

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.12.003

文章编号: 1005-8982(2017)12-0015-06

GPP34 激活结肠癌细胞 Wnt 信号通路 促进癌细胞增殖的研究*

汪明振, 邱成志, 余外市, 王春晓, 郭延塔

(福建医科大学附属第二医院 普外科, 福建 泉州 362000)

摘要:目的 探讨人结肠癌细胞中高尔基相关蛋白 34(GPP34)基因高表达,激活经典 Wnt 信号通路,促进癌细胞增殖的机制。**方法** 将 SW620 结肠癌细胞株分为 4 组: 对照组、siRNA 转染组、Tricinbine 组及 TWS119 组,分别培养;逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测结肠癌细胞转染后的沉默效果;分别用 Topflash 报告基因活性法、噻唑蓝(MTT)、流式细胞技术检测各组癌细胞 Wnt 信号通路活性、生长抑制率、细胞凋亡率;Western blot 检测各组结肠癌细胞中 GPP34、 β -catenin、pS9-糖原合酶激酶-3 β (pS9-GSK-3 β)蛋白的表达。**结果** 转染 siRNA 后,沉默结肠癌细胞 GPP34 表达效果佳;与对照组比较,各实验组癌细胞的生长抑制率和凋亡率升高,且 Wnt 信号通路活性抑制。Western blot 检测结果显示,siRNA-GPP34 组 GPP34 蛋白表达下降,其余两组 GPP34 蛋白表达比较,差异无统计学意义;siRNA 转染组、Tricinbine 组和 TWS119 组的 β -catenin 和 pS9-GSK3 β 蛋白表达降低。**结论** SW620 结肠癌细胞中 GPP34 基因的高表达可通过激活经典 Wnt 细胞信号通路,促进癌细胞增殖并抑制其凋亡。

关键词: 人结肠癌细胞;高尔基相关蛋白 34;Wnt 信号通路;增殖;糖原合酶激酶-3 β ; β -catenin

中图分类号: R735.35

文献标识码: A

GPP34 promotes colon cancer cell proliferation through activation of Wnt signaling pathway*

Ming-zhen Wang, Cheng-zhi Qiu, Wai-shi Yu, Chun-xiao Wang, Yan-ta Guo

(Department of General Surgery, the Second Affiliated Hospital of Fujian Medical University,
Quanzhou, Fujian 362000, China)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of high-expression of Golgi-associated protein of 34 (GPP34) gene in activation of Wnt signaling pathway to promote colon cancer cell proliferation. **Methods** Colon cancer cell lines were divided into four groups: control group, siRNA transfection group, the group of added inhibitor of Akt/Protein Kinase B (Tricinbine group), and the group of added inhibitor of GSK-3 β (TWS119 group). The cells were cultured respectively. The silencing effect of GPP34 gene was detected by RT-PCR. The proliferation and apoptosis of the cancer cells in all groups were detected by MTT and flow cytometry respectively. Topflash reporter gene activity assay was used to detect the activity of Wnt signaling pathway in the cancer cells of each group. The expressions of GPP34, β -catenin and pS9-GSK-3 β proteins in the cancer cells of all groups were detected by Western blot. **Results** The expression level of GPP34 mRNA in the transfection group was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). Compared to the control group, the growth inhibition rate and the apoptosis rate were significantly increased ($P < 0.05$), and the activity of Wnt signaling pathway was significantly inhibited in each experimental group ($P < 0.05$). However, the growth inhibition rate, the apoptosis rate and the activity of Wnt signaling pathway showed no significant differences among the experimental groups ($P > 0.05$). Compared to the control group, GPP34 protein expression

收稿日期: 2016-08-18

* 基金项目: 福建省自然科学基金(No: 2015J01438); 福建医科大学教授基金(No: JS14028)

[通信作者] 邱成志, E-mail: qchengzhi@sohu.com

significantly decreased in the siRNA transfection group ($P < 0.05$), while that in the other two experimental groups had no significant difference ($P > 0.05$); β -catenin and pS9-GSK-3 β protein expressions were significantly decreased in the three experimental groups ($P < 0.05$). **Conclusions** High-expression of GPP34 can activate the classical Wnt signaling pathway to promote proliferation and inhibit apoptosis of SW620 colon cancer cells.

Keywords: human colorectal cancer cell line; GPP34; Wnt signaling pathway; proliferation; glycogen synthase kinase-3 β ; β -catenin

结肠癌是世界上常见的消化道恶性肿瘤之一,其发病率在我国呈现上升趋势,各种基因表达改变及细胞内信号通路异常激活参与结肠癌的发生、发展过程,该基因和信号通路位点成为靶向治疗的研究热点^[1-2]。本实验前期应用免疫组织化学法结果表明,结直肠癌组织中高尔基相关蛋白 34(golgi-associated protein of 34,GPP34)的高表达与细胞增殖核抗原(nuclear-associated antigen,Ki-67)增殖指数、 β -catenin 及细胞周期蛋白 D1 的表达呈正相关^[3-5]。除激活胞内磷脂酰肌醇激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B,Akt)/雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR)信号通路外,GPP34 的高表达促癌细胞增殖机制尚不清楚。结合课题组前期研究,本实验采用沉默 GPP34 基因方法进一步探讨 GPP34 高表达激活 Wnt/ β -catenin 信号通路的机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

siRNA 靶向 GPP34(GCUUGCUUAAUCATGGTTAT)由上海吉玛公司设计合成,逆转录酶购于立陶宛 Fermentus 公司,SYBR Ex Taq 试剂盒购于日本 TaKaRa 公司。噻唑蓝[3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide,MTT]、Tricin-bine 购于美国 Sigma 公司,Annexin-V 检测试剂盒购于美国 Becton Dickinson 公司,萤火虫荧光素酶底物及海肾荧光素酶底物购于南京碧云天公司,TWS119 购于美国 Santa cruz 公司,兔抗人 GPP34 多克隆抗体购于英国 Abcam 公司,兔抗人 pS9-糖原合酶激酶-3 β (pS9-glycogen synthase kinase-3 β ,pS9-GSK-3 β)单克隆抗体购于美国 Cell Signaling Technology 公司, β -catenin、 β -actin、辣根过氧化物酶标记的羊抗兔抗体购于美国 Santa cruz 公司。

1.2 细胞系及细胞培养

人结肠癌细胞株 SW620 购于中科院上海细胞所。将人结肠癌细胞 SW620 培养在 RPMI Medium

1640+10%胎牛血清(fetal calf serum,FBS)培养基中,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%二氧化碳 CO_2 +95%空气的饱和湿度环境的细胞培养箱进行培养。

1.3 方法

1.3.1 实验分组 将结肠癌细胞株 SW620 进行实验分组,接种细胞于 6 孔板,并将其分为 4 组:对照组[等量磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffer saline,PBS)]、siRNA 转染组(转染组采用脂质体法,参照说明书用 50 nmol siRNA 转染 SW620 细胞)、Tricin-bine 组(加 Akt 抑制剂 50 nmol)、TWS119 组(加 GSK-3 β 抑制剂 50 nmol),继续培养各组细胞。

1.3.2 逆转录聚合酶链反应(reverse transcription polymerase chain reaction,RT-PCR)检测转染组沉默效果 用 Trizol 裂解法提取转染组结肠癌细胞总 RNA,将 RNA 逆转录为 cDNA,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase,GAPDH)作为内参,进行 RT-PCR 反应。反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 20 s;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 20 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 20 s,共循环 45 次,在退火阶段检测荧光;熔解曲线条件为 50 $^{\circ}\text{C}$ 预热 15 s,51 $^{\circ}\text{C}$ 升温至 99 $^{\circ}\text{C}$,每升高 1 $^{\circ}\text{C}$ 停留 5 s。GPP34 正向引物:5'-AGGGCGA CTCCAAGGAAA-3';反向引物:5'-TGATGTGTAACC CTCGCG-3',产物长度 83 bp;聚合酶链反应引物由上海吉玛公司所设计,使用 GAPDH 作为内参,数据分析通过相对定量 ΔCt 法进行。

1.3.3 Topflash 报告基因活性法检测 Wnt 信号通路活性 弃培养液,用 PBS 缓冲液洗 1 次,加入 100 μl Harvest buffer 作用 10 min 后裂解细胞,轻轻吸取其中 40 μl 置于离心管中,加入 20 μl 萤火虫荧光素酶底物或海肾荧光素酶底物。涡旋混匀后即刻用光度计检测每孔中萤火虫荧光值及海肾荧光值,两者的比值[相对光单位值(relative luminescence units value,RLU)]即指示细胞内 Wnt 信号通路中核内转录因子 T 细胞因子(T cell factor,TCF)/淋巴样增强因子(lymphoid enhancing factor,LEF)的激活水平。

1.3.4 MTT 法检测各组 SW620 结肠癌细胞的生长

抑制率 各组细胞经胰酶消化后,接种于 96 孔板,加 100 μ l (1×10^5 个细胞)/孔,贴壁培养 24 h 后,每组设 4 个复孔及对照孔,对照孔仅加入细胞不做处理。培养 48 h 后,加 5 mg/ml MTT 10 μ l/孔培养 4 h,弃培养液。每孔加二甲基亚砷 (Dimethyl Sulphoxide, DMSO) 150 μ l,避光振荡混匀,结晶溶解后用酶标仪检测波长 490 nm 吸光度 A 值。计算公式:癌细胞生长抑制率 = (1 - 处理组平均光密度 (optical density, OD)490 值 / 对照组平均 OD490 值) \times 100%。

1.3.5 流式细胞技术 Annexin V-FITC/PI 法检测各组细胞株的凋亡率 重悬各组细胞后取 5 ~ 10 万重悬的沉淀细胞,加入 200 μ l Annexin V-FITC 结合液轻轻重悬细胞。加入 10 μ l 碘化丙啶染色液,轻轻混匀。室温避光孵育 10 ~ 20 min,置于冰浴中。随即进行流式细胞仪检测,Annexin V-FITC 为绿色荧光,碘化丙啶为红色荧光。

1.3.6 Western blot 检测各组蛋白表达 收集处于对数生长期的各组细胞进行十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺 (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gelelectrophoresis, SDS-PAGE) 电泳,然后湿转至聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜,封闭 60 min 后分别加入一抗 GPP34、pS9-GSK-3 β 、 β -catenin、 β -actin, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜; 三羟甲基氨基磷酸盐缓冲溶液 (phosphate buffer saline and tween 20, PBST) 漂洗 20 min/次,共 3 次;加入相应的辣根过氧化物酶标记的二抗溶液,室温孵育 1h; PBST 漂洗 10 min/次,共 3 次;增强化学发光法 (enhanced chemiluminescence, ECL) 试剂检测。图像应用 Image J 软件进行灰度分析,目的蛋白表达的相对强度 = 目的条带的灰度值 / β -actin 条带的灰度值。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较用独立样本 t 检验,多组间比较用单因素方差分析,各实验组与对照组比较用 Dunnett- t 检验,实验组两两比较用 SNK- q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SW620 结肠癌细胞 siRNA 转染效果

SW620 结肠癌细胞培养良好,对照组 GPP34 mRNA 的相对表达量为 (1.000 ± 0.092), siRNA 转染组 GPP34 mRNA 的相对表达量为 (0.236 ± 0.076),经 t 检验,差异有统计学意义 ($t = 5.57, P = 0.005$)。转

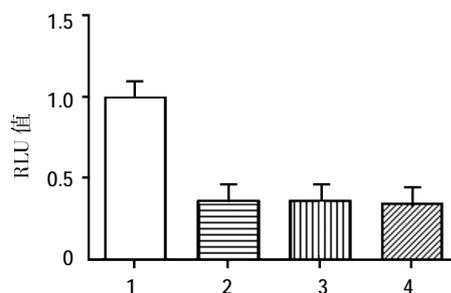
染组 GPP34 mRNA 的相对表达量低于对照组,转染效果佳。见图 1。



图 1 SW620 结肠癌细胞 ($\times 100$)

2.2 各组癌细胞 Wnt 信号通路的活性

对照组、siRNA 转染组、Tricinbine 组及 TWS119 组 SW620 癌细胞的相对荧光素酶活性,即 RLU 值分别为 (1.000 ± 0.164) 与 (0.342 ± 0.061)、(0.359 ± 0.125) 和 (0.365 ± 0.155)。各组 RLU 值比较,经单因素方差分析,差异有统计学意义 ($F = 17.812, P = 0.001$)。各实验组分别与对照组比较,经 Dunnett- t 检验,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),各实验组 RLU 值低于对照组,表明抑制 GSK-3 β 、Akt 活性及沉默 GPP34 均可降低 SW620 结肠癌细胞的 Wnt 信号通道活性,且各实验组间 RLU 值两两比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 2。



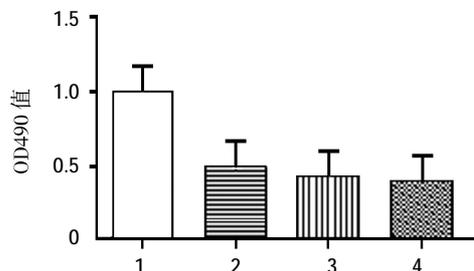
1: 对照组; 2: TWS119 组; 3: Tricinbine 组; 4: siRNA 转染组

图 2 各组 SW620 结肠癌细胞的 Wnt 信号通路活性比较 ($\bar{x} \pm s$)

2.3 各组 SW620 结肠癌细胞生长抑制率比较

MTT 法检测显示,对照组、siRNA 转染组、Tricinbine 组及 TWS119 组的癌细胞相对 OD490 值分别为 (1.000 ± 0.147)、(0.401 ± 0.010)、(0.434 ± 0.116) 和 (0.487 ± 0.077), siRNA 转染组、Tricinbine 组及 TWS119 组生长抑制率分别为 59.9%、56.6% 和 51.3%。各组生长抑制率比较,经单因素方差分析,差异有统计学意义 ($F = 13.101, P = 0.002$)。各实验组分别与对照组比较,经 Dunnett- t 检验,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),各实验组生长抑制率低于对照组,

说明抑制 GSK-3 β 、Akt 活性及沉默 GPP34 均可抑制 SW620 结肠癌细胞增殖。各实验组间两两比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 3。



1: 对照组; 2: TWS119 组; 3: Tricicbine 组; 4: siRNA 转染组

图 3 各组 SW620 结肠癌细胞相对 OD490 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

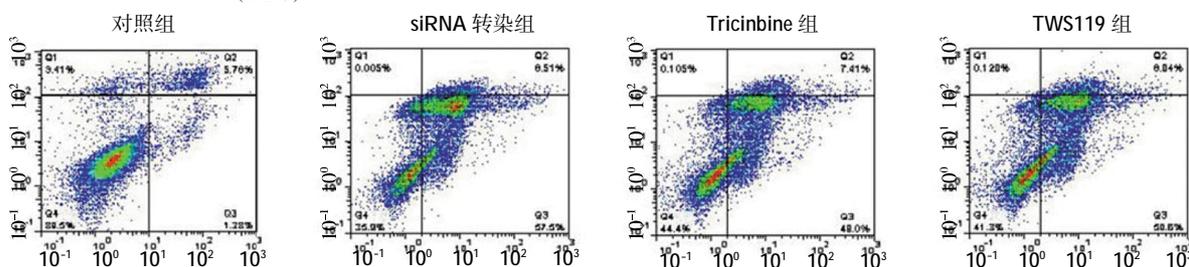
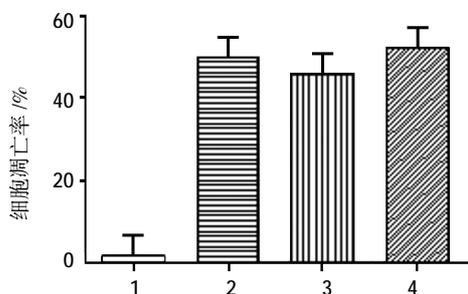


图 4 各组 SW620 结肠癌细胞的凋亡情况



1: 对照组; 2: TWS119 组; 3: Tricicbine 组; 4: siRNA 转染组

图 5 各组 SW620 结肠癌细胞凋亡率比较

2.5 β -catenin、pS9-GSK-3 β 及 GPP34 蛋白的表达

各组的 GPP34、pS9-GSK-3 β 、 β -catenin 蛋白相对表达量比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义($F=125.479$ 、 22.787 和 132.135 , 均 $P=0.000$)。各实验组蛋白相对表达量与对照组比较, 经 Dunnett- t 检验结果: ①在 GPP34 蛋白检测中, siRNA-GPP34 组与对照组比较, 差异有统计学意义($P<0.05$), siRNA 转染组的 GPP34 蛋白相对表达量低于对照组; 其余两组与对照组比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 沉默效果良好; ②3 个实验组中 β -catenin 和 pS9-GSK-3 β 蛋白相对表达量分别与对照组比较, 差异无统计

2.4 各组 SW620 结肠癌细胞凋亡率比较

流式细胞仪 Annexin V 法检测各组细胞的凋亡率, 对照组、siRNA 转染组、Tricicbine 组及 TWS119 组 SW620 癌细胞的凋亡率分别为 $(1.680 \pm 0.576)\%$ 、 $(52.467 \pm 4.373)\%$ 、 $(46.167 \pm 5.293)\%$ 和 $(50.167 \pm 6.506)\%$ 。各组凋亡率比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义($F=77.610$, $P=0.000$)。各实验组分别与对照组比较, 经 Dunnett- t 检验, 差异有统计学意义($P<0.05$), 各实验组癌细胞的凋亡率较对照组提高, 提示抑制 GSK-3 β 、Akt 活性及沉默 GPP34 均可促进癌细胞凋亡。且各实验组间两两比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 4、5。

学意义($P<0.05$)。各实验组间蛋白相对表达量两两比较, 经 SNK- q 检验结果: ①GPP34 蛋白: Tricicbine 组、TWS119 组与 siRNA-GPP34 组比较, 差异有统计学意义($P<0.05$), 而 Tricicbine 组与 TWS119 组比

附表 各组蛋白的相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	GPP34	pS9-GSK-3 β	β -catenin
对照组	1.000 \pm 0.015	1.000 \pm 0.194	1.000 \pm 0.088
siRNA 转染组	0.260 \pm 0.008	0.280 \pm 0.043	0.182 \pm 0.010
Tricicbine 组	0.906 \pm 0.006	0.208 \pm 0.065	0.192 \pm 0.073
TWS119 组	0.983 \pm 0.078	0.371 \pm 0.160	0.362 \pm 0.018
t_1 值	73.138	2.272	0.316
P_1 值	0.000	0.053	0.762
t_2 值	6.272	6.703	4.324
P_2 值	0.003	0.003	0.012
t_3 值	16.006	12.210	12.313
P_3 值	0.000	0.000	0.000
q_1 值	1.491	1.948	32.553
q_2 值	14.151	1.080	32.842
q_3 值	12.655	0.872	0.289

注: t_1 、 P_1 : 对照组 vs siRNA 转染组; t_2 、 P_2 : 对照组 vs Tricicbine 组; t_3 、 P_3 : 对照组 vs TWS119 组; q_1 : Tricicbine 组 vs TWS119 组; q_2 : siRNA 转染组 vs TWS119 组; q_3 : siRNA 转染组 vs Tricicbine 组

较,差异无统计学意义($P>0.05$);② β -catenin 蛋白:siRNA-GPP34 组、Tricinbine 组与 TWS119 组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),而 siRNA-GPP34 组与 Tricinbine 组比较,差异无统计学意义($P>0.05$);③ pS9-GSK-3 β 蛋白表达在各实验组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见附表和图 6、7。

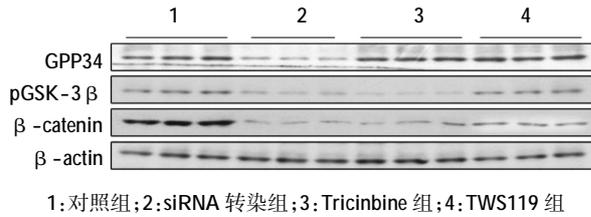


图 6 GPP34、pS9-GSK-3 β 及 β -catenin 蛋白的表达

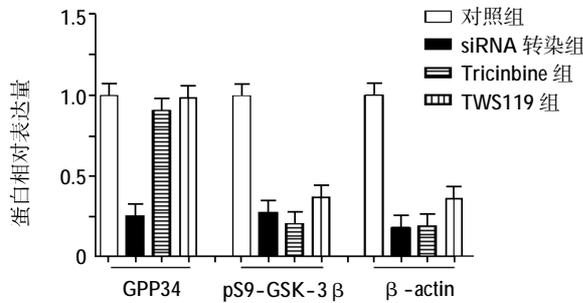


图 7 各实验组 GPP34、pS9-GSK-3 β 及 β -catenin 蛋白相对表达量比较

3 讨论

近来研究表明,GPP34 基因可促进癌细胞的生长、增殖并抑制凋亡,是一种新的原癌基因^[6-7]。在胃癌^[8]、肝癌等^[9]多种癌组织中存在 GPP34 表达明显上调,且与细胞分化差、淋巴结转移、分期晚、恶性程度高呈正相关。目前研究表明,GPP34 高表达可通过雷帕霉素靶蛋白的复合体(mammalian target of rapamycin complex,mTORC)1 和 mTORC2 底物磷酸化激活 mTOR 信号通路,加速细胞增殖分裂^[10],但是否存在激活其它细胞内信号通路,未见文献报道。因此,在笔者前期研究基础上,采用沉默 GPP34 基因方法进一步探讨 GPP34 高表达激活经典 Wnt 信号通路的机制。

经典 Wnt 信号通路激活后可抑制降解复合体(由 GSK-3 β 、结直肠腺瘤性息肉蛋白、轴蛋白等蛋白组成)中关键活性成分 GSK-3 β 的磷酸化,使 β -catenin 避免被泛素蛋白酶体识别和降解,并与转录因子 TCF/LEF 结合而导致细胞增殖的异常,促进肿瘤的发生、发展^[10-11]。已有研究证实,结肠癌等肿瘤

细胞中 Wnt 信号通路存在过度激活,且与肿瘤的发生、发展关系密切,可能成为结肠癌的防治的新途径^[12-13]。本实验首次显示沉默 GPP34 基因表达可降低经典 Wnt 信号通路活性,提示 GPP34 的高表达可激活 SW620 结肠癌细胞经典 Wnt 信号通路,促进细胞增殖并抑制凋亡。

GPP34 高表达可增强表皮生长因子引起的核糖体 S6 激酶表达水平升高,同时可通过 Ser473 磷酸化激活 Akt,Akt 激活后的作用底物包括 mTOR 和 GSK-3 β 等,GSK-3 β 是经典 Wnt 信号通路的关键调节因子,其磷酸化后可通过对 β -catenin 的影响参与细胞增殖、凋亡的调控^[14]。本实验显示,沉默 GPP34 基因表达、阻断 Akt 或 GSK-3 β 位点后 β -catenin 和 pS9-GSK-3 β 蛋白表达均降低,SW620 结肠癌细胞增殖和 Wnt 信号通路活性受到抑制,细胞凋亡增加,提示 GPP34 的高表达可上调 pS9-GSK-3 β 和 β -catenin 蛋白表达,因此笔者推断 GPP34 高表达可通过 Akt/GSK-3 β 激活 Wnt 信号通路,促进结肠癌细胞的增殖。

综上所述,SW620 结肠癌细胞中 GPP34 基因的高表达可激活经典 Wnt 细胞信号通路促进癌细胞增殖,抑制凋亡,其机制可能是通过激活 Akt,进一步通过 GSK-3 β 介导 Wnt 细胞信号通路的激活。GPP34 可作为结肠癌靶向治疗的潜在新靶点。

参 考 文 献:

- [1] 王飞,李建国,吴巧斌,等. P21 活化激酶 6 在结肠癌组织中的表达及其意义[J]. 中国现代医学杂志, 2015, 28: 7-11.
- [2] SIERSEMA P D. Colorectal cancer awareness issue[J]. Endoscopy, 2015, 47(3): 185.
- [3] 邱成志,余外市,王春晓,等. 高尔基磷酸化蛋白 3 在结直肠癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2013, 30(8): 461-463.
- [4] 余外市,邱成志,王春晓,等. 结直肠癌组织中 Golph3 的表达与细胞凋亡的相关性[J]. 中国肿瘤临床, 2013, 40(18): 1094-1097.
- [5] 周志平,邱成志,余外市,等. 结直肠癌组织中高尔基磷酸化蛋白 3 表达与 Wnt 信号通路的关系[J]. 中华实验外科杂志, 2013, 30(12): 2709-2710.
- [6] SCOTT K L, CHIN L. Signaling from the Golgi: mechanisms and models for Golgi phosphoprotein 3-mediated oncogenesis[J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(8): 2229-2234.
- [7] SCOTT K L, KABBARAH O, LIANG M C, et al. GOLPH3 modulates mTOR signalling and rapamycin sensitivity in cancer[J]. Nature, 2009, 459: 1085-1090.
- [8] PENG J Z, FANG Y, TAO Y, et al. Mechanisms of GOLPH3 associated with the progression of gastric cancer: a preliminary

- study[J]. PLoS One, 2014, 9(10): DOI: 10.1371/journal.pone.0107362.
- [9] DAI T, ZHANG D, CAI M, et al. Golgi phosphoprotein 3 (GOLPH3) promotes hepatocellular carcinoma cell aggressiveness by activating the NF- κ B pathway[J]. The Journal of Pathology (J Pathol), 2015, 235(3): 490-501.
- [10] PANDURANGAN A K. Potential targets for prevention of colorectal cancer: a focus on PI3K/Akt/mTOR and Wnt pathways[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(4): 2201-2205.
- [11] XU L, ZHANG L, HU C, et al. WNT pathway inhibitor pyrvinium pamoate inhibits the self-renewal and metastasis of breast cancer stem cells[J]. Int J Oncol, 2016, 48(3): 1175-1186.
- [12] AMADO N G, PREDES D, MORENO M M, et al. Flavonoids and Wnt/ β -catenin signaling: potential role in colorectal cancer therapies[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(7): 12094-12106.
- [13] 田笑笑, 杜浩, 郑玉峰, 等. Smad4 基因转染对结肠癌细胞中 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响[J]. 中国现代医学, 2013, 23(33): 11-16.
- [14] FREESE J L, PINO D, PLEASURE S J. Wnt signaling in development and disease[J]. Neurobiol Dis, 2010, 38(2): 148-153.

(童颖丹 编辑)

《中国现代医学杂志》投稿须知

《中国现代医学杂志》创刊于 1991 年, 期刊号 ISSN1005-8982/CN43-1225/R, 半月刊, 系中国科技论文统计源期刊、北京大学图书馆中文核心期刊、中国核心学术期刊(RCCSE)(A-)及湖南省十佳期刊, 被中国知网、万方数据库、超星域出版、美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)等国内外多个检索系统收录, 公开发行。本刊是中华人民共和国教育部主管的国家级综合性医学学术期刊, 以服务于广大医药卫生科技人员, 促进国内外医学学术交流和医学事业发展为宗旨。由中南大学、中南大学肝胆肠外科研究中心主办, 中南大学湘雅医院承办。

本刊刊登的论文内容涉及基础医学、临床医学、预防医学及医学相关学科的新理论、新技术、新成果以及医学信息、动态等。文稿须具有科学性、创新性、实用性。文字要求准确、通顺、精练。本刊设基础研究·论著、临床研究·论著、综述、新进展研究·论著、临床报道、病例报告、学术报告等栏目。学术报告类论文字数控制在 3000 字以内; 病例报告类论文字数控制在 800 字以内。稿件格式为题名、作者姓名、作者单位、邮编、摘要(具体要求见投稿细则)、关键词、正文、参考文献。

本刊对国家级的科研成果或阶段性成果及部级以上课题项目的进展报道实行速审快发。一般稿件 2 个月内有评审结果, 录用后等待发表。请作者自行登录本刊网站(www.zqxdyx.com)查询稿件处理结果, 恕不另行通知。稿件发表后, 赠当期杂志 2 本。

投稿细则

1. 文稿力求文字精练、准确、通顺; 文题简明、醒目, 能反映出文章的主题; 勿用不规范字。请作者仔细校对全文, 并认真复核数据。摘要应与正文内药物剂量、病例数、百分比等数据一致。如有错误, 将降低审稿人和编辑对该文真实性的信任度, 导致退稿。	6. 所有栏目需附关键词 3~5 个, 其中临床报道、学术报告和病例报告只需中文关键词, 其余栏目需中英文关键词齐全。
2. 文题中不使用英文缩略语。摘要中一般也不使用英文缩略语, 如因为该词出现多次而需要使用时, 应于首次出现处先写出中文全称, 然后括号内注明英文缩略语(此处不需写出英文全称)。正文中首次使用英文缩略语时, 也应于首次出现处先写出中文全称, 然后括号内注明英文全称及英文缩略语。此规则对已公知、公用的缩略语除外。	7. 照片、图片(黑白原始照片必须清晰, 大小 5 cm × 7 cm), 须在文章内标明其位置, 并附标题, 显微镜下照片应标明放大倍数, 图背面标明作者姓名、文章编号、图序及照片方向(上、下)。
3. 单位介绍信原件, 注明稿件非一稿多投。采用网上投稿方式时, 请将该介绍信照片插入提交的论文 Word 文稿第一页。	8. 所有栏目参考文献须引用 10 条以上, 以近 5 年文献为主。引用期刊的格式为: 作者. 文题. 刊名, 年, 卷(期): 起止页码; 引用书籍的格式为: 著者. 书名. 版次. 出版地: 出版社, 年份: 起止页码; 每条参考文献应列出作者姓名, 如超过 3 名者, 则在 3 名作者后写等。中文格式: 解勤之, 陈方平, 蹇在伏, 等. 红细胞收缩: 血小板无力症的可能代偿机制[J]. 中国医学工程, 1998, 8(11): 3-5。 英文格式: SZEMAN B, NAGY G. Changes in cognitive function in patient with diabetes mellitus[J]. Orv Hetil, 2012, 153(9): 323-329.
4. 所有栏目投稿的中英文论文题目、作者姓名及作者单位需齐全(每位作者只标注一个主要单位, 其余的可以作者简介方式在首页左下角注明, 标注通信作者的必须留下通信作者本人的电话或电子邮箱, 以便核实)。	9. 综述第一作者须有副高以上职称证明(参考文献 35 条以上)。
5. 栏目对中英文摘要的要求: 基础研究·论著、临床研究·论著、新进展研究·论著需中英文摘要齐全, 并按目的、方法、结果、结论四要素书写, 200~500 个字。综述需中英文摘要齐全, 不需按四要素书写。临床报道和学术报告只需中文摘要, 病例报告无需中英文摘要。	10. 凡国家、省部级自然科学基金、博士基金、863 计划及国家重点实验室项目的论文, 请注明基金名称及编号并附相关项目批准文件或任务书复印件, 可优先发表。项目主要负责人为通信作者。采用网上投稿方式时, 请将相关证明材料的照片插入提交的论文 Word 文稿最后一页。