

IL-24 联合靶向减毒沙门菌载体 SL7207/pBud-VP3 对胃癌细胞的生长抑制作用*

曹红丹¹, 张朝鸿¹, 吕琳², 蔡佩璇¹, 李燕燕¹, 车小雯¹

(1. 重庆医药高等专科学校护理学院, 重庆 401331; 2. 重庆医科大学附属第二医院消化内科, 重庆 400010)

[摘要] **目的** 探讨白细胞介素(IL)-24 联合靶向减毒沙门菌载体 SL7207/pBud-VP3 对胃癌细胞生长的抑制作用及机制。**方法** 构建 pBud-VP3-IL-24 真核双表达质粒, 利用高压电穿孔法将 pBud-VP3-IL-24 质粒导入减毒沙门菌 SL7207 株中, 构成 SL7207/pBud-VP3-IL-24 菌株。建立小鼠胃癌移植瘤模型, 将模型随机分为生理盐水对照组、SL7207/pBud 组、SL7207/pBud-VP3 组及 SL7207/pBud-VP3-IL-24 组, 菌株口服饲喂荷瘤小鼠, 测量肿瘤体积并计算抑瘤率。采用蛋白质印迹法检测肿瘤组织中 IL-24 的表达; 采用实时荧光定量-PCR(RT-PCR)检测干扰素- γ (IFN- γ)、IL-6 及肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平; 采用免疫组织化学法测定半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)及血管内皮生长因子(VEGF)的表达。**结果** 成功构建基于 IL-24 的减毒沙门菌载体系统 SL7207/pBud-VP3-IL-24; 治疗 14 d 后, 胃癌组织可检测到 IL-24 蛋白的表达; 治疗 28 d 后, SL7207/pBud-VP3-IL-24 组与其他组比较, 肿瘤体积缩小并能够明显抑制肿瘤生长, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。RT-PCR 及免疫组织化学显示, IL-24 联合 SL7207/pBud-VP3 能够明显增加免疫因子 IFN- γ 、IL-6 及 TNF- α 的表达水平($P < 0.05$), 上调 Caspase-3 及下调 VEGF 的表达($P < 0.05$)。**结论** IL-24 联合 SL7207/pBud-VP3 可以协同发挥对胃癌细胞的生长抑制作用, 其作用机制与肿瘤凋亡促进、肿瘤血管抑制、免疫调节等有关。

[关键词] 胃癌细胞; 白细胞介素-24; 减毒沙门菌

[中图分类号] R735.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)19-2610-04

Inhibiting effect of IL-24 combined with targeting attenuated Salmonella vector SL7207/pBud-Vp3 on growth of gastric cancer cells*

Cao Hongdan¹, Zhang Chaohong¹, Lv Lin², Cai Peixuan¹, Li Yanyan¹, Che Xiaowen¹

(1. Department of Nursing, Chongqing Medical and Pharmaceutical Higher Specialty College, Chongqing 401331, China; 2. Department of Gastroenterology, Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the inhibiting effect of interleukin(IL)-24 combined with targeted attenuated Salmonella typhimurium vector SL7207/pBud-VP3 on the growth of gastric cancer cells. **Methods** The co-expression eukaryotic expression plasmid pBud-VP3-IL-24 was constructed. The plasmid pBud-VP3-IL-24 was transformed into attenuated Salmonella typhimurium SL7207 by using the high voltage electroporation for constructing the SL7207/pBud-VP3-IL-24 strain. The mouse gastric cancer transplantation tumor model was established and randomly divided into the normal saline control group, SL7207/pBud group, SL7207/pBud-VP3 group and SL7207/pBud-VP3-IL-24 group. The tumor-bearing mice were fed by oral administration of bacterial strain. The tumor volume was measured and the tumor inhibition rate was calculated. The expression of IL-24 was detected by Western blotting. The levels of IFN- γ , IL-6 and TNF- α in tumor tissue were detected by using RT-PCR. The expression of Caspase-3 and VEGF were detected by using immunohistochemistry. **Results** The plasmids attenuated Salmonella typhimurium vector carrying the gene IL-24 was successfully constructed. The IL-24 protein expression was detected in gastric cancer tissue after 14 d treatment. The tumor volume after 28 d treatment in the SL7207/pBud-VP3-IL-24 group was reduced compared with the other groups, moreover the tumor growth was significantly inhibited, and the differences were statistically significant($P < 0.05$). RT-PCR and immunohistochemistry results showed that IL-24 combined with SL7207/bBud-VP3 could significantly increase the expression levels of immune factor IL-6, IFN- γ and TNF- α in tumor tissue, in addition, up-regulated the expression of Caspase-3 and down-regulated the VEGF expression($P < 0.05$). **Conclusion** IL-24 combined with SL7207/pBud-VP3 can synergically play the inhibitory effect on the growth of gastric cancer cells, its mechanism is related with the tumor apoptosis promotion, tumor vessel inhibition and immune regulation.

[Key words] gastric cancer cell; interleukin-24; attenuated Salmonella

减毒沙门菌因选择性地聚集在肿瘤细胞并能发挥抑制肿瘤生长的作用, 近年来被作为肿瘤基因载体广泛应用到肿瘤治疗的研究中。本课题组成员在前期研究中发现, 携带真核质粒 pBud-VP3 的减毒沙门菌 SL7207(SL7207/pBud-VP3) 通过诱导肿瘤细胞凋亡能够抑制胃癌细胞的生长。理想的肿瘤基因治疗应该是多途径、多靶点干扰肿瘤细胞增殖。人白细胞介素(interleukin, IL)-24 基因的出现, 使得肿瘤基因治疗更加理想化。IL-24 基因能够通过抗肿瘤血管生成和调控免疫细胞功

能控制肿瘤细胞生长^[1-2], 为进一步增强 SL7207/pBud-VP3 的抑制效应, 本研究将减毒沙门菌 SL7207 对肿瘤组织的靶向性和凋亡促进特异性相结合, 同时引入免疫细胞因子 IL-24, 在模式肿瘤——胃癌中, 探索联合应用的意义, 以期找到治疗肿瘤的理想方法提供依据。

1 材料与方法

1.1 菌株与实验动物来源 大肠杆菌 DH5a、pBud-VP3、pBud-IL-24、减毒沙门菌 SL7207 由重庆医科大学附属第一医

院肿瘤分子与表观遗传实验室惠赠。小鼠 MFC 胃癌细胞购自上海中国科学院细胞库,6~8 周龄无特殊病原体 (SPF) 级 Balb/c 雌性小鼠 40 只,由重庆医科大学实验动物中心提供。

1.2 试剂 IL-24、干扰素- γ (IFN- γ)、IL-6 及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)引物均由上海生物工程有限公司合成。RPMI1640 培养液、胎牛血清 (FBS)、0.25%胰酶、Zeron 购自美国 Gibco 和 Invitrogen 公司。RNA 提取试剂盒、限制性内切酶、DNA 标记物等购自日本 Takara 公司,兔多抗 IL-24 购自美国 Santa Cruz 公司。半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 (Caspase)-3、血管内皮生长因子 (ascular endothelial growth factor, VEGF) 免疫组织化学试剂盒均购自北京中杉生物公司。

1.3 方法

1.3.1 重组质粒 SL7207/pBud-VP3-IL-24 的构建及稳定性分析 参照 GenBank 核苷酸序列,进行引物的设计。IL-24 编码基因引物序列:P1 5'-CGC TCG AGA TGA ATT TTC AAC AGA GGC TG-3',引物 P1 引入了 xho I 酶切位点;P2 5'-GCG GCC GCC TAG ACA TTC AGA GCT TGT AG-3',引物 P2 引入了 notI 酶切位点。以 pBud-IL-24 为模板,经 PCR 扩增 IL-24 编码基因。将 pBud-VP3 和 IL-24 经酶切、连接,然后转化感受态大肠杆菌 DH5a,筛选阳性克隆,提取质粒后,分别经酶切和测序鉴定。pBud-VP3-IL-24 成功构建后,采用电转化法将其导入减毒沙门菌 SL7207,电转化条件:电压 2 kV,电容 25 μ F,放电时间 0.5 s,SL7207 株中表达,即构成 SL7207/pBud-VP3-IL-24 菌株。通过连续 10 代培养后,再次提取质粒,按上述方法酶切及测序分析。

1.3.2 胃癌荷瘤小鼠模型建立 取对数生长期小鼠前胃癌 (murine foregastric carcinoma, MFC) 细胞系,制备胃癌细胞悬液,用生理盐水将细胞浓度调至 1×10^7 /mL,取清洁级健康小鼠 30 只,体质量 (20 ± 1)g,无菌环境下,在小鼠右侧腋窝皮下以每只 0.1 mL 注射胃癌细胞悬液。隔日观察 1 次小鼠的生长状态及肿瘤生长情况,以皮下肿瘤直径大于 0.5 cm 为成瘤标准。胃癌荷瘤裸鼠模型建立成功后,将 40 只小鼠随机分为 4 组,每组 10 只:生理盐水对照组、SL7207/pBud-VP3 组、SL7207/pBud 组、SL7207/pBud-VP3-IL-24 组。

1.3.3 SL7207/pBud-VP3-IL-24 对小鼠移植瘤生长的影响 将携带 IL-24 的减毒沙门菌载体 SL7207 接种于含 Zeron 的 LB 培养液中培养,至对数生长期晚期时,测得 600 nm 处的吸光度值 (A_{600})=0.6 时收集菌体,用生理盐水调整细菌为 1×10^7 CFU/mL。各实验组小鼠用 3%碳酸氢钠中和胃酸后,利用胃管饲喂相应细菌 0.1 mL,每 2 周 1 次,共服 2 次,对照组饲喂等量生理盐水。分别于治疗后 7、9、12、15、21 d 用游标卡尺测量肿瘤生长状况,肿瘤体积按以下公式计算:体积 (mm^3)=长 \times 宽 \times 高 $\times 0.5236$ 。治疗结束后 1 周,脱颈处死小鼠,剥离瘤体称质量,并按以下公式计算抑瘤率:抑瘤率 (%)=(1-实验组平均瘤质量/对照组平均瘤质量) $\times 100\%$ 。

1.3.4 肿瘤组织中 IL-24 表达的检测 采用蛋白质印迹法 (Western blotting) 进行检测。在小鼠治疗后 28 d,取肿瘤组织 50 mg 加入 500 μ L 蛋白裂解液匀浆后,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 30 min,收集上清,使用酶标仪测定蛋白含量,配制蛋白标准样品。各组取 50 mg 蛋白样品与等体积缓冲液混匀,煮沸 5 min,用 10%十二烷基硫酸钠 (SDS)-聚丙烯酰胺凝胶 (PAGE) 分离。转对聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜后,5%脱脂牛奶封闭过夜,加入一抗 (1:200 稀释),室温下孵育 2 h,加入二抗 (1:2000 稀释),室温下孵育 2 h,电化学发光 (ECL) 显色定影,以 GIS 数码凝胶成像系统分析 Western blotting 杂交带光密度值。

1.3.5 肿瘤组织细胞因子表达的检测 采用实时荧光定量-PCR (RT-PCR) 进行检测。小鼠治疗后 28 d,Trizol 法提取各组移植瘤中总 RNA。紫外分光光度计测定 260、280 nm 处的

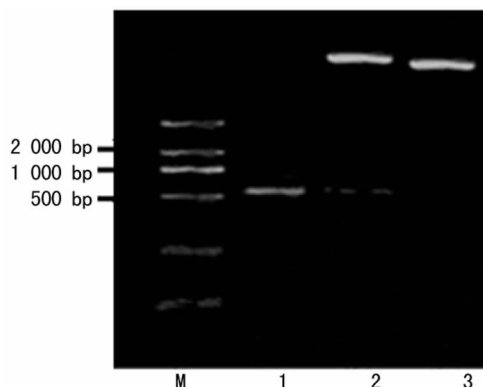
A 值,分析 RNA 纯度并调整浓度。反转录反应制备 cDNA,分别以 IFN- γ 、IL-6 及 TNF- α 为引物扩增基因片段。IFN- γ 扩增片段为 530 bp,引物 P1 5'-GAG AAA GAA GTC CTT GTG C-3',P2 3'-CCC TAC CTG ACC TTA CTA TCT-5';IL-6 扩增片段为 539 bp,引物 P1 5'-AGA CTT CCA TCC AGT TGC CT-3',P2 3'-CGT TTG GTG GTT CGT CTC-5';TNF- α 扩增片段为 200 bp,引物 P1 5'-CTC ATT CCC GCT CGT GG-3',P2 3'-CGT TTG GTG GTT CGT CTC-5'。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 为内参照基因,PCR 扩增条件:94 $^{\circ}\text{C}$ 5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,58 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 40 s 延伸 35 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。扩增产物进行 1%琼脂糖凝胶电泳 30 min,在凝胶图像分析仪上观察拍照,并测定条带积分光吸收度 (integral A, IA) 值,以待检基因条带与内参条带 GAPDH 的 IA 比值作为目的基因的相对表达量。

1.3.6 凋亡相关因子表达的检测 采用免疫组织化学 SP 法进行检测。将小鼠脱颈处死后,剥离肿瘤瘤体组织,制作冰冻切片和石蜡切片。选用免疫组织化学法常规制片,检测 Caspase-3 和 VEGF 蛋白水平 (详细步骤分别按试剂盒说明书进行)。采用 Image-proplus 6.0 病理图像分析系统对组织化学切片进行分析,每组选择 5 张切片,每张切片置于 400 倍光镜下观察,共计数 10 个视野进行统计分析。以细胞质内出现棕黄色颗粒为阳性细胞,并半定量检测染色阳性物质的面积和 IA 值,取其均值代表该切片的相对表达量。

1.4 统计学处理 应用 SPSS13.0 统计软件进行数据处理与统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 t 检验;计数资料以例数或百分率表示,比较采用 χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 成功构建 pBud-VP3-IL-24 重组质粒 通过基因重组,酶切显示,在 623 bp 的位置可观察到扩增条带,而其他组均未出现此阳性条带,见图 1。测序结果与 GenBank 公布的 IL-24 序列长度一致,说明 IL-24 基因已成功转入 pBud-VP3。经连续多代培养,酶切分析鉴定证实,pBud-VP3-IL-24 能够在减毒沙门氏 SL7207 菌株中稳定存在。

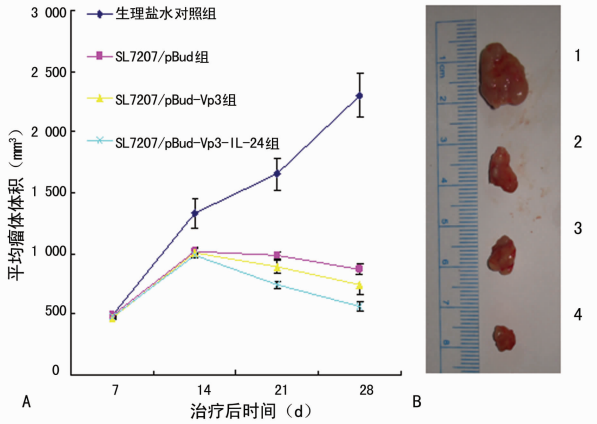


M: DL2000 标记物; 1: IL-24 基因; 2: pBud-VP3-IL-24; 3: pBud-VP3。

图 1 pBud-VP3-IL-24 在减毒沙门菌中酶切鉴定

2.2 SL7207/pBud-VP3-IL-24 对小鼠移植瘤生长的抑制作用 IL-24 联合 SL7207/pBud-VP3 治疗 7 d 时肿瘤体积在治疗组间比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗 14 d 时各沙门菌载体组与生理盐水对照组比较,瘤体体积较小,差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 治疗 21 d 各沙门菌载体组肿瘤体积开始逐渐缩小,其中治疗 28 d 时 SL7207/pBud-VP3-IL-24 组与其他组比较,能够明显抑制肿瘤生长,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 2。SL7207/pBud 组、SL7207/pBud-VP3 组和 SL7207/pBud-VP3-IL-24 组对肿瘤细胞的抑制率分别为

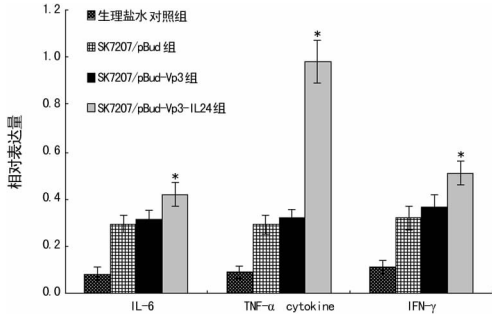
(0.54±0.03)、(0.71±0.04)、(0.92±0.04)。SL7207/pBud-VP3-IL-24 组与其他各组比较,抑制率明显提高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。



1:生理盐水对照组;2:SL7207/pBud组;3:SL7207/pBud-VP3组;4:SL7207/pBud-VP3-IL-24组。

图2 IL-24联合靶向减毒沙门菌载体对体内胃癌细胞的生长抑制作用

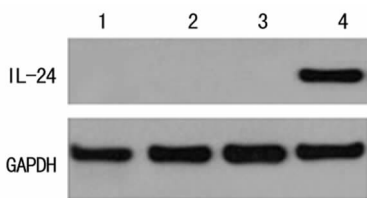
2.3 肿瘤组织细胞因子的表达 采用RT-PCR测定各组小鼠肿瘤组织内细胞因子mRNA表达水平,结果显示,SL7207/pBud-VP3-IL-24组与SL7207/pBud-VP3组相比,IL-6、TNF- α 、IFN- γ mRNA表达水平均增加,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见图3。



*: $P<0.05$,与SL7207/pBud-VP3组比较。

图3 不同处理组小鼠肿瘤组织中细胞因子表达水平比较

2.4 肿瘤组织中IL-24的表达 SL7207/pBud-VP3-IL-24在治疗荷瘤小鼠14d时,Western blotting检测结果显示,肿瘤组织出现能与IL-24抗体特异性结合的蛋白表达,而生理盐水对照组和SL7207/pBud组、SL7207/pBud-VP3组未检测到该表达条带,说明减毒沙门菌介导的外源基因IL-24能够在小鼠肿瘤组织内成功表达。见图4。

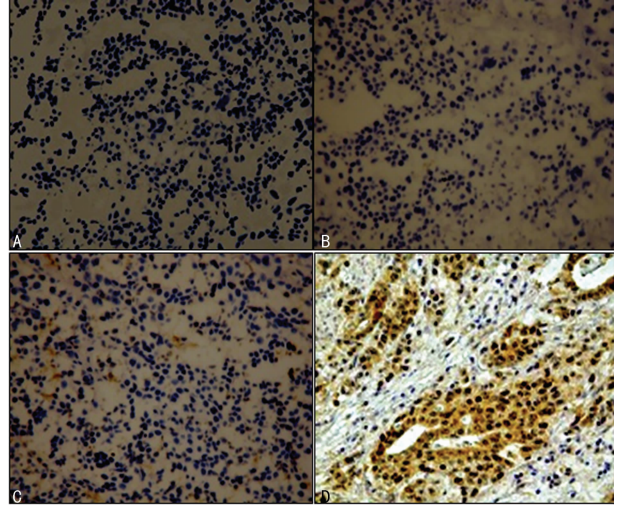


1:生理盐水对照组;2:SL7207/pBud组;3:SL7207/pBud-VP3组;4:SL7207/pBud-VP3-IL-24组。

图4 SL7207/pBud-VP3-IL-24治疗后肿瘤组织内IL-24的表达

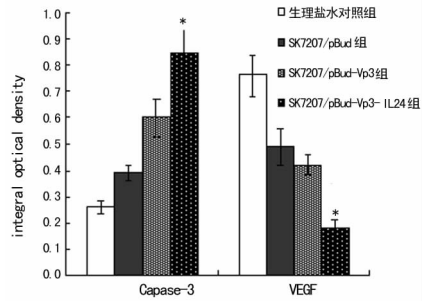
2.5 Caspase-3及VEGF在肿瘤组织中的表达 通过免疫组织化学染色,发现SL7207/pBud组、SL7207/pBud-VP3组、SL7207/pBud-VP3-IL-24组胃癌细胞胞浆显色成棕黄色或者棕褐色。图像处理结果显示,蛋白染色阳性面积率及IA值与

生理盐水对照组相比,差异均有统计学意义($P<0.05$),说明SL7207/pBud-VP3-IL-24可以明显增加Caspase-3和降低VEGF的表达。见图5、6。



A:生理盐水对照组;B:SL7207/pBud组;C:SL7207/pBud-VP3组;D:SL7207/pBud-VP3-IL-24组。

图5 SL7207/pBud-VP3-IL-24治疗后肿瘤组织Caspase-3免疫组织化学染色($\times 100$)



*: $P<0.05$,与SL7207/pBud-VP3组比较。

图6 不同处理组小鼠肿瘤组织Caspase-3及VEGF表达水平比较

3 讨论

IL-24是1995年由Jiang等^[3]通过杂交减法,从人恶性黑色素瘤细胞中克隆的一种基因,最初命名为黑色素瘤分化相关基因(melanoma differentiation associated gene 7,MDA 7),由于它的染色体定位、空间结构及功能特性均与IL-10相似,故随后将其命名为IL-24^[4]。研究显示,IL-24基因不仅能够抑制黑色素瘤细胞增殖,还可选择性抑制包括肝癌、肺癌、胃癌、乳腺癌、口腔癌等在内的多种肿瘤细胞生长^[5-7]。I期临床试验已证实,IL-24的出现为恶性肿瘤治疗提供了新的方向^[8]。近来IL-24的抗肿瘤活性在一些肿瘤异种移植模型,甚至晚期实体瘤患者中证实,被誉为治疗癌症的“魔法子弹”^[9-10]。

在前期研究中,笔者发现减毒沙门菌载体不仅能够向肿瘤细胞靶向输送治疗基因,而且能够在体内抑制胃癌细胞的生长。然而肿瘤的发生、发展是一个多因素作用、多基因调控的综合病变过程,单一基因治疗有时不能满足临床治疗需求。另外,不同治疗机制的新型抗癌制剂的发展是基因治疗发展的方向。本实验中,为了增强该肿瘤基因治疗载体的抗肿瘤效果,引入细胞因子IL-24,构建SL7207/pBud-VP3-IL-24表达质粒,通过口服途径治疗荷瘤小鼠,发现治疗14d后IL-24能够在肿瘤组织中表达,治疗21d后各干预实验组肿瘤体积开始缩小,以SL7207/pBud-VP3-IL-24最为明显,说明IL-24能够增强减毒沙门菌载体SL7207/pBud-VP3的抗肿瘤活性。

关于 IL-24 增强减毒沙门菌载体 SL7207/pBud-VP3 抗肿瘤活性,笔者认为主要与它具有的细胞凋亡、免疫调节和肿瘤血管抑制作用有关。研究显示,IL-24 作为一个肿瘤细胞抑制因子,其诱导肿瘤细胞凋亡的作用独立于 P53 存在,而依赖 Janus 激酶/信号转导和转录激活子(janus kinase /signal transducer and activator of transcription,JAK/STAT)通路、死亡受体通路、内质网应激等多种复杂的信号传导通路^[11]。它还可以激活内源性凋亡通路而触发细胞色素 C 的活化,导致 Caspase-9 和 Caspase-3 活化而诱导细胞凋亡^[12]。本实验发现,IL-24 联合 SL7207/pBud-VP3 能够增强胃癌组织中 Caspase-3 的表达,而 Caspase-3 可以特异性地裂解底物,使胃癌细胞发生生化或者形态学改变,最终导致胃癌细胞凋亡的发生。

恶性肿瘤在体内能长期存在的一个重要原因是免疫耐受,如果将能够发挥抗肿瘤免疫的基因或载体引入肿瘤基因治疗,在一定程度上会对肿瘤细胞发挥更优越的杀伤或抑制作用。研究证明,IL-24 对肿瘤生长的抑制作用还与其旁杀伤效应有关。肿瘤细胞转染 IL-24 后,能诱导细胞因子分泌,对其周围未被转染的肿瘤细胞发挥生长抑制和诱导凋亡的作用,对周围的正常细胞无影响,这一作用被称为 IL-24 的抗肿瘤-旁杀伤效应^[13]。Caudell 等^[1]发现,大多数白血病患者注射 IL-24 后,可以刺激单核细胞使血 IL-6 和 TNF- α 水平增高,体内 CD3⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞数目明显升高,说明 IL-24 除了可以抑制肿瘤以外,还能够调节人体免疫机能,从而更好地发挥抗癌作用^[1]。前期研究中,笔者利用减毒沙门菌充当天然免疫佐剂,能够增强肿瘤荷瘤小鼠的体液免疫,促进肿瘤组织局部细胞因子表达。本实验发现,联合应用 IL-24,可能共同刺激免疫细胞释放抑制肿瘤生长的炎性因子,进而增加 IL-6、TNF- α 和 INF- γ 细胞因子的表达水平,从而增强 SL7207/pBud-VP3 对胃癌细胞的抗肿瘤能力。有关 IL-24 如何促进细胞因子分泌的确切机制,将做进一步研究。

此外,IL-24 还是一种强有力的肿瘤血管形成抑制剂,体外分泌形式的 IL-24 蛋白能抑制经 VEGF 刺激的内皮细胞分化与迁移,从而减少肿瘤血管的生成^[14]。来自体内外的研究证实,IL-24 能够下调 VEGF 而抑制胃癌细胞 SGC7901 的生长^[15]。结合本次实验结果,IL-24 联合 SL7207/pBud-VP3 对胃癌细胞的抑制作用与抑制肿瘤血管生成有一定关系。

综上所述,IL-24 导入减毒沙门菌载体系统后能在胃癌细胞内表达,并能通过诱导胃癌细胞凋亡、刺激机体产生免疫因子及抑制肿瘤新生血管的生成来增强 SL7207/pBud-VP3 的抗肿瘤活性,但其具体机制仍然需要进一步探讨。本实验从体内研究 IL-24 联合靶向减毒沙门菌载体 SL7207/pBud-VP3 的抗肿瘤作用及机制,为寻找理想的特异性基因治疗肿瘤的方法奠定了基础。

参考文献

- [1] Caudell EG, Mumm JB, Poindexter N, et al. The protein product of the tumor suppressor gene, melanoma differentiation-associated gene 7, exhibits immunostimulatory activity and is designated IL-24[J]. *J Immunol*, 2002, 168(12):6041-6046.
- [2] Ramesh R, Ito I, Gopalan B, et al. Ectopic production of MDA-7/IL-24 inhibits invasion and migration of human lung cancer cells[J]. *Mol Ther*, 2004, 9(4):510-518.
- [3] Jiang H, Lin JJ, Su ZZ, et al. Subtraction hybridization id-

entifies a novel melanoma differentiation associated gene, mda-7, modulated during human melanoma differentiation, growth and progression[J]. *Oncogene*, 1995, 11(12):2477-2486.

- [4] Huang EY, Madireddi MT, Gopalkrishnan RV, et al. Genomic structure, chromosomal localization and expression profile of a novel melanoma differentiation associated (mda-7) gene with cancer specific growth suppressing and apoptosis inducing properties[J]. *Oncogene*, 2001, 20(48):7051-7063.
- [5] Li J, Yang D, Wang W, et al. Inhibition of autophagy by 3-MA enhances IL-24-induced apoptosis in human oral squamous cell carcinoma cells[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2015, 34(1):97.
- [6] Bina S, Shenavar F, Khodadad M, et al. Impact of RGD peptide tethering to IL-24/mda-7 (melanoma differentiation associated gene-7) on apoptosis induction in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(14):6073-6080.
- [7] Panneerselvam J, Jin J, Shanker M, et al. IL-24 inhibits lung cancer cell migration and invasion by disrupting the SDF-1/CXCR4 signaling axis[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3):e0122439.
- [8] Cunningham CC, Chada S, Merritt JA, et al. Clinical and local biological effects of an intratumoral injection of mda-7 (IL24;INGN 241) in patients with advanced carcinoma: a phase I study[J]. *Mol Ther*, 2005, 11(1):149-159.
- [9] Bhutia SK, Das SK, Azab B, et al. Targeting breast cancer-initiating/stem cells with melanoma differentiation-associated gene-7/interleukin-24[J]. *Int J Cancer*, 2013, 133(11):2726-2736.
- [10] Menezes ME, Shen XN, Das SK, et al. MDA-7/IL-24 functions as a tumor suppressor gene in vivo in transgenic mouse models of breast cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(35):36928-36942.
- [11] Dash R, Bhoopathi P, Das SK, et al. Novel mechanism of MDA-7/IL-24 cancer-specific apoptosis through SARI induction[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(2):563-574.
- [12] Tian H, Zhang DF, Zhang BF, et al. Melanoma differentiation associated gene-7/interleukin-24 induces caspase-3 denitrosylation to facilitate the activation of cancer cell apoptosis[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2015, 35(3):157-167.
- [13] Chada S, Sutton RB, Ekmekcioglu S, et al. MDA-7/IL-24 is a unique cytokine-tumor suppressor in the IL-10 family[J]. *Int Immunopharmacol*, 2004, 4(5):649-667.
- [14] Menezes ME, Bhatia S, Bhoopathi P, et al. MDA-7/IL-24: multifunctional cancer killing cytokine[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2014, 818(1):127-153.
- [15] Panneerselvam J, Munshi A, Ramesh R. Molecular targets and signaling pathways regulated by interleukin (IL)-24 in mediating its antitumor activities[J]. *J Mol Signal*, 2013, 8(1):15.