

肿瘤诊断与基因治疗

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.2014.01.003

Bmi-1-siRNA 对食管癌细胞株 EC9706 的影响

刘 霞¹, 曹关义², 程慧敏¹, 李维前¹, 马云松³

(徐州医学院附属第三医院 1. 病理科; 2. 普外科; 3. CT 室, 徐州 221003)

【摘要】目的:探讨 Bmi-1-siRNA 对食管癌 EC9706 细胞的影响。**方法:**将不同浓度(50、100、150 nmol/L)的 Bmi-1-siRNA 转染 EC9706 细胞 24、48、72 h, MTT 法检测各组各时间段细胞增殖情况, 免疫细胞化学检测转染后 EC9706 细胞内 Bmi-1、端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT)、P16 蛋白的表达, 原位杂交方法检测 Bmi-1 mRNA 的表达。**结果:**Bmi-1-siRNA 对 EC9706 细胞的生长抑制率明显升高, 且具有时间依赖性和剂量依赖性($F=1.322, 2.881, P<0.001$); EC9706 细胞中 Bmi-1、hTERT 蛋白表达明显降低, P16 蛋白表达升高($F=12.229, 23.556, 19.414, P<0.001$)。**结论:**Bmi-1-siRNA 有效抑制 EC9706 细胞的增殖, 其机制可能为降低 Bmi-1 mRNA 及 Bmi-1、hTERT 蛋白的表达, 上调 P16 蛋白的表达。

【关键词】Bmi-1; RNA 干扰; 食管癌**【中图分类号】**R735.1**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2012-07-02

作者介绍: 刘 霞 Email: wbtiger211@163.com,

研究方向: 肿瘤病理学。

通信作者: 程慧敏, Email: chenghuimin530323@yahoo.com.cn。

分期, 分级有关。在 BPH 组织中没有发现 YAP 的阳性表达, 说明 YAP 在 PCa 中是一个肿瘤特异性的基因。同时发现, YAP 的阳性率与 PCa 患者术前 PSA 是否高于 10 ng/ml 有明显的相关性, 之所以选择 10 ng/ml 作为分界值, 是因为有研究指出 PSA 高于此值的病人, PCa 诊断的准确性显著高于术前 PSA 在 4~10 ng/ml 之间的患者^[13]。本研究中, 虽然 YAP 的阳性率转移组大于未转移组, 但组间差异无统计学意义, 当然这有可能是样本总量偏少的原因。本研究 Western blot 选取的 15 对前列腺组织, 结果显示 PCa 组织中 YAP 的表达量明显高于 PC 组织, 差异有统计学意义。

综上所述, YAP 的表达在 PCa 组织和非肿瘤组织中存在统计学差异, 并且与 PCa 现行的分期, 分级有关。有必要对其进行深入研究, 以期 YAP 能成为 PCa 诊断的一个新标准和指导 PCa 预后的一个独立的危险因素。

参 考 文 献

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] 李 鸣, 张思维, 马建辉, 等. 中国部分市县前列腺癌发病趋势比较研究[J]. 中华泌尿外科杂志, 2009, 30(6): 368-370.
- [3] Zhao B, Lei Q Y, Guan KL. The Hippo-YAP pathway: new connec-

tions between regulation of organ size and cancer[J]. Curr Opin Cell Biol, 2008, 20(6): 638-646.

[4] 赵耀瑞, 徐 勇, 张殿举, 等. 血清 PSA、PSAD 和 PSAT 在前列腺穿刺活检中的意义[J]. 中华泌尿外科杂志, 2005, 26(9): 622-625.

[5] Nagata M, Tanimoto T, Kami M. Quality-of-life effects of prostate-specific antigen screening[J]. N Engl J Med, 2012, 367(19): 1861-1862.

[6] Pan D. Hippo signaling in organ size control[J]. Genes Dev, 2007, 21(8): 886-897.

[7] Halder G, Johnson RL. Hippo signaling: growth control and beyond [J]. Development, 2011, 138(1): 9-22.

[8] Zeng Q, Hong W. The emerging role of the hippo pathway in cell contact inhibition, organ size control, and cancer development in mammals[J]. Cancer Cell, 2008, 13(3): 188-192.

[9] Liu AM, Poon RT, Luk JM. MicroRNA-375 targets hippo-signaling effector YAP in liver cancer and inhibits tumor properties[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 394(3): 623-627.

[10] Guo J, Kleeff J, Zhao Y, et al. Yes-associated protein (YAP65) in relation to Smad7 expression in human pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Int J Mol Med, 2006, 17(5): 761-767.

[11] Steinhardt AA, Gayyed MF, Klein AP, et al. Expression of Yes-associated protein in common solid tumors[J]. Hum Pathol, 2008, 39(11): 1582-1589.

[12] Yuan M, Tomlinson V, Lara R, et al. Yes-associated protein (YAP) functions as a tumor suppressor in breast[J]. Cell Death Differ, 2008, 15(11): 1752-1759.

[13] Saema A, Kochakarn W, Lertsithichai P. PSA density and prostate cancer detection[J]. Med Assoc Thai, 2012, 95(5): 661-666.

(责任编辑: 关蕴良)

Effects of Bmi-1-siRNA on human esophageal EC9706 cells

Liu Xia¹, Cao Guanyi², Cheng Huimin¹, Li Weiqian¹, Ma Yunsong³(1. Department of Pathology; 2. Department of General Surgery; 3. CT room,
the Third Affiliated Hospital, Xuzhou Medical College)

[Abstract] **Objective:** To explore the effects of Bmi-1-siRNA on human esophageal EC9706 cells. **Methods:** Different concentrations of Bmi-1-siRNA (50, 100, 150 nmol/L) was used to transfect EC9706 with different time exposures (24, 48, 72 h). Changes of cell cycle in EC9706 cells before and after the transfection were detected by MTT. Levels of protein of Bmi-1, telomerase reverse transcriptase (hTERT), P16 in transfected cells were measured by immunocytochemistry. Levels of Bmi-1 mRNA in transfected cells were measured by situ hybridization. **Results:** Bmi-1-siRNA effectively inhibited cell proliferation of EC9706 cells in a dose and time dependent way ($F=1.322, 2.881; P<0.001$). Expression of Bmi-1 and hTERT protein was decreased and that of P16 was increased ($F=12.229, 23.556, 19.414; P<0.001$). **Conclusions:** RNAi of Bmi-1 in EC9706 cell line could effectively inhibit EC9706 cell proliferation, whose mechanism may relate with down-regulation of Bmi-1 mRNA, Bmi-1, hTERT protein expression and up-regulation of P16 protein expression.

[Key words] Bmi-1; RNA interference; esophageal cancer

RNA干扰(RNA interference, RNAi)是一种双链RNA(double-stranded RNA, dsRNA)分子在 mRNA 水平上关闭相应序列基因的表达或使其沉默的过程,即序列特异性的转录后基因沉默(post-transcriptional gene silencing, PTGS)^[1]。目前 RNAi 可有效阻断某些基因表达,成为基因功能研究、治疗的一种重要的实验方法。Bmi-1(B-cell specific moloney murine leukemia virus insertion site 1, Bmi-1)基因属于 PcG (polycomb group) 基因家族,在细胞的生长、增殖以及干细胞的自我更新过程中发挥着重要的作用^[2-3]。近年来,许多研究证实 Bmi-1 基因与肿瘤的发生、发展、转移及预后密切相关,鉴于 Bmi-1 基因在肿瘤的发展过程中起着重要作用,目前是治疗肿瘤的重要靶点。本研究应用 RNAi 技术沉默 Bmi-1 基因的表达,观察沉默后此基因在食管癌中的表达和对其影响,为食管癌分子生物学治疗的新方法提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

人食管癌 EC9706 细胞株购自南京科诺生物有限公司;兔抗人 Bmi-1 多克隆抗体购自美国 Abcam 公司;Hyclone 胎牛血清、RPMI1640 培养基购自 TM(宝信生物科技有限公司分装);胰蛋白酶、二甲亚砜购自美国 Hykelone 公司;Lipofecter 脂质体转染试剂购自碧云天生物技术研究; cDNA 第一链合成试剂盒、TRNzol 试剂购自天根生化科技有限公司;所有 siRNA 序列由上海吉玛公司化学合成;生物素标记的

mBmi-1 cDNA 探针及特异寡核苷酸模板由北京奥科生物技术有限公司合成;PV-9000 二步法免疫组化试剂盒购于北京中杉金桥公司;预杂交液、封闭液、胃蛋白酶及核固红购于武汉博士德公司;DAB 显色试剂盒购于北京中杉金桥公司。

1.2 实验方法

1.2.1 食管癌 EC9706 细胞的培养 食管癌 EC9706 细胞于 RPMI1640 培养液(含 10% 胎牛血清、青霉素 100 U/ml、链霉素 100 U/ml), 37℃、5%CO₂ 孵箱内贴壁培养。

1.2.2 细胞转染及生长抑制率检测 取对数生长期 EC9706 细胞接种在 96 孔板(8×10^4 个/孔), 随机设为实验组、无对照组(转染非特异性 siRNA)、脂质体对照组(空脂质体)和空白对照组(不转染)。实验组按转染试剂说明书分别予 50、100、150 nmol/L 的 Bmi-1-siRNA 转染(每孔终体积为 100 μ l), 脂质体对照组加入同体积的脂质体, 空白对照组不干预。加入 MTT 和 DMSO 后, 酶标仪(490 nm 波长)检测转染后 24、48、72 h 细胞的吸光度(absorbance, A)值, 每组设定 3 个复孔, 取平均值。细胞生长抑制率=(1-实验组 A 值/空白对照组 A 值) $\times 100\%$ 。

1.2.3 细胞转染及 Bmi-1、端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT)、P16 蛋白表达检测 将预处理后的盖玻片放入 24 孔板的孔中, 按 6×10^4 个/孔接种细胞, 细胞密度至 30%~50%时转染 Bmi-1-siRNA (100 nmol/L), 培养 72 h 后弃液, PBS 洗 3 min $\times$ 3 次, 4%多聚甲醛固定 30 min 后中性树脂胶将玻片封于载玻片上, 参照通用型 SP 免疫组化试剂盒说明书操作, 实验均以 PBS 代替一抗做阴性对照。Bmi-1、hTERT 蛋白表达胞核(质)着棕褐色或棕黄色颗粒为阳性, P16 蛋白表达阳性为胞核着棕黄色颗粒。高倍镜下随机选取 10 个视野(每个视野观察细胞数不少于 100 个), 按阳性细胞所占百分比及着色深浅进行结果判定。评分标准: ①阳性细胞数计分: <1% 为 0 分; 1%~25% 为 1 分; 26%~50% 为 2

分;51%~75%为 3 分;>75%为 4 分。②细胞着色强度计分:无显色为 0 分;淡黄色为 1 分;棕黄色为 2 分;棕褐色为 3 分。最后根据两部分得分进行综合评分。

1.2.4 原位杂交法 严格按照原位杂交试剂盒说明书操作,用已知的 Bmi-1 阳性表达的乳腺癌组织做阳性对照,用不含探针的预杂交液孵育的组织切片作阴性对照。

1.2.5 原位杂交结果判定 Bmi-1 原位杂交阳性信号定位于细胞核(质)中,呈紫蓝色,阳性计算方法是:按阳性细胞个数 $\leq 10\%$ 、 $\leq 30\%$ 、 $\leq 70\%$ 和 $>70\%$ 分别记为 1、2、3 分和 4 分。按阳性着色深浅:杂交信号强度可分为弱(+)、中(++)、强(+++)3 级分别记为 1、2、3 分。(1)弱阳性(+):细胞胞质内可见浅紫蓝色颗粒,明显高于背景底色;(2)阳性(++):细胞胞质内见较深紫蓝色颗粒;(3)强阳性(+++):细胞胞质内有大量深紫蓝色颗粒。以上 2 种记分相乘,按评分积分值进行统计学处理。

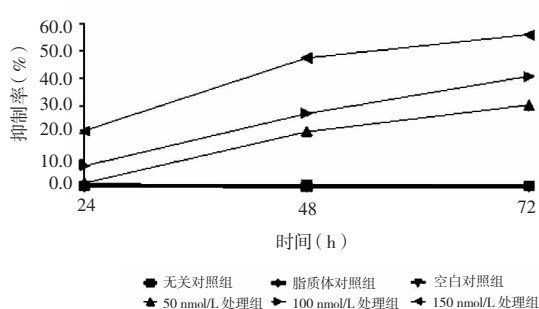
1.3 统计学处理

应用 SPSS 13.0 统计软件,计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。MTT 结果组间比较采用重复测量方差分析;Bmi-1、hTERT、P16 蛋白表达及不同时间点 Bmi-1 mRNA 表达水平的比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD- t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 3 组 EC9706 细胞生长抑制率比较

如图 1 所示:MTT 法结果显示,转染不同浓度 Bmi-1-siRNA EC9706 细胞 24、48、72 h,随着时间的延长抑制率明显增加,150 nmol/L Bmi-1-siRNA 抑制率最强,24、48、72 h 分别为 $(20.20 \pm 2.21)\%$ 、 $(51.10 \pm 2.01)\%$ 、 $(57.44 \pm 2.72)\%$,Bmi-1-siRNA 作用不同时间之间的总差异有统计学意义($F=1.322, P<0.001$)。不同浓度和对照组的不同时间之间的总差异有统计学意义($F=2.881, P<0.001$)。



$$\text{肿瘤细胞增殖抑制率} = \left(1 - \frac{\text{干扰处理组 A 值} - \text{空白对照组 A 值}}{\text{细胞对照组 A 值} - \text{空白对照组 A 值}} \right) \times 100\%$$

图 1 处理组和对照组不同时间对 EC9706 细胞的抑制率

Fig.1 EC9706 cell inhibition rate at different time periods between treatment group and control group

2.2 siRNA 转染 EC9706 细胞 72 h 后 Bmi-1、hTERT、P16 蛋白的表达情况

如表 1、图 2~4 所示,siRNA 转染 EC9706 细胞 72 h, Bmi-1、hTERT 蛋白表达降低,P16 蛋白表达上调,与空白对照组相比,Bmi-1、hTERT、P16 蛋白的表达差异均有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 siRNA 转染细胞 72 h 后各组 Bmi-1、hTERT、P16 蛋白的表达 ($n=5, \bar{x} \pm s$)

Tab.1 Expression of Bmi-1, hTERT and P16 proteins at 72 h after the transfection of siRNA ($n=5, \bar{x} \pm s$)

组别	Bmi-1	hTERT	P16
空白对照组	7.28 ± 0.33	7.34 ± 0.31	4.42 ± 0.37
脂质体对照组	7.18 ± 0.23	7.24 ± 0.21	4.82 ± 0.25
无关对照组	7.12 ± 0.38	7.02 ± 0.48	4.42 ± 0.37
实验组	4.22 ± 0.38	4.82 ± 0.48	8.82 ± 0.25
F 值	12.229	23.556	19.414
P 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注:实验组与各对照组比较, $P<0.05$

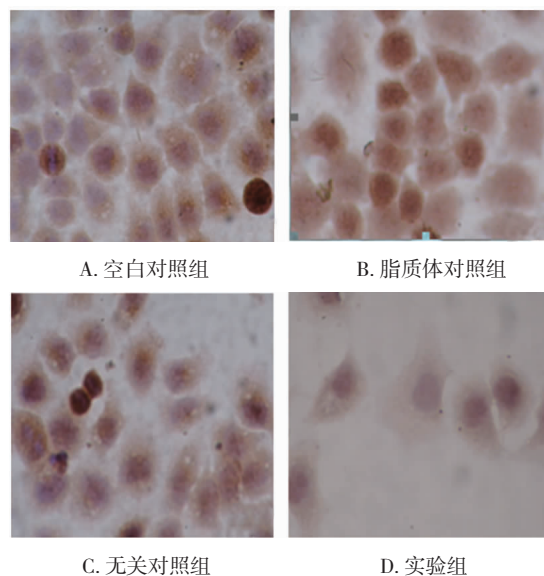


图 2 siRNA 转染 72 h EC9706 细胞中 Bmi-1 蛋白的表达情况 (SP, 400 ×)

Fig.2 Expression of Bmi-1 protein in EC9706 cell at 72 h after the transfection by siRNA (SP, 400 ×)

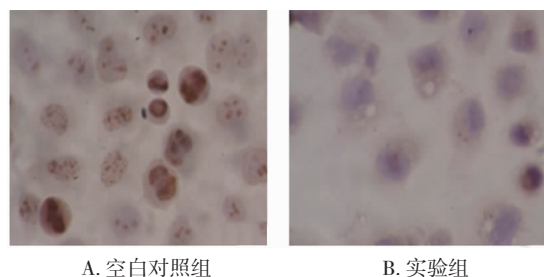


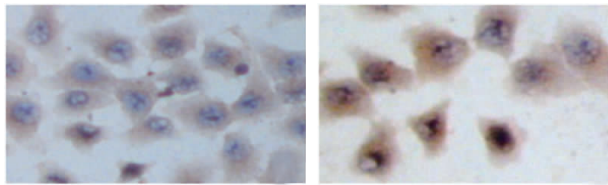
图 3 siRNA 转染 72 h EC9706 细胞中 hTERT 蛋白的表达情况 (SP, 400 ×)

Fig.3 Expression of hTERT protein in EC9706 cell at 72 h after the transfection by siRNA (SP, 400 ×)

表 2 不同组别 EC9706 细胞中转染 24、48、72 h Bmi-1 mRNA 表达情况 ($\bar{x} \pm s, n=6$)Tab.2 Bmi-1 mRNA expression in EC9706 cell in different groups at 24,48,72 h after the tranfection ($\bar{x} \pm s, n=6$)

时间	实验组			对照组			F 值	P 值
	50 nmol/L 组	100 nmol/L 组	150 nmol/L 组	空白对照组	脂质体对照组	无关对照组		
24 h	6.21 $\pm$ 0.54	4.86 $\pm$ 0.44	4.27 $\pm$ 0.67	7.57 $\pm$ 0.89	7.64 $\pm$ 1.07	6.63 $\pm$ 1.56	30.168	0.000
48 h	4.50 $\pm$ 0.53	3.87 $\pm$ 0.43	2.79 $\pm$ 0.59	7.30 $\pm$ 0.87	7.24 $\pm$ 1.11	7.14 $\pm$ 1.23	40.444	0.000
72 h	4.01 $\pm$ 0.38	2.80 $\pm$ 0.49	2.31 $\pm$ 0.44	6.69 $\pm$ 1.27	6.78 $\pm$ 0.84	6.88 $\pm$ 0.85	50.181	0.000
F 值	20.343	15.182	14.241	0.811	0.845	0.882		
P 值	0.000	0.000	0.000	0.860	0.810	0.890		

注:各实验组与各对照组相比, P 均 <0.05 ; 3 个实验组间相比, P 均 <0.05



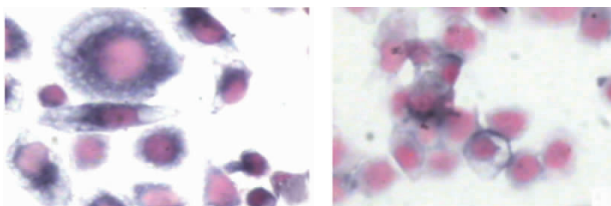
A. 空白对照组

B. 实验组

图 4 siRNA 转染 72 h EC9706 细胞中 P16 蛋白的表达情况 (SP, 400 $\times$)

Fig.4 Expression of P16 protein in EC9706 cell at 72 h after the transfection by siRNA (SP, 400 $\times$)

2.3 siRNA 转染 EC9706 细胞 72 h 后 Bmi-1 mRNA 的表达情况
如表 2、图 5 原位杂交结果所示, 3 种不同浓度的特异性 Bmi-1-siRNA 50、100、150 nmol/L 转染食管癌 EC9706 细胞 24、48、72 h, Bmi-1 mRNA 表达量均下降, 以 150 nmol/L 转染 72 h 的抑制效应最强。



A. 正常对照组 Bmi-1 mRNA 表达呈强阳性

B. 150 nmol/L Bmi-1-siRNA 转染 72 h 后 Bmi-1 蛋白表达呈弱阳性

图 5 EC9706 细胞中 Bmi-1 mRNA 的表达 (ISH BCIP/NBT 400 $\times$)

Fig.5 Bmi-1 mRNA expression in EC9706 cell (ISH BCIP/NBT 400 $\times$)

3 讨论

食管癌是常见恶性肿瘤, 发病率仅次于胃癌且发病率近年有增高趋势。尽管以外科手术为主的综合治疗取得了一定效果, 但该病的复发转移仍是影响生存率和死亡率的重要因素^[4]。Bmi-1 基因是 PcG 家族的成员之一, PcG 家族是在机体发育过程中控

制基因活性的一个基因家族, 参与干细胞增殖与分化, 与癌症的发展、预后以及肿瘤干细胞的活动密切相关。目前, 大量研究认为, 恶性肿瘤从根本上来说是一类干细胞样疾病, 少量的癌干细胞不断自我更新及不对称分裂, 积累了所在肿瘤的基因突变导致细胞恶性转化、过度增殖乃至转移播散^[5-6]。癌基因 Bmi-1 可以决定干细胞归宿: 自我更新或衰老, 同时在多种肿瘤的发生中起重要作用。大量的研究已证实, Bmi-1 基因与肿瘤的发生发展以及肿瘤的侵袭、转移和预后有着密切的关系, 并且在多种恶性肿瘤中都呈高水平表达^[7-9]。在食管癌组织中, Bmi-1 基因也呈高表达, 并且与临床分期、肿瘤浸润深度及淋巴结转移有相关性^[10-11]。因此对于 Bmi-1 高表达的肿瘤, Bmi-1 将是基因治疗的有效靶点。

RNAi 是一门新兴的基因阻断技术, 它通过发夹状 RNA (short hair pin RNAs, shRNAs) 或 21~23 nt 的 dsRNA 与特异性 mRNA 结合导致靶基因的降解, 导致目的产物表达下调, dsRNA 进入细胞后产生的多种核酸酶和 siRNA 的反义链形成沉默复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC), RISC 通过结合、切割 mRNA 的作用而介导 RNAi 的过程^[12-13]。RNAi 与基因敲除、反义技术等传统的抑制基因功能的策略相比, 以其快速、可靠、操作简单的特点被广泛应用于基因功能研究及疾病的基因治疗。

端粒酶是一种核蛋白酶, 有 3 种亚单位成分: 人端粒酶 RNA (human telomerase RNA, hTR)、端粒酶相关蛋白 I (telomerase associated protein I, TP I)、hTERT。其中 hTERT 是端粒酶的催化亚单位, 其表达与端粒酶活性表达一致, 被认为是端粒酶活性的限速决定因素^[14-15]。hTERT 基因是 Bmi-1 的下游基因, 已有研究证实 Bmi-1 的过表达可通过上调 hTERT 的转录从而激活端粒酶并且 Bmi-1 基因能够诱导 hTERT 的表达, 阻止细胞衰老, 导致永生, 在细

胞的恶性转化中起重要作用。INK4a/ARF 基因是 Bmi-1 基因的一个下游调控靶点^[16], 定位于 9p21, 该基因编码 2 种抑癌蛋白: p16INK4a 和 p19ARF (在人类为 p14ARF), Bmi-1 负性调控 p16INK4a 和 p19ARF 的表达, 这 2 种蛋白分别通过 p16INK4a/细胞周期素 D (cyclin D, CD)/Rb^[17] 和 p19ARF/MDM2/p53 通路来调节细胞的增殖。p16INK4a 作为一个周期依赖蛋白激酶抑制因子, 可以抑制细胞周期素依赖蛋白激酶 4/6 (CDK4/6) 复合物。当 Bmi-1 基因表达缺失时, p16INK4a 表达上调, 阻止 CDK4 复合物与 CD 的结合, 使 Rb 蛋白去磷酸化, 去磷酸化状态的 Rb 和转录因子 E2F 结合, 抑制 E2F 所介导的转录, 其结果阻止细胞通过 G1 期进入 S 期, 停留在 G1 期, 使细胞周期停滞。本实验发现 Bmi-1 siRNA 能够抑制 EC9706 细胞的增殖、促进凋亡, 并且抑制作用具有时间及浓度依赖性。转染 72 h 后 Bmi-1、hTERT 蛋白表达降低, P16 蛋白的表达增加, 检测不同转染时间 Bmi-1 mRNA 的表达, 发现 Bmi-1 siRNA 有效地抑制 EC9706 细胞中 Bmi-1 mRNA 的表达, 且随 Bmi-1 siRNA 浓度的增加、时间的延长抑制作用增强。

本实验结果表明, Bmi-1 基因 siRNA 以序列特异性方式有效降低基因的表达, 抑制细胞增殖。目前临床应用的抗肿瘤药物比较丰富, 如果 Bmi-1 siRNA 联合抗肿瘤药治疗食管癌, 可能会有更好的疗效, 但 siRNA 并不能完全抑制 Bmi-1 mRNA 的表达, 不能彻底消除异常基因, 并不能达到彻底治愈恶性肿瘤的目的, 由此可见基因调控的复杂性, 有待进一步研究明确。

参 考 文 献

- [1] 赵震宇, 张 铀. RNA 干扰技术研究新进展[J]. 重庆医学, 2011, 35(9): 914-915.
- [2] Guo BH, Feng Y, Zhang R, et al. Bmi-1 promotes invasion and metastasis, and its elevated expression is correlated with an advanced stage of breast cancer[J]. Molecular Cancer, 2011, 10(1): 10-11.
- [3] Giemi RS, Hendzel MJ. Polycomb group protein gene silencing, non-coding RNA, stem cells, and cancer[J]. Biochem Cell Biol, 2009, 87(5): 711-746.
- [4] 吴小源. 食管癌综合治疗的研究进展[J]. 肿瘤基础与临床, 2009, 22(1): 182-185.
- [5] 孙建聪, 连其周, 夏建川. 肿瘤干细胞研究进展[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2009, 16(12): 1973-1976.
- [6] Malanchi I, Peinado H, Kassen D, et al. Cutaneous cancer stem cell maintenance is dependent on β -catenin signalling[J]. Nature, 2008, 452(7187): 650-653.
- [7] Wu J, Hu D, Yang G, et al. Down-regulation of BMI-1 cooperates with artemisinin on growth inhibition of nasopharyngeal carcinoma cells[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2011, 12(23): 693-696.
- [8] Silva J, Garcia JM, Pena C, et al. Implication of polycomb members Bmi-1, Mel-18, and Hpc-2 in the regulation of p16INK4a, p14ARF, hTERT, and c-Myc expression in primary breast carcinomas[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(23): 6929-6936.
- [9] Cordisco S, Maurelli R, Bondanza S, et al. Bmi-1 reduction plays a key role in physiological and premature aging of primary human keratinocytes[J]. J Invest Dermatol, 2010, 130(4): 58-62.
- [10] 陈素秀, 费正华, 陈 霖, 等. 食管癌组织 Bim-1 表达及其与临床病理相关性分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2010, 8(3): 602-604.
- [11] Pece S, Tosoni D. Biological and molecular heterogeneity of breast cancers correlates with their cancer stem cell content[J]. Cell, 2010, 140(1): 62-73.
- [12] 屈 伸, 刘志国. 分子生物学实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 428-434.
- [13] Hannon GJ. RNA interference[J]. Nature, 2002, 418(6): 240-244.
- [14] 刘春华, 唐良菡, 汤为学. Bim-1, Caspase-8 蛋白在原发上皮性卵巢性癌中的表达及其临床意义[J]. 重庆医科大学学报, 2009, 34(6): 712-717.
- [15] 林妙霞, 文卓夫, 冯智英, 等. 大肠癌患者病理因素及预后与 Bim-1 表达的相关性研究[J]. 南方医科大学学报, 2009, 29(9): 1816-1819.
- [16] Sawa M, Yamamoto K, Yokozawa T, et al. BMI-1 is highly expressed in M0-subtype acute myeloid leukemia[J]. Int J Hematol, 2005, 82(1): 42-47.
- [17] Mihic-Probst D, Kuster A, Kilgus S, et al. Consistent expression of the stem cell renewal factor BMI-1 in primary and metastatic melanoma[J]. Int J Cancer, 2007, 121(8): 1764-1770.

(责任编辑: 冉明会)