

[文章编号] 1000 - 4718(2008)01 - 0192 - 04

# hTERT 反义寡核苷酸促进紫杉醇诱导 Hut78 细胞凋亡\*

徐秀莲, 陈浩, 刘毅, 曾学思, 孙建方<sup>△</sup>

(中国医学科学院、中国协和医科大学皮肤病医院病理研究室, 江苏 南京 210042)

**[摘要]** 目的: 探讨转染人端粒酶逆转录酶基因(hTERT)反义寡核苷酸后能否增强紫杉醇诱导皮肤 T 细胞淋巴瘤细胞株 Hut78 凋亡。方法: 采用脂质体介导的基因转染技术将 hTERT 反义寡核苷酸(AODN)、正义寡核苷酸(SODN)导入 Hut78 细胞株中, 应用端粒酶重复序列扩增及酶联免疫吸附方法(TRAP-PCR-ELISA)、逆转录-聚合酶链反应、四甲基偶氮唑蓝法(MTT)、台盼蓝拒染法和流式细胞仪分析测定联合应用紫杉醇后对细胞端粒酶活性、hTERT mRNA 表达、细胞增殖及凋亡的影响。结果: 转染 hTERT 基因反义寡核苷酸并联合应用紫杉醇, 48 h 后 Hut78 细胞增殖即被明显抑制, 端粒酶活性下降, hTERT mRNA 表达降低, 分别同 SODN 联合紫杉醇组及单用紫杉醇组进行比较, 有显著差异( $P < 0.05$ ); MTT 结果显示, 紫杉醇对 AODN 组、SODN 组及空白对照组细胞的  $IC_{50}$  值分别为  $(81.10 \pm 1.68)$  nmol/L,  $(138.70 \pm 1.80)$  nmol/L 和  $(139.40 \pm 5.50)$  nmol/L, 差异显著( $P < 0.05$ ); 经流式细胞仪检测, AODN 联合紫杉醇组凋亡率明显高于 SODN 联合紫杉醇组和单用紫杉醇组。结论: hTERT 反义寡核苷酸与紫杉醇有协同抗肿瘤效应, 并能增加 Hut78 细胞对紫杉醇的敏感性, 促进紫杉醇诱导 Hut78 细胞凋亡。

**[关键词]** 端粒, 末端转移酶; 皮肤肿瘤; 寡核苷酸类, 反义; 紫杉醇

**[KEY WORDS]** Telomerase; Skin neoplasms; Oligonucleotides, antisense; Paclitaxel

**[中图分类号]** R363 **[文献标识码]** A

皮肤 T 细胞淋巴瘤(cutaneous T cell lymphoma, CTCL)是 1 组异质性的 T 细胞来源的恶性肿瘤, 以皮肤损害为初发和突出表现, 近年来其发病率和病死率呈上升趋势。早期 CTCL 治疗效果较好, 但中晚期 CTCL 仍以化疗为主, 但化疗药物存在副作用较大、抗癌谱窄和易产生耐药等缺点, 常导致化疗失败。研究发现 85% 以上的 CTCL 组织均表达端粒酶活性, 而正常组织端粒酶阴性, 因此通过抑制端粒酶活性的手段(如反义核酸技术)来抑制肿瘤生长已成为肿瘤治疗的新途径。紫杉醇是近年来发展的 1 种新型广谱抗癌药物, 体外研究表明它可降解端粒, 使端粒长度缩短, 诱导细胞凋亡, 与端粒酶抑制剂联用有协同抗肿瘤的作用<sup>[1]</sup>。本研究将通过联合应用 hTERT 反义寡核苷酸和紫杉醇处理 Hut78 细胞, 探讨 2 者对 Hut78 细胞的作用及其协同作用, 期望为 CTCL 的治疗开辟 1 条新途径。

## 材 料 和 方 法

### 1 主要试剂与材料

根据 hTERT 基因 cDNA 的序列分析设计寡核苷酸序列, AODN 序列: 5' - AGCGCGCGCATCGCGGG - 3', 经 GenBank 检索证实与 hTERT 基因以外的已知人类基因无同源性; SODN 序列: 5' - CCGCGATGCCGCGCTC - 3', 每 1 条链均进行全程硫代修饰, 由上海生工生物工程公司合成、纯化、分装, -20 °C 保存备用。DOTAP 转染试剂和端粒酶 PCR

-ELISA 试剂盒购自瑞士 Roche 公司; 紫杉醇、四甲基偶氮唑蓝(MTT)、二甲基亚砜(DMSO)、碘化丙啶、RNase A 购自 Sigma 公司; RPMI - 1640 培养基购自美国 Gibco 公司; 紫杉醇用无水乙醇配成 100 mmol/L 母液, -20 °C 贮存备用。

### 2 方法

**2.1 细胞培养与实验分组** Hut78 细胞为 CTCL 细胞株(来源于 Sezary 综合征), 购自上海细胞生物研究所。在含 10% 新生牛血清的 RPMI - 1640 培养基, 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度条件下培养, 每 3 - 4 d 换液传代, 实验选用对数生长期细胞。实验分为 6 组: AODN 组、SODN 组、紫杉醇组、AODN + 紫杉醇组、SODN + 紫杉醇组、空白对照组。细胞接种密度为  $2 \times 10^5$  个细胞, 上述各组第 1 d 加入的寡核苷酸转染液浓度为 30 μmol/L, DOTAP 脂质体浓度为 6 mg/L; 相应各组 24 h 后加入终浓度为 200 nmol/L 的紫杉醇; 空白对照组加入等量的培养液。分别于寡核苷酸转染后 36 h、48 h、72 h(紫杉醇相应时间为 12 h、24 h、48 h)收集细胞进行检测。

**2.2 端粒酶活性的检测** 端粒酶活性检测根据 Roche 公司端粒酶 PCR-ELISA 试剂盒使用方法操作。(1)制备细胞裂解液: 收集  $3 \times 10^5$  个细胞, 用预冷的 PBS 洗 1 次, 加入 200 μL 细胞裂解液, 冰浴 30 min, 4 °C 下  $16\ 000 \times g$  离心 20 min。(2)端粒重复序列扩增(TRAP)反应: ①引物延伸: 25 °C, 30 min; ②端粒酶灭活: 94 °C, 5 min; ③PCR 扩增: 反应体系为 50 μL, 包括 P1-TS 和 P2 引物、dNTPs、Taq 酶等。然后经

[收稿日期] 2006 - 05 - 31 [修回日期] 2007 - 01 - 19

\* [基金项目] 国家教委高校博士点基金资助项目(No. 20030023055)

<sup>△</sup>通讯作者 Tel: 025 - 85478015; E-mail: sunjf@hotmail.com

94 °C 30 s; 50 °C 30 s; 72 °C 90 s, 共 30 个循环, 最后 72 °C 10 min 进行延伸。(3) 杂交: 扩增产物变性后, 与地高辛标记的探针杂交, 杂交混合液移入预包被的反应板中, 使杂交产物与反应板上的链霉菌素蛋白结合。(4) ELISA: 将过氧化物酶标记的抗地高辛抗体加入反应板, 反应后加入酶反应底物, 显色后置酶标仪上读取波长为 450/630 nm 处吸光度。(5) 电泳及银染: 取 10 μL 扩增后的产物在 12% 非变性的聚丙烯酰胺凝胶电泳上进行电泳分离, 100 V 2 h。

**2.3 hTERT 基因表达的检测** 取  $1 \times 10^6$  个细胞, 按 Tripure 试剂盒说明书提取细胞总 RNA, 取 1 μg 总 RNA, 用 Oligo (dT)<sub>15</sub> 作引物反转录成 cDNA。hTERT 基因的引物参照文献<sup>[2]</sup>设计, 上游引物 (20 μmol/L) 为 5' - CGGAAGACTGTCTGGAGCAA - 3', 下游引物为 (20 μmol/L) 5' - GGATGAAGCGGAGTCTGA - 3', 扩增片段长度为 145 bp。并同时扩增 GAPDH 作为定量内标, GAPDH 上游引物 (4 μmol/L) 为 5' - CGGAGTCAACGGATTGGTTCG - 3', 下游引物 (4 μmol/L) 为: 5' - AGCCTTCTCCATGGTGTGAAGAC - 3', 扩增片段长度为 307 bp。PCR 反应条件为: 在 50 μL 反应体系中, 加入 3 μL cDNA, 5 μL 10 × Ex Taq 缓冲液、1.25 U Ex Taq、4 μL 2.5 mmol/L 的 dNTPs、上下游引物各 1 μL, ddH<sub>2</sub>O 补充至 50 μL。94 °C 预变性 3 min; 然后 94 °C 30 s, 57 °C 45 s, 72 °C 30 s, 共 30 个循环。扩增产物进行 2% 琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙啶染色。凝胶分析仪扫描, 计算 hTERT 的相对含量。

**2.4 细胞生长动力学变化的检测** 取对数生长期肿瘤细胞接种于 96 孔板, 分组同上, 每组设 3 个复孔。分别于寡核苷酸转染后的不同时间, 采用台盼蓝拒染法计算活细胞数, 绘制细胞生长曲线; 采用 MTT 比色法检测细胞生长抑制率, 计算 IC<sub>50</sub> 值, 同样每组设 3 个复孔, 转染后每隔 24 h 向每孔内加

入 20 μL MTT (5 g/L) 溶液, 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱内培养细胞 4 h, 1 000 r/min 离心 5 min, 弃去孔内培养液, 每孔加入 150 μL 二甲亚砜 (DMSO), 振荡 10 min, 使结晶物充分溶解, 在酶标仪上测 490 nm 波长处各孔的吸光度。细胞生长抑制率 = (1 - 实验组 A 值 / 空白对照组 A 值) × 100%。

**2.5 流式细胞仪检测细胞凋亡** 收集上述各组培养后的细胞, PBS 洗 2 遍, 用预冷的 70% 乙醇细胞固定 24 h, 离心去除乙醇, PBS 洗 2 遍, 重悬细胞于 0.5 mL PBS 中, 加入 10 g/L RNase A 10 μL, 37 °C 水浴中孵育 30 min 后, 立即放入冰浴中, 加入 1 g/L 的碘化丙啶 25 μL, 置 4 °C 冰箱内染色 30 min 后, 在流式细胞仪上进行检测, 低于 G<sub>1</sub> 期 DNA 含量的细胞为凋亡细胞。

### 3 统计学处理

应用 SPSS 软件进行统计学处理, 数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 均数的组间比较采用单因素方差分析。

## 结 果

### 1 hTERT 寡核苷酸联合紫杉醇对 Hut78 细胞端粒酶活性的抑制作用

由表 1 和图 1 看出, 单独应用 hTERT 基因反义寡核苷酸作用 36 h 后, 端粒酶的活性开始下降, 至 72 h 时, 下降最为明显, 端粒酶活性的抑制率为 54.46%, SODN 值至 72 h 也略有降低, 但与对照组相比, 差别无显著 ( $P > 0.05$ )。单独应用紫杉醇作用于 Hut78 细胞 48 h 时端粒酶活性开始下降, 72 h 时下降最为明显, 端粒酶活性的抑制率为 46.05%。当紫杉醇与 AODN 合用时对端粒酶的抑制作用强于单独使用 ( $P < 0.05$ ), 端粒酶活性的抑制率为 83.71%, 而紫杉醇与 SODN 合用时与单独使用对端粒酶的抑制作用无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

表 1 30 μmol/L 的寡核苷酸联合 200 nmol/L 的紫杉醇作用 72 h 时对端粒酶活性的影响

Tab 1 The effects of 30 μmol/L of oligodeoxynucleotide combined with 200 nmol/L of paclitaxel (P) on telomerase activity ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Time	Control	AODN	SODN	P	AODN + P	SODN + P
36 h	2.84 ± 0.14	2.02 ± 0.08	2.74 ± 0.07	3.30 ± 0.10	2.46 ± 0.04	3.16 ± 0.19
48 h	2.82 ± 0.12	1.74 ± 0.08	2.72 ± 0.06	2.66 ± 0.03	1.56 ± 0.04	2.63 ± 0.08
72 h	2.81 ± 0.07	1.31 ± 0.03*	2.71 ± 0.05	1.52 ± 0.04*	0.46 ± 0.06 <sup>Δ</sup>	1.44 ± 0.04

\*  $P < 0.05$  vs control group; <sup>Δ</sup>  $P < 0.05$  vs P group and SODN + P group.

### 2 hTERT 寡核苷酸联合紫杉醇对 Hut78 细胞 hTERT mRNA 表达的影响

由图 2 可以看出, 单独应用 hTERT 反义寡核苷酸作用 72 h 后, hTERT mRNA 表达明显减弱, 扫描半定量分析表明, 转染 AODN 72 h 后 Hut78 细胞 hTERT mRNA 与对照组相比下降了约 56.27%; 而 SODN 和 DOTAP 转染试剂处理组细胞的 hTERT mRNA 表达与对照组相比, 差别不明显。单独应用紫杉醇作用于 Hut78 细胞 48 h 时对 hTERT mRNA 表达的抑制率为 35.20%, 而紫杉醇与 hTERT 反义寡核苷酸合用时对 hTERT mRNA 表达的抑制率为 78.19%。

### 3 hTERT 寡核苷酸联合紫杉醇对 Hut78 细胞增殖的抑制作用

台盼蓝法显示, 200 nmol/L 的紫杉醇作用于 Hut78 细胞, 随时间延长, 紫杉醇组、紫杉醇 + SODN 组细胞存活率缓慢下

降, 而紫杉醇 + AODN 组细胞则明显下降 (图 3), 差异显著 ( $P < 0.05$ )。MTT 结果显示不同浓度紫杉醇作用于转染寡核苷酸的 Hut78 细胞后, 随浓度增加, 紫杉醇组和紫杉醇联合 SODN 组对细胞生长的抑制率逐渐增加, 而紫杉醇联合 AODN 组对细胞生长的抑制率呈明显增加 (图 4)。紫杉醇作用 48 h 时, 紫杉醇联合 AODN 组的 IC<sub>50</sub> 值为 (81.10 ± 1.68) nmol/L, 紫杉醇组和紫杉醇联合 SODN 组 IC<sub>50</sub> 值分别为 (139.40 ± 5.50) nmol/L 和 (138.70 ± 1.80) nmol/L, 与其它 2 组相比, 紫杉醇联用 AODN 组细胞的 IC<sub>50</sub> 值明显减少 ( $P < 0.05$ )。

### 4 hTERT 寡核苷酸联合紫杉醇对 Hut78 细胞的促凋亡作用

流式细胞仪检测结果表明, 30 μmol/L AODN 作用于 Hut78 细胞 48 h 后即可诱导细胞凋亡, 72 h 时凋亡发生率为 13.05%, 200 nmol/L 紫杉醇作用于 Hut78 细胞 24 h 后即可诱导细胞凋亡, 48 h 凋亡发生率为 19.46%, 与 SODN 联合紫

杉醇组(20.05%)、单用紫杉醇组相比,AODN与紫杉醇联合作用于Hut78细胞48h(紫杉醇处理时间)后,能够增强紫杉醇诱导细胞凋亡作用,凋亡率为27.15%(表2)。

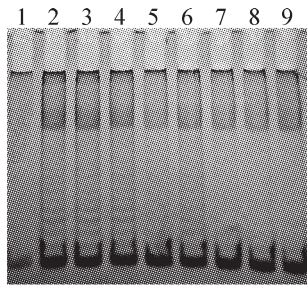


Fig 1 The effects of ODNs combined with 200 nmol/L of paclitaxel on telomerase activity. Lane 1: the heat - inactivated negative control; Lane 2: positive cells control; Lane 3: untreated cells control; Lane 4: transfecting agent control; Lane 5: 30 μmol/L of AODN; Lane 6: 30 μmol/L of SODN; Lane 7: paclitaxel; Lane 8: AODN combined with paclitaxel; Lane 9: SODN combined with paclitaxel.

图1 hTERT寡核苷酸联合200 nmol/L的紫杉醇对端粒酶活性的影响

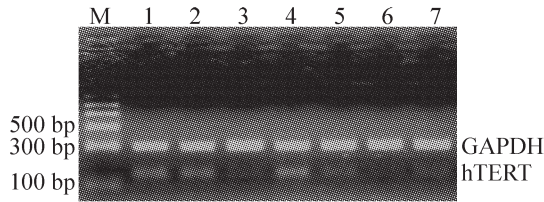


Fig 2 Inhibition of combination of oligodeoxynucleotide with paclitaxel on the expression of hTERT mRNA in Hut78 cells. M: DNA marker; Lane 1: transfecting agent control; Lane 2: untreated cells control; Lane 3: 30 μmol/L of AODN; Lane 4: 30 μmol/L of SODN; Lane 5: paclitaxel; Lane 6: AODN combined with paclitaxel; Lane 7: SODN combined with paclitaxel.

图2 hTERT寡核苷酸联合紫杉醇作用72h时对Hut78细胞hTERT mRNA表达的抑制分析

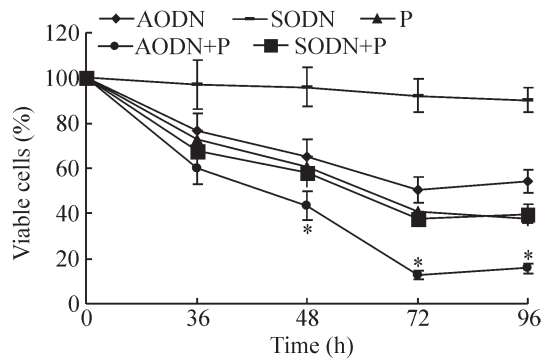


Fig 3 The effects of the combination of oligodeoxynucleotide and paclitaxel on Hut78 cell survival.  $\bar{x} \pm s, n = 3$ . \*  $P < 0.05$  vs P group and SP group.

图3 hTERT寡核苷酸联合紫杉醇对细胞存活率的影响

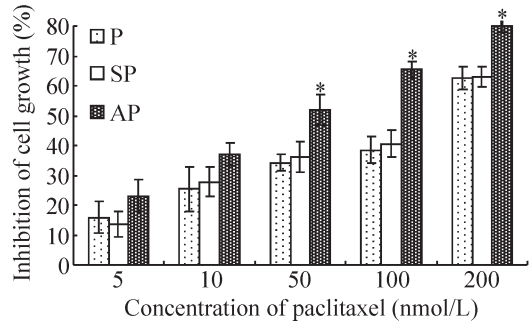


Fig 4 The sensibility of Hut78 cells to palitaxel after treated with oligodeoxynucleotide by MTT.  $\bar{x} \pm s, n = 3$ . \*  $P < 0.05$  vs P group and SP group.

图4 MTT法检测hTERT寡核苷酸处理的Hut78细胞对紫杉醇敏感性的变化

表2 hTERT寡核苷酸联合紫杉醇对Hut78细胞生长周期及凋亡的影响

Tab 2 The effects of oligodeoxynucleotide combined with paclitaxel(P) on cell cycle and apoptosis of Hut78 cells

Group	Cell cycle(%)			Apoptosis rate(%)
	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub> /M	S	
AODN	55.88	19.36	24.76	13.05
SODN	46.57	13.68	39.75	6.65
P	10.16	41.48	48.37	19.46
SODN + P	29.98	15.82	54.20	27.15
AODN + P	14.94	37.65	47.41	20.05
Control	45.96	14.05	39.99	5.58

## 讨论

端粒酶是1种独特的具有逆转录酶活性的DNA聚合酶,与恶性肿瘤的发生密切相关<sup>[3]</sup>,并可抑制肿瘤细胞的凋亡及诱导肿瘤细胞产生耐药性<sup>[4,5]</sup>。研究表明大约90%的肿瘤细胞均有端粒酶活性表达,而正常体细胞端粒酶为阴性,因此抗端粒酶治疗是目前肿瘤治疗的一大热点。但由于肿瘤细胞存在一定长度的端粒,只有现存端粒被耗空后,端粒酶抑制剂才表现出对肿瘤细胞的毒性作用,而在这间隔期内端粒酶依赖的ALT(alternative lengthening of telomere, ALT)机制有可能被激活,因此端粒的耗空是端粒酶抑制剂发挥作用的前提。

紫杉醇是近20年来研制的一种广谱抗癌新药,对多种恶性肿瘤均有显著疗效,且对多药耐药性及晚期淋巴瘤有明显抑制作用<sup>[6]</sup>。其作用机制主要是诱导与促进微管蛋白聚合,使微管稳定,从而阻止癌细胞的生长。近期研究证明紫杉醇可降解端粒,使端粒长度缩短,诱导细胞发生凋亡,与端粒酶抑制剂合用有协同抗肿瘤效应。

本研究结果显示:hTERT反义寡核苷酸与紫杉醇联合作用于Hut78细胞后,细胞的端粒酶活性明显下降,hTERT mRNA表达被明显抑制,细胞生长抑制率增加,与单用紫杉醇组及紫杉醇联合SODN组相比差异显著。说明hTERT反义寡

(下转第197页)



- Hum Cell, 2005, 18(1):1-16.
- [6] 杨德业, 张怀勤, 季亢挺, 等. 内皮组细胞在体外培养成血管样结构的初步观察[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(10):1970-1974.
- [7] Kim SY, Park SY, Kim JM, et al. Differentiation of endothelial cells from human umbilical cord blood AC133-CD14<sup>+</sup> cells[J]. Ann Hematol, 2005, 84(7):417-422.
- [8] Ott I, Keller U, Knoedler M, et al. Endothelial-like cells expanded from CD34<sup>+</sup> blood cells improve left ventricular function after experimental myocardial infarction[J]. FASEB J, 2005, 19(8):992-994.
- [9] Massa M, Rosti V, Ferrario M, et al. Increased circulating hematopoietic and endothelial progenitor cells in the early phase of acute myocardial infarction[J]. Blood, 2005, 105(1):199-206.
- [10] Gill M, Dias S, Hattori K, et al. Vascular trauma induces rapid but transient mobilization of VEGFR2<sup>+</sup> AC133<sup>+</sup> endothelial precursor cells[J]. Circ Res, 2001, 88(2):167-174.
- [11] Young MR. Tumor skewing of CD34<sup>+</sup> progenitor cell differentiation into endothelial cells[J]. Int J Cancer, 2004, 109(4):516-524.
- [12] Shirakawa K, Furshata S, Watanabe I, et al. Induction of vasculogenesis in breast cancer models[J]. Br J Cancer, 2002, 87(12):1454-1461.
- [13] Bagley RG, Yohrling WY, Cao XH, et al. Endothelial precursor cells as a model of tumor endothelium: characterization and comparison with mature endothelial cells[J]. Cancer Res, 2003, 63(18):5866-5873.
- [14] Folberg R, Maniotis AJ. Vasculogenic mimicry[J]. AP-MIS, 2004, 112(7):508-525.
- [15] Maniotis AJ, Folberg R, Hess A, et al. Vascular channel formation by human melanoma cells *in vivo* and *in vitro*: vasculogenic mimicry[J]. Am J Pathol, 1999, 155(3):739-752.
- [16] Hoffmeyer MR, Wall KM, Dharmawardhane SF. *In vitro* analysis of the invasive phenotype of SUM 149, an inflammatory breast cancer cell line[J]. Cancer Cell Int, 2005, 5(1):1-11.
- [17] Basu GD, Pathangey LB, Tinder TL, et al. Mechanisms underlying the growth inhibitory effects of the cyclo-oxygenase-2 inhibitor celecoxib in human breast cancer cells[J]. Breast Cancer Res, 2005, 7(4):R422-R435.
- [18] Sun B, Zhang S, Zhao X, et al. Vasculogenic mimicry is associated with poor survival in patients with mesothelial sarcomas and alveolar rhabdomyosarcomas[J]. Int J Oncol, 2004, 25(6):1609-1614.
- [19] Sood AK, Seftor EA, Fletcher MS, et al. Molecular determination of ovarian cancer plasticity[J]. Am J Pathol, 2001, 158(4):1279-1288.
- [20] Sood AK, Fletcher MS, Coffin JE, et al. Functional role of matrix metalloproteinases in ovarian tumor cell plasticity[J]. Am J Obstet Gynecol, 2004, 190(4):899-909.

(上接第194页)

核苷酸增强了 Hut78 细胞对紫杉醇的敏感性。流式细胞术结果显示紫杉醇联合 AODN 组诱导 27.15% 的 Hut78 细胞发生凋亡,明显高于紫杉醇组。分析表明,2 者在诱导细胞凋亡方面可能有协同作用。2 者联合作用抑制效应增加的原理可能是紫杉醇可降解端粒,使端粒长度缩短,增加基因组的不稳定性,防止 ALT 激活途径的产生,使细胞对凋亡的敏感性增加;而端粒酶抑制剂 hTERT 反义寡核苷酸抑制了 Hut78 细胞端粒酶活性后,端粒 DNA 不断缩短,且阻断 DNA 的修复,使染色体 DNA 可能变得更脆弱,使肿瘤细胞对化疗药敏感性增加。本实验结果与 Kondo 等<sup>[6]</sup>报道相一致,他们发现反义端粒酶 RNA 能增加神经胶质瘤细胞对顺铂诱导凋亡的敏感性;同时他们又根据人端粒酶 RNA 片段设计出 AODN,并与寡-2,5 腺嘌呤核苷酸(2-5A)连接,与不同浓度的顺铂联合作用于神经胶质瘤细胞,结果发现 2 者具有协同作用<sup>[7]</sup>。

本实验与以往的类似实验的结果表明,同时针对端粒酶和端粒的治疗将是今后肿瘤基因治疗的一个方向,2 者具有协同抗肿瘤效应;而且针对端粒酶逆转录酶基因 hTERT 的反义核酸将是有很好的应用前景的化疗药物增敏剂,与传统的化疗药联用具有独特优势。

#### [参 考 文 献]

- [1] Mo Y, Gan Y, Song S, et al. Simultaneous targeting of

telomeres and telomerase as a cancer therapeutic approach[J]. Cancer Res, 2003, 63(3):579-585.

- [2] Nakamura TM, Morin GB, Chapman KB, et al. Telomerase catalytic subunit homologs from fission yeast and human[J]. Science, 1997, 277(5328):955-959.
- [3] 范 钰, 郑 树, 丁佳逸. 脂质体介导的 cripto 反义寡核苷酸析制结肠癌细胞端粒酶活性[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(4):762-765.
- [4] Shay JW. Meeting report: The role of telomeres and telomerase in cancer[J]. Cancer Res, 2005, 65(9):3513-3517.
- [5] Suau F, Cottin V, Archer F, et al. Telomerase activation in a model of lung adenocarcinoma[J]. Eur Respir J, 2006, 27(6):1175-1182.
- [6] Rizzieri DA, Sand GJ, McGaughey D, et al. Low-dose weekly paclitaxel for recurrent or refractory aggressive non-Hodgkin lymphoma[J]. Cancer, 2004, 100(11):2408-2414.
- [7] Kondo Y, Komata T, Kondo S, et al. Combination therapy of 2-5A antisense against telomerase RNA and cisplatin for malignant gliomas[J]. Int J Oncol, 2001, 18(6):1287-1292.