

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.00049

S100A6 基因沉默对人食管癌 Eca109 细胞增殖活性和迁移能力的影响

陆文铨¹, 邱彦², 庞涛¹, 陶霞¹, 陈万生^{1*}

1. 第二军医大学长征医院药学部, 上海 200003
2. 解放军 454 医院药剂科, 南京 210002

[摘要] **目的** 观察 S100A6 基因沉默对人食管癌 Eca109 细胞增殖活性及迁移能力的影响。**方法** 查找人 S100A6 mRNA 序列, 设计针对其编码区的 siRNA 序列; 根据 siRNA 序列设计合成 shRNA 并构建 shRNA 重组表达载体; 用阳离子脂质体转染重组质粒至 Eca109 细胞, 于转染后 48 h, 采用 real-time PCR 法检测细胞中 S100A6 mRNA 表达量, 蛋白质印迹法检测细胞中 S100A6 蛋白表达量; MTT 法检测细胞增殖活性, 绘制细胞生长曲线; 通过细胞划线法检测基因沉默对于肿瘤细胞迁移能力的影响。**结果** 成功构建了针对 S100A6 基因的 shRNA 真核表达载体; 通过脂质体转染的方法可在 Eca109 细胞内高效沉默 S100A6, 细胞转染后 48 h, 与未转染细胞比较, S100A6 mRNA 表达量降低, 且差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 蛋白表达量检测结果与 mRNA 检测结果一致; S100A6 基因沉默可明显抑制对数生长期 Eca109 细胞增殖活性, 与未转染细胞比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); S100A6 基因沉默可明显抑制对数生长期 Eca109 细胞迁移能力。**结论** 通过 shRNA 表达载体途径可在 Eca109 细胞中有效沉默 S100A6 基因, S100A6 基因沉默能够显著抑制 Eca109 细胞增殖活性及迁移能力。

[关键词] 食管肿瘤; S100A6; 基因沉默; 细胞增殖; 细胞迁移

[中图分类号] R 735.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2014)01-0049-06

Effects of S100A6 gene silencing on proliferation and migration of human esophagus cancer cell line Eca109

LU Wen-quan¹, QIU Yan², PANG Tao¹, TAO Xia¹, CHEN Wan-sheng^{1*}

1. Department of Pharmacy, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China
2. Department of Pharmacy, No. 454 Hospital of PLA, Nanjing 210002, Jiangsu, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of S100A6 gene silencing on the proliferation and migration of Eca109 human esophagus cancer cells. **Methods** The shRNA expression vectors were constructed using the shRNA sequences designed based on human S100A6's coding sequence, and were transfected into Eca109 cells via cationic liposome. The changes of S100A6 mRNA and protein in Eca109 cells transfected with the recombinant vectors were detected using real-time PCR and Western blotting analysis 48 hours after transfection, respectively; the proliferative curves of transfected cells were plotted using MTT assay; furthermore, the change in cellular migration ability was determined using wound healing assay. **Results** The eukaryotic expression vector of shRNA targeting S100A6 was successfully constructed. Real-time PCR and Western blotting analysis results showed that S100A6 was effectively silenced by liposome-mediated transfection of the recombinant shRNA vectors in Eca109 cells. Compared with the untransfected cells, S100A6 mRNA and protein in transfected Eca109 cells were significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Meanwhile, the proliferative activity of Eca109 cells was significantly inhibited by S100A6 silencing ($P < 0.01$). It was found that the cellular migration was also suppressed by S100A6 gene interference. **Conclusion** S100A6 gene can be effectively silenced by shRNA expression vectors, and the silence may lead to inhibition of the proliferation and migration of Eca109 cells.

[Key words] esophageal neoplasms; S100A6; gene silencing; cell proliferation; cell migration

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(1): 49-54]

S100A6 基因定位于人染色体的 1q21 区域, 作为钙结合蛋白 S100 家族中重要的一员, 主要通过与

[收稿日期] 2013-05-24 **[接受日期]** 2013-09-13

[作者简介] 陆文铨, 博士, 副主任药师. E-mail: lwqp@163.com

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-81886181, E-mail: chenws126@126.com

钙离子结合而参与细胞生长分化、基因调控和功能调节等全部活动^[1]。研究表明,S100A6在多种肿瘤细胞及组织中高表达,转移性淋巴结标本中S100A6阳性率为100%^[2]。也有研究人员应用cDNA基因芯片检测食管腺癌与癌旁正常黏膜组织的差异表达基因,发现癌组织中S100A6基因表达水平显著高于正常组织^[3-5]。而S100A6与食管癌的关系目前国内尚未见报道。

食管癌是发生在食管上皮组织的恶性肿瘤,其发病率和死亡率在各国差异很大。我国是世界上食管癌高发地区之一,也是高死亡率的国家之一,每年平均死亡约15万人^[6-7]。随着现代快节奏的生活方式及食品安全、环境污染问题的日益严重,食管癌在我国的发病率有逐年上升的趋势。在食管癌患者中,约20%~30%的患者病灶限于局部,目前常用的治疗方法为外科手术治疗,体积较大但仍属局部的肿瘤可以先施以化疗或放疗,把肿瘤缩小到适宜手术的范围治疗^[8]。但由于食管癌部位的特殊性,无论化疗、放疗还是手术疗法,都会对患者的日常生活造成巨大的影响。因此,寻找食管癌相关的癌基因,明确其作用机制,进而寻找以其为靶点的化学、基因治疗药物,显得尤为重要。本研究通过shRNA干扰技术沉默S100A6基因表达,观察S100A6基因沉默对人食管癌细胞Eca109增殖活性及迁移能力的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 人食管癌细胞株Eca109购于中国科学院上海细胞生物研究所;细胞培养板、无菌枪头、一次性移液管均购于美国Corning公司;DMEM培养基,胎牛血清(FBS),0.25%胰蛋白酶,Lipofectamine 2000转染试剂,四甲基偶氮唑盐(MTT)及二甲亚砜(DMSO)、TRIzol及反转录试剂盒均为美国Sigma公司产品;pshRNA-H1载体购于美国System Biosciences公司;限制性内切酶BamH I和EcoR I、DH5 α 感受态细胞、DNA分子量标准及荧光定量试剂盒购于日本TaKaRa公司;无内毒素质粒提取试剂盒为德国Qiagen公司产品;S100A6、GAPDH一抗及二抗均为美国Santa Cruz公司产

品;蛋白提取试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒及ECL发光试剂盒均购于美国Pierce公司。细胞培养箱为美国Nuair公司,移液器、离心机为德国Eppendorf公司产品,定量PCR仪为日本TaKaRa公司产品,电泳仪及垂直电泳设备为Bio-Rad公司产品,酶标仪及紫外分光光度检测仪为Thermo公司产品。引物合成及测序在上海英骏生物技术有限公司完成。

1.2 shRNA重组表达载体构建 登陆NCBI数据库查找人S100A6基因信息(NM_014624.3),根据美国Invitrogen公司的siRNA设计软件设计针对S100A6基因编码区的siRNA序列(表1),同时选择通用的错配序列(NC)。根据siRNA序列,设计两条互补的DNA模板单链,模板链包括shRNA的正义链(sense)和反义链(antisense),中间以12个脱氧核苷酸的loop结构(5'-CTTCCTGTCAGA-3')相连,后面接有RNA Poly III聚合酶转录中止位点(TTTTT),同时模板链两端分别添加BamH I(GGATCC)和EcoR I(GAATTC)酶切位点,合成相应的DNA单链(PAGE级别)。用无菌水稀释成好的单链DNA至20 pmol/L,然后进行DNA单链退火,形成互补的双链DNA。退火产物与线性化载体连接、转化感受态细菌DH5 α ,涂布于平板,37℃过夜培养。在每组序列对应的平板上,使用无菌牙签挑取2个菌落,95℃处理10 min进行菌体裂解,然后加入PCR扩增体系,引物为载体多克隆位点两端的引物,上游引物:5'-ATA TTT GCA TGT CGC TAT GTG-3',下游引物:5'-CAG GCT AGA TCT GGT CTA ACC A-3',取PCR产物5 μ L进行2%琼脂糖凝胶电泳,筛选阳性菌落。对于筛选到的阳性菌落,提取质粒DNA后进行序列分析。对于测序正确的重组表达载体,扩增其对应的转化菌株,进行无内毒素质粒DNA提取,提取方法和步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.3 Real-time PCR法检测转染后细胞中S100A6 mRNA表达 取对数生长期Eca109细胞,用胰酶消化法制备细胞悬液,使用完全培养液(DMEM+10% FBS)调整细胞密度为 1×10^5 个/mL。将细胞接种到6孔板,每孔添加2 mL细胞悬液,37℃、5%CO₂

条件下培养 24 h,按照 Lipofectamine2000 转染试剂说明书进行质粒转染。实验分为错义序列组(Eca109+NC 组)和基因沉默组(Eca109+siRNA1/siRNA2/siRNA3 组),以未转染 Eca109 细胞作为空白对照组。转染后 48 h,收集细胞,TRIzol 裂解法提取总 RNA,取 1 μ g RNA 反转录制备 cDNA,使用反转录引物 Oligo(dT),然后取 1 μ L 反转录产物进行 PCR 检测,实验使用 GAPDH(NM_002046.4)作为内参。引物序列:GAPDH 上游引物 5'-ATC CCA

TCA CCA TCT TCC AGG-3',下游引物 5'-TGC TGA TGA TCT TGA GGC TGT-3'; S100A6 上游引物 5'-TTG GCC TCC TCG TGG CCA TC-3',下游引物 5'-AGG AAG GTG ACA TAC TCC TG-3'。PCR 反应总体系为 20 μ L; TaKaRa SYBR[®] Premix Ex Taq[™] 10 μ L,上、下游引物(10 μ mol/L)各 0.4 μ L,cDNA 2 μ L,dH₂O 补足反应体系至 20 μ L。反应条件:95 $^{\circ}$ C 10 min,58 $^{\circ}$ C 20 min,72 $^{\circ}$ C 20 min,共 35 个循环。应用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法分析基因相对表达量。

表 1 siRNA 序列及其对应的双链 DNA 序列

Tab 1 siRNA sequences and corresponding double-stranded DNA sequences

Name	Starting position	siRNA sequence (5'-3')	Double-stranded DNA sequence (5'-3')
siRNA1	78	GCACACCTG- AGCAAGAAG	GATCCGCACACCCTGAGCAAGAAGCTTCCTGTCAGACTTCTTGCTCAGGGTGTGCTTTTTG AATTCAAAAAGCACACCCTGAGCAAGAAGTCTGACAGGAAGCTTCTTGCTCAGGGTGTGCG
siRNA2	105	GGAGCTGATC- CAGAAGGAG	GATCCGGAGCTGATCCAGAAGGAGCTTCCTGTCAGACTCCTTCTGGATCAGCTCCTTTTTG AATTCAAAAAGGAGCTGATCCAGAAGGAGTCTGACAGGAAGCTCCTTCTGGATCAGCTCCG
siRNA3	141	GCTGCAGGAT- GCTGAAATT	GATCCGCTGCAGGATGCTGAAATTCTTCCTGTCAGAAATTTTCAGCATCTGCAGCTTTTTG AATTCAAAAAGCTGCAGGATGCTGAAATTTCTGACAGGAAGAATTTTCAGCATCTGCAGCG
NC	/	GAAGCCAGAT- CCAGCTTCC	GATCCGAAGCCAGATCCAGCTTCCCTTCCTGTCAGAGGAAGCTGGATCTGGCTTCTTTTTG AATTCAAAAAGAAGCCAGATCCAGCTTCTCTGACAGGAAGGGAAGCTGGATCTGGCTTCG

1.4 蛋白质印迹法检测转染后细胞中 S100A6 蛋白表达量 收集转染后 48 h 的 Eca109 细胞,加入细胞裂解液提取细胞总蛋白,95 $^{\circ}$ C 10 min 处理蛋白变性,BCA 法检测总蛋白浓度。每组样本取 10 μ L 进行 SDS-PAGE 垂直电泳,其中分离胶浓度为 12%,400 mA 恒流 45 min 进行蛋白转膜,丽春红染色观察目的条带,后 5%脱脂牛奶常温封闭 2 h,加入 TBST 稀释的一抗(1:800),4 $^{\circ}$ C 过夜孵育;TBST 洗膜 3 次,加入小鼠二抗,室温孵育 2 h,再洗膜 3 次,添加 ECL 发光液反应底物,进行 X 光曝片,扫描曝光底片,用相关图像分析软件进行目的条带光密度扫描分析。S100A6 蛋白相对表达量=目的条带光密度值/参照蛋白条带光密度值。

1.5 MTT 法检测 S100A6 基因沉默对肿瘤细胞增殖活性影响 取转染后 48 h 的 Eca109 细胞,胰酶消化法制备细胞悬液,使用完全培养液调整细胞密度至 1 \times 10⁵个/mL,接种细胞到 96 孔板,每孔 100 μ L,接种后正常条件培养,转染后 24、48 和 72 h 分

别检测细胞活性。每孔加入 10 μ L 5 mg/mL 的 MTT 溶液,继续培养 4 h 后吸去上清,每孔加入 150 μ L DMSO 溶液,37 $^{\circ}$ C 下振荡 15 min,用酶标仪于 570 nm 处检测光密度值,绘制细胞生长曲线。

1.6 细胞划线法检测 S100A6 基因沉默对肿瘤细胞迁移能力的影响 取转染后 48 h 的 Eca109 细胞,胰酶消化法制备细胞悬液,锥虫蓝染色后进行细胞计数,使用完全培养液调整细胞密度至 1 \times 10⁵个/mL,接种细胞到 6 孔板,每孔 2 mL,接种后正常条件培养;细胞培养 24 h,使用无菌 200 μ L 枪头划痕,再使用无血清培养液冲洗 2 次,加入含 1%血清的培养液 2 mL,正常条件培养;划线后 24、48 和 72 h 分别用显微镜拍照,观察细胞迁移情况。

1.7 统计学处理 应用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,数据结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用析因分析进行组间差异及组内差异的比较。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 shRNA 重组表达载体的构建 我们针对

S100A6 基因编码区成功设计了 siRNA 序列并构建了 3 组 shRNA 重组表达载体,经测序分析发现,插

入序列与设计序列完全一致(图 1)。

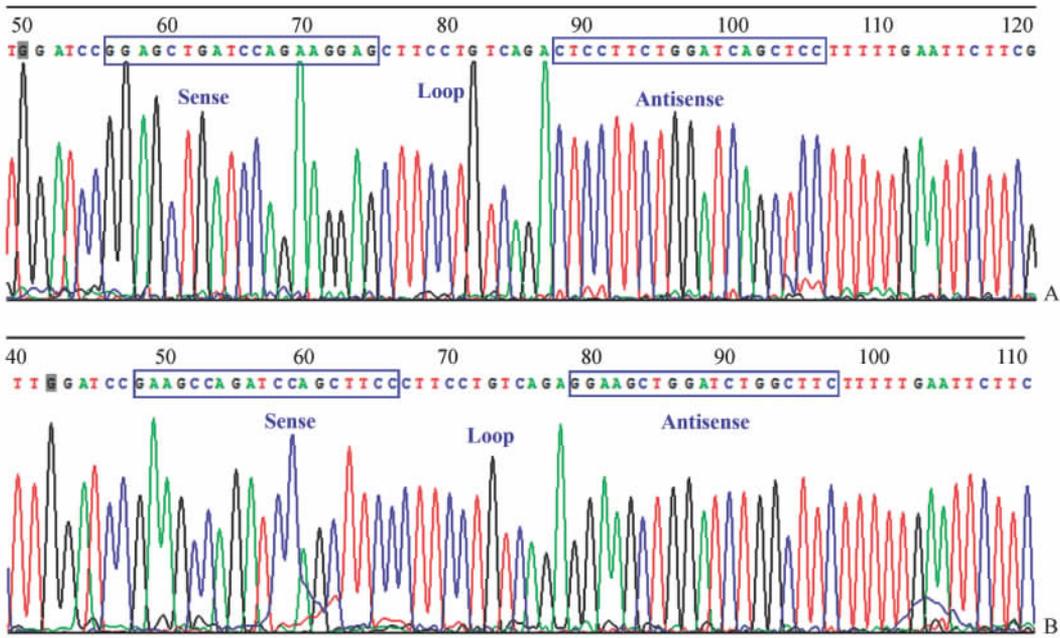


图 1 重组载体测序结果

Fig 1 Sequence analysis of recombinant vector

A: shRNA2-S100A6; B: shRNA-NC-S100A6

2.2 Real-time PCR 检测转染后细胞中 S100A6 mRNA 表达 结果如图 2 所示,基因沉默组 Eca109 细胞中 S100A6 mRNA 表达量低于未转染组,差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$);错义序列组与未转染组相比较,差异无统计学意义,说明 shRNA 结构或者转染试剂对细胞内目的基因表达量无明显影响。

2.3 蛋白质印迹法检测转染后细胞中 S100A6 蛋白表达 结果如图 3 所示,基因沉默组 Eca109 细胞中 S100A6 蛋白相对表达量低于未转染组,差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$),其中 2 号序列的沉默效果最好。

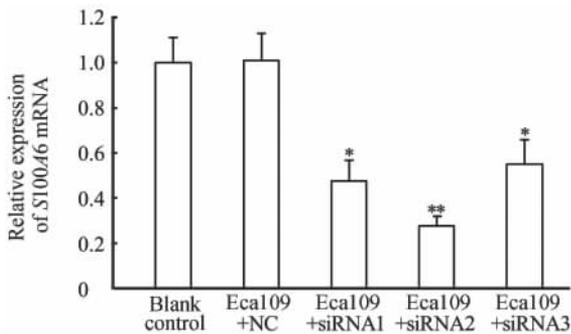


图 2 Real-time PCR 检测 Eca109 细胞中 S100A6 mRNA 表达

Fig 2 Real-time PCR detection of S100A6 mRNA expression in Eca109 cells

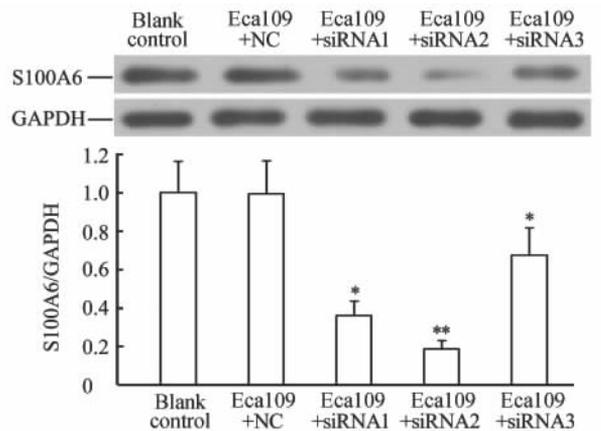


图 3 蛋白质印迹分析法检测 Eca109 细胞中 S100A6 蛋白表达

Fig 3 Western blotting analysis of S100A6 protein expression in Eca109 cells

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs blank control group. $n = 3, \bar{x} \pm s$

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs blank control group. $n = 3, \bar{x} \pm s$

2.4 S100A6 基因沉默对肿瘤细胞增殖活性影响 检测结果(图 4)显示,未转染组 Eca109 细胞的增殖活性高于基因沉默组,48 h 及 72 h 时差异有统计学意义($P < 0.01$);错义序列组与未转染组细胞相比较差异无统计学意义。

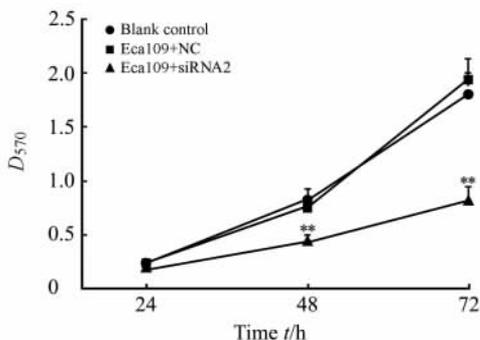


图 4 MTT 法检测 Eca109 细胞增殖活性

Fig 4 MTT assay of proliferative activity of Eca109 cells

** $P < 0.01$ vs the same point in blank control group. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$

2.5 S100A6 基因沉默对肿瘤细胞迁移能力的影响 通过观察不同时间点细胞沿划线向内延伸生长速度,发现在细胞对数生长期,基因沉默组 Eca109 细胞的迁移能力低于错义序列组及未转染组,结果如图 5 所示。

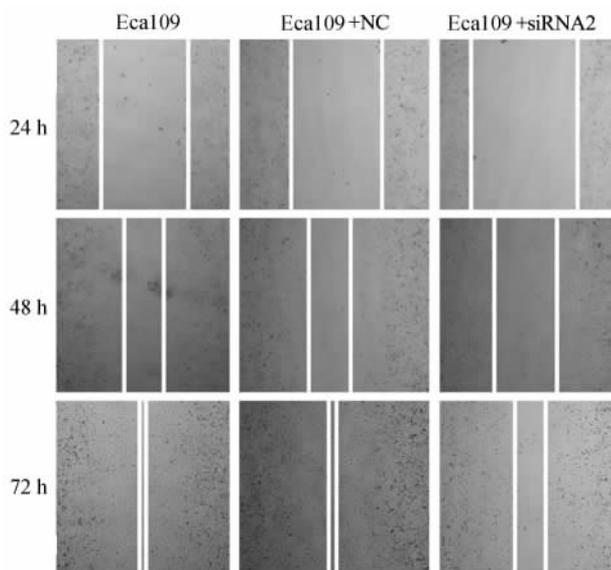


图 5 细胞划线法检测 Eca109 细胞迁移能力

Fig 5 Wound healing assay of migration of Eca109 cells

Original magnification: $\times 120$

3 讨论

食管癌是消化道常见肿瘤,恶性化程度较高。

我国是食管癌的高发国家,又是食管癌病死率最高的国家,全世界每年食管癌新发病例 31.04 万,我国约 16.72 万。我国食管癌病死率通常男性高于女性,男女之比约为 2 : 1;患病年龄多在 50~69 岁(约占 60%)^[9-10]。

S100 蛋白相对分子质量大约为 9 000~13 000,目前共发现 23 个 S100 蛋白家族成员,是蛋白超家族中最大的多基因家族。S100A6 为 S100 蛋白家族成员之一,在细胞内分布广泛,最初在腹水瘤中被检出,在细胞周期活动、细胞分化、肿瘤生长以及细胞外基质分泌活动等过程中发挥诸多功能。研究表明 S100A6 在多种肿瘤中表达异常,并与肿瘤的增殖、浸润转移和凋亡密切相关^[11]。S100A6 可以作为胰腺癌、胃癌和结肠癌等的肿瘤标记物^[12],其对于肿瘤的影响首先与钙离子相关^[13],其次与肿瘤常见的调控通路相关,如 Wnt/ β -catenin 信号通路等。

基因沉默是一种转录后调控机制,首先在转基因植物中被发现,大量研究表明环境因子、发育因子、DNA 修饰、组蛋白乙酰化程度、基因拷贝数、位置效应、生物的保护性限制修饰以及基因的过度转录等都与基因沉默有关^[14]。作为基因沉默的一项新技术,RNA 干扰(RNA interference, RNAi)的应用有望成为一种防治疾病的新方法。RNAi 具有特异、高效的特点,因此可用于一些肿瘤的治疗。Zhou 等^[15]在人类卵巢癌 CaoV3 细胞系中特异性沉默血管内皮生长因子(VEGF)基因,结果显示肿瘤细胞增殖及侵袭能力明显下降,VEGF 基因沉默可引起 caspase-3 活性增强,MMP-9 和 MMP-2 表达显著下降。Nalla 等^[16]将针对 MMP-9 及 uPAR 和 cathepsinB 设计的 siRNA 序列导入前列腺癌细胞株 PC3 和 Du145 细胞,结果显示目的基因表达量明显下调,细胞侵袭能力明显减弱,细胞凋亡明显增加。Patutina 等^[17]在体内肿瘤模型上针对 MDR1 基因进行 RNAi 实验,结果表明通过 RNAi 途径也可实现细胞耐药性逆转,同时对体内肿瘤模型抑制作用亦十分明显。

本实验通过在线 siRNA 软件设计了针对人 S100A6 基因的 siRNA 序列并成功构建了 3 组 shRNA 表达载体及对照质粒。转染后细胞中 mRNA 及蛋白相对表达量分析表明,3 条 siRNA 序列均对目的基因有一定的沉默效果,其中 2 号 siRNA 序列沉默效果最好。MTT 法检测结果显示,细胞在进入对数生长期后,相对于对照组,S100A6 基因沉

默组细胞增殖活性明显降低($P < 0.01$)。以上结果提示我们,S100A6在食管癌的发病及发展中有着重要而且关键的作用,可能成为潜在的食管癌基因治疗的靶点。Eca109是来源于人食管癌、具有代表性的食管鳞癌细胞株,属于高分化肿瘤细胞株,在食管癌的体外研究及裸鼠成瘤实验中多被用到。后续研究中,我们将对从Eca109细胞中取得的实验数据在多种食管来源的肿瘤细胞株中进行验证,以确定其是否具有普遍性。

目前食管癌的治疗主要包括化疗和手术疗法,化疗对患者产生巨大的不良反应,而手术疗法会对患者日常生活造成巨大影响。基因治疗作为一种靶向无创疗法,一直是近年肿瘤治疗研究的热点,下一步我们将通过基因沉默结合靶向启动子,对食管癌进行靶向治疗研究,以为食管癌的基因治疗提供新的理论依据,也为以后的临床应用提供可行的思路。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2001, 33: 637-668.
- [2] 张连海, 王晓红, 季加孚. 胃癌防治研究: S100A6 作为胃癌肿瘤标志物[C]. 第十三届中国科协年会第 18 分会场癌症流行病学趋势和防控策略研讨会论文集, 2011.
- [3] Zhang Q, Ye Z, Yang Q, He X, Wang H, Zhao Z. Up-regulated expression of annexin II is a prognostic marker for patients with gastric cancer [J]. *World J Surg Oncol*, 2012, 10: 103.
- [4] Hua Z, Chen J, Sun B, Zhao G, Zhang Y, Fong Y, et al. Specific expression of osteopontin and S100A6 in hepatocellular carcinoma [J]. *Surgery*, 2011, 149: 783-791.
- [5] Yang Y Q, Zhang L J, Dong H, Jiang C L, Zhu Z G, Wu J X, et al. Upregulated expression of S100A6 in human gastric cancer [J]. *J Dig Dis*, 2007, 8: 186-193.
- [6] 侯秋雨, 韩 戟, 单清华. 食管胃胸腔内吻合口瘘的临床诊治研究 [J]. *医学综述*, 2013, 19: 565-566.
- [7] 邹小农. 食管癌流行病学 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2006, 13: I0001-I0004.
- [8] 徐文鑫, 徐广全. 微创外科技术在食管癌治疗中的应用及临床意义 [J]. *中华消化外科杂志*, 2013, 12: 74-77.
- [9] Wheeler J B, Reed C E. Epidemiology of esophageal cancer [J]. *Surg Clin North Am*, 2012, 92: 1077-1087.
- [10] 张思维, 张 敏, 李光琳, 魏文强, 孟凡书, 刘志才, 等. 2003-2007 年中国食管癌发病与死亡分析 [J]. *中国肿瘤*, 2012, 21: 241-247.
- [11] 李 晖, 关宏伟. 钙结合蛋白 S100A6 与肿瘤和细胞信号转导的相关研究进展 [J]. *大连医科大学学报*, 2012, 34: 194-199.
- [12] 焦丽燕, 应万涛, 蔡 耘, 钱小红. 肿瘤研究中的蛋白质组学研究策略 [J]. *肿瘤防治研究*, 2005, 32: 245-247.
- [13] Leśniak W, Słomnicki Ł P, Filipek A. S100A6—new facts and features [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 390: 1087-1092.
- [14] Grant S R. Dissecting the mechanisms of posttranscriptional gene silencing: divide and conquer [J]. *Cell*, 1999, 96: 303-306.
- [15] Zhou J, Gan N, Zhang W, Lu W, Xie X. Proliferation suppression and apoptosis of ovarian carcinoma cells induced by small interfering RNA against vascular endothelial growth factor [J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2010, 36: 232-238.
- [16] Nalla A K, Estes N, Patel J, Rao J S. N-cadherin mediates angiogenesis by regulating monocyte chemoattractant protein-1 expression via PI3K/Akt signaling in prostate cancer cells [J]. *Exp Cell Res*, 2011, 317: 2512-2521.
- [17] Patutina O A, Mironova N L, Popova N A, Kaledin V I, Nikolin V P, Vlassov V V, et al. The siRNA targeted to *mdr1b* and *mdr1a* mRNAs *in vivo* sensitizes murine lymphosarcoma to chemotherapy [J]. *BMC Cancer*, 2010, 10: 204.

[本文编辑] 周燕娟