

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.04.006

· 基础研究 ·

5/35 嵌合型溶瘤腺病毒 SG635 对肝癌细胞的抑制作用

武玉强, 张琪, 陈伟, 刘炜, 台艳, 陈规划(中山大学附属第三医院肝移植中心暨广东省肝脏疾病研究重点实验室, 广东 广州 510630)

[摘要] 目的: 研究 5/35 嵌合型溶瘤腺病毒 SG635 在体外对肝癌 HepG2 和 SMMC-7721 细胞的特异性杀伤作用。方法: 将 SG600 载体中 5 型腺病毒(Ad5)纤毛蛋白的 knob 和 shaft 结构域替换为 35 型腺病毒(Ad35)纤毛蛋白的相应结构域, 构建成 5/35 嵌合型溶瘤腺病毒 SG635。流式细胞术检测 5/35 嵌合型溶瘤腺病毒 Ad5/35-EGFP 对 HepG2 和 SMMC-7721 细胞的感染效率, 体外病毒增殖实验观察溶瘤腺病毒 SG635 的增殖能力, Western blotting 检测 SG635 感染后肝癌细胞中 E1A 蛋白的表达, CCK-8 实验检测 SG635 对肝癌 HepG2 和 SMMC-7721 细胞的杀伤作用。结果: 在肝癌 HepG2 和 SMMC-7721 细胞中, Ad5/35-EGFP 的感染效率明显强于 5 型腺病毒 Ad5-EGFP; 5/35 嵌合型溶瘤腺病毒 SG635 在 HepG2 和 SMMC-7721 细胞中 72 h 的增殖倍数高于 5 型溶瘤腺病毒 SG600(15 848.93 vs 6 309.57, 6 309.57 vs 5 011.87, 均 $P < 0.01$), 而在人正常成纤维细胞 BJ 中几乎不增殖。SG635 感染后, HepG2 和 SMMC-7721 细胞中 E1A 蛋白表达高于 SG600 感染, 在 BJ 中则无 E1A 表达。在一定 MOI 范围内, SG635 对于 HepG2 细胞和 SMMC-7721 细胞的杀伤作用逐渐增强, 且杀伤率明显强于 SG600(MOI 为 1 时, 90% vs 60%; MOI 为 10 时, 90% vs 50%), 对 BJ 无杀伤作用。结论: 5/35 嵌合型溶瘤腺病毒 SG635 能够高效感染并特异性杀伤肝癌细胞, 具有较好的靶向性和安全性。

[关键词] 溶瘤腺病毒; 肝癌; 病毒治疗; E1A 蛋白

[中图分类号] R730.5; R735.7

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2011)04-0373-05

Inhibitory effect of 5/35 chimeric oncolytic adenovirus SG635 on hepatocarcinoma cells

WU Yu-qiang, ZHANG Qi, CHEN Wei, LIU Wei, TAI Yan, CHEN Gui-hua (Liver Transplantation Center, Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University & Guangdong Provincial Key Laboratory of Liver Disease Research, Guangzhou 510630, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the specific cytotoxicity effect of 5/35 chimeric oncolytic adenovirus SG635 on hepatocellular carcinoma HepG2 and SMMC-7721 cells. **Methods:** The knob and shaft domains of type 5 adenovirus (Ad5) in SG600 plasmid were replaced by the domains of type 35 adenovirus (Ad35), and chimeric oncolytic adenovirus Ad5/35 was established. Flow cytometry was used to examine the infection efficiency of chimeric adenovirus Ad5/35 (Ad5/35-EGFP) in HepG2 and SMMC-7721 cells; replication assay was used to evaluate the replication of oncolytic adenovirus SG635; Western blotting analysis was used to examine the expression of E1A in cells after SG635 infection; and Kit-8 assay was used to assess the cytotoxicity of SG635 and SG600 on HepG2 and SMMC-7721 cells. **Results:** The infection efficiency of Ad5/35-EGFP in HepG2 and SMMC-7721 cells was obviously enhanced compared with Ad5-EGFP. The replication activity of SG635 in HepG2 and SMMC-7721 cells was higher than that of SG600 72 h after infection

[基金项目] “十一五”国家科技重大专项课题资助项目(No. 2008ZX10002-025, No. 2008ZX10002-026); 国家重点基础研究发展计划(973计划)资助项目(No. 2009CB522404); 教育部新世纪优秀人才基金资助项目(No. NCET-08-0583); 全国优秀博士论文专项基金资助项目(No. FANEDD 200774)。Project supported by the State Key Foundation of Science and Technology Ministry during the “11th Five-Year Plan” of China (No. 2008ZX10002-025, No. 2008ZX10002-026), the Special Foundation for State Major Basic Research Program of China (973 program) (No. 2009CB522404), the Foundation for New Century Excellent Talents of Ministry of Education of China (No. NCET-08-0583), and the Foundation for the Author of National Excellent Doctoral Dissertation of China (No. FANEDD 200774)

[作者简介] 武玉强(1984-), 男, 山东省临沂市人, 硕士, 主要从事肝癌的基础与临床研究。E-mail: shuangrenyu105@126.com

[通信作者] 张琪(ZHANG Qi, corresponding author), E-mail: keekee77@126.com

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20110714.1100.007.html>

(15 848.93, 6 309.57 vs 6 309.57, 5 011.87, $P < 0.01$), but SG635 did not replicate in normal BJ cells. Moreover, SG635 induced a higher expression of E1A protein in HepG2 and SMMC-7721 cells than SG600, but did not induce E1A expression in normal BJ cells. At a certain MOI, SG635 showed increasing cytotoxicity on HepG2 (MOI = 1, 90% vs 60%) and SMMC-7721 (MOI = 10, 90% vs 50%) cells, and the cytotoxicity was stronger than SG600, without causing significant cytotoxicity on normal BJ cells. **Conclusion:** The 5/35 chimeric oncolytic adenovirus SG635 can effectively infect and specifically kill hepatocarcinoma cells with satisfactory safety and specificity.

[**Key words**] oncolytic adenovirus; hepatocellular carcinoma; viral therapy; E1A protein

[Chin J Cancer Biother, 2011, 18(4): 373-377]

肝癌的治疗主要有手术切除、介入治疗、射频消融、肝移植等,然而肝癌的治疗效果仍然不令人满意。Miller 等^[1]在 1996 年首先提出了使用肿瘤选择复制性腺病毒(tumor selective replication adenovirus, TSRA)治疗肿瘤的新策略。肿瘤选择复制性腺病毒又称溶瘤腺病毒,它只在肿瘤细胞中复制并杀伤肿瘤细胞,而在正常细胞中几乎不复制,是肿瘤治疗中非常有效的一种方式^[2-3]。传统的病毒基因治疗一直以 5 型腺病毒(Ad5)为载体,其感染效率与细胞表面柯萨奇腺病毒受体(coxsackie-adenovirus receptor, CAR)密度密切相关^[4-5]。因此,对于 CAR 不表达或是表达量较少的细胞,病毒感染效率较低^[6]。研究^[7]表明,很多细胞中 5/35 嵌合型腺病毒比 Ad5 感染效率明显提高。35 型腺病毒属于 B2 亚群,细胞表面受体为 CD46^[8]。本课题前期构建的 SG600 载体是以 Ad5 为骨架,通过人端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT)启动子、缺氧反应(hypoxia response element, HRE)启动子调节细胞的特异性杀伤作用^[9]。在 SG600 载体基础上,将 Ad5 纤毛蛋白的 knob 和 shaft 结构域替换为 35 型腺病毒纤毛蛋白的 knob 和 shaft 结构域,构建出 5/35 嵌合型溶瘤腺病毒 SG635。本实验观察并比较了 5/35 嵌合型腺病毒 Ad5/35-EGFP 与 5 型腺病毒 Ad5-EGFP 在肝癌细胞中的感染效率,以及 5/35 嵌合型溶瘤腺病毒 SG635 与 5 型溶瘤腺病毒 SG600 在肝癌细胞株 HepG2 及 SMMC-7721 细胞中的增殖能力及对肝癌细胞的杀伤作用。

1 材料与方法

1.1 细胞株及主要试剂

人肝癌细胞系 HepG2、SMMC-7721,人正常成纤维细胞系 BJ 均由中科院上海细胞库提供,人胚胎肾细胞系 HEK293 购自加拿大 Microbix Biosystems 公司。HepG2 和 SMMC-7721 细胞用含 10% FBS 的 DMEM 培养基, BJ 细胞和 HEK293 细胞用含 10% FBS 的 MEM 培养基,在 37 °C、5% CO₂ 孵箱中培养,

用 0.05% 胰酶(含 EDTA)消化、传代。

胎牛血清(FBS)、DMEM 培养基、MEM 培养基、0.05% 胰酶(含 EDTA)均购自 Gibco 公司, CCK-8 试剂盒由日本同仁研究所提供,鼠抗腺病毒 E1A 单克隆抗体购自 Abcam 公司。

溶瘤腺病毒 SG635 和 SG600、携带 EGFP 的非复制型腺病毒 Ad5-EGFP 和 Ad5/35-EGFP 以及野生型腺病毒 WtAd5 均由上海第二军医大学东方肝胆医院病毒基因治疗实验室构建^[9]。

1.2 流式细胞术检测肝癌细胞中腺病毒的感染效率

常规培养 HepG2、SMMC-7721 细胞至对数生长期,计数,铺 6 孔板(5×10^5 个/孔),培养 24 h 后换用无血清培养基,用 Ad5-EGFP 和 Ad5/35-EGFP (MOI = 1, 5)分别感染肝癌细胞 HepG2、SMMC-7721 细胞,对照组不加病毒,48 h 后收集细胞,用流式细胞仪检测 GFP 阳性细胞比例。

1.3 溶瘤腺病毒 SG635、SG600 增殖实验

常规培养肝癌细胞 HepG2、SMMC-7721 及 BJ 细胞至对数生长期,计数,铺 6 孔板(5×10^5 个/孔),培养 24 h 后换用无血清培养基,按 MOI = 5 分别加入溶瘤腺病毒 SG635、SG600。2 h 后转换成含 2% FBS 培养基各 2 ml,分别在 0、24、48、72 h 将细胞移至 -80 °C 冰箱中,20 min 后转移到 37 °C 培养箱中,反复冻融 3 次,使病毒自细胞中释放。20 000 ×g 离心 20 min 后,收集细胞上清液。TCID₅₀ 法测定病毒滴度。以 0 h 病毒滴度为参照,计算病毒的增殖倍数。

1.4 Western blotting 检测腺病毒感染后细胞中 E1A 的表达

常规培养肝癌细胞 HepG2、SMMC-7721 及正常成纤维细胞 BJ 细胞至对数生长期,0.05% 胰酶(含 EDTA)消化细胞,计数,铺 6 孔板(5×10^5 个/孔),培养 24 h 后换用无血清培养基,用腺病毒 SG635、SG600 和 WtAd5 (MOI = 10)分别感染 HepG2、SMMC-7721 及 BJ 细胞,48 h 后收集细胞,提取细胞总蛋白,SDS-PAGE 后转膜、杂交、免疫显色,检测细

胞中 E1A 蛋白的表达情况。

1.5 CCK-8 试剂盒检测溶瘤腺病毒体外杀伤作用

常规培养肝癌细胞 HepG2、SMMC-7721 及 BJ 细胞至对数生长期。铺 96 孔板(1×10^4 个/孔), 培养 24 h 后换用无血清培养基, 按不同 MOI 分别加入溶瘤腺病毒 SG635 或 SG600, 对照组不加病毒, 每组 6 个复孔。2 h 后转换成 2% FBS 培养基各 0.2 ml, 37 °C、5% CO₂ 孵箱培养 7 d 后, 每孔加入 10 μ l CCK-8 试剂, 置入培养箱中培养 2 h。在 450 nm 波长处测定光密度值(*D*), 参比波长为 630 nm。

1.6 统计学处理

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS16.0 软件, 两组数据间比较采用 *t* 检验。 *P* < 0.05 或 *P* < 0.01 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Ad5/35-EGFP 高效感染肝癌细胞

流式细胞术检测 Ad5-EGFP 与 Ad5/35-EGFP 在 MOI = 1、5 时感染 HepG2、SMMC-7721 肝癌细胞 48 h 后 GFP 的表达量, 结果(图 1)显示, 在 MOI = 1 时, Ad5/35-EGFP 在 HepG2、SMMC-7721 细胞中的表达就可以达到 90% 以上, 而此时 Ad5-EGFP 在 HepG2、SMMC-7721 细胞中的表达不到 10%。在 HepG2、SMMC-7721 肝癌细胞中, 当 MOI = 5 时, Ad5/35-EGFP 的感染效率都要明显高于 Ad5-EGFP 表达。由此可见, Ad5/35-EGFP 明显提高对肝癌 HepG2、SMMC-7721 细胞的感染效率。

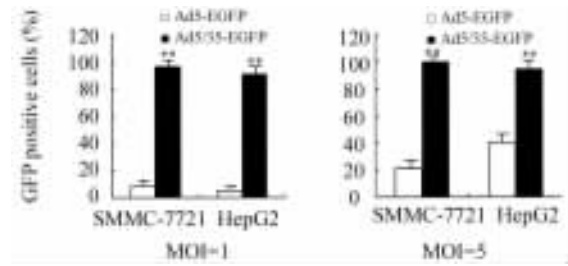


图 1 流式细胞术检测 Ad5-EGFP 和 Ad5/35-EGFP 对 HepG2、SMMC-7721 细胞的感染效率

Fig. 1 Infection efficiencies of Ad5-EGFP and Ad5/35-EGFP in HepG2 and SMMC-7721 cells as detected by FACS

** *P* < 0.01 vs Ad5-EGFP

2.2 不同肝癌细胞内两种溶瘤腺病毒的增殖情况

溶瘤腺病毒 SG635、SG600 按 MOI = 5 分别感染肝癌细胞株 HepG2、SMMC-7721、BJ 细胞, 结果发现, 溶瘤腺病毒的增殖倍数随着时间的延长而逐渐升高, SG635、SG600 感染 HepG2 细胞后 24、48 及 72 h, 病毒的增殖倍数分别为 31.62、12 589.25、15 848.93 和 7.94、3 981.07、6 309.57; SG635、SG600 感染 SMMC-7721 细胞后 24、48 及 72 h, 病毒的增殖倍数分别为 199.53、3 981.07、6 309.57 和 10、501.19、5 011.87(图 2)。结果表明, 溶瘤腺病毒 SG635 在肝癌细胞中的增殖效果强于 SG600。同样条件下, 溶瘤腺病毒 SG635、SG600 在 BJ 细胞中的增殖倍数很低, 说明溶瘤腺病毒 SG635、SG600, 具有很好的安全性。

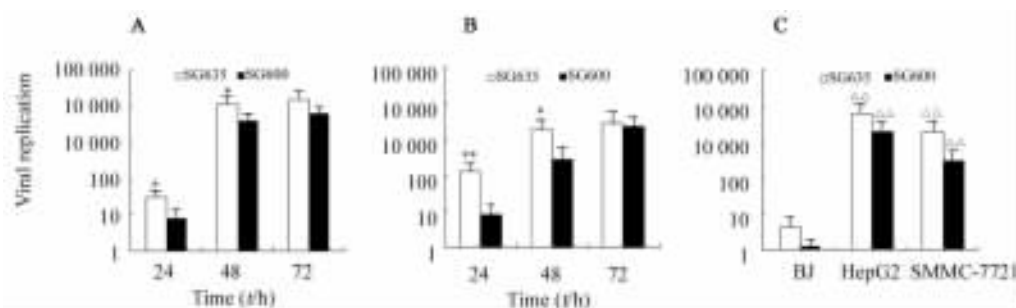


图 2 不同肝癌细胞中溶瘤腺病毒 SG635、SG600 的增殖能力

Fig. 2 Replication abilities of oncolytic adenoviruses SG635 and SG600 in different hepatocarcinoma cells

A: HepG2 cells; B: SMMC-7721 cells; C: Viral replication ability differences among normal cell line BJ and HCC cell lines HepG2 and SMMC7721 at 48 h after viral infection

* *P* < 0.05, ** *P* < 0.01 vs SG600 group; $\Delta\Delta$ *P* < 0.01 vs BJ group

2.3 溶瘤腺病毒 SG635 提高细胞中 E1A 蛋白的表达

Western blotting 检测溶瘤腺病毒感染 HepG2、SMMC-7721、BJ 细胞后细胞中 E1A 蛋白表达情况。

实验结果如图 3 所示, WtAd5 感染 BJ 细胞后, 可以检测到 E1A 蛋白的表达, 而 SG635、SG600 感染 BJ 细胞后, 细胞中没有检测到 E1A 蛋白的表达;

SG635、SG600 分别感染肝癌细胞 HepG2 及 SMMC-7721 后,细胞中都可以检测到 E1A 蛋白的表达,且 SG635 感染肝癌细胞后,E1A 蛋白的表达能力明显高于 SG600。

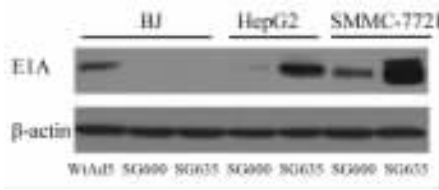


图3 Western blotting 检测不同腺病毒感染后细胞中 E1A 蛋白的表达

Fig.3 Expression of E1A protein in cells after different adenovirus infection as detected by Western blotting analysis

2.4 溶瘤腺病毒 SG635 增强对肝癌细胞的杀伤作用

CCK-8 实验观察溶瘤腺病毒 SG635 与 SG600 对于肝癌细胞及 BJ 细胞的杀伤作用。实验结果如图 4 所示,随着 MOI 值的增大,SG635 与 SG600 对于肝癌细胞的杀伤作用逐渐增强,并且 SG635 的杀伤力强于 SG600 ($P < 0.05$)。对于 HepG2 细胞来说,在 MOI = 1 时,SG635 可以杀伤约 90% 的细胞,而此时 SG600 仅能杀伤约 60% 的细胞;对于 SMMC-7721 细胞来说,在 MOI = 10 时,SG635 可以杀伤 90% 以上的细胞,而此时 SG600 仅能杀伤 50% ~ 60% 的细胞。在 BJ 细胞中,SG635 和 SG600 对其杀伤作用都很弱,MOI = 100 时,BJ 细胞几乎可以全部保持活力。由此可见,溶瘤腺病毒 SG635 对肝癌细胞的杀伤作用比 SG600 明显增强,同时保持了对正常细胞的安全性。

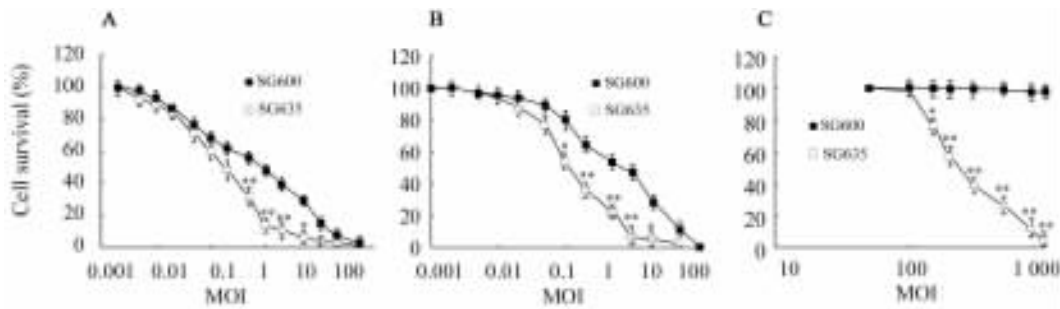


图4 溶瘤腺病毒 SG635 与 SG600 对不同细胞的杀伤作用

Fig.4 Cytotoxicity of oncolytic adenovirus SG635 and SG600 on different cells

A: HepG2 cells; B: SMMC-7721 cells; C: BJ cells

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs SG600 group

3 讨论

病毒的基因治疗已经越来越受到关注,同传统的治疗方案比较,腺病毒、溶瘤腺病毒对于肿瘤治疗具有独特的优势。以往的溶瘤腺病毒以 5 型腺病毒为骨架改造而成,其主要借助 CAR 完成对靶细胞的侵染,然而在一些 CAR 表达较低或不表达的细胞中,如肿瘤细胞^[4,10]或骨骼肌细胞^[11]等,5 型腺病毒感染效率较低。与 5 型腺病毒不同,35 型腺病毒通过其纤毛蛋白与细胞表面的 CD46 膜蛋白的结合并感染细胞^[8],并且血清中中和抗体的阳性率较低,肝脏毒性较低^[5]。

Stecher 等^[12]构建的 5/35 嵌合型腺病毒对造血细胞、白血病细胞具有很高的感染效率,而且基因表达水平也较高。在食管癌和口腔癌细胞的研究^[13]中发现,5/35 嵌合型腺病毒比 5 型腺病毒感染效率明显提高。本实验结果也可以看出,在肝癌细胞中,

Ad5/35-EGFP 的感染效率都明显强于 Ad5-EGFP, MOI = 1 时,Ad5/35-EGFP 的感染效率就可以达到 90% 以上,而此时 Ad5-EGFP 的感染效率不到 10%。研究^[14]发现,肝癌组织中 CAR 表达量明显低于非肝癌组织。也有研究^[15]证实,在肝脏疾病中随着病情恶性程度的发展,CD46 的表达呈增加趋势,即 CD46 在肝癌组织中的表达量明显高于肝硬化、慢性肝炎及正常肝脏组织。因此 Ad5/35-EGFP 感染效率的提高可能与肝癌细胞中 CD46 表达增加有关。

感染是病毒杀伤肝癌细胞的第一步,病毒进入细胞内后,开始特异性增殖。Western blotting 结果显示,SG635、SG600 感染肝癌 HepG2 和 SMMC-7721 细胞后,细胞中都可以出现 E1A 蛋白表达;然而 SG635 感染后肝癌细胞中 E1A 蛋白的表达水平明显强于 SG600。E1A 是腺病毒复制的必需基因^[16],由人端粒酶逆转录酶启动子调控,E1A 蛋白表达量越高,说明腺病毒的增殖能力越强。同时病毒增殖

实验也表明,SG635、SG600 在肝癌 HepG2 和 SMMC-7721 细胞中都具有很强的增殖能力,且 SG635 在肝癌细胞中的增殖能力强于 SG600。

进一步检测溶瘤腺病毒 SG635 对肝癌细胞的杀伤作用证实,SG600、SG635 都表现出了很强的细胞杀伤能力,随着 MOI 值的升高,杀伤作用逐渐增强,并且 SG635 的杀伤作用要优于 SG600。Hoffmann 等^[17]证实,5/35 嵌合型溶瘤腺病毒的肿瘤治疗疗效更为显著;也有文献^[6,18]报道,嵌合型溶瘤腺病毒在胃癌、淋巴瘤及前列腺癌细胞中表现出很强的特异性杀伤作用。

溶瘤腺病毒作为一种肝癌治疗的方法,既要兼顾对于肝癌细胞的杀伤作用,又不能忽视对于正常细胞的毒性。5 型溶瘤腺病毒 SG600 通过端粒酶逆转录酶启动因子、缺氧反应启动子调节其在肝癌细胞中的特异性增殖及杀伤作用,并且通过正常细胞与肿瘤细胞另一大差异基因——*Rb* 基因,来调节并进一步降低其对正常细胞的毒性作用^[9]。溶瘤腺病毒 SG635 在 SG600 基础上构建而成,它保留了 SG600 两个特异性启动子,延续了 SG600 对于肝癌细胞的特异性及对正常细胞的低毒性特征。Western blotting 发现,与 *WtAd5* 相比,溶瘤腺病毒 SG635、SG600 感染正常 BJ 细胞后,细胞中没有检测到 E1A 蛋白的表达,在正常 BJ 细胞中的增殖能力也很弱,只有在 MOI 非常高的情况下,溶瘤腺病毒 SG635 才会开始对 BJ 细胞产生一定的杀伤作用。因此可以认为,SG635 在正常治疗剂量下,可以特异性杀伤肝癌细胞,但对正常组织细胞具有较高的安全性。

总之,新型 5/35 嵌合型溶瘤腺病毒 SG635 在肝癌细胞中的感染效率、特异性增殖及杀伤作用均明显增强,且保留了溶瘤腺病毒 SG600 对正常细胞的低毒性。本实验为以后进行嵌合型溶瘤腺病毒的体内研究奠定了基础,也为肝癌的腺病毒基因治疗开辟了新的思路。

[参 考 文 献]

- [1] Miller R, Curiel DT. Towards the use of replicative adenoviral vectors for cancer gene therapy [J]. *Gene Ther*, 1996, 3(7): 557-559.
- [2] Yamamoto M, Curiel DT. Current issues and future directions of oncolytic adenoviruses [J]. *Mol Ther*, 2010, 18(2): 243-250.
- [3] Toth K, Dhar D, Wold WS. Oncolytic (replication-competent) adenoviruses as anticancer agents [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2010, 10(3): 353-368.
- [4] Li Y, Pong RC, Jeffrey M, et al. Loss of adenoviral receptor expression in human bladder cancer cells: A potential impact on the efficacy of gene therapy [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(2): 325-

330.

- [5] Koizumi N, Mizuguchi H, Hosono T, et al. Efficient gene transfer by fiber-mutant adenoviral vectors containing RGD peptide [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1568 (1): 13-20.
- [6] Wang GH, Li GC, Liu H, et al. E1B 55-kDa deleted, Ad5/F35 fiber chimeric adenovirus, a potential oncolytic agent for B-lymphocytic malignancies [J]. *Gene Med*, 2009, 11(6): 477-485.
- [7] 陈东锋, 石文芳, 钱其军. 人 35 型及 11 型腺病毒的研究进展 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2006, 13(6): 471-474.
- [8] Wang G, Li G, Liu H, et al. E1B 55-kDa deleted, Ad5/F35 fiber chimeric adenovirus, a potential oncolytic agent for B-lymphocytic malignancies [J]. *J Gene Med*, 2009, 11(6): 477-485.
- [9] Wang XH, Su CQ, Cao H, et al. A novel triple-regulated oncolytic adenovirus carrying p53 gene exerts potent antitumor efficacy on common human solid cancers [J]. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7(6): 1598-1603.
- [10] Miller CR, Buchsbaum DJ, Reynolds PN, et al. Differential susceptibility of primary and established human glioma cells to adenovirus infection: Targeting via the epidermal growth factor receptor achieves fiber receptor-independent gene transfer [J]. *Cancer Res*, 1998, 58(24): 5738-5748.
- [11] Nalbantoglu J, Pari G, Karpati G, et al. Expression of the primary coxsackie and adenovirus receptor is downregulated during skeletal muscle maturation and limits the efficacy of adenovirus-mediated gene delivery to muscle cells [J]. *Hum Gene Ther*, 1999, 10(6): 1009-1019.
- [12] Stecher H, Shayakhmetov DM, Tamatoyannopoulos G, et al. A capsid-modified adenovirus vector devoid of all viral genes: Assessment of transduction and toxicity in human hematopoietic cell [J]. *Mol Ther*, 2001, 4(1): 36-44.
- [13] Yu L, Takenobu H, Shimozato O, et al. Increased infectivity of adenovirus type 5 bearing type 11 or type 35 fibers to human esophageal and oral carcinoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2005, 14(4): 831-835.
- [14] Hiroyuki Y, Fumio I, Hirofumi S, et al. Association of reduced cell adhesion regulator messenger RNA expression with tumor progression in human hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Cancer*, 1997, 74(3): 251-254.
- [15] Kinugasa N, Higashi T, Nouse K, et al. Expression of membrane cofactor protein (MCP, CD46) in human liver diseases [J]. *Br J Cancer*, 1999, 80(11): 1820-1825.
- [16] Shashkova EV, May SM, Barry MA. Characterization of human adenovirus serotypes 5, 6, 11, and 35 as anticancer agents [J]. *Virology*, 2009, 394(2): 311-320.
- [17] Hoffmann D, Meyer B, Wildner O. Improved glioblastoma treatment with Ad5/35 fiber chimeric conditionally replicating adenoviruses [J]. *Gene Med*, 2007, 9(9): 764-778.
- [18] Maria R, Anna K, Ulf-Haskin S, et al. Treatment of prostate cancer with Ad5/3 Δ 24hCG allows non-invasive detection of the magnitude and persistence of virus replication *in vivo* [J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(2): 742-751.

[收稿日期] 2011-05-05

[修回日期] 2011-06-10

[本文编辑] 王莹