

[文章编号] 1007-385X(2007)04-0362-06

重组 TRAIL 腺病毒抑制肺癌细胞生长和诱导凋亡的作用

杨 芳,孙茂盛,易 山,谢天宏,施 锐,李鸿钧*(中国医学科学院 中国协和医科大学 医学生物学研究所 分子生物学研究室,昆明 650118)

[摘 要] 目的: 研究重组 TRAIL 腺病毒(Ad-TRAIL)对人非小细胞肺癌细胞株 YTMCLC、A549、H460 抑制生长和诱导凋亡的作用,探讨 Ad-TRAIL 用于非小细胞肺癌基因治疗的可能性。方法: 培养肿瘤细胞,分别加入 Ad-TRAIL、sTRAIL,并设 Ad、PBS 作对照。倒置显微镜、吖啶橙染色后荧光显微镜、电镜进行细胞形态结构观察;肿瘤细胞生长抑制实验检测细胞存活率,绘制肿瘤细胞生长抑制曲线;DNA 凝胶电泳、PI 染色、TUNEL 染色和流式细胞术检测肿瘤细胞的凋亡;集落形成实验观察肿瘤细胞集落形成能力。结果: Ad-TRAIL 组、sTRAIL 组与空腺病毒 Ad 组、PBS 阴性对照组相比均明显抑制非小细胞肺癌细胞株 YTMCLC、A549、H460 的增殖。DNA 凝胶电泳出现 DNA 梯形条带;形态学观察发现 Ad-TRAIL 组的肿瘤细胞具有细胞凋亡的形态;Ad-TRAIL 作用的 YTMCLC 细胞有较高比例(8.55%)的亚二倍体凋亡峰,而 Ad 和 PBS 组分别为 1.08% 和 0.47%;Ad-TRAIL 组被 TUNEL 标记的细胞比例为 10.6%,高于 Ad 组的 1.13%。Ad-TRAIL 组的集落数为 28 ± 7 ,而 PBS 和 Ad 对照组分别为 257 ± 18 , 193 ± 12 。结论: Ad-TRAIL 对非小细胞肺癌细胞具有抑制生长和诱导凋亡的作用,Ad-TRAIL 有可能用于非小细胞肺癌的基因治疗。

[关键词] 肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体;重组复制缺陷型腺病毒;凋亡;非小细胞肺癌

[中图分类号] R730.5 [文献标志码] A

Recombinant TRAIL adenovirus inhibits proliferation and induces apoptosis of lung cancer cells

YANG Fang, SUN Mao-sheng, YI Shan, XIE Tian-hong, SHI Rui, LI Hong-jun* (Laboratory of Molecular Biology, Institute of Medical Biology, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Kunming 650118, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the effects of recombinant adenovirus TRAIL (Ad-TRAIL) on proliferation and apoptosis of non-small cell lung cancer (NSCLC) cell line: YTMCLC, A549, and H460, so as to assess the feasibility of using Ad-TRAIL for gene therapy of NSCLC. **Methods:** Tumor cells cultured in presence of Ad-TRAIL or sTRAIL were included in the experimental groups and those cultured in presence of Ad or PBS served as control groups. Morphology observation of cells was performed under inverted microscope, fluorescent microscope with acridine orange staining, and electron microscopy. Cell proliferation inhibiting curves were drawn through cell proliferation inhibiting assay to determine cell survival rate. Tumor cell apoptosis was detected by DNA gel electrophoresis. After stained with PI or TUNEL, the cells were subjected to flow cytometry examination of apoptosis. Clone-forming ability of cells was assessed by agar clonogenic assay. **Results:** The growth of NSCLC cell lines YTMCLC, A549, and H460 cells in Ad-TRAIL and sTRAIL groups was significantly inhibited compared with that in Ad and PBS groups. DNA ladder was revealed on DNA gel electrophoresis and typical apoptosis morphology was observed in Ad-TRAIL group. YTMCLC cells in Ad-TRAIL had a higher sub-G₁ fraction apoptosis (8.55%) than those in Ad and PBS groups (1.08% and 0.47% , respectively). Cells TUNEL-labeled cells in Ad-TRAIL group (10.6%) were more than those in the Ad group (1.13%). Ad-TRAIL treated YTMCLC cells produced (28 ± 7) colonies in the soft agar clonogenic assay; PBS and Ad treated YTMCLC cells produced (257 ± 18) and (193 ± 12) colonies, respectively. **Conclusion:** Ad-TRAIL can inhibit proliferation and induce apoptosis of NSCLC cells *in vitro*; it might be used for gene therapy of NSCLC.

[Key words] TNF-related apoptosis inducing ligand(TRAIL); recombinant replicated-deficient adenovirus; apoptosis;

[基金项目] 云南省科学技术后备人才培养基金(No. 2005PY01-24). Supported by Foundation for Training Reserve Talents of Science and Technology of Yunnan Province(No. 2005PY01-24)

[作者简介] 杨芳(1975-),女,云南省昆明市人,博士,助理研究员,主要从事肿瘤基因治疗的研究。E-mail: yangfangkm@126.com

* Corresponding author. E-mail: mb@imbcams.com.cn

non-small cell lung cancer

[Chin J Cancer Biother, 2007, 14(4): 362-367]

TNF 相关凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis inducing ligand, TRAIL)对一些肿瘤细胞有一定的特异抑制作用,而对正常组织和细胞不具有明显的毒性效应,这为肿瘤的生物治疗提供了一个新策略^[1-2]。

但最近的研究^[3-6]发现,越来越多的肿瘤细胞系和肿瘤对重组可溶型 TRAIL 产生抗性;而且 TRAIL 重组蛋白在动物体内容易被蛋白酶降解,半衰期较短;TRAIL 重组蛋白在体内抑制肿瘤所需的剂量较大,有可能产生免疫原性。随着分子生物学的发展,TRAIL 对肿瘤的治疗研究进入基因水平,目前利用 TRAIL 开展了许多基因治疗的研究^[7-9]。例如用逆转录病毒介导 TRAIL 基因联合化疗制剂对肉瘤和骨髓瘤细胞产生致凋亡作用^[10];联合 TRAIL 和 Bax 基因治疗延长卵巢癌荷瘤小鼠的生存期^[11],用腺病毒构建 GFP-TRAIL 融合基因在 hTERT 启动子的调节下抑制小鼠乳腺癌的发展等。在肺癌的基因治疗方面,有研究发现腺相关病毒介导的可溶型 TRAIL 能够抑制 A549 肺癌细胞移植瘤在裸鼠体内的生长^[12];非小细胞肺癌移植瘤内注射 Ad/TRAIL-F/RG 能显著增强肿瘤对放疗的敏感性,提高放疗的治疗效果^[13]。

本研究应用本实验室制备的重组 TRAIL 腺病毒(Ad-TRAIL)和重组可溶型 TRAIL 蛋白(sTRAIL)对非小细胞肺癌(NSCLC)细胞株 YTMLC、A549、H460 进行体外活性研究,观察对肺癌细胞生长的抑制和诱导凋亡的作用,为进一步开展体内抗肿瘤研究提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 细胞与主要试剂

非小细胞肺癌细胞株 YTMLC(Yunnan Tin Mineral Lung Carcinoma)属肺鳞癌,具有云南地区肺癌代表性,由昆明医学院附三院肿瘤研究所王熙才教授惠赠;H460 和 A549 购自上海细胞生化所细胞库;KMB-17 细胞(正常人胚肺二倍体细胞)由本所建株并保存。重组腺病毒 Ad-TRAIL 由本室构建并保存,在 AD-293 细胞中进行扩增及滴度测定。重组可溶型 TRAIL 蛋白(sTRAIL)为本室制备并经纯化。培养基及主要试剂 MEM 和 RPMI1640 均为 GIBCOBRL 公司产品;新生牛血清为华美公司产品;碘化丙啶(PI)、锥虫蓝、吖啶橙染料购自华美公司。

1.2 肿瘤细胞生长抑制实验检测细胞存活率

取对数生长期的 YTMLC、A549、H460 细胞,以 5×10^4 /ml 接种 2 ml 于直径 35 mm 培养皿中培养 24 h 后,用含 5% 新生牛血清的 RPMI 1640 培养液更换,分别加入 MOI 为 100 的重组腺病毒,分为 Ad-TRAIL 组和空腺病毒 Ad 组;设重组 sTRAIL 蛋白组,终质量浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$,并设加入相同体积的 PBS 作对照组。继续培养 24、48、72、120 h 后胰酶消化收集细胞,锥虫蓝染色。血球计数板计数至少 200 个细胞,每个时间点设 3 个培养皿。细胞存活率(%) = 实验组活细胞数/对照组活细胞数 \times 100%。KMB-17 细胞为正常对照细胞,维持培养液为 MEM,方法同上。

1.3 镜下观察肿瘤细胞凋亡形态学改变

1.3.1 倒置显微镜观察 YTMLC、A549、H460、KMB-17 细胞以 1×10^5 /ml 接种于 25 cm^2 培养瓶,约 24 h 后,用含 5% 新生牛血清的培养液更换,分别加入 MOI 为 100 的重组腺病毒 Ad-TRAIL 和空腺病毒 Ad。继续培养 72 h 后,倒置显微镜下观察细胞形态变化。

1.3.2 荧光显微镜观察 YTMLC 细胞接种于 6 孔板的盖玻片上,方法同上,然后在玻片上滴加 0.1 mg/ml 吖啶橙染液,荧光显微镜下观察。

1.3.3 电镜下观察超微结构 离心收集作用 72 h 后的细胞,包括悬浮和贴壁细胞,戊二醛固定后按电镜样品的要求准备细胞,电镜下观察。

1.4 流式细胞术检测 YTMLC 细胞的凋亡情况

按 1.2 步骤处理 YTMLC 细胞,72 h 后收集悬浮和贴壁的细胞,70% 乙醇固定,PI 染色,流式细胞仪检测亚二倍体峰的比例并拟合细胞周期曲线。

收集经转染的 YTMLC 细胞,进行 TUNEL 标记,流式细胞仪检测凋亡细胞。

1.5 DNA ladder 实验检测肿瘤细胞的 DNA 片段化 YTMLC 细胞培养于 25 cm^2 培养瓶中,分别作用 MOI 为 100 的 Ad-TRAIL 和 Ad,相同体积的 PBS 作阴性对照,加入 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的顺铂作 DNA 片段化阳性对照,72 h 后收集悬浮和贴壁的细胞。500 μl 裂解液混匀后,等体积饱和酚/氯仿(1:1)抽提 2 次,乙醇沉淀 DNA,TE 溶解。取 10 μl 样品与上样缓冲液混匀,1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.6 集落形成实验检测 Ad-TRAIL 对 YTMLC 细胞集落形成的影响

YTMLC 细胞以 5×10^5 /ml 接种于直径 60 mm

的培养皿中,24 h 后分别转染 Ad-TRAIL 和 Ad(MOI 为 100),并设相同体积的 PBS 为对照。37 ℃ 5% CO₂ 孵箱中继续孵育 48 h 后胰酶消化细胞,并配制成含 0.2% 琼脂 RPMI 1640 完全培养液的细胞悬液,保持不凝固状态待用。在新的培养皿中铺含 1% 琼脂的 RPMI 1640 完全培养基为底层胶,待凝固后,铺细胞悬液为上层胶。继续孵育 5 d 后,显微镜下计数克隆数,只计数包含超过 50 个细胞的克隆。

1.7 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 SPSS 10.0 软件包对结果进行 *t* 检验。

2 结果

2.1 重组 Ad-TRAIL 对各组肿瘤细胞增殖的抑制

重组蛋白 sTRAIL、Ad-TRAIL 和作用空腺病毒 Ad、PBS 的阴性对照相比均明显抑制了非小细胞肺癌细胞株 YTMLC、A549、H460 的增殖(*P* < 0.05),但 Ad-TRAIL 的抑制作用略强于 sTRAIL;它们对正常细胞 KMB-17 均未表现抑制活性(图 1),说明重组后的 TRAIL 在体外能选择性地抑制肿瘤细胞,而对正常细胞没有影响。

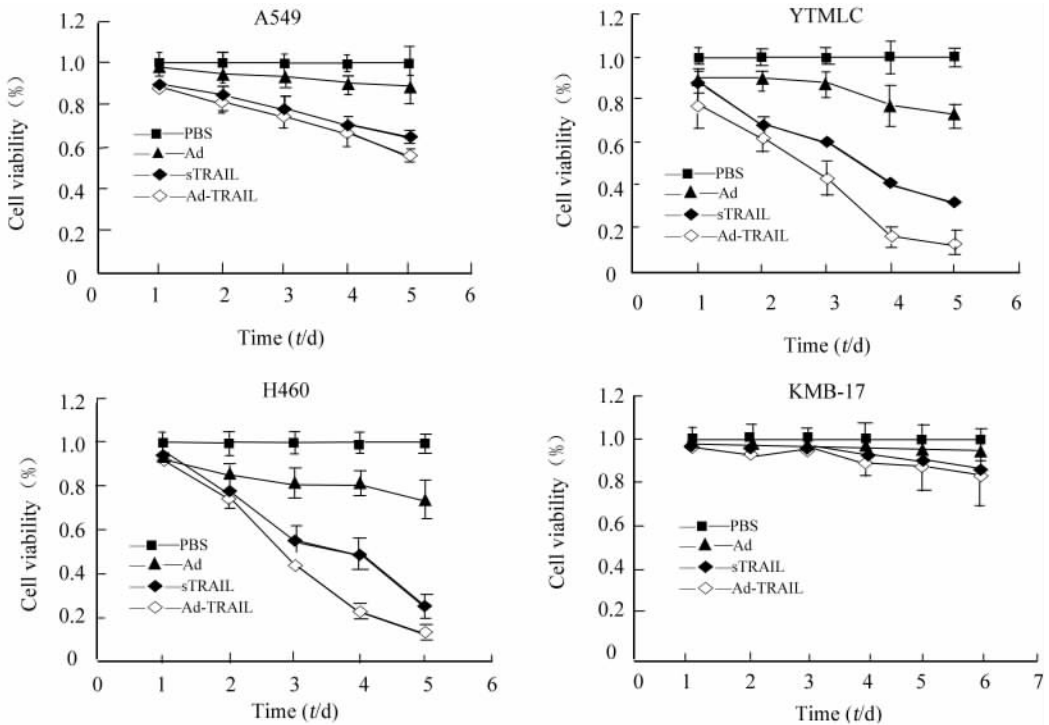


图 1 体外 Ad-TRAIL、sTRAIL 对非小细胞肺癌细胞存活的影响

Fig. 1 *In vitro* effects of Ad-TRAIL, sTRAIL on NSCLC cell viability

The NSCLC cell lines YTMLC, A549, and H460 and normal human embryonic lung cells (KMB-17) were treated with Ad-TRAIL(100 MOI) and sTRAIL (20 μg/ml). Ad was used as a vector control and PBS as a mock control

2.2 Ad-TRAIL 作用后各组肿瘤细胞形态的改变

细胞经 Ad-TRAIL 作用 72 h 后,倒置显微镜下观察到细胞体积缩小,染色质致密聚集成斑块状,细胞间接触抑制消失,细胞膜完整但表面有小泡样突起(图 2);Ad 作用的细胞,生长状态良好,细胞接触紧密,折光性好。Ad-TRAIL 对 KMB-17 的生长没有影响。

sTRAIL、Ad-TRAIL 作用的 YTMLC 细胞经吖啶橙染色后,荧光显微镜下观察,凋亡细胞的细胞核或细胞质内可见致密浓染的黄绿色染色,细胞表面有

小泡突起。而阴性对照的细胞,细胞核 DNA 为黄色或黄绿色均匀荧光,细胞质和核仁的 RNA 为桔黄或桔红色荧光(图 3)。

电镜下观察细胞超微结构,sTRAIL、Ad-TRAIL 组的细胞染色质浓集并靠近于核膜,形成沿核膜浓缩的新月状体,出现早期凋亡细胞核变化的典型特征。而阴性对照的细胞染色质均匀分布(图 4)。

2.3 Ad-TRAIL 转染后 YTMLC 细胞的凋亡和细胞周期变化情况

PI 染色后,以流式细胞仪检测,作用了 Ad-

TRAIL 的 YTMIC 细胞有较高比例的亚二倍体峰 (8.55%); 而 Ad 和 PBS 组的亚二倍体峰比例分别

为 1.08% 和 0.47%。拟合细胞周期曲线, 对照 Ad, PBS 组的 G₂/M 比例为 13.7% 和 13.4% ; S 期的比

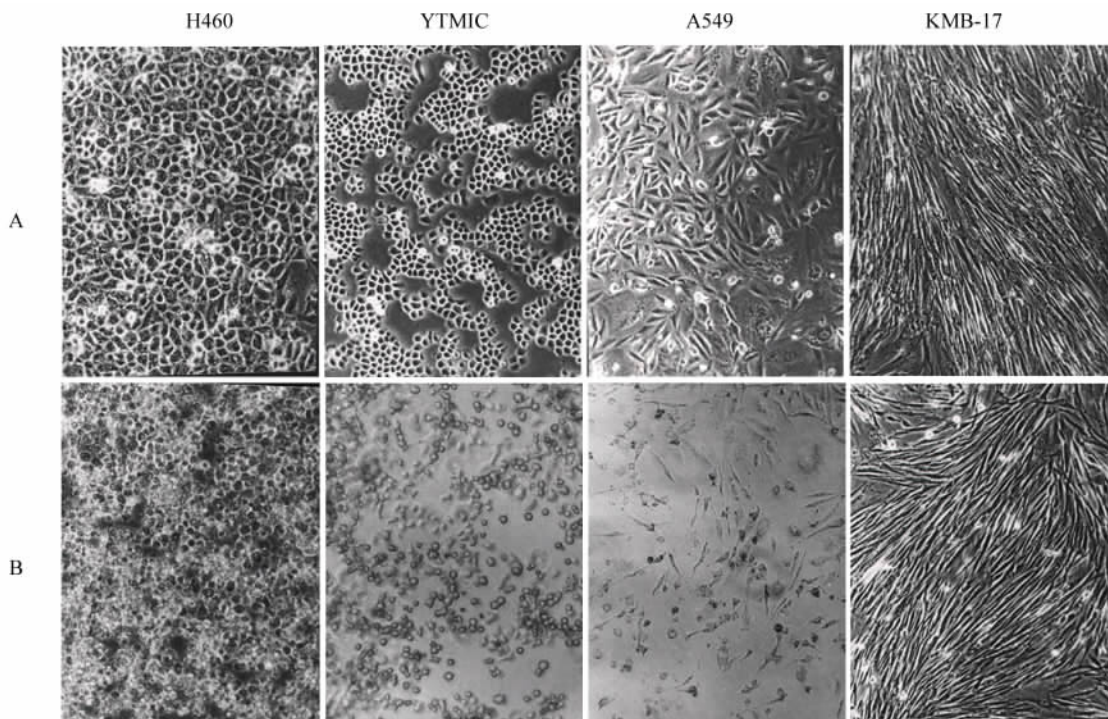


图 2 Ad-TRAIL 介导细胞凋亡的形态学改变(倒置显微镜, ×100 倍)

Fig.2 Ad-TRAIL induced cell apoptosis indicated by cell morphological changes (inverted microscope, ×100)

A: Ad; B: Ad-TRAIL

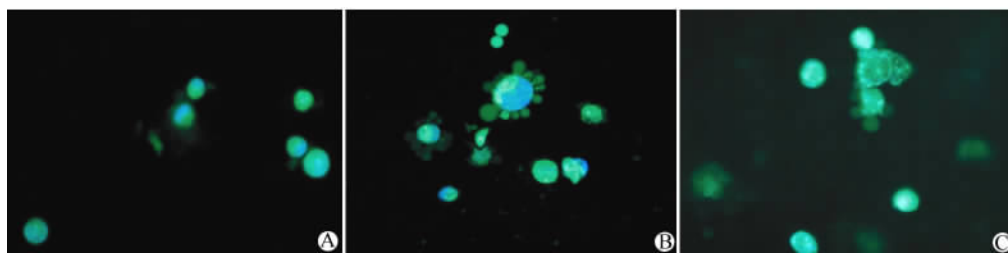


图 3 重组 Ad-TRAIL 介导细胞凋亡的形态学改变(荧光显微镜, ×200 倍)

Fig.3 Recombinant Ad-TRAIL induced cell apoptosis indicated by cell morphological changes (fluorescence microscope, ×200)

A: Ad; B: Ad-TRAIL; C: sTRAIL

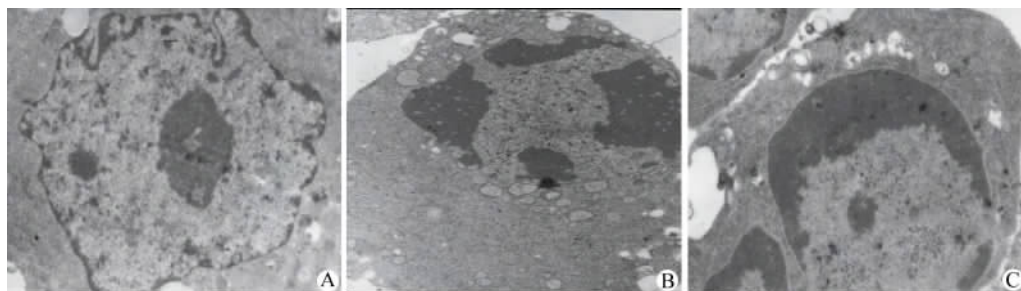


图 4 重组 Ad-TRAIL 介导细胞凋亡的形态学改变(电镜, ×25 000 倍)

Fig.4 Recombinant Ad-TRAIL induced cell apoptosis indicated by cell morphological changes (electron microscopy, ×25 000)

A: Ad; B: Ad-TRAIL; C: sTRAIL

例为 36.2% 和 38.7% ; G_0/G_1 期的比例为 50.1% 和 47.9% 。而 Ad-TRAIL 组的 YTMLC G_2/M 期的比例上升到 69.9% ,S 期的比例下降到 5.4% ; G_0/G_1 期的比例下降到 16.7% 。结果说明重组腺病毒表达的 TRAIL 可能是一个潜在的细胞周期抑制剂,它可以把细胞周期阻滞在 G_2/M 期。

TUNEL 标记后流式细胞仪检测,Ad-TRAIL 组被 TUNEL 标记的细胞比例,即凋亡的细胞比例为 10.6% ,高于 Ad 组凋亡细胞比例的 1.13% ($P < 0.05$)。

2.4 Ad-TRAIL 作用致 YTMLC 细胞的 DNA 片段化改变

Ad-TRAIL 作用组样品的电泳谱呈典型的“梯状带”(图 5);而 Ad、PBS 组样品的基因组 DNA 完整,没有降解;阳性对照组 DNA 呈片状,没有“梯状带”,可能是顺铂作用后细胞坏死的居多。

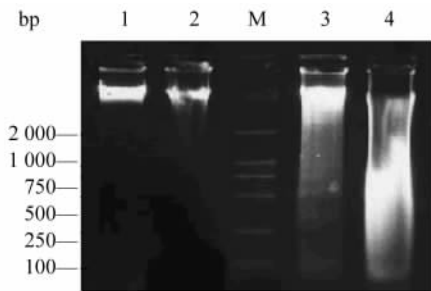


图 5 Ad-TRAIL 作用后 YTMLC 细胞的 DNA 片段化改变

Fig. 5 Changes of DNA fragment in YTMLC cells after treatment with recombinant Ad-TRAIL

1: PBS control; 2: Ad; 3: Ad-TRAIL; 4: Cisplatin 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$;
M: DNA molecular marker (DL-2000).

2.5 Ad-TRAIL 对 YTMLC 集落形成能力的影响

为了评价 Ad-TRAIL 对感染肿瘤细胞致瘤性的影响,本研究进行了软琼脂集落形成实验。结果发现,Ad-TRAIL 组的集落数平均为 28 ± 7 ;而 PBS 和 Ad 对照组的集落数平均为 257 ± 18 和 193 ± 12 ,说明 Ad-TRAIL 能显著降低 YTMLC 细胞的集落形成能力,即降低了 YTMLC 的致瘤性。

3 讨论

在 TRAIL 发现之初,人们认为它能特异地诱导肿瘤细胞凋亡,而对正常细胞没有影响;用于实验动物,全身系统给药可使肿瘤消退,且没有毒性。但也有结果显示,在体外,重组 TRAIL 可引起人原代肝细胞凋亡。对于该现象的解释是重组 TRAIL 蛋白在体外对正常人肝细胞的毒性源于所使用的重组

TRAIL 胞外区的结构不同,如多聚组氨酸标签融合的重组 TRAIL (Apo2L/TRAIL.His)能诱导正常人原代培养的肝细胞凋亡,而对其他动物的肝细胞没有影响^[14]。融合三聚化亮氨酸拉链的可溶性 TRAIL (LZ-Apo2L/TRAIL)能诱导正常人角质细胞凋亡,而缺乏外源重组序列的天然可溶性 TRAIL 没有毒性^[15]。TRAIL 基因治疗不会引起肝毒性,只要表达 TRAIL 的细胞远离肝脏。

本研究选择 3 株非小细胞肺癌细胞株作为研究 TRAIL 抗肿瘤作用的对象,原因为我省肺癌的发病率较高,特别是个旧、宣威地区,所以选择具有地区代表性的 YTMLC 细胞株,对于研究和治疗地区性的非小细胞肺癌很有意义,而目前这方面的研究报道较少。选用本研究所自己建立的正常人胚肺二倍体细胞 KMB-17 作对照,目的是观察 TRAIL 是否只对肿瘤细胞有特异的杀伤作用,而对正常细胞没有影响。在体外实验中发现 Ad-TRAIL, sTRAIL 对不同的肿瘤细胞株抑制活性有所不同,推测可能不同的肿瘤细胞对 TRAIL 的敏感性会有所差异^[16]。在研究的 3 株细胞中, H460 和 YTMLC 有较高的敏感性,而 A549 的敏感性较低。目前还没有完全阐明细胞间敏感性不同,以及 TRAIL 对正常细胞没有影响的原因。有研究认为可能是 TRAIL 的死亡受体或引诱受体的出现在起作用^[17-18],而假设正常细胞或组织表达引诱受体来产生对 TRAIL 的抗性。而另一些研究者^[19]用 RNase 保护实验发现不同的敏感性不能仅仅解释为 DR3、DR5、DcR1 水平的不同。还有研究者^[20-21]认为是细胞内 Caspase 或凋亡抑制因子如 FLIP, Bcl-XL 等水平的不同产生了不同的抗性。

在本研究中,证实了 Ad-TRAIL 抑制肿瘤细胞生长不仅和凋亡相关,而且和细胞周期的改变有关。凋亡的增加抑制了细胞的生长,这在以前的研究中已有报道。然而 Ad-TRAIL 引起的凋亡、抑制细胞生长和对细胞周期的影响似乎和传统的肿瘤抑制基因,如 p53 和 Rb 不同。细胞对 Ad-TRAIL 介导的凋亡和生长的抑制要慢于 p53,尽管它们最终的作用是相似的。研究发现 Ad-TRAIL 感染 YTMLC 后,使细胞周期滞留在 G_2/M 期,而 p53 和 p16 过表达的细胞,细胞周期滞留在 G_0/G_1 期^[22]。说明 TRAIL 介导的凋亡途径和 p53、p16 不同,TRAIL 介导的凋亡是 p53 非依赖的。以后研究还将对 G_2/M 期的蛋白,如 cyclinB、cyclinD 等进行考察,以进一步明确 G_2/M 期阻滞及细胞周期蛋白的变化。另外,肿瘤细胞 G_2/M 期比其他细胞周期对化疗和放疗更敏

感,因此可以运用一些细胞周期调节剂使细胞周期滞留在 G₂/M 期,以此来增强对、放化疗的敏感性^[23],建议联合运用 Ad-TRAIL 和放、化疗以减小肿瘤细胞对治疗的抗性。

[参 考 文 献]

- [1] Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, *et al.* Immunity, identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis[J]. *Immunity*, 1995, 3 (6): 673-682.
- [2] Ashkenazi A, Pai RC, Fong S, *et al.* Safety and antitumor activity of recombinant soluble Apo2 ligand[J]. *J Clin Invest*, 1999, 104 (2): 155-162.
- [3] Keane MM, Ettenberg SA, Nau MM, *et al.* Chemotherapy augments TRAIL-induced apoptosis in breast cell lines[J]. *Cancer Res*, 1999, 59 (3): 734-741.
- [4] Evdokiou A, Bouralexis S, Atkins GJ, *et al.* Chemotherapeutic agents sensitize osteogenic sarcoma cells, but not normal human bone cells, to Apo2L/TRAIL-induced apoptosis[J]. *Int J Cancer*, 2002, 99 (4): 491-504.
- [5] Hernandez A, Wang QD, Schwartz SA, *et al.* Sensitization of human colon cancer cells to TRAIL-mediated apoptosis[J]. *J Gastrointest Surg*, 2001, 5 (1): 56-65.
- [6] Song JJ, An JY, Kwon YT, *et al.* Evidence of two modes of development of acquired TRAIL resistance. Involvement of Bel-xL[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(1): 319-328.
- [7] Voelkel-Johnson C, King DL, Norris JS. Resistance of prostate cancer cells to soluble TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL/Apo2L) can be overcome by doxorubicin or adenoviral delivery of full-length TRAIL[J]. *Cancer Gene Therapy*, 2002, 9 (2): 164-172.
- [8] Naumann U, Waltereit R, Schulz JB, *et al.* Adenoviral (full-length) Apo2L/TRAIL gene transfer is an ineffective treatment strategy for malignant glioma[J]. *J Neurooncol*, 2003, 61(1): 7-15.
- [9] Liu Z, Xu X, Hsu HC, *et al.* CII-DC-AdTRAIL cell gene therapy inhibits infiltration of C II -reactive T cells and C II -induced arthritis[J]. *J Clin Invest*, 2003, 112(9): 1332-1341.
- [10] Suzuki H, Hotta T, Koyama T, *et al.* Retrovirus-mediated transduction of TRAIL and chemotherapeutic agents co-operatively induce apoptotic cell death in both sarcoma and myeloma cells[J]. *Anticancer Res*, 2003, 23(4): 3247-3253.
- [11] Huang X, Lin T, Gu J, *et al.* Combined TRAIL and Bax gene therapy prolonged survival in mice with ovarian cancer xenograft [J]. *Gene Ther*, 2002, 9(20): 1379-1386.
- [12] Yoo J, Choi S, Hwang KS, *et al.* Adeno-associated virus-mediated gene transfer of a secreted form of TRAIL inhibits tumor growth and occurrence in an experimental tumor model[J]. *J Gene Med*, 2006, 8(2): 163-174.
- [13] Zhang X, Cheung RM, Komaki R, *et al.* Radiotherapy sensitization by tumor-specific TRAIL gene targeting improves survival of mice bearing human non-small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(18): 6657-6668.
- [14] Jo M, Kim TH, Seol DW, *et al.* Apoptosis induced in normal human hepatocytes by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand[J]. *Nat Med*, 2000, 6 (5): 564-567.
- [15] Nesterov A, Ivashchenko Y, Kraft AS. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) triggers apoptosis in normal prostate epithelial cells[J]. *Oncogene*, 2002, 21 (7): 1135-1140.
- [16] Ashkenazi A, Pai RC, Fong S, *et al.* Safety and antitumor activity of recombinant soluble Apo2 ligand[J]. *J Clin Invest*, 1999, 104 (2): 155-162.
- [17] Griffith TS, Lynch DH. TRAIL: a molecule with multiple reports and control mechanisms[J]. *Curr Opin Immunol*, 1998, 10(5): 559-563.
- [18] Pan G, Ni J, Wei YF, *et al.* An antagonist decoy receptor and a death domain-containing receptor for TRAIL[J]. *Science*, 1997, 277(5327): 815-818.
- [19] Kagawa S, He C, Gu J, *et al.* Antitumor activity and bystander effects of the tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) gene[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(8): 3330-3338.
- [20] Lee TJ, Lee JT, Park JW, *et al.* Acquired TRAIL resistant in human breast cancer cells are caused by the sustained cFLIP and XI-PA protein levels and ERK activation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 351(4): 1024-1030.
- [21] Petrella A, Ercolino SF, Festa M, *et al.* Dexamethasone inhibits TRAIL-induced apoptosis of thyroid cancer via Bel-x(L) induction [J]. *Eur J Cancer*, 2006, 42 (18): 3287-3293.
- [22] Sherr CJ. Cancer cell cycles[J]. *Science*, 1996, 274(5293): 1672-1677.
- [23] Jarry A, Charrier L, Bou-Hanna C, *et al.* Position in cell cycle controls the sensitivity of colon cancer cells to nitric oxide-dependent programmed cell death[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(12): 4227-4234.

[收稿日期] 2007 - 04 - 11

[修回日期] 2007 - 07 - 23

[本文编辑] 韩丹

《中国肿瘤生物治疗杂志》欢迎投稿、欢迎订阅