

基础研究

DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2012.04.004

真核双基因表达载体 pBud-TRAIL-IL-24 的构建 及其在宫颈癌细胞中的表达

潘 玥¹,向廷秀²,章海林¹,陈 妮³,陈飞兰¹,赖国旗¹

(1. 重庆医科大学实验动物中心,重庆 400016;

2. 重庆医科大学附属第一医院分子肿瘤及表观遗传学实验室,重庆 400016;

3. 泸州医学院药物与功能性食品研究中心,泸州 646000)

【摘要】目的:构建肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(Tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand, TRAIL)基因和白细胞介素 24(Interleutin-24, IL-24)基因的真核双基因表达载体,并观察其对宫颈癌细胞生长的影响情况。**方法:**采用分子克隆技术,将 IL-24 基因插入真核表达载体 pBud-TRAIL 中,构建双表达质粒 pBud-TRAIL-IL-24,经酶切和测序鉴定后,转染宫颈癌 HeLa 细胞。荧光显微镜和免疫荧光双标技术检测 TRAIL 和 IL-24 在 HeLa 细胞中的表达。MTT 法检测重组质粒对 HeLa 细胞生长状况的影响。**结果:**成功构建了真核双基因表达载体 pBud-TRAIL-IL-24,并在宫颈癌细胞中表达;转染 48 h 后可见重组质粒对宫颈癌细胞生长有明显抑制作用($P < 0.05$)。**结论:**构建的双表达载体 pBud-TRAIL-IL-24 能在宫颈癌细胞中表达,并可有效抑制宫颈癌 HeLa 细胞增殖,为进一步研究 TRAIL 和 IL-24 联合应用于宫颈癌的基因治疗奠定了基础。

【关键词】宫颈癌细胞;双表达载体;TRAIL 基因;IL-24 基因

【中国图书分类法分类号】Q784

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-11-15

Construction of eukaryotic co-expression plasmid pBud-TRAIL-IL-24 and its expression in cervical cancer cells

PAN Yue¹, XIANG Tingxiu², ZHANG Hailin¹, CHEN Ni³, CHEN Feilan¹, LAI Guoqi¹

(1. Center of Experimental Animals, Chongqing Medical University;

2. Molecular Oncology and Epigenetics Laboratory, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University;

3. Research Center for Drug and Functional Food, Luzhou Medical College)

【Abstract】Objective: To construct the eukaryotic co-expression plasmid encoding TNF related apoptosis inducing ligand (TRAIL) gene and interleukin 24 (IL-24) gene and to study its inhibitory effect on cervical cancer cell lines. **Methods:** IL-24 gene was inserted into the expression vector of pBud-TRAIL to obtain co-expression plasmid pBud-TRAIL-IL-24 by molecular cloning technology. The constructed co-expression plasmid was identified by restriction endonuclease digestion and nucleotides sequencing. The recombinant plasmid of pBud-TRAIL-IL-24 was transfected into HeLa cells. The expressions of TRAIL and IL-24 were detected by fluorescence microscopy and immunofluorescence double-labeling staining. The proliferation of cervical cancer cells was assessed by MTT assay. **Results:** The eukaryotic co-expression plasmid pBud-TRAIL-IL-24 could be successfully constructed and be efficiently co-expressed in HeLa cells. The recombinant plasmid significantly inhibited the growth of cervical cancer cells ($P < 0.05$). **Conclusion:** The plasmid pBud-TRAIL-IL-24 can be successfully constructed and efficiently co-expressed in HeLa cells, and it can effectively inhibit the proliferation of HeLa cells, which lays the foundation for further study of the joint application of TRAIL and IL-24 in cervical cancer gene therapy.

【Key words】cervical cancer; co-expression vector; tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand gene (TRAIL gene); interleukin-24 (IL-24)

宫颈癌的发病率在女性恶性肿瘤中居第二位,仅次于乳腺癌。近年来由于人乳头瘤病毒(Human

papillomavirus, HPV)感染人群的增加,导致宫颈癌发病率呈现逐渐上升趋势。目前,外科手术、放疗和化疗是宫颈癌治疗的主要手段,而其治疗效果仍不是十分理想。随着分子生物学研究的飞速发展,细胞生长、分化及凋亡的机制逐渐被认识,基因治疗已经成为研究热点。肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体

作者介绍:潘 瑶(1986-),女,硕士,

研究方向:宫颈癌的基因治疗。

通信作者:赖国旗,女,教授,Email:a68895078@cn.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81072148)。

(Tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand, TRAIL) 基因是近年来发现的抑癌基因, 它可以特异性地诱导人类多种肿瘤细胞发生凋亡^[1,2], 而对正常细胞没有影响。白细胞介素 24 (Interleutin-24, IL-24) 是唯一具有增强机体免疫功能和选择性抑制肿瘤增生、诱导肿瘤凋亡作用的细胞因子。目前研究主要着力于单独的 TRAIL 或 IL-24 对肿瘤细胞的作用^[3], 较少探讨二者协同对肿瘤细胞的作用。Zhao 等^[4] 研究发现 IL-24 能诱导和增强 TRAIL 的抗大肠癌活性。本研究将特异性诱导肿瘤凋亡的 TRAIL 与既抑制肿瘤生长又表达刺激免疫系统的蛋白基因 IL-24 结合起来^[5], 将 IL-24 基因克隆入真核表达质粒 pBud -TRAIL-EGFP 中构建重组质粒并转染宫颈癌细胞, 观察 TRAIL 和 IL-24 基因在宫颈癌细胞中的表达, 为寻找一种新的特异性基因治疗宫颈癌的方法奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞、菌株与质粒 人胚肾 (Human embryonic kidney, HEK) 293 细胞, 宫颈癌 HeLa 细胞, *E. coli* DH5a 菌株和 pBud -TRAIL-EGFP 质粒为本实验室冻存。腺病毒介导白细胞介素 24 (Adenovirus interleutin-24, Ad-IL-24) 由重庆医科大学附属第一医院实验研究中心向廷秀副研究员惠赠。

1.1.2 主要试剂及来源 总 RNA 提取试剂盒 (Trizol)、T₄DNA 连接酶、反转录酶、Taq DNA 聚合酶、Sal I、Hind III 限制性内切酶和 DNA Marker 购自 TaKaRa 公司; IL-24 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成; 胶回收试剂盒购自北京百泰克生物技术有限公司; LipofectamineTM 2000 和 Zeocin 购自 Invitrogen 公司; 山羊多抗 TRAIL 和兔多抗 IL-24 购自 Santa Cruz 公司; Cy3 标记驴抗山羊 IgG 和 DyLight649 标记山羊抗兔 IgG 购自碧云天公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养、感染及总 RNA 的提取 HEK293 细胞培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中, 37 °C, 5% CO₂ 孵箱中培养。感染前 12 h 取对数生长期的细胞传代, 使感染前的细胞融合度约为 40%~50%。Ad-IL-24 感染 HEK293 细胞 48 h 后收获细胞, 总 RNA 提取试剂盒提取总 RNA, -80 °C 保存。

1.2.2 人 IL-24 cDNA 克隆及鉴定 根据 GeneBank 中人 IL-24 基因序列 (NM_006850) 通过 DNA Star 软件设计 IL-24 引物, 并在引物的 5' 端引入酶切位点, 上游引物 5'-CGAACCTTATGAATTTCACAGAGGCTG-3', 下游引物 5'-CGCTCGACCTAGACATTCAAGAGCTTGTAG-3' (划线部分分别为 Sal I 和 Hind III 的酶切位点)。提取感染 Ad-IL-24 的 HEK293 细胞总 RNA, 经逆转录酶逆转录获得 cDNA, 逆转录产物进行 PCR 扩增。PCR 反应扩增条件: 94 °C 预变性 5

min; 94 °C 30 s, 60 °C 40 s, 72 °C 1 min, 共 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 10 min。2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定, 胶回收纯化目的片段。

1.2.3 重组质粒 pBud-TRAIL-IL-24 的构建及鉴定 构建重组质粒 pBud-TRAIL-IL-24, 如图 1。将纯化的 IL-24 基因和 pBud-TRAIL 质粒分别经 Sal I 和 Hind III 双酶切, 胶回收试剂盒回收酶切产物。酶切后的 IL-24 基因和 pBud-TRAIL 质粒按分子比 3:1 进行连接反应。用 CaCl₂ 法转化到大肠杆菌 DH5a 感受态细菌中, Zeocin 抗性培养基筛选阳性克隆, 提取重组质粒进行 Sal I 和 Hind III 双酶切鉴定和序列分析。

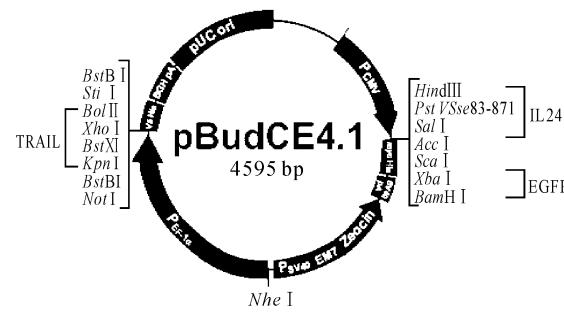


图 1 pBud-TRAIL-IL-24 图谱

Fig. 1 pBud-TRAIL-IL-24 atlas

1.2.4 重组质粒转染宫颈癌细胞 将 HeLa 细胞以每孔 1 × 10⁵ 个/孔的密度接种于 6 孔板, 待细胞生长融合约达 80% 时, 应用 LipofectamineTM 2000 将质粒 pBud-TRAIL-IL-24 转染至 HeLa 细胞, 同时设无转染的 HeLa 细胞为空白对照, 操作程序按说明书进行。荧光显微镜下观察细胞中有无增强型绿色荧光蛋白 (Enhanced green fluorescent protein, EGFP) 的表达。

1.2.5 激光扫描共聚焦显微镜检测 TRAIL 和 IL-24 的表达 转染 pBud-TRAIL-IL-24 的 HeLa 细胞爬片培养 48 h 后进行免疫荧光双标染色。经 4% 多聚甲醛固定; 应用山羊多抗 TRAIL 和兔多抗 IL-24 (1:200), 4 °C 孵育过夜。Cy3 标记驴抗山羊 IgG 和 DyLight649 标记山羊抗兔 IgG 37 °C 各孵育 1 h; 防荧光淬灭封片剂封片, 阴性对照以 PBS 代替一抗。激光扫描共聚焦显微镜下观察 TRAIL 和 IL-24 的表达。

1.2.6 MTT 法检测 pBud-TRAIL-IL-24 对 HeLa 细胞生长的影响 按以上方法, 以无转染的 HeLa 细胞为阴性对照, 在 96 孔板中将重组质粒 pBud-TRAIL、pBud-IL-24 及 pBud-TRAIL-IL-24 转染 HeLa 细胞, 24、48 h 和 72 h 后采用 MTT 法于 490 nm 波长处检测吸光度值 (D), 并计算细胞抑制率。细胞抑制率 = (1-实验组 D 值/阴性对照组 D 值) × 100%。

1.3 统计学分析

采用 SPSS13.0 统计学软件对各组数据进行单因素方差分析, 数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 总 RNA 的提取

从感染 Ad-IL-24 48 h 后的 HEK293 细胞中提取总 RNA,

经 2% 琼脂糖凝胶电泳分析可见 28S、18S、5S 3 条清晰条带, 见图 2。

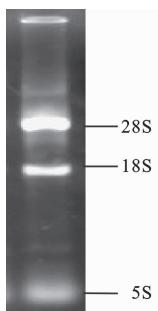
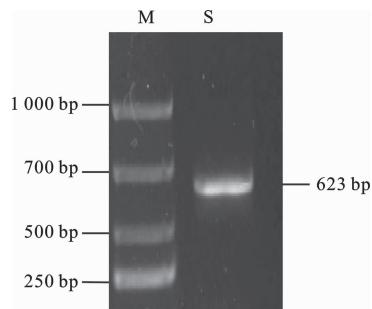


图 2 总 RNA 质量鉴定图

Fig. 2 Quality identification of total RNA

2.2 IL-24cDNA 的克隆及鉴定

以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增, 将所得的 PCR 产物进行 2% 琼脂糖凝胶电泳分析, 结果显示: PCR 扩增产物条带大小与预期结果一致, 为 623 bp, 见图 3。



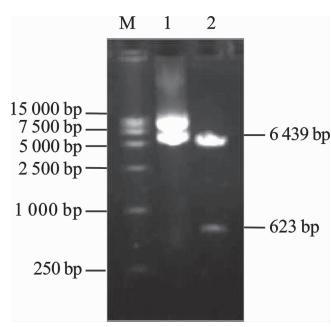
M. 1 000 bp DNA 标志物; S: IL-24 PCR 扩增产物

图 3 IL-24 基因 PCR 产物电泳图

Fig. 3 Gel electrophoresis of IL-24 gene PCR product

2.3 重组质粒 pBud-TRAIL-IL-24 的双酶切鉴定

重组质粒 pBud-TRAIL-IL-24-EGFP 经 *Sal* I 和 *Hind* III 双酶切后, 0.7% 琼脂糖凝胶电泳分析, 结果表明重组质粒经过双酶切后能够得到 6 439 bp 和 623 bp 的片段, 见图 4。



M. 15 000 bp DNA 标志物; 1. pBud-TRAIL-IL-24;

2. pBud-TRAIL-IL-24 双酶切产物

图 4 重组质粒 pBud-TRAIL-IL-24 的双酶切鉴定

Fig. 4 pBud-TRAIL-IL-24 double enzyme digestion identification

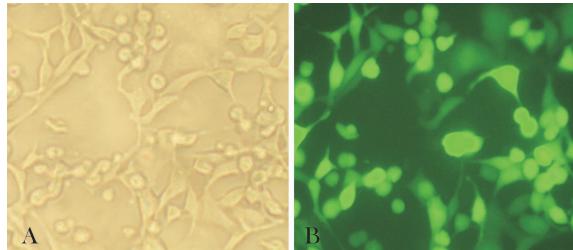
2.4 测序鉴定

DNA 测序结果表明, IL-24 基因插入 pBud-TRAIL-EGFP

载体中, 基因的插入方向及顺序完全正确, TRAIL 及 IL-24 基因序列与 GeneBank 中所报道的序列比较, 同源性为 100%。

2.5 重组质粒 pBud-TRAIL-IL-24 在宫颈癌 HeLa 细胞中的表达

重组质粒 pBud-TRAIL-IL-24 转染 HeLa 细胞 48 h 后, 于荧光显微镜下观察, 可见呈 EGFP 的表达, 见图 5。激光扫描共聚焦显微镜下观察, 由红色荧光所标记的 TRAIL 的蛋白在细胞膜及细胞质表达, 而蓝色荧光标记的 IL-24 的蛋白则表达于细胞质, 见图 6。

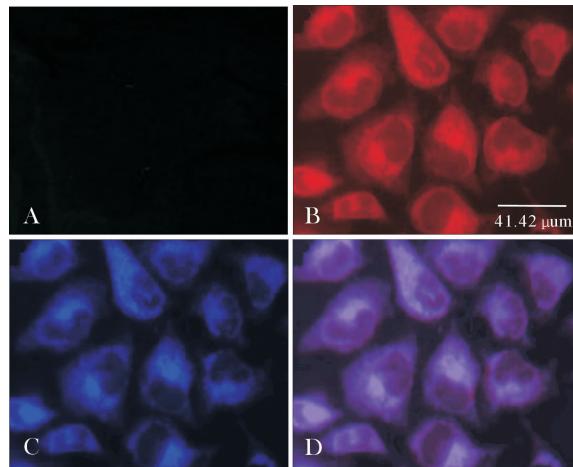


A. 光镜下 HeLa 细胞

B. 转染 48 h 后 HeLa 细胞荧光图

图 5 荧光显微镜下观察 pBud-TRAIL-IL-24 在 HeLa 细胞中的表达(200 \times)

Fig. 5 Fluorescence microscopic observation of pBud-TRAIL-IL-24 expression in HeLa cell (200 \times)



A. 阴性对照; B. TRAIL 蛋白在 HeLa 细胞中的表达;

C. IL-24 蛋白在 HeLa 细胞中的表达;

D. TRAIL 和 IL-24 融合蛋白在 HeLa 细胞中的表达

图 6 激光扫描共聚焦显微镜观察 TRAIL

和 IL-24 融合蛋白在 HeLa 细胞中的表达

Fig. 6 Laser scanning confocal microscope observation of TRAIL and IL-24 fusion protein expression in HeLa cells

2.6 pBud-TRAIL-IL-24 对宫颈癌 HeLa 细胞的生长抑制作用

重组质粒转染宫颈癌 HeLa 细胞后, 均对细胞生长有不同程度的抑制作用。24 h 时细胞生长抑制率在各实验组间差异无统计学意义, 48 h 后 pBud-TRAIL-IL-24 组与其它两组比较, 其对细胞的生长抑制率明显增大($P < 0.05$), 而 pBud-TRAIL 组与 pBud-IL-24 组之间比较则差异无统计学意义。MTT 实验结果表明, 重组质粒 pBud-TRAIL-IL-24 对宫颈癌

HeLa 细胞有明显抑制作用,见表 1。

表 1 pBud-TRAIL-IL-24 对 HeLa 细胞的生长抑制作用(%, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 pBud-TRAIL-IL-24 inhibits the growth of
HeLa cells (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	24 h	48 h	72 h
空白组	3.58 ± 0.13	3.56 ± 0.15	3.63 ± 0.06
pBud-TRAIL	5.34 ± 0.29	14.29 ± 0.21	14.21 ± 0.15
pBud-IL-24	6.29 ± 0.22	16.57 ± 0.05	15.72 ± 0.10
pBud-TRAIL-IL-24	7.43 ± 0.17	21.71 ± 0.18 *	21.56 ± 0.05 *

* P < 0.05, 与其他组比较

3 讨 论

宫颈癌是妇女最常见的恶性肿瘤之一,并呈年轻化趋势。据世界范围统计,每年估计有 46.6 万的宫颈癌新发病例,其中中国估计有近 10 万新发病例,约占世界新发病例总数的 1/5,并且每年约有 3 万名妇女死于宫颈癌。目前,宫颈癌的基因治疗主要包括分子靶向治疗与免疫靶向治疗。分子靶向治疗即针对癌基因、抑癌基因的基因治疗:抑癌基因通过凋亡来消除癌细胞,而癌基因能增强肿瘤细胞的增殖,诱导凋亡及抑癌基因的活化;而免疫靶向治疗通常是通过增加抗癌效应的细胞,或细胞因子的数量来实现增强免疫应答效应的目的^[6]。

TRAIL 是近年来发现的一个凋亡诱导基因,它主要是通过与细胞膜表面的 DR4 和 DR5 死亡受体结合,激活细胞下游凋亡信号而诱导细胞凋亡。TRAIL 能选择性地、高效地诱导多种肿瘤细胞凋亡^[7],而对正常细胞没有明显的毒副作用;另外 TRAIL 也能杀伤许多由于 p53 基因发生突变而对放疗和化疗药物耐受的肿瘤细胞。基于以上原因,TRAIL 成为一种具有开发前景的癌症治疗药物^[8]。本课题组前期研究已证实 TRAIL 具有诱导宫颈癌细胞凋亡的作用^[9]。IL-24 是一个分泌型细胞因子,它不仅能选择性诱导多种肿瘤细胞凋亡,对正常细胞无明显毒副作用,而且可通过增强机体免疫作用,对周围癌细胞行“旁观者杀灭效应”^[10]。并且宫颈癌发病的中心环节是癌基因 E6、E7 基因分别捆绑抑癌基因 p53 和 pRb 及机体免疫功能下降,最终形成瘤^[11,12],而 IL-24 对肿瘤的抑制作用可以不依赖 p53、pRb^[13,14],并且可以增强机体细胞免疫、体液免疫和局部免疫,是目前发现的唯一的细胞因子类的抑癌基因。因此,引入免疫因子 IL-24,通过提高肿瘤细胞的免疫原性和机体对肿瘤相关抗原的提呈能力,并且激活特异性和非特异性免疫细胞,有可能增强 TRAIL 的抗肿瘤效果。在此基础上,本研究考虑采用 TRAIL 和 IL-24 基因联合应用于宫颈癌的基因

治疗方法。

目前用于基因治疗的常见载体有真核表达载体,原核表达载体,腺病毒载体等,它们大多只能携带并表达一种外源基因。肿瘤的发生机制复杂,受多基因调控,随着越来越多的基因不断被发现,我们需要同时研究两个或更多的基因之间的相互作用,此时一种可以同时携带并表达两种不同外源基因的载体就变得尤为重要。pBud 是一种双启动子真核表达载体,通过两个独立的启动子控制两个外源基因转录成两个 mRNA 分子并翻译产生各自的抗原蛋白,克服了一般载体只有一种启动子的缺点,便于多基因比较分析。本实验通过引入双启动子真核表达载体 pBud,同时表达 TRAIL 和 IL-24 两种基因,不仅使体外实验两种基因的转染更为简便;而且相对于先前使用病毒载体来研究 TRAIL 和 IL-24 基因的协同作用^[4]具有更高的安全性。同时也为以后进行 TRAIL 和 IL-24 联合应用对宫颈癌作用机理的研究提供了极大的便利。

总之,本研究成功构建了真核双基因表达载体 pBud-TRAIL-IL-24,并在宫颈癌细胞内表达。这为进一步探讨 TRAIL 和 IL-24 基因在宫颈癌基因治疗中的作用机制及临床应用奠定了良好的基础。

参 考 文 献

- [1] Fisher P B. Is mda7/IL-24 a “magic bullet” for cancer[J]. Cancer Res, 2005, 65 (22) :10128-10138.
- [2] Zhu H, Yang Z B. Expression pattern of MDA7/IL-24 receptors in liver cancer cell lines[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2009, 8 (4) :402-406.
- [3] Naka T, Sugamura K, Hylander B L, et al. Effects of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand alone and in combination with chemotherapeutic agents on patients' colon tumors grown in SCID mice [J]. Cancer Res, 2002, 62 (20) :5800-5806.
- [4] Zhao L, Dong A, Gu J, 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.
- [5] Chada S, Sutton R B, Ekmekcioglu S, et al. MDA7/IL-24 is a unique cytokine-tumor suppressor in the IL-10 family [J]. Int Immunopharmacol, 2004, 4 (5) :649-667.
- [6] 罗 飞. HPV 感染的子宫颈癌相关基因及基因治疗的研究进展[J]. 肿瘤预防与治疗, 2010, 23 (5) :432-434.
- Luo F. HPV infection of uterine cervical cancer related genes and gene therapy research progress[J]. Journal of Cancer Control and Treatment, 2010, 23 (5) :432-434.
- [7] Bernard D, Quatannens B, Vandenbunder B, et al. Rel/NF-kappaB transcription factors protect against tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis by up-regulating the TRAIL decoy receptor DcR1[J]. J Biol Chem, 2001, 276 (29) :27322-27328.
- [8] 聂金梅,徐雅君,邢永梅,等.肿瘤细胞对 TRAIL 耐受机制以及

基础研究

DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2012.04.005

EGCG 联合紫杉醇对肺癌 A549 细胞增殖、凋亡的影响

王江红,徐莉,董扬,郭述良

(重庆医科大学附属第一医院呼吸内科,重庆 400016)

【摘要】目的:研究表没食子儿茶素没食子酸酯[(-)-Epigallocatechin gallate,EGCG]及紫杉醇单独使用和联合使用时对肺癌 A549 细胞的形态、活性、细胞凋亡以及相关信号通路的影响。**方法:**不同浓度的 EGCG、紫杉醇单用及联合应用在不同时间作用于肺癌 A549 细胞,用细胞集落形成实验检测细胞活力、WST-1 法检测细胞增殖能力、Hoechst 33342 荧光法检测细胞凋亡的情况、流式细胞仪检测细胞凋亡率、Western blot 检测内质网应激标志蛋白 GRP78 表达。**结果:**①EGCG 和紫杉醇均能抑制肺癌 A549 细胞的增殖;EGCG 与紫杉醇联合的抑制率高于单用 EGCG 或紫杉醇组($P < 0.05$)。②EGCG 和紫杉醇均可诱导细胞凋亡,2 种药物联用后,诱导细胞凋亡作用显著增强。③蛋白免疫印迹实验显示 EGCG 和紫杉醇联合可能是通过内质网应激信号通路发挥作用。**结论:**EGCG、紫杉醇均可抑制人肺癌 A549 细胞的增殖、诱导细胞的凋亡,两者联合应用具有协同作用,能显著增强细胞凋亡作用。

【关键词】表没食子儿茶素没食子酸酯;紫杉醇;肺癌;凋亡

【中国图书分类法分类号】R734.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-11-15

Effects of (-)-epigallocatechin gallate combined with Paclitaxel on the proliferation and apoptosis of human lung cancer cell line A549

WANG Jianghong, XU Li, DONG Yang, GUO Shuliang

(Department of Respiratory Medicine, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】**Objective:** To study the effects of combined and exclusive application of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) and Paclitaxel on the morphology, activity, apoptosis and possible signal pathway of human lung cancer cell line A549. **Methods:** EGCG and Paclitaxel with different concentrations were applied to human lung cancer cell line A549 exclusively and in combination at different periods. The cell activity was examined by cell colony formation assay, cell proliferation by WST-1 assay, cell apoptosis by Hoechst 33342 test, apoptosis rate by flow cytometry and expressions of GRP78 by western blot. **Results:** Both EGCG and Paclitaxel can inhibit the proliferation of lung cancer cell line A549. The inhibiting effect was more obvious if the two drugs were used in combination ($P < 0.05$). Both EGCG and Paclitaxel can induce the apoptosis of lung cancer cell line A549. The inducing effect was more obvious if the two drugs were used in combination. The results of western blot indicated that the two drugs

作者介绍:王江红(1968-),女,主任医师,硕士,

研究方向:呼吸系统疾病的诊疗及介入治疗。

通信作者:郭述良,男,教授,Email:guosl999@sina.com。

基金项目:重庆市卫生局资助项目(编号:2010-2-026)。

克服耐受性的研究进展[J]. 中国医药科学,2011,1(15):43-45.

Nie J M, Xu Y J, Xing Y M, et al. The mechanisms of TRAIL resistance against tumor cells and researches for overcoming TRAIL resistance[J]. China Medicine and Pharmacy, 2011, 1(15):43-45.

[9] 赖国旗,邱宗荫,左国伟,等.肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体对人宫颈癌 HeLa 细胞的凋亡作用[J].中国实用妇科与产科杂志,2008,24(6):442-444.

Lai G Q, Qiu Z Y, Zuo G W, et al. Research of the apoptosis of TRAIL on cervical cancer HeLa cells[J]. Chinese Journal of Practical Gynecology and Obstetrics, 2008, 24(6):442-444.

[10] Kreimer A R, González P, Katki H A, et al. Efficacy of a bivalent HPV 16/18 vaccine against anal HPV 16/18 infection among young women: a nested analysis within the costa rica vaccine trial [J]. Lancet Oncol, 2011, 12(9):862-870.

[11] Lee S H, Kim J W, Lee H W, et al. Interferon regulatory factor-1 (IRF-1) is a mediator for interferon-gamma induced attenuation of telomerase activity and human telomerase reverse transcriptase (hTERT) expression[J]. Oncogene, 2003, 22(3):381-391.

[12] Clarke D T, Irving A T, Lambley E H, et al. A novel method for screening viral interferon-resistance genes[J]. J Interferon Cytokine Res, 2004, 24(8):470-477.

[13] Gopalan B, Shanker M, Chada S, et al. MDA-7/IL-24 suppresses human ovarian carcinoma growth in vitro and in vivo[J]. Mol Cancer, 2007, 2(6):11-20.

[14] Zheng M, Bocangel D, Doneske B, et al. Human interleukin 24 (MDA-7/IL-24) protein kills breast cancer cell via the IL-20 receptor and is antagonized by IL-10[J]. Cancer Immunother, 2007, 56(2):205-215.

(责任编辑:关蕴良)