

乏氧/辐射双启动子系统调控的自杀基因放射治疗研究进展

郝攀, 张春丽

(北京大学第一医院, 北京 100034)

摘要: 基因—放射治疗是近年来国际上肿瘤治疗的一个新策略, 但由于实体瘤常处于缺氧状态而对放射敏感性低, 影响辐射调控序列的转录活性, 因此该疗法目前尚未达到理想效果。在治疗基因上游引入乏氧启动子可克服肿瘤乏氧对辐射调控序列转录活性的影响, 提高对肿瘤的杀伤效果。全文对辐射诱导、乏氧诱导以及乏氧/辐射双诱导启动子联合自杀基因放射治疗的研究现状、目前存在问题与前景进行综述。

关键词: 放射治疗; 基因治疗; 早生长反应因子; 乏氧诱导因子

中图分类号: R73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2013)12-0986-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2013.12.B017

Progress of Hypoxia/radiation Dual-sensitive Promoter Controlling Suicide Gene Expression in Radiotherapy

HAO Pan, ZHANG Chun-li

(Peking University First Hospital, Beijing 100034, China)

Abstract: Gene-radiotherapy is a new strategy in the treatment for cancer recently. However, solid tumors are low radio sensitivity due to their regular hypoxia, thus affecting the transcriptional activity of radiation-regulated sequence. Therefore, this therapy fails to produce the desired effects. Introduction of hypoxic promoter into the upstream of the therapeutic gene can overcome the decrease on the transcriptional activity of radiation-regulated sequence due to the hypoxic state of tumor and thus enhance the killing effect on tumor cells. This paper reviews the research status, existing problems and prospect of radiotherapy combined with radiation-induced, hypoxia-induced and hypoxia/radiation double-induced promoters with suicide gene.

Subject words: radiotherapy; gene therapy; Egr-1; HIF-1

近年来,随着肿瘤分子核医学的发展,放射性核素诊治肿瘤越来越受到人们关注,已成为核医学领域中一个重要的独立分支学科。尤其是放射性核素基因治疗的研究与应用,显示出肿瘤分子核医学的勃勃生机^[1]。传统的放射治疗手段,在治疗同时,亦对正常组织造成不同程度的损伤,并伴有严重的不良反应,如免疫抑制、心肺、胃肠道和神经毒性。而基因治疗则是一种靶向治疗方式。随着免疫学的发展和基因技术研究的不断深入,以及病毒载体、免疫基因和转基因方法的不断进展,肿瘤的基因治疗取得了许多成就,为肿瘤的靶向性治疗展现了广阔的应

用前景^[2]。

然而,由于实体瘤常处于缺氧状态而对放射敏感性低,影响辐射调控序列的转录活性,因此,肿瘤缺氧的微环境是肿瘤治疗效果差的一个重要原因。随着对乏氧诱导因子研究的深入,以 HIF-1 为诱导因子通过与靶基因启动子序列中的 HRE 结合调控其表达,改变肿瘤细胞的能量代谢途径,在肿瘤治疗中发挥越来越重要的作用,将可能成为抗肿瘤侵袭和转移治疗的重要手段之一。

1 辐射诱导启动子与基因放射治疗

放射—基因治疗是将辐射敏感性启动子与治疗基因相偶联,利用射线的电离作用,诱导治疗基因的表达。美国肿瘤放射治疗专家 Weichselbaum 于 1992

基金项目: 北京市自然科学基金资助项目(7112129);卫生部重点实验室、江苏省分子核医学重点实验室开放课题基金资助项目(KF201101)

通讯作者: 张春丽,研究员,博士;北京大学第一医院核医学科,北京市西城区西什库大街8号(100034);E-mail: zhangcl0326@sina.com

收稿日期: 2013-04-18; **修回日期:** 2013-07-02

年提出一设想,将同时具备辐射诱导特性和肿瘤杀伤性能的基因转入瘤体内,在进行肿瘤局部放射治疗的同时诱导肿瘤杀伤基因的表达,通过射线和基因的双重作用杀伤肿瘤,以达到降低照射剂量、减少正常组织损伤和增强放射治疗效果的目的^[3]。

目前研究的电离辐射诱导启动子主要有早生长反应因子 1 (early growth response-1, Egr-1) 和 p21 (WAF1) 等,其中 Egr-1 研究最为广泛。

1.1 早生长反应因子 1

Egr-1 放射性诱导响应 DNA 序列位于启动子“增强区”,含 CC(A/G)₆GG 10 个核苷酸序列,其中 GG 为放射反应模块(motif)^[4],又称为 CArG 元件, Datta 等^[5,6]研究发现,电离辐射产生的活性氧作用于 CArG 元件,可直接感受电离辐射的刺激而诱导其下游基因表达^[6,8]。

人和鼠 Egr-1 基因启动子分别含有 4 个和 5 个 CArG 元件(Figure 1),但其序列中仅 5'端“增强区”的 3 个 CArG 元件 (E425 的 CArG₁、CArG₂、CArG₃) 对电离辐射响应起核心作用。且 Egr-1 基因启动子序列中含有 SP-1 转录因子、Fos-Jun 杂二聚体激活蛋白 AP-1、cAMP 和 Egr-1 自身的结合位点,这些物质均有可能影响 Egr-1 启动子对电离辐射的响应^[7,9]。

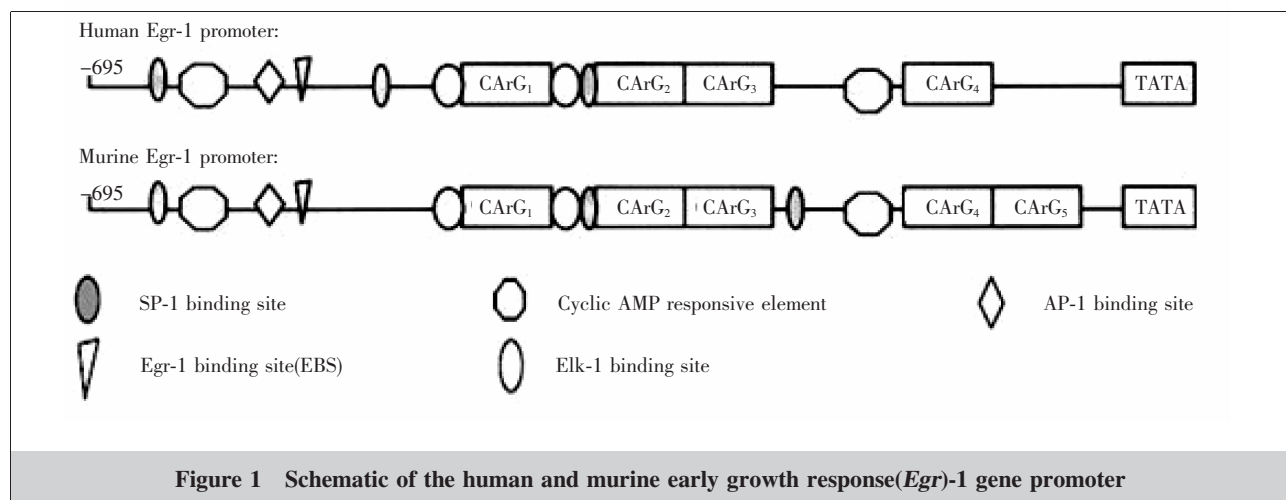
由于天然型启动子序列复杂,Marples 等^[10]和 Kamensek 等^[11]研究表明,与天然型 Egr-1 相比较,人工合成的含 CArG 元件的合成增强子,不含具有强拮抗性的转录因子,因而,具有更强的放射诱导活性。Scott 等^[9]研究表明,改变 CArG 元件串联的数目时,辐射诱导作用会发生改变,当元件个数由 4 个增加到 9 个时,其诱导作用会随个数增加而增强,而当

元件个数进一步增多,其诱导作用却反而开始出现下降趋势。同时,研究报道^[10],CArG 元件中的不同排列方式,也同样会影响其放射诱导的作用。

1.2 放射诱导的基因介导酶前体药物治疗 (gene-directed enzyme prodrug therapy, GDEPT) 系统

放射诱导的 GDEPT 系统是将放射敏感性启动子连接于“自杀”基因上游,“自杀”基因表达产物为将无毒或低毒性的前体药物转换成细胞毒性药物的酶或增强肿瘤细胞药物敏感性的酶,将其转入肿瘤细胞后,在电离辐射的诱导作用下,放射敏感性启动子调控“自杀”基因的表达,其产物可将前体药物转化为细胞毒性药物或使肿瘤细胞对药物敏感性增高,在肿瘤局部发挥杀伤作用,很大程度上降低了全身使用治疗剂量抗癌细胞毒性药物的全身不良反应^[11,12]。

目前研究最多的两种自杀基因系统有 HSV-TK (herpes simplex virus thymidine kinas,单纯疱疹病毒胸苷激酶)/GCV(ganciclovir,丙氧鸟苷/更昔洛韦)自杀系统以及 CD(cytosine deaminase,胞嘧啶脱氨酶)/5-FC (5-fluorocytidine,5-氟胞嘧啶) 自杀系统^[13]。HSV-TK 的 TK 基因能将抗病毒、无毒性药物丙氧鸟苷 GCV 磷酸化,形成核苷类似物(GCV-TP),它具有明显的细胞毒性,插入新合成的 DNA 链中,阻碍细胞 DNA 的合成,使细胞死亡。而 CD 基因能将抗真菌药物 5-FC 转化为细胞毒性药物 5-Fu(Fluorourial, 5-氟尿嘧啶),5-Fu 在细胞内的代谢物通过插入 DNA 或 RNA 链,抑制 DNA 或蛋白质的合成,从而发挥细胞杀灭作用。同时 5-Fu 也是一种放疗增敏剂,其增敏机理可能为减少细胞核酸形成,抑制细胞



修复,减少S期的抗放疗细胞^[14]。

GDEPT系统还可产生“旁观者效应”(bystander effect)^[15],即肿瘤细胞产生的“自杀”基因产物转化的细胞毒性药物在其周围肿瘤组织中扩散,不仅作用于自身,亦可作用于未转入治疗基因的肿瘤细胞中,对这些未转入治疗基因的肿瘤细胞产生杀伤作用,HSV-TK/GCV系统和CD/5-FC系统均可表现明显的“旁观者效应”。有文献报道^[16],在CD/5-FC治疗中,仅20%的肿瘤细胞表达CD基因,就可明显抑制肿瘤生长,因此,“旁观者效应”对于肿瘤的治疗来说,效果是非常显著的^[17]。

1.3 含辐射敏感启动子及自杀基因表达载体的构建

李玲等^[18]构建了含放射敏感性启动子E8及CD基因的质粒载体和重组慢病毒载体,以其体外转/感染人膀胱癌细胞株EJ,在低剂量、低能量的放射性核素¹²⁵I作用下,已导入外源基因的肿瘤细胞即可在含8个CARG元件的放射敏感性启动子的调控下启动CD/5-FC自杀系统,将5-FC转化成细胞毒性药物5-Fu,继而杀伤肿瘤细胞,对肿瘤起到电离辐射和化疗药物的双重治疗作用^[19,20]。

崔龙等^[21]已在细胞水平上和615小鼠胃癌中对副腺病毒载体介导的自杀基因的杀伤作用进行了研究。他们成功构建了含胞嘧啶脱氨酶(CD)基因的重组腺病毒载体,包装、收获及纯化病毒上清后,将上清直接转染到615小鼠前胃癌肿瘤中,系统给予前药5-FC,观察肿瘤的杀伤效应及引发的抗肿瘤免疫作用,为自杀基因对胃癌的治疗研究应用于临床实验奠定基础。

Kawashita等^[22]将Egr-1启动子连接于HSV-TK基因上游构建了质粒pEGR-tk,用其转染人肝癌细胞株Huh7、HepG2、PLC/PRF/5,体内外实验均证明转染细胞或荷转染细胞瘤裸鼠经射线照射后对GCV具有高度敏感性,而GCV对对照组并不产生毒性作用。刘金龙等^[10]构建了重组腺病毒载体pAdEgr-1-TK,并用其感染胰腺癌细胞株PC-3,照射剂量为10Gy时,加入前药GCV的感染细胞其生存率(8%)最低,远低于未经过照射的感染细胞(88%)。

2 乏氧靶向自杀基因治疗

乏氧是实体肿瘤的一个重要病理特征,是肿瘤

细胞恶性增殖与血液供应失衡的结果。肿瘤无限制的增长会引起耗氧量增加;淋巴回流的不良会导致血供不足、组织间隙高压和pH值降低;富氧血液分流进入肿瘤组织中不完整的血管等,这些都是引起肿瘤乏氧的原因。但其具体乏氧机制尚未得到完全阐明。通常在距离功能性血管100~150μm处发生乏氧现象,正常组织的氧分压为24~66mmHg,肿瘤组织氧分压为0~20mmHg(1mmHg=133~322Pa),大部分肿瘤组织的氧分压低于2.5mmHg^[23]。

Scmenza等^[24]发现一种蛋白能与促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)基因增强子的寡核苷酸序列发生特异性结合;随后,他们分离并克隆出二聚体,由乏氧诱导的亚基被命名为乏氧诱导因子-1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)^[25]。它连接在红细胞生成素基因低氧反应元件(hypoxia response element, HRE)上,缺氧条件下广泛存在于哺乳动物中。

2.1 乏氧诱导因子HIF-1

目前,越来越多的研究提示HIF-1是一种关键的平衡氧稳态和调节缺氧反应的转录因子,是缺氧诱导基因转录信息传递的最主要途径。HIF-1通过与靶基因特定序列DNA结合而调控它们的转录,这些基因调节氧能量代谢、肿瘤血管生成、侵袭转移、细胞凋亡、放疗化疗抵抗以及一些细胞因子合成等人体多种生命事件^[26-28],尤其在肿瘤发生、发展及治疗中发挥着越来越重要的作用,可能成为治疗的有效靶点^[29,30]。

HIF-1是含核心序列5'-(A/G)CGT(G/C)(G/C)-3'的增强子,含15个外显子和14个内显子,是一种异二聚体,由HIF-1α和HIF-1β两个亚基构成,因都有二聚化所需的碱性螺旋环螺旋(basic helix loop helix, bHLH)和PAS(Per-arntsim)结构域,所以它们均属于转录因子碱性螺旋环螺旋(bHLH/PAS)家族成员。HIF-1α亚基是活性单位,其结构有一个氧依赖降解区(oxygen-dependent degradation domain, ODDD),由于受缺氧的调节,故被称为“缺氧基因表达的总开关”^[31,32],能够感受外界氧浓度的变化。当氧浓度越低时,HIF-1α的蛋白水平及其与HIF-1的DNA结合能力就越高^[33,34]。

2.2 含HIF-1的自杀基因载体构建

刘军叶等^[35]报道了借助DNA重组技术构建乏氧依赖性表达的重组腺病毒载体Ad-5HRE/

hCMVmp-BCD, 用 Western blot 检测细菌胞苷脱氨酶(BCD)的表达, 细胞生长抑制实验检测人胰腺癌 MIA-PACA2 细胞对 5-FC 的敏感性, 裸鼠移植瘤实验观察 Ad-5HRE/hCMVmp-BCD/5-FC 单独或联合放射治疗对 MIA-PACA2 细胞移植瘤的杀伤效应的结果, 表明 MIA-PACA2 细胞感染 Ad-5HRE/hCMVmp-BCD 后, 乏氧处理可诱导 BCD 蛋白的表达, 并显著提高细胞对 5-FC 的敏感性。裸鼠移植瘤实验结果显示, Ad-5HRE/hCMVmp-BCD/5-FC 与放射治疗均可抑制胰腺癌移植瘤的生长, 但两者联合可显著增强对移植瘤的抑制效应。

3 乏氧/辐射双诱导启动子调控的基因放射治疗

由于乏氧是实体瘤微环境的基本特征之一, 在临床常规的放射剂量下, 乏氧环境会影响目的基因在电离辐射后的表达。因而, 构建乏氧/辐射双敏感性启动子, 提高放射—基因治疗在乏氧实体瘤中的疗效, 有利于这一疗法的进一步推广和应用。

王卫东等^[36]构建了乏氧/辐射双敏感性启动子 HRE1/Egr-1, 并研究了其在乏氧或放射诱导下调控 HSV-TK 基因在肺癌 A549 细胞中的表达及 HSV-TK 对肺癌 A549 细胞的杀伤效应, 结果显示在乏氧和放射干预下, 均可检测到 HSV-TK 的低水平表达, 而在放射合并缺氧组, 其表达水平显著高于对照组, 表明 HRE/Egr-1 启动子同时具有缺氧和辐射双重敏感性, 其辐射诱导活性在缺氧时得到了显著增强。

4 存在问题与展望

肿瘤的基因治疗已经逐步从理论走向实践, 在提高肿瘤对放化疗敏感性的同时, 减少肿瘤的复发和转移。但如何有效地将目的基因转入肿瘤细胞仍是基因治疗的难点。肿瘤的基因—放射治疗是近年来肿瘤研究的新热点, 其研究意义在于把基因调控与放射治疗结合起来, 为肿瘤治疗提供了一个新的思路。但因实体瘤的缺氧状态, 该疗法效果目前不甚满意。而乏氧是肿瘤细胞生长的微环境, 也是导致肿瘤侵袭、转移、辐射抗拒及复发的重要原因之一。随着对肿瘤乏氧细胞的深入研究, 人们提出了

乏氧介导基因治疗的新思路, 将乏氧转化为肿瘤治疗的有利因素。而乏氧/辐射双诱导基因的出现, 为肿瘤的治疗提供了新的策略。在治疗基因上游引入乏氧启动子, 可明显减弱缺氧对放射基因治疗的不利影响, 增强对肿瘤细胞的杀伤效果。

参考文献:

- [1] Wang RF. Development and situation of radionuclide imaging and therapy in oncology [J]. Journal of Isotopes, 2006, 19(2):112-118. [王荣福. 肿瘤核素诊治现状与进展[J]. 同位素, 2006, 19(2):112-118.]
- [2] Hallahan DE, Mauceri HJ, Seung LP, et al. Spatial and temporal control of gene therapy using ionizing radiation [J]. Nat Med, 1995, 1(8):786-791.
- [3] Abalosse B, Dupont F, Burrey A. Gene therapy for cancer [J]. Curr Opin Oncol, 1997, 7(12):94-100.
- [4] Yu DS, Huang HZ, Pan CB, et al. Study on synthetic promoters for radiation-inducible gene therapy [J]. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 2001, 14(1):1-4. [余东升, 黄洪章, 潘朝斌, 等. 放射诱导调控序列的合成及其辐射诱导特性的研究[J]. 口腔颌面外科杂志, 2001, 14(1):1-4.]
- [5] Datta R, Rubin E, Sukhatme V, et al. Ionizing radiation activates transcription of the EGR1 gene via CArG elements [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1992, 89(21):10149-10153.
- [6] Datta R, Taneja N, Sukhatme VP, et al. Reactive oxygen intermediates target CC (A/T)6GG sequences to mediate activation of the early growth response 1 transcription factor gene by ionizing radiation [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1993, 90(6):2419-2422.
- [7] Marples B, Greco O, Joiner MC, et al. Molecular approaches to chemo-radiotherapy [J]. Eur J Cancer, 2002, 38(2):231-239.
- [8] Zhang CL, Wang RF. Genetic radiotherapy regulated by radiation via Egr-1 promoter [J]. Journal of Chinese Oncology, 2010, 16(3):238-241. [张春丽, 王荣福. 电离辐射诱导启动子 Egr-1 调控的基因放射治疗[J]. 肿瘤学杂志, 2010, 16(3):238-241.]
- [9] Scott SD, Joiner MC, Marples B. Optimizing radiation responsive gene promoters for radiogenetic cancer therapy [J]. Gene Ther, 2002, 9(20):1396-1402.
- [10] Marples B, Scott SD, Hendry JH, et al. Development of synthetic promoters for radiation-mediated gene therapy [J]. Gene Ther, 2000, 7(6):511-517.
- [11] Kamensek U, Sersa G. Targeted gene therapy in radiotherapy [J]. Radiology and Oncology, 2008, 42(3):115-135.
- [12] Teng GL, Yang YP, Li ZQ, et al. The killing effects of nitroreductase /CB1954 suicide gene system on Hela cell [J]. Modern Oncology, 2009, 17(8):1403-1406. [滕隔玲, 杨业鹏, 李载权, 等. 硝基还原酶/CB1954 自杀基因系统对宫颈癌 Hela 细胞杀伤效应的实验研究[J]. 现代肿瘤医学, 2009, 17(8):1403-1406.]

- [13] Chamie K, Litwin MS. Quality of bladder cancer care in the USA[J]. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res*, 2011, 11(6):619–621.
- [14] Mao LW, Wang WD, Li DZ, et al. Construction of eukaryotic expression vector of pE6/p53/GFP and its influence on cell cycle of lung adenocarcinoma [J]. *Journal of Third Military Medical University*, 2007, 29(24):2323–2326. [毛丽伟, 王卫东, 李德志, 等. pE_6/p53/GFP 重组真核表达载体的构建及其对肺腺癌细胞周期的影响[J]. *第三军医大学学报*, 2007, 29(24):2323–2326.]
- [15] Zhao JG, Yang W, Sun T, et al. Experimental study on vitro radiation inducible expression of recombinant plasmid pcDNAEgr-IFN γ by ionizing radiation of ^{125}I -UdR[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2007, 27(6):501–503. [赵敬国, 杨巍, 孙婷, 等. ^{125}I -脱氧尿嘧啶核苷对重组质粒 pcDNAEgr-IFN γ 体外辐射诱导表达的作用[J]. *中国老年学杂志*, 2007, 27(6):501–503.]
- [16] Khatri A, Zhang B, Doherty E, et al. Combination of cytosine deaminase with uracil phosphoribosyl transferase leads to local and distant bystander effects against RM1 prostate cancer in mice [J]. *J Gene Med*, 2006, 8(9):1086–1096.
- [17] Huber BE, Austin EA, Good SS, et al. In vivo antitumor activity of 5-fluorocytosine on human colorectal carcinoma cells genetically modified to express cytosine deaminase [J]. *Cancer Res*, 1993, 53(19):4619–4626.
- [18] Li L, Zhang CL, Yan P, et al. Construction and ^{125}I induced-expression in EJ cells of lentiviral vector carrying radiation-responsive promoter and CD gene [J]. *Journal of Isotopes*, 2012, 25(3):165–170. [李玲, 张春丽, 闫平, 等. 放射敏感性启动子调控 CD /5-FC 自杀系统慢病毒载体的构建及 I 诱导表达的研究 [J]. *同位素*, 2012, 25(3):165–170.]
- [19] Li L, Zhang CL, Li N, et al. The killing effect on EJ bladder cancer cells by combination of radiation-responsive promoter conjoined CD gene and ionizing radiation of ^{125}I [J]. *Labeled Immunoassays and Clinical Medicine*, 2011, 18(5):329–333. [李玲, 张春丽, 李因, 等. 放射敏感性启动子调控 CD 基因表达联合 ^{125}I 照射对膀胱癌 EJ 细胞的杀伤作用[J]. *标记免疫分析与临床*, 2011, 18(5):329–333.]
- [20] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2):69–90.
- [21] Cui L, Cheng HY, Lin YZ. Antitumor effect of cytosine deaminase gene on gastric cancer cells[J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*, 1999, 16(4):331–336. [崔龙, 程惠玉, 林言箴. 胞嘧啶脱氨酶基因对胃癌细胞的杀伤作用[J]. *中华实验外科杂志*, 1999, 16(4):331–336.]
- [22] Kawashita Y, Ohtsuru A, Kaneda Y, et al. Regression of hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo by radiosensitizing suicide gene therapy under the inducible and spatial control of radiation[J]. *Hum Gene Ther*, 1999, 10(9):1509–1519.
- [23] Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(10):721–732.
- [24] Scmenza GL, Nejfelt MK, Chi SM, et al. Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3' to the human erythropoietin gene [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991, 88(13): 5680–5684.
- [25] Semenza GL, Wang GL. A nuclear factor induced by hypoxia via denovo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation[J]. *Mol Cell Biol*, 1992, 12(12):5447–5454.
- [26] Steiner M, Neri D. Antibody-radionuclide conjugates for cancer therapy: historical considerations and new trends [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(20):6406–6416.
- [27] Koivunen P, Hirsila M, Remes AM, et al. Inhibition of hypoxia-inducible factor (HIF) hydroxylases by citric acid cycle intermediates; possible links between cell metabolism and stabilization of HIF[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(7):4524–4532.
- [28] Rupp J, Gieffers J, Klinger M, et al. Chlamydia pneumoniae directly interferes with HIF-1 α stabilization in human host cells[J]. *Cell Microbiol*, 2007, 9(9):2181–2191.
- [29] Mazure NM, Brahimi-Horn MC, Berta MA, et al. HIF-1: master and commander of the hypoxic world. A pharmacological approach to its regulation by siRNAs[J]. *Biochem Pharmacol*, 2004, 68(6):971–980.
- [30] Yucel MA, Kurnaz LA. An in silico model for HIF-regulation and hypoxia response in tumor cells [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2007, 97(3):588–600.
- [31] Marignol L, Coffey M, Hollywood D, et al. Radiation to control transgene expression in tumors[J]. *Cancer Biol Ther*, 2007, 6(7):1005–1012.
- [32] Zhu Y, Zhang Y, Ojwang BA, et al. Long-term tolerance to retinal ischemia by repetitive hypoxic preconditioning: role of HIF-1 α and heme oxygenase-1[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007, 48(4):1735–1743.
- [33] Lyberopoulou A, Venieris E, Mylonis I, et al. MgcRacGAP interacts with HIF-1 α and regulates its transcriptional activity[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2007, 20(6):995–1006.
- [34] Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(10):721–732.
- [35] Liu JY, Guo Y, Guo GZ. Hypoxia-targeted suicidal gene therapy system enhances antitumor effects of radiotherapy on pancreatic cancer [J]. *International Journal of Radiation Medicine and Nuclear Medicine*, 2006, 30(3):168–172. [刘军叶, 郭鹂, 郭国祯. 乏氧靶向性自杀基因治疗系统增强胰腺癌[J]. *国际放射医学核医学杂志*, 2006, 30(3):168–172.]
- [36] Wang WD, Chen ZT, Li DZ, et al. HSV-TK gene therapy of lung adenocarcinoma xenografts using a hypoxia/radiation dual-sensitive promoter[J]. *Chinese Journal of Cancer*, 2004, 23(27):788–793. [王卫东, 陈正堂, 李德志, 等. 缺氧/辐射双敏感性启动子调控 HSV-TK 表达对肺癌移植瘤的作用[J]. *癌症*, 2004, 23(27):788–793.]