

·临床放射学·

基因治疗联合放射治疗恶性肿瘤

张耀文 曹永珍 李进 王芹

【摘要】肿瘤治疗是目前医学研究的重点之一,基因治疗与放射治疗方法的结合倍受重视,根据技术特点这种联合治疗方法主要有:免疫基因治疗联合放疗、直接杀伤或抑制肿瘤细胞的基因治疗联合放疗、抗肿瘤血管生成的基因治疗联合放疗以及辐射保护性基因治疗。综述了近年来基因治疗联合放射治疗恶性肿瘤的研究现状以及可能的作用机制。

【关键词】肿瘤;基因疗法;放射疗法

Gene therapy and radiotherapy in malignant tumor

ZHANG Yao-wen¹, CAO Yong-zhen¹, LI Jin², WANG Qin²

(1. Department of Radiation Oncology, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China; 2. Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300192, China)

【Abstract】 Tumor treatment is one of the most important fields in medical research. Nowadays, a novel method which is combined gene therapy with radiotherapy plays an important role in the field of cancer research, and mainly includes immune gene therapy combined with radiotherapy, suicide gene therapy or tumor suppressor gene therapy combined with radiotherapy, antiangiogenesis gene therapy combined with radiotherapy and protective gene therapy combined with radiotherapy based on the technical features. This review summarized the current status of combined therapies of gene therapy and radiotherapy and possible mechanism.

【Key words】 Tumor; Gene therapy; Radiotherapy

放射治疗是肿瘤治疗的常规手段之一,70%~80%的肿瘤患者在治疗过程中需要接受放疗。为了解决放疗中肿瘤细胞的放射抗拒问题,进一步提高放疗治愈率,以基因治疗靶向性处理肿瘤细胞、提高对放射线的敏感性,然后联合放疗,将这种新治疗模式称为基因放疗^[1]。基因治疗可干扰辐射诱发DNA损伤的修复,增强DNA对辐射损伤的敏感性^[2];放射使受照细胞表面受损及穿孔,引起细胞膜通透性和跨膜电位的改变,便于带负电荷的外源基因主动进入细胞,提高基因转移的效率^[3],两者联合应用具有协同作用。根据技术特点,可将基因治疗联合放疗分成免疫基因治疗联合放疗、直接杀伤或抑制肿瘤细胞的基因治疗联合放疗、抗肿瘤血管生成的基因治疗联合放疗和

放疗保护性基因治疗等4项技术。

1 免疫基因治疗联合放疗

免疫基因治疗常见的有以细胞因子基因转移肿瘤细胞、人类白细胞抗原基因转移肿瘤细胞、共刺激因子基因转移肿瘤细胞。放疗可造成机体免疫抑制,特别是参与机体抗肿瘤免疫的NK细胞、Tc细胞等的减少和抑制,对患者造成明显不利的影响。

研究表明,肿瘤患者放疗后T细胞亚群中T3和T4细胞明显下降,T8/T4比例上升。在鼠和人的肿瘤治疗中,放射可以诱导大量与放射反应有关的基因表达,这些基因可以增强免疫肿瘤靶向表达的能力^[4]。而免疫疗法产生“危险信号”,促进树突状细胞呈递肿瘤抗原^[5]。

放疗联合免疫基因治疗已被证明在肾脏腺癌、前列腺癌和其他肿瘤临床试验前模型中有效。Tsai等^[6]报道,在鼠前列腺癌TRAMP-C1动物模型中,局部放疗联合白细胞介素3基因治疗相比于单纯

基金项目:1.国家自然科学基金资助项目(30770638);2.天津市自然科学基金资助项目(05YFJMJC12100)

作者单位:1. 300052,天津医科大学总医院放疗科(张耀文,曹永珍);2. 300192天津,中国医学科学院放射医学研究所分子核医学重点实验室(李进,王芹)

通讯作者:曹永珍(E-mail:cyz1956@hotmail.com)

放疗或白细胞介素3基因治疗,肿瘤内干扰素 γ 的分泌和特异性细胞毒T细胞量显著增加。Fujita等^[7]应用腺病毒介导的白细胞介素12基因联合放疗治疗鼠前列腺癌,发现肿瘤坏死因子 α mRNA的表达增加,表现出很强的肿瘤抑制效果。有文献报道,在食管癌动物模型中,联合放射线照射后肿瘤细胞肿瘤坏死因子的表达水平高于单纯基因治疗,并导致肿瘤生长延迟^[8]。

2 直接杀伤或抑制肿瘤细胞的基因治疗联合放疗

2.1 自杀基因治疗联合放射导向治疗

自杀基因治疗又称酶药物前体疗法(enzyme prodrug therapy),目前研究最多的有两种自杀基因系统:①单纯疱疹病毒胸苷激酶(herpes simplex virus-thymidine kinase, HSV-TK)基因:可将无活性的丙氧鸟苷或无环鸟苷磷酸化后转变为细胞毒性药物,阻碍细胞DNA合成,从而造成细胞死亡;②大肠杆菌胞嘧啶脱氨酶基因:能将无毒的5-氟胞嘧啶变成传统的化疗药物5-氟尿嘧啶。

自杀基因治疗联合放射导向治疗的优势在于:①药敏自杀基因和放疗分别作用于细胞周期中的S期及G₂/M期,联合应用可提高疗效;②磷酸化的前体药物掺入新合成的DNA后,导致DNA合成终止,进而细胞死亡,增加DNA对射线的敏感性;③磷酸化的前体药物掺入DNA中可干扰放射损伤的修复;④放疗可使药物从受损的细胞中释放出来,因而强化了基因治疗的“旁观者效应”。

唐瑶云等^[9]研究发现,胞嘧啶脱氨酶-尿嘧啶磷酸核糖基转移酶融合基因/5-氟胞嘧啶自杀基因前体药物系统联合 γ 射线,对鼻咽癌CNE-2细胞具有杀伤作用和协同治疗效应。Chen等^[10]在乏氧恶性胶质瘤体外实验中发现,胞嘧啶脱氨酶基因/5-氟胞嘧啶酶药物前体疗法可以诱导“旁观者效应”,并能提高乏氧恶性胶质瘤细胞放射敏感性。有文献报道,分别以HSV-TK/丙氧鸟苷、⁶⁰Co γ 射线放射治疗及两者联合治疗人宫颈癌HeLa细胞系和裸鼠宫颈癌移植瘤模型,发现HSV-TK/丙氧鸟苷自杀基因系统具有放射增敏作用,二者联合治疗可作为宫颈癌综合治疗的有效补充方法^[11]。

2.2 抑癌基因治疗联合放疗

抑癌基因中对p53基因和Rb基因研究最多。正常p53基因表达可以抑制肿瘤细胞的增殖,诱导

肿瘤细胞凋亡。人类约60%肿瘤的发生和发展与p53基因变异有关。重组腺病毒p53(recombinant adenovirus-p53, Ad-p53)已开发为新药上市销售(商品名:今又生)。陈传本等^[12]在重组人p53腺病毒注射液结合放射治疗鼻咽癌II期临床试验中发现,Ad-p53配合放疗治疗鼻咽癌具有较好的疗效,临床使用安全,不良反应轻微。有人报道头颈鳞癌患者瘤内注射Ad-p53是安全而有效的,有明显的放射增敏作用^[14]。

Rb基因与肿瘤发生、生长调节密切相关,Rb蛋白是细胞周期G₁→S检查点的重要关卡蛋白,其缺失及其功能的丧失可导致该关卡失控,细胞异常增生。Rb异常者对辐射敏感,而导入正常的Rb基因后辐射敏感性下降。有研究表明,在侵袭性膀胱癌中Rb蛋白表达的缺失可以增加辐射敏感性,可以作为放疗反应的一个独立预测指标^[15]。Bowen等^[16]研究发现,Rb蛋白联合辐射有促前列腺癌细胞凋亡的作用。有报道,用Rb94基因转染头颈部癌^[16]、膀胱癌^[17]和胰腺癌细胞^[18],比Rb基因转染的抑瘤效应更明显,对Rb^{+/+}和Rb^{-/-}肿瘤的治疗均有显著效果,使Rb94基因治疗肿瘤更具有广泛性和有效性。Rb94蛋白是N端截短的Rb蛋白,不仅具有全长Rb基因的功能,而且因其半衰期长,故比野生型Rb蛋白的抑瘤作用更强。有文献报道,重组腺病毒Rb94基因联合 γ 射线共同作用于乳腺癌细胞,有更强的抑制肿瘤细胞生长的作用^[19]。

2.3 癌基因反义治疗联合放疗

目前已被确认的癌基因有100多种,按功能区分为:①生长因子,②生长因子受体,③ras基因,④信号转导途径上的蛋白激酶,⑤负责调控遗传物质转录的细胞核内的活性蛋白。反义治疗是指与癌基因DNA或mRNA特异互补的核酸(可以是20个碱基左右的反义寡脱氧核苷酸,也可以是不同长度的反义RNA或核酶)在转录或翻译水平封闭癌基因表达,抑制肿瘤细胞的生长。

有文献报道,表皮生长因子受体反义重组腺病毒E5可有效地抑制乳腺癌细胞及在体肿瘤生长,并可提高放射敏感性^[20]。李彦和等^[21]以SD大鼠C6脑胶质瘤为模型,表皮生长因子受体反义RNA治疗联合 γ 刀治疗,结果:相对于两者单一治疗,具有更高的肿瘤生长抑制率及肿瘤细胞凋亡率,动物生存时间显著延长。葡萄糖调节蛋白94(glucose

regulated proteins94, GRP94) 是一种分子伴侣, 研究表明在宫颈癌放射治疗中, GRP94 蛋白高表达可引起放射抵抗, 因此使用特异性小干扰 RNA 转染到宫颈癌细胞内从而降低 GRP94 蛋白表达, 可作为肿瘤反义治疗联合放疗的一种途径^[20]。

3 抗肿瘤血管生成的基因联合放疗

在肿瘤的发生与发展中, 血管生成起着至关重要的作用。肿瘤细胞可以分泌一些促进血管生成的生长因子及(或)表达其受体, 新生血管水平反映了肿瘤的恶性程度。研究表明, 抑制新生血管的生成可以抑制肿瘤细胞的增殖和转移, 因而以基因治疗手段抗肿瘤血管生成的研究也开展起来, 并在许多动物模型上获得了显著的抗肿瘤效果, 研究方向有抑制促血管生成的生长因子及其受体和抗血管生成介质等基因的转移。

内皮抑素作用的直接靶点为新生血管内皮细胞, 其通过有效的抑制肿瘤血管内皮细胞的生长, 抑制肿瘤血管生长、阻滞血液供应, 从而达到抑制肿瘤生长和转移的目的。Shi 等^[21] 将内皮抑素基因克隆入腺病毒相关病毒, 制成重组腺病毒介导的内皮抑素, 注射入肿瘤内发现可抑制血管生成, 造成肿瘤生长延迟; 并且联合放疗对肿瘤增殖的延迟作用相对于单纯放疗更显著。同样, 以裸鼠肝癌为模型, 内皮抑素基因治疗联合放疗的抑瘤作用相对于单一治疗, 具有更强的抑制肿瘤生长的作用^[24]。

4 辐射保护性基因治疗

电离辐射诱导的细胞和组织损伤是由放射化学反应产物及氧化应激产物介导, 辐射诱导的活性氧和氮的种类有过氧化物、氧化亚氮、羟基和过氧化氢。肿瘤患者的放疗常因其临近的正常组织或器官辐射耐受性的限制而无法提高照射剂量, 影响治疗效果。一些基因的表达产物可有效地保护正常组织和器官, 如锰超氧化物歧化酶, 其定位于线粒体膜上, 具有抗氧化和辐射保护作用。有研究将此基因通过脂质体介导或构建成重组腺病毒, 转入肺、食管、口腔、膀胱等组织或器官后再进行照射, 可使局部照射诱导的炎性细胞因子表达显著减少, 降低严重的放射性损伤。Southgate 等^[22] 研究二氧化锰超氧化物歧化酶的过表达与电离辐射的关系表明, 辐射保护基因治疗可以保护造血细胞免受放射性损

害, 并提高了肿瘤靶区的照射剂量。

综上所述, 基因治疗联合放疗是一项正在兴起的肿瘤治疗的新手段, 是传统治疗方式与最新生物治疗技术相结合的产物。虽然目前还主要处于实验研究阶段, 但相信随着生命科学的发展, 其将很快进入临床试验以检验其实用价值。

参 考 文 献

- [1] Keall PJ, lammering G, Lin PS, et al. Tumor control probability predictions for genetic radiotherapy [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2003, 57(1): 255-263.
- [2] Teh BS, Aquilar-Cordova E, Vlachaki MT, et al. Combining radiotherapy with gene therapy (from the bench to the bedside): A novel treatment strategy for prostate cancer [J]. Oncologist, 2002, 7(5): 458-466.
- [3] Jain PT, Gewirtz DA. Sustained enhancement of liposome-mediated gene deliver and gene expression in human breast tumor cells by ionizing radiation [J]. Int J Radiat Biol, 1999, 75(2): 217-223.
- [4] Garnett CT, Palena C, Chakraborty M, et al. Sublethal irradiation of human tumor cells modulates phenotype resulting in enhanced killing by cytotoxic T lymphocytes [J]. Cancer Res, 2004, 64(21): 7985-7994.
- [5] Liao YP, Wang CC, Butterfield LH, et al. Ionizing radiation affects human MART-1 melanoma antigen processing and presentation by dendritic cells [J]. J Immunol, 2004, 173(4): 2462-2469.
- [6] Tsai CH, Hong JH, Hsieh KF, et al. Tetracycline-regulated intratumoral expression of interleukin-3 enhances the efficacy of radiation therapy for murine prostate cancer [J]. Cancer Gene Therapy, 2006, 13(12): 1082-1092.
- [7] Fujita T, Timme TL, Tabata K, et al. Cooperative effects of adenoviral vector-mediated interleukin 12 gene therapy with radiotherapy in a preclinical model of metastatic prostate cancer [J]. Gene Therapy, 2007, 14(3): 227-236.
- [8] Gupta VK, Park JO, Jaskowiak NT, et al. Combined gene therapy and ionizing radiation is a novel approach to treat human esophageal adenocarcinoma [J]. Ann Surg Oncol, 2002, 9(5): 500-504.
- [9] 唐瑶云, 赵素萍, 徐婧, 等. FCU/5-氟胞嘧啶自杀基因前体药物系统联合放射治疗鼻咽癌的实验研究 [J]. 中华病理学杂志, 2006, 35(8): 483-487.
- [10] Chen JK, Hu LJ, Wang D, et al. Cytosine deaminase/5-fluorocytosine exposure induces bystander and radiosensitization effects in hypoxic glioblastoma cells in vitro [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2007, 67(5): 1538-1547.
- [11] 陈道楨, 刘璐, 唐秋莎, 等. HSV-TK/GCV 自杀基因系统联合 γ 射线治疗宫颈癌的实验研究 [J]. 中华放射医学与防护杂志, 2006, 26(1): 39-42.
- [12] 陈传本, 潘建基, 徐鸞英. 重组人 p53 腺病毒注射液结合放射治疗鼻咽癌 II 期临床试验观察 [J]. 中华医学杂志, 2003, 83(23): 2033-2035.
- [13] 张珊文, 肖绍文, 刘长清, 等. 头颈鳞癌基因治疗结合放射治疗

- 的临床研究[J]. 中华肿瘤杂志, 2005, 27(7): 426-428.
- [14] Agerbaek M, Alsner J, Marcussen N, et al. Retinoblastoma protein expression is an independent predictor of both radiation response and survival in muscle-invasive bladder cancer[J]. Br J Cancer, 2003, 89(2): 298-304.
- [15] Bowen C, Birrer M, Gelmann EP. Retinoblastoma protein-mediated apoptosis after gamma-irradiation [J]. J Biol Chem, 2002, 277(47): 44969-44979.
- [16] Li D, Day KV, Yu S, et al. The role of adenovirus mediated retinoblastoma 94 in the treatment of head and neck cancer[J]. Cancer Res, 2002, 62(16): 4637-4644.
- [17] Zhang X, Multani AS, Zhou JH, et al. Adenoviral-mediated retinoblastoma 94 produces rapid telomere erosion, chromosomal crisis, and caspase-dependent apoptosis in bladder cancer and immortalized human urothelial cells but not in normal urothelial cells[J]. Cancer Res, 2003, 63(4): 760-765.
- [18] Roig JM, Molina MA, Cascante A, et al. Adenovirus-mediated retinoblastoma 94 gene transfer induces human pancreatic tumor regression in a mouse xenograft model [J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(4): 1454-1462.
- [19] 赵艳芝, 王芹, 李进, 等. 人 Rb94 基因联合 γ -辐射抑制乳腺癌细胞生长的研究[J]. 中国辐射卫生, 2007, 16(3): 277-279.
- [20] 俞伟, 马林, 戴相昆, 等. EGFR 反义重组腺病毒联合放射线照射乳腺癌的初步实验研究[J]. 中华放射肿瘤学杂志, 2007, 16(2): 136-139.
- [21] 李彦和, 浦佩玉, 徐德生, 等. 表皮生长因子受体反义 RNA 联合 γ -刀治疗大鼠 C6 胶质瘤的实验研究[J]. 中华神经医学杂志, 2007, 6(1): 13-17.
- [22] Kubota H, Suzuki T, Lu J. Increased expression of GRP94 protein is associated with decreased sensitivity to X-rays in cervical cancer cell lines[J]. Int J Radiat Biol, 2005, 81(9): 701-709.
- [23] Shi W, Teschendorf C, Muzyczka N, et al. Gene therapy delivery of endostatin enhances the treatment efficacy of radiation [J]. Radiother Oncol, 2003, 66(1): 1-9.
- [24] Zheng AQ, Song XR, Yu JM, et al. Liposome transfected to plasmid-encoding endostatin gene combined with radiotherapy inhibits liver cancer growth in nude mice [J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(28): 4439-4442.
- [25] Southgate TD, Sheard V, Milsom MD, et al. Radioprotective gene therapy through retroviral expression of manganese superoxide dismutase[J]. J Gene Med, 2006, 8(5): 557-565.

(收稿日期: 2008-01-24)

放射性脑损伤的发病机制及治疗

袁文佳 涂彧 崔凤梅

【摘要】 放射性脑损伤是脑与头颈部恶性肿瘤放射治疗后常见的并发症。近年来随着脑与头颈部肿瘤放射治疗技术的日渐推广, 该病发病率逐年升高, 严重影响了患者的生活质量和生存期, 因而对放射性脑损伤的研究显得较为迫切。本文综述了其发病机制及治疗措施, 为减少放射性脑损伤的发生及采取科学合理的治疗措施提供参考。

【关键词】 脑损伤; 辐射损伤; 临床方案

Study of pathogenesis and therapeutics of radiation-induced brain injury

YUAN Wen-jia, TU Yu, CUI Feng-mei

(Department of Radiation Hygiene, College of Radiation Medicine and Public Health, Soochow University, Suzhou 215123, China)

【Abstract】 Radiation-induced brain injury is a well-described complication of brain and neck cancers radiotherapy. With the increasing use of radiotherapy for brain and neck cancers in recent years, the incidence of radiation-induced brain injury which has influenced the sufferer's living quality and existence period seriously has markedly increased. As a result, the research to the radiation-induced brain injury seems to be more urgently. The article reviewed the mechanism and treatment and wanted to provide a reference for the treatment which reduces incidence of radiation-induced brain injury.

【Key words】 Brain injuries; Radiation injuries; Clinical protocols

作者单位: 215123, 苏州大学放射医学与公共卫生学院放射卫生教研室

通讯作者: 涂彧 (E-mail: tuyu163@163.com)

放射治疗是脑与头颈部恶性肿瘤的一种重要治疗方法, 是达到肿瘤局部控制的必要手段, 有利于提高治愈率。近年来随着直线加速器、光子