

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.02.011

· 基础研究 ·

siRNA 沉默 CDX2 基因联合化疗药物对白血病 K562 细胞增殖、凋亡的影响

孙维梅^a, 李建厂^a, 贾秀红^a, 李有杰^b, 唐慎华^a (滨州医学院 a. 附属医院 儿科; b. 山东省肿瘤分子生物学重点实验室, 山东烟台 264003)

[摘要] **目的:** 探讨 siRNA 靶向沉默 CDX2 基因联合长春新碱(vincristine, VCR)对白血病 K562 细胞增殖、凋亡的影响。**方法:** 设计靶向沉默 CDX2 基因表达的特异性 siRNA 序列 CDX2-siRNA-921 和相应的阴性对照序列 CDX2-siRNA-NC, 分别转染 K562 细胞, 同时设正常细胞组做对照。分别应用 Real-time PCR 和 Western blotting 法检测转染 CDX2-siRNA-921 对细胞内 CDX2、BCR-ABL mRNA 和蛋白表达的影响; siRNA 和 VCR 单独或联合作用于 K562 细胞后, 应用 MTT、流式细胞术分别检测细胞增殖抑制率、凋亡率的变化。**结果:** 与正常细胞组相比, CDX2-siRNA-921 能够显著降低目的基因 CDX2 和 BCR-ABL mRNA 与蛋白的表达(均 $P < 0.05$), 而 CDX2-siRNA-NC 组 CDX2 和 BCR-ABL mRNA 与蛋白表达量无明显变化; 与 VCR 组、CDX2-siRNA-NC 组和 VCR + CDX2-siRNA-NC 组相比, VCR + CDX2-siRNA-921 组细胞增殖抑制率降低, 凋亡率明显增加(均 $P < 0.05$)。**结论:** CDX2-siRNA-921 能显著降低 K562 细胞内 CDX2 mRNA 和蛋白的表达, 并能够下调 BCR-ABL 融合基因表达水平, 同时增强 VCR 对 K562 细胞增殖抑制、凋亡诱导作用。

[关键词] 小干扰 RNA; 白血病; CDX2; 长春新碱; BCR-ABL; 增殖; 凋亡

[中图分类号] R733.7; R730.59; R730.53 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2016)02-0218-05

Effect of siRNA silencing CDX2 gene combined with chemotherapy drugs on the proliferation and apoptosis of leukemia K562 cells

SUN Weimei^a, LI Jianchang^a, JIA Xiuhong^a, LI Youjie^b, TANG Shenhua^a (a. Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Binzhou Medical University; b. Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology of Shandong Province, Binzhou Medical University, Yantai 264003, Shandong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of siRNA targeted silencing CDX2 gene combined with vincristine (VCR) on the proliferation and apoptosis of leukemia K562 cells. **Methods:** Specific siRNA sequence targeted silencing CDX2 gene (CDX2-siRNA-921) and its negative control sequence (CDX2-siRNA-NC) were designed and transfected into K562 Cells respectively. At the same time, untransfected K562 cells were used as a control group. The effect of CDX2-siRNA-921 transfection on the expressions of CDX2, BCR-ABL mRNA and CDX2 protein was detected by Real-time PCR and Western blotting respectively. After action of siRNA and VCR alone or in combination, proliferation inhibition rate and apoptosis rate of the K562 cells were respectively detected by MTT and flow cytometry assays. **Results:** Compared with the control group, CDX2-siRNA-921 significantly decreased the expressions of targeting gene CDX2 and BCR-ABL mRNA, and CDX2 protein (all $P < 0.05$). But the expressions of CDX2 and BCR-ABL mRNA, and CDX2 protein in CDX2-siRNA-NC group had nonsignificant changes. Compared with CDX2-siRNA-NC, VCR and VCR + CDX2-siRNA-NC groups, the proliferation inhibition rate of the K562 cells significantly decreased and apoptosis rate of the cells significantly increased in VCR + CDX2-siRNA-921 group (all $P < 0.05$). **Conclusions:** CDX2-siRNA-921 could obviously decrease the expressions of mRNA and protein of CDX2 gene and down-regulate the expression of BCR-ABL fusion gene in the K562 cells, as well as enhance the effects of VCR on proliferation inhibition and inducing apoptosis of K562 cells.

[基金项目] 山东省医药卫生科技发展计划资助项目(No. 2014WS0183); 山东省自然科学基金资助项目(No. ZR2014HL032)。Projects supported by the Medical and Health Technology Development Program of Shandong Province(No. 2014WS0183), and the Project of Natural Science Foundation of Shandong Province(No. ZR2014HL032)

[作者简介] 孙维梅(1990-), 女, 山东省临沂市人, 硕士, 主要从事儿童急性白血病的诊断与治疗研究, E-mail: 13053567823@163.com

[通信作者] 李建厂(LI Jianchang, corresponding author), E-mail: lijianchang1111@163.com

[**Key words**] siRNA; leukemia; *CDX2*; vincristine(VCR); *BCR-ABL*; proliferation; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2016, 23(2): 218-222. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.02.011]

慢性粒细胞白血病(chronic myelocytic leukemia, CML)是一组以造血干细胞增殖过度、凋亡受阻、分化障碍为特征的疾病,由于该病存在特征性的 *BCR-ABL* 融合基因(*BCR*: breakpoint cluster region, *ABL*: proto-oncogene tyrosine-protein kinase),临床上对该病的治疗已经从常规的、不良反应较大的马利兰和羟基脲等药物发展为甲磺酸伊马替尼等基因靶向药物^[1],但随之产生的细胞耐药使治疗面临巨大挑战^[2,4]。因此,迫切需要探索基于其他机制的治疗方法。尾侧同源盒基因(caudal type homeobox transcription factor 2, *CDX2*)作为一种早期胚胎发育的调节因子,在生物的生长、发育过程中发挥着巨大的作用^[5];同时在造血系统的发育中是不可替代的,且在大多数的白血病细胞中过度表达,提示该基因与白血病的发生、发展关系密切。本研究通过 RNAi 技术沉默 *CDX2* 表达观察其对特征性 *BCR-ABL* 融合基因表达水平的影响,以及联合化疗药物后对白血病细胞增殖、凋亡的影响,为白血病的临床治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

白血病细胞株 K562(由滨州医学院生物化学与分子遗传学实验室提供),常规培养。胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司,PRIM 1640 购自美国 Hyclone 公司,X-tremeGENE HP DNA 转染试剂购自 Roche 公司,*CDX2* siRNA 及无关对照 siRNA(序列为 GTATGACAACAGCCTCAAG)由上海吉玛生物技术有限公司设计合成,细胞总 RNA 提取试剂、RNA 反转录试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒均购自日本 TaKaRa 公司,兔抗人 *CDX2* 单抗、GAPDH 单抗均购自北京博奥森生物技术有限公司,兔抗人 *BCR-ABL* 单抗购自 Abcam 公司,HRP 标记的山羊抗兔 IgG 购自杭州贤至生物科技有限公司,MTT 购自美国 Sigma 公司,Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒购自南京凯基公司。长春新碱(vincristine, VCR)购自浙江海正药业。

1.2 Real-time PCR 法检测 siRNA 转染后 K562 细胞内 *CDX2* mRNA 表达量的变化

取对数生长期 K562 细胞,以 5×10^5 个/孔接种于 6 孔板,分别转染 *CDX2*-siRNA-921、*CDX2*-siRNA-NC,同时设正常细胞组,每组 2 个复孔。按罗氏

X-tremeGENE HP DNA Transfection Reagent 说明书优化转染条件,按照最优转染条件转染 24 h 后收集细胞,TRIzol 法提取细胞总 RNA,按照 TaKaRa 逆转录试剂盒说明书取 1 μ g 总 RNA 反转录合成 cDNA,取 2 μ l 反应产物加入 20 μ l 反应体系中进行 Real-time PCR,检测 *CDX2*、*BCR-ABL* mRNA 表达量变化。*CDX2*(150 bp)上游引物:5'-GAACCTGTGCGAGTG-GATG-3',下游引物:5'-GGATGGTGATGTAGCGA-CTG-3';*BCR-ABL*(155 bp)上游引物:5'-CTTCTC-CCTGGCATCCGTGGA-3',下游引物:5'-TGCAAC-GAAAAGGTTGGGGT-3'; β -actin(268 bp)上游引物:5'-CTCCATCCTGGCCTCGCTGT-3',下游引物:5'-GCTGTACCTTCACCGTTCC-3'。两步法扩增目的 DNA,条件:95 $^{\circ}$ C、30 s 预变性;95 $^{\circ}$ C、5 s,60 $^{\circ}$ C、15 s,45 个循环。 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分析 mRNA 的表达。

1.3 Western blotting 法检测 siRNA 转染后 K562 细胞内 *CDX2* 蛋白表达量的变化

CDX2-siRNA-921、*CDX2*-siRNA-NC 和正常细胞组转染 48 h 后收集细胞,按照 RIPA: PMSF = 16: 1 配置蛋白裂解液,冰上裂解细胞,上清 95 $^{\circ}$ C 煮 10 min 后用 BCA 法测定蛋白浓度,每组各取 50 μ g 进行 SDS-PAGE 后转移蛋白至 PVDF 膜上,7% 脱脂奶粉室温封闭 2 h,加入兔抗人 *CDX2* 单抗(1: 500)、*BCR-ABL* 单抗(1: 1 000)、兔抗人 GAPDH 单抗(1: 1 000),4 $^{\circ}$ C 摇床过夜、清洗后加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG(1: 5 000),室温下反应 2 h,TBST 洗膜后经 ECL 发光显色系统显色拍照;以 GAPDH 为内参,经软件分析蛋白相对表达量。

1.4 MTT 法检测干扰 *CDX2* 表达对 K562 细胞增殖的影响

取对数生长期 K562 细胞以 0.8×10^4 个/孔接种于 96 孔板,实验分 6 组: 正常细胞组、*CDX2*-siRNA-921 组、*CDX2*-siRNA-NC 组、VCR 组、*CDX2*-siRNA-921 + VCR 组、*CDX2*-siRNA-NC + VCR 组,每组设 6 个复孔。转染相应 siRNA,24 h 后加入终浓度为 27 μ g/ μ l 的 VCR,各组细胞培养 48 h 后,每孔加入 20 μ l 5 mg/ml MTT,继续孵育 4 h 后 4 $^{\circ}$ C 下避光离心,弃上清,每孔加入 150 μ l DMSO,避光震荡 5 min,检测 490 nm 处各孔光密度(*D*)值,计算细胞增殖抑制率。细胞增殖抑制率(IR, %) = (正常细胞组 *D* 值 - 实验组 *D* 值) / 正常细胞组 *D* 值 $\times$ 100%。实验重复 3 次。

1.5 流式细胞术检测干扰 *CDX2* 表达对 K562 细胞凋亡的影响

正常细胞组、*CDX2*-siRNA-921 组、*CDX2*-siRNA-NC 组、VCR 组、*CDX2*-siRNA-921 + VCR 组、*CDX2*-siRNA-NC + VCR 组, 每组设 2 个复孔, 转染 24 h 后加入 VCR, 24 h 后收集细胞, 冷 PBS 洗 2 次, 加入 500 μ l 结合缓冲液重悬细胞, 加入 5 μ l Annexin V-FITC 混匀, 加入 5 μ l PI 混匀后避光反应 15 min, 1 h 内上流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间两两比较用 *LSD-t* 检验, 多组间比较采用 One-way ANOVA 分析, 多个均数间两两比较采用 *q* 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *CDX2*-siRNA-921 转染下调 K562 细胞中 *CDX2* mRNA 的表达

Real-time PCR 检测结果显示, 与正常细胞组相比, *CDX2*-siRNA-921 组 *CDX2*、*BCR-ABL* mRNA 表达量明显降低 (0.40 ± 0.07 vs 1.00 ± 0.15 , 0.30 ± 0.08 vs 1.03 ± 0.28 ; 均 $P < 0.05$), 转染阴性序列 *CDX2*-siRNA-NC 组 *CDX2*、*BCR-ABL* mRNA 表达量均无明显变化 (0.99 ± 0.23 vs 1.00 ± 0.15 , 0.78 ± 0.01 ; 均 $P > 0.05$)。

2.2 *CDX2*-siRNA-921 转染下调 K562 细胞中 *CDX2* 蛋白的表达

Western blotting 检测结果(图 1)显示, 与正常细胞组和 *CDX2*-siRNA-NC 组相比, 转染 *CDX2*-siRNA-921 组 *CDX2* 蛋白表达量分别下降了 47.7% 和 40.7%, *BCR-ABL* 融合蛋白表达量分别下降了 47.9% 和 45.5%, 差别均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.3 *CDX2*-siRNA-921 转染与 VCR 协同抑制 K562 细胞增殖

MTT 法检测结果(图 2)显示, 转染 *CDX2*-siRNA-921 组细胞增殖抑制率明显高于正常细胞组和转染阴性序列组 ($P < 0.05$); VCR 联合 *CDX2* RNAi 技术能够明显抑制细胞增殖, 其细胞增殖抑制率明显高于 VCR 组和 *CDX2*-siRNA-921 组 (均 $P < 0.05$)。

2.4 *CDX2*-siRNA-921 联合 VCR 促进 K562 细胞凋亡

流式细胞术检测结果(图 3)显示, VCR + *CDX2*-siRNA-921 组细胞凋亡率明显高于 *CDX2*-siRNA-921 组和 VCR 组 ($P < 0.05$), 而 VCR 组与 *CDX2*-siRNA-NC + VCR 组比较细胞凋亡率无明显差别。

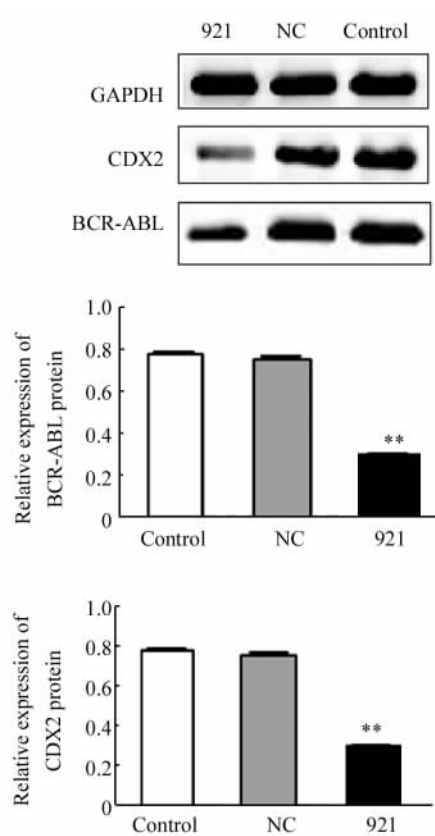


图 1 转染 *CDX2*-siRNA-921 降低 K562 细胞中 *CDX2*、*BCR-ABL* 蛋白表达

Fig. 1 Expression levels of *CDX2* and *BCR-ABL* proteins in K562 cells were inhibited by *CDX2*-siRNA-921 transfection

921: *CDX2*-siRNA-921

** $P < 0.01$ vs Control or NC group

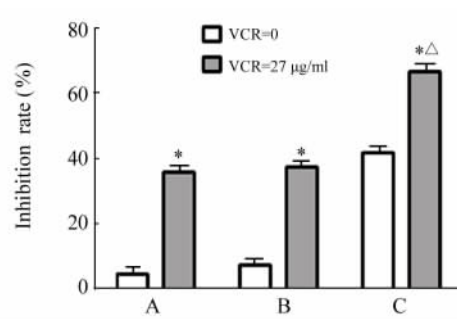


图 2 各实验组细胞增殖抑制率比较

Fig. 2 Comparison of inhibition rate of proliferation of every group

A: K562 cells which were untransfected as a normal control group; B: K562 cells transfected with the *CDX2*-siRNA-NC as a negative control group; C: K562 cells which were transfected with the *CDX2*-siRNA-921 as an experimental group

* $P < 0.05$ vs 0 μ g/ml VCR group; [△] $P < 0.05$ vs A or B group

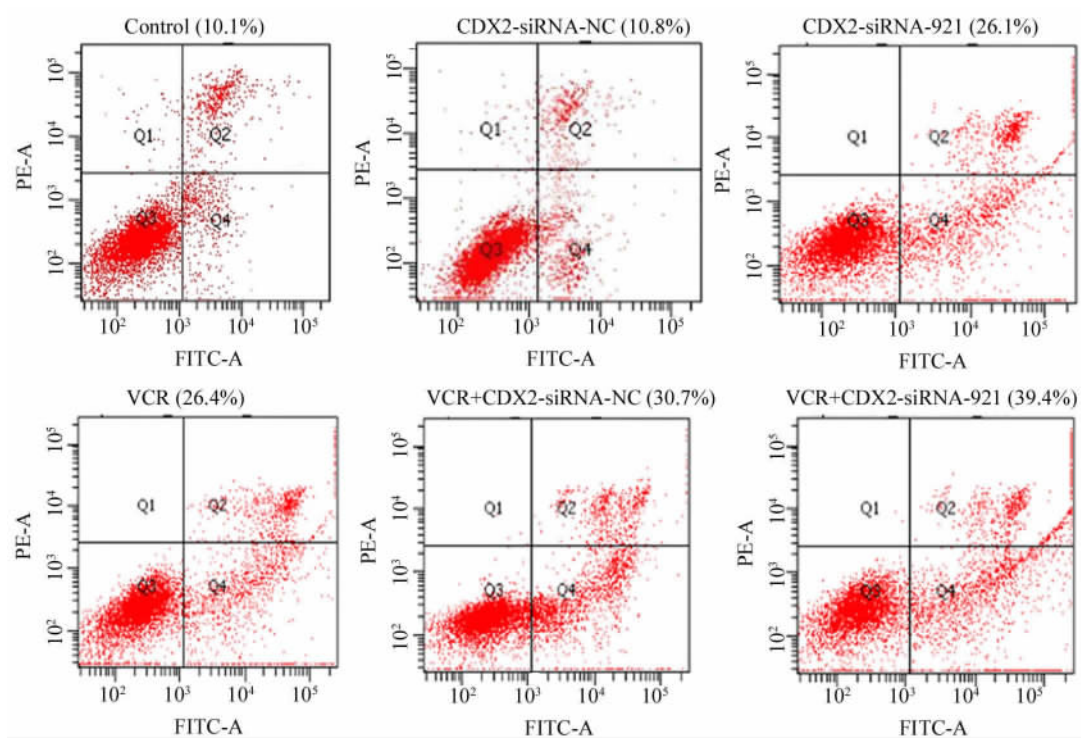


图3 VCR 联合 CDX2-siRNA-921 转染促进 K562 细胞凋亡
Fig.3 Apoptosis of K562 cells were promoted by the treatment
of VCR combined with CDX2-siRNA-921 transfection

3 讨论

CDX2 基因表达水平与肠道肿瘤密切相关,被认为是肠道肿瘤的抑癌基因,研究^[6]证实该基因的异常表达能够促进胃癌发生。关于 *CDX2* 在造血系统发育及血液系统疾病发生、发展过程中的作用的研究越来越多,已经证实其在绝大多数白血病细胞中异常激活,提示其能够促进造血细胞向恶性转化^[7-8]。由此可见,*CDX2* 基因在不同细胞背景下功能不同^[9-10]。关于 *CDX2* 在造血系统过表达导致血液系统肿瘤发生的机制尚不十分明确,Scholl 等^[11]通过大量实验研究证实该基因异常表达会导致细胞增殖失控、凋亡受阻;黎国伟等^[12]、王东宁等^[13]则证实,沉默该基因表达可使细胞增殖减弱、凋亡增加。本研究发现,*CDX2*-siRNA 能够显著降低 *CDX2* mRNA 和蛋白表达,而转染阴性序列组 *CDX2* mRNA 和蛋白表达量无明显变化,提示本课题设计合成的 *CDX2*-siRNA 在 RNA 和蛋白水平均能够有效沉默目的基因表达,可用于后期实验。

BCR-ABL 融合基因是慢性髓系白血病细胞的遗传学标志,表达 BCR-ABL 蛋白是 CML 恶性转化

的关键性蛋白,与 ABL 蛋白酪氨酸激酶相比具有更强的激酶活性,能够激活体内多种与细胞恶性转化相关的信号通路,导致细胞增殖失控、凋亡受阻^[14-16]。本研究中,沉默 *CDX2* 基因后 *BCR-ABL* mRNA 和蛋白表达量明显降低,转染阴性对照序列组则无明显变化,可以认为沉默 *CDX2* 表达能够下调 *BCR-ABL* 融合基因表达。

VCR 是以抑制微管聚集、阻断纺锤体形成和诱导细胞凋亡的抗肿瘤药物^[17]。在前期实验的基础上,本研究将 RNAi 技术与化疗药物 VCR 联合作用于 K562 细胞,探讨二者联合作用时对白血病细胞增殖、凋亡的影响,为白血病的治疗寻找新的思路。本研究发现,与正常细胞组和 VCR 单独作用组相比,转染 *CDX2*-siRNA 和 VCR 联合作用组细胞增殖减弱、凋亡明显增加,提示干扰 *CDX2* 联合 VCR 能够显著抑制细胞增殖、促进细胞凋亡,可以认为 *CDX2* 表达沉默后,K562 细胞对化疗药物的敏感性增加。

关于 RNAi 技术沉默 *CDX2* 表达后与化疗药物联合作用抑制细胞增殖、促进细胞凋亡的作用机制尚在研究中。一方面,已经有研究证实,应用 RNAi 技术沉默 *BCR-ABL* 融合基因表达后能够明显抑制

白血病细胞增殖,并促进其凋亡^[18]。本研究中,沉默 *CDX2* 基因表达后,同样检测到 *BCR-ABL* 表达水平降低。另一方面,研究^[19]发现在胃癌细胞中 *CDX2* 沉默表达会导致 *PTEN*、*Caspase-3* 等细胞凋亡因子表达明显上调;而 Cappellini 和 Sherbakova 等^[20-21]分别发现 *Caspase-3*、*PTEN* 基因过表达可抑制细胞内药物外排,进而增加肿瘤对化疗药物的敏感性。基于上述结果,可以认为 RNA 干扰技术沉默 *CDX2* 表达与 VCR 联合作用导致细胞增殖减弱、凋亡增加,一方面是由于 *CDX2* 基因沉默下调 *BCR-ABL* 融合基因表达,另一方是通过增加 *Caspase-3*、*PTEN* 的表达,使 VCR 泵出细胞减少,从而提高人白血病细胞 K562 对 VCR 的敏感性。

综上所述,本研究成功构建有效沉默白血病 K562 细胞 *CDX2* 表达的 siRNA,与化疗药物 VCR 联合作用时能够明显抑制细胞增殖、促进细胞凋亡,提示沉默 *CDX2* 表达一方面能够下调 *BCR-ABL* 融合基因表达水平导致细胞凋亡增加,另一方面能够提高 K562 细胞对 VCR 的敏感性,二者联合作用有望为白血病治疗提供新的靶点和治疗思路。

【参考文献】

- [1] 裴卫斌. 慢性粒细胞白血病治疗进展 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(29): 11-12. DOI: 10.3969/j.issn.1671-3141.2015.29.007.
- [2] BISEN A, CLAXTON D F. Tyrosine kinase targeted treatment of chronic myelogenous leukemia and other myeloproliferative neoplasms [J]. Adv Exp Med Biol, 2013, 779: 179-196. DOI: 10.1007/978-1-4614-6176-0_8.
- [3] 李育敏, 朱雪姣, 谷景义, 等. siRNA 沉默 *RALA* 基因影响人白血病 K562 细胞增殖和凋亡 [J]. 中国病理生理杂志, 2012, 28(4): 625-630. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2012.04.009.
- [4] JABBOUR E, KANTARJIAN H. Chronic myeloid leukemia: 2014 update on diagnosis, monitoring, and management [J]. Am J Hematol, 2014, 89(5): 547-556. DOI: 10.1002/ajh.23691.
- [5] 王巍, 孟灿, 刘佳, 等. 急性髓系白血病 *CDX2* 和 β -catenin 基因表达的相关性 [J]. 南方医科大学学报, 2015, 35(5): 728-732. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4254.2015.05.21.
- [6] XIAO Z Y, RU Y, SUN J T, et al. Expression of *CDX2* and villin in gastric cardiac intestinal metaplasia and the relation with gastric cardiac carcinogenesis [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2012, 13(1): 247-250. DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.1.247.
- [7] Lengerke C, Daley G Q. Caudal genes in blood development and leukemia [J]. Ann N Y Acad Sci, 2012, 1266: 47-54. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2012.06625.x.
- [8] 孟灿, 杨志刚, 王巍. *CDX2* 基因与造血生成及急性白血病发生的关系 [J]. 广东医学院学报, 2014, 32(5): 694-696. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4057.2014.05.034.
- [9] RENOUEF B, SORET C, SAANDI T, et al. *CDX2* homeoprotein inhibits non-homologous end joining in colon cancer but not in leukemia cells [J]. Nucleic Acids Res, 2012, 40(8): 3456-3469. DOI: 10.1093/nar/gkr1242.
- [10] FABER K, BULLINGER L, RAGU C, et al. *CDX2*-driven leukemogenesis involves *KLF4* repression and deregulated *PPAR γ* signaling [J]. J Clin Invest, 2013, 123(1): 299-314. DOI: 10.1172/JCI64745.
- [11] SCHOLL C, BANSAL D, DÖHNER K, et al. The homeobox gene *CDX2* is aberrantly expressed in most cases of acute myeloid leukemia and promotes leukemogenesis [J]. J Clin Invest, 2007, 117(4): 1037-1048. DOI: 10.1172/JCI30182.
- [12] 黎国伟, 王东宁, 叶玉蝶, 等. 急性髓细胞白血病 *CDX2* 基因表达及临床意义的探讨 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2009, 16(16): 1253-1255. DOI: 10.16073/j.cnki.cjept.2009.16.013.
- [13] 王东宁, 黎国伟, 叶玉蝶, 等. RNAi 沉默 *CDX2* 基因对急性髓细胞白血病细胞增殖影响的实验研究 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2010, 17(22): 1811-1814. DOI: 10.16073/j.cnki.cjept.2010.22.005.
- [14] 平娟, 赵娜, 王保全, 等. 人慢性粒细胞白血病 *bcn-abl* 基因反义寡核苷酸对 K562 细胞株的凋亡诱导作用研究 [J]. 中国癌症杂志, 2015, 25(3): 167-172. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2015.03.002.
- [15] 罗咏梅, 郑筠. 慢性粒细胞白血病临床治疗药物选择 [J]. 中国药房, 2014, 25(34): 3239-3243. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.34.24.
- [16] 吴莺, 陈瑞家, 吴丽贤, 等. 姜黄素衍生物 C085 对 K562 细胞的作用及机制研究 [J]. 中国药理学通报, 2015, 31(6): 870-875. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2015.06.026.
- [17] 朱大诚, 陈秀珍, 何莲花. 长春新碱诱导的白血病多耐药细胞株 CEM/VCR 的建立及其生物学特性 [J]. 中国现代医学杂志, 2014(7), 24(20): 10-15.
- [18] 王灿蔚, 陶崑, 齐杰玉, 等. RNAi 干扰 *Shp2* 基因对 K562 细胞增殖的抑制效应 [J]. 中国细胞生物学学报, 2014, 36(1): 75-80. DOI: 10.11844/cjcb.2014.01.0281.
- [19] WANG X T, XIE Y B, XIAO Q. siRNA targeting of *Cdx2* inhibits growth of human gastric cancer MGC-803 cells [J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(16): 1903-1914. DOI: 10.3748/wjg.v18.i16.1903.
- [20] CAPPELLINI A, CHIARINI F, OGNIBENE A, et al. The cyclin-dependent kinase inhibitor roscovitine and the nucleoside analog sangivamycin induce apoptosis in caspase -3 deficient breast cancer cells independent of caspase mediated P-glycoprotein cleavage: implications for therapy of drug resistant breast cancers [J]. Cell Cycle, 2009, 8(9): 1421-1425.
- [21] SHERBAKOVA E A, STROMSKAIA T P, RYBALKINA EIU, et al. Role of *PTEN* protein in multidrug resistance of prostate cancer cells [J]. Mol Biol (Mosk), 2008, 42(3): 487-493.

【收稿日期】 2015-11-02

【修回日期】 2016-02-25

【本文编辑】 黄静怡