

## 同型半胱氨酸对肝细胞增殖及 CyclinD1、ALT 和 AST 表达的影响\*

蔡欣<sup>1</sup>, 杨晓玲<sup>2,3</sup>, 杨程<sup>1</sup>, 曹成建<sup>1</sup>, 王磊<sup>1</sup>, 田珏<sup>2,3</sup>, 张焱<sup>4</sup>, 姜怡邓<sup>2,3,Δ</sup>  
(宁夏医科大学: 1. 检验学院; 2. 基础学院病理生理教研室; 3. 心血管疾病基础  
研究重点实验室; 4. 科技中心, 宁夏银川 750004)

**摘要:**目的 探讨同型半胱氨酸(Hcy)对肝细胞增殖及细胞周期素 D1(CyclinD1)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)表达的影响。方法 将 HL-7702 细胞体外常规培养, 分别用 0、50、100、200、500 μmol/L Hcy 刺激细胞, 分别于刺激后 6、12、24 h 采用 MTT 法检测肝细胞的增殖情况; 采用荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 CyclinD1 mRNA 的表达; 采用微板法检测各组细胞培养液中 ALT 和 AST 的变化。结果 不同浓度 Hcy 刺激肝细胞不同时间后, 细胞的增殖受到抑制, 其中 100、200、500 μmol/L Hcy 组与对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ ), 24 h 作用最明显; 不同浓度 Hcy 刺激肝细胞 24 h 后, CyclinD1 mRNA 的表达显著下降( $P < 0.01$ ), 细胞培养液中 ALT 和 AST 水平显著升高( $P < 0.01$ )。结论 Hcy 可以抑制肝细胞增殖, 并引起 CyclinD1 的 mRNA 表达下降, ALT 和 AST 释放增多。

**关键词:**肝细胞; 细胞增殖; 同型半胱氨酸; 细胞周期素 D1; 丙氨酸转氨酶; 天冬氨酸氨基转移酶

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.12.020

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)12-1468-03

## Effect of homocysteine on proliferation and expression of CyclinD1, ALT and AST in hepatic cells\*

Cai Xin<sup>1</sup>, Yang Xiaoling<sup>2,3</sup>, Yang Cheng<sup>1</sup>, Cao Chengjian<sup>1</sup>, Wang Lei<sup>1</sup>, Tian Jue<sup>2,3</sup>, Zhang Yan<sup>4</sup>, Jiang Yideng<sup>2,3,Δ</sup>  
(Ningxia Medical University: 1. Laboratory Medical College; 2. Teaching and Research Section of  
Pathophysiology, College of Basic Medicine; 3. Basic Research Key Laboratory of  
Cardiovascular Disease; 4. Technology Center, Yinchuan, Ningxia 750004, China)

**Abstract:** Objective To explore the effects of homocysteine(Hcy) on the proliferation of hepatic cells and the expression of CyclinD1, ALT and AST. Methods HL-7702 hepatic cells were routinely cultured in vitro and irritated with Hcy at a concentration of 0, 50, 100, 200, 500 μmol/L, respectively. The proliferation of hepatic cells was measured by MTT at 6, 12, 24h after irritation. The expression of CyclinD1 mRNA was detected by quantitative reverse transcription polymerase chain reaction(RT-qPCR). The changes of ALT and AST in the cells culture medium of each group were determined by the microplate method. Results The proliferation of hepatic cells was inhibited by different concentrations of Hcy, in which the proliferation rates irritated by Hcy at the concentrations of 100, 200, 500 μmol/L were lower than that in control group with statistical difference( $P < 0.01$ ), and the effect was most markedly at 24h after irritation( $P < 0.01$ ); compared with the control group, when hepatic cells were irritated by Hcy at the concentrations of 100, 200, 500 μmol/L for 24h, the mRNA expression of CyclinD1 was decreased( $P < 0.01$ ), meanwhile the levels of ALT and AST were significantly increased( $P < 0.01$ ). Conclusion Hcy can inhibit the proliferation of hepatic cells, cause the decrease of CyclinD1 mRNA expression and result in the increase of ALT and AST release.

**Key words:** hepatocytes; cells proliferation; homocysteine; CyclinD1; alanine transaminase; aspartate aminotransferases

同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)作为动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)的独立危险因素<sup>[1-2]</sup>, 其致 AS 的机制有脂代谢紊乱、平滑肌细胞增殖、炎性反应等, 其中脂代谢紊乱是重要环节<sup>[3]</sup>。Hcy 属于氨基酸类物质, 不直接参与脂代谢, 因此 Hcy 如何能引起脂代谢紊乱, 值得进一步研究。肝脏是机体脂质代谢的主要场所, 肝细胞是肝脏的基本组成单位, 当肝细胞数量减少或功能损伤时, 就会引起肝脏脂质代谢紊乱及脂质在体内堆积<sup>[4]</sup>, 进而导致高脂血症, 促进 AS 的发生、发展<sup>[5]</sup>。体内 Hcy 的代谢主要在肝脏进行<sup>[6]</sup>, 但 Hcy 对肝细胞数量和功能的影响目前研究尚不明确。本研究拟用不同浓度 Hcy 刺激肝细胞, 分析 Hcy 对肝细胞增殖及细胞周期素 D1(CyclinD1)、ALT 和 AST 的影响。

## 1 材料与与方法

**1.1 材料** 主要仪器: CO<sub>2</sub> 培养箱(HF90, Heal Force); 倒置显微镜(Nikon 公司); 高速低温离心机(Heraeus 公司); 酶标仪

(Model680, Bio-Rad)。试剂: 1640 培养基、胎牛血清(Gibco, 美国); 青霉素-链霉素溶液(碧云天, 江苏); PBS 缓冲液、胰蛋白酶(吉诺, 杭州); 同型半胱氨酸、二甲基亚砜(DMSO)(Sigma, 德国); MTT(凯基, 南京); RNA 提取试剂 Trizol(Invitrogen, 美国); 逆转录试剂盒、SYBR 实时定量 PCR(RT-qPCR) Master Mix(全式金, 北京); 丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)试剂盒(建成生物, 南京)。

## 1.2 方法

**1.2.1 肝细胞的培养及分组** 人肝细胞株 HL-7702 购于中南大学湘雅细胞库, 肝细胞用含 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基培养, 置于 37 ℃、含 5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中。当细胞密度达到 80% 时, 将细胞随机分为 5 组, 分别用含 0、50、100、200、500 μmol/L Hcy 的培养液刺激细胞, 其中 0 μmol/L Hcy 组为对照组, 将各组细胞置 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h 后收集细胞, 用于后续指标的检测。

**1.2.2 MTT 检测** 常规培养人肝细胞至细胞密度达到 80% 时,用 0.25% 胰蛋白酶消化细胞 1 min,然后加入含 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基重悬,以 50  $\mu$ L/孔的细胞重悬液接种于 96 孔板中,在 37  $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h,吸出各孔内的培养液,换成含 0、50、100、200、500  $\mu$ mol/L Hcy 的培养液继续培养,分别于 6、12、24 h 后,加入 50  $\mu$ L MTT 工作液,置于培养箱中 4 h,然后小心吸出上清液,每孔加入 150  $\mu$ L DMSO,震荡 10 min 使结晶充分溶解,用酶标仪在 490 nm 处检测各孔的光密度(OD)。细胞增殖率(%)=(加药细胞 OD/对照细胞 OD) $\times$ 100%。

**1.2.3 RT-qPCR 检测** 用 Trizol 提取各组细胞的总 RNA,核酸分析仪分析纯度后,选取 260 nm 和 280nm OD 值之比(OD260/OD280)为 1.7~1.9 的 RNA 用于实验。根据公布的 CyclinD1(GenBank No. 49457150)序列用 Premier 5.0 设计引物,上游:5'-GTC GCT GGA GCC CGT GAA-3',下游:5'-CGG ATG GAG TTG TCG GTG TAG-3',扩增产物长度为 132 bp。GAPDH 上游:5'-AGA AGG CTG GGG CTC ATT TG-3',下游:5'-AGG GGC CAT CCA CAG TCT TC-3',扩增产物长度为 146 bp。按逆转录试剂盒说明书合成 cDNA 并取产物 3  $\mu$ L,在 PCR 管内加入 SYBR RT-qPCR Master Mix 12.5  $\mu$ L,上、下游引物各 0.5  $\mu$ L,加去离子水使整个反应体系为 25  $\mu$ L,设定 PCR 的条件:94  $^{\circ}$ C 预变性 5 min,94  $^{\circ}$ C 变性 30 s,56  $^{\circ}$ C 退火 30 s,72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s,扩增 40 个循环。根据公式计算结果:目的基因的相对量=2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup>,Ct 为热循环仪检测到反应体系中荧光信号的强度值, $\Delta\Delta$ Ct=[Ct(待测样品)-Ct GAPDH(待测样品)]-[Ct(校正样品)-Ct GAPDH(校正样品)]。校正样品是任何被选做代表 1 倍目的基因表达量的样品。

**1.2.4 细胞培养液 ALT 和 AST 水平的检测** 将细胞分为对照组及 50、100、200、500  $\mu$ mol/L Hcy 组,置 37  $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h 后收集各组细胞培养液,按试剂盒说明书要求,先将基质液置 37  $^{\circ}$ C 预温,加入待测样本后反复吹打混匀,37  $^{\circ}$ C 水浴 30 min,然后分别加入 2,4-二硝基苯胍液和 0.4 mol/L 氢氧化钠溶液,轻轻水平摇动 96 孔板混匀,室温放置 15 min,使用酶标仪在 510 nm 处检测每孔的 OD 值(绝对 OD 值=测定孔 OD 值-对照孔 OD 值),根据标准曲线,计算 ALT/AST 活力单位。

**1.3 统计学处理** 采用 Prism5.0 统计软件进行分析,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,两样本均数间比较采用 Student's *t* 检验,多样本均数间比较采用 One-way ANOVA 检验,组间两两比较采用 Student-Newman-Keuls 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 Hcy 各浓度在不同时间对肝细胞增殖的影响** 不同浓度的 Hcy 刺激肝细胞后,肝细胞的增殖均受到抑制,且随着 Hcy 浓度的增加,肝细胞增殖率降低,其中 100、200、500  $\mu$ mol/L Hcy 组肝细胞的增殖率与对照组比较显著下降(*P*<0.01),见表 1。Hcy 作用肝细胞 6、12、24 h 后,细胞的增殖受到抑制,其中 24 h 组肝细胞的增殖率显著下降,与 6、12 h 相应组比较差异有统计学意义(*P*<0.01)。

**2.2 细胞增殖相关基因 CyclinD1 mRNA 的变化** CyclinD1 mRNA 检测的结果和 MTT 结果基本一致。与对照组比较,各 Hcy 组 CyclinD1 表达随 Hcy 浓度的增加而降低,50  $\mu$ mol/L Hcy 组 CyclinD1 mRNA 水平为对照组的 71.51%(*P*<0.05);

100、200、500  $\mu$ mol/L Hcy 组 CyclinD1 mRNA 水平分别为对照组的 50.33%、41.33%、29.97%,差异有统计学意义(*P*<0.01),见图 1、2。

表 1 各组肝细胞增殖率比较( $\bar{x}\pm s, n=5, \%$ )

组别	6 h	12 h	24 h
对照组	1.18 $\pm$ 0.08	1.75 $\pm$ 0.04	1.77 $\pm$ 0.03
50 $\mu$ mol/L Hcy 组	1.78 $\pm$ 0.05	1.73 $\pm$ 0.04	1.71 $\pm$ 0.03
100 $\mu$ mol/L Hcy 组	1.43 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	1.36 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	1.09 $\pm$ 0.04 <sup>acd</sup>
500 $\mu$ mol/L Hcy 组	1.09 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	1.03 $\pm$ 0.08 <sup>ab</sup>	0.64 $\pm$ 0.02 <sup>acd</sup>

<sup>a</sup>:*P*<0.01,与对照组比较;<sup>b</sup>:*P*<0.05;<sup>c</sup>:*P*<0.01,与同组 6 h 比较;<sup>d</sup>:*P*<0.05,与同组 12 h 比较。

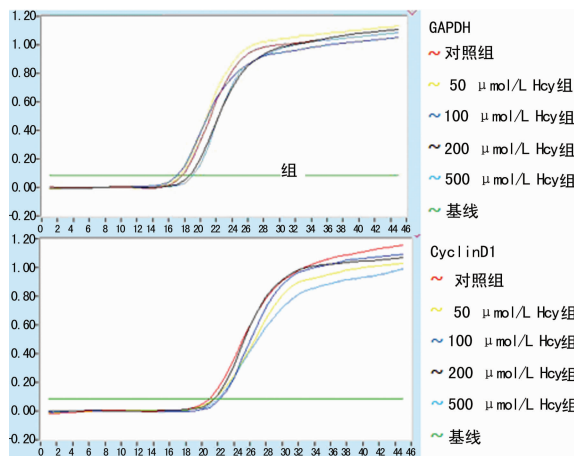
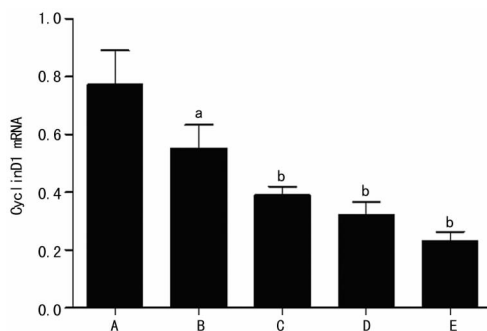
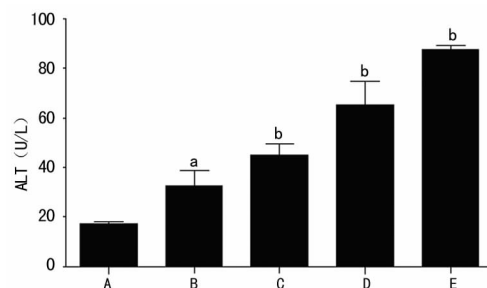


图 1 各组肝细胞 CyclinD1mRNA 表达的扩增曲线



A:对照组;B:50  $\mu$ mol/L Hcy 组;C:100  $\mu$ mol/L Hcy 组;D:200  $\mu$ mol/L Hcy 组;E:500  $\mu$ mol/L Hcy 组;<sup>a</sup>:*P*<0.05,<sup>b</sup>:*P*<0.01,与对照组比较。

图 2 各组肝细胞 CyclinD1mRNA 表达比较

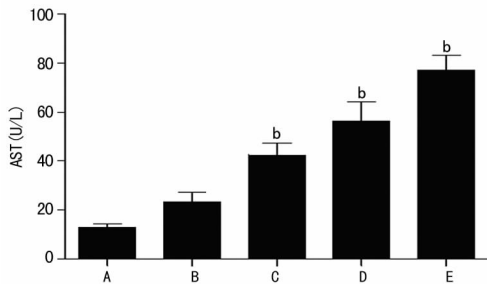


A:对照组;B:50  $\mu$ mol/L Hcy 组;C:100  $\mu$ mol/L Hcy 组;D:200  $\mu$ mol/L Hcy 组;E:500  $\mu$ mol/L Hcy 组;<sup>a</sup>:*P*<0.05,<sup>b</sup>:*P*<0.01,与对照组比较。

图 3 各组肝细胞培养液中的 ALT 水平比较

**2.3 细胞培养液 ALT 和 AST 水平的检测** 与对照组比较,各 Hcy 组 ALT 和 AST 水平随 Hcy 浓度的增加而增加,50

$\mu\text{mol/L}$  Hcy 组的肝细胞上清液中 ALT 水平为对照组的 1.90 倍 ( $P < 0.05$ ); 100、200、500  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 刺激后, ALT 水平分别是对照组的 2.61、3.80、5.10 倍, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。AST 水平在 100、200、500  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组也分别是对照组的 3.28、4.36、5.97 倍, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 见图 3、4。



A: 对照组; B: 50  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组; C: 100  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组; D: 200  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组; E: 500  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组; <sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , <sup>b</sup>:  $P < 0.01$ , 与对照组比较。

图 4 各组肝细胞培养液中的 AST 水平比较

### 3 讨 论

肝脏是全身脂代谢最重要的器官,也是合成和降解 Hcy 的主要部位,当肝细胞受损时,会引起脂质代谢紊乱和 Hcy 在体内聚积,进而导致高脂血症和高 Hcy 血症,促进 AS 的发生、发展。研究发现,Hcy 与多种肝脏疾病密切相关,Hcy 可诱导肝脏氧化应激,促进炎症细胞浸润并降低大鼠肝脏糖原/糖蛋白水平<sup>[7]</sup>,在非酒精性脂肪肝疾病 (NAFLD) 患者血浆中 Hcy 水平较正常人显著升高,推测 Hcy 可能通过影响肝脏功能引起 AS。肝细胞是肝脏最基本的结构和功能单位,当肝细胞受到各种因素刺激或损伤后致其细胞数量减少时,可进一步引起肝细胞功能降低。Xagorari 等<sup>[8]</sup>证实急性肝损伤后细胞数量明显下降,肝脏可出现凋亡;有研究报道肝癌病程进展中肝细胞的存活率显著下降<sup>[9-10]</sup>。

本实验结果显示,50  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 对肝细胞增殖没有明显抑制作用,而 100、200、500  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 在体外能显著抑制肝细胞的增殖,使肝细胞数量减少。由于高浓度的 Hcy 具有细胞毒性,可以导致细胞凋亡<sup>[11]</sup>,因此在本研究中,当 Hcy 浓度超过 50  $\mu\text{mol/L}$  后,所测得细胞增殖率下降的原因除了与细胞增殖受到抑制有关,也有可能是高浓度 Hcy 诱导了细胞凋亡所致,为了尽量降低 Hcy 的细胞毒性对实验结果的影响,本研究在能引起肝细胞增殖率明显下降的 Hcy 浓度中挑选最小剂量,即 100  $\mu\text{mol/L}$  用于后续实验研究。Hcy 作用肝细胞 24 h 后,肝细胞的增殖率明显降低,与 6、12 h 比较,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。因此,可以将 100  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 作用 HL-7702 细胞 24 h 用于 Hcy 对肝细胞影响的研究,这为后续进一步分析 Hcy 对肝细胞结构和功能的作用奠定了基础。

CyclinD1 基因由染色体 11q13 上 CCND1 基因编码,是 Cyclins 家族成员之一,属细胞周期正调控因子。CyclinD1 促使细胞从 G 期顺利进入 S 期,使细胞发生分裂和增殖<sup>[12]</sup>,其表达受到抑制时会造成细胞增殖率的下降。CyclinD1 与肝脏疾病的发生、发展密切相关,李启炯等<sup>[13]</sup>研究证实,CyclinD1 在肝细胞癌中表达升高,是肝细胞肝癌预后的独立危险因素。本实验结果显示,随着 Hcy 浓度增加,100、200、500  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组 CyclinD1 mRNA 水平逐渐下降,与肝细胞的增殖率变化趋势一致。本研究结果进一步提示,不同浓度 Hcy 引起细胞增

殖率的下降可能与抑制细胞增殖有关,但不能排除细胞凋亡在其中也起一定作用。

目前,临床常用于判断肝脏疾病诊断与预后的血清学指标主要包括 ALT 和 AST<sup>[14]</sup>。ALT 和 AST 作为肝细胞功能损害最敏感最常用的检测指标,主要存在于肝细胞的细胞质内,当肝细胞受损时就会释放入血,导致血清中的 ALT 和 AST 水平大幅度上升。本实验结果显示,100、200、500  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组细胞培养液中 ALT 和 AST 水平明显升高,表明 Hcy 能够损伤肝细胞使其功能降低,提示 Hcy 对肝细胞增殖率的影响可能会进一步导致肝细胞功能的下降。

综上所述,Hcy 可抑制肝细胞增殖,同时引起 CyclinD1 的 mRNA 表达下降以及肝细胞功能的降低。肝细胞凋亡是否在其中起一定作用有待进一步研究。本研究结果为进一步揭示 Hcy 促进 AS 的机制提供了新思路。

### 参考文献:

- [1] Castro R, Rivera I, Blom HJ, et al. Homocysteine metabolism, hyperhomocystenemia and vascular disease: an overview[J]. *J Inher Metab Dis*, 2006, 29(1): 3-20.
- [2] 薛莉, 陈树兰, 贾绍斌, 等. 同型半胱氨酸与冠心病的相关性及其机制探讨[J]. *中华心血管病杂志*, 2002, 30(9): 520-524.
- [3] Jiang Y, Zhang H, Sun T, et al. The comprehensive effects of hyperlipidemia and hyperhomocystenemia on pathogenesis of atherosclerosis and DNA hypomethylation in ApoE<sup>-/-</sup> mice[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2012, 44(10): 866-875.
- [4] Park O, Wang H, Weng H, et al. In vivo consequences of liver-specific interleukin-22 expression: implications for human liver disease progression[J]. *Hepatology*, 2011, 54(1): 252-261.
- [5] 李薇, 杜军保. 动脉粥样硬化发病机制研究进展[J]. *实用儿科临床杂志*, 2009, 24(1): 520-524.
- [6] Medici V, Peerson JM, Stabler SP, et al. Impaired homocysteine transsulfuration is an indicator of alcoholic liver disease[J]. *J Hepatol*, 2010, 53(3): 551-557.
- [7] Matté C, Stefanello FM, Mackedanz V, et al. Homocysteine induces oxidative stress, inflammatory infiltration, fibrosis and reduces glycogen/glycoprotein content in liver of rats[J]. *Int J Dev Neurosci*, 2009, 27(4): 337-344.
- [8] Xagorari A, Siotou E, Yiangou M, et al. Protective effect of mesenchymal stem cell-conditioned medium on hepatic cell apoptosis after acute liver injury[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(5): 831-840.
- [9] Tao GZ, Lehwald N, Jang KY, et al. Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling Protects Mouse Liver against Oxidative Stress-induced Apoptosis through the Inhibition of Forkhead Transcription Factor FoxO3[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(24): 17214-17224.
- [10] Zhao J, Han SX, Ma JL, et al. The role of CDK1 in apoptosis-induced apoptosis in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Oncol Rep*, 2013, 30(1): 253-259.
- [11] Wang X, Cui L, Joseph J, et al. (下转第 1473 页)

Survivin 是一种凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis proteins, IAP),Survivin 基因是由国外学者 Ambrosini 等<sup>[7]</sup>在 1997 年的效应细胞蛋白酶受体-1cDNA 实验中从人类基因中筛选分离出来的。有研究表明,Survivin 在正常细胞中并不表达,而在肿瘤患者的肿瘤细胞内却呈现高表达<sup>[8]</sup>。此外,Survivin 还与肿瘤治疗后的复发和转移有关<sup>[9]</sup>。因此,Survivin 作为癌细胞特异性表达的一种凋亡抑制蛋白,其基因极有可能是肿瘤基因治疗中的一个最为理想的靶点。

本研究选取人胃癌 SGC-7901 细胞株和食管癌 EC109 细胞株,采用 RNAi 技术,将 siRNA 分子导入肿瘤细胞中,构建 siRNA-Survivin 表达载体,通过转染、筛选和鉴定得到稳定的细胞克隆体。同时采用 MTT 法进行细胞生长特性的检测,发现了 siRNA-Survivin 转染的胃癌 SGC-7901 细胞株和食管癌 EC109 细胞株体外培养增殖细胞数量明显下降,同时发现细胞株对化疗药物 DDP 的敏感度明显升高。其原因可能与 Survivin 对细胞的凋亡和分裂具有双重的调控作用有关<sup>[10]</sup>。Survivin 在正常情况下只在细胞周期 G<sub>2</sub>-M 期表达<sup>[11]</sup>。在有丝分裂过程中,Survivin 与纺锤体的微管蛋白进行特异性的结合,维持有丝分裂的正常运作<sup>[12]</sup>。Survivin 在细胞周期 G<sub>2</sub>-M 期可对抗异常因素引起的细胞凋亡,而在肿瘤细胞中,Survivin 的高表达则可使细胞克服这个凋亡调控点而完成异常的有丝分裂<sup>[13]</sup>。干扰 Survivin 与纺锤体的微管蛋白特异性结合后可使其抗凋亡的功能丧失,同时增加半胱氨酸蛋白酶的活性,从而导致细胞的 G<sub>2</sub>-M 期凋亡,细胞分裂异常同时伴有倍体细胞形成<sup>[14-15]</sup>。因此,诱导细胞凋亡是 RNAi 消化系统肿瘤细胞 Survivin 基因后抑制肿瘤细胞生长的重要机制。

综上所述,采用 RNAi 基因沉默技术可以干扰 Survivin 基因表达,抑制肿瘤细胞的增殖,同时显著提高肿瘤对化疗的敏感性。

#### 参考文献:

- [1] 边中启,刘霜,刘明秋,等. 靶向 preC/C 基因特异性 RNA 干扰对乙型肝炎病毒在肝癌细胞系中复制与表达的影响[J]. 中华医学杂志,2012,92(11):768-772.
- [2] Li C,Rossomando A,Wu SL,et al. Comparability analysis of anti-CD20 commercial(rituximab) and RNAi-mediated fucosylated antibodies by two LC-MS approaches [J]. MAbs,2013,5(4):565-575.
- [3] 李增军,宋宝,刘杰,等. 沉默高迁移族蛋白 B1 基因抑制胃癌 MGC-803 细胞的侵袭转移[J]. 中华肿瘤杂志,2013,35(4):244-248.
- [4] Vengut-Climent E,Terrazas M,Lucas R,et al. Synthesis, RNAi activity and nuclease-resistant properties of apolar carbohydrates siRNA conjugates[J]. Bioorg Med Chem Lett,2013,23(14):4048-4051.
- [5] 李建成,张和平,刘迪,等. 表皮生长因子受体 siRNA 对食管鳞癌细胞的放射增敏研究[J]. 中华放射医学与防护杂志,2013,33(1):23-26.
- [6] 姚伟,李凯,徐挺,等. 慢病毒介导的 shRNA 靶向干扰  $\beta$ -catenin 神经母细胞瘤稳定细胞株的建立[J]. 中华小儿外科杂志,2013,34(4):290-294.
- [7] Ambrosini G,Adida C,Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene,Survivin,expressed in cancer and lymphoma[J]. Nat Med,1997,3(8):917-921.
- [8] 朱新华,廖兵,王心悦,等. 趋化因子受体 3 RNA 干扰慢病毒载体的构建及对嗜酸粒细胞作用的初步研究[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2013,48(4):316-321.
- [9] 杨祝,张刚庆,高鹏,等. 慢病毒介导小干扰 RNA 沉默人结肠癌 HT-29 细胞芳香烃受体核转位蛋白基因的研究[J]. 中华实验外科杂志,2013,30(3):448-451.
- [10] Kunze D,Erdmann K,Froehner M,et al. Enhanced inhibition of bladder cancer cell growth by simultaneous knock-down of antiapoptotic Bcl-xL and survivin in combination with chemotherapy[J]. Int J Mol Sci,2013,14(6):12297-12312.
- [11] 盛文文,陆娜娜,尹玉,等. Survivin 基因对大肠癌细胞 HT29 生物学行为的影响[J]. 临床与实验病理学杂志,2013,29(4):378-381.
- [12] Sarti M,Pinton S,Limoni C,et al. Differential expression of testin and survivin in breast cancer subtypes[J]. Oncol Rep,2013,30(2):824-832.
- [13] Portanova P,Notaro A,Pellerito O,et al. Notch inhibition restores TRAIL-mediated apoptosis via API1-dependent upregulation of DR4 and DR5 TRAIL receptors in MDA-MB-231 breast cancer cells[J]. Int J Oncol,2013,43(1):121-130.
- [14] Turksma AW,Bontkes HJ,Ruizendaal JJ,et al. Exploring dendritic cell based vaccines targeting survivin for the treatment of head and neck cancer patients[J]. J Transl Med,2013,20(11):152.
- [15] Li C,Ye H. Mifepristone sensitizing cisplatin for cervical adenocarcinoma HeLa cell sensitivity to chemotherapy and its mechanism[J]. Eur J Gynaecol Oncol,2013,34(2):142-147.

(收稿日期:2013-10-11 修回日期:2013-12-01)

(上接第 1470 页)

Homocysteine induces cardiomyocyte dysfunction and apoptosis through p38 MAPK-mediated increase in oxidant stress[J]. J Mol Cell Cardiol,2012,52(3):753-760.

[12] 王前,邓晶,蒋永新,等. CyclinD1 的研究进展[J]. 现代肿瘤医学,2009,17(2):350-353.

[13] 李启炯,宋军民,陆敏,等. CyclinD1 在肝细胞癌中的表达与肝细胞癌患者预后的关系[J]. 中华临床医师杂志:电

子版,2012,6(2):355-360.

[14] Park O,Wang H,Weng H,et al. In vivo consequences of liver-specific interleukin-22 expression: implications for human liver disease progression[J]. Hepatology,2011,54(1):252-261.

(收稿日期:2013-11-18 修回日期:2013-12-26)