

• 基础论著 •

# 腺病毒介导 NDRG2 基因和 rhTRAIL 对人前列腺癌细胞株 PC-3 的协同作用

崔潇义 高磊 李瑞晓 汤磊 严奉奇 张瑞 于磊 袁建林 武国军

**【摘要】** 目的 观察携带 NDRG2 基因的腺病毒 (Ad-NDRG2) 与重组人肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (rhTRAIL) 联合给药对人前列腺癌细胞株 PC-3 的抗肿瘤增效作用。方法 以 Ad-NDRG2 感染体外培养的 PC-3 细胞, 采用 Western blot 方法检测 NDRG2 蛋白表达水平的变化。流式细胞仪检测术和 MTT 实验分析 Ad-NDRG2 给药后 PC-3 细胞对 TRAIL 敏感性的变化。建立裸鼠移植瘤模型, 观察 Ad-NDRG2 与 TRAIL 联合给药的体内抗肿瘤作用。结果 病毒感染单位为 40MOI 时的感染效率可达 100%。Ad-NDRG2 感染后 PC-3 细胞中 NDRG2 和 p21 蛋白表达明显增加, 而 CyclinD1 表达减少。Ad-NDRG2 协同浓度  $10^{-7}$  ng/ml 以上 rhTRAIL 作用 48 h, 可增强对 PC-3 细胞的生长抑制作用 (抑制率  $\geq 37.5\%$ ) 和诱导凋亡作用 (凋亡率  $\geq 35.4\%$ )。动物实验表明: rhTRAIL 组, Ad-NDRG2 组, Ad-NDRG2 与 rhTRAIL 联合给药组移植瘤的抑瘤率分别为 32.6%、30.1% 和 54.7%, 两药相互作用指数 CDI 为 0.86。结论 腺病毒介导 NDRG2 基因感染细胞后, 可增强人前列腺癌 PC-3 细胞在体内及体外对 rhTRAIL 的敏感性。

**【关键词】** 前列腺肿瘤; TNF 相关凋亡诱导配体; NDRG2 基因; 增效作用

**The synergistic effects of rhTRAIL and adenovirus-mediated NDRG2 gene on prostate cancer cell line PC-3**  
CUI Xiao-yi\*, GAO Lei, LI Rui-xiao, TANG Lei, YAN Feng-qi, ZHANG Rui, YU Lei, YUAN Jian-lin, WU Guo-jun.

\*Aerospace Medicine, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

Corresponding author: WU Guo-jun, Email: wuguojun@fmmu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To investigate the antitumor activities of Ad-NDRG2 and reconstruction human TNF-related apoptosis-inducing ligand on human prostate cancer PC-3 cells. **Methods** The protein expressions of CyclinD1, p21 and NDRG2 in the cells were determined by Western-blot. MTT and flow cytometry tests were used to observe the effects of  $10^{-6}$  ng/ml,  $10^{-7}$  ng/ml,  $10^{-8}$  ng/ml rhTRAIL and Ad-NDRG2 on prostate cancer cell line PC-3 single or synergistic administration ways for 24, 48 and 72 hours *in vitro*. Male BALB/C-nu mice with PC-3 prostate cancer cell lines were treated by rhTRAIL and Ad-NDRG2 singly or synergistically *in vivo*. **Results** After infected by adenovirus, the proteins expression of NDRG2 and p21 in PC-3 cells all was high. But the proteins expression of CyclinD1 was low. Ad-NDRG2 enhanced the growth suppression (suppression ratio  $\geq 37.5\%$ ) and induced apoptosis (apoptosis ratio  $\geq 35.4\%$ ) by above  $10^{-7}$  mol/L rhTRAIL in PC-3 cells. *In vivo* experiment showed that rhTRAIL, Ad-NDRG2, combination of TRAIL and Ad-NDRG2 inhibited tumor growth by the rates of 32.6%, 30.1% and 54.7%, respectively. The coefficient of drug interaction (CDI) of TRAIL and Ad-NDRG2 was 0.86. **Conclusions** Ad-NDRG2 can enhance the growth suppression and induce apoptosis by rhTRAIL in synergistic way *in vitro* and *in vivo*, which showed its great potential in the treatment of androgen-independent carcinoma of prostate.

**【Key word】** Prostatic neoplasms; TNF-related apoptosis-inducing ligand; NDRG2 gene; Synergic action

目前, 化疗是难治性前列腺癌的主要治疗手段之

一。但由于前列腺癌常出现对化疗不敏感, 易出现耐药性, 常规化疗很难达到较好的治疗效果。随着生物靶向治疗方法的不断发展, 基因治疗有望成为前列腺癌治疗的重要方法, 并出现了基因治疗联合化疗等多种针对难治性前列腺癌的治疗手段。本实验旨在观察携带人源 NDRG2 (N-myc downstream regulated gene 2) 基因的腺病毒载体与肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.15.058

基金项目: 国家自然科学基金 (81272812)

作者单位: 710032 西安市, 第四军医大学航空航天医学系 2008 级学员四队 (崔潇义); 第四军医大学西京医院泌尿外科 (高磊、李瑞晓、汤磊、严奉奇、于磊、袁建林、武国军); 第四军医大学基础部生物化学与分子生物学实验室 (张瑞)

通讯作者: 武国军, Email: wuguojun@fmmu.edu.cn

(TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL) 联合应用对人前列腺癌细胞株 PC-3 增殖及凋亡的影响。

### 材料与方 法

1. 材料: 携带增强型绿色荧光蛋白 (Enhanced Green Fluorescence Protein, EGFP) 的腺病毒载体 Ad-EGFP, 携带 NDRG2 基因的腺病毒载体 Ad-NDRG2, 携带  $\beta$ -半乳糖苷酶基因的腺病毒载体 Ad-LacZ 及前列腺癌细胞株 PC-3 均由本科制备并保存, 鼠抗人 NDRG2、CyclinD1 和 p21 单克隆抗体及相关荧光素标记二抗均购自美国 Santa 公司。rhTRAIL 购自 R&D 公司。

2. 重组腺病毒感染效率的测定: 将 PC-3 细胞接种 24 孔培养板中。待 24 h 后, 分别以 5、10、20、40 MOI (病毒感染单位) 的 Ad-EGFP 感染 PC-3 细胞。48 h 后倒置荧光显微镜观察, 计数视野内所有发绿色荧光的细胞及视野所有细胞数, 二者之比即为特定 MOI 条件下的感染效率。选取感染效率达到 100% 时的 MOI 数作为后续实验的病毒用量。

3. 各组细胞中 NDRG2、p21 和 CyclinD1 表达的鉴定: 分别提取细胞的总蛋白, 按照蛋白定量试剂盒说明书 BCA 法进行总蛋白定量, 取 50  $\mu$ g 蛋白质样品进行 SDS-PAGE 凝胶电泳后将凝胶上的蛋白转移至膜上, 标记预染的位置。50 mg/L 脱脂牛奶封闭, 一抗为 1:500 稀释的鼠抗人 NDRG2、CyclinD1、p21 和  $\beta$ -actin 抗体, 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 洗涤后以荧光素标记的兔抗鼠二抗避光室温封闭 1 h 后, 在凝胶成像仪上扫描条带, 并行黑白转换, 计算目标蛋白与相应内参的比值作为相对含量。

4. MTT 实验: 取对数生长期的 PC-3 细胞, 计数后分别接种于 96 孔培养板, 设立对照组, Ad-LacZ 组, Ad-NDRG2 组, 浓度为  $10^{-6}$  ng/ml、 $10^{-7}$  ng/ml、 $10^{-8}$  ng/ml 的 rhTRAIL 单用药组及分别与 Ad-NDRG2 协同用药组。每组设立 5 个平行重复孔, 分别在处理 24 h、48 h 和 72 h 用 MTT 法测定细胞的 A 值, 重复实验 3 次。细胞增殖抑制率 = (1 - 实验组的 A490 值/对照组的 A490 值)  $\times$  100%。

5. 流式细胞术检测 PC3 细胞凋亡情况: Ad-NDRG2 感染 PC-3 细胞, 培养 24 h 后加入梯度稀释的 rhTRAIL 继续培养 48 h 后用胰酶消化, 收集各组细胞, 离心去培养液, 4  $^{\circ}$ C 预冷的 PBS 液洗涤细胞 2 次, 加 1 ml 预冷的 70% 乙醇 4  $^{\circ}$ C 固定细胞 12 h, 离心去除乙醇, 加 20  $\mu$ l RNase A (1 mg/ml) 于 37  $^{\circ}$ C 水浴 30 min, 再加入 100  $\mu$ l 碘化丙啶和 FITC-Annexin V 的混合溶液 (终

浓度均为 1  $\mu$ g/ml), 混匀置于 4  $^{\circ}$ C 避光染色 30 min, 流式细胞仪检测。每组重复 3 孔, 本实验重复 3 次。

6. 流式细胞术检测细胞周期: Ad-NDRG2 感染 PC-3 细胞, 培养 24 h 后加入梯度稀释的 rhTRAIL 继续培养 48 h 后用胰酶消化, 收集各组细胞, 离心去培养液, 以 4  $^{\circ}$ C 预冷的 PBS 洗涤细胞, 1500 r/min 离心 5 min, 重复两次, 弃上清, 以 0.5 ml 预冷的 PBS 重悬细胞, 加入 3000 活性单位的 RNase A, 37  $^{\circ}$ C 水浴 30 min; 冰浴降温, 终止 RNase A 的作用后, 加入碘化丙啶染液 0.5 ml 染色 30 min, 流式细胞仪检测。每组重复 3 孔, 本实验重复 3 次。

7. 体内抗肿瘤实验: 浓度为  $5 \times 10^6$ /ml 的 PC-3 细胞 0.1 ml 接种于雄性 BALB/c 裸鼠右侧腋窝皮下。待瘤块长至体积 150 mm<sup>3</sup> 时, 将裸鼠随机分为 6 组, 每组 6 只, 分别为对照组、Ad-LacZ 组、Ad-NDRG2 组、rhTRAIL 组、rhTRAIL + Ad-LacZ 组、rhTRAIL + Ad-NDRG2 组。rhTRAIL (腹腔注射) 每次给药剂量为 20 mg/kg, 接种后 7 d、14 d 给药, 共给药 2 次。每次瘤内注射腺病毒 ( $1 \times 10^9$  pfu 溶于 PBS 100  $\mu$ l), 每 3 d 一次, 共 7 次。每 5 d 测量一次瘤体的长径 (a) 和短径 (b), 按  $V = a \times b^2 / 2$ 。依据肿瘤体积计算肿瘤抑瘤率 (%)。两药相互作用指数 (coefficient of drug interaction, CDI) 的计算公式为:  $CDI = AB / (A \times B)$ , 其中 AB 为两药联用组与对照组瘤体体积的比值, A 或 B 是各药物单独使用组与对照组瘤体体积的比值。当  $CDI < 1$  时, 两药有协同作用。

8. 统计学方法: 采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。数据以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组均数比较采用两样本 *t* 检验;  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 最佳感染效率的测定: 病毒感染单位在 40 MOI 时的感染效率可达 100% (图 1)。

2. 腺病毒感染后 NDRG2、CyclinD1 及 p21 蛋白表达水平的变化 (图 2, 3): 经黑白转换后的 Western blot 结果显示: NDRG2 表达在 Ad-NDRG2 组细胞 (相对比值为  $0.43 \pm 0.032$ ) 较空白对照组 (相对比值为  $0.18 \pm 0.012$ ) 和 Ad-LacZ 组 (相对比值为  $0.17 \pm 0.013$ ) 明显增高 ( $P < 0.01$ ); CyclinD1 表达在 Ad-NDRG2 组细胞 (相对比值为  $0.065 \pm 0.0081$ ) 较空白对照组 (相对比值为  $0.23 \pm 0.016$ ) 和 Ad-LacZ 组 (相对比值为  $0.25 \pm 0.018$ ) 明显降低 ( $P < 0.01$ ); 同时 p21 表达在 Ad-NDRG2 组细胞 (相对比值为  $0.19 \pm 0.012$ ) 较空白对照组 (相对比值为  $0.085 \pm 0.0082$ ) 和 Ad-LacZ 组 (相对比值为  $0.082 \pm 0.0075$ ) 明显增高 ( $P < 0.05$ )。

3. rhTRAIL 和 Ad-NDRG2 对前列腺癌 PC-3 细胞增殖的抑制作用: Ad-NDRG2 对 PC-3 细胞在 48 h 和 72 h 的抑制率分别为(21.1±3.13)%和(23.1±3.10)%。10<sup>-6</sup> ng/ml rhTRAIL 处理 24 h 即可发挥生长抑制作用,但浓度至少要在 10<sup>-7</sup> ng/ml 以上才对 PC-3 细胞生长有明显的抑制作用;且细胞存活率与药物浓度呈反比。Ad-NDRG2 协同浓度 10<sup>-7</sup> ng/ml 以上 rhTRAIL 作用 48 h,可增强对 PC-3 细胞的生长抑制作用(抑制率≥37.5%)。协同治疗组以 Ad-NDRG2 + 10<sup>-6</sup> ng/ml rhTRAIL 组作用 72 h 最为显著,抑制率为 43.3%(表 1)。

4. 流式细胞仪检测: Ad-NDRG2 单一用药导致的细胞周期阻滞以 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期为主[(51.3±4.3)%],与对照组[(39.2±7.6)%]比较有显著性差异( $t=4.16, P<0.01$ )。且 Ad-NDRG2 单一用药组凋亡率[(15.6±2.3)%]明显高于对照组[(5.3±1.3)%],有显著性差异( $t=3.21, P<0.05$ )。浓度 10<sup>-7</sup> ng/ml 以上 rhTRAIL,单一用药作用 48 h 时有明显凋亡峰出现。其中以 10<sup>-6</sup> ng/ml rhTRAIL 协同 Ad-NDRG2 作用 48 h 组最为明显,凋亡率为(42.8±5.9)%( $t=18.62, P<0.01$ ); 10<sup>-7</sup> ng/ml rhTRAIL 协同 Ad-NDRG2 作用 48 h 组次之,凋亡率为(35.4±4.2)%( $t=20.53, P<0.01$ )。且浓度至少要在 10<sup>-7</sup> ng/ml 以上协同 Ad-NDRG2 与单独用药组比较细胞凋亡率才有显著性差异(表 2)。

5. 动物实验结果表明: Ad-NDRG2 可协同增强 rhTRAIL 的抗肿瘤活性(图 4)。处理后第 21 d,各组裸鼠体重接近,且均无死亡。处理各组裸鼠,取出所荷肿瘤进行测量。对照组的肿瘤体积为 1506.4 mm<sup>3</sup>, Ad-NDRG2 和 rhTRAIL 治疗组的瘤体积分别为 1012.5 mm<sup>3</sup> 和 1053.2 mm<sup>3</sup>,而两药合用组的瘤体积为 610.4 mm<sup>3</sup>,对肿瘤生长的抑制率分别达到了 32.6%、30.1% 和 54.7%。计算得到两药相互作用指数 CDI 为 0.86,证明 rhTRAIL 和 Ad-NDRG2 联合使用具有协同作用。

讨 论

TRAIL 是肿瘤坏死因子细胞因子家族的新成员,是通过与细胞膜上的相应的死亡受体(death receptor, DR)结合,激活 Caspase-8,从而通过线粒体依赖及线粒体非依赖的途径诱导靶细胞发生快速、高效的凋亡反应<sup>[1-2]</sup>。但 TRAIL 的死亡受体只在肿瘤细胞中有表达,而在正常组织细胞中几乎未见有表达,因此它可以选择性杀伤多种肿瘤细胞,而对正常组织细胞无影响<sup>[3]</sup>。

人源 NDRG2(N-myc downstream regulated gene 2)是 1999 年发现的一个在肿瘤组织中表达水平降低的新基因<sup>[4]</sup>,最近的研究表明 NDRG2 在肿瘤的发生、发展中发挥重要作用<sup>[5-6]</sup>。CyclinD1 作为细胞周期重要的正

表 1 NDRG2 联合 rhTRAIL 对 PC-3 细胞的增殖抑制( $\bar{x} \pm s$ )

组别	吸光度值		
	24 h	48 h	72 h
对照组	0.542±0.044	0.908±0.028	1.028±0.044
Ad-LacZ	0.531±0.041	0.854±0.032	0.992±0.039
Ad-NDRG2	0.527±0.039	0.716±0.036 <sup>a</sup>	0.791±0.033 <sup>a</sup>
10 <sup>-6</sup> ng/ml rhTRAIL	0.432±0.033 <sup>b</sup>	0.643±0.035 <sup>a</sup>	0.825±0.042 <sup>a</sup>
10 <sup>-7</sup> ng/ml rhTRAIL	0.491±0.046	0.708±0.051 <sup>a</sup>	0.856±0.045 <sup>a</sup>
10 <sup>-8</sup> ng/ml rhTRAIL	0.573±0.086	0.752±0.059	0.932±0.056
10 <sup>-6</sup> ng/ml rhTRAIL + Ad-NDRG2	0.397±0.073	0.479±0.056 <sup>c</sup>	0.583±0.068 <sup>c</sup>
10 <sup>-7</sup> ng/ml rhTRAIL + Ad-NDRG2	0.421±0.066	0.575±0.063 <sup>d</sup>	0.642±0.072 <sup>d</sup>
10 <sup>-8</sup> ng/ml rhTRAIL + Ad-NDRG2	0.523±0.052	0.682±0.059	0.796±0.071

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与 10<sup>-6</sup> ng/ml 的 rhTRAIL 比较,<sup>c</sup> $P<0.01$ ;与 10<sup>-7</sup> ng/ml 的 rhTRAIL 比较,<sup>d</sup> $P<0.01$

表 2 Ad-NDRG2 联合 TRAIL 作用 48 h 对 PC-3 细胞周期及凋亡的影响(%,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub> /M	S	凋亡率
对照组	39.2±7.6	6.3±1.2	54.5±9.7	5.3±1.3
Ad-LacZ	40.3±6.3	6.8±1.7	36.9±7.1	4.9±1.6
Ad-NDRG2	51.3±4.3 <sup>a</sup>	8.5±1.5	24.7±6.4	15.6±2.3 <sup>b</sup>
10 <sup>-6</sup> ng/ml rhTRAIL	36.6±2.2	30.4±5.5	33.1±3.6	17.5±3.3 <sup>a</sup>
10 <sup>-7</sup> ng/ml rhTRAIL	39.8±5.3	23.2±6.5	37.2±3.1	11.7±2.1 <sup>b</sup>
10 <sup>-8</sup> ng/ml rhTRAIL	43.6±8.9	25.1±5.3	27.3±4.4	7.1±1.8
10 <sup>-6</sup> ng/ml rhTRAIL + Ad-NDRG2	54.2±5.6 <sup>c</sup>	21.5±6.8	24.3±5.2	42.8±5.9 <sup>c</sup>
10 <sup>-7</sup> ng/ml rhTRAIL + Ad-NDRG2	45.3±6.1 <sup>d</sup>	22.6±3.9	32.1±5.3	35.4±4.2 <sup>d</sup>
10 <sup>-8</sup> ng/ml rhTRAIL + Ad-NDRG2	40.7±9.1	13.6±2.5	20.7±5.4	18.6±3.9

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与 10<sup>-6</sup> ng/ml 的 rhTRAIL 比较,<sup>c</sup> $P<0.01$ ;与 10<sup>-7</sup> ng/ml 的 rhTRAIL 比较,<sup>d</sup> $P<0.01$



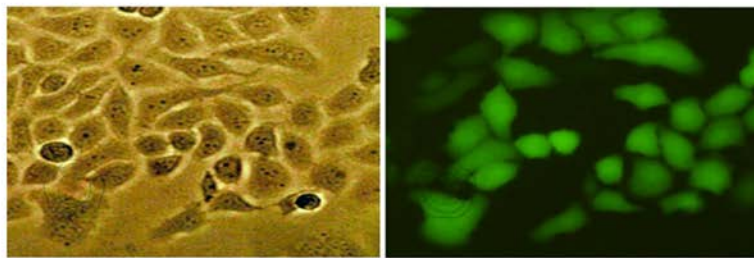


图1 腺病毒最佳感染效率的测定 (左图: 普通光学显微镜, 右图: 荧光显微镜; ×400)

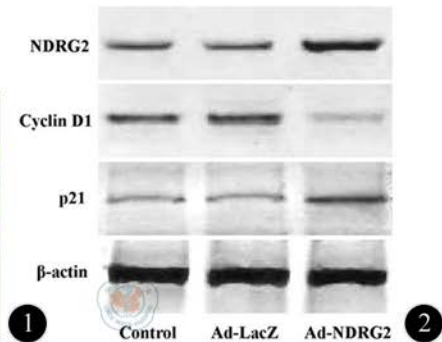


图2 凝胶电泳显示NDRG2

对Cyclin D1和p21蛋白表达水平的影响

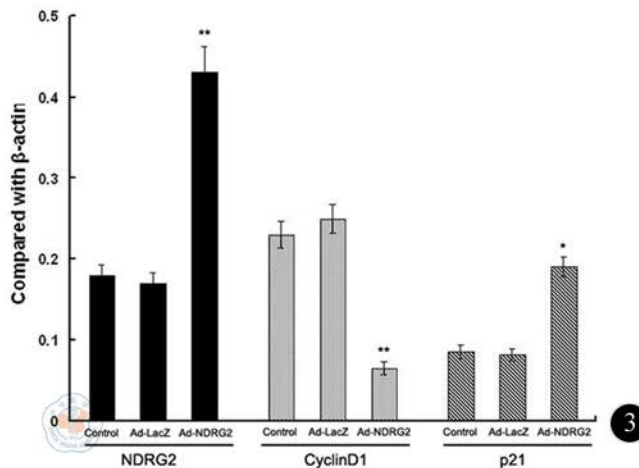


图3 NDRG2对Cyclin D1和p21蛋白表达水平的影响; 与对照组比较, \*P<0.05; 与对照组比较, \*\*P<0.01

肿瘤生长曲线

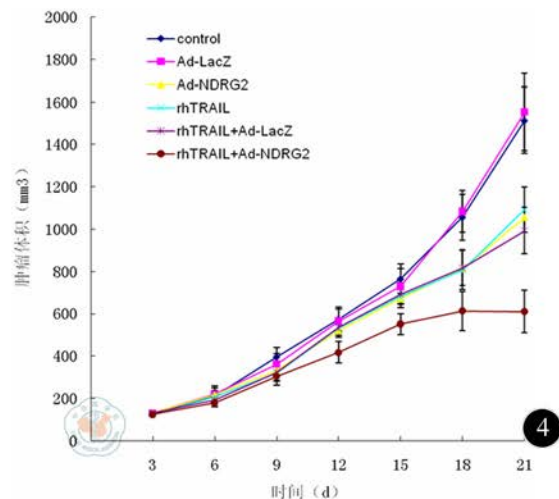


图4 小鼠

调控因子在肿瘤的发生发展过程中起着重要的作用<sup>[7-8]</sup>, 在生理状态下, 细胞进入 S 期后 CyclinD1 迅速分解。在 CyclinD1 基因激活的情况下, CyclinD1 蛋白持续高表达, 将导致 G1 期缩短, 提前进入 S 期, 使细胞增殖失控, 最终形成肿瘤<sup>[9]</sup>。

本研究通过 NDRG2 基因的表达的上调, 检测到细胞周期素依赖性激酶抑制因子 p21 表达上调, 而细胞周期蛋白 D1 表达下降, 进而细胞不能进入 S 期, 而被阻滞在 G1 期。这提示 NDRG2 基因引起前列腺癌细胞凋亡可能与其下调细胞周期蛋白 D1 有关。同时本研究观察到 TRAIL 与 Ad-NDRG2 联合应用后 G2/M 期细胞比例有所下降, G0/G1 期细胞比例增加, 二者协同使 PC-3 细胞的总细胞周期进展得到显著阻滞, 细胞凋亡率显著增加, 并且在体内试验也证实了同样的结论。具体机制可能为 NDRG2 上调细胞中 p53<sup>[10]</sup>的表达, 进而上调了 p21 的表达, 从而抑制了细胞周期蛋白 D1 的表达。因此通过细胞中 NDRG2 基因表达水平的上调而使细胞出现 G1 期阻滞。最新的研究表明<sup>[11]</sup>, 当细胞出现 G1 或 G2 期阻滞; 此时 TRAIL 所诱导的细

胞凋亡明显增强, 提示 TRAIL 对于出现细胞周期阻滞的肿瘤细胞有更强的促凋亡作用。因此, 当 Ad-NDRG2 引起前列腺癌细胞 G1 期阻滞时, TRAIL 的促凋亡活性增强, 从而使 Ad-NDRG2 诱导凋亡的作用得到了显著的增强。

综上, 本实验发现 TRAIL 与携带 NDRG2 基因的腺病毒载体协同作用可以显著增强它们对前列腺癌 PC-3 细胞增殖的抑制, 促进其凋亡, 并可以上调 p21 的表达, 同时下调 CyclinD1 的表达。体内试验同时使用可显著抑制荷瘤鼠肿瘤生长, 证明二者协同可以提高对难治性前列腺癌的治疗效果。

参 考 文 献

[1] Wu JH, Wang HF, Wang ZC, et al. Conditionally replicating adenovirus combined with gene-targeted radiotherapy induces apoptosis via TRAIL death receptors in MDA-MB-231 cells. Mol Med Rep, 2013, 8: 299-305.  
 [2] Lane D, Cartier A, L'Esperance S, et al. Differential induction of apoptosis by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in human ovarian carcinoma cells. Gynecol Oncol, 2004, 93: 594-604.  
 [3] Aggarwal BB, Bhardwaj U, Takada Y. Regulation of TRAIL-induced apoptosis by ectopic expression of antiapoptotic factors. Vitam Horm, 2004, 67: 453-483.

- [4] 邓艳春, 药立波, 刘新平, 等. 人脑内一含有 ACP 样结构域新基因的发现. 生物化学与生物物理进展, 2001, 28: 72-76.
- [5] Gao L, Wu GJ, Liu XW, et al. Suppression of invasion and metastasis of prostate cancer cells by overexpression of NDRG2 gene. *Cancer Lett*, 2011, 310: 94-100.
- [6] Yao L, Zhang J, Liu X. NDRG2: a Myc-repressed gene involved in cancer and cell stress. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2008, 40: 625-635.
- [7] Shirali S, Aghaei M, Shabani M, et al. Adenosine induces cell cycle arrest and apoptosis via cyclinD1/Cdk4 and Bcl-2/Bax pathways in human ovarian cancer cell line OVCAR-3. *Tumour Biol*, 2013, 34: 1085-1095.
- [8] Zhang B, Liu W, Li L, et al. KAI1/CD82 and CyclinD1 as biomarkers of invasion, metastasis and prognosis of laryngeal squamous cell carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6: 1060-1067.
- [9] Li X, Hao Z, Fan R, et al. CIAPIN1 inhibits gastric cancer cell proliferation and cell cycle progression by downregulating CyclinD1 and upregulating P27. *Cancer Biol Ther*, 2007, 6: 1539-1545.
- [10] Liu N, Wang L, Li X, et al. N-Myc downstream-regulated gene 2 is involved in p53-mediated apoptosis. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36: 5335-5349.
- [11] Ehrhardt H, Wachter F, Grunert M, et al. Cell cycle-arrested tumor cells exhibit increased sensitivity towards TRAIL-induced apoptosis. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e661.

(收稿日期: 2013-06-18)

(本文编辑: 戚红丹)

崔潇义, 高磊, 李瑞晓, 等. 腺病毒介导 NDRG2 基因和 rhTRAIL 对人前列腺癌细胞株 PC-3 的协同作用 [J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2013, 7(15): 7039-7043.

