

siRNA 沉默 PTTG 表达对子宫内膜癌细胞生长及放疗敏感性的影响

张曙萱^{1,2},袁丽萍²,刘永利²,孙丽洲^{1*}

(¹南京医科大学第一附属医院妇产科,江苏 南京 210029;²徐州市第一人民医院妇产科,江苏 徐州 221002)

[摘要] 目的:观察垂体瘤转化基因(pituitary tumor transforming gene, PTTG)小干扰 RNA (small interference RNA, siRNA) 干扰对子宫内膜癌细胞 HEC-1A 的生长及放疗敏感性的影响。方法:构建 PTTG 干扰载体(pSilencer3.0-H1-PTTG-siRNA),利用脂质体将其转染至 HEC-1A 细胞,Western blot 检测 PTTG 蛋白表达水平,筛选干扰效果最强的序列。另用 2Gy X 线作用于转染 PTTGsiRNA 的 HEC-1A 细胞,同时设不予任何处理的对照组、只转染 PTTGsiRNA 的处理组、只用 X 线处理的放疗组。MTT 检测细胞生长状况,流式细胞仪检测细胞凋亡。结果:成功构建了靶向抑制 PTTG 基因的 siRNA 干扰载体。MTT 实验结果显示,与对照组相比,放疗组、PTTGsiRNA 转染组、PTTGsiRNA 联合放疗组细胞增殖抑制率分别为 (31.39 ± 5.62)%、(38.37 ± 5.48)%、(54.65 ± 6.27)%。流式细胞仪检测显示细胞凋亡率在对照组、放疗组、PTTGsiRNA 转染组、PTTGsiRNA 转染联合放疗组中分别为(6.53 ± 0.80)%、(32.72 ± 4.56)%、(38.96 ± 4.37)%、(64.76 ± 6.53)%。PTTGsiRNA 转染组或放疗组与对照组比较,细胞凋亡率及细胞增殖抑制率差异均有统计学意义 ($P < 0.01$),而 PTTGsiRNA 转染联合放疗组的凋亡率及细胞增殖抑制率较 PTTGsiRNA 转染组或放疗组明显增高,组间比较差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。结论:成功构建了靶向抑制 PTTG 基因的 siRNA 干扰载体,PTTG siRNA 可抑制子宫内膜癌细胞 HEC-1A 的增殖,诱导其凋亡,增强其对放疗的敏感性。

[关键词] siRNA;子宫内膜癌;垂体瘤转化基因;放疗敏感性

[中图分类号] R737.33

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-4368(2012)11-1527-06

Effects of silencing PTTG expression by small interference RNA on proliferation and radiotherapeutic sensitivity of endometrial carcinoma

ZHANG Shu-xuan^{1,2}, YUAN Li-ping², LIU Yong-li², SUN Li-zhou^{1*}

(¹Department of Obstetrics and Gynecology, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 221029; ²Department of Obstetrics and Gynecology, the First People's Hospital of Xuzhou, Xuzhou 221002, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of silence PTTG expression by small interference RNA (siRNA) on proliferation and radiotherapeutic sensitivity of endometrial carcinoma cells (HEC-1A). **Methods:** Vectors pSilencer3.0-H1-PTTG-SiRNA were constructed to transcribe functional siRNA specially targeting PTTG. The interfering plasmids were used to transfect HEC-1A cells with lipofectmine 2000 transfection reagent. PTTG protein expression levels were analyzed by Western blot method. The HEC-1A cells were treated with PTTG siRNA, radiotherapy and PTTG siRNA combined with radiotherapy, and cells without transfection were as control. MTT assay was used to detected cell proliferation, and the apoptosis of HEC-1A cells was evaluated by flow cytometry. **Results:** Recombinant siRNA expression vector targeting PTTG was constructed. The result of MTT showed that the growth of HEC-1A cells was influenced after PTTGsiRNA transfection, radiotherapy and PTTGsiRNA transfection combined with radiotherapy. Inhibitory rate of radiotherapy group, PTTGsiRNA group and PTTGsiRNA combined with radiotherapy group were (31.39 ± 5.62)%, (38.37 ± 4.48)%, (54.65 ± 6.27)%, respectively. The apoptosis rate at 48 h of control group, radiotherapy group, PTTGsiRNA group, PTTGsiRNA combined with radiotherapy group were (6.53 ± 0.80)%, (32.72 ± 4.56)%, (38.96 ± 4.37)%, (64.76 ± 6.53)%, respectively, by the flow cytometry analysis. There were significant differences between control group and PTTGsiRNA group or radiotherapy group, and there were significant differences between PTTGsiRNA combined with radiotherapeutic group and PTTGsiRNA group or radiotherapy group. **Conclusion:** The siRNA expression vector targeting PTTG was successfully constructed. PTTG RNA interference may inhibit the cell proliferation and induce apoptosis in endometrial carcinoma cells, which can upregulate radiotherapeutic sensitivity of HEC-1A cells.

[基金项目] 国家自然科学基金(81070511)

*通讯作者, E-mail: Lizhou_sun121@hotmail.com

[Key words] siRNA; endometrial carcinoma; pituitary tumor transforming gene; radiotherapeutic sensitivity

[Acta Univ Med Nanjing, 2012, 32(11): 1527-1532]

近年来子宫内膜癌的发病率明显上升,其治疗以手术切除为主,放疗是不可缺少的辅助治疗手段,但其复发率仍较高。寻找有效的治疗方法对于治疗子宫内膜癌有着重要意义。目前,恶性肿瘤的基因治疗成为国际研究的热点。子宫内膜癌的发生是多基因多步骤的过程,新近发现的垂体瘤转化基因(pituitary tumor transforming gene, PTTG)在许多肿瘤中高表达,是一种原癌基因。已有资料证实,PTTG在子宫内膜癌组织中有表达^[1-3]。本研究构建并筛选干扰效果最强的 PTTG 小干扰 RNA (small interference RNA, siRNA) 表达载体,运用此载体联合放射线作用于子宫内膜癌 HEC-1A 细胞,探讨 PTTG RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 对子宫内膜癌细胞生长增殖以及对其放疗敏感性的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

子宫内膜癌 HEC-1A 细胞株 (上海细胞生物研究所), 干扰质粒 pSilencer3.0-H1 (武汉晶赛生物工程技术有限公司), TRIzol 试剂、*Bam*H I、*Hind* III、*Sal* I 内切酶、*Taq* DNA 聚合酶、T4 DNA 连接酶、lipofectamine 2000 转染试剂、鼠抗人 PTTG 单克隆抗体 (美国 Santa Cruz 公司)。MTT、DMSO、Annexin V-PI (北京中山生物工程公司), 新鲜小牛血清、低熔点琼脂糖、细胞裂解液、DMEM 细胞培养基、胰蛋白酶 (武汉博士德生物工程公司)。

1.2 方法

1.2.1 PTTGsiRNA 的设计

根据 GenBank PTTG 基因的 cDNA 序列 (NM_004129), 参考 siRNA 设计原则, 利用日本 TaKaRa 公司在线设计软件, 并根据载体 pSilencer3.0-H1 说明书, 设计 3 条干扰序列和阴性对照, 软件确定与其他非相关基因无同源性。序列由上海特美斯特生物工程公司合成。氯化钙法制备大肠杆菌 DH5a 感受态细胞冻存于 -70℃ 备用。序列设计为发夹结构, 中间茎环序列为 TTCAA-GAGA, 3 个序列如下: ① PTTG siRNA-1 正义链: 5'-GATCCACAAAGAAGACTAGACAGAAATTC AAGAGATTCTGTCTAGTTCTTTGTTTTTTGGAAA-3', 反义链: 5'-AGCTTTTCCAAAAAACAAGAAGACTAGAC-

AGAAATCTCTTGAATTTCTGTCTAGTTCTTTGTG-3'。② PTTGsiRNA-2 正义链: 5'-GATCCGCAAAGATCTGGAGGAGCATTCAAGAGATGCTCCTCCAGATCTTTGCTTTTTTGGAAA-3', 反义链: 5'-AGCTTTTCCAAAAAAGCAAAGATCTGGAGGAGCATCTCTTGAATGCTCCTCCAGATCTTTGCG-3'。③ PTTGsiRNA-3 正义链: 5'-GATCCGATAATGAGTGGAGAAA-GATTCAAGAGATCTTTCTCCACTCATTATCTTTTTTTGGAAA-3', 反义链: 5'-AGCTTTTCCAAAAAAGATAATGAGTGGAGAAAAGATCTCTTGAATCTTTCTCCACTCATTATCG-3'。④ 阴性对照 NC 正义链: 5'-GATCCGACTTCATAAGGCGCATGCTTCAAGAGAGCATGCATGCGCCTTATGCTTTTTTTGGAAA-3', 反义链: 5'-AGCTTTTCCAAAAAAGCATAAGGCGCATGCATGCTCTTTGAAGCATGCGCCTTATGAAGTCG-3'。

1.2.2 siRNA 表达载体的构建

将上述每对要退火的 2 条片段分别取 10 μl 与退火缓冲液混合, 94℃ 水浴加热 4 min, 然后缓慢冷却至室温使其变性生成双链。退火 DNA 寡核苷酸模板链的终浓度为 100 μmol/L。用 *Bam*H I 和 *Hind* III 双酶切空载体 pSilencer3.0-H1, 将退火片段与经酶切后的载体按摩尔比 3:1 的比例进行连接反应。抗生素筛选, 挑选阳性克隆, 测序鉴定, 得到的重组质粒分别命名为: PTTGsiRNA-1、PTTGsiRNA-2、PTTGsiRNA-3、阴性对照 NC。

1.2.3 转染效率的测定

将 HEC-1A 细胞分别铺于覆有盖玻片的 6 孔板内, 接种密度为 5×10^5 个/孔。24 h 后换液, 用脂质体 Lipofectamine 2000 转染含有绿色荧光蛋白 (enhancement green fluorescent protein, EGFP) 的 pSilencer3.0-H1 载体及相应质粒。转染 6 h 后换为含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基, 转染后 48 h 收集细胞用荧光显微镜测定转染效率。

1.2.4 质粒的转染

细胞分组为: 空白对照组 (未转染的 HEC-1A 细胞组)、PTTGsiRNA-1 组、PTTGsiRNA-2 组、PTTGsiRNA-3 组、NC (阴性 siRNA 序列) 组。使用 lipofectamine 2000 作为转染试剂进行瞬时转染。转染前 1 d, 将 HEC-1A 细胞按 1×10^5 个/孔接种于细胞培养板中。次日细胞密度达到 70%~90% 融合时进行转染。

每孔加 2 μg 质粒+100 μl 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲溶液 (PBS)+8 μg lipofectamine 2000 混匀, 室温放置 10~15 min。吸弃细胞上清液, 按每孔加 100 μl lipofectamine 2000 与质粒的复合物, 以及 900 μl 完全培养基)。继续培养, 用于检测。

1.2.5 Western blot 检测 PTTG 蛋白表达水平

收集空白对照组及各组转染 24、48、72 h 后的 HEC-1A 细胞, 用冰冷 PBS 洗 3 次, 加入细胞裂解液提取蛋白, 用蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。取样品用 SDS-PAGE 分离, 然后将蛋白转移至 PVDF 膜上, 再用 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h, 加入一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 用 TBST 洗涤 3 次, 每次 5 min, 加入二抗, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 1 h, 用 TBST 洗涤 3 次, 每次 5 min。在化学发光仪上显色, 结果用灰度扫描仪分析并计算灰度值。以目的条带与内参照条带 β -actin 的比值代表目的蛋白的表达水平。实验重复 3 次。

1.2.6 MTT 法检测 PTTGsiRNA 对 HEC-1A 细胞增殖活性的影响

用筛选出的干扰效果最好的质粒转染 HEC-1A 细胞, HEC-1A 细胞以含 10% 小牛血清的 DMEM 细胞培养基 (青霉素和链霉素各 100 U/ml)、5% CO_2 的培养箱中 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养。细胞培养至对数生长期, 以 1×10^5 个/孔铺 96 孔板, Lipofectamine 2000 作为转染试剂进行瞬时转染。细胞分为 4 组。空白对照组 (不予任何处理); 放疗组: 细胞采用医用直线加速器的 6MV X 射线照射, 剂量为 2Gy, 剂量率为 100 Mu/min, 照射野为 10 cm \times 10 cm, 等中心照射; PTTGsiRNA 转染组: 加入 0.2 mg PTTGsiRNA; PTTGsiRNA 转染 + 放疗组: 加入 0.2 mg PTTGsiRNA 后给予 2Gy X 射线。每组设 6 个复孔。

37 $^{\circ}\text{C}$ 培养细胞, 处理 48 h 测定细胞吸光度值。测定前每孔每 100 ml 培养基加入 10 ml 5 mg/ml MTT 溶液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱内继续孵育 4 h 后。终止培

养, 吸弃孔内培养上清液, 每孔加 150 μl DMSO, 振荡 10 min, 在 570 nm 测定吸光度值并进行计算。细胞生长抑制率 (%) = (对照组吸光度值 - 实验组吸光度值) / 对照组吸光度值 \times 100%。

1.2.7 流式细胞仪检测 HEC-1A 细胞凋亡

细胞分组及培养同上。采用 Annexin V 与 PI 双染检测细胞凋亡, 方法如下: 用 PBS 洗涤细胞 2 次 (1 600 r/min, 离心 5 min), 收集 1×10^4 个细胞, 制成细胞悬液, 每组 3 管, 每管 1 ml; 加入 500 μl 的 Binding Buffer 悬浮细胞; 加入 5 μl Annexin V 混匀后, 加入 5 μl PI 混匀; 室温、避光反应 5~15 min; 流式细胞仪检测。

1.3 统计学方法

数据用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用 SPSS10.0 统计软件对数据进行分析, 对于两组数据比较选用成组 *t* 检验, 两组以上数据选用方差分析, 两两比较采用 SNK-*q* 检验, $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 重组质粒测序鉴定

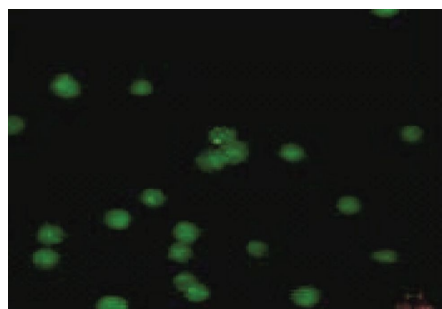
对构建的重组质粒进行测序鉴定, 测序结果与设计一致。

2.2 转染效率测定

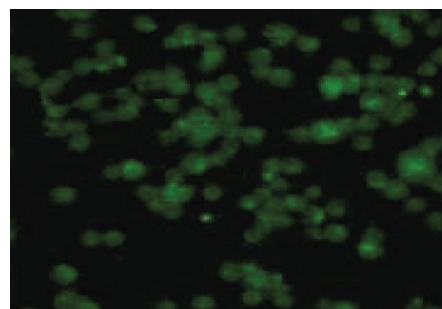
荧光显微镜观察, 发现在转染 4 h 后即可见到部分细胞表达 EGFP, 表达 EGFP 的细胞数量在 48 h 内逐渐增多, 在 48 h 时达到高峰, 其转染细胞内出现大量的绿色荧光 (图 1)。结果显示阴性对照组 HEC-1A 细胞荧光表达百分率约为 6.2%, 转染组荧光表达百分率为 76.8%, 瞬时转染效率约为 70.6%, 转染效率可以满足实验需要。

2.3 Western blot 检测 PTTG 蛋白表达水平

PTTGsiRNA-1、PTTGsiRNA-2、PTTGsiRNA-3、NC



阴性对照组



实验组

图 1 荧光显微镜检测转染结果

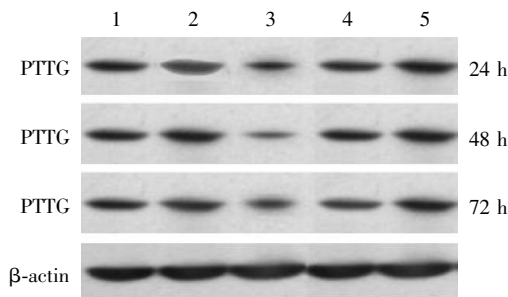
Figure 1 The transfection result detected by fluorescent microscopy

组转染细胞后,Western blot 检测 PTTG 蛋白表达水平,结果显示以 PTTGsiRNA-2 转染 48 h 对 HEC-1A 细胞 PTTG 蛋白表达的抑制效果最为明显(表 1,图 2)。因此,筛选出干扰效果最好的质粒 PTTGsiRNA-2,进行后续实验。

表 1 Western blot 检测 PTTG 蛋白表达水平
Table 1 The expressions of PTTG protein detected by Western blot

组别	Western blot ($\bar{x} \pm s$)		
	24 h	48 h	72 h
对照组	0.97 ± 0.04	0.98 ± 0.05 [#]	0.97 ± 0.03 [#]
PTTGsiRNA-1 组	0.92 ± 0.05	0.69 ± 0.04 ^{**#}	0.83 ± 0.04 [#]
PTTGsiRNA-2 组	0.85 ± 0.05	0.28 ± 0.04 [*]	0.41 ± 0.03 [*]
PTTGsiRNA-3 组	0.87 ± 0.06	0.45 ± 0.04 ^{**#}	0.54 ± 0.05 ^{**#}
NC 组	0.96 ± 0.06	0.98 ± 0.03	0.93 ± 0.04

与对照组比较,* $P < 0.01$;与 PTTGsiRNA-2 组比较,** $P < 0.01$ 。



1: 对照组;2: PTTGsiRNA-1 组;3: PTTGsiRNA-2 组;4: PTTGsiRNA-3 组;5: NC 组。

图 2 Western blot 检测 PTTG 蛋白表达水平

Figure 2 PTTG protein expression detected by Western blot

2.4 MTT 检测细胞增殖活性结果

MTT 检测细胞增殖活性结果显示:与对照组比较,放疗组、PTTGsiRNA 转染组细胞生长速度明显减缓,差异具有统计学意义($P < 0.01$),而 PTTGsiRNA 转染联合放疗组与单独 PTTGsiRNA 转染组或放疗组比较,抑制细胞增殖的作用更为明显,组间差异有统计学意义($P < 0.01$,表 2)。结果提示 PTTGsiRNA 可以显著抑制 HEC-1A 细胞的增殖,且可增加细胞对放疗的敏感性。

2.5 流式细胞仪检测细胞凋亡结果

流式细胞仪检测细胞凋亡,与对照组比较,放疗组、PTTGsiRNA 转染组细胞凋亡增加,组间差异均有统计学意义($P < 0.01$),而 PTTGsiRNA 转染联合放疗组与 PTTGsiRNA 转染组或放疗组比较,抑制细胞凋亡的作用更为明显,组间差异均有统计学意义($P < 0.01$,图 3)。结果提示 PTTGsiRNA 可以诱导 HEC-1A 细胞的凋亡,且可增加细胞对放疗的敏感性。

表 2 MTT 检测不同处理对 HEC-1A 细胞增殖的抑制作用
Table 2 The result of inhibitory effect in HEC-1A cells after different treatments by MTT assay

组别	($\bar{x} \pm s$)	
	吸光度值	抑制率(%)
对照组	0.86 ± 0.06 [#]	0
放疗组	0.59 ± 0.04 ^{**#}	31.39 ± 5.62
PTTGsiRNA 转染组	0.53 ± 0.05 ^{**#}	38.37 ± 5.48
PTTGsiRNA 转染+放疗组	0.39 ± 0.04 [*]	54.65 ± 6.27

与对照组比较,* $P < 0.01$;与 PTTGsiRNA 转染 + 放疗组比较,** $P < 0.01$ 。

3 讨论

本实验依照 RNAi 设计原则,针对 PTTG 基因设计出了 siRNA 序列,并将序列顺利插入载体中,成功构建了重组质粒。实验结果显示以 PTTGsiRNA-2 干扰效果最为明显,所以选择 PTTGsiRNA-2 转染 HEC-1A 细胞,观察其对细胞生长增殖及放疗敏感性的影响。PTTGsiRNA 转染及 PTTGsiRNA 转染联合放疗作用细胞后,MTT 实验结果表明,细胞生长和增殖能力受到明显抑制,PTTGsiRNA 转染联合放疗抑制细胞增殖的作用更为明显。流式细胞检测结果表明,PTTGsiRNA 转染联合放疗组的细胞凋亡率较其他组明显增高,提示 PTTGsiRNA 转染联合放疗抑制 HEC-1A 细胞增殖和诱导细胞凋亡的作用较单独 PTTGsiRNA 转染及单独放疗明显增强,PTTG RNA 干扰提高了 HEC-1A 细胞对放疗的敏感性。

子宫内膜癌是发生于子宫内膜的一组上皮性恶性肿瘤,为女性生殖道三大恶性肿瘤之一,占女性全身恶性肿瘤的 7%,占女性生殖道恶性肿瘤的 20%~30%。近年来子宫内膜癌发病率在世界范围内呈上升趋势。目前,子宫内膜癌的主要治疗方法为手术、放疗及化疗。早期以手术为主,按手术-病理分期的结果及是否存在复发因素选择辅助治疗;晚期则采用手术、放疗、化疗等综合治疗,但至今仍缺乏理想有效的治疗方法。

PTTG 定位于染色体 5q33,含有 5 个外显子和 4 个内含子,研究表明 PTTG 在睾丸、胸腺、胚肝等具有高度增殖活性的组织,及垂体腺瘤、胃癌、甲状腺癌、乳腺癌、肺癌等多种肿瘤中高表达^[4-8],且与肿瘤的病理分级、分化程度和预后密切相关,是一个高效的细胞转化基因,对细胞的转化增殖和肿瘤的形成具有重要作用。体外实验证明,过度表达 PTTG 可促使细胞增殖,体外诱导细胞转化,使裸鼠致癌;PTTG 能抑制姊妹染色单体的分离,使高表达 PTTG

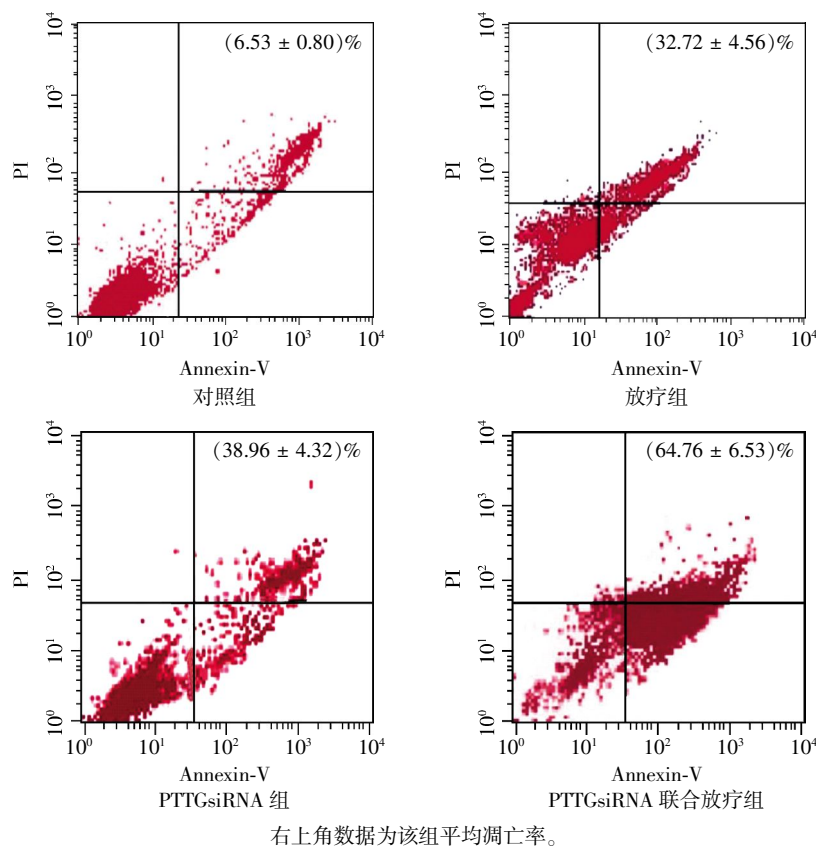


图 3 流式细胞仪检测 HEC-1A 细胞凋亡

Figure 3 Cell apoptosis of HEC-1A detected by flow cytometry

的组织或细胞出现成瘤倾向;调节细胞有丝分裂^[9]、刺激成纤维细胞生长因子的表达和分泌^[10]、刺激肿瘤血管形成、调控细胞增殖^[11];PTTG 还可编码一种蛋白,封闭 P53 蛋白同 DNA 的连接位点,从而抑制 P53 的转录活性和 P53 诱导细胞凋亡的能力^[12]。下调 PTTG 的表达可显著抑制肿瘤细胞的增殖^[13]。

RNAi 属于转录后水平调控方式,抑制作用明显强于反义寡核苷酸。RNAi 抑制基因的表达不但高效特异,而且作用持久、迅速,它不仅可用于寻找与增殖、侵袭相关的靶标^[14-15],更可以作为潜在的治疗手段。目前干涉目标基因表达的 siRNA 制备有 5 种方法:①化学合成法;②体外转录法;③长片断 dsRNAs 经 RNase III 类降解法;④siRNA 表达框架法;⑤利用质粒或病毒载体表达 siRNA。本实验采用的是第 5 种方法,这是目前应用最多的一种方法。通过转染含有 RNA 聚合酶 III 启动子 U6 或 H1,及其下游一小段特殊结构的质粒载体到宿主细胞体内,转录出短发夹状 RNA(short hairpin RNA, shRNA),shRNA 在细胞内被 Dicer 酶剪切成 siRNA 而发挥作用。此方法在转染筛选后可稳定表达,适用于长时间的干扰研究。

放疗作为子宫内膜癌的主要治疗方式,目前取得很大进展,但临床效果仍不理想。Kim 等^[16]发现,采用 RNAi 技术可以显著抑制直肠癌细胞的增殖。一些研究发现运用 RNAi 技术下调相应靶蛋白表达后,细胞的放疗敏感性显著增强^[17-18]。

本实验运用 siRNA 技术特异性沉默子宫内膜癌 PTTG 基因,PTTGsiRNA 联合放疗法能够提高子宫内膜癌细胞的凋亡率,同时能够提高子宫内膜癌细胞对放疗的敏感性。RNAi 技术在未来的子宫内膜癌基因治疗方面具有重要应用价值,PTTG 基因可能是子宫内膜癌基因治疗的有效靶点。

[参考文献]

- [1] 王言奎,崔娜,李军,等. 子宫内膜癌组织中垂体肿瘤转化基因 PTTG 的表达及其意义[J]. 中华妇产科杂志,2004,39(8):538-542
- [2] Zhang X,Horwitz GA,Prezant TR,et al. Structure,expression,and function of human pituitary tumor-transforming gene (PTTG)[J]. Mol Endocrinol,1999,13(1):156-166
- [3] Kakar SS. Molecular cloning,genomic organization,and identification of the promoter for the human pituitary tumor transforming gene (PTTG) [J].Gene,1999,240(2):317-

- 324
- [4] Liang H,Zhong Y,Luo Z,et al. Assessment of biomarkers for clinical diagnosis of papillary thyroid carcinoma with distant metastasis[J]. *Biol Markers*,2010,25(1):38-45
- [5] Smith VE, Franklyn JA,McCabe CJ. Expression and function of the novel proto-oncogene PBF in thyroid cancer;a new target for augmenting radioiodine uptake[J]. *Endocrinol*,2011,210(2):157-163
- [6] Kim JW,Song JY, Lee JM,et al. Expression of pituitary tumor-transforming gene in endometrial cancer as a prognostic marker [J]. *Gynecol Cancer*,2008,18(6):1352-1359
- [7] Minematsu T,Suzuki M,Sanno N,et al. PTTG overexpression is correlated with angiogenesis in human pituitary adenomas[J]. *Endocr Pathol*,2006,17(2):143-154
- [8] Yan S,Zhou C,Lou X,et al. PTTG overexpression promotes lymph node metastasis in human esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Res*,2009,69(8):3283-3290
- [9] Rustgi AK. Securin a new role for itself [J]. *Nat Genet*,2002,32(1):222-224
- [10] Ishikawa H,Heaney AP,Yu R,et al. Human pituitary tumor-transforming gene induces angiogenesis [J]. *Clin Endocrinol Metab*,2001,86(2):867-874
- [11] Pei L. Identification of c-myc as a down-stream target for pituitary tumor-transforming gene [J]. *Biol Chem*,2001,276(11):8484-8491
- [12] Zhou Y,Mehta KR,Choi AP,et al. DNA damage-induced inhibition of securin expression is mediated by p53 [J]. *Biol Chem*,2003,278(1):462-470
- [13] El-Naggar SM,Malik MT,Kakar SS. Small interfering RNA against PTTG;a novel therapy for ovarian cancer [J]. *Oncol*,2007;31(1):137-143
- [14] 龚宝兰,陈永利,王任晓,等. MicroRNA 下调 SiHa 中 CD147 的表达及其对肿瘤生物学活性的影响[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*,2011,31(2):193-198
- [15] 蒋佳凯,张翼,张国新,等. siRNA 干扰人宫颈癌基因(HCCR)的表达对胰腺癌 PANC1 细胞增殖、凋亡和侵袭的影响[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*,2009,29(5):643-647
- [16] Kim DS, Franklyn JA, Smith VE, et al. Securin induces genetic instability in colorectal cancer by inhibiting double-stranded DNA repair activity [J]. *Carcinogenesis*,2007,28(3):749-759
- [17] Wang R,Lin F,Wang X,et al. The therapeutic potential of survivin promoter-driven siRNA on suppressing tumor growth and enhancing radiosensitivity of human cervical carcinoma cells via downregulating hTERT gene expression[J]. *Cancer Biol Ther*,2007,6(8):1295-1301
- [18] Vandersickel V,Mancini M,Marras E,et al. Lentivirus-mediated RNA interference of Ku70 to enhance radiosensitivity of human mammary epithelial cells [J]. *Radiat Biol*,2010,86(2):114-124

[收稿日期] 2012-06-11

本刊现已启用网上稿件管理系统，作者登陆
<http://jnm.njmu.edu.cn/>即可在线投稿并查询稿件
审理情况。