

## · 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2008.05.006

**氟脲嘧啶促进 Egr-1 启动子上调人骨髓基质细胞 GM-CSF 的表达**

杜楠<sup>1\*</sup>, 裴雪涛<sup>2</sup>, 孙君重<sup>1</sup>, 付艳<sup>1</sup>, 赵晖<sup>1</sup>, 王希良<sup>1</sup>(1. 解放军总医院第一附属医院肿瘤科, 北京 100037; 2. 军事医学科学院野战输血研究所, 北京 100037)

**[摘要]** 目的: 探索氟脲嘧啶(5-FU)对 Egr-1 启动子上调人骨髓基质细胞造血因子 GM-CSF 表达的促进作用, 以寻找促进化疗所致造血损伤恢复的方法。方法: 构建携带 Egr-1 调控序列启动的 GM-CSF 和 EGFP 双顺反子基因的重组真核表达载体(pCIneo-Egr-1-EGFP-IRES-GM-CSF, Egr-EG), 通过脂质体转染骨髓基质细胞系 HFCL, 挑出 G418 抗性的阳性克隆(HFCL/EG)。采用 RT-PCR 检测 5-FU 处理的 HFCL/EG 细胞 GM-CSF mRNA 表达, 用 FACS 和倒置荧光显微镜观察 5-FU 诱导 HFCL/EG 细胞 EGFP 表达的阳性细胞。在加入 5-FU 的 HFCL/EG 细胞培养体系中, 用 ELISA 方法检测 GM-CSF 的含量; 将从脐血中分离的单个核细胞接种于 5-FU 处理后的 HFCL/EG 培养上清液培养基中, 观察其对 GM-CFU 的增殖作用; 采用活性氧抑制剂 N-乙酰半胱氨酸检测 5-FU 通过活性氧诱导 Egr-1 启动子 CArG 序列调控下游基因表达的特异性。结果: 构建了 Egr-1 调控序列启动的双顺反子基因表达载体 Egr-EG, 获得其转染细胞 HFCL/EG。在 5-FU 处理的 HFCL/EG 细胞中, RT-PCR 显示其 GM-CSF mRNA 表达增强, 流式细胞术证实有 EGFP 的显著表达。在 5-FU 处理后, HFCL/EG 细胞培养上清液 GM-CSF 含量和 GM-CFU 形成数量分别较未处理细胞能明显增高( $P < 0.01$ ); 在 5-FU 处理的 HFCL/EG 细胞中, N-乙酰半胱氨酸能明显减少 GM-CSF 含量( $P < 0.01$ )。结论: 5-FU 能促进 Egr-1 启动子上调人骨髓基质细胞 GM-CSF 基因的表达, 从而对化疗后的造血损伤产生一定的恢复作用。

**[关键词]** Egr-1; 5-氟脲嘧啶; 粒-巨噬细胞集落刺激因子; 骨髓基质细胞; 活性氧中间物

**[中图分类号]** R730.5; R730.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2008)05-0428-05

**5-fluorouracil enhances Egr-1 promoter upregulate expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in human bone marrow stromal cells**

DU Nan<sup>1\*</sup>, PEI Xue-tao<sup>2</sup>, SUN Jun-zhong<sup>1</sup>, FU Yan<sup>1</sup>, ZHAO Hui<sup>1</sup>, WANG Xi-liang<sup>2</sup>(1. Department of Oncology, The First Affiliated Hospital of General Hospital of PLA, Beijing 100037, China; 2. Institute of Field Blood Transfusion, Academy of Military Medical Sciences of PLA, Beijing 100037, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore 5-fluorouracil-induced regulating effect of Egr-1 promoter on expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) in human bone marrow stromal cells. **Methods:** The human GM-CSF cDNA and enhanced green fluorescent protein (EGFP) cDNA were linked together with IRES and then inserted into the expression vector pCIneo under control of the Egr-1 promoter (Egr-EG). The vector was then transferred into human bone marrow stromal cell line HFCL by lipofection. The transfected cell clones (HFCL/EG) were selected by the addition of G418. The cells were exposed to the anticancer agent 5-fluorouracil (5-FU). The activity of EGFP in HFCL/EG cells were detected by FACS. The amounts of GM-CSF in HFCL/EG postchemotherapy were determined with ELISA. The effects of GM-CSF in HFCL/EG cultural supernatants on expansion of CFU-GM derived from cord blood were also studied. The effect of N-acetylcysteine (a free radical scavenger) on GM-CSF production was examined following exposure to 5-FU. **Results:** We successfully constructed vector Egr-EG with Egr-1 promoter, and its transfectant HFCL/EG was obtained. The results indicated that the activity of EGFP and the amounts of secreted GM-CSF in HFCL/EG cells exposed to 5-FU were increased compared to non-5-FU group. The content of GM-CSF in HFCL/EG cultural supernatants was significantly higher than that in the non-5-FU group ( $P < 0.01$ ). N-acetylcysteine significantly decreased the content of

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No. 39900040); 解放军总医院第一附属医院新技术重大项目(ZD200502)。Supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 39900040); the New Major Technology Program of the First Hospital Affiliated to PLA General Hospital (No. ZD200502)

**[作者简介]** 杜楠(1962-)男,北京市人,博士,主任医师,主要从事肿瘤生物治疗方面的研究

\* Corresponding author. E-mail: dunan05@yahoo.com.cn

GM-CSF produced by HFCL/EG treated with 5-FU ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** 5-FU can enhance Egr-1 upregulate GM-CSF expression in human bone marrow stromal cells, and thus contribute to the recovery of hematopoietic function after chemotherapy.

[ **Key words** ] early growth response-1( Egr-1 ); 5-fluorouracil; granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; bone marrow stromal cell; radical oxygen intermediate

[ Chin J Cancer Biother, 2008, 15(5): 428-432 ]

电离辐射可诱导细胞产生活性氧中间物( radical oxygen intermediate, ROI)作用于 Egr-1 启动子调控序列 CArG 元件,进一步诱导下游靶基因表达<sup>[1]</sup>。将该启动子诱导的基因疗法与辐射结合起来,证明应用辐射可以通过氧自由基诱导 Egr-1 启动子调控下游基因超表达,包括 Egr-1 启动子经辐射诱导可调控下游造血因子基因表达<sup>[2]</sup>和调控抑癌基因用于肿瘤治疗<sup>[3]</sup>,亦称为辐射-基因疗法。抗肿瘤化疗药物的一个共同的特点也是通过产生活性氧中间物的作用导致 DNA 的损坏和细胞的死亡,化疗药物也能够增加细胞内的活性氧,包括广泛应用的抗癌药物氟脲嘧啶( 5-fluorouracil, 5-FU)等,这些药物的主要限制性毒性作用是造血功能损伤<sup>[4]</sup>。因此,本研究采用化疗药物通过活性氧自由基作用于 Egr-1 调控元件,促进下游连接的造血生长因子基因表达,从而减轻化疗药物所致的造血损伤,而不影响其抗肿瘤作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料与试剂

pEGFP-N1、pIRES、pCIneo 购自 Clontech 公司,携带 Egr-1 调控元件的 pCIneo 由军事医学科学院吕星惠赠。pMX/GM-CSF 由 Dr Donnell MD 惠赠。人骨髓基质细胞系 HFCL( 无分泌 GM-CSF)和 B16 由军事医学科学院 9 所提供。人新鲜脐带血由解放军 304 医院妇产科提供。SCID 小鼠由军事医学科学院动物中心提供[ 动物合格证号为 SYXK( 军) 2007-001 ]。人 GM-CSF 检测试剂盒及 GM-CSF 抗体购自晶美公司。N-乙酰半胱氨酸( N-acetyl-L-cysteine, NAC)购自 Sigma 公司,PCR 引物购自上海生物工程技术有限公司。

### 1.2 重组载体的构建及对 HFCL 细胞的转染

将人粒-巨噬细胞集落刺激因子( GM-CSF ) cDNA 和增强绿色荧光蛋白( EGFP )cDNA 分别用内部核糖体位点序列 IRES 连接,再重组于携带 Egr-1 调控元件的 pCIneo 载体上,构建成以前描述的载体 pCIneo-Egr-1-EGFP-IRES-GM-CSF( 简称 Egr-EG )及 pCI/GM-CSF( 简称 pCI-G )对照组载体<sup>[5]</sup>。然后分

别用脂质体介导 Egr-EG、pCI-G 和 pCIneo 转染人骨髓基质细胞系 HFCL<sup>[6]</sup>,用 G418 选择阳性克隆,称为 HFCL/EG、HFCL/G 和 HFCL/pCI。以上均在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养。

### 1.3 RT-PCR 检测外源 GM-CSF 基因 mRNA 表达

取经 5-FU( 100 mmol/L )处理后 HFCL/EG 细胞和 5-FU( 100 mg/kg )腹腔处理后荷瘤小鼠骨髓细胞,用 RNA 提取试剂盒提取总 RNA。按 GM-CSF 及  $\beta$ -actin 基因序列合成引物。GM-CSF 的 PCR 引物, P1: 5'-GCG GAT CCG CTG GAG GAT GTG GCTG-3'; P2: 5'-ATG AAA CAA GAG CTA GAA ACT CAGG-3';  $\beta$ -actin 引物的 PCR 引物, P1: 5'AAG GCC AAC CGC GAG AAG AT3'; P2: 5' TCG GTG AGG ATC TTC ATG GAG3'。RT-PCR 用 cDNA 合成试剂盒合成 cDNA,再用上述引物进行 PCR, 94 °C 60 s, 68 °C 60 s, 72 °C 120 s 共 36 次循环。PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳。

### 1.4 流式细胞术分析 5-FU 诱导 HFCL/EG 绿色荧光蛋白报告基因表达的剂量效应<sup>[7]</sup>

HFCL/EG 细胞按  $2 \times 10^5$ /孔的密度接种于 6 孔培养板,继续无血清培养 12 h,给予 5-FU 分别达终浓度 0、1、2、50、100、200、300、400 mmol/L,化疗后 8 h 收获细胞,于含 10% 甲醛的 PBS 中稍作固定后,倒置荧光显微镜下计数 GFP 表达阳性细胞百分数,然后用流式细胞术分析。

### 1.5 ELISA 法检测 5-FU 诱导 HFCL/EG 细胞 GM-CSF 表达的时间效应

将 HFCL/EG 细胞和 HFCL 细胞按  $1 \times 10^5$ /孔接种于 6 孔培养板,待细胞贴壁后,用 PBS 洗涤 3 次,在无血清 IMDM 培养加入 5-FU( 终浓度达 100 mmol/L )( 在人细胞系 LD<sub>50</sub> 的基础上 ),每种样品重复 3 孔,于化疗后不同时间收集上清,,采用 ELISA 方法检测 GM-CSF 含量,作时间效应曲线图。

### 1.6 集落形成实验检测 5-FU 诱导 HFCL/EG 对粒-巨噬细胞集落形成单位的影响

培养体系中含 0.8% 甲基纤维素、20% 为培养 24 h 的加或不加化疗药物( 5-FU )的 HFCL/EG 等各组细胞培养上清、12.5% FCS、从人脐血分离的单个

核细胞( MNC )  $1 \times 10^5$ /孔,置于 6 孔板中,7 d 后计数 GM-CFU 集落( 大于 50 个粒系或巨噬系细胞为 1 个集落 )。

### 1.7 ELISA 检测 NAC 对 5-FU 诱导 GM-CSF 表达的影响<sup>[4]</sup>

将 HFCL/EG 细胞和 HFCL 细胞按  $1 \times 10^5$ /孔接种于 6 孔培养板,待细胞贴壁后,用 PBS 洗涤 3 次,用无血清 IMDM 培养 24 h,换液并收集细胞培养上清液,每种样品重复 3 孔。HFCL/EG 细胞和 HFCL 细胞加入 5-FU,再向每孔加入含 20 mmol/L NAC 的培养液 0.1 ml,24 h 后收集培养上清液,采用 ELISA 方法检测 GM-CSF 含量。

### 1.8 统计学处理

应用 SPSS11.0 软件进行统计学分析,两组间计量资料比较采用 *t* 检验。

## 2 结果

### 2.1 载体的构建及转染骨髓基质细胞

构建并筛选后,经限制性内切酶分析鉴定证明,Egr-1 基因调控序列连接双顺反子 EGFP cDNA 和 GM-CSF cDNA 于真核表达载体 pCIneo 上,并筛选出正向重组子( 图 1 )。然后将其用脂质体转染骨髓基质细胞系 HFCL,经 G418 抗性筛选,挑选出一个阳性克隆 No. 4,命名为 HFCL/EG。

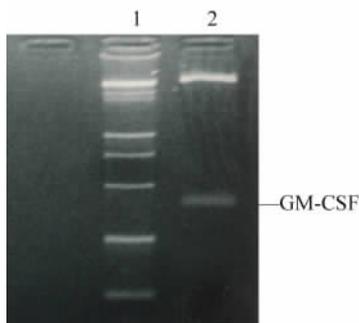


图 1 限制性内切酶分析鉴定 Egr-EG 双顺反子表达载体的构建

Fig.1 Identification of the recombinant plasmid Egr-EG

1: Marker DL15000 + 2000; 2: Egr-EG plasmid was cleaved by *Bam*H I and *Eco*R I

### 2.2 HFCL/EG 细胞 GM-CSF mRNA 的表达

RT-PCR 方法检测结果显示,经 5-FU 处理的 HFCL/EG 细胞的 GM-CSF mRNA 表达明显增强,剂量不同表达强度也有所不同;未经 5-FU 处理的 HFCL/EG 细胞无明显 GM-CSF mRNA 表达( 图 2 )。

### 2.3 HFCL/EG 细胞绿色荧光蛋白表达的剂量效应

如图 3、图 4 所示, HFCL/EG 细胞培养体系加入和不加 5-FU 组与 HFCL 对照组相比,无 5-FU 的 HFCL/EG 组绿色荧光蛋白表达较低,而加 5-FU 的 HFCL/EG 从 0 至 100 mmol/L 绿色荧光强度逐渐增加,5-FU 100 mmol/L 的荧光强度较无 5-FU 处理组高 4 倍以上,200 mmol/L 以后逐渐减弱。结果表明 Egr-1 启动子具有诱导下游基因表达的作用,但超过致死剂量后表达则减弱。

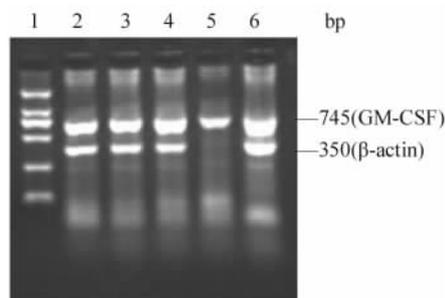


图 2 RT-PCR 检测 5-FU 处理后 HFCL/EG 细胞 GM-CSF mRNA 的表达

Fig.2 Expression of GM-CSF mRNA in HFCL/EG cells after 5-FU treatment by RT-PCR

1: Marker DL2000; 2-4: HFCL/EG cells after 5-FU ( 1 mmol/L, 100 mmol/L, 200 mmol/L, respectively ) treatment; 5: HFCL/EG cells; 6: HFCL/EG cells after 5-FU ( 2 mmol/L ) treatment

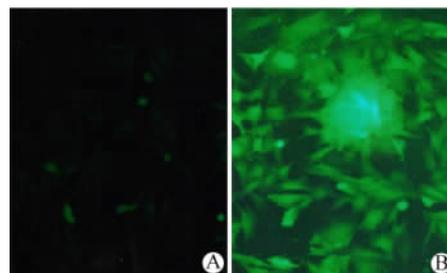


图 3 倒置荧光显微镜下观察 5-FU 诱导 HFCL/EG 细胞绿色荧光蛋白的表达(  $\times 400$  )

Fig.3 Expression of EGFP in HFCL/EG cells induced by 5-FU under fluorescence inverse microscopy(  $\times 400$  )

A: HFCL/EG group; B: HFCL/EG + 5-FU group

### 2.4 5-FU 诱导的 HFCL/EG 细胞表达 GM-CSF 的时间效应

ELISA 法检测 HFCL/EG 培养上清液 GM-CSF 含量结果显示:HFCL 不产生内源性 GM-CSF;HFCL 经转染 Egr-EG 后为 HFCL/EG,再经 5-FU 100 mmol/L 诱导可以产生 GM-CSF。GM-CSF 在加入 5-FU 后 8 h 开始增高至(  $143.10 \pm 27.05$  ) pg/ml;在

24 h 时最为明显,升至(655.24 ± 68.14) pg/ml ( $P < 0.01$ );以后逐渐降低,在 48 h 时降为(165.40 ± 21.31) pg/ml。

### 2.5 5-FU 诱导 HFCL/EG 细胞对 GM-CFU 集落形成的影响

如图 5 所示,虽然 5-FU(100 mmol/L)诱导后所有细胞扩增造血祖细胞的作用均有所减弱,但 HFCL/EG 细胞培养上清扩增祖细胞的作用仍分别强于 HFCL/G、HFCL/pCI、HFCL 细胞 ( $P < 0.05$ ),说明由于 5-FU 诱导 HFCL/EG 细胞产生了更多的 GM-CSF,因而促使 GM-CFU 集落形成得更多。

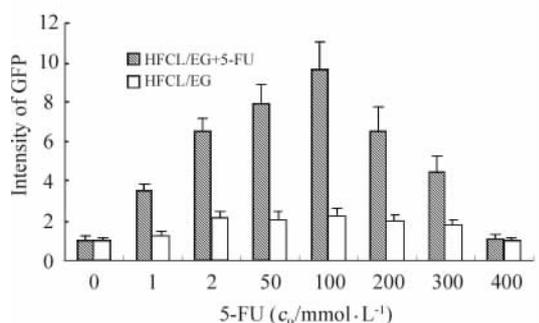


图 4 流式细胞术分析 5-FU 诱导 HFCL/EG 细胞绿色荧光蛋白的表达

Fig. 4 Expression of EGFP in HFCL/EG cells transfected with Egr-EG after exposure to 5-FU

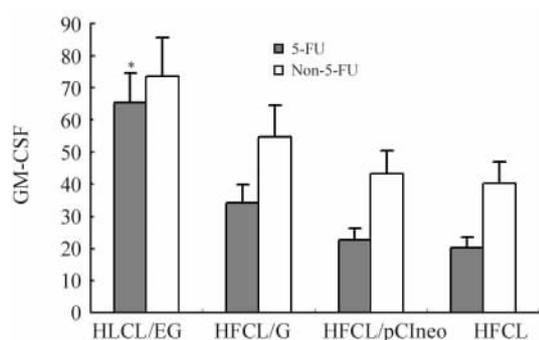


图 5 5-FU 诱导 HFCL/EG 对 GM-CFU 集落形成的影响  
Fig. 5 Effect of HFCL/EG cells induced by 5-FU on GM-CFU  
\*  $P < 0.05$  vs HFCL/G or HFCL/pCIneo or HFCL

### 2.6 NAC 对 5-FU 诱导 HFCL/EG 细胞表达 GM-CSF 基因的影响

图 6 显示,在各组培养体系中加入 20 mmol/L 活性氧抑制剂 NAC,5-FU 诱导的 HFCL/EG 中 GM-CSF 分泌量较未加 NAC 组明显减少 ( $P < 0.01$ ),尤其当 5-FU 浓度在 100 mmol/L 时最明显;而无 Egr-1 启动子调控的 HFCL/G 细胞未受 NAC 的影响 ( $P > 0.05$ )。结果表明,5-FU 是通过活性氧诱导 Egr-1

启动子调控下游基因表达的。

## 3 讨论

化疗诱导的靶向调控基因疗法是近年来针对肿瘤化疗和基因治疗而提出的新思路。众所周知,许多化疗药物在体内具有骨髓抑制作用,需要采用造血生长因子促进造血恢复并使正常造血细胞耐受化疗。人粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)是一种高效、广谱的造血生长因子,在体内外刺激造血祖细胞增殖和分化,刺激中性、嗜酸性粒细胞、巨噬细胞及树突状细胞增殖和成熟等作用,促进化疗后造血功能的恢复<sup>[8]</sup>。骨髓基质细胞(BMSC)是研究造血微环境中的重要环节,也是化疗后影响造血功能恢复速度的重要因素之一,现已证明 BMSC 是基因转移理想的靶细胞<sup>[9]</sup>。

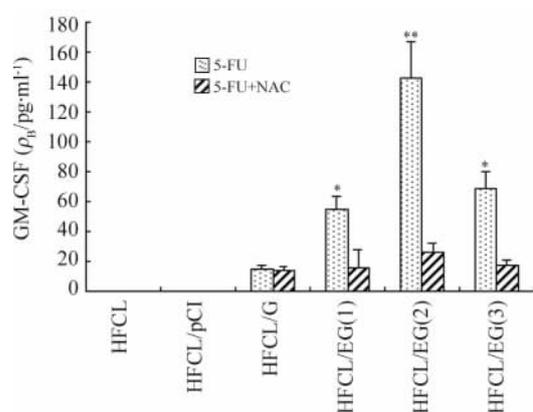


图 6 N-乙酰半胱氨酸(NAC)对 5-FU 诱导 HFCL/EG 细胞表达 GM-CSF 的影响

Fig. 6 Effect of N-acetyl-L-cysteine on GM-CSF expression in HFCL/EG cells induced by 5-FU

(1): Treatment with 2 mmol/L 5-FU; (2) Treatment with 100 mmol/L 5-FU; (3): Treatment with 200 mmol/L 5-FU  
\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs 5-FU + NAC

Egr-1 基因转录是由多种刺激信号(辐射、化疗等)通过氧自由基诱导作用于 Egr-1 启动子中 CC(A+T)<sub>6</sub>GG 序列(CArG)调控下游基因表达。Mezhir 等<sup>[10]</sup>研究发现在靶细胞或靶组织中当 Egr-1 启动子扳动开关(即氧自由基作用)时,下游基因产物呈空间和时间性表达,这种时间上的基因表达调控是指 Egr-1 启动子可以随着不同化学药物作用时间的变化而诱导强弱不同的基因表达;空间调控实际上是指在某种特定组织范围内用不同化学药物作用精确地靶向传递基因产物利用<sup>[11]</sup>。本实验将双顺反子 EGFP/GM-CSF cDNA 插入携带 Egr-1 启动子的真核表达载

体 pCIneo 的多克隆酶切位点上, 将 Egr-EG 导入骨髓基质细胞系 HFCL; 在 HFCL/EG 细胞中表达的绿色荧光蛋白, 用 FACS 检测证明了外源基因的整合与表达并确定其对不同化学药物的敏感性, 结合 ELISA 检测细胞因子含量, 证明双顺反子能很好地表达两个基因, 而且它将为研究多个因子协同作用及不同亚基组成的蛋白质提供一个简单而有效的载体。由于血清因子亦有刺激 Egr-1 调控序列诱导基因表达作用, 与 Egr-TNF $\alpha$  基因疗法相似, 故本实验在基因转染后采用无血清培养以避免这一因素的干扰; 血清因子也可通过 Egr-1 调控序列中 GArG 元件(本研究合成序列是 -419 至 +26 碱基)诱导下游基因表达, 然而, GM-CSF 主要通过 CRE 元件( Egr-1 序列的 -600 至 -480 碱基)调控下游基因作用, 同时, 与不同对照组比较, 显示出同等条件下化疗诱导的 Egr-1 启动子调控的 GM-CSF 基因疗法对造血损伤恢复明显增强。然而, 5-FU 诱导造血因子基因疗法的药物最合适剂量和范围尚需进一步探索。

本实验显示, 5-FU 可诱导 HFCL/EG 的造血生长因子表达, 但可被氧自由基抑制剂 N-乙酰半胱氨酸(NAC)阻滞, 由此提示 Egr-1 启动子调控的下游基因表达, 至少在很大程度上, 是由化疗药物产生的氧自由基诱导。氧自由基介导的转录因子包括 c-fos、c-Fun 等可以诱导下游基因表达也有报道<sup>[12]</sup>。而其他化疗药物如丝裂霉素、长春新碱、拓扑替康、替莫唑胺、白藜芦醇等也可以诱导 Egr-1 转录<sup>[13]</sup>。因此, 5-FU 诱导 Egr-1 启动子调控下游基因的表达, 提示其他化疗药物也可以用于化疗诱导 Egr-1 调控的基因疗法。

根据 Egr-1 基因调控元件的特性, 化疗诱导基因疗法逐渐为人们所关注。首先, 可以看出, Egr-1 启动子的诱导因素即化疗本身具有治疗肿瘤作用, 但对机体造血组织是损伤因素; Egr-1 调控元件启动的基因表达产物则是利用化疗诱导的敏感性, 针对化疗所致造血损伤起作用的。Egr-1 启动子与一般启动子包括组织特异性启动子等有所不同。一般启动子诱导的基因表达呈组成性表达, 表达常常不稳定<sup>[14]</sup>; 而 Egr-1 启动子受到化疗诱导后, 早期即可使下游造血因子基因超强表达, 表达量多而作用强, 目的基因表达时间也持久, 从而可达到恢复造血功能的作用。值得注意的是, 辐射诱导的 Egr-1 启动子调控肿瘤坏死因子基因疗法已经用于人类, 并显示出治疗肿瘤的潜力<sup>[10,15]</sup>, 而 Egr-1 调控造血因子基因对造血损伤保护作用的研究刚起步<sup>[2]</sup>。化疗诱导基因疗法能够靶向传递多种基因, 并且可调控基

因表达, 这种基因调控的完成为造血保护基因疗法的临床应用奠定了基础。

总之, 本研究结果证实, 5-FU 促进 Egr-1 启动子上调人骨髓基质细胞造血因子 GM-CSF 的表达, 可对化疗后造血损伤产生一定的恢复作用。

## [参考文献]

- [1] Wagner M, Schmelz K, Dörken B, *et al.* Transcriptional regulation of human survivin by early growth response (Egr)-1 transcription factor [J]. *Int J Cancer*, 2008, 122(6):1278-1287.
- [2] Du N, Feng K, Luo C, *et al.* Radioprotective effect of FLT3 ligand expression regulated by Egr-1 regulated element on radiation injury of SCID mice [J]. *Exp Hematol*, 2003, 31(9):191-196.
- [3] Tsurushima H, Yuan X, Dillehay LE, *et al.* Radiation-inducible caspase-8 gene therapy for malignant brain tumors [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2008, 71(2):517-525.
- [4] Lopez CA, Kimchi ET, Mauceri HJ, *et al.* Chemoinducible gene therapy: a strategy to enhance doxorubicin antitumor activity [J]. *Mol Cancer Ther*, 2004, 3(9):1167-1175.
- [5] 杜楠, 裴雪涛, 罗成基, 等. 辐射诱导性启动子调控 GM-CSF 基因的表达 [J]. *解放军医学杂志*, 2001, 26(5):336-339.
- [6] 姜学英. 骨髓基质细胞培养 [M]//郑德先, 吴克复, 褚建新. 现代实验血液学研究方法与技术. 北京: 中国协和医科大学联合出版社, 1999: 25-26.
- [7] Park JO, Lopez CA, Gupta VK, *et al.* Transcriptional control of viral gene therapy by cisplatin [J]. *J Clin Invest*, 2002, 110(3):403-410.
- [8] Waller EK. The role of sargramostim (rhGM-CSF) as immunotherapy [J]. *Oncologist*, 2007, 12(2):22-26.
- [9] 杜楠, 裴雪涛, 罗成基, 等. Egr-1 调控元件启动的造血因子基因转移对辐射损伤的骨髓基质细胞的保护作用 [J]. *中华放射医学与防护杂志*, 2002, 22(2):80-91.
- [10] Mezhir JJ, Smith KD, Posner MC. Ionizing radiation: a genetic switch for cancer therapy [J]. *Cancer Gene Ther*, 2006, 13(1):1-6.
- [11] Mezhir JJ, Schmidt H, Yamini B, *et al.* Chemo-inducible gene therapy [J]. *Anticancer Drugs*, 2005, 16(10):1053-1058.
- [12] Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, *et al.* Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2003, 60(1):6-20.
- [13] Bickenbach KA, Veerapong J, Shao MY, *et al.* Resveratrol is an effective inducer of CArG-driven TNF-alpha gene therapy [J]. *Cancer Gene Ther*, 2008, 15(3):133-139.
- [14] Tsurushima H, Yuan X, Dillehay LE, *et al.* Radioresponsive tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) gene therapy for malignant brain tumors [J]. *Cancer Gene Ther*, 2007, 14(8):706-716.
- [15] MacGill RS, Davis TA, Macko J, *et al.* Local gene delivery of tumor necrosis factor alpha can impact primary tumor growth and metastases through a host-mediated response [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2007, 24(7):521-531.

[收稿日期] 2008-07-19

[修回日期] 2008-08-16

[本文编辑] 韩丹