

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.04.012

文章编号: 1005-8982(2016)04-0058-06

临床论著

microRNA-221 在结直肠癌中的表达 及其对癌细胞迁移的影响

王刚¹, 解寒冰²

(河南省郑州人民医院 1.急诊科, 2.普通外科, 河南 郑州 450003)

摘要:目的 研究上皮-间质转化(EMT)相关的微小 RNA(miRNA, 以下简称 miRNA)-221 在结直肠癌患者中的表达水平, 并探索其对结直肠癌细胞迁移水平的影响。**方法** 选取该院 40 例结直肠癌患者为研究组, 选取同期体检的 40 例健康人群为对照组。采用实时定量 RT-PCR 法检测结直肠癌患者癌组织以及癌旁组织中 miRNA-221 表达水平, 同时对比结直肠癌患者及正常人血浆中 miRNA-221 表达水平。对结直肠癌细胞采用 miRNA-221 的 mimic 及 inhibitor 分别高、低表达 miRNA-221 后, 采用 transwell 法分别检测细胞的侵袭水平以及 EMT 相关蛋白表达。**结果** miRNA-221 在直肠癌组织的表达水平显著高于癌旁组织, 差异有统计学意义($P < 0.05$); miRNA-221 在直肠癌患者血浆中的表达水平显著高于健康对照人群, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。干扰结直肠癌 HT-29 细胞株中 miRNA-221 后, 结直肠癌细胞迁移能力显著降低(均 $P < 0.05$), 且细胞中 EMT 相关的上皮钙黏蛋白(E-cad)的表达水平降低; 而过表达 HT-29 细胞株中 miRNA-221, 结直肠癌细胞迁移能力显著增加, 且细胞中 EMT 相关的上皮钙黏蛋白(E-cad)的表达水平增加。**结论** 结直肠癌患者高表达的 miRNA-221 通过促进结直肠癌细胞的迁移水平来参与结直肠癌发生发展的进程。

关键词: microRNA-221; 结直肠癌; 上皮钙黏蛋白; 迁移

中图分类号: R735.3

文献标志码: A

Expression of microRNA-221 in colorectal carcinoma and its impact on cancer cells' migration

Gang Wang¹, Han-bing Xie²

(1.Department of Emergency Medicine; 2.Department of General Surgery, Zhengzhou People's Hospital, Zhengzhou, Henan 450003, China)

Abstract: Objective To study miRNA-221 expression in colorectal tissue and plasma of cancer patients, and to explore the mechanism about its migration of colorectal cancer. **Methods** 40 cases of colorectal cancer patients in our hospital as the study group, 40 cases of healthy people as the control group, we used RT-PCR to detect the mRNA levels in peripheral blood or tissue between of two groups; in addition, after overexpression or knockdown of miRNA-221, we detected the migration of cancer cells. **Results** The expression of microRNA-221 in colorectal cancer tissues was significantly higher than the adjacent tissues ($P < 0.05$); in addition, the expression of microRNA-221 in plasma of colorectal cancer patients was significantly higher than the normal population ($P < 0.05$). Knockdown of microRNA-221 in colorectal cancer cell line reduced cell invasion and E-cad expression significantly ($P < 0.05$); whereas overexpression of microRNA-221 in colorectal cancer cell line improved cell invasion and E-cad expression significantly ($P < 0.05$). **Conclusion** High expression of microRNA-221 in colorectal cancer patients participated in the development of colorectal cancer by promoting the migration of colorectal cancer cells.

Keywords: microRNA-221; colorectal cancer; E-cad; migration

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球消化道最常见的恶性肿瘤之一,根据 WHO 国际癌症研究机构数据显示,近年来,结直肠癌的发病率和死亡率呈现逐渐上升的趋势^[1]。而在中国,由于饮食结构西方化、生活行为方式改变及精神紧张等很多因素,结直肠癌死亡率居恶性肿瘤第 5 位^[2-3]。因此,研究结直肠癌的发病机制对结直肠癌的预防和治疗有着重要的临床意义。上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指上皮细胞在特定的生理和病理情况下向间质细胞发生转化的现象。研究发现,EMT 现象与肿瘤的侵袭、转移等密切相关,在多种癌症的原位浸润和远处转移中发挥着极其重要作用^[4]。

微小 RNA(microRNA, 以下简称 miRNA)是一类新近发现的长度约为 22 个核苷酸的非编码单链小分子 RNA。研究发现,miRNA 在肿瘤的 EMT 过程中发挥着重要的作用:miRNA-194 能够通过靶向 FoxM1 抑制胃癌的 EMT 过程^[5];miRNA-124 通过调节 TNF- α 参与调节前列腺癌的 EMT^[6];高表达的 miRNA-9 参与乳腺癌的 EMT 过程^[7]。miRNA-221 是一类近年来发现的与前列腺癌 EMT 中密切相关的新分子^[8]。然而到目前为止,EMT 相关的 miRNA-221 在结直肠癌患者组织及血浆内的表达水平以及对结直肠癌细胞潜在作用的研究报道尚少。本研究对比了 miRNA-221 在结直肠癌患者组织及血浆内的表达水平,并观察其对结直肠癌细胞的迁移能力的影响。

1 材料与方法

1.1 临床资料

所有组织样本来源于 2013 年 1 月-2015 年 1 月郑州人民医院行手术治疗的 40 例结直肠癌患者的手术切除标本,病理诊断均为结直肠癌。患者年龄 23~69 岁。术前均未接受化疗、放疗。癌组织标本离体时间控制在 30 min 内,并分别取癌旁组织(距离癌组织大约 4 cm)。对照组选取本院体检的正常 40 例健康人群,年龄 22~63 岁。其中,男性 16 例,女性 24 例。两组人群在性别、年龄方面差异无统计学意义,具有可比性($P>0.05$)。

1.2 实验方法

1.2.1 组织以及血浆标本总 RNA 提取、逆转录反应及检测 清晨空腹时抽取正常人群与结直肠癌患者 5 ml 外周静脉血,加入 EDTA 抗凝剂,2 h 内于 4℃ 条件下 4 000 r 离心 5 min。离心后提取上层血浆

放入 -80℃ 冰箱保存备用。结直肠癌组织及癌旁组织手术切除标本取出后立即放入液氮,并储存于 -80℃ 冰箱。总 RNA 提取、逆转录反应及实时定量 PCR(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR):取约 100 mg 组织或 100 μ l 血浆,加入 1 ml Trizol(购于美国 Gibco 公司)后采用匀浆仪进行匀浆,抽提总 RNA,所得 RNA 溶于 20 μ l 的 DEPC 水中,采用逆转录试剂盒(Thermo Fisher 公司)对所抽提的 RNA 进行逆转录得到 cDNA。PCR 反应条件:95℃ 变性 20 s,然后 60℃ 20 s 和 70℃ 1 s 进行 40 个循环。miRNA-221 探针引物:5'-GAAACCCAG CAGACAATGTAGCT-3'^[9];U6 内参:5'-CTCGCTTCG GCAGACA-3' 以及 5'-AACGCTTCACGAATTTGCCG T-3'。PCR 使用 ABI 公司的 7300 型号 Real-Time PCR 仪器,结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行相对定量分析^[10]。

1.2.2 细胞转染 人大肠癌细胞株 HT-29(上海拜力生物科技有限公司)采用高糖 DMEM(美国 Hyclone 公司)+10%FBS(美国 Gibco 公司)传代培养,如图 1 所示。待 HT-29 细胞汇合率生长到 60%~70%左右时,采用脂质体 2000(美国 Invitrogen 公司)对株 HT-29 分别采用 miRNA-221 的 mimic 及 inhibitor 转染,高、低表达 miRNA-221,于 48 h 检测其干扰效率。miRNA-221 的模拟物与抑制物由广州锐博生物科技有限公司设计合成。分组情况:A 组空白组(未加任何序列质粒);B 组对照组(加入对照无意义序列);C 组实验组(mimic 及 inhibitor 转染组)。

1.2.3 细胞迁移实验 取对数生长期 HT-29 细胞制备细胞悬液,调整细胞密度至 5×10^5 个/ml,按 0.1 ml/孔加入到 transwell(美国 Corning 公司)小室的上层,小室下层加入 1 ml 的 10%血清的培养液(完全 DMEM)。培养 24 h 时间后,取出 transwell 小室,吸去

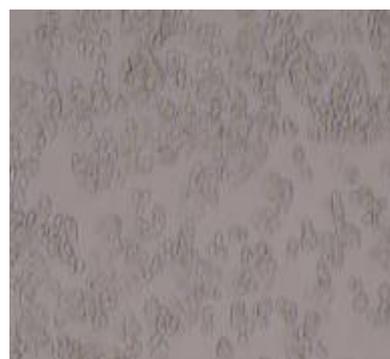


图 1 细胞培养图 ($\times 200$)

上层的培养液,使小室于室温下自然干燥。无水乙醇固定后,采用 0.1%结晶紫于室温下染色 30 min,倒置显微镜(德国蔡司,CFM-500)下观察已迁移至小室下层的细胞。随机选取 5 个视野($\times 200$ 倍),计数小室下层的细胞数。本实验重复 3 次,每次每样三复孔。

1.3 免疫印迹检测蛋白水平

转染后收集 HT-29 细胞,加入 $1 \times$ SDS 细胞裂解液,SDS-PAGE 电泳,120 V 电压转膜 100 min,37℃ 封闭 80 min,加兔抗人的上皮钙黏蛋白(E-cadherin,E-cad)(美国 Cell Signaling 公司)4℃ 孵育过夜后,HRP 标记的小鼠抗兔二抗(南京生兴生物)(1:2 000 稀释)37℃ 孵育 30 min,ECL 发光检测。内参蛋白选用 Sigma 公司的兔抗人 β -actin(1:3 000 稀释)。用 Image-Pro-plus 图像分析软件系统对蛋白条进行扫描并分析结果,以 β -actin 为参照,E-cad 表达的相对含量以目的条带与内参条带灰度值的比值表示。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件进行统计分析。观测资料均为计量数据,经正态性检验通过,以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)描述。多组间的比较,为单因素方差分析 +LSD 多重比较;两组间的差异比较,为成组 t 检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结直肠癌患者组织中 miRNA-221 mRNA 的表达水平

miRNA-221 mRNA 在结直肠患者组织中的表达水平为 (3.02 ± 1.19),显著高于癌旁组织的 (1.18 ± 0.27),差异有统计学意义 ($t = 11.682, P = 0.000$)。

2.2 结直肠癌患者血浆中 miRNA-221 mRNA 的表达水平

结直肠癌患者血浆中 miRNA-221 mRNA 表达水平为 (3.18 ± 1.81),显著高于正常健康人群的 (1.31 ± 0.53),差异有统计学意义 ($t = 6.345, P = 0.000$)。

2.3 低表达 miRNA-221 对结直肠癌细胞迁移能力及 EMT 相关蛋白水平影响

由表 1 可见,3 个指标的 3 个组间整体差异有统计学意义($P < 0.05$)。遂进行多重比较,比较结果显示:结直肠癌细胞转染 miRNA-221 的抑制物(inhibitor)后,miRNA-221 的 mRNA 水平显著降低

($P < 0.05$)(见图 2A)。低表达结直肠癌细胞中 miRNA-221 后,HT-29 细胞的迁移能力显著降低($P < 0.05$)(见图 2B)。此外,本研究还发现,与转染对照组比较,低表达 miRNA-221 的结直肠癌细胞中 EMT 相关的上皮钙黏蛋白(E-cad)的表达水平降低(图 2C、2D),差异也有显著性意义($P < 0.05$)。

2.4 高表达 miRNA-221 对结直肠癌细胞迁移能力及 EMT 相关蛋白水平影响

由表 2 可见,3 个指标的 3 个组间整体差异也均有统计学意义($P < 0.05$)。再进行多重比较,比较结果显示:结直肠癌细胞转染 miRNA-221 的模拟物(mimic)后,miRNA-221 的 mRNA 水平表达增加(见图 3A),差异有统计学意义($P < 0.05$)。高表达结直肠癌细胞中 miRNA-221 后,HT-29 细胞且迁移能力也显著增加(见图 3B)($P < 0.05$)。此外,与转染对照组比较,过表达 miRNA-221 的结直肠癌细胞中 EMT 相关的 E-cad 的表达水平增加(见图 3C、3D),差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 干扰 miRNA-221 对结直肠癌细胞迁移影响比较

组别	n	mRNA 水平	HT-29 迁移能力	E-cad 水平
A:空白组	40	1.23 \pm 0.20	41.5 \pm 6.1	1.13 \pm 0.40
B:对照组	40	1.18 \pm 0.21	42.7 \pm 6.5	1.18 \pm 0.39
C:抑制物	40	0.35 \pm 0.08	26.2 \pm 3.3	0.35 \pm 0.08
整体分析	F值,P值	295.350,0.000	109.676,0.000	63.742,0.000
B vs A	LSD-t值,P值	0.923,0.358	1.676,0.096	0.024,0.981
C vs A	LSD-t值,P值	21.494,0.000	11.906,0.000	9.766,0.000
C vs B	LSD-t值,P值	20.572,0.000	13.582,0.000	9.790,0.000

注:整体分析为单因素方差分析,多重比较为 LSD 检验

表 2 过表达 miRNA-221 对结直肠癌细胞迁移影响比较

组别	n	mRNA 水平	HT-29 迁移能力	E-cad 水平
A:空白组	40	1.15 \pm 0.20	41.5 \pm 6.1	1.10 \pm 0.09
B:对照组	40	1.17 \pm 0.15	42.7 \pm 6.5	1.14 \pm 0.13
C:模拟物	40	3.31 \pm 0.34	80.1 \pm 2.0	2.94 \pm 0.42
整体分析	F值,P值	951.591,0.000	728.822,0.000	602.520,0.000
B vs A	LSD-t值,P值	0.407,0.685	1.204,0.231	0.252,0.801
C vs A	LSD-t值,P值	37.983,0.000	33.650,0.000	30.188,0.000
C vs B	LSD-t值,P值	37.576,0.000	32.446,0.000	29.936,0.000

注:整体分析为单因素方差分析,多重比较为 LSD 检验

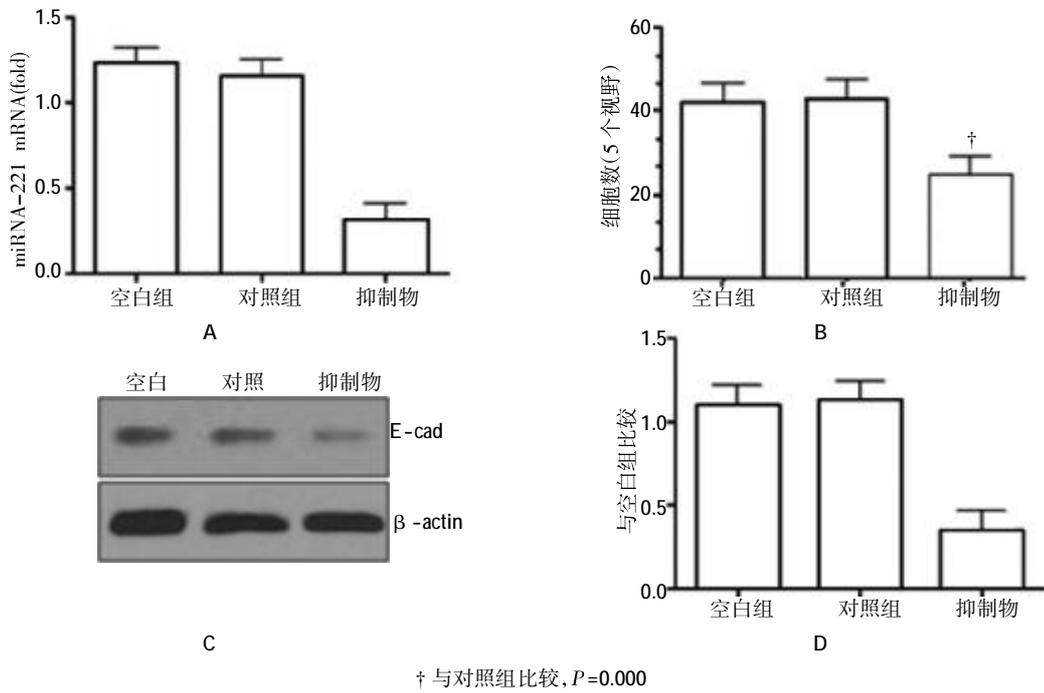


图 2 低表达 miRNA-221 对结直肠癌细胞迁移能力及 EMT 相关蛋白水平影响

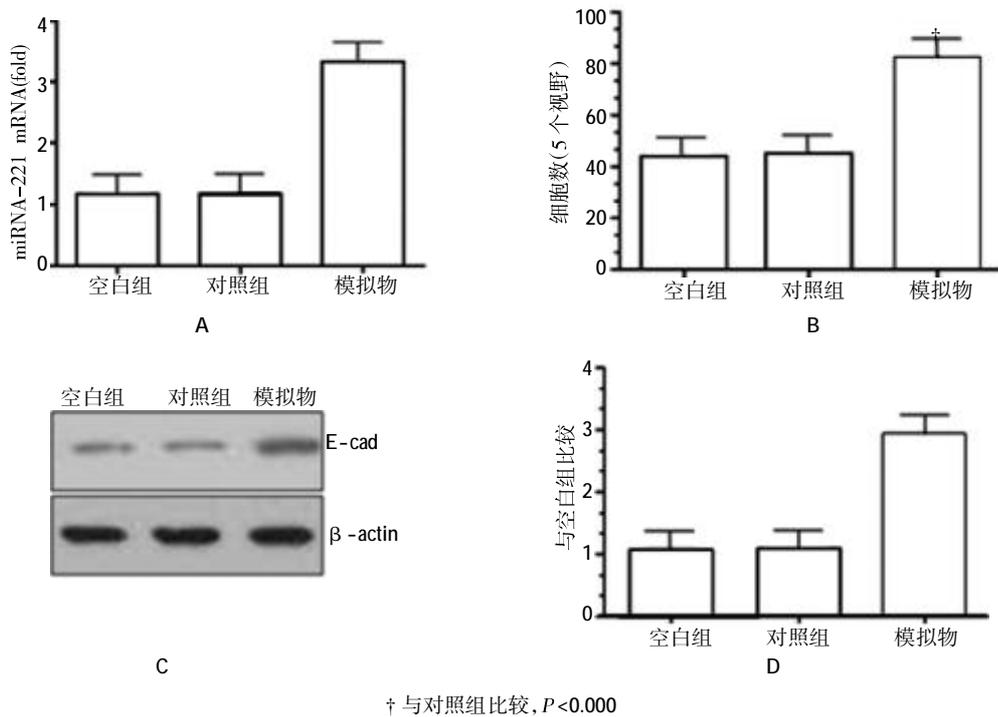


图 3 高表达 miRNA-221 对结直肠癌细胞迁移能力及 EMT 相关蛋白水平影响

3 讨论

结直肠癌是一种常见的消化道恶性肿瘤,其发病与生活方式、遗传及大肠腺瘤等关系密切。结直肠癌的发生及发展是一个多因素、复杂的过程,而肿瘤转移是结直肠癌高死亡率的主要原因之一^[11]。结直肠癌的 EMT 过程包含细胞骨架重排、上皮细胞解

除细胞间黏附结构及细胞极性改变等,导致细胞变形、伸出丝状伪足及细胞极性的丧失等,从而在结直肠癌的发生发展中发挥极其重要的作用^[12]。因此,寻找特异性早期诊断 EMT 相关的分子标志物(如基因标志)以及基因靶向治疗的新策略成为结直肠癌的基础与临床研究的热点问题。

microRNA(miRNA)通过引起特异靶 mRNA 降解抑制蛋白合成,在转录后水平负性调控特异基因表达,是一种新的基因表达调控分子。研究认为,miRNAs 既可作为癌基因又可作为抑癌基因,广泛参与肿瘤细胞的侵袭、转移等多种病理过程^[13-17]。大量的研究认为,miRNA 在结直肠癌的发生、发展、诊断和预后等方面发挥重要作用^[11,18-19]。Hansen 等^[11]发现在结直肠癌细胞系中 miRNA-126 显著上调,并与结直肠癌的转移密切相关。而 Geng 等^[20]发现,miRNA-103 在结直肠癌组织中表达上调,且能够促进结直肠癌的迁移。然而至今,结直肠癌患者中 miRNA-221 的表达水平及其功能的研究尚少报道。

本结果发现,miRNA-221 在结直肠癌患者组织中表达水平显著高于癌旁组织,且 miRNA-221 在结直肠癌患者血浆中的表达水平高于正常人群,说明了 miRNA-221 在结直肠癌患者中可能参与结直肠癌的发生、进展和转移。Qin 等^[21]学者发现 miRNA-221 在结直肠癌细胞系 HT29 中高表达,且其可以通过靶向 RECK 分子促进结直肠癌细胞的转移;从另一方面支持了本研究在结直肠癌组织中的结果。

此外,结果还发现,低表达 miRNA-221 的结直肠癌细胞的迁移水平显著降低,而高表达 miRNA-221 的结直肠癌细胞的迁移水平显著增加,表明 miRNA-221 能够促进结直肠癌细胞的迁移,从而提示了 miRNA-221 可能通过影响结直肠癌细胞的迁移参与结直肠癌的进程,这与 Qin 等^[23]研究的结果一致^[21]。研究表明,直肠癌的 EMT 过程在分子生物学方面典型表现为 E-cad 蛋白等上皮标志物的缺失或减弱。本研究结果亦发现,低表达 miRNA-221 的结直肠癌细胞的 EMT 相关蛋白 E-cad 表达水平显著降低;而高表达 miRNA-221 的结直肠癌细胞中 EMT 相关蛋白 E-cad 表达水平显著增加,从而提示了 miRNA-221 可能通过调控 E-cad 来参与结直肠癌的 EMT 进程。

综上所述,miRNA-221 在结直肠癌中可能发挥促进肿瘤的功能,其主要是通过影响结直肠癌细胞的迁移来参与肿瘤的进程,并与结直肠癌的 EMT 相关蛋白 E-cad 密切相关。结直肠癌患者组织及血浆中 miRNA-221 的检测对结直肠癌的临床治疗及预后可能具有一定的指导意义。

参 考 文 献:

- [1] Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer[J]. *Lancet*, 2014, 383(9927): 1490-1502.
- [2] Zheng ZX, Zheng RS, Zhang SW, et al. Colorectal cancer incidence and mortality in china, 2010[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(19): 8455-8460.
- [3] Liang Y, Tang W, Huang T, et al. Genetic variations affecting serum carcinoembryonic antigen levels and status of regional lymph nodes in patients with sporadic colorectal cancer from Southern China[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e97923.
- [4] Hao J, Zhang Y, Deng M, et al. MicroRNA control of epithelial-mesenchymal transition in cancer stem cells[J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(5): 1019-1027.
- [5] Li Z, Ying X, Chen H, et al. MicroRNA-194 inhibits the epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer cells by targeting FoxM1[J]. *Dig Dis Sci*, 2014, 59(9): 2145-2152.
- [6] Qin W, Pan Y, Zheng X, et al. MicroRNA-124 regulates TGF- α -induced epithelial-mesenchymal transition in human prostate cancer cells[J]. *Int J Oncol*, 2014, 45(3): 1225-1231.
- [7] Gwak JM, Kim HJ, Kim EJ, et al. MicroRNA-9 is associated with epithelial-mesenchymal transition, breast cancer stem cell phenotype, and tumor progression in breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2014, 147(1): 39-49.
- [8] Su A, He S, Tian B, et al. MicroRNA-221 mediates the effects of PDGF-BB on migration, proliferation, and the epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e71309.
- [9] Gramantieri L, Ferracin M, Fornari F, et al. Cyclin G1 is a target of miR-122a, a microRNA frequently down-regulated in human hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2007, 67 (13): 6092-6099.
- [10] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C (T)) Method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [11] Hansen TF, Christensen R, Andersen RF, et al. MicroRNA-126 and epidermal growth factor-like domain 7-an angiogenic couple of importance in metastatic colorectal cancer. Results from the Nordic ACT trial[J]. *Br J Cancer*, 2013, 109(5): 1243-1251.
- [12] Zhu QC, Gao RY, Wu W, et al. Epithelial-mesenchymal transition and its role in the pathogenesis of colorectal cancer[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(5): 2689-2698.
- [13] 张益,周总光,王玲,等. miR-21 和 miR-125 在结直肠癌中的表达及其与临床病理指标的关系[J]. *中华胃肠外科杂志*, 2009, 12(6): 623-626.
- [14] Du J, Yang S, An D, et al. BMP-6 inhibits microRNA-21 expression in breast cancer through repressing deltaEF1 and AP-1 [J]. *Cell Res*, 2009, 19(4): 487-496.
- [15] Zhang JG, Wang JJ, Zhao F, et al. MicroRNA-21 (miR-21) represses tumor suppressor PTEN and promotes growth and in-

vasion in non-small cell lung cancer(NSCLC)[J]. Clin Chim Acta, 2010, 411(11-12): 846-852.

[16] Bae HJ, Noh JH, Kim JK, et al. MicroRNA-29c functions as a tumor suppressor by direct targeting oncogenic SIRT1 in hepatocellular carcinoma[J]. Oncogene, 2014, 33(20): 2557-2567.

[17] Fan DN, Tsang FH, Tam AH, et al. Histone lysine methyltransferase, suppressor of variegation 3-9 homolog 1, promotes hepatocellular carcinoma progression and is negatively regulated by microRNA-125b[J]. Hepatology, 2013, 57(2): 637-647.

[18] Liu L, Chen L, Xu Y, et al. microRNA-195 promotes apoptosis and suppresses tumorigenicity of human colorectal cancer cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 400(2): 236-240.

[19] Liu Y, Zhou Y, Feng X, et al. Low expression of microRNA-126 is associated with poor prognosis in colorectal cancer [J]. Genes Chromosomes Cancer, 2014, 53(4): 358-365.

[20] Geng L, Sun B, Gao B, et al. MicroRNA-103 promotes colorectal cancer by targeting tumor suppressor DICER and PTEN [J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(5): 8458-8472.

[21] Qin J, Luo M. MicroRNA-221 promotes colorectal cancer cell invasion and metastasis by targeting RECK[J]. FEBS Lett, 2014, 588(1): 99-104.

[22] Ohdaira H, Sekiguchi M, Miyata K, et al. MicroRNA-494 suppresses cell proliferation and induces senescence in A549 lung cancer cells[J]. Cell Prolif, 2012, 45(1): 32-38.

[23] Xiong H, Hong J, Du W, et al. Roles of STAT3 and ZEB1 proteins in E-cadherin down-regulation and human colorectal cancer epithelial-mesenchymal transition[J]. J Biol Chem, 2012, 287(8): 5819-5832.

(张蕾 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。本刊设论著、临床论著、综述、新进展研究、临床报道、学术报告、病例报告等栏目。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 个月内会有评审结果, 录用后等待发表。请作者自行登录本刊网站(www.zgxdyx.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

<p>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。</p>	<p>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。</p>
<p>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。</p>	<p>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)。</p>
<p>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, 请将介绍信照片插入提交的论文 Word 文稿第一页。</p>	<p>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.</p>
<p>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)。</p>	<p>9. 综述第一作者须有副高以上职称证明, 并注明综述人、审校人字样(参考文献 35 条以上)。</p>
<p>5. 栏目对中英文摘要的要求: 论著、临床论著、新进展研究需中英文摘要齐全, 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。</p>	<p>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。</p>