

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2008.04.004

鸟氨酸脱羧酶和 S-甲硫氨酸脱羧酶双反义 RNA 腺病毒抑制食管癌细胞的增殖和侵袭

宋 旭¹, 田 辉^{1*}, 刘贤锡², 张 冰², 李文军¹, 徐 杰¹(1. 山东大学 齐鲁医院 胸外科, 山东 济南 250012; 2. 山东大学医学院 分子生物学实验中心, 山东 济南 250012)

[摘 要] 目的: 探讨鸟氨酸脱羧酶(ornithine decarboxylase, ODC)和 S-甲硫氨酸脱羧酶(s-adenosylmethionine decarboxylase, AdoMetDC)的双反义 RNA 腺病毒载体(Ad-ODC-AdoMetDCas)对食管癌 Eca109 细胞增殖和侵袭的抑制作用。方法: 重组腺病毒载体 Ad-ODC-AdoMetDCas 感染食管癌 Eca109 细胞, 应用 Western blotting 和 HPLC 分别检测双反义 RNA 腺病毒对食管癌细胞中 ODC 和 AdoMetDC 蛋白表达以及胞内多胺合成的抑制作用。采用活细胞计数法观察其对食管癌 Eca109 细胞生长增殖的影响, 采用 Matrigel 侵袭实验检测重组腺病毒载体感染对食管癌 Eca109 细胞侵袭活性的影响。同时应用裸鼠皮下移植瘤模型观察 Ad-ODC-AdoMetDCas 对移植食管癌生长增殖的抑制作用。结果: Western blotting 证实 Ad-ODC-AdoMetDCas 可明显抑制食管癌 Eca109 细胞中 ODC 和 AdoMetDC 蛋白的表达, HPLC 结果显示食管癌 Eca109 细胞感染 Ad-ODC-AdoMetDCas 后细胞内腐胺、精胺、精脒等 3 种多胺含量都明显降低($P < 0.01$)。活细胞计数法表明 Ad-ODC-AdoMetDCas 对食管癌 Eca109 细胞生长增殖有明显抑制作用($P < 0.01$), Matrigel 侵袭实验结果显示 Ad-ODC-AdoMetDCas 可显著降低食管癌 Eca109 细胞的体外侵袭能力($P < 0.01$)。体内实验显示, 双反义 RNA 腺病毒载体对已形成的裸鼠皮下移植瘤具有明显的抑制作用($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论: ODC 和 AdoMetDC 双反义 RNA 重组腺病毒能显著抑制食管癌细胞的增殖和侵袭, 具有食管癌基因治疗临床应用的潜在价值。

[关键词] 鸟氨酸脱羧酶; S-甲硫氨酸脱羧酶; 反义 RNA; 重组腺病毒; 食管癌; 基因治疗

[中图分类号] R735.1; R730.54 [文献标志码] A [文章编号] 1007-385X(2008)04-0316-05

Inhibitory effects of adenovirus-mediated biantisense ornithine decarboxylase and s-adenosylmethionine decarboxylase on proliferation and invasion of esophageal cancer cells

SONG Xu¹, TIAN Hui^{1*}, LIU Xian-xi², ZHANG Bing², LI Wen-jun¹, XU Jie¹(1. Department of Thoracic Surgery, Qilu Hospital, Shandong University, Ji'nan 250012, China; 2. Experimental Center of Medical Molecular Biology, School of Medicine, Shandong University, Ji'nan 250012, China)

[Abstract] **Objective:** To study the inhibitory effects of Ad-ODC-AdoMetDCas, a recombinant adenovirus with biantisense RNA of ornithine decarboxylase (ODC) and s-adenosylmethionine decarboxylase (AdoMetDC), on cell proliferation and invasion of esophageal cancer cells. **Methods:** The Ad-ODC-AdoMetDCas was used to infect esophageal cancer Eca109 cells. Western blotting was used to examine the protein expression of ODC and AdoMetDC in Eca109 cells. The content of polyamine in Eca109 cells was determined by HPLC. The inhibition on the proliferation of Eca109 cells was investigated by viable cell counting. Matrigel invasion assay was used to study the invasion ability of Eca109 cells. Furthermore, the anti-tumor effect of Ad-ODC-AdoMetDCas was evaluated in a nude mouse xenograft model. **Results:** Western blotting assay showed that Ad-ODC-AdoMetDCas inhibited the expression of ODC and AdoMetDC; HPLC indicated that the contents of putrescine, spermidine and spermine were markedly decreased in Eca109 cells after infection with Ad-ODC-AdoMetDCas ($P < 0.01$). Viable cell counting showed that Ad-ODC-AdoMetDCas significantly inhibited the proliferation of Eca109 cells ($P < 0.01$). Matrigel invasion assay showed that Ad-ODC-AdoMetDCas significantly decreased the invasion ability of Eca109 cells *in vitro* ($P < 0.01$). Meanwhile, experiments with nude mouse xenograft model demonstrated that Ad-ODC-AdoMetDCas had significant anti-tumor ability *in vivo* ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Ad-ODC-

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30571844); 山东大学博士后基金资助项目(2005). Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30571844); Postdoctoral Foundation of Shandong University (2005)

[作者简介] 宋 旭(1982-), 男, 山东省青岛市人, 医学硕士, 主要从事胸部肿瘤治疗方面的研究, E-mail: songxu1982@yahoo.com.cn

* Corresponding author. E-mail: tianhui@sohu.com

AdoMetDCas can significantly inhibit the proliferation and invasion of esophageal cancer, which makes it a potential therapy for the treatment of esophageal cancer.

[**Key words**] ornithine decarboxylase(ODC); s-adenosylmethionine decarboxylase(AdoMetDC); antisense RNA; recombinant adenovirus; esophageal neoplasms; gene therapy

[Chin J Cancer Biother, 2008, 15(4): 316-320]

多胺是存在于所有生物中脂肪族多聚离子,主要包括腐胺(putrescine, Put)、精脒(spermidine, Spd)和精胺(spermine, Spm)。多胺通过改变 DNA 结构和调节信号转导途径等方式调节基因的表达,从而在细胞生长和分化过程中发挥着重要的作用。有研究^[1]发现,在肿瘤细胞和组织中多胺的含量和生物合成明显增高。哺乳动物细胞中的多胺合成途径主要由两种限速酶调控,鸟氨酸脱羧酶(ornithine decarboxylase, ODC)是多胺生物合成途径中第一个限速酶,可催化 L-鸟氨酸脱羧生成腐胺。S-腺苷甲硫氨酸脱羧酶(s-adenosylmethionine decarboxylase, AdoMetDC)是多胺合成的第二个限速酶,主要是催化 S-腺苷甲硫氨酸(s-adenosylmethionine, SAM)脱羧基,形成脱羧的 SAM(dcSAM),为精脒和精胺的合成提供丙氨基。AdoMetDC 活性在许多人类肿瘤中也明显升高,过表达 AdoMetDC 可以促使 NIH3T3 细胞恶性转化,因此 AdoMetDC 较 ODC 可能是更有力的转化诱导剂。研究^[3]证实,抑制 ODC 和 AdoMetDC 的活性可以防治肿瘤的形成和转移,ODC 和 AdoMetDC 是肿瘤治疗的重要靶标之一。为了探讨同时抑制 ODC 和 AdoMetDC 表达,从而降低细胞内多胺的含量对食管癌的治疗作用,本实验在已构建的 ODC 单反义 RNA 腺病毒的基础上^[1-2],进一步构建了可以同时表达 ODC 和 AdoMetDC 反义 RNA 的双反义腺病毒载体(Ad-ODC-AdoMetDCas),利用该重组腺病毒 Ad-ODC-AdoMetDCas 作用于食管癌 Eca109 细胞,研究其对食管癌多胺合成、细胞增殖的抑制作用,为探讨其对食管癌基因治疗的可行性提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料和实验动物

人食管癌 Eca109 细胞购自中科院上海细胞所, Ad-GFP、Ad-ODCas 和 Ad-ODC-AdoMetDCas 由山东大学医学院分子生物学实验中心构建和包装^[2]。DMEM、RPMI 1640 培养液购自 Gibco 公司,胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司, ODC 抗体购自 Sigma 公司。腐胺、精脒、精胺、已二胺、丹酰氯均系美国 Sigma-Aldrich 有限公司产品。裂解液组分: 50 mmol/L Tris(pH 8.0), NP-40(1%), aprotinin(1 μg/ml), 十二烷基磺酸钠(0.1%), 叠氮钠(0.02%), 氯化钠(150 mmol/L), PMSF(100 μg/ml)。BALB/c(nu⁻/nu⁻)裸小鼠购自上海实验动

物所[合格证号: SCXK(鲁)20030004]。实验动物的饲养: 裸鼠每笼 4 只,饲养于无菌间层流室内,每 3 d 换 1 次饲料、饮水和垫料,室温 21 ~ 26 °C,湿度 60% ~ 70%, 4 ~ 6 周龄,体重在 18 ~ 22 g 之间。

1.2 体外基因转染效率的检测

收集对数生长期 Eca109 细胞,按 3×10^5 个/孔铺于六孔板中。培养 24 h 后吸出细胞培养液,加入 500 μl Ad-GFP 病毒孵育液,感染复数(MOI)分别为 100、50、20、10、5 和 0, 每组设 3 个复孔。37 °C 孵育 90 min, 吸出病毒孵育液,加入完全培养液 2 ml, 放入细胞培养箱继续培养 48 h。用预冷的 PBS 清洗 1 遍,加入消化液(0.25 % 胰酶 + 0.02 % EDTA)消化。1 000 × g 离心 5 min, 500 μl PBS + 2% 小牛血清重悬细胞。流式细胞仪计数 GFP 阳性细胞及细胞总数。未感染病毒的细胞(MOI = 0)设为对照细胞。基因转染效率(%) = GFP 阳性细胞数/细胞总数 × 100 %

1.3 Western blotting 检测 Eca109 细胞感染重组腺病毒后 ODC、AdoMetDC 蛋白的表达

1×10^6 个 Eca109 细胞分别感染 50 MOI 的 Ad-GFP、Ad-ODCas 和 Ad-ODC-AdoMetDCas, 72 h 后收集细胞。用裂解液抽提细胞总蛋白, 蛋白样品浓度采用 BCA 法测定, 经 SDS-PAGE(12% 分离胶)电泳, 电转移到硝酸纤维素膜上。5% 脱脂奶粉封闭 2 h, 一抗 4 °C 孵育过夜, 加入 HRP 标记的二抗室温孵育 2 h 后, 采用 SuperSignal West Pico 化学发光底物曝光显影。β 肌动蛋白表达作为内参照。

1.4 高效液相色谱法(HPLC)测定感染后 Eca109 细胞内多胺含量的变化

重组腺病毒感染及其分组情况同 1.3。收集 1×10^7 个细胞, 用冰冷的 PBS 冲洗 2 遍; 1 000 × g 离心 5 min 收集细胞沉淀, 过多的 PBS 用棉棒轻轻沾去; 加入 0.5 ml 10% 高氯酸到细胞沉淀中, 4 °C 孵育 30 min; 12 000 × g, 离心 3 min, 上清液贮存于 -20 °C。取丙酮溶解的丹酰氯 200 μl, 细胞上清液 200 μl, 已二胺 50 μl 和饱和 Na₂CO₃ 50 μl 混匀; 50 °C 水浴, 30 min; 加样分析。流动相 A 为甲醇, B 为重蒸水。开始时 AB 两液以 8:2 混合入柱, 10 min 内 A 液上升至 100%, B 液降为 0, 维持 15 min, 流速 1 ml/min。荧光激发波长 370 nm, 发射波长 506 nm, 纸速 3 mm/min, 柱温 40 °C。

1.5 锥虫蓝染色活细胞计数法检测反义 RNA 重组腺病毒对食管癌 Eca109 细胞增殖的影响

按每孔 5×10^4 个细胞接种 Eca109 细胞于六孔板中, 24 h 后分别感染 50 MOI 的 Ad-GFP、Ad-ODCas 和 Ad-ODC-AdoMetDCas, PBS 处理组作为空白对照, 每组设 3 个复孔。细胞每隔 24 h 用胰酶消化, 0.4% 锥虫蓝染色后, 计数未染色的活细胞并绘制细胞生长曲线。

1.6 基底膜侵袭实验检测肿瘤细胞的侵袭能力

Transwell 小室(孔径 $8 \mu\text{m}$, 直径 6.5 mm)表面覆盖 $30 \mu\text{l}$ 的 Matrigel 膜, 放入 24 孔板中, 室温干燥 2 h。下层板孔内加入 0.6 ml 含 10% 胎牛血清的 1640 培养液。Ad-GFP、Ad-ODCas 和 Ad-ODC-AdoMetDCas 感染 Eca109 细胞 48 h 后, 胰酶消化收集细胞, 小室上层加入 0.1 ml 细胞悬液(密度为 $5 \times 10^5/\text{ml}$)。37 °C、5% CO_2 孵育 24 h。用棉签抹去未穿过的细胞, 固定小室底部的细胞并用苏木精染色。每孔选取 5 个不同的区域, 在 $200 \times$ 显微镜下观察计数穿过膜的细胞个数。

1.7 移植瘤模型的建立和移植瘤抑制实验

收集生长良好的 Eca109 细胞, 用 0.01% PBS 调节细胞密度为 $5 \times 10^7/\text{ml}$ 。用 1 ml 注射器将 $100 \mu\text{l}$ 细胞悬液注射入裸鼠腹部皮下。2 周后当肿瘤直径达到 4~6 mm 时, 将裸小鼠随机分成 2 组, 每组 6 只。瘤组织内分别注射 Ad-GFP 和 Ad-ODC-AdoMetDCas 5×10^8 pfu, 每 24 h 注射 1 次, 共计 3 次。肿瘤体积每 2 d 测量 1 次, 共计测量 30 d。体积计算公式为: 肿瘤体积 = (长 \times 宽²) \times 0.5236

1.8 统计学处理

数据统计为 $\bar{x} \pm s$, 采用 SPSS Version12.0 软件对数据进行成组 *t* 检验。 $P < 0.05$ 有显著性差异。

2 结果

2.1 重组腺病毒感染 Eca109 细胞的效率

采用不同的 MOI Ad-GFP 感染 Eca109 细胞, 用来检测腺病毒介导的基因转染效率。结果显示, 50 MOI 的 Ad-GFP 感染细胞后, 75% Eca109 细胞呈现 GFP 阳性, 而且没有明显的细胞毒性。所以后续实验中的 MOI 确定为 50。

2.2 双反义 RNA 腺病毒载体对肿瘤细胞中 ODC 和 AdoMetDC 表达的影响

PBS、Ad-GFP、Ad-ODCas 和 Ad-ODC-AdoMetDCas 分别处理 Eca109 细胞 72 h 后, Western blotting 检测 ODC 和 AdoMetDC 表达。结果显示, Ad-ODCas 处理细胞中 ODC 蛋白表达明显降低, 而 AdoMetDC

没有明显变化; Ad-ODC-AdoMetDCas 处理细胞中 ODC 和 AdoMetDC 表达都受到了明显抑制(图 1)。

2.3 双反义 RNA 腺病毒对 Eca109 细胞内多胺含量的影响

Ad-ODCas 和 Ad-ODC-AdoMetDCas 感染肿瘤细胞后, 在降低细胞 ODC 和 AdoMetDC 表达的同时, 也降低了细胞内多胺的水平。表 1 显示, 感染 Ad-ODCas 72 h 后, Eca109 细胞中腐胺(Put)和精脒(Spd)含量明显降低 ($P < 0.05$), 精胺(Spm)下降不明显 ($P > 0.05$)。而在 Ad-ODC-AdoMetDCas 感染细胞中, 3 种多胺的含量都有明显降低 ($P < 0.05$)。

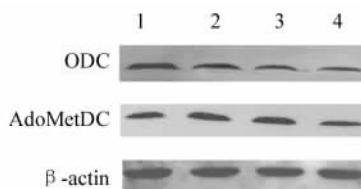


图 1 重组腺病毒对 Eca109 细胞 ODC 和 AdoMetDC 表达的影响

Fig. 1 Effect of recombination adenovirus Ad-ODCas and Ad-ODC-AdoMetDCas on expression of ODC and AdoMetDC in Eca109 cells

1: PBS; 2: Ad-GFP; 3: Ad-ODCas; 4: Ad-ODC-AdoMetDCas

表 1 重组腺病毒 Ad-ODCas 和 Ad-ODC-AdoMetDCas 对 Eca109 细胞内多胺含量的影响 ($m_g/\text{pmol} \cdot \text{mg}^{-1}$)

Tab. 1 Effect of Ad-ODCas and Ad-ODC-AdoMetDCas on polyamine contents in Eca109 cells

Group	Put	Spd	Spm
PBS	590 ± 12	1 560 ± 16	1 489 ± 21
Ad-GFP	525 ± 9	1 463 ± 14	1 672 ± 18
Ad-ODCas	254 ± 5**	1 189 ± 10*	1 321 ± 13
Ad-ODC-AdoMetDCas	76 ± 6**	632 ± 15**	337 ± 26**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Ad-GFP or PBS

2.4 双反义 RNA 腺病毒对食管癌细胞增殖的抑制

采用活细胞计数方法检测重组腺病毒感染后食管癌细胞的增殖。细胞生长曲线显示, Ad-ODCas 和 Ad-ODC-AdoMetDCas 感染 Eca109 细胞较对照处理组细胞增殖速度明显减慢(图 2), 表明 Ad-ODCas 和 Ad-ODC-AdoMetDCas 对于食管癌细胞增殖具有抑制作用 ($P < 0.01$); 同时还显示, Ad-ODC-AdoMetDCas 与 Ad-ODCas 相比较, 对食管癌细胞生长抑制作用更强 ($P < 0.05$)。

2.5 双反义 RNA 腺病毒对 Eca109 细胞体外侵袭能力的影响

采用 Matrigel 侵袭实验观察 Ad-ODCas 和 Ad-ODC-AdoMetDCas 对 Eca109 细胞侵袭能力的影响。结果显示,每个视野中只有 (9 ± 3) 个 Ad-ODC-AdoMetDCas 感染细胞和 (20 ± 5) 个 Ad-ODCas 感染细胞穿过 Transwell 小室,而 PBS 和 Ad-GFP 处理的细胞却分别有 (51 ± 7) 和 (48 ± 8) 个 ($P < 0.05$)。穿过 transwell 小室膜的 Ad-ODC-AdoMetDCas 处理组细胞大约是 Ad-GFP 处理组的 30% ($P < 0.01$)。结果提示 Ad-ODC-AdoMetDCas 可以明显抑制 Eca109 细胞的侵袭能力(图 3)。

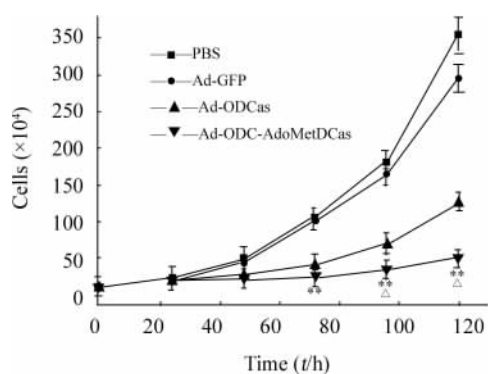


图 2 Ad-ODCas 和 Ad-ODC-AdoMetDCas 对 Eca109 细胞增殖的影响

Fig. 2 Effect of Ad-ODCas and Ad-ODC-AdoMetDCas on proliferation of Eca109 cells

** $P < 0.01$ vs PBS or Ad-GFP; $\Delta P < 0.05$ vs Ad-ODCas

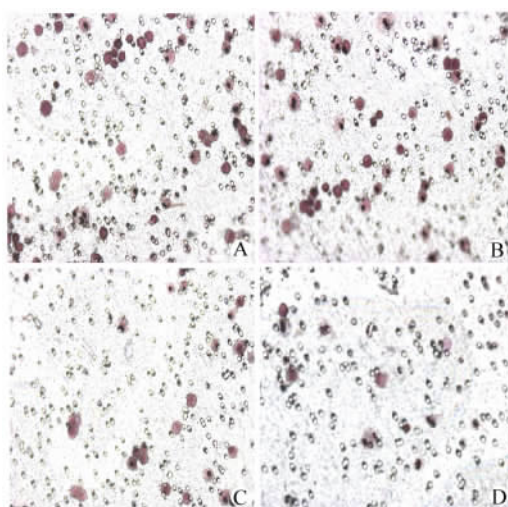


图 3 反义 RNA 重组腺病毒对 Eca109 细胞体外侵袭能力的抑制 ($\times 200$)

Fig. 3 Inhibitory effect of recombinant adenovirus with antisense RNA on invasiveness of Eca109 cells ($\times 200$)

A: PBS; B: Ad-GFP; C: Ad-ODCas;
D: Ad-ODC-AdoMetDCas

2.6 双反义 RNA 腺病毒对裸鼠食管癌移植瘤生长的影响

实验结果显示,与注射对照腺病毒 Ad-GFP 相比较,注射 Ad-ODC-AdoMetDCas 对 Eca109 移植瘤的生长具有明显的抑制作用(图 4)。另外裸鼠在注射 Ad-ODC-AdoMetDCas 后 30 d 内没有发现全身毒性反应,也没有小鼠死亡。

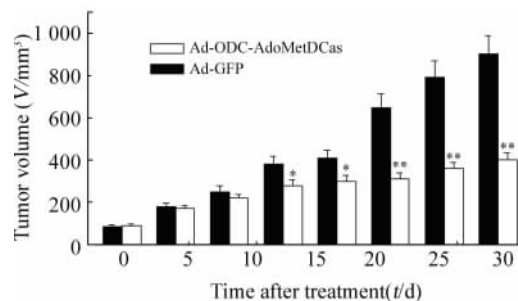


图 4 重组腺病毒反义 RNA 对裸鼠 Eca109 细胞移植瘤的抑制作用

Fig. 4 Inhibitory effect of recombination adenovirus with antisense RNA on Eca109 cells xenograft tumor in nude mice

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Ad-GFP

3 讨论

基因治疗是癌症治疗的研究热点。随着分子技术的不断提高,针对特定靶分子的反义核酸治疗在癌症治疗中显示了良好的前景。利用 ODC、AdoMetDC 及多胺新陈代谢的调节为靶标进行肿瘤的治疗正成为近期的研究热点。

本研究发现,ODC 和 AdoMetDC 双反义腺病毒载体(Ad-ODC-AdoMetDCas)可显著抑制 Eca109 细胞的生长增殖($P < 0.05$, $P < 0.01$),可明显降低 Eca109 细胞中 ODC 和 AdoMetDC 蛋白的表达量($P < 0.05$)。国内外许多研究^[4-5]已证明,抑制 ODC 蛋白的活性和表达量,可减缓肿瘤细胞的生长。最近对多胺类似物的研究表明,多胺类似物取代多胺能达到抑制细胞增殖的目的^[6]。Choi 等^[7]研究发现 ODC 的主要调控者抗酶(Az)的抑制剂(AzI)在肺癌 A-549 细胞中高表达,通过减少 AzI 的表达,增加抗酶的活性,从而抑制 ODC,减少多胺的生成。Walton 等^[8]实验证明,细胞内多胺的水平调控着机体对致癌物质的感应性。研究发现,在许多肿瘤中抑制 ODC 和 AdoMetDC 可明显的抑制肿瘤生长,如前列腺癌、乳腺癌、大肠癌和胰腺癌等^[9-12]。这些结果表明,抑制 ODC 和 AdoMetDC 可取得明显的肿瘤抑制效用,ODC 和 AdoMetDC 可作为有前景的肿瘤反

义基因治疗的靶基因。

尽管细胞内多胺含量是由合成、代谢、吸收和排出多个过程控制,但癌细胞中多胺含量的增多主要与 ODC 和 AdoMetDC 的活性升高有关。有研究^[13]表明前列腺癌、乳腺癌和大肠癌中发现 ODC 和 AdoMetDC 活性升高,并且与癌症的复发关系密切^[14]。最近研究^[1-2]发现 ODC 单反义腺病毒可以抑制 ODC 活性从而抑制肺癌的生长,但该病毒并没有抑制另一个多胺合成关键酶 AdoMetDC 的活性,该酶在肿瘤细胞中同样表达升高。体外实验已证明在抑制 ODC 基础上抑制 AdoMetDC 比单独抑制 ODC 具有更好的抗食管癌效果。本研究中感染 Ad-ODC-AdoMetDCas 的 Eca109 细胞中 ODC 和 AdoMetDC 表达量分别降低了 50% 多和 70% 多,3 种多胺的含量也都明显降低;相反 Ad-ODCas 只抑制了腐胺和精胺的含量,而精胺的含量与对照细胞相比并未有实质性的改变。这可能与 Ad-ODCas 只抑制 ODC 而不抑制 AdoMetDC 表达有关。多胺的升高还与肿瘤的侵袭密切相关,人们已发现 ODC 高表达是肿瘤细胞具有侵袭能力的重要因素。高表达的 AdoMetDC 可以通过不同分子途径补充和加强 ODC 活性,从而使细胞侵袭能力增强^[15]。

本研究也发现,Ad-ODC-AdoMetDCas 在体内可以抑制裸鼠移植瘤的生长,与对照组相比,注射 Ad-ODC-AdoMetDCas 的裸鼠皮下移植瘤生长明显受抑制。Ad-ODC-AdoMetDCas 在体外表现出的抗增殖和侵袭能力可能是抑制皮下肿瘤生长的主要原因。

总之,本研究表明鸟氨酸脱羧酶和 S-甲硫氨酸脱羧酶双反义 RNA 重组腺病毒能减少 ODC 和 AdoMetDC 基因的表达,降低食管癌细胞内多胺含量,减弱食管癌细胞的侵袭能力,抑制食管癌的体内外的生长和增殖。因此采用基因治疗同时抑制 ODC 和 AdoMetDC 可能成为一种食管癌治疗的新方法。

[参考文献]

- [1] TIAN H, LI L, LIU XX, *et al.* Antitumor effect of antisense ornithine decarboxylase adenovirus on human lung cancer cells[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2006, 38(6): 410-416.
- [2] TIAN H, HUANG Q, LI L, *et al.* Gene expression of ornithine decarboxylase in lung cancers and its clinical significance[J].

Acta Biochim Biophys Sin, 2006, 38(9): 639-645.

- [3] Zhang B, Liu XX, Zhang Y, *et al.* Polyamine depletion by ODC-AdoMetDC antisense adenovirus impairs human colorectal cancer growth and invasion *in vitro* and *in vivo*[J]. *J Gene Med*, 2006, 8(8): 980-989.
- [4] 田 辉,刘贤锡,张 冰,等. ODC、AdoMetDC 反义腺病毒对肺癌增殖和侵袭抑制作用的体外和体内研究[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2007, 34(7): 709-717.
- [5] Cui XS, Kim NH. Polyamines inhibit apoptosis in porcine parthenotes developing *in vitro* [J]. *Mol Reprod Dev*, 2005, 70(4): 471-477.
- [6] Huang Y, Pledgie A, Casero RA Jr, *et al.* Molecular mechanisms of polyamine analogs in cancer cells[J]. *Anticancer Drugs*, 2005, 16(3): 229-241.
- [7] Choi KS, Suh YH, Kim WH, *et al.* Stable siRNA-mediated silencing of antizyme inhibitor: regulation of ornithine decarboxylase activity[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 328(1): 206-212.
- [8] Wallon UM, O' Brien TG. Polyamines modulate carcinogen-induced mutagenesis *in vivo*[J]. *Environ Mol Mutagen*, 2005, 45(1): 62-69.
- [9] Devens BH, Weeks RS, Burns MR, *et al.* Polyamine depletion therapy in prostate cancer[J]. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2000, 3(4): 275-279.
- [10] Love RR, Astrow SH, Cheeks AM, *et al.* Ornithine decarboxylase (ODC) as a prognostic factor in operable breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2003, 79(3): 329-334.
- [11] Wolter F, Ulrich S, Stein J. Molecular mechanisms of the chemopreventive effects of resveratrol and its analogs in colorectal cancer: key role of polyamines[J]? *J Nutr*, 2004, 134(12): 3219-3222.
- [12] Subhi AL, Tang B, Balsara BR, *et al.* Loss of methylthioadenosine phosphorylase and elevated ornithine decarboxylase is common in pancreatic cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(21): 7290-7296.
- [13] Zhang B, Liu XX, Zhang Y, *et al.* Adenovirus-mediated expression of both antisense ODC and AdoMetDC inhibited colorectal cancer cell growth *in vitro*[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2006, 27(3): 353-359.
- [14] Gong L, Jiang C, Zhang B, *et al.* Adenovirus-mediated expression of both antisense ornithine decarboxylase and s-adenosylmethionine decarboxylase induces G1 arrest in HT-29 cells[J]. *J Biochem Mol Biol*, 2006, 39(6): 730-736.
- [15] Ravanko K, Jarvinen K, Helin J, *et al.* Cysteine cathepsins are central contributors of invasion by cultured adenosylmethionine decarboxylase-transformed rodent fibroblasts[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(24): 8831-8838.

[收稿日期] 2008-05-10

[修回日期] 2008-07-05

[本文编辑] 王 莹