

# 凋亡素在人体消化道肿瘤中的作用

姜 政, 汪志群, 黄爱龙, 向廷秀, 谯 敏, 王丕龙

姜政, 向廷秀, 谯敏, 王丕龙, 重庆医科大学第一附属医院消化科  
重庆市 400016  
汪志群, 重庆医科大学应用技术学院 重庆市 400050  
黄爱龙, 重庆医科大学肝炎研究所 重庆市 400010  
项目负责人: 姜政, 400016, 重庆市渝中区医学院路 1 号, 重庆医科大学第一附属医院消化科. jianggooddoctor@mail.china.com  
电话: 023-68891218  
收稿日期: 2004-04-10 接受日期: 2004-04-27

## 摘要

细胞凋亡是细胞在其基因的调控下有序的死亡方式, 是生物细胞的一种生理性死亡过程, 对于维持整个机体的正常生理过程、保证个体正常发育起着重要作用. 一旦细胞的增生和/或凋亡异常, 均可导致细胞的恶性转化. 凋亡素(VP3)来源于鸡贫血病毒, 由 366 bp 组成, 编码 121 个氨基酸序列的小分子物质, 能够特异性诱导肿瘤细胞的凋亡, 不依赖于 p53, 同时 Bcl-2 不仅不能抑制其活性, 而且具有加速 VP3 诱导凋亡的作用, 最令人兴奋的是 VP3 对正常的人和鼠的二倍体细胞无任何毒副作用, 其原因在于 VP3 特异性的核定位及其磷酸化所致. 多种载体(细菌或质粒)具有独特的安全性能和/或免疫佐剂作用, 经过分子生物学改造以后, 能够表达外源基因并具有生物学活性, 可以作为 VP3 释放系统, 利用 VP3 在正常细胞和肿瘤细胞以及转化细胞中定位的不同以及 VP3 激酶在肿瘤细胞和正常细胞中表达的差异, 对癌前病变或易于癌变的细胞进行检测, 对预测肿瘤发生的倾向性和肿瘤的治疗具有重要的意义. 因此 VP3 在抗肿瘤方面具有巨大的潜在优势和广阔的应用前景, 对 VP3 进行深入细致的研究可能为恶性肿瘤的治疗开辟一条新的、有效的、安全的途径.

姜政, 汪志群, 黄爱龙, 向廷秀, 谯敏, 王丕龙. 凋亡素在人体消化道肿瘤中的作用. 世界华人消化杂志 2004;12(8):1913-1917  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1913.asp>

## 0 引言

众所周知, 消化道的恶性肿瘤, 是我国最常见的恶性肿瘤之一, 其中胃癌居消化道恶性肿瘤死亡原因的第一位, 约有半数死于胃癌, 流行病学调查发现: 在甘肃河西走廊、胶东半岛、江浙沿海一带, 胃癌的发生率居全国的首位. 因此消化道的恶性肿瘤-胃癌是危害人类健康的头号大敌, 及早发现和研制彻底根治恶性肿瘤措施已成为全人类的共同心愿. 而肿瘤的靶向治疗是继手术、放疗、化疗后发展起来的肿瘤治疗的第四大疗法, 在提高消化系统恶性肿瘤的治疗效果、延长生存时间、降低放疗和化疗副作用方面发挥了重要

作用. 肿瘤靶向治疗作为一种全新的治疗模式, 很重要的原因就在于他从根本上克服和弥补了传统治疗方法的缺陷与不足.

在正常情况下, 细胞凋亡(apoptosis)是细胞在其基因的调控下有序的死亡方式, 是生物细胞的一种生理性死亡过程, 对于维持整个机体的正常生理过程、保证个体正常发育起着重要作用. 其最大的特点是细胞死亡的时候保持了细胞膜的完整性, 从而避免了炎症反应, 在几乎所有组织细胞的更新上起着重要的作用, 特别是更新率较高的组织和系统. 但一旦细胞的增生与/或凋亡异常, 均可导致细胞的恶性转化. 研究表明肿瘤细胞凋亡抑制因子活性的增强与/或凋亡因子活性的减弱, 都能逃避体内免疫系统对异常细胞的识别和清除, 最终导致肿瘤的发生. 因此, 特异性阻止细胞内凋亡抑制因子的表达以及增强凋亡因子的活性已成为治疗癌症新的研究方向. 由于肿瘤新生血管不断向肿瘤组织输送营养物质和排泄代谢废物, 导致肿瘤细胞无限的繁殖, 因此要彻底治疗和/或治愈恶性肿瘤, 关键在于促使异常细胞或转化细胞的凋亡, 而凋亡素则是有效的促使肿瘤细胞凋亡的蛋白之一. 近年来以凋亡素(apoptin)为主导的肿瘤靶向治疗在肿瘤预防和治疗方面提供了一个全新的模式.

## 1 VP3 结构和特征

1.1 鸡贫血病毒与 VP3 VP3 来源于鸡贫血病毒(chicken anemia virus, CAV), 1979 年首次在日本分离得到, 最近被确定为圆环病毒科成员. 其基因组全长为 2 319 bp, 组成环状负链 DNA, 有 3 个部分或完全重叠的开放阅读框, 其基因组中包含了惟一的启动子和增强子, CAV 经过一个双链 DNA 中间体进行复制, 然后以单链 mRNA 进行转录, 分别编为 VP1(*M*<sub>r</sub> 51 600)、VP2(*M*<sub>r</sub> 24 000)和 VP3(*M*<sub>r</sub> 13 000) 3 种蛋白质. 他的衣壳仅包含了 VP1, 但是为了产生隐蔽性抗原决定簇, VP1、VP2 需要同时合成. CAV 基因组中有一突变体插入到启动子/增强子第 12 bp 上, 从而形成有免疫功能的 CAV 颗粒. 在研究 CAV 时发现 VP3 主要通过诱导鸡胸腺和骨髓造血祖细胞凋亡而致病, 以及引起全身淋巴细胞组织萎缩而导致免疫缺陷病. 因此将 VP3 命名为凋亡素(apoptin)<sup>[12]</sup>.

1.2 VP3 的分子结构及生物学特性 VP3 是一个小分子蛋白, 由 366 bp 组成, 编码 121 个氨基酸序列, 含有 2 个脯氨酸丰富区和 2 个硷性区, 其 C 端硷性区由

11个氨基酸组成. 经核苷酸序列分析表明, VP3 分别具有两个向核内运输的保守氨基酸序列和一个向核外运输的保守氨基酸序列(IPIGIAGITITLSL, 33-46), 因而认为这些保守的肽段与VP3的核定位相关. 在所有的肿瘤细胞中, VP3 主要位于核仁异染色体区域, 而在正常细胞中则位于核仁的周围, 其原因之一在于VP3具有双向核定位信号. 据研究VP3具有多个独立的结合位点, 同时N、C-末端都分别能够与DNA结合, 主要集中在密集的异染色体以及核仁的周围. 在体内VP3与双链DNA结合形成巨大的核蛋白超聚物, 推测其结构与诱导细胞凋亡有关, 具有细胞杀伤活性<sup>[1]</sup>. 据Leliveld *et al* 研究发现, VP3是高度稳定的生物活性物质, 由30-40单体组成的多聚复合体, 在诱导肿瘤细胞凋亡之前被输送到细胞核, 免疫电子显微镜显示VP3与异染色体和核仁集聚在一起, 这种定位趋向性可以解释VP3为什么容易与DNA形成独特的直径不超过200 nm超聚物. 而这种超聚物由20多聚VP3复合体和大约3 kb的核苷酸组成, 进一步研究表明一个单一的VP3多聚物具有8个独立的、非特异的DNA结合位点, 对裸露的、无修饰的单链和双链DNA以及DNA结构末端具有高度亲和力, 在转录活跃、复制以及损伤的DNA部位, 这种超聚物大量存在, 据此推测VP3是通过干扰DNA转录和合成启动了肿瘤细胞的凋亡<sup>[3-4]</sup>. 大量文献表明, VP3诱导细胞凋亡是通过定位于凋亡细胞核而起作用, 其效应与VP3表达量相一致<sup>[5]</sup>, 而且VP3诱导肿瘤细胞的凋亡, 不依赖于p53, 抗凋亡蛋白Bcl-2也不能抑制其活性, 同时具有加速VP3诱导凋亡的作用, 最令人兴奋的是VP3对正常人和鼠的二倍体细胞无任何毒副作用<sup>[2, 6-7]</sup>.

## 2 VP3致肿瘤细胞凋亡的作用机制

肿瘤细胞的凋亡相关基因有p53, Bcl-2, IAP, E1B-19 kD和BAG-1等, p53基因是肿瘤抑制基因, 他编码的p53能通过调节DNA转录对受损的DNA进行修复, 若修复失败则p53启动细胞凋亡程序来清除受损细胞, 阻止具有癌变倾向的突变细胞的产生. 目前临床上以p53治疗恶性肿瘤主要依赖于p53介导的细胞凋亡, 但大多数肿瘤患者的p53基因均发生了不同程度的突变, 突变后的p53基因不仅原有的抑制活性丧失, 同时转变为癌基因, 极大地影响了治疗效果; Bcl-2原癌基因由于染色体易位(14-18)使得该基因与免疫球蛋白重链位点并列, 导致Bcl-2基因过度表达. Bcl-2过度表达延长了细胞的寿命, 导致肿瘤发生的机会增加, 因此Bcl-2表达有抑制细胞凋亡的作用; IAP(inhibitor of apoptosis, 细胞凋亡抑制因子)家族是一类分布广泛的抗凋亡蛋白, 存在于病毒、酵母和哺乳动物细胞中, 具有高度保守性, 能抑制细胞的凋亡. 以往IAPs尽管在人肿瘤组织有高水平的表达, 但在正常组织中也有表达, 因此阻止其表达不仅抑制肿瘤细胞而且也影响

正常细胞的生长, 降低了对肿瘤细胞的特异性抑制作用, 限制了在肿瘤研究中的应用. Survivin是近年发现的细胞凋亡抑制因子, 它具有高度保守性和明显抵抗细胞凋亡的作用. Survivin基因全长14.7 kb, 编码产生一个由142个氨基酸组成的M16 500的细胞胞质蛋白. 区别于其他IAPs最重要特点是survivin在正常成人组织中不表达(胸腺除外), 而几乎在所有人类癌症组织中都有survivin mRNA转录和蛋白的表达, 且与肿瘤患者的预后有关系. 由于survivin基因在肿瘤细胞中的特异性表达和介导肿瘤细胞抗凋亡的特性, 已成为肿瘤基因治疗新的靶点<sup>[8-9]</sup>. E1B-19 kD与Bcl-2相类似, 能抑制E1A、p53和许多外界刺激引起的细胞凋亡, 主要通过两条途径来抑制. 一条途径是E1B结合于原凋亡Bax蛋白, 阻止线粒体电位的丧失, caspase激活和凋亡; 另一条途径是E1B干扰衔接蛋白/模块而抑制caspase的作用. BAG-1是Bcl-2的结合蛋白, 类似于Bcl-2的功能, 能够抑制p53诱导的细胞凋亡, 但不能抑制由VP3所诱导的细胞凋亡, 同时与Bcl-2一起增强了VP3所致的凋亡.

研究表明VP3与p53是通过各自独立的通道而发挥其作用的<sup>[10]</sup>. Guelen *et al*<sup>[5]</sup>将VP3与HIV-TAT蛋白转导区融合表达, 则发现90%以上的TAT-VP3能够转入正常细胞和肿瘤细胞, 然而在正常细胞中, TAT-VP3停留在细胞胞质中, 对正常的6689和1BR3纤维原细胞不具有杀灭作用, 而在Saos-2和HSC-3肿瘤细胞中, TAT-VP3则从肿瘤细胞胞质中转移到细胞核而导致肿瘤细胞的凋亡. Pietersen *et al*<sup>[11]</sup>研究发现, 无论致癌性突变或p16和p53失活以及 $\beta$ -转化生长因子信号通路的中断, VP3的表达都能引起胆管细胞癌CC-LP、CC-SW和Mz-ChA-1株广泛凋亡. 在体内通过腺病毒载体的介导, VP3完全能够消除胆管细胞癌, 而且在p53抑制剂caspase共表达的情况下, 仅仅延缓VP3诱导的肿瘤细胞凋亡. 因此上述结果表明, VP3诱导肿瘤细胞的凋亡不是依赖p16和p53, 也不是依赖癌基因失活以及 $\beta$ -转化生长因子信号通路而起作用. Oro *et al*<sup>[12]</sup>报道, VP3与死亡促发区(death effector domain, DED)中的凋亡蛋白-核酸结合蛋白相结合, 从而诱导肿瘤细胞凋亡, 如果VP3不与DED结合, 其诱导的细胞凋亡可被p35蛋白抑制, 同时发现VP3杀伤细胞的活性在很大程度上与肿瘤细胞核定位有关. Danen-Van Oorschot *et al*<sup>[13]</sup>利用点突变技术证实在VP3 C末端包含一个双向核定位信号, 同时发现VP3包含2个独立诱导凋亡的不同区域, 通过阻断 novo 基因的转录、翻译, 发现VP3本身并没有任何抑制转录的活性, 提示VP3是通过其他方式而发挥其作用. 为了证明VP3核定位是发挥其功能的基础, 研究者在非转化细胞中, 将VP3与异核定位信号融合表达, 尽管具有核定位, 但是VP3并不诱导细胞的凋亡, 说明核定位并不足以使VP3激活而发挥其功能. Rohn *et al*<sup>[14]</sup>提出VP3是由普遍存在的肿

瘤特异性通道而被激活、发挥作用的, 实验表明肿瘤细胞无论在体内还是在体外培养, VP3 都被大量磷酸化, 而在正常细胞中, VP3 几乎没有磷酸化的过程. 通过氨基酸分析发现VP3大量磷酸化发生在108位苏氨酸位点. 随后研究者通过点突变将VP3 108位氨基酸进行磷酸化, 发现VP3 能够聚集在正常细胞核周围并将其杀灭. 在不同组织来源的肿瘤细胞中, 发现导致VP3 108位苏氨酸磷酸化激酶大量存在, 而在正常细胞中检测不到VP3激酶的活性, 同时激酶的激活通常与肿瘤以及肿瘤的癌前状态相关联的, 因此提示VP3激酶是VP3对肿瘤特性的关键调节酶. 因此VP3能特异性诱导肿瘤细胞凋亡, 而对正常人和鼠的二倍体细胞无任何毒副作用, 其主要原因在于VP3磷酸化所导致的.

### 3 VP3 释放系统的选择

某些载体(细菌或质粒), 经过分子生物学改造以后, 能够表达外源基因, 而且具有生物学活性, 同时其载体还具有独特的安全性和免疫佐剂作用而受到科学家们的关注.

3.1 真核表达载体 核酸疫苗(DNA 疫苗)是1990年初发展起来的一种全新的第三代疫苗, 因其不仅能诱导体液免疫和细胞免疫, 而且还具有容易构建与改造, 制备工艺简单等传统疫苗难以比拟的优点, 而受到普遍重视. 据文献报道注入的DNA可以达到机体的其他部位, 且能被多种细胞摄取而进入细胞, 这为DNA疫苗奠定了基础. pcDNA3.1(+)作为研究工具, 将VP3基因克隆至pcDNA3.1(+), 探讨其在真核细胞表达的情况. 实验结果表明, VP3能在真核细胞中表达, 并能使接种的动物获得对肿瘤的免疫力. 国内外已报道了pcDNA3.1(+)/VP3, pIR/VP3/Pirhnvp3构建, 初步证明了其细胞凋亡活性以及对机体的保护作用.

3.2 原核表达载体 采用的原核表达载体如pET32a(+), 含有T7启动子和转录终止信号. 其特点除能够编码6个组氨酸残基外, 还带有大肠杆菌TrxA基因. 外源基因经多克隆位点插入后, 可与TrxA基因一起融合表达, 由于分子质量增大, 更容易表达, 便于用SDS-PAGE鉴定、分析, 同时通过6个组氨酸残基更容易分离、提纯. Sun *et al*<sup>[15]</sup>报道采用原核表达质粒pPROEXHT和pBV220来表达VP3, 实验证明VP3能够在pPROEXHT表达、且具有生物活性, 对肿瘤细胞具有凋亡作用, 这就为在体内、体外进一步研究VP3奠定了基础.

3.3 腺病毒载体 随着基因转移技术的不断完善和分子生物学的发展, 作为一种全新的具有广阔发展前景的肿瘤治疗方法正越来越受到重视. 基因治疗为攻克恶性肿瘤开辟了一条新的途径. 而安全有效的基因载体是成功进行基因治疗的先决条件, 腺病毒载体除了具有上述优点外, 还具有宿主范围广, 较其他病毒如逆转录病毒感染率高; 病毒DNA一般存在于细胞染色体外, 整合突变致癌或遗传毒性可能性小; 易于培养和纯化; 重组

腺病毒理化性质较稳定, 载体比较容易制备, 应用腺病毒载体可以获得高滴度的病毒和高水平的基因表达优点. 因此腺病毒以其自身的生物学特点已成为最重要的基因转移载体之一. 目前靶向性腺病毒的研究和开发为腺病毒载体的临床应用展现了更加诱人的前景. van der Eb *et al*<sup>[16]</sup>采用腺病毒介导VP3对种植了人体肝细胞癌的免疫缺陷小鼠进行了研究, 通过Western blot、免疫组织化学等方法发现在注射了重组腺病毒的部位及其周围, VP3大量的表达, 而且癌细胞的死亡以及细胞的破碎在转染的区域普遍存在, 其结果发现肝癌细胞生长缓慢、甚至完全消失, 显著地延长了免疫缺陷小鼠的生存时间. Pietersen *et al*<sup>[17]</sup>采用腺病毒载体, 构建AdMLPvp3转染正常的小鼠肝细胞, 并不引起其凋亡, 而转染肝癌细胞HepG2和Hep3b后, 则快速诱导癌细胞程序性的凋亡. 同时发现腹腔内、皮下以及静脉内注射AdMLPvp3是安全的, 甚至静脉内重复注射AdMLPvp3没有任何毒、副作用. 因此作者提出以腺病毒作为VP3的表达载体对治疗实性肿瘤是有效的、安全的.

3.4 卡介苗(BCG) 以往主要用于预防结核菌的感染, 经过分子生物学改造以后, 构建出能在BCG中表达外源基因的大肠杆菌-分枝杆菌穿梭表达质粒. 研究表明, 重组BCG(rBCG)能够表达IL-12, IFN- $\gamma$ , GM-CSF, HCG- $\beta$ 且能被机体识别, 可用于人类的生物治疗. 在肿瘤治疗方面, BCG应用广泛, 主要是通过激活Th细胞产生IL-12, IFN- $\gamma$ 等细胞因子激活体内巨噬细胞以及NK细胞, 或直接激活体内巨噬细胞而发挥抗肿瘤作用. 除此之外, 还可以作为免疫佐剂以增强其他抗肿瘤药物的治疗作用. rBCG技术已经作为一种分子生物学技术广泛用于疫苗、肿瘤、治疗等领域<sup>[18-29]</sup>. 具有毒副作用小、安全、生产工艺简单, 不需要纯化, 成本低, 本身就是很强的免疫佐剂, 一次性接种, 终身带菌, 可使机体产生长期的细胞免疫和体液免疫, 因而将预防和治疗于一体. 如果外源基因在BCG中过度表达, 还可以通过体外干预的方法终止其过度表达. 目前以BCG作为VP3释放载体的rBCG-VP3正在构建, 以期待获得一种理想的疫苗.

### 4 VP3 临床应用及前景

VP3能够特异性地诱导肿瘤细胞、转化细胞发生凋亡而对正常体细胞无损伤作用. 在原代T细胞、脐静脉血管内皮细胞、平滑肌细胞和表皮角化细胞等人正常细胞中, 细胞凋亡率仅为15%, 与正常细胞自然凋亡水平持平, 但是由SV40转化的致瘤性或转化的非致瘤性成纤维细胞和角化细胞, 在VP3表达的条件下, 细胞凋亡率则高达75-85%. 国外学者的研究也证明了VP3能够诱导肝癌、淋巴瘤、白血病等多种细胞的凋亡, 同时也能诱导转化细胞发生凋亡. 胆管细胞癌是一种预后较差的肿瘤, 仅有少部分患者能够手术切除, 而化疗以及 $\gamma$ -放疗仅仅是姑息性治疗, 而VP3诱导肿

瘤细胞凋亡不受 p53 突变以及 Bcl-2 过度表达的阻碍, 同时在体外通过重组质粒 VP3 转染 3 株胆管细胞癌 CC-LP, CC-SW 和 Mz-ChA-1, 无论致瘤突变或 p16 和 p53 失活以及转化生长因子  $\beta$  信号通路的阻断, VP3 都能够大量表达而导致胆管细胞癌完全凋亡, 而且与 p53 抑制剂 caspase 共同表达, VP3 仅仅延缓肿瘤细胞的凋亡, 因此作者提出 VP3 将有希望成为胆管细胞癌的一种有效的治疗措施<sup>[11]</sup>. van der Eb *et al*<sup>[16]</sup> 采用腺病毒介导 VP3 对种植了人体肝细胞癌的免疫缺陷小鼠进行了研究, 发现 VP3 大量表达, 而且癌细胞的死亡以及细胞的破碎在转染的区域普遍存在, 肝癌细胞生长缓慢、甚至完全消失, 显著地延长了免疫缺陷小鼠的生存时间. Pietersen *et al*<sup>[17]</sup> 采用腺病毒载体, 构建了 AdMLPvp3, 转染肝癌细胞 HepG2 和 Hep3b 后, 则快速诱导癌细胞程序性的凋亡. 同时还发现了腹腔内、皮下以及静脉内注射 AdMLPvp3 是安全的, 甚至静脉内重复注射 AdMLPvp3 没有任何毒、副作用. Olijslagers *et al*<sup>[30]</sup> 采用具有亲肿瘤和溶肿瘤特性的哺乳动物微小病毒作为载体, 构建重组的 hH1/Apoptin 和 hH1/GFP 病毒, 比较两种重组载体分别转染 3 种人体肿瘤细胞系诱导肿瘤细胞凋亡的作用, 发现肿瘤细胞系对野生型 H1 微小病毒以及重组 hH1/GFP 病毒具有耐受其毒性作用或抵抗其感染, 而 hH1/Apoptin 与 hH1/GFP 重组病毒相比, 毒副作用几乎一致, 但同时 hH1/Apoptin 则大大诱导肿瘤细胞的凋亡, 因此作者提出以微小病毒作为载体, 以凋亡基因作为目的基因将是一种有效的抗肿瘤治疗措施. 孔大辉 *et al* 研究发现, VP3 可有效诱导人成骨肉瘤细胞多耐药株 ROS732 细胞凋亡<sup>[31]</sup>. 谭芳 *et al*<sup>[32]</sup> 研究表明 VP3 能有效地诱导人白血病细胞 MOH-C 凋亡, 同时朱惠明 *et al*<sup>[33]</sup> 发现 EGFP 与 VP3 形成的融合蛋白 EGFP-VP3 具有诱导人肝癌细胞凋亡的作用. 孙国敬 *et al*<sup>[15]</sup> 将 VP3 基因定向克隆到 pPROEXHT 和 pBV220 构建成重组 pPROEXHT/VP3、pBV220/VP3, 以脂质体介导的方法转染 Hela 细胞, 与空白质粒作为对照, pPROEXHT/VP3、pBV220/VP3 能显著诱导 Hela 细胞凋亡. 实验证明 VP3 能够在 pPROEXHT 表达、且具有生物活性, 对肿瘤细胞具有凋亡作用, 为在体内、体外进一步研究 VP3 奠定了基础.

总之, 我们从分子水平、细胞水平和整体水平上证明了 VP3 对肿瘤细胞的诱导具有特异性、高效性、以及安全性等特点. 针对常规的化学或药物治疗无效的顽固性恶性肿瘤, 可以利用 VP3 的核定位功能作为基因治疗载体, 携带目的基因蛋白进入肿瘤细胞核内发挥其协同作用, 同时利用 VP3 在正常细胞和肿瘤细胞以及转化细胞中定位的不同以及 VP3 激酶在肿瘤细胞和正常细胞中的差异, 对癌前病变或易于癌变的细胞进行检测, 预测肿瘤发生的倾向性, 因此 VP3 在抗肿瘤方面具有巨大的潜在优势和广阔的应用前景, 对 VP3 进行深入的研究可能为肿瘤治疗开辟一条新的途径.

## 5 参考文献

- Leliveld SR, Dame RT, Rohn JL, Noteborn MH, Abrahams JP. Apoptin's functional N- and C-termini independently bind DNA. *FEBS Lett* 2004;557:155-158
- Noteborn MH. Chicken anemia virus induced apoptosis: underlying molecular mechanisms. *Vet Microbiol* 2004;98:89-94
- Leliveld SR, Dame RT, Mommaas MA, Koerten HK, Wyman C, Danen-van Oorschot AA, Rohn JL, Noteborn MH, Abrahams JP. Apoptin protein multimers form distinct higher-order nucleoprotein complexes with DNA. *Nucleic Acids Res* 2003;31:4805-4813
- Leliveld SR, Zhang YH, Rohn JL, Noteborn MH, Abrahams JP. Apoptin induces tumor-specific apoptosis as a globular multimer. *J Biol Chem* 2003;278:9042-9051
- Guelen L, Paterson H, Gaken J, Meyers M, Farzaneh F, Tavassoli M. TAT-apoptin is efficiently delivered and induces apoptosis in cancer cells. *Oncogene* 2004;23:1153-1165
- Noteborn MH. Apoptin-induced apoptosis: a review. *Apoptosis* 1999;4:317-319
- Zhang YH, Leliveld SR, Kooistra K, Molenaar C, Rohn JL, Tanke HJ, Abrahams JP, Noteborn MH, Leadd BV, Netherlands LT. Recombinant apoptin multimers kill tumor cells but are nontoxic and epitope-shielded in a normal-cell-specific fashion. *Exp Cell Res* 2003;289:36-46
- Schlette EJ, Medeiros LJ, Goy A, Lai R, Rassidakis GZ. Survivin expression predicts poorer prognosis in anaplastic large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2004;22:1682-1688
- Lu B, Mu Y, Cao C, Zeng F, Schneider S, Tan J, Price J, Chen J, Freeman M, Hallahan DE. Survivin as a therapeutic target for radiation sensitization in lung cancer. *Cancer Res* 2004;64:2840-2845
- Danen-van Oorschot AA, den Hollander AI, Takayama S, Reed JC, van der Eb AJ, Noteborn MH. BAG-1 inhibits p53-induced but not apoptin-induced apoptosis. *Apoptosis* 1997;2:395-402
- Pietersen AM, Rutjes SA, van Tongeren J, Vogels R, Wesseling JG, Noteborn MH. The tumor-selective viral protein apoptin effectively kills human biliary tract cancer cells. *J Mol Med* 2004;82:56-63
- Oro C, Jans DA. The tumour specific pro-apoptotic factor apoptin (Vp3) from chicken anaemia virus. *Curr Drug Targets* 2004;5:179-190
- Danen-Van Oorschot AA, Zhang YH, Leliveld SR, Rohn JL, Seelen MC, Bolk MW, Van Zon A, Erkeland SJ, Abrahams JP, Mumberg D, Noteborn MH. Importance of nuclear localization of apoptin for tumor-specific induction of apoptosis. *J Biol Chem* 2003;278:27729-27736
- Rohn JL, Zhang YH, Aalbers RI, Otto N, Den Hertog J, Henriquez NV, Van De Velde CJ, Kuppen PJ, Mumberg D, Donner P, Noteborn MH. A tumor-specific kinase activity regulates the viral death protein Apoptin. *J Biol Chem* 2002;277:50820-50827
- Sun GJ, Tong X, Dong Y, Sun ZX. Expression, Purification and in vitro Activity of Apoptin. *Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Xuebao (Shanghai)* 2001;33:225-228
- van der Eb MM, Pietersen AM, Speetjens FM, Kuppen PJ, van de Velde CJ, Noteborn MH, Hoeben RC. Gene therapy with apoptin induces regression of xenografted human hepatomas. *Cancer Gene Ther* 2002;9:53-61
- Pietersen AM, van der Eb MM, Rademaker HJ, van den Wollenberg DJ, Rabelink MJ, Kuppen PJ, van Dierendonck JH, van Ormondt H, Masman D, van de Velde CJ, van der Eb AJ, Hoeben RC, Noteborn MH. Specific tumor-cell killing with adenovirus vectors containing the apoptin gene. *Gene Ther* 1999;6:882-892
- Kawahara M, Hashimoto A, Toida I, Honda M. Oral recombinant mycobacterium bovis bacillus calmette-guerin expressing HIV-1 antigens as a freeze-dried vaccine induces long-term, HIV-specific mucosal and systemic immunity. *Clin*

- Immunol* 2002;105:326-331
- 19 Kawahara M, Matsuo K, Nakasone T, Hiroi T, Kiyono H, Matsumoto S, Yamada T, Yamamoto N, Honda M. Combined intrarectal/intradermal inoculation of recombinant Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guerin (BCG) induces enhanced immune responses against the inserted HIV-1 V3 antigen. *Vaccine* 2002;21:158-166
  - 20 Young SL, O'Donnell MA, Buchan GS. IL-2-secreting recombinant bacillus Calmette Guerin can overcome a Type 2 immune response and corticosteroid-induced immunosuppression to elicit a Type 1 immune response. *Int Immunol* 2002;14:793-800
  - 21 Young S, O'Donnell M, Lockhart E, Buddle B, Slobbe L, Luo Y, De Lisle G, Buchan G. Manipulation of immune responses to Mycobacterium bovis by vaccination with IL-2- and IL-18-secreting recombinant bacillus Calmette Guerin. *Immunol Cell Biol* 2002;80:209-215
  - 22 Zheng C, Xie P, Chen Y. Recombinant Mycobacterium bovis BCG producing the circumsporozoite protein of Plasmodium falciparum FCC-1/HN strain induces strong immune responses in BALB/c mice. *Parasitol Int* 2002;51:1-7
  - 23 Mederle I, Bourguin I, Ensergueix D, Badell E, Moniz-Peireira J, Gicquel B, Winter N. Plasmidic versus insertional cloning of heterologous genes in Mycobacterium bovis BCG: impact on in vivo antigen persistence and immune responses. *Infect Immun* 2002;70:303-314
  - 24 Zheng C, Xie P, Chen Y. Immune response induced by recombinant BCG expressing merozoite surface antigen 2 from Plasmodium falciparum. *Vaccine* 2001;20:914-919
  - 25 Chujoh Y, Matsuo K, Yoshizaki H, Nakasatomi T, Someya K, Okamoto Y, Naganawa S, Haga S, Yoshikura H, Yamazaki A, Yamazaki S, Honda M. Cross-clade neutralizing antibody production against human immunodeficiency virus type 1
  - clade E and B' strains by recombinant Mycobacterium bovis BCG-based candidate vaccine. *Vaccine* 2001;20:797-804
  - 26 Hiroi T, Goto H, Someya K, Yanagita M, Honda M, Yamanaka N, Kiyono H. HIV mucosal vaccine: nasal immunization with rBCG-V3J1 induces a long term V3J1 peptide-specific neutralizing immunity in Th1- and Th2-deficient conditions. *J Immunol* 2001;167:5862-5867
  - 27 Ohara N, Matsuoka M, Nomaguchi H, Naito M, Yamada T. Protective responses against experimental Mycobacterium leprae infection in mice induced by recombinant Bacillus Calmette-Guerin over-producing three putative protective antigen candidates. *Vaccine* 2001;19:1906-1910
  - 28 Luo Y, Chen X, Szilvasi A, O'Donnell MA. Co-expression of interleukin-2 and green fluorescent protein reporter in mycobacteria: in vivo application for monitoring antimycobacterial immunity. *Mol Immunol* 2000;37:527-536
  - 29 Miyaji EN, Mazzantini RP, Dias WO, Nascimento AL, Marcovitz R, Matos DS, Raw I, Winter N, Gicquel B, Rappuoli R, Leite LC. Induction of neutralizing antibodies against diphtheria toxin by priming with recombinant Mycobacterium bovis BCG expressing CRM(197), a mutant diphtheriatoxin. *Infect Immun* 2001;69:869-874
  - 30 Olijslagers S, Dege AY, Dinsart C, Voorhoeve M, Rommelaere J, Noteborn MH, Cornelis JJ. Potentiation of a recombinant oncolytic parvovirus by expression of Apoptin. *Cancer Gene Ther* 2001;8:958-965
  - 31 Dahui K. Apoptin inducing apoptosis in the multidrug resistant model of human osteosarcoma cell line. *Chin J Cancer Biother* 2001;8:193-196
  - 32 谭芳, 张玉静, 徐彦波, 刘万臣, 张艳宇, 柳凤琴. 凋亡素(apoptin)诱导人白血病细胞的凋亡. *中国兽医学报* 2001;21:571-572
  - 33 朱惠明, 蔡筱彦, 黄勋, 顾红祥, 王立生. 凋亡素基因治疗系统对人肝癌细胞的影响. *中华内科杂志* 2003;42:646-647

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

## *World Journal of Gastroenterology* 以国际最优秀的期刊为目标

《World Journal of Gastroenterology, WJG》将完全按照国际标准办刊, 从收稿到出版的管理, 已完全实现市场化, 以质量为本. 从收稿到出版或退稿, 以公正科学的态度处理每一份稿件. 在学术水平和编辑质量方面以国际最优秀的期刊为目标. WJG 争取在国家、作者、读者, 全体编委和社会的大力支持下, 办成一份国际本专业具有突出影响的学术期刊.

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

## *World Journal of Gastroenterology* 审稿要点

《World Journal of Gastroenterology, WJG》根据编委的审稿意见, 来稿分为优先发表、可以发表、修改后发表、修改后再审等项处理. WJG 为了确保其出版的每篇论文的学术质量, 特制定了以下评审要点. (1)题名: 是否准确反映了研究工作的科学问题, 内容是否简明而有特色. 若不符, 请提出具体修改意见. (2)摘要: 是否明确指出了研究的背景与目的、材料和方法、结果(包括重要数据)和结论, 创新点和重点科学问题是否与目的、材料和方法、结果(包括重要数据)和结论相符. (3)引言: 是否包括该研究的目的是与其他相关研究的关系. (4)材料和方法: 有无特色, 如大样本、安全性和有效性的随机、双盲双模拟、多中心平行对照临床试验、特殊病例、细胞或组织样品; 研究方法和技术的有无创新性、系统性或特色. 改进和创新方法的描述是否达到了他人可以重复或验证的要求, 实验对照的设计是否合理可靠, 统计学处理方法的使用是否恰当. (5)结果: 是否能得出较明确的科学结论, 实验证据是否充足. 临床研究重点应看其样本大小和统计学分析结果. (6)讨论: 是否条理分明, 有无系统的理论分析和有价值的科学结论. (7)参考文献: 文献引用是否恰当和充分, 特别是最新文献的引用情况. (8)综合评价: 论文的科学性、创新性和可读性是否能较好地反映我国或国际胃肠病学临床和基础研究的先进水平.