

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.03.010

## 腺病毒介导 miRNA-29a 过表达抑制人胃癌细胞的增殖

刘志鹏<sup>1</sup>, 王宗华<sup>2</sup>, 卢斌<sup>3</sup>, 胡春燕<sup>3</sup>, 李学成<sup>1</sup>, 邹利全<sup>1</sup>, 张方征<sup>1</sup>, 陈陵<sup>1</sup>(1. 解放军第324医院 消化内科, 重庆400020; 2. 解放军第三军医大学 护理学院 基础护理学教研室, 重庆400038; 3. 解放军第三军医大学 新桥医院 肿瘤生物治疗中心, 重庆400037)

**[摘要]** **目的:**利用重组人5型复制缺陷型腺病毒载体介导 miRNA-29a(miR-29a)过表达,观察 miR-29a 对人胃癌细胞系 SGC-7901 及 AGS 的增殖抑制作用。**方法:**构建含 pre-miR-29a 的重组腺病毒 Ad-miR29a 及含 LacZ 基因的对照腺病毒 Ad-LacZ,分别感染人胃癌 SGC-7901 及 AGS 细胞,采用 real-time PCR 法检测 SGC-7901 及 AGS 细胞中 miR-29a 的表达,CCK-8 法检测 miR-29a 对 SGC-7901 及 AGS 细胞增殖的抑制作用,流式细胞术检测 SGC-7901 及 AGS 细胞的细胞周期,Transwell 法检测 miR-29a 对 SGC-7901 及 AGS 细胞迁移能力的影响。**结果:**与 Ad-LacZ 对照组相比,Ad-miR29a 组感染后胃癌 SGC-7901 及 AGS 细胞中 miR-29a 的表达均显著增加[(17.35±0.71) vs (1.12±0.09)],(26.50±1.09) vs (0.95±0.04);均 P<0.01];且胃癌 SGC-7901 及 AGS 细胞增殖明显受到抑制,感染 6 d 后 D 值均显著降低[(0.54±0.03) vs (0.77±0.04)],(0.70±0.03) vs (0.88±0.04);均 P<0.01],而 Ad-LacZ 感染组与未感染组相比则无明显变化(P>0.05);与 Ad-LacZ 对照组相比,Ad-miR29a 组 SGC-7901 及 AGS 细胞中 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞比例均显著增加[(63.10±4.91)% vs (47.60±5.31)%],(69.80±3.15)% vs (54.60±4.22)%;均 P<0.05],但胃癌 SGC-7901 及 AGS 细胞的迁移能力并没有明显差异。**结论:**miR-29a 过表达可有效抑制胃癌 SGC-7901 及 AGS 细胞的增殖,miR-29a 有望成为治疗胃癌的新靶标。

**[关键词]** miRNA-29a;腺病毒;胃癌;增殖;细胞周期

**[中图分类号]** R735.2; R730.54

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2013)03-0312-05

## Adenovirus mediated over-expression of miRNA-29a inhibits proliferation of human gastric cancer cells

Liu Zhipeng<sup>1</sup>, Wang Zonghua<sup>2</sup>, Lu Bin<sup>3</sup>, Hu Chunyan<sup>3</sup>, Li Xuecheng<sup>1</sup>, Zou Liquan<sup>1</sup>, Zhang Fangzheng<sup>1</sup>, Chen Ling<sup>1</sup>(1. Department of Psychiatric, No. 324 Hospital of People's Liberation Army, Chongqing, 400020, China; 2. Department of Basic Nursing, School of Basic Nursing, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China; 3. Center of Cancer Biotherapy, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

**[Abstract]** **Objective:**To explore the inhibitory effect of miRNA-29a(miR-29a) on the proliferation of human gastric cancer cell lines SGC-7901 and AGS through over-expression of miR-29a mediated by the recombinant replication-deficient human adenovirus type 5 vector. **Methods:** The recombinant adenovirus Ad-miR-29a containing pre-miR-29a or control adenovirus Ad-LacZ containing LacZ gene was constructed and infected into human gastric cancer SGC-7901 and AGS cells, respectively. The expressions of miR-29a in SGC-7901 and AGS cells were detected by real-time PCR. CCK-8 assay was employed to examine the inhibitory effect of miR-29a on the proliferation of human gastric cancer cell lines. The flow cytometry assay was used to analyze cell cycle of SGC-7901 and AGS cells. The migration abilities of SGC-7901 and AGS cells were assessed by Transwell assay. **Results:** Compared with the Ad-LacZ group, the Ad-miR29a group expressed higher level of miR-29a in both SGC-7901 and AGS cells ([17.35±0.71] vs [1.12±0.09], [26.50±

**[基金项目]** 重庆市自然科学基金资助项目(No. CSTC, 2010BB5158, No. CSTC, 2011AC5024, No. CSTC, 2011jjA0878, No. CSTC, 2011jjA0882)。Project supported by the Natural Science Foundation of Chongqing (No. CSTC, 2010BB5158, No. CSTC, 2011AC5024, No. CSTC, 2011jjA0878, No. CSTC, 2011jjA0882)

**[作者简介]** 刘志鹏(1971-),男,重庆市人,硕士,副主任医师,主要从事消化道肿瘤防治基础和临床方面的研究。E-mail: liuzhipengcq@163.com

**[通信作者]** 陈陵(Chen Ling, corresponding author), E-mail: lingcong\_008@126.com

1.09] vs [0.95 ± 0.04],  $P < 0.01$ ). The proliferation of SGC-7901 and AGS was significantly inhibited in the Ad-miR29a group as compared with that in the Ad-LacZ group. Six days after Ad-miR29a infection, the  $D$  value was significantly decreased ([0.54 ± 0.03] vs [0.77 ± 0.04], [0.70 ± 0.03] vs [0.88 ± 0.04],  $P < 0.01$ ). The proliferation of cells in the Ad-LacZ group showed no significant changes as compared with that in the uninfected group ( $P > 0.05$ ). Meanwhile, The percentage of SGC-7901 or AGS cells arrested in G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> period in the Ad-miR29a group was significantly higher than that in the Ad-LacZ group ([63.10 ± 4.91]% vs [47.60 ± 5.31]%, [69.80 ± 3.15]% vs [54.60 ± 4.22]%,  $P < 0.05$ ). However, no significant changes were found in the migration ability of gastric cancer SGC-7901 and AGS cells. **Conclusion:** miR-29a can effectively suppress the proliferation of human gastric cancer cells, which makes a promising new therapeutic target for gastric cancer.

[ **Key words** ] miRNA-29a( miR-29a ); adenovirus; gastric cancer; proliferation; cell cycle

[ Chin J Cancer Biother, 2013, 20(3): 312-316 ]

胃癌是一种发病率和病死率均很高的消化系统常见癌症,其发生发展过程受到多种编码基因与非编码基因的调控。尽管过去的数十年中,胃癌的诊断和治疗技术有了很大的进展,但是其5年生存率仍然很低,因此,进一步了解及完善胃癌的发病机制对于胃癌的早期发现、诊断及治疗至关重要。miRNA是新近发现的一类非编码小分子RNA,通过与靶mRNA互补结合调控基因的表达。1993年Lee等<sup>[1]</sup>在线虫内发现特异性表达的miRNA-lin-4,揭开了研究miRNA的序幕。随后的研究<sup>[2-4]</sup>发现,miRNA广泛参与机体发育、细胞增殖、细胞凋亡等一系列生物学过程,甚至与肿瘤的发生、发展密切相关;某些miRNA表达与多种癌症相关,并且还起着抑癌基因及癌基因的作用。miRNA-29a(miR-29a)是新近发现的可能与肿瘤密切相关的miRNA分子,其在众多实体肿瘤如神经胶质瘤、肝细胞癌、肉瘤、脑肿瘤中均呈低表达,其作为抑癌miRNA通过抑制靶基因的表达,在肿瘤发生、发展及侵袭转移中发挥着至关重要的作用<sup>[5-7]</sup>。本课题组前期成功构建了负载人miR-29a的复制缺陷型腺病毒<sup>[8]</sup>,本研究在此基础上进一步探讨miR-29a在人胃癌细胞增殖中的作用,为阐明miR-29a参与胃癌发生、发展的具体机制及其在胃癌诊断及治疗中的作用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株及主要试剂

人胃癌SGC-7901细胞株及人胃癌AGS细胞株均购自中科院上海生命科学院细胞资源中心,培养于含有10%胎牛血清的DMEM高糖培养液中,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>的培养箱中培养。DMEM高糖细胞培养液购自Hyclone公司,胎牛血清购自TBD公司。TaKaRa RNAiso、逆转录试剂盒、SYBR Premix Ex

Taq试剂盒均购自TaKaRa公司,CCK-8检测试剂盒、细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒及溴化乙锭细胞周期检测试剂均购自碧云天公司,pre-miR-29a的反转录及real-time PCR引物套装购自广州锐博公司。Transwell细胞小室购自瑞士Millipore公司。

### 1.2 Ad-miR29a 腺病毒感染人胃癌 SGC-7901 及 AGS 细胞

取对数生长期的SGC-7901及AGS细胞接种于6孔细胞培养板中,设未感染组(加入PBS)、Ad-LacZ对照组(加入Ad-LacZ腺病毒)、Ad-miR29a实验组(加入Ad-miR29a腺病毒)。腺病毒感染步骤参照文献<sup>[8]</sup>进行,感染后48h收集各组细胞用于后续实验。

### 1.3 Real-time PCR 检测 miR-29a 在人胃癌细胞中的表达

以U6管家基因作内参,每个标本设3个复孔,按TaKaRa试剂操作手册,提取细胞总RNA,并测定总RNA浓度。取总RNA 100 ng为模板,按TaKaRa逆转录试剂盒说明书合成cDNA,并按SYBR Premix Ex Taq试剂盒说明书进行real-time PCR检测,在20 μl反应体系中加入SYBR Green PCR Master Mix 10 μl、上下游引物各0.5 μl(10 mol/L),cDNA 1 μl,ddH<sub>2</sub>O 8 μl,混匀。扩增条件为:94℃、3 min,94℃、30 s,60℃、30 s,72℃、40 s,共40个循环;72℃延伸3 min。采用2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup>法计算各组相对定量值。

### 1.4 CCK-8 法检测人胃癌细胞的增殖

感染腺病毒3d后收集细胞,以2.5 × 10<sup>3</sup>个/孔细胞接种于96孔板中,每组分别设1、2、3、4、5和6d组,每个时间点设置3个复孔;检测前每孔分别加入20 μl CCK-8试剂,避光37℃孵育2h,轻轻振荡后,酶标仪测定450 nm波长处光密度( $D$ )值,并比较第6天各组细胞 $D$ 值,观察miR-29a对胃癌细胞增殖的影响。

1.5 流式细胞术检测人胃癌细胞的细胞周期

感染腺病毒 3 d 后收集各组细胞, 制成单细胞悬液, 经 PBS 洗涤 3 次后, 以 -20 °C 70% 乙醇固定, 于 4 °C 冰箱过夜, 次日离心收集细胞, PBS 洗涤 1 次, 加入 PI 和无 DNA 酶污染的 RNA 酶, 避光孵育 30 min, 以流式细胞仪分析各组细胞的细胞周期。每组实验重复 3 次。

1.6 Transwell 法检测人胃癌细胞的迁移

感染腺病毒 3 d 后收集各组细胞, 用无血清的 DMEM 培养液制成单细胞悬液, 按  $1 \times 10^5$  个/ml 的细胞密度加 200  $\mu$ l 细胞悬液至 Transwell 上室中, 下室加入 800  $\mu$ l 的含 10% 血清的 DMEM 培养液, 37 °C 孵育 24 h 后, 酒精棉球拭去上室未迁移细胞, 经 95% 酒精固定后, 1% 结晶紫染色 3 min。采用显微镜观察细胞的迁移情况, 随机选取 4 个高倍 ( $\times 200$ ) 视野, 计数迁移细胞, 取平均值。实验重复 3 次。

1.7 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计软件, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用方差分析。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-29a 在人胃癌细胞株中的表达

人胃癌 SGC-7901 及 AGS 细胞经腺病毒感染 48 h 后, real-time PCR 检测结果(图 1)表明, 与 Ad-LacZ 对照组相比, Ad-miR29a 感染组 SGC-7901 及 AGS 细胞中 miR-29a 的表达均明显升高[ $(17.35 \pm 0.71)$  vs  $(1.12 \pm 0.09)$ ,  $(26.50 \pm 1.09)$  vs  $(0.95 \pm 0.036)$ ; 均  $P < 0.01$ ]。提示采用重组人 5 型复制缺陷型腺病毒 Ad-miR29a 感染人胃癌细胞株 SGC-7901 及 AGS 可显著提高细胞内 miR-29a 的表达。

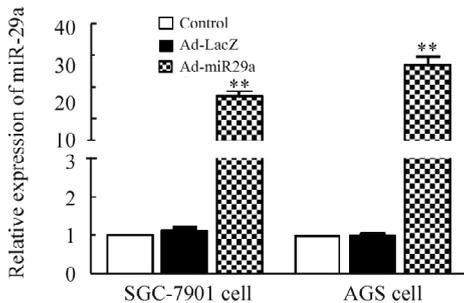


图 1 Real-time PCR 检测人胃癌

SGC-7901 及 AGS 细胞中 miR-29a 的表达

Fig. 1 Expression of miR-29a in human gastric cancer SGC-7901 and AGS cells detected by real-time PCR

\*\*  $P < 0.01$  vs Ad-LacZ group

2.2 Ad-miR29a 对胃癌细胞增殖的抑制作用

人胃癌 SGC-7901 及 AGS 细胞经感染腺病毒 3 d 后, 采用 CCK-8 法检测上调 miR-29a 的表达对胃癌细胞增殖的影响。结果(图 2)发现, 与 Ad-LacZ 对照组相比, Ad-miR29a 实验组 SGC-7901 及 AGS 细胞的增殖能力均显著降低; 于感染后第 6 天, Ad-miR29a 实验组 CCK-8 释放的 *D* 值均显著低于 Ad-LacZ 对照组[ $(0.54 \pm 0.03)$  vs  $(0.77 \pm 0.04)$ ,  $(0.70 \pm 0.03)$  vs  $(0.88 \pm 0.04)$ ; 均  $P < 0.01$ ], 而 Ad-LacZ 对照组与未感染组相比, 细胞增殖无明显变化( $P > 0.05$ )。结果表明, 上调 miR-29a 在人胃癌细胞株内的表达可显著抑制胃癌细胞的增殖。

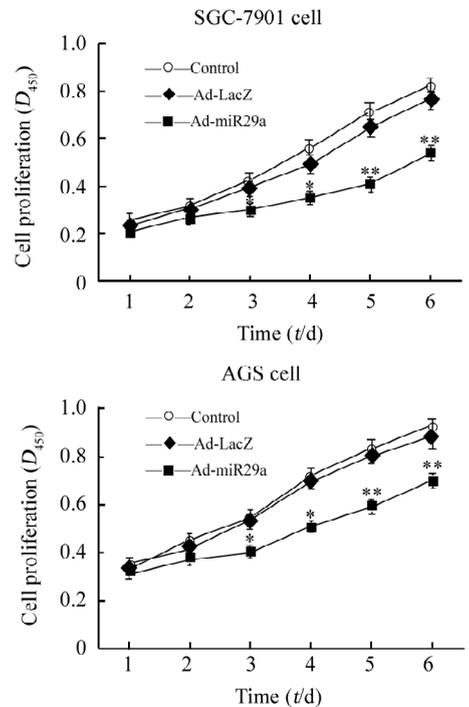


图 2 CCK-8 法检测 Ad-miR29a

对人胃癌细胞株增殖的影响

Fig. 2 Effect of miR-29a on proliferation of human gastric cancer cells detected by CCK-8 assay

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs Ad-LacZ group

2.3 腺病毒 Ad-miR29a 感染胃癌细胞后阻滞细胞于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期

人胃癌 SGC-7901 及 AGS 细胞经腺病毒感染后, 流式细胞术检测细胞周期情况, 结果(图 3)发现, 与 Ad-LacZ 对照组相比, Ad-miR29a 实验组 SGC-7901 细胞中 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞比例均明显增加[ $(63.10 \pm 4.91)\%$  vs  $(47.60 \pm 5.31)\%$ ,  $(69.80 \pm 3.15)\%$  vs  $(54.60 \pm 4.22)\%$ ;  $P < 0.05$ ], 而 Ad-LacZ 对照组与未感染组相比无明显差异

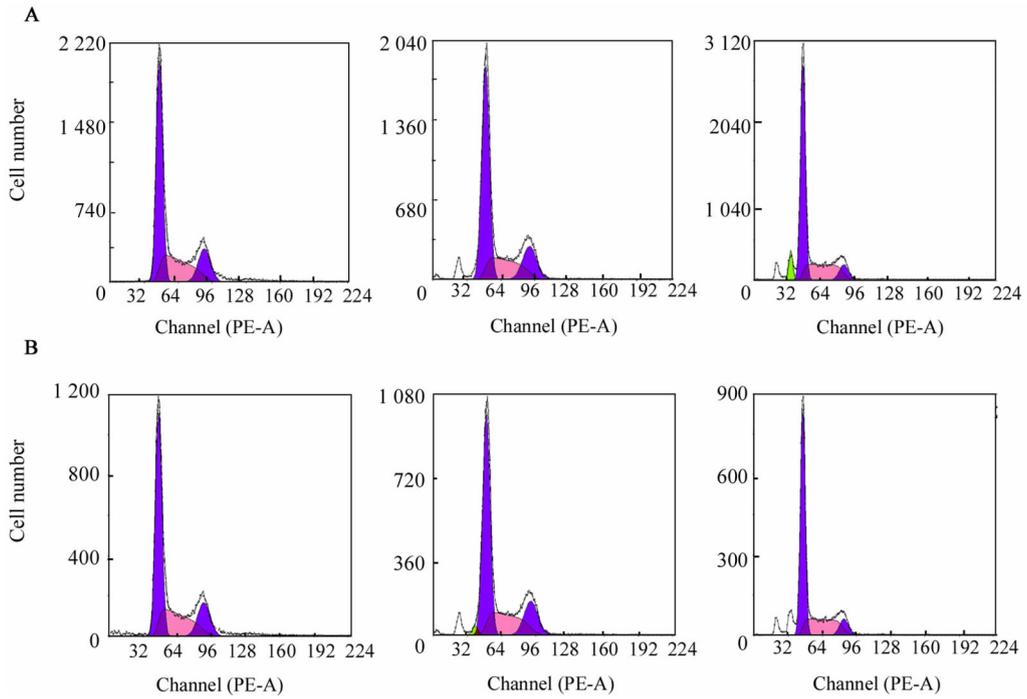


图3 Ad-miR29a 感染 SGC-7901 及 AGS 细胞后细胞周期阻滞于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期

Fig. 3 Cell cycles of SGC-7901 and AGS cells arrested at G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> phase after Ad-miR29a infection

A: SGC-7901 cell; B: AGS cell

( $P > 0.05$ )。结果提示,重组腺病毒 Ad-miR29a 感染上调 miR-29a 的表达可阻滞胃癌细胞于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期。

#### 2.4 腺病毒 Ad-miR29a 感染不影响胃癌细胞的迁移能力

为进一步检测 miR29a 是否影响胃癌的迁移能力,采用 Transwell 迁移实验检测了人胃癌 SGC-7901 及 AGS 细胞经重组腺病毒 Ad-miR29a 感染后的迁移情况,结果(图 4)表明,与 Ad-LacZ 对照组或未感染组相比,Ad-miR29a 实验组胃癌 SGC-7901 及 AGS 细胞迁移能力无明显差异 ( $P > 0.05$ ),提示 miR-29a 并不影响人胃癌细胞株 SGC-7901 及 AGS 的迁移能力。

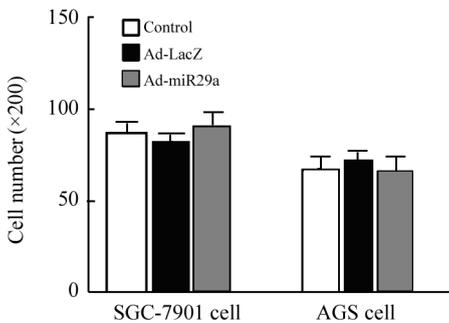


图4 miR29a 对人胃癌细胞的迁移能力并无影响

Fig. 4 miR29a had no effect on the migration ability of gastric cancer cells

### 3 讨论

研究显示,胃癌的发生发展、侵袭转移及血管生成等生物学行为和某些 miRNA 分子有着密切关系,其中 miR-29a 被认为是一种肿瘤抑制性 miRNA,已证实在多种实体瘤中呈现低表达状态<sup>[9-11]</sup>。目前认为 miR-29a 通过调节多种靶基因,如 *Mcl-1*、*B7-H3*、*CDK6* 及 *p53* 等与肿瘤关系密切的基因,从而参与肿瘤的发生、发展过程<sup>[5, 9-13]</sup>。新近研究<sup>[14]</sup>还发现,miR-29 家族可通过调控免疫功能而抑制多种肿瘤,有望成为肿瘤早期诊断指标及治疗靶位<sup>[15]</sup>。本课题组前期研究<sup>[16-19]</sup>发现,miR-29a 在胃癌患者血清中的表达丰度显著低于健康人血清,提示 miR-29a 在患者血清中的表达水平可作为胃癌早期诊断及预后判断的 miRNA 指标,但 miR-29a 在胃癌中的具体作用及其分子机制尚待进一步研究。重组人 5 型复制缺陷型腺病毒是肿瘤基因治疗的新型载体,由于其具有几乎 100% 的感染效率、可感染分裂和不分裂期细胞及原代细胞、并不整合到宿主细胞中等优点从而成为将外源基因及 siRNA 导入细胞的最为有效的载体<sup>[20-21]</sup>。

在前期成功包装并鉴定负载人 miR-29a 腺病毒的基础上,本研究通过 Ad-miR29a 腺病毒感染

人胃癌细胞株 SGC-7901 及 AGS, 观察 miR-29a 对人胃癌细胞增殖及细胞周期的影响。研究发现, Ad-miR29a 感染后 SGC-7901 及 AGS 细胞中 miR-29a 表达明显增强; 进一步 CCK-8 细胞增殖实验表明, miR-29a 过表达后的人胃癌细胞株 SGC-7901 及 AGS 增殖速度明显下降; 流式细胞仪对细胞周期分析结果发现, miR-29a 感染组 SGC-7901 及 AGS 细胞 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞比例明显增加, 证实上调 miR-29a 的表达可以阻滞胃癌 SGC-7901 及 AGS 细胞的细胞周期。但 miR-29a 并不影响胃癌细胞的迁移能力。

综上所述, miR-29a 作为新发现的抑癌 miRNA 分子, 不但可以作为胃癌诊断及预后的判断指标, 也可有效抑制胃癌 SGC-7901 和 AGS 细胞的生长, 可能成为胃癌的治疗靶标。本研究初步探讨了重组腺病毒 Ad-miR29a 感染人胃癌 SGC-7901 和 AGS 细胞的有效性及其在 SGC-7901 和 AGS 细胞增殖及细胞周期中的作用, 旨在为后续探讨 miR-29a 参与胃癌生物学行为的分子机制提供指导, 也为胃癌的分子靶向治疗提供新的思路。

## [ 参考文献 ]

- [ 1 ] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14* [ J ]. *Cell*, 1993, 75( 5 ): 843-854.
- [ 2 ] Petri A, Lindow M, Kauppinen S. MicroRNA silencing in primates: Towards development of novel therapeutics [ J ]. *Cancer Res*, 2009, 69( 2 ): 393-395.
- [ 3 ] Leidner RS, Li L, Thompson CL. Dampening enthusiasm for circulating microRNA in breast cancer [ J ]. *PLoS One*, 2013, 8( 3 ): e57841-e57851.
- [ 4 ] Yu HW, Sze DM, Cho WC. MicroRNAs involved in anti-tumour immunity [ J ]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14( 3 ): 5587-5607.
- [ 5 ] Xu H, Cheung IY, Guo HF, et al. MicroRNA miR-29 modulates expression of immunoinhibitory molecule B7-H3: Potential implications for immune based therapy of human solid tumors [ J ]. *Cancer Res*, 2009, 69( 15 ): 6275-6281.
- [ 6 ] Kwiecinski M, Elfimova N, Noetel A, et al. Expression of platelet-derived growth factor-C and insulin-like growth factor I in hepatic stellate cells is inhibited by miR-29 [ J ]. *Lab Invest*, 2012, 92( 7 ): 978-987.
- [ 7 ] Lee TY, Ezelle HJ, Venkataraman T, et al. Regulation of human RNase-L by the miR-29 family reveals a novel oncogenic role in chronic myelogenous leukemia [ J ]. *J Interferon Cytokine Res*, 2013, 33( 1 ): 34-42.
- [ 8 ] 高军, 范亚川, 王军, 等. 负载人 miR-29a 复制缺陷型腺病毒的包装及鉴定 [ J ]. *西南国防医药*, 2011, 10( 21 ): 1045-1048.
- [ 9 ] Mott JL, Kobayashi S, Bronk SF, et al. miR-29 regulates Mcl-1 protein expression and apoptosis [ J ]. *Oncogene*, 2007, 26( 42 ): 6133-6140.
- [ 10 ] Zhao JJ, Lin J, Lwin T, et al. MicroRNA expression profile and identification of miR-29 as a prognostic marker and pathogenetic factor by targeting CDK6 in mantle cell lymphoma [ J ]. *Blood*, 2010, 115( 13 ): 2630-2639.
- [ 11 ] Braconi C, Kogure T, Valeri N, et al. MicroRNA-29 can regulate expression of the long non-coding RNA gene MEG3 in hepatocellular cancer [ J ]. *Oncogene*, 2011, 30( 47 ): 4750-4756.
- [ 12 ] Fabbri M, Garzon R, Cimmino A, et al. MicroRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104( 40 ): 15805-15810.
- [ 13 ] Park SY, Lee JH, Ha M, et al. miR-29 miRNA activate p53 by targeting p85 alpha and CDC42 [ J ]. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, 16( 1 ): 23-29.
- [ 14 ] Schmitt MJ, Margue C, Behrmann I, et al. miRNA-29: A microRNA family with tumor-suppressing and immune-modulating properties [ J ]. *Curr Mol Med*, 2013, 13( 4 ): 572-585.
- [ 15 ] Zhu C, Wang Y, Kuai W, et al. Prognostic value of miR-29a expression in pediatric acute myeloid leukemia [ J ]. *Clin Biochem*, 2013, 46( 1/2 ): 49-53.
- [ 16 ] 陈陵, 王宗华, 李学成, 等. 胃癌组织中 miR-29 的表达及其临床意义 [ J ]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2011, 18( 3 ): 320-323.
- [ 17 ] 陈陵, 李学成, 李向红, 等. miR-29 在胃癌中的表达及其临床意义 [ J ]. *临床肿瘤学杂志*, 2011, 16( 4 ): 315-317.
- [ 18 ] 陈陵, 陈先华, 李学成, 等. miR-29 在胃癌患者血清中的表达及对预后的影响 [ J ]. *分子诊断与治疗杂志*, 2011, 3( 2 ): 17-20.
- [ 19 ] 覃志伟, 王宗华, 邹利全, 等. 负载人 miR-29 慢病毒的包装鉴定及对人胃癌细胞株增殖的影响 [ J ]. *中国肿瘤*, 2011, 20( 6 ): 453-456.
- [ 20 ] Jin H, Lv S, Yang J, et al. Use of microRNA Let-7 to control the replication specificity of oncolytic adenovirus in hepatocellular carcinoma cells [ J ]. *PLoS One*, 2011; 6( 7 ): e21307-e21316.
- [ 21 ] Laurent V, Glaise D, Nubel T, et al. Highly efficient siRNA and gene transfer into hepatocyte-like HepaRG cells and primary human hepatocytes: New means for drug metabolism and toxicity studies [ J ]. *Methods Mol Biol*, 2013, 987: 295-314.

[ 收稿日期 ] 2013 - 03 - 02

[ 修回日期 ] 2013 - 05 - 08

[ 本文编辑 ] 周玲琳