

# 靶向ING1基因的miR-622真核表达载体在胃癌细胞MKN-45中的鉴定及其功能

王凯, 李乐平, 郭琼行, 苗瑞政, 程力, 靖昌庆, 王金申

## ■背景资料

胃癌在世界范围内仍是引起高死亡率的肿瘤之一, 其发生发展非常复杂, 涉及多种免疫与分子机制, 与多种基因有关, 包括癌基因激活和抑癌基因失活。迄今, 有关胃癌的发生与发展的机制尚未取得突破性的进展。

王凯, 李乐平, 郭琼行, 苗瑞政, 程力, 靖昌庆, 王金申, 山东大学附属省立医院胃肠外科 山东省济南市 250021

王凯, 硕士研究生, 主要从事胃肠道肿瘤发生机制的研究。

山东省自然科学基金资助项目, No. Y2007C127

作者贡献分布: 郭琼行与李乐平对此文所作贡献均等; 此课题由王凯、程力及李乐平设计; 实验过程由王凯操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由靖昌庆与苗瑞政提供; 数据分析由王金申完成; 本论文写作由王凯完成。

通讯作者: 郭琼行, 主任医师, 250021, 山东省济南市, 山东大学附属省立医院胃肠外科. guoqiongxing66@163.com

电话: 0531-85186388

收稿日期: 2011-06-17 修回日期: 2011-09-15

接受日期: 2011-09-26 在线出版日期: 2011-09-28

## Identification and functional analysis of a miR-622 eukaryotic expression vector targeting the ING1 gene in human gastric cancer cell line MKN-45

Kai Wang, Le-Ping Li, Qiong-Xing Guo, Rui-Zheng Miao, Li Cheng, Chang-Qing Jing, Jin-Shen Wang

Kai Wang, Le-Ping Li, Qiong-Xing Guo, Rui-Zheng Miao, Li Cheng, Chang-Qing Jing, Jin-Shen Wang, Department of Gastrointestinal Surgery, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, Shandong Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Shandong Province, No. Y2007C127

Correspondence to: Qiong-Xing Guo, Department of Gastrointestinal Surgery, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, Shandong Province, China. guoqiongxing66@163.com

Received: 2011-06-17 Revised: 2011-09-15

Accepted: 2011-09-26 Published online: 2011-09-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the function of miR-622 in human gastric cancer cell line MKN-45 by constructing a miR-622 eukaryotic expression vector targeting the ING1 gene and to explore the potential role of miR-622 in gastric carcinogenesis.

**METHODS:** A recombinant plasmid carrying miR-622 (pSuper/miR-622) was transfected into MKN-45 cells using lipofectin-mediated method. Cells stably expressing miR-622 were selected

using G418. MKN-45 cells untransfected and those transfected with empty pSuper plasmid were used as controls. The expression levels of miR-622 were detected by TaqMan real-time PCR in stably transfected MKN-45 cells, and Western blot was used to detect the expression of ING1 protein.

**RESULTS:** Compared to untransfected MKN-45 cells, the expression of ING1 protein showed an average 4.63-fold decrease ( $1.83 \pm 0.86$  vs  $8.47 \pm 1.43$ ,  $P < 0.05$ ). MKN-45 cells transfected with pSuper/miR-622 showed higher cell growth activity than control cells ( $P < 0.05$ ). Over-expression of miR-622 in MKN-45 cells promoted cell cycle progression ( $G_0/G_1$  phase:  $21.45 \pm 0.16$  vs  $48.21 \pm 0.34$ ;  $G_2/M$  phase:  $53.67 \pm 0.41$  vs  $20.27 \pm 0.18$ ) compared to cells transfected with pSuper empty vector.

**CONCLUSION:** A MiR-622 eukaryotic expression vector that can stably express miR-622 in MKN-45 cells has been successfully constructed and can be used to study the functions of miR-622 in human gastric cancer.

**Key Words:** Gastric carcinoma; MiR-622; Expression vector; MKN-45 cells

Wang K, Li LP, Guo QX, Miao RZ, Cheng L, Jing CQ, Wang JS. Identification and functional analysis of a miR-622 eukaryotic expression vector targeting the ING1 gene in human gastric cancer cell line MKN-45. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2810-2815

## 摘要

**目的:** 研究构建靶向ING1基因的miR-622真核表达载体并验证其转染人胃癌细胞株MKN-45细胞后对ING1基因的干扰效果及其功能。

**方法:** 将外源性重组真核表达载体pSuper/miR-622转染到人胃癌细胞株MKN-45内, 经G418筛选并建立高表达miR-622的稳定转染胃癌细胞株。稳定表达该miR-622的胃癌细胞

## ■同行评议者

张国梁, 主任医师, 天津第一中心医院消化内科; 姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化内科

为: MKN-45-pSuper/miR-622组, 转染空质粒细胞及未处理细胞为对照组(MKN-45-pSuper组和MKN-45组), 采用实时荧光定量PCR验证miR-622在稳定转染细胞的表达, 蛋白印迹检测其对ING1基因表达的干扰效果, 通过细胞增殖和周期实验验证miR-622在胃癌细胞MKN-45中的功能。

**结果:** 与pSuper空载体组相比, 转染了pSuper/miR-622高表达质粒的MKN-45细胞中ING1蛋白表达明显减少, 降低了4.63倍( $1.83 \pm 0.86$  vs  $8.47 \pm 1.43$ ,  $P < 0.05$ ); 与转染pSuper空载体的MKN-45细胞对照组相比, 转染了pSuper/miR-622高表达质粒的MKN-45细胞地促进了胃癌细胞增殖( $P < 0.05$ ), 而转染了pSuper空载体的MKN-45细胞组与正常组组间无统计学意义( $P > 0.05$ )。pSuper/miR-622组在胃癌细胞G0/G1期为 $21.45 \pm 0.16$ 而pSuper空载体组 $48.21 \pm 0.34$ ; pSuper/miR-622组在胃癌细胞G2/M期为 $53.67 \pm 0.41$ 而pSuper空载体组 $20.27 \pm 0.18$ , 与pSuper空载体组细胞相比较, miR-622的高表达促进了胃癌细胞周期的演化。

**结论:** miR-622真核表达载体构建和稳定表达胃癌细胞筛选成功, 为继续深入的研究miR-622在胃癌中的功能奠定了基础。

**关键词:** 胃癌; 微小RNA-622; 表达载体; MKN-45细胞

王凯, 李乐平, 郭琼行, 苗瑞政, 程力, 靖昌庆, 王金申. 靶向ING1基因的miR-622真核表达载体在胃癌细胞MKN-45中的鉴定及其功能. 世界华人消化杂志 2011; 19(27): 2810-2815  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2810.asp>

## 0 引言

近年来, microRNA 的相关研究属研究领域的热点问题, 人的miR-622(MI0003636)定位于13号染色体长臂q31.3, 位于90881436-90885531位点, miR-622前体长度为: 96 bp, 在对miR-622的研究发现miR-622直接靶向细胞周期相关基因ING1, miR-622在胃癌组织中表达下调, miR-622跟胃癌组织的分化和淋巴结转移相关, 体内裸鼠和体外细胞实验证实上调miR-622的表达具有抑制胃癌细胞侵袭和肿瘤形成、转移的能力<sup>[1]</sup>。本研究首先通过PCR技术扩增miR-622前体462 bp扩增后, 定向克隆到microRNA真核表达载体pSUPER.neo+GFP上, 并将其转染至MKN-45细胞株中, 筛选稳定表达miR-622胃癌细胞株MKN-45细胞后, 采用实时荧光定量PCR

和Western blot检测其对ING1基因表达的干扰效果和MKN-45细胞的功能。以初步探讨miR-622在胃癌细胞的作用, 为今后深入研究microRNA在胃癌发生发展中的作用奠定基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人胃癌细胞株MKN-45购自中国科学院上海生物化学和细胞生物学研究所细胞库。反转录酶、限制性内切酶、LA-Taq DNA聚合酶购自TaKaRa公司; Transwell小室、Taq DNA聚合酶购自Promega公司; T4连接酶购自天根公司; 小量质粒抽提试剂盒购自上海申能博采公司; 大量质粒抽提试剂盒购自Qiagen公司; 低分子量标准蛋白质购自华美公司; DNA Marker、琼脂糖购自Gibco BRL公司; 蛋白Marker购自天根公司; Lipofectamine脂质体购自Invitrogen公司; microRNA抽提、逆转、定量分析购自Qiagen公司, miR-622前体引物试剂均购自Ambion公司; ING1、GAPDH蛋白单克隆抗体购自Abcam公司; pSuper.gfp/neo空载体由本实验室保存。

### 1.2 方法

**1.2.1 miR-622真核表达载体构建:** 以人胃癌细胞株MKN-45基因组为模板扩增miR-622前体。引物设计Pre-microRNA-622(上海生工公司合成)上游引物5'-GCGAGATCT GAGGAAGTA-AAAGGCTTACAAG-3'。下游引物5'-GCGCTC-GAG GCTTGACCTTGATGTTTCAGCAGG-3'。其中引入Bgl II和Xho I两个酶切位点。PCR 扩增条件94 °C预变性5 min, 95 °C变性30 s, 58 °C退火30 s, 72 °C延伸30 s, 35个循环, 最后72 °C延长10 min。凝胶电泳鉴定可见约462 bp目的条带。用上海申能博采公司纯化试剂盒纯化PCR 产物。Bgl II和Xho I(购于TaKaRa公司)双酶切后再次纯化得到miR-622前体目的片段。pSuper.gfp/neo载体用Bgl II和Xho I 双酶切并纯化后, 插入miR-622前体目的片段, 载体构建成功后即pSuper/miR-622送博尚生物有限公司测序鉴定。

**1.2.2 稳定转染胃癌细胞MKN-45筛选:** 胃癌细胞MKN-45用RPMI 1640(10% HYCLONE血清)培养, 转染前1 d 种6孔板, 每孔细胞数为 $1 \times 10^5$ 个, 细胞生长至90%融合时用Lipofectamine2000脂质体进行转染。将pSuper.gfp/neo空载体和pSuper/miR-622载体转染胃癌细胞MKN-45转染24 h后, 加入含G418(1 g/L)的培养液筛选稳定转染细胞株, 3-4 wk克隆形成后, 荧光显微镜下观察克隆的荧光显示情况, 若克隆集中显示荧光, 则

## ■ 研发前沿

胃癌是全球高发的恶性肿瘤之一, 但目前我们对胃癌的发病机制尚缺乏全面和深入的了解。已有研究报道, 胃癌中也存在广泛的mi-croRNA表达失调。

## ■相关报道

越来越多的证据显示,人类的一些恶性肿瘤组织中microRNAs基因的表达发生改变,如肺癌、肝癌、结肠癌、乳腺癌、食管癌。

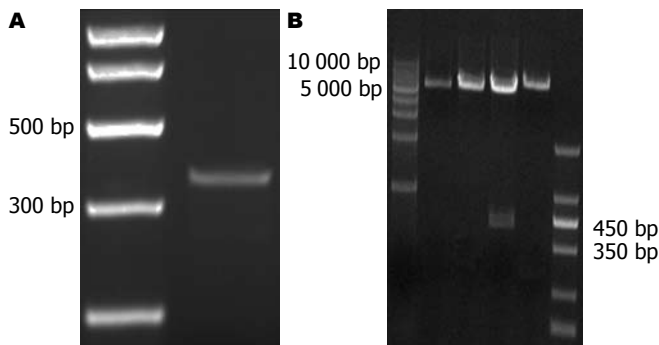


图1 miR-622真核表达载体的构建. A: PCR扩增miR-622前体, 大小约462 bp; B: pSuper/miR-622真核表达载体双酶切鉴定, 片段大小完全正确。

挑出克隆继续扩群培养, G418改为400 mg/L的维持浓度. 最后通过定量PCR验证miR-622的表达情况.

**1.2.3 Western blot检测ING1蛋白水平表达:** 提取细胞总蛋白, 定量, 与上样缓冲液按比例混匀, 100 °C煮5 min, 8% SDS-PAGE电泳后电转移至PVDF膜上, 5%脱脂牛奶室温封闭1 h, 加入一抗, 4 °C孵育过夜, TBST洗涤3次, 每10 min换液1次. 加入二抗, 37 °C孵育45 min, TBST洗涤3次, 每15 min换液1次, 在暗室中压片, 然后显影、定影. 图像应用AlphaImager 2200软件进行分析. 以GAPDH(单抗工作浓度为1:4 000)为内参照.

**1.2.4 CCK-8细胞增殖实验:** 96孔板中培养细胞, 每孔 $10^3$ 个细胞, 每种处理方式的细胞接种5个复孔. 1(细胞已贴壁)、2、3、4、5 d加入CCK-8 10  $\mu$ L. 培养4 h, 酶标仪设置波长570 nm 测定吸光度, 得到4个时间点的吸光度平均值后绘制细胞增殖曲线.

**1.2.5 流式细胞仪检测:** 取胃癌细胞 $10^6$ 个细胞计数, 接种到培养瓶中, 对照组加等体积PBS缓冲液, 胰酶消化细胞, 加入预先 -20 °C冰冷的无水乙醇, 过滤到流式细胞计数管, 加50  $\mu$ L(0.1 g/L PI, 2 g/L RNA酶的PBS 溶液)染色液混匀, 流式细胞技术计数, 以Flowjo 8.5软件分析细胞周期.

**统计学处理** 采用医用SPSS15.0统计软件进行分析、处理. 数据以mean $\pm$ SD表示. 组间均数的比较采用单因素方差分析. 行 $\times$ 列表资料的率差别采用 $\chi^2$ 检验.  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 构建miR-622重组质粒表达载体** 以人胃癌细胞株MKN-45基因组为模板扩增miR-622前体, 可得到约462 bp目的条带(图1A). 将目的条带纯化后并经过Bgl II和Xho I 双酶切克隆入microRNA表达载体pSuper.gfp/neo载体, 挑选阳性克隆鉴定(图1B), DNA 测序表明miR-622真核表达载体构建成功.

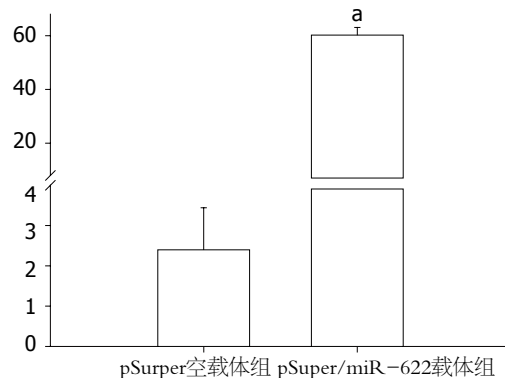


图2 稳定转染胃癌细胞MKN-45中miR-622定量分析. <sup>a</sup> $P<0.05$  vs pSuper空载体组.

**2.2 RT-PCR验证miR-622的表达** 在转染pSuper空载体组和转染pSuper/miR-622载体组定量值分别是:  $2.47 \pm 1.042$ 和 $61.24 \pm 2.86$ , 与pSuper空载体组相比较, 转染了pSuper/miR-622载体组miR-622表达量具有显著差异( $P<0.05$ , 图2), 表明稳转细胞筛选成功.

**2.3 Western blot验证ING1蛋白表达水平** 与pSuper空载体组相比, 转染了pSuper/miR-622高表达质粒的MKN-45细胞中ING1蛋白表达明显减少, 降低了4.58倍( $2.32 \pm 0.31$  vs  $10.62 \pm 1.04$ ,  $P<0.05$ ). 结果表明转染了miR-622的MKN-45细胞ING1蛋白的表达水平明显减少(图3). 实验结果表明ING1蛋白是miR-622靶向之一.

**2.4 miR-622高表达对胃癌细胞增殖的影响** pSuper/miR-622载体组细胞增殖数量明显增加( $P=0.000$ , 图4), miR-622的高表达促进了胃癌细胞的增殖.

**2.5 miR-622高表达对胃癌细胞周期的影响** pSuper/miR-622组在胃癌细胞G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期为 $21.45 \pm 0.16$ 而pSuper空载体组 $48.21 \pm 0.34$ ; pSuper/miR-622组在胃癌细胞G<sub>2</sub>/M期为 $53.67 \pm 0.41$ 而pSuper空载体组 $20.27 \pm 0.18$ , 与pSuper空载体组细胞相比较, miR-622的高表达促进了胃癌细胞周期的演

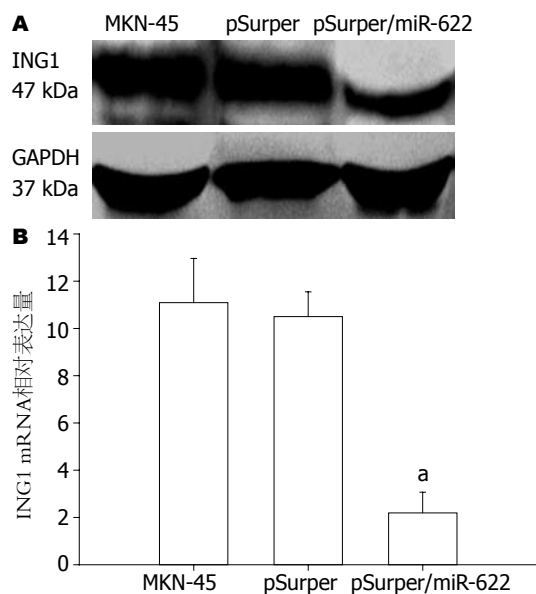


图3 miR-622抑制ING1基因表达。A: miR-622高表达抑制ING1基因表达; B: ING1基因mRNA相对表达量降低。<sup>a</sup> $P<0.05$  vs pSuper空载体组。

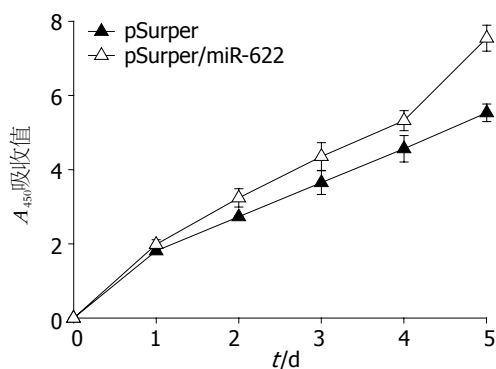


图4 CCK-8法检测两组细胞的生长曲线。<sup>a</sup> $P<0.05$  vs pSuper空载体组。

化(图5)。

### 3 讨论

胃癌是全球高发的恶性肿瘤之一,但目前我们对胃癌的发病机制尚缺乏全面和深入的了解。已有研究报道,胃癌中也存在广泛的microRNA表达失调<sup>[2]</sup>。miRNA是近年才发现的一类小分子单链RNA,长度通常21-25 nt,具有发夹样茎一环二级结构,他主要通过成熟mRNA的3'-UTR序列相结合,抑制mRNA的翻译或使mRNA降解,从而抑制基因的表达<sup>[3-6]</sup>。成熟microRNA通过与靶基因完全(植物内)或不完全(动物内)互补结合,促进靶基因mRNA降解或者抑制翻译,调控基因表达,广泛参与生命过程中一系列重要进程,包括早期发育、细胞增殖、细胞凋亡、

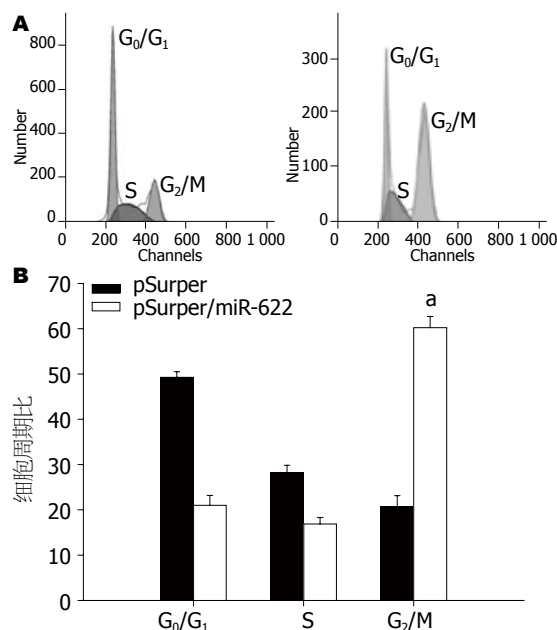


图5 miR-622促进了胃癌细胞周期的演化。A: 流式细胞仪检测的胃癌细胞周期; B: 胃癌细胞周期的统计分析。<sup>a</sup> $P<0.05$  vs pSuper空载体组。

脂肪代谢和细胞分化<sup>[3,4,7]</sup>。据估计microRNA种类在动植物体内多达上千种,至少调控机体内10%-30%基因表达,其在生命活动中的重要性可见一斑。目前,对于microRNA功能研究主要通过真核表达载体、体外转录以及直接合成3种方法为主。由于RNA本身容易收RNA酶污染而降解,合成价格昂贵、使用次数有限,使得后两种方法的应用有限,而采用真核表达载体,却有独特的优势<sup>[8]</sup>。

在本研究中我们首先通过生物信息学的方法分析了miR-622,人的miR-622(MI0003636)定位于13号染色体长臂q31.3,位于90881436-90885531位点,miR-622前体长度为96 bp,我们前期在对miR-622的研究发现miR-622直接靶向细胞周期相关基因ING1,miR-622在胃癌组织中表达下调,miR-622跟胃癌组织的分化和淋巴结转移相关,体内裸鼠和体外细胞实验证实上调miR-622的表达具有抑制胃癌细胞侵袭和肿瘤形成、转移的能力<sup>[1]</sup>。为了更好研究miR-622在胃癌中的作用,本研究采用microRNA表达载体pSuper.gfp/neo载体,此载体具有H1型启动子和绿色荧光蛋白,当microRNA插入此载体多克隆位点时被宿主细胞Dicer酶切割,成为成熟的miRNA。构建的miR-622真核表达载体转染到MKN-45细胞,该细胞本身低表达miR-622<sup>[1]</sup>,转染进的miR-622前体能被宿主细胞Dicer酶切割,

#### ■应用要点

本文构建了pSuper/miR-622真核表达载体,通过实验证明其可在胃癌MKN-45细胞中有效表达并转变为成熟的miR-331发挥生物学作用。

## ■同行评价

本文讨论条理分明,有系统的理论分析和有价值的科学结论.

成为成熟的miR-622, 本实验为构建microRNA表达载体提出新的思路与方法. 其次, 构建的质粒转染入细胞后可整合到细胞基因组中, 稳定表达并与绿色荧光蛋白融合表达, 绿色荧光蛋白的表达可以间接反映microRNA表达情况, 并可以衡量质粒导入细胞过程中的转染效率以及表达情况.

越来越多的证据显示, 人类的一些恶性肿瘤组织中microRNAs基因的表达发生改变, 如肺癌<sup>[4,9]</sup>、肝癌<sup>[10]</sup>、结肠癌<sup>[11]</sup>、乳腺癌<sup>[12]</sup>、食管癌<sup>[13,14]</sup>. microRNA在胃癌中的调节作用也被越来越多的实验证实, Wan等<sup>[15]</sup>发现miR-9在人类胃癌中下调, 过表达的miR-9抑制人胃癌MGC-803细胞的生长, miR-9打靶NFkappaB1, 并且调节胃癌细胞的生长. miR-150在胃癌细胞系和组织中高表达, 异位表达的miR-150促进肿瘤和胃癌细胞扩散. 荧光素酶报告基因分析表明, EGR2是miR-150的直接靶位点<sup>[16]</sup>. 人类结肠癌细胞系中, miR-200b表达上调, 加入5-氟尿嘧啶处理之后miR-200b表达下调. miR-200b抑制络氨酸磷酸酶蛋白-PTPN12, 从而使c-Abl、Src和Ras等癌基因失活<sup>[17]</sup>. 为了更好阐明miR-622在胃癌发生发展中的作用, 我们通过Western blot实验显示miR-622高表达抑制细胞周期相关基因ING1的表达, ING1基因是1996年Garkavtsev等采用改良的cDNA消减杂交方法(subtractive hybridization)和体内选择技术(*in vivo* selection assay), 克隆到的一个新的肿瘤抑制基因, 主要编码蛋白p33ING1b, 细胞核内表达, 主要与p53共同参与基因调控、DNA修复、细胞周期调控、诱导凋亡以及衰老. 体内、体外和动物等实验也证实了p33ING1b蛋白的过量表达能够减缓细胞生长, 诱导细胞凋亡及促进损伤修复, 其低表达则可刺激克隆的形成, 促使细胞的恶性转化, 导致肿瘤的发生<sup>[18-22]</sup>. 目前认为, 胃癌是一类渐进性细胞周期调控机制破坏的疾病, 表现为细胞周期失调、信号传导途径异常. 生物进化过程中, 细胞建立了一系列的调控机制, 以确保细胞周期各时相严格有序地进行. 不受控制的细胞增殖是恶性肿瘤的最重要特征: 多数恶性肿瘤的发生、发展均与细胞周期调控功能紊乱有关. 因此, 对细胞周期调控机制和肿瘤细胞周期调控改变的深入研究, 小仅有助于认识肿瘤发生和演进, 还将为肿瘤治疗开辟崭新的思路<sup>[23-26]</sup>. 本课题通过胃癌细胞增殖和细胞周期实验对其进行了初步探讨, 我们使用流式细胞仪

对稳定转染胃癌细胞MKN-45进行了细胞周期分析, 实验结果表明, pSuper/miR-622组在胃癌细胞G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期为21.45±0.16明显低于pSuper空载体组48.21±0.34; pSuper/miR-622组在胃癌细胞G<sub>2</sub>/M期为53.67±0.41显著高于pSuper空载体组20.27±0.18, 与pSuper空载体组细胞相比较, 两组之间比较具有明显的统计学差异, miR-622的高表达促进了胃癌细胞周期的演化( $P=0.000$ ).

目前, 虽然已经鉴定出了大量的miRNA, 但其作用机制以及许多miRNA的生理功能还不是很清楚. 本实验构建了pSuper/miR-622真核表达载体, 通过实验证明其可在胃癌MKN-45细胞中有效表达并转变为成熟的miR-622发挥生物学作用, 表明真核表达载体pSuper/miR-622转染细胞可用于其功能研究. 此结果为进一步研究miR-622在胃癌发生发展中的作用提供了实验基础.

## 4 参考文献

- 1 Guo XB, Jing CQ, Li LP, Zhang L, Shi YL, Wang JS, Liu JL, Li CS. Down-regulation of miR-622 in gastric cancer promotes cellular invasion and tumor metastasis by targeting ING1 gene. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1895-1902
- 2 Petrocca F, Visone R, Onelli MR, Shah MH, Nicoloso MS, de Martino I, Iliopoulos D, Pilozi E, Liu CG, Negrini M, Cavazzini L, Volinia S, Alder H, Ruco LP, Baldassarre G, Croce CM, Vecchione A. E2F1-regulated microRNAs impair TGFbeta-dependent cell-cycle arrest and apoptosis in gastric cancer. *Cancer Cell* 2008; 13: 272-286
- 3 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297
- 4 Hayashita Y, Osada H, Tatematsu Y, Yamada H, Yanagisawa K, Tomida S, Yatabe Y, Kawahara K, Sekido Y, Takahashi T. A polycistronic microRNA cluster, miR-17-92, is overexpressed in human lung cancers and enhances cell proliferation. *Cancer Res* 2005; 65: 9628-9632
- 5 Jovanovic M, Hengartner MO. miRNAs and apoptosis: RNAs to die for. *Oncogene* 2006; 25: 6176-6187
- 6 Zhang B, Pan X, Anderson TA. MicroRNA: a new player in stem cells. *J Cell Physiol* 2006; 209: 266-269
- 7 Davis-Dusenbery BN, Hata A. Mechanisms of control of microRNA biogenesis. *J Biochem* 2010; 148: 381-392
- 8 严辉, 陈卫昌, 岑建农, 沈宏杰, 郭凌川, 顾冬梅, 谢学顺. 转染gklf基因对人胃癌细胞MKN-45裸鼠移植瘤的抑制作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 7-12
- 9 Lebanony D, Benjamin H, Gilad S, Ezagouri M, Dov A, Ashkenazi K, Gefen N, Izraeli S, Rechavi G, Pass H, Nonaka D, Li J, Spector Y, Rosenfeld N, Chajut A, Cohen D, Aharonov R, Mansukhani M. Diagnostic assay based on hsa-miR-205 expression distinguishes squamous from nonsquamous non-small-cell lung carcinoma. *J Clin Oncol* 2009; 27: 2030-2037
- 10 Su H, Yang JR, Xu T, Huang J, Xu L, Yuan Y, Zhuang SM. MicroRNA-101, down-regulated in hepatocellular carcinoma, promotes apoptosis and



- suppresses tumorigenicity. *Cancer Res* 2009; 69: 1135-1142
- 11 Michael MZ, O' Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res* 2003; 1: 882-891
  - 12 Kondo N, Toyama T, Sugiura H, Fujii Y, Yamashita H. miR-206 Expression is down-regulated in estrogen receptor alpha-positive human breast cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 5004-5008
  - 13 Zhou SL, Wang LD. Circulating microRNAs: novel biomarkers for esophageal cancer. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2348-2354
  - 14 Feber A, Xi L, Luketich JD, Pennathur A, Landreneau RJ, Wu M, Swanson SJ, Godfrey TE, Little VR. MicroRNA expression profiles of esophageal cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 135: 255-260; discussion 260
  - 15 Wan HY, Guo LM, Liu T, Liu M, Li X, Tang H. Regulation of the transcription factor NF-kappaB1 by microRNA-9 in human gastric adenocarcinoma. *Mol Cancer* 2010; 9: 16
  - 16 Wu Q, Jin H, Yang Z, Luo G, Lu Y, Li K, Ren G, Su T, Pan Y, Feng B, Xue Z, Wang X, Fan D. MiR-150 promotes gastric cancer proliferation by negatively regulating the pro-apoptotic gene EGR2. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 392: 340-345
  - 17 Rossi L, Bonmassar E, Faraoni I. Modification of miR gene expression pattern in human colon cancer cells following exposure to 5-fluorouracil in vitro. *Pharmacol Res* 2007; 56: 248-253
  - 18 Gómez-Cabello D, Callejas S, Benguría A, Moreno A, Alonso J, Palmero I. Regulation of the microRNA processor DGCR8 by the tumor suppressor ING1. *Cancer Res* 2010; 70: 1866-1874
  - 19 Liu J, Lin Y, Yang H, Deng Q, Chen G, He J. The expression of p33(ING1), p53, and autophagy-related gene Beclin1 in patients with non-small cell lung cancer. *Tumour Biol* 2011 Jul 22. [Epub ahead of print]
  - 20 Tallen G, Farhangi S, Tamannai M, Holtkamp N, Mangoldt D, Shah S, Suzuki K, Truss M, Henze G, Riabowol K, von Deimling A. The inhibitor of growth 1 (ING1) proteins suppress angiogenesis and differentially regulate angiopoietin expression in glioblastoma cells. *Oncol Res* 2009; 18: 95-105
  - 21 Tamannai M, Farhangi S, Truss M, Sinn B, Wurm R, Bose P, Henze G, Riabowol K, von Deimling A, Tallen G. The inhibitor of growth 1 (ING1) is involved in trichostatin A-induced apoptosis and caspase 3 signaling in p53-deficient glioblastoma cells. *Oncol Res* 2010; 18: 469-480
  - 22 Wagner MJ, Helbing CC. Multiple variants of the ING1 and ING2 tumor suppressors are differentially expressed and thyroid hormone-responsive in *Xenopus laevis*. *Gen Comp Endocrinol* 2005; 144: 38-50
  - 23 李乐平, 程力, 张黎, 靖昌庆, 徐韬, 李辰生, 郭晓波. 胃癌中靶向E2F1基因的miR-331真核表达载体的构建及功能. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1451-1456
  - 24 Foster DA, Yellen P, Xu L, Saqcena M. Regulation of G1 Cell Cycle Progression: Distinguishing the Restriction Point from a Nutrient-Sensing Cell Growth Checkpoint(s). *Genes Cancer* 2010; 1: 1124-1131
  - 25 Jin X, Tang S, Chen Q, Zou J, Zhang T, Liu F, Zhang S, Sun C, Xiao X. Furazolidone induced oxidative DNA damage via up-regulating ROS that caused cell cycle arrest in human hepatoma G2 cells. *Toxicol Lett* 2011; 201: 205-212
  - 26 Méndez J. Cyclin E goes nuts: a cell cycle regulator affects male fertility. *Cell Cycle* 2010; 9: 4782

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告—RCCSE 权威、核心期刊排行榜与指南》

**本刊讯** 《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》由中国科学评价研究中心、武汉大学图书馆和信息管理学院联合研发,采用定量评价和定性分析相结合的方法,对我国万种期刊大致浏览、反复比较和分析研究,得出了65个学术期刊排行榜,其中《世界华人消化杂志》位居396种临床医学类期刊第45位。(编辑部主任:李军亮 2010-01-08)