

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.01.009

· 基础研究(专题) ·

PTD-CHMP1A 融合蛋白抑制肾细胞癌细胞的恶性生物学行为

由振强¹, 李丽丽², 张升¹, 谢锋¹, 杨林², 郑高利¹, 辛艳飞¹(1. 浙江省医学科学院 安全性评价研究中心, 浙江 杭州 310013; 2. 浙江工业大学 长三角绿色制药协同创新中心, 浙江 杭州 310014)

[摘要] **目的:** 探讨蛋白转导域(protein transduction domain, PTD)-染色质修饰蛋白 1A(chromatin modifying protein 1A, CHMP1A)融合蛋白对肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)细胞增殖、迁移、侵袭及体内移植瘤生长的影响。**方法:** 分别用 1、5、20 $\mu\text{g/ml}$ 的 PTD-CHMP1A (PTD-CHMP1A 组)、5 $\mu\text{g/ml}$ 的野生型 CHMP1A (CHMP1A 组) 和 PBS (PBS 组) 处理 RCC 细胞株 A498 和 786-0。用 MTT 法检测 PTD-CHMP1A 对 A498 细胞增殖能力的影响, 划痕愈合实验检测 PTD-CHMP1A 对 A498 细胞迁移能力的影响, 用 Transwell 侵袭实验检测 PTD-CHMP1A 对 A498 和 786-0 细胞的侵袭能力的影响。将 5×10^5 个/ml 的 A498 细胞注射于裸鼠体内, 构建 RCC 移植瘤模型, 观察 20 μg 的 PTD-CHMP1A 对移植瘤生长的影响。**结果:** 与 CHMP1A 和 PBS 组比较, 1、5 和 20 $\mu\text{g/ml}$ 的 PTD-CHMP1A 对 A498 细胞的增殖均出现不同程度的抑制作用, 且呈明显的剂量和时间相关性; 5 $\mu\text{g/ml}$ 的 PTD-CHMP1A 可有效抑制 A498 细胞的迁移 ($P < 0.01$)、A498 和 786-0 细胞的侵袭能力 (均 $P < 0.05$), 且抑制 A498 细胞的侵袭能力呈剂量相关性。PTD-CHMP1A 在体内可有效抑制裸鼠体内移植瘤的生长。**结论:** PTD-CHMP1A 融合蛋白可以有效抑制 RCC 细胞的增殖、迁移、侵袭能力和体内移植瘤的生长。

[关键词] 肾细胞癌; 染色质修饰蛋白 1A; 蛋白转导域; 侵袭; 迁移; 移植瘤模型

[中图分类号] R737.11; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)01-0051-05

Recombinant protein PTD-CHMP1A inhibits malignant biological behavior of renal cell carcinoma cells

YOU Zhenqiang¹, LI Lili², ZHANG Sheng¹, XIE Feng¹, YANG Lin², ZHENG Gaoli¹, XIN Yanfei¹ (1. Center of Safety Evaluation, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, Zhejiang, China; 2. Collaborative Innovation Center of Yangtze River Delta Region Green Pharmaceuticals, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, Zhejiang, China)

[Abstract] **Objective:** To study the influence of PTD-CHMP1A (protein transduction domain-chromatin modifying protein 1A) fusion proteins on proliferation, migration and invasion of renal cell carcinoma (RCC) cells *in vitro* and the growth of transplanted tumor *in vivo*. **Methods:** RCC A498 and 786-0 cells were treated with PTD-CHMP1A (1, 5, and 20 $\mu\text{g/ml}$), CHMP1A (5 $\mu\text{g/ml}$) and PBS respectively. The effect of PTD-CHMP1A on the proliferation of A498 cells was detected by MTT assay. The effect of PTD-CHMP1A on the migration of A498 cells was detected by scratch assay. The effect of PTD-CHMP1A on the invasion ability of A498 and 786-0 cells was detected by Transwell invasion assay. Finally, the transplanted tumor models were constructed by injecting 5×10^5 A498 cells into nude mice, and the effect of 20 μg PTD-CHMP1A on tumor growth was observed. **Results:** Compared with CHMP1A and PBS groups, PTD-CHMP1A fusion proteins (1, 5, and 20 $\mu\text{g/ml}$) showed a significantly restrained effect on the proliferation of A498 tumor cells, which was in dose-dependent and time-dependent manners. 5 $\mu\text{g/ml}$ of PTD-CHMP1A fusion proteins could effectively inhibit the migration of A498 cells ($P < 0.01$ compared with CHMP1A group), and the invasion of A498 and 786-0 cells (compared with Chmp1A group, $P < 0.05$), besides, PTD-CHMP1A inhibited the invasion of A498 cells in a dose-dependent manner. Furthermore, PTD-CHMP1A could also observably inhibit tumor growth *in vivo*. **Conclusion:** PTD-CHMP1A fusion proteins effectively inhibited the proliferation, migration and invasion of RCC cells and the growth of transplanted tumor.

[基金项目] 浙江省自然科学基金资助项目 (No. LQY18H160001, No. LY13H160031)。Project supported by the Natural Sciences Foundation of Zhejiang (No. LQY18H160001, No. LY13H160031)

[作者简介] 由振强 (1979-), 男, 硕士, 副研究员, 主要从事肿瘤药物开发和药物毒理的研究, E-mail: youzq1979@163.com

[通信作者] 辛艳飞 (XIN Yanfei, corresponding author), 博士, 研究员, 硕士生导师, 主要从事药理和毒理学研究, E-mail: xinyf1976@163.com

[Key words] chromatin modification protein 1A (CHMP1A); renal cell carcinoma (RCC); protein transduction domain (PTD); invasion; migration; transplanted tumor model

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(1): 51-55. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.01.009]

染色质修饰蛋白1A (chromatin modifying protein 1A, CHMP1A)属于内涵体分选复合物-III复合物家族成员,其在囊泡的形成过程中起着关键作用,且与早期和晚期内体膜结构具有直接相关性^[1]。有研究^[2-3]表明,CHMP1A可能与内涵体分选复合物(endosomal sorting complexes required for transport, ESCRT)的其他成员一样,在肿瘤形成过程中起重要作用。反式转录激活因子(trans-activator of transcription, TAT)的47~57位氨基酸是一富含碱性氨基酸的多肽片段(与蛋白转导相关),被称为蛋白转导域(protein transduction domain, PTD)^[4]。有研究^[5-8]证实,TAT穿膜功能的关键序列具备有强大的穿膜活性,可以将与之连接的基因、多肽或蛋白质高效快速地导入到细胞内,而被导入细胞的正常结构和功能均不受其影响。本研究通过体内外实验观察PTD-CHMP1A对肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)细胞增殖、迁移、侵袭及体内移植瘤生长的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞、实验动物及主要试剂

RCC细胞株A498和786-0由浙江省医学科学院安全性评价研究中心冻存。雄性BALB/c裸鼠购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司(实验动物合格证号:2012000227926),动物实验在通过了国际AAALAC认证的GLP中心进行,实验方案通过了本中心伦理委员会的审查,伦理委员会对整个实验周期进行监督。PTD-CHMP1A和CHMP1A经毕赤酵母系统表达纯化后保存于-80℃冰箱中。RPMI 1640购自吉诺生物医药技术有限公司,小牛血清购自浙江天杭生物科技有限公司,MTT购自Sigma公司,Transwell小室购自Corning公司。

1.2 细胞培养

RCC A498和786-0细胞在含青霉素(100 U/ml)、链霉素(100 μg/ml)及10%胎牛血清的RPMI 1640培养基中,37℃、5% CO₂条件下培养,每隔48 h进行传代。

1.3 MTT法检测RCC A498细胞的增殖能力

取对数生长期的RCC A498细胞,以 5×10^3 个/孔的细胞密度接种于96孔培养板,在37℃、5%CO₂条件下培养,24 h后分成5组,分别加入终浓度为1、5和20 μg/ml的PTD-CHMP1A、5 μg/ml的野生型CHMP1A和PBS(PBS组),每组做5个重复。24、48、72 h后分别加入10 μl(5 mg/ml)MTT,继续培养4 h后弃去培养液,加入150

μl DMSO,15 min后酶标仪上测各孔的波长在490 nm处的光密度(D)值。比较各组的D值,间接反映细胞的增殖能力。

1.4 划痕实验检测RCC A498细胞的迁移能力

取对数生长期的肾癌细胞A498,以 2×10^5 个/孔的细胞浓度接种于6孔培养板,37℃、5% CO₂条件下培养。A498细胞生长到融合度达到95%时用200 μl移液枪枪头在单层细胞上成“一”字划痕,洗涤3次后加入5 ml/孔不含小牛血清的RPMI 1640培养基,并分别加入终浓度为5 μg/ml PTD-CHMP1A和5 μg/ml野生型CHMP1A,观察加药后0、72 h的细胞的迁移情况,并根据文献^[9]提供的方法计算迁移率[划痕愈合率(%)=(0 h的划痕面积 - 药物作用72 h后的划痕面积)/划痕后即刻的划痕面积×100%]。实验重复3次。

1.5 Transwell实验检测A498和786-0细胞的侵袭能力

于60 mm的培养皿中分别接种 2×10^5 个A498和786-0细胞,24 h后分别加入5 μg/ml的PTD-CHMP1A和野生型CHMP1A,37℃、5% CO₂条件下继续培养48 h,弃上清,消化细胞,重悬于无血清的RPMI 1640培养基中,调整细胞密度为 5×10^5 个/ml。取200 μl细胞悬液加入到Transwell上室,将含5%胎牛血清的RPMI 1640加入小室下室,37℃培养24 h后移去Transwells,倒置、风干。24孔板中加入500 μl 0.1%结晶紫37℃、30 min后取出,PBS清洗多余结晶紫,24孔板中加入500 μl 33%醋酸,浸膜,振荡10 min,充分溶解。取出小室,于酶标仪上测波长在595 nm处的D值,以反映发生侵袭的细胞数。实验重复3次。

1.6 裸鼠RCC体内移植瘤模型的建立及观察

取对数生长期的A498细胞,经胰蛋白酶消化后用无血清的RPMI1640培养基洗涤2次,33只雄性BALB/c裸鼠前肢腋下接种A498细胞,每只接种细胞数量为 2×10^5 个细胞。接种2周后,选取肿瘤大小均匀的24只裸鼠,按随机表法将裸鼠分成PTD-CHMP1A组、CHMP1A组和PBS组(每组8只),对各组裸鼠肿瘤分别多点注射200 μl 20 μg PTD-CHMP1A和20 μg野生型CHMP1A和PBS,每周给药1次,并在接种后第2、3、4、5周分别测量移植瘤的体积,并在第5周用0.5%的戊巴比妥钠麻醉后解剖取出肿瘤进行称质量。

1.7 统计学处理

用Graphpad Prism 4.0软件处理数据,计量数据 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用t检验方法。以 $P < 0.05$ 或 $P <$

0.01表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PTD-CHMP1A明显抑制RCC细胞的增殖能力

MTT法检测结果(表1)显示,与野生型CHMP1A和PBS组相比,1、5和20 μg/ml的PTD-CHMP1A对A498细胞的增殖均出现不同程度的抑制作用,且呈明显的剂量和时间相关性。其中20 μg/ml PTD-CHMP1A作用24、48和72 h差异显著($t=5.132, 9.158, 6.231$; 均 $P<0.05$); 5 μg/ml PTD-CHMP1A作用48和72 h差异显著($t=4.719, 8.572$; 均 $P<0.05$); 1 μg/ml PTD-CHMP1A作用72 h差异显著($t=3.096, P<0.05$)。与PBS组比较,5 μg/ml野生型CHMP1A作用于A498细胞后未出现明显的肿瘤细胞抑制作用($t=0.326, P>0.05$)。

表1 PTD-CHMP1A对肿瘤细胞A498增殖的影响(D_{570})

Tab. 1 Effect of PTD-CHMP1A on A498 cell proliferation(D_{570})

Group [$\rho_0/(\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1})$]	Time(t/h)		
	24	48	72
PBS	0.64±0.06	0.83±0.07	0.97±0.08
CHMP1A 5	0.59±0.05	0.84±0.08	0.93±0.05
PTD-CHMP1A			
1	0.58±0.08	0.70±0.07	0.78±0.07*
5	0.51±0.06	0.59±0.08*	0.61±0.11*
20	0.42±0.06*	0.35±0.08*	0.60±0.07*

* $P<0.05$ vs PBS or 5 μg/ml CHMP1A group

2.2 PTD-CHMP1A抑制RCC细胞的迁移能力

划痕实验结果(图1)显示,同时加入5 μg/ml的PTD-CHMP1A和CHMP1A处理A498细胞后,PTD-CHMP1A组细胞迁移率明显低于CHMP1A组[(45.2±7.54)% vs (64.3±12.2)% , $t=8.640, P<0.01$]。结果说明PTD-CHMP1A可以明显抑制RCC细胞的迁移。

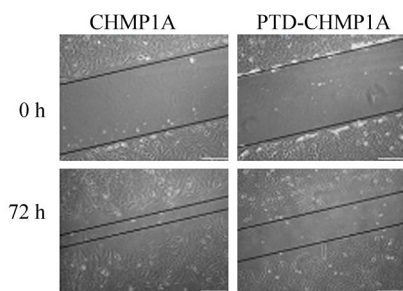
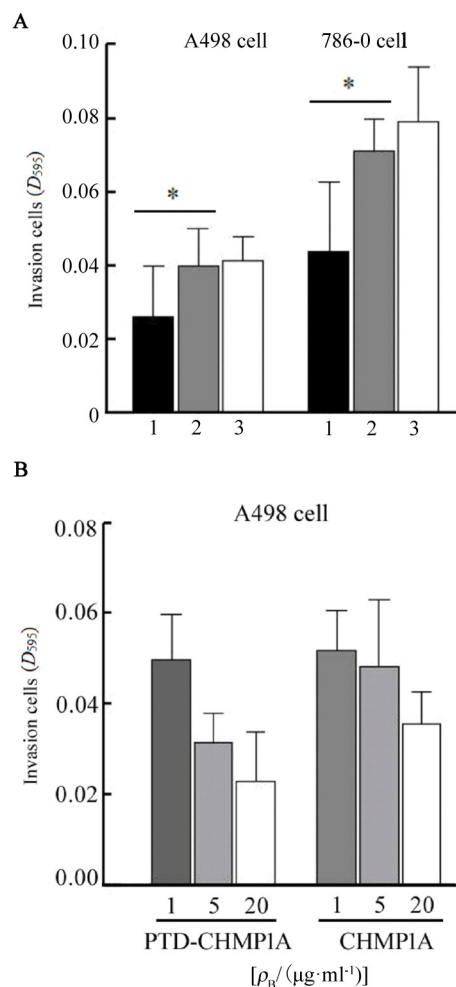


图1 PTD-CHMP1A对肿瘤细胞的迁移的影响($\times 100$)

Fig. 1 Effect of PTD-CHMP1A on A498 cell migration($\times 100$)

2.3 PTD-CHMP1A抑制RCC细胞的侵袭能力

Transwell侵袭实验结果(图2)显示,5 μg/ml的PTD-CHMP1A作用于A498和786-0细胞后,细胞的侵袭能力显著低于CHMP1A组($t=5.239, 6.454$; 均 $P<0.05$),且其抑制侵袭能力呈剂量相关性;野生型CHMP1A对A498细胞的侵袭能力影响较小($t=1.142, P>0.05$;图2B)。



* $P<0.05$ vs 5 μg/ml CHMP1A group

A: Effect of PTD-CHMP1A on the invasion ability of A498 and 786-0 cells. 1:PTD-CHMP1A 5 μg/ml; 2:CHMP1A 5 μg/ml; 3: PBS; B: Different dose of PTD-CHMP1A on the invasion ability of A498 cells

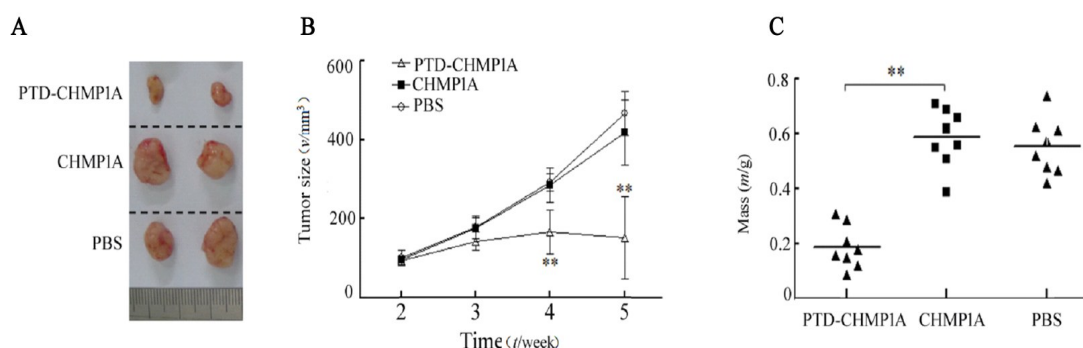
图2 PTD-CHMP1A对A498 and 786-0细胞侵袭能力的影响
Fig. 2 Effect of PTD-CHMP1A on invasive ability of A498 and 786-0 cells

2.4 PTD-CHMP1A抑制裸鼠体内移植瘤的生长

裸鼠荷瘤实验结果(图3)显示,注射PTD-CHMP1A后,第4、5周时与野生型CHMP1A比较,PTD-CHMP1A组动物的肿瘤体积增长速度明显下降($t=8.473, 12.176$; 均 $P<0.01$;图3A),且在接种后第5

周, 肿瘤的质量也明显下降($t=10.588, P<0.01$; 图3B); 与PBS组比较, 野生型CHMP1A对肿瘤的体积

和质量未见显著影响($t=2.481, P>0.05$; 图3C)。



** $P<0.01$ vs CHMP1A or PBS group

A: Effect of PTD-CHMP1A on tumor growth from general view; B: Effect of PTD-CHMP1A on gross tumor volume;

C: Effect of PTD-CHMP1A on tumor weight

图3 PTD-CHMP1A对裸鼠移植瘤肿瘤生长的影响

Fig. 3 Effect of PTD-CHMP1A on tumor growth

3 讨论

前期对CHMP1A的功能性研究提示, CHMP1A可能与ESCRT复合物的其他成员一样, 在肿瘤形成过程中起重要作用。Li等^[10]首次提出CHMP1A是一个新颖的肿瘤抑制基因, 在多种癌症患者(特别是胰腺癌)肿瘤组织中CHMP1A的mRNA和蛋白水平表达均明显降低; 敲除CHMP1A的HEK293T细胞, 体外培养表现为克隆性生长, 体内接种后可以促使肿瘤的形成; 同样, 诱导CHMP1A超表达的胰腺癌细胞PANC-1, 体外试验表现为生长抑制, 体内接种后可以抑制肿瘤的形成。Li等^[11]进一步研究发现, 全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)抑制胰腺癌也是通过CHMP1A途径。本研究团队首次对CHMP1A在RCC的功能进行了一系列研究, 证实CHMP1A是一个新颖的肿瘤抑制基因, 并在RCC的发生发展中发挥着重要作用^[12]。

PTD可以将融合蛋白导入真核细胞中。有研究^[13-17]表明, PTD已成功将数十种相对分子质量为15 000~120 000的融合蛋白导入细胞内, 且相当于原来可通过细胞膜化合物的200倍。操作中只需将与PTD融合分子直接加入到组织培养介质中, 15 min内细胞内便可达到最大浓度, 且每个细胞内的蛋白质浓度几乎相同。PTD在治疗肿瘤性疾病已经有深入研究。Muthumani等^[18]报道了PTD能穿膜转运抗原蛋白并增强抗原免疫性以抑制病毒复制及肿瘤的生长。Tasciotti等^[19]将单纯疱疹病毒1型胸苷激酶(herpes simplex virus type 1 thymidine kinase, TK)与TAT融合并导入细胞, 结果导致邻近不表达该酶的细

胞死亡。Guelen等^[20]构建了一种新的融合蛋白TAT-Apoptin, 与细胞共培养24 h后, TAT-Apoptin能诱导大部分的肿瘤细胞凋亡, 而对正常细胞无杀伤性。Liu等^[21]证实PTD4-Apoptin蛋白作用于宫颈癌细胞后定位在细胞核中, 且可以有效诱导肿瘤细胞的凋亡和抑制肿瘤的生长。Abe等^[22]研究发现, PTD可以将gp70蛋白转运到细胞质中, 并诱导DNA损伤细胞的凋亡。

基于CHMP1A的抗肿瘤活性和PTD的穿膜转运特性, 课题组利用毕赤酵母表达系统表达并纯化了PTD-CHMP1A融合蛋白, 并通过体内外实验验证PTD-CHMP1A的抗肿瘤活性。结果显示, PTD-CHMP1A在体外可以有效地抑制肿瘤细胞的增殖, 且对细胞增殖的抑制作用有明显的剂量关系。在作用72 h时, 5 $\mu\text{g/ml}$ 和20 $\mu\text{g/ml}$ 剂量对A498细胞增殖的抑制作用无明显差异, 故在细胞迁移和侵袭实验中选用5 $\mu\text{g/ml}$ 剂量进行研究。PTD-CHMP1A在体外可以有效地抑制肿瘤细胞的迁移和侵袭能力, 在体内可以抑制肿瘤的生长, 说明PTD-CHMP1A可以有效地导入肿瘤细胞, 并发挥CHMP1A的抗肿瘤活性。同时野生型CHMP1A蛋白不能影响肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭和肿瘤的生长, 说明CHMP1A必须转入到细胞中才能起到抑制肿瘤的作用。本课题组前期的研究^[12]也证实CHMP1A的真核表达载体在脂质体的介导下可以有效地抑制肿瘤, 但CHMP1A抑制肿瘤的效果并不明显。PTD-CHMP1A融合蛋白抑制肿瘤的特性为RCC的治疗提供了新的途径和思路, 在今后课题组将用PTD-CHMP1A进行CHMP1A的抗肿瘤机制和信号通路的深入研究。

[参考文献]

- [1] HOWARD T L, STAUFFER D R, DEGNIN C R, et al. CHMP1 functions as a member of a newly defined family of vesicle trafficking proteins[J]. *J Cell Sci*, 2001, 114(13): 2395-2404.
- [2] KATZMANN D J, STEFAN C J, BABST M, et al. Vps27 recruits ESCRT machinery to endosomes during MVB sorting[J]. *J Cell Biol*, 2003, 162(3): 413-423. DOI: 10.1083/jcb.200302136.
- [3] STAUFFER D R, HOWARD T L, NYUN T. CHMP1 is a novel nuclear matrix protein affecting chromatin structure and cell-cycle progression[J]. *J Cell Sci*, 2001, 114(Pt 13): 2383-2393.
- [4] VIVES E, BRODIN P, LEBLEU B. A truncated HIV-1 Tat protein basic domain rapidly translocates through the plasma membrane and accumulates in the cell nucleus[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(25): 16010-16017. DOI: 10.1074/jbc.272.25.16010.
- [5] NAGAHARA H, VOCERO-AKBANI A M, SNYDER E L, et al. Transduction of full-length TAT fusion proteins into mammalian cells: TAT-p27Kip1 induces cell migration[J]. *Nat Med*, 1998, 4(12): 1449-1452. DOI: 10.1038/4042.
- [6] VOCERO-AKBANI A, LISSY N A, DOWDY S F. Transduction of full-length Tat fusion proteins directly into mammalian cells: analysis of T cell receptor activation-induced cell death[J/OL]. *Methods Enzymol*, 2000, 322: 508-521[2017-11-26]. <http://www.sciencedirect.com/science/bookseries/00766879>. DOI: 10.1016/S0076-6879(00)22046-6.
- [7] LI L, GUO Y, LI Z, et al. Protein transduction domain can enhance the humoral immunity and cross-protection of HPV16L2 peptide vaccines[J]. *Biomed Rep*, 2016, 4(6): 746-750. DOI: 10.3892/br.2016.647.
- [8] ZHOU Z, LI Y, YUAN C, et al. Oral administration of TAT-PTD-dia-pause hormone fusion protein interferes with *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) development[J]. *J Insect Sci*, 2015, 15(1): 123. DOI: 10.1093/jisesa/iev102.
- [9] 尹航, 陶勇, 欧云生, 等. MPPa-PDT 抑制骨肉瘤 MG-63 细胞侵袭和迁移[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(3): 242-246. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.03.005.
- [10] LI J, BELOGORTSEVA N, PORTER D, et al. Chmp1A functions as a novel tumor suppressor gene in human embryonic kidney and ductal pancreatic tumor cells[J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(18): 2886-2893. DOI: 10.4161/cc.7.18.6677.
- [11] LI J, ORR B, WHITE K, et al. Chmp 1A is a mediator of the anti-proliferative effects of all-trans retinoic acid in human pancreatic cancer cells[J/OL]. *Mol Cancer*, 2009, 8: 7[2017-11-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3152783/>. DOI: 10.1186/1476-4598-8-7.
- [12] YOU Z, XIN Y, LIU Y, et al. Chmp1A acts as a tumor suppressor gene that inhibits proliferation of renal cell carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2012, 319(2): 190-196. DOI: 10.1016/j.canlet.2012.01.010
- [13] KIM H J, KIM M H, KIM J T, et al. Intracellular transduction of TAT-Hsp27 fusion protein enhancing cell survival and regeneration capacity of cardiac stem cells in acute myocardial infarction[J/OL]. *J Control Release*, 2015, 215: 55-72[2017-11-26]. <http://sciencedirect.com/science/journal/01683659>. DOI: 10.1016/j.jconrel.2015.07.026.
- [14] CHOI S, OH J H, KIM H, et al. Protective effect of Tat PTD-Hsp27 fusion protein on Tau hyperphosphorylation induced by okadaic acid in the human neuroblastoma cell line SH-SY5Y[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2015, 35(7): 1049-1059. DOI: 10.1007/s10571-015-0199-1.
- [15] LIU P, XUE J, GU Q, et al. HIV-TAT mediated protein transduction of heme oxygenase-1 protects HaCaT cells from ionizing radiation[J]. *Saudi Med J*, 2014, 35(3): 234-241.
- [16] 徐三荣, 李伟, 周庆, 等. PTD-mFoxp3 融合蛋白对异基因骨髓移植后移植物抗宿主病的影响[J]. *中国实验血液学杂志*, 2013, 21(6): 1541-1545. DOI: 10.7534/j.issn.1009-2137.2013.06.033.
- [17] 黄峥兰, 季茂胜, 袁颖, 等. PTD-OD-HA 融合蛋白对 bcr/abl 阳性细胞凋亡的影响[J]. *肿瘤*, 2010, 30(4): 267-271. DOI: 10.3781/j.issn.1000-7431.2010.04.001.
- [18] MUTHUMANI K, LAMBERT V M, SHANMUGAM M, et al. Anti-tumor activity mediated by protein and peptide transduction of HIV viral protein R (Vpr)[J]. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8(2): 180-187. DOI: 10.1016/S0009-2614(98)00407-2.
- [19] TASCIOTTI E, GIACCA M. Fusion of the human immunodeficiency virus type 1 tat protein transduction domain to thymidine kinase increases bystander effect and induces enhanced tumor killing in vivo[J]. *Hum Gene Ther*, 2005, 16(12): 1389-1403. DOI: 10.1089/hum.2005.16.1389.
- [20] GUELEN L, PATERSON H, GAKEN J, et al. TAT-apoptin is efficiently delivered and induces apoptosis in cancer cells[J]. *Oncogene*, 2004, 23(5): 1153-1165. DOI: 10.1108/09556220110396551.
- [21] LIU X W, YUAN P, TIAN J, et al. PTD4-apoptin induces Bcl-2-insensitive apoptosis in human cervical carcinoma in vitro and in vivo[J]. *Anticancer Drugs*, 2016, 27(10): 979-987. DOI: 10.1097/CAD.0000000000000415.
- [22] ABE S, YAMAMOTO K, KURATA M, et al. Targeting MCM2 function as a novel strategy for the treatment of highly malignant breast tumors[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(33): 34892-34909. DOI: 10.18632/oncotarget.5408.

[收稿日期] 2017-11-28

[修回日期] 2017-12-25

[本文编辑] 党瑞山

欢迎访问《中国肿瘤生物治疗杂志》网站 www.biother.org