 基因在 ccRCC 肿瘤组织中表达下调。然而不同基因型样本间 *Keap1* 基因 mRNA 表达量无明显差异 ($P > 0.05$), 表明 *Keap1* 基因 SNP(rs1048289) 对该基因表达没有显著影响。

3 讨论

近年来, ccRCC 的发病率与死亡率呈逐年上升趋势。尽管健康意识的提高和健康查体的普及使得部分 ccRCC 得以早期发现, 但仍有众多患者由于症状和体征出现较晚, 特异性差, 在确诊时即为晚期, 且合并肺、骨转移, 对于此类患者常规治疗方法包括手术、放化疗及术后免疫治疗等都效果欠佳^[13]。随

着精准医疗时代的到来, “精准医疗”理念迅速渗透至生命科学的各个研究领域。肿瘤分子标志物作为精准医疗模式下肿瘤临床诊疗方案实施的重要靶点, 在肿瘤临床诊断、基因治疗及预后评估中的重要作用受到越来越多学者的关注^[14-15]。

目前已有众多研究致力于 ccRCC 分子标志物的筛选鉴定, 为其早期诊断带来新的曙光^[16]。同时以此为基础的多种分子靶向治疗药物已上市并应用于临床, 如索拉非尼、舒尼替尼以 VEGFR、PDGFR、FLT-3 等为靶点, 抑制丝氨酸/苏氨酸激酶活性; 依维莫司通过抑制 mTOR 影响 PI3K-AKT-mTOR 信号转导通路, 从而发挥抗血管生成与抗肿瘤活性, 在 ccRCC 靶向治疗中取得了较好临床效果^[17-18], 预示了分子靶点在 ccRCC 诊疗方面的广阔应用前景。

Keap1-Nrf2 信号通路是机体抗氧化损伤的主要

生物学防御系统。在氧化应激状态下, Keap1 因半胱氨酸残基被氧化而发生变构, 使得 Nrf2 从 Keap1-Nrf2 复合物中解离出来, 由胞质转移至核内, 激活一系列细胞保护因子的转录过程。Keap1-Nrf2 介导的抗氧化应激对肿瘤发展的早期阶段至关重要^[9,19]。研究^[11,20]表明, 肿瘤中存在 Keap1 基因突变与基因表达异常, 笔者前期研究也证实 Keap1 基因编码序列存在多个 SNPs。

表3 Keap1 基因 mRNA 表达与 ccRCC 及 rs1048289 的相关性

Tab.3 Correlation of expression of the Keap1 mRNA with ccRCC and genotype of rs1048289

	<i>n</i>	Keap1 mRNA	<i>F</i>	<i>P</i>
Group				
Tumor	108	0.844 ± 0.034	156.682	<0.01
Control	86	0.940 ± 0.040		
Genotype				
GG	115	0.879 ± 0.051	2.068	>0.05
GA	63	0.868 ± 0.045		
AA	16	0.856 ± 0.052		

SNP 是基因组水平单个核苷酸变异所致的 DNA 序列多态性, 人类基因组中已有约 1 千万个 SNP 得到确认。由于其分布广泛、突变率低、易于高通量筛查, 被称为继限制性酶切片长度多态性和微卫星重复序列之后的第三代遗传分子标志^[21]。本研究检测了 Keap1 基因错义突变 SNP (rs1048289) 的基因型与等位基因频率在 ccRCC 肿瘤组与正常对照组中的分布情况, 发现不同基因型和等位基因频率在两组间的分布差异显著, 且与 ccRCC 患病风险相关, 基因型 AA 及等位基因 A 携带者患 ccRCC 的风险明显升高。Keap1 基因 rs1048289 可作为 ccRCC 疾病筛选、早期诊断与基因治疗的有效分子标志物用于 ccRCC 临床诊疗措施的制定与实施。

本研究还对 rs1048289 在 Keap1 基因表达与 ccRCC 发生发展过程中可能的作用机制进行了初步探讨。不同组别之间 Keap1 基因 mRNA 的表达差异有统计学意义, 肿瘤组 Keap1 基因 mRNA 的表达量明显低于正常对照组。Huo 等^[22]研究表明在肿瘤细胞中 Keap1 基因 mRNA 表达量降低, 对 Nrf2 的控制力减弱, 导致大量 Nrf2 进入胞核, 启动其下游因子的转录与活化, 保护肿瘤细胞对抗氧化应激损伤。

对于 rs1048289 是否通过改变 Keap1 基因 mRNA 表达而在 ccRCC 的发生发展过程发挥作用, 本研究结果显示不同基因型之间 Keap1 基因 mRNA 的表达量有下降趋势, 但差异没有统计学意义, 因此尚无法得出 rs1048289 与 Keap1 基因 mRNA 表达之间的相关性。然而 Hartikainen 等^[23]发现, 发生于 Keap1 与 Nrf2 结合区域的基因突变由于影响了 Keap1 与 Nrf2 的相互识别与结合, 从而降低了 Keap1 对 Nrf2 的控制力, 提示 rs1048289 也可能通过此途径在 ccRCC 中发挥作用, 而与 Keap1 基因 mRNA 表达无关。

综上所述, Keap1 基因 SNP (rs1048289) 有望成为 ccRCC 早期诊断与基因治疗的有效分子靶点, 基因型 AA 及等位基因 A 是 ccRCC 患病的危险因素, 为 ccRCC 的精准诊疗提供了新的思路; 该 SNP 可能通过改变 Keap1 蛋白构型或表达量发挥作用, 更确切的结论有待于扩大样本量进一步研究。

[参考文献]

- [1] SIEGEL R, NAISHADHAM D, JEMAL A. Cancer statistics, 2013[J]. CA Cancer J Clin, 2013, 63(1): 11-30. DOI: 10.3322/caac.21166.
- [2] AUDENET F, CANCEL-TASSIN G, BIQOT P, et al. Germline genetic variations at 11q13 and 12p11 locus modulate age at onset for renal cell carcinoma[J]. J Urol, 2014, 191(2): 487-492. DOI:10.1016/j.juro.2013.07.064.
- [3] PEI J, FEDER M M, AL-SALEEM T, et al. Combined classical cytogenetics and microarray-based genomic copy number analysis reveal frequent 3;5 rearrangements in clear cell renal cell carcinoma[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2010, 49(7):610-619. DOI: 10.1002/gcc.20771.
- [4] LESSL F, MAZZANTI C M, TOMEI S, et al. VHL and HIF-1: gene variation and prognosis in early-stage clear cell renal cell carcinoma[J]. Med Oncol, 2014, 31(3): 840. DOI: 10.1007/s12032-014-0840-8.
- [5] PIVA F, GIULIETTI M, OCCHIPINTI G, et al. Computational analysis of the mutations in BAP1, PBRM1 and SETD2 genes reveals the impaired molecular processes in renal cell carcinoma[J]. Oncotarget, 2015, 6(31): 32161-32168. DOI: 10.18632/oncotarget.5147.
- [6] KETTNER N M, KATCHY C A, FU L. Circadian gene variants in cancer[J]. Ann Med, 2014, 46(4): 208-220. DOI: 10.3109/07853890.2014.914808.
- [7] ISHIKAWA T. Genetic polymorphism in the NRF2 gene as a prognosis marker for cancer chemotherapy[J]. Front Genet, 2014, 5: 383. DOI: 10.3389/fgene.2014.00383.
- [8] HO C C, MUN K S, NAIDU R. SNP array technology: an array of hope in breast cancer research[J]. Malays J Pathol, 2013, 35(1): 33-43.
- [9] JARAMILLO M C, ZHANG D D. The emerging role of the Nrf2-Keap1 signaling pathway in cancer[J]. Genes Dev, 2013, 27

- (20):2179-2191. DOI: 10.1101/gad.225680.113.
- [10] LIEW P L, HSU C S, LIU W M, et al. Prognostic and predictive values of Nrf2, Keap1, p16 and E-cadherin expression in ovarian epithelial carcinoma[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5): 5642-5649. PMID:PMC4503147.
- [11] ISOHOOKANA J, HAAPASSAARI K M, SOINI Y, et al. Keap1 expression has independent prognostic value in pancreatic adenocarcinomas[J/OL]. *Diagn Pathol*, 2015, 10: 28[2017-01-29]. <http://www.diagnosticpathology.diagnomax.eu/vs/4220521801406476>. DOI: 10.1186/s13000-015-0258-4.
- [12] 李燕妮, 齐士勇. *Keap1* 基因多态性与肾透明细胞癌的相关性研究[C]. 天津市生物医学工程学会第三十五届学术年会论文集:93. (天津市生物医学工程学会第三十五届学术年会, 天津, 宝坻, 2015)
- [13] CZARNECKA A M, KORNAKIEWICZ A, KUKWA W, et al. Frontiers in clinical and molecular diagnostics and staging of metastatic clear cell renal cell carcinoma[J]. *Future Oncol*, 2014, 10(6):1095-1111. DOI:10.2217/fon.13.258.
- [14] PENET M F, KRISHNAMACHARY B, CHEN Z, et al. Molecular imaging of the tumor microenvironment for precision medicine and therapeutics[J]. *Adv Cancer Res*, 2014, 124: 235-256. DOI: 10.1016/B978-0-12-411638-2.00007-0.
- [15] AFTIMOS P G, BARTHELEMY P, AWADA A. Molecular biology in medical oncology: diagnosis, prognosis, and precision medicine[J]. *Discov Med*, 2014, 17(92): 81-91. PMID: 24534471.
- [16] MAIER W, KLUZEK K, BLUYSSSEN H, et al. Potential approaches and recent advances in biomarker discovery in clear-cell renal cell carcinoma[J]. *J Cancer*, 2015, 6(11): 1105-1113. DOI: 10.7150/jca.12145.
- [17] HUTSON T E. Targeted therapy for renal cell carcinoma: a new treatment paradigm[J]. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*, 2007, 20(3): 244-248. PMID: PMC1906573.
- [18] NAJJAR Y G, RINI B I. Novel agents in renal carcinoma: a reality check[J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2012, 4(4):183-194. DOI: 10.1177/1758834012443725.
- [19] KANSANEN E, KUOSMANEN S M, LEINONEN H, et al. The Keap1-Nrf2 pathway: Mechanisms of activation and dysregulation in cancer[J]. *Redox Biol*, 2013, 1(1): 45-49. DOI: 10.1016/j.redox.2012.10.001.
- [20] HAST B E, CLOER E W, GOLDFARB D, et al. Cancer-derived mutations in KEAP1 impair NRF2 degradation but not ubiquitination[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(3): 808-817. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1655.
- [21] OVERDEVEST J B, THEODORESCU D, LEE J K. Utilizing the molecular gateway: the path to personalized cancer management[J]. *Clin Chem*, 2009, 55(4): 684-697. DOI: 10.1373/clinchem.2008.118554.
- [22] HUO L, LI C W, HUANG T H, et al. Activation of Keap1/Nrf2 signaling pathway by nuclear epidermal growth factor receptor in cancer cells[J]. *Am J Transl Res*, 2014, 6(6): 649-663. PMID: PMC4297334.
- [23] HARTIKAINEN J M, TENGSTROM M, WINQVIST R, et al. KEAP1 genetic polymorphisms associate with breast cancer risk and survival outcomes[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(7): 1591-1601. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-14-1887.
- [收稿日期] 2016-09-22 [修回日期] 2017-01-29
[本文编辑] 宋关鸿

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《中国肿瘤生物治疗杂志》关于抵制学术不端行为的声明

中国广大科技工作者坚持严谨求实、刻苦钻研、勇于创新的科学精神,取得了举世瞩目的科技成果,代表了中国科技工作者的主流。然而,近年来少数科技人员出现了抄袭剽窃、伪造数据、篡改数据、虚假署名、一稿多投等学术不端行为,影响了科技期刊的正常出版工作,给作者及其所在单位甚至我们国家带来非常负面的影响。《中国肿瘤生物治疗杂志》是中国肿瘤生物治疗领域唯一的高级学术刊物,一贯坚持“学术至上,质量第一”的原则,坚决抵制学术不端行为,努力维护学术纯洁性。为维护学术道德、保证期刊质量和学术声誉,本刊特作以下声明:

1. 作者投稿时须作出稿件无学术不端行为的声明;
2. 稿件审查过程中,本刊编辑部将采用“学术不端文献检测系统”,通过大量国内外学术文献的全文比对,对稿件进行学术不端行为的检查;
3. 本刊已加入“《中国学术文献网络出版总库》学术不端文献检测系统”,该系统协助本刊对已发表论文的学术不端行为进行全面复核;
4. 坚决贯彻执行国家七部委联合发表的《发表学术论文“五不准”》的规定,一旦发现学术论文有“五不准”其中之一的行为,立即退稿或撤稿,并将论文作者列入黑名单;
5. 已发表的论文一经查实有学术不端行为,本刊将立即删除,第一时间刊登撤销声明,终止该论文在各相关数据库、文摘库中的传播,尽快消除不良影响。同时,视情节轻重分别给该文作者以下处理:书面警告,通知作者所在单位,在本领域相关期刊间通报,2年内本刊不刊登有其署名的稿件,相关学术责任人(通信作者)署名的其他稿件延缓审稿和刊登等。

(本刊编辑部)