

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.04.009

· 基础研究 ·

siRNA 沉默 livin 的表达对人结肠癌 HT-29 细胞增殖、凋亡及侵袭的影响

何文静¹, 黎军和², 赵清梅², 熊建萍², 彭小东² (1. 南昌大学第一附属医院输血科, 江西南昌 330006; 2. 南昌大学第一附属医院肿瘤科, 江西南昌 330006)

[摘要] **目的:** 探讨小干扰 RNA (small interference RNA, siRNA) 沉默人结肠癌 HT-29 细胞 livin 表达对 HT-29 细胞增殖、凋亡和侵袭的影响。**方法:** 合成靶向 livin 的双链 siRNA (livin-siRNA), 转染 HT-29 细胞, RT-PCR 及 Western blotting 检测 HT-29 细胞中 livin mRNA 及蛋白的表达, MTT 实验检测 HT-29 细胞的增殖, 流式细胞术检测 HT-29 细胞周期分布及凋亡, 细胞侵袭实验检测 HT-29 细胞侵袭性的变化, caspase-3 活性检测试剂盒检测 caspase-3 活性的变化。**结果:** Livin-siRNA 转染后 48 h, 与空白组、阴性对照组及脂质体组相比, livin-siRNA 转染组 HT-29 细胞中 livin mRNA 水平明显下降 (0.073 ± 0.007 vs 0.395 ± 0.082 , 0.423 ± 0.025 , 0.418 ± 0.032 , $P < 0.05$), 其蛋白表达也明显下调 (0.106 ± 0.003 vs 0.456 ± 0.065 , 0.473 ± 0.078 , 0.491 ± 0.045 , $P < 0.05$)。转染 96 h 后, livin-siRNA 组 HT-29 细胞增殖能力明显低于对照组及脂质体组 (0.564 ± 0.102 vs 0.833 ± 0.127 , 0.860 ± 0.153 , $P < 0.05$), 且细胞凋亡率升高 [16.5 ± 2.8] % vs [2.4 ± 0.5] %、[3.7 ± 1.0] %, $P < 0.05$]。侵袭实验显示, livin-siRNA 转染后, 穿过 Matrigel 膜的 HT-29 细胞数量明显少于对照组及脂质体组 [31.3 ± 4.5] vs [101.3 ± 8.6]、[97.4 ± 7.8] 个, $P < 0.05$]。livin-siRNA 组 HT-29 细胞的 caspase-3 活性低于对照组 (0.160 ± 0.023 vs 0.347 ± 0.058 , $P < 0.05$)。**结论:** siRNA 沉默 livin 的表达可抑制 HT-29 细胞的增殖, 诱导细胞凋亡, 抑制细胞的侵袭。

[关键词] 结肠癌; livin; 小干扰 RNA; 基因治疗

[中图分类号] R735.3; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2012)04-0392-05

Effects of siRNA silencing livin expression on proliferation, apoptosis and invasion of human colon cancer cell line HT-29

HE Wen-jing¹, LI Jun-he², ZHAO Qing-mei², XIONG Jian-ping², PENG Xiao-dong² (1. Department of Blood Transfusion, First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi, China; 2. Department of Oncology, First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effects of small interference RNA (siRNA) targeting livin on the proliferation, apoptosis and invasion of human colon cancer cell line HT-29. **Methods:** Chemically synthetic double-strand siRNA targeting livin (livin-siRNA) was transfected into HT-29 cells, and then RT-PCR and Western blotting were used to detect the expression of livin mRNA and protein in HT-29 cells. MTT assay was performed to analyze the proliferation of HT-29 cells. The cell apoptosis and cell cycle distribution were analyzed by flow cytometry. The invasion assay and caspase-3 detective kit were used to detect the change of invasion and caspase-3 activity in HT-29 cells. **Results:** Forty-eight hours after transfection, there was a significant decrease in the expressions of both livin mRNA (0.073 ± 0.007 vs 0.395 ± 0.082 , 0.423 ± 0.025 , 0.418 ± 0.032 , $P < 0.05$) and livin protein (0.106 ± 0.003 vs 0.456 ± 0.065 , 0.473 ± 0.078 , 0.491 ± 0.045 , $P < 0.05$) in the livin-siRNA group, compared with the blank and negative control and liposome groups. Ninety-six hours after transfection, the growth of HT-29 cells in the livin-siRNA group was significantly lower than that in the control and liposome groups (0.564 ± 0.102 vs 0.833 ± 0.127 , 0.860 ± 0.153 , $P < 0.05$), and the rate of apoptosis was obviously increased ([16.5 ± 2.8] % vs [2.4 ± 0.5] %, [3.7 ± 1.0] %, $P < 0.05$). The invasion assay demonstrated that the number of the migration cells was lower in the livin-siRNA group than in the control and liposome groups (31.3 ± 4.5 vs 101.3 ± 8.6 , 97.4 ± 7.8 , $P < 0.05$). The activity of caspase-3 in the livin-siRNA group

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30960440)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30960440)

[作者简介] 何文静(1975-),女,广东省兴宁市人,硕士,讲师,主要从事肿瘤基因治疗方面的研究。E-mail: niubo0508@163.com

[通信作者] 黎军和(LI Jun-he, corresponding author), E-mail: lijunhe88@163.com

was decreased compared with that in the control group (0.160 ± 0.023 vs 0.347 ± 0.058 , $P < 0.05$). **Conclusion:** The siRNA silencing livin expression in HT-29 cells can suppress the proliferation, induce the apoptosis and inhibit the invasion of HT-29 cells.

[**Key words**] colon cancer; livin; small interference RNA; gene therapy

[Chin J Cancer Biother, 2012, 19(4): 392-396]

Livin 为凋亡抑制蛋白家族(inhibitor of apoptosis protein, IAP)成员之一,选择性表达于肿瘤细胞和胚胎细胞,在多数正常组织中低表达或不表达。Livin 具有较强的抗细胞凋亡作用,能抑制 caspase-3、-7 和 -9 的活性,对外源性和内源性细胞凋亡信号途径均有抑制作用^[1];livin 可能还参与肿瘤细胞耐药^[2]。Livin 过表达与多种肿瘤的发生、发展及预后密切相关^[3-5],并可能成为黑素瘤的一个治疗靶点^[6]。前期研究^[7]发现,livin 蛋白在结直肠癌细胞中表达上调,并与 II 期结直肠癌患者术后易复发及预后较差相关。本研究进一步采用 RNA 干扰技术抑制人结肠癌细胞系 HT-29 中 livin 基因的表达,观察 livin 基因沉默后 HT-29 细胞增殖、凋亡、细胞周期及细胞侵袭性的变化。

1 材料与方 法

1.1 材 料

人结肠癌细胞系 HT-29 来源于中山大学肿瘤防治中心。Livin 单克隆抗体购自武汉博士德公司,四氮甲基唑蓝购自北京鼎国公司,脂质体转染试剂 RNAi-mate 购自上海吉玛生物公司,TRIzol 试剂购自 Invitrogen 公司,RT-PCR 试剂盒购自 Fermentas 公司,caspase-3 活性检测试剂盒购自南京凯基生物公司,24 孔板细胞培养板及 Matrigel 基质胶购自 BD 公司。

1.2 Livin siRNA 的合成

能有效抑制 livin 基因表达的 siRNA 由上海吉玛公司合成,其序列如下,Sense:5'-GGAAGAGACUUU-GUCCACATT-3'; Anti-sense:5'-UGUGGACAAAGUCU-CUUCCTT-3'。合成后在 Genbank 中进行 BLAST,排除与其他基因同源。阴性对照 siRNA 序列为,Sense:5'-UUCUCCGAACCGUGUCACGUTT-3'; Anti-sense:5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3'。

1.3 人结肠癌 HT-29 细胞的转染

人结肠癌细胞系 HT-29 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基在 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度培养箱中下常规培养,选用对数生长期细胞进行转染。实验分为空白组、阴性对照组、脂质体组和实验组,转染浓度均为 150 nmol/L。

1.4 RT-PCR 法检测 siRNA 对 livin 基因表达的抑

制作用

采用 TRIzol 提取细胞总 RNA 并进行逆转录反应。livin 的上游引物序列为 5'-GTCCCCAGCTGT-CAGTTC-3',下游引物序列为 5'-CGTCTTCCGGT-TCTTCCCA-3'; β -actin 的上游引物序列为 5'-CTACAATGAGCTGCGTGTGG-3',下游引物序列为 5'-CGGTCAGGATCTTCATGAGG-3'。扩增后 livin 和 β -actin 的产物长度分别为 116 bp 和 311 bp。PCR 条件为:94 °C 2 min,94 °C 45 s,55 °C 45 s,72 °C 45 s,共 32 个循环,然后 72 °C 延伸 5 min。采用 3% 琼脂糖凝胶进行电泳,并进行光密度分析。

1.5 Western blotting 法检测 siRNA 对 livin 蛋白的抑制作用

裂解液裂解 HT-29 细胞,提取总蛋白并进行蛋白定量后,聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,转移至硝酸纤维素膜上。5% 脱脂奶粉(溶于 TBST 溶液中)室温封闭 2 h;然后加入 1:500 的 livin 一抗,洗涤后加入 1:1 000 的鼠抗人二抗,室温反应 2 h,化学发光法显色,并进行光密度分析,以 β -actin 作为内参。

1.6 MTT 法检测 siRNA 对细胞增殖的影响

取对数生长期的 HT-29 细胞,经胰酶消化,以 5×10^3 /ml 细胞密度接种于 96 孔板中,培养 24 h 后进行转染,分别于转染后 24、48、72、96 h 加入 MTT 溶液 200 μ l,继续孵育 4 h,弃上清液,加入 100 μ l DMSO,室温轻摇 15 min,酶标仪于 570 nm 处测定其光密度值(D_{570})。以时间为横轴, D 值为纵轴,绘制生长曲线。

1.7 流式细胞术检测 siRNA 对 HT-29 细胞周期和凋亡的影响

转染 48 h 后收获 HT-29 细胞,胰酶消化,PBS 液洗涤,70% 冷乙醇固定细胞 12 h;PBS 洗 1 次,加入 PI 染液 4 °C 避光染色 30 min;然后利用流式细胞仪检测细胞内 DNA 含量,分析 1×10^4 个细胞的细胞周期比例及细胞凋亡率。

1.8 Matrigel 穿膜侵袭法检测 siRNA 对 HT-29 细胞侵袭力的影响

Transwell 上室内加入完全培养基,下室内加入含 10% 胎牛血清的完全培养基,37 °C 下聚碳酸酯滤膜 Transwell 板预孵育,无血清培养液 1:3 稀释 Matrigel,

100 μl 加入上室。将实验组和对照组细胞配成 1 × 10⁵/ml 的单细胞悬液,取 200 μl 加入上室,常规孵育 24 h,收获滤膜上的细胞,显微镜下计数细胞数。

1.9 Caspase-3 活性检测试剂盒检测 siRNA 对 HT-29 细胞 caspase-3 活性的影响

Caspase-3 活性检测试剂盒将 caspase-3 序列特异性的多肽偶联至发色基团,当该底物被 caspase-3 剪切后,发色基团即游离出来,可通过酶标仪(λ = 405 nm)测定其光密度值,获得 caspase-3 的相对活性。实验根据 caspase-3 活性检测试剂盒说明书步骤进行操作。

1.10 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,采用 SPSS 16.0 软件进行分析,各组间采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 时表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Livin-siRNA 抑制 livin mRNA 的表达

实验结果(图 1)显示,转染 livin-siRNA 后 48 h, livin-siRNA 实验组 HT-29 细胞中 livin mRNA 相对表达水平为 0.073 ± 0.007 ,而空白组、阴性对照组及脂质体组 livin mRNA 相对表达水平分别为 0.395 ± 0.082 、 0.423 ± 0.025 及 0.418 ± 0.032 。结果显示, livin-siRNA 实验组 livin 表达明显下降($P < 0.05$),而空白组、阴性对照组及脂质体组表达无明显差异($P > 0.05$),由此提示, livin-siRNA 能有效抑制 livin 基因的表达。

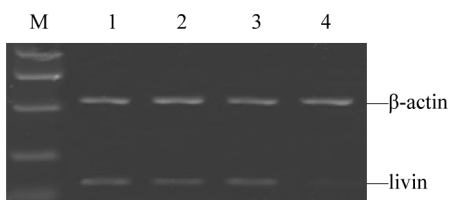


图 1 RT-PCR 检测 livin mRNA 的表达

Fig. 1 Expression of livin mRNA detected by RT-PCR

M: Marker; 1: Untransfected; 2: Negative control; 3: Liposome transfected; 4: Livin-siRNA transfected

2.2 Livin-siRNA 抑制 livin 蛋白的表达

实验结果(图 2)显示, livin-siRNA 转染后 48 h, HT-29 细胞中 livin 蛋白的光密度值为 0.106 ± 0.003 ,而空白组、阴性对照组及脂质体组分别为 0.456 ± 0.065 、 0.473 ± 0.078 及 0.491 ± 0.045 , livin-siRNA 组的 HT-29 细胞 livin 蛋白表达较空白

对照组明显降低($P < 0.05$),而空白组、阴性对照组及脂质体组 livin 表达无差异($P > 0.05$)。由此提示, livin-siRNA 能有效抑制 livin 蛋白的表达。

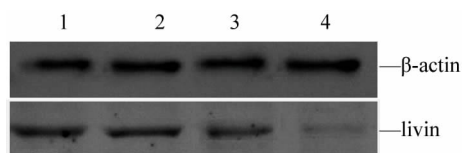


图 2 Livin-siRNA 转染抑制 HT-29 细胞中 livin 蛋白的表达

Fig. 2 Livin-siRNA transfection inhibited expression of livin protein in HT-29 cells

1: Untransfected; 2: Negative control; 3: Liposome transfected; 4: Livin-siRNA transfected

2.3 Livin-siRNA 抑制 HT-29 细胞的增殖

实验结果(图 3)显示, livin-siRNA 转染后 24 h, livin-siRNA 实验组 HT-29 细胞增殖与脂质体组 and 对照组无明显差异,而转染后 48、72、96 h, livin-siRNA 实验组 HT-29 细胞增殖均明显低于对照组及脂质体组($P < 0.05$),而对照组和脂质体组细胞增殖无明显差异($P > 0.05$)。由此提示, livin-siRNA 沉默 livin 基因表达能够抑制 HT-29 细胞的增殖。

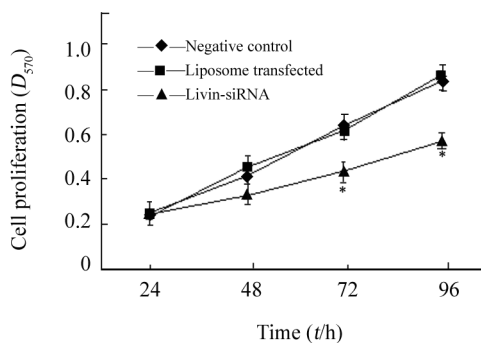


图 3 MTT 法检测 livin-siRNA 对 HT-29 细胞增殖的抑制作用

Fig. 3 Inhibitory effect of livin-siRNA on growth of HT-29 cells detected by MTT

* $P < 0.05$ vs negative control or liposome transfected groups

2.4 Livin-siRNA 对 HT-29 细胞凋亡和细胞周期的影响

表 1 显示, livin-siRNA 抑制 livin 表达后, HT-29 细胞凋亡率明显高于对照组及脂质体组[(16.5 ± 2.8)% vs (2.4 ± 0.5)%、(3.7 ± 1.0)% , $P < 0.05$],而对照组及脂质体组间无明显差异($P > 0.05$)。 livin-siRNA 转染后 HT-29 细胞周期分布也发生变化,主要表现为 S 期细胞比例减少,而 G₁/G₀

期细胞比例升高,与对照组及脂质体组比较差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。由此可见, livin-siRNA

转染可明显抑制 HT-29 细胞的凋亡和阻滞细胞周期于 G_1/G_0 期。

表 1 Livin-siRNA 对 HT-29 细胞周期分布及凋亡的影响
Tab.1 Effect of livin-siRNA on cell cycle distribution and apoptosis of HT-29 cells

Group	G_1/G_0 stage (%)	S stage (%)	G_2/M stage (%)	Apoptosis rate (%)
Control	35.4 ± 2.0	50.6 ± 4.5	14.0 ± 2.5	2.4 ± 0.5
Liposome	36.6 ± 2.3	52.0 ± 3.9	11.4 ± 2.6	3.7 ± 1.0
Livin-siRNA	$49.0 \pm 4.1^*$	$37.4 \pm 4.6^*$	13.6 ± 1.9	$16.5 \pm 2.8^*$

* $P < 0.05$ vs control or liposome groups

2.5 Livin-siRNA 抑制 HT-29 细胞的侵袭

穿过 Matrigel 膜的细胞数量可表示 HT-29 细胞的体外侵袭能力。结果显示,对照组、脂质体组穿透膜的 HT-29 细胞数为(101.3 ± 8.6)及(97.4 ± 7.8)个,而 livin-siRNA 实验组为(31.3 ± 4.5)个,后者明显低于对照组及脂质体组($P < 0.05$),且对照组及脂质体组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。提示 livin-siRNA 能够在体外抑制 HT-29 细胞的侵袭。

2.6 Livin-siRNA 促进 HT-29 细胞 caspase-3 的活化

Livin-siRNA 转染后 48 h 收获 HT-29 细胞,检测 caspase-3 活性,对照组和 livin-siRNA 实验组 HT-29 细胞的 caspase-3 活性分别为 0.160 ± 0.023 及 0.347 ± 0.058 ($P < 0.05$),可见转染 livin-siRNA 可使 HT-29 细胞中 caspase-3 的活性增加。

3 讨论

凋亡抑制基因 *livin* 与大肠癌的发生、发展密切相关, Ashhab 等^[8]分别检测了结肠癌细胞系 HT-29、SW480、SW620 和 LSI180 中 *livin* mRNA 的表达,发现 HT-29 细胞高表达 *livin* mRNA, SW480 细胞中等程度表达 *livin* mRNA, 而 LSI180 和 SW620 细胞未检测到 *livin* mRNA 的表达。Yagihashi 等^[9]在大肠癌组织中也检测到 *livin* mRNA 的过表达,同时患者血清中抗 *livin* 抗体显著增高,提示 *livin* 可作为一种新的大肠癌肿瘤抗原。随后 Ziad 等^[10]采用固相放射免疫测定法检测胃肠道肿瘤患者血清中抗 *livin* 抗体的产生,发现抗 *livin* 抗体水平在 25% 的胃肠道肿瘤患者中显著提高,提示抗 *livin* 抗体也可以作为诊断恶性胃肠道肿瘤的新标记。既往研究^[7,11]显示, *livin* 在 Dukes' B 期结直肠癌组织中表达上调,且与患者术后预后不良有关,提示 *livin* 与结直肠癌发病有一定关系。

本研究利用 RNA 干扰技术探讨 *livin* 基因沉默

对 HT-29 细胞生物学行为的影响,发现化学合成的 livin-siRNA 能够有效抑制 HT-29 细胞中 *livin* 基因的表达, *livin* 基因抑制后, HT-29 细胞增殖能力被抑制, 凋亡增加, 与 Yuan 等^[12]和 Yang 等^[13]的研究结果类似,这可能系 *livin* 能抑制 HT-29 细胞凋亡并促进其增殖,当 *livin* 的表达被干扰后, HT-29 细胞凋亡增加。本研究还发现,抑制 *livin* 基因表达后, HT-29 细胞的细胞周期重新分布, S 期细胞减少, 而 G_1 期细胞增加。Livin 对细胞周期影响的机制尚不清楚, 但有研究^[14]发现, *survivin* 能够置换 Cdk4/p16INK4a 复合物中的 p16INK4a, 形成 *survivin*/Cdk4 复合物, 进而激活 Cdk2/cyclin E, 导致 Rb 蛋白去磷酸化, 启动细胞周期, 使细胞迅速从 G_1 期过渡到 S 期, 逃避 G_2/M 检测点而快速增殖, 并抑制凋亡。Livin 与 *survivin* 均属 IAP 家族成员, 结构和功能相似, 可能采用与 *survivin* 相似的方式, 改变肿瘤细胞的细胞周期分布。

目前国内外关于 *livin* 与肿瘤侵袭性的研究鲜见报道。Liu 等^[15]利用 siRNA 真核表达载体转染肝癌细胞株 SMMC-7721, 发现沉默 *livin* 可明显减弱 SMMC-7721 细胞的侵袭能力。本研究结果与 Liu 等结果相似, 沉默 *livin* 基因表达后, HT-29 细胞穿膜细胞数明显减少, 侵袭能力明显下降。Livin 与细胞侵袭性相关的机制尚不清楚, 但有研究^[16]发现, *survivin* 与大肠癌侵袭性相关, *survivin* 被沉默后使大肠癌 SW480 细胞阻滞在 G_2/M , 影响微管、微丝的装配, 可能引起细胞黏性下降, 进而引起细胞侵袭能力下降; 抑制 *survivin* 表达可降低肿瘤血管生成因子 VEGF 的表达, 间接抑制大肠癌 SW480 细胞的侵袭性。此外, 还可能通过灭活基质金属蛋白酶的活性, 抑制大肠癌细胞的侵袭性^[17]。

Livin 的抗凋亡机制尚未完全明确, caspase-3 是凋亡信号转导通路下游的一个主要效应 caspase。

本研究利用 livin-siRNA 抑制 livin 基因表达后, 发现 caspase-3 的活性增强。这是因为 livin 对 caspase-3 具有抑制作用, 当其表达抑制后, 对 caspase-3 的抑制减弱。这与 Irena 等^[18] 利用 HeLa 细胞及 Liu 等^[19] 利用膀胱癌细胞系 5637 进行的实验结果相符。但 Vucic 等^[20] 研究认为, livin 对 caspase-3 和 caspase-9 的抑制作用远低于 XIAP, 并发现 livin 可有效结合继发性线粒体 caspase 激活器(second mitochondrial activator of caspase, Smac) 间接抑制 caspase-3 的活性。

总之, livin-siRNA 能有效抑制 HT-29 细胞中 livin 基因的表达, livin 表达被抑制后, HT-29 细胞增殖、侵袭能力下降, 细胞周期分布发生改变, caspase-3 活性增加。Livin 基因在结肠癌的发生、发展中起一定作用, 可能成为结肠癌的新的治疗靶点。本课题组今后将进一步采用慢病毒作为载体, 探讨 RNA 干扰抑制 livin 基因对荷瘤小鼠生长的影响。

[参 考 文 献]

- [1] Kasof GM, Gomes BC. Livin, a novel inhibitor of apoptosis protein family member [J]. J Biol Chem, 2001, 276(5): 3238-3246.
- [2] Gazzaniga P, Gradilone A, Giuliani L, et al. Expression and prognostic significance of livin, survivin and other apoptosis-related genes in the progression of superficial bladder cancer [J]. Ann Oncol, 2003, 14(1): 85-90.
- [3] Kim DK, Alvarado CS, Abramowsky CR, et al. Expression of inhibitor-of-apoptosis protein (IAP) livin by neuroblastoma cells: Correlation with prognostic factors and outcome [J]. Pediatr Dev Pathol, 2005, 8(6): 621-629.
- [4] Qiuping Z, Jei X, Youxin J, et al. CC chemokine ligand 25 enhances resistance to apoptosis in CD4⁺ T cells from patients with T-cell lineage acute and chronic lymphocytic leukemia by means of livin activation [J]. Cancer Res, 2004, 64(20): 7579-7587.
- [5] El-Mesallamy HO, Hegab HM, Kamal AM. Expression of inhibitor of apoptosis protein (IAP) livin/BIRC7 in acute leukemia in adults: Correlation with prognostic factors and outcome [J]. Leuk Res, 2011, 35(12): 1616-1622.
- [6] Lazar I, Yaacov B, Shiloach T, et al. The oncolytic activity of Newcastle disease virus NDV-HUJ on chemoresistant primary melanoma cells is dependent on the proapoptotic activity of the inhibitor of apoptosis protein livin [J]. J Virol, 2010, 84(1): 639-646.
- [7] 黎军和, 何文静, 何友兼. Survivin 和 livin 在 Dukes' B 期结肠癌中的表达及其临床意义 [J]. 癌症, 2007, 26(5): 547-551.
- [8] Ashhab Y, Alian A, Polliack A, et al. Two splicing variants of a new inhibitor of apoptosis gene with different biological properties and tissue distribution pattern [J]. FEBS Letters, 2001, 495(1/2): 56-60.
- [9] Yagihashi A, Asanuma K, Tsuji N, et al. Detection of anti-livin antibody in gastrointestinal cancer patients [J]. Clin Chem, 2003, 49(7): 1206-1208.
- [10] El Ali Z, Grzymislowski M, Majewski P, et al. Anti-livin antibodies: Novel markers of malignant gastrointestinal cancers [J]. Pol Arch Med Wewn, 2010, 120(1/2): 26-29.
- [11] Xi RC, Biao WS, Gang ZZ. Significant elevation of survivin and livin expression in human colorectal cancer: Inverse correlation between expression and overall survival [J]. Onkologie, 2011, 34(8/9): 428-432.
- [12] Yuan B, Ran B, Wang S, et al. siRNA directed against livin inhibits tumor growth and induces apoptosis in human glioma cells [J]. J Neurooncol, 2012, 107(1): 81-87.
- [13] Yang D, Song X, Zhang J, et al. Suppression of livin gene expression by siRNA leads to growth inhibition and apoptosis induction in human bladder cancer T24 cells [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2010, 74(5): 1039-1044.
- [14] Suzuki A, Ito T, Kawano H, et al. Survivin initiates pro-caspase 3/p21 complex formation as a result of interaction with Cdk4 to resist Fas-mediated cell death [J]. Oncogene, 2000, 19(10): 1346-1353.
- [15] Liu H, Wang S, Sun H, et al. Inhibition of tumorigenesis and invasion of hepatocellular carcinoma by siRNA-mediated silencing of the livin gene [J]. Mol Med Report, 2010, 3(6): 903-907.
- [16] 何敬东, 杨康群, 张振书, 等. 生存素 siRNA 对结肠癌细胞凋亡增殖和侵袭性的影响 [J]. 中国肿瘤临床, 2006, 33(23): 1329-1333.
- [17] Chu XY, Chen LB, Wang JH, et al. Overexpression of survivin is correlated with increased invasion and metastasis of colorectal cancer [J]. J Surg Oncol, 2012, 105(6): 520-528.
- [18] Crnkovic-Mertens I, Semzow J, Hoppe-Seyler F, et al. Isoform-specific silencing of the livin gene by RNA interference defines livin β as key mediator of apoptosis inhibition in HeLa cells [J]. J Mol Med, 2006, 84(3): 232-240.
- [19] Liu C, Wu X, Luo C, et al. Antisense oligonucleotide targeting livin induces apoptosis of human bladder cancer cell via a mechanism involving caspase 3 [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2010, 3(29): 63.
- [20] Vucic D, Franklin MC, Wallweber HJ, et al. Engineering ML-IAP to produce an extraordinarily potent caspase 9 inhibitor: Implications for Smac-dependent anti-apoptotic activity of ML-IAP [J]. Biochem J, 2005, 385(1): 11-20.

[收稿日期] 2012-02-18

[修回日期] 2012-05-26

[本文编辑] 王莹