

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.02.004

· 院士论坛 ·

一个革命性的抗癌研究策略:癌症的靶向基因-病毒治疗

刘新垣(中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所,上海 200031)



刘新垣 分子生物学家,中国科学院院士、乌克兰科学院外籍院士、第三世界科学院院士。曾是上海生物工程学会创始人、全国生物工程学会副理事长。1952年从南开大学化学系毕业后分配在河北医学院工作,1957年至现在工作于中科院上海生命科学研究院生化与细胞所,1983年至1984年曾作为访问科学家在美国工作,现还兼任浙江理工大学新元研究所所长。是中国RNA结构与功能研究和干扰素研究的第一人,在人工全合成酵母Ala-tRNA研究中作出了很大贡献;曾任2005年国际干扰素和细胞因子大会的主席;与他人共同发明了一个新型干扰素,因其抗病毒和抗癌能力都大大超过普通干扰素,故称之为超级干扰素(sIFN-I)。是癌症靶向基因-病毒治疗学说(cancer targeting gene-viro-therapy, CTGVT)的创始者(2001年),CTGVT的构建是把抗癌基因插到溶瘤病毒(OV)中而成,故也为OV-Gene治疗,因OV能靶向癌细胞并在其中复制数百倍,插入其中的基因也会复制数百倍,故抗癌效果大增,比相应的基因或OV治疗强几十至近百倍;采用其双基因策略(CTGVT-DG)可将移植性肿瘤基本全部杀灭,CTGVT/CTGVT-DG是一革命性抗癌研究策略,得到了国际学术界的认可。至今共发表学术论文400多篇,编著《刘新垣论文集》14册。共获各种奖励40多项,1991年获国家突出贡献奖,2001年获香港何梁何利奖,2010年被评为“中国科学年度新闻人物”(排名第二)。E-mail: xyliu@sibs.ac.cn。

[摘要] 2001年,笔者提出了癌症的靶向基因-病毒治疗(cancer targeting gene-viro-therapy, CTGVT)的概念,即将一个抗癌基因插入到溶瘤病毒(oncolytic virus, OV)中,从而将基因治疗与溶瘤病毒各自的优势结合起来,由于溶瘤病毒能大量复制,插入其中的基因也能大量复制,故其抗肿瘤效果大增,较单用基因治疗或OV治疗强数十至上百倍。随后又引入双基因策略(CTGVT-DG),即向OV载体插入两个抗癌基因,由于两个抗癌基因之间可能存在互补或协同效应,在一些动物癌症模型中几乎能杀灭全部移植性肿瘤。近年来又采用纳米粒子把CTGVT-DG病毒颗粒包被,或者采用溶瘤痘病毒(Onco^{Pox})作为载体与CTGVT-DG策略相结合,后者将可构建一系列抗癌作用极好的双基因Onco^{Pox}-gene1-gene2产物。国外多数使用OV-GM-CSF策略,仅局限于GM-CSF的免疫功能,忽视了基因复制的剂量效应及其重要性,这就是中国的CTGVT-DG胜过西方的优势之处。

[关键词] 癌症;溶瘤病毒治疗;基因治疗;基因-病毒治疗;双基因治疗

[中图分类号] R730.54; R730.3; Q789

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)02-0159-07

Cancer targeting gene-viro-therapy: An evolving anti-cancer strategy

Liu Xinyuan (Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

[Abstract] The author proposed the concept of cancer targeting gene-viro-therapy (CTGVT) in 2001. By inserting an anti-tumor gene into an oncolytic virus (OV), this novel approach combines the advantages of both gene therapy and OV therapy. The anti-tumor effect of CTGVT can be several dozens to hundred times higher than that of either respective cancer gene therapy or OV therapy alone, owing to the fact that OV can target to the cancer cell where

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973计划)资助项目(No. 2011CB510104),国家自然科学基金面上项目资助(No. 81372453),上海市自然科学基金资助项目(No. 13ZR1446300)。Project supported by the National Basic Research Development Program of China (973 Program) (No. 2011CB510104), the General Program of National Natural Science Foundation of China (No. 81372453), and the Natural Science Foundation of Shanghai City (No. 13ZR1446300)

both the virus and the inserted gene replicate several tens or hundreds of times faster than usual. Given compensatory or synergetic effects of genes, double gene strategy (CTGVT-DG) has been demonstrated in an animal model of xenograft tumor to be significantly more effective. In our approaches, the Onco^{Ad} vector is used. To minimize the OV injection-associated vector degradation, we choose to coat the CTGVT-DG products with nano-particles or to use the Onco^{Pox} vector. In the previous studies from the Western countries, only the immune effect of GM-CSF is considered in the OV-Gene system, while the replicative capacity of the gene is often ignored. As a result, our strategies may be able to more effectively eradicate tumors, thereby offering greater clinical potential.

[**Keywords**] cancer; oncolytic viral therapy; gene therapy; gene-virus-therapy; double gene therapy

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(2): 159-165]

自从 1990 年 NIH 批准了世界上第一个基因治疗临床试验方案并获初步成功以来,基因治疗手段被应用于多种疾病的治疗,其中用基因治疗单基因突变的遗传病取得巨大成功,故 2009 年被 *Science* 杂志评为全球十大突破性成果之一。有人曾经尝试采用单纯的基因方法治疗癌症,但癌症为多基因突变疾病,故一直没有取得重大成果。此后,一种肿瘤特异性增殖病毒溶瘤病毒 (oncolytic virus, OV) ONXY-015 联合化疗取得了较好的临床疗效。但 OV 不携带外源抗癌基因时,其本身的抑瘤能力很小。故单用基因治疗或单用 OV 治疗,对肿瘤治疗的效果均不大。到目前为止,全球只有我国的一个基因治疗产品“今又生”(Ad-p53)上市,虽然 p53 为抑癌基因,但其载体为复制缺陷型腺病毒而非复制性溶瘤腺病毒,且只有一个 p53 基因,故“今又生”的抗癌作用很弱。全球也只有我国的一个溶瘤腺病毒产品“安柯瑞”(H101)上市,但因未加抗癌基因,其抗癌作用也很弱。鉴于此,笔者于 2001 年开创性地提出癌症的基因-病毒治疗策略,将病毒治疗与基因治疗结合起来,在 OV 载体上插入抗癌基因,成为具有很强杀伤作用的基因-病毒治疗手段^[1]。后因 OV 有靶向性,故将其称为癌症的靶向基因-病毒治疗策略(cancer targeting gene-virotherapy, CTGVT)。这一策略经十多年的探索与实践,逐步形成了比较完善的理论系统,是笔者近来重要创造之一,相关研究成果已发表约 400 篇学术论文,编有《刘新垣论文集》14 卷,其中的 9~14 卷为 CTGVT 治疗,见图 1。CTGVT 经临床转化后有希望对癌症的攻克做出重要贡献,具有极大的应用价值,现就该治疗策略作如下介绍。

1 创建 CTGVT

CTGVT 是将抗癌基因插入到 OV 而成,故实际上就是 OV-Gene 治疗,这个概念在 2001 年发表于

《中国肿瘤生物治疗杂志》^[1], 2003 年发表于 IF 值 11.981 分的 *Cell Res*^[2]。把基因治疗和 OV 治疗各自的优势结合起来,可以取得非常好的抗癌效果。如将 IL-24 基因插入到 ZD55 中(ZD55 为 OV,也可写为 Onco^{Ad}, OV 来自 Adenovirus),就可构成 ZD55-IL-24,则 ZD55-IL-24 的抗癌效果要比单用 ZD55 效果高约 100 倍,比单用 Ad-IL-24(即 IL-24 的基因治疗, Ad 为非复制型腺病毒)效果也要高约 100 倍(图 2)^[3]。抗癌效果增强这么多,可看作是一场革命,其理论基础是:OV 可靶向癌细胞,并在其中复制万千倍,最后把癌细胞溶解掉杀灭,插入 OV 中的基因也将随之复制万千倍(图 3),故其抗癌效果就大大增加了^[4,5]。



图 1 共 14 卷的《刘新垣论文集》

2 改造 CTGVT 成为双基因策略(CTGVT-DG)

笔者对 CTGVT(OV-Gene)进行了许多改造,例如将其改造为只靶向癌症干细胞(cancer stem cell, CSC)的 CTGVT-CSC 策略,或改造为特异性杀伤肝癌(liver cancer)细胞而或不或极少杀伤其他癌细胞的 CTGVT-LC 策略,或只杀伤前列腺癌(prostate cancer)的 CTGVT-PCa 策略等。但最有价值的改造,还是将它改造为双基因(CTGVT-DG)的策略,因为两

个抗癌基因之间可能有互补作用或协同效应,抗癌效果可大幅提高。在笔者课题组进行的部分研究^[6-10]中发现,应用这一策略基本可全部消灭移植

性的肿瘤(图4~8),其中图4~5、7的结果显示全歼肿瘤而不复发,这是全球少有的抗癌效果。

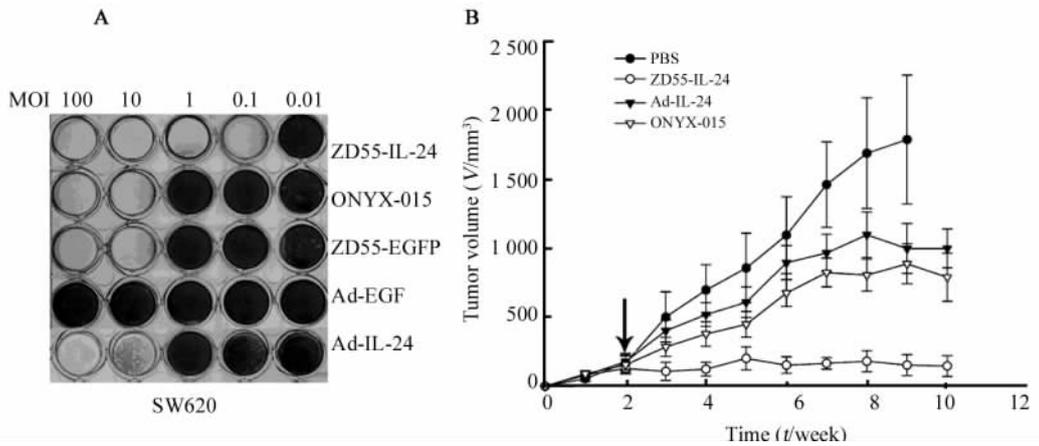


图2 ZD55-IL-24 的抗癌作用优于 OV(即 ONYX-015)或 Ad-IL-24 近 100 倍^[3]

A: 结晶紫测定 ZD55-IL-24 对结肠直肠癌 SW620 细胞的杀伤能力比 Ad-IL-24 或 ONYX-015 (ZD55)高 100 倍;
B: ZD55-IL-24 在动物模型中对结肠直肠癌 SW620 的抗癌效果也比 Ad-IL-24 或 ONYX-015 (ZD55)高约 100 倍

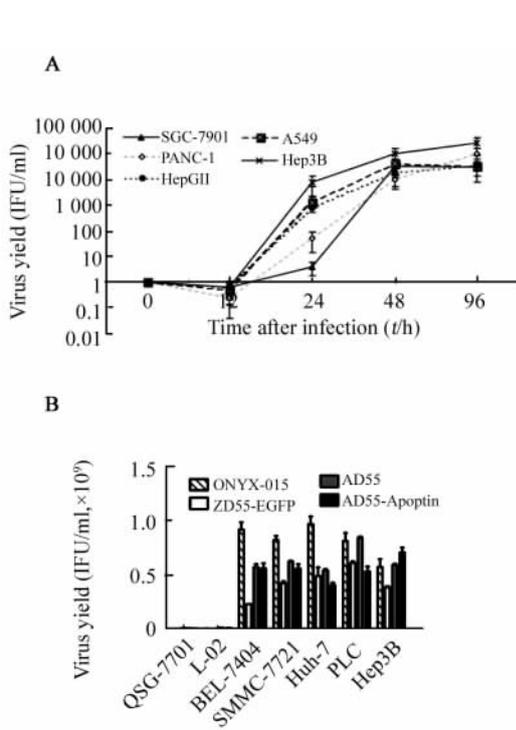


图3 OV 及 OV-Gene 可在癌细胞中大量复制^[4-5]

A: OV-mE (mouse endostatin)在不同癌细胞中的复制随时间而增加,最后到 96 h 时增加数万倍;
B: 不同的 OV 及 OV-Gene(如 ZD55-apoptin)在不同癌细胞中的复制要比正常细胞(QSG-7701、L-02)高数百倍

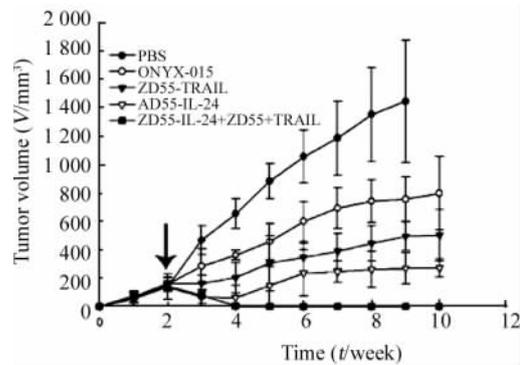


图4 ZD55-TRAIL 与 ZD55-IL-24 合用可全部杀灭移植性结肠直肠癌而不复发^[6]

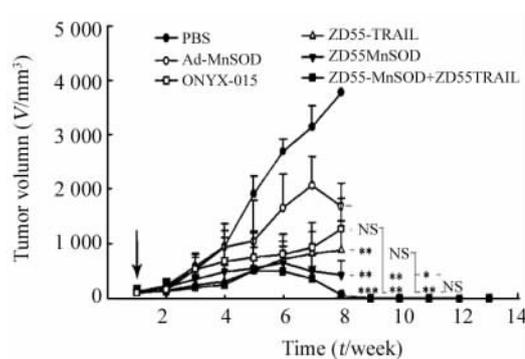


图5 ZD55-TRAIL 与 ZD55-MnSOD 合用可全部杀灭移植性肠癌而不复发^[7]

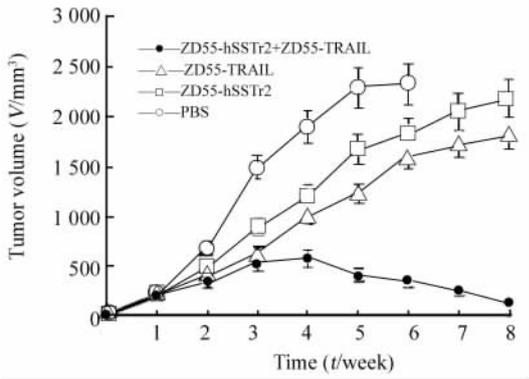


图6 ZD55-TRAIL 与 ZD55-hSSTr2 合用可全部杀灭移植性胰腺癌^[8]

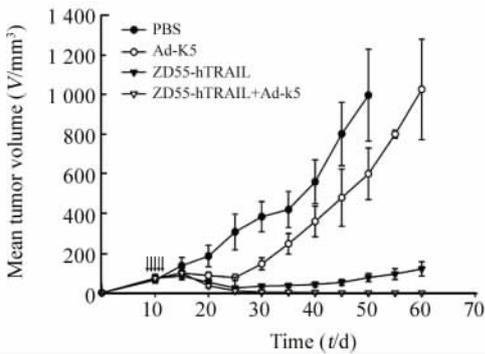


图7 ZD55-TRAIL 与 ZD55-ZD55-K5 合用可全部杀灭移植性结肠癌, 而不复发^[9]

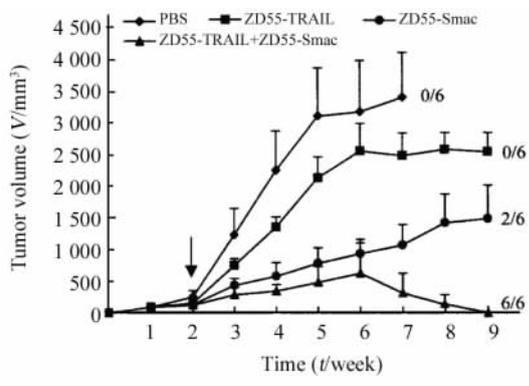


图8 ZD55-TRAIL 与 ZD55-Smac 共用可杀灭移植性肝癌^[10]

将 ZD55-TRAIL 与 ZD55-Smac 两者合用, 可将移植性肝癌全部杀灭(图 8), 但如要产业化需申请两个临床药证。如果用联接子(linker, L)将两个基因连接成一个融合基因(Trail-L-Smac)再转入溶瘤

病毒 ZD55 中, 则构成 ZD55-Trail -L-Smac, 它也可将移植性肝癌全部消灭光(图 9)^[11], 因此只申请一个药证即可。

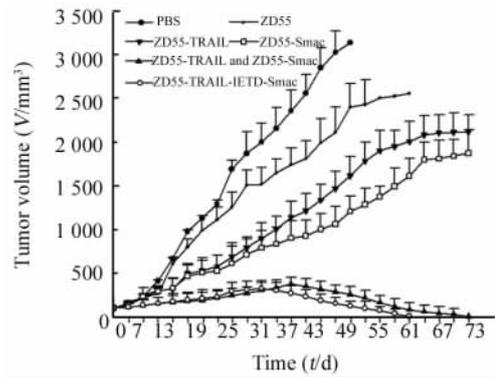


图9 ZD55-TRAIL-IETD-Smac 也可杀灭移植性肝癌^[11]

CTGVT-DG 的抗癌效果非常之好, 具有普遍意义, 而且是生物治疗获得的, 应该说, 在全球没有任何抗癌策略可以胜过全部杀灭移植性肿瘤的生物治疗策略(CTGVT-DG), 这绝对居于国际领先地位。所以说 CTGVT 及 CTGVT-DG 对癌症的基因治疗是一场革命, 对癌症的 OV 治疗也是一场革命, 故本文以“一种革命性的抗癌研究策略”为标题。

3 CTGVT-DG 策略与纳米技术相结合

以前均为理论研究, 以后是考虑它的产业化, 特别是将 CTGVT-DG 这样具有好的抗癌效果的产品产业化。但过去 CTGVT-DG 的工作均以 Onco^{Ad} (OV 来自腺病毒)作为载体, 它只能瘤内注射, 不能静脉注射, 否则将被破坏掉, 所以要进一步想办法解决此问题。为此, 将 CTGVT-DG 与纳米相结合, 将它包一层纳米颗粒就不会被血液系统所破坏, 就可以静脉注射了, 工作在进行中, 目前已有重要进展。

4 CTGVT-DG 与溶瘤痘苗病毒(Onco^{Pox})结合

与 Onco^{Ad} 相比, Onco^{Pox} 作为载体具有更多优点, 例如只在胞质中复制, 不会整入染色体, 故绝对不会致癌, 十分安全。不仅如此, 痘病毒本身就有靶向癌细胞作用, Onco^{Pox} 更有靶向癌细胞作用, 故为很理想的病毒载体。从我国宋朝发现天花疫苗, 直至 700 多年后天花消灭, 始终是安全的。且因其所表达的产物接近天然构型, 可糖基化, 有翻译后的后加工。它可感染几乎所有哺乳动物细胞, 包括分裂的、非分裂的、原代的、传代的细胞。Onco^{Pox} 可插入外源基因达 25 000 bp, 对热稳定, 不用冷藏, 操作简便。

更重要的是,Onco^{Pox}还可静脉注射,不会被血液系统清除掉,且仍有较好抗癌效果。故笔者实验室现在把 CTGVT-DG 策略与 Onco^{Pox}结合起来,可构建 Onco^{Pox}-gene1-gene2,如 Onco^{Pox}-GM-CSF-gene2。

当今全球最好的抗癌药物为 Onco^{Pox}-GM-CSF^[12-31](Jennerex 公司曾发表文章于 *Nature*、*Nat Med*)及 Onco^{HSV}-GM-CSF^[14, 32-37](Amgen 公司花了 10 亿美元从 BioVex 公司购得),而笔者课题组构建的 Onco^{Pox}-gene1-gene2,如 Onco^{Pox}-GM-CSF-IL-24,它较 Onco^{Pox}-GM-CSF 或 Onco^{HSV}-GM-CSF 均多一个抗癌基因,可以预见,其抗癌效果一定能超过 Onco^{Pox}-GM-CSF 或 Onco^{HSV}-GM-CSF,待专利获批、药品上市后,预估价值将超过 62 亿人民币甚至是 100 亿人民币。此外,笔者团队还将构建一系列 Onco^{Pox}-gene1-

gene2 产品,可取得更大的抗癌成果。

5 CTGVT 的理论优势与展望

最后,笔者还想在理论上,说明 CTGVT 的理论优势,这是笔者的 CTGVT 取得全球革命性策略优势的理论基础。

过去国外也有人愿意在 OV 的基础上加一个抗癌基因,构建 OV-Gene,如 Onco^{Ad}-cd/tk、Onco^{Ad}-p53、Onco^{Ad}-Trail 等,但这些无人重视,没有得到发展。后来有人构建了 Onco^{Pox}-GM-CSF^[12-31]及 Onco^{HSV}-GM-CSF^[32-37],且抗癌效果均较好,于是大家都在构建 OV-GM-CSF(表 1),而且 Onco^{Pox}-GM-CSF、Onco^{HSV}-GM-CSF 成为当今世界很好的抗癌药物。

表 1 临床试验中的数种 OV-GM-CSF

Company	Product	Virus	Lead indication	Clinical status
Amgen	Talimogene laherparepvec	Modified HSV-1 carrying ICP34. 5 & ICP47 deletions, expressing US11 as an immediate early gene and encoding GM-CSF, Onco ^{HSV} -GM-CSF	Metastatic melanoma	Phase III
Cold Genesys (Irvine, California)	CG0070	Conditionally replicating adenovirus encoding GM-CSF, Onco ^{Ad} -GM-CSF	Bladder cancer	Phase II / III
Jennerex Biotherapeutics	Pexastimogene devacirepvec (Pexa-Vec, JX-594)	Thymidine kinase-deleted vaccinia virus encoding GM-CSF, Onco ^{Pox} -GM-CSF	Liver cancer	Phase III
Oncos Therapeutics (Helsinki, Finland)	CGTG-102	Conditionally replicating adenovirus encoding GM-CSF, Onco ^{Ad} -GM-CSF	Solid tumors	Phase I
Jennex Biotherapeutics	JX-963	Onco ^{Pox} -GM-CSF		

此后,西方学者认为 OV-GM-CSF 抗癌效果之所以很好,是溶瘤病毒的溶瘤作用与 GM-CSF 的免疫功能相结合的结果。因为 1993 年 Dranoff 等^[38]发表的一篇文章称,在所有他研究的 10 种细胞因子中,GM-CSF 增强免疫功能的作用最强,估计这就是西方人错误观点形成的原因。笔者则认为,OV-Gene 抗癌作用很好的真正原因是:OV 能在癌细胞中大量复制增殖,插入其中的抗癌基因也大量复制(图 3)。GM-CSF 只是其中基因之一,也可包括在 CTGVT 策略中,首先要有 GM-CSF 的大量复制,然后才有其强大的免疫功能和抗癌效果。因为该策略重视基因的大量复制增殖作用,重视基因的作用,故能设计两个基因策略(CTGVT-DG),基本上可达到完全杀灭移植性肿瘤的而常不复发的抗癌效果

(图 4~9)。西方学者只强调 GM-CSF 免疫功能,不重视它的复制功能,故不可能设计两个基因策略,以完全杀灭移植性肿瘤。这是笔者团队 CTGVT-DG 策略的理论优于西方学者理论的原因,将为中国抗癌研究在全球占有重要的一席之地。

综上所述,可得出四点结论:(1)笔者课题组经多年探索,创建并完善了 CTGVT 学说,构建了 CTGVT-DG(双基因策略),可把移植性肿瘤全部杀灭光而常不复发;(2)以上策略可算是一种学说,对癌症的基因治疗是一场革命,对癌症的 OV 治疗也是一场革命(OV 是西方抗癌研究的一种热潮,但我预言,它将来要被 CTGVT 所取代);(3)笔者的学说是唯一正确的观点,西方学者只强调 GM-CSF 增强免疫功能的观点是片面和错误的;(4)正是重视

基因可复制的正确理论基础, 才能够构建 $\text{Onco}^{\text{Pox}}\text{-gene1-gene2}$, 足以战胜西方认为是最好的抗癌药 $\text{Onco}^{\text{Pox}}\text{-GM-CSF}$ 及 $\text{Onco}^{\text{HSV}}\text{-GM-CSF}$ 。

CTGVT 及 CTGVT-DG 是一个总的策略, 大有可为, 如用不同的病毒、不同的双基因, 可以构建许多不同载体或许多不同基因以构建抗癌效果更好的产品。如利用 2014 年全球十大科学突破之首的 PD-1 抗体, 笔者已构建 $\text{Onco}^{\text{Pox}}\text{-PD-1-IL-24}$ 等抗癌产物, 主观上希望其抗癌效果能超过十大科学突破之首的 PD-1 抗体。

[参 考 文 献]

- [1] 刘新垣. 一种抗癌新策略--肿瘤的基因病毒治疗 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2001, 8(1): 1.
- [2] Zhang ZL, Zou WG, Luo CX, et al. An armed oncolytic adenovirus system, ZD55-gene, demonstrating potent antitumoral efficacy [J]. Cell Res, 2003, 13(6): 481-489.
- [3] Zhao L, Gu J, Dong A, et al. Potent antitumor activity of oncolytic adenovirus expressing mda-7/IL-24 for colorectal cancer [J]. Hum Gene Ther, 2005, 16(7): 845-858.
- [4] Zhang KJ, Qian J, Wang SB, et al. Targeting gene-viro-therapy with AFP driving apoptin gene shows potent antitumor effect in hepatocarcinoma [J]. J Biomed Sci, 2012, 19: 20.
- [5] Zhang Q, Nie M, Sham J, et al. Effective gene-viral therapy for telomerase-positive cancers by selective replicative-competent adenovirus combining with endostatin gene [J]. Cancer Res, 2004, 64(15): 5390-5397.
- [6] Zhao LL, Dong AW, Gu JF, et al. The antitumor activity of TRAIL and IL-24 with replicating oncolytic adenovirus in colorectal cancer [J]. Cancer Gene Ther, 2006, 13(11): 1011-1022.
- [7] Zhang YH, Gu JF, Zhao LL, et al. Completely elimination of colorectal tumor xenograft by combined manganese superoxide dismutase with tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand gene therapy [J]. Cancer Res, 2006, 66(8): 4291-4298.
- [8] Zhang ZW, Huang YB, Newman K, et al. Reexpression of human somatostatin receptor gene 2 gene mediated by oncolytic adenovirus increases antitumor activity of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand against pancreatic cancer [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(16): 5154-5160.
- [9] Liu XY, Qiu SB, Zou WG, et al. Effective gene-virotherapy for complete eradication of tumor mediated by the combination of hTRAIL(TNFSF10) and plasminogen k5 [J]. Mol Ther, 2005, 11(4): 531-541.
- [10] Pei ZF, Chu L, Zou WG, et al. An oncolytic adenoviral vector of Smac increases antitumor activity of TRAIL against HCC in human cells and in mice [J]. Hepatology, 2004, 39(5): 1371-1381.
- [11] Wang SB, Tan Y, Lei W, et al. Complete eradication of xenograft hepatoma by oncolytic adenovirus ZD55 harboring TRAIL-IETD-Smac gene with broad antitumor effect [J]. Hum Gene Ther, 2012, 23(9): 992-1002.
- [12] Gnant MF, Noll LA, Irvine KR, et al. Tumor-specific gene delivery using recombinant vaccinia virus in a rabbit model of liver metastases [J]. J Natl Cancer Inst, 1999, 91(20): 1744-1750.
- [13] Puhlmann M, Brown CK, Gnant M, et al. Vaccinia as a vector for tumor-directed gene therapy: Biodistribution of a thymidine kinase-deleted mutant [J]. Cancer Gene Ther, 2000, 7(1): 66-73.
- [14] Kirn DH, Wang Y, Le Boeuf F, et al. Targeting of interferon-beta to produce a specific, multi-mechanistic oncolytic vaccinia virus [J]. PLoS Med, 2007, 4(12): e353.
- [15] McCart JA, Ward JM, Lee J, et al. Systemic cancer therapy with a tumor-selective vaccinia virus mutant lacking thymidine kinase and vaccinia growth factor genes [J]. Cancer Res, 2001, 61(24): 8751-8757.
- [16] Kim JH, Oh JY, Park BH, et al. Systemic armed oncolytic and immunologic therapy for cancer with JX-594, a targeted poxvirus expressing GM-CSF [J]. Mol Ther, 2006, 14(3): 361-370.
- [17] Yang S, Guo ZS, O' Malley ME, et al. A new recombinant vaccinia with targeted deletion of three viral genes: Its safety and efficacy as an oncolytic virus [J]. Gene Ther, 2007, 14(8): 638-647.
- [18] Zhang Q, Yu YA, Wang E, et al. Eradication of solid human breast tumors in nude mice with an intravenously injected light-emitting oncolytic vaccinia virus [J]. Cancer Res, 2007, 67(20): 10038-10046.
- [19] Park BH, Hwang T, Liu TC, et al. Use of a targeted oncolytic poxvirus, JX-594, in patients with refractory primary or metastatic liver cancer: A phase I trial [J]. Lancet Oncol, 2008, 9(6): 533-542.
- [20] Lun X, Chan J, Zhou H, et al. Efficacy and safety/toxicity study of recombinant vaccinia virus JX-594 in two immunocompetent animal models of glioma [J]. Mol Ther, 2010, 18(11): 1927-1936.
- [21] Ziauddin MF, Guo ZS, O' Malley ME, et al. TRAIL gene-armed oncolytic poxvirus and oxaliplatin can work synergistically against colorectal cancer [J]. Gene Ther, 2010, 17(4): 550-559.
- [22] Kirn DH, Thorne SH. Targeted and armed oncolytic poxviruses: A novel multi-mechanistic therapeutic class for cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(1): 64-71.
- [23] Hwang TH, Moon A, Burke J, et al. A mechanistic proof-of-concept clinical trial with JX-594, a targeted multi-mechanistic oncolytic poxvirus, in patients with metastatic melanoma [J]. Mol Ther, 2011, 19(10): 1913-1922.
- [24] Rintoul JL, Wang J, Gammon DB, et al. A selectable and excisable marker system for the rapid creation of recombinant poxviruses [J]. PLoS ONE, 2011, 6(9): e24643.
- [25] Bell JC. The virus that came in from the cold [J]. Sci Transl Med, 2012, 4(138): 138fs17.
- [26] Parato KA, Breitbart CJ, Le Boeuf F, et al. The oncolytic poxvirus JX-594 selectively replicates in and destroys cancer cells driven by genetic pathways commonly activated in cancers [J]. Mol Ther, 2012, 20(4): 749-758.
- [27] Breitbart CJ, Arulanandam R, De Silva N, et al. Oncolytic vaccinia virus disrupts tumor-associated vasculature in humans [J]. Cancer Res, 2013, 73(4): 1265-1275.
- [28] Kim MK, Breitbart CJ, Moon A, et al. Oncolytic and immuno-

- therapeutic vaccinia induces antibody-mediated complement-dependent cancer cell lysis in humans [J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5(185): 185ra63.
- [29] Gholami S, Chen CH, Lou E, et al. Vaccinia virus GLV-1h153 in combination with I¹³¹ shows increased efficiency in treating triple-negative breast cancer [J]. *Faseb J*, 2014, 28(2): 676-682.
- [30] Breitbach CJ, Burke J, Jonker D, et al. Intravenous delivery of a multi-mechanistic cancer-targeted oncolytic poxvirus in humans [J]. *Nature*, 2011, 477(7362): 99-102.
- [31] Heo J, Reid T, Ruo L, et al. Randomized dose-finding clinical trial of oncolytic immunotherapeutic vaccinia JX-594 in liver cancer [J]. *Nat Med*, 2013, 19(3): 329-336.
- [32] Liu H, Yuan SJ, Chen YT, et al. Preclinical evaluation of herpes simplex virus armed with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in pancreatic carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(31): 5138-5143.
- [33] Liu BL, Robinson M, Han ZQ, et al. ICP34. 5 deleted herpes simplex virus with enhanced oncolytic, immune stimulating, and anti-tumour properties [J]. *Gene Ther*, 2003, 10(4): 292-303.
- [34] Senzer NN, Kaufman HL, Amatruda T, et al. Phase II clinical trial of a granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-encoding, second-generation oncolytic herpesvirus in patients with unresectable metastatic melanoma [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(34): 5763-5771.
- [35] Evans J. Recent deal highlights hopes for cancer-killing viruses [J]. *Nat Med*, 2011, 17(3): 268-269.
- [36] Sheridan C. Amgen announces oncolytic virus shrinks tumors [J]. *Nat Biotechnol*, 2013, 31(6): 471-421.
- [37] Goshima F, Esaki S, Luo C, et al. Oncolytic viral therapy with a combination of HF10, a herpes simplex virus type 1 variant and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for murine ovarian cancer [J]. *Int J Cancer*, 2014, 134(12): 2865-2877.
- [38] Dranoff G, Jaffee E, Lazenby A, et al. Vaccination with irradiated tumor cells engineered to secrete murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor stimulates potent, specific, and long-lasting anti-tumor immunity [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993, 90(8): 3539-3543.
- [收稿日期] 2015 - 03 - 12 [修回日期] 2015 - 04 - 05
[本文编辑] 黄静怡

· 读者 · 作者 · 编者 ·

常见参考文献著录格式示例

1 专著

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 其他责任者(例如翻译者). 版本项(1 版不著录). 出版地: 出版者, 出版年: 起页-止页.

- [1] Abrams WB, Beers MH, Berkow R. 默克老年病手册 [M]. 陈灏珠, 王赞舜, 刘厚钰, 等. 译. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 22-25.

2 专著析出文献

著录格式: 析出文献主要责任者. 文献题名[文献类型标志]//专著主要责任者. 专著题名. 版本项. 出版地: 出版者, 出版年: 起页-止页.

- [1] Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms [M]//Soderman WA Jr, Sodeman WA. *Pathologic physiology: Mechanisms of disease*. Philadelphia: Saunders, 1974: 457-472.

3 期刊文献

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 刊名, 出版年, 卷号(期号): 起页-止页.

- [1] Nobles KN, Guan Z, Xiao K, et al. The active conformation of beta-arrestin 1: Direct evidence for the phosphate sensor in the N-domain and conformational differences in the active states of beta-arrestins 1 and -2 [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(29): 21370-21381.

4 专利文献

著录格式: 专利申请者或所有者. 专利题名: 专利国别, 专利号[文献类型标志]. 公告日期或公开日期.

- [1] 钱其军, 李琳芳, 吴红平, 等. 一种多功能免疫杀伤转基因细胞(PIK)、其制备方法及应用: 中国, 2010101496839 [P]. 2010-10-14.

5 学位论文

著录格式: 责任者. 题名[文献类型标志]. 学位授予单位所在地: 学位授予单位, 年.

- [1] 曹新广. Cathepsin L 和 Cystatin B 的表达与大肠癌生物学行为的关系 [D]. 郑州, 郑州大学, 2007.

6 电子文献

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志/文献载体标志]. 刊名, 出版年, 卷号(期号): 起页-止页(更新或修改日期) [引用日期]. 获取和访问路径.

- [1] Christine M. *Plant physiology: Plant biology in the genome era* [J/OL]. *Science*, 1998, 281: 331-332 [1998-09-23]. <http://www.sciencemag.org/cgi/collection/anatmorp>.
- [2] Hopkinson A. UNIMARC and metadata: Dublin core [EB/OL]. [1999-12-08]. <http://www.ifla.org/IV/ifla64/138-161e.htm>.