

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.05.009

rNDV IL-29 对肺腺癌 A549 细胞恶性生物学行为的影响

严玉兰^{1a}, 刘沙^{2Δ}, 李米², 赵英海², 金惠^{1a}, 尹超云², 步雪峰^{1b} (1. 江苏大学附属人民医院 a. 呼吸内科, b. 普外科, 江苏镇江 212002; 2. 江苏大学医学院, 江苏镇江 212013)

[摘要] **目的:**探讨表达 IL-29 的重组新城疫病毒(recombinant Newcastle disease virus IL-29, rNDV IL-29)对肺腺癌 A549 细胞增殖、迁移和细胞凋亡的影响。**方法:**实验分为 rNDV IL-29 组(rNDV IL-29 感染 A549 细胞)、NDV 组(NDV 感染 A549 细胞)和对照组(PBS)。用 Western blotting、RT-PCR、免疫荧光法检测 IL-29 蛋白及其 mRNA 的表达;MTT、克隆形成实验及划痕实验检测 rNDV IL-29 对 A549 细胞增殖、迁移能力的影响;流式细胞术及 Western blotting 检测 rNDV IL-29 对 A549 细胞凋亡的影响。**结果:**与 NDV 组和对照组相比, rNDV IL-29 组细胞:(1) IL-29 蛋白及其 mRNA 表达水平显著升高;(2)细胞增殖抑制率明显升高[$(56.48 \pm 11.89)\%$ vs $(42.18 \pm 6.18)\%$, $P < 0.05$], 细胞迁移率明显下降[$(5.00 \pm 4.00)\%$ vs $(32.43 \pm 3.71)\%$ 、 $(84.57 \pm 3.96)\%$, 均 $P < 0.05$];(3) Caspase3 表达水平明显上调[$(29.67 \pm 1.53)\%$ vs $(18.33 \pm 3.06)\%$ 、 $(7.00 \pm 6.08)\%$, 均 $P < 0.05$], Bcl-2/bax 表达水平明显下调[$(12.00 \pm 2.65)\%$ vs $(42.33 \pm 5.86)\%$ 、 $(67.00 \pm 6.25)\%$, 均 $P < 0.05$], 细胞凋亡增多。**结论:**rNDV IL-29 抑制肺腺癌 A549 细胞增殖、迁移, 并且促进其凋亡, 提示 rNDV IL-29 可能成为一种很有潜力的抗癌药物。

[关键词] 重组新城疫病毒;白细胞介素-29;肺腺癌;凋亡

[中图分类号] R392.12

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2017)05-0510-06

Effect of rNDV IL-29 on malignant biological behavior of lung adenocarcinoma A549 cells

YAN Yulan^{1a}, LIU Sha^{2Δ}, LI Mi², ZHAO Yinghai², JIN Hui^{1a}, YIN Chaoyun², BU Xuefeng^{1b} (1 a. Department of Respiratory Medicine, b. Department of General Surgery; Affiliated People's Hospital, Jiangsu University, Zhenjiang 212002, Jiangsu, China. 2. Medicine College, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, Jiangsu, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of recombinant Newcastle disease virus (rNDV) expressing IL-29 (rNDV IL-29) on the proliferation, migration and apoptosis of lung adenocarcinoma A549 cells. **Methods:** A549 cells were treated with rNDV IL-29, NDV and PBS respectively, namely rNDV IL-29 group, NDV group and control group. The protein and gene expression of IL-29 in A549 cells were examined by RT-PCR, immunofluorescence and Western blotting; MTT assay, colony formation assay and scratch assay were used to evaluate the effect of rNDV IL-29 on proliferation and migration ability of A549 cells; Flow cytometry and Western blotting were used to examine the effect of rNDV IL-29 on apoptosis of A549 cells. **Results:** Compared with NDV group and control group, (1) IL-29 protein and gene expressions were dramatically increased in rNDV IL-29 group. (2) the rate of cell proliferation in rNDV IL-29 group was significantly inhibited ($[56.48 \pm 11.89]\%$ vs $[42.18 \pm 6.18]\%$, $P < 0.05$), and migration ability of A549 cells in rNDV IL-29 group was statistically decreased ($[5.00 \pm 4.00]\%$ vs $[32.43 \pm 3.71]\%$, $[84.57 \pm 3.96]\%$, all $P < 0.05$). (3) the expression of caspase3 in rNDV IL-29 group was significantly up-regulated ($[29.67 \pm 1.53]\%$ vs $[18.33 \pm 3.06]\%$, $[7.0 \pm 6.08]\%$, all $P < 0.05$), while Bcl-2/bax level was remarkably reduced ($[12.00 \pm 2.65]\%$ vs $[42.33 \pm 5.86]\%$, $[67.00 \pm 6.25]\%$, all $P < 0.05$). **Conclusion:** rNDV IL-29 inhibits the proliferation and migration of A549

[基金项目] 江苏省自然科学基金资助项目(No. BK20151333)。Project supported by the Natural Science Foundation of Jiangsu Province(No. BK20151333)

[作者简介] 严玉兰(1967-),女,博士,主任医师,主要从事肺癌的研究, E-mail: ylyan2005@163.com; 刘沙(1990-),女,硕士生,主要从事肺癌的研究, E-mail: 1073449504@qq.com。Δ为共同第一作者

[通信作者] 步雪峰(BU Xuefeng, corresponding author),博士,主任医师,硕士生导师,主要从事胃癌的研究, E-mail: xuefenghu05@163.com

cells and promotes apoptosis of A549, suggesting that rNDV IL-29 may be served as a potential anticancer drug.

[**Key words**] recombinant Newcastle disease virus; IL-29; adenocarcinoma of lung; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(5): 510-515. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.05.009]

肺癌是世界上导致人类死亡的最常见恶性肿瘤,其发病率及病死率均居首位,尽管手术、放化疗是肺癌的主要治疗手段,但疗效仍不尽如人意^[1-3],因此急需寻找新的、有效的治疗方法。溶瘤治疗是一种新型治疗肿瘤的方法,近年来已发现多种病毒具有溶瘤作用,新城疫病毒就是其中的一种,且已应用于临床试验中^[4]。新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV) LaSota 株具有自我复制和杀死肿瘤细胞的作用,但不伤害正常细胞,是一种安全、有效的抗肿瘤制剂^[4-8]。IL-29 具有抗肿瘤活性,但因其受体选择性分布,不良反应更少^[9-10],故 IL-29 可能成为恶性肿瘤治疗的较好选择。本课题通过构建表达 IL-29 的重组新城疫病毒(recombinant Newcastle disease virus IL-29, rNDV IL-29),观察其对肺腺癌 A549 细胞的增殖、迁移及凋亡的影响,旨在探寻治疗肺癌新的制剂。

1 材料与方法

1.1 细胞株及主要试剂

人肺腺癌细胞株 A549 由本课题组保存,新城疫病毒 LaSota 株、鸡抗 NDV 一抗由中国农业科学院哈尔滨研究所赠;rNDV IL-29 由实验组成员在中国农业科学院哈尔滨研究所合成。DMEM(维森特公司),MTT 试剂盒(Sigma 公司),Annexin V 试剂盒(北京四正柏生物科技有限公司),鼠抗 Bcl-2、bax、兔抗 bcl-1、Caspase3 抗体(博士德公司),HRP 标记的山羊抗兔 IgG、HRP 标记的山羊抗小鼠二抗(康为世纪公司),HRP 标记的兔抗鸡二抗(Earthox 公司),HRP 标记的小鼠 β -actin 抗体(Santa 公司)。FITC 标记的山羊抗兔 IgG、CY3 标记的山羊抗鸡 IgG(碧云天生物技术研究所),引物由上海捷瑞生物技术公司合成(IL-29 引物序列:上游引物为 5'-TATCCAGCCTCAGC-CCACAGCA-3',下游引物为 5'-ACAGGTTCCATCG-GCCACATA-3',长度为 176 bp),反转录试剂盒(Fermentas 公司),PCR 试剂盒(北京康维世纪有限公司),曝光液(Millipore 公司)。

1.2 rNDV IL-29 感染肺腺癌 A549 细胞

将对数生长期的肺腺癌 A549 细胞接种于 24 孔培养板中,用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基分别稀释 rNDV IL-29 及 NDV 原液,当细胞处于 50% 汇合时,随机分为 rNDV IL-29 组、NDV 组和对照组,

分别加入含有感染复数(multiplicity of infection, MOI)为 10 的 rNDV IL-29、MOI 为 10 的 NDV 和 PBS 的培养基,继续培养 24 h。

1.3 免疫荧光法检测 rNDV IL-29 感染对 A549 细胞 IL-29、NDV 水平的影响

将 rNDV IL-29 组、NDV 组和对照组 A549 细胞处理 24 h 后,待细胞汇合到约 80% 时,行免疫荧光染色:4% 多聚甲醛固定 30 min, PBS 洗涤 3 次, 0.2% Triton X-100 30 min, PBS 洗涤 3 次;5% BSA 孵育 1 h;鸡抗 NDV HN 蛋白抗体(1:500)37 °C 孵育 2 h;PBS 洗涤 3 次;兔多克隆 IL-29 抗 IgG 抗体(1:500)在湿盒 4 °C 孵育过夜, PBS 洗涤 3 次;CY3 标记的山羊抗鸡 IgY(1:300)37 °C 孵育 2 h, FITC 标记的山羊抗兔(1:250)37 °C 孵育 2 h;PBS 洗涤 3 次;Hoechst 33342 染细胞核(1:5 000)30 min, 荧光显微镜观察下观察并拍照。

1.4 Western blotting 检测 rNDV IL-29 感染对 A549 细胞中 IL-29、NDV 蛋白及凋亡相关蛋白表达的影响

收集各组细胞提取蛋白。SDS-PAGE(80 V/20 min, 120 V/60 min)后转膜,脱脂奶粉室温封闭 1 h;用鸡抗 NDV HN 蛋白抗体(1:800)或兔多克隆 IL-29 抗 IgG 抗体(1:300)或鼠抗 Bcl-2、bax 及兔抗 Caspase3(1:300)以及 β -actin 单克隆抗体(1:2 000)4 °C 冰箱孵育过夜;分别加入对应二抗室温孵育 1.5 h;以 β -actin 作为内参,测定各泳道目的蛋白与 β -actin 蛋白条带的灰度并计算其比值。

1.5 RT-PCR 检测 rNDV IL-29 感染对 A549 细胞中 IL-29 mRNA 表达的影响

依照 PCR 试剂盒操作说明,用 TRIzol RNA 提取液提取 3 组细胞总 RNA,用核酸和蛋白分析仪测定 D_{260}/D_{280} ,计算 RNA 浓度和纯度。以 Oligo(dT) 为引物,用 Fermentas 反转录试剂盒合成对应的 cDNA。PCR 的条件:94 °C 预变性 5 min, 94 °C 30 s, 56 °C 30 s 循环 30 次, 72 °C 30 s, 72 °C 10 min。然后进行琼脂糖凝胶电泳。实验重复 3 次。

1.6 MTT 法检测 rNDV IL-29 感染对 A549 细胞增殖的影响

NDV 病毒液及 rNDV IL-29 病毒液的滴度分别在鸡胚半数感染量(50% egg infective doses, EID₅₀) 为 109.1、108.5 EID₅₀/ml 左右。用 7% FBS 的 DMEM 分别将病毒原液稀释以下倍数:100、200、

400、800。将对数生长期的细胞,以细胞计数板调整细胞密度为 1×10^4 /ml,接种于96孔板中,置于5% CO₂ 培养箱培养。次日,分别用含有不同浓度的NDV及rNDV IL-29病毒液感染细胞,加入PBS为对照组,每组设3个复孔,在温箱中培养24 h,每孔中加入10 μl MTT(5 mg/ml, PBS溶解)孵育2 h,每孔加入150 μl的DMSO后用酶标仪在490 nm处读取每孔的光密度(D)值,并用以下公式计算细胞生长抑制率 = $[1 - D_{\text{实验组}}/D_{\text{阴性对照组}}] \times 100\%$ 。

1.7 克隆形成实验检测 rNDV IL-29 感染对 A549 细胞增殖的影响

取对数生长期的 rNDV IL-29 组、NDV 组、对照组细胞,分别将各组细胞按每孔 1 500 个细胞接种于6孔板,置于37℃ 5% CO₂ 培养箱培养;每组设立3个重复孔。24 h后换液,每隔4 d更换1次培养基,继续培养10 d后,结晶紫染液染色,拍照并计数(以50个细胞以上为一个集落)。按公式计算:克隆形成率(%) = (克隆数/接种细胞数) × 100%。

1.8 划痕实验检测 rNDV IL-29 感染对 A549 细胞迁移的影响

对数期 A549 细胞悬液加入24孔板内,待细胞汇合80%~90%后,用10 μl 无菌加样枪头在每个孔中间纵向、横向各划一道直线,PBS洗去划痕区内的细胞,分别加入含有 rNDV IL-29、NDV 感染 A549

细胞,对照组加入 PBS;每组均设立3个复孔。24 h后以无病毒的 DMEM 换液,并分别在划痕后0、48 h观察和拍照。细胞迁移率(%) = (48 h 划痕宽度/0 时间点划痕宽度) × 100%。

1.9 流式细胞术检测 rNDV IL-29 感染对 A549 细胞凋亡的影响

rNDV IL-29 组、NDV 组、对照组细胞处理24 h后,用胰酶消化收集细胞,并用 PBS 缓冲液洗涤细胞2次,依照 annexin V-FITC/PI 试剂盒说明书操作,后上流式细胞仪检测细胞凋亡水平。实验重复3次。

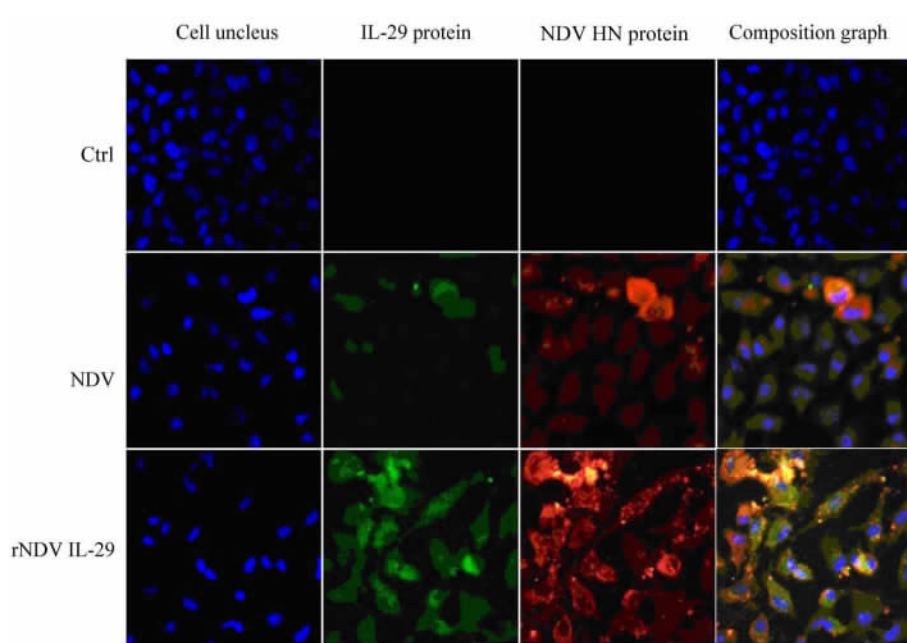
1.10 统计学处理

采用 SPSS19.0 统计软件,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组数据采用配对 t 检验或方差分析,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 rNDV IL-29 感染后 A549 细胞均表达 NDV HN 和 IL-29 蛋白

免疫荧光染色结果(图1)显示,NDV HN 蛋白(图中为红色)和 IL-29 蛋白(图中为绿色)在 rNDV IL-29 组和 NDV 组的 A549 细胞中均表达,且与 NDV 组和 PBS 组相比,rNDV IL-29 组 NDV HN 蛋白和 IL-29 蛋白的表达明显增强。



Blue nuclei with 33342; IL-29 stained green with FITC; NDV HN stained red with CY3

图1 感染 rNDV IL-29 的 A549 细胞 NDV HN 及 IL-29 蛋白的表达(免疫荧光染色, × 200)

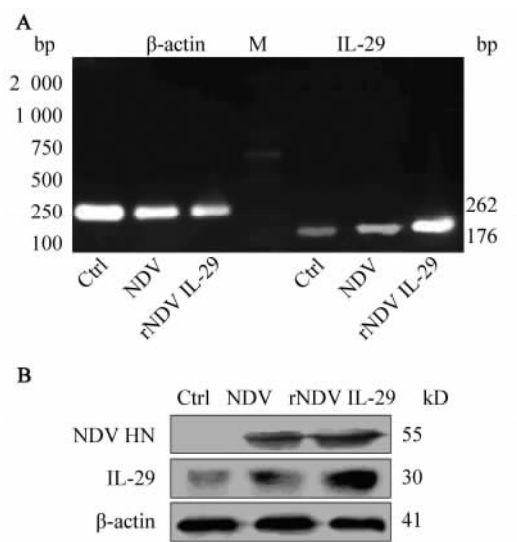
Fig.1 Expressions of IL-29 and NDV HN protein in the A549 cells infected with rNDV IL-29 (immunofluorescent staining × 200)

2.2 感染 rNDV IL-29 后的 A549 细胞表达 IL-29 mRNA 和蛋白

RT-PCR 检测结果(图 2A)显示, rNDV IL-29 及 NDV 感染 A549 细胞 24 h 后, *IL-29 mRNA* 在 rNDV IL-29 组、NDV 组和 PBS 组均有表达。Western blotting 检测结果(图 2B)显示, rNDV IL-29 组 IL-29 蛋白的表达水平明显高于 NDV 组和 PBS 组[(1.11 ± 0.09) vs (0.72 ± 0.037) 、 (0.48 ± 0.04)], $t = 5.67, 9.76$; 均 $P < 0.05$]; NDV HN 蛋白在 rNDV IL-29 组及 NDV 组稳定表达, 且 rNDV IL-29 组表达高于 NDV 组[(1.18 ± 0.07) vs (0.93 ± 0.15)], $t = 2.63, P < 0.05$]。

2.3 rNDV IL-29 感染后 A549 细胞增殖能力明显降低

克隆形成实验结果(图 3A)显示, rNDV IL-29 组细胞克隆形成率明显低于 NDV 组[$(3.33 \pm 5.77)\%$ vs $(45.67 \pm 8.39)\%$, $t = 9.44, P < 0.05$], NDV 组细胞克隆形成率明显低于对照组[$(45.67 \pm 8.39)\%$ vs $(88.33 \pm 16.07)\%$, $t = 4.55, P < 0.05$]。MTT 法检测结果(图 3B)显示各组不同浓度点抑制率随浓度降低依次降低, 且 rNDV IL-29 组的抑制率明显高于 NDV 组[$(56.48 \pm 11.89)\%$ vs $(42.18 \pm 6.18)\%$, $t = 3.23, P < 0.05$]。



A: *IL-29* mRNA detected by RT-PCR; B: *IL-29* protein detected by Western blotting

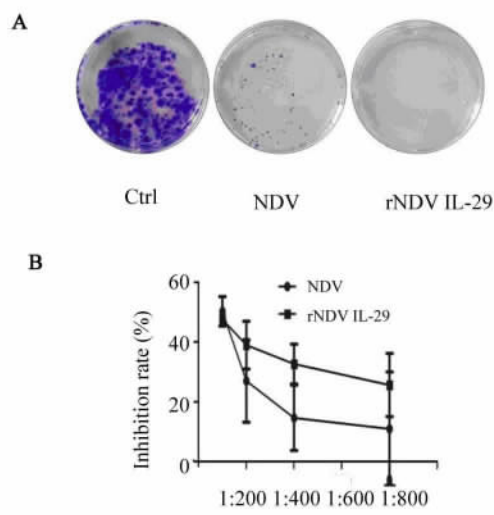
图 2 A549 细胞感染 rNDV IL-29 后 NDV HN 及 *IL-29* mRNA 及蛋白的表达

Fig. 2 Expression of *IL-29* and NDV at mRNA and protein level in A549 cells infected with rNDV IL-29

2.4 rNDV IL-29 感染后 A549 细胞迁移能力明显

下降

划痕 48 h 后显微镜下观察各组细胞由两侧向中央迁移的情况, 结果(图 4)显示, rNDV IL-29 组细胞迁移率明显低于 NDV 组和 PBS 组[$(5.0 \pm 4.0)\%$ vs $(32.43 \pm 3.71)\%$ 、 $(84.57 \pm 3.96)\%$, $t = 6.46, 24.66$; 均 $P < 0.05$], NDV 组细胞迁移率明显低于 PBS 组[$(32.43 \pm 3.71)\%$ vs $(84.57 \pm 3.96)\%$, $t = 25.02, P < 0.05$]。



A: Clonogenic activity of A549 cells;

B: Inhibitory ratio was quantified by Western blotting

图 3 rNDV IL-29 感染 A549 细胞后细胞的增殖变化
Fig. 3 The changes in proliferation of A549 cells infected by rNDV IL-29

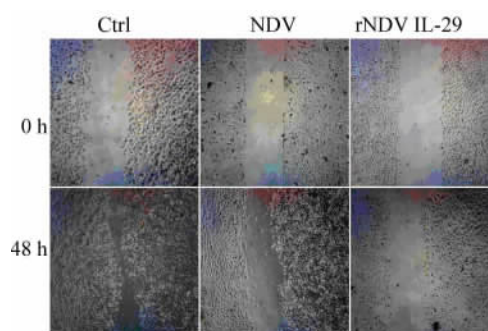


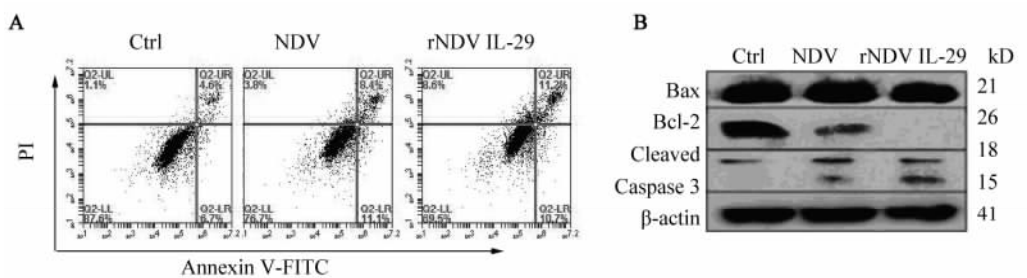
图 4 用不同病毒转染 A549 细胞后对细胞迁移能力的影响(划痕实验, $\times 40$)

Fig. 4 Effect of ability of migration of A549 cells treated with different virus(Scratch assay, $\times 40$)

2.5 rNDV IL-29 感染后 A549 细胞凋亡率明显增高流式细胞术检测结果(图 5A)显示, rNDV IL-29

组细胞凋亡率明显高于 NDV 组[(20.47 ± 1.27)% vs (18.20 ± 1.14)% , $t = 25.70, P < 0.05$]; NDV 组细胞凋亡细胞较对照组也明显增多[(18.20 ± 1.14)% vs (11.03 ± 1.72)% , $t = 6.04, P < 0.05$]。Western blotting 检测结果(图 5B)显示, rNDV IL-29 组凋亡相关蛋白 Caspase3 较 NDV 组及对照组明显

上调[(29.67 ± 1.53)% vs (18.33 ± 3.06)% 、 (29.67 ± 1.53)% vs 有 (7.00 ± 6.08)% , $t = 9.43, 8.50$; 均 $P < 0.05$], 而凋亡抑制蛋白 Bcl-2/bax 的表达显著下调[(12.00 ± 2.65)% vs (42.33 ± 5.86)% 、 (67.00 ± 6.25)% , $t = 8.17, 14.53$; 均 $P < 0.05$]。



A: Flow cytometry; B: Western blotting

图 5 感染 rNDV IL-29 和 NDV 后对 A549 细胞凋亡的影响

Fig. 5 Effect of apoptosis of A549 cells treated with rNDV IL-29 and NDV

3 讨论

IFN 具有多种生物活性,其中包括抗病毒、抗增殖和免疫调节等作用^[11]。有研究^[10]认为,重组 IFN- α 对各种恶性肿瘤具有治疗效果,但 I 型 IFN 副作用较多,不适用于临床,而 III 型 IFN 由于其受体选择性分布,对正常细胞毒性低,成为一种潜在的抗肿瘤制剂^[12]。IL-29 是 III 型 IFN 家族成员之一,具有抗肿瘤的特性^[13]。NDV 是一种鸡瘟溶瘤病毒,可以通过激活凋亡通路及内质网应激通路^[14]诱导肿瘤细胞凋亡。本课题组前期成功构建 rNDV IL-29,通过感染胃癌细胞 SGC,能引起 SGC 凋亡^[15]。因此,本实验组认为 rNDV IL-29 对肿瘤的治疗有很好的研究前景。

本研究首先通过免疫荧光、Western blotting 检测 IL-29、NDV 蛋白在肺腺癌 A549 细胞中的表达,发现其在 A549 细胞稳定表达。再次通过 PCR 检测 IL-29 的表达,结果也发现 rNDV IL-29 感染后 A549 细胞也表达 IL-29。目前,一些临床前研究已经证明了 IFN 在小鼠和人类具有抗肿瘤作用,如黑色素瘤、食管癌、神经内分泌肿瘤^[16]。本实验通过克隆形成实验发现, rNDV IL-29 感染后 A549 细胞集落能力显著降低,通过 MTT 实验发现 rNDV IL-29 组 A549 增殖抑制能力高于 NDV 组;通过划痕实验来探索 rNDV IL-29 与 A549 细胞迁移之间的关系,结果发现, rNDV IL-29 感染后 A549 细胞的迁移能力明显

被抑制,提示 rNDV IL-29 可抑制 A549 细胞的扩散;通过流式细胞术发现 rNDV IL-29 感染后 A549 细胞其凋亡率明显升高,说明 rNDV IL-29 很有可能有着促进凋亡的作用,导致 A549 细胞凋亡能力增强。Tsujiimoto 等^[17]提出 Bcl-2 基因首先是在人类滤泡性淋巴瘤 t 断裂点发现的癌基因,它是重要的细胞凋亡抑制基因,具有抑制细胞凋亡、延长细胞寿命的作用。天冬氨酸特异的半胱氨酸蛋白酶 3(Caspase3)是调控细胞凋亡的重要因子,一般以无活性前体形式存在,当细胞发生凋亡时被激活。Caspase3 是细胞凋亡的关键蛋白^[18]。细胞发生凋亡时 Bax/Bcl-2 和 Caspase3 表达水平升高^[19-21]。有研究^[5]表明, NDV D90 细胞株能通过 Caspase 途径引起 A549 细胞凋亡,并抑制 Bcl-2 的表达。本研究结果发现与 NDV、rNDV IL-29 感染后 A549 细胞凋亡相关蛋白 Caspase3 上调、Bcl-2/bax 下调,表明 rNDV IL-29 促进 A549 细胞凋亡。

总之,本研究通过 rNDV IL-29 感染 A549 细胞,发现 rNDV IL-29 具有抑制 A549 细胞增殖、迁移的作用,并且促进 A549 细胞的凋亡,提示 rNDV IL-29 在肿瘤治疗中可能具有重要作用,并有望成为抗癌治疗新制剂,但其具体作用机制及临床应用还有待进一步研究。

[参考文献]

[1] JEMAL A, BRAY F, CENTER M M, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90. DOI: 10.

- 3322/caac.20107.
- [2] SONG X, SHI K, ZHOU S J, et al. Clinicopathological significance and a potential drug target of RAR β in non-small-cell lung carcinoma: a meta-analysis and a systematic review[J/OL]. *Drug Des Devel Ther*, 2016, 10: 1345-1354[2016-11-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4827914/>. DOI: 10.2147/DDDT.S96766.
- [3] SZABO E, MAO J T, LAM S, et al. Chemoprevention of lung cancer: diagnosis and management of lung cancer: American College of Chest Physicians evidence- β clinical practice guidelines [JOL]. *Chest*, 2013, 143: e40S-e60S[2016-11-01]. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0012369213602883>. DOI: 10.1378/chest.12-2348.
- [4] YAN Y, JIA L, ZHANG J, et al. Effect of recombinant Newcastle disease virus transfection on lung adenocarcinoma A549 cells in vivo[J]. *Oncol Lett*, 2014, 8(6): 2569-2576. DOI:10.3892/ol.2014.2562.
- [5] CHAI Z, ZHANG P, FU F, et al. Oncolytic therapy of a recombinant Newcastle disease virus D90 strain for lung cancer[J/OL]. *Virol J*, 2014, 11: 84[2016-11-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4032357/>. DOI: 10.1186/1743-422X-11-84.
- [6] VIGIL A, PARK M S, MARTINEZ O, et al. Use of reverse genetics to enhance the oncolytic properties of Newcastle disease virus[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(17): 8285-8292. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-07-1025.
- [7] AHMAD U, AHMED I, KEONG Y Y, et al. Inhibitory and apoptosis-inducing effects of Newcastle disease virus strain AF2240 on mammary carcinoma cell line[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 127828[2016-11-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4363544/>. DOI: 10.1155/2015/127828.
- [8] ELANKUMARAN S, CHAVAN V, QIAO D, et al. Type I interferon-sensitive recombinant Newcastle disease virus for oncolytic virotherapy[J]. *J Virol*, 2010, 84(8): 3835-3844. DOI: 10.1128/JVI.01553-09.
- [9] LI Q, KAWAMURA K, OKAMOTO S, et al. Adenoviruses-mediated transduction of human oesophageal carcinoma cells with the interferon-I genes produced anti-tumour effects[J]. *Br J Cancer*, 2011, 105(9):1302-1312. DOI: 10.1038/bjc.2011.379.
- [10] TEZUKA Y, ENDO S, MATSUI A, et al. Potential anti-tumor effect of IFN- λ 2 (IL-28A) against human lung cancer cells[J]. *Lung Cancer*, 2012, 78(3): 185-1892. DOI: 10.1016/j.lungcan.2012.09.005.
- [11] LIN M, YU H P. Dexamethasone decreases IL-29 expression in house dust mite-stimulated human bronchial epithelial cells[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2015, 35(6): 823-827. DOI: 10.1007/s11596-015-1513-3.
- [12] VAN BOXEL-DEZAIRES A H, RANI M R, STARK G R. Complex modulation of cell type-specific signaling in response to type I interferons[J]. *Immunity*, 2006, 25(3): 361-372. DOI:10.1016/j.immuni.2006.08.014.
- [13] GUENTERBERG K D, GRIGNOL V P, RAIG E T, et al. Interleukin-29 binds to melanoma cells inducing Jak-STAT signal transduction and apoptosis[J]. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9(2): 510-520. DOI:10.1158/1535-7163.MCT-09-0461.
- [14] ZAMARIN D, PALESE P. Oncolytic Newcastle disease virus for cancer therapy: old challenges and new directions[J]. *Future Microbiol*, 2012, 7(3): 347-367. DOI: 10.2217/fmb.12.4.
- [15] BU X, LI M, ZHAO Y, et al. Genetically engineered Newcastle disease virus expressing human interferon- λ 1 induces apoptosis in gastric adenocarcinoma cells and modulates the Th1/Th2 immune response[J]. *Oncol Rep*, 2016, 36(3): 1393-1402. DOI: 10.3892/or.2016.4925.
- [16] SATO A, OHTSUKI M, HATA M, et al. Antitumor activity of IFN- λ in murine tumor models[J]. *J Immunol*, 2006, 176(12): 7686-7694. DOI: 10.4049/jimmunol.176.12.7686.
- [17] TSUJIMOTO Y, COSSMAN J, JAFFE E, et al. Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma[J]. *Science*, 1985, 228(4706): 1440-1443. DOI: 10.1126/science.3874430.
- [18] CHEN Z Z. Berberine induced apoptosis of human osteosarcoma cells by inhibiting phosphoinositide 3 kinase/protein kinase B (PI3K/Akt) signal pathway activation[J/OL]. *Iran J Public Health*, 2016, 45(5): 578-585[2016-11-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4935701/>.
- [19] ZHANG J, XIA Y, XU Z, et al. Propofol suppressed hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis in HBVSMC by regulation of the expression of Bcl-2, Bax, Caspase3, Kir6.1, and p-JNK[J/OL]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 1518738[2016-11-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4736333/>. DOI: 10.1155/2016/1518738.
- [20] LI C, JACKSON R M. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2002, 282(2): C227-C241. DOI: 10.1152/ajpcell.00112.2001.
- [21] MCCORD J M. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury[J]. *N Engl J Med*, 1985, 312(3): 159-163. DOI:10.1056/NEJM198501173120305.

[收稿日期] 2016 - 12 - 01 [修回日期] 2017 - 02 - 27

[本文编辑] 党瑞山

《中国肿瘤生物治疗杂志》欢迎投稿、欢迎订阅