

[文章编号] 1007-385X(2006)04-0272-05

BH3-HIV-TAT 抗前列腺癌的活性

韦 华, 郝晓柯, 苏明权, 张建芳, 刘家云 (第四军医大学西京医院检验科, 西安 710032)

[摘要] **目的:** 探讨人工合成的 BH3-HIV-TAT 肽对前列腺癌细胞株 LNCaP 增殖的影响。**方法:** 以 25、50、1 000 $\mu\text{mol/L}$ 的 BH3-HIV-TAT 处理 LNCaP 细胞 12 或 24 h, 以激光共聚焦显微镜观察 BH3-HIV-TAT 肽的细胞定位; 观察经 BH3-HIV-TAT 肽处理后, LNCaP 细胞凋亡过程中核染色质的形态学变化; 用流式细胞仪分析不同时间不同浓度的短肽对细胞凋亡程度和周期的影响; 以 MTS/PMS 测定, 分析短肽对 LNCaP 细胞的增殖是否有浓度依赖性的影响。**结果:** 激光共聚焦检测结果显示 BH3-HIV-TAT 肽主要定位在细胞核内; LNCaP 细胞经短肽处理后, 可观察到分为 2 期的细胞凋亡过程; 流式细胞仪检测结果证实了短肽对细胞凋亡程度和周期的影响; MTS/PMS 测定表明该短肽具有浓度依赖性的抗前列腺癌细胞的活性。**结论:** BH3-HIV-TAT 肽可有效地诱导前列腺癌细胞株 LNCaP 的凋亡, 从而影响其增殖, 实验结果为癌症靶向性治疗提供了依据。

[关键词] BH3; HIV-TAT; LNCaP 细胞; 前列腺癌

[中图分类号] R737.25 **[文献标识码]** A

Anti-prostate cancer activity of BH3-HIV-TAT

WEI Hua, HAO Xiao-ke, SU Ming-quan, ZHANG Jian-fang, LIU Jia-yun (Department of Clinical Laboratory, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the influence of BH3-HIV-TAT peptide on proliferation of prostate cancer cell line LNCaP. **Methods:** LNCaP cells were treated with BH3-HIV-TAT (25, 50, and 100 $\mu\text{mol/L}$) for 12 or 24 h. Then, laser scanning confocal fluorescence microscope was used to observe the cellular localization of BH3-HIV-TAT; Hoechst33258 staining was used to observe the morphological changes of LNCaP cells during apoptosis; flow cytometry (FCM) was applied to study cell apoptosis and cell cycle of LNCaP cells; and MTS/PMS assay was used to analyze whether the effect of BH3-HIV-TAT peptide was concentration dependent. **Results:** It was found that BH3-HIV-TAT peptide was mainly located in cell nucleus. The apoptosis of LNCaP cells had 2 stages after BH3-HIV-TAT peptide treatment. Flow cytometry confirmed the peptide arrested cell cycle and induced apoptosis of LNCaP cells. MTS/PMS assay showed BH3-HIV-TAT peptide had a concentration-dependent anti-LNCaP cell effect. **Conclusion:** BH3-HIV-TAT peptide can effectively induce apoptosis of LNCaP cells, influencing the proliferation of the cells, which provide an evidence for targeted therapy of cancer.

[Key words] BH3; HIV-TAT; LNCaP cell line; prostate cancer

[Chin J Cancer Biother, 2006, 13(4): 272-276]

目前, 肿瘤治疗的方向主要集中于细胞凋亡、肿瘤的靶向治疗、多肽类细胞因子等。而细胞凋亡是目前肿瘤治疗的热点之一。BCL-2 家族是调节细胞凋亡的重要基因家族, 通过对其成员 BH3-only 蛋白结构和功能的研究^[1], 表明 BH3 (BCL-2 homology 3) 结构域是唯一的死亡结构域, 是促凋亡蛋白发挥抗肿瘤作用所必须的。目前, 将蛋白转入哺乳动物细胞的方法很多, 常用的有生物打孔、微注射和脂质体转染等, 尽管这些技术各有其独特优势, 但都存在着操作复杂、效率不高和难于调控等问题, HIV-TAT (HIV-transactivator of transcription) 蛋白转导结构域能将与之相连的多肽、蛋白

及 DNA 以一种浓度依赖的方式高效、快速地导入细胞内, 而细胞的正常结构和功能不受影响。

本课题以 Fmoc 固相肽合成法合成短肽 BH3-HIV-TAT 及 FITC-BH3-HIV-TAT, 并用高效液相色谱纯化, 两段短肽的纯度均 > 95%。BH3-HIV-TAT 含有两个组成部分: HIV-TAT 作为载体, 将死亡结构域 BH3 导

[基金项目] 国家高新技术发展规划 (“863”计划) (2001AA215321)

[作者简介] 韦华 (1980-), 女, 山东人, 硕士研究生, 主要从事肿瘤分子生物学研究, E-mail: huawei1980234@sina.com

[通讯作者] 郝晓柯, E-mail: haoxkg@fmmu.edu.cn

入肿瘤细胞内。研究以前列腺癌细胞系 LNCap 为对象,观察 BH3-HIV-TAT 在肿瘤细胞内的定位及对前列腺癌细胞增殖的影响,探讨 BH3 诱导 LNCap 细胞发生凋亡并抑制细胞抗凋亡的细胞防御机制。

1 材料与方 法

1.1 材料来源

肽 BH3-HIV-TAT 及 FITC-BH3-HIV-TAT 均由西安华辰生物科技有限公司合成;人前列腺癌细胞株 LNCap 为本室保存;细胞培养基 RPMI 1640 为 Sigma 公司产品;小牛血清为杭州四季青公司提供;CellTiter 96[®] Aqueous 非放射性细胞增殖测定试剂盒购自 Promega 公司;细胞凋亡 - Hoechst 染色试剂盒购自碧云天公司;Cycle TEST[™] PLUS DNA 试剂盒、凋亡检测试剂盒、激光共聚焦显微镜(型号为 Bio-Rad MRC1024)及 FACSCalibur 流式细胞仪均为美国 BD 公司产品。

1.2 细胞培养

LNCap 细胞系用含 10% 小牛血清、100 μ /mL 青霉素、100 μ /mL 链霉素的 RPMI 1640 在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 下湿度培养,常规传代。实验用细胞均为对数生长期。

1.3 BH3-HIV-TAT 细胞内定位的检测

6 孔培养板中预先放置 8 mm \times 8 mm 的盖玻片,接种 LNCap 细胞,加入含 100 ml/L 小牛血清的 RPMI 1640 1.5 ml,待细胞贴壁长到 40% 时,弃培养液,PBS 洗涤,4% 的多聚甲醛固定 30 min,再 PBS 洗涤,加入 FITC-BH3-HIV-TAT 在湿盒内于 4 $^{\circ}$ C 过夜,PBS 洗涤,PI 室温衬染 15 min 后用抗荧光淬灭封片液封片,于激光扫描共聚焦显微镜下观察。

1.4 LNCap 细胞凋亡过程中核染色质的形态学变化

将 LNCap 细胞悬液接种于预先放置盖玻片的 6 孔培养板中,加适量培养液,待细胞贴壁并长到 50% 时,加入 1 000 μ mol/L BH3-HIV-TAT 继续培养 24 h 后,吸尽培养液,加入固定液,于 4 $^{\circ}$ C 固定 4 h,用 PBS 洗 2 遍后,加入 Hoechst 33258 染色液,染色 5 min,用 PBS 去染色液,封片,荧光显微镜检测。同时设一对照片,即以 PBS 代替 BH3-HIV-TAT 处理细胞。

1.5 LNCap 细胞凋亡染色

LNCap 细胞长到盖玻片的 50% 后,在培养液中分别加入 25、50、1 000 μ mol/L BH3-HIV-TAT,处理 24 h 后去除培养液,固定,用 PBS 洗涤,Hoechst 33258 染色 5 min,PBS 洗涤后封片,荧光显微镜下观察。对照组用 PBS 代替 BH3-HIV-TAT 处理细胞。

1.6 LNCap 细胞周期测定

LNCap 细胞分为对照组(未加 BH3-HIV-TAT,以 PBS 替代),25 μ mol/L BH3-HIV-TAT 处理组,50

μ mol/L BH3-HIV-TAT 处理组和 1 000 μ mol/L BH3-HIV-TAT 处理组。培养 12、24 h 后,收获各组细胞,制成单细胞悬液,离心细胞悬液 5 min,去除上清。按照 CycleTEST[™] PLUS DNA 试剂盒操作说明,每管加相应 A、B、C 液,室温静置 10 min,流式细胞仪检测。

1.7 LNCap 细胞凋亡检测

收集经 25、50、1 000 μ mol/L BH3-HIV-TAT 处理 12 h、24 h 后的 LNCap 细胞,用冷 PBS 洗 2 次,用 Binding Buffer 将细胞制成悬液,FITC-Annexin、PI 染色后,混匀,室温避光处放置 15 min,FCM 测定。

1.8 MTS/PMS 测定

取对数生长期的 LNCap 细胞,用消化液消化后,将细胞以 5×10^3 /孔的数量转种于 96 孔培养板,设 6 个复孔,细胞贴壁后,加入不同浓度梯度的 BH3-HIV-TAT (25、50、1 000 μ mol/L),同时设不含多肽以 PBS 替代的阴性对照孔,37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养。细胞继续培养 12、24 h 后,每孔加入 20 μ l MTS/PMS 混合液,继续培养 4 h,震荡后,用酶标仪于 490 nm 下测定每孔光密度值。同样实验重复 3 次。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 11.5 软件进行分析,采用两小样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差别有统计学意义。

2 结 果

2.1 共聚焦显微镜分析 BH3-HIV-TAT 在 LNCap 细胞内的分布

PI 激发波长(Ex)为 536 nm,发射波长(Em)为 617 nm,为红色荧光;FITC 激发波长为 488 nm,发射波长为 525 nm,为绿色荧光。用 488 nm 激发波长激发 FITC 标记的 BH3-HIV-TAT,共聚焦显微镜观察到其在 LNCap 细胞内呈现绿色荧光,主要分布于胞核。再用 536 nm 激发波长激发 PI,观察到其在 LNCap 细胞内呈现红色荧光,分布部位位于胞核。将 2 次获得图像叠加,进一步证实 BH3-HIV-TAT 定位在胞核(图 1)。

2.2 BH3-HIV-TAT 致 LNCap 细胞凋亡的形态改变

Hoechst 33258 可与 DNA 特异性结合,在紫外光激发时发射明亮的蓝色荧光。在荧光显微镜下观察,正常细胞的细胞核呈正常的蓝色,而凋亡细胞的细胞核会呈致密浓染,或呈碎块状致密浓染,颜色有些发白。荧光显微镜下观察到随着所加 BH3-HIV-TAT 浓度的增加,LNCap 细胞的凋亡程度在增加,即 BH3-HIV-TAT 以浓度依赖性促进了 LNCap 细胞的凋亡(图 2)。

2.3 BH3-HIV-TAT 作用致 LNCap 细胞核染色质的形态学变化

BH3-HIV-TAT 处理 LNCap 细胞 24 h 后,可观察到

细胞凋亡过程中细胞核染色质的形态学改变分为 2 期: I 期的细胞核呈波纹状, 部分染色质出现浓缩状

态; II a 期细胞核的染色质高度凝集、边缘化; II b 期的细胞核裂解为碎块, 产生凋亡小体(图 3)。

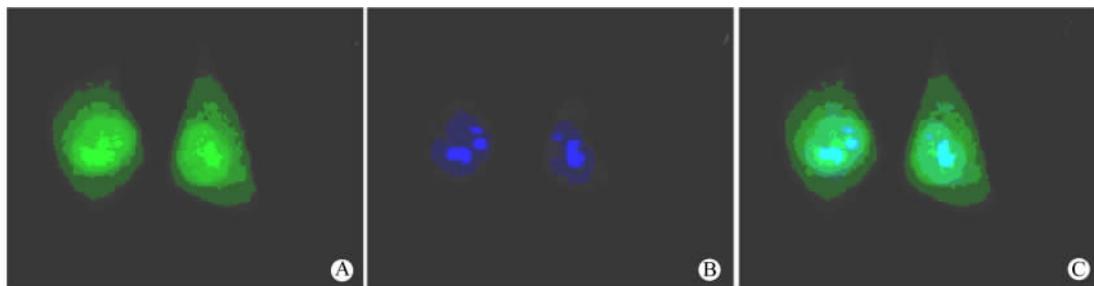


图 1 BH3-HIV-TAT 在 LNCap 细胞内的定位(×400)

Fig. 1 Localization of BH3-HIV-TAT in LNCap cells (×400)

A: FITC-BH3-HIV-TAT was mainly located in the nuclei; B: Nuclei were stained with PI; C: The fluorescence of FITC-BH3-HIV-TAT overlapped with PI staining

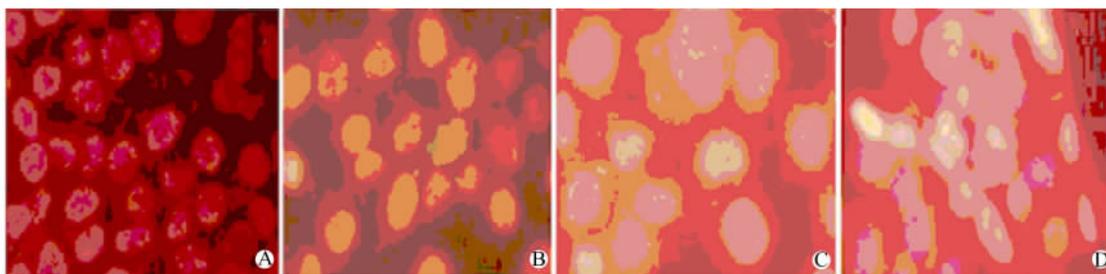


图 2 BH3-HIV-TAT 处理后 LNCap 细胞的凋亡改变(×200)

Fig. 2 Apoptosis of LNCap cells after BH3-HIV-TAT treatment (×200)

A: Control; B: 25 μmol/L BH3-HIV-TAT; C: 50 μmol/L BH3-HIV-TAT; D: 1 000 μmol/L BH3-HIV-TAT. High-concentration BH3-HIV-TAT treatment resulted in apoptosis

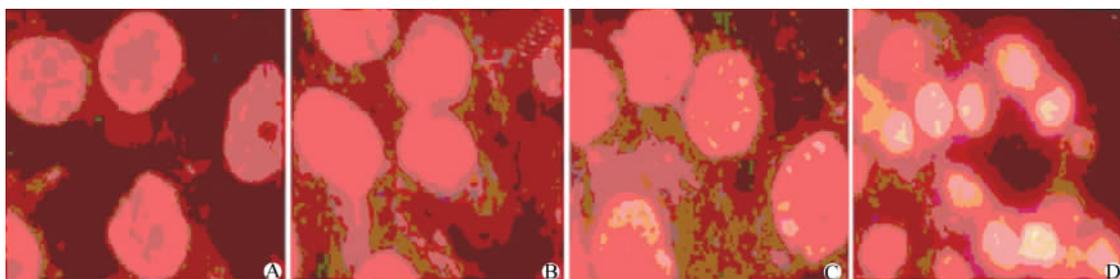


图 3 BH3-HIV-TAT 处理后 LNCap 细胞凋亡过程中核染色质的形态学变化(×400)

Fig. 3 Morphological changes of LNCap cells after BH3 - HIV - TAT treatment(Hoechst33258 staining, ×400)

A: Control; B: Stage I , Rippled nucleus; C: Stage II a, Chromatin condensation; D: Stage II b, Forming apoptotic bodies

2.4 BH3-HIV-TAT 致 LNCap 细胞凋亡的剂量和时间效应

以 25 μmol/L 、50 μmol/L 、1 000 μmol/L BH3-HIV-TAT 处理 LNCap 细胞 12 h 和 24 h, 可呈现浓度、时间依赖地增加 LNCap 细胞的凋亡比例(表 1)。

2.5 BH3-HIV-TAT 致 LNCap 细胞周期的改变

流式细胞仪检测结果显示, BH3-HIV-TAT 以浓度、

时间依赖性方式, 将 LNCap 细胞阻滞在 G₁/G₀期。25、50、1 000 μmol/L BH3-HIV-TAT 处理 LNCap 12 h 后, 与对照组相比, LNCap 细胞 G₁/G₀期所占的比例逐渐增多, 由 55. 7% 增至 58. 7%, 而 G₂/M 期的比例逐渐减少, 由 11. 8% 减至 9. 4%, 变化不明显; 25、50、1 000 μmol/L BH3-HIV-TAT 处理 LNCap 细胞 24 h 后, 与对照组相比, G₁/G₀期所占的比例由 53. 7% 增至 68. 2%,

而 G₂/M 期的比例由 14.5% 减至 11.6%, 较 12 h 的结果变化显著(表 2)。

表 1 BH3-HIV-TAT 致 LNCap 细胞
凋亡的剂量和时间效应

Tab.1 Concentration and time-effect of apoptosis-inducing effect of BH3 - HIV - TAT on LNCap cells

BH3-HIV-TAT ($\mu\text{mol/L}$)	12 h		24 h	
	Apoptosis rate (%)		Apoptosis rate (%)	
0	2.9		6.6	
25	7.4		14.4	
50	8.8		15.0	
1 000	9.0		31.7	

表 2 BH3-HIV-TAT 处理 LNCap 细胞 12 h 或
24 h 后细胞周期 (%) 的改变

Tab.2 Cell cycle distribution (%) of LNCap cells 12 h
or 24 h after BH3-HIV-TAT treatment

BH3-HIV-TAT ($\mu\text{mol/L}$)	12 h			24 h		
	G ₁	G ₂	S	G ₁	G ₂	S
0	54.2	14.7	31.1	51.9	13.1	35.0
25	55.7	11.8	32.5	53.7	14.5	31.8
50	56.7	10.5	32.7	59.7	12.1	28.2
1 000	58.7	9.4	31.9	68.2	11.6	28.1

2.6 BH3-HIV-TAT 剂量和时间依赖性地抑制 LNCap 细胞的增殖

随 BH3-HIV-TAT 浓度增加, LNCap 细胞存活率逐渐降低。在加入的 BH3-HIV-TAT 浓度为 25 $\mu\text{mol/L}$ 、50 $\mu\text{mol/L}$ 和 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 时, 作用 12 h 后, 细胞存活率分别为 98.0%、81.7% 和 36.0%; 对细胞的杀伤作用相互间有显著性差异 ($P < 0.05$), 作用 24 h 后, 细胞存活率分别为 82.9%、79.1% 和 25.0%, 对细胞的杀伤作用相互间有显著性差异 ($P < 0.05$), BH3-HIV-TAT 作用 12 h 和 24 h 对细胞的杀伤作用变化趋势相同。

3 讨 论

凋亡是内外部刺激所引发的细胞死亡的高度调节过程^[2]。在此过程中, BCL-2 家族蛋白发挥着关键的作用。BCL-2 家族特征性的含有命名为 BH1、BH2、BH3、BH4 的特异区域, 这些结构域是 BCL-2 家族蛋白发挥作用的关键所在。已经证实: BCL-2 家族促凋亡蛋白的 BH3 结构域可诱发凋亡, 与该结构域最短序列一致的合成短肽, 当与抗凋亡的 BCL-2 家族蛋白结合

时, 可抑制细胞抗凋亡的防御机制^[3]。PUMA (p53 up-regulated modulator of apoptosis) 是新近发现的 Bcl-2 蛋白家族中的一员^[4], 具有 BH3 结构域, 该结构域对促细胞凋亡起着至关重要的作用。其凋亡效应也是通过和 Bax/Bak 及 Bcl-2/Bcl-XL 相互作用实现的^[5]。然而, 由于 BH3 肽不易进入肿瘤细胞, 从而限制了它的广泛应用, 因此, 需要一“载体”, 使其易于穿入。从众多蛋白衍生出来的转导肽能进入细胞, 到达胞质和胞核, 于是, 激发了人们将这些肽作为载体的兴趣, 利用它们将治疗性分子导入细胞内。有文献^[6]报道使用蛋白转导结构域 HIV-TAT 蛋白可促进蛋白转运入细胞内。至今, 广泛研究的包括: HIV/TAT、Penetratin 和单纯疱疹病毒蛋白 VP22, 它们被命名为: 细胞穿透肽或蛋白转导结构域。在细胞模型中, 它们表现尤为突出: 无论所承载的是毒性药物一类的小分子, 还是基因、蛋白一类的大分子, 都可以增强所承载物的活性^[7]。肽可以作为极具吸引力的药物转运工具。从 HIV-TAT 衍生的肽是一小肽, 它已成功地转运许多负荷物, 从小颗粒到蛋白, 从肽到核苷酸^[8]。蛋白转导结构域 HIV-TAT 由于其高效性和体积小(11 个氨基酸)的优点已被广泛使用^[9]。

本实验室合成的 BH3-HIV-TAT 肽含有两个组成部分: HIV-TAT 做为载体, 将死亡结构域 BH3 导入 LNCap 细胞内; BH3(来源于 PUMA 的 BH3 结构域)诱导 LNCap 细胞发生凋亡并抑制细胞抗凋亡的细胞防御。经本实验证实, BH3-HIV-TAT 肽主要定位在 LNCap 细胞核内。它可有效地诱导前列腺癌细胞系 LNCap 的凋亡, 从而影响其增殖。

BH3 肽优于传统的抗癌药物, 在于它不仅诱导了凋亡, 而且同时抑制了细胞抗凋亡的防御机制; 而传统的抗癌药物, 虽然同样诱导了凋亡, 但同时却激活了细胞的抗凋亡^[10]。HIV-TAT 作为载体克服了 BH3 肽不易进入肿瘤细胞的缺点。

然而, BH3-HIV-TAT 虽然增加了 BH3 的生物活性, 使 BH3 肽更易摄入细胞, 但如果 BH3-HIV-TAT 应用于体内, 摄入 BH3 肽的不仅有肿瘤细胞, 可能还有正常健康的细胞, 所以, 增加 BH3-HIV-TAT 的靶向性势在必行, 有待进一步深入研究加以解决。

[参考文献]

- [1] Baell JB, Huang DC. Prospects for targeting the Bcl-2 family of proteins to develop novel cytotoxic drugs[J]. *Biochem Pharmacol*, 2002, 64(5-6): 851-863.
- [2] Moreau C, Cartron PF, Hunt A, et al. Minimal BH3 peptides promote cell death by antagonizing anti-apoptotic proteins[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(21): 19426-19435.

[3] Dharap SS, Qiu B, Williams GS, *et al.* Molecular targeting of drug delivery systems to ovarian cancer by BH3 and LHRH peptides[J]. *J Control Release*, 2003, 91(1-2): 61-73.
[4] 王海娟, 林晨, 詹启敏. PUMA的研究进展[J]. *国外医学: 遗传学分册*, 2004, 27(6): 338-340.
[5] 郝延璋, 张林杰. Puma/Bbc3在细胞凋亡中的作用及其机制[J]. *医学分子生物学杂志*, 2004, 1(6): 366-369.
[6] 张莉, 赵晶, 杨安钢, 转运结构域的研究进展[J]. *医学分子生物学杂志*, 2004, 1(6): 351-354.
[7] Al-Taei S, Penning NA, Simpson JC, *et al.* Intracellular traffic and fate of protein transduction domains HIV-1 TAT peptide and octaarginine. implications for their utilization as drug delivery vec-

tors[J]. *Bioconjug Chem*, 2006, 17(1): 90-100.
[8] Brooks H, Lebleu B, Vives E. Tat peptide-mediated cellular delivery: Back to basics[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005, 57(4): 559-577.
[9] Dominguez-Bendala J, Klein D, Ribeiro M, *et al.* TAT-mediated neurogenin 3 protein transduction stimulates pancreatic endocrine differentiation *in vitro*[J]. *Diabetes*, 2005, 54(3): 720-726.
[10] Dharap SS, Minko T. Targeted proapoptotic LHRH-BH3 peptide[J]. *Pharm Res*, 2003, 20(6): 890-896.

[收稿日期] 2006-05-22 [修回日期] 2006-07-30
[本文编辑] 王莹

[文章编号] 1007-385X(2006)04-276-01

· 研究简报 ·

rmhTNF- α 在肺癌细胞 A549 中的作用

Role of rmhTNF- α in lung cancer cell line A549

唐娟娟, 胡燕清, 陆琰君(上海赛达生物药业股份有限公司, 上海 201203)

肺癌对人类健康造成了巨大威胁。目前临床上的治疗以化疗、放疗和生物治疗为主。肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)为内源性免疫调节因子,对多种肿瘤细胞有直接细胞毒作用,是迄今为止发现的抗肿瘤效应最强的生物因子。国内外许多学者通过改变 TNF 的结构寻找高效、低毒的 TNF 突变体,并取得较大进展。2003 年 4 月中国 SFDA 批准上市的国家一类新药——重组改构人肿瘤坏死因子(recombinant mutant human tumor necrosis factor alpha, rmhTNF- α),是应用蛋白质工程技术改造天然 TNF- α 而制成的高活性、低毒性的基因工程 TNF- α 。有报道 rmhTNF- α 与化疗药物多柔比星(DOX),紫杉醇(Taxol)等在治疗乳腺癌、大肠癌等多种肿瘤的治疗上起到协同及加强作用。本研究初步探讨 DOX 与 rmhTNF- α 联合处理增加肺癌细胞 A549 对 DOX 的敏感性,以及对转移抑制基因 *KAI1/CD82* 表达的影响,并且探讨不同浓度的 rmhTNF- α 处理后 A549 细胞对 DOX 的增敏效果。

经 DOX 处理后的肺癌 A549 细胞,在不同时间再经 rmhTNF- α 处理后,用 CCK-8 试剂 450nm 下检测并计算细胞存活率。在 DOX(2 μ g/ml)处理 3、6、18、22 h 后再经 rmhTNF- α (500 U/ml)处理 16 h 或 0.5 h, A549 细胞的存活率分别为 13.3%、15.0%、20.8%、9.8%;而同浓度下 DOX 单处理时为 79.2%。可见 rmhTNF- α 使 A549 细胞对 DOX 的敏感性大大增强。在 DOX(1 μ g/ml)处理 A549 细胞 6 h 后采用 rmhTNF- α 浓度梯度(5、10、25、50、100、200、300、400 U/ml)处理,细胞存活率分别为 83%、86%、88%、84%、82%、86%、81%、79%;而同浓度 DOX 单处理时, A549 细胞存活率为 92%。可见 rmhTNF- α 在较低浓度下就可以对 A549 细胞的化疗起

到增敏作用。另外从结果中还可以发现 rmhTNF- α 的处理效果并不与浓度呈完全的剂量依赖关系。

采用半定量 RT-PCR 技术检测发现,在对 A549 细胞进行同浓度 DOX 处理 24 h 后再处理 rmhTNF- α (500 U/ml) 0.5 h, *KAI1/CD82* 的 mRNA 表达水平比 DOX(2 μ g/ml)增加。*KAI1/CD82* 基因是新近研究发现的一种肿瘤转移抑制基因,它在多数恶性肿瘤中表达降低,且与肿瘤的预后、恶性进展、治疗以及与其它肿瘤相关基因有着密切的关系。有研究指出在肺癌细胞中 rmhTNF- α 激活的 NF- κ B 在 *KAI1/CD82* 基因的表达中起关键作用。*KAI1/CD82* 的表达可能受机体微环境多方面调节。对于 *p53* 基因表达缺失的大多肿瘤细胞,联合 rmhTNF- α 的处理并激活 NF- κ B, 可视为诱导 *KAI1/CD82* 基因表达的有效方法之一。

rmhTNF 既有不同于化疗药物的作用机制,又能在杀灭肿瘤细胞的某些环节与化疗药物起到协同及加强作用。本研究中采用 rmhTNF- α 联合 DOX 处理肺癌 A549 细胞,发现其效果明显好于 DOX 单处理。rmhTNF- α 浓度较低时,即可对肺癌 A549 细胞产生明显的增敏作用。检测肿瘤转移抑制基因 *KAI1/CD82* 的表达发现,联合处理时,其表达增高。可以看出 rmhTNF- α 与 DOX 的联合用药对肺癌治疗具有积极的意义。

[关键词] rmhTNF- α , *KAI1/CD82*, DOX, 肺癌
[中图分类号] R730.54 [文献标识码] B

[收稿日期] 2006-05-18 [修回日期] 2006-06-10

[通讯作者] 陆琰君, Email: luyanjun@celstar.com.cn