

miR-494 与肿瘤研究进展

段鸿芳^{1,2}, 聂国辉¹

(1. 北京大学深圳医院, 广东 深圳 518000; 2. 广州医科大学, 广东 广州 510000)

摘要: microRNAs (简称 miRNAs) 是一种由 22 个核苷酸组成的内源性非编码小分子单链 RNA, 成熟的 miRNA 与靶基因互补序列相结合来调控基因的表达, 从而参与细胞的增殖、分化和凋亡。miR-494 作为 miRNAs 家族中的一员, 在肝癌、肺癌、胃肠道肿瘤、脑部肿瘤等疾病中呈现不同的差异表达, 其通过发挥抑癌基因或癌基因样作用影响肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡等生物学过程, 从而影响肿瘤的发生发展。全文就 miR-494 与肿瘤关系的研究进展进行综述。

关键词: miR-494; 肿瘤; 增殖; 凋亡; 靶基因

中图分类号: R730.231 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-0242(2015)02-0122-05

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2015.02.A010

Research Progress of miR-494 in Tumors

DUAN Hong-fang^{1,2}, NIE Guo-hui¹

(1. Beijing University Shenzhen Hospital, Shenzhen 518000, China;

2. Guangzhou Medical University, Guangzhou 510000, China)

Abstract: MicroRNAs(miRNAs) are endogenous non coding small single chain RNAs composed of 22 nucleotides, mature miRNAs regulate the expression of gene by targeting the complementary sequence combination, which are involved in the cell proliferation, differentiation and apoptosis. miR-494, as a member of the miRNAs family, has a great different expression in hepatocellular carcinoma, lung cancer, gastrointestinal cancer, brain tumor and so on, it influences the occurrence and development of the tumor by playing a tumor suppressor or an oncogene to effect the proliferation, differentiation, apoptosis and other biological processes of the tumor cells. The research progresses of miR-494 in tumors were reviewed in this article.

Key words: miR-494; tumor; proliferation; apoptosis; target gene

microRNAs (简称 miRNAs) 是一种由 22 个核苷酸组成的内源性非编码小分子单链 RNA, 存在于多种真核生物中^[1]。近年来大量研究表明, miRNAs 在众多人类疾病的发生发展过程中起着重要的作用, 当然, 也包括肿瘤疾病。其中, 关于 miR-494 与肿瘤的关系成为众多研究热点之一, 本文就 miR-494 与肿瘤的相关研究进展作一综述。

1 miRNA 与肿瘤

编码 miRNA 的基因在 RNA 聚合酶 II 的作用下

收稿日期: 2014-04-04; 修回日期: 2014-05-27

基金项目: 深圳市科技研发资金基础研究计划资助项目

(JCYJ20130402114702127, JCYJ20120827150357364)

通讯作者: 聂国辉, E-mail: nghui@21cn.com

转录生成 miRNA 前体转录本, 经 RNA 聚合酶 III 中的 Drosha 切割产生 miRNA 前体(pre-miRNA)。Pre-miRNA 经输出因子及其受体转运至胞浆后, 再经另一种 RNA 聚合酶 III Dicer 切割产生约含 22 个核苷酸的双链 miRNA, 初级 miRNA 经过 Drosha、Dicer 连续剪切生成成熟的 miRNA^[2]。成熟的 miRNA 与靶基因互补序列相结合来调控基因的表达, 从而参与细胞的增殖、分化和凋亡。研究发现, miRNAs 在肿瘤发生发展过程中可能发挥癌基因或抑癌基因样作用^[3]。因此, miRNAs 可作为肿瘤的临床诊断和预后的生物标志物^[4]。

miR-494 位于染色体 14q32.31 上^[5], 已被证明在肝癌、肺癌、胃肠道肿瘤、脑部肿瘤等疾病中呈现不同的差异表达^[5-23], 可能作为抑癌基因抑制肿瘤的

发生,也可能作为促癌基因促进癌症的发生,总之,miR-494与肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡等密切相关,它在不同的癌症类型中通过作用于不同的分子靶点来干预肿瘤的发生发展及其预后。

2.1 miR-494与肝癌

miR-494在不同类型肝癌中的表达不尽相同。Olaru等^[6]运用基因芯片技术对miRNAs谱进行分析发现miR-494在胆管细胞型肝癌(cholangiocarcinoma,CCA)中下调,这一结果在实时荧光定量PCR(RT-QPCR)中也得到验证,miR-494高表达后细胞增殖能力和细胞的功能都减弱;流式细胞计数细胞周期分析表明miR-494通过多个靶基因干扰G₁/S周期来延缓癌细胞生长;miR-494下调周期素依赖性激酶6(Cyclin-dependent-kinase 6,CDK6)、周期素依赖性激酶4(Cyclin-dependent-kinase 4,CDK4)、周期素D1(Cyclin-D1,CCND1)、周期素E2(Cyclin-E2,CCNE2)和组蛋白脱乙酰酶(Histone-Deacetylase-1,HDAC1)的mRNA水平;Western blotting实验显示miR-494降低CDK6、CDK4、CCND1、CCNE2和HDAC1的蛋白水平的表达;荧光素酶报告载体实验证实miR-494和CDK6的非编码区(3'-Untranslated Region,3'UTR)有直接联系,说明CDK6是其作用的一个直接靶基因;进一步研究发现细胞转染miR-494后,磷光体-Rb表达水平下调,所以,miR-494通过下调CDK6、CDK4、CCND1、CCNE2和HDAC1降低Rb的磷酸化作用延迟细胞周期有望运用于临床的抗癌治疗。Yamanaka等^[7]运用基因芯片技术对43例CCA和30例正常组织的miRNAs谱进行分析发现miR-494表达水平下调;流式活化细胞分选仪(FACS)和微分干涉差显微镜(DIC)发现miR-494在CCA细胞G₂/M期中起重要的抑制调节作用;Western blotting研究发现miR-494在蛋白水平干涉G₂/M期的6个基因:Polo样激酶1(polo-like Kinase 1,PLK1)、垂体肿瘤转化基因1(pituitary tumor-transforming gene 1,PTTG1)、细胞周期蛋白B1(Cyclin B1,CCNB1)、细胞分裂周期2蛋白(cell-division cycle 2,CDC2)、细胞分裂周期20蛋白(cell-division cycle 20,CDC20)和拓扑异构酶II α (topoisomerase II α ,TOP2 α),然而,荧光素酶报告载体仅发现miR-494与开放阅读框(open reading frame,ORF)和PTTG1、TOP2 α 下调直接关联。总的来说miR-494在

细胞周期G₂/S、G₂/M过程中起着相应的调节作用。Lim等^[8]在研究肝细胞癌(hepatocellular carcinoma,HCC)时,RT-QPCR实验发现miR-494在HCC患者中超表达。通过在老鼠体内构建HCC模型(Tg肿瘤模型),实验结果表明大多数HCC中MYC和RAS基因被激活;流式细胞计数细胞周期分析发现miR-494通过调节G₁/S周期在HCC中超表达;荧光素酶报告载体证实肠癌中的突变基因(mutated in colorectal cancer,MCC)是miR-494的直接靶点,肝癌细胞的G₁/S周期被MCC调节。总之,miR-494在CCA中表达下调,在HCC中表达上调,通过作用不同的靶基因来抑制或促进癌症的发生与发展,相关的信号转导通路尚需进一步研究确认。miR-494作为肝癌重要调节基因的出现和对其的进一步研究将引领新型基因治疗的发展。

2.2 miR-494与肺癌

目前研究表明miR-494在肺癌中表达下调,可能作为肿瘤抑癌基因发挥作用,抑制肿瘤细胞增殖。Ohdaira等^[9]通过RT-QPCR、WST-1细胞增殖实验研究证实了这一结论;通过构建质粒,结合荧光素酶报告载体证实了肺癌细胞中胰岛素生长因子2 mRNA结合蛋白1(insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 1,IGF2BP1)可作为miR-494的一个靶基因,IGF2BP1通过抑制NF- κ B活性来抑制细胞增殖、促进细胞凋亡^[10]。Romano等^[11]在研究中发现ERK1/2通路在miR-494-BIM(BIM也叫BCL2样基因,是一种重要的凋亡因子)的表达中起重要的调节作用,PED^{S104G}通过ERK1/2通路调节BIM的表达,沉默的AP1蛋白和ERK1/2通路可使转录启动位点的活性降低;在非小细胞型肺癌细胞(NSCLC)中直接检测ERK1/2-miR-494-BIM通路在肿瘤发生中的作用,发现miR-494和BIM表达呈负相关。在NSCLC中检测miR-494对肿瘤坏死因子相关的凋亡配体(TNF-related apoptosis-inducing ligand,TRAIL)抵抗作用,对TRAIL抵抗作用敏感的H460细胞中miR-494的超表达通过下调BIM增强了TRAIL抵抗引起的凋亡。然而,A549细胞中miR-494的下调使A549细胞对TRAIL引起的凋亡更敏感。综上所述,miR-494在TRAIL抵抗中起重要作用。麦春平等^[12]发现miR-494过表达后,肺癌细胞株生长受到抑制,侵袭、迁移能力均减弱;Western blot-

ing 实验发现 CCND1 下调,而起负调控作用的 p15、p21 未见明显变化,说明过表达的 miR-494 可能通过下调 CCND1 使细胞通过 G₁/S 期限制点受到阻滞从而使细胞生长减缓,同时 Western blotting 也检测了 EMT 相关标志物,发现 N-CA、VIMENTIN 表达上调,说明 miR-494 与 EMT 之间存在一定的调控关系。

2.3 miR-494 与胃肠道肿瘤

王善伟等^[13]以 miRNAs 芯片为平台初步研究了结直肠癌间质内癌相关成纤维细胞和癌旁正常肠黏膜组织的 miRNAs 差异表达谱,并对有显著差异的 miRNA 进行 RT-QPCR 验证,发现 miR-494 显著下调。李新华等^[14]发现 miR-494 在肠型胃癌与弥漫型胃癌组织中的表达均下调,但 miR-494 在胃癌细胞中的靶分子及机制有待进一步深入研究。Kim 等^[15]对 31 例新鲜冰冻的胃肠道间质瘤(GISTs)组织进行 RT-QPCR 和 Western blotting 检测发现在 GISTs 中 miR-494 的表达水平和 KIT 呈负相关。荧光素酶报告载体研究发现 miR-494 通过 3'-UTR 处的调节位点调节 KIT。GIST 882 细胞中 miR-494 的超表达减少了 KIT 信号转导通路的下游分子的表达,包括磷酸化-AKT(phospho-AKT)和磷酸化信号转导和转录激活因子 3 (phospho-STAT3)。细胞增殖实验发现 miR-494 的超表达抑制 GIST 细胞增殖,流式细胞计数细胞周期实验、细胞凋亡实验发现 miR-494 的超表达影响 G₁/S 的改变从而促进细胞凋亡。GISTs 中超表达的 miR-494 极有可能为 GIST 靶向治疗找到新的突破点。He 等^[16]最新研究发现 miR-494 在胃癌组织和胃癌细胞中低表达,并与 c-myc 的表达呈负相关,荧光素酶报告载体实验证实 miR-494 作用于 c-myc 的 3'-UTR 靶点。免疫沉淀反应显示,在 miR-494 高表达的用 Argonaute 2 蛋白标记的细胞中,c-myc 和 miR-494 表达均增加。miR-494 mimic 显著下调 c-myc 的表达可以导致 G₁/S 周期的延长,miR-494 抑制剂则显示了相反的效果,以上结果在老鼠体内试验中进一步得到验证。分析发现 c-myc 的高表达和 miR-494 的低表达都可能导致患者预后不佳。Zhou 等^[17]发现与华蟾素(cinobufacin)相关的 miR-494 通过作用 BAG-1 靶点来影响 BGC-823 细胞的增殖和凋亡,为未来胃癌的靶基因临床治疗打下一定的基础。

2.4 miR-494 与脑部肿瘤

研究发现 miR-494 与脑部肿瘤有着千丝万缕的关系。Kwak 等^[18]报道在神经胶质瘤细胞系 U251 中 miR-494 通过启动基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2,MMP-2)来增强 U-351 细胞侵袭,miR-494 引起的侵袭可能取决于表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)的上调,miR-494 使 EGFR 上调来抑制溶酶体蛋白;p190B RhoGAP (p190B)通过 miR-494 下调,EGFR 表达量的增加减少了 p190B 的表达,荧光素酶报告载体实验通过构建 p190B 3'-UTR 证实了 p190B 是 miR-494 的直接靶点,miR-494 导致的 EGFR 的上调和肿瘤侵袭被 p190B 的异位表达所抑制,因此 p190B 的剔除对 miR-494 导致的促侵袭行为起决定性作用。miR-494 及其靶点的发现可能将在癌症治疗中用来控制癌症的侵袭。Asuthkar 等^[19]研究发现存在一种新的调节机制,通过基质金属蛋白酶-9(MMP-9)抑制 miR-494 的表达来增强蛋白聚糖 1(syndecan-1,SDC1)的脱落和血管生成,运用原位杂交分析发现老鼠颅骨内肿瘤的基质金属蛋白酶-9 特异性沉默 RNA(MMP-9-specific shRNA,shMMP-9)治疗导致了 miR-494 的高表达,亚硫酸氢钠测序(bisulfite-sequencing)和特异的甲基化 PCR(methylation-specific PCR,MSP)分析发现 MMP-9 和 miR-494 水平之间的负相关依赖于 miR-494 的一个启动相关 CpG 岛区域(-186 到-20)的甲基化形式;荧光素酶报告载体实验证实 SDC1 mRNA 中的 3'-UTR 是 miR-494 的直接作用靶点。

2.5 miR-494 与其他肿瘤

Shen 等^[20]发现趋化因子受体 CXCR4 的 mRNA 和蛋白表达水平在 PC-3 和 DU145 前列腺癌细胞中显著上调。miR-494-3p 的超表达能够下调 CXCR4 在 PC-3 和 DU145 细胞中的表达水平。miR-494-3p 与 CXCR4 中的 3'-UTR 直接关联。Kim 等^[21]通过 RT-QPCR 证实 miR-494 在卵巢癌细胞中低表达。Ries 等^[22]运用基因芯片技术对 20 例口腔鳞状细胞癌患者和正常人血标本 miRNAs 谱进行分析发现 miR-494 表达上调,然而,对 57 例口腔鳞状细胞癌与 33 例正常组织做 RT-QPCR 分析发现 miR-494 在癌组织中表达下调,结果的不一致可能与血标本的不稳定有关,有待进一步证实。Zhao 等^[5]运用基因芯

片技术对 miRNAs 谱分析和 Northern blotting 实验发现 miR-494 在眼癌中高表达。Jones 等^[23]运用基因芯片技术对 14 例典型的霍奇金淋巴瘤组织和 8 个正常淋巴结的 miRNA 谱进行分析发现 miR-494 有明显的差异性表达,RT-QPCR 实验分析证实 miR-494 较正常对照高表达超过 3 倍。Mosakhani 等^[24]运用基因芯片技术对 10 例骨巨细胞瘤(GCTB)miRNAs 谱进行分析发现 miR-494 表达有差异。Liu 等^[25]发现 miR-494 作为一个必要的元素通过标记抑癌基因 PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten)和激活 Akt 通路,并对骨髓来源的抑制性细胞 (myeloid-derived suppressor cells,MD-SCs)的量和活性的调节起重要作用。PTEN 的下调增强了 Akt 通路的活性,上调了基质金属蛋白酶(MMPs)的表达,最终促进了肿瘤细胞的侵袭和转移。在 4T1 鼠体内乳腺癌中实验显示低表达的 miR-494 明显地抑制了 MDSCs 的活性、抑制了肿瘤的生长和转移。

3 结论和展望

miR-494 只是众多 miRNAs 成员之一,它在大多数肿瘤中表达下调,发挥着抑癌基因的作用,但在少数肿瘤其表达增加,作为癌基因发挥着作用。综上所述,miR-494 在基因水平通过各种方式参与调控基因表达,可以同时作用于多个靶基因,即调控因子与其所调控的基因存在一对多的关系来发挥其特定的生物学效应。miR-494 与其靶基因相互作用,利用各种途径抑制或促进 miR-494 的表达及其活性的研究有利于更好地理解肿瘤的生长周期、发生发展和转移,更有利于肿瘤的临床诊断、治疗和预后。但就目前研究情况来讲,仍有很多关键问题尚未揭晓。比如说,miR-494 在大多数肿瘤(比如说鼻咽癌等)中的表达和意义及其靶基因,特别是调控通路尚未十分清楚;在肿瘤组织中有特异性表达的 miR-494 是否均在血清或血浆中有所表达,能否作为标志性检测对象尚未能得到明确认可;不同 miRNAs 在机体中的调控是否会相互影响等等,这些都将是今后 miRNAs 的进一步研究方向。相信 miR-494 有望成为用于临床诊断及预后评价的新的肿瘤标记物,并为肿瘤的分子治疗开辟新的方向。

参考文献:

- [1] Geng LY, Wang X. Research progress of microRNA in chronic lymphocytic leukemia [J]. Journal of Experimental Hematology, 2014, 22(1): 255-258.
- [2] Winter J, Diederichs S. MicroRNA biogenesis and cancer [J]. Methods Mol Biol, 2011, 676: 3-22.
- [3] Cummins JM, He Y, Leary RJ, et al. The colorectal microRNAome [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(10): 3687-3692.
- [4] O'Day E, Lal A. MicroRNAs and their target gene networks in breast cancer [J]. Breast Cancer Res, 2010, 12(2): 201.
- [5] Zhao JJ, Yang J, Lin J, et al. Identification of miRNAs associated with tumorigenesis of retinoblastoma by miRNA microarray analysis [J]. Childs Nerv Syst, 2009, 25(1): 13-20.
- [6] Olaru AV, Ghiaur G, Yamanaka S, et al. A microRNA down-regulated in human cholangiocarcinoma control cell cycle through multiple targets involved in the G₁/S checkpoint [J]. Hepatology, 2011, 54(6): 2089-2098.
- [7] Yamanaka S, Campbell NR, An F, et al. Coordinated effects of microRNA-494 induce G₂/M arrest in human cholangiocarcinoma [J]. Cell Cycle, 2012, 11(14): 2729-2738.
- [8] Lim L, Balakrishnan A, Huskey N, et al. MicroRNA-494 within an oncogenic microRNA megacluster regulates G₁/S transition in liver tumorigenesis through suppression of mutated in colorectal cancer [J]. Hepatology, 2014, 59(1): 202-215.
- [9] 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.
- [10] Elcheva II, Tarapore RS, Bhatia N, et al. Overexpression of mRNA-binding protein CRD-BP in malignant melanomas [J]. Oncogene, 2008, 27(37): 5069-5074.
- [11] Romano G, Acunzo M, Garofalo M, et al. miR-494 is regulated by ERK1/2 and modulates TRAIL-induced apoptosis in non-small-cell lung cancer through BIM down-regulation [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109 (41): 16570-16575.
- [12] Mai CP, Chen Y, Yao JT, et al. miR-494 suppresses cell proliferation and invasion in lung cancer cells A549 and SPCA1 [J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2013, 29(2): 185-189. [麦春平, 陈衍, 姚开泰, 等. miR-494 对肺癌细胞株 A549 及 SPCA1 生长及侵袭的抑制作用 [J]. 广东药学院学报, 2013, 29(2): 185-189.]
- [13] Wang SW, Wang ZH, Xu KL, et al. MiRNA expression analysis of cancer-associated fibroblasts and normal fibroblasts in colorectal cancer [J]. Modern Oncology,

- 2013,21(9):1918–1922. [王善伟,王展怀,徐侃伦,等. 结直肠癌相关成纤维细胞的 microRNA 的差异表达谱 [J].现代肿瘤医学,2013,21(9):1918–1922.]
- [14] Li XH,Zhang GY,Li Q,et al.Analysis of miRNAs expressions in two subtypes of gastric cancer[J].China Journal of Modern Medicine,2011,21 (26):3232–3236,3241.[李新华,张桂英,李乾,等.miRNAs 在不同亚型胃癌组织中的表达差异分析 [J]. 中国现代医学杂志,2011,21(26): 3232–3236,3241.]
- [15] Kim WK,Park M,Kim YK,et al.MicroRNA-494 downregulates KIT and inhibits gastrointestinal stromal tumor cell proliferation[J].Clin Cancer Res,2011,17(24):7584–7594.
- [16] He W,Li Y,Chen X,et al.miR-494 acts as an anti-oncogene in gastric carcinoma by targeting c-myc[J].Gastroenterol Hepatol,2014. Feb 26.[Euph ahead of print]
- [17] Zhou RP,Chen G,Shen ZL,et al.Cinobufacin suppresses cell proliferation via miR-494 in BGC- 823 gastric cancer cells[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2014,15(3):1241–1245.
- [18] Kwak SY,Yang JS,Kim BY,et al.Ionizing radiation-inducible miR-494 promotes glioma cell invasion through EGFR stabilization by targeting p190B [J].Biochim Biophys Acta,2013,1843(3):508–516.
- [19] Asuthkar S,Velpula KK,Nalla AK,et al.Irradiation-induced angiogenesis is associated with an MMP-9-miR-494-syndecan-1 regulatory loop in medulloblastoma cells [J]. Oncogene,2014,33(15):1922–1933.
- [20] Shen PF,Chen XQ,Liao YC,et al. MicroRNA-494-3p targets CXCR4 to suppress the proliferation,invasion,and migration of prostate cancer[J]. Prostate,2014,74(7):756–767.
- [21] Kim YW,Kim EY,Jeon D,et al.Differential microRNA expression signatures and cell type-specific association with taxol resistance in ovarian cancer cells [J].Drug Des Devel Ther,2014,8:293–314.
- [22] Ries J,Vairaktaris E,Agaimy A,et al.miR-186,miR-3651 and miR-494:Potential biomarkers for oral squamous cell carcinoma extracted from whole blood [J].Oncol Rep, 2014,31(3):1429–1436.
- [23] Jones K1,Nourse JP,Keane C,et al.Plasma microRNA are disease response biomarkers in classical Hodgkin lymphoma[J].Clin Cancer Res,2014,20(1):253–264.
- [24] Mosakhani N,Pazzaglia L,Benassi MS,et al.MicroRNA expression profiles in metastatic and non-metastatic giant cell tumor of bone[J]. Histol Histopathol,2013,28(5): 671–678.
- [25] Liu Y,Lai L,Chen Q,et al.MicroRNA-494 is required for the accumulation and functions of tumor-expanded myeloid-derived suppressor cells via targeting of PTEN[J].J Immunol,2012,188(11):5500–5510.

《胸部肿瘤放射治疗策略》出版启事

由毛伟敏教授和许亚萍教授组织浙江省肿瘤医院/浙江省胸部肿瘤研究指导中心的中青年骨干编写的《胸部肿瘤放射治疗策略》,是一本系统介绍胸部恶性肿瘤诊断以及放射治疗规范和进展的学术专著。

全书内容主要针对临床一线的放射治疗工作者,以循证医学为基础,并结合目前国内外的临床指南,重点介绍了肺癌、食管癌、乳腺癌等常见胸部恶性肿瘤近年来的放射治疗新技术、新进展,放射治疗与化疗、靶向治疗、内分泌治疗、手术治疗等手段的联合应用,并对肿瘤的疗效评价、放射治疗并发症的处理作了较为详细的阐述。大量引用了近年来国内外的最新资料,并参考了美国国立综合癌症网络(NCCN)发布的 2013 指南中的诊治规范。

体现综合治疗的原则是该书的另一特点。在胸部恶性肿瘤中有较多争议的部分,如局部晚期非小细胞肺癌的多学科综合治疗,由多个科室的专家联合执笔,以两个章节的篇幅详细阐述;在以手术为基础的食管癌多学科综合治疗部分,全面地讨论了手术与术前新辅助放化疗联合以及术后辅助放化疗联合的意义。

该书由中国抗癌协会副理事长、山东省肿瘤医院院长、中国工程院院士于金明教授作序,由美国 Georgia Regents University 的 Feng-Ming (Spring) Kong 教授和浙江省肿瘤医院陈明教授担任主审,由军事医学科学出版社出版发行。