

[文章编号] 1007-385X(2004)02-0100-05

环氧化酶 2 启动子调控促凋亡基因 BAX 在卵巢癌细胞系的特异性高表达

于爱芳¹, 辛晓燕¹, 张文红²(1. 第四军医大学附属西京医院妇产科, 西安 710032; 2. 第四军医大学全军基因诊断技术研究所)

[摘要] 目的: 验证环氧化酶-2(COX-2)启动子能调控下游基因特异性在 COX-2 阳性的卵巢癌细胞系高表达; 并以 CMV 启动子为对照, 分析 COX-2 启动子的转录效率。方法: 构建重组质粒 COX-2-BAX 和 CMV-Luc。脂质体介导分别把质粒 pHES2, CMV-Luc 瞬时转染 COX-2 阳性的卵巢癌细胞系 SKOV-3 和 COX-2 阴性的结肠癌细胞系 SW480, 检测荧光素酶报告基因的表达情况。同法把质粒 COX-2-BAX、pcDNA3-BAX 转染 SKOV-3 和 SW480, 流式细胞仪检测细胞凋亡率。结果: 成功构建重组质粒 COX-2-BAX 和 CMV-Luc。COX-2-Luc 转染 SKOV3 和 SW480 细胞 24 h 后报告基因活性分别为 1554 ± 86.5 和 53.7 ± 10.9 。CMV-Luc 转染后, 报告基因活性分别为 9851.7 ± 129.5 和 8831.0 ± 167.3 。COX-2-BAX 转染 SKOV-3 和 SW480 细胞 36 h 后细胞凋亡率分别为 10.4%, 3.7%; CMV-BAX 同法转染后, 细胞凋亡率分别为 21.7%, 25.6%。结论: COX-2 启动子可调控下游基因特异性地在 COX-2 阳性的卵巢癌细胞系中高表达, 但转录效率明显低于 CMV 启动子。含 COX-2 启动子经合理修饰后可用于卵巢癌的基因治疗。

[关键词] 人环氧化酶 2 启动子; 卵巢癌; 基因治疗

[中图分类号] R737.31 [文献标识码] A

The Specific High Expression of Apoptosis-Inducing BAX Gene Driven by Human Cyclooxygenase-2 Promoter in Ovarian Cancer Cell Line

YU Ai-fang¹, XING Xiao-yan¹, ZHANG Wen-hong²(1. Department of Gynecology and Obstetrics, Xi-jing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; 2. Institute of Genic Diagnosis of Chinese PLA, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

[Abstract] **Objective:** To verify that COX-2 promoter can drive its downstream genes specifically in COX-2-positive ovarian cancer cells; Moreover, comparing with CMV promoter, analyze the transcript efficiency of COX-2 promoter. **Methods:** Constructing the recombinant plasmids named COX-2-BAX and CMV-Luc. After transient transfection liposome-mediated with the plasmids COX-2-Luc and CMV-Luc, respectively, the expression of Luciferase reporter gene was measured in COX-2-positive ovarian cancer cell line-SKOV3 and COX-2-negative colon cancer cell line-SW480. SKOV-3 and SW480 were transfected with COX-2-BAX and CMV-BAX in the same way, respectively. The apoptosis rates were measured through flow cytometry. **Results:** The recombinant plasmids named COX-2-BAX and CMV-Luc were constructed successfully. The expression efficiency of reporter gene was 1554 ± 86.5 in SKOV3 and 53.7 ± 10.9 in SW480 after 24 hours transfected with pHES2, 9851.7 ± 129.5 in SKOV3 and 8831.0 ± 167.3 in SW480 after 24 hours transfected with CMV-Luc in the same way. The apoptosis rate was 10.4% in SKOV3 and 3.7% in SW480 after transfected with COX-2-BAX, 21.7% in SKOV3 and 25.6% in SW480 after 36 hours transfected with pcDNA3-BAX in the same way. **Conclusions:** COX-2 promoter can drive its downstream genes specifically in COX-2-positive ovarian cancer cell lines, but its expression efficiency was markedly lower than CMV promoter's. With proper modification, COX-2 promoter is expected to be useful in gene therapy of ovarian cancers.

[Key words] human cyclooxygenase-2 promoter; ovarian cancer; gene therapy

* 目前, 阻碍肿瘤基因治疗广泛用于临床的主要原因之一是缺乏特异性, 外源性的目的基因导入有机体后, 在肿瘤细胞和正常细胞均表达, 产生很大的副作用, 尤其是骨髓毒性和肝毒性。解决方法之一是用肿

瘤特异性启动子, 在转录水平使目的基因仅在肿瘤细

[作者简介] 于爱芳(1973-), 女, 甘肃天水人, 主治医师, 硕士生, 主要从事卵巢癌的基因治疗的研究

胞高表达,而在正常细胞低表达或不表达,提高肿瘤基因治疗的特异性^[1]。

环氧合酶(cyclooxygenase, COX)是前列腺素生物合成过程中重要的限速酶,可将花生四烯酸代谢成前列腺素中间产物,从而维持机体的各种病理、生理过程。环氧合酶有两种异构形式,结构性表达的 COX-1 和诱导性表达的 COX-2。免疫组化研究^[2,4]证实 COX-2 在卵巢癌、乳腺癌、前列腺癌、肺癌、胃癌等多种肿瘤中表达上调,可能参与肿瘤的发生、发展。

COX-2 蛋白的表达调控主要在转录水平。COX-2 启动子调控目的基因用于卵巢癌的靶向性基因治疗国外已有报道^[5],但国内尚未见相关研究。本实验分别构建了 2 对质粒。脂质体法分别把其转染 COX-2 阳性的卵巢癌细胞系 SKOV-3 和 COX-2 阴性的结肠癌细胞系 SW480^[6],研究 COX-2 启动子对其所调控的下游基因的肿瘤特异性表达,并以巨细胞病毒启动子为对照,研究其表达效率。

1 材料与方法

1.1 细胞系及质粒

卵巢癌细胞系 SKOV-3 由本科实验室保存,结肠癌细胞系 SW480 购自第四军医大学口腔医院口腔生物实验室;质粒 pGL2-Basic 购自 Promega 公司,其不含启动子,下游为荧光素酶报告基因。pcDNA3-BAX 由第四军医大学基因所惠赠,其含 CMV 启动子,下游为促凋亡基因 BAX。phPES2(-327/+59)由日本大阪国立研究协会心血管研究中心药理部 Hiroyasu Inoue 博士惠赠,其由质粒 pGL2-Basic 重组构成,在荧光素酶报告基因上游插入 COX-2 启动子核心片段(-327/+59, 转录起始位点为 1)。以上质粒的多克隆位点均含 Bgl II 和 Hind III 酶切位点。

1.2 试剂及仪器

限制性内切酶 Bgl II, Hind III 和 T4 连接酶均购自华美公司,质粒提取试剂盒和 Luciferase 检测 Kit 购自 Promega 公司, DNA 胶回收试剂盒和 Lipofectamine 2000 购自 Introvigen 公司, TaqTM 酶、DL2000 DNA Marker 和 pMD18-T 克隆载体购自大连 TaKaRa 公司。PCR 引物由上海生工公司合成,并在上游引物的 5'端加上 Bgl II 的酶切位点。上游引物来自 COX-2 启动子序列, 5'-GG[AGATCT] GAAGAAGAAAAGACATCTGGCGG-3' (方框内为 Bgl II 的酶切位点), 下游引物来自 phPES2 载体序列, 5'-GGCGTCTTCCATTTTACCAACAG-3'。TD-20/20 照度计为美国 TD 公司产品。

1.3 PCR 法扩增 COX-2 启动子片断

因质粒 phPES2(-327/+59) (简称 COX-2-Luc) 的

构建是把 COX-2 启动子用 BamH I 和 Hind III 酶切后, 插入质粒 pGL2-Basic 的 Bgl II 和 Hind III 位点(BamH I 和 Bgl II 是同裂酶), 所以 phPES2(-327/+59) 用 BamH I 和 Bgl II 均不能酶切, 不能通过酶切获得 COX-2 启动子。本实验以 phPES2(-327/+59) 为模板通过 PCR 反应, 获得两端带有 Bgl II 和 Hind III 酶切位点的 COX-2 启动子核心序列。采用 50 μ l 体系, 以 0.6 μ g phPES2 为模板, Taq 酶 2.5 U, 上下游引物各 2 μ l, 10 mmol/L 的 dNTPs 1 μ l, 采用冷启动法, 循环参数: 94 $^{\circ}$ C 30 s \rightarrow 56 $^{\circ}$ C 30 s \rightarrow 72 $^{\circ}$ C 45 s, 共 30 个循环。PCR 产物与 pMD18-T 克隆载体 16 $^{\circ}$ C 连接过夜, 连接产物命名为 pMD18-T-COX-2 (简称 COX-2-T), 用其转化感受态细胞, α 互补法挑选细菌阳性克隆, 摇菌、提质粒并酶切、测序鉴定。

1.4 重组质粒的构建

COX-2-T 用 Bgl II 和 Hind III 双酶切, 1.5% 琼脂糖凝胶电泳获得 368 bp 的 COX-2 启动子片断(-309/+59, 转录起始位点为 +1)。质粒 pcDNA3-BAX (简称 CMV-BAX) 用 Bgl II 和 Hind III 双酶切, 胶回收载体片断, 把其与 COX-2 启动子于 16 $^{\circ}$ C 连接过夜, 转化感受态细胞, 摇菌、提质粒并酶切鉴定, 此重组质粒命名为 COX-2-pcDNA3-BAX (简称 COX-2-BAX)。同时把酶切下的 CMV 启动子插入质粒 pGL2-Basic, 此重组质粒命名为 CMV-pGL2-Basic (简称 CMV-Luc)。胶回收和质粒提取过程均按产品说明书进行。

1.5 细胞培养

RPMI-1640 培养基加 100 ml/L FBS 常规培养 SK-OV3 和 SW480 细胞, 每 2~3 天换液 1 次, 胰酶消化传代, 倒置显微镜下观察。

1.6 细胞转染

转染前 1 天, 接种对数生长期的 SKOV3 细胞和 SW480 细胞于 24 孔板, 每孔 1.0×10^5 个细胞, 各加 RPMI-1640 完全培养液 500 μ l。细胞长满 60% 培养孔底时, COX-2-Luc 和 CMV-Luc 分别转染 SKOV3 和 SW480, 每组 3 孔。分别用无启动子的质粒 pGL2-Basic 转染相应细胞系作对照组。用无血清的 RPMI-1640 各 300 μ l 分别稀释 3.6 μ g 的 COX-2-Luc 和 CMV-Luc, 同时用无血清的 RPMI-1640 600 μ l 稀释 18 μ l 的 Lipofectamine 2000, 室温静置 5 min 后, 将稀释的质粒与脂质体分别混合, 静置 20 min 形成 DNA-Lipofectamine 复合物, 分别将 100 μ l 的复合物加入各培养孔, 轻摇混匀, 37 $^{\circ}$ C CO₂ 孵箱培养过夜。24 h 后测荧光素酶报告基因活性。

1.7 荧光素酶活性测定

收集 24 孔板细胞, 吸弃培养上清, 用 $1 \times$ PBS 400

μl 洗 1 次,每孔加入 100 μl 细胞裂解液,轻摇后吸入离心管,12 000 r/min 4℃ 离心 5 min,吸取 20 μl 上清,加入 100 μl 荧光素酶底物,在 TD-20/20 照度计上测定相对荧光值,延迟 2 s,积分时间 10 s。

1.8 流式细胞仪检测细胞凋亡

COX-2-BAX 和 CMV-BAX 各 2.4 μg 分别转染培养于 6 孔板的 SKOV3 和 SW480,转染流程同上(每孔用 Lipotamine2000 6 μl)。每组设无质粒转染的空白对照组。转染后 36 h,胰酶消化细胞成单细胞悬液,用无血清的 RPMI-1640 培养液 1 000 r/min 离心洗涤 1 次,弃上清后重悬细胞于结合缓冲液,加 5 μl 碘化丙啶(PI)和 5 μl Annexin V-FITC,混匀后置 4℃ 孵育 20 min,上机作 FCM 分析。正常活细胞带负电的磷脂酰丝氨酸(PS)定位于细胞膜内侧。细胞凋亡的早期,由于细胞膜失去对称性,PS 从细胞膜的内侧暴露于细胞膜外,Annexin V-FITC 是一种标记有荧光素的钙依赖结合蛋白,与 PS 有持久的强亲和力,可特异性与 PS 结合。凋亡早期细胞仍保持细胞膜的完整性,碘化丙啶(PI)不能进入细胞内,而凋亡晚期和发生继发性坏死的细胞可同时被 Annexin V-FITC/PI 着色,利用流式细胞仪进行双参数分析,即可检测出凋亡细胞百分率。

1.9 统计学处理

用统计学软件 SPSS11.0 处理,计量资料的组间比较采用 T 检验决定差异显著性。

2 结果

2.1 PCR 扩增 COX-2 启动子

结果显示以 pHES2 为模板,扩增出与预期大小一致的特异性条带,约 434 bp(图 1)。

图 1 以质粒 pHES2 为模板作 PCR 反应的 COX-2 启动子产物

Fig. 1 The PCR product of COX-2 promoter with pHES2 as template

1: Products of PCR; 2: DL-2000 DNA marker

2.2 COX-2 启动子的测序

COX-2-T 经上海生工公司序列分析,表明扩增的 COX-2 启动子核心序列(-309/+59)完全正确(图 2)。

CAGTGCCAAGCTTGCATGCCTGCAGGTCGACGATTGGA * GATCT GAAGA
AGAAAAGACATCTGGCGGAAACCTGTGCGCCTGGGGCGGTGGAACCTCGGGGAGGAGAGGGAGGGATCA
GACAGGAGAGTGGGGACTACCCCTCTGCTCCCAAATTGGGGCAGCTTCCTGGGTTTCCGATTTTCTCAT
TTCCGTGGGTAATAAACCTGCCCCACCGGGCTTACGCAATTTTTTTAAAGGGGAGAGGGGAAAAAT
TTGTGGGGGTACGAAAAGCGGAAAGAAACAGTCAT TTCGTCA CATGGGCTTGGTTTTTCAGTCTTAT
AAAAAGGAAGGTTCTCTCGGTTAGCGACC AAT TGTACATCGACTTGCAGTGAGCGTCANGAGCACGT
CCANNAACTCCTCATCAGGGCTGCAGGAATTCGATATC A * AGCTT GGCATTCCGGTACTGTTGGTAAA
ATGGAAGACGCCAATCTC

图 2 COX-2 启动子的测序图谱(-309 +59)

Fig. 2 Sequencing analysis of COX-2 promoter(-309/+59)

A * GATCT A * AGCTT : the Restriction enzyme site of Bgl II and Hind III

TTCGTCA :the binding site of the important transcription factor- cyclic AMP response element(-59/-53)

AAT : the transcription start site.

2.3 重组真核表达质粒 COX-2- BAX 和 CMV-Luc 的酶切鉴定

用 Bgl II 和 Hind III 分别酶切重组质粒 COX-2-BAX 和 CMV-Luc,COX-2- BAX 酶切出 368 bp 大小的 COX-2

启动子(-309/+59)片断,CMV-Luc 酶切出 880 bp 大小的 CMV 启动子片断,说明重组质粒构建正确(图 3)。

2.4 COX-2 启动子调控荧光素酶报告基因的表达活性测定

COX-2-Luc 转染 COX-2 阳性的 SKOV3 细胞和 COX-2 阴性的 SW480 细胞 24 h 后,荧光素酶报告基因活性分别是 1554 ± 86.5 , 53.7 ± 10.9 。COX-2 启动子调控荧光素酶报告基因在 COX-2 蛋白表达状况不同的两种细胞中的活性有明显差异性($P < 0.0001$)。

CMV-Luc 转染 SKOV3 细胞和 SW480 细胞 24 h 后,荧光素酶报告基因活性分别是 9851.7 ± 129.5 , 8831.0 ± 167.3 。CMV 启动子调控荧光素酶报告基因在 COX-2 蛋白表达状况不同的两种细胞中的活性无明显差异性($P > 0.05$)。

但在同一种细胞,CMV 启动子的转录活性分别是 COX-2 启动子的 6.3 倍(SKOV3)和 164.5 倍

(SW480)。说明 COX-2 启动子虽然可特异性地使其下游基因在 COX-2 阳性的细胞系高表达,但其转录效率明显低于 CMV 启动子。

图 3 重组质粒 CMV-Luc 和 COX-2-BAX 分别用 Bgl II and Hind III 双酶切鉴定

Fig. 3 Restriction enzyme mapping of the recombinant plasmids CMV-Luc and COX-2-BAX by Bgl II and Hind III

表 1 SKOV3 和 SW480 分别用 COX-2-Luc 或 CMV-Luc 瞬时转染 24 h 后荧光素酶报告基因表达活性的测定

Tab. 1 The expression efficiency of luciferase reporter gene in SKOV3 or SW480 transfected with COX-2-Luc or CMV-Luc after 24 hours

Plasmid	Cell line	Luciferase activity			
		1	2	3	$\bar{x} \pm s$
COX-2-Luc	SKOV3	1582.0	1457.0	1623.0	1554 ± 86.5
COX-2-Luc	SW480	52.4	43.6	65.2	53.7 ± 10.9
CMV-Luc	SKOV3	9800.0	9999.0	9756.0	9851.7 ± 129.5
CMV-Luc	SW480	8641.0	8956.0	8896.0	8831.0 ± 167.3

2.5 流式细胞仪测定 COX-2 启动子调控 BAX 基因的促凋亡活性

流式细胞仪分析表明 SKOV3 细胞瞬时转染重组质粒 CMV-BAX 和 COX-2-BAX 36 h 后,细胞凋亡率分别是 25.9% 和 14.6%,减去对照组凋亡率 4.2%,分别为 21.7% 和 10.4%。而 SW480 细胞瞬时转染重组质粒 CMV-BAX 和 COX-2-BAX 36 h 后,细胞凋亡率分别是 26.3% 和 4.4%,减去对照组凋亡率 0.7%,分别为 25.6% 和 3.7%。说明 COX-2 启动子调控的 BAX 基因对 COX-2 阳性的卵巢癌细胞有一定的特异性杀伤作用,但其效率低于 CMV 启动子。

3 讨论

目前肿瘤基因治疗大多用 CMV 启动子,它是一种转录效率很强的正性调控子,但其对下游基因的转录

缺乏特异性,且来自病毒序列,在体内的表达通常被下调。所以学者们试图发现高效且特异性强的启动子用于肿瘤基因治疗。

近年研究证实,COX-2 在多种肿瘤组织表达上调,它与肿瘤的发生、恶性转化、耐药、预后等均相关^[24]。大规模的临床病例对照研究证实,长期、小剂量、口服选择性 COX-2 抑制剂可降低卵巢癌的发病率^[8],此方法对其它类型的肿瘤也有效。所以 COX-2 已成为肿瘤领域的研究热点。为了实现对卵巢癌细胞的特异性杀伤,本实验用 COX-2 启动子调控促凋亡基因 BAX 构成重组质粒,以使 BAX 基因特异性地仅在肿瘤细胞表达。

本实验的关键是选用多大长度的 COX-2 启动子片断,过长不易克隆也不易用其构建重组载体,过短可能对目的基因无足够的启动效率。日本 Inoue 教授研

究证实 COX-2 启动子中的 cAMP 反应元件(CRE)是其核心功能序列^[9]。美国 Casado 教授^[5]曾用不同长度的 COX-2 启动子片断—COX-2M(-883/ + 59)和 COX-2L(-1432/ + 59)调控荧光素酶报告基因构建重组腺病毒,分别转染 5 种卵巢癌细胞系,结果显示 COX-2M(-883/ + 59)的转录效率优于 COX-2L(-1432/ + 59),所以本实验选用 COX-2(-309/ + 59)启动子片断。

荧光素酶是高灵敏度的报告基因,且它的表达至少在 8 个数量级与检测到的荧光值呈线性关系,这保证了实验结果的灵敏性与有效性。

BAX 基因属 Bcl-2 家族,它与 Bcl-2 家族的其它成员通过复杂的网络系统调控肿瘤细胞的凋亡活动^[10]。Bcl-2 家族分为两大类:抑制凋亡成员(Bcl-2, Bcl-xL)和促凋亡成员(BAX、Bak),这两类成员可形成同源或异源二聚体,相互调节对方的功能。BAX 不仅可促凋亡,还可增加肿瘤细胞对联合化疗的敏感性。Strobel^[11]等研究发现 BAX 转染卵巢癌细胞后,癌细胞对紫杉醇、长春新碱、表阿霉素等化疗药的敏感性升高。由于晚期卵巢癌常发生化疗耐药,所以 BAX 是适宜的卵巢癌治疗基因。

脂质体是一种人工生物膜,质粒被其包裹后可被靶细胞摄入,摄入效率与受体无关。理论上讲不同类型的细胞对同一种质粒的摄入效率是一致的。而腺病毒转染靶细胞的效率与靶细胞表面的柯萨奇-腺病毒受体的数量有直接关系^[12],由于不同细胞表面的柯萨奇-腺病毒受体数量有很大差异性,所以在体外验证 COX-2 启动子的靶向性转录功能时选择脂质体介导更合适。因 COX-2-Luc 与 CMV-Luc 之间,COX-2-BAX 与 CMV-BAX 之间仅有启动子不同,在保证每一组质粒转染条件相同的情况下,报告基因的活性差别就反映了启动子的功能差异。

本实验中荧光素酶报告基因活性检测结果说明,虽然 COX-2 启动子较 CMV 启动子的转录有较强特异性,但前者的转录效率不足后者的三分之一,并未达到理想的肿瘤基因治疗所要求的活性。这也许与本实验选择的 COX-2 启动子片断过短有关,可尝试串联其核心功能序列 cAMP 反应元件或其它调控元件如缺氧反应元件、雌激素反应元件来增强 COX-2 启动子的效率。或者用 COX-2 阴性表达的正常组织的原代培养细胞作进一步的对照实验,以得到更全面、更可靠的结论。

本实验构建了 COX-2 启动子调控 BAX 基因的重组真核表达载体,并在体外初步验证其对 COX-2 阳性的卵巢癌细胞具有选择性杀伤作用,为将来用 COX-2

启动子构建腺病毒载体作动物实验打下基础。但由于 COX-2 启动子的转录效率较低,要用于卵巢癌的基因治疗尚需合理修饰。

[参 考 文 献]

- [1] Casado E, Nettelbeck DM, Gomez-Navarro J, *et al.* Transcriptional targeting for ovarian cancer gene therapy[J]. *Gynecol Oncol*, 2001, 82(2): 229-237.
- [2] Ferrandina G, Lauriola L, Zannoni GF, *et al.* Increased cyclooxygenase-2 (COX-2) expression is associated with chemotherapy resistance and outcome in ovarian cancer patients [J]. *Ann Oncol*, 2002, 13(8): 1205-1211.
- [3] Denkert C, Kobel M, Pest S, *et al.* Expression of cyclooxygenase 2 is an independent prognostic factor in human ovarian carcinoma [J]. *Am J Pathol*, 2002, 160(3): 893- 903.
- [4] Shigemasa K, Tian X, Gu L, *et al.* Expression of cyclooxygenase-2 and its relationship to p53 accumulation in ovarian adenocarcinomas[J]. *Int J Oncol*, 2003, 22(1): 99-105.
- [5] Casado E, Gomez-Navarro J, Yamamoto M, *et al.* Strategies to Accomplish Targeted Expression of Transgenes in Ovarian Cancer for Molecular Therapeutic Applications [J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(8): 2496-2504.
- [6] Yu HG, Huang JA, Yang YN, *et al.* The effects of acetylsalicylic acid on proliferation, apoptosis, and invasion of cyclooxygenase-2 negative colon cancer cells [J]. *Eur J Clin Invest*, 2002, 32(11): 838-846.
- [7] Gu J, Kagawa S, Takakura M, *et al.* Tumor-specific transgene expression from the human telomerase reverse transcriptase promoter enables targeting of the therapeutic effects of the BAX gene to cancers[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(19): 5359-5364.
- [8] Mills GB. Mechanisms Underlying Chemoprevention of Ovarian Cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(1): 7-10.
- [9] Inoue H, Nanayama T, Hara S, *et al.* The cyclic AMP response element plays an essential role in the expression of the human prostaglandin-endoperoxide synthase 2 gene in differentiated U937 monocytic cells [J]. *FEBS Letters*, 1994, 350(1): 51-54.
- [10] Kagawa S, Gu J, Swisher SG, *et al.* Antitumor Effect of Adenovirus-mediated BAX Gene Transfer on p53-sensitive and p53-resistant Cancer Lines[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(5): 1157-1161.
- [11] Strobel T, Kraeft SK, Chen LB, *et al.* BAX expression is associated with hanced intracellular accumulation of paclitaxel: Anovel role for BAX during chemotherapy-induced cell death [J]. *Cancer Res*, 1998, 58(21): 4776-4781.
- [12] Kim JS, Lee SH, Cho YS, *et al.* Ectopic expression of the coxsackievirus and adenovirus receptor increases susceptibility to adenoviral infection in the human cervical cancer cell line, SiHa [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 288(1): 240-244.

[收稿日期] 2003 - 11 - 03

[修回日期] 2004 - 01 - 30