

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.05.011

· 基础研究 ·

沉默 *ABCE1* 基因对人食管癌 EC109 细胞凋亡、增殖、侵袭及迁移的影响

李小瑞¹, 岳军艳², 张清琴¹, 崔艳慧¹, 花勤亮¹, 寇小格¹, 李慧敏³(1. 新乡医学院第一附属医院肿瘤科, 河南卫辉 453100; 2. 新乡医学院第一附属医院影像科, 河南卫辉 453100; 3. 徐水县人民医院内科, 河北徐水 072550)

[摘要] **目的:**探讨电转法沉默 ATP 结合盒转运子 E1 (ATP-binding cassette protein E1, *ABCE1*) 基因的表达对人食管癌 EC109 细胞凋亡、增殖、侵袭及迁移的影响。**方法:**合成靶向 *ABCE1* 的 siRNA 序列 (*ABCE1*-siRNA) 以及阴性对照序列 (NC-siRNA), 电转法转染至 EC109 细胞, 分别形成 *ABCE1*-EC109、NC-siRNA-EC109 细胞。RT-PCR、Western blotting 检测转染后 EC109 细胞中 *ABCE1* mRNA 与蛋白的表达情况, 流式细胞术检测 EC109 细胞周期及凋亡, CCK-8 法、划痕愈合实验、Transwell 法分别检测 EC109 细胞的增殖、迁移以及侵袭的能力。**结果:***ABCE1*-EC109 细胞中 *ABCE1* mRNA 和蛋白表达较 NC-siRNA-EC109 细胞明显降低 [(0.47 ± 0.04) vs (0.67 ± 0.05)], [(0.63 ± 0.09) vs (0.86 ± 0.11)]; 均 $P < 0.05$ 。与 NC-siRNA-EC109 细胞相比, *ABCE1*-EC109 细胞的增殖速度明显减慢 [(2.20 ± 0.10) vs (2.91 ± 0.13)], $P < 0.05$, 细胞周期阻滞在 G₀/G₁ 期细胞数目明显增多 [(76.5 ± 3.1)% vs (56.1 ± 2.7)%], $P < 0.05$; 细胞的凋亡率明显升高 [(15.46 ± 3.12)% vs (0.54 ± 0.24)%], $P < 0.01$, 迁移、侵袭能力均显著下降 [迁移: (8.12 ± 0.23) vs (1.91 ± 0.11) μm, $P < 0.05$; 侵袭: (42.56 ± 4.68) vs (68.78 ± 6.98) 个, $P < 0.01$]。**结论:**电转法沉默 *ABCE1* 基因的表达可促进食管癌 EC109 细胞的凋亡, 抑制其体外增殖、侵袭及迁移。

[关键词] ATP 结合盒转运子 E1; 食管癌; 电转法; EC109 细胞; 凋亡; 增殖; 侵袭; 迁移

[中图分类号] R735.1; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)05-0569-06

Effect of *ABCE1* gene silencing on apoptosis, proliferation, migration and invasion of human esophageal carcinoma EC-109 cells

Li Xiaorui¹, Yue Junyan², Zhang Qingqin¹, Cui Yanhui¹, Hua Qinliang¹, Kou Xiaoge¹, Li Huimin³(1. Department of Oncology, First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Weihui 453100, He'nan, China; 2. Department of Radiology, First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Weihui 453100, He'nan, China; 3. Department of Internal Medicine, People's Hospital of Xushui Country, Xushui 072550, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of silencing ATP-binding cassette protein E1 (*ABCE1*) gene expression by electroporation on apoptosis, proliferation, migration and invasion of human esophageal squamous carcinoma EC-109 cells. **Methods:** The siRNA sequence (*ABCE1*-siRNA) targeting *ABCE1* and the negative control sequence (NC-siRNA) were constructed and transfected into EC109 cells to obtain *ABCE1*-EC109 and NC-siRNA-EC109 cells, respectively. The expressions of *ABCE1* mRNA and protein were detected by RT-PCR and Western blotting, respectively. Flow cytometry was used to detect the cell cycle and apoptosis of EC109 cells. The proliferation, migration and invasion of EC109 cells were evaluated by CCK-8 assay, wound closure assay and Transwell assay, respectively. **Results:** Compared with the NC-siRNA-EC109 cells, the expression levels of *ABCE1* mRNA and protein were significantly decreased in the *ABCE1*-EC109 cells [(0.47 ± 0.04) vs (0.67 ± 0.05)], [(0.63 ± 0.09) vs (0.86 ± 0.11)], both $P < 0.05$). Compared with the NC-siRNA-EC109 cells, the proliferation of *ABCE1*-EC109 cells was significantly decreased [(2.20 ± 0.10) vs (2.91 ± 0.13)], $P < 0.05$, the number of *ABCE1*-EC109 cells arrested at G₀/G₁ phase was increased [(76.5 ± 3.1) vs (56.1 ± 2.7)], $P < 0.05$, the cell apoptotic rate was increased [(15.46 ± 3.12) vs (0.54 ± 0.24)], $P < 0.01$, and the migration and invasion abilities were significantly decreased (migration: [8.12 ± 0.23] vs [1.91 ± 0.11], $P < 0.05$; invasion: [42.56 ± 4.68] vs [68.78 ± 6.98], $P < 0.01$). **Conclusion:** *ABCE1* gene silencing by electropo-

[作者简介] 李小瑞 (1968 -), 女, 河南省许昌市, 本科, 副主任医师, 主要从事防治食管癌方面的研究。E-mail: 707629438@qq.com

[通信作者] 李小瑞 (Li Xiaorui, corresponding author), E-mail: 707629438@qq.com

ration promotes the apoptosis of esophageal squamous carcinoma EC109 cells, and inhibits their proliferation, migration and invasion *in vitro*.

[**Key words**] ATP-binding cassette protein E 1 (ABCE1); esophageal carcinoma; electroporation; EC109 cell; apoptosis; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2013, 20(5): 569-574]

食管癌是人类最常见的消化道恶性肿瘤之一, 东方人群以食管鳞癌为主, 而西方人群则以食管腺癌较为常见^[1-2]。虽然化疗及新辅助化疗在食管癌的治疗中已得到了广泛的应用, 但是食管癌的预后仍不十分理想, 尤其是已发生临床转移和肿瘤复发的患者^[3-5]。近年来研究^[6-7]发现, ATP 结合盒转运子 E1 (ATP-binding cassette protein E1, ABCE1) 在肿瘤发生、发展中发挥着重要的作用, ABCE1 的表达异常可能与肿瘤的增殖、转移有关。本研究通过电转法沉默人食管癌 EC109 细胞中 ABCE1 基因的表达, 探讨其对食管癌细胞增殖、侵袭及迁移的影响, 为靶向 ABCE1 基因的食管癌治疗研究提供实验基础。

1 材料与方 法

1.1 细胞株及主要试剂

人食管癌 EC109 细胞购自中国典型培养物保藏中心(武汉大学保藏中心), DMEM 培养基、Opti-MEM、TRIzol、胰蛋白酶购自美国 Invitrogen 公司, FBS 购自美国 Gibco 公司, 质粒 pcDNA3.1 购自美国 Invitrogen 公司, 质粒提取试剂盒、RNA 提取试剂盒、DNA 凝胶纯化回收试剂盒均购自北京天根公司, DNA marker、RT-PCR 有关试剂购自 TaKaRa 公司, cDNA 合成试剂盒购自日本 Toyobo 公司, AMV 逆转录试剂盒购自杭州博日公司, RNA 干扰序列购自珠海英平生物技术有限公司, PCR 引物序列由上海吉玛制药技术有限公司合成, CCK-8 试剂盒购自 Beyotime 生物有限公司, 兔抗人 ABCE1 多克隆抗体、鼠抗 GAPDH 单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司, HRP 标记的兔抗羊 IgG 购自北京中杉公司, ECL 化学发光试剂盒购自美国 Thermo 公司, Matrigel gel 购自美国 BD 公司, PVDF 膜购自美国 Bio-Rad 公司。

1.2 靶向 ABCE1 的 siRNA 设计与合成

按照文献[8]设计靶向 ABCE1 基因的 ABCE1-siRNA 序列, 正义序列: 5'-ATCCGCTACAGCGAG-TACGTTTACCTGTGAAGCCACAGATGGGGTAAACGT-ACTCGCTTAGCTTTTTT-3', 反义序列: 5'-AATF-CAAAAAGCTACAGCGAGTACGTTTACCCCATCTGTGGCTTCACAGGTAACACTACTCGCTGTAGCG-3'; 无

同源性的阴性对照序列(negative control siRNA, NC-siRNA) 正义序列: 5'-GATCCGCGAGACCTCAGTAT-GTTACCTGTGAAGCCACAGATGGGGTAAACACTG-AGGTCTCGCTTTTTT-3', 反义序列: 5'-AATTCA-AAAAAGCGAGACCTCAGTATGTTACCCATCTGTGGC-TTCACAGGTAACACTACTGAGGTCTCGCG-3'。所有序列均由珠海英平生物技术有限公司合成。

1.3 ABCE1-siRNA 电转染 EC109 细胞

食管癌细胞株 EC109 细胞培养于含 10% 的小牛血清的 DMEM 培养基中, 于 37 ℃、5% CO₂ 孵箱内培养。取对数生长期的细胞, 制成单细胞悬液, 经 PBS 洗涤、胰酶消化、离心后, 加入电转液, 重悬细胞, 离心 800 × g 5 min, 洗涤细胞 3 次, 离心后重悬于电转液中, 移入电击杯, 加入 10 μg ABCE1-siRNA 质粒, 混匀, 冰上放置 0.5 h 后, 进行电穿孔(电压 450 V/cm, 电容 25 μF, 时间 0.9 ms), 转染后的细胞命名为 ABCE1-EC109 细胞, 室温下放置 0.5 h, 将细胞移入加有 DMEM 培养基(含 10% FBS, 1% 双抗) 的培养皿中, 置于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱内培养, 阴性对照质粒转染的细胞组(命名为 NC-siRNA-EC109 细胞), 同时空载体电转染作为对照(细胞命名为 Ctrl-EC109 细胞), 于转染 48 h 后进行 RNA 干扰效应的检测。

1.4 RT-PCR 检测 ABCE1 mRNA 的表达

分别收集 ABCE1-EC109、NC-siRNA-EC109、Ctrl-EC109 组细胞 1 × 10⁷ 个, PBS 冲洗 3 次, 用 TRIzol 试剂提取各组细胞总 RNA, 逆转录为 cDNA, 进行 PCR 扩增。ABCE1 上游引物: 5'-TTGGTTGTGG-GAAGTCGT-3', 下游引物: 5'-GCTTATGTAGTTAAT-GGGAGGT-3', 扩增产物为 415 bp。GAPDH 引物序列: 上游引物: 5'-GAGTCAACGGATTGGTCGT-3', 下游引物: 5'-GACAAGCTTCCCGTTCTCAG-3', 扩增产物为 185 bp。RT-PCR 反应条件: 95 ℃、5 min, 95 ℃、30 s, 60 ℃、30 s, 72 ℃、60 s, 共 35 个循环。PCR 产物经 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳后用凝胶成像仪观察结果, UVI 凝胶成像系统摄像, Image-Pro Plus 7.0 软件分析条带灰度值, 以 ABCE1/GAPDH 比值表示 ABCE1 mRNA 的相对表达量。

1.5 Western blotting 检测 ABCE1 蛋白的表达

分别收集各组 1×10^7 个细胞, PBS 冲洗 3 次, 提取总蛋白并测定蛋白浓度。60 μg 总蛋白质在 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后, 电转移至 PVDF 膜上, 5% 脱脂奶粉, 37 $^{\circ}\text{C}$ 封闭 2 h 后加入 1:1 000 稀释的 ABCE1 多克隆一抗与膜孵育 1 h, TBST 洗膜 4 次, 每次 15 min; 加入 1:5 000 HRP 标记的二抗, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 h, PBS 洗涤, ECL 试剂盒进行化学发光检测。X 线片压片、显影、定影。UVI 凝胶成像系统摄像, Image-Pro Plus 7.0 软件分析条带灰度值, 用 ABCE1/GAPDH 比值代表 ABCE1 蛋白的相对表达量。

1.6 流式细胞术检测 EC109 细胞周期

收集各组细胞, 调整细胞密度至 1×10^3 个/ml, 预冷 PBS 洗涤 2 次, 细胞沉淀用 70% 冰乙醇 4 $^{\circ}\text{C}$ 混匀备用, 洗涤细胞, PBS 调整细胞密度至 1×10^6 /ml, 与含 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ RNA 酶的 Tris-HCl 缓冲液 (pH7.4) 共同孵育 30 min, 碘化丙啶进行细胞 DNA 染色, 室温避光保存 30 min 后, 流式细胞仪检测细胞周期和凋亡, 实验重复 3 次。

1.7 CCK8 法检测 EC109 细胞的增殖

按 4×10^3 个/孔的细胞密度将 EC109 细胞接种于 96 孔培养板上, 加入含 10% 胎牛血清 DMEM 培养基 200 μl , 每组设 6 个复孔, 另设空白孔作为对照。每孔加入 CCK-8 20 μl , 培养箱孵育 4 h 后, 酶标仪检测 490 nm 处光密度 *D* 值, 并绘制细胞生长曲线。

1.8 划痕实验检测 EC109 细胞的迁移

取对数生长期 ABCE1-EC109 细胞、NC-siRNA-EC109 细胞、Ctrl-EC109 细胞, 分别以 5×10^3 个/孔的细胞密度接种于 6 孔板上, 待各组细胞汇合度达到 90% 后, 用 10 μl 移液枪头或无菌牙签在单层细胞上呈“一”字划痕。0.01 mol/L PBS 洗涤 3 次去除漂浮细胞, 分别用 2 ml 培养基重悬细胞, 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 继续培养, 48 h 后倒置显微镜下观察细胞迁移情况, 并拍照。细胞迁移率 (%) = (初始划痕宽度值 - 相应时间点划痕宽度值) / 初始划痕宽度值 $\times 100\%$ 。

1.9 Transwell 法检测 EC109 细胞的侵袭

在聚碳酸酯微孔滤膜上铺 Matrigel 50 $\mu\text{g}/\text{孔}$, 在聚合好的小室下室加入 10% 的胎牛血清做条件培养液, 在上室加入按上述各组处理过的 EC109 细胞悬液 100 μl (细胞总数为 300 个/ml), 置于培养箱中 24 h 后取出, 4% 多聚甲醛固定 10 min, 苏木精溶液染色 20 min, 光镜下计数膜下表面的细胞。每张

膜分别计数 5 个随机视野的穿膜细胞, 计算平均数。每组平行设 3 个小室, 重复 3 次。细胞侵袭率 (%) = 穿膜细胞数 / 上室中接种的细胞总数 $\times 100\%$

1.10 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS16.0 统计软件, 多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ABCE1-siRNA 转染抑制 EC109 细胞中 ABCE1 mRNA 的表达

RT-PCR 法检测结果 (图 1) 显示, 与 NC-siRNA-EC109 和 Ctrl-EC109 组比较, ABCE1-EC109 细胞中 ABCE1 mRNA 的表达明显减少 [(0.47 \pm 0.04) vs (0.67 \pm 0.05), (0.68 \pm 0.06), 均 $P < 0.05$]。Ctrl-EC109 组和 NC-siRNA-EC109 组比较, 差异则无统计学意义 ($P > 0.05$)。结果提示, ABCE1-siRNA 转染能够抑制 EC109 细胞中 ABCE1 mRNA 的表达。

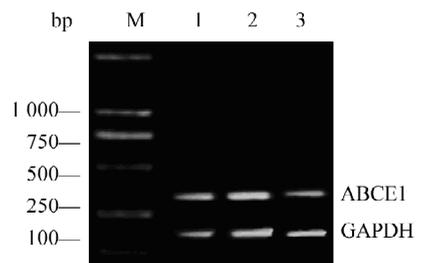


图 1 RT-PCR 检测 ABCE1-EC109 细胞中 ABCE1 mRNA 的表达

Fig.1 Expression of ABCE1 mRNA in EC109 cells detected by RT-PCR
M: Marker; 1: Ctrl-EC109; 2: NC-siRNA-EC109; 3: ABCE1-EC109

2.2 ABCE1-siRNA 转染抑制 EC109 细胞中 ABCE1 蛋白的表达

Western Blotting 检测结果 (图 2) 显示, 与 NC-siRNA-EC109 组和 Ctrl-EC109 组比较, ABCE1-EC109 组细胞中 ABCE1 蛋白的表达明显减少 [(0.63 \pm 0.09) vs (0.86 \pm 0.11), (0.86 \pm 0.10), 均 $P < 0.05$]。Ctrl-EC109 和 NC-siRNA-EC109 组比较, 差异则无统计学意义 ($P > 0.05$)。结果提示, ABCE1-siRNA 转染能够抑制 EC109 细胞中 ABCE1 蛋白的表达。

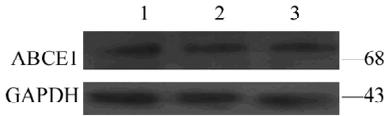


图2 Western Blotting 检测 ABCE1-EC109 细胞中 ABCE1 蛋白的表达

Fig.2 Expression of ABCE1 protein in EC109 cells detected by Western blotting

1: Ctrl-EC109; 2: NC-siRNA-EC109; 3: ABCE1-EC109

2.3 转染 ABCE1-siRNA 阻滞 EC109 细胞周期于

表1 转染 ABCE1-siRNA 对 EC109 细胞周期及凋亡率的影响($\bar{x} \pm s, \%$)

Tab. 1 Effect of ABCE1-siRNA transfection on cell cycle and apoptotic rate of EC109 cells($\bar{x} \pm s, \%$)

Group	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M	Apoptotic rate
NC-siRNA-EC109	56.1 ± 2.7	35.5 ± 2.9	8.7 ± 1.0	0.54 ± 0.24
Ctrl-EC109	54.2 ± 2.5	36.0 ± 2.6	9.2 ± 1.1	0.64 ± 0.28
ABCE1-EC109	76.5 ± 3.1 **	16.2 ± 1.4 **	8.4 ± 1.3	15.46 ± 3.12 **

** P < 0.01 vs Ctrl-EC109, NC-siRNA-EC109 cell

2.5 ABCE1-EC109 细胞增殖率降低

CCK-8 法检测后绘制生长曲线, 结果(图 3) 显示, 转染 ABCE1-siRNA 72 h 后, ABCE1-EC109 组较 Ctrl-EC109 组和 NC-siRNA-EC109 组细胞增殖率明显降低(P < 0.05), 而 Ctrl-EC109 组和 NC-siRNA-EC109 组相比, 差异则无统计学意义。

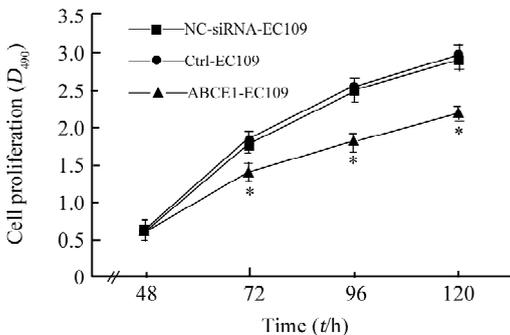


图3 CCK-8 法检测 ABCE1-EC109 细胞的增殖

Fig.3 Proliferation of ABCE1-EC109 cells detected by CCK-8 assay

* P < 0.05 vs Ctrl-EC109 cells

2.6 转染 ABCE1-siRNA 抑制 EC109 细胞的迁移

G₀/G₁ 期并促进细胞的凋亡

流式细胞仪分析结果(表 1) 显示, ABCE1-EC109 组 G₀/G₁ 期细胞数较 Ctrl-EC109 组和 NC-siRNA-EC109 组明显增高(P < 0.05), 而 Ctrl-EC109 和 NC-siRNA-EC109 比较差异则无统计学意义(P > 0.05)。此外, ABCE1-EC109 组细胞凋亡率显著高于 Ctrl-EC109 组和 NC-siRNA-EC109 组(P < 0.01), 而 Ctrl-EC109 与 NC-siRNA-EC109 的凋亡率则无统计学差异(P > 0.05)。结果表明, 转染 ABCE1-siRNA 使细胞周期阻滞于 G₀/G₁ 期, 抑制了 EC109 细胞的增殖, 并促进细胞的凋亡。

细胞划痕损伤实验结果(图 4) 显示, 转染 ABCE1-siRNA 48 h 后, ABCE1-EC109 组细胞划痕愈合缓慢[(8.12 ± 0.23) μm], 而 Ctrl-EC109 组和 NC-siRNA-EC109 组细胞划痕已基本长满[(1.91 ± 0.11), (1.92 ± 0.12) μm]。结果说明, ABCE1-siRNA 转染抑制 EC109 细胞的迁移。

2.7 转染 ABCE1-siRNA 抑制 EC109 细胞的侵袭

Transwell 检测结果(图 5) 显示, Ctrl-EC109 和 NC-siRNA-EC109 组穿过滤膜的细胞数量分别为 (69.45 ± 5.84) 和 (70.36 ± 6.23) 个, ABCE1-EC109 组细胞穿膜细胞数为 (42.56 ± 4.68) 个, 明显少于前两组(P < 0.01)。结果表明, 特异性干扰 ABCE1 基因表达可有效降低 EC109 细胞的侵袭能力。

3 讨论

电穿孔技术是近 20 年来发展起来的一种具有可重复性、高效、样本处理量大、无毒性、利于实验参数控制等优点^[9-10], 它对传统转染效果不理想的细胞具有很好的效果, 因此被选为最佳的分子传递系统^[11-12]。肿瘤的发生是一个多阶段逐步演进的过程, 细胞通过一系列进行性的改变而向恶性发展^[13-15]。通过电穿孔法抑制癌基因或调控分子表达可能成为一种新的治疗策略。

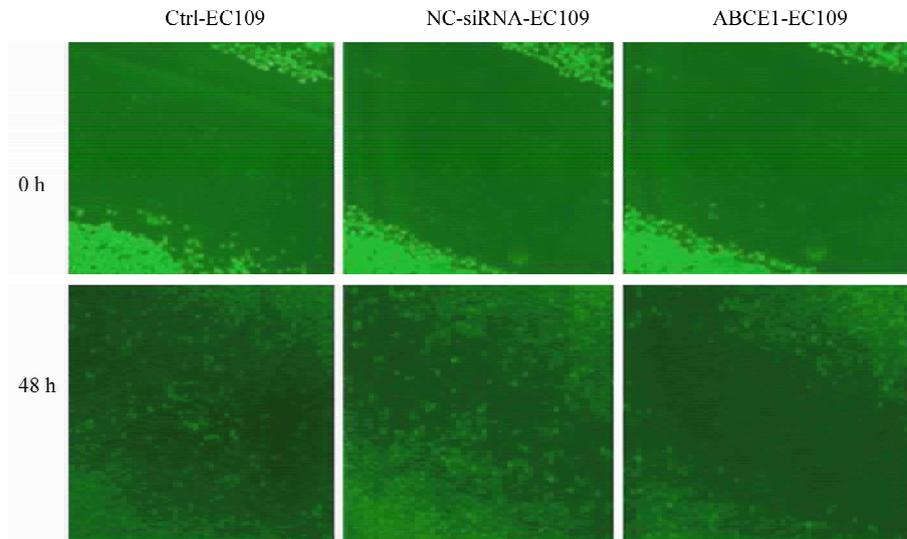


图4 划痕损伤实验检测转染 *ABCE1*-siRNA 后 EC109 细胞的迁移能力($\times 100$)

Fig. 4 Migration ability of EC109 cells after *ABCE1*-siRNA transfection detected by cratch healing experiment ($\times 100$)



图5 Transwell 法检测转染 *ABCE1*-siRNA 后 EC109 细胞的侵袭能力($\times 200$)

Fig. 5 Invasion ability of EC109 cells after *ABCE1*-siRNA transfection detected by Transwell assay ($\times 200$)

ABCE1 基因定位于常染色体 4q31, 是 ATP 结合盒转运子亚家族的成员之一, 具有高度的保守性, 编码核糖核酸酶 L 蛋白, 参与了肿瘤的形成和发展^[16-17]。该蛋白能够阻断干扰素介导的细胞抗病毒 2-5A/*RNase L* 通路, 抑制细胞凋亡的过程。越来越多的证据^[18]表明, *ABCE1* 与癌细胞生长调控和迁移侵袭密切相关, 并在促进细胞增殖分化及蛋白质合成方面发挥着重要作用。研究^[19]表明, 抑制 *ABCE1* 在肿瘤细胞系中的表达可明显阻碍肿瘤细胞的生长, 因此, 阻断肿瘤细胞中 *ABCE1* 的表达可起到治疗肿瘤的作用。为探讨 *ABCE1* 在食管癌细胞迁移中的作用, 本研究采用电穿孔法抑制食管癌 EC109 细胞 *ABCE1* 基因的表达后, EC109 细胞的增殖明显减慢, 迁移能力显著下降; *ABCE1* 基因沉默后, 被阻滞在 G_0/G_1 期的细胞数目明显增加, 细胞凋亡明显增强, 同时划痕试验和 Transwell 侵袭实验

表明, *ABCE1* 基因沉默后食管癌 EC109 细胞的迁移能力和侵袭能力明显降低。此结论与赵等^[20]对肺癌 95-D/NCI-H446 细胞的研究结果相同。

综上, *ABCE1* 基因不仅与肿瘤细胞的迁移和侵袭能力密切相关, 而且在促进肿瘤细胞增殖方面起着重要的作用^[21]。特异性干扰 *ABCE1* 基因表达可显著抑制食管癌 EC109 细胞的迁移, 并抑制肿瘤细胞的增殖, 因此, *ABCE1* 的 siRNA 序列可能成为治疗食管癌的有效靶点。电穿孔法抑制 *ABCE1* 的表达可能会为食管癌等恶性肿瘤的治疗提供新的思路。

[参 考 文 献]

- [1] Shimizu M, Zaninotto G, Nagata K, et al. Esophageal squamous cell carcinoma with special reference to its early stage [J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2013, 27(2): 171-186.

- [2] Digkila A, Voutsadakis IA. Targeted treatments for metastatic esophageal squamous cell cancer [J]. World J Gastrointest Oncol, 2013, 5(5): 88-96.
- [3] 张红生. 甘氨酸双唑钠联合同步放化疗治疗局部中晚期食管癌临床分析 [J]. 现代肿瘤医学, 2012, 20(1): 91-93.
- [4] 郑春鹏, 傅俊惠, 徐建芳, 等. 多西他赛联合顺铂铂行食管癌新辅助化疗的疗效观察 [J]. 中国癌症杂志, 2010, 20(7): 531-534.
- [5] Fokas E, Weiss C, Rödel C. The role of radiotherapy in the multimodal management of esophageal cancer [J]. Dig Dis, 2013, 31(1): 30-37.
- [6] 任翼, 刘永煜, 刘德贵, 等. RNA 干扰介导 *ABCE1* 基因沉默对人肺腺癌 A549 细胞增殖的影响 [J]. 辽宁医学杂志, 2010, 24(1): 22-25.
- [7] Chen ZQ, Dong J, Ishimura A, et al. The essential vertebrate *ABCE1* protein interacts with eukaryotic initiation factors [J]. J Biol Chem, 2006, 281(11): 7452-7457.
- [8] 郑毛根, 田大力, 黄波. *ABCE1* 基因 siRNA 表达质粒的构建及鉴定 [J]. 中国医科大学学报, 2007, 36(6): 697-699.
- [9] 曾琦, 夏晓波. 脂质体法和电穿孔法体外转染 SD 大鼠视网膜 Müller 细胞的比较 [J]. 国际眼科杂志, 2010(2): 247-249.
- [10] Tsuchida S, Arai Y, Kishida T, et al. Silencing the expression of connexin 43 decreases inflammation and joint destruction in experimental arthritis [J]. J Orthop Res, 2013, 31(4): 525-530.
- [11] 韦芳, 王丰, 刘新建, 等. 电穿孔介导免疫调节因子及血管生成抑制因子转移治疗脉络膜黑色素瘤 [J]. 中华眼底病杂志, 2011, 27(1): 33-36.
- [12] Arabsolghar R, Rasti M. Optimal electroporation condition for small interfering RNA transfection into MDA-MB-468 cell line [J]. Iran J Med Sci, 2012 37(3): 187-193.
- [13] Lassmann S, Schuster I, Walch A, et al. STAT3 mRNA and protein expression in colorectal cancer: Effects on STAT3-inducible targets linked to cell survival and proliferation [J]. J Clin Pathol, 2007, 60(2): 173-179.
- [14] Chen SH, Li D, Xu C. Down regulation of *Coll1a1* induces differentiation in mouse spermatogonia [J]. Asian J Androl, 2012, 14(6): 842-849.
- [15] Terova G, Rimoldi S, Bernardini G, et al. Inhibition of myostatin gene expression in skeletal muscle of fish by *in vivo* electrically mediated dsRNA and shRNAi delivery [J]. Mol Biotechnol, 2013, 54(2): 673-684.
- [16] 郑毛根, 赵艾君, 田大力, 等. *ABCE1* 基因的 siRNA 转染对肺癌 NCI-H446 细胞 E-cadherin、 β -catenin 表达的影响 [J]. 山东医药, 2009, 38(49): 14-15.
- [17] Aritoshi I, Susumu S, Akihiro S, et al. Catalog of 605 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) among 13 genes encoding human ATP-binding cassette transporters: ABCA4, ABCA7, ABCA8, ABCD1, ABCD3, ABCD4, ABCE1, ABCF1, ABCG1, ABCG2, ABCG4, ABCG5, and ABCG8 [J]. J Hum Genet, 2002, 47(6): 285-310.
- [18] Vander D, Elisabeth GE, Wim T, et al. ATP-binding cassette (ABC) transporters in normal and pathological lung [J]. Respir Res, 2005, 6(1): 59-75.
- [19] 郑毛根, 高英, 黄波, 等. RNA 干扰 *ABCE1* 基因后可抑制肺癌 95D/NCI-H446 细胞的增殖和诱导细胞凋亡 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2009, 36(11): 1475-1482.
- [20] 赵艾君, 郑毛根, 王国臣, 等. RNA 干扰 *ABCE1* 基因后可增加肺癌 95-D/NCI-H446 细胞的 E-钙黏附蛋白表达并减低细胞侵袭力 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2010, 37(8): 891-896.
- [21] 周红丽, 靳蕊霞, 韩亚荣, 等. *ABCE1* 基因在人肾小球系膜细胞中的表达 [J]. 基础医学与临床, 2010, 30(4): 424-425.
- [收稿日期] 2013-05-25 [修回日期] 2013-07-30
[本文编辑] 韩丹, 周玲琳

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中须写成斜体的外文字符

在科技文稿中出现许多外文字符, 它们有的是正体、有的是斜体。正体和斜体外文字符各有其特定含义和用法, 切不可混淆使用。现根据有关标准和规则, 把生物医学文稿中须要写成斜体的外文字符归纳为以下几类:

(1) 生物学中拉丁学名的属名和种名(包括亚属、亚种、变种)应斜体, 例如大肠杆菌 *Escherichia coli*、幽门螺杆菌 *Helicobacter pylori* 等。(2) 各种基因的缩写符号应斜体(基因表达产物缩写符号应写成正体), 例如人脆性 X 智力低下基因 1 的符号为 *FMR1*、原癌基因 *RAF1* (人)、病毒癌基因 *v-raf-1* (鼠)、抑癌基因 *p53* (鼠) 等。(3) 限制性内切核酸酶缩写符号中前 3 个字母应斜体, 例如 *Hind* III、*Bam* HI、*Sal* I 等。(4) 各种统计学符号应斜体, 例如样本数 *n*、均数 \bar{x} 、样本差 *s*、*t* 检验、*F* 检验、概率 *P*、相关系数 *r* 等。(5) 各种物理量的量符号应斜体(*pH* 用正体除外), 例如长度 *L* (*l*)、面积 *A* (或 *S*)、体积 *V*、质量 *m*、时间 *t*、压力 *p*、相对分子质量 *M_r*、物质的量浓度 *c_B* 等。(6) 化学中表示旋光性、分子构型、构象、取代基等符号应斜体, 例如左旋 *L*-、右旋 *D*-、邻位 *o*-、对位 *p*-、反式 *trans*-、顺式 *cis*- 等。(7) 数学中用字母表示的变数和一般函数应斜体。(8) 英文中使用的某些拉丁词应斜体, 例如 *vs*、*in situ*、*in vivo*、*in vitro* 等。