

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.04.005

· 基础研究 ·

重组 p53 腺病毒对人肺腺癌 H1299 细胞体内外的抑制作用

周小娟¹, 司小敏¹, 王云梅², 吕建建¹ (1. 西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤内科, 陕西西安 710061; 2. 陕西省肿瘤医院内科, 陕西西安 710061)

[摘要] **目的:** 研究重组 p53 腺病毒(recombinant adenovirus-p53, rAd-p53)在体内、外对肺腺癌 H1299 细胞(野生型 p53 基因缺失)生长的抑制作用, 观察 rAd-p53 尾静脉注射治疗肺腺癌的可行性。**方法:** MTT 法检测 rAd-p53 对 H1299 细胞增殖的抑制作用。rAd-p53 以感染复数(multiplicity of infection, MOI) = 500 感染 H1299 细胞, 24 h 后 RT-PCR 检测 H1299 细胞中 p53 mRNA 表达, 72 h 后 Western blotting 检测 P53 蛋白的表达、流式细胞术检测 H1299 细胞凋亡。H1299 细胞皮下接种 BALB/c 裸鼠, 建立裸鼠肺腺癌模型, 尾静脉注射 rAd-p53, 观察肿瘤生长情况, 绘制肿瘤生长曲线。**结果:** rAd-p53 以 MOI = 500 感染 H1299 细胞, 24 h 后有野生型 p53 mRNA 转录, 72 h 后有 P53 蛋白表达; 且 rAd-p53 感染可明显抑制 H1299 细胞增殖, 72 h 时, rAd-p53 组细胞增殖比显著低于对照组 (2.8 ± 0.4 vs 6.1 ± 0.5 , $P < 0.05$)。感染 rAd-p53 后, 随时间增加 H1299 细胞凋亡率呈上升趋势, 48 h 时 rAd-p53 组细胞凋亡率显著高于对照组, [$(27.6 \pm 0.05)\%$ vs $(4.9 \pm 0.09)\%$, $P < 0.01$]。成功建立 H1299 细胞荷瘤裸鼠模型, 尾静脉注射 rAd-p53 2 周后移植瘤体积显著小于对照组 [(0.875 ± 0.253) vs (0.479 ± 0.215) cm³, $P < 0.05$]。**结论:** rAd-p53 感染可上调 H1299 细胞 P53 蛋白的表达, 抑制 H1299 细胞增殖、促进其凋亡, 并且尾静脉注射 rAd-p53 可明显抑制 H1299 细胞裸鼠移植瘤的生长。

[关键词] 重组人 p53 腺病毒; 肺腺癌; 静脉注射; 增殖; 移植瘤

[中图分类号] R730.54; R734.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)04-0409-05

Inhibitory effects of recombinant adenovirus-p53 on human lung adenocarcinoma H1299 cells *in vitro* and *in vivo*

Zhou Xiaojuan¹, Si Xiaomin¹, Wang Yunmei², Lü Jianjian¹ (1. Department of Oncology, First Hospital Affiliated to Medical College of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shaanxi, China; 2. Department of Internal Medicine, Cancer Hospital of Shaanxi Province, Xi'an 710061, Shaanxi, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the inhibitory effects of recombinant adenovirus-p53 (rAd-p53) on the growth of lung adenocarcinoma H1299 cells (wtP53^{-/-}) *in vitro* and *in vivo*, and observe the treatment feasibility of lung adenocarcinoma with tail intravenous injection of rAd-p53. **Methods:** MTT assay was performed to detect the inhibitory effect of rAd-p53 on the proliferation of H1299 cells. After transfected by rAd-p53 with multiplicity of infection (MOI) = 500, the expression of p53 mRNA in H1299 cells was detected by RT-PCR at 24 h; the expression of P53 protein in H1299 cells and the apoptosis of H1299 cells were detected at 72 h by Western blotting and flow cytometry, respectively. BALB/c nude mice were injected subcutaneously with H1299 cells to establish a lung adenocarcinoma nude mice model and then the mice were intravenously administrated by rAd-p53; the tumor growth was observed and tumor growth curve was drawn. **Results:** H1299 cells were infected by rAd-p53 with MOI = 500; after infection for 24 h, wild-type p53 mRNA was expressed in rAd-p53 group, and at 72 h, wt P53 protein was detected in rAd-p53 group. rAd-p53 infection could significantly inhibit the proliferation of H1299 cells, the cell proliferation ratio of rAd-p53 group was significant lower than that of the control group (2.8 ± 0.4 vs 6.1 ± 0.5 , $P < 0.05$). The apoptotic rates of H1299 cells in rAd-p53 group were in-

[基金项目] 陕西省科技计划资助项目(No. 2010k14-02-01)。Project supported by the Science and Technology Program of Shaanxi Province (No. 2010k14-02-01)

[作者简介] 周小娟(1954-), 女, 陕西省西安市人, 副主任医师, 硕士生导师, 主要从事恶性肿瘤的综合治疗和研究。E-mail: zhouxiaojuan6@126.com

[通信作者] 周小娟(Zhou Xiaojuan, correspondence author), E-mail: zhouxiaojuan6@126.com

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20130722.1255.001.html>

creased with time, which were significantly higher than those in the control group ($[27.6 \pm 0.05]\%$ vs $[4.9 \pm 0.09]\%$, $P < 0.01$) after infection for 48 h. H1299 tumor-bearing nude mice were successfully established, and the tumor volume of rAd-p53 group was significantly smaller than that of the control group even two weeks after tail intravenous injection ($[0.875 \pm 0.253]\text{ cm}^3$ vs $[0.479 \pm 0.215]\text{ cm}^3$, $P < 0.05$). **Conclusion:** Tail intravenous infection of rAd-p53 could up-regulate the protein expression of P53 in H1299 cells, then restrain the growth of H1299 cells, promote the apoptosis and significantly inhibit the growth of H1299 cell xenograft tumors in nude mice.

[**Key words**] recombinant adenovirus-p53; lung adenocarcinoma; intravenous injection; proliferation; xenograft tumor
[Chin J Cancer Biother, 2013, 20(4): 409-413]

肺癌是高度恶性的肿瘤,随着早期诊断和手术技术的改进以及新辅助治疗手段的临床应用,疗效已取得很大提高,但全球肺癌病死率仍高居癌症病死率的第一位^[1-2]。肺癌主要通过外科手术治疗,早期手术后5年生存率为67%,中晚期仅为30%^[3],然而其发病隐匿,多数患者确诊时已是晚期。非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)约占肺癌的75%,p53基因突变在NSCLC中发生率约50%,并且p53基因突变与晚期NSCLC耐药性显著相关^[4]。2003年,我国国家食品药品监督管理局批准我国自行设计生产的重组人p53腺病毒注射液(rAd-p53, Gendicine; 商品名“今又生”)为世界上第一个正式批准上市的肿瘤基因治疗药物。rAd-p53对多种白血病、成胶质细胞瘤、头颈部肿瘤、肝、卵巢、结肠和肾等多种肿瘤均有抑制作用^[5-7],其通过复制缺陷型病毒感染细胞,理化性质稳定,感染效率较高,遗传因素稳定,临床应用安全性较好^[8]。目前rAd-p53多被用于瘤体注射或腹腔注射,疗效确切^[9-10],但静脉全身应用未见报道。本实验旨在明确rAd-p53对人非小细胞肺癌H1299细胞株体内外的抑制作用,并初步探索通过静脉全身给药的疗效及安全性。

1 材料与方法

1.1 材料与细胞培养

重组rAd-p53病毒购自深圳赛百诺基因技术公司(规格: 1×10^{12} VP/支)。兔抗人P53多抗购自美国Bioworld公司,兔抗人 β -actin单抗购自美国Santa Cruz公司,辣根过氧化物酶标记羊抗兔抗体购自美国Sigma公司,RPMI 1640购自美国Gibco公司,胎牛血清购自浙江天杭生物科技有限公司,细胞凋亡试剂盒购自珠海健康元生物医药有限公司。BALB/c裸鼠(15~17 g)购自北京维通利华实验动物中心,合格证号为SCXK(京)2012-0001,饲养环境为SPF级动物房。动物的实验及处理经过西安交通大学医学院动物实验伦理委员会的批准。人肺癌细胞株H1299购自北京医科院肿瘤细胞库,接种于含10%胎牛血清

的RPMI 1640培养基中,置37℃、5% CO₂饱和湿度培养箱中培养。细胞为贴壁生长,用0.25%的胰蛋白酶消化传代,每2 d换液1次。稳定传代2或3代后,取对数生长期细胞进行实验。

1.2 MTT法检测rAd-p53对H1299细胞增殖的抑制作用

取对数生长期H1299细胞按 3×10^3 个/孔的密度接种于96孔培养板,每孔200 μl 。24 h后换液,设空白调零组(不接种细胞)、对照组(接种细胞并加入等容积PBS)及实验组(rAd-p53分别以MOI = 0.50、100、200、400、800感染H1299细胞)。每组设5个复孔,分别继续培养24、48、72 h后进行MTT法检测。酶标仪测定波长490 nm处各孔光密度(D)值。计算细胞生长的抑制率($\%$) = $(1 - D_{\text{实验组}} / D_{\text{对照组}}) \times 100\%$ 。直线回归法计算rAd-p53作用于H1299细胞的IC₅₀值(MOI)。以rAd-p53 MOI的IC₅₀值感染细胞,计算细胞增殖比 = $D_{\text{实验组}} / D_{0\text{h}}$,绘制H1299细胞增殖曲线。

1.3 RT-PCR检测H1299细胞p53 mRNA的表达

以MOI = 500(IC₅₀)的rAd-p53感染H1299细胞(1×10^7 个),分别在0、24 h提取细胞总RNA进行RT-PCR检测。引物由西安先锋生物技术公司设计、上海生工公司合成。取1 μg RNA,加入逆转录酶(RevertAid™ M-MuLV)、六聚体随机引物、RNA酶抑制剂、5 μl 反应缓冲液、dNTP、Oligo(dT)18 Primer,总反应体积为25 μl ,进行cDNA第一链的合成。PCR反应总体积为25 μl ,其中含cDNA 2 μl 。wtP53的引物序列:上游引物为5'-ATTCTGGGACAGCCAAGTC-3',下游引物为5'-TAGTTGTACTGATGGTGGTA-3'; GAPDH上游引物为5'-CAAGC-TATTTCTGGTATGAC-3',下游引物为5'-CAGT-GAGGGTCTCTCTTCTCCT-3'。反应条件:94℃预变性5 min,94℃、30 s,60℃、1 min,72℃、1 min,共35次循环,最后72℃延伸5 min。取5 μl 扩增产物行琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像仪观察、拍摄并保存图片,观察wtp53在转录水平表达情况。

1.4 Western blotting 检测 H1299 细胞 P53 蛋白的表达

分别将 1×10^6 个对数期生长的 H1299 细胞接种在两个培养瓶中,24 h 后换液,将 rAd-p53 以 MOI = 500 (IC_{50}) 感染无血清培养的细胞,1 h 后弃去上清,更换含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 完全培养基。分别提取处理 0、72 h 后的细胞总蛋白,用 BCA 试剂盒测定蛋白质浓度,按说明书操作。取两个时间点的蛋白样品经 SDS-PAGE 后在湿性转膜条件下转膜 75 min,用 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h,加入兔抗人 P53 多抗和兔抗人 β -actin 单抗、羊抗兔二抗孵育后,按发光试剂盒说明书操作,显示蛋白质条带。

1.5 流式细胞术检测 rAd-p53 对 H1299 细胞周期及凋亡的影响

取对数生长期的 H1299 细胞,以 1×10^6 个/ml 的细胞密度接种于培养瓶中,24 h 后换液。设对照组(不加药物)、rAd-p53 组(MOI = 500)。每组重复 3 次。培养 72 h 后收集所有悬浮及贴壁细胞。检测前用 $1 \times$ PBS 洗涤 2 次,4 $^{\circ}C$ 、 $1\ 500 \times g$ 离心 5 min 后,弃上清,每管细胞用 500 μ l 结合缓冲液重悬,分别避光加入 5 μ l Annexin V-FITC 及 10 μ l 碘化丙啶(propidium iodide, PI),暗处避光染色 15 min 后用流式细胞仪检测 H1299 细胞凋亡率。

1.6 人肺腺癌 H1299 细胞荷瘤小鼠模型的建立

无菌条件下取对数生长期的 H1299 细胞,胰酶消化、离心后用无菌 $1 \times$ PBS 重悬至细胞密度为 5×10^7 个/ml。12 只 BALB/c 裸鼠每只皮下接种 0.2 ml 细胞,每周测量瘤体生长情况。待肿瘤体积达到 (100 ± 10) mm³ 时,将 12 只小鼠随机分为 2 组:对照组,隔日尾静脉注射生理盐水 0.2 ml/只,共 4 周; rAd-p53 组,隔日尾静脉注射 rAd-p53 1×10^9 VP/只,共 4 周。每周以游标卡尺测量肿瘤体积,末次注射 72 h 后脱颈椎处死小鼠,绘制肿瘤生长曲线。肿瘤体积 $V = a \times b^2 / 2$ (a 为长径, b 为短径)。

1.7 统计学处理

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 软件进行分析,各组间差异采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 rAd-p53 感染抑制 H1299 细胞的增殖

MTT 检测结果显示,在 MOI = 50、100、200、400、800 时, rAd-p53 对 H1299 细胞增殖的抑制率分别为 $(18.56 \pm 0.46)\%$ 、 $(23.26 \pm 0.32)\%$ 、 $(31.27 \pm 0.38)\%$ 、 $(42.35 \pm 0.65)\%$ 、 $(68.25 \pm 0.58)\%$, 直线回归法计算 H1299 细胞的 rAd-p53 的

IC_{50} 值为 $MOI = 514.06 \pm 0.46$ 。以 MOI = 500 感染细胞,绘制 H1299 细胞增殖曲线(图 1),可见随着药物作用时间延长, rAd-p53 组细胞增殖缓慢,在 72 h 时, rAd-p53 组细胞增殖比显著低于对照组 $(2.8 \pm 0.4$ vs $6.1 \pm 0.52, P < 0.05)$ 。

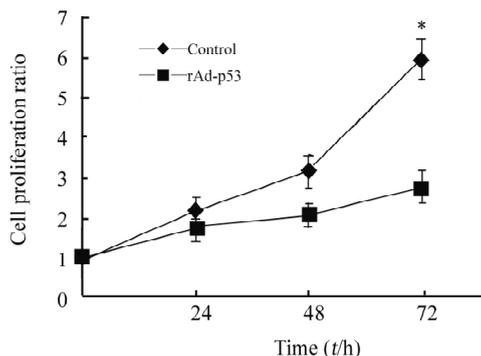


图 1 rAd-p53 感染抑制 H1299 细胞增殖
Fig. 1 rAd-p53 infection suppressed the proliferation of H1299 cells

* $P < 0.05$ vs control group

2.2 rAd-p53 感染上调 H1299 细胞 p53 mRNA 和蛋白的表达

H1299 为野生型 p53 缺失肺癌细胞株,以野生型 p53 引物扩增结果显示: rAd-p53 感染 24 h 后, H1299 细胞明显表达了野生型 p53 mRNA(图 2); rAd-p53 感染 0、72 h 后,提取细胞总蛋白进行 Western blotting 检测,结果显示 rAd-p53 感染 72 h 后 H1299 细胞有野生型 P53 蛋白的表达(图 3)。

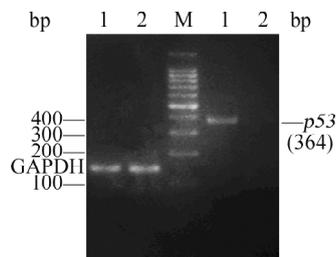


图 2 rAd-p53 感染上调 H1299 细胞 p53 mRNA 的表达
Fig. 2 rAd-p53 infection up-regulated the expression of p53 mRNA in H1299 cells

M: DNA Marker; 1: 0 h after injection; 2: 24 h after infection

2.3 rAd-p53 促进 H1299 细胞的凋亡

rAd-p53 以 MOI = 500 感染 H1299 细胞,在 0、24、48、72 h 4 个时间点通过流式细胞术检测细胞凋亡,结果显示,随着时间增加, rAd-p53 感染组和对照

组 H1299 细胞凋亡率均呈上升趋势(图 4), 且 rAd-p53 组 H1299 细胞凋亡率显著高于对照组, 24 h 时 rAd-p53 组和对照组 H1299 细胞凋亡率分别为 $(14.5 \pm 0.07)\%$ 和 $(4.2 \pm 0.03)\%$ ($P < 0.05$)。此外, rAd-p53 处理 72 h 后早期凋亡细胞较对照组也明显增多(图 5)。

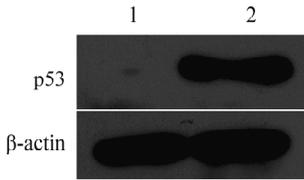


图 3 rAd-p53 感染上调 H1299 细胞 P53 蛋白表达

Fig. 3 rAd-p53 infection up-regulated the expression of P53 protein in H1299 cells

1: 0 h after infection; 2: 72 h after injection

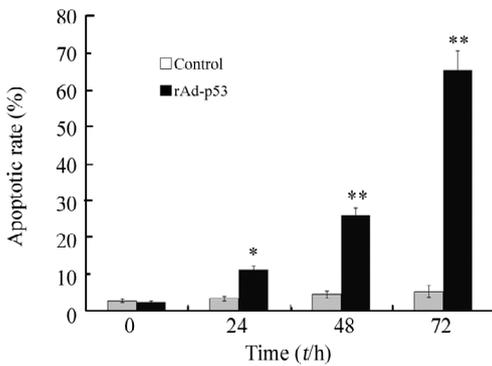


图 4 rAd-p53 感染促进 H1299 细胞凋亡

Fig. 4 rAd-p53 infection increased apoptosis of H1299 cells

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group

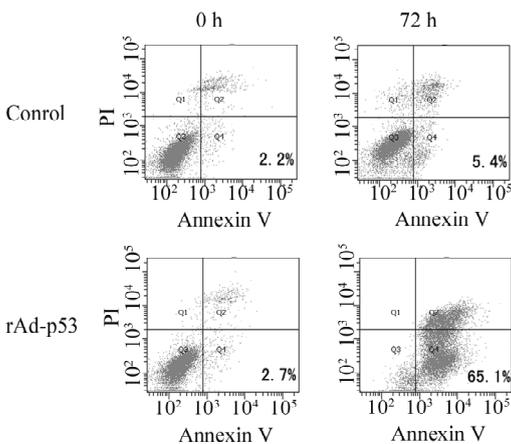


图 5 rAd-p53 感染促进 H1299 细胞早期凋亡

Fig. 5 rAd-p53 infection increased early apoptosis of H1299 cells

2.4 rAd-p53 抑制人肺腺癌 H1299 细胞裸鼠移植瘤的生长

记录 PBS 或 rAd-p53 处理后 1~4 周 H1299 细胞裸鼠移植瘤体积变化, 绘制肿瘤生长曲线(图 6)。结果显示, 随时间延长, 与 PBS 对照组相比, rAd-p53 组裸鼠移植瘤生长缓慢, 给药 2 周后 rAd-p53 组小鼠移植瘤体积显著小于对照组 [(0.479 ± 0.215) vs (0.875 ± 0.253) cm^3 , $P < 0.05$]。

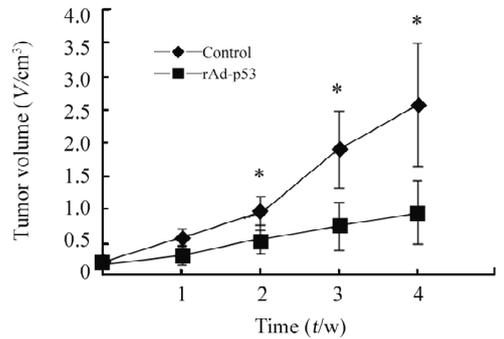


图 6 rAd-p53 抑制 H1299 细胞裸鼠移植瘤的生长

Fig. 6 rAd-p53 inhibited the growth of H1299 cell-implanted tumor in nude mice

* $P < 0.05$ vs control group

3 讨论

p53 基因对细胞周期、生长调控起重要作用, 其突变或缺失直接与多种肿瘤发生相关, 约 50% 的肺癌存在此基因的突变或缺失^[11], 因此维持 p53 基因正常功能对治疗肿瘤至关重要。p53 基因可通过激活 p21/waf/cip1, 调控 Bax、Fas、Smad4 等通路来调控细胞的周期、凋亡和衰老, 抑制肿瘤血管生成^[12-14]。研究^[15-18]发现, p53 基因表达情况与肺癌、肝癌、乳腺癌、胃癌等多种肿瘤耐药有关, 野生型 P53 蛋白可逆转肿瘤耐药。rAd-p53 通过病毒携带野生型 p53 基因, 感染细胞后重新发挥 p53 基因的抗肿瘤功能。

肺癌在我国的发病率呈上升趋势, 资料^[19]显示, 经过各种方法的预防及对危险因素的控制, 其发病率在 20 世纪 90 年代总体趋势有所下降, 但是其病死率仍居肿瘤排行之首。目前肺癌的治疗手段主要是手术、化疗、放疗和基因分子靶向治疗等联合的综合治疗, 其内科治疗主要为全身化放疗结合。含铂化疗方案是目前晚期 NSCLC 的标准方案, 能降低约 12% 晚期 NSCLC 的 1 年死亡率^[20], 而顺铂耐药是肺癌治疗失败的主要原因。Osaki 等^[21-22]证明, 重组人 p53 腺病毒可增加肺癌对顺铂、5-氟尿嘧啶、

伊立替康、多西他赛、多柔比星和足叶乙甙等常用化疗药物的敏感性。Ma 等^[23]最新研究表明,重组人 p53 腺病毒可增加肺癌 A549 细胞株对放疗的敏感性。

本研究结果显示,rAd-p53 可抑制肺腺癌 H1299 细胞生长、促进其凋亡,在体外对肺腺癌 H1299 细胞有明显的杀伤效应。目前,rAd-p53 多经局部瘤内注射方式用于癌症的临床治疗,而 p53 基因突变或缺失存在于肺癌发生的各个阶段,希望能够对于不适于瘤内注射治疗的患者采取静脉注射的方法,因此有必要开展 rAd-p53 静脉注射的全身应用的有效性和安全性研究。本研究发现,通过静脉注射 rAd-p53 可明显抑制肺腺癌 H1299 细胞移植瘤在小鼠体内的生长,疗效确切;且 rAd-p53 应用 5 型-腺病毒作为载体,具有免疫原性及致病性弱等特点^[24],在整个实验过程中未见实验动物死亡,可见其在全身应用的安全性较好。结合多项 rAd-p53 增加放化疗敏感性的报道,考虑可将 rAd-p53 联合其他靶向治疗药物,增加对肺癌的治疗效果。

本研究为 rAd-p53 在临床上应用于静脉注射提供了实验基础。rAd-p53 是第一个上市的抑癌基因治疗药物,其疗效对其他抑癌基因的使用可起到示范作用,因此呼吁更多的大型临床试验,积累数据,验证疗效,从而使更多肿瘤患者受益。

[参 考 文 献]

[1] 李连弟,鲁凤珠,张思维,等. 中国恶性肿瘤死亡率 20 年变化趋势和近期预测分析 [J]. 中华肿瘤杂志, 1997, 19, (1): 3-9.

[2] Ahmedin J, Freddie B, Melissa MC, et al. Global cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.

[3] Mountain CF. Revisions in the international system for staging lung cancer [J]. Chest, 1997, 111(6): 1710-1717.

[4] Daniela K, Georgios S, Wilfried E, et al. Growing clinical evidence for the interaction of the p53 genotype and response to induction chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2008, 135(5): 1036-1041.

[5] Lebedeva IV, Su ZZ, Sarkar D, et al. Restoring apoptosis as a strategy for cancer gene therapy: Focus on p53 and mda-7 [J]. Semin Cancer Biol, 2003, 13(2): 169-178.

[6] Choi JW, Ahn WS, Bae SM, et al. Adenoviral p53 effects and cell specific E7 protein interactions of human cervical cancer cells [J]. Biosens Bioelectron, 2005, 20(11): 2236-2243.

[7] Kigawa J, Terakawa N. Adenovirus-mediated transfer of a p53 gene in ovarian cancer [J]. Adv Exp Med Biol, 2000, 465: 207-214.

[8] Lorne JH, Perwez H, Curtis CH. p53: 25 years after its discovery [J]. Trends Pharmacol Sci, 2004, 25(4): 177-181.

[9] Pan JJ, Zhang SW, Chen CB, et al. Effect of recombinant adeno-

virus-p53 combined with radiotherapy on long-term prognosis of advanced nasopharyngeal carcinoma [J]. J Clin Oncol, 2009, 27 (5): 799-804.

[10] 王月,蔡哲,成建,等. 重组人 p53 腺病毒注射液联合顺铂治疗 95 例恶性胸腔积液 [J]. 广东医学, 2010, 31(22): 2988-2990.

[11] Fisher MD. Strategies to restore p53 function in patients with lung cancer [J]. Clin Lung Cancer, 2001, 3(2): 99-101.

[12] Moll UM, Wolff S, Speidel D, et al. Transcription-independent pro-apoptotic functions of P53 [J]. Curr Opin Cell Biol, 2005, 17 (6): 631-636.

[13] Levine AJ, Finlay CA, Hinds PW. p53 is a tumor suppressor gene [J]. Cell, 2004, 116(2): 67-69.

[14] Kalo E, Buganim Y, Shapira KE, et al. Mutant p53 attenuates the SMAD-dependent transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) signaling pathway by repressing the expression of TGF- β receptor type II [J]. Mol Cell Biol, 2007, 27(23): 8228-8242.

[15] 郭杨,张英俊,杨会钗,等. 肺癌组织中耐药相关蛋白和 p53 bcl-2 表达及其意义 [J]. 中国肿瘤临床, 2005, 32(18): 1037-1039.

[16] 张沁宏,向德兵,卿毅,等. 重组人 P53 腺病毒增强肝癌细胞放疗的敏感性 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2008, 15(5): 458-463.

[17] 吴新刚,彭姝彬,闫四平,等. p53 对乳腺癌耐药蛋白基因的转录调控 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2012, 28(2): 152-157.

[18] 吕汪霞,苏丹,冯建国,等. 重组人 p53 腺病毒逆转非小细胞肺癌顺铂耐药的体外研究 [J]. 肿瘤基础与临床, 2008, 21 (5): 373-376.

[19] Rebecca S, Deepa N, Ahmedin J. Cancer statistics, 2013 [J]. CA Cancer J Clin, 2013, 63(1): 11-30.

[20] Inoue A, Narumi K, Mat subara N, et al. Administration of wild-type p53 adenoviral vector synergistically enhances the cytotoxicity of anti-cancer drugs in human lung cancer cells irrespective of the status of p53 gene [J]. Cancer Lett, 2000, 157(1): 105-112.

[21] Osaki S, Nakanishi Y, Takayama K, et al. Alteration of drug chemosensitivity caused by the adenovirus-mediated transfer of the wild-type p53 gene in human lung cancer cells [J]. Cancer Gene Ther, 2000, 7(2): 300-307.

[22] Horio Y, Hasegawa Y, Sekido Y, et al. Synergistic effects of adenovirus expressing wild-type p53 on chemosensitivity of non-small cell lung cancer cells [J]. Cancer Gene Ther, 2000, 7(4): 537-544.

[23] Ma JT, Han CB, Zhao JZ, et al. Synergistic cytotoxic effects of recombinant human adenovirus P53 and radiation at various time points in A549 lung adenocarcinoma cells [J]. Oncol Lett, 2012, 4(3): 529-533.

[24] 赵新汉,田方,王志宇. 肿瘤基因治疗载体的研究现状和展望 [J]. 现代肿瘤医学, 2007, 15(12): 1879-1882.

[收稿日期] 2013 - 03 - 19

[修回日期] 2013 - 05 - 20

[本文编辑] 黄静怡