

硫利达嗪联合溶瘤腺病毒ZD55-TRAIL 对HeLa细胞抑制作用及其机制探讨

杨冬梅¹ 方先龙² 杨 珣² 李红艳¹ 潘 强¹ 徐海能^{2*}

(¹浙江理工大学生命科学院, 新元医学与生物技术研究所, 杭州 310018;

²中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031)

摘要 靶向基因-病毒治疗方法是近年来产生的一种较为有效的癌症生物治疗方法, 但其癌症治疗效果仍需进一步提高。在该研究工作中, 通过联合使用临床神经治疗药物硫利达嗪(thioridazine)与溶瘤腺病毒ZD55-TRAIL来增强对HeLa细胞的杀伤作用。通过MTT实验、倒置显微镜观察、结晶紫染色实验观察了联合使用thioridazine和ZD55-TRAIL对子宫癌细胞株HeLa细胞的毒性作用; 使用Hoechst33342染色、流式细胞实验和Western blot实验检测了联合使用thioridazine和ZD55-TRAIL在引起HeLa细胞发生凋亡上的作用。结果表明, 小分子药物thioridazine与病毒ZD55-TRAIL联合使用可以增强对HeLa细胞的杀伤作用, 通过下调抗凋亡蛋白XIAP的水平, 更显著地促进HeLa细胞发生凋亡。该研究首次报道了联合使用抗精神疾病药物thioridazine和ZD55-TRAIL对子宫癌细胞HeLa的抑制作用, 可能是子宫癌治疗的一种有效方法。

关键词 ZD55-TRAIL; 硫利达嗪; HeLa细胞; 凋亡; 联合使用

Inhibition of HeLa Cells by the Combination of Thioridazine and Oncolytic Adenovirus ZD55-TRAIL and the Exploration of Its Mechanism

Yang Dongmei¹, Fang Xianlong², Yang Yu², Li Hongyan¹, Pan Qiang¹, Xu Haineng^{2*}

(¹Xinyuan Institute of Medicine and Biotechnology, School of Life Sciences, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China; ²Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract Targeting Cancer Gene-Virotherapy is a newly developed method for cancer therapy. However, its efficiency still needs to be improved. In this study, we enhanced the cytotoxicity on HeLa cells with the combined use of clinical antipsychotic drug thioridazine and ZD55-TRAIL. Cytotoxicity of the combination of thioridazine and ZD55-TRAIL on HeLa cells was examined by MTT assay, direct observation and crystal violet staining. Hoechst33342 staining assay, flow cytometry experiments and Western blot assay were used to detect the occurrence of apoptosis in HeLa cells with the treatment of thioridazine and ZD55-TRAIL. We found that small molecule drug thioridazine combining with the virus ZD55-TRAIL could enhance the killing effect on HeLa cells. In addition, the results showed that the combined treatment led to lower level of anti-apoptotic XIAP protein and

收稿日期: 2013-11-15 接受日期: 2014-01-20

浙江理工大学项目(批准号: 1204807-Y)、国家重点基础研究发展规划(973计划)(批准号: 2010CB529901、2011CB510100)和上海市自然科学基金(批准号: 13ZR1446300)资助的课题

*通讯作者。Tel: 021-54921139, E-mail: xuhaineng123@163.com

Received: November 15, 2013 Accepted: January 20, 2014

This work was supported by the Zhejiang Sci-Tech University Grant (Grant No.1204807-Y), the National Basic Research Program of China (973 Program) (Grant No.2010CB529901, 2011CB510100) and the Natural Science Foundation of Shanghai (Grant No.13ZR1446300)

*Corresponding author. Tel: +86-21-54921139, E-mail: xuhaineng123@163.com

网络出版时间: 2014-04-30 17:57

URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.05.0378.html>

apoptosis was more obvious. This work firstly reported the inhibition effect of the combination of the antipsychotic drug thioridazine and ZD55-TRAIL on HeLa cells, and it could be a potential therapeutic approach for cervical cancer therapy in the future.

Key words ZD55-TRAIL; thioridazine; HeLa cells; apoptosis; combination

引言

子宫颈癌是一种严重影响女性健康的疾病,每年有大量女性被诊断出患有子宫颈癌。全球范围内的统计数据显示,子宫颈癌的发生人数和死亡人数在女性癌症患者中分别占到第三位和第四位^[1]。目前,子宫颈癌的治疗仍旧采用传统的手术治疗、放射治疗和化学治疗,但效果不够理想,因此迫切需要研发出有效治疗子宫颈癌的药物。

2001年,刘新垣研究员结合了基因治疗和病毒治疗两种生物疗法的优势,提出了靶向癌症的基因-病毒治疗策略,并在细胞系和小鼠水平上体现出很好的肿瘤抑制效果^[2]。在特异性杀伤癌症细胞的病毒ZD55中携带癌症杀伤基因肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis induced ligand, TRAIL)基因所形成的ZD55-TRAIL就是其实验室构建的一种溶瘤病毒^[3]。虽然ZD55-TRAIL的抗癌作用比单独的基因治疗或病毒治疗强,但是其治疗效果仍有待进一步提高。

TRAIL作为一个有效的抗癌基因被广泛用于癌症治疗的研究中^[4-6],但是由于肿瘤细胞内存在高水平表达的XIAP、c-FLIP等抗凋亡蛋白^[7-8],另外肿瘤细胞中促进细胞生长的相关信号通路PI3K/Akt等处于高活性状态^[9],这些都影响着TRAIL在肿瘤治疗中的效率。硫利达嗪(thioridazine)是一种吩噻嗪类化合物^[10],它是多巴胺受体的拮抗剂^[11],一直以来在临床上被用于精神疾病的治疗上^[12]。最近有研究发现,thioridazine能够抑制子宫颈癌细胞生长并促进细胞发生凋亡^[13]。另外,thioridazine还可以抑制子宫颈癌细胞内PI3K/Akt信号通路的活性^[13],因此,thioridazine可能会增强TRAIL对子宫颈癌细胞的杀伤作用。在本工作中,我们通过使用thioridazine和ZD55-TRAIL病毒联合处理子宫颈癌HeLa细胞,发现联合处理可以增强杀伤HeLa细胞的作用;进一步研究发现,联合使用可以促进HeLa细胞发生凋亡。因此,抗精神疾病药物thioridazine联合ZD55-TRAIL病毒将来可能是子宫颈癌治疗的一种有效方法。

1 材料与方法

1.1 材料

ZD55-EGFP、ZD55-TRAIL病毒由刘新垣实验室提供。人子宫颈癌HeLa细胞购于中国科学院上海生命科学研究院细胞库,使用添加有10%胎牛血清的DMEM培养液在37℃、5% CO₂的条件下培养。噻唑蓝(MTT)、硫利达嗪(thioridazine)、Hoechst33342购于Sigma公司;二甲基亚砜(DMSO)、RIPA裂解液、PMSF购于碧云天生物技术有限公司;BCA蛋白浓度测定试剂盒、ECL检测底物购于PIERCE;结晶紫购于美国Ameresco公司;DNA酶、Trizol购于Life Technologies公司;逆转录试剂盒购于TaKaRa公司;实时定量检测试剂盒购于TOYOBO公司。Caspase-8抗体(goat, sc-6136)、PARP抗体(rabbit, sc-8007)购于Santa Cruz公司;TRAIL抗体(rabbit, #3219)、Cleave-caspase8抗体(rabbit, #9496)、Caspase-3抗体(rabbit, #9665)、XIAP抗体(rabbit, #2045P)和Bcl-xL抗体(rabbit, #2764)购于Cell Signaling Technology公司;β-tubulin抗体(mouse, CW0098A)购于北京康为世纪有限公司;二抗均购于Santa Cruz公司;血液基因组DNA提取试剂盒购于上海捷瑞生物工程有限公司;PVDF膜购于Millipore公司;碘化丙啶(PI)购于碧云天公司。

1.2 方法

1.2.1 ZD55-TRAIL病毒基因组鉴定 按照基因组抽提试剂盒提供的方法,提取病毒ZD55-TRAIL的基因组DNA,PCR扩增TRAIL基因后进行琼脂糖凝胶电泳观察条带大小,以质粒pZD55-TRAIL作为阳性对照。PCR扩增条件是:94℃预变性5 min;94℃变性30 s,54℃退火30 s,72℃延伸1 min,25个循环;最后,72℃延伸5 min。TRAIL基因的引物序列如下:上游引物:5'-GGA AGA TCT ATG GCT ATG ATG GAG GTC CAG GGG GGA CCC AGC CTG-3',下游引物:5'-CTA GTC TAG AGC CAA CTA AAA AGG CCC CGA AAA AAC TGG CTT CAT GGT-3'。

1.2.2 实时定量PCR实验 将HeLa细胞按3×10⁵/孔的密度种入6孔板中,使用10 MOI(multiplicity of

infection)的ZD55-TRAIL、12 $\mu\text{mol/L}$ 的thioridazine处理或两者联合处理HeLa细胞, 48 h后使用Trizol试剂提取细胞总RNA, 提取的RNA经过DNA酶处理之后, 用Nanodrop仪器定量后取1 μg RNA为模板, 根据逆转录试剂盒说明书逆转录获得cDNA。使用实时定量PCR试剂盒检测各处理组及未处理的HeLa细胞中TRAIL的表达水平, 以GAPDH为内参。TRAIL的实时定量PCR引物序列如下: TRAIL上游引物: 5'-CTC TGG GCC GCA AAA TAA AC-3', TRAIL下游引物: 5'-GAC CAT TTG TTT GTC GTT CTT TGT-3'。GAPDH的实时定量引物序列如下: 上游引物: 5'-CAT CAT CCC TGC CTC TAC TG-3', 下游引物: 5'-GCC TGC TTC ACC ACC TTC-3'。

1.2.3 MTT实验检测细胞稳定性 将处于对数生长期的HeLa细胞按 5×10^3 /孔的密度铺入96孔培养板, 使用不同浓度的thioridazine与不同MOI的ZD55-TRAIL病毒联合处理HeLa细胞, 同时以未做处理的细胞作为对照组, 只加培养液的孔作为空白对照, 每个实验组设6个复孔。48 h后, 每孔加入20 μL 的MTT(4 mg/mL), 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育4 h后吸去上清, 每孔加入150 μL DMSO, 震荡15 min, 用酶标仪检测其在595 nm波长处的吸光值(D_{595})和在参照波长650 nm处的吸光值(D_{650})。细胞的活性大小为($D_{595}-D_{650}$), 各个处理组的HeLa细胞的相对细胞活性如下:

$$\text{细胞存活率} = \frac{\text{处理组吸光值} - \text{空白对照组吸光值}}{\text{对照组吸光值} - \text{空白对照组吸光值}} \times 100$$

1.2.4 细胞形态变化观察 将HeLa细胞按 1×10^5 /孔的密度种入24孔板中, 用12 $\mu\text{mol/L}$ 的thioridazine、10 MOI的ZD55-TRAIL处理或两者联合处理细胞, 48 h后在倒置显微镜下观察不同处理组细胞的形态。

1.2.5 结晶紫染色观察细胞活性 在24孔板中以 1×10^5 /孔的密度铺入HeLa细胞, 使用12 $\mu\text{mol/L}$ thioridazine、10 MOI的ZD55-TRAIL或两者联合处理, 48 h后去除细胞培养液, 每孔加入200 μL 结晶紫染色液(2%结晶紫溶于20%甲醇), 室温染色15 min, 用水充分洗去多余的染液, 晾干后拍照。

1.2.6 Hoechst33342染色观察HeLa细胞核形态 将对数生长期的HeLa细胞按 1×10^5 /孔的密度植入24孔培养板, 使用12 $\mu\text{mol/L}$ 的thioridazine、10 MOI的ZD55-TRAIL处理或两者联合处理细胞, 48 h后去除细胞培养液, PBS洗2次, 用4%的多聚甲醛固定15 min, PBS洗涤2次后加入终浓度为1 $\mu\text{g/mL}$ 的

Hoechst33342染色20 min, PBS洗涤1次后用倒置荧光显微镜观察细胞核形态变化并拍照。

1.2.7 流式细胞实验 将HeLa细胞按每孔 3×10^5 /孔的密度种入6孔板中, 使用10 MOI的ZD55-TRAIL、12 $\mu\text{mol/L}$ 的thioridazine处理或两者联合处理HeLa细胞, 48 h后将6孔板中的培养液吸到EP管中, 胰酶消化细胞加入EP管中的培养液, 将细胞吹下, 制成单细胞悬液。2 500 r/min离心3 min, PBS洗1次, 加入75%的酒精至EP管满, 4 $^{\circ}\text{C}$ 固定30 min, 2 500 r/min离心3 min, PBS洗1次, 加入RNase A(工作浓度为20 $\mu\text{g/mL}$)于500 μL PBS中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育30 min。PBS洗1次, 加入PI(工作浓度50 $\mu\text{g/mL}$)于500 μL PBS中, 室温避光孵育30 min。在流式细胞仪上Calibur上检测细胞周期。

1.2.8 Western blot实验 在6孔板中以 5×10^5 /孔的密度接种HeLa细胞, 使用12 $\mu\text{mol/L}$ 的thioridazine、10 MOI的ZD55-TRAIL单独或两者联合处理细胞, 48 h后吸去细胞培养液, 加入细胞裂解液RIPA和蛋白酶抑制剂PMSF, 刮下细胞, 4 $^{\circ}\text{C}$ 震荡裂解15 min, 12 000 r/min离心10 min后取上清, 用测定蛋白浓度后加入上样缓冲液, 100 $^{\circ}\text{C}$ 金属浴10 min。使用12%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白, 每孔上样30 μg 总蛋白, 将蛋白电转到PVDF膜上, 恒压90 V转膜70 min。用5%的脱脂奶粉(溶于TBST中)室温封闭1 h, 于4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育一抗过夜, 吸去一抗, TBST洗3遍, 每次5 min; 再于37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育二抗2 h, TBST洗3次, 每次10 min。加上ECL显色底物后, 在红外激光成像系统中检测蛋白水平。

1.2.9 数据统计 所有数据均以平均值 $\pm$ 标准差的形式表示。两组数据之间的差异性比较是在R软件中采用student's *t*-test的方法进行分析的, 以 $P < 0.05$ 表示有显著性差异。

2 结果

2.1 病毒ZD55-TRAIL鉴定正确

为了鉴定ZD55-TRAIL是否正确, 用血液基因组DNA提取试剂盒抽取病毒基因组进行PCR扩增鉴定, 以质粒pZD55-TRAIL作为阳性对照, 以水为模板作阴性对照, 发现病毒ZD55-TRAIL基因组能扩增出和阳性对照一样大小的片段(图1A)。为了鉴定TRAIL基因是否表达, 在加或者不加12 $\mu\text{mol/L}$ thioridazine情况下, 我们用10 MOI的ZD55-TRAIL病毒感染HeLa细胞, 通过实时定量PCR和Western blot实验检

测发现, ZD55-TRAIL病毒感染的HeLa细胞中高水平表达TRAIL, 而未用ZD55-TRAIL感染的对照组中TRAIL的表达量很低(图1B和1C)。

2.2 Thioridazine联合ZD55-TRAIL对HeLa细胞毒性增强

与不带治疗基因的溶瘤病毒ZD55-EGFP相比, 基因-病毒ZD55-TRAIL具有更强的抑制HeLa细胞生长的能力(图2A), 这与之前的研究结果吻合^[4]。为了进一步增强ZD55-TRAIL的治疗效果, 我们使用不同浓度的thioridazine与ZD55-TRAIL病毒联合使用, 结果发现, thioridazine可以显著地增强ZD55-TRAIL病毒对HeLa细胞的杀伤效果(图2B)。10 MOI的ZD55-TRAIL与12 $\mu\text{mol/L}$ thioridazine联合使用可以显著引起HeLa细胞死亡, 而单独使用thioridazine或ZD55-TRAIL处理对细胞形态的影响都没有联合使用大(图2C)。结晶紫染色结果同样显示, 12 $\mu\text{mol/L}$ thioridazine与10 MOI ZD55-TRAIL病毒联合使用比两者单独处理细胞的杀伤效果要好(图2D)。

2.3 Thioridazine联合ZD55-TRAIL增强HeLa细胞核碎裂的发生

为了观察联合使用thioridazine和ZD55-TRAIL

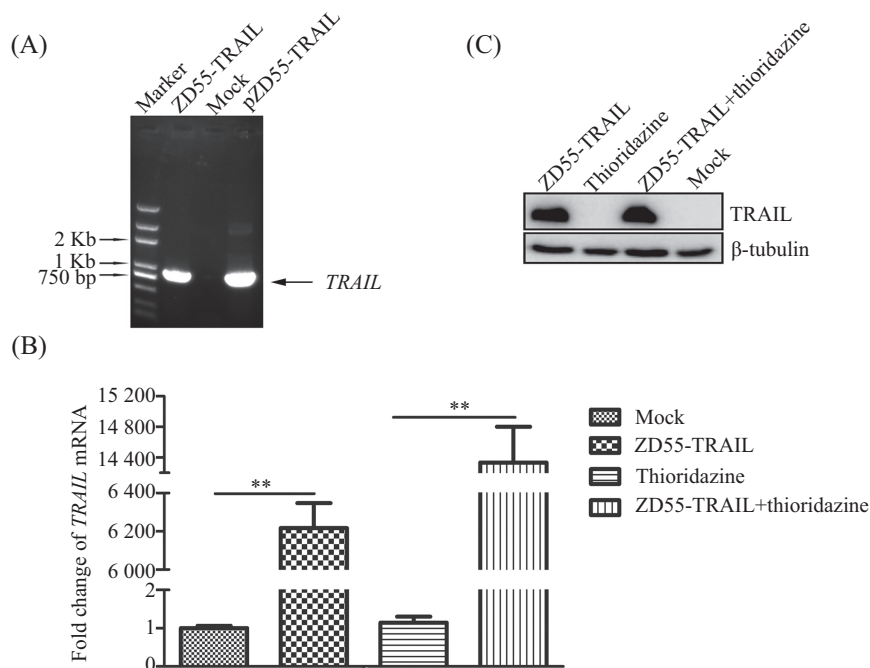
是否会引起HeLa细胞发生凋亡, 通过Hoechst33342染色观察HeLa细胞核的形态。结果发现, 联合使用thioridazine和ZD55-TRAIL可以非常显著地引起HeLa细胞发生核碎裂, 比单独使用thioridazine或ZD55-TRAIL的作用强(图3), 说明联合处理可能会增强HeLa细胞凋亡的发生。

2.4 Thioridazine联合ZD55-TRAIL促进HeLa细胞发生凋亡

为了进一步检测联合处理对HeLa细胞的凋亡影响, 通过流式细胞检测发现, 联合处理后处于sub-G₁期的HeLa细胞明显增加, 说明联合处理确实增强了HeLa细胞的凋亡(图4)。

2.5 Thioridazine联合ZD55-TRAIL增强PARP的剪切

为了进一步在分子水平上观察联合使用thioridazine和ZD55-TRAIL对HeLa细胞凋亡的影响, 我们检测了各种处理方式中凋亡相关蛋白的水平。结果发现, thioridazine和ZD55-TRAIL联合使用可以显著增强PARP前体的剪切, 从分子水平上进一步证明了联合处理确实可以显著增强HeLa细胞凋亡(图5)。由于单独的ZD55-TRAIL处理即能显著促进

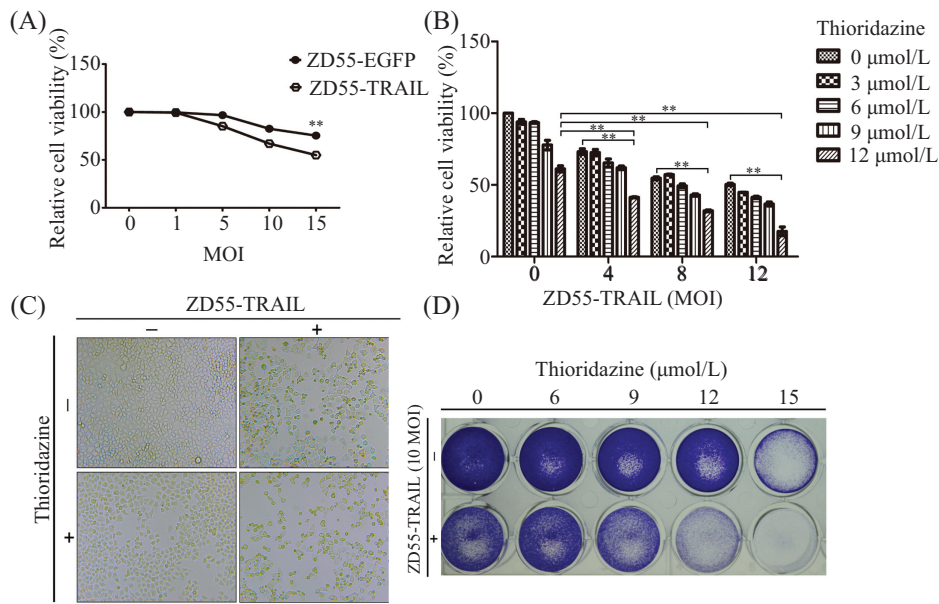


A: PCR扩增鉴定病毒, pZD55-TRAIL作为阳性对照; B: 实时定量PCR检测不同处理组的细胞中TRAIL的mRNA水平; C: Western blot检测TRAIL蛋白的水平。** $P < 0.01$ 。

A: identification of the viruses by PCR amplification. pZD55-TRAIL was used as a positive control; B: detection of the mRNA levels of TRAIL in the cells with different treatments by Real-time PCR; C: detection of the expression of TRAIL protein by Western blot. ** $P < 0.01$.

图1 病毒的鉴定

Fig.1 Identification of viruses

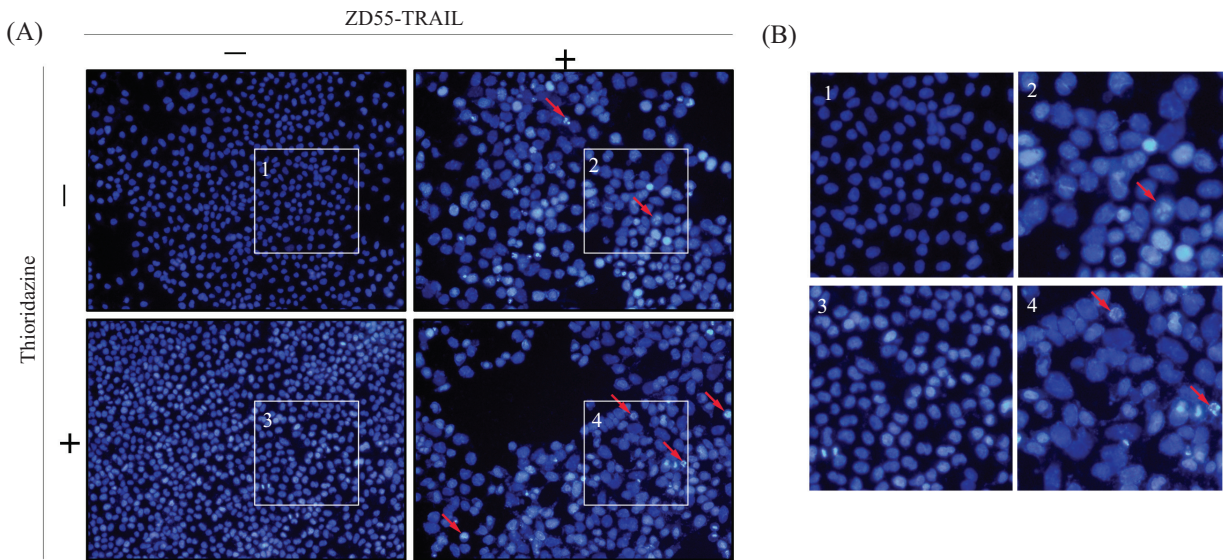


A: 检测不同病毒对HeLa细胞活力的影响, 使用指定剂量的病毒处理HeLa细胞48 h; B: 检测联合使用ZD55-TRAIL和thioridazine对HeLa细胞活力的影响, 使用不同处理方式处理HeLa细胞48 h; C: 倒置显微镜观察不同处理方式48 h后的细胞形态, 200 $\times$; D: 结晶紫染色分析联合使用ZD55-TRAIL和thioridazine对HeLa细胞的毒性。 ** $P<0.01$ 。

A: detection of the effect of different adenoviruses in inhibiting HeLa cells viability. HeLa cells were treated with adenoviruses at indicated MOIs for 48 hours; B: measurement of the ability of combination of ZD55-TRAIL and thioridazine in inhibiting HeLa cells viability. HeLa cells were treated for 48 hours; C: observation of the morphological alteration under inverted microscope after different treatments for 48 hours. 200 $\times$; D: measurement of the cytotoxicity of the combination of ZD55-TRAIL and thioridazine on HeLa cells by crystal violet staining. ** $P<0.01$.

图2 Thioridazine联合ZD55-TRAIL对HeLa细胞毒性增强

Fig.2 Combination of thioridazine and ZD55-TRAIL showed increased cytotoxicity on HeLa cells



A: 单独使用thioridazine, ZD55-TRAIL处理或联合处理HeLa细胞48 h的Hoechst33342染色结果; B: 图A中按数字标示的方框对应的放大图, 箭头表示发生碎裂的细胞核, 200 $\times$ 。

A: HeLa cells were treated with thioridazine, ZD55-TRAIL or the combination for 48 hours and were stained by Hoechst33342; B: the observation of the indicated zones in (A) at high magnification. Arrows indicated fragmented nuclei. 200 $\times$.

图3 Thioridazine联合ZD55-TRAIL增强HeLa细胞核碎裂的发生

Fig.3 Combination of thioridazine and ZD55-TRAIL increased the occurrence of the nucleic fragmentation in HeLa cells

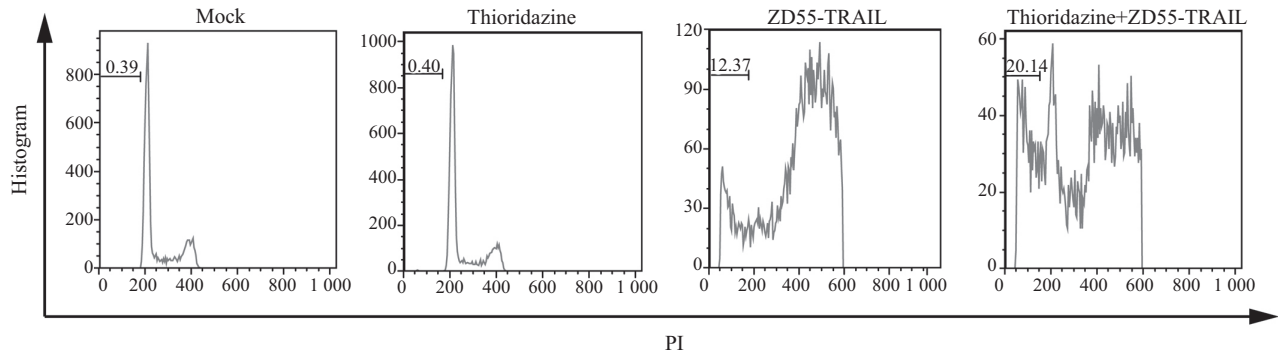


图4 流式细胞检测Thioridazine联合ZD55-TRAIL增强HeLa凋亡

Fig.4 Combination of thioridazine and ZD55-TRAIL increased the apoptosis by flow cytometry assay

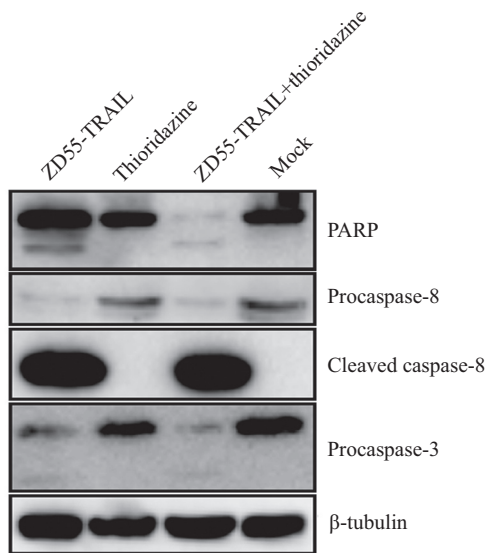


图5 Thioridazine联合ZD55-TRAIL增强促凋亡蛋白的活化

Fig.5 Combination of thioridazine and ZD55-TRAIL increased the activation of apoptosis

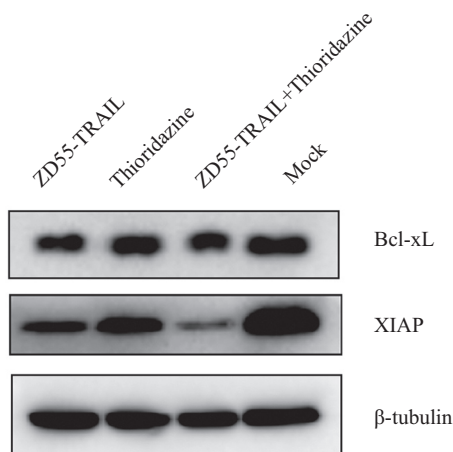


图6 Thioridazine和ZD55-TRAIL联合使用下调抗凋亡相关蛋白的水平

Fig.6 Combination of thioridazine and ZD55-TRAIL decreased the level of anti-apoptotic protein XIAP

caspases前体的剪切活化, 联合处理组并没有观察到更显著的caspase-8和caspase-3前体的减少。

2.6 Western blot检测抗凋亡蛋白

为了进一步研究thioridazine和ZD55-TRAIL联合使用是如何增强诱导HeLa细胞发生凋亡的, 我们通过Western blot实验检测了一些抗凋亡蛋白的水平变化。结果发现, 联合使用thioridazine和ZD55-TRAIL并没有降低Bcl-xL的水平, 但是显著地降低了抗凋亡蛋白XIAP的表达, 这可能是两者联合使用具有更好抗癌作用的原因(图6)。

3 讨论

靶向癌症的基因-病毒治疗是使用溶瘤病毒携带抗癌基因治疗癌症的一种方法, 这种策略同时具有病毒的裂解细胞能力和抗癌基因的杀伤作用。另外, 由于病毒的大量复制, 抗癌基因的拷贝数和表达量也非常高, 最终产生很好的抗癌效果^[15]。本文使用病毒ZD55-TRAIL即携带TRAIL基因的ZD55溶瘤腺病毒, 进行子宫颈癌的抗癌研究。TRAIL是TNF家族成员之一, 具有较好的抗癌效率, 但由于很多肿瘤细胞内存在高水平的抗凋亡蛋白, 使得TRAIL的应用范围受到很大的限制。有研究报道, 某些可以下调抗凋亡蛋白的小分子物质能联合TRAIL蛋白, 增强其抑制肿瘤细胞活性的能力^[7-8], 另外也有关于化疗药物cisplatin可以增强ZD55-TRAIL病毒抗癌作用的报道^[5]。在本工作中, 我们使用抗精神疾病药物thioridazine与携带TRAIL的溶瘤病毒ZD55-TRAIL联合抑制子宫颈癌HeLa细胞。

Thioridazine是一个在临床上使用多年的抗精神疾病的药物, 近年来发现其能引起细胞发生凋亡^[13], 并有研究提出其还具备靶向癌症干细胞的能

力^[16]。Thioridazine能有效抑制急性髓质淋巴瘤的肿瘤形成, 但对正常细胞的副作用很小^[16]。因此, thioridazine除了作为经典的抗精神疾病药物外, 还有望成为一种抗癌药物。在本工作中, 我们发现thioridazine与ZD55-TRAIL联用可以增强杀伤HeLa细胞(图2), 引起更多的核碎裂及更显著的PARP剪切(图3~5)。对其机制的进一步研究发现, 联合处理可显著降低抗凋亡蛋白XIAP的水平(图6), 说明联合处理后促进凋亡的部分原因是降低了胞内抗凋亡蛋白的水平。

本研究工作首次发现联合使用抗精神疾病药物thioridazine和溶瘤腺病毒ZD55-TRAIL对HeLa细胞有很强的杀伤作用, 比单独的药物处理或病毒处理的效果都要好。ZD55-TRAIL是一种广适的抗癌病毒, thioridazine理论上也是一种广谱的抗癌药物, 目前已有数据显示thioridazine对胃癌有杀伤效果(数据未显示), 所以理论上ZD55-TRAIL和thioridazine联合抗癌效果增强具有一定的广谱性。另外, thioridazine是已在临床上使用多年的药物, 具有很好的安全性, 这为thioridazine和ZD55-TRAIL联合使用在临床上应用提供了很大可能性。此外, thioridazine还具有杀伤癌症干细胞的能力, 可能会进一步提高了联合使用thioridazine和ZD55-TRAIL在子宫颈癌治疗中的作用。本工作研究联合使用thioridazine和溶瘤病毒ZD55-TRAIL, 将为癌症的治疗提供一种新策略。

参考文献 (References)

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61(2): 69-90.
- Zhao L, Gu J, Dong A, Zhang Y, Zhong L, He L, *et al.* Potent antitumor activity of oncolytic adenovirus expressing mda-7/IL-24 for colorectal cancer. *Hum Gene Ther* 2005; 16(7): 845-58.
- Pei Z, Chu L, Zou W, Zhang Z, Qiu S, Qi R, *et al.* An oncolytic adenoviral vector of Smac increases antitumor activity of TRAIL against HCC in human cells and in mice. *Hepatology* 2004; 39(5): 1371-81.
- Amm HM, Oliver PG, Lee CH, Li Y, Buchsbaum DJ. Combined modality therapy with TRAIL or agonistic death receptor antibodies. *Cancer Biol Ther* 2011; 11(5): 431-49.
- Pan Q, Liu B, Liu J, Cai R, Wang Y, Qian C. Synergistic induction of tumor cell death by combining cisplatin with an oncolytic adenovirus carrying TRAIL. *Mol Cell Biochem* 2007; 304(1/2): 315-23.
- Wang SB, Tan Y, Lei W, Wang YG, Zhou XM, Jia XY, *et al.* Complete eradication of xenograft hepatoma by oncolytic adenovirus ZD55 harboring TRAIL-IETD-Smac gene with broad antitumor effect. *Hum Gene Ther* 2012; 23(9): 992-1002.
- Shankar S, Chen Q, Siddiqui I, Sarva K, Srivastava RK. Sensitization of TRAIL-resistant LNCaP cells by resveratrol (3,4',5 tri-hydroxystilbene): Molecular mechanisms and therapeutic potential. *J Mol Signal* 2007; 2: 7.
- Kim JY, Kim EH, Park SS, Lim JH, Kwon TK, Choi KS. Quercetin sensitizes human hepatoma cells to TRAIL-induced apoptosis via Sp1-mediated DR5 up-regulation and proteasome-mediated c-FLIPS down-regulation. *J Cell Biochem* 2008; 105(6): 1386-98.
- Ahmad A, Biersack B, Li Y, Kong D, Bao B, Schobert R, *et al.* Targeted regulation of PI3K/Akt/mTOR/NF-kappaB signaling by indole compounds and their derivatives: Mechanistic details and biological implications for cancer therapy. *Anticancer Agents Med Chem* 2013; 13(7): 1002-13.
- Gil-Ad I, Shtaf B, Levkovitz Y, Dayag M, Zeldich E, Weizman A. Characterization of phenothiazine-induced apoptosis in neuroblastoma and glioma cell lines: Clinical relevance and possible application for brain-derived tumors. *J Mol Neurosci* 2004; 22(3): 189-98.
- Meltzer HY, Sachar EJ, Frantz AG. Dopamine antagonism by thioridazine in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 1975; 10(1): 53-7.
- Thioridazine. *Tuberculosis* 2008; 88(2): 164-7.
- Kang S, Dong SM, Kim BR, Park MS, Trink B, Byun HJ, *et al.* Thioridazine induces apoptosis by targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in cervical and endometrial cancer cells. *Apoptosis* 2012; 17(9): 989-97.
- Zhao L, Dong A, Gu J, Liu Z, Zhang Y, Zhang W, *et al.* The antitumor activity of TRAIL and IL-24 with replicating oncolytic adenovirus in colorectal cancer. *Cancer Gene Ther* 2006; 13(11): 1011-22.
- Liu XY, Li HG, Zhang KJ, Gu JF. Strategy of Cancer Targeting Gene-Viro-Therapy (CTGVT) a trend in both cancer gene therapy and cancer virotherapy. *Curr Pharm Biotechnol* 2012; 13(9): 1761-7.
- Sachlos E, Risueno RM, Laronde S, Shapovalova Z, Lee JH, Russell J, *et al.* Identification of drugs including a dopamine receptor antagonist that selectively target cancer stem cells. *Cell* 2012; 149 (6): 1284-97.