

双基因溶瘤腺病毒联合 5-FU 抑制肺癌细胞增殖的研究

王世兵^a, 孟树林^b, 武 虎^b, 马步云^b

(浙江理工大学, a. 生命科学学院科研实验中心; b. 新元医学与生物技术研究所, 杭州 310018)

摘 要: 研究携带 TRAIL 和 Smac 的双基因溶瘤腺病毒(ZD55-TRAIL-IETD-Smac)联合化疗药物 5-氟尿嘧啶(5-FU)对肺癌细胞的体外杀伤作用。通过 MTT 法检测细胞抑制率,流式细胞术检测细胞凋亡率,Western Blot 检测杀伤性基因表达与凋亡相关蛋白表达。结果显示 ZD55-TRAIL-IETD-Smac 与 5-FU 联合应用能有效地抑制肺癌细胞的增殖,并通过激活 Caspase 通路诱导肺癌细胞产生凋亡,表明,5-FU 能够显著增强携带 TRAIL 和 Smac 的双基因溶瘤腺病毒对肺癌细胞的杀伤作用,为肺癌的临床应用提供了参考。

关键词: ZD55-TRAIL-IETD-Smac; 5-FU; 肺癌; 凋亡

中图分类号: Q789

文献标志码: A

0 引 言

肺癌是最为常见的恶性肿瘤之一,尤其在城市,其高发病率与死亡率都居于恶性肿瘤之首,严重威胁着人类的健康。目前,肺癌治疗仍然以传统的手术放疗、化疗为主,然而其治疗后 5 年生存率仅为 15%,随着人类对癌症发病机制的深入研究,人们把关注的目光投向了生物治疗^[1-2]。中国科学院刘新垣院士在提出癌症靶向基因-病毒治疗的策略^[3](cancer targeting gene-virotherapy, CTGVT)后又提出了癌症的靶向双基因治疗策略^[4-5](Cancer targeting dual gene-virotherapy),其基本理念是利用肿瘤细胞与正常细胞在基因表达谱上的差异,人为改造病毒,使病毒能特异性地在肿瘤细胞中复制与增殖,最终裂解细胞,而在正常细胞中几乎不复制,对正常细胞安全。同时以这种肿瘤特异性的病毒为载体,将外源抑癌基因克隆到病毒基因组中,随着病毒不断扩增,使得抗癌基因得到高表达,病毒与抑癌基因两者协同作用达到抗肿瘤的作用。

以 ZD55-gene 系统构建的溶瘤腺病毒具有仅特异地在肿瘤细胞内复制增殖,从而杀死癌细胞,而不影响正常细胞的特性。双基因溶瘤腺病毒 ZD55-

TRAIL-IETD-Smac 治疗肝癌移植瘤的研究显示,ZD55-TRAIL-IETD-Smac 能在体外、体内抑制肝癌细胞的增殖^[6],但治疗肺癌的研究未见报道。5-FU 是一种抗肿瘤的化疗药物,抑制脱氧胸苷酸合成酶,阻止脱氧尿苷酸(dUMP)甲基化转变为脱氧胸苷酸(dTMP),从而影响 DNA 的合成。尽管 5-FU 单独治疗并不能显著改善患者的生存率,然而通过与溶瘤腺病毒联合治疗,5-FU 通常有不错的协同治疗效果,研究表明 ZD55-MnSOD 联合 5-FU 具有协同作用,可以显著提高对结肠癌的疗效^[7],5-FU 与 Ad-del-E1B55 联合治疗可以减少单独治疗时的用药量,治疗效果却要高于单独用药的疗效^[8]。Ad-shTS 与 5-FU 联合治疗有效地抑制了 DLD-1/5FU, KM12C/5FU 和 NMGC-3/5FU 三种耐药癌细胞的增殖^[9]。5-FU 与 hTRAIL 联合治疗能显著提高 hTRAIL 诱导多种癌细胞的凋亡^[10-12],而且这种协同作用在一些多药耐药细胞系以及 TRAIL 耐药癌细胞系都有所发现^[13-14]。因此,基因治疗和化疗联合治疗可以作为癌症治疗的新思路。

TRAIL 基因属于 TNF 超家族,由于其具有特异性地诱导多种肿瘤细胞凋亡且不影响正常细胞的特性而备受青睐。TRAIL 基因主要通过结合于肿

收稿日期: 2013-10-21

基金项目: 国家自然科学基金(51272236, 51002139); 浙江省自然科学基金(LY13H080005); 浙江省公益性技术应用研究计划项目(2014C37101)

作者简介: 王世兵(1986-),男,安徽宣城人,助理实验师,研究方向为恶性肿瘤的生物治疗。

瘤细胞表面的死亡受体,促使依赖于线粒体信号途径的细胞凋亡^[15-16]。尽管 TRAIL 可通过与死亡受体 DR4 或 DR5 特异地结合并诱导癌细胞凋亡^[17-18],然而许多癌细胞对 TRAIL 诱导的凋亡高度钝化^[19-21]。Smac 基因可以通过 Cytochrome c/Apaf-1/Caspase-9 信号通路,激活 Caspase 级联反应,主要通过抑制 IAPs,促进细胞凋亡^[22]。Smac 过表达可以有效增加细胞对凋亡刺激的敏感性^[23-24];因此,笔者联合双基因溶瘤腺病毒 ZD55-TRAIL-IETD-Smac 与 5-FU 体外作用于肺癌细胞,其效果远远强于基因治疗或化疗分别单独作用肺癌细胞时的效果。本研究主要探讨了 ZD55-TRAIL-IETD-Smac 联合 5-FU 对于肺癌细胞增殖的抑制以及其诱导细胞凋亡的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

人肺癌细胞株 H1299、NCI-H460 和 A549 由本实验室保存,细胞均培养于体积分数为 5% CO₂、37℃ 的培养箱中,细胞培养液为含 10% FBS 的 DMEM (Dulbeccos modified Eagle medium),DMEM 购自杭州吉诺生物技术有限公司,FBS 购自 GIBCO 公司;MTT 染料购自 Sigma 公司;Caspase-3, Caspase-8 抗体购自 Cell Signaling Technology 公司;TRAIL、Smac、E1A、poly(ADP-ribose) polymerase(PARP)和 GAPDH 抗体均购自 Santa Cruz 公司;BCA 法蛋白定量试剂盒购自 Thermo Fisher 公司;IRDye® 680 Donkey Anti-Goat IgG, IRDye® 680 Donkey Anti-Mouse IgG, IRDye® 800 Donkey Anti-Rabbit IgG 均购自 LI-COR 公司。

1.2 方法

1.2.1 MTT 染色检测细胞增殖

取生长状态良好的对数生长期细胞,收集细胞,用含 5% FBS 的 DMEM 重悬细胞,计数,将细胞稀释至需要的密度,以每孔 100 μ L 接种于 96 孔板中,使细胞密度为 1×10^4 个/孔。5% CO₂、37℃ 培养 12 h 分别在相应孔中加病毒 ZD55-TRAIL-IETD-Smac, 5-FU, 病毒 ZD55-TRAIL-IETD-Smac + 5-FU, 实验组与对照组分别设 5 个复孔。孵育 72 h 后,每孔加入 20 μ L MTT 溶液(5 g/L,即 0.5% MTT),继续培养 4 h 后终止培养,小心吸去孔内培养液,每孔加入 150 μ L 二甲基亚砷,置摇床上低速振荡 10 min,使结晶物充分溶解,酶联免疫检测仪测量各孔的 OD_{490 nm} 吸光值,同时设置调零孔。

细胞生存率 = (处理组吸光值 - 调零孔吸光值) / (对照孔吸光值 - 调零孔吸光值) $\times 100\%$ 。

1.2.2 流式细胞术检测细胞凋亡率

在 6 孔板中以每孔 5×10^5 个细胞接种细胞,37℃、5% CO₂ 贴壁培养 12 h 后,在处理组细胞中分别加入 0.8 μ g/mL 5-FU, 4MOI 病毒 ZD55-TRAIL-IETD-Smac, 0.8 μ g/mL 5-FU + 4MOI 病毒 ZD55-TRAIL-IETD-Smac, 对照组中加入相同体积的 PBS, 37℃、5% CO₂ 继续培养 48 h 后,吸去培养基,按细胞传代方法收集细胞,参照 Annexin V/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒操作说明,用预冷的 PBS 洗涤收集的细胞 2 遍,然后用 100 μ L 的 1 \times 结合缓冲液重悬细胞,每孔中分别加入 5 μ L 的 1 \times Annexin-V 和 5 μ L 的 1 \times PI,室温下避光摇床上低速孵育 15 min 后,加入 400 μ L 1 \times 结合缓冲液,流式细胞仪分析。

1.2.3 Western blot 检测目的基因及细胞凋亡信号通路中关键蛋白的表达

将 5×10^5 个细胞接种到 6 孔板中,37℃、5% CO₂ 贴壁培养 12 h 后,在处理组细胞中分别加入 0.8 μ g/mL 5-FU, 4MOI 病毒 ZD55-TRAIL-IETD-Smac, 0.8 μ g/mL 5-FU + 4MOI 病毒 ZD55-TRAIL-IETD-Smac, 设立加入等量 PBS 为对照组,37℃、5% CO₂, 继续培养 48 h 后按 Western blot 操作裂解细胞收集上清总蛋白。按 Thermo Fisher 公司 BCA 蛋白定量试剂盒操作说明定量收集的蛋白浓度。将定量蛋白以每孔加入 10 μ g 总蛋白样加入 SDS-PAGE 电泳,电泳结束后按半干转膜法转膜(NC 膜),5% 的脱脂奶粉中封闭 2 h,一抗孵育,按抗体说明书上的最佳稀释浓度稀释加一抗(1:1 000 稀释),室温下于摇床孵育 2 h, TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,加入稀释好的荧光二抗(1:15 000 稀释),室温下摇床孵育 45~60 min, TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,用 LI-COR 扫膜仪扫膜,红外激光成像系统对待测蛋白进行分析。

1.2.4 统计学分析

所有实验数据均采用 SPSS 统计软件进行方差分析,全部结果用(均值 \pm 标准差)表示。

2 结果

2.1 MTT 分析检测 5-FU 与病毒联用对肺癌细胞的抑制作用

本实验分别利用目的病毒 ZD55-TRAIL-IETD-Smac, 5-FU, ZD55-TRAIL-IETD-Smac 与 5-FU 联用处理 H1299、NCI-H460 和 A549 肺癌细

胞。细胞处理分别设 ZD55-TRAIL-IETD-Smac 1、2、4、8 MOI 的 4 个梯度,设 5-FU 0.2、0.4、0.8、1.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 4 个梯度。如图 1 所示,ZD55-TRAIL-IETD-Smac 单独处理 H1299,NCI-H460 和 A549 肺癌细胞时,其抑制率分别为 1.4%~37.1%,5.4%~47.9%,6.9%~47.9%。5-FU 单独处理 H1299,NCI-H460 和 A549 肺癌细胞时,其抑制率

分别为 6.6%~46.8%,5.1%~44.5%,3.6%~44.9%。ZD55-TRAIL-IETD-Smac 与 5-FU 联用其抑制率分别达到 17.9%~74.8%,19.7%~71.3%,17.1%~75.5%。从图 2 上可以看出,二者的联用有效地抑制了肺癌细胞的增殖,联用的作用效果不是简单地二者单独作用效果的叠加,二者具有一定的协同作用。

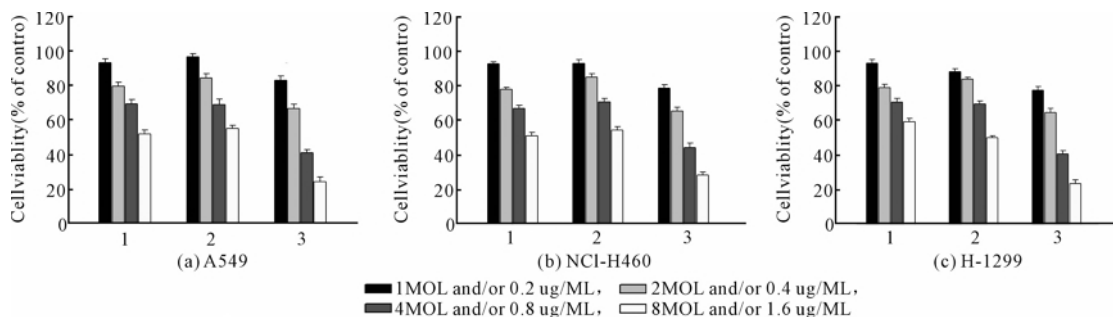


图1 MTT法检测细胞存活率

注:分别以图中所示浓度的 ZD55-TRAIL-IETD-Smac,5-FU 或 ZD55-TRAIL-IETD-Smac+5-FU 处理肺癌细胞 A549、NCI-H460 和 H-1299,48 h 后,MTT 法检测细胞存活率。1,ZD55-TRAIL-IETD-Smac;2,5-FU;3,ZD55-TRAIL-IETD-Smac+5-FU。

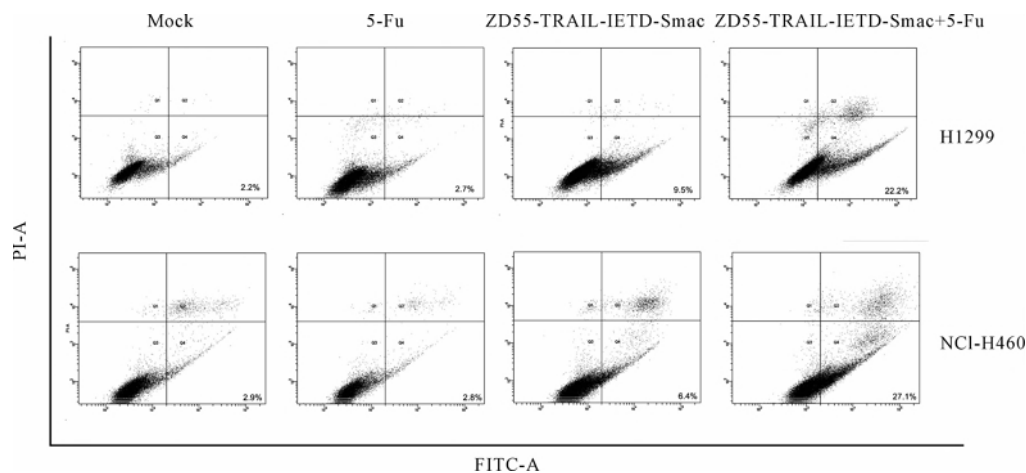


图2 流式细胞术检测细胞凋亡

注:ZD55-TRAIL-IETD-Smac,5-FU,ZD55-TRAIL-IETD-Smac 与 5-FU 联用分别处理肺癌细胞 H1299,NCI-H460,Annexin V /PI 双染后流式细胞仪检测细胞凋亡

2.2 流式细胞术检测细胞凋亡率

ZD55-TRAIL-IETD-Smac, 5-FU, ZD55-TRAIL-IETD-Smac 与 5-FU 联用分别处理 H1299,NCI-H460 肺癌细胞,处理剂量分别为 4MOI,0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$,4MOI+0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$,设立加等量 PBS 的对照组,37℃、5% CO_2 继续培养 48 h 后收集细胞,Annexin V /PI 双染后流式细胞仪检测细胞凋亡。如图 2 在 Q4 区 Annexin V 高阳性,PI 低阳性的区域为早期凋亡细胞。实验结果表明对照组,ZD55-TRAIL-IETD-Smac, 5-FU, ZD55-TRAIL-IETD-Smac 与 5-FU 联用分别处理 H1299,NCI-H460 细

胞,H1299 细胞早期凋亡率依次为 2.2%、2.7%、9.5%、22.2%;NCI-H460 细胞早期凋亡率依次为 2.9%、2.8%、6.4%、27.1%。说明 ZD55-TRAIL-IETD-Smac 与 5-FU 联用起到了很好地诱导肺癌细胞凋亡的作用。

2.3 Western blot 检测抑癌基因及凋亡相关蛋白的表达变化

ZD55-TRAIL-IETD-Smac, 5-FU, ZD55-TRAIL-IETD-Smac 与 5-FU 联用处理 NCI-H460 细胞,剂量为 4MOI+0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$,设立加等量 PBS 的对照组,37℃、5% CO_2 培养 48 h,Western blot 检测目

的基因 TRAIL、Smac 的表达及凋亡相关蛋白的变化。结果如图 3, 在 ZD55-TRAIL-IETD-Smac, ZD55-TRAIL-IETD-Smac 与 5-FU 联用处理 A549 细胞中, TRAIL 和 Smac 都有很高的表达。在未处理组, ZD55-TRAIL-IETD-Smac, 5-FU, ZD55-TRAIL-IETD-Smac 与 5-FU 联用处理组中凋亡相关蛋白 caspase-8 的前体及激活的 Caspase-8 表达量都有显著升高。同时我们检测到相应组细胞中 Caspase-3 及其活化形式呈现显著变化, ZD55-TRAIL-IETD-Smac, ZD55-TRAIL-IETD-Smac 与 5-FU 联用处理组细胞 Caspase-3 活化的增强, 继而剪切凋亡底物 PARP 相应增加, 图 4 进一步有力地说明了 ZD55-TRAIL-IETD-Smac 与 5-FU 联用可以有效地诱导肺癌细胞凋亡。

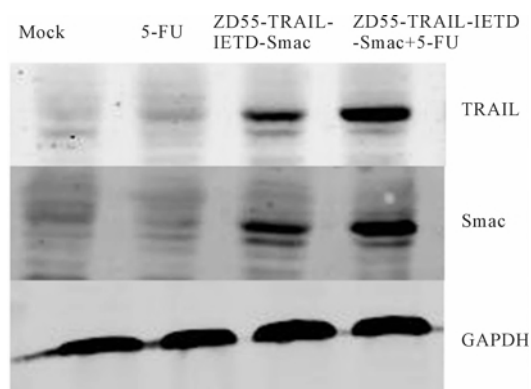


图3 Western blot 检测目的基因的表达

注: ZD55-TRAIL-IETD-Smac, 5-FU, ZD55-TRAIL-IETD-Smac+5-FU 联用处理 NCI-H460 细胞后, Western blot 检测目的蛋白 TRAIL 和 Smac 的表达水平。

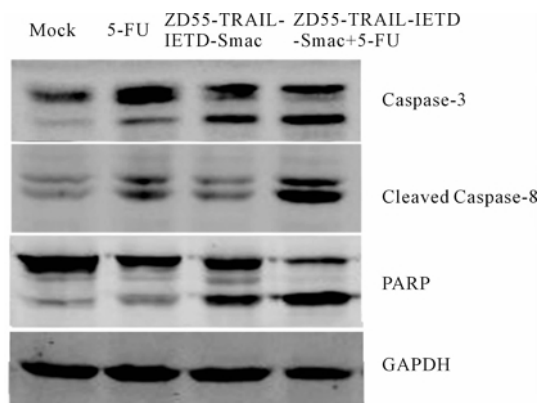


图4 Western blot 检测凋亡相关蛋白的表达

注: ZD55-TRAIL-IETD-Smac, 5-FU, ZD55-TRAIL-IETD-Smac+5-FU 联用处理 NCI-H460 细胞后, Western blot 检测凋亡通路相关蛋白 Caspase-8, Caspase-3 和 PARP 的表达水平。

3 讨论

笔者成功地进行了溶瘤腺病毒 ZD55-TRAIL-IETD-Smac 联合 5-FU 抗癌药物抑制肺癌细胞增殖和诱导其凋亡的体外研究。MTT 实验结果显示, ZD55-TRAIL-IETD-Smac 联合 5-FU 在处理剂量为 8MOI + 1.6 $\mu\text{g/mL}$ 时效果最为明显, 其对 H1299、NCI-H460 和 A549 细胞的抑制率分别达到了 74.8%、71.3%、75.5%, 表明二者联合对细胞的抑制效果明显强于 ZD55-TRAIL-IETD-Smac 和 5-FU 分别单独对细胞的抑制作用。流式细胞术用来检测 ZD55-TRAIL-IETD-Smac 联合 5-FU 诱导细胞凋亡的情况, 实验结果表明二者联合处理细胞时强有力地诱导了肺癌细胞的凋亡, 其在处理 H1299 和 NCI-H460 两种癌细胞系时都有很好地体现, 二者在处理剂量为 4MOI + 0.8 $\mu\text{g/mL}$, 时间为 48 h 时, 诱导 H1299, NCI-H460 细胞凋亡率分别达到了 22.2%、27.1%。有研究表明 ZD55-Smac 与 5-FU 联用能起到强有力的协同效果^[22], 这一点我们的实验结果与前人的实验结果相符。Western blot 实验结果表明, 用连接器 IETD 连接的 TRAIL 和 Smac 两段抑癌基因得到了很好地表达, 而且其在细胞中能被正确的切割, 同时起到了协同抑制肺癌细胞的作用。ZD55-TRAIL-IETD-Smac 联合 5-FU 有效地刺激了胞内凋亡相关蛋白 Caspase-3、Caspase-8 和 PARP 的表达与激活, 最终使肺癌细胞凋亡^[23]。

如何提高溶瘤腺病毒的靶向性及安全性是溶瘤腺病毒治疗癌症走向临床首要解决的问题。目前主要通过以下几点对溶瘤腺病毒进行改造^[25-26]: a) 在溶瘤腺病毒的纤维蛋白结节上插入外源多肽, 使得溶瘤腺病毒能特异的靶向某一类高表达特异抗原决定簇的癌细胞; b) 通过嵌合修饰使溶瘤腺病毒能特异靶向于癌细胞表面的多个靶点; c) 通过融合表达融合蛋白在一些缺少腺病毒结合受体 (CAR) 的癌细胞与溶瘤腺病毒之间架起桥梁, 使一些难于被溶瘤腺病毒侵染的癌症得到治疗; d) 利用癌症组织特异性启动子控制溶瘤腺病毒复制所需早期基因, 使得溶瘤腺病毒仅在表达特异蛋白的癌细胞里大量复制、增殖, 而对正常细胞无影响。

伴随着分子生物学, 细胞生物学, 免疫学, 生物信息学的发展, 可以筛选更为有效地目的基因作为溶瘤腺病毒攻克癌症的利器。一些植物凝集素, 海洋肽内毒素, 以及中草药中有用的抗癌成分可装载在溶瘤腺病毒上进行表达, 使溶瘤腺病毒成为恶性

肿瘤基因治疗的有效载体。

参考文献:

- [1] Jemal A, Bray F, Center M M, et al. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] Wagstaff A J, Keam S J, McCormack P L. Bevacizumab plus platinum-based chemotherapy: in advanced non-small cell lung cancer[J]. *Bio Drugs*. 2009, 23(3): 187-196.
- [3] Ranieri G, Gasparini G. Angiogenesis and angiogenesis inhibitors: a new potential anticancer therapeutic strategy[J]. *Current Drug Targets Immune, Endocrine and Metabolic Disorders*, 2001, 1(3): 241-253.
- [4] Zhang Z, Huang Y, Newman K, et al. Reexpression of human somatostatin receptor gene 2 gene mediated by oncolytic adenovirus increases antitumor activity of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand against pancreatic cancer[J]. *Clinical Cancer Research; an official journal of the American Association for Cancer Research*, 2009, 15(16): 5154-5160.
- [5] Zhang Y, Gu J, Zhao L, et al. Complete elimination of colorectal tumor xenograft by combined manganese superoxide dismutase with tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand gene virotherapy[J]. *Cancer Research*, 2006, 66(8): 4291-4298.
- [6] Wang S B, Tan Y, Lei W, et al. Complete eradication of xenograft hepatoma by oncolytic adenovirus ZD55 harboring TRAIL-IETD-Smac gene with broad antitumor effect[J]. *Human Gene Therapy*, 2012, 23(9): 992-1002.
- [7] Zhang Y, Qin X, Zhang Y, et al. Combination of ZD55-MnSOD therapy with 5-FU enhances antitumor efficacy in colorectal cancer[J]. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 2008, 134(2): 219-26.
- [8] Ma G, Kawamura K, Li Q, et al. Combinatory cytotoxic effects produced by E1B-55kDa-deleted adenoviruses and chemotherapeutic agents are dependent on the agents in esophageal carcinoma[J]. *Cancer Gene Therapy*, 2010, 17(11): 803-813.
- [9] Kadota K, Huang C L, Liu D, et al. Combined therapy with a thymidylate synthase-inhibiting vector and S-1 has effective antitumor activity against 5-FU-resistant tumors[J]. *International Journal of Oncology*. 2011, 38(2): 355-63.
- [10] Keane M M, Ettenberg S A, Nau M M, et al. Chemotherapy augments TRAIL-induced apoptosis in breast cell lines[J]. *Cancer research*, 1999, 59(3): 734-741.
- [11] Ashkenazi A, Pai R C, Fong S, et al. Safety and antitumor activity of recombinant soluble Apo2 ligand[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 1999, 104(2): 155-162.
- [12] Mizutani Y, Nakanishi H, Yoshida O, et al. Potentiation of the sensitivity of renal cell carcinoma cells to TRAIL-mediated apoptosis by subtoxic concentrations of 5-fluorouracil [J]. *European Journal of Cancer*, 2002, 38(1): 167-176.
- [13] Bonavida B, Ng C P, Jazirehi A, et al. Selectivity of TRAIL-mediated apoptosis of cancer cells and synergy with drugs: the trail to non-toxic cancer therapeutics (review)[J]. *International Journal of Oncology*, 1999, 15(4): 793-802.
- [14] Nagane M, Huang H J, Cavenee W K. The potential of TRAIL for cancer chemotherapy[J]. *Apoptosis: an International Journal on Programmed Cell Death*, 2001, 6(3): 191-197.
- [15] Walczak H, Miller R E, Ariail K, et al. Tumoricidal activity of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in vivo[J]. *Nature Medicine*, 1999, 5(2): 157-163.
- [16] Muzio M, Chinnaiyan A M, Kischkel F C, et al. FLICE, a novel FADD-homologous ICE/CED-3-like protease, is recruited to the CD95 (Fas/APO-1) death-inducing signaling complex[J]. *Cell*, 1996, 85(6): 817-827.
- [17] Pan G, O'Rourke K, Chinnaiyan A M, et al. The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL[J]. *Science*, 1997, 276(5309): 111-113.
- [18] Wu G S, Burns T F, McDonald 3rd E, et al. KILLER/DR5 is a DNA damage-inducible p53-regulated death receptor gene[J]. *Nature Genetics*, 1997, 17(2): 141.
- [19] Kim K, Fisher M J, Xu S Q, et al. Molecular determinants of response to TRAIL in killing of normal and cancer cells[J]. *Clinical Cancer Research*, 2000, 6(2): 335-346.
- [20] Zhang X D, Franco A, Myers K, et al. Relation of TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) receptor and FLICE-inhibitory protein expression to TRAIL-induced apoptosis of melanoma[J]. *Cancer Research*, 1999, 59(11): 2747-2753.
- [21] Kim Y S, Schwabe R F, Qian T, et al. TRAIL-mediated apoptosis requires NF-kappaB inhibition and the mitochondrial permeability transition in human hepatoma cells[J]. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 2002, 36(6): 1498-1508.
- [22] Qiu S, Ruan H, Pei Z, et al. Combination of Targe-

- ting Gene-Viro Therapy with 5-FU enhances antitumor efficacy in malignant colorectal carcinoma[J]. *Journal of Interferon & Cytokine Research*; the Official Journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research, 2004, 24(4): 219-230.
- [23] Shi Y. Mechanisms of caspase activation and inhibition during apoptosis[J]. *Molecular Cell*, 2002, 9(3): 459-470.
- [24] Pan Q W, Zhong S Y, Liu B S, et al. Enhanced sensitivity of hepatocellular carcinoma cells to chemotherapy with a Smac-armed oncolytic adenovirus [J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2007, 28(12): 1996-2004.
- [25] Vähä-Koskela M J, Heikkilä J E, Hinkkanen A E. Oncolytic viruses in cancer therapy[J]. *Cancer Letters*, 2007, 254(2): 178-216.
- [26] Russell S J, Peng K W, Bell J C. Oncolytic virotherapy[J]. *Nature Biotechnology*, 2012, 30(7): 658-670.

Study on Inhibition of Lung Cancer Cell Proliferation by Combination of Dual-Gene Oncolytic Adenovirus with 5-FU

WANG Shi-bing^{1,2}, MENG Shu-lin¹, WU Hu¹, MA Bu-yun¹

(a. Scientific Research Experiment Center, College of Life Science; b. Xinyuan Institute of Medicine and Biotechnology, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: The study explores the in-vitro lethal effects of dual-gene oncolytic adenovirus (ZD55-TRAIL-IETD-Smac) with TRAIL and Smac in combination of 5-FU on lung cancer cells. Cell inhibition ratio, apoptosis rate, destruction gene expression & apoptosis-related protein expression were detected by MTT, flow cytometry and Western Blot respectively. The results show that combined application of ZD55-TRAIL-IETD-Smac and 5-FU can effectively inhibit the proliferation of lung cancer cells and induce apoptosis of lung cancer cells through activating Caspase passage. This indicates that 5-FU can significantly enhance lethal effects of dual-gene oncolytic adenovirus with TRAIL and Smac on lung cancer cells. This provides reference for clinical application of lung cancer.

Key words: ZD55-TRAIL-IETD-Smac; 5-FU; lung cancer; apoptosis

(责任编辑: 许惠儿)