

文章编号:1005-6947(2006)11-0849-06

· 基础研究 ·

# 腺病毒介导 MDA-7/IL-24 选择性杀伤肝癌细胞 HepG2 的研究

王从俊, 薛新波, 易继林, 陈堃, 郑建伟, 曾建平, 许荣华, 王炜煜, 吴在德

(华中科技大学同济医学院附属同济医院 胆胰外科中心, 湖北 武汉 430030)

**摘要:**目的 观察 MDA-7/IL-24 基因对肝癌的选择性杀伤作用, 为肝癌的基因治疗提供理论基础。方法 将携带人 MDA-7/IL-24 基因的腺病毒 Ad. mda-7 感染人正常肝细胞 L02 和肝癌细胞 HepG2; 用 RT-PCR 法观察 MDA-7/IL-24 基因的表达; ELISA 方法检测细胞培养上清液中 MDA-7/IL-24 蛋白的浓度; 4 甲基偶氮唑蓝染色法 (MTT) 及 Hoechst 染色观察 MDA-7/IL-24 对肝癌细胞的生长抑制和杀伤作用; Annexin-V 和 PI 双染后流式细胞仪检测 2 种细胞的凋亡; 用流式细胞仪检测细胞周期。结果 复制缺陷型腺病毒能介导外源基因 MDA-7/IL-24 在肝癌细胞株 HepG<sub>2</sub> 和正常细胞 L02 中的高效表达; 细胞培养上清液中有 MDA-7/IL-24 蛋白的表达; MDA-7/IL-24 能明显抑制肝癌细胞生长并可促进肝癌细胞的凋亡; MDA-7/IL-24 阻滞肝癌细胞于 G<sub>2</sub>/M 期, 能选择性杀伤肝癌细胞而对正常的肝细胞无阻滞作用和毒性作用。结论 复制缺陷型重组腺病毒载体 Ad. mda-7 能介导 MDA-7/IL-24 基因在人肝癌细胞中高效表达, 促使细胞增殖阻滞及诱导肿瘤细胞凋亡, 选择性地杀伤肝癌细胞 HepG<sub>2</sub>, 而对正常肝细胞 L02 无任何毒性作用。

**关键词:** 肝肿瘤, 实验性/治疗; 基因疗法; 肝癌细胞 HepG<sub>2</sub>; 基因 MDA-7/IL-24

**中图分类号:** R735.7; R730.261

**文献标识码:** A

## Adenovirus mediated MDA-7/IL-24 gene transfer selectively kills hepatocellular carcinoma lines HepG2

WANG Cong-jun, XU Xin-bo, YI Ji-lin, CHEN Kun, ZHEN Jian-wei, ZENG Jian-ping, XU Rong-hua, WANG Wei-yu, WU Zai-de

(Department of Biliary and Pancreatic Surgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the selective killing effect of MDA/IL-24 on human hepatocellular carcinoma line HepG2 in vitro and provide a theoretical basis for gene therapy of hepatocellular carcinoma. **Methods** The MDA-7/IL-24 gene was transfected into human hepatocellular carcinoma cell line HepG2 and normal liver cell line L02 with a replication-incompetent adenovirus vector. The mRNA and protein expression of MDA7/IL-24 in HepG2 and L02 cells was examined by RT-PCR and ELISA assay respectively. MTT assay and flow cytometry were used to study tumor cell proliferation and cell cycle in vitro. Hoechst and Annexin-V and PI staining were studied to indicate the apoptosis. **Results** RT-PCR confirmed that the exogenous MDA-7/IL-24 gene was expressed in HepG2 and L02 cells. The protein product was confirmed by assay of the supernatant with ELISA. MTT and apoptosis test indicated MDA-7/IL-24 induced growth suppression and cell apoptosis of the HepG2 cell in vitro but not in cell line L02, and cell cycle test revealed MDA-7/IL-24 could block HepG2 cell in G<sub>2</sub>/M but not in L02. **Conclusions** MDA-7/IL-24 selectively induces growth suppression and apoptosis in lines HepG2 in vitro but not in L02 cell, which indicates that adenovirus mediated MDA-7/IL-24 can be an excellent tool for gene therapy in hepatocellular carcinoma.

**基金项目:**湖北省科委重点科技攻关项目(2006AA304B05)。

**收稿日期:**2005-09-21; **修订日期:**2005-12-05。

**作者简介:**王从俊,男,湖北洪湖人,华中科技大学同济医学院附属同济医院主治医师,主要从事肿瘤的基因治疗方面的研究。

**通讯作者:**薛新波 E-mail: xuexinbo@163.com。

**Key words:** Liver Neoplasms, Experimental/ther; Gene therapy; Hepatocellular Carcinoma HepG2; Gene, MDA-7/IL-

24

**CLC number:** R735.7; R730.261

**Document code:** A

原发性肝细胞癌(HCC)是最常见致死性恶性肿瘤之一<sup>[1]</sup>,全世界每年约有125万新发病例,其中大约50%集中在我国。目前肝癌临床治疗包括外科手术切除和肝移植,但是仅有部分患者能得到这些治疗,而且术后复发率很高。肝癌的基因治疗包括抑癌基因的转基因治疗,如p53和Rb、反义核酸技术、以自杀基因HSV-TK为代表的药物基因治疗及肿瘤疫苗等。然而目前的基因治疗大多在杀伤肿瘤细胞的同时也杀伤正常细胞,不具肿瘤特异性,故而限制了其临床应用。因此,探寻既可选择性杀伤肿瘤细胞又对正常细胞无影响的治疗方案已成为癌症治疗的研究热点<sup>[2]</sup>。MDA-7/IL-24(melanoma differentiation associated gene-7)是Fisher教授利用亚减法技术从黑色素瘤细胞中经人IFN- $\beta$ 和MEZ(mezerin, PKC激活剂)诱生而得<sup>[3]</sup>,因此得名MDA-7,后来根据其生物学特性和染色体定位被命名为IL-24<sup>[2]</sup>。研究发现该基因对肿瘤具有选择性杀伤作用,即能选择性杀伤肿瘤细胞而对正常细胞无毒副作用。笔者构建了携带人MDA-7/IL-24基因的复制缺陷型腺病毒,并将其转染人肝癌细胞株HepG2和正常肝细胞L02,以观察该细胞因子在细胞中的表达和肝癌细胞的生长抑制及杀伤作用。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

非复制性腺病毒和细胞Ad.mda-7(adenovirus vector expressing MDA-7/IL-24)和Ad.vec(空质粒病毒)由本实验室利用细胞内同源重组的方法构建(资料待发表)。人胚肾细胞株(HEK293)来源于同济医院儿科肾病研究室。人肝癌细胞株HepG2和正常肝细胞株L02购于武汉生物典藏中心。引物:设计MDA-7/IL-24上、下游引物分别为5'GGGCTGTGAAAGACTAT3', 5'GCATCCAGGTCAGAAGAA3',设计Actin上下游引物为5'CCTCCTGGCAATGGAGTCT3', 5'GGAACAATGATCTTGATCT3'。引物由Invitrogen公司合成。试剂:DMEM培养基及胎牛血清均为美国Hyclone公司产品;青霉素、链霉素及琼脂为Sigma公司产品。Trizol RNA提取试剂盒为TRI REAGENT公司(USA)产品;逆转录-多聚酶链

反应(RT-PCR)试剂盒为立陶宛MBI公司产品;酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒为美国RapidBio公司产品,抗体为美国Biotin公司产品;细胞增殖试剂盒(MTT)购自德国Roche公司;Hoechst33258试剂为Sigma公司产品;Annexin-V-PI试剂盒为晶美公司产品。

### 1.2 方 法

1.2.1 细胞培养 人肝癌细胞株HepG2和正常肝细胞株L02,用高糖DMEM培养基(含10%小牛血清,青霉素100U/mL,链霉素100U/mL)在有一定湿度,5%CO<sub>2</sub>的37℃培养箱中培养。

1.2.2 RT-PCR检测RNA的表达 取对数生长期的上述2种细胞,分成3组,即对照组(无血清DMEM),Ad.vec组和Ad.mda-7组,将纯化的腺病毒按1000vp/细胞(virus particle/cell)感染上述细胞。感染48h后,按Trizol试剂盒说明提取各细胞总RNA,并以其为模板进行半定量RT-PCR循环。上游引物为5'GGGCTGTGAAAGACTAT3';下游引物为5'GCATCCAGGTCAGAAGAA3',扩增片段长度为381bp。反应条件:37℃逆转录50min,96℃5min;95℃30s,56℃30s,72℃30s,共30个循环;72℃延长5min。同反应条件扩增Actin片段,长度为201bp。RT-PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳观察结果。

1.2.3 ELISA技术 细胞按上述方法处理,48h后,取各组细胞培养瓶内的培养液,以2000r/min离心10min,收集各组上清液,保存于-20℃。按人IL-24 ELISA试剂盒说明书操作,酶标仪450nm测量各组上清液内MDA-7/IL-24的OD值,根据标准曲线计算出各组相应的浓度值。

1.2.4 MTT检测细胞的体外增殖 取对数生长期HepG2和L02细胞,用胰酶消化后,加入培养液吹打混匀,以 $2 \times 10^3$ /孔的细胞浓度接种于96孔培养板。每孔加入200 $\mu$ L 5%的DMEM,37℃,5%CO<sub>2</sub>条件下培养。24h后分成3组,每组6列;分别加入无血清DMEM,Ad.vec(1000vp/细胞),Ad.mda-7(1000vp/细胞)。每天定时加入20 $\mu$ L 5mg/mL的MTT;37°孵育4h后吸尽培养液,加入二甲亚砜(DMSO)150 $\mu$ L,再次37°孵育15min后在酶标仪

上 540 nm 波长 A 值读数,取平均值分析。

**1.2.5 Hoechst 凋亡细胞检测** 在 6 孔板中盖玻片上接种 HepG2 和 L02 细胞至 40% 满后分成 3 组,分别加入无血清 DMEM, Ad. vec (1 000 vp/细胞) 和 Ad. mda-7 (1 000 vp/细胞) 处理,48 h 后,用 4% 多聚甲醛固定 30 min,反复磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗涤后加入 2 mL 配制好的 Hoechst 33258 溶液,避光染色 15 min 后在奥林巴斯 BX60 荧光显微镜下观察。以连续计数 1 000 个细胞作为计数结果进行  $\chi^2$  检验。

**1.2.6 流式细胞仪检测细胞凋亡** 6 孔板中接种 HepG2 和 L02 细胞至 30% 满后,分成 3 组,分别加入无血清 DMEM, Ad. vec (1000 vp/细胞) 和 Ad. mda-7 (1 000 vp/细胞) 处理,48 h 后用胰酶收获细胞,用 PBS 洗后调整细胞浓度为  $1 \times 10^6$  /mL,加入结合缓冲液后取 100  $\mu$ L,分别加入 5  $\mu$ L Annexin-V 和 10  $\mu$ L PI 染液,避光作用 15 min 后用流式细胞仪检测 (美国 Beeton-Dickinson 公司的 FACS Calibur 型流式细胞仪)。

**1.2.7 流式细胞术检测细胞周期增殖活性** 6 cm 培养皿中接种 HepG2 和 L02 细胞至 30% 满后分成 3 组,用无血清 DMEM 同步 24 h 后,分别加入无血

清 DMEM, Ad. vec (1 000 vp/细胞), Ad. mda-7 (1 000 vp/细胞) 处理,48 h 后用胰酶收获细胞,制成单细胞悬液,PBS 冲洗 2 遍后 70% 酒精 - 20  $^{\circ}$ C 固定过夜。PBS 液洗 1 遍后重悬在 500  $\mu$ L 的 PI 溶液中, (内含 5 mg/mL PI, 10 mg/mL RNA 酶)。染色 30 min 后进行流式细胞分析。流式细胞仪以氩离子激光作为光源,激光波长 488 nm。应用 DNA 细胞周期分析软件 (Multicycle 软件) 计算 DNA 组方图  $G_0/G_1$ , S,  $G_2/M$  期百分比。所得结果经 *t* 检验进行统计学分析。

### 1.3 统计学方法

所有数据应用统计学软件 SPSS11.0 处理,取  $P < 0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 RT-PCR 电泳结果

用 PCR 方法扩增所得目的基因片断 (IL24) 长约 380 bp (图 1),与预期结果相符。提示腺病毒介导的 MDA-7/IL-24 的基因已在肝癌细胞 HepG2 和正常的肝细胞 L02 中表达,而同时转染无血清 DMEM 和 Ad. vec 的细胞中无表达。

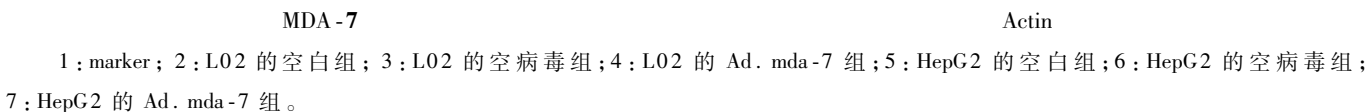


图 1 MDA-7/IL-24 mRNA 及 Actin 的 RNA 的表达

### 2.2 ELISA 蛋白表达分析

蛋白的表达结果通过对比标准曲线 48 h 后 L02 的上清液中的 MDA-7/IL-24 的浓度为 130 pg/mL,而感染 Ad. mda7 48 h 后的 HepG2 上清液中的细胞浓度为 110 pg/mL。提示 MDA-7/IL-24 蛋白能在该 2 种细胞内表达,是一种分泌型蛋白。

### 2.3 MTT 实验

Ad-mda7 感染后的肝癌细胞 HepG2 增殖明显被抑制,与对照组和 Ad. vec 组的增殖状况有显著性差异 (均  $P < 0.01$ ),而对正常的肝细胞 L02 无明显的抑制增殖作用 ( $P > 0.05$ ) (图 2)。Ad. mda-7 感染后的正常肝细胞增殖状况同对照组和 Ad. vec 组 ( $P > 0.05$ ),说明 Ad-mda7 不能抑制正常的肝细胞的增殖。

Ad. mda-7 不能抑制 L02 的增殖

Ad. mda-7 能强烈抑制 HepG2 增殖

图2 Ad. mda-7 选择抑制肝癌细胞 HepG2 的增殖

## 2.4 细胞凋亡结果

2.4.1 Hoechst 染色提示 MDA-7 能促进 48% HepG2 细胞凋亡(图3),空白对照组仅出现 1.1%, Ad. vec 组出现 1.6% 的细胞凋亡, Ad. mda-7 组与

Ad. vec 组和空白组差异有高度显著性差异( $P < 0.005$ ) ( $P = 7.92e - 011$ ,  $P = 7.42e - 011$ ), 后者之间差异无显著性( $P > 0.05$ ) ( $P = 0.33$ )。

图3 MDA-7/IL-24 选择性杀伤 HepG2 肝癌细胞而对正常肝细胞无毒性作用( $\times 400$ )

2.4.2 流式细胞仪检测 Ad. mda-7 的感染能促进肝癌细胞 HepG2 的大量凋亡( $P < 0.05$ ), 而对

正常的肝细胞 L02 无促进凋亡的作用( $P > 0.05$ ) ( $P = 0.37$ ) (附表)。

附表 腺病毒介导 MDA-7/IL-24 选择性诱导肝癌细胞 HepG2 的凋亡

	L02			HepG2		
	对照组	Ad. vec 组	Ad. mda-7 组	对照组	Ad. vec 组	Ad. mda-7 组
早期凋亡细胞	110 ± 23	120 ± 36	100 ± 11	150 ± 37	300 ± 85 <sup>1)</sup>	1990 ± 430 <sup>1),2)</sup>
晚期凋亡细胞	60 ± 14	100 ± 21	130 ± 15	110 ± 40	200 ± 63 <sup>1)</sup>	1370 ± 902 <sup>1),2)</sup>
总凋亡细胞	170 ± 28	220 ± 45	230 ± 16	260 ± 72	500 ± 150 <sup>1)</sup>	3360 ± 1320 <sup>1),2)</sup>

注:1)与对照组比较,  $P < 0.01$ ; 2)与 Ad. vec 组比较,  $P < 0.01$

## 2.5 流式细胞仪检测及分析细胞周期

Ad. mda-7 能引导 HepG2 细胞阻滞在  $G_2/M$  期(图4)。细胞周期图经软件分析后提示 Ad. mda-7 能引导肝癌细胞  $G_2/M$  期阻滞,  $G_2/M$  期的比例提高。48h 后  $G_2/M$  期的比例从对照组的 6.44%, Ad. vec 的 10.29% 上升到 Ad. mda-7 的 32.29% ( $P < 0.01$ ); 而正常的肝细胞 L02 各组的  $G_2/M$  期的比例分别为 5.54%, 6.65% 和 7.95% ( $P > 0.05$ )。提示 Ad. mda-7 不能阻滞肝细胞 L02 细胞的增殖。

图4 Ad. mda-7 的感染能阻滞 HepG2 在  $G_2/M$  期。

## 3 讨论

Jiang 等<sup>[3]</sup> 研究发现, MDA-7/IL-24 基因在黑色素细胞中高表达而在黑色素瘤细胞中低表达, 黑色素瘤恶性度与该基因表达水平呈负相关, 将该基因转染入恶性的黑色素瘤细胞后发现它具有强烈的生长阻滞、促凋亡作用及促进分化作用, 甚至可以逆转黑色素瘤的恶性。初期研究表明, 该基因具有潜在的抗肿瘤作用。当通过腺病毒转染 mda-7 进入细胞后, 令人惊奇的是 mda-7 能选择性地杀死肿瘤细胞而对正常细胞无影响<sup>[3]</sup>。因为 MDA-7 结构和功能以及其作用受体和染色体的位置, 现被重新命名为 IL-24, 作为 IL-10 家族中的一种新的细胞因子<sup>[4-6]</sup>。已有的研究<sup>[2-3,7-12]</sup> 发现该基因不仅能引起黑色素瘤细胞生长抑制, 而且能促进其他多种癌细胞的生长抑制和凋亡, 如肺癌<sup>[11-12]</sup>、乳腺癌<sup>[13]</sup>、胰腺癌<sup>[14]</sup>、胶质瘤<sup>[15-16]</sup> 和前列腺癌<sup>[17]</sup> 等。相对于 p53 等抑癌基因, MDA-7/IL-24 抑制癌细胞的生长与这些癌细胞中其它抑癌基因 p53, Rb, 或 p16ink4 的状态无

关<sup>[2,11,14]</sup>, 因而能更有效地应用于癌症治疗。MDA-7/IL-24 在不同的肿瘤型中有着不同的凋亡和凋亡机制<sup>[2]</sup>。MDA-7/IL-24 的凋亡介质包括 caspases, p53, BAX, BAK, TRAIL, Fas 和 DR4, 介导的凋亡的信号分子包括 PKR, p38 MAPK, PI3K, JNK 和 GSK-3 等<sup>[2,8]</sup>。MDA-7/IL-24 能增加肿瘤细胞对放射线的敏感性<sup>[2,11]</sup>。更有趣的是, 以往研究<sup>[2-3,7,17]</sup> 表明该基因对正常表皮细胞, 肺成纤维细胞, 乳腺细胞, 前列腺和肺上皮细胞, 星形胶质细胞, 内皮细胞及黑色素细胞等正常细胞均无任何毒副作用, 提示其具备恶性肿瘤选择性。因此认为, mda-7 是一种具有杀死肿瘤细胞而对正常细胞无毒性作用的多功能细胞因子, 故其具有极大的临床抗肿瘤应用价值。

肝癌目前的治疗效果非常令人沮丧, 因为肝癌很早就具有转移性, 在治疗前大部分已经具有了全身的转移微小病灶, 成为日后治疗复发的主要原因, 同时肝癌对放射治疗和化疗并不敏感, 因而有研究利用各种方法尽量增加化疗的敏感性以及其机理研究<sup>[18-19]</sup>。因此, 如何能杀死远处的微小肿瘤病灶(旁路杀伤途径), 增加肿瘤细胞对放疗和化疗的作用, 同时选择性杀伤肿瘤细胞的治疗就是一个极好的治疗方式了<sup>[20]</sup>。而 MDA-7/IL-24 就是具有上述多种作用方式, 是一个极有希望用于肝癌治疗的基因。

在 Fisher 教授的指导下, 笔者成功地构建了携带 MDA-7/IL-24 的复制缺陷型腺病毒载体, 并将其转染人正常肝细胞株 L02 及肝癌细胞株 HepG2, 观察其对两种细胞的不同作用, 为该基因应用于肝癌的临床治疗提供理论依据。RT-PCR 提示 Ad. mda-7 腺病毒已将 MDA-7/IL-24 转入人正常肝细胞株 L02 及肝癌细胞株 HepG2 中, 而对对照组和 Ad. vec 组则无 MDA-7/IL-24 的表达。作为一种分泌蛋白, ELISA 提供很好的蛋白表达结果。尽管二种细胞感染 Ad. mda-7 后都有 MDA-7/IL-24 蛋白的表达, 但后续的结果却完全不同。MTT 试验提示该基因转染入细胞后, 能明显地抑制肿瘤细胞的生长(HepG2), 与对照组和 Ad. vec 组比较具有显著性差异; 同样剂量转染正常的肝

细胞 L02 后,无论是正常对照组和 Ad. vec 组或 Ad. mda-7 组,均未出现增殖阻滞,差异无显著性。和以往的研究一样<sup>[2]</sup>,MDA-7/IL-24 阻滞肝癌细胞的增殖在 G<sub>2</sub>/M 期,从以上结果提示 Ad. mda-7 能介导 MDA-7/IL-24 在正常的肝细胞和肝癌细胞中表达,过表达 MDA-7/IL-24 能明显促进肝癌细胞 HepG2 凋亡,阻滞其增殖,而对正常的肝细胞却无毒性作用。因此认为,在理论上 Ad. mda-7 具有治疗肝癌的作用,将可能为肝癌治疗开阔一条新的途径。

致谢:美国哥伦比亚大学 Fisher 教授百忙中在关键技术上作指导;同济医院儿科肾病研究室周建华教授对本研究给予技术指导及实验设备支持,谨致谢意。

#### 参考文献:

- [1] Venook AP. Treatment of hepatocellular carcinoma: too many options? [J]. J Clin Oncol, 1994, 12(6): 1323 - 1334.
- [2] Lebedeva IV, Sauane M, Gopalkrishnan RV, et al. mda-7/IL-24: Exploiting Cancer's Achilles' Heel [J]. Mol Ther, 2005, 11(1): 4 - 18.
- [3] Jiang H, Lin JJ, Su ZZ, et al. Subtraction hybridization identifies a novel melanoma differentiation associated gene, mda-7, modulated during human melanoma differentiation, growth and progression [J]. Oncogene, 1995, 11(12): 2477 - 2486.
- [4] Chang C, Magracheva E, Kozlov S, et al. Crystal structure of interleukin-19 defines a new subfamily of helical cytokines [J]. J Biol Chem, 2003, 278(5): 3308 - 3313.
- [5] Dumoutier L, Renaud JC. Viral and cellular interleukin-10 (IL-10)-related cytokines: from structures to functions [J]. Eur Cytokine Netw, 2002, 13(1): 5 - 15.
- [6] Nagalakshmi ML, Murphy E, McClanahan T, et al. Expression patterns of IL-10 ligand and receptor gene families provide leads for biological characterization [J]. Int Immunopharmacol, 2004, 4(5): 577 - 592.
- [7] Huang EY, Madireddi MT, Gopalkrishnan RV, et al. Genomic structure, chromosomal localization and expression profile of a novel melanoma differentiation associated (mda-7) gene with cancer specific growth suppressing and apoptosis inducing properties [J]. Oncogene, 2001, 20(48): 7051 - 7063.
- [8] Gopalkrishnan RV, Sauane M, Fisher PB. Cytokine and tumor cell apoptosis inducing activity of mda-7/IL-24 [J]. Int Immunopharmacol, 2004, 4(5): 635 - 647.
- [9] Allen M, Pratscher B, Roka F, et al. Loss of Novel mda-7 Splice Variant (mda-7s) Expression is Associated with Metastatic Melanoma [J]. J Invest Dermatol, 2004, 123(3): 583 - 588.
- [10] Sarkar D, Su ZZ, Lebedeva IV, et al. mda-7 (IL-24) Mediates selective apoptosis in human melanoma cells by inducing the coordinated overexpression of the GADD family of genes by means of p38 MAPK [J]. Proc Natl Acad Sci, 2002, 99(5): 10054 - 10059.
- [11] Kawabe S, Nishikawa T, Munshi A, et al. Adenovirus-mediated mda-7 gene expression radiosensitizes non-small cell lung cancer cells via TP53-independent mechanisms [J]. Mol Ther, 2002, 6(5): 637 - 644.
- [12] Ramesh R, Ito I, Gopalan B, et al. Ectopic production of MDA-7/IL-24 inhibits invasion and migration of human lung cancer cells [J]. Mol Ther, 2004, 9(4): 510 - 518.
- [13] McKenzie T, Liu Y, Fanale M, et al. Combination therapy of Ad-mda7 and trastuzumab increases cell death in Her-2/neu-overexpressing breast cancer cells [J]. Surgery, 2004, 136(2): 437 - 442.
- [14] Lebedeva IV, Su ZZ, Sarkar D, et al. Induction of reactive oxygen species renders mutant and wild-type K-ras pancreatic carcinoma cells susceptible to Ad. mda-7-induced apoptosis [J]. Oncogene, 2005, 24(4): 585 - 596.
- [15] Su ZZ, Lebedeva IV, Sarkar D, et al. Melanoma differentiation associated gene-7, mda-7/IL-24, selectively induces growth suppression, apoptosis and radiosensitization in malignant gliomas in a p53 independent manner [J]. Oncogene, 2003, 22(8): 1164 - 1180.
- [16] Yacoub A, Mitchell C, Hong Y, et al. MDA-7 Regulates Cell Growth and Radiosensitivity In Vitro of Primary (Non-Established) Human Glioma Cells [J]. Cancer Biol Ther, 2004, 3(8): 739 - 751.
- [17] Lebedeva IV, Su ZZ, Sarkar D, et al. Melanoma differentiation associated gene-7, mda-7/interleukin-24, induces apoptosis in prostate cancer cells by promoting mitochondrial dysfunction and inducing reactive oxygen species [J]. Cancer Res, 2003, 63(23): 8138 - 8144.
- [18] 黄文广, 李杰, 王峰, 等. 维甲酸诱导肝癌细胞株凋亡及其与 midkine 基因表达关系的研究 [J]. 中国普通外科杂志, 2004, 13(10): 783 - 785.
- [19] 杨建青, 黄柏英, 吕新生. Caspase9 在氟尿嘧啶诱导的肝癌细胞凋亡中的作用 [J]. 中国普通外科杂志, 2003, 12(3): 173 - 173.
- [20] Fisher PB. Is mda-7/IL-24 a 'Magic Bullet' for cancer? [J]. Cancer Res, 2005, 65(22): 10128 - 10138.