

乳腺癌的基因治疗与核素靶向治疗

宋进华

摘要: 乳腺癌的基因治疗是近年来肿瘤治疗研究的热点, 目前处于实验或临床初步应用的基因治疗方法主要有免疫基因治疗、多药耐药基因治疗、反义寡核苷酸治疗、自杀基因治疗等方法, 而将基因治疗与放射性核素相结合的基因靶向近距离放射治疗的方法具有放射性核素与自杀基因对肿瘤细胞的双重杀灭作用, 为肿瘤基因治疗开辟了一条崭新的途径, 在这一领域进一步研究必将加快基因靶向治疗向临床应用迈进的步伐。

关键词: 基因治疗; 靶向治疗; 乳腺癌

中图分类号: R817.5 **文献标识码:** A

Gene therapy and radionuclides targeting therapy in mammary carcinoma

SONG Jin-hua

(Department of Nuclear Medical Technique, Southeast University, Nanjing 210009, China)

Abstract: Breast carcinoma's gene therapy is a hotspot in study of the tumor's therapy in the recent years. Currently the major therapy methods that in the experimentative and primary clinical application phases include immunological gene therapy, multidrug resistance gene therapy, antisense oligonucleotide therapy and suicide gene therapy. The gene targeting brachytherapy, which is combined with gene therapy and radiotherapy has enhanced the killer effects of the suicide gene and nuclide in tumor cells. That has break a new path in tumor's gene therapy. The further study in this field will step up it's space to the clinical application.

Key words: gene therapy; targeting therapy; mammary carcinoma

乳腺癌是常见恶性肿瘤, 约占全身恶性肿瘤的7%~10%, 全世界每年新发乳腺癌约150万例, 死亡57万例, 而且发病率目前有增高趋势, 有可能超过宫颈癌而居女性恶性肿瘤的首位。当前, 乳腺癌的常用治疗手段主要包括传统的手术治疗以及术后放化疗等, 这些手段虽然可以使患者获得较高的生存率甚至治愈, 但是乳腺癌术后常在几年内复发。Amornmarn R等^[1]报道, 112例在Florida大学医学中心治疗的乳腺癌患者中的4%在一年内复发, 9%的患者三年内有远处转移。因此, 探索新的治疗方法显得尤为重要。

1 基因治疗

乳腺癌的发生是以多个癌基因在不同的时间和空间上, 经不同途径激活和/或不同的抑癌基因失活为基础的多步骤过程。基因治疗就是应用一定的方法将具有功能的外源基因或其他遗传物质导入患者体内, 从而使患者由于基因缺陷所致的临床症状得到减轻、代偿和纠正的治疗方案。

1.1 基因治疗的主要策略

1.1.1 免疫基因治疗

这是通过转基因提高肿瘤细胞的免疫原性或增强机体免疫活性细胞的抗原呈递及识别能力, 从而帮助机体免疫系统杀灭肿瘤细胞。乳腺癌细胞中存在MUC1(黏蛋白1)基因高表达和糖基化^[2], 携带有MUC1-cDNA的重组痘苗病毒载体感染小鼠和人的细胞后能够分泌MUC1肿瘤抗原, 该载体免疫

收稿日期: 2003-05-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30070229)

作者简介: 宋进华(1976-), 男, 东南大学医学院(南京, 210009)住院医师, 硕士研究生, 主要从事核素治疗的研究。

审校者: 东南大学核医学技术研究所 刘璐
四川大学华西医院核医学科 谭天秩

小鼠产生针对 MUC1 的抗体,使肿瘤生长受抑制。重组痘病毒载体具有较强的呈递抗原能力,可将肿瘤抗原及宿主人类主要组织相容性抗原共同表达在细胞表面,诱导细胞免疫而杀伤肿瘤细胞。有人^[9]用 α -干扰素基因修饰人体乳腺癌细胞后在裸鼠上种植,其成瘤率大为下降,并使机体具有抑制再植成瘤的免疫功能。Lichter T 等^[10]将细胞疫苗(即转染了 IL-2(白细胞介素 2)基因的纤维原细胞)注射到 C57BL/6 小鼠 EO771 系乳腺癌细胞移植瘤体内,对照组小鼠生存期为 23~41d,而治疗组有 4/10 的小鼠肿瘤生长得到了有效控制;在 90d 时将 EO771 细胞注射到这 4 只小鼠脑内,对照组则设置为 4 只未注射过肿瘤细胞的小鼠,结果经 IL-2 治疗组生存期显著延长。转染了 IL-2 基因的纤维原细胞可以在靶细胞周围产生大量的 IL-2,此治疗方案不仅可以杀伤肿瘤细胞,而且增强机体对肿瘤细胞的二次抵抗能力。

1.1.2 MDR(多药耐药)基因治疗

骨髓抑制是乳腺癌化疗的主要障碍之一,乳腺癌患者在进行大剂量根治性化疗以杀灭体内的肿瘤细胞时,常常由于造血细胞不能耐受而死于造血衰竭。Amornmarn R 等^[11]报道,MDR 基因缺失或突变见于 80%有远处转移病例,于是人们试图将 MDR-1 基因转入造血干细胞中,再移植给患者,用以减轻化疗药物的骨髓抑制作用,提高造血细胞对化疗药物的耐受性。虽然这在动物实验中证明可行,但在临床大剂量化疗下,其耐药优势并不显著。

1.1.3 反义寡核苷酸治疗

根据癌基因或融合基因及其 mRNA 序列的关键部分设计出与之互补的反义寡核苷酸,导入肿瘤细胞,封闭癌基因或融合基因的表达,从而可改变其恶性表型。乳腺癌患者中约 40%含有 p53 基因的缺失或突变, P53 蛋白几乎与所有复发病例及 80%远处转移病例有关^[12]。将野生型 p53 基因导入 p53 基因缺失或变异的乳腺癌细胞,可抑制肿瘤细胞的生长,促使肿瘤细胞凋亡^[13]。有人报道^[14],在裸鼠体内建立的 p53 基因突变的人乳腺癌 DAMB 435 细胞系移植瘤,经尾静脉注射 p53 基因脂质体混合物后,60%肿瘤生长显著受抑,并在停用 p53 基因治疗后 1 个月后无复发,乳腺癌肺部转移的小鼠经尾静脉注射 p53 基因后,转移灶的生长也

受到了抑制。HER2 是表皮生长因子受体家族的一员,HER2 基因过度表达可导致细胞过度增殖和表型向恶性转化,临床特点表现为病情发展迅速、化疗缓解期短、易产生耐药性、生存率降低,25%~30%的晚期乳腺癌的癌组织中有 HER2 基因过度表达^[15]。Herceptin(荷塞停)是针对原癌基因表达产物 HER2 的人源化单克隆抗体,能特异地作用于 HER2 过度表达的乳腺癌细胞, FDA(美国食品及药品管理局)于 1998 年批准 Herceptin 用于乳腺癌的临床治疗,取得了较好的疗效^[16]。

1.1.4 自杀基因治疗

将药物敏感基因,即所谓“自杀基因”转入靶细胞,使之对特定药物特别敏感而易于被杀灭。目前已建立了 3 种较为成熟的自杀基因肿瘤治疗方案^[17],即 HSV-tk/GCV(单纯疱疹病毒胸苷激酶/丙氧鸟苷)、VZV-tk/AraC(水痘带状疱疹病毒胸苷激酶/6-甲氧基嘌呤阿拉伯糖核苷)以及 ECCD/5-FC(大肠杆菌胞嘧啶脱氨酶/5-氟胞嘧啶)。其中,第一种方案开展较早,并在具体实施方法的安全性、可靠性及有效性方面进行了大量的研究,积累了一定的经验。病毒源性的 HSV-tk 与哺乳动物细胞内的 tk 不同,其基因表达的产物可以将无毒的抗病毒药物丙氧鸟苷代谢为有毒的无环鸟苷,抑制处于细胞分裂周期的 RNA 和 DNA 的合成,从而选择性地杀死处于快速增殖期的肿瘤细胞。Morimoto J 等^[18]利用 HSV-tk 治疗小鼠乳腺癌及其淋巴结和远处转移灶得到了肯定的疗效。ECCD 基因能将无毒性药物 5-FC 代谢成毒性产物 5-FU(5-氟尿嘧啶)而杀伤肿瘤细胞。

自杀基因虽然只能转染少数肿瘤细胞,但是在这些成功转染自杀基因而凋亡的肿瘤细胞周围可发现未转染自杀基因的肿瘤细胞也大量凋亡,即所谓“旁观者效应”^[10,11]。最近有报道^[12-14]将 B7(共同刺激因子)、HSP(热休克蛋白)、GM-CSF(粒细胞巨噬细胞集落刺激因子)或 IL-2 联合 HSV-tk 对乳腺癌动物模型体内进行治疗,即所谓“双基因治疗”^[12]结果,这种双基因治疗在直接诱发肿瘤细胞“自杀”的同时还能诱发机体产生抗肿瘤免疫功能,因此成为极有前途的研究方向之一。

1.2 基因治疗存在的局限性

(1)用于研究和临床的基因转染方法有多种,但转染效果仍不令人满意。目前看来较有希望用

于临床的是以逆转录病毒和腺病毒为载体的转染法。逆转录病毒转染率较高,而且表达稳定,但它仅对增殖活跃的细胞才有较高的转染率,且在转染过程中可整合到宿主细胞而发生插入型突变和癌基因激活,不适于介导人体内基因的转移;腺病毒所携带的基因不整合到宿主细胞的染色体上,且具有较高的转染率,但表达不够稳定。

(2)缺乏特异性和高效性载体^[9]。若仅部分肿瘤细胞被导入基因,治疗效果会受到影响,而载体特异性差则会导致癌旁组织及骨髓等其他重要组织被累及。

(3)容易复发。上述“旁观者效应”虽然有助于进一步杀死肿瘤细胞,但其又有选择性及局部区域性,不能保证所有肿瘤细胞都能被杀死,经丙氧鸟苷治疗,肿瘤消退后停药,则肿瘤又迅速复发。

2 基因靶向核素治疗

核素治疗目前已广泛应用于乳腺癌的治疗,乳腺癌患者手术后仍需进行长时间的普通放疗或核素治疗。Vlachaki M等^[10]把TM40D乳腺癌移植瘤细胞经尾静脉注射到BALB/c小鼠体内,用发生肿瘤结节的个数来判定疗效;将单用自杀基因治疗与自杀基因联合放疗进行疗效对比显示,前者抑制了11%的肿瘤生长,小鼠平均生存期为45d,后者抑制了29%的肿瘤生长,小鼠平均生存期为58d。由此可见,自杀基因联合放疗可以延长小鼠生存期。但是,普通放疗或核素治疗在癌细胞得到杀灭的同时,邻近重要脏器及正常组织不可避免地受到辐射损伤。

Larson SM等^[11]提出的将基因治疗与靶向核素治疗相结合,即所谓“基因靶向核素治疗”的方法,为肿瘤基因治疗开辟了一条崭新的途径。这种治疗方法就是将可诱导辐射敏感性的基因转录启动子导入肿瘤细胞内,诱导本身不摄取放射性核素的肿瘤细胞能够特异性地摄取某一放射性核素,形成基因和放射性核素对肿瘤的双重杀伤作用^[12]。NIS(钠/碘同向转运体)具有使甲状腺细胞特异性地积累碘化物的作用,利用¹³¹I治疗甲状腺癌的疗效已得到肯定,Boland A等^[13]把这个治疗方案扩展到非甲状腺肿瘤上,他们利用腺病毒载体将NIS基因导入裸鼠宫颈瘤或乳腺癌细胞中,定量分

析证实,经基因转染的肿瘤细胞核素积聚量是未转染细胞的4~25倍,Lammering G等^[14]通过让肿瘤细胞过度表达EGFR(表皮生长因子受体)的变种EGFR-CD533,妨碍EGFR发挥功能,由此增强肿瘤细胞对辐射的敏感性而达到治疗目的。Larson SM等^[11]首先将HSV-tk基因导入肿瘤细胞,然后投用治疗剂量的¹²⁵I-FIAU[1-(2-脱氧-2-氟-β-D-阿拉呋喃糖)-5-碘尿嘧啶],这样不仅可直接阻断肿瘤细胞DNA的合成,同时¹²⁵I衰变时产生的Auger和CK电子可引起DNA双链的断裂,即发挥所谓“分子手术刀”样作用,使抗肿瘤效应得到加强。Germann C等^[15]以HSV-tk为标志基因,以³H-FFUdR[1-(2-脱氧-2-氟-β-D-阿拉呋喃糖)-5-氟尿嘧啶]为标志基质,研究了HSV-tk在Morris肝癌细胞中的表达,发现FFUdR在HSV-tk⁺细胞中的蓄积比对照高14~19倍,而且比环氧鸟苷在同一细胞中的蓄积高3~4倍。以上研究证明,在特定基因的诱导下可使靶细胞特异性地摄取特定放射性核素,从而达到治疗目的。

3 展望

随着分子生物学、分子核医学以及免疫学的进一步发展,科学家们将从本质上去认识、了解肿瘤的发病机理,不断地揭示基因密码,真正从分子水平诊断和治疗疾病。基因治疗,特别是基因靶向核素治疗将在包括乳腺癌在内的众多恶性肿瘤的治疗上发挥越来越大的作用,而在这些领域的不断探索中,必将进一步推动基因靶向核素治疗向临床应用迈进的步伐。

参考文献:

- [1] Amornmarn R, Bui MM. Molecular predictive factors for local recurrence and distant metastasis of breast cancer after lumpectomy with postoperative radiation therapy [J]. Ann Clin Lab Sci, 2000, 30(1): 33-40.
- [2] Kurihara T, Brough DE, Kovacs I, et al. Selectivity of a replication-competent adenovirus for human breast carcinoma cells expressing the MUC1 antigen [J]. Journal Clin Invest, 2000, 106(6): 763-771.
- [3] Indraccolo S, Gola E, Rosato A, et al. Differential effects of angiostatin endostatin and interferon-alpha(1) gene transfer on in vivo growth of human breast cancer cells [J]. Gene Therapy, 2002, 9(13): 867-878.
- [4] Lichter T, Moser R, Cohen EP. Immunogene therapy with

- interleukin-2-secreting fibroblasts for intracerebrally metastasizing breast cancer in mice[J]. *J Neurosurg*, 2001, 94(2): 287-292.
- [5] Obermiller PS, Tait DL, Holt JT. Gene therapy for carcinoma of the breast: Therapeutic genetic correction strategies [J]. *Breast Cancer Res*, 2000, 2(1): 28-31.
- [6] Lesoom, Wood LA, Kim WH, et al. Systemic gene therapy with p53 reduces growth and metastasise so famalignant human breast cancer in nude mice [J]. *Hum Gene Ther*, 1995, 6 (4): 39-52.
- [7] Wang SC, Zhang L, Hortobagyi GN, et al. Targeting HER2: recent developments and future directions for breast cancer patients[J]. *Semin Oncol*, 2001, 28(6 Suppl 18): 21-29.
- [8] Springer CJ, Niculescu-Duvazl I. Prodrug activating systems in suicide gene therapy [J]. *J Clin Inves*, 2000, 105 (9): 1161-1167.
- [9] Morimoto J, Otsuki Y. Suppression of murine mammary carcinoma growth and metastasis by HSVtk/GCV gene therapy using in vivo electroporation[J]. *Cancer Gene Ther*, 2002, 9 (1): 16-27.
- [10] Grignet-Debrus C, Cool V, Baudson N, et al. The role of cellular-and prodrug-associated factors in the bystander effect induced by the varicella zoster and herpes simplex viral thymidine kinases in suicide gene therapy[J]. *Cancer Gene Ther*, 2000, 7(11): 1456-1468.
- [11] Balzarini J, Ostrowski T, Goslinski T, et al. Pronounced cytostatic activity and bystander effect of a novel series of fluorescent tricyclic acyclovir and ganciclovir derivatives in herpes simplex virus thymidine kinase gene-transduced tumor cell lines[J]. *Gene Ther*, 2002, 9(17): 1173-1182.
- [12] Guha C, Guha U, Tribius S, et al. Antisense ATM gene therapy: as strategy to increase the radiosensitivity of human tumors [J]. *Gene Ther*, 2000, 7(10): 852-858.
- [13] Majumdar AS, Zolotorev A, Samuel S, et al. Efficacy of herpes simplex virus thymidine kinase in combination with cytokine gene therapy in an experimental metastatic breast cancer model[J]. *Cancer Gene Ther*, 2000,7(7):1086-1099
- [14] Braiden V, Ohtsuru A, Kawashita Y, et al. Eradication of breast cancer xenografts by hyperthermic suicide gene therapy under the control of the heat shock protein promoter[J]. *Hum Gene Ther*, 2000, 11(18):2453-2463.
- [15] Wu Q, Moyana T, Xiang J. Cancer gene therapy by adenovirus-mediated gene transfer[J]. *Cur Gene Ther*, 2001,1(1): 101-122.
- [16] Vlachaki MT, Chhikara M, Aguilar L, et al. Enhanced therapeutic effect of multiple injections of HSV-TK + GCV gene therapy in combination with ionizing radiation in a mouse mammary tumor model [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2001, 51(4): 1008-1017
- [17] Larson SM, Tjuvajev J, Biasberg R. Triumph over mischance: a role for nuclear medicine in gene therapy[J]. *J Nucl Med*, 1997, 38: 1230-1233.
- [18] Mairs R J, Cunningham SH, Boyd M, et al. Application of gene transfer to targeted radiotherapy [J]. *Curr Pharm Des*, 2000, 6(14): 1419-1432.
- [19] Boland A, Ricard M, Opolon P, et al. Adenovirus-mediated transfer of the thyroid sodium/iodide symporter gene into tumors for a targeted radiotherapy[J]. *Cancer Res*, 2000, 60 (13): 3484-3492.
- [20] Larmering G, Hewitt TH. Epidermal growth factor receptor as a genetic therapy target for carcinoma cell radiosensitization[J]. *J Nat Cancer Inst*, 2001, 93(12): 921-929.
- [21] Germann C, Shields AF, Grierson JR, et al. 5 Fluoro 1 (2, deoxy 2, fluorobeta Dribofuranosyl) uracil trapping in morris hepatoma cell sex pressing the herpes simple the herpes simplex virus thymid ine kinase gene[J]. *J Nucl Med*, 1998, 39(8): 1418-1423.

本刊 2004 年度主要报道内容预告

第一期：核医学：临床核医学（1）

放射医学：放射生物学（1）

第二期：核医学：PET与PET/CT

放射医学：辐射防护与放射卫生学（1）

第三期：核医学：实验核医学（1）

放射医学：辐射剂量

第四期：核医学：核素治疗

放射医学：放射治疗

第五期：核医学：临床核医学（2）

放射医学：放射生物学（2）

第六期：核医学：实验核医学（2）

放射医学：辐射防护与放射卫生学（2）