

[文章编号] 1007-385X(2003)03-0214-03

以血管内皮生长因子受体 KDR 为靶的肿瘤治疗的研究进展

武 婕^{1,2}综述; 马文丽², 郑文岭¹审阅(1. 广州军区总医院医学实验科, 广州 510010; 2. 第一军医大学分子生物学研究所, 广州 510515)

[摘要] 血管内皮生长因子受体 II(激酶功能区受体, KDR)是介导血管内皮生长因子(VEGF)在肿瘤新生血管形成中发挥功能的主要受体,以 KDR 为靶,通过抑制 VEGF 与 KDR 的相互作用来抑制血管生长从而达到治疗肿瘤目的已经成为肿瘤治疗的新途径。本文从抗 KDR 的单克隆抗体、酪氨酸激酶小分子抑制剂、KDR 的小肽抑制剂、核酸抑制物和导向制剂等几个方面综述了以 KDR 为靶治疗肿瘤的基础和临床现状及研究进展,探讨不同各种方法的优势与不足,以期在临床实施中选择合适的方法进行 KDR 靶向的肿瘤治疗。

[关键词] 血管内皮生长因子受体; 靶向; 肿瘤

[中图分类号] R730.5 **[文献标识码]** A

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种特异性调控内皮细胞的有丝分裂原,在脉管生成、血管形成和血管迁移过程中起重要调节作用,可有效促进人体内新生血管的形成。正常人体组织内,当新生血管生长达到体内正常的生理需求点后,就基本不再形成新血管,只有在一些特殊的生理或病理状态下,如:胎盘发育、伤口愈合和肿瘤患者体内才有新血管的形成^[1]。特别是人体内存在实体瘤时,新生血管的形成非常活跃,新血管可为实体瘤提供所需的营养和排出代谢废物。此时的 VEGF 主要是通过特异性高表达在新生血管内皮细胞表面的受体作用而发挥生物学功能。

血管内皮生长因子受体 II,又称激酶功能区受体(vascular endothelial growth factor II, VEGFR-2/kinase domain receptor, KDR)是介导 VEGF 在肿瘤新生血管形成中发挥功能的主要受体,研究表明阻断 VEGF 与 KDR 的相互作用就能抑制动物体内实体瘤的生长,达到治疗肿瘤、抑制肿瘤生长的目的。因此以 KDR 为靶点进行肿瘤生物治疗的研究逐渐成为当今研究的一个主要方向。

1 抗 KDR 的单克隆抗体

IMC-1C11 是 Imclone system 公司开发研制的一种抗 KDR 的嵌合抗体,能有效地抑制新生血管的形成,并进入 I 期临床治疗结肠癌患者^[2]。噬菌体抗体库是 80 年代建立的一种筛选技术,它可以根据需要建立各种抗体片断库并从中筛选出有结合活性的抗体片断,能有效地降低鼠源性抗体在人体内的免疫交叉反应。c-p1C11 是从单链 scFv 抗体库中筛选到的一种抗 KDR 的嵌合抗体,能特异性地结合可溶性 KDR 和细胞表面 KDR 的胞外区片断,抑制 VEGF 激活 KDR 和 KDR 激酶途径的磷酸化,阻断 VEGF 诱导的人内皮细胞的有丝分裂,为抗体治疗肿瘤和其他相关疾病提供了一定的可能性^[3]。为了提高抗体与 KDR 的亲和力和特异性, Lu

等^[4]在上述实验的基础上又构建了抗 KDR 的双特异性抗体,他们将从 scFv 抗体中筛选到的两条识别 KDR 胞外区不同表位的 scFv 组合在一起,构建的双特异性抗体具备了母本抗体不具备的性质:阻断 VEGF 与 KDR 的相互作用和抑制 VEGF 诱导的受体活化,并且双特异性抗体与 KDR 的亲和力是母本抗体的 1.5 ~ 3 倍,提高了抗体阻断 VEGF 的作用。为了完全避免异源性抗体给人体带来的危害,使抗体更适合于临床治疗, Lu 等^[4]以正常人的 B 淋巴细胞为库源构建了噬菌体抗体库,从中筛选的人 Fab 片断只需达到纳摩尔级就可与 KDR 特异性结合,阻断 VEGF 与 KDR 的(IC₅₀)约为 2 ~ 20 nmol/L,有效抑制 VEGF 诱导的人胚胎脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)的分裂和人白细胞的移动,为人抗 KDR 抗体治疗肿瘤提供了可能性^[5]。

2 酪氨酸激酶的小分子抑制剂

KDR 受体属于酪氨酸激酶型受体家族,有 7 个 IgG 样结构,抑制它的激酶活性就可抑制 KDR 的生物活性。ZD6474 是化学合成的低分子量激酶抑制剂,体外抑制 KDR 活性的 IC₅₀ = 40 nmol/L,选择性地抑制 VEGF 在麻醉大鼠体内刺激高血压发生的信号传导,而对 bFGF 传导的信号传递反应没有明显的抑制作用,不同注射剂量的 ZD6474 在无胸腺小鼠体内对 VEGF 生物活性的发挥有不同程度的抑制,连续注射 5 d(50 mg · kg⁻¹ · d⁻¹)ZD6474 可抑制荷 A549 肿瘤细胞小鼠体内 63% 的新生血管的形成, ZD6474 还可用于口服,口服 ZD6474 能抑制免疫缺陷小鼠体内不同类型肿瘤的生长, ZD6474 还能减缓体积很大的肺癌在动物体内的生长和使前列腺癌萎缩, ZD6474 已进入 I 期临床试验,以每天口服 1 次的形式治疗癌症病人^[6]。SU5416 和 SU6668 都是小分子酪氨酸激酶抑制剂, SU5416 的 I 期临床试验中,虽然 SU5416 会引起如头疼、呕吐、发烧等毒副作用,但在 19 个被观测的病

人中4个病人的肿瘤萎缩或停止生长, SU5416的耐受剂量可达到145 mg/m², 为能否采用以VEGF为靶点进行肿瘤治疗提供一个有效的预测证据^[7]。单独注射SU6668能加快小鼠体内肿瘤血管细胞的凋亡和引起肿瘤体积的减小^[8], 而将SU6668作为血管生产抑制剂与其他制剂联合治疗荷低免疫原性、高转移性4T1乳腺癌的小鼠, 实验表明2种用药联合治疗效果明显优于单独用药, 两者起到了正协同作用, 抗血管生成抑制剂联合其他治疗方法也许将会成为肿瘤治疗的一种新途径^[9]。

3 KDR的小肽抑制剂

噬菌体展示技术在筛选小肽抑制剂方面有着极为广泛的用途。氨基酸序列为“ATWLPPR”的小肽, 是从以随机噬菌体文库为基础而构建的合成文库中筛选的与KDR亲和力更高、特异性更强的小肽分子, 此小肽能完全抑制VEGF与细胞表面KDR的结合, 特异性抑制VEGF刺激的人血管内皮细胞的增殖, 完全阻断VEGF刺激的兔角膜内新生血管的形成, 有望成为肿瘤新生血管的小分子抑制剂^[10]。小肽K237是北京肿瘤研究所从噬菌体12肽库中筛选的与KDR有高亲和力和特异性的小肽, 此小肽不但能抑制VEGF刺激的鸡胚尿囊膜中新生血管的形成, 而且能抑制免疫缺陷型小鼠体内移植的乳腺癌的生长和向肺部的转移^[11], 这些从噬菌体肽库中筛选的小肽或小肽衍生物显示出巨大的抗实体瘤血管生长的潜力。

4 KDR的核酸抑制物

将携带有KDR胞外区cDNA的腺相关病毒转染人膀胱癌细胞EJ细胞系, 将基因重组细胞系EJ细胞皮下注射到BALB/c裸鼠体内, 对肿瘤组织进行免疫组化鉴定, 发现转染有KDR胞外区cDNA的EJ细胞衍生的肿瘤体积明显小于对照, 微血管密度也低于对照, 由于KDR胞外区片断在EJ细胞中得到表达, 并结合了肿瘤组织中部分活性VEGF^[12]。将KDR的反义RNA(antisense oligonucleotide, ASO)注射到荷有人胃癌细胞NUGC-4的裸鼠腹腔内, 每天注射1次, 28d后与空白对照和阴性对照相比, 发现肿瘤在腹膜的扩散程度明显降低, 凋亡细胞数目增多, 瘤组织内微血管密度减少^[13]。说明KDR的反义治疗也不失为一种有效治疗肿瘤的候选策略。

5 KDR为靶的导向制剂

导向制剂是为了解决常规放化疗药物毒副作用大的缺点出现的, 它是将能特异性结合肿瘤组织的靶分子作为先导物质, 与毒素、药物或核素等结合并赋予毒素、药物和核素在体内选择性杀伤肿瘤组织, 而对其他正常组织没有太大损害的特性^[14]。Veenendaal等^[15]将配体VEGF121与毒素GE-LONIN(rGel)融合表达, 表达产物VEGF121/rGel选择性地杀死高表达KDR的内皮细胞, 使移植到小鼠体内的人黑色素瘤(D-375)或人前列腺癌(PC-3)的体积萎缩到原来的16%, 免

疫组化结果表明融合蛋白在小鼠体内特异性地定位于PC-3肿瘤血管部位, 破坏形成的血管并使红细胞外溢。Olson等^[16]分别将VEGF165和VEGF121与白喉毒素融合表达, 融合蛋白都有选择性杀伤增殖内皮细胞的活性, 都能选择性地抑制小鼠体内肿瘤的生长。但是VEGF属于大分子物质, 做为先导分子在体内可能会存在运输能力差, 肿瘤部位聚集的浓度低等缺点^[17], 因此寻找小分子先导物质进行肿瘤的靶向治疗也成为肿瘤研究的一个热点^[18]。

以KDR为靶进行肿瘤的抑制血管治疗比直接以肿瘤细胞为靶的治疗具有: 治疗药物易于到达作用部位; 不会产生像肿瘤细胞的多药耐药性; 广谱性和毒副作用小等优点, 虽然肿瘤部位来源的血管类型不同, 但受VEGF/KDR信号途径的调控这一点是相同的^[19]。因此, 以KDR为靶点抑制新生血管的形成, 或将抑制新生血管形成联合放化疗手段, 将会成为一种很有希望的治愈肿瘤的方法。

[参考文献]

- [1] Reynolds LP, Redmer DA. Expression of the angiogenic factor, basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factors [J]. *J Anim Sci*, 1998, 76: 1671-1681.
- [2] Hunt S. Technology evaluation: IMC-1C11, imclone systems [J]. *Curr Opin Mol Ther*, 2001, 3(4): 418-424.
- [3] Zhu Z, Lu D, Kotanides H, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor induced mitogenesis of human endothelial cells by a chimeric anti-kinase insert domain-containing receptor antibody [J]. *Cancer Lett*, 1999, 136(2): 203-213.
- [4] Lu D, Kotanides H, Jimenez X, et al. Acquired antagonistic activity of a bispecific diabody directed against two different epitopes on vascular endothelial growth factor receptor 2 [J]. *J Immunol Methods*, 1999, 230(1-2): 159-171.
- [5] Lu D, Jimenez X, Zhang H, et al. Selection of high affinity human neutralizing antibodies to VEGFR2 from a large antibody phage display library for antiangiogenesis therapy [J]. *Int J Cancer*, 2002, 97(3): 393-399.
- [6] Wedge SR, Ogilvie DJ, Dukes M, et al. ZD6474 inhibits vascular endothelial growth factor signaling, angiogenesis, and tumor growth following oral administration [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(16): 4645-4655.
- [7] Stopeck A, Sheldon M, Vahedian M, et al. Results of a phase I dose-escalating study of the antiangiogenic agent, SU5416, in patients with advanced malignancies [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(9): 2798-2805.
- [8] Laird AD, Christensen JG, Li G, et al. SU6668 inhibits Flk-1/KDR and PDGFRbeta *in vivo*, resulting in rapid apoptosis of tumor vasculature and tumor regression in mice [J]. *FASEB J*, 2002, 16(7): 681-690.
- [9] Huang X, Wong MK, Yi H, et al. Combined therapy of local and metastatic 4T1 breast tumor in mice using SU6668, an inhibitor of angiogenic receptor tyrosine kinases, and the immunostimulator B7. 2-IgG fusion protein [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(20): 5727-5735.

[文章编号] 1007-385X(2003)03-0216-03

卵巢癌的自杀基因治疗

贾雪梅 综述; 王淑玉 审阅 (南京医科大学第一附属医院妇产科, 南京 210029)

[摘要] 卵巢癌自杀基因治疗多采用 HSV-tk-GCV 系统和 CD-5-FC 系统。通过自杀基因的表达产物将无毒性的药物转化为有毒性的药物及旁观者效应杀死肿瘤细胞。尽管目前还存在转染效率、靶向性等问题有待改进,但随着自杀基因的不断完善,联合基因、联合细胞因子治疗及联合放疗等策略的采用,自杀基因在卵巢癌治疗上将具有广阔的应用前景。

[关键词] 卵巢癌; 自杀基因; 治疗

[中图分类号] R737.31 [文献标识码] A

卵巢癌在女性生殖系统肿瘤中的发生率占第 3 位,但死亡率却居第 1 位,因其治疗困难,晚期卵巢癌的 5 年存活率始终保持在 30% 左右。近年来肿瘤的基因治疗研究已取得长足进展,自杀基因治疗就是最富有希望的方法之一。

1 概述

自杀基因(suicide genes)疗法又称为前药敏感基因(pro-drug sensitive genes)疗法,是利用转基因的方法,将哺乳动物不含有的药物酶基因转入肿瘤细胞内,该基因表达的产物可以将无毒的药物前体转化为有毒性的药物,影响细胞的 DNA 合成,从而杀死肿瘤细胞。

2 自杀基因的种类

目前已知的自杀基因有:单纯疱疹病毒胸苷激酶基因(herpes simplex virus-thymidine kinase ,HSV-tk),大肠杆菌胞

嘧啶脱氨酶基因(*E. coli* cytosine deaminase,EC-CD),酵母菌胞嘧啶脱氨酶基因(yeast cytosine deaminase,yCD),大肠杆菌黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶基因(glutamine phosphoribosyl transferase, GPT),细胞色素基因 p450 基因等。

在卵巢癌的治疗中研究较多的自杀基因主要是单纯疱疹病毒胸苷激酶基因-丙氧鸟苷(或称为更昔洛韦,羟甲基无环鸟苷)系统(HSV-tk-GCV)和大肠杆菌胞嘧啶脱氨酶基因-5-氟胞嘧啶(CD-5-FC)系统,而后者在卵巢癌治疗中的作用日益得到重视。

3 作用机理、研究现状及应用前景

3.1 HSV-tk-GCV 系统

HSV-tk 能将无毒的药物前体丙氧鸟苷(GCV)转变为细胞毒性药物丙氧鸟苷三磷酸(GCVTP),GCVTP 可进入 DNA 合成途径,作为链的终止剂,干扰细胞分裂时 DNA 的合成,

[10] Bietruy-Tournaire R, Demangel C, Malavaud B, *et al.* Identification of a peptide blocking vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated angiogenesis. *EMBO J*, 2000, 19(7): 1525-1533.

[11] Hetian L, Ping A, Shumei S, *et al.* A Novel peptide isolated from a phage display library inhibits tumor growth and metastasis by blocking the binding of vascular endothelial growth factor to its kinase domain receptor[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(45): 43137-43142.

[12] Zhang Z, Zhang Z, Zeng G, *et al.* Extracellular domain of kinase domain region mediated by adeno-associated virus inhibits growth and angiogenesis of bladder cancer in BALB/c mice[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2002, 115(8): 1209-1212.

[13] Kamiyama M, Ichikawa Y, Ishikawa T, *et al.* VEGF receptor anti-sense therapy inhibits angiogenesis and peritoneal dissemination of human gastric cancer in nude mice[J]. *Cancer Gene Ther*, 2002, 9(2): 197-201.

[14] Barinaga M. Peptide-guided cancer drugs show promise in mice [J]. *Cancer Res*, 1998, 279: 268.

[15] Veenendaal LM, Jin H, Ran S, *et al.* *in vitro* and *in vivo* studies of a VEGF121/rGelolin chimeric fusion toxin targeting the neovascularization of solid tumors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(12): 7866-7871.

[16] Olson TA, Mohanraj D, Rov S, *et al.* Targeting the tumor vasculature: Inhibition of tumor growth by a vascular endothelial growth factor-toxin conjugate[J]. *Int J Cancer*, 1997, 73: 865-870.

[17] Hamby JM, Hollis Showalter HD. Small molecule inhibitor of tumor-promoted angiogenesis, including protein tyrosine kinase inhibitors. *Pharmacol Ther*, 1999, 82: 169.

[18] Nilsson F, Tarli I, Viti F, *et al.* The use of phage display for the development of tumour targeting agents[J]. *Adv Drug Deli Rev*, 2000, 43: 165.

[19] Scappaticci FA. Mechanisms and future directions for angiogenesis-based cancer therapies[J]. *J Clin Oncol*, 2002, 20(18): 3906-3927.

[收稿日期] 2002 - 11 - 25

[修回日期] 2003 - 01 - 15

从而杀伤肿瘤细胞^[1]。HSV-tk 抗肿瘤的另一机制是“旁观者效应”，即不但转染了自杀基因的肿瘤细胞被杀死，其周围大量未被转染的细胞也被杀死^[2]，旁观者效应的意义在于只需少量的肿瘤细胞被转染自杀基因，就会对临近的肿瘤细胞产生广泛的杀伤作用，它明显扩大了自杀基因的杀伤效应。

HSV-tk 首先由 Moolten 等^[3]于 1986 年报告，肿瘤细胞基因修饰后表达 HSV-tk，1990 年报告应用逆转录病毒载体将 HSV-tk 基因导入肿瘤细胞，被转染的肿瘤细胞对 GCV 高度敏感^[4]。1991 年报道，在 BALB/c 小鼠两侧背部皮下分别接种携带和不携带 HSV1-tk 基因小鼠成纤维母细胞，成瘤后给予 GCV 腹腔注射治疗，可使 HSV1-tk 阳性的肿瘤明显缩小甚至消失^[5]。

HSV-tk 介导的自杀基因疗法近年来在卵巢癌的研究中甚为广泛。Behbakht 等^[6]在动物实验中研究发现，卵巢肿瘤细胞很容易被重组腺病毒转染，并且在转染了 Ad. HSV-tk 后对 GCV 敏感；在国内，上海医科大学妇产科医院的徐丛剑等^[7]用 HSV-tk 转导卵巢癌细胞 AO, 3AO，结果表明，在 10 mg/L 丙氧鸟苷作用下，96% 的阳性克隆可在 5 d 内死亡，其他克隆最终也发生完全死亡，提示 HSV-tk 在宿主细胞内有足够的表达活性。

Tong 等^[8]在动物实验中发现，转染了 HSV-tk 的荷瘤小鼠的生存期明显延长，后来他们建立荷人卵巢癌裸鼠腹水瘤模型，比较单用 ADV/HSV-tk 或 GCV (单药组) 或联合应用 ADV/HSV-tk 及 GCV (联合用药组) 发现，联合用药组裸鼠的平均生存时间比单药组至少延长 2 倍，且疗效与用药剂量及裸鼠肿瘤负荷有依赖关系^[9]。徐丛剑等^[10]研究结果显示：HSV-tk-GCV 对 AO 裸鼠网膜移植瘤的抑制率为 46.8%，而 AO/HSV-tk 裸鼠网膜移植瘤经 GCV 治疗后，多数仅残留显微镜下可见的癌灶。姜洁等^[11]用腺病毒载体将 HSV1-tk 转入卵巢癌细胞株 TYK 中，发现 TYK 细胞发生凋亡，故而认为，GCV, ACV 对带有 HSV1-tk 基因的 TYK 细胞有杀伤作用，杀伤的机理可能是细胞凋亡。

Al-hendy 等^[12]观察到，HSV-tk-GCV 具有明显的旁观者效应，转染 1/20 的卵巢癌细胞，可得到 1/3 的杀伤力。Tong 等^[13]研究表明，HSV-tk 系统对卵巢癌细胞除了自杀基因本身的杀伤作用之外，还可以提高肿瘤细胞对化疗的敏感性。

另外，还有一些研究将 HSV-tk-GCV 和某些细胞因子 (如 IL-2, IFN 等) 或其他治疗手段相结合也取得了明显的治疗效果。

3.2 CD-5-FC 系统

CD 基因只在真菌和某些大肠杆菌中存在，编码胞嘧啶脱氨酶，该酶可将胞嘧啶通过脱氨基作用转换成尿嘧啶，使 5-FC 转化为 5-FU。5-FC 是一种治疗真菌感染的药物，而 5-FU 是临床上常用的化疗药，它可抑制细胞 DNA 和 RNA 合成，从而杀死肿瘤细胞。Mullen^[14]将其改造成可在真核细胞中表达的 pCD2 基因后，CD 基因在肿瘤基因治疗中发挥的作用日益成为人们研究的热点。

CD-5-FC 系统也存在与 HSV-tk 相同的旁观者效应，相对

于其他自杀基因来说，CD 基因的旁观者效应在机理上有一点较明确，即 5-FU 可以自由穿过细胞膜，从 CD 阳性细胞传递到 CD 阴性细胞而引起后者死亡。

近年来，以逆转录病毒或腺病毒作为载体介导大肠杆菌 CD 基因转染肿瘤细胞，合并应用 5-FC 已被广泛应用于各种肿瘤治疗的研究中，如消化道的肝癌，结肠癌，胰腺癌，脑胶质细胞瘤，黑色素瘤，红白血病，乳腺癌，肺腺癌等。其中，某些肿瘤的治疗已经进入临床阶段 (如脑胶质瘤)。CD-5-FC 在卵巢癌中的应用正逐渐引起人们的重视。Xie 等^[15] 研究认为，CD-5-FC 对卵巢癌细胞株具有较好的抑制效果；Peng 等^[16] 研究发现，卵巢癌细胞株 Ovarcar-5 和 Skov-3 经腺病毒载体转染了 CD 基因后对 5-FC 高度敏感，而且 CD-5-FC 可以明显缩小卵巢癌瘤结节。姚远等^[17] 用 CD 基因联合 5-FC 应用观察对卵巢癌裸鼠移植瘤的抑制作用，结果发现，实验组裸鼠肿瘤生长明显受抑制，差异有显著性。

CD-5-FC 系统与其他的自杀基因相比具有一定的优越性，对 5-FU 的抗癌机理的研究表明，5-FU 必须在细胞内代谢为毒性产物才能发挥抗癌作用；5-FU 转变为 5-FdUTP，抑制胸苷酸合成酶，从而影响 DNA 的合成，主要作用于肿瘤细胞的 S 期；5-FU 在细胞内经过转化后也掺入 RNA，干扰蛋白质的合成，故对细胞其他各期都有作用。另外，Kievit 等^[18] 研究表明，酵母菌的 CD 使 5-FC 转化为 5-FU 的能力比大肠杆菌中 CD 的转化能力强 20 倍以上。还有，尿嘧啶磷酸核糖转移酶 (uracil phosphoribosyltransferase, UPRT) 能直接将 5-FU 转换为 5-FUMP，而哺乳动物缺乏该种酶。近来有许多学者将 CD 基因和 UPRT 基因联合应用于肿瘤治疗的研究中发现，CD 基因 + UPRT 基因更能提高细胞对 5-FC 的敏感性^[19]，提示 CD 基因 + UPRT 基因是一个令人瞩目的治疗肿瘤的新方案。因此我们可以预见，CD-5-FC 系统在卵巢肿瘤的治疗上具有广阔的应用前景。

4 发展方向

4.1 双自杀基因治疗

双自杀基因疗法是将两种自杀基因整合在一起，通过载体转导进入肿瘤细胞，使其在肿瘤细胞内表达融合基因产物，然后给予双前体药物治疗，而发挥双功能的杀伤作用。

单自杀基因治疗肿瘤有很多优点，但是各类自杀基因系统治疗肿瘤都存在一定的局限性。HSV-tk-GCV 系统发挥旁观者效应必须依靠肿瘤细胞之间的紧密连接和连接蛋白，而 CD-5-FC 系统引起旁观者效应则不需要细胞之间的紧密连接；再者，HSV-tk-GCV 系统直接杀瘤效果显著，而 CD-5-FC 系统的旁观者效应突出；还有，双自杀基因的产物具有两种酶的活性，因此，双自杀基因疗法可以大大提高抑制肿瘤生长的功效，同时使得前药的用量减半^[20]。目前双自杀基因多为 CD-tk 融合基因。

4.2 自杀基因联合细胞因子基因治疗

近年来许多学者将自杀基因与各种细胞因子基因 (如 IL-2, IL-4, IL-6, IFN- α 及 GM-CSF 基因) 联合应用，研究它们

对肿瘤的杀伤效果,结果认为,自杀基因联合细胞因子基因治疗肿瘤可以通过产生持续的抗肿瘤免疫,或使肿瘤瘤体内或瘤周 CD4, CD8 细胞浸润增加,或使肿瘤细胞提呈抗原能力增强,或直接杀伤肿瘤细胞,减轻瘤负荷,并提高机体对肿瘤的免疫应答,起到抑制肿瘤生长、实验动物生存延长的作用。

4.3 自杀基因联合放疗

自杀基因联合放疗于近几年产生,其中 CD 基因联合放疗对恶性肿瘤的治疗是当今研究的重点之一。自杀基因的产物可以将无毒的药物前体转化为有毒性的药物,影响细胞的 DNA 合成;放疗可以使细胞的遗传物质发生突变,可以干扰遗传物质的修复,而且放疗可以促进基因的转染效率。自杀基因疗法和放疗联合应用可以增强肿瘤细胞对放疗的敏感性,增强对肿瘤细胞的杀伤力。

5 问题与展望

尽管自杀基因治疗肿瘤已取得了较满意的效果,但仍有一些问题有待改进。如:载体问题,目前常用的病毒载体有逆转录病毒和腺病毒,均存在转染效率、感染特异性或表达的稳定性和安全性的问题,还应加强基因治疗的靶向性研究,开发出既安全又高效的载体系统;进一步探讨自杀基因治疗的机理以及与免疫系统相互作用的机制,以达到优化治疗效果的目的,等等。

自杀基因治疗肿瘤已经获得比较满意的效果,在卵巢癌中的应用已有初步的实验研究证实有效,前景令人乐观,它有着传统疗法所不可比拟的优越性。随着自杀基因研究的不断深入,新一代载体的开发和新的自杀基因系统的研究,多种疗法的联合应用,这些都将为治疗晚期卵巢肿瘤,改善患者生存质量,延长生存时间,甚至治愈卵巢肿瘤提供美好的应用前景。

[参考文献]

[1] Furman PA, Mcguirt PV, Keller PM, *et al.* Inhibition of ACV of cell growth and DNA synthesis of cells biochemically transformed with herpes virus genetic information[J]. *Virol*, 1980, 102: 420-430.

[2] Freeman SM, Abbound CN, Whartenby KA, *et al.* The "bystander effect": Tumor regression when a fraction of the tumor mass is genetically modified[J]. *Cancer Res*, 1993, 53: 5274-5283.

[3] Moolten FL. Tumor Chemosensitivity conferred by inserted herpes thymidine kinase genes: Paradigm for a prospective cancer control strategy[J]. *Cancer Res*, 1986, 46: 5276-5281.

[4] Moolten FL, Wells JM, Heyman RA, *et al.* Lymphoma regression induced by ganciclovir in mice bearing a herpes thymidine kinase transgene[J]. *Hum Gene Ther*, 1990, 1: 125-134.

[5] Moolten FL, Wells JM. Curability of tumors bearing herpes thymidine kinase genes transferred by retroviral vectors[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1990, 82(4): 297-300.

[6] Behbakht K, Benjamin I, *et al.* Adenovirus-mediated gene therapy of ovarian cancer in a mouse model[J]. *Am J Obstet Gynecol*,

1996, 175(5): 1260-1265.

- [7] 徐丛剑,徐秀兰,张惜阴,等. 逆转和病毒介导 I 型单纯疱疹病毒胸腺嘧啶核苷激酶基因转导卵巢细胞的研究[J]. *中华妇产科杂志*, 1996, 31(11): 664-666.
- [8] Tong XW, Block A, Chen SH, *et al.* *in vivo* gene therapy of ovarian cancer by adenovirus-mediated thymidine kinase transduction and ganciclovir administration[J]. *Gynecol Oncol*, 1996, 61: 175-179.
- [9] 童晓文,施维,顾美皎,等. 腺病毒介导胸苷激酶基因治疗卵巢癌的动物试验研究[J]. *中华妇产科杂志*, 1997, 32(12): 712-714.
- [10] 徐丛剑,张惜阴,金志军,等. 单纯疱疹病毒胸腺嘧啶核苷激酶基因/羟甲基无环鸟苷系统对人卵巢癌裸鼠网膜移植瘤的作用[J]. *中华妇产科杂志*, 1999, 34(3): 165-167.
- [11] 姜洁,孔北华,江森,等. I 型单纯疱疹病毒胸苷激酶基因转染人卵巢癌细胞株后联合抗肿瘤药物诱导该细胞株凋亡的研究[J]. *中华妇产科杂志*, 2000, 35(12): 736-739.
- [12] Al-hendy A, Auersperg N. Applying the herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir approach to ovarian cancer: An effective *in vitro* drug-sensitization system[J]. *Gynecol Obstet Invest*, 1997, 43(4): 268-275.
- [13] Tong X, Shine DH, Agoulnik I, *et al.* Adenovirus mediated thymidine kinase gene therapy may enhance sensitivity of ovarian cancer cells to chemotherapeutic agents[J]. *Anticancer Res*, 1998, 18(5A): 3421-3426.
- [14] Mullen CA. Transfer of the bacterial gene for cytosine deaminase to mammalian cells confers lethal sensitivity to 5-fluorocytosine: A negative selection system[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 33-37.
- [15] Xie Y, Gilbert JD, Kim JH, *et al.* Efficacy of adenovirus-mediated CD/5-FC and HSV-1thymidine kinase/ganciclovir suicide gene therapies concomitant with p53 gene therapy[J]. *Clin Cancer Res*, 1999, 5: 4224-4232.
- [16] Peng XY, Won JH, Rutherford T, *et al.* The use of the L-plastin promoter for adenovirus-mediated, tumor-specific gene expression in ovarian and bladder cancer cell lines[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(11): 4405-4413.
- [17] 姚远,彭芝兰. 胞嘧啶脱氨酶基因联合 5-氟胞嘧啶对卵巢癌裸鼠移植瘤的抑制作用[J]. *中华妇产科杂志*, 2002, 37(4): 195-197.
- [18] Kievit E, Bershad E, Ng E, *et al.* Superiority of yeast over bacterial cytosine deaminase for enzyme/prodrug gene therapy in colon cancer xenografts[J]. *Cancer Res*, 1999, 59(7): 1417-1421.
- [19] Kanai F, Kawakani T, Hamade, *et al.* Adenovirus-mediated transduction of *E. coli* uracil phosphoribosyltransferase gene sensitizes cancer cells to low concentrations of 5-fluorouracil[J]. *Cancer Res*, 1998, 58(9): 1946-1951.
- [20] Ueckert W, Kammertons T, Haack K, *et al.* Double suicide gene (cytosine deaminase and herpes simplex virus thymidine kinase) but not single gene transfer allows reliable elimination of tumor cells *in vivo* [J]. *Hum Gene Ther*, 1998, 9(6): 855-865.

[收稿日期] 2003-02-17

[修回日期] 2003-04-20