

Apollon siRNA 抑制胰腺癌 SW1990 细胞增殖的研究*

唐 湘¹, 王 莉², 韩泽平², 何金花², 李宝霞³ (1. 广州市番禺区新造医院检验科, 广州 511436; 2. 广州市番禺区中心医院检验科, 广州 511400; 广州市暨南大学医学院生化教研室, 广州 510632)

摘要:目的 研究凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis proteins, IAPs)家族成员 Apollon 小干扰 RNA(small interference RNA, siRNA)对人胰腺癌 SW1990 细胞增殖的影响,并进一步探讨其作用机制。方法 将前期研究的 Apollon siRNA 的序列,经脂质体包裹转染胰腺癌(SW1990)细胞 48 h 后,采用 WST-8 法检测 Apollon siRNA 对胰腺癌 SW1990 细胞增殖抑制作用,并计算 IC₅₀。流式细胞术检测细胞早期凋亡率;RT-PCR 检测 Apollon mRNA 的相对表达水平,western-blotting 检测 Apollon 蛋白的表达水平。结果 Apollon siRNA 作用于胰腺癌(SW1990)细胞 48 h 后,能有效抑制 SW1990 细胞增殖,并呈现剂量效应关系;流式细胞术检测结果显示:Apollon siRNA 能促进胰腺癌(SW1990)细胞凋亡,其早期凋亡率达 37.1%;RT-PCR 结果显示,Apollon siRNA 能显著下调 Apollon mRNA 及蛋白在胰腺癌细胞中的表达水平。结论 Apollon siRNA 可抑制胰腺癌细胞的增殖,作用机制可能为共同促进胰腺癌细胞早期凋亡、下调 mRNA 及蛋白的表达有关,为临床上胰腺癌的靶向基因治疗提供理论基础。

关键词: Apollon; 凋亡抑制蛋白; 小干扰 RNA; 胰腺癌; SW1990 细胞; 增殖

中图分类号: R735.9; R730.43 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)01-027-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.01.008

Study on Proliferation of Pancreatic Cancer SW1990 Cell Lines by Small Interfering RNA Targeted Apollon

TANG Xiang¹, WANG Li², HAN Ze-ping², HE Jin-hua², LI Bao-xia³

(1. Department of Clinical Laboratory, Panyu Xinzao Hospital of Guangzhou City, Guangzhou 511400, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Panyu Center Hospital of Guangzhou City, Guangzhou 511400, China; 3. Department of Biochemistry, Jinan University School of Medicine, Guangzhou 510632, China)

Abstract: Objective To study the effect of small interfering RNA targeted on Apollon for proliferation on pancreatic cancer cells and its possible acting mechanism. **Methods** The small interfering RNA targeted on apollon in our previous study was transfected to the cells using Lipofectamine™ 2000, after 48 hours transtection. The inhibitory effects of small interfering RNA targeted on Apollon (Apollon siRNA) on cell proliferation were detected by WST-8. Their inhibition rate and IC₅₀ were calculated. The percentage of apoptosis cells were determined by flow cytometry. The expression of Apollon mRNA was analyzed by real time fluorescent quantitative reverse transcription polymerase chain reaction. The Apollon protein expression levels were detected by western blotting. **Results** Apollon siRNA could effectively inhibit the proliferation of pancreatic cancer cell. The amount of apoptotic cells increased significantly. The early apoptotic rate was 37.1%, and the RT-PCR results showed that the relative expression levels of Apollon mRNA were down-regulate, and shows a dose-effectiveness relations. The protein expression levels were decreased by Apollon siRNA. **Conclusion** Apollon siRNA can effectively inhibit the proliferation of pancreatic cancer cell. The mechanism may be work together to promote pancreateive cancer cell early apoptosis and decreased the expression levels of gene and protein, which provides a novel potential approach for treatment of target therapy of pancreatic cancer.

Keywords: Apollon; inhibitor of apoptosis proteins; small interfering RNA; pancreatic cancer; SW1990 cell

胰腺癌是世界范围内常见的恶性肿瘤,因其具有早期症状不典型和转移能力强等特点,确诊时患者多已发生肿瘤转移^[1]。凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis proteins, IAPs)家族是近年来发现最强的内源性凋亡抑制因子,目前共发现 8 个成员: XIAP, c-IAP1, c-IAP2, NAIP, Apollon, Livin, Survivin 和 ILP-2, Apollon(BRUC6/BIRC6, BIR-

containing protein 6)是 IAPs 家族中分子量最大的成员,其转录的 Apollon 蛋白相对分子质量为 530×10^3 ,含有一个 BIR 结构域(杆状病毒凋亡抑制蛋白重复序列)和一个泛素结合结构域(UBC)^[2]。Apollon 是内源性 IAPs 家族成员之一,前期的研究结果表明:针对 Apollon 的反义寡核苷酸能有效抑制胰腺癌细胞 SW1990 增殖并促

* 基金项目:广东省中医药管理局项目(2014)。

作者简介:唐 湘(1973-),男,本科,主管技师,从事医学检验工作,研究方向:靶向基因治疗, Tel:13663630086, E-mail:captan918@126.com。

通讯作者:何金花, E-mail:332518579@qq.com。

进其早期凋亡^[3]。同时我们也证明 Apollon siRNA 能抑制肝癌细胞增殖, Apollon 反义核酸通过线粒体途径诱导肝癌细胞凋亡^[4,5]。在本研究中, 将前期筛选出的 Apollon siRNA 有效序列, 转染人胰腺癌 SW1990 细胞, 观察其对细胞增殖抑制作用, 并探讨可能的作用机制, 为胰腺癌的靶向基因治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 主要试剂 DMEM/F12 培养基购自 Gibco 公司, 脂质体 LipofectamineTM 2000 购自 Invitrogen 公司, RIPA 细胞裂解液(上海申能博彩生物科技有限公司), BCA 蛋白浓度测定试剂盒(北京博奥森生物技术有限公司), 多克隆 Apollon 抗体、单克隆抗体 GAPDH(武汉博士德生物工程有限公司), ECL 试剂盒(碧云天生物技术研究所) CCK-8 (Cell Count Kit-8) 试剂购自日本同仁化学研究所, RNA 提取试剂 TRIzol (Invitrogen 公司), Apollon 引物由上海生物工程有限公司合成。Apollon siRNA、阴性对照 siRNA (negative control, NC) 由上海吉玛制药技术有限公司合成, 全硫代修饰, PAGE 纯化, 冻存于 -20℃, 使用前用无血清的 DMEM/F12 培养液配制成 20 μmol/L 的浓度备用, Apollon siRNA 序列: 正义链: 5'-GGGUGAAAGUAUAUCAGAATT-3', 反义链: 5'-UUCUGAUUAUACUUUCACCCTG-3'^[3]。

1.2 细胞培养及转染 人 SW190 细胞由暨南大学生物化学教研室惠赠。细胞培养体系: DMEM/F12 培养液含 10 g/dl 新生牛血清, 置 37℃, 5% (v/v) CO₂ 培养箱, 每 2~3 天用 0.25 g/dl 胰蛋白酶消化传代培养。实验选用对数生长期、台盼蓝拒染率 >95% 的细胞。实验时按照脂质体 lipofectamineTM 2000 (μl): RNA (μg) 为 2.5:1 的比例配制, 先用无血清 DMEM/F12 液分别将脂质体和 siRNA 稀释至等体积, 室温孵育 5 min, 然后将脂质体与 siRNA 在室温下混合 20 min, 再将混合物逐滴加入细胞培养板中。

1.3 WST 法检测 Apollon siRNA 对 SW1990 细胞的增殖抑制率 用无血清的 DMEM/F12 培养液将对数生长期 SW1990 细胞, 调整其浓度为 5×10^4 个/ml, 接种 96 孔板, 每孔 100 μl, 细胞分组: ① Control 组; ② siRNA 组 (siRNA 终浓度 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2 μmol/L); ③ NC 组 (终浓度 3.2 μmol/L), 培养 48 h 后, 每孔加入 CCK-8 试剂 10 μl, 室温孵育 90 min, 多功能酶标仪 (Bio-Rad) 测定吸光度 A_{450nm} (激发波长 450 nm, 参比波长 655 nm), 计算细胞的增殖抑制率。增殖抑制率 = $(A_{\text{空白对照组}} - A_{\text{实验组}}) / A_{\text{空白对照组}} \times 100\%$ 。

1.4 Annexin V-FITC/PI 双染色法检测细胞早期凋亡率 以 1.0×10^6 /孔的密度将人 SW1990 细胞接种到 12 孔培养板, 1 ml/孔, 12 h 后加入药物, 细胞分组 ① Control 组; ② siRNA 组 (siRNA 终浓度 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2 μmol/L); ③ NC 组 (终浓度 3.2 μmol/L), 培养 48 h 后, 消化收集细胞, 按照试剂说明书操作, 流式细胞仪检测各组细胞早期凋亡率。

1.5 实时荧光定量 RT-PCR 检测 Apollon mRNA 的相对表达水平 细胞处理及分组同 1.4。消化收集各组细胞, TRIzol 试剂提取 RNA。采用 M-MLV 逆转录酶逆转录 RNA 为 cDNA, 并作为 PCR 反应的模版, Apollon 上游引物: 5'-CCAAAGGTGGTGAGCTTCA-3', 下游引物: 5'-TCTACCCAGCATGGAGGAAC-3', 扩增片段大小 214 bp。GAPDH 上游引物: 5'-AGTGC-CAGCCTCGTCTCATA-3', 下游引物: 5'-TT-GAAGCTTGCCGTGGGTAGA-3', 扩增片段大小 296 bp。取模板 DNA 采用 SYBRgreen 掺入法进行荧光定量 PCR 反应, 条件如下: 94℃ 15 s 预变性, 95℃ 4 s, 60℃ 15 s, 72℃ 15 s, 共 40 个循环, 所有的样本检测均包含一个不加模板的阴性对照, 以排除假阳性的结果。计算 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值来比较对照组和实验组的目的基因 mRNA 相对表达量。

1.6 Western Blot 检测 Apollon 蛋白的相对表达水平 细胞处理及分组同 1.5。按细胞裂解液 (RIPA) 说明书提取细胞蛋白。用 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量, 根据定量结果对各蛋白质样本进行校正。加入样品溶解液和样品, 置沸水中煮 5 min。不连续的聚丙烯酰胺凝胶电泳 (10 g/dl 聚丙烯酰胺分离胶和 5 g/dl 聚丙烯酰胺浓缩胶), 电压 80 V, 进入分离胶后改为 120 V, 40 min。将凝胶上的蛋白条带转到硝酸纤维素膜 (NC) 上, 半干式转膜 15V, 18 min; TBST 洗膜 5 min, 5 ml/dl 牛血清清蛋白封闭缓冲液室温封闭 1 h, TBST 洗膜 3 次, 每次 5 min。4℃ 过夜孵育一抗。TBST 洗膜 3 次, 每次 5 min。37℃ 孵育二抗 1 h。TBST 洗膜 3 次, 每次 5 min。加入电化学发光 (electrochemiluminescence, ECL) 试剂, 显影。BI-2000 型图像分析软件分析 Apollon 和 GAPDH 的积分光密度, 以 GAPDH 作为内参。

1.7 统计学分析 应用 SPSS17.0 统计软件处理数据, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用完全随机设计的单因素方差分析 (one-way ANOVA) 分析组间差异的显著性, P 值 < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Apollon siRNA 对 SW1990 细胞增殖的影响

不同浓度的 Apollon siRNA 转染 SW1990 细胞 48 h 后,对 SW1990 细胞的抑制作用随着浓度的增加而增加,最高达 70.2%,较 NC 组比较,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),并具有剂量-效应关系。其 IC₅₀ 为 1.1,结果表明 Apollon siRNA 能有效抑制 SW1990 细胞增殖,见图 1。

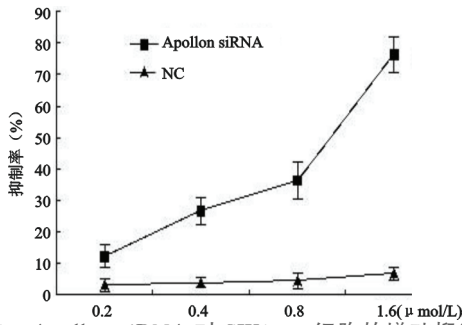


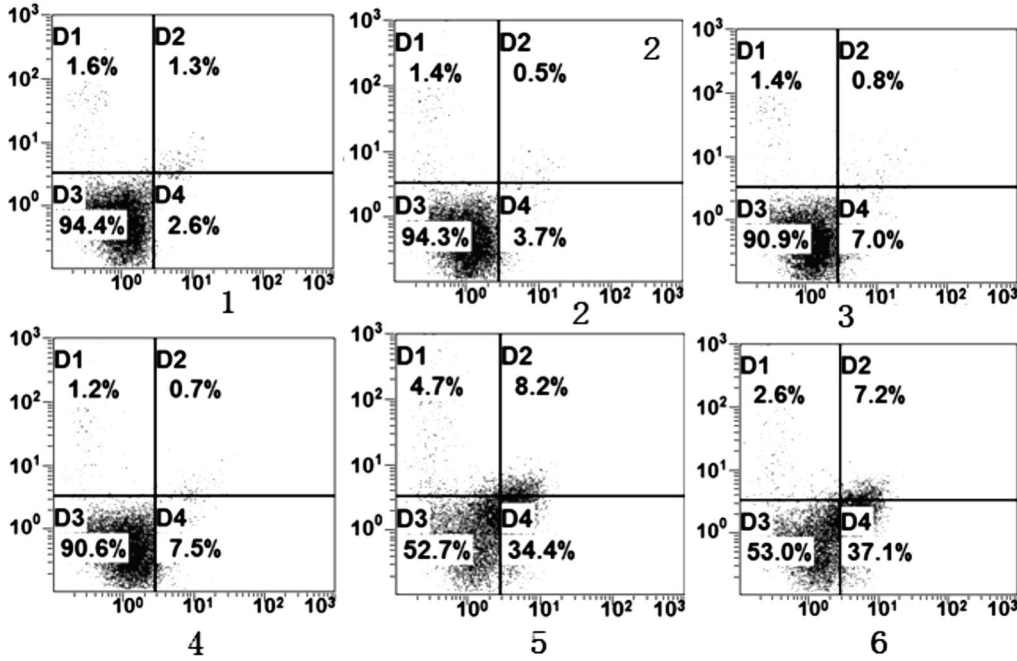
图 1 Apollon siRNA 对 SW1990 细胞的增殖抑制率

2.2 Apollon siRNA 对 SW1990 细胞早期凋亡的影响

不同浓度的 Apollon siRNA 转染 SW1990 细胞 48 h 后,运用流式细胞术 Annexin V-FITC/PI 检测细胞周期凋亡率,随着浓度的增加,早期凋亡率也相应的增加,最高达 37.1%,Apollon siRNA 组较 NC 组与空白组比较,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 2。

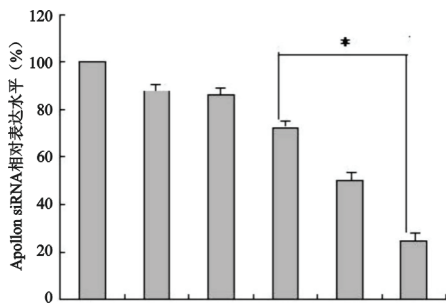
2.3 Apollon siRNA 对 SW1990 细胞 Apollon mRNA 表达水平的影响

不同浓度的 Apollon siRNA 转染 SW1990 细胞 48 h 后,运用 RT-PCR 检测细胞 Apollon mRNA 的相对表达水平,随着 Apollon siRNA 浓度的增加,Apollon mRNA 的相对表达水平减少,不同的 Apollon siRNA 组较 NC 组与空白组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结果表明 Apollon siRNA 能有效抑制 Apollon mRNA 的表达,从而抑制细胞增殖,见图 3。



1. Control 组;2. NC 组(终浓度 3.2 μmol/L);3. siRNA 组(0.2 μmol/L);4. siRNA 组(0.4 μmol/L);5. siRNA 组(0.8 μmol/L);6. siRNA 组(1.6 μmol/L)。

图 2 流式细胞术检测细胞早期凋亡



1. Control 组;2. NC 组(终浓度 3.2 μmol/L);3. siRNA 组(0.2 μmol/L);4. siRNA 组(0.4 μmol/L);5. siRNA 组(0.8 μmol/L);6. siRNA 组(1.6 μmol/L)。* 较空白对照组与 NC 组比较 $P < 0.05$ 。

图 3 Apollon mRNA 相对表达水平的比较

2.4 Apollon siRNA 对 SW1990 细胞 Apollon 蛋白表达的影响

不同浓度的 Apollon siRNA 转染 SW1990 细胞 48 h 后,运用 wester-blot 检测细胞 Apollon 蛋白的相对表达水平,随着 Apollon siRNA 浓度的增加,Apollon 蛋白的相对表达水平减少,不同的 Apollon siRNA 组较 NC 组与空白组比较,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结果表明 Apollon siRNA 能有效抑制 Apollon 蛋白的表达,从而抑制细胞增殖,见图 4。

3 讨论 胰腺癌是一种常见的恶性程度很高的消化道肿瘤,居美国恶性肿瘤死亡原因的第四位,在我国为肿瘤死亡原因的第五位,全世界每年约有

30万人死于胰腺癌,其发病率和死亡率近年来均有上升趋势。由于胰腺癌早期缺乏特异性的临床表现,早期诊断困难,发现时往往已是晚期,只有10%~20%的病人适合手术治疗,约有80%以上的病人需化疗和放疗等辅助治疗延长生存期^[6]。因此,在更好地了解胰腺癌发生发展的分子机制后,有必要开发新型的高效分子靶点药物。

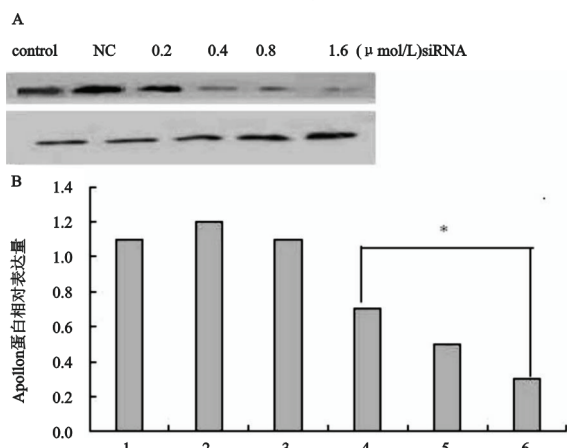


图4 Apollon蛋白相对表达水平的比较
A: Apollon蛋白电泳图; B: Apollon蛋白相对表达量 1. Control组; 2. NC组(终浓度 3.2 μmol/L); 3. siRNA组(0.2 μmol/L); 4. siRNA组(0.4 μmol/L); 5. siRNA组(0.8 μmol/L); 6. siRNA组(1.6 μmol/L)。*与空白对照组、NC组及 siRNA组(0.2 μmol/L)组比较 $P < 0.05$ 。

图4 Apollon蛋白相对表达水平的比较

Apollon/BRUCE(BIR6)是凋亡抑制蛋白家族中最大的蛋白,相对分子质量为 530×10^3 ,含有4830个氨基酸,是高尔基体外膜蛋白,Apollon/BRUCE的抑制凋亡机制尚不十分清楚。Apollon在多种肿瘤组织和细胞系中高表达,细胞凋亡在肿瘤的发生、发展过程中起着非常重要的作用^[7]。凋亡受抑将导致细胞生存期延长,有利于转化突变的细胞生长积累,最终导致肿瘤的产生。关于Apollon作为抗肿瘤靶点已经取得阶段性的研究进展。如:pGPHI-GFP-Neo-Apollon载体能显著增强VCR和VP16对白血病K562细胞的诱导凋亡作用,提高K562细胞对化疗药物的敏感性,提示RNA干扰Apollon基因表达能一定程度逆转白血病细胞的多药耐药^[8]。Apollon ASODN可下调Apollon基因表达,有效抑制K562细胞的增殖,并促进K562细胞的凋亡,Apollon ASODN与依托泊苷和长春新碱联合作用可降低细胞生存率,降低细胞耐药性^[9]。Apollon和MMP-2参与了直肠癌的发生发展,二者联合检测对了解直肠癌生物学行为有一定的指导意义。Chen等^[10]报道Apollon siRNA能提高肝癌细胞对化疗药物的敏感性。在前期的研究证明Apollon可作为抗肝癌及结肠癌治疗靶点^[3~5]。

RNA干扰(RNAi)是一种转录后基因沉默现

象,是外源性双链导入细胞后在Dicer酶的作用下生成21~23 nt的小干扰RNA(small interference RNA, siRNA),导致蛋白质的翻译过程终止,干扰了基因表达,具有靶向作用与特异性强的优势^[11]。因此,本研究在进一步深化前期研究的基础上,运用Apollon siRNA转染胰腺癌细胞,结果显示:Apollon siRNA作用于胰腺癌(SW1990)细胞48 h后。能有效抑制SW1990细胞增殖,并呈现剂量效应关系;并能促进胰腺癌(SW1990)细胞凋亡,其早期凋亡率达32.2%;同时Apollon siRNA能显著下调Apollon mRNA及蛋白在胰腺癌细胞中的表达水平。结果证明Apollon siRNA运用于抗胰腺癌的治疗具有潜在的应用价值。

参考文献:

- [1] 法镇中,江勇,谭玉林,等.慢病毒介导siRNA沉默EGFR基因及其对胰腺癌细胞增殖和凋亡的影响[J].中华肝脏外科手术学电子杂志,2013,2(2):39-43.
Fa ZZ, Jiang Y, Tan YL, et al. Effect of EGFR gene inhibition by lentivirus-mediated small interfering RNA on the proliferation and apoptosis of human pancreatic cancer cells[J]. Chinese Journal of Hepatic Surgery(Electronic Edition), 2013, 2(2): 39-43.
- [2] 何金花,陈顺仪,王莉,等. Survivin, xiap, apollon和livin反义寡核苷酸对人消化系肿瘤细胞增殖及凋亡的影响[J].中国药理学通报,2011,27(3):367-372.
He JH, Chen SY, Wang L, et al. The effects of survivin, xiap, apollon and livin ASO on apoptosis and proliferation of gastrointestinal cancer cells[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2011, 27(3): 367-372.
- [3] 何金花,黎毓光,张鹏,等.原花青素联合Apollon siRNA抑制肝癌HepG-2细胞增殖及凋亡[J].安徽医药,2013,17(4):552-555.
He JH, Li YG, Zhang P, et al. Effects on proliferation and apoptosis of HepG2 cell lines by small interfering RNA targeted apollon combined with procyanidin[J]. Anhui Medical and Pharmaceutical Journal, 2013, 17(4): 552-555.
- [4] 黎毓光,何金花,王莉,等. Apollon反义核酸促进肝癌HepG2细胞凋亡机制的探讨[J].检验医学,2013,28(9):845-850.
Li YG, He JH, Wang L, et al. Investigation on the apoptosis mechanisms of liver cancer HepG2 cells induced by Apollon antisense oligodeoxynucleotide[J]. Laboratory Medicine, 2013, 28(9): 845-850.
- [5] 何金花,黎毓光,韩泽平,等. Apollon反义核酸联合苦参碱对肝癌细胞增殖与凋亡影响的研究[J].中华肿瘤防治杂志,2013,20(1):36-40.
He JH, Li YG, Han ZP, et al. Effects on proliferation and apoptosis of HepG2 cell lines by (下转33页)

中, CyP A 与 NT-proBNP 具有显著的相关性, 并且两者联合检测可有效地提高心衰的诊断效率。吴月明^[9]的研究也显示二者联合检测可能对 CHF 的诊断具有一定作用。但是本研究中, CyP A 对于 CHF 各组间差异并无统计学意义, 说明 CyP A 对于预示心功能分级方面没有优势, 这也可能是由于样本量小引起的抽样误差。

综上所述, CyP A 在 CHF 患者中高表达, 提示 CyP A 可能是 CHF 的一个显现因子, 其与 NT-proBNP 联合检测可能有助于心衰的诊断, 对于临床可能会有比较好的应用价值。

参考文献:

- [1] Akki A, Zhang M, Murdoch C, et al. NADPH oxidase signaling and cardiac myocyte function[J]. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2009, 47(1): 15-22.
- [2] 廖端芳, 庾勤慧, 郭 琰, 等. Cyclophilin A 通过调控炎症/免疫反应介导动脉粥样硬化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009, 17(7): 614.
Liao DF, Tuo QH, Guo Y, et al. Cyclophilin A mediated atherosclerosis through regulating inflammation/immune response[J]. *Chinese Journal of Arteriosclerosis*, 2009, 17(7): 614.
- [3] Satoh K, Nigro P, Zeidan A, et al. Cyclophilin A promotes cardiac hypertrophy in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 2011, 31(5): 1116-1123.
- [4] Wang P, Heitman J. The cyclophilins[J]. *Genome Biol*, 2005, 6(7): 226.
- [5] Horowitz DS, Lee EJ, Mabon SA, et al. A Cyclophilin functions in pre-mRNA splicing[J]. *EMBO J*, 2002, 21(3): 470-480.
- [6] Yanazume T, Hasegawa K, Wada H, et al. Rho/R-OCK pathway contributes to the activation of extracellular signal-regulated kinase/GATA-4 during myocardial cell hypertrophy[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(10): 8618-8625.
- [7] Seizera P, Geisler T, Bigalke B, et al. EMMPRIN and its ligand Cyclophilin A as novel diagnostic markers in inflammatory cardiomyopathy[J]. *International Journal of Cardiology*, 2013, 163(3): 299-304.
- [8] 中华医学会心血管病学分会. 慢性心力衰竭诊断治疗指南[J]. *中华心血管病杂志*, 2007, 35(12): 1076-1095.
Chinese Society of Cardiology. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure[J]. *Chinese Journal of Cardiology*, 2007, 35(12): 1076-1095.
- [9] 吴月明. 老年慢性心力衰竭患者血清亲环素和脑利钠肽的表达水平及意义[J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33(4): 752-753.
Wu YM. The expression level and significance of Cyclophilin and Brain natriuretic peptide for elderly patients with chronic heart failure[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2013, 33(4): 752-753.
- 收稿日期: 2014-08-27
修回日期: 2014-09-24
-
- (上接 30 页) antisense oligodeoxynucleotide targeted apollon combind with matrine[J]. *Chin J Cancer Prev Treat*, 2013, 20(1): 36-40.
- [6] 师晓华, 梁智勇, 吴焕文, 等. RNA 干扰质粒对胰腺癌细胞系 Panc-1 原癌基因 AKT2 表达的影响[J]. *协和医学杂志*, 2012, 3(1): 102-108.
Shi XH, Liang ZY, Wu HW, et al. Effect of RNA interference plasmid on the expression of oncogene AKT2 in pancreatic cancer cell line panc-1[J]. *Medical Journal of Peking Union Medical College Hospital*, 2012, 3(1): 102-108.
- [7] 贾秀红, 孝飞飞, 李建厂. RNA 干扰 Apollon 基因逆转白血病 K562 细胞多药耐药[J]. *中国癌症杂志*, 2013, 23(9): 713-720.
Jia XH, Xiao FF, Li JC. Reversion of multidrug resistance in leukemia K562 cells by RNA interference targeting Apollon gene[J]. *China Oncology*, 2013, 23(9): 713-720.
- [8] 贾秀红, 刘媛媛, 李建厂, 等. Apollon 反义寡核苷酸对 K562 细胞增殖、凋亡和耐药的影响[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2013, 28(3): 203-206.
Jia XH, Liu YY, Li JC, et al. Effects of Apollon antisense oligonucleotide on proliferation and apoptosis of K562 cells[J]. *Journal of Applied Clinical Pediatrics*, 2013, 28(3): 203-206.
- [9] 苏清华, 贺从涛, 陈 嘉, 等. Apollon 和 MMP-2 在直肠癌组织中的表达及意义[J]. *山西医科大学学报*, 2012, 43(10): 739-742.
Su QH, He CT, Chen J, et al. Expression and clinical significance of Apollon and MMP-2 in rectal carcinoma[J]. *Journal of Shanxi Medical University*, 2012, 43(10): 739-742.
- [10] 陈建飞, 李宇华, 陈引香, 等. Apollon siRNA 提高肝癌细胞化疗敏感性的实验研究[J]. *南方医科大学学报*, 2011, 31(10): 1701-1704.
Chen JF, Li YH, Chen YX, et al. Small interfering RNA targeting Apollon enhances the chemosensitivity of hepatocellular carcinoma cells in vitro[J]. *J South Med Univ*, 2011, 31(10): 1701-1704.
- [11] 闫 岩, 张允历, 徐 岷. HDAC2 siRNA 转染对胰腺癌细胞增殖及凋亡的影响[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2013, 23(4): 292-295.
Yan Y, Zhang YL, Xu M. Effects of siRNA-mediated HDAC2 gene silence on proliferation and apoptosis of human pancreatic cell line[J]. *Journal of Jiangsu University (Medicine Edition)*, 2013, 23(4): 292-295.
- 收稿日期: 2014-08-15
修回日期: 2014-12-05