

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.05.005

miR-145 抑制 *c-Myc* 基因表达对鼻咽癌细胞增殖的影响

陈红兵^{1,2}, 黄海平³, 刘霞^{1,2}, 雷哲^{1,2,Δ}, 刘济生^{1,3} (1. 苏州大学基础医学与生物科学学院遗传学系, 江苏苏州 215123; 2. 苏州大学癌症分子遗传学实验室, 江苏苏州 215123; 3. 苏州大学附属第一医院耳鼻喉科, 江苏苏州 215006)

[摘要] **目的:** 探究 miR-145 影响鼻咽癌细胞增殖可能的机制。**方法:** 采用 Real-time PCR 法检测鼻咽癌细胞株 CNE-1、CNE-2、CNE-2Z 和鼻咽部永生上皮细胞株 NP69 中 miR-145 和 *c-Myc* 的 mRNA 表达水平, Western blotting 法检测 *c-Myc* 的蛋白表达水平, 双荧光素酶报告基因实验检测 miR-145 与基因 *c-Myc* 的关系。分别将 miR-Negative control、miR-145 mimics 和 si-NC、si-*c-Myc* 转染进入 CNE-1 细胞, 采用 Real-time PCR 及 Western blotting 法检测转染效果, CCK-8 法检测转染后细胞的增殖情况, 以及碘化丙啶 (IP) 染色流式细胞术检测细胞周期情况。**结果:** miR-145 在鼻咽癌细胞系中明显低表达。转染 miR-145 后明显抑制 CNE-1 细胞的增殖 [3 d: (1.03 ± 0.02) vs (1.21 ± 0.02), $P < 0.05$]; [4 d: (1.79 ± 0.02) vs (2.09 ± 0.07), $P < 0.01$] 和导致 G₁ 期阻滞 [(79.57 ± 1.47)% vs (69.98 ± 1.16)% , $P < 0.05$]。miR-145 可以直接作用于 *c-Myc* 的 3' UTR 区域, 抑制 *c-Myc* 的转录和表达。*c-Myc* 下调可明显抑制 CNE-1 细胞的增殖 [3 d: (0.80 ± 0.02) vs (1.02 ± 0.01), $P < 0.01$]; [4 d: (1.68 ± 0.4) vs (1.92 ± 0.07), $P < 0.01$], 并致 G₁ 期阻滞 [(63.73 ± 1.81)% vs (54.10 ± 2.26)% , $P < 0.05$]。**结论:** miR-145 通过靶向作用于 *c-Myc* 的 3' UTR 区来抑制鼻咽癌细胞的增殖, 对更深入探索鼻咽癌的诊断和治疗有着重要意义。

[关键词] 鼻咽癌; miR-145; *c-Myc*; 增殖; 细胞周期

[中图分类号] R739.63; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)05-0578-06

Effect of miR-145-inhibited *c-Myc* expression on nasopharyngeal carcinoma cell proliferation

Chen Hongbing^{1,2}, Huang Haiping³, Liu Xia^{1,2}, Lei Zhe^{Δ1,2}, Liu Jisheng³ (1. Department of Genetics, School of Biology and Basic Medical Sciences, Soochow University, Suzhou 215123, Jiangsu, China; 2. Laboratory of Cancer Molecular Genetics, Soochow University, Suzhou 215123, Jiangsu, China; 3. Department of Ear-Nose-Throat, First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, Jiangsu, China)

[Abstract] **Objective:** The aim of this study was to investigate the possible mechanisms underlying the effect of miR-145 on the proliferation in nasopharyngeal carcinoma (NPC) cells. **Methods:** Protein and mRNA levels of miR-145 and *c-Myc* mRNA and protein were determined in 3 NPC cell lines (CNE-1, CNE-2 and CNE-2Z) and one immortalised nasopharyngeal epithelial cell line (NP69) by Western blotting and Real-time PCR respectively. To evaluate the effect of miR-145 on *c-Myc* transcript and proliferation in NPCs, CNE-1 cells were transfected with microRNA mimics and small interfering RNA using Lipofectamine™ 2000. Transfectants were subjected to proliferative activity assessment using Cell Counting Kit-8 assay and cell cycle arrest analysis by propylidide organism (PI) staining. **Results:** The expression of miR-145 in was down regulated but *c-Myc* expression was up-regulated in all NPC cell lines studied as compared with NP69 cells. After Transfection of miR-145 mimics resulted in significant growth-suppression ($P < 0.01$) and a significant increase in

[基金项目] 江苏省高校自然科学基金资助项目 (No. 14KJB310017); 苏州市国际科技合作计划国际技术引进与合作创新基金资助项目 (No. SH201209)。Project supported by the Natural Science Foundation of Jiangsu Higher Education Institutions (No. 14KJB310017), and the Innovation Project of Suzhou International Technology Transfer and Cooperation (No. SH201209)

[作者简介] 陈红兵 (1990 -), 男, 安徽省宿州市人, 硕士生, 主要从事肿瘤分子与表观遗传学研究, E-mail: chenhb1990@126.com

[通信作者] 刘济生 (Liu Jisheng, co-corresponding author), E-mail: ljswwq@sina.com; 雷哲 (Lei Zhe, corresponding author), E-mail: leizhe@suda.edu.cn. Δ共同通讯作者。

[优先发表] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20151017.1617.008.html>

cell cycle arrest in G_1 phase ($P < 0.05$). Knock down of c-Myc significantly inhibited CNE-1 cell proliferation ($P < 0.01$), and resulted in increased accumulation of CNE-1 cells in G_1 phase ($P < 0.05$). Furthermore, miR-145 inhibited c-Myc expression in CNE-1 cells by directly affecting the 3' untranslated region (3'UTR) of the c-Myc gene. **Conclusion:** miR-145 may inhibit NPC cell proliferation, possibly through a direct effect on the c-Myc 3' UTR region. This observation may have significant implications in the diagnose and treatment of NPC.

[**Key words**] nasopharyngeal carcinoma; miR-145; c-Myc; proliferation; cell cycle

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(5): 578-583]

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)是一种具有高发生率的恶性肿瘤,也是我国常见的头颈部恶性肿瘤之一,以高浸润性和转移性为特性^[1],目前认为其发病机制与EB病毒感染、化学致癌物及遗传易感基因等密切相关^[2]。鼻咽癌的治疗目前仍以放疗为主,但由于放疗后易发生局部复发和远处转移而影响患者生存率^[3]。

MicroRNA(miRNA)是一类长度为19~25核苷酸且本身不编码蛋白却在多种层面上调控基因表达的RNA。miRNA在肿瘤的发生、发展中发挥着重要的作用,包括影响肿瘤的分化、增殖、转移、复发及肿瘤对药物的敏感性等^[4]。已有报道^[5-9],miR-145在多种肿瘤中发挥着抑制肿瘤的作用,如肠癌、肾癌、卵巢癌、肝癌及头颈部肿瘤等。研究^[10-11]证实,在食管癌、非小细胞肺癌等中miR-145能通过靶向作用于c-Myc抑制肿瘤的增殖,但miR-145对鼻咽癌细胞上的c-Myc表达调控和对鼻咽癌细胞生物学特性的影响需要进一步研究。因此,本课题组开展此研究对于鼻咽癌相关发病及转移机制方面的深入探索意义深远。

1 材料与方 法

1.1 细胞株与主要试剂

鼻咽癌细胞株(CNE-1、CNE-2和CNE-2Z)及鼻咽部永生上皮细胞株(NP69)由苏州大学基础医学与生命科学院细胞与基因工程实验室提供,由本实验室冻存。实验所需的角化细胞无血清培养基和胎牛血清购自美国Gibco公司,RPMI 1640培养基购自Hyclone公司,TRIzol试剂购自中国大连TaKaRa公司,PCR中所需试剂及转染试剂Lipofectamine™2000为美国Invitrogen公司产品,质粒提取试剂盒、凝胶切胶回收纯化试剂盒为天根生化试剂公司产品,MiR-145类似物、si-c-Myc及相应的阴性对照均购自上海吉玛制药技术公司。荧光素酶双报告基因检测系统为美国Promega公司产品,兔抗人c-Myc和鼠抗人 β -actin单克隆抗体和CCK-8试剂盒购自上海前生生物科技有限公司,细胞周期试剂盒购自碧云天公司。实

验所使用的引物和质粒、突变质粒等产品由苏州金唯智公司合成。实时定量PCR仪(Applied Biosystems 7500型)购自美国Applied Biosystems公司。

1.2 细胞培养和CNE-1细胞转染

上述4株细胞株均用RPMI 1640培养基培养,含10%胎牛血清、0.1%双抗(100 U/ml青霉素和100 μ g/ml链霉素)。在细胞处于最佳状态时进行后续的蛋白、RNA抽提以及转染等实验。在转染CNE-1细胞时,待细胞培养瓶里的细胞密度达到70%~80%时,用胰酶消化,收集细胞,用3 ml RPMI 1640 10%培养基重悬细胞,吹打均匀后在6孔板里铺板,每孔加300~400 μ l细胞重悬液,最后用RPMI 1640培养基补足至2~2.5 ml,轻轻摇动6孔板,细胞混合均匀后,放置37℃培养箱继续培养。待6孔板里的细胞融合度达到70%~90%时(约铺板24 h后)进行细胞转染。实验分3组:第一组包括miR-NC和miR-145,第二组包括共转染的miR-NC+c-Myc-UTR、miR-145+c-Myc-UTR、miR-NC+Mut、miR-145+Mut,第三组包括si-NC和si-c-Myc。按照Invitrogen公司的Lipofectamine™2000转染试剂盒说明书操作,按siRNA和mimics 4 μ l/孔、脂质体5 μ l/孔的量将两者分别加入到200 μ l无双抗以及血清的RPMI 1640培养基中混匀,室温静置5 min。然后两者混匀,室温静置20 min后,将混合液缓慢加入培养板,放到培养箱培养,用于后续实验。

1.3 Western blotting法检测miR-145和si-c-Myc转染CNE-1细胞对c-Myc蛋白表达的影响

用PBS清洗转染后的细胞,用细胞裂解液、蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂按比例为100:1:1配置的混合液裂解细胞,冰浴20 min后收集裂解上清,测定蛋白浓度,进行SDS-PAGE,并转至PVDF膜,TBST洗涤,室温封闭1 h,一抗孵育4℃过夜,TBST洗涤4次,二抗孵育2 h,TBST洗涤4次后,ECL化学发光及显影。每个实验均重复3次。

1.4 Real-time PCR法检测鼻咽癌细胞株中miR-145和c-Myc mRNA的表达

在PBS清洗两次之后的鼻咽癌细胞株中加入

预冷的 TRIzol 静置 10 min, 加入氯仿分层, 12 000 × *g*, 4 °C 离心 15 min, 取上清加入等量异丙醇, 混匀静置 12 000 × *g*, 4 °C 离心 15 min, 可见管底 RNA, 用 DEPC 配置的 75% 乙醇纯化 RNA 离心两次并干燥后, 用 DEPC 水溶解 RNA, 测 RNA 浓度。

按照 Invitrogen 公司 18080051 反转录试剂盒说明书, 将 1 μl RNA、1 μl 引物、1 μl 10 mmol dNTP 和 9 μl DEPC 水混合物于 65 °C 加热 5 min 后置于冰上迅速冷却离心, 加入 4 μl 5XF、2 μl DTT 和 1 μl DEPC 水, 混匀离心, 室温下加入 Mlv 逆转录酶混匀离心 2 min, 孵育 25 °C 10 min、37 °C 50 min、70 °C 15 min 后终止反应, 测 cDNA 浓度。将 20 μl 体系 (2 μl cDNA, 9 μl SYBR Green, 0.2 μl 引物 F, 0.2 μl 引物 R, 8.6 μl 无菌水) 加入 96 孔板进行 Real-time PCR, 检测鼻咽癌细胞株中 miR-145 和 *c-Myc* mRNA 的表达。各引物序列如下: miR-145-5p 上游引物, GTGCTTTGTGGAGGGTACTTCAT; 下游引物, CGACGGTCCAGTTTCCCA; *U6* 上游引物, CGAGCACAGAATCGCTTCA; *U6* 下游引物, CTCGCTTCGCGAGCACATAT; *c-Myc* 上游引物, AGCGACTCTGAGGAGGAACAAG; *c-Myc* 下游引物, GTGCCACTCTTGAGGACCA; β -*actin* 上游引物, GGCCGAGGACTTTGATTGCACATT; β -*actin* 下游引物, AGGATGGCAAGGGACTTCCTGTAA。95 °C 预变性 10 min, 95 °C 15 s, 60 °C 1 min 进行 35 个循环, 72 °C 延伸 10 min。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Ct 为循环阈值) 方法进行相对定量分析, miRNA-145 以 *U6* 为内参, *c-Myc* 以 β -*actin* 为内参。每个实验均重复 3 次。

1.5 双荧光素酶报告基因分析检测 miR-145 对 *c-Myc*-3' UTR 活性的影响

合成 *c-Myc* 3' -UTR 目的基因, 并将基因插入 psiCHECK-2 质粒构建重组质粒野生型 psiCHECK-2-*c-Myc* 3' -UTR。对 miR-145 与 *c-Myc* 3' -UTR 结合处的 9 个碱基中的 7 个碱基进行定点突变, 突变后得到的新的质粒命名为 Mut。在 CNE-1 细胞中共转染 miR-145 /miR-NC 和 psiCHECK-2-*c-Myc* 3' -UTR/Mut, 48 h 后按双荧光素酶报告基因检测试剂盒方法检测双荧光素酶报告基因活性。每个独立实验均重复 3 次。

1.6 碘化丙啶 (IP) 染色流式细胞术检测 miR-145 和 si-*c-Myc* 转染对 CNE-1 细胞周期的影响

取转染 miR-145 和 si-*c-Myc* 以及相应对照 48 h 后的 CNE-1 细胞, 胰酶消化细胞, PBS 洗涤细胞, 预冷的 70% 乙醇固定细胞 24 h, 离心弃上清, PBS 洗涤细胞, 离心弃上清后每管加入 0.5 ml 碘化丙啶染

色液 (染色缓冲液, 碘化丙啶染色液 (20 ×), RNase A (50 ×) 重悬细胞沉淀, 37 °C 避光温浴 30 min。用流式细胞仪在激发波长 488 nm 波长处检测红色荧光。每个实验均重复 3 次。

1.7 CCK-8 法检测 miR-145 和 si-*c-Myc* 转染对 CNE-1 细胞增殖的影响

取转染 miR-145 mimics 以及相应对照 24 h 后的 CNE-1 细胞, 分别接种于 4 个 96 孔培养板中, 每孔种植约 3×10^3 个细胞, 100 μl/孔, 每个样本设置 4 个复孔。将培养板在培养箱孵育一段适当的时间 (0、24、48 或 72 h) 后加入 CCK-8 溶液 (注意不要在孔中生成气泡), 再孵育 2 h, 在酶标仪上 450 nm 处检测各孔光密度 (D) 值, 并绘制转染 miR-NC 和 miR-145 mimics 以及 si-NC 和 si-*c-Myc* 的 CNE-1 细胞株生长曲线。每个实验均重复 3 次。

1.8 统计学处理

采用 Graphpad 5.02 软件, 计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 鼻咽癌细胞株中 miR-145 和 *c-Myc* 的表达

Real-time PCR 和 Western blotting 方法检测结果 (图 1) 显示: miR-145 在正常细胞株 NP69 中高表达, 鼻咽癌细胞株中均低表达 (图 1A); *c-Myc* 在正常细胞株 NP96 中低表达, 鼻咽癌细胞株中均高表达 (图 1B)。

2.2 miR-145 在 CNE-1 细胞中通过靶向 *c-Myc*-3' UTR 下调 *c-Myc* 的表达

根据生物学软件预测, *c-Myc*-3' UTR 上有与 miR-145 不完全互补的碱基序列, 将 miR-145 mimics 与融合 *c-Myc*-3' UTR 的表达质粒 psiCHECK-2-*c-Myc*-3' UTR 共转染 CNE-1 细胞, 双荧光素酶报告基因分析结果 (图 2A) 显示, 其荧光素活性表达明显受到抑制; 而转染 miR-NC 和 psiCHECK-2 的荧光素活性几乎没有变化; 同样, 共转染 miR-145 mimics 和 psiCHECK-2-*c-Myc*-Mut 后, CNE-1 细胞的荧光活性也未受到抑制。结果提示, miR-145 能够结合 *c-Myc* 的 3' UTR 区。Real-time PCR 和 western blotting 检测 miR-145 在 CNE-1 细胞中对内源 *c-Myc* mRNA 和蛋白的影响, 结果 (图 2B) 显示, 与转染 miR-NC 的 CNE-1 细胞株相比, 转染 miR-145 mimics 的 CNE-1 细胞株的 *c-Myc* mRNA 和蛋白的表达水平都下调, 且具有显著意义。结果提示, miR-145 能够下调 *c-Myc* 的表达。综上结果说明, miR-145 是通过靶向

作用 c-Myc 的 3' UTR 区下调 c-Myc 的表达。

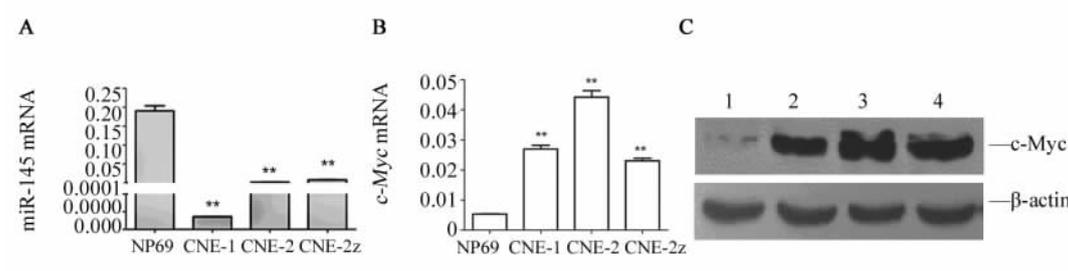


图1 miR-145 (A) 和 c-Myc (B) 在鼻咽癌细胞株和正常细胞株 NP69 中的表达水平

Fig. 1 Levels of miR-145 (A) and c-Myc (B) in NPC cell strains and NP69 cells

1: Np96; 2: CNE-1; 3: CNE-2; 4: CNE-2z

** $P < 0.01$ vs NP69 group

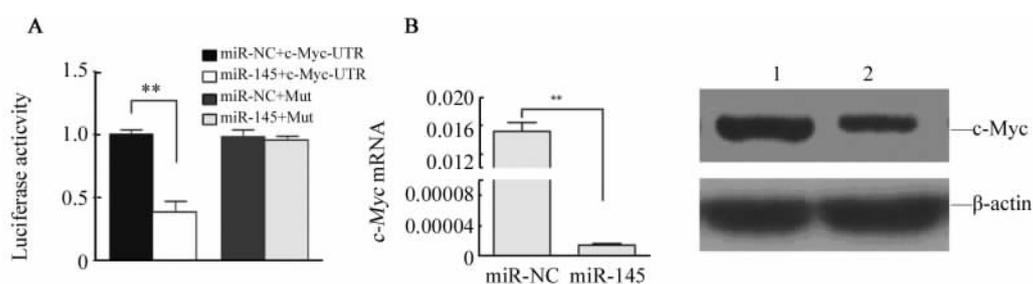


图2 miR-145 通过靶向 c-Myc 的 3' UTR 下调 c-Myc mRNA 和蛋白表达

Fig. 2 miR-145 inhibited the c-Myc expression in CNE-1 cells through targeting the 3' UTR of c-Myc

A: c-Myc promoter activity assessed by luciferase assay; B: RT-PCR analysis of c-Myc mRNA abundance.

1: c-Myc protein level after transfection miR-NC in CNE-1; 2: c-Myc protein level after transfection miR-145 mimics in CNE-1

** $P < 0.01$ vs miR-NC group

2.3 miR-145 和 c-Myc 对 CNE-1 细胞周期的影响

碘化丙啶流式细胞术检测结果显示,与转染 miR-NC 的 CNE-1 细胞株相比,转染 miR-145 的 CNE-1 细胞中的 DNA 合成受到抑制,阻止 CNE-1 细胞从 G_0/G_1 期进入 S 期,使 G_0/G_1 期细胞百分比增多[(79.57 ± 1.47)% vs (69.98 ± 1.16)% , $P < 0.05$], S 期的百分比减少[(16.34 ± 1.81)% vs (23.58 ± 1.32)% , $P < 0.05$](图 3)。与转染 si-NC 的 CNE-1 细胞株相比,转染 si-c-Myc 的 CNE-1 细胞中的 DNA 同样合成受到抑制,使 G_0/G_1 期细胞百分比增多[(63.73 ± 1.81)% vs (54.10 ± 2.26)% , $P < 0.05$], S 期的百分比减少[(30.43 ± 1.43)% vs (39.13 ± 2.23)% , $P < 0.05$](图 4)。实验结果提示,miR-145 使 CNE-1 细胞停滞在 G_0/G_1 期,而 c-Myc 促进 CNE-1 细胞越过 G_0/G_1 期,加速进入 S 期。

2.4 miR-145 和 c-Myc 对 CNE-1 细胞增殖的影响

CCK-8 法检测后绘制生长曲线,结果(图 5)显

示,与转染 miR-NC 的 CNE-1 细胞株相比,转染 miR-145 mimics 的 CNE-1 细胞株的增殖速率明显受到抑制[(1.79 ± 0.02) vs (2.09 ± 0.07) , $P < 0.01$]。同样与转染 si-NC 的 CNE-1 细胞株相比,转染 si-c-Myc 的 CNE-1 细胞株的增殖速率明显受到抑制[(1.68 ± 0.04) vs (1.92 ± 0.07) , $P < 0.01$]。由此推知 miR-145 抑制 CNE-1 细胞增殖,而 c-Myc 促进 CNE-1 细胞增殖。

3 讨论

随着表观遗传学的发展,miRNA 在多种疾病中的作用越来越受到重视。大多数肿瘤中都存在着 miRNA 的异常表达,miRNA 作为一种单链的非编码 RNA,通常是通过与靶 mRNA 的 3' UTR 区发生碱基互补配对,影响其稳定性,来实现对目的基因的转录或转录后调控,在多种癌症的发生发展过程中发挥着不可或缺的作用^[12-13]。在卵巢癌研究^[5]中发现,miR-145 通过减少 CDK6 和 SP1 的表达来抑制卵巢

癌细胞的增殖。在头颈癌研究^[6]中发现, miR-145 通过靶向 SOX9/ADAM17 达到抑制肿瘤细胞增殖的目的。而且, Noh 等^[7]发现, miR-145 也能通过抑制组蛋白乙酰化酶 2 抑制肝癌的发生发展。c-Myc 作为原癌基因家族中的一个成员, 主要通过调控细胞周期促进肿瘤的发生发展。c-Myc 能激活大量细胞 G₀ 期细胞提前进入细胞周期, 细胞向 S 期转变, 正

向调控细胞周期^[14]。c-Myc 在多种恶性肿瘤中高表达, 如胃癌、非小细胞肺癌、食管癌、结肠癌等^[15-17]。本研究显示 miR-145 在正常细胞株 NP69 中高表达, 鼻咽癌细胞株中低表达, 而 c-Myc 在正常细胞株 NP96 中低表达, 鼻咽癌细胞株中高表达。这也与上述肿瘤中结果相一致。

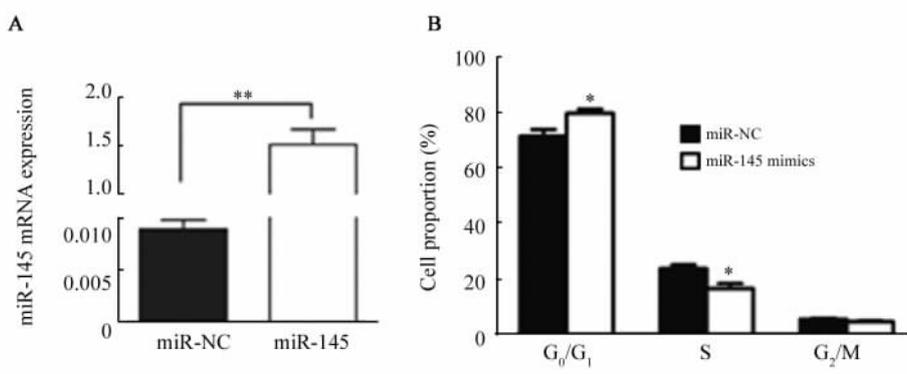


图3 miR-145 使 CNE-1 细胞周期停滞在 G₀/G₁ 期

Fig. 3 Effect of miR-145 overexpression on cell cycle arrest in G₀/G₁ phase in CNE-1 cells

A: miR-145 transfection increased miR-145 expression in CNE-1 cells; B: Change of CNE-1 cell cycle after miR-145 transfection
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs miR-NC group

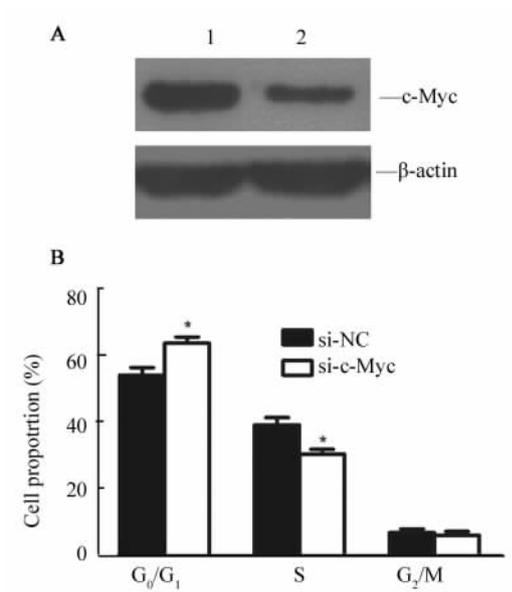


图4 si-c-Myc 使 CNE-1 细胞周期停滞在 G₀/G₁ 期

Fig. 4 si-c-Myc transfection arrested CNE-1 cell cycle in G₀/G₁ phase

1: c-Myc protein level after transfection si-NC in CNE-1;
2: c-Myc protein level after transfection si-c-Myc in CNE-1
* $P < 0.05$ vs si-NC group

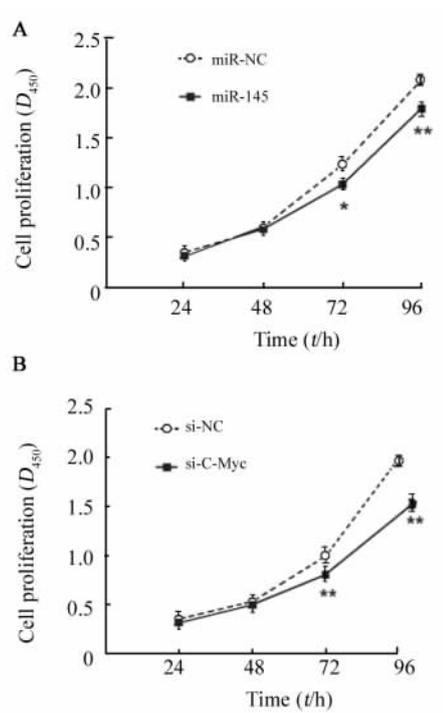


图5 miR-145(A)和-c-Myc(B)对 CNE-1 细胞增殖的影响

Fig. 5 Impact of miR-145 (A) and c-Myc (B) on CNE-1 cell proliferation

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs miR-NC group or si-NC group

有研究报道,在非小细胞肺癌^[10]、食管癌^[11]、结肠癌^[18]等肿瘤中 miR-145 能通过靶向作用于 c-Myc 抑制肿瘤的增殖。本研究通过双荧光素酶报告基因检测结果发现,miR-145 能通过靶向作用 c-Myc 的 3' UTR 区,从而降低 c-Myc 的表达,抑制鼻咽癌细胞的增殖,这与上述肿瘤中研究结果相一致。

而且,本研究通过流式细胞术检测细胞周期发现,转染 miR-145 的 CNE-1 细胞与干扰 c-Myc 的 CNE-1 细胞株的细胞周期均被阻滞于 G₁ 期,进入 S 期的细胞明显减少,进一步说明了 miR-145 能通过抑制 c-Myc 的表达阻止细胞分裂增殖,发挥抑制鼻咽癌的作用。

本研究结果表明,miR-145 通过靶向作用于 c-Myc 的 3' UTR 区,从而抑制鼻咽癌细胞的增殖,这一机制可为鼻咽癌的诊断治疗提供一个新的方向。

[参 考 文 献]

- [1] 邓泽锋,钟睿.鼻咽癌转移相关分子标志物的研究进展 [J]. 实用癌症杂志, 2010, 25(2): 206-208.
- [2] Lo KW, To KF, Huang DP. Focus on nasopharyngeal carcinoma [J]. Cancer Cell, 2004, 5(5): 423-428.
- [3] Chua DT, Ma J, Sham JS, et al. Long-term survival after cisplatin-based induction chemotherapy and radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma: a pooled data analysis of two phase III trials [J]. J Clin Oncol, 2005, 23(6): 1118-1124.
- [4] Jansson MD, Lund AH. MicroRNA and cancer [J]. Molecular Oncology, 2012, 6(6): 590-610.
- [5] Zhu X, Li Y, Xie C, et al. miR-145 sensitizes ovarian cancer cells to paclitaxel by targeting Sp1 and Cdk6 [J]. Int J Cancer, 2014, 135(6): 1286-1296.
- [6] Yu CC, Tsai LL, Wang ML et al. miR145 targets the SOX9/ADAM17 axis to inhibit tumor-initiating cells and IL-6-mediated paracrine effects in head and neck cancer [J]. Cancer Res, 2013, 73(11): 3425-3440.
- [7] Noh JH, Chang YG, Kim MG, et al. MiR-145 functions as a tumor suppressor by directly targeting histone deacetylase 2 in liver cancer [J]. Cancer Lett, 2013, 335(2):455-462.
- [8] Feng Y, Zhu J, Ou C, et al. MicroRNA-145 inhibits tumour growth and metastasis in colorectal cancer by targeting fascin-1 [J]. Br J Cancer, 2014, 110(9):2300-2309.
- [9] Doberstein K, Steinmeyer N, Hartmetz AK, et al. MicroRNA-145 targets the metalloprotease ADAM17 and is suppressed in renal cell carcinoma patients [J]. Neoplasia, 2013, 15(2):218-230.
- [10] Chen Z, Zeng H, Guo Y, et al. miRNA-145 inhibits non-small cell lung cancer cell proliferation by targeting c-Myc [J]. J Exp Clin Res, 2010, 29:151.
- [11] Wang F, Xia J, Wang N, et al. miR-145 inhibits proliferation and invasion of esophageal squamous cell carcinoma in part by targeting c-Myc [J]. Onkologie, 2013, 36(12):754-758.
- [12] Salido-Guardarrama I, Romero-Cordoba S, Peralta-Zaragoza O, et al. MicroRNAs transported by exosomes in body fluids as mediators of intercellular communication in cancer [J]. Onco Targets Ther, 2014, 7:1327-1338.
- [13] Wang Z, Yao H, Lin S, et al. Transcriptional and epigenetic regulation of human microRNAs [J]. Cancer Lett, 2013, 331(1): 1-10.
- [14] Bretones G, Delgado MD, Leon J, et al. Myc and cell cycle control [J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1849(5): 506-516.
- [15] Calcagno DQ, Leal MF, Assumpcao PP, et al. MYC and gastric adenocarcinoma carcinogenesis [J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(39):5962-5968.
- [16] Wu DW, Hsu NY, Wang YC, et al. c-Myc suppresses microRNA-29b to promote tumor aggressiveness and poor outcomes in non-small cell lung cancer by targeting FHIT [J]. Oncogene, 2014, 34(16): 2072-2082.
- [17] He X, Tan X, Wang X, et al. c-Myc-activated long noncoding RNA CCAT1 promotes colon cancer cell proliferation and invasion [J]. Tumour Biol, 2014, 35(12): 12181-12388.
- [18] Sachdeva M, Zhu S, Wu F, Wu H, Walia V, et al. p53 represses c-Myc through induction of the tumor suppressor miR-145 [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(9): 3207-3212.

[收稿日期] 2015 - 04 - 02

[修回日期] 2015 - 09 - 05

[本文编辑] 阮芳铭

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中数字用法的要求

本刊严格执行国家标准《出版物上数字用法的规定》,文稿中凡是可以使用阿拉伯数字且很得体的地方,均应使用阿拉伯数字。(1) 公历世纪、年代、年、月、日和时、分、秒必须使用阿拉伯数字,如 20 世纪 90 年代、2006 - 02 - 15、5 h、30 min、30 s、14: 36: 08 等;年份不能用简称,“1998 年”不能写作“98 年”。(2) 物理量量值必须使用阿拉伯数字。(3) 非物理量量词前面数字一般也应使用阿拉伯数字,如 3 支、5 根等。(4) 数值范围的表达要求:5 万至 10 万应写成 5 万 ~ 10 万,不能写成 5 ~ 10 万;3 × 10⁹ 至 5 × 10⁹ 应写成 3 × 10⁹ ~ 5 × 10⁹,或 (3 ~ 5) × 10⁹,不能写成 3 ~ 5 × 10⁹;60% 至 70% 不能写成 60 ~ 70%,应写成 60% ~ 70%;25.5 ± 0.5 mg 应写成 (25.5 ± 0.5) mg。(5) 带单位的量值相乘时,每个数值后单位不能省略,如 4 mm × 2 mm × 3 mm,不能写成 4 × 2 × 3 mm 或 4 × 2 × 3 mm³。

(本刊编辑部)