

miR-363 靶基因预测及生物信息学分析

李文衢¹, 石晓燕², 吕珊珊³, 黄雷¹, 付子毅², 贾雪梅^{2*}

(¹南京医科大学第一临床医学院, 江苏 南京 210029; ²南京医科大学附属南京市妇幼保健院妇科, 江苏 南京 210004; ³南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:初步明确 hsa-miR-363 潜在的生物学功能。方法:首先通过 miRbase、UCSC 等在线数据库对 hsa-miR-363 的碱基序列、基因位点及序列保守性进行分析;其次选择 miranda、miRDB、PicTar 及 TargetScan 四个在线数据库预测 hsa-miR-363 的靶基因并取交集,筛选后的靶基因用于后续分析;最后通过基因 GO 功能注释、富集分析和 KEGG 信号转导通路富集分析,初步阐明 hsa-miR-363 靶基因参与调控的细胞功能与信号通路。结果:根据生物信息学分析的结果显示,hsa-miR-363 的功能较广泛,其多个潜在靶基因均参与子宫内膜异位症发生、发展过程中的多个生物学进程。结论:hsa-miR-363 很可能与子宫内膜异位症的发病机制密切相关,并有可能为临床的靶向治疗提供潜在的新靶点。

[关键词] hsa-miR-363;子宫内膜异位症;生物信息学;靶基因

[中图分类号] R711.7

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2015)07-911-07

doi:10.7655/NYDXBNS20150703

Target genes prediction and bioinformatics analysis of hsa-miR-363

Li Wenqu¹, Shi Xiaoyan², Lv Shanshan³, Huang Lei¹, Fu Ziyi², Jia Xuemei^{2*}

(¹The First Clinical Medical College of NJMU, Nanjing 210029; ²Department of Gynecology, Affiliated Nanjing Maternal and Child Health Care Hospital of NJMU, Nanjing 210004; ³The First Clinical Medical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To identify the potential biological function of hsa-miR-363. **Methods:** Firstly we analyzed hsa-miR-363 base sequence, chromosomal position and conservation of the sequence through miRbase and UCSC databases. Secondly, we predicted the target genes by the miRNA databases, including Miranda, miRDB, PicTar, and TargetScan. Then the intersection of these predicted genes were done for further study. Finally, we clarified those cell functions and signaling pathways regulated by hsa-miR-363 target genes using GO and KEGG pathway analysis. **Results:** According to these bioinformatics data, we found that hsa-miR-363 might have a wide range of functions, and some potential target genes of this microRNA participated in the initiation and development of endometriosis. **Conclusion:** Hsa-miR-363 might be related to the pathogenesis of endometriosis, and it may provide a potential target for the clinical therapy to endometriosis.

[Key words] hsa-miR-363; endometriosis; bioinformatics analysis; target genes

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(07):911-917]

子宫内膜异位症(endometriosis, EMs)简称内异症,是一种以痛经、性交痛、不孕不育为特征,复发率高,给女性身心带来严重创伤的最常见的妇科疾病。在生育年龄妇女中其发病率高达 10%~15%以上,在不孕症妇女中,发病率更是高达 25%~40%。

虽然从组织学层面,内异症属良性疾病,但患者的子宫内膜组织却具有类似恶性肿瘤侵袭转移的能力,易种植于卵巢、腹膜、肠管等靶向器官,引起靶向器官的病变,严重降低患者的生活质量^[1-2]。目前临床上主要运用激素类药物加手术来减轻内异症患者的症状,却不能彻底清除异位病灶,也不能遏制残余内膜组织的侵袭转移,治疗后患者复发率高。子宫内膜组织向外周组织的侵袭,是内异症的

[基金项目] 国家自然科学基金(81401182;81302304)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: xmjia@njmu.edu.cn

重要临床特征,也是临床治疗内异症的瓶颈。异位内膜的侵袭种植是由多种因素共同参与的复杂过程,主要分为黏附、侵袭和血管生成3个阶段,并且涉及多条信号转导通路的相互协调。因此,探讨子宫内膜组织侵袭转移机制,开创内异症治疗新思路对指导内异症的临床治疗具有重要的研究价值。

在前期研究中,通过高通量 microRNA 芯片检测技术,分别检测内异症异位内膜组织、内异症在位内膜组织及正常内膜组织中差异表达的 microRNAs,发现与正常内膜相比,在位内膜与异位内膜中 hsa-miR-363 均显著低表达,且异位内膜中 hsa-miR-363 的表达量低于在位内膜。针对 hsa-miR-363 查阅相关文献发现,在肾癌、胃癌、结直肠癌、头颈部癌及神经母细胞瘤等肿瘤组织中,hsa-miR-363 具有明显的表达差异,并且对内皮细胞功能及脂肪细胞分化具有一定影响^[3-10]。部分文献报道表明,hsa-miR-363 的部分下游靶基因如整合素家族 (ITGA6、ITGA5、ITGAV 等)、SMAD 家族 (SMAD7、SMAD6 等)、PTEN 等与子宫内膜异位症发生发展及其相关信号通路 (MAPK、PI3K/Akt 等) 密切相关^[11-19]。miRNA 也参与调控内异症的发生、发展过程^[20-21],包括子宫内膜间质细胞 (ESC) 的增殖、凋亡、分化、侵袭转移、组织修复与重构等各个方面^[22-26]。因此推断 hsa-miR-363 很可能与子宫内膜异位症的发生、发展密切相关。由于目前尚无 hsa-miR-363 与内异症直接相关的研究报道,加之 hsa-miR-363 在内异症中的作用机制仍未完全明确。因而,深入研究 hsa-miR-363 在内异症中具体作用机制,显得尤为重要。

本研究拟运用生物信息学软件及在线数据库对 hsa-miR-363 进行生物学特征以及功能预测分析,从生物信息学角度初步判断 hsa-miR-363 与内异症是否具有相关性,并为今后深入研究相关基因在内异症发生、发展过程中的具体分子机制提供理论依据和实验基础。

1 材料和方法

1.1 材料

前期研究中,选取 20 例经术后病理确诊为内异症患者的异位内膜及在位内膜组织,并收集了 20 例具有内异症相似临床症状,手术探查及病理排除内异症的患者正常内膜组织作为对照,采用高通量 microRNA 芯片检测技术筛选差异表达的 microRNA。标本均来源于南京市妇幼保健院,患者年龄 26~

45 岁,均无内科合并症,术前 3 个月内未服用激素类药物。采取标本均得到患者的同意,并签署了知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 保守性分析

通过 miRBase (<http://www.mirbase.org/>)、NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) 及 UCSC (<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>) 等免费在线数据库分析 hsa-miR-363 的碱基序列、所在染色体位置及 miR-363 在各物种之间的保守性。

1.2.2 启动子预测

利用 Promoter scan (<http://www.bimas.cit.nih.gov/molbio/proscan/>)、UCSC 及 NCBI 等在线数据库,分析 hsa-miR-363 在基因组上下游 10 kb 以内 CpG 岛分布情况;在基因组上游 10 kb 以内是否存在可能的转录起始位置 (TSS)、可能的转录因子结合位置 (TFBS) 及可能的 polyA 信号位置;并对 hsa-miR-363 所在区域的 EST 数据进行分析,以判断其是否存在独立的转录单元。

1.2.3 靶基因预测

通过 miranda (<http://www.microrna.org/>)、miRDB (<http://mirdb.org/miRDB/>)、PicTar (<http://pictar.bio.nyu.edu/>) 及 TargetScan (<http://www.targetscan.org/>) 对 hsa-miR-363 可能存在的靶基因进行预测,取这 4 个数据库的交集做为预测靶基因的结果。

1.2.4 靶基因基因本体 (gene ontology, GO) 注释及 KEGG 疾病通路分析

利用 DAVID 数据库从生物过程 (biological process)、细胞组成 (cellular component) 和分子功能 (molecular function) 3 个部分进行 GO 注释分析,取数据库中直接给出的 $P \leq 0.05$ 为显著性阈值,筛选分析结果,并使用超几何分布对筛选结果的 P 值进行验证,进一步筛选结果;对预测的靶基因进行 KEGG (kyoto encyclopedia of gene and genomes) 疾病及信号转导通路分析,选取分析结果中 $P < 0.05$ 的相关信号通路,通过 Fisher 精确算法进一步验证其 P 值,获得相应信号转导及疾病通路。从而进一步阐明 hsa-miR-363 的生物学作用及功能。

2 结果

2.1 保守性分析

通过 miRbase、NCBI 及 UCSC 在线数据库对 miR-363 进行保守性分析,发现 hsa-miR-363 位于 X 染色体 q26.2 区域,成熟体序列大小为 22 bp,包含

hsa-miR-363-3p (5'-AAUUGCACGGUAUCCACUGUA-3')及 hsa-miR-363-5p(5'-CGGGUGGAUCACGAUGCAAUUU-3')2 个剪切体,其中以 hsa-miR-363-3p 为主。其转录产物 pre-miR-363,大小 75 bp,序列为:5'-UGUUGUCGGGUGGAUCACGAUGCAAUUUUGAU-

GAGUAUCAUAGGAGAAAAUUGCACGGUAUCCAUCUGUAAAACC-3'。miRbase 及 UCSC 均显示 miR-363 在人、猕猴、鼠、狗、马、斑马鱼等多个物种之间具有高度保守性(表 1),提示 hsa-miR-363 具有潜在的重要生物学功能。

表 1 不同物种 miR-363 成熟序列

Table 1 Mature sequence of miR-363 in different species

物种	miRNA	保守序列
人(human)	hsa-miR-363	50-AAUUGCACGGUAUCCAUCUGUA-71
猕猴(macacumulatta)	mml-miR-363	50-AAUUGCACGGUAUCCAUCUGUA-71
家鼠(house mouse)	mmu-miR-363	50-AAUUGCACGGUAUCCAUCUGUA-71
褐家鼠(rattusnorvegicus)	rno-miR-363	56-AAUUGCACGGUAUCCAUCUGU-76
家犬(canisfamiliaris)	cfa-miR-363	45-AAUUGCACGGUAUCCAUCUGUAA-67
马(horse)	eca-miR-363	50-AAUUGCACGGUAUCCAUCUGUA-71
斑马鱼(zebrafish)	dre-miR-363	78-AAUUGCACGGUAUCCAUCUGUA-99
热带爪蛙(tropical clawed frog)	xtr-miR-363	56-AAUUGCACGGUAUCCAUCUGU-76
婆罗洲猩猩(pongopygmaeus)	ppy-miR-363	50-AAUUGCACGGUAUCCAUCUGUA-71

2.2 启动子预测

利用 Promoter scan、UCSC 及 NCBI 等在线数据库,预测 hsa-miR-363 的启动子序列,结果发现存在与启动子预测相关的序列特征。通过在线数据库,发现 hsa-miR-363 在基因组上游 10 kb 以内,存在可能的 CpG 岛,且距离较近;并且存在 V \$ GATA1_05、V \$ CHOP_01、V \$ OCT1_04 及 V \$ TST1_01 等可能的转录因子结合位置(TFBS);对 hsa-miR-363 所在区域的 EST 数据进行分析,发现其存在多个独立的转录单元。

2.3 靶基因预测

通过 miranda、miRDB、PicTar 及 TargetScan 数据库对 hsa-miR-363 进行靶基因预测,取这 4 个数据库的交集进行筛选,预测其可能的靶标基共 245 个,其中包括与子宫内质膜间质细胞侵袭机制及相关通路密切相关的 IGTA5、IGTA6、ITGAV、PTEN、SMAD6、SMAD7、SOX4 及 GATA6 等基因。表 2 为部分预测的 hsa-miR-363 靶基因。

2.4 GO 注释及 KEGG 疾病通路分析

通过 DAVID 数据库,对 hsa-miR-363 的预测靶基因进行 GO 注释分析,发现其调控的靶基因的生物过程主要富集于各种生物合成过程、代谢过程、介导包裹运输及基因表达的正性调节等过程上(图 1);细胞组成方面,主要参与各类细胞器、胞膜、细胞骨架以及突触的构成(图 2);分子功能主要包括 DNA、蛋白结构域、辅酶、激素受体和细胞核素受体的结合、生长因子 β 受体转化及抑制胞质传递、跨膜运

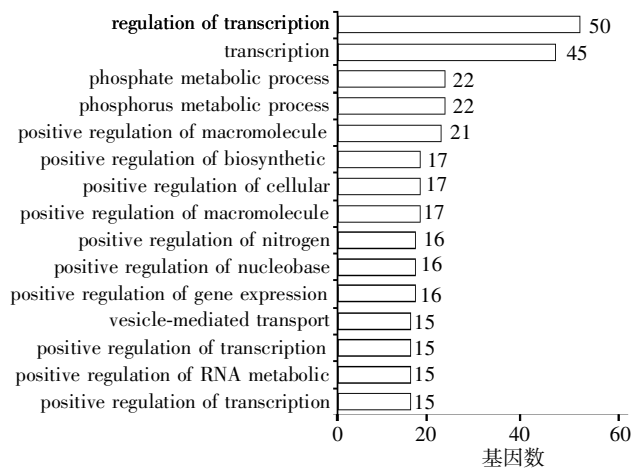


图 1 hsa-miR-363 预测靶基因集合生物学过程 GO 分析结果
Figure 1 GO analysis of predicted target genes of hsa-miR-363 in biological process

输活性、转氨酶活性等(图 3)。

KEGG 疾病及信号转导通路富集分析结果显示,hsa-miR-363 靶基因显著富集在黏着斑、ECM 受体,造血细胞系、泛酸盐与辅酶 A 的生物合成及部分氨基酸的降解通路上,且参与小细胞肺癌及各种心肌病的形成(图 4)。

3 讨论

miRNA 是广泛存在于真核生物中的一类长度 18~25 个核苷酸的单链非编码小分子 RNA。通过与 mRNA3'UTR 区进行完全或不完全互补配对,miRNA 可降解 mRNA 或抑制其翻译,从而达到对细胞

表 2 部分预测 hsa-miR-363 靶基因

Table 2 Predicted target-genes of hsa-miR-363			
基因名称	基因序列号	基因名称	基因序列号
ACOX1	NM_004035	ITGAV	NM_002210
CHKA	NM_001277	ITGA6	NM_001079818
CD2AP	NM_012120	ITGA5	NM_002205
APOBEC3F	NM_145298	SOX4	NM_003107
GATA2	NM_032638	GATA6	NM_005257
FAM110B	NM_147189	PCSK6	NM_138323
MORC3	NM_015358	TBL1XR1	NM_024665
ME1	NM_002395	SMAD6	NM_005585
MYO5A	NM_000259	SMAD7	NM_005904
MOAP1	NM_022151	WRNIP1	NM_020135
PTEN	NM_000314	COL11A1	NM_080630

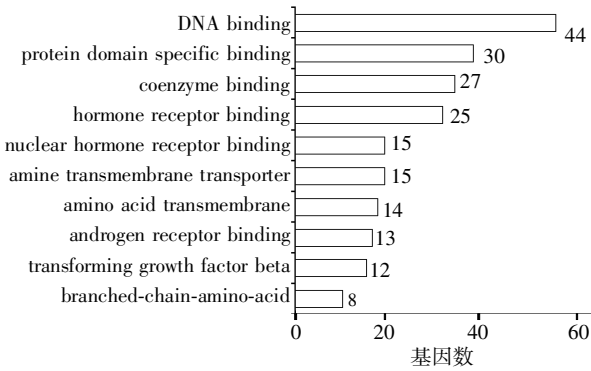


图 3 hsa-miR-363 预测靶基因集合分子功能 GO 分析结果
Figure 3 GO analysis of predicted target genes of hsa-miR-363 in molecular function

增殖、分化、代谢、凋亡的调节作用^[27-29]。近年来,相关研究显示,miRNA 与多种肿瘤相关,相关 miRNA 可能起癌基因或抑癌基因作用^[30-31]。因此,通过预测 miRNA 调控的靶基因,研究 miRNA 的生物学功能,对临床疾病及肿瘤的治疗具有重要价值。

通过对 hsa-miR-363 的生物信息学分析发现,miR-363 在各物种间具有高度的保守性。另外,hsa-miR-363 在基因组上游 10 kb 范围内存在高甲基化区域(即 CpG 岛)及多个转录因子结合位点(TF-BS),这些都为证实 hsa-miR-363 具有启动子或增强子区域提供了相关的证据。具有启动子或增强子区域及序列的高度保守性决定了 hsa-miR-363 具有潜在的重要生物学功能。

在 hsa-miR-363 预测靶基因中,部分靶基因与内异症有着密切联系:①整合素(ITGA6、ITGA5 及 ITGAV)是重要的黏附分子。Vernet-Tomas 等^[11-12]研究发现,内异症患者子宫内膜常表现为 α6 亚基的

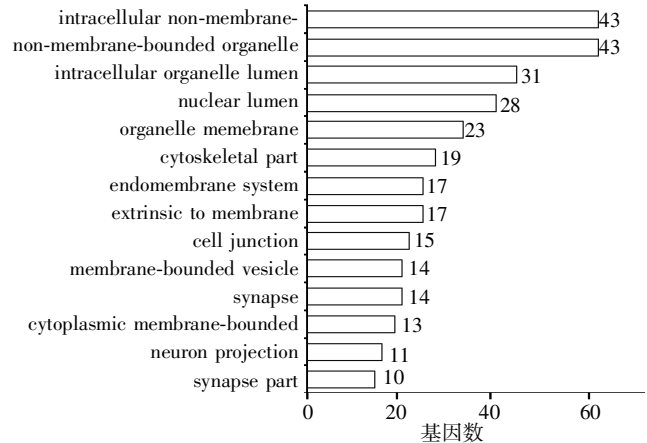


图 2 hsa-miR-363 预测靶基因集合细胞组成 GO 分析结果
Figure 2 GO analysis of predicted target genes of hsa-miR-363 in cellular component

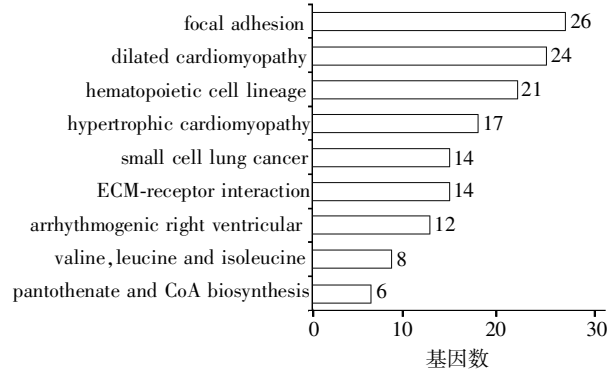


图 4 hsa-miR-363 预测靶基因集合 KEGG 信号转导通路富集分析结果
Figure 4 KEGG pathway analysis of predicted target genes of hsa-miR-363

去极化表达,而这一特征通常在具有迁移和侵袭能力的高增殖细胞中被发现。同时整合素也可介导内膜细胞与腹膜间皮细胞的黏附,引起盆腔广泛黏连^[11-12]。另外整合素 α6β1 与细胞外基质结合后刺激 FAK 酪氨酸磷酸化,激活 MAPK 通路中的 ERK、JNK 信号转导通路,促进子宫内膜细胞与层黏连蛋白的黏附和运动^[13]。ERK1/2 信号通路在细胞分裂、迁移、存活及侵袭力方面有重要的调节作用,持续活化的 ERK1/2 途径有助于细胞增殖、转移和增强抗凋亡能力^[11];②靶基因 Smad7 曾被相关报道在正常内膜组织中表达明显高于内异症患者异位内膜及在位内膜组织^[14]。Alain 等^[15]通过过表达人源性黑色素瘤细胞中的 Smad7 发现,与阴性参照相比,Smad7 过表达细胞的迁移和侵袭能力明显减弱,凋亡增加,同时还发现 Smad7 不仅可诱导凋亡,抑制基质金属蛋白酶的分泌,抑制基质的侵袭和转移,还能抑制 VEGF 的产生,从而抑制血管生

成。因此,Smad7 极有可能通过促进子宫内膜凋亡,抑制子宫内膜的侵袭、转移和血管形成来抑制内异症的发生与发展;③PTEN 可通过双向磷酸化,抑制 PI3K 信号转导通路。Li 等^[16]研究发现,PTEN 在恶性胶质瘤细胞、前列腺癌细胞、乳腺癌细胞等肿瘤细胞中均有相当比例的突变;进一步研究发现,PTEN 通过抑制蛋白酪氨酸激酶,抑制肿瘤细胞的增殖能力,并通过与黏着斑的相互作用,抑制细胞的增殖及迁移能力。本文推断 PTEN 对 ESC 的增殖、迁移和侵袭力也具有一定影响。Sato 等^[17]通过激光辅助显微解剖技术对 20 例卵巢内膜样癌、24 例卵巢透明细胞癌及 34 例卵巢子宫内膜异位囊肿组织中的 PTEN 进行染色体 10q23.3 位点杂合性缺失及定点突变实验,得出 PTEN 失活是内异症恶性转化中的早发现象的结论^[17-18],因此 PTEN 在内异症的发生发展过程中有着重要的意义。

对预测靶基因进行 GO 注释及 KEGG 疾病信号通路分析显示:靶基因生物学过程主要富集于各种生物合成、代谢过程及基因表达等方面,同时也参与各类细胞器、胞膜、细胞骨架及突触的构成,并且具有 DNA、蛋白结构域、辅酶、激素受体和细胞核素受体的结合、生长因子 β 受体转化及抑制胞质传递、跨膜运输活性、转氨酶活性等分子功能。疾病信号通路主要富集于黏着斑、ECM 受体,造血细胞系、泛酸盐与辅酶 A 的生物合成及部分氨基酸的降解通路上,且参与小细胞肺癌及各种心肌病的形成。说明 hsa-miR-363 的确具有重要的生物学功能。其中也不乏参与内异症发生发展的因子及通路。①转化生长因子 β (TGF- β),这种多功能的肽类生长因子,可以促进血管系统形成,还可以通过增加细胞外基质胶原含量,促使胶原纤维和纤维蛋白的形成,使脱落的子宫内膜细胞黏附、聚集在宫腔内,从而促使内异症的发生;另外,TGF- β 通过负性免疫调节,使异位内膜逃避免疫监视,局部种植,产生类似恶性肿瘤的侵袭性^[14,32-33]。相关研究证实,TGF- β 在内异症患者腹水、血清及异位内膜组织中的表达明显高于正常对照组,表明 TGF- β 在内异症的发生发展中可能发挥重要生物学作用^[14]。②ECM 由胶原、蛋白聚糖及糖蛋白 3 类组成部分构成,是各种组织的胞膜和基底膜的重要组成部分。ECM 不仅能够为各类细胞提供支架结构和附着点,还对细胞的增殖、分化、黏附、迁移及基因表达具有重要的作用^[34]。ECM 在 IL-6、IL-8、TNF- α 、VEGF、TGF- β 等多种物质的共同作用下,局部形成非细菌性炎症,加速内膜细胞的吸附、

粘连,加速异位内膜中 ECM 的破坏和血管形成,进而促使内异症的形成和发展^[34-38]。Harrington 等^[39]利用免疫组化和 Western blot 对子宫在位内膜和异位内膜中 ECM 蛋白分子各种成分的表达量进行测定,从组织学的染色结果看,ECM 各种成分在异位内膜和在位内膜的表达一致,提示在整个月经周期中,ECM 成分如纤维粘连蛋白、层粘连蛋白、IV 胶原、亲玻粘连蛋白和固生蛋白对于在位内膜和异位内膜的功能均具有重要性,同时也是 EMs 发病机制的物质基础^[34]。相关研究还发现,ECM 亦可通过 TGF- β 调控细胞黏附蛋白及其受体的转录和翻译并调节蛋白酶的表达,提高其黏附性,抑制降解,使盆腔组织更易于被异位的子宫内膜细胞黏附^[40]。③黏着斑,周围附着有黏着斑激酶(FAK),不仅参与调节细胞生长、发育、凋亡、黏附、转化和迁延等过程,同时还具有对肿瘤的增殖、凋亡、侵袭、转移及血管形成等的调控作用^[41-45]。赵云霞等^[41]采用免疫组化 Elivision 法检测 FAK 在 20 例 EMs 患者在位内膜组织、异位内膜组织中的表达(以 20 例正常子宫内膜组织为对照),结果发现 FAK 的阳性表达率在异位内膜、在位内膜、正常内膜中分别为 95%(19/20)、70%(14/20)、35%(7/20)。提示 FAK 在内异症内膜中的高表达可以阻止随经血逆流入盆腔的内膜细胞的失巢性凋亡,使内膜细胞存活下来,并更易于黏附在腹膜上开始种植过程,导致异位病灶的发生。

综上所述,通过对 hsa-miR-363 的生物信息学分析,初步断定 hsa-miR-363 的确参与调控 EMs 的发生发展过程,并对 ESC 的增殖、凋亡、迁移、侵袭能力具有重要的调节作用。由于目前临床上缺乏对内异症早期的有效诊断指标,加之对内异症的治疗仍停留在对症治疗水平,因此,深入探讨 hsa-miR-363 对内异症的具体调控机制,了解内异症发生发展的根源对指导内异症的临床诊断与治疗具有重要研究价值,对开创内异症新型诊断指标及靶向治疗新策略具有重要意义。

[参考文献]

- [1] Young VJ, Brown JK, Saunders PT, et al. The role of the peritoneum in the pathogenesis of endometriosis [J]. Hum Reprod Update, 2013, 19(5): 558-569
- [2] Jiang QY, Wu RJ. Growth mechanisms of endometriotic cells in implanted places: a review [J]. Gynecol Endocrinol, 2012, 28(7): 562-567
- [3] Zhou L, Chen J, Li Z, et al. Integrated profiling of mi-

- croRNAs and mRNAs: microRNAs located on Xq27.3 associate with clear cell renal cell carcinoma[J]. *PLoS One*, 2010, 5(12): e15224
- [4] Tsuji S, Kawasaki Y, Furukawa S, et al. The miR-363-GATA6-Lgr5 pathway is critical for colorectal tumorigenesis[J]. *Nat Commun*, 2013, 23(5): 3150
- [5] 徐学虎, 吴小兵, 伍尚标, 等. miR-490-5p 和 miR-363 作为结直肠癌诊断标记的研究[J]. *中华胃肠外科杂志*, 2014, 17(1): 45-50
- [6] Hsu KW, Wang AM, Ping YH, et al. Down-regulation of tumor suppressor MBP-1 by microRNA-363 in gastric carcinogenesis[J]. *Carcinogenesis*, 2014, 35(1): 208-217
- [7] Sun Q, Zhang J, Cao W, et al. Dysregulated miR-363 affects head and neck cancer invasion and metastasis by targeting podoplanin[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(3): 513-520
- [8] Qiao J, Lee S, Paul P, et al. miR-335 and miR-363 regulation of neuroblastomatumorigenesis and metastasis [J]. *Surgery*, 2013, 154(2): 226-233
- [9] Costa A, Afonso J, Osório C, et al. miR-363-5p regulates endothelial cell properties and their communication with hematopoietic precursor cells[J]. *J Hematol Oncol*, 2013, 6(1): 87
- [10] Chen L, Cui J, Hou J, et al. A novel negative regulator of adipogenesis: microRNA-363[J]. *Stem Cells*, 2014, 32(2): 510-520
- [11] 宋玉莹, 张怡. MAPK 信号转导通路与子宫内膜异位症[J]. *现代妇产科进展*, 2008, 17(10): 781-783
- [12] Vernet-Tomas Mdel M, Perez-Ares CT, Verdu N, et al. The depolarized expression of the alpha-6 integrin subunit in the endometria of women with endometriosis[J]. *Soc Gynecol Investig*, 2006, 13(4): 292-296
- [13] Giannelli G, Sgarra C, Di Naro E, et al. Endometriosis is characterized by an impaired localization of laminin-5 and alpha3beta1 integrin receptor[J]. *Gynecol Cancer*, 2007, 17(1): 242-247
- [14] 赵倩, 边爱平, 杨俊娟, 等. TGF- β 1、Smad4 和 Smad7 与子宫内膜异位症关系的研究[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2009, 10(5): 367-369
- [15] Javelaud D, Delmas V, McKenna CR, et al. Stable over-expression of Smad7 in human melanoma cells inhibits their tumorigenicity *in vitro* and *in vivo* [J]. *Oncogene*, 2005, 67(51): 2317-2324
- [16] Li J, Yen C, Liaw D, et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer[J]. *Science*, 1997, 275 (5308): 1943-1947
- [17] Sato N, Tsunoda H, Nishida M, et al. Loss of heterozygosity on 10q23.3 and mutation of the tumor suppressor gene PTEN in benign endometrial cyst of the ovary: possible sequence progression from benign endometrial cyst to endometrioid carcinoma and clear cell carcinoma of the ovary[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(24): 7052-7056
- [18] Sato N, Nishida M, Noguchi M. An approach to early genetic alterations in precancerous cells[J]. *Hum Cell*, 2000, 13(3): 103-108
- [19] Obata K, Morland SJ, Watson RH, et al. Frequent PTEN/MMAC mutations in endometrioid but not serous mucinous epithelial ovarian tumors[J]. *Cancer Res*, 1998, 58(10): 2095-2097
- [20] Ohlsson Teague EM, Van der Hoek KH, Van der Hoek MB, et al. MicroRNA-regulated pathways associated with endometriosis[J]. *Mol Endocrinol*, 2009, 23(2): 265-275
- [21] Petracco R, Grechukhina O, Popkhadze S, et al. MicroRNA 135 regulates HOXA10 expression in endometriosis[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(12): E1925-1933
- [22] Abe W, Nasu K, Nakada C, et al. miR-196b targets c-myc and Bcl-2 expression, inhibits proliferation and induces apoptosis in endometriotic stromal cells[J]. *Hum Reprod*, 2013, 28(3): 750-761
- [23] Yin X, Pavone ME, Lu Z, et al. Increased activation of the PI3K/AKT pathway compromises decidualization of stromal cells from endometriosis[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(1): E35-43
- [24] Adammek M, Greve B, Kässens N, et al. MicroRNA miR-145 inhibits proliferation, invasiveness, and stem cell phenotype of an *in vitro* endometriosis model by targeting multiple cytoskeletal elements and pluripotency factors[J]. *Fertil Steril*, 2013, 99(5): 1346-1355
- [25] Dai L, Gu L, Di W. MiR-199a attenuates endometrial stromal cell invasiveness through suppression of the IKK β /NF- κ B pathway and reduced interleukin-8 expression[J]. *Mol Hum Reprod*, 2012, 18(3): 136-145
- [26] Teague EM, Print CG, Hull ML. The role of microRNAs in endometriosis and associated reproductive conditions [J]. *Hum Reprod Update*, 2010, 16(2): 142-165
- [27] Lynam-lennon N, Maher SG, Reynolds JV. The roles of microRNA in cancer and apoptosis[J]. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 2009, 84(1): 55-71
- [28] Tsuchiya S, Okuno Y, Tsujimoto G. MicroRNA: biogenetic and functional mechanisms and involvements in cell differentiation and cancer [J]. *J Pharmacol Sci*, 2006, 101(4): 267-270
- [29] Vandenboom II TG, Li Y, Philip PA, et al. MicroRNA and cancer: tiny molecules with major implications [J]. *Curr Genomics*, 2008, 9(2): 97-109
- [30] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297

- [31] Baranwal S, Alahari SK. miRNA control of tumor cell invasion and metastasis [J]. *Int J Cancer*, 2010, 126(6): 1283-1290
- [32] Jeon SH, Chae BC, Kim HA, et al. Mechanisms underlying TGF-beta1-induced expression of VEGF and Flk-1 in mouse macrophages and their implications for angiogenesis [J]. *J Leukoc Biol*, 2007, 81(2): 557-566
- [33] Pardali K, Moustakas A. Actions of TGF-beta as tumor suppressor and pro-metastatic factor in human cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1775(1): 21-62
- [34] 谭毅, 黄荷凤. 细胞外基质与子宫内膜异位症发生学的关系 [J]. *国外医学(妇产科学分册)*, 2002, 29(3): 163-165
- [35] Lebovie DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis [J]. *Fertil Steril*, 2001, 75(1): 1-10
- [36] Gargett CE, Rogers PAW. Human endometrial angiogenesis [J]. *Reprod*, 2001, 121(2): 181-186
- [37] Mahnke JL, Dawood MY, Huang JC. Vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in peritoneal fluid of women with endometriosis [J]. *Fertil Steril*, 2000, 73(1): 166-170
- [38] D'Hooghe TM, Bambra CS, Raeymaekers BM, et al. Pelvic inflammation induced by diagnostic laparoscopy in baboons [J]. *Fertil Steril*, 1999, 72(6): 1134-1141
- [39] Harrington DJ, Lessey BA, Rai V, et al. Tenascin is differentially expressed in endometrium and endometriosis [J]. *J Pathol*, 1999, 187(2): 242-248
- [40] Gordon KJ, Blobel GC. Role of transforming growth factor-beta super family signaling pathways in human diseases [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1782(3): 197-228
- [41] 赵云霞, 章晓梅, 谢余澄, 等. 粘着斑激酶在子宫内膜异位症中的表达及其临床意义 [J]. *广东医学*, 2010, 31(11): 1448-1450
- [42] Michele AW, Katarzyna M, Lina K, et al. Focal adhesion regulation of cell behavior [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1692(2-3): 103-109
- [43] Mitra SK, Hanson DA, Schlaepfer DD. Focal adhesion kinase: In command and control of cell motility [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6(1): 56-68
- [44] Schlaepfer DD, Mitra SK, Ilie D. Control of motile and invasive cell phenotypes by focal adhesion kinase [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1692(2/3): 77-102
- [45] Hanks SK, Calalb MB, Harper MC, et al. Focal adhesion kinase suppresses apoptosis by binding to the death domain of receptor-interacting protein [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(18): 8487-8491

[收稿日期] 2015-03-19

科技出版物中数字的用法

1. 凡是可以用阿拉伯数字且很得体的地方, 均应使用阿拉伯数字。
2. 日期和时刻的表示。需注意年份不能简写, 如 1997 年不能写成 97 年。
3. 计量或计数单位前的数字应采用阿拉伯数字; 多位阿拉伯数字不能拆开转行; 小数点前或后超过 4 位数(含 4 位)的应从小数点起向左或向右每 3 位空出适当间隙, 不用千分撇“,”; 数值的有效数字应全部写出, 如“1.50、1.75、2.00”, 不能写成“1.5、1.75、2”。
4. 参数与偏差范围的表示:
 - (1) 数值范围: 5~10; 注意 $3 \times 10^3 \sim 8 \times 10^3$, 不能写成 $3 \sim 8 \times 10^3$;
 - (2) 百分数范围: 20%~30%, 不能写成 20~30%;
 - (3) 具有相同单位的量值范围: 1.5~3.6 mA 不必写成 1.5 mA~3.6 mA;
 - (4) 偏差范围: $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 不写成 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $(85 \pm 2)\%$ 不能写成 $85 \pm 2\%$;
5. 附带尺寸单位的量值相乘写为: 50 cm×80 cm×100 cm, 不能写成 50×80×100 cm, 或 50×80×100 cm³。

(本刊编辑: 接雅俐)