论　著

DOI: 10.11724/jdmu.2026.03.02

新城疫病毒/FMW 毒株诱导卵巢癌细胞凋亡的作用研究

王　娜[1]，曹玉凯[2]，冯奇东[2]，杜　莎[2]，孟松树[2]，王逸菲[1,3]

（1. 大连大学附属中山医院 妇产科，辽宁 大连 116001；2. 大连医科大学 肿瘤干细胞研究院，辽宁 大连 116044；3. 大连医科大学附属第二医院 妇科三科，辽宁 大连 116021）

［**摘要**］ **目的**　探讨新城疫病毒（NDV）/FMW 毒株对人卵巢癌细胞凋亡的诱导作用。**方法**　所有实验均设置感染组与对照组。感染组为加入 NDV/FMW 的培养基，对照组为不加病毒的培养基。使用 NDV/FMW［感染复数（MOI）=10］感染 5 种人卵巢癌细胞（Hey、Hey-A8、TOV-112D、OVCAR-3、A2780），感染 48 h 后，显微镜观察细胞形态、台盼蓝染色统计细胞死亡率、采用蛋白质免疫印迹（Western blot）检测 HN 蛋白表达，筛选感染效率最高的细胞开展后续实验；采用 CCK-8 法检测不同 MOI（MOI=0.01、0.1、1、10）NDV/FMW 感染细胞后，24、48、72 h 时点的细胞增殖活力变化；Western blot 检测 NDV/FMW（MOI=1）感染细胞后，0、24、48 h 时点细胞凋亡关键执行蛋白包括腺苷二磷酸核糖聚合酶（PARP）及其剪切体（cleaved-PARP）、半胱天冬蛋白酶-3（caspase-3）及其剪切体（cleaved-caspase-3）的表达水平；Hoechst 33342 荧光染色观察不同 MOI（MOI=0.01、0.1、1、10）NDV/FMW 感染后，24、48、72 h 时点细胞核凋亡形态改变并统计凋亡细胞比例。**结果**　5 种人卵巢癌细胞系中，Hey 和 Hey-A8 细胞系是感染 NDV/FMW 后，死亡率最高以及 HN 表达量最高，即感染效率最高的两个细胞系，遂用作后续实验的细胞模型。Hey 细胞系：感染 48 h 后，与对照组相比，MOI=1、10 感染组增殖减弱；感染 72 h 后，与对照组相比，MOI=0.01、1、10 感染组增殖均减弱。Hey-A8 细胞系：感染 24 h 后，与对照组相比，MOI=1、10 感染组增殖减弱；感染 48 h 及 72 h 后，与对照组相比，MOI=0.01、0.01、1、10 感染组增殖均减弱。Western blot 结果显示，感染 48 h 后，Hey、Hey-A8 两种细胞内 cleaved-caspase-3、cleaved-PARP 蛋白相对表达量较各自对照组均上调（$P<0.05$），而 caspase-3、PARP 总蛋白水平降低（$P<0.05$）。Hoechst 33342 荧光染色结果显示，Hey 及 Hey-A8 细胞系感染组在感染 48 h 及 72 h 出现明显的核凝集、核碎裂及凋亡小体形成等典型凋亡形态特征。与各时点的对照组比较，各感染组的细胞凋亡率均明显升高，且随着 MOI 的增加，细胞凋亡率逐渐明显升高（$P<0.05$）。**结论**　NDV/FMW 可能通过激活 caspase-3/PARP 凋亡通路诱导人卵巢癌细胞凋亡，为其作为溶瘤病毒应用于卵巢癌的联合治疗提供了理论依据。

［**关键词**］ 新城疫病毒；人卵巢癌细胞；细胞凋亡；细胞增殖

［**中图分类号**］ R737.31　［**文献标志码**］ A　**文章编号**：1671-7295(2026)03-0199-09

Study on the apoptosis-inducing effect of Newcastle disease virus FMW on ovarian cancer cells

WANG Na[1], CAO Yukai[2], FENG Qidong[2], DU Sha[2], MENG Songshu[2], WANG Yifei[1,3]

(1. *Department of Obstetrics and Gynecology, Zhongshan Hospital Affiliated to Dalian University, Dalian* 116001, *China*; 2. *Institute of Cancer Stem Cells, Dalian Medical University, Dalian* 116044, *China*; 3. *Department of Gynecology Ⅲ, the Second Hospital of Dalian Medical University, Dalian* 116021, *China*)

［**Abstract**］ **Objective** To investigate the induction of apoptosis in human ovarian cancer cells by FMW strain of Newcastle disease virus (NDV). **Methods** Two groups were established: an infection group, in which cells were cultured with medium supplemented with NDV/FMW, and a control group, which received virus-free medium. Five human ovarian cancer cell lines (Hey, Hey-A8, TOV-112D, OVCAR-3, and A2780) were infected with NDV/FMW at a multiplicity of infection (MOI) of 10.

基金项目：大连市生命健康领域指导计划项目（2023）

第一作者简介：王 娜（2001—），女，硕士研究生。E-mail: 1328306684@qq.com

通信作者：王逸菲，主任医师。E-mail: yly2000.312@163.com

After 48 hours of infection, cell morphology was observed under microscopy, cell death rate was determined by trypan blue staining, and HN protein expression was analyzed by Western blot to identify the cell lines with the highest infection efficiency for subsequent experiments. Cell proliferation activity was assessed using the CCK-8 assay at 24, 48, and 72 hours post-infection with different MOIs (0.01, 0.1, 1, and 10). Western blot analysis was performed to detect the expression levels of key apoptotic execution proteins—poly (ADP-ribose) polymerase (PARP), cleaved-PARP, caspase-3, and cleaved-caspase-3—at 0, 24, and 48 hours after NDV/FMW (MOI=1) infection. Hoechst 33342 fluorescent staining was used to observe nuclear morphological changes associated with apoptosis and to quantify the proportion of apoptotic cells at 24, 48, and 72 hours following infection with different MOIs (0.01, 0.1, 1, and 10). **Results** Among the five human ovarian cancer cell lines, Hey and Hey-A8 showed the highest cell death rates and HN protein expression after NDV/FMW infection, indicating the highest infection efficiency, and were therefore selected as models for further studies. In the Hey cell line, compared to the control group, proliferation was significantly reduced at 48 hours post-infection with MOI=1 and 10; at 72 hours, proliferation was reduced in all groups with MOI=0.01, 1, and 10. In the Hey-A8 cell line, proliferation was decreased at 24 hours with MOI=1 and 10; at 48 and 72 hours, proliferation was reduced across all MOI groups (0.01, 0.1, 1, and 10). Western blot studies revealed that at 48 hours post-infection, the relative expression levels of cleaved-caspase-3 and cleaved-PARP were significantly upregulated in both Hey and Hey-A8 cells compared to the control group ($P<0.05$), while total caspase-3 and PARP protein levels were correspondingly downregulated ($P<0.05$). Hoechst staining showed typical apoptotic features—including nuclear condensation, fragmentation, and apoptotic body formation—in the infected Hey and Hey-A8 cell lines at 48 and 72 hours post-infection. Compared to their respective controls at each time point, the apoptotic rates in all infected groups were significantly increased, and this increase became more pronounced with higher MOI ($P<0.05$). **Conclusion** NDV/FMW may induce apoptosis in human ovarian cancer cells by activating the caspase-3/PARP apoptotic pathway, providing a theoretical basis for its potential use as an oncolytic virus in combination therapy for ovarian cancer.

［**Keywords**］Newcastle disease virus; human ovarian cancer cells; apoptosis; cell proliferation

卵巢癌是女性生殖系统最常见的恶性肿瘤之一，其发病率在全球范围内居高不下，且死亡率居妇科恶性肿瘤之首。流行病学数据显示，卵巢癌约占所有女性癌症病例的 3.7%，在 2020 年全球癌症统计中位列女性常见恶性肿瘤第八位，并导致约 4.7% 的癌症相关死亡。近年来，卵巢癌的发病率在东欧及亚洲部分区域呈现持续上升趋势，其防控与治疗已成为全球公共卫生的重要课题[1]。卵巢癌的发病机制复杂，尚未完全阐明，目前认为其发生发展与多种因素相关，包括年龄、生育史、遗传突变（如 BRCA1/2）、家族史、肥胖以及某些可改变的生活方式等因素[2]。卵巢癌好发于 55～70 岁女性，早期临床症状隐匿且缺乏特异性，导致超过 70% 的患者确诊时已处于晚期（Ⅲ～Ⅳ期）。晚期卵巢癌患者即使经过规范治疗，其 5 年生存率仍不理想，约为 25%～35%[3]，预后较差，严重威胁女性生命健康。

目前，卵巢癌的标准治疗模式是以手术治疗为主，行肿瘤细胞减灭术尽可能达 R0，并进行手术分期，联合以铂类药物为基础的术后辅助化疗[4-5]。随着精准医学的发展，基于术后病理类型及基因检测结果（如同源重组修复状态）的维持治疗（如 PARP 抑制剂、抗血管生成药物）已成为延长患者无进展生存期的重要策略[6]。然而，尽管治疗手段不断进步，多数晚期患者仍会在初始治疗后的 3 年内出现复发，并逐渐发展为铂类耐药，导致后续治疗选择有限、效果欠佳[6]。因此，探索新的治疗靶点、开发高效低毒的新型疗法，尤其是能够克服耐药性与激活机体抗肿瘤免疫的策略，成为提高卵巢癌疗效、改善患者预后的迫切需求。

凋亡是程序性细胞死亡的主要形式之一，在肿瘤治疗中具有重要地位。细胞凋亡，即程序性细胞死亡Ⅰ型，是一种受基因精密调控的，主动、有序的细胞自我清除过程。它在维持组织稳态、清除损伤或异常细胞方面发挥着关键作用，也是多种抗肿瘤疗法（包括化疗、放疗、靶向治疗及免疫治疗）发挥疗效的核心机制之一[7-8]。诱导肿瘤细胞发生凋亡已成为肿瘤治疗研究的重要方向。然而，肿瘤细胞常通过多种机制逃避凋亡，导致治疗抵抗。因此，寻找能够有效重新激活肿瘤细胞凋亡程序的新型制剂具有重要临床意义。

溶瘤病毒（oncolytic virus）疗法是近年来肿瘤免疫治疗领域的一项突破性进展。该类病毒能够选择性在肿瘤细胞内复制并裂解细胞，同时通过释放肿瘤相关抗原及损伤相关分子模式，激发全身性抗肿瘤免疫应答，形成“原位疫苗”效应[9]。在众多溶瘤病毒中，新城疫病毒（Newcastle disease virus, NDV）因其固有的溶瘤特性与良好的安全性备受关注。NDV 是一种禽源性副黏病毒，具有单股负链 RNA 基因组。研究表明，多种 NDV 毒株（如 NDV-HUJ、NDV/FMW、NDV/90D

等）能在肺癌、前列腺癌、胶质瘤等多种恶性肿瘤中诱导肿瘤细胞凋亡，抑制肿瘤生长，且对正常细胞毒性较低，部分已进入临床Ⅰ/Ⅱ期试验阶段[10-14]。值得注意的是，NDV 与化疗、放疗或免疫检查点抑制剂联用时，显示出协同增效作用，且未明显增加不良反应[14]，提示其具有良好的联合治疗潜力。

尽管 NDV 在多种实体瘤中展现了抗肿瘤前景，但其在卵巢癌中的作用研究仍相对缺乏，尤其是其对卵巢癌细胞凋亡的具体诱导效应及分子机制尚未明确。基于此，本研究系统探讨了 NDV/FMW 毒株对人卵巢癌细胞的感染能力、增殖抑制效应及凋亡诱导作用。通过蛋白质免疫印迹（Western blot）检测病毒蛋白表达及凋亡关键蛋白活化情况，采用 CCK-8 法分析细胞增殖活性，并利用 Hoechst 33342 染色观察凋亡特征性核形态变化，旨在阐明 NDV/FMW 是否通过激活 caspase-3/PARP 经典凋亡通路诱导卵巢癌细胞凋亡，从而为 NDV 作为溶瘤病毒应用于卵巢癌的联合治疗提供新的实验依据与理论支持。

1 材料和方法

1.1 实验材料、主要试剂及仪器

1.1.1 实验材料：人卵巢癌 Hey 细胞、Hey-A8 细胞、A2780 细胞和 TOV-112D 细胞购自尚恩生物有限公司；人卵巢癌 OVCAR-3 细胞购自普诺赛生物科技有限公司，NDV/FMW 毒株（GenBank 登记编码：GU564399）（大连医科大学孟松树实验室）。

1.1.2 主要试剂及仪器：血凝素-神经氨酸酶蛋白（HN）抗体（鼠，Santa 公司，1∶1 000），β-actin 抗体（兔，ABclonal，AC038，1∶1 000），caspase-3 抗体（兔，CST，14220T，1∶1 000），cleaved-caspase-3 抗体（兔，华安生物，SU38-04，1∶1 000），PARP 抗体（兔，CST，9542S，1∶1 000），cleaved-PARP 抗体（兔，CST，9542S，1∶1 000），羊抗兔二抗（Proteintech，1∶10 000），羊抗鼠二抗（Bioworld，1∶10 000），Hoechst 33342 活细胞染色液（碧云天生物，1∶1 000），DMEM（高糖）培养基（含双抗）（凯基生物），RPMI 1640 培养基（含双抗）（凯基生物），胎牛血清（FBS）（普诺赛公司），胰酶溶液（含 EDTA 及酚红）（凯基生物），5×蛋白上样缓冲液（绿竹生物公司），三色预染蛋白 Marker 10～250 kDa（雅酶），通用型抗体稀释液（Seven），多功能酶标仪（PE 公司），倒置荧光显微镜（Olympus 公司，IX81）。

1.2 方 法

1.2.1 细胞培养：Hey、Hey-A8、TOV-112D 细胞在 DMEM 培养液中培养，OVCAR-3、A2780 细胞在 RPMI-1640 培养液中培养。统一培养环境：37 ℃ 5% CO_2 恒温培养箱，常规 2～3 d 换液，细胞密度达 80%～90% 时胰酶消化传代，取对数生长期细胞开展后续实验。

1.2.2 病毒感染细胞：取对数生长期的细胞，消化计数，将细胞接种到 6 孔板或 96 孔板中，置于 37 ℃ 培养箱中过夜培养。计算 NDV/FMW 病毒量，用无血清培养基稀释，感染复数（MOI）=0.01、0.1、1、10。取出过夜培养的细胞，弃去培养基，加入 NDV/FMW 病毒稀释液，对照组加入无血清培养基（MOI=0），吸附 1 h 后，更换为含 2% 血清的培养基继续培养，37 ℃ 5%CO_2 培养箱继续培养。病毒全程在生物安全二级操作台操作。

1.2.3 Western blot：收集细胞提取蛋白并定量。取 20 μL 细胞总蛋白进行 SDS-PAGE 凝胶电泳，转膜（120 V 恒压，90 min）后以脱脂奶粉常温封闭 2 h，接着加入一抗 4 ℃ 孵育 16 h，TBST 洗涤 3 次，二抗常温孵育 1 h，显影。对条带进行定量分析。实验每个样品均重复 3 次，每次设置 3 个复孔。

1.2.4 模型构建与筛选：将 Hey、Hey-A8、TOV-112D、OVCAR-3、A2780 细胞接种到 6 孔板中，每孔 1×10^5 个细胞，使用含 NDV/FMW（MOI=10）的无血清培养基感染细胞（感染组），同时设各种细胞未感染的对照组。

感染后培养 48 h，观察 5 种细胞感染组及对照组的细胞形态，并应用倒置荧光显微镜拍摄图像。使用胰酶消化上述细胞并制成细胞悬液，将细胞悬液与 0.4% 台盼蓝染液 9∶1 混合混匀，加样到计数板上，进行显微镜计数，分别计数活细胞和死细胞。镜下观察，活细胞呈无色透明状，死细胞呈蓝色，计算细胞死亡率。细胞死亡率（%）=死细胞总数/（活细胞总数+死细胞总数）×100%；计算相对细胞死亡率=［感染组（MOI=10）细胞死亡率（%）/对照组细胞死亡率（%）］。

收集感染后培养 48 h 的 5 种细胞的感染组及对照组的细胞，提取蛋白并定量。通过 Western blot 检测 NDV/FMW 蛋白 HN 的表达情况，选取细胞死亡率高于 70%，同时 HN 蛋白表达量高的细胞作为后续研究的细胞模型。

1.2.5 CCK-8 实验：取 Hey 细胞和 Hey-A8 细胞接种到 96 孔板中，每孔 3 000 个细胞。设 MOI = 0.01、0.1、1、10 感染组，未感染的对照组，不加细胞和病毒的空白组。感染后培养 24、48 和 72 h 时，加入 10 μL CCK-8 试剂，37 ℃ 孵育 1 h 后测定 450 nm 处的吸光度值（OD）。细胞存活率=（OD 实验组−OD 空白组）/（OD 对照组−OD 空白组）×100%。实验每个样品均重复 3 次，每次设置 3 个复孔。

1.2.6 凋亡蛋白检测：取 Hey 细胞和 Hey-A8 细胞接种到 6 孔板中，每孔 1×10^5 个细胞，使用含 NDV/FMW

(MOI=1)的无血清培养感染(感染组), 同时设未感染的对照组。培养 0、24 和 48 h 后, 检测细胞蛋白样品中 caspase-3、cleaved-caspase-3、PARP 及 cleaved-PARP 等蛋白的表达量。

1.2.7 Hoechst 33342 荧光染色: 取 Hey 细胞和 Hey-A8 细胞种到 6 孔板中, 每孔 1×10^4 个细胞, 分别设 MOI=0.01、0.1、1、10 感染组以及未感染的对照组。感染后培养 24、48 和 72 h 时, 加入 Hoechst 33342 活细胞染色液, 染色 10 min 后, 通过倒置荧光显微镜观察细胞核形态的变化。细胞凋亡率计算方法: 在荧光显微镜下, 随机选取 3 个视野(50 μm), 每个视野计数总细胞数及凋亡细胞数(细胞核呈致密浓染、碎裂或固缩的细胞判定为凋亡细胞), 凋亡率(%)=(凋亡细胞数/总细胞数)×100%, 取 3 个视野的平均值为该组细胞凋亡率。

1.3 统计学方法

采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计学分析, 计量资料采用均数±标准差进行统计学描述, 组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 Tukey 法。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 细胞模型构建与筛选

NDV/FMW 感染 Hey、Hey-A8、TOV-112D、OVCAR-3、A2780 细胞系 48 h 后, 可观察到 Hey 和 Hey-A8 对照组的细胞贴壁完整且密集, 形态舒展, 轮廓清晰, 胞体饱满; 而感染组细胞皱缩、变圆, 漂浮在培养基中, 细胞数量下降, 可见大量细胞碎片。见图 1A。

通过台盼蓝染色计算细胞死亡率, 结果显示: Hey、Hey-A8、TOV-112D 细胞系的感染组死亡率高于对照组[(92.44%±0.12)% vs (6.71±0.00)%, $P<0.000\,1$; (89.87±0.08)% vs (6.17±0.00)%, $P<0.000\,1$; (38.67±0.16)% vs (4.67±0.04)%, $P<0.000\,1$]。OVCAR-3、A2780 细胞系的对照组及感染组细胞死亡率无差异(7.08±0.09)% vs (8.75±0.14)%, $P=0.069$; (7.18±0.05)% vs (11.29±0.11)%, $P=0.077$]。见图 1B。

以各细胞系对照组为参照, Hey、Hey-A8、TOV-112D 细胞系感染组的相对细胞死亡率分别为 13.82±0.11、14.67±0.15、8.29±0.08, Hey、Hey-A8 高于 TOV-112D, 差异有统计学意义($P=0.002$, $P=0.001$)。见图 1C。

Western blot 检测各组细胞中 HN 的表达, 结果显示, Hey、Hey-A8、TOV-112D、OVCAR-3、A2780 细胞系对照组及 OVCAR-3、A2780 细胞系感染组无 HN 表达, Hey、Hey-A8、TOV-112D 细胞系感染组 HN 表达量分别为 1.603±0.019、1.399±0.025、0.905±0.012, Hey、Hey-A8 高于 TOV-112D, 差异有统计学意义($P<0.000\,1$, $P=0.000\,3$)。见图 1D、E。

基于上述结果, 筛选出死亡率最高以及 HN 表达量最高, 即感染效率最高的 Hey 和 Hey-A8 细胞系用作后续实验的细胞模型。

2.2 NDV/FMW 对卵巢癌细胞增殖能力的影响

CCK-8 结果显示, Hey 细胞系: 感染 48 h 后, 与对照组相比, MOI=1、10 感染组增殖减弱; 感染 72 h 后, 与对照组相比, MOI=0.01、1、10 感染组增殖均减弱。Hey-A8 细胞系: 感染 24 h 后, 与对照组相比, MOI=1、10 感染组增殖减弱; 感染 48 h 及 72 h 后, 与对照组相比, MOI=0.01、0.01、1、10 感染组增殖均减弱。见图 2。

2.3 NDV/FMW 对卵巢癌细胞凋亡蛋白表达的影响

Western blot 结果显示, 感染 24 h 后, Hey 细胞系感染组与对照组相比, caspase-3(0.824±0.051 vs 0.869±0.043, $P=0.140$)无变化, 而 PARP(0.920±0.037 vs 0.840±0.023, $P=0.011$)升高。Hey-A8 细胞系感染组与对照组相比, caspase-3(0.854±0.017 vs 0.915±0.028, $P=0.03$)、PARP(0.846±0.055 vs 0.930±0.026, $P=0.008$)均降低。

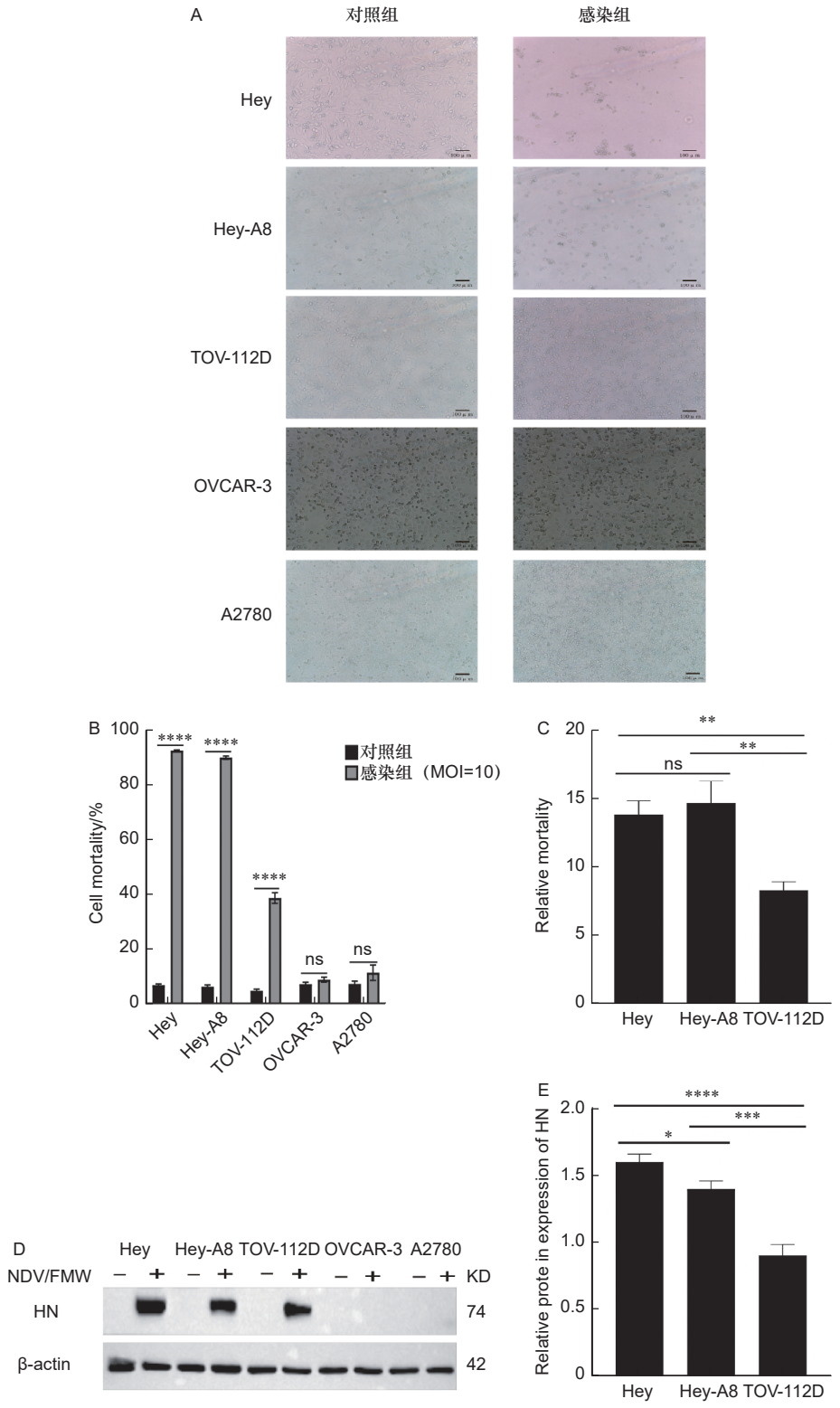
感染 48 h 后, Hey 与 Hey-A8 细胞系感染组与对照组相比, caspase-3(0.590±0.015 vs 0.974±0.053, $P<0.000\,1$; 0.980±0.032 vs 1.101±0.027, $P=0.017$), PARP(0.578±0.068 vs 1.015±0.047, $P<0.000\,1$; 0.571±0.052 vs 1.023±0.043, $P<0.000\,1$)均降低。Hey 与 Hey-A8 感染组细胞 cleaved-caspase-3 表达量为(1.300±0.040、1.042±0.051), cleaved-PARP 表达量为(0.923±0.041、0.929±0.032); 其余组均无表达。见图 3。

2.4 NDV/FMW 对卵巢癌细胞凋亡的影响

Hoechst 33342 荧光染色结果显示, Hey 及 Hey-A8 细胞系对照组细胞核形态完整、染色均匀; 而感染组在感染 48 h 及 72 h 出现明显的核凝集、核碎裂及凋亡小体形成等典型凋亡形态特征。见图 4A、B。与各时间点的对照组比较, 各感染组的细胞凋亡率均明显升高, 且随着 MOI 的增加, 细胞凋亡率逐渐升高($P<0.05$)。

3 讨 论

溶瘤病毒疗法是近年来肿瘤免疫治疗领域的一项重要突破。NDV 作为溶瘤病毒的代表之一, 目前多种毒株如 NDV-HUJ、NDV-GM-CSF 已在胶质瘤、晚期实体瘤等肿瘤的临床前研究中展现出较好的溶瘤效果, 并且已进入Ⅰ/Ⅱ期临床试验[13-14]。Fu 等[15] 研究表

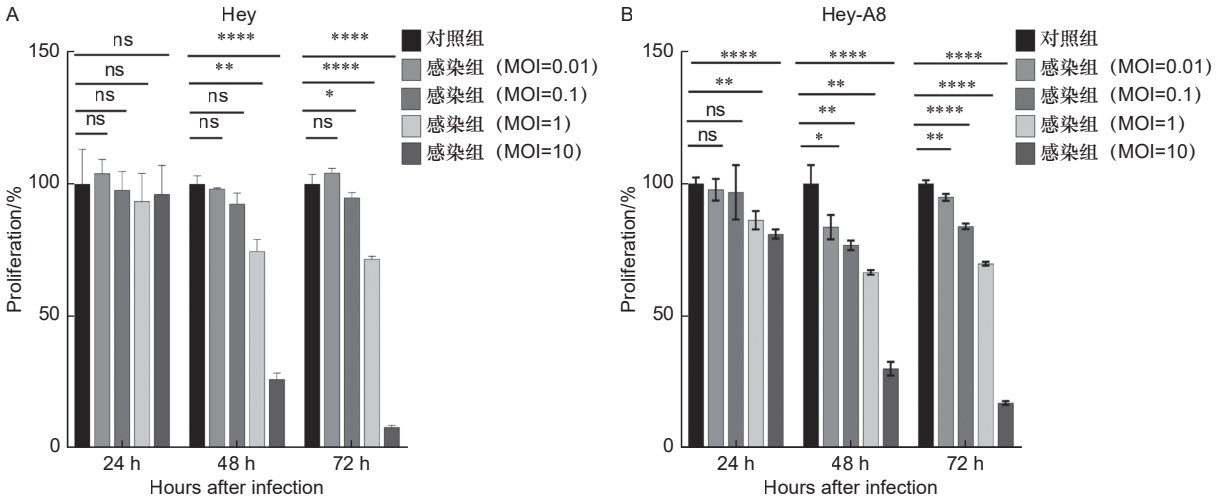


A. NDV/FMW 感染后卵巢癌细胞的形态学变化，比例尺：100 μm；B. 台盼蓝染色法检测 NDV/FMW 感染对卵巢癌细胞死亡率的影响；C. NDV/FMW 感染 Hey、Hey-A8、TOV-112D 细胞后的相对死亡率比较；D. Western blot 检测 NDV/FMW 蛋白 HN 的表达情况；E. Western blot 定量分析统计图。两组比较，ns 为差异无统计学意义，*P＜0.05，**P＜0.01，***P＜0.001，****P＜0.000 1。

图 1　细胞模型构建与筛选

Fig. 1　Cell model construction and screening

明，NDV/90D 可诱导肺癌 A549 细胞凋亡，而对正常人体细胞无明显影响。Pecora 等[16] 证明，NDV/PV701 在晚期实体瘤患者中应用时，首次输注反应较明显，但通过首剂减量的“脱敏”方案可有效控制，常见的不良反应为流感样综合征，经治疗后可迅速缓解。此外，NDV 与化疗、放疗、免疫检查点抑制剂联用，未出现

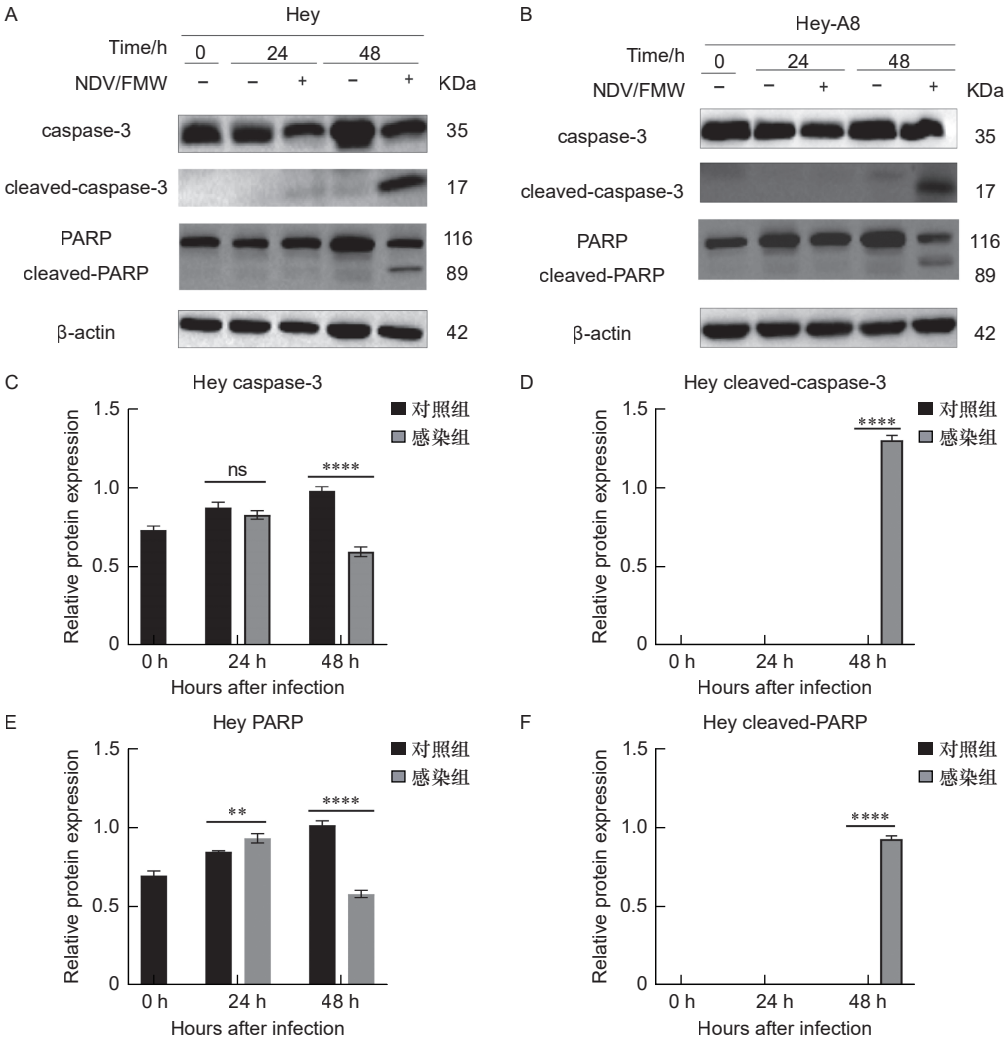


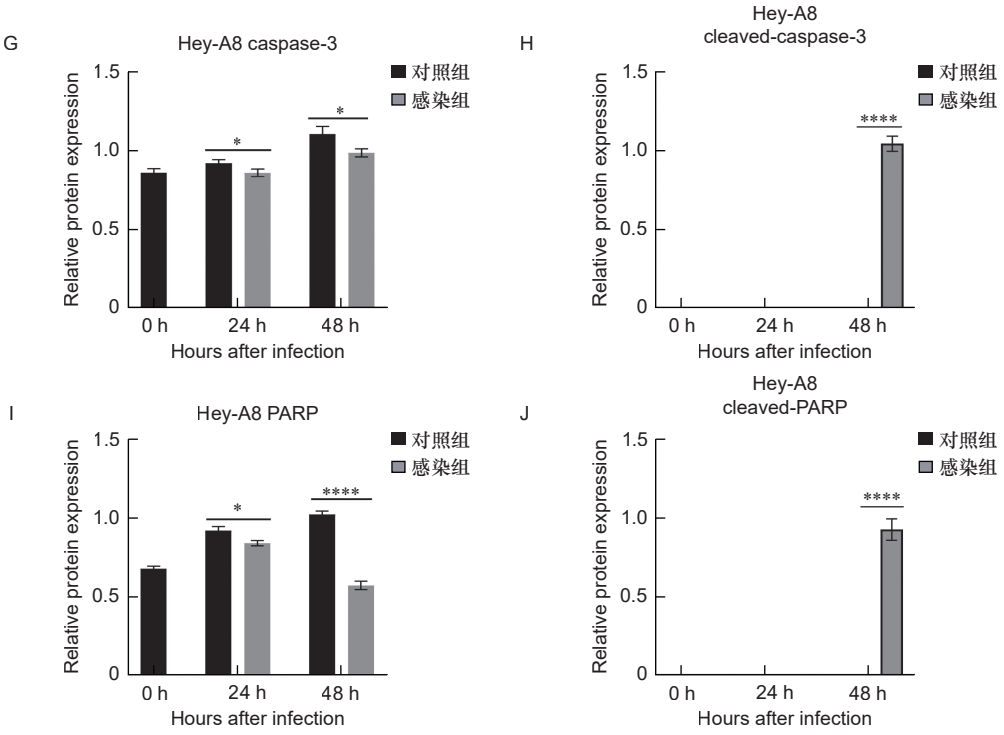
A. CCK-8 法检测 Hey 细胞增殖能力；B. CCK-8 法检测 Hey-A8 细胞增殖能力。与对照组比较，ns 为差异无统计学意义，* $P<0.05$，** $P<0.01$，**** $P<0.000\,1$。

图 2　不同感染复数的 NDV/FMW 对卵巢癌细胞增殖能力的影响

Fig. 2　Effect of different multiplicities of NDV/FMW infection on the proliferation ability of ovarian cancer cells

明显的严重叠加毒性[14-17]。还有研究发现，NDV/FMW 可通过靶向 STAT3 引起前列腺细胞发生凋亡[18]。NDV 作为一种具有免疫激活能力的溶瘤病毒，不仅可直接杀伤肿瘤细胞，还可通过释放肿瘤相关抗原和损伤相关分子模式（DAMPs）激活机体抗肿瘤免疫应答，发挥系统性免疫治疗效应。然而，目前对于 NDV/FMW





A. Western blot 检测 Hey 细胞 caspase-3、cleaved-caspase-3、PARP 及 cleaved-PARP 的表达情况；B. Western blot 检测 Hey-A8 细胞 caspase-3、cleaved-caspase-3、PARP 及 cleaved-PARP 的表达情况；C. Hey 细胞 caspase-3 定量分析统计图；D. Hey 细胞 cleaved-caspase-3 定量分析统计图；E. Hey 细胞 PARP 定量分析统计图；F. Hey 细胞 cleaved-PARP 定量分析统计图；G. Hey-A8 细胞 caspase-3 定量分析统计图；H. Hey-A8 细胞 cleaved-caspase-3 定量分析统计图；I. Hey-A8 细胞 PARP 定量分析统计图；J. Hey-A8 细胞 cleaved-PARP 定量分析统计图。与对照组比较，ns 为差异无统计学意义，* $P<0.05$，** $P<0.01$，**** $P<0.000\,1$。

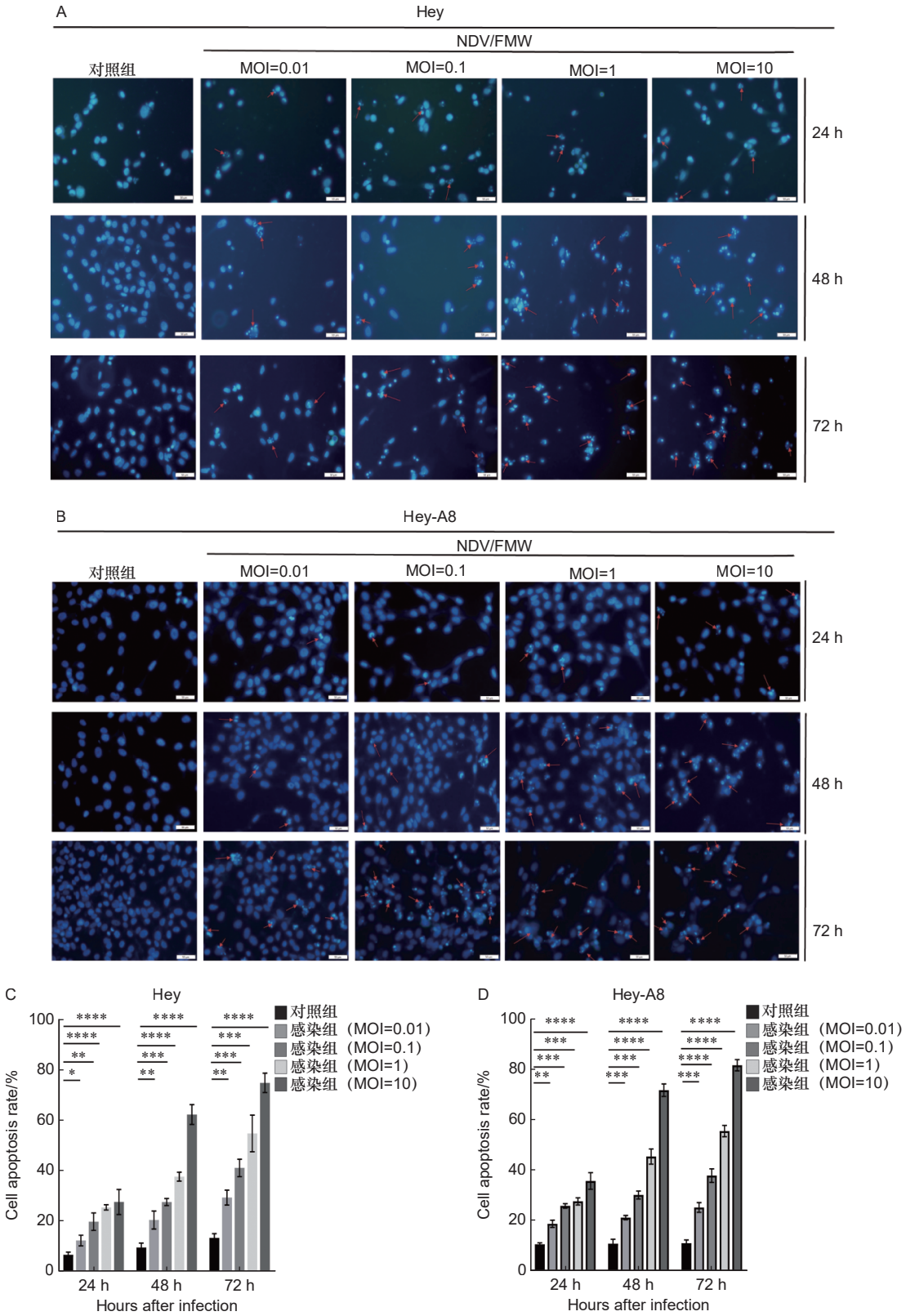
图 3　NDV/FMW 对卵巢癌细胞凋亡蛋白表达的影响

Fig. 3　Effect of NDV/FMW on the expression of apoptosis-related proteins in ovarian cancer cells

在卵巢癌细胞中的作用尚不明确。本研究通过病毒感染细胞，显微镜下观察形态学变化、台盼蓝染色计算细胞死亡率及 Western blot 检测 HN 蛋白表达，筛选出死亡率最高及感染效率最高的细胞，并以此为模型，探讨 NDV/FMW 对卵巢癌细胞的作用。结果表明，5 种人卵巢癌细胞系中，Hey 和 Hey-A8 细胞系是感染 NDV/FMW 后，死亡率最高以及 HN 表达量最高，即感染效率最高的两个细胞系，遂用作后续实验的细胞模型。CCK-8 结果显示，与对照组相比，NDV/FMW 感染 24 h 后 Hey 细胞增殖未见明显改变；以 MOI=0.01、0.1 的 NDV/FMW 感染 24 h 后 Hey-A8 细胞增殖未见明显改变，以 MOI=1、10 的 NDV/FMW 感染 24 h 后 Hey-A8 细胞增殖能力受到抑制，而感染 48 h 及 72 h 后，Hey 和 Hey-A8 细胞增殖能力均受到显著抑制，且抑制效果随 MOI 增加和作用时间延长而增强，提示 NDV/FMW 感染后可抑制卵巢癌细胞增殖，并呈现一定的时间依赖性。

在此基础上，本研究进一步探讨了 NDV/FMW 诱导卵巢癌细胞凋亡的作用。细胞凋亡（程序性细胞死亡Ⅰ型）是一种高度保守、基因调控的主动有序的细胞自我清除过程。与坏死（被动、炎症性死亡形式）不同，凋亡的典型特征包括细胞皱缩、染色质凝集、DNA 片段化、质膜出泡形成凋亡小体，并被邻近细胞或吞噬细胞快速清除，不引发炎症反应[19]。Caspase-3 是凋亡信号通路下游的关键执行分子，是线粒体途径、死亡受体途径等多条凋亡通路的共同汇聚点。线粒体途径释放的细胞色素 c 可激活 caspase-9、死亡受体途径可激活 caspase-8，二者均可进一步激活 caspase-3。活化的 caspase-3 可切割多种关键细胞底物，包括 DNA 修复相关蛋白 PARP，使其失活并抑制 DNA 修复，进而促进细胞凋亡[20]。本研究发现，随 MOI 及作用时间增加，Hey 与 Hey-A8 细胞中 cleaved-caspase-3 和 cleaved-PARP 的表达水平显著上调，同时 Hoechst 33342 荧光染色观察到细胞核出现凝集、碎裂等典型凋亡形态特征。NDV/FMW 病毒可显著诱导卵巢癌细胞 Hey、Hey-A8 发生凋亡，并随着 MOI 的增加，细胞的凋亡率显著提高。上述结果表明，NDV/FMW 可能通过激活经典 caspase 凋亡通路发挥抗肿瘤作用。这与 NDV 在肺癌、前列腺癌等肿瘤中诱导凋亡的报道一致[15, 18]，提示 NDV 可能通过保守的分子机制在不同肿瘤中发挥促凋亡作用。

综上所述，本研究结果显示，NDV/FMW 能够抑



A. Hey 细胞 Hoechst 33342 荧光染色图; B. Hey-A8 细胞 Hoechst 33342 荧光染色图; C. Hey 细胞凋亡率统计图; D. Hey-A8 细胞凋亡率统计图。红色箭头指示凋亡小体; 比例尺: 50 μm。与对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.000\,1$。

图 4 NDV/FMW 对卵巢癌细胞凋亡的影响

Fig. 4 Effect of NDV/FMW on apoptosis in ovarian cancer cells

制卵巢癌细胞增殖并可能通过激活 caspase-3/PARP 凋亡通路诱导人卵巢癌细胞凋亡, 为 NDV/FMW 作为溶瘤病毒用于卵巢癌相关研究提供了实验依据。NDV 与化疗、免疫治疗等手段联合应用, 可能为卵巢

癌治疗提供新的思路，具有一定的临床研究与转化价值。

参考文献：

[1] Webb PM, Jordan SJ. Global epidemiology of epithelial ovarian cancer[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2024, 21(5): 389-400. DOI: 10.1038/s41571-024-00881-3.

[2] Khanlarkhani N, Azizi E, Amidi F, et al. Metabolic risk factors of ovarian cancer: a review[J]. JBRA Assist Reprod, 2021: 335-347. DOI: 10.5935/1518-0557.20210067.

[3] Pawar A, Chowdhury OR, Chauhan R, et al. Identification of key gene signatures for the overall survival of ovarian cancer[J]. J Ovarian Res, 2022, 15(1): 12. DOI: 10.1186/s13048-022-00942-0.

[4] Kuroki L, Guntupalli SR. Treatment of epithelial ovarian cancer[J]. Bmj, 2020: m3773. DOI: 10.1136/bmj.m3773.

[5] Trimbos JB. Surgical treatment of early-stage ovarian cancer[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2017, 41: 60-70. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2016.10.001.

[6] Elyashiv O, Wong YNS, Ledermann JA. Frontline maintenance treatment for ovarian cancer[J]. Curr Oncol Rep, 2021, 23(8): 97. DOI: 10.1007/s11912-021-01088-w.

[7] Xu XB, Lai YY, Hua ZC. Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials[J]. Biosci Rep, 2019, 39(1): BSR20180992. DOI: 10.1042/BSR20180992.

[8] Moyer A, Tanaka K, Cheng EH. Apoptosis in cancer biology and therapy[J]. Annu Rev Pathol Mech Dis, 2025, 20: 303-328. DOI: 10.1146/annurev-pathmechdis-051222-115023.

[9] Song H, Zhong LP, He J, et al. Application of Newcastle disease virus in the treatment of colorectal cancer[J]. World J Clin Cases, 2019, 7(16): 2143-2154. DOI: 10.12998/wjcc.v7.i16.2143.

[10] Ye T, Jiang K, Wei L, et al. Oncolytic Newcastle disease virus induces autophagy-dependent immunogenic cell death in lung cancer cells[J]. Am J Cancer Res, 2018, 8(8): 1514-1527.

[11] Al-Ziaydi AG, Al-Shammari AM, Hamzah MI, et al. Newcastle disease virus suppress glycolysis pathway and induce breast cancer cells death[J]. VirusDisease, 2020, 31(3): 341-348. DOI: 10.1007/s13337-020-00612-z.

[12] Yang HM, Tian JX, Zhao J, et al. The application of Newcastle disease virus (NDV): vaccine vectors and tumor therapy[J]. Viruses, 2024, 16(6): 886. DOI: 10.3390/v16060886.

[13] Freeman AI, Zakay-Rones Z, Gomori JM, et al. Phase Ⅰ/Ⅱ trial of intravenous NDV-HUJ oncolytic virus in recurrent glioblastoma multiforme[J]. Mol Ther, 2006, 13(1): 221-228. DOI: 10.1016/j.ymthe.2005.08.016.

[14] Davar D, Carneiro BA, Dy GK, et al. Phase Ⅰ study of a recombinant attenuated oncolytic virus, MEDI5395 (NDV–GM-CSF), administered systemically in combination with durvalumab in patients with advanced solid tumors[J]. J Immunother Cancer, 2024, 12(11): e009336. DOI: 10.1136/jitc-2024-009336.

[15] Fu F, Zhao M, Yang YJ, et al. Antiproliferative effect of Newcastle disease virus strain D90 on human lung cancer cell line A549[J]. Oncol Res, 2011, 19(7): 323-333. DOI: 10.3727/096504011x13079697132880.

[16] Pecora AL, Rizvi N, Cohen GI, et al. Phase Ⅰ trial of intravenous administration of PV701, an oncolytic virus, in patients with advanced solid cancers[J]. J Clin Oncol, 2002, 20(9): 2251-2266. DOI: 10.1200/JCO.2002.08.042.

[17] Marek J, Hanesch L, Krabbe T, et al. Oncolytic virotherapy with chimeric VSV-NDV synergistically supports RIG-Ⅰ-dependent checkpoint inhibitor immunotherapy[J]. Mol Ther Oncolytics, 2023, 30: 117-131. DOI: 10.1016/j.omto.2023.08.001.

[18] Wang XK, Shao XY, Gu L, et al. Targeting STAT3 enhances NDV-induced immunogenic cell death in prostate cancer cells[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(7): 4286-4297. DOI: 10.1111/jcmm.15089.

[19] Kiraz Y, Adan A, Kartal Yandim M, et al. Major apoptotic mechanisms and genes involved in apoptosis[J]. Tumor Biol, 2016, 37(7): 8471-8486. DOI: 10.1007/s13277-016-5035-9.

[20] Nagata S. Apoptosis and clearance of apoptotic cells[J]. Annu Rev Immunol, 2018, 36: 489-517. DOI: 10.1146/annurev-immunol-042617-053010.

（收稿日期：2026-03-30；修回日期：2026-06-11）

责任编辑：李雅楠

欢迎关注《大连医科大学学报》微信公众号

《大连医科大学学报》2016 年 1 月已开通微信公众号，定期推送本刊精选的学术论文。请在公众号中输入“大连医科大学学报”或“j_dlmedu”搜索并关注。

《大连医科大学学报》编辑部