

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.02.005

· 基础研究 ·

呼肠孤病毒诱导乳腺癌微球体细胞凋亡

朱敬之, 徐曙光, 殷志强, 吴志勇(上海交通大学医学院附属仁济医院 普外科, 上海 200127)

[摘要] **目的:**探讨呼肠孤病毒对乳腺癌微球体细胞凋亡的影响。**方法:**以干细胞培养液培养乳腺癌细胞 MCF-7 和 BT474, 形成微球体, 分别用呼肠孤病毒和表柔比星处理微球体, FCM 检测 MCF-7、BT474 微球体细胞中 CD44⁺CD24^{-/low} 细胞的比例, TUNEL 法检测微球体细胞的凋亡, Western blotting 检测 MCF-7 细胞及其微球体细胞中 Ras 的表达。**结果:**呼肠孤病毒对乳腺癌 MCF-7 和 BT474 微球体细胞的感染率显著高于亲本细胞(均 $P < 0.05$)。表柔比星作用下 MCF-7 和 BT474 微球体细胞中 CD44⁺CD24^{-/low} 细胞比例明显升高[$(8.1 \pm 0.4)\%$ vs $(18.0 \pm 4.5)\%$, $P < 0.01$; $(0.6 \pm 0.2)\%$ vs $(0.9 \pm 0.13)\%$, $P < 0.05$]。呼肠孤病毒感染后 MCF-7 和 BT474 微球体细胞中 CD44⁺CD24^{-/low} 细胞比例明显下降[$(8.1 \pm 0.4)\%$ vs $(0.8 \pm 0.2)\%$, $(0.6 \pm 0.2)\%$ vs $(0.2 \pm 0.1)\%$; 均 $P < 0.05$]。MCF-7 和 BT474 微球体细胞在呼肠孤病毒感染后凋亡率明显增加[$(1.90 \pm 0.21)\%$ vs $(5.0 \pm 1.4)\%$, $P < 0.05$; $(0.20 \pm 0.1)\%$ vs $(1.0 \pm 0.16)\%$, $P < 0.05$]。MCF-7 细胞及其微球体细胞均高表达 Ras, 且两者水平相似。**结论:**与表柔比星相比, 呼肠孤病毒对乳腺癌微球体细胞的抑制作用明显, 还可明显诱导乳腺癌微球体细胞凋亡。

[关键词] 呼肠孤病毒; 乳腺癌干细胞; 微球体细胞; 凋亡

[中图分类号] R737.9; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2012)02-0133-05

Reovirus induces apoptosis of breast cancer mammosphere cells

ZHU Jing-zhi, XU Shu-guang, YIN Zhi-qiang, WU Zhi-yong (Department of General Surgery, Renji Hospital Affiliated to Medical College, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200127, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of reovirus on apoptosis of breast cancer mammosphere cells. **Methods:** MCF-7 and BT474 cells were cultured in stem cell culture medium to generate mammospheres. Then the mammospheres were infected by reovirus or treated with epirubicin. The proportion CD44⁺CD24^{-/low} cells in the mammosphere cells from MCF-7 and BT474 cells was detected by flow cytometry (FCM); the apoptosis of mammosphere cells was detected by TUNEL; and the expression of Ras in MCF-7 cells and the mammosphere cells was examined by Western blotting. **Results:** The infection rates of reovirus on MCF-7 and BT474 mammosphere cells were significantly higher than those on MCF-7 and BT474 cells (all $P < 0.05$). The proportions of CD44⁺CD24^{-/low} cells in the mammosphere cells from MCF-7 and BT474 cells after treatment with epirubicin were improved greatly [$(8.1 \pm 0.4)\%$ vs $(18.0 \pm 4.5)\%$, $P < 0.01$; $(0.6 \pm 0.2)\%$ vs $(0.9 \pm 0.13)\%$, $P < 0.05$], while the proportions of CD44⁺CD24^{-/low} cells in the mammosphere cells after treatment with reovirus were decreased apparently [$(8.1 \pm 0.4)\%$ vs $(0.8 \pm 0.2)\%$, $P < 0.05$; $(0.6 \pm 0.2)\%$ vs $(0.2 \pm 0.1)\%$, $P < 0.05$]. The apoptosis rates of the mammospheres cells from MCF-7 and BT474 cells rose up from $(1.9 \pm 0.21)\%$ to $(5 \pm 1.4)\%$ ($P < 0.05$) and from $(0.2 \pm 0.1)\%$ to $(1.0 \pm 0.16)\%$ ($P < 0.05$) after reovirus treatment. Ras levels in MCF-7 cells and the mammosphere cells were almost same high. **Conclusion:** Compared with that of epirubicin, reovirus has a higher inhibitory effect on breast cancer mammosphere cells, while reovirus distinctively induces apoptosis of mammosphere cells.

[Key words] reovirus; breast cancer stem cell; mammosphere cell; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2012, 19(2): 133-137]

[作者简介] 朱敬之(1967-),女,江苏省无锡市人,副主任医师,博士生,主要从事乳腺癌和甲状腺癌的诊治研究。E-mail: zjz67@hotmail.com

[通信作者] 吴志勇(WU Zhi-yong, corresponding author), E-mail: mmismm@163.com

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20120328.1604.006.html>

乳腺癌干细胞(cancer stem cell, CSC)在乳腺癌的形成中扮演着重要的角色^[1,2]。用作分选乳腺癌干细胞的标记物主要包括 CD44⁺CD24^{-/low}、CD133、PROCR、CXCR4 及 ABCG2 等^[3], 其中 CD44⁺CD24^{-/low}是目前分选乳腺癌干细胞最常用的标记物。由于肿瘤干细胞处于相对静止状态, 因此对分裂细胞有效的化疗、放疗及内分泌治疗很难对其产生杀伤作用^[4]。溶瘤病毒能选择性地地在肿瘤细胞内复制, 最终导致肿瘤细胞的溶解和死亡, 而在正常细胞内它只是少量存在或不能增殖^[5]。目前大多数病毒的抗肿瘤效应仍停留在实验室研究及临床前期阶段, 其安全性及确切的临床效果有待进一步研究^[6]。哺乳动物呼肠孤病毒3型是野生型溶瘤病毒, 具有天然的特异性溶瘤活性, 能够在某些肿瘤细胞中繁殖并裂解细胞。Alain 等^[7]最近用呼肠孤病毒治疗 B 细胞非霍奇金淋巴瘤, 发现肿瘤细胞 Ras 活化水平越高, 病毒的治疗效果越好。衡量该病毒对乳腺癌的治疗作用必须衡量其对乳腺癌干细胞的特异靶向性。前期工作^[8]已证实, 以干细胞培养液培养时, 乳腺癌干细胞能成球生长形成细胞球; 这种细胞球结构可以作为肿瘤干细胞研究模型^[9-10]。本研究通过比较呼肠孤病毒3型和表柔比星对乳腺癌微球体细胞 CD44⁺CD24^{-/low} 细胞表达及凋亡等方面的作用, 探讨呼肠孤病毒对乳腺癌干细胞的作用。

1 材料与方法

1.1 细胞株和主要试剂

乳腺癌细胞株 MCF-7、BT474 为上海泽生科技开发有限公司馈赠。呼肠孤病毒3型购自 ATCC。抗人 CD24-FITC 和抗人 CD44-PE 购自 BD Pharmingen 公司, 鼠抗呼肠孤病毒3型抗体购自 DSHB 公司(实验时按照 1:50 稀释), 兔抗鼠二抗购自 Jackson Immuno Research 公司。注射用盐酸表柔比星购自辉瑞制药有限公司, 碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)购自 Invitrogen 公司, 表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)和 B27 添加剂购自 Gibco 公司, 胰岛素购自 Sigma 公司, EDTA-2Na 购自上海生工生物工程公司, 10% 甲醛、4% 多聚甲醛购自北京鼎国生物技术公司。TUNEL 凋亡试剂盒购自 Roche 公司。流式细胞仪购自美国 Becton Dickinson 公司。

1.2 乳腺癌细胞微球体培养

微球体培养具体操作^[13]如下: 取处于对数生长期的 MCF-7、BT474 细胞, 用含 10 ng/ml EGF、10 ng/ml bFGF、5 μg/ml 胰岛素和 B27 的 DMEM/F12

培养液重悬, 以 2×10^4 个/ml 接种至 25 cm² 塑料培养瓶中, 置 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度条件下进行培养, 每 2~3 d 更换一次培养液, 第 7 天收集微球体细胞。将微球体置于干细胞消化液中消化 5 min, 过 40 μm 细胞筛网, 制成微球体单细胞悬液。

1.3 呼肠孤病毒和表柔比星处理乳腺癌 MCF-7、BT474 微球体细胞的分组

乳腺癌微球体细胞分为 3 组: 对照组(正常培养微球体细胞)、病毒组以及表柔比星组。微球体培养的第 4 天表柔比星组加入 400 μg/ml 表柔比星(作用 72 h); 微球体培养的第 6 天病毒组加入病毒上清液 200 μl (MOI 为 100, 作用 18 h)。培养终点收集微球体, 制成单细胞悬液。

1.4 FCM 检测 CD44⁺CD24^{-/low} 干细胞表型

每个流式管中取 3×10^5 个细胞。每组均设立: (1) 空白对照细胞, 加入含 2.5% 胎牛血清的 PBS (4 °C) 50 μl。(2) 干细胞表型抗体及病毒抗体标记细胞, 每管加入病毒一抗 2 μl 及含 2.5% 胎牛血清的 PBS 48 μl, 共 50 μl, 4 °C 避光孵育 30 min; 每管加入病毒间标二抗 0.5 μl + CD24 10 μl + CD44 10 μl + 含 2.5% 胎牛血清的 PBS (4 °C) 30 μl, 4 °C 避光孵育 30 min; 洗涤后用流式细胞分选仪进行检测。实验重复 3 次。

1.5 TUNEL 法检测乳腺癌微球体细胞的凋亡

用呼肠孤病毒处理 MCF-7 及 BT474 细胞来源的微球体, 将微球体细胞制成单细胞悬液。加入 1% 多聚甲醛 1 ml 固定细胞 30~60 min, PBS 洗涤。0.1% Triton X-100 的 PBS 洗 2 次后, 加入 TUNEL 反应混合液 50 μl, 37 °C 避光孵育 1 h, 加入 PBS 洗 2 次。用流式细胞分选仪进行检测。实验重复 3 次。

1.6 Western blotting 检测乳腺癌 MCF-7 细胞及其微球体细胞的 Ras 水平

分别取 MCF-7 细胞及其来源的微球体单细胞悬液 1×10^5 个, 通过高速离心进行细胞裂解, 去除核碎片, 用 10% SDS-PAGE 分离裂解物, 电泳分析法转移至聚乙烯膜, 采用鼠抗-Ras 单克隆抗体, 将 anti-β-actin 抗体作为内参, 然后用 HRP-羊抗鼠 IgG 作为二抗, 用增强化学发光法测定 Ras 表达, 在 Kodak Image Station 上成像并分析。

1.7 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示, 采用 SPSS 12 统计软件, 两组间比较用配对 *t* 检验, 未配对两组采用 Wilcoxon 秩和检验, 3 组及以上采用单因素方差分析, *P* < 0.05 或 *P* < 0.01 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 呼肠孤病毒对 MCF7、BT474 细胞及其微球体细胞的感染率

流式术分析结果(图 1)显示,呼肠孤病毒对 MCF7 细胞的感染率为(50 ± 3.7)%,对其微球体细胞的感染率达(80 ± 4.5)%;呼肠孤病毒对 BT474 细胞的感染率为(60 ± 4.8)%,对其微球体的感染率是(85 ± 5.0)%。因此,呼肠孤病毒对乳腺癌细胞微球体的感染率高于亲本细胞($P < 0.05$)。

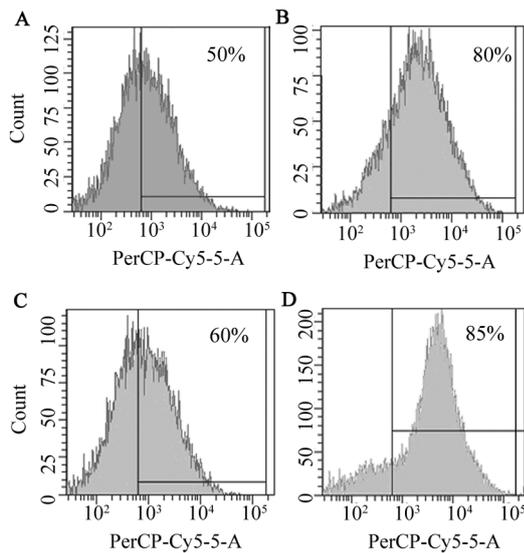


图 1 抗呼肠孤病毒荧光抗体检测乳腺癌细胞及其微球体细胞的病毒感染率

Fig. 1 Infection viral rate of breast cancer cells and mammosphere cells detected by anti-reovirus fluorescent antibody

A: MCF7 cells; B: MCF7 mammosphere cells;
C: BT474 cells; D: BT474 mammosphere cells

2.2 呼肠孤病毒作用后乳腺癌细胞微球体形态的改变

倒置显微镜观察结果(图 2)显示,正常状态下乳腺癌细胞微球体可见细胞聚团生长,细胞团之间界限清晰,似乎可见细胞核。在呼肠孤病毒作用下,微球体的体积稍缩小,细胞团边界模糊化,不见胞核。在表柔比星作用下,微球体大小几乎没有变化,但是细胞团之间的界限模糊,微球体表面的细胞核消失或浓缩。

2.3 呼肠孤病毒降低乳腺癌微球体细胞中 CD44⁺CD24^{-/low} 细胞的比例

将 MCF-7 微球体细胞在表柔比星作用 72 h、呼肠孤病毒作用 18 h 后和对照组一起进行 CD44 和

CD24 测定,结果(图 3A)显示,对照组 CD44⁺CD24^{-/low} 细胞比例为(8.1 ± 0.4)%,表柔比星组为(18.0 ± 4.5)%,病毒组为(0.8 ± 0.2)%。结果表明,呼肠孤病毒可以明显降低微球体 CD44⁺CD24^{-/low} 细胞比例,而表柔比星则能够提升微球体 CD44⁺CD24^{-/low} 细胞比例($P < 0.01$)。

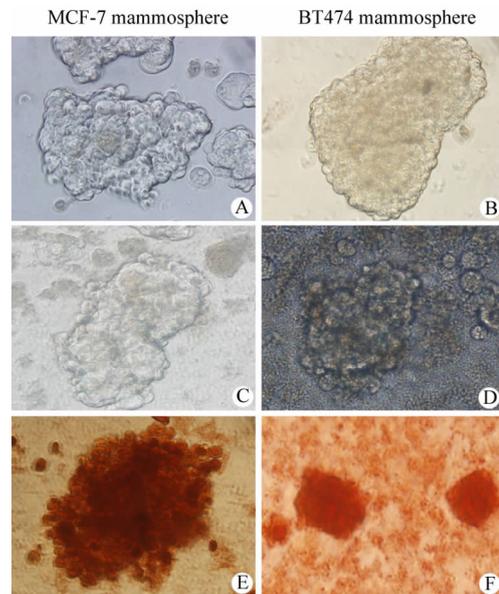


图 2 呼肠孤病毒和表柔比星对乳腺癌 MCF-7 和 BT474 微球体形态的影响(×400)

Fig. 2 Effects of reovirus or epirubicin on morphology of MCF-7 and BT474 mammospheres (×400)

A, B: Control; C, D: Reovirus; E, F: Epirubicin

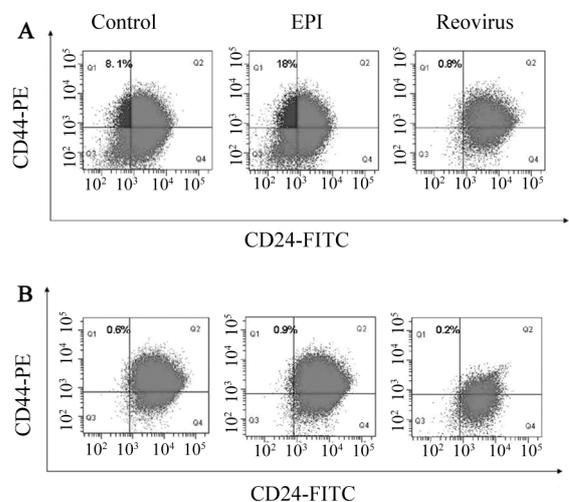


图 3 呼肠孤病毒、表柔比星处理后 MCF-7 (A) 和 BT474 (B) 微球体细胞中 CD44、CD24 的表达
Fig. 3 Expressions of CD44 and CD24 on MCF-7 (A) and BT474 (B) mammosphere cells treated with reovirus or epirubicin (EPI)

将 BT474 微球体细胞在表柔比星作用 72 h、呼肠孤病毒作用 18 h 后和对照组一起进行 CD44 和 CD24 测定(图 3B), 对照组 CD44⁺CD24^{-/low} 细胞比例为 (0.6 ± 0.2)%, 表柔比星组为 (0.9 ± 0.13)%, 病毒组为 (0.2 ± 0.1)%。结果提示, 呼肠孤病毒感染可以明显降低微球体细胞 CD44⁺CD24^{-/low} 细胞比例, 表柔比星则能够增加其比例 (P < 0.05)。

2.4 呼肠孤病毒促进乳腺癌微球体细胞的凋亡

Tunel 检测结果(图 4)可见, BT474 和 MCF-7 微球体细胞在病毒处理以后凋亡率明显上升, MCF-7 微球体细胞的凋亡率从 (1.9% ± 0.21)% 上升至 (5.0 ± 1.4)%, BT474 微球体细胞的凋亡率从 (0.2 ± 0.1)% 上升至 (1.0 ± 0.16)% (均 P < 0.05)。结果表明, 呼肠孤病毒处理能促进乳腺癌干细胞的凋亡。

2.5 乳腺癌 MCF-7 细胞及其微球体细胞 Ras 的表达水平

Western blotting 检测结果(图 5)显示, 乳腺癌 MCF-7 细胞及其微球体细胞均有高水平的 Ras 表达, 而且两者水平相似。

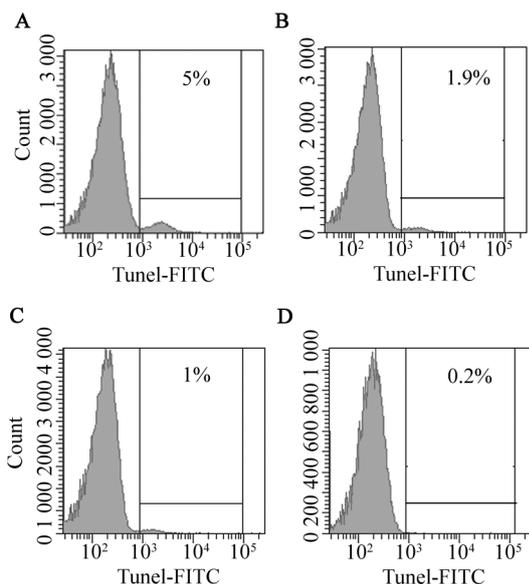


图 4 呼肠孤病毒促进 MCF-7 和 BT474 微球体细胞的凋亡

Fig. 4 Reovirus promoted apoptosis of MCF-7 and BT474 mammosphere cells

- A: Reovirus-treated MCF-7 mammosphere cells;
- B: PBS-treated MCF-7 mammosphere cells;
- C: Reovirus-treated BT474 mammosphere cells;
- D: PBS-treated BT474 mammosphere cells

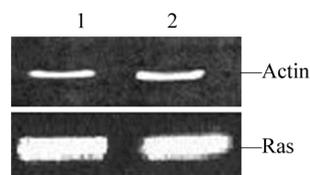


图 5 Western blotting 分析 MCF-7 及其微球体细胞的 Ras 表达水平

Fig. 5 Western blotting analysis of Ras levels in MCF-7 cells and mammosphere cells
1: MCF-7 cells; 2: MCF-7 mammosphere cells

3 讨论

人呼肠孤病毒广泛存在于人肠道或咽喉中, 一般不引起明显的疾病, 在细胞水平有致伤作用, 在机体水平可能并不显示临床症状^[11-13]。呼肠孤病毒和一般的 RNA 病毒不同, 含有 RNA 多聚酶^[14], 它们侵入宿主细胞, 用自身的 RNA 逆转录酶合成 mRNA, 新转录出来的单股 mRNA 既是新的双股 RNA 的合成模板, 也是病毒蛋白质的合成模板。先复制正链, 再翻译成病毒蛋白, 最后合成负链, 形成双链 RNA 分子。在宿主细胞内双股 RNA 和蛋白外壳重新组成完整的病毒粒子, 通过这种方法“复制”出的新病毒越来越多, 导致宿主细胞破裂, 最终释放, 完成一次感染。

本研究结果显示, 在呼肠孤病毒的作用下, 乳腺癌细胞 MCF-7 和 BT474 微球体体积变小, 细胞数目下降, 这是细胞裂解消失的结果。表柔比星可迅速透入细胞内, 进入细胞核与 DNA 结合, 从而抑制核酸的合成和有丝分裂。在表柔比星作用下, 微球体体积几乎没有变化, 表面细胞的细胞核浓缩或消失, 这可能是由于干细胞大多处于静止期, 受药物作用相对较小。表柔比星使微球体中表达 CD24⁻CD44⁺ 细胞增多, 比例增加, 表明乳腺癌干细胞对化疗药有抵抗作用。这是由于干细胞中 ABC 转运蛋白表达增加, 多药抗性转运蛋白能利用水解 ATP 的能量将各种药物从细胞质内转运到细胞外^[15-16]。呼肠孤病毒感染使微球体中 CD24⁻CD44⁺ 细胞的比例明显下降, 如果再将病毒作用时间延长, 干细胞就会全部裂解。作用时间越长, 细胞裂解就越彻底。在本实验中, 病毒作用时间不足 24 h。

微球体细胞在病毒感染后凋亡率上升明显, 表示病毒处理能促进微球体细胞的凋亡。细胞感染呼肠孤病毒后能够迅速激活 NF-κB 的转录, 而这是呼肠孤病毒致细胞凋亡所必须的^[17]。相关的研

究^[18-19]显示,呼肠孤病毒的溶瘤效率基于它能选择性感染并且杀死 Ras 旁路激活的细胞,因为这些细胞蛋白激酶 R(protein kinase R,PKR)的磷酸化受到破坏,促进了病毒蛋白的合成,允许病毒转染的发生。Shmulevitz 等^[20]发现,活跃的 Ras 信号通路虽然没有增加呼肠孤病毒的蛋白翻译,但在呼肠孤病毒感染过程中,明显提升了三个细胞步骤:活化的 Ras 信号增加了侵入病毒的脱壳,增强了子代病毒的易感性,增加了病毒介导的宿主细胞的凋亡。肿瘤基因 *Ras* 通过负反馈调节 RIG-I 信号来抑制 IFN- β 的生成,提高了呼肠孤病毒的播散。本研究显示,乳腺癌细胞及其微球体细胞有相似的较高的 Ras 水平,两者对呼肠孤病毒有极高的易感性。由于大约 30% 的人类肿瘤有 *Ras* 基因突变,高达 80% 的肿瘤有 Ras 旁路的激活,因此,呼肠孤病毒作为肿瘤治疗的新手段是很令人鼓舞和期待的。

本研究结果显示,呼肠孤病毒不仅裂解肿瘤微球体细胞,而且促进其凋亡,并且这种作用是针对 Ras 水平高的癌细胞和肿瘤微球体细胞,对非肿瘤细胞不起作用,因此病毒处理后乳腺癌微球体中表达 CD24⁺CD44⁺ 表型的细胞比例下降明显。溶瘤病毒所具有的独特优越性使其成为肿瘤治疗领域一种极具发展潜力的治疗手段,但其最终成为临床治疗方法还有赖于分子病毒学、分子生物学及肿瘤学等多学科的努力来实现。

[参考文献]

- [1] Goldstein RH, Reagan MR, Anderson K, et al. Human bone marrow-derived MSCs can home to orthotopic breast cancer tumors and promote bone metastasis [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(24): 10044-10050.
- [2] Gajria D, Chandarlapaty S. HER2-amplified breast cancer: Mechanisms of trastuzumab resistance and novel targeted therapies [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2011, 11(2): 263-275.
- [3] Hwang-Versluis WW, Kuo WH, Chang PH, et al. Multiple lineages of human breast cancer stem/progenitor cells identified by profiling with stem cell markers [J]. *PLoS One*, 2009, 4(12): e8377.
- [4] Dizdarevic S, Peters AM. Imaging of multidrug resistance in cancer [J]. *Cancer Imaging*, 2011, 11(1): 1-8.
- [5] Bourke MG, Salwa S, Harrington KJ, et al. The emerging role of viruses in the treatment of solid tumors [J]. *Cancer Treat Rev*, 2011. [Epub ahead of print]
- [6] Foka P, Pourchet A, Hernandez-Alcoceba R, et al. Novel tumor-specific promoters for transcriptional targeting of hepatocellular carcinoma by herpes simplex virus vectors [J]. *J Gene Med*, 2010, 12(12): 956-967.
- [7] Alain T, Muzik H, Otsuka S, et al. Susceptibility of mantle cell lymphomas to reovirus oncolysis [J]. *Leuk Res*, 2010, 34(1): 100-108.
- [8] 朱敬之, 吴志勇. 乳腺癌干细胞的有效富集 [J]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2011, 5(10): 38-43.
- [9] Vermeulen L, Todaro M, de Sousa Mello F, et al. Single-cell cloning of colon cancer stem cells reveals a multi-lineage differentiation capacity [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(36): 13427-13432.
- [10] 孙立超, 赵璇, 遇珑, 等. 抗肝癌干细胞功能性单抗的研制 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2010, 17(2): 121-127.
- [11] Mahller YY, Williams JP, Baird WH, et al. Neuroblastoma cell lines contain pluripotent tumor initiating cells that are susceptible to a targeted oncolytic virus [J]. *PLoS One*, 2009, 4(1): e4235.
- [12] Kim M, Garant KA, zur Nieden NI, et al. Attenuated reovirus displays oncolysis with reduced host toxicity [J]. *Br J Cancer*, 2011, 104(2): 290-299.
- [13] Kawaguchi K, Etoh T, Suzuki K, et al. Efficacy of oncolytic reovirus against human gastric cancer with peritoneal metastasis in experimental animal model [J]. *Int J Oncol*, 2010, 37(6): 1433-1438.
- [14] Cheng L, Sun J, Zhang K, et al. Atomic model of a cyovirus built from cryo-EM structure provides insight into the mechanism of mRNA capping [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(4): 1373-1378.
- [15] Marcato P, Dean CA, Giacomantonio CA, et al. If cancer stem cells are resistant to current therapies, what's next? [J]. *Future Oncol*, 2009, 5(6): 747-750.
- [16] Sukowati CH, Rosso N, Crocè LS, et al. Hepatic cancer stem cells and drug resistance: Relevance in targeted therapies for hepatocellular carcinoma [J]. *World J Hepatol*, 2010, 2(3): 114-126.
- [17] Stewart ME, Roy P. Role of cellular caspases, nuclear factor-kappa B and interferon regulatory factors in bluetongue virus infection and cell fate [J]. *Virology*, 2010, 7: 362.
- [18] Zhang P, Samuel CE. Protein kinase PKR plays a stimulus- and virus-dependent role in apoptotic death and virus multiplication in human cells [J]. *J Virol*, 2007, 81(15): 8192-8200.
- [19] Hata Y, Etoh T, Inomata M, et al. Efficacy of oncolytic reovirus against human breast cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2008, 19(6): 1395-1398.
- [20] Shmulevitz M, Marcato P, Lee PW. Activated Ras signaling significantly enhances reovirus replication and spread [J]. *Cancer Gene Ther*, 2010, 17(1): 69-70.
- [21] Shmulevitz M, Pan LZ, Garant K, et al. Oncogenic Ras promotes reovirus spread by suppressing IFN- β production through negative regulation of RIG-I signaling [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(12): 4912-4921.

[收稿日期] 2011 - 11 - 05

[修回日期] 2012 - 01 - 23

[本文编辑] 王莹