



DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2016.11.006

www.csumed.org/xbwk/fileup/PDF/2016111148.pdf

蛋白激酶 A 调节亚基 I α 在非小细胞肺癌中的表达及临床意义

王少强¹, 程远大¹, 何志伟¹, 周卧龙¹, 高阳¹, 段朝军², 张春芳¹

(中南大学湘雅医院 1. 胸外科; 2. 医学科学研究中心, 长沙 410008)

[摘要] 目的: 研究蛋白激酶A调节亚基I α (cAMP-dependent protein kinase type I-alpha regulatory subunit, PRKAR1 α) mRNA及蛋白在非小细胞肺癌中的表达并分析其临床意义。方法: 应用实时荧光定量PCR、免疫组织化学测定79例非小细胞肺癌组织及癌旁正常肺组织内PRKAR1 α mRNA和蛋白的表达情况, 结合相关临床资料进行统计学分析。结果: PRKAR1 α 在非小细胞癌、肺腺癌、肺鳞癌的阴性表达率分别为58.2%, 77.8%, 32.4%。与癌旁正常肺组织相比, PRKAR1 α 在肺腺癌组织内mRNA及蛋白水平呈现低表达, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 而肺鳞癌组织PRKAR1 α mRNA及蛋白水平与正常癌旁肺组织相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。与肺鳞癌相比, 肺腺癌PRKAR1 α 阳性表达率明显下降($P < 0.001$); 与TNM分期I~II比较, III~IV PRKAR1 α 阳性表达率明显降低($P = 0.025$); 有淋巴结转移者PRKAR1 α 阳性表达率低于无淋巴结转移者($P = 0.011$)。不同年龄、性别、肿瘤分化及大小、是否吸烟组间PRKAR1 α 阳性表达率差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论: PRKAR1 α 在非小细胞肺癌不同组织病理学分型中具有差异表达; 在肺腺癌内呈现低表达, 与肺癌分期、淋巴结转移相关, 可能成为临床诊断、治疗肺腺癌新的分子靶标。

[关键词] PRKAR1 α ; 非小细胞肺癌; 肺鳞癌; 肺腺癌

PRKAR1 α expression in non-small cell lung cancer and its clinicopathologic significance

WANG Shaoqiang¹, CHENG Yuanda¹, HE Zhiwei¹, ZHOU Wolong¹,
GAO Yang¹, DUAN Chaojun², ZHANG Chunfang¹(1. Department of Thoracic Surgery; 2. Institute of Medical Sciences, Xiangya Hospital,
Central South University, Changsha 410008, China)

ABSTRACT

Objective: To evaluate the expression of cAMP-dependent protein kinase type I-alpha regulatory subunit (PRKAR1 α) in non-small cell lung cancer (NSCLC) and its correlation with clinicopathological features.

Methods: PRKAR1 α expressions in 79 NSCLC patients and matched adjacent non-carcinoma

收稿日期(Date of reception): 2016-01-06

第一作者(First author): 王少强, Email: wangshaoqiang227@163.com

通信作者(Corresponding author): 张春芳, Email: zcf6636169@sina.com

基金项目(Foundation item): 国家自然科学基金(81372515, 81401901)。This work was supported by the National Science Foundation of China (81372515, 81401901).

tissues were analyzed by using qRT-PCR and immunohistochemistry.

Results: The negative rates of PRKAR1 α protein in NSCLC, lung squamous cell carcinoma (SCL) and lung adenocarcinoma (ACL) were 58.2%, 77.8%, 32.4%, respectively. Compared to the matched adjacent non-carcinoma tissues, there were significant differences in levels of PRKAR1 α mRNA and protein in ACL ($P < 0.05$), but not in SCL and overall NSCLC ($P > 0.05$). The expression of PRKAR1 α protein was positively correlated with histological type, TNM stage, and lymph node metastasis ($P < 0.05$). Tumor size and histogenesis differentiation were not related to the decreased PRKAR1 α ($P > 0.05$).

Conclusion: Low expression of PRKAR1 α in ACL might be involved in the pathogenesis, which might serve as a novel diagnostic candidate.

KEY WORDS

PRKAR1 α ; NSCLC; lung squamous cell carcinoma; lung adenocarcinoma

精准医学计划, 第一步侧重于癌症的预防、诊断和治疗^[1]。目前, 全球癌症发病趋于年轻化, 癌症结构比例发生变化, 肺癌已取代肝癌成为发病率第一的癌症。肺癌根据临床组织病理分型包括非小细胞肺癌(腺癌、鳞癌、大细胞癌)和小细胞肺癌, 而腺癌也已取代鳞癌, 成为发病率及病死率第一的肺癌, 其在病因学、临床治疗及预后等方面存在差异。肿瘤异质性是恶性肿瘤的特征之一。目前对于乳腺癌的分子分型, 如三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)已受到临床肿瘤学家及病理学家的重视^[2], 根据乳腺癌易感基因1/2(breast cancer 1, early onset 1/2, BRCA1/2)突变检测结果, 进行肿瘤筛查和预防性手术。对于肺腺癌表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)突变的患者, 应用表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, EGFR-TKI)靶向药物已展现出其临床优势。但肺癌目前仍缺乏规范的分子分型, 若要充分因瘤施治, 因人而异, 则需深入地挖掘肿瘤细胞分子学内容, 达到个体化靶向用药及预防性手术。

蛋白激酶A(PKA)为cAMP信号通路的重要分子。PKA分子是由两个调节亚基(regulatory submit, R亚基)及两个催化亚基(catalytic submit, 即C亚基)组成的异四聚体^[3]。PRKAR1 α 亚型(编码RI α)在人体各组织内均有表达, 与cAMP高度亲和, 为PKA最重要的调节亚型。PRKAR1 α 基因位于17q22-24染色体, 其突变与Carney综合征、心包黏液瘤、神经鞘瘤、骨肿瘤、白血病、甲状腺癌等多种内分泌肿瘤的发生密切相关^[4-8], 其可能机制为PRKAR1 α 突变, 导致PKA基因组不稳定, 异四聚体解离出有活性的催化亚基, 激活包括cAMP通路在内的多条信号通路, 促进细胞分化、增殖。PRKAR1 α 在肺癌中的表达情况以及其是否

与肺癌临床病理分型有关, 既往鲜有研究报道。本研究通过实时荧光定量PCR、免疫组织化学等方法, 验证PRKAR1 α 在肺癌内的差异表达, 并分析其临床意义。

1 对象与方法

1.1 对象

收集中南大学湘雅医院胸外科2011年8月至2012年8月经手术切除组织送检, 病理学确诊为非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)标本共79例, 福尔马林及液氮低温冻存标本组织。所有患者术前均未行相关的放疗、化疗及靶向治疗。收集患者完整的临床病理学资料, 包括年龄、性别、吸烟状态、肿瘤分化程度、有无淋巴结转移、肿瘤大小、肺癌淋巴结转移(tumor node metastasis, TNM)分期等。其中男49例(62%), 女30例(38%); 年龄33~76(中位数57)岁; 组织病理学类型腺癌45例, 鳞癌34例; TNM分期(UICC2009版)I期16例, II期35例, III期25例, IV3例。所有标本经HE染色后, 经病理科2位高级医师确认其病理诊断。本研究获得湘雅医院伦理委员会批准。

1.2 主要试剂

兔抗人PRKAR1 α 单克隆抗体购自美国Abcam公司; 反转录试剂盒(Prime Script RT reagent kit with DNA Eraser, RR047)及荧光定量PCR试剂盒(SYBR Premix Ex Taq II, TaKaRa Code. RR820A)购自日本TaKaRa生物公司。

1.3 方法

1.3.1 实时荧光定量 PCR

研钵液氮预冷后研磨50~100 mg组织, TRIzol法

裂解分离组织总RNA后琼脂糖凝胶电泳鉴定。按照TaKaRa反转录试剂盒说明书进行反转录,引物设计见表1;荧光定量PCR说明书在Bio-Rad实时荧光定量PCR仪上(Bio-Rad, MJ Mini™ Personal Thermal Cycler)进行相对定量PCR,分析基因的表达情况。GAPDH

为内参,比较Ct法对基因在不同样品中的表达进行相对定量。引物设计见表1。样本组PRKAR1 α 基因相对表达量为 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。 $\Delta\Delta Ct=(\text{样本目的基因Ct}-\text{样本参照基因Ct})-(\text{对照组目的基因Ct}-\text{对照组参照基因Ct})$ 。

表1 实时荧光定量PCR引物

Table 1 Quantitative real-time PCR primers

基因	上游引物	下游引物	产物长度/bp
PRKAR1 α	5'-GTAGCTGATGCATGGAACCAG-3'	5'-CCAATCTTCCCACITCAACAAACT-3'	157
GAPDH	5'-CCAGCAAGAGCACAAGAGGAA-3'	5'-ATGGTACATGACAAGGTGCGG-3'	84

1.3.2 免疫组织化学染色

10%中性甲醛缓冲液固定手术切除标本部分组织(组织离体30 min内),常规脱水、浸蜡,石蜡包埋,切片,厚度约4 μm 。二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱苯,3% H_2O_2 消除内源性过氧化物酶,0.01 mol/L枸橼酸微波修复,山羊血清封闭,一抗4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,PBS泡洗3次,每次3 min,生物素标记的二抗37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育15~20 min,PBS洗,辣根过氧化物酶标记的链霉素卵白素工作液37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育15 min,BAD显色,苏木精复染,中性树胶封片。以PBS代替一抗作阴性对照。

PRKAR1 α 胞膜及胞质着色,其免疫组织化学染色结果参考Fromowitz计分法。根据阳性细胞(随机选取5个视野)百分数评分0(<5%),1(5%~25%),2(>25%~50%),3(>50%~75%),4(>76%~100%);着色强度根据细胞染色强度评为0(无着色),1(淡黄色),2(棕黄色),3(棕褐色)。根据阳性细胞数及着色程度计分综合相加,<3分为(-), ≥ 3 分为(+)

1.4 统计学处理

应用SPSS 22.0统计学软件及GraphPad Prism5对相关数据进行统计学分析并绘制相关统计学图表。计数资料采用 χ^2 检验。双侧 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PRKAR1 α mRNA在NSCLC的表达

NSCLC癌旁正常肺组织与癌组织PRKAR1 α mRNA的相对表达量的差异无统计学意义($P=0.078$,图1)。34例肺鳞癌癌旁正常肺组织与癌组织PRKAR1 α mRNA的相对表达量的差异亦无统计学差异($P=0.69$,图2)。45例肺腺癌癌旁正常肺组织与癌组织PRKAR1 α mRNA的相对表达量的差异具有统计学意义($P=0.03$,图2)。

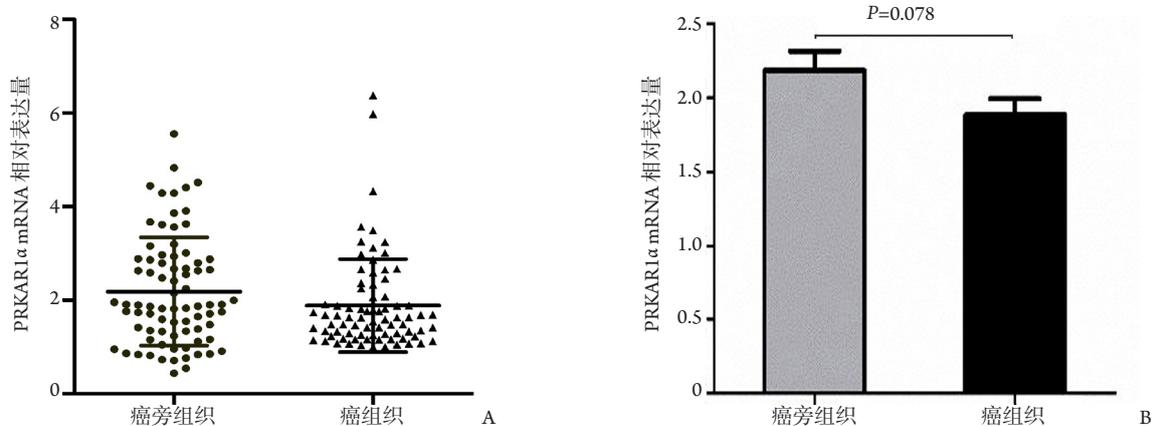


图1 PRKAR1 α mRNA在非小细胞肺癌癌组织与癌旁正常肺组织的表达

Figure 1 PRKAR1 α mRNA expression in 79 human NSCLC

A: Scatter plot; B: Histogram

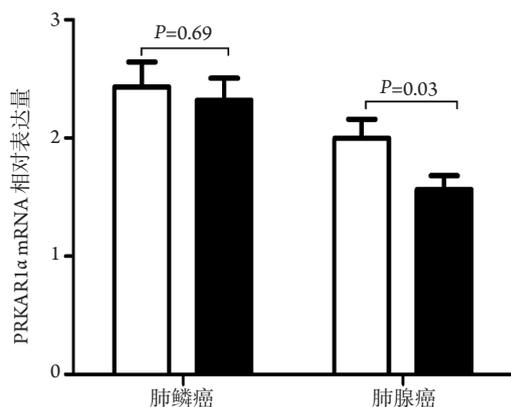


图 2 PRKAR1α mRNA 在肺鳞癌与肺腺癌的表达

Figure 2 PRKAR1α mRNA expression in 34 squamous lung carcinoma and 45 lung adenocarcinoma in a histogram

2.2 PRKAR1α 蛋白在 NSCLC 的差异表达

79例NSCLC癌组织中46例阴性表达(58.2%), 33例阳性(41.8%), 其中45例肺腺癌组织中35例阴性(77.8%), 10例阳性(22.2%); 34例肺鳞癌组织中11例阴性(32.4%), 23例阳性(67.6%)。肺腺癌PRKAR1α在癌组织与癌旁表达差异有统计学意义(P<0.05, 表2)。

与肺鳞癌相比, 肺腺癌PRKAR1α阳性表达率明显

下降(P<0.001); 与TNM分期I~II比较, III~IV PRKAR1α阳性表达率明显降低(P=0.025); 有淋巴结转移者PRKAR1α阳性表达率低于无淋巴结转移者(P=0.011); 不同年龄、性别、肿瘤分化及大小、是否吸烟组间PRKAR1α阳性表达率差异无统计学意义(P>0.05, 表3)。PRKAR1α阳性染色主要位于正常组织细胞质及细胞核中; 在癌组织内主要位于细胞质(图3)。

表 2 PRKAR1α 蛋白在非小细胞肺癌及肺鳞癌、肺腺癌癌组织和癌旁组织中的表达比较

Table 2 Comparison of PRKAR1α protein expression in NSCLC, squamous lung carcinoma, and lung adenocarcinoma and paired normal lung tissues

组别	+	-	P
NSCLC			
癌组织	33	46	0.264
癌旁组织	40	49	
肺鳞癌			
癌组织	23	11	0.086
癌旁组织	16	18	
肺腺癌			
癌组织	10	35	<0.001
癌旁组织	24	21	

表 3 PRKAR1α 表达与非小细胞肺癌临床特征的关系

Table 3 Relation between PRKAR1α expression and clinicopathological variables in 79 cases of NSCLC

临床特征	n	+	-	P
年龄/岁				
<60	41	15	26	0.332
≥60	38	18	20	
性别				
男	49	19	30	0.490
女	30	14	16	
吸烟				
是	47	23	24	0.118
否	32	10	22	
组织学类型				
腺癌	45	9	36	<0.001
鳞癌	34	24	10	
分化程度				
高、中分化	52	20	32	0.408
低分化、未分化	27	13	14	
TNM分期				
I~II	51	26	25	0.025
III~IV	28	7	21	
肿瘤大小/cm				
<3	37	18	19	0.245
≥3	42	15	27	
淋巴结转移				
是	37	21	16	0.011
否	42	12	30	

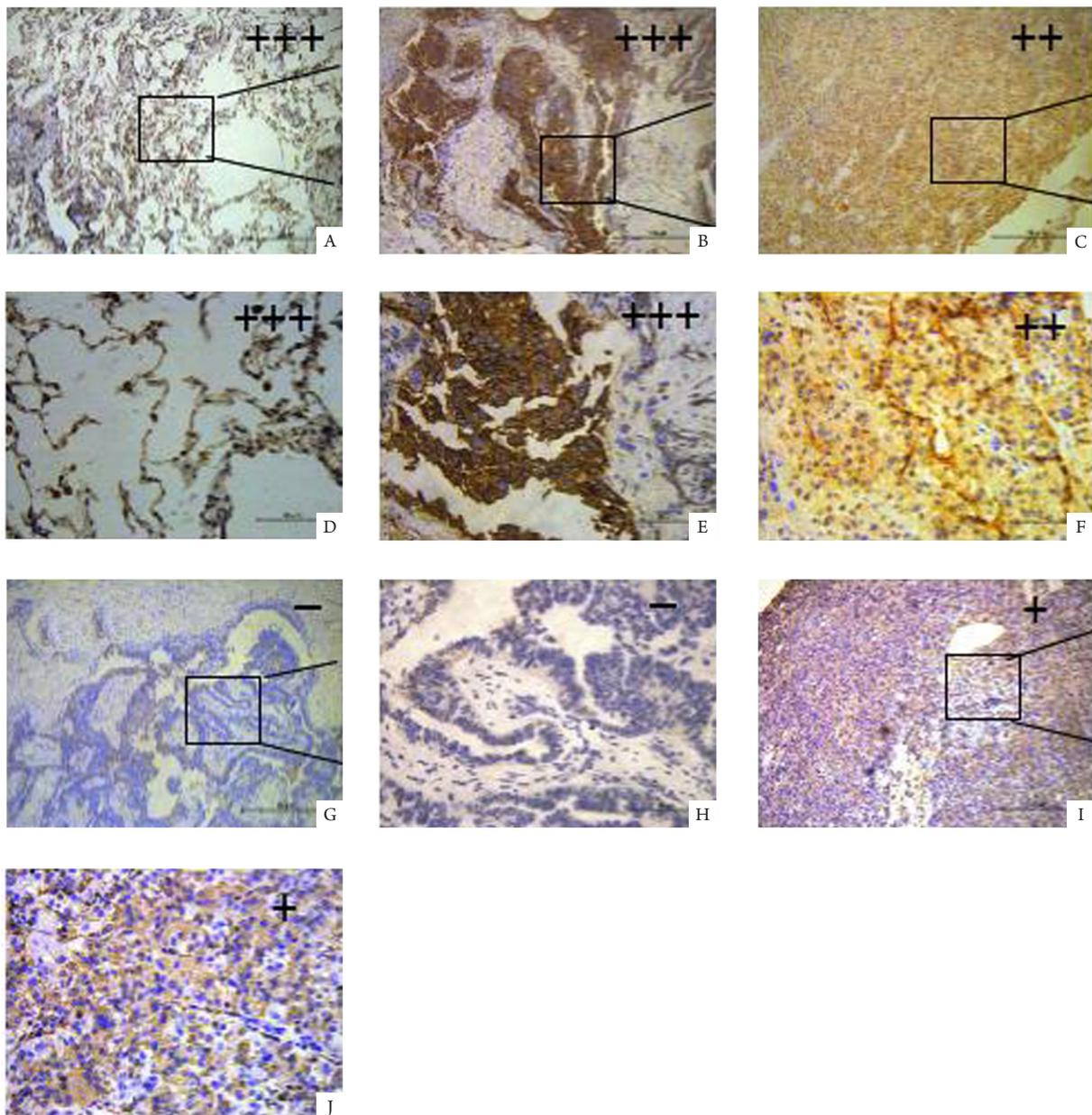


图3 PRKAR1 α 蛋白在正常肺组织(A, D), I期腺癌(B, E), I期鳞癌(C, F), III期腺癌伴淋巴结转移(G, H), III期鳞癌伴淋巴结转移(I, J)中的表达(ABC染色法; A, B, C, G, I: $\times 100$, D, E, F, H, J: $\times 400$)

Figure 3 Immunohistochemical staining showing PRKAR1 α expression in normal lung tissue (A, D), lung adenocarcinoma with TNM stage I and lymph node-negative (B, E), lung squamous cell carcinoma with TNM stage I and lymph node-negative (C, F), lung adenocarcinoma with TNM stage III and lymph node-positive (G, H), lung squamous cell carcinoma with TNM stage III and lymph node-positive (I, J)(ABC staining; A, B, C, G, I: $\times 100$, D, E, F, H, J: $\times 400$)

3 讨论

cAMP在多种生理、病理过程中起重要的调控作用,其异常可导致癌症、糖尿病及心力衰竭等^[9]。cAMP主要通过激活cAMP依赖的蛋白激酶PKA,即

cAMP-PKA信号通路,磷酸化靶蛋白传递信号来行使功能^[10]。激活cAMP-PKA信号通路可抑制细胞增殖,但在许多具有内分泌作用的组织中,激活该信号通路却会促进细胞增殖^[11-12]。PKA是由调节亚基(RI α , RI β , RII α , RII β)和催化亚基(C α , C β , C γ , C χ)构

成的异四聚体^[3], 结构简单。PRKAR1 α 缺失常见于Carney综合征(Carney complex, CNC), 故又称CNC基因, 位于染色体17q22-24^[6]。目前研究发现PRKAR1 α 突变失活、表达下降, 可见于心脏黏液瘤^[6], 甲状腺癌^[7], 前列腺肿瘤^[4], 子宫内膜肿瘤^[5], 骨肿瘤、神经鞘瘤及淋巴瘤^[3]及乳腺癌^[8]等。对于NSCLC中PRKAR1 α 的表达目前鲜有报道。

尽管NSCLC目前还没有类似于“三阴性乳腺癌”的分子分型, 但结合免疫组织化学标志物可以诊断NSCLC的不同组织学类型、肺原发癌及转移癌等, 有助于NSCLC的个体化治疗及预后判断。肺腺癌常用的免疫标志物有甲状腺转录因子(TTF-1)、天冬氨酸蛋白酶A(Napsin A)^[13]、细胞角蛋白7(CK7)、肺泡表面糖蛋白(SP-A, SP-B)^[14]等。本研究中PRKAR1 α 蛋白在肺腺癌表达阴性率达77.8%, 明显高于其癌旁组织的阴性表达率(46.7%), 而在肺鳞癌表达阴性率仅32.4%, 与其癌旁组织的阴性表达率(52.9%)差异无统计学意义。PRKAR1 α 蛋白在腺癌中的表达明显低于鳞癌, 可作为辅助免疫标志物。Maleszewski等^[6]研究PRKAR1 α 在CNC及心脏黏液瘤中, 发现在伴有CNC或孤立的心脏黏液瘤中, PRKAR1 α 均有突变失活。应用常规的免疫组织化学检测PRKAR1 α 表达即可区分孤立的与伴有CNC的心脏黏液瘤^[6], 并可以判断预后存。PRKAR1 α mRNA在癌旁与癌组织的表达谱基本与蛋白表达一致。本研究提示应用实时荧光定量PCR检测发现PRKAR1 α mRNA在不同组织分型肺癌中的表达亦有差异, 具有临床应用前景。

PRKAR1 α 免疫组织化学结果与NSCLC临床TNM分期及淋巴结转移相关, III~IV期阴性表达率高于I~II期($P=0.025$), 有淋巴结转移组的阴性表达率高于无淋巴结转移($P=0.011$), 提示肺癌分期越晚, PRKAR1 α 蛋白表达缺失越明显, mRNA突变失活率越高。Sandrini等^[7]研究发现PRKAR1 α 在甲状腺错构瘤-甲状腺腺瘤-甲状腺癌序列肿瘤发生事件中扮演重要角色, 且随着肿瘤的进展, PRKAR1 α 表达逐步降低, 提示PRKAR1 α 可作为新的肿瘤抑制基因。

本研究免疫组织化学结果发现: 正常癌旁肺组织阳性表达主要位于胞质及胞核; 而对于肺鳞癌及肺腺癌, PRKAR1 α 细胞核内阳性表达较少, 主要位于胞质。本实验定义胞质或胞核阳性即为阳性表达, 未进一步分析其在胞核内的表达差异。PRKAR1 α 具有一个非常规的核定位序列(nonconventional nuclear localization sequence, NLS)^[15], 可能作为核转录蛋白参与DNA复制。后续研究需进一步探讨PRKAR1 α 在NSCLC尤其是肺腺癌发生、发展中的作用机制, 明确特征性的分子学改变, 以促进精准医学的发展。

参考文献

- [1] Wright GM, Do H, Weiss J, et al. Mapping of actionable mutations to histological subtype domains in lung adenocarcinoma: implications for precision medicine[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(8): 2107-2115.
- [2] 李新军, 王庆元, 付丽梅, 等. PTEN, p53和EGFR在乳腺癌不同分子亚型中的表达及其相关性[J]. *中南大学学报: 医学版*, 2015, 40(9): 973-978.
LI Xinjun, WANG Qingyuan, FU Limei, et al. Expression of PTEN, p53 and EGFR in the molecular subtypes of breast carcinoma and the correlation among them[J]. *Journal of Central South University. Medical Science*, 2015, 40(9): 973-978.
- [3] Saloustros E, Salpea P, Qi CF, et al. Hematopoietic neoplasms in Prkar2a-deficient mice[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2015, 34: 143.
- [4] Eder IE, Egger M, Neuwirt H, et al. Enhanced inhibition of prostate tumor growth by dual targeting the androgen receptor and the regulatory subunit type I α of protein kinase A in vivo[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(6): 11942-11962.
- [5] Tsigginou A, Bimpaki E, Nesterova M, et al. PRKAR1A gene analysis and protein kinase A activity in endometrial tumors[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2012, 19(4): 457-462.
- [6] Maleszewski JJ, Larsen BT, Kip NS, et al. PRKAR1A in the development of cardiac myxoma: a study of 110 cases including isolated and syndromic tumors[J]. *Am J Surg Pathol*, 2014, 38(8): 1079-1087.
- [7] Sandrini F, Matyakhina L, Sarlis NJ, et al. Regulatory subunit type I α of protein kinase A (PRKAR1A): a tumor-suppressor gene for sporadic thyroid cancer[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2002, 35(2): 182-192.
- [8] Nadella KS, Jones GN, Trimboli A, et al. Targeted deletion of Prkar1a reveals a role for protein kinase A in mesenchymal-to-epithelial transition[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(8): 2671-2677.
- [9] Li S, Tsalkova T, White MA, et al. Mechanism of intracellular cAMP sensor Epac2 activation: cAMP-induced conformational changes identified by amide hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry (DXMS)[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(20): 17889-17897.
- [10] Madsen A, Bjune JL, Bjorkhaug L, et al. The cAMP-dependent protein kinase downregulates glucose-6-phosphatase expression through ROR α and SRC-2 coactivator transcriptional activity[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2016, 419: 92-101.
- [11] Cazabat L, Ragazzon B, Varin A, et al. Inactivation of the Carney complex gene 1 (PRKAR1A) alters spatiotemporal regulation of cAMP and cAMP-dependent protein kinase: a study using genetically encoded FRET-based reporters[J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(5): 1163-1174.
- [12] Ragazzon B, Cazabat L, Rizk-Rabin M, et al. Inactivation of the Carney complex gene 1 (protein kinase A regulatory subunit 1A) inhibits SMAD3 expression and TGF β -stimulated apoptosis in adrenocortical cells[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(18): 7278-7284.

- [13] Ma Y, Fan M, Dai L, et al. The expression of TTF-1 and Napsin A in early-stage lung adenocarcinoma correlates with the results of surgical treatment[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(10): 8085-8092.
- [14] 刘标, 周晓军. 非小细胞肺癌免疫组化标志物专家共识(2014)[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2015(5): 481-487.
- LIU Biao, ZHOU Xiaojun. Chinese expert consensus on immunohistochemical markers in non-small cell lung cancer[J]. *Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2015(5): 481-487.
- [15] Cazabat L, Ragazzon B, Varin A, et al. Inactivation of the Carney complex gene 1 (PRKAR1A) alters spatiotemporal regulation of cAMP and cAMP-dependent protein kinase: a study using genetically encoded FRET-based reporters[J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(5): 1163-1174.

(本文编辑 郭征)

本文引用: 王少强, 程远大, 何志伟, 周卧龙, 高阳, 段朝军, 张春芳. 蛋白激酶A调节亚基1 α 在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义[J]. *中南大学学报: 医学版*, 2016, 41(11): 1148-1154. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2016.11.006

Cite this article as: WANG Shaoqiang, CHENG Yuanda, HE Zhiwei, ZHOU Wolong, GAO Yang, DUAN Chaojun, ZHANG Chunfang. PRKAR1 α expression in non-small cell lung cancer and its clinicopathologic significance[J]. *Journal of Central South University. Medical Science*, 2016, 41(11): 1148-1154. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2016.11.006

领跑者 5000——中国精品科技期刊顶尖学术论文平台 (F5000)

为了进一步推动我国科技期刊的发展, 提高其整体水平, 更好地宣传和利用我国的优秀学术成果, 起到引领和示范的作用。中国科学技术信息研究所(中信所)在中国精品科技期刊中遴选优秀学术论文, 建立了“领跑者5000——中国精品科技期刊顶尖学术论文平台(F5000)”, 集中对外展示和交流我国的优秀学术论文。

在《中国科技论文与引文数据库(CSTPCD)》的基础上, 计算每篇论文在5年时间窗口内累计被引用的次数。强化单篇论文定量评估方法的研究和实践。采用定量分析和定性分析相结合的方法, 对学术期刊的质量和影响力作了进一步的科学评价, 遴选新的精品科技期刊, 并从每种精品期刊中择优选取这5年期间发表的最多20篇学术论文作为F5000的提名论文。

中信所与汤森路透集团达成了合作意向, 汤森路透提供F5000论文被SCI论文引用的数据链接, 经过汤森路透中国公司与美国总部技术人员的多次协调, 目前这一工作已基本实现, F5000平台实现2个月更新一次被引次数, 并提供F5000论文在*Web of Science*中引用链接。*Web of Science*在2013年提供F5000论文的被引次数和引用链接以来, F5000论文的被引次数显著增长。未来, F5000将进入汤森路透的Incites评价数据库系统平台, 成为*Web of Science*的一部分。

中信所与爱思唯尔合作建立了“F5000和Mendeley学者俱乐部”, 开展对入选学者俱乐部的研究人员的推荐、管理、培训等活动, 向国际同行展示中国在世界科研领域居于领先地位的研究成果和科学家, 为我国优秀学者营造国际高端学术交流环境。

中信所将与日本JST在F5000项目方面进行合作, 实现F5000论文信息、引文信息与JST旗下J-stage中日文论文信息、引文信息互换与共享。旨在深化中日两国科技合作, 深入了解双方顶尖科研成果的相互影响状态和趋势。

中信所向约翰威立国际出版公司推荐F5000的作者, 作为其期刊评审专家或期刊编委会成员, 面向第一批推荐作者的专家培训会已在2013年11月份召开, 并颁发了证书, 今后将继续举办推荐专家培训会。