

Ad-NLS-RAR α 对 HL-60 细胞增殖及 ATRA 诱导的 HL-60 细胞分化的影响及其机制*

胡秀秀^{1,2}, 刘北忠^{1,2 Δ} , 钟梁², 高远梅², 张曦², 吴秀娟², 王慧², 朱新瑜²

1. 重庆医科大学附属永川医院 中心实验室 (重庆 402160); 2. 重庆医科大学 临床检验诊断学教育部重点实验室 (重庆 400016)

【摘要】 目的 将已构建验证成功的重组腺病毒 Ad-NLS-RAR α 感染至 HL-60 细胞中,探讨其对 HL-60 细胞增殖及全反式维甲酸(ATRA)诱导的 HL-60 细胞分化的影响及机制。方法 将验证正确的腺病毒经 Protamine sulfate 辅助感染 HL-60 细胞,检测感染效率,用 RT-PCR 和 Western blot 检测目的基因在 HL-60 细胞中的表达情况。MTT 法检测细胞增殖情况。病毒感染 HL-60 细胞 24 h 后,用 2.5 μ mol/L ATRA 处理,流式细胞术(FCM)检测细胞表面分化抗原 CD11b 的表达。RT-PCR 和 Western blot 检测 C-MYC 基因在 mRNA 和蛋白水平的表达。结果 在 Protamine sulfate 辅助感染作用下,重组腺病毒 Ad-NLS-RAR α 和阴性对照腺病毒 Ad-KZ 对 HL-60 细胞的感染效率可达 70%~80%。NLS-RAR α 基因的 RT-PCR 和 Western blot 结果显示,感染了重组腺病毒 Ad-NLS-RAR α 的 HL-60 细胞的 NLS-RAR α 基因的 mRNA 及蛋白表达水平明显增高($P<0.05$)。MTT 法检测表明感染了重组腺病毒 Ad-NLS-RAR α 的细胞增殖能力增高($P<0.05$)。FCM 检测结果显示,经 ATRA 处理后,感染 Ad-NLS-RAR α 重组腺病毒的 HL-60 细胞,CD11b 表达较阴性对照组和未感染组下调($P<0.05$)。C-MYC 基因的 RT-PCR 和 Western blot 检测结果表明,经 ATRA 处理后,感染 Ad-NLS-RAR α 重组腺病毒的细胞 C-MYC 基因的 mRNA 和蛋白水平均高于其他两组($P<0.05$)。结论 重组腺病毒 Ad-NLS-RAR α 可以促进 HL-60 细胞的增殖,并通过上调 C-MYC 基因的表达,抑制 ATRA 诱导的 HL-60 细胞分化。

【关键词】 重组腺病毒 NLS-RAR α HL-60 细胞 ATRA 细胞增殖 细胞分化

Effect of Recombinant Adenovirus Carrying NLS-RAR α Gene on the Proliferation of HL-60 Cell and the Differentiation of HL-60 Cells Induced by ATRA and Relevant Mechanism HU Xiu-xiu^{1,2}, LIU Bei-zhong^{1,2 Δ} , ZHONG Liang², GAO Yuan-mei², ZHANG Xi², WU Xiu-juan², WANG Hui², ZHU Xin-yu². 1. Central Laboratory of Yongchuan Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 402160, China; 2. Key Laboratory of Laboratory of Medical Diagnostics of Ministry of Education, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Δ Corresponding author, E-mail: liubeizhong@cqmu.edu.cn

【Abstract】 **Objective** To explore the effect and mechanism of recombined adenovirus carrying NLS-RAR α gene on proliferation of HL-60 cells and the differentiation of HL-60 cells induced by ATRA. **Methods** HL-60 cells was infected with Ad-NLS-RAR α and control virus Ad-KZ. The efficiency of infection was detected by FCM. The mRNA and protein levels of NLS-RAR α were assessed by Real-time PCR (RT-PCR) and Western blot, respectively. MTT assay were applied to determine proliferation of HL-60 cells. Cell surface differentiation antigen CD11b of infected HL-60 cell induced by ATRA was examined by FCM. The mRNA and protein levels of C-MYC of infected HL-60 cell induced by ATRA were determined by Real-time PCR (RT-PCR) and Western blot assay. **Results** The efficiency of infection of Ad-NLS-RAR α and Ad-KZ on HL-60 cell was 70%-80%. The mRNA and protein levels of NLS-RAR α gene of HL-60 cells which infected with Ad-NLS-RAR α were both obviously higher than that of the cells which infected with Ad-KZ and non-infected ($P<0.05$). The proliferation ability of HL-60 cell infected with Ad-NLS-RAR α was significantly increased ($P<0.05$). The level of CD11b of HL-60 cell infected with Ad-NLS-RAR α and induced by ATRA was clearly decreased than control groups ($P<0.05$). The mRNA and protein levels of C-MYC gene of HL-60 cells infected with Ad-NLS-RAR α and induced by ATRA were both obviously higher than that of the cells which infected with Ad-KZ and non-infected ($P<0.05$). **Conclusion** The recombined adenovirus Ad-NLS-RAR α can increase the proliferation ability of HL-60 cell, and inhibit the differentiation of HL-60 cell through reduce the expression level of C-MYC gene.

【Key words】 Recombined adenovirus NLS-RAR α HL-60 cells ATRA Cell proliferation Cell differentiation

* 国家自然科学基金(No. 81171658)和重庆市自然科学基金
计划重点项目(No. 2011BA5037)资助

Δ 通讯作者, E-mail: liubeizhong@cqmu.edu.cn

急性早幼粒细胞白血病(acute promyeloc leukemia, APL)是急性髓细胞白血病的一个特殊类型,其特征性的 t(15;17)(15q22;17q21)的染色体易位,导致 PML-RAR α 融合基因的形成^[1],表达

PML-RAR α 融合蛋白。该融合蛋白在 APL 的发生发展中起着重要作用^[2],但并非始终以整体的形式发挥作用。Lane 等^[3]发现, bcr1 型 PML-RAR α 可被中性白细胞弹性蛋白酶(neutrophil elastase, NE)切割成相对分子质量分别约为 53×10^3 和 69×10^3 的两种变异蛋白,分别为缺失核定位信号的 PML 和带核定位信号的 RAR α (NLS-RAR α)。该切割作用对野生型 RAR α 的细胞内定位与功能必定会产生影响。本研究通过过表达 NLS-RAR α 基因,观察其对 APL 细胞增殖分化的影响。由于悬浮细胞采用脂质体转染比较困难,故前期构建了重组腺病毒 Ad-NLS-RAR α ,以提高转染效率。

HL-60 细胞是急性早幼粒白血病细胞,是血液疾病研究中理想的细胞模型,因此本研究采用重组腺病毒感染 HL-60 细胞,观察细胞增殖情况,及其对全反式维甲酸(ATRA)诱导的 HL-60 细胞分化的影响,并检测分化相关基因 C-MYC 转录及翻译水平的变化,初步探讨 NLS-RAR α 的生物学功能及其机制。

1 材料与方法

1.1 材料

HL-60 细胞株购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源库。高保真 Taq DNA 多聚酶、PCR mixture、总 RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒购自日本 TaKaRa 公司;琼脂糖购自美国 Invitrogen 公司;质粒小抽试剂盒购自美国 Omega 公司;RPMI1640 培养基、胎牛血清(FBS)购自美国 GIBCO 公司;Protamine sulfate 购自 Lymphomed 公司;鼠抗人 C-MYC 抗体和兔抗人 RAR α 抗体均购自美国 Santa Cruz 公司;羊抗兔和羊抗鼠二抗均购自北京中杉金桥生物技术有限公司;抗 CD11b 单抗购自德国 BD 公司;所有引物均由上海生工生物工程公司合成。

1.2 方法

1.2.1 重组腺病毒感染 HL-60 细胞感染效率检测 在 Protamine sulfate 辅助作用下(具体步骤参考说明),用重组腺病毒 Ad-NLS-RAR α 和阴性对照腺病毒 Ad-KZ 感染 HL-60 细胞,48 h 后收集细胞,上流式细胞仪检测感染效率。

1.2.2 RT-PCR 检测感染细胞中 NLS-RAR α mRNA 的表达 取对数生长期的 HL-60 细胞分别感染 Ad-NLS-RAR α 重组腺病毒及阴性对照腺病毒 Ad-KZ, 48 h 后提取细胞总 RNA, 逆转录为

cDNA, 取 1 μ L cDNA 进行 PCR, NLS-RAR α 上游引物序列: 5'-ATGTACGCCTTCTCCATCAAA-3', 下游引物序列: 5'-TCACGGGGAGTGGGTG-3', 扩增片段为 1 506 bp。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 65 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 100 s, 共 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 再延伸 5 min。内参 β -actin 基因引物序列: 上游 P3: 5'-CACCACACCTTCTACAATGAGC-3', 下游 P4: 5'-GTGATCTCCTTCTGCATCCTGT-3', 扩增片段长度为 700 bp。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 56 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s, 共 28 个循环; 72 $^{\circ}$ C 再延伸 5 min。PCR 产物经 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测, 用 Quantity one 软件进行灰度分析, 以目的条带灰度值与内参条带灰度值比值作为目的基因 mRNA 相对表达量。以未感染病毒的细胞为对照。

1.2.3 Western blot 检测感染细胞中 NLS-RAR α 蛋白的水平 取对数生长期的 HL-60 细胞分别感染 Ad-NLS-RAR α 重组腺病毒及阴性腺病毒 Ad-KZ, 48 h 后提取细胞总蛋白。测定蛋白浓度, 取 100 μ g 进行 SDS-PAGE 电泳。以半干转法转至 PVDF 膜上, 用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 封闭 6 h 后, 孵育抗人 RAR α 多克隆抗体(5% 脱脂奶粉 1 : 500 稀释)4 $^{\circ}$ C 过夜, TBST 洗 2 次, 每次 10 min, 再用 TBS 洗 10 min。后二抗(1 : 1 000 稀释)孵育, 2 h 后洗膜(步骤同上), 于暗室化学发光显影。用 Quantity one 软件进行灰度分析, 以目的条带灰度值与内参条带灰度值比值作为目的蛋白相对表达量。以未感染病毒的细胞为对照。

1.2.4 细胞增殖能力检测(MTT 法) 对数生长期的 HL-60 细胞 2×10^4 /mL 均匀接种于 96 孔板中, 每孔 200 μ L, 每组设 4 个复孔。感染病毒后分别于 24、48、72、96 h 加入 20 μ L 浓度为 5 mg/mL 的 MTT, 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养 4 h, 用平板离心机 1 000 r/min、10 min 离心, 弃上清, 每孔加 200 μ L 二甲基亚砷(DMSO)显色 10 min, 酶标仪 490 nm 测定吸光度。以未感染病毒的细胞为对照。

1.2.5 流式细胞术检测细胞表面分化抗原 CD11b 的表达 取对数生长期 HL-60 细胞, 感染病毒 24 h 后, 均用 2.5 μ mol/L ATRA 处理, 48 h 后收集细胞, 预冷的 PBS 洗 1 次(1 000 r/5 min), 然后按照 10 μ L 抗体/1 $\times 10^6$ 个细胞的比例加入鼠抗人 CD11b 抗体, 加 PBS 至 100 μ L, 4 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min, 用 2% BSA 洗 2 次(每次 1 000 r/5 min), 10 g/L 多聚甲醛 300 μ L 固定, 上流式细胞仪检测细胞表

面 CD11b。以未感染病毒的细胞为对照。

1.2.6 RT-PCR 检测 *C-MYC* 基因 mRNA 水平的表达 HL-60 细胞分别感染重组腺病毒 Ad-NLS-RAR α 和阴性对照腺病毒 Ad-KZ 24 h 后, 均用 2.5 μ mol/L ATRA 处理 48 h, 分别提取细胞的总 RNA, 逆转录为 cDNA, 以 cDNA 为模板进行 PCR 检测。*C-MYC* 基因上游引物序列: 5'-CCTACCCTCTCAACGACAGC-3', 下游引物序列: 5'-CTCTGACCTTTTGCAAGGAG-3', 扩增片段长度为 248 bp。内参 β -actin 上游引物序列: 5'-CACCACACCTTCTACAATGAGC-3', 下游引物序列: 5'-GTGATCTCCTTCTGCATCCTGT-3', 扩增片段 700 bp。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 56 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s (内参 60 s), 共 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 再延伸 5 min。PCR 产物经 15 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测, 用 Quantity one 软件进行灰度分析, 以目的条带灰度值与内参条带灰度值比值作为目的基因 mRNA 相对表达量。以未感染病毒的细胞为对照。

1.2.7 Western blot 检测 *C-MYC* 基因蛋白水平的表达 HL-60 细胞分别感染重组腺病毒 Ad-NLS-RAR α 和阴性对照腺病毒 Ad-KZ 24 h 后, ATRA 2.5 μ mol/L 处理 48 h, 分别提取细胞的总蛋白, BCA 法测定蛋白浓度, 取 100 μ g 进行 SDS-PAGE 电泳。以半干转法转至 PVDF 膜上, 用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 封闭 6 h 后, 孵鼠抗人一抗 (5% 脱脂奶粉 1 : 2 000 稀释) 4 $^{\circ}$ C 过夜, TBST 洗 2 次, 每次 10 min, 再用 TBS 洗 10 min。孵羊抗鼠二抗 (1 : 2 000 稀释), 2 h 后洗膜 (步骤同上), 于暗室化学发光显影。用 Quantity one 软件进行灰度分析, 以目的条带灰度值与内参条带灰度值比值作为目的蛋白相对表达量。以未感染病毒的细胞为对照。

1.2.8 统计学方法 率的比较用 χ^2 检验, 均数的比较用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病毒感染 HL-60 细胞感染效率测定

感染病毒 48 h 后, 经流式细胞术检测显示, 感染效率达到 70%~80%。

2.2 病毒感染后 HL-60 细胞 *NLS-RAR α* mRNA 和蛋白的表达

RT-PCR 分析结果 (图 1A): 3 组细胞 *NLS-RAR α* mRNA/ β -actin 灰度比值分别为 0.086 $\pm$

0.005 (未感染组)、0.087 $\pm$ 0.003 (阴性对照组)、0.493 $\pm$ 0.003 (重组腺病毒组); Western blot 分析结果 (图 1B): 3 组细胞 *NLS-RAR α* / β -actin 灰度比值分别为: 0.082 $\pm$ 0.006 (未感染组)、0.093 $\pm$ 0.003 (阴性对照组)、0.523 $\pm$ 0.004 (重组腺病毒组)。重组腺病毒组 *NLS-RAR α* mRNA/ β -actin 灰度比值及 *NLS-RAR α* / β -actin 灰度比值均高于未感染组和阴性对照组 (P 均 < 0.05)。

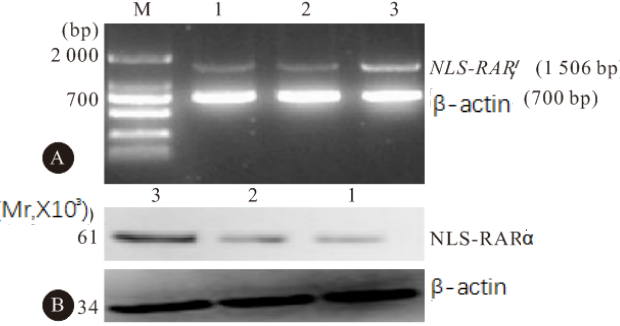


图 1 *NLS-RAR α* 基因表达的 RT-PCR 检测 (A) 和 Western blot 检测 (B)

Fig 1 RT-PCR test of the level of *NLS-RAR α* mRNA (A) and Western blot assay for the expression of *NLS-RAR α* protein (B) in HL-60 cells

M: Marker; 1: Uninfected group; 2: Ad-KZ group; 3: Ad-NLS-RAR α group

2.3 病毒感染对 HL-60 细胞增殖能力的影响

结果见图 2。感染腺病毒 Ad-NLS-RAR α 48、72、96 h 后, HL-60 细胞吸光度值 (490 nm) 均较阴性对照组和未感染组增高 ($P < 0.05$), 表明感染了 Ad-NLS-RAR α 重组腺病毒的细胞增殖能力明显上调。

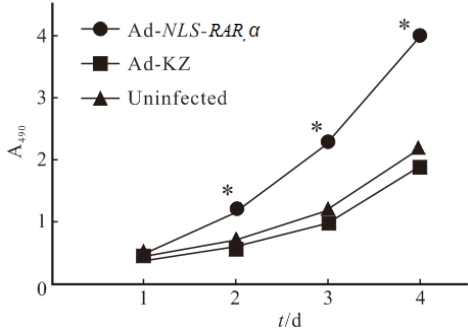


图 2 细胞增殖曲线

Fig 2 Proliferation curve of cell lines

* $P < 0.05$, vs. Ad-KZ group and uninfected group

2.4 病毒感染对 ATRA 诱导后 HL-60 细胞表面分化抗原 CD11b 表达的影响

结果见图 3。ATRA 处理 48 h 后, 感染重组腺

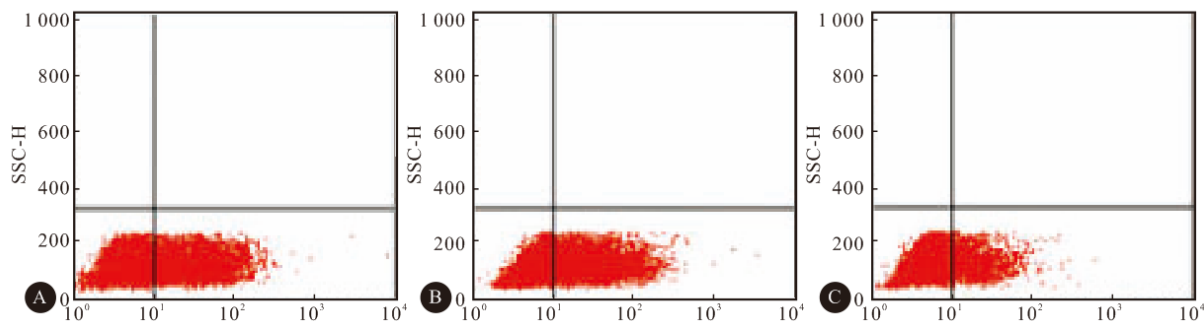


图 3 流式细胞术检测各组细胞 CD11b 的表达情况

Fig 3 Detection of CD11b expression in HL-60 cells of various groups

A: Uninfected group; B: Ad-KZ group; C: Ad-NLS-RAR α group

病毒 Ad-NLS-RAR α 的 HL-60 细胞 CD11b 阳性率 $[(15.99 \pm 0.023)\%]$ 低于阴性对照组 $[(36.37 \pm 0.029)\%]$ 和未感染组 $[(39.33 \pm 0.032)\%]$ ($P < 0.05$), 表明重组腺病毒 Ad-NLS-RAR α 能抑制细胞分化。

2.5 病毒感染对 ATRA 诱导后 HL-60 细胞 C-MYC mRNA 和蛋白表达的影响

RT-PCR 分析结果(图 4A): 3 组细胞 C-MYC mRNA/ β -actin 灰度比值分别为 0.037 ± 0.012 (未感染组)、 0.042 ± 0.008 (阴性对照组)、 0.465 ± 0.015 (重组腺病毒组); Western blot 分析结果(图 4B): 3 组细胞 C-MYC/ β -actin 灰度比值分别为: 0.028 ± 0.009 (未感染组)、 0.033 ± 0.011 (阴性对照组)、 0.603 ± 0.018 (重组腺病毒组)。重组腺病毒组 C-MYC mRNA/ β -actin 灰度比值及 C-MYC/ β -actin 灰度比值均高于未感染组和阴性对照组 (P 均 < 0.05)。

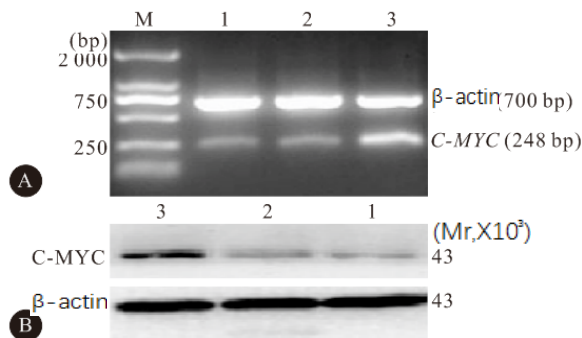


图 4 各组细胞中 C-MYC 的 RT-PCR 检测(A)和 Western blot 检测 (B)

Fig 4 RT-PCR test of the level of C-MYC mRNA (A) and Western blot assay for the expression of C-MYC protein (B) in HL-60 cells

M: Marker; 1: Uninfected group; 2: Ad-KZ group; 3: Ad-NLS-RAR α group

3 讨论

APL 是造血干细胞的克隆性恶性疾病, 为干细胞分化过程异常, 其克隆的早幼粒细胞失去进一步分化成熟的能力而停滞在细胞发育的较早阶段^[4]。95% 的 APL 有特征性的 t(15;17)(15q22;17q21) 染色体易位, 形成 PML-RAR α 融合基因, 表达异常的 PML-RAR α 融合蛋白^[5]。该融合蛋白的形成干扰了野生型 RAR α 的信号传递和 PML 及其核体 (NBs) 的正常结构与功能^[6], 并通过诱导染色质结构的改变^[7], 导致某些基因的转录沉默和 DNA 的损伤修复障碍, 从而促进了 APL 的发生。Lane 等^[8]研究发现 PML-RAR α 融合蛋白被 NE 切割, 使 NLS 与 PML 分离, 而与后半段的 RAR α 融合在一起, 形成了相对分子质量约 52×10^3 和 61×10^3 大小的两种变异蛋白。NE 的这一特异性切割在 APL 的发生发展中起到了非常重要的作用^[9,10]。其中, RAR α 所带的这个 NLS 信号区域对蛋白质的细胞核定位有很重要的作用, 对 RAR α 的功能必定会产生影响。我们推测 NLS-RAR α 可能有促进 APL 细胞增殖、抑制 APL 细胞分化、促进肿瘤生成的作用。

目前基因治疗载体中, 慢病毒和逆转录病毒载体存在转染效率低、易整合至宿主基因组等问题, 而腺病毒具有较高的转染效率, 且不易整合到宿主基因中。另外, 腺病毒载体构建、制备、扩增相对简便, 且病毒滴度较高^[11-13]。本课题组前期采用 AdEasy-1 腺病毒载体系统构建了携带 NLS-RAR α 基因的腺病毒载体, 以提高转染效率。其穿梭质粒 pAdTrace-TO4-NLS-RAR α 可以表达红色荧光蛋白, 便于简便、直观评估病毒包装感染是否成功, 观察腺病毒的感染效率^[14,15]。HL-60 细胞是急性早

幼粒白血病细胞,是血液疾病研究中理想的细胞模型。故本研究用已构建成功的重组腺病毒 Ad-NLS-RAR α 感染 HL-60 细胞,通过 MTT 检测细胞增殖情况。HL-60 细胞对 ATRA 的诱导分化作用比较敏感,故本研究用 ATRA 处理感染过腺病毒的 HL-60 细胞,检测细胞表面抗原 CD11b 的表达,观察细胞分化的情况。结果表明,重组腺病毒 Ad-NLS-RAR α 可以促进 HL-60 细胞的增殖,抑制 HL-60 的细胞分化。有研究证明,抑制 C-MYC 基因,可以促进 HL-60 细胞向粒细胞分化^[16]。本研究结果表明,过表达 NLS-RAR α 可以上调 C-MYC 基因的表达,表明重组腺病毒 Ad-NLS-RAR α 可能通过上调 C-MYC 基因的表达,抑制 HL-60 细胞的分化。

综上,NLS-RAR α 基因可以促进 HLL-60 细胞的增殖,抑制其分化,在 APL 的发生发展中起到了重要作用。但这只是研究基因功能的一个方面,本课题组将从 RNA 干扰这一方面继续探讨该基因的功能。

参 考 文 献

- 1 Melnick A, Licht JD. Deconstructing a disease: RAR α , its fusion partners, and their roles in the pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. *Blood*,1999;93(10):3167-3215.
- 2 Laurenzana A, Pettersson F, Miller WH. Role of PML/RAR α in the pathogenesis of APL. *Disease Mechanisms*,2006;3(4):499-505.
- 3 Lane AA, Ley TJ. Neutrophil elastase is important for PML-retinoic acid receptor α activities in early myeloid cells. *Mol Cell Biol*,2005;25(1):23-33.
- 4 Minke KS, Staib P, Puetter A,*et al.* Small molecule inhibitors of WNT signaling effectively induced apoptosis in acute myeloid leukemia cells. *Eur J Haematol*,2009;82(3):165-175.
- 5 Pollock JL, Westervelt P, Walter MJ, *et al.* Mouse models of

- acute. Promyelocytic leukemia. *Curr Opin Hematol*,2001;8(4):206-211.
- 6 Wartman LD, Welch LJ, Uy GL, *et al.* Expression and function of PML-RARA in the hematopoietic progenitor cells of CtsG-PML-RARA mice. *PLoS One*,2012;7(10):e46529.
- 7 Villa R, De Santis F, Gutierrez A, *et al.* Epigenetic gene silencing in acute promyelocytic leukemia. *Biochem Pharmacol*,2004;68(6):1247-1254.
- 8 Lane AA, Ley TJ. Neutrophil elastase cleaves PML-RAR α and is important for the development of acute promyelocytic leukemia in mice. *Cell*,2003;115(3):305-318.
- 9 Gilliland DG. Proteolytic processing in development and leukemogenesis. *Cell*,2003;115(3):248-250.
- 10 Scaglioni PP, Pandolfi PP. Medicine: taking apart a cancer protein. *Nature*.2003;426(6966):512-513.
- 11 Ulasov IV, Tyler MA, Han Y, *et al.* Novel recombinant adenoviral vector that targets the interleukin-13 receptor alpha2 chain permits effective gene transfer to malignant glioma. *Hum Gene Ther*,2007;18(2):118-129.
- 12 Sweigard JH, Cashman SM, Kumar-Singh R. Adenovirus-mediated delivery of CD46 attenuates the alternative complement pathway on RPE: implications for age-related macular degeneration. *Gene Ther*,2011;18(6):613-621.
- 13 Huang PT, Chen KC, Prijovich ZM, *et al.* Enhancement of CPT-11 antitumor activity by adenovirus-mediated expression of beta-glucuronidase in tumors. *Cancer Gene Ther*,2011;18(6):381-389.
- 14 罗红伟, 田文君, 季茂胜等. β -TrCP-OD-HA 重组腺病毒对白血病 K562 细胞凋亡的影响. *第三军医大学学报*,2010;32(15):1602-1604.
- 15 卢忠燕, 甘立霞, 王 哲等. 抑制 FoxO1 基因表达的 siRNA 重组腺病毒构建及功能鉴定. *第三军医大学学报*,2007;29(23):2215-2218.
- 16 陈 龙, 王湘辉, 陈洁平. 抑制 C-MYC 基因表达对 HL-60 细胞表面分化抗原 CD13、CD33 的影响. *现代肿瘤医学*,2011;19(10):1940-1942.

(2013-05-10 收稿,2013-08-12 修回)

编辑 余 琳