

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.02.013

· 基础研究 ·

miR-99b 通过下调 mTOR 的表达抑制胃腺癌细胞系 SGC-7901 的增殖及迁移

王战豪¹, 潘逼然², 张彤彤², 郭元彪², 张莉萍¹(1. 重庆医科大学附属第一医院 医学检验科, 重庆 400016; 2. 重庆医科大学附属成都第二临床学院 实验医学科, 成都 610031)

[摘要] **目的:** 探讨 hsa-miR-99b 在胃腺癌细胞系的表达及其影响胃腺癌细胞系增殖和迁移的潜在作用机制。**方法:** Real-time PCR 检测 miR-99b 在人胃上皮细胞系 GES-1 和人胃腺癌细胞系 SGC-7901、BGC-823、MGC-803 中的表达。用人工合成的 miR-99b 模拟物转染 SGC-7901 细胞构建过表达 miR-99b 细胞系, 转染对照模拟物作为对照组, CCK-8 法检测过表达 miR-99b 的 SGC-7901 细胞的增殖情况, Transwell 法检测 SGC-7901 细胞系的迁移情况, Western blotting 检测 SGC-7901 细胞系中哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)的表达情况。**结果:** miR-99b 在胃腺癌细胞系中的表达水平显著低于胃上皮细胞系, 其中以 SGC-7901 细胞最甚。转染 miR-99b 模拟物 48 h 后, 实验组 SGC-7901 细胞增殖能力低于对照组(0.20 ± 0.00 vs 0.27 ± 0.02 , $P < 0.05$); 与转染对照模拟物的细胞相比, 转染 24 h 后, 实验组 SGC-7901 穿膜细胞数低于对照组[(226.67 ± 25.17) vs (523.33 ± 25.17)个, $P < 0.05$]。miR-99b 可下调人胃腺癌细胞系 SGC-7901 中 mTOR 蛋白的表达。**结论:** miR-99b 在胃腺癌细胞系中的表达明显下调, miR-99b 抑制人胃腺癌细胞系 SGC-7901 增殖和迁移的作用可能与下调 mTOR 表达有关。

[关键词] miR-99b; 胃腺癌; 细胞增殖; 细胞迁移; 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白

[中图分类号] R735.2; R730.59

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2016)02-0230-05

miR-99b inhibit the proliferation and migration of human gastric adenocarcinoma SGC-7901 cells through down-regulating the expression of mTOR

WANG Zhanhao¹, PAN Biran², ZHANG Tongtong², GUO Yuanbiao², ZHANG Liping¹(1. Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 2. Department of Laboratory Medicine, The Second Clinical College of Chengdu Affiliated to Chongqing Medical University, Chengdu 610031, Sichuan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of has miR-99b in gastric adenocarcinoma cell lines and its potential mechanism of affecting proliferation and migration of the gastric adenocarcinoma cell lines. **Methods:** Real-time PCR was performed to detect the expressions of miR-99b in human gastric epithelial cell line GES-1 and human gastric adenocarcinoma cell line (SGC7901, BGC823 and MGC-803). The synthesized miR-99b mimics were transfected into the SGC-7901 cells to construct a overexpressed cell line, and scramble mimics were transfected into the same cells as control group. Then proliferation and migration of the SGC-7901 cell lines which overexpressed miR-99b were measured by CCK-8 assay and transwell assay; expression level of mTOR (mammalian target of rapamycin) protein was determined by Western blotting. **Results:** The expression levels of miR-99b in the gastric adenocarcinoma cell lines, especially in the SGC-7901 cell line, were significantly lower than those in the human gastric epithelial cell line. After transfection of the miR-99b mimics for 48 h, proliferation ability of the SGC-7901 cell in experiment group was lower than that of control group (0.20 ± 0.00 vs 0.27 ± 0.02 , $P < 0.05$). Compared to the cell line transfected with the scramble mimics, the experiment

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81270465);成都市卫生局计划资助项目(No. 2013059)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81270465), and the Program from the Bureau of Health of Chengdu (No. 2013059)

[作者简介] 王战豪(1989-),男,河南省新乡市人,硕士,主要从事胃肠道肿瘤相关 miRNA 的基础研究, E-mail: wangzhanhao@126.com

[通信作者] 张莉萍(ZHANG Liping, corresponding author), E-mail: liuzhangcq@yahoo.com; 郭元彪(GUO Yuanbiao, co-corresponding author), E-mail: guo.ybiao@yahoo.com

group showed a significant reduction in number of transmembrane cells(226.27 ± 25.17 vs 523.33 ± 25.17 , $P < 0.05$) after the transfection for 24 h. miR-99b can downregulate the expression of mTOR protein in the human gastric adenocarcinoma cell line SGC-7901. **Conclusion:** The expression of miR-99b in gastric adenocarcinoma cell lines was obviously down regulated, inhibition effect of miR-99b on proliferation and migration of the human gastric adenocarcinoma cell line SGC-7901 might be related with down-regulated expression of mTOR.

[**Key words**] miR-99b; gastric adenocarcinoma; cell proliferation; cell migration; mammalian target of rapamycin (mTOR)

[Chin J Cancer Biother, 2016, 23(2): 230-234. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.02.013]

胃癌是仅次于肺癌、乳腺癌、结直肠癌的第四大常见癌症,也是我国最常见的恶性肿瘤之一。全世界因癌症死亡的患者中,死于胃癌的人数居第2位^[1-2]。胃癌的发展涉及大量肿瘤相关基因的结构改变与异常表达,主要表现为某些原癌基因的活化及某些抑癌基因的失活^[3-4]。微小RNA(microRNA, miRNA)可与靶基因 mRNA 的3'端非编码区(3'untranslated region ,3'UTR)完全或不完全互补结合,直接降解或抑制靶基因的mRNA表达而发挥作用^[5-7]。miRNA能够调控细胞的增殖、凋亡、侵袭及转移等多种生物学行为,且具有原癌基因或抑癌基因样作用,参与多种恶性肿瘤的演进^[8]。在人类肿瘤中,约50%的miRNA基因位于肿瘤相关的基因组区或脆性位点^[9]。白血病、淋巴瘤、乳腺癌、肺癌、胰腺癌、结直肠癌及肝癌等多种恶性肿瘤中都存在miRNA的异常表达^[10]。miR-99b属于miR-99基因簇,该基因簇的多个成员被证实与肿瘤的发生发展密切相关^[11-13]。但目前还没有有关miR-99b在胃癌发生发展过程中作用的报道。本研究初步探索了miR-99b在胃癌发生发展中的作用及其可能的机制,旨在为胃癌的分子诊断及治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞与主要试剂

人胃上皮细胞系 GES-1、人胃腺癌细胞系 SGC-7901、BGC-823、MGC-803 均购自中科院上海生物化学与细胞生物研究所,于含10% FBS的RPMI 1640培养基中,在37℃、5% CO₂、饱和湿度条件下培养。稳定传代2或3代后,取对数生长期细胞进行实验。TRIzol试剂购自Invitrogen公司,反转录PCR试剂盒、miRNA Real-time PCR试剂盒(PrimeScript™ RT reagent Kit, RR047A)购自 TaKaRa 公司, HiPerFect转染试剂购自 Invitrogen 公司, miR-99b 特异性引物、miRNA 内参基因 RNU6B 引物、miR-99b 模拟物

及对照模拟物(cel-miR-239b-5p, 成熟序列为 5'-UUUGUACUACACAAAAGUACUG-3')均购自广州市锐博生物科技有限公司, RPMI 1640 培养基、FBS 购自 HyClone 公司, CCK-8 购自 Dojindo 公司, Transwell 小室购自 Corning 公司, RIPA 蛋白裂解液购自 Biosharp 公司, 小鼠抗人 GAPDH 多抗、兔抗人 mTOR 多抗体均购自 Proteintech 公司, HRP 标记的山羊抗兔 IgG、HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 均购自北京中山金桥公司, ECL 化学发光试剂盒购自北京全式金公司。

1.2 Real-time PCR 检测人胃上皮细胞、人胃腺癌细胞中 miR-99b 的表达

按 TRIzol 试剂盒说明书提取人胃上皮细胞 GES-1 和人胃腺癌 SGC-7901、BGC-823、MGC-803 细胞总 RNA, 按逆转录试剂盒说明书设置反转录条件: 42℃ 逆转录 60 min, 85℃ 反应 5 s 灭活逆转录酶。每个样本均设置3个复孔。取1μl cDNA 配制 Real-time PCR 体系, 按如下条件进行 PCR 反应: 95℃ 预变性 30 s, 95℃ 变性 5 s, 60℃ 退火延伸 34 s, 扩增 40 个循环。扩增结束后制作融解曲线。2^{-ΔΔCT}法计算 miR-99b 的相对表达量, 以 RNU6B 作为内参。每个样本独立重复实验3次。

1.3 胃腺癌 SGC-7901 细胞转染

人胃腺癌细胞系 SGC-7901 接种于6孔板中, 采用含10% FBS的RPMI 1640培养基培养细胞至汇合度达50%左右后进行后续试验。实验组每孔加入3.75 μl 20 nmol/L 的 miR-99b 模拟物、6 μl HiPerFect 转染试剂、1.5 ml optiMEM 培养基; 对照组每孔加入3.75 μl 20 nmol/L 的对照模拟物、6 μl HiPerFect 转染试剂、1.5 ml optiMEM 培养基; mock 组每孔加入3.75 μl 无菌水、6 μl HiPerFect 转染试剂、1.5 ml optiMEM 培养基。使 miR-99b 模拟物及对照模拟物的终浓度为50 nmol/L。将细胞置于37℃、5% CO₂、饱和湿度下培养6 h 后, 更换完全培养基继续培养。培养48 h 后, 收集细胞, Real-time PCR 检测 miR-99b 在细胞中的表达。

1.4 CCK-8 实验检测转染 miR-99b 模拟物对 SGC-7901 细胞增殖的影响

分别收集转染 miR-99b 模拟物及对照模拟物 0、24、48、72 和 96 h 后的 SGC-7901 细胞, 用无血清的 RPMI 1640 培养基制备细胞数为 $2 \times 10^4/\text{ml}$ 的单细胞悬液; 以 $100 \mu\text{l}/\text{孔}$ 接种于 96 孔板, 每组设 5 个复孔及 5 个空白对照孔。加入终浓度为 5 mg/ml 的 CCK-8 溶液, 避光培养 2 h。于酶标仪上测定各孔 450 nm 处光密度 (D) 值。以 0 h 实验组及对照组的 D 值为 1, 计算不同时间段两组 D 的比值来表示相对细胞增值。每个样本独立重复试验 3 次。

1.5 Transwell 实验检测转染 miR-99b 模拟物对 SGC-7901 细胞迁移能力的影响

分别收集转染 miR-99b 模拟物及对照模拟物 24 h 后的 SGC-7901 细胞, 以 $1 \times 10^5/\text{孔}$ 接种于 Transwell 小孔中。小孔上室为 $100 \mu\text{l}$ 无血清培养基, 下室为 $600 \mu\text{l}$ 含 20% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基。24 h 后, 弃去培养基, 用棉签轻轻擦去小孔上室内细胞, 甲醇固定 15 min, 0.1% 结晶紫染色 2 min。显微镜下观察并计数细胞, 进行统计学分析。

1.6 Western blotting 检测转染 miR-99b 模拟物对 SGC-7901 细胞哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 表达的影响

分别收集转染 miR-99b 模拟物及对照模拟物 48 h 后的 SGC-7901 细胞, 加入 $100 \mu\text{l}$ RIPA 裂解液置于冰上裂解 30 min, 离心、取裂解液上清。考马斯亮蓝法测定总蛋白浓度后行 SDS-PAGE 分离蛋白, Bio-Rad 半干转印系统转膜 1 h, 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h; 加入兔抗人 mTOR 抗体 ($1:1\ 000$) 及小鼠抗人 GAPDH 抗体 ($1:1\ 000$), 4°C 孵育过夜、TBST 漂洗, 分别加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 或 HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG (均 $1:5\ 000$), 37°C 孵育 1 h。0.01 mol/L TBST 漂洗 10 min $\times 3$ 次。于暗室内在膜上滴加 ECL 溶液, 曝光胶片, 全自动洗片机洗片。

1.7 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析及处理, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间数据的差异采用独立样本 t 检验, 以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-99b 在胃腺癌细胞系及胃上皮细胞系中的表达

采用 Real-time PCR 检测人胃腺癌细胞系 SGC-7901、BGC-823、MGC-803 中 miR-99b 的表达情况, 与胃上皮细胞系 GES-1 相比, 胃腺癌细胞系 SGC-

7901、BGC-823、MGC-803 中 miR-99b 的表达水平明显降低 (图 1, $P < 0.05$)。由于胃腺癌细胞系 SGC-7901 中 miR-99b 的表达水平较 BGC-823、MGC-803 降低更明显, 故本课题选择了 SGC-7901 细胞系进行后续试验。

2.2 成功构建 miR-99b 过表达的 SGC-7901 细胞系

为进一步研究 miR-99b 对胃癌细胞生物学行为的影响, 利用脂质体转染法, 将 miR-99b 模拟物及对照模拟物瞬时转染入人胃腺癌细胞系 SGC-7901 中。采用 Real-time PCR 检测 miR-99b 转染效率, 结果显示实验组 miR-99b 的表达水平显著高于对照组和 mock 组 (3.16 vs 10.92 、 10.44 , 均 $P < 0.05$) (实验组 miR-99b 升高了 217 倍)。

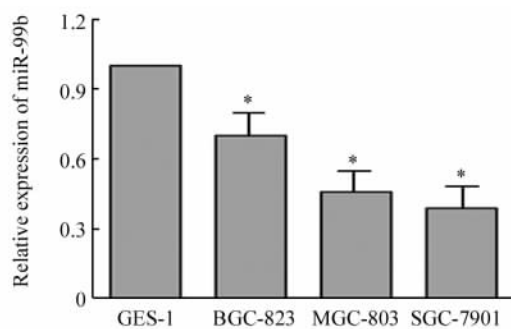


图 1 Real-time PCR 检测胃癌细胞系及胃黏膜上皮细胞系 miR-99b 的表达情况

Fig. 1 Expression of miR-99b in gastric carcinoma cell lines and gastric epithelial cell line by Real-time PCR

* $P < 0.05$ vs GES-1 cell line

2.3 过表达 miR-99b 抑制 SGC-7901 细胞的增殖

CCK-8 法检测结果 (图 2) 显示, 与转染对照模拟物的细胞 (0.27 ± 0.02) 相比, 实验组细胞 (0.20 ± 0.00) 在转染 miR-99b 模拟物 48 h 后增殖能力开始明显下降 ($P < 0.05$)。

2.4 过表达 miR-99b 抑制 SGC-7901 细胞的迁移

Transwell 迁移实验结果 (图 3) 显示, 与转染对照模拟物的细胞相比, 实验组细胞在转染 miR-99b 模拟物 24 h 后穿过 Transwell 小室膜的细胞数明显减少 [(226.67 ± 25.17) vs (523.33 ± 25.17) 个, $P < 0.05$]。

2.5 过表达 miR-99b 下调 SGC-7901 细胞中 mTOR 的表达

Western blotting 检测结果 (图 4) 发现, 与转染对照模拟物的对照组细胞相比, 实验组细胞在转染 miR-99b 模拟物 48 h 后 mTOR 蛋白的表达水平明显降低。

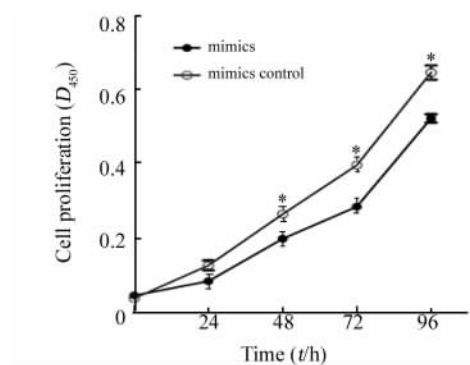


图2 转染 miR-99b mimics 抑制 SGC-7901 细胞的增殖

Fig. 2 Proliferation of SGC-7901 cells was inhibited by miR-99b mimics transfection

* $P < 0.05$ vs miR-99b group

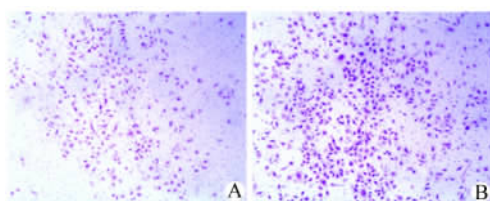


图3 转染 miR-99b mimics 抑制 SGC-7901 细胞的迁移能力 (×40)

Fig. 3 Migration ability of SGC-7901 cells was inhibited by miR-99b mimics transfection (×40)

A: MiR-99b mimics; B: Mimics control

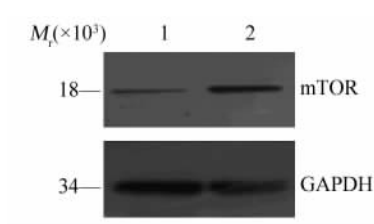


图4 转染 miR-99b mimics 降低 SGC-7901 细胞内 mTOR 的表达

Fig. 4 Expression of mTOR protein in SGC-7901 cells was inhibited by miR-99b mimics transfection

1: MiR-99b mimics; 2: Mimics control

3 讨论

胃癌是仅次于肺癌、乳腺癌、结直肠癌的第四大常见癌症,也是我国最常见的恶性肿瘤之一。肿瘤细胞的侵袭和转移是导致胃癌患者死亡的重要原因。随着近年来对 miRNA 分子研究的深入,许多 miRNA 分子在胃癌中的功能和作用机制已得到初

步证实^[14-16]。miR-99b 属于 miR-99 基因簇,该基因簇的多个成员被证实与疾病的发生密切相关。但是,目前还没有研究报道 miR-99b 在胃癌发生发展过程中的作用。因此,本研究探讨了 miR-99b 在胃癌细胞系 SGC-7901 中的作用,结果显示,miR-99b 在胃癌细胞系 SGC-7901 中的表达明显低于胃上皮细胞系 GES-1,过表达 miR-99b 可能通过抑制 mTOR 表达进而降低 SGC-7901 细胞的增殖和侵袭能力。

mTOR 是一种非典型丝氨酸/苏氨酸激酶,作为 PI3K/Akt 信号通路下游的关键分子,调控细胞的生长、增殖以及再生^[17-18]。越来越多的研究^[19-20]表明,多种肿瘤的发生都与 mTOR 的异常表达相关,mTOR 的过表达和过度活化可能促进了肿瘤的发生及肿瘤的耐药。Du 等^[21]的研究表明,mTOR 在前列腺癌组织中高表达,在前列腺癌细胞中抑制 mTOR 的表达,可抑制前列腺癌细胞的增殖。Wang 等^[22]的研究也表明在宫颈癌细胞中抑制 mTOR 的表达,可降低宫颈癌细胞的增殖和侵袭能力。本研究采用 miRNA 的靶基因预测软件(miRTarBase 和 DIANA TOOLS)筛选了 miR-99b 的靶基因,结果显示,mTOR 是一个和 miR-99b 关联性比较强的靶基因。过往也有文献^[22-23]报道了 miR-99b 在结直肠癌细胞系中通过作用于 mTOR 的 3'UTR 抑制 mTOR 蛋白的表达,进而影响肿瘤细胞的增殖和侵袭。但是,在人胃腺癌细胞系 SGC-7901 中,miR-99b 是否是通过影响 mTOR 蛋白的表达进而抑制胃癌细胞的增殖和侵袭,还有待进一步的研究和论证。本研究通过向人胃腺癌 SGC-7901 细胞中转染 miR-99b 模拟物,发现过表达 miR-99b 使细胞内 mTOR 蛋白的表达明显受到抑制,人胃腺癌细胞系 SGC-7901 的增殖和侵袭能力也受到了明显抑制。

综上所述,本研究发现在胃腺癌 SGC-7901 细胞中 miR-99b 表达明显低于正常的胃黏膜上皮细胞,过表达 miR-99b 使 SGC-7901 细胞中 mTOR 蛋白的表达及细胞的增殖和侵袭能力均受到抑制。初步证实了 miR-99b 在人胃腺癌细胞系 SGC-7901 发生发展中潜在的癌基因作用,为 miRNA 作为胃癌靶向性治疗的新靶点提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] PARKIN D M, BRAY F, FERLAY J, et al. Global cancer statistics, 2002 [J]. CA Cancer J Clin, 2005, 55(2): 74-108. DOI: 10.3322/canjclin.55.2.74.
- [2] HOHENBERGER P, GRETSCHER S. Gastric cancer [J]. Lancet, 2003, 362(9380): 305-315. DOI: 10.1016/S0140-6736(03)13975-X.

- [3] TODA K, NAGASAKA T, UMEDA Y, et al. Genetic and epigenetic alterations of netrin-1 receptors in gastric cancer with chromosomal instability [J]. Clin Epigenetics, 2015, 7(1): 1-18. DOI: 10.1186/s13148-015-0096-y.
- [4] STOCK M, OTTO F. Gene deregulation in gastric cancer [J]. Gene, 2005, 360(1): 1-19. DOI: 10.1016/j.gene.2005.06.026.
- [5] AMBROS V. The functions of animal microRNAs [J]. Nature, 2004, 431(7006): 350-355. DOI: 10.1038/nature02871.
- [6] BARTEL D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297. DOI: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5.
- [7] PASQUINELLI A E, HUNTER S, BRACHT J. MicroRNAs: a developing story [J]. Curr Opin Genet Dev, 2005, 15(2): 200-205. DOI: 10.1016/j.gde.2005.01.002.
- [8] AHMED F E. Role of miRNA in carcinogenesis and biomarker selection: a methodological view [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2007, 7(5): 569-603. DOI:10.1586/14737159.7.5.569.
- [9] CALIN G A, SEVIGNANI C, DUMITRU C D, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers [J]. P Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(9): 2999-3004. DOI: 10.1073/pnas.0307323101.
- [10] IORIO M V, CROCE C M. Causes and consequences of microRNA dysregulation [J]. Cancer J, 2012, 18(3): 215-222. DOI: 10.1097/jpo.0b013e318250c001.
- [11] KANG J K, LEE S Y, et al. MicroRNA-99b acts as a tumor suppressor in non-small cell lung cancer by directly targeting fibroblast growth factor receptor 3 [J]. Exp Ther Med, 2012, 3(1): 149-153. DOI: 10.3892/etm.2011.366.
- [12] TURCATEL G, RUBIN N, EL-Hashash A, et al. MIR-99a and MIR-99b modulate TGF-beta induced epithelial to mesenchymal plasticity in normal murine mammary gland cells [J/OL]. PLoS ONE, 2012, 7(1): e31032 [2015-10-20]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0031032>. DOI: 10.1371/journal.pone.0031032.
- [13] WEI F, LIU Y, GUO Y, et al. miR-99b-targeted mTOR induction contributes to irradiation resistance in pancreatic cancer [J]. Mol Cancer, 2013, 12(1): 81. DOI: 10.1186/1476-4598-12-81.
- [14] DENG M, TANG H L, LU X H, et al. miR-26a suppresses tumor growth and metastasis by targeting FGF9 in gastric cancer [J/OL]. PLoS ONE, 2013, 8(8): e72662 [2015-10-20]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0072662>. DOI: 10.1371/journal.pone.0072662.
- [15] TANG H, DENG M, TANG Y, et al. miR-200b and miR-200c as prognostic factors and mediators of gastric cancer cell progression [J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(20): 5602-5612. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-13-1326.
- [16] XU X, WANG W, SU N, et al. miR-374a promotes cell proliferation, migration and invasion by targeting SRCIN1 in gastric cancer [J]. FEBS Lett, 2015, 589(3): 407-413. DOI: 10.1016/j.febslet.2014.12.027.
- [17] ZHANG Y J, DUAN Y, ZHENG X F. Targeting the mTOR kinase domain: the second generation of mTOR inhibitors [J]. Drug Discov Today, 2011, 16(7): 325-331. DOI: 10.1016/j.drudis.2011.02.008.
- [18] CARON E, GHOSH S, MATSUOKA Y, et al. A comprehensive map of the mTOR signaling network [J]. Mol Syst Biol, 2010, 6(1): 453. DOI:10.1038/msb4100057.
- [19] GUERTIN D A, SABATINI D M. Defining the role of mTOR in cancer [J]. Cancer Cell, 2007, 12(1): 9-22. DOI:10.1016/j.ccr.2007.05.008.
- [20] JIANG B H, LIU L Z. Role of mTOR in anticancer drug resistance: perspectives for improved drug treatment [J]. Drug Resist Update, 2008, 11(3): 63-76. DOI: 10.1016/j.drug.2008.03.001.
- [21] DU Y F, LONG Q Z, SHI Y, et al. Downregulation of mTOR by lentivirus inhibits prostate cancer cell growth [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(3): 923-931.
- [22] WANG L, CHANG L, LI Z, et al. miR-99a and-99b inhibit cervical cancer cell proliferation and invasion by targeting mTOR signaling pathway [J]. Med Oncol, 2014, 31(5): 1-8. DOI: 10.1007/s12032-014-0934-3.
- [23] LI W, CHANG J, WANG S, et al. miRNA-99b-5p suppresses liver metastasis of colorectal cancer by down-regulating mTOR [J]. Oncotarget, 2015, 6(27): 24448-24462. DOI: 10.18632/oncotarget.4423.

[收稿日期] 2015 - 12 - 23

[修回日期] 2016 - 02 - 24

[本文编辑] 黄静怡

• 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； 3×10^9 至 5×10^9 应写成 $3 \times 10^9 \sim 5 \times 10^9$ ，或 $(3 \sim 5) \times 10^9$ ，不能写成 $3 \sim 5 \times 10^9$ ；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 $4 \times 2 \times 3 \text{ mm}^3$ 。

(本刊编辑部)