

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.01.010

## miR-486-5p 对裸鼠胃癌移植瘤生长的抑制作用

张冉冉<sup>1</sup>, 连海峰<sup>1</sup>, 史宁<sup>1</sup>, 胡营滨<sup>1</sup>, 李明<sup>2</sup>, 刘成霞<sup>1</sup> (1. 滨州医学院附属医院 消化内科, 山东 滨州 256603; 2. 滨州医学院附属烟台医院 消化内科, 山东 烟台 264003)

**[摘要]** **目的:**探讨 miR-486-5p 对裸鼠皮下人胃癌移植瘤生长的影响及其可能的作用机制。**方法:**建立胃癌 SGC-7901 细胞裸鼠皮下移植瘤模型,经 miR-486-5p 过表达质粒处理后,观察裸鼠皮下移植瘤生长情况,采用 Western blotting 及免疫组织化学法检测 miR-486-5p 靶基因神经纤毛蛋白-2(NRP2)的表达水平。**结果:**成功构建胃癌 SGC-7901 细胞裸鼠皮下移植瘤模型;实验组移植瘤内 miR-486-5p 的表达水平明显高于对照组( $P < 0.05$ ),miR-486-5p 可明显抑制裸鼠皮下胃癌移植瘤的生长;与阴性及空白对照组相比,实验组平均瘤体质量明显下降[( $0.404 \pm 0.080$ ) vs ( $0.748 \pm 0.122$ ), ( $0.788 \pm 0.176$ )g, 均  $P < 0.05$ ];移植瘤平均体积明显减小[( $0.333 \pm 0.039$ ) vs ( $0.597 \pm 0.175$ ), ( $0.594 \pm 0.216$ )cm<sup>3</sup>, 均  $P < 0.05$ ],实验组的抑瘤率达 46.99%;实验组经 miR-486-5p 过表达质粒处理后,免疫组化检测结果显示,NRP2 蛋白主要定位于胃癌细胞质内,呈棕黄色颗粒;实验组 NRP2 蛋白的 IHS 得分显著低于阴性及空白对照组[( $2.2 \pm 0.84$ ) vs ( $6.4 \pm 0.89$ ), ( $6.2 \pm 1.48$ ), 均  $P < 0.01$ ];阴性对照组与空白对照组的得分差异无统计学意义( $P > 0.05$ );Western blotting 检测结果显示,实验组移植瘤组织中 NRP2 蛋白的相对表达量显著低于阴性及空白对照组[( $0.04 \pm 0.006$ ) vs ( $0.70 \pm 0.03$ ), ( $0.68 \pm 0.02$ ),  $P < 0.01$ ]。阴性和空白对照组间的 IHS 得分值、抑瘤率及 NRP2 蛋白表达水平的差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论:**miR-486-5p 可明显抑制裸鼠皮下胃癌 SGC-7901 细胞移植瘤的生长,其作用机制可能与抑制 NRP2 的表达有关。

**[关键词]** miR-486-5p;胃癌;神经纤毛蛋白-2;移植瘤模型

**[中图分类号]** R735.2; R730.54

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2016)01-0062-05

## Inhibiting effect of miR-486-5p on xenograft of gastric cancer in nude mice

ZHANG Ranran<sup>1</sup>, LIAN Haifeng<sup>1</sup>, SHI Ning<sup>1</sup>, HU Yingbin<sup>1</sup>, LI Ming<sup>2</sup>, LIU Chengxia<sup>1</sup> (1. Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Binzhou 256603, Shandong, China; 2. Department of Gastroenterology, Yantai Hospital Affiliated to Binzhou Medical University, Yantai 264003, Shandong, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the effect of miR-486-5p on gastric cancer xenograft in nude mice and to investigate its probable mechanism. **Methods:** The subcutaneously transplanted tumor models of human gastric carcinoma (SGC-7901 cell line) in nude mice were established and after treated with miR-486-5p over-expression plasmids, growth situation of cancer xenografts in the nude mice was observed. The expression of NRP2 (the target gene of miR-486-5p) were detected by Western blotting and immunohistochemical method. **Results:** Gastric carcinoma (SGC-7901) xenograft models in nude mice were successfully constructed; miR-486-5p can significantly inhibit the growth of xenografts in nude mice and the expression of miR-486-5p in cancer xenografts of experimental group was significantly higher than that of control group ( $P < 0.05$ ). Compared to the negative control group and blank control group, the average mass and volume of cancer xenografts in experiment group was significantly less than those in the other groups, mass: ( $0.404 \pm 0.080$ ) g vs ( $0.748 \pm 0.122$ ) g, ( $0.788 \pm 0.176$ ) g, all  $P < 0.05$ ; volume: ( $0.333 \pm 0.039$ ) cm<sup>3</sup> vs ( $0.597 \pm 0.175$ ) cm<sup>3</sup>, ( $0.594 \pm 0.216$ ) cm<sup>3</sup>,

**[基金项目]** 山东省自然科学基金资助项目(No. ZR2014HQ072);山东省医药卫生科技发展计划资助项目(No. 2014WS0490);滨州市科技发展计划资助项目(No. 2014ZC0116)。Project supported by the Natural Science Foundation of the Shandong Province (No. ZR2014HQ072), the Science and Technology Development Program in Shandong Province (No. 2014WS0490), and the Science and Technology Development Program in Binzhou City (No. 2014ZC0116)

**[作者简介]** 张冉冉(1989-),女,山东省滨州市人,硕士生,主要从事消化道肿瘤的基础研究,E-mail:zranran1989@163.com

**[通信作者]** 刘成霞(LIU Chengxia, corresponding author), E-mail: phdlcx@163.com

$P < 0.05$ , and the inhibition rate of cancer xenografts in experiment group was 46.99%. After treated with miR-486-5p over-expression plasmid in experiment group, the immunohistochemical results showed that NRP2 protein, presenting as yellow particle, mainly existed in the cytoplasm of gastric cancer cells; the IHS score of NRP2 protein in miR-486-5p group was significantly lower than that of NC and blank control groups ( $[2.2 \pm 0.84]$  vs  $[6.4 \pm 0.89]$ ,  $[6.2 \pm 1.48]$ , all  $P < 0.01$ ); however, there was no significant difference between negative control and blank control groups ( $P > 0.05$ ). The results of Western blotting shown that the relative expression of NRP2 protein in cancer xenograft tissues of experiment group was significantly less than that of the other groups ( $[0.04 \pm 0.006]$  vs  $[0.70 \pm 0.03]$ ,  $[0.68 \pm 0.02]$ , all  $P < 0.01$ ). The difference in IHS score, inhibition rate of cancer and NRP2 protein expression between NC and blank control groups had no statistical significance ( $P > 0.05$ ). **Conclusion:** miR-486-5p can remarkably inhibit the growth of gastric cancer xenograft in nude mice. It may associate with inhibiting expression of NRP2.

[ **Key words** ] microRNA-486-5p; gastric cancer; neuropilin -2 ( NRP2 ); cancer xenograft model

[ Chin J Cancer Biother, 2016, 23( 1 ): 62-66. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.01.010 ]

胃癌是目前致死率最高的消化道恶性肿瘤之一<sup>[1]</sup>。尽管外科手术技术不断进步,新的化疗药物不断被发现和应用,但是胃癌患者的5年生存率仍然较低。因此,胃癌在基因分子学水平的研究是目前研究的热点。miRNA 是一类小分子的内源性非编码核苷酸序列,其可以与 mRNA 的 3'端非翻译区域(3'-UTR)结合,在转录后水平抑制靶 mRNA 的表达<sup>[2]</sup>。近来研究<sup>[3-5]</sup>发现,miRNA 在肿瘤的发生、发展及转移过程中发挥重要作用。MiR-486-5p 是目前研究较为成熟的 miRNA 之一,有研究<sup>[6]</sup>发现,miR-486-5p 表达水平的高低与胃癌患者的预后密切相关。本课题组前期研究<sup>[7]</sup>发现,miRNA-486-5p 可以直接作用于其靶基因神经纤毛蛋白-2(NRP2)的 3'非转录区从而抑制其表达。但 miR-486-5p 在胃癌发生过程中的作用机制目前尚未见报道。本研究通过建立裸鼠皮下人胃癌移植瘤模型,观察 miR-486-5p 对肿瘤生长和移植瘤组织中 NRP2 蛋白表达水平的影响,旨在为临床胃癌防治提供新的靶点。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂

胎牛血清及 RPMI 1640 培养基购自美国 Hyclone 公司,miR-486-5p 过表达质粒由上海吉玛基因公司构建;TRIzol 试剂购自美国 Invitrogen 公司,反转录试剂盒及 SYBR MasterMix 购自日本 TaKaRa 公司,miR-486-5p 和内参 U6 上下游引物购自广州锐博生物科技有限公司,兔抗人 NRP2 多克隆抗体购自英国 Abcam 公司,免疫组织化学试剂盒及 DAB 显色剂均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

### 1.2 动物和细胞株

15 只雄性 BALB/c 裸鼠,体质量( $20 \pm 2.0$ )g,鼠龄 4~5 周,由北京华阜康生物科技股份有限公司

提供[ 许可证号:SCXK(京)2014-0004 ],在无特异病原菌(SPF)级动物房中饲养。人胃腺癌细胞株 SGC-7901 购自武汉博士德公司,于含 10% 胎牛血清的 PMRI 1640 培养基中,在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 浓度培养箱中培养,隔天进行换液,待细胞密度达 80%~90% 时进行传代。

### 1.3 裸鼠皮下人胃癌移植瘤模型的建立及实验分组

15 只裸鼠随机分为 3 组,每组 5 只,分别为实验组、阴性对照组及空白对照组。将  $1 \times 10^7$  个对数生长期胃癌 SGC-7901 细胞悬于 200  $\mu$ l 含 10% 胎牛血清 RPMI 1640 培养基中,注射于裸鼠右侧腋下,待移植瘤长至 0.5 cm<sup>3</sup> 时认为造模成功,1 周后 15 只裸鼠造模成功率 100%。造模成功后每 3 d 测量肿瘤体积,共 21 d;同时,每 3 d 对实验组裸鼠沿其瘤周不同部位注射 200  $\mu$ l miR-486-5p 过表达质粒,阴性对照组和空白对照组分别注射等量的空白质粒载体及 PBS 缓冲液。根据公式计算肿瘤体积,肿瘤体积(cm<sup>3</sup>) =  $1/2 LW^2$ (L 代表肿瘤最长径,W 代表肿瘤最短径),根据计算的肿瘤体积描绘各种裸鼠移植瘤的生长曲线,3 周后处死裸鼠,并于皮下取出肿瘤,称瘤体质量。根据公式计算肿瘤生长抑制率,肿瘤生长抑制率(%) =  $(1 - \text{处理组肿瘤体质量} / \text{对照组肿瘤体质量}) \times 100\%$ 。将肿瘤组织一部分固定于 4% 多聚甲醛中,一部分冻存于液氮罐中为组织学研究备用。

### 1.4 Real-time PCR 法检测移植瘤组织中 miR-486-5p 的表达

采用 TRIzol 法提取裸鼠移植瘤组织总 RNA,按 TaKaRa 反转录试剂盒说明书步骤将总 RNA 反转录成 cDNA,以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增;以 U6 为内参。PCR 反应条件:第 1 步,95 °C 预变性 20 s;第 2 步,95 °C 变性 10 s、60 °C 退火 20 s;第 3 步,70 °C

延伸 10 s, 共 45 个循环; 重复 3 次, 实验结果应用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  方法进行相对定量分析。

### 1.5 免疫组化法检测肿瘤组织中 NRP2 蛋白的表达

取裸鼠皮下人胃癌移植瘤标本, 经 4% 甲醛溶液 4 °C 固定 24 h, 石蜡包埋, 4  $\mu\text{m}$  厚度切片, 然后经二甲苯及梯度乙醇脱蜡至水, PBS 冲洗 3 次, 3 min/次。将切片置于微波炉中进行抗原修复 10 min, 修复液为 EDTA (pH = 9.0)。PBS 洗涤 3 次, 3 min/次。山羊血清封闭 40 min 以减少一抗的非特异性结合, 滴加 1:100 稀释的兔抗人 NRP2 多克隆抗体, 4 °C 过夜。PBS 洗 3 次, 滴加二抗, 37 °C 孵育 30 min, PBS 洗涤 3 次。DAB 显色 2 min, 流水冲洗 3 min, 苏木精染核, 递增梯度乙醇及二甲苯进行脱水透明, 常规中性树脂封片。结果判定: 倒置显微镜下观察 NRP2 蛋白的表达情况, NRP2 蛋白阳性细胞内出现棕黄色颗粒, 计数 5 个高倍视野 ( $\times 200$ ) 中的阳性细胞数, 计算平均阳性细胞数和 IHS 评分。评分标准: A 为阳性细胞数分级, 即 0 ~ 1% = 0、1% ~ 10% = 1、10% ~ 50% = 2、50% ~ 80% = 3、80% ~ 100% = 4; B 为阳性细胞显色强度分级, 即 0 为阴性、1 为弱阳性、2 为阳性、3 为强阳性。IHS = A  $\times$  B。

### 1.6 Western blotting 检测肿瘤组织中 NRP2 蛋白的表达

从移植瘤组织中提取蛋白, 用组织裂解液裂解移植瘤组织并提取总蛋白。BCA 法检测总蛋白浓度并计算 50  $\mu\text{g}$  上样量, 8% 聚丙烯酰胺电泳, PVDF 膜转膜, 7% 脱脂奶粉封闭 2 h, 加入兔多克隆 NRP2 一抗 (1:1 000), 4 °C 摇床封闭过夜, 加入 HRP 标记的山羊抗兔二抗 (1:5 000) 室温封闭 1 h, TBST 缓冲液洗膜, ECL 放射自显影并计算灰度值, 实验重复 3 次。

### 1.7 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计学软件, 计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 组间比较采用 Tukey 检验, 以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 miR-486-5p 对裸鼠皮下人胃癌移植瘤生长有明显抑制作用

在实验期间, 15 只裸鼠无一死亡, 造模成功率 100%, 且移植瘤体积逐渐增加。模型裸鼠经 miR-486-5p 处理 2 周后处死裸鼠, 检测显示, 阴性对照组 [(0.748  $\pm$  0.122) g] 与空白对照组 [(0.788  $\pm$  0.176) g] 平均瘤体质量差异无统计学意义 ( $P >$

0.05), 实验组平均瘤体质量 [(0.404  $\pm$  0.080) g] 明显下降 ( $P < 0.05$ ), 实验组抑瘤率为 46.99%。实验组、阴性和空白对照组移植瘤平均体积分别为 (0.333  $\pm$  0.039)、(0.597  $\pm$  0.175) 和 (0.594  $\pm$  0.216)  $\text{cm}^3$ , 阴性对照组和空白对照组移植瘤平均体积差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 与两个对照组相比, 实验组体积明显减小 ( $P < 0.05$ )。从移植瘤的生长曲线也可看出, miR-486-5p 对人胃癌裸鼠皮下移植瘤的生长有明显抑制作用 (图 1)。

### 2.2 裸鼠皮下移植瘤中 miR-486-5p 的表达明显升高

RT-PCR 法检测结果显示, 阴性对照组和空白对照组 miR-486-5p 的相对表达量分别为 (0.91  $\pm$  0.16) 和 1, 两者差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 与两个对照组相比, 实验组移植瘤内 miR-486-5p 的表达量 (9.20  $\pm$  0.67) 明显升高 ( $P < 0.05$ )。

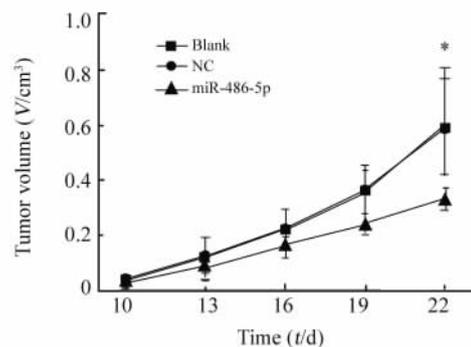


图 1 各组裸鼠胃癌移植瘤生长曲线

Fig. 1 Growth curve of transplanted gastric tumor in nude mice

\*  $P < 0.05$  vs NC or blank group

2.3 miR-486-5p 下调裸鼠皮下移植瘤组织中 NRP2 蛋白的表达 免疫组化检验结果 (图 2) 显示, NRP2 蛋白主要位于胃癌细胞质内, 呈棕黄色颗粒。对各组中 NRP2 蛋白的 IHS 得分情况进行统计学分析, 实验组得分显著低于阴性及空白对照组 [(2.2  $\pm$  0.84) vs (6.4  $\pm$  0.89), (6.2  $\pm$  1.48),  $P < 0.01$ ]; 阴性对照组与空白对照组的 IHS 得分差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

2.4 裸鼠皮下胃癌移植瘤组织中 NRP2 蛋白水平显著下降 Western blotting 法检测结果 (图 3) 显示, 与对照组相比, 实验组移植瘤组织中 NRP2 的相对表达量显著低于阴性对照组及空白对照组 [(0.04  $\pm$  0.006) vs (0.70  $\pm$  0.03), (0.68  $\pm$  0.02),  $P < 0.01$ ]; 阴性对照组与空白对照组间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

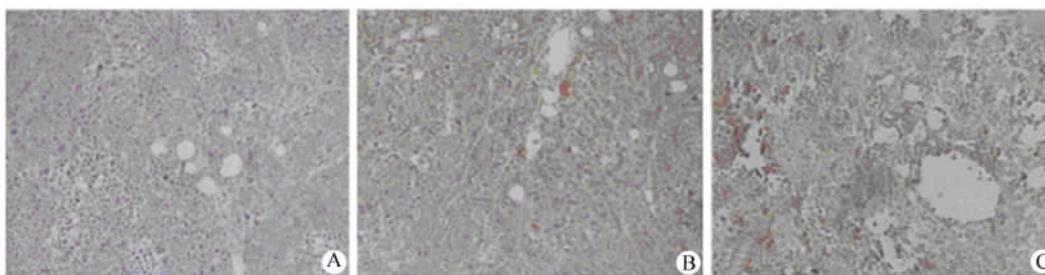


图2 各组裸鼠移植瘤中 NRP2 蛋白的表达情况( ×200 )

Fig.2 Expression situation of NRP2 in transplanted tumor of nude mice( ×200 )

A:miR-486-5p treatment group;B:Normal control group;C:Blank control group

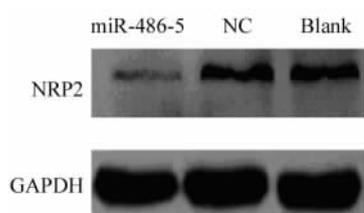


图3 各组裸鼠胃癌移植瘤中 NRP2 蛋白表达量

Fig.3 Expression amount of NRP2 in transplanted tumor of nude mice

### 3 讨论

miRNA 表达失调在多种恶性肿瘤的发生过程中发挥重要作用<sup>[8]</sup>。MiR-486-5p 与肿瘤发生关系的研究较多,有文献报道<sup>[9]</sup>miR-486 在肺癌中通过对靶基因 ARHGAP5 的调控抑制肿瘤的生长和转移。Borjigin 等<sup>[10]</sup>研究证明 miR-486-5p 可负向调控脂肪肉瘤的发生和转移。另外,也有研究<sup>[11]</sup>发现,miR-486-5p 的异常表达与儿童急性淋巴细胞白血病的预后及复发密切相关。但 miR-486-5p 在胃癌发生中的作用及其机制研究较少。

神经纤毛蛋白-2( NRP2 )最初是作为轴突导向分子被发现,其在神经系统的发育过程中发挥重要作用。但近来研究<sup>[12]</sup>发现,NRP2 在肿瘤的发生中也有重要作用,NRP2 可以促进大肠肿瘤内新生淋巴管的形成从而抑制肿瘤的转移。另外,Rossi 等<sup>[13]</sup>发现,NRP2 蛋白表达上调可作为黑素瘤发生恶变的一个强有力标志物。此外,NRP2 表达上调也可以促进胃癌肿瘤的生长及淋巴结转移<sup>[14]</sup>。总之,NRP2 表达上调与多种肿瘤的发生、发展密切相关。

本研究应用当前公认的裸鼠皮下人胃癌移植瘤

模型,研究 miR-486-5p 对胃癌细胞生长、增殖的影响。裸鼠皮下移植瘤模型是研究模拟体内环境下肿瘤生物学行为和抗肿瘤治疗的重要方法,可弥补体外实验的不足,简便易行。空白对照组的设立排除了瘤周注射对实验结果的影响,而阴性对照组的设立说明各实验组之间的差异是由质粒的注射产生的<sup>[15]</sup>。实验结果发现,转染 miR-486-5p 后,实验组的 miR-486-5p 的表达丰度可上调 10 倍左右,这说明利用转染的方法可以使 miR-486-5p 进入肿瘤细胞内。每 3 d 测量移植瘤的最长径及最短径并计算其体积,发现实验组移植瘤体积明显小于空白对照组及阴性对照组,抑瘤率可达 46.99%。为了进一步研究 miR-486-5p 抑制肿瘤生长的作用机制,本实验进一步通过免疫组化及 Western blotting 法研究了 miR-486-5p 的靶基因 NRP2 的表达。研究发现,实验组经 miR-486-5p 治疗后 NRP2 的表达量较空白对照组及阴性对照组明显下降,结果提示 miR-486-5p 抑制肿瘤的生长可能是通过抑制 NRP2 的表达来实现的。

综上,本研究证明 miR-486-5p 可以抑制胃癌的生长,而这一作用可能与抑制 NRP2 蛋白的表达有关,miR-486-5p 有望成为胃癌治疗的新靶点。

### [ 参考文献 ]

- [ 1 ] JEMAL A, BRAY F, CENTER M M, et al. Global cancer statistics [ J ]. CA Cancer Clin, 2011, 61 ( 2 ): 69-90. DOI: 10.3322/caac.20107.
- [ 2 ] HE L, HANON G J. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation [ J ]. Nat Rev Genet, 2004, 5 ( 7 ): 522-531. DOI:10.1038/nrg1379.
- [ 3 ] MA L, TERUYA-FELDSTEIN J, WEINBERG R A. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b inbreast cancer [ J ]. Nature, 2007, 449( 7163 ): 682-688. DOI:10.1038/nature06174.

[ 4 ] VALASTYAN S, REINHARDT F, BENAICH N, et al. A pleiotropically acting microRNA, miR-31, inhibits breast cancer metastasis [ J ]. Cell, 2009, 137( 6 ): 1032-1046. DOI: 10. 1016/j. cell. 2009. 03. 047.

[ 5 ] TAVAZOIE S F, ALARCON C, OSKARSSON T, et al. Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis [ J ]. Nature, 2008, 451( 7175 ): 147-152. DOI: 10. 1038/nature06487.

[ 6 ] CHEN H, REN C, HAN C, et al. Adenocarcinoma expression and prognostic value of miR-486-5p in patients with gastric adenocarcinoma [ J ]. PLoS ONE, 2015, 10( 3 ): e0119384. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0119384.

[ 7 ] 连海峰,李明,刘成霞,等. miRNA-486-5p 对胃癌细胞 SGC7901 中 NRP2 表达的影响 [ J ]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2014, 21( 3 ): 298-302. DOI : 10. 3872/j. issn. 1007-385X. 2014. 03. 011.

[ 8 ] EBERT M S, SHARP P A. Roles for microRNAs in conferring robustness to biological processes [ J ]. Cell, 2012, 149: 515-524. DOI: 10. 1016/j. cell. 2012. 04. 005.

[ 9 ] WANG J, TIAN X, HAN R, et al. Downregulation of miR-486-5p contributes to tumor progression and metastasis by targeting pro-tumorigenic ARHGAP5 in lung cancer [ J ]. Oncogene, 2014, 33( 9 ): 1181-1189. DOI: 10. 1038/onc. 2013. 42. DOI: 10. 1016/j. bbrc. 2012. 09. 063.

[ 10 ] BORJIGIN N, OHNO S, WU W, et al. TLS-CHOP represses miR-486 expression, inducing upregulation of a metastasis regulator PAI-1 in human myxoid liposarcoma [ J ]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 427( 2 ): 355-360. DOI: 10. 3760/cma. j. jsan. 0253-2727. 2011. 03. 008.

[ 11 ] 徐令,梁燕妮,罗学群,等. miRNA 表达与儿童急性淋巴细胞白血病预后及复发的相关性研究 [ J ]. 中华血液学杂志, 2011, 32( 3 ): 178-181. DOI: 10. 3760/ cma. j. jsan. 0253-2727. 2011. 03. 008.

[ 12 ] OU J J, WEI X, PENG Y, et al. Neuropilin-2 mediates lymphangiogenesis independent signaling [ J ]. Cancer Lett, 2015, 358( 2 ): 200-209. DOI: 10. 1093/nar/gkp255.

[ 13 ] ROSSI M, TUCK J, KIM O J, et al. Neuropilin-2 gene expression correlates with malignant progression in cutaneous melanoma [ J ]. Br J Dermatol, 2014, 171( 2 ): 403-408. DOI: 10. 1111/bjd. 12801.

[ 14 ] 连海峰,吴小翎,彭阳,等. RNA 干扰 NRP2 基因表达对胃癌细胞 SGC7901 裸鼠移植瘤的抑制作用 [ J ]. 中国生物工程杂志, 2010, 30( 7 ): 28-32. DOI: 10. 13523/j. cb. 20100706.

[ 15 ] TSUCHIYA S, OKU M, IMANAKA Y, et al. MicroRNA-338-3p and microRNA-451 contribute to the formation of basolateral polarity epithelial cells [ J ]. Nucleic Acids Res, 2009, 37( 11 ): 3821-3827. DOI: 10. 1093/nar/gkp255.

[ 收稿日期 ] 2015 - 10 - 10 [ 修回日期 ] 2015 - 12 - 22

[ 本文编辑 ] 阮芳铭

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 坚决贯彻执行国家七部委联合发布的《发表学术论文“五不准”》的规定

为弘扬科学精神,加强科学道德和学风建设,抵制学术不端行为,端正学风,维护风清气正的良好学术生态环境,重申和明确科技人员在发表学术论文过程中的科学道德行为规范,中国科协、教育部、卫生计生委、中科院、工程院和自然科学基金委等七部委联合下发了《发表学术论文“五不准”》的通知。本刊坚决贯彻执行“五不准”规定,加强对学术论文学术不端行为的审查和处罚措施。希望广大科技工作者、读者和作者,以及本刊的编委专家、审稿专家和相关工作人员都应加强学术道德自律,共同努力,捍卫学术尊严,维护良好学风。现将发表学术论文“五不准”摘录如下:

1. 不准由“第三方”代写论文。科技工作者应自己完成论文撰写,坚决抵制“第三方”提供论文代写服务。
2. 不准由“第三方”代投论文。科技工作者应学习、掌握学术期刊投稿程序,亲自完成提交论文、回应评审意见的全过程,坚决抵制“第三方”提供论文代投服务。
3. 不准由“第三方”对论文内容进行修改。论文作者委托“第三方”进行论文语言润色,应基于作者完成的论文原稿,且仅限于对语言表达方式的完善,坚决抵制以语言润色的名义修改论文的实质内容。
4. 不准提供虚假同行评审人信息。科技工作者在学术期刊发表论文如需推荐同行评审人,应确保所提供的评审人姓名、联系方式等信息真实可靠,坚决抵制同行评审环节的任何弄虚作假行为。
5. 不准违反论文署名规范。所有论文署名作者应事先审阅并同意署名发表论文,并对论文内容负有知情同意的责任;论文起草人必须事先征求署名作者对论文全文的意见并征得其署名同意。论文署名的每一位作者都必须对论文有实质性学术贡献,坚决抵制无实质性学术贡献者在论文上署名。

(本刊编辑部)