

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.06.006

· 基础研究 ·

Survivin-siRNA 抑制肺癌 A549 细胞的增殖并增强其对顺铂的敏感性

张曙光, 刘晓凡, 杜江, 李文雅, 张林* (中国医科大学附属第一医院 胸外科, 辽宁 沈阳 110001)

[摘要] 目的: 构建靶向存活素(survivin)的干扰RNA(siRNA)质粒, 观察其对A549细胞增殖、凋亡以及顺铂敏感性的影响。方法: 应用pSilencer-U6质粒构建survivin-siRNA干扰质粒, RT-PCR和Western blotting检测survivin mRNA和蛋白的表达, DAPI染色法检测细胞的凋亡, MTT法检测细胞的增殖。结果: 成功构建了survivin-siRNA干扰质粒。Survivin-siRNA质粒转染可明显下调A549细胞中survivin mRNA和蛋白的表达, 抑制A549细胞的增殖、促进细胞的凋亡、增强A549细胞对顺铂的敏感性。结论: Survivin-siRNA沉默survivin在肺癌细胞中的表达能够抑制肿瘤细胞的增殖、促进细胞凋亡, 并能增强肿瘤细胞对化疗药物顺铂的敏感性, survivin可作为肺癌治疗的潜在靶点。

[关键词] 存活素; RNA干扰; 肺肿瘤; A549细胞; 顺铂

[中图分类号] R734.2; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)06-0583-05

Survivin-siRNA inhibits proliferation of lung cancer A549 cells and enhances their chemosensitivity to cisplatin

ZHANG Shu-guang, LIU Xiao-fan, DU Jiang, LI Wen-ya, ZHANG Lin* (Department of Thoracic Surgery, First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of survivin-siRNA plasmid on survivin expression in human lung cancer cell line A549, and to observe its effect on the apoptosis, proliferation, and chemosensitivity of A549 cells. **Methods:** pSilencer-survivin-siRNA (survivin-siRNA) plasmid was constructed using pSilencer-U6 plasmid and was transfected into A549 cells. Expression of survivin mRNA and protein was examined by RT-PCR and Western blotting analysis, respectively. Apoptosis and proliferation of A549 cells were examined by DAPI staining and MTT, respectively. **Results:** Survivin-siRNA plasmid was successfully constructed, and it significantly inhibited survivin mRNA and protein expression in A549 cells. Survivin-siRNA transfection induced apoptosis, inhibited proliferation and increased chemosensitivity of A549 cells to cisplatin. **Conclusion:** pSilencer-survivin-siRNA can silence survivin expression in A549 cells and subsequently inhibit proliferation, promote apoptosis, and enhance chemosensitivity of A549 cells to cisplatin. Survivin may serve as a potential target for gene therapy of lung cancer.

[Key words] survivin; RNA interference; lung neoplasms; A549 cell; cisplatin

[Chin J Cancer Biother, 2009, 16(6): 583-587]

肺癌是病死率最高的恶性肿瘤之一, 其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)约占肺癌的80%。虽然手术治疗辅以化、放疗已成为标准治疗方式, 但其5年生存率仍不足40%, 其中肿瘤细胞耐药是治疗失败的主要原因。存活素(survivin)是凋亡抑制蛋白家族(inhibitor of apoptosis proteins, IAPs)的成员之一, 能通过抑制caspase-7和-8抑制肿瘤的凋亡。Survivin高表达可抑制肿瘤细胞凋亡^[1-2], 并使肿瘤细胞对多种化疗药物的耐受性增加^[3,4]。同样, 降低survivin的表达能够促进肿瘤细胞的凋亡, 并增加其对化疗药物的敏感性^[5,9]。非小细胞肺癌中存在着survivin的高表达, 并且与

肿瘤的耐药及不良预后密切相关^[10-12]。本研究拟通过转染survivin siRNA质粒降低survivin在肺癌细胞株A549中的表达, 研究survivin与A549细胞增殖和凋亡的关系, 并观察其对顺铂敏感性的影响, 为肺癌的基因治疗提供新策略^[13]。

1 材料和方法

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30371624)。Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30371624)

[作者简介] 张曙光(1980-), 男, 辽宁省沈阳市人, 博士, 讲师, 主要从事胸部肿瘤的临床与基础研究

* 通信作者(Corresponding author)。E-mail: shgzhang@mail.cmu.edu.cn

1.1 细胞株和试剂

高表达 survivin 蛋白的人肺癌细胞株 A549、DH5 α 大肠杆菌和 pSilencer1.0-U6 质粒均由中国医学科学院肿瘤医院分子生物学检测中心提供。A549 细胞用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 和饱和湿度的细胞培养箱中培养, 所有试剂均不含抗生素。质粒提取试剂盒购自 Promega 公司; 限制性内切酶 *EcoR* I、*Apa* I 和 T4 连接酶购自 Takara 公司; TRIzol、Opti-MEM、Lipofectamine 2000 和 RT-PCR 试剂盒为 Invitrogen 公司产品; BCA 蛋白定量试剂盒购自 Pierce 公司; 鼠源 survivin 单抗为 Santa Cruz 产品, 羊抗鼠辣根过氧化物酶二抗购自北京中杉金桥公司; DAPI 为 Sigma 公司产品, 顺铂购自齐鲁制药厂(批号: 20080516)。

1.2 Survivin-siRNA 质粒的设计和构建

根据文献报道^[14]和 Ambion 公司在线设计软件, Survivin 的靶序列为: 5'-AAGCATTCGTCGGTTCGCT-3'; 非特异性对照靶序列为: 5'-AAGACTCTCCAGTGGTTTCG-3'。采用 pSilencer1.0-U6 表达质粒, 该质粒含有 U6 启动子和 *EcoR* I、*Apa* I 限制性内切酶位点。相应的 DNA 序列由 Invitrogen 公司上海合成部合成、退火, 并通过 T4 连接酶插入到由 *EcoR* I、*Apa* I 酶切的 pSilencer1.0-U6 的 U6 启动子下游。所构建的质粒 pSilencer-survivin-siRNA (以下简称 survivin-siRNA) 和 pSilencer-nonsense-siRNA (以下简称 nonsense-siRNA) 通过限制性酶切和测序鉴定。

1.3 Survivin-siRNA 质粒转染 A549 细胞

转染前 1 d 将处于对数生长期的 A549 细胞接种到 6 孔板或 60 mm 培养皿中, 转染当日细胞融合度达到 60% ~ 70% 时进行转染。转染采用 Opti-MEM、无血清 RPMI 1640 和 Lipofectamine 2000 并参照转染试剂说明进行。在 6 孔板中的转染体积为 500 μl , 在 60 mm 培养皿中的转染体积为 1 000 μl , 质粒终质量浓度为 50 nmol/L, 转染后 6 h 换为完全培养基。实验中以 nonsense-siRNA、pSilencer 空质粒和脂质体组作为对照, 每实验均至少重复 3 次。

1.4 RT-PCR 检测 survivin mRNA 的表达

TRIzol 法提取总 RNA, 并根据逆转录试剂盒说明进行逆转录; 然后进行 PCR 检测。Survivin 基因引物序列, 上游: 5'-CAGATTGAATCGCGGACCC-3', 下游: 5'-CCAAGTCTGGCTCGTTCAG-3', 扩增片段长度为 206 bp; 内对照 GAPDH 基因引物序列, 上游: 5'-CTAGAGGCACCGATGATGTTTC-3', 下游: 5'-GAGTTAGCTCACTCATTAGGC-3', 扩增片段长度为

280 bp。扩增条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 58 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 共 30 个循环, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min。取 5 μl PCR 产物经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳分离, Gel-pro Analyzer 凝胶分析系统进行图像采集分析, 用 survivin/GAPDH 灰度(Gray)比值表示 survivin mRNA 的相对含量。

1.5 Western blotting 检测 survivin 蛋白的表达

提取细胞总蛋白并采用 BCA 定量, 取等量总蛋白(40 μg)进行 10% SDA-PAGE, Bio-Rad 转膜仪半干法转膜, 5% 脱脂牛奶封闭, anti-survivin 稀释度为 1:1 000, anti- β -actin 稀释度(1:1 000), 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 洗膜, 羊抗鼠二抗(1:3 000)室温孵育 1 h, 洗膜, ECL 显色, Gel-pro Analyzer 软件进行图像分析, 以 survivin/ β -actin 的比值表示 survivin 蛋白的含量。

1.6 DAPI 染色法检测 A549 细胞的凋亡

将无菌的盖玻片置于 6 孔板中, 接种细胞并进行相应处置, 转染后 48 h 进行 DAPI 染色检测细胞凋亡。弃去培养基, 冷 PBS 洗 2 次, 多聚甲醛固定 15 min, Triton X-100 穿透 10 min, PBS 洗涤后以下操作均避光进行: DAPI(1:5 000)避光染色 15 min, PBS 洗 2 次, 0.2% 碳酸甘油封片。Leica 荧光显微镜下进行检测, 随机选取 10 个视野至少 1 000 个细胞核进行计数, 计算凋亡率。

1.7 MTT 法检测 A549 细胞的增殖

将对数生长期的细胞以每孔约 1 200 个细胞接种 96 孔板中, 细胞过夜贴壁后, 进行转染及相应处理。siRNA 质粒的终质量浓度分别为 25、50、100、150 nmol/L, 每个浓度设 5 个平行孔, 每孔 200 μl , 以 RPMI 1640 培养基为空白对照。置 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 孵箱中培养 6 h 后, 换完全培养基 150 μl 。置于细胞培养箱中进行培养, 于相应的时间点进行检测。弃上清, 每孔加入 5 mg/ml 的 MTT 100 μl , 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 孵箱中孵育 4 h, 小心弃上清, 加入二甲亚砜 100 μl , 震荡 15 min。于 Bio-Rad 酶标仪 570 nm 处测光密度(D)值, 按以下公式计算细胞增殖抑制率, 抑制率(%) = (1 - 实验组平均 D 值/对照组平均 D 值) \times 100%。

1.8 顺铂的药物敏感性实验

采用 MTT 法检测细胞的增殖, 应用 DAPI 染色检测细胞凋亡。如前述, 转染质粒质量浓度为 50 nmol/L, 转染 24 h 后在 96 孔板和 6 孔板每孔中加入顺铂, 终浓度为 1 $\mu\text{mol/ml}$ 。药物作用 72 h 后检测细胞的增殖, 48 h 后检测细胞的凋亡。

1.9 统计学处理

以 SPSS11.5 统计分析软件对结果进行统计分

析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数两两比较采用 q 检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Survivin 干扰质粒的构建和鉴定

所构建的 survivin 干扰质粒用 *EcoR* I、*Apa* I 限制性内切酶酶切,1.5% 琼脂糖电泳,可见大小约 68 bp 的酶切片段,与设计并克隆到载体中的序列大小相符。DNA 测序证实所构建的干扰质粒准确无误。

2.2 Survivin-siRNA 转染抑制 A549 细胞中 survivin 的表达

A549 细胞转染 survivin-siRNA 质粒后,48 h 收集细胞进行 RT-PCR 和 Western blotting,结果发现, survivin-siRNA 质粒转染能抑制 A549 细胞中 survivin mRNA 和蛋白的表达(图 1、2),通过 Gel-pro Analyzer 凝胶分析系统分析发现,对 survivin mRNA 和蛋白的抑制均能达到 85% 以上。

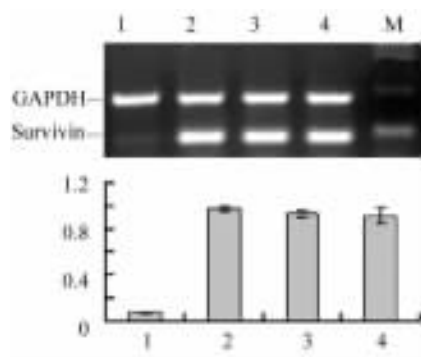


图 1 Survivin-siRNA 转染抑制 A549 细胞中 survivin mRNA 的表达

Fig. 1 Survivin-siRNA transfection inhibited survivin mRNA expression in A549 cells

1: Survivin-siRNA; 2: Nonsense-siRNA; 3: pSilencer; 4: Blank

2.3 Survivin-siRNA 促进顺铂诱导 A549 细胞的凋亡

DAPI 染色时细胞核出现固缩、碎裂和溶解是凋亡细胞的表现。空白对照组(blank 组)、pSilencer 组和 nonsense-siRNA 转染组的细胞凋亡率几乎为零,且这 3 组间无差异; survivin-siRNA 转染组可诱导 A549 细胞凋亡($P < 0.01$)。Survivin-siRNA + 顺铂组细胞的凋亡率明显高于顺铂单用组($P < 0.01$),而空白对照组和 pSilencer 组间凋亡无明显差异($P > 0.05$;图 3,表 1)。

2.4 Survivin-siRNA 转染抑制 A549 细胞的增殖

用不同浓度的 survivin-siRNA 转染 A549 细胞,转染后 48 h 检测细胞的增殖情况,发现不同浓度的 survivin-siRNA 均能抑制 A549 细胞增殖(图 4);其中 50

nmol/L 的 survivin-siRNA 对 A549 细胞增殖的抑制率(27.80 ± 1.64)%,明显高于 25 nmol/L 时的(14.40 ± 0.55)%($P < 0.01$);而 50、100 和 150 nmol/L 转染组细胞的增殖无明显差别($P > 0.05$)。

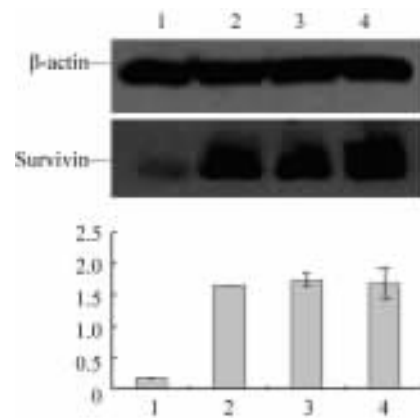


图 2 Survivin-siRNA 转染抑制 A549 细胞中 survivin 蛋白的表达

Fig. 2 Survivin-siRNA transfection inhibited survivin protein expression in A549 cells

1: Survivin-siRNA; 2: Nonsense-siRNA; 3: pSilencer; 4: Blank

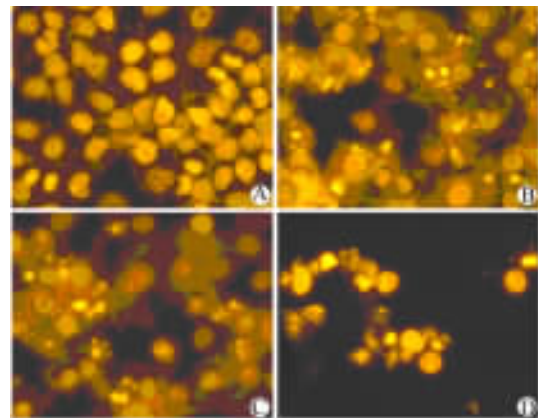


图 3 Survivin-siRNA 转染增强顺铂诱导 A549 细胞的凋亡($\times 400$)

Fig. 3 Survivin-siRNA transfection enhanced cisplatin-induced apoptosis of A549 cells($\times 400$)

A: Blank; B: Cisplatin; C: Survivin-siRNA;

D: Survivin-siRNA + cisplatin

2.5 Survivin-siRNA 转染增强 A549 细胞对顺铂的敏感性

在转染 survivin-siRNA 后联用顺铂, A549 细胞的增殖抑制[(67.11 ± 1.73)%]较单独 survivin-siRNA 转染组[(28.18 ± 1.59)%]明显增加,提示 survivin-siRNA 与顺铂对 A549 细胞的增殖抑制有协同作用($P < 0.01$)。而 nonsense-siRNA + 顺铂、pSilencer + 顺铂和脂质体 + 顺铂组对 A549 细胞的抑

制率无明显区别, 分别为(50. 22 ± 1. 80)%、(46. 35 ± 1. 89)% 和(45. 23 ± 1. 76)%(图 5)。结果说明 survivin-siRNA 质粒能够显著提高 A549 细胞对顺铂的敏感性。

表 1 Survivin-siRNA 转染增强顺铂诱导 A549 细胞的凋亡
Tab.1 Survivin-siRNA transfection enhanced apoptosis of A549 cells induced by cisplatin

Group	Apoptosis rate (%)	
	Ctrl	Cisplatin
Blank	1. 78 ± 0. 482	44. 12 ± 0. 861
pSilencer	1. 52 ± 0. 626	45. 00 ± 1. 187
Nonsense-siRNA	1. 90 ± 0. 731	45. 16 ± 1. 187
Survivin-siRNA	24. 18 ± 0. 867 **	64. 62 ± 1. 684 **

** P < 0. 01 vs Blank, pSilencer or Nonsense-siRNA

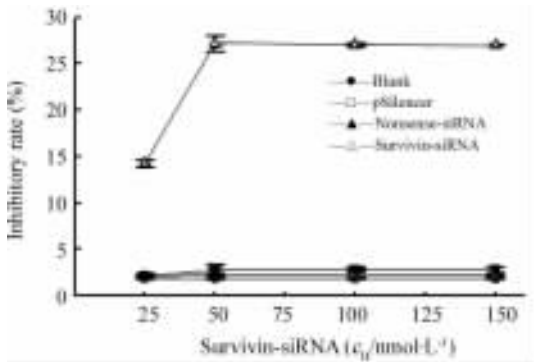


图 4 Survivin-siRNA 转染抑制 A549 细胞的增殖
Fig.4 Survivin-siRNA transfection inhibited proliferation of A549 cells

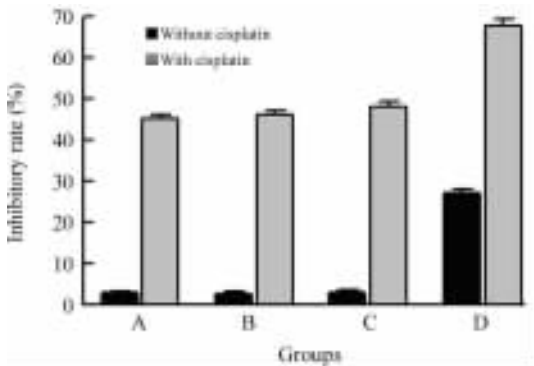


图 5 Survivin-siRNA 转染增强顺铂对 A549 细胞增殖的抑制作用

Fig.5 Survivin-siRNA transfection enhanced inhibitory effect of cisplatin on proliferation of A549 cells

A: Blank; B: pSilencer; C: Nonsense-siRNA; D: Survivin-siRNA

3 讨论

细胞凋亡的异常是肿瘤形成的关键因素之一, survivin 是 IAPs 家族的重要成员, 能够调节细胞凋亡和分化^[15]。目前的研究认为 survivin 能够通过直接抑制 caspase-7 和-8 的活性或间接抑制 caspase-9 的活性抑制细胞的凋亡; 此外 survivin 能够与细胞周期蛋白激酶 Cdk4 相互作用, 一方面抑制细胞的凋亡, 另一方面也能通过调控细胞周期促进细胞的增殖^[16,17]。Survivin 在多种肿瘤细胞中高表达^[18-20]; 在肺癌组织中, 免疫组织化学法检测其阳性表达率为 53. 6%, RT-PCR 法检测其阳性率高达 85. 5%, 而在正常肺组织中则几乎没有 survivin 蛋白的表达; 并且在肺癌组织中, survivin 的高表达与肿瘤的耐药和不良预后关系密切^[21-22]。Olie 等^[12]研究发现, 应用 survivin 反义寡核苷酸抑制肺癌 survivin 的表达, 可促进肿瘤细胞的凋亡, 同时增加肺癌细胞对化疗药物依托泊苷的敏感性。RNA 干扰技术较反义核酸技术更为高效, 而且 siRNA 质粒能够使 siRNA 在细胞内较稳定表达, 更好地满足临床治疗需要。目前的研究表明在某种程度上 RNA 干扰技术正在逐渐取代传统的反义核酸技术。

在非小细胞肺癌的化疗药物治疗中, 以顺铂为基础的化疗方案占主导地位, 而顺铂的抗癌疗效与剂量相关, 但剂量大时, 不良反应也增加, 从而限制了顺铂的使用; 同时肿瘤的耐药性也是困扰临床肿瘤治疗的一大难题, 因此亟需一种能够提高肿瘤对药物的敏感性, 并在较低剂量化疗药物作用下就能够有很好治疗效果的策略, 来增强化疗的疗效。本研究以 survivin 作为靶点, 通过 siRNA 干扰质粒降低 survivin 在肺癌细胞株 A549 中的表达, 观察 survivin 表达降低后 A549 细胞的生长、凋亡和对顺铂敏感性的变化, 以此来寻找肺癌治疗的新策略。

根据文献报道和 siRNA 的设计原则^[23-24], 本研究构建了 survivin-siRNA 干扰质粒, 转染 A549 细胞后, RT-PCR 和 Western blotting 检测表明 survivin mRNA 和蛋白的表达水平均显著降低, 说明构建的 survivin-siRNA 质粒能有效抑制 survivin 的表达。单纯的 survivin 表达降低, A549 细胞即可出现明显的凋亡; 当联合应用化疗药物顺铂时, 与 nonsense-siRNA 组相比, survivin-siRNA 转染组细胞凋亡增加, 其凋亡率达(64. 62 ± 1. 684)%, 提示抑制 survivin 表达后, A549 细胞对顺铂的敏感性显著增强。细胞增殖抑制实验中, survivin 表达降低后, A549 细胞出现明显的增殖抑制, survivin-siRNA 转染的同时联用

顺铂较比单纯顺铂组和单纯 survivin-siRNA 转染组的细胞增殖抑制更加明显,抑制达到了(67.11 ± 1.73)%,结果表明,survivin-siRNA 转染可降低化疗药物剂量、增强细胞对化疗的敏感性。

综上所述,本研究通过 RNA 干扰的方法降低 survivin 在肺癌细胞株 A549 中的表达,能抑制肿瘤细胞的增殖、促进肿瘤细胞凋亡,并增强其对顺铂的敏感性。Survivin 可以作为肺癌治疗的一个靶点^[13,25],RNA 干扰技术可以作为肺癌治疗的潜在技术^[26],靶向基因的 RNA 技术与化疗药物联合有望成为肺癌治疗的新策略。

[参 考 文 献]

- [1] Watanabe A, Taniguchi F, Izawa M, *et al.* The role of survivin in the resistance of endometriotic stromal cells to drug-induced apoptosis [J]. *Hum Reprod*, 2009. [Epub ahead of print].
- [2] Zaffaroni N, Costa A, Pennati M, *et al.* Survivin is highly expressed and promotes cell survival in malignant peritoneal mesothelioma [J]. *Cell Oncol*, 2007, 29(6): 453-466.
- [3] Kim R, Tanabe K, Uchida Y, *et al.* Current status of the molecular mechanisms of anticancer drug-induced apoptosis. The contribution of molecular-level analysis to cancer chemotherapy [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2002, 50(5): 343-352.
- [4] Okamura K, Koike H, Sekine Y, *et al.* Survivin and its spliced isoform gene expression is associated with proliferation of renal cancer cells and clinical stage of renal cancer [J]. *Cancer Epidemiol*, 2009, 33(2): 137-141.
- [5] Tsuji N, Asanuma K, Kobayashi D, *et al.* Introduction of a survivin gene-specific small interfering RNA inhibits growth of pancreatic cancer cells [J]. *Anticancer Res*, 2005, 25(6B): 3967-3972.
- [6] 颜笑健,梁立治,曾宗渊,等. Survivin shRNA 增强人卵巢癌耐药细胞 OVCAR3 对泰素敏感性的研究 [J]. *癌症*, 2006, 25(4): 398-403.
- [7] Foster FM, Owens TW, Tanihanis-Hughes J, *et al.* Targeting inhibitor of apoptosis proteins in combination with ErbB antagonists in breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2009, 11(3): R41.
- [8] Cai M, Wang GB, Tao KX, *et al.* Enhanced chemotherapy sensitivity of human colon cancer cells to 5-fluorouracil by siRNA recombinant expression vector targeting survivin gene [J]. *Chin Med Sci J*, 2009, 24(2): 97-101.
- [9] Hu Y, Kirito K, Yoshida K, *et al.* Inhibition of hypoxia-inducible factor-1 function enhances the sensitivity of multiple myeloma cells to melphalan [J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(8): 2329-2338.
- [10] Monzo M, Rosell R, Felip E, *et al.* A novel anti-apoptosis gene: re-expression of survivin messenger RNA as a prognosis marker in non-small-cell lung cancers [J]. *J Clin Oncol*, 1999, 17(7): 2100-2104.
- [11] Kren L, Brazdil J, Hermanova M, *et al.* Prognostic significance of anti-apoptosis proteins survivin and bcl-2 in non-small cell lung carcinomas: a clinicopathologic study of 102 cases [J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2004, 12(1): 44-49.
- [12] Olie RA, Simoes-Wust AP, Baumann B, *et al.* A novel antisense oligonucleotide targeting survivin expression induces apoptosis and sensitizes lung cancer cells to chemotherapy [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(11): 2805-2809.
- [13] Ryan BM, O'Donovan N, Duffy MJ. Survivin: a new target for anti-cancer therapy [J]. *Cancer Treat Rev*, 2009. [Epub ahead of print].
- [14] Wang Y, Zhu H, Quan L, *et al.* Downregulation of survivin by RNAi inhibits the growth of esophageal carcinoma cells [J]. *Cancer Biol Ther*, 2005, 4(9): 974-978.
- [15] Liu Q, Fu H, Xing R, *et al.* Survivin knockdown combined with apoptin overexpression inhibits cell growth significantly [J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7(7): 1053-1060.
- [16] Shin S, Sung BJ, Cho YS, *et al.* An anti-apoptotic protein human survivin is a direct inhibitor of caspase-3 and -7 [J]. *Biochemistry*, 2001, 40(4): 1117-1123.
- [17] Sarela AI, Verbeke CS, Ramsdale J, *et al.* Expression of survivin, a novel inhibitor of apoptosis and cell cycle regulatory protein, in pancreatic adenocarcinoma [J]. *Br J Cancer*, 2002, 86(6): 886-992.
- [18] Altieri DC. The molecular basis and potential role of survivin in cancer diagnosis and therapy [J]. *Trends Mol Med*, 2001, 7(12): 542-547.
- [19] Virrey JJ, Guan S, Li W, *et al.* Increased survivin expression confers chemoresistance to tumor-associated endothelial cells [J]. *Am J Pathol*, 2008, 173(2): 575-585.
- [20] Jin Q, Menter DG, Mao L, *et al.* Survivin expression in normal human bronchial epithelial cells: an early and critical step in tumorigenesis induced by tobacco exposure [J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(8): 1614-1622.
- [21] Yang H, Fu JH, Hu Y, *et al.* Influence of siRNA targeting survivin on chemosensitivity of H460/cDDP lung cancer cells [J]. *J Int Med Res*, 2008, 36(4): 734-747.
- [22] Yang CT, Li JM, Weng HH, *et al.* Adenovirus-mediated transfer of siRNA against survivin enhances the radiosensitivity of human non-small cell lung cancer cells [J]. *Cancer Gene Ther*, 2009. [Epub ahead of print].
- [23] Latronico MV, Condorelli G. RNA silencing: small RNA-mediated posttranscriptional regulation of mRNA and the implications for heart electrophysiology [J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2009, 20(2): 230-237.
- [24] Behlke MA. Chemical modification of siRNAs for *in vivo* use [J]. *Oligonucleotides*, 2008, 18(4): 305-319.
- [25] Song H, Xin XY, Xiao F, *et al.* Survivin gene RNA interference inhibits proliferation, induces apoptosis, and enhances radiosensitivity in HeLa cells [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2008, 136(1): 83-89.
- [26] Chen Y, Huang L. Tumor-targeted delivery of siRNA by non-viral vector: safe and effective cancer therapy [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2008, 5(12): 1301-1311.

[收稿日期] 2009 - 09 - 19

[修回日期] 2009 - 11 - 08

[本文编辑] 徐红梅