

# 用融合自杀基因“靶向治疗”CEA 阳性肿瘤

许道松<sup>1</sup> 伍新尧<sup>1</sup> 钟女奇<sup>2</sup> 夏云飞<sup>3</sup> 吴凝华<sup>3</sup> 罗超权<sup>1</sup> 郭语彬<sup>1</sup> 黄冰<sup>2</sup>

(中山医科大学 1 生化教研室; 广州, 510089 2 实验动物中心; 3 附属肿瘤防治中心放疗科)

主题词 癌胚抗原; 启动区(遗传学); 基因疗法; 胞苷脱氨酶/遗传学; 胸苷激酶/遗传学

中图分类号 Q 344.13

癌胚抗原(CEA)阳性恶性肿瘤的发病率很高,它包括90%左右的胃肠道恶性肿瘤,70%左右的非小细胞性肺癌和90%左右的乳腺癌,这些肿瘤除部分早期病人可用外科手术治疗外,其余大部分病人的疗效不好,预后很差。CEA在上述肿瘤中都有过度表达,而正常细胞不表达CEA或仅呈低表达。作者将自杀基因大肠杆菌胞嘧啶脱氨酶(CD)基因与1型单纯疱疹病毒胸苷激酶(TK)基因组成融合基因,与CEA启动子构建成真核表达载体并用脂质体导入细胞。结果发现,融合基因只在CEA阳性细胞中表达CD和TK。这些细胞对前体药物丙氧鸟苷(GCV)和5-氟胞嘧啶(5-FU)都很敏感。两者联合使用对这些肿瘤细胞的杀伤能力明显增强,该体系能显著提高放疗对CEA阳性肿瘤细胞的杀伤作用。

## 1 方法

用PCR法从pHSV106, JM109细菌和人白细胞中获得HSV1-tk, E. coli cd基因和人CEA启动子序列,构建成pCEAcD-tk真核表达载体,用脂质体法转染CEA阳性肿瘤细胞株LoVo, HT-29, SGC-7901, GLC-82和CEA阴性细胞株BEL-7402

## 2 结果

### 2.1 转染肿瘤细胞株的CD活性检测结果

LoVo株为2516 nmol·min<sup>-1</sup>·mg<sup>-1</sup>蛋白(活性单位,下同), HT-29株为1603, SGC-7901株为421, GLC-82株为507,而CEA阴性的BEL-7402株的活性则为0。TK活性的检测结果,在LoVo株为238.1(相对活性), HT-29株为149.2, SGC-7901株为84.7, GLC-82株为69.4,而BEL-7402株仅为10.8。

### 2.2 CEA肿瘤细胞存活率

用0.5 μmol/L GCV或100 μmol/L 5-FU加入上述培养细胞中,CEA阳性肿瘤细胞的存活率有不同程度下降,从38%~80%不等。但联合使用上述剂量的GCV和5-FU时,CEA阳性肿瘤细胞的存活率明显下降,比用单个前体药物时下降了2~8倍。而前体药物在CEA阴性细胞中则不表现细胞毒性。

### 2.3 肿瘤细胞对放疗射线的敏感性

用不同剂量的放疗射线照射CD-TK/5-FU+GCV体系作用的细胞,会明显提高其对放疗射线的敏感性,与未加前体药物的相比,提高了10~150倍。

## 3 讨论

CEA阳性肿瘤的发病率高,目前的治疗手段在中晚期病例的疗效很差。分别转染自杀基因HSV1-tk或大肠杆菌cd时,一方面对肿瘤细胞的杀伤力低,另一方面肿瘤细胞会产生耐受性<sup>[1,2]</sup>,因而效果不理想。本体系采用CEA启动子驱动融合自杀基因cd-tk,联合加入前体药物5-FU和GCV,能明显增强对此类肿瘤的杀伤作用,并证明这一体系使肿瘤细胞对放疗的敏感性大幅度提高,而对CEA阴性细胞则几乎无毒副作用。分别使用自杀基因杀伤肿瘤细胞时会有旁观者效应<sup>[3]</sup>,而本文却观察到使用本体系时出现的旁观者效应更加明显,进一步提高了本体系对CEA阳性肿瘤细胞的杀伤力。实现了对CEA阳性肿瘤的“靶向治疗”效果。因此,本体系可望成为CEA阳性肿瘤(包括肺癌,结肠直肠癌,胃癌,胰腺癌,乳腺癌等)的有效治疗手段。

## 参 考 文 献

1 McKnight S L, Gavis E R. Expression of the herpes

- thymidine kinase gene in *Xenopus laevis* oocytes; an assay for the study of deletion mutants constructed *in vitro*. *Nucleic Acids Res*, 1980, 8(24): 5931
- 2 Austin E, Huber B E. A first step in the development of gene therapy for colorectal carcinoma; cloning, sequencing, and expression of *Escherichia coli* cytosine deaminase. *Mol Pharmacol*, 1993, 43(3): 380
- 3 Kianmanesh A R, Perrin H, Panis Y, *et al*. A "distant" bystander effect of suicide gene therapy: regression of nontransduced tumors together with a distant transduced tumor. *Hum Gene Ther*, 1997, 8(15): 1807

(1998-01-05 收稿)

## · 简 讯 ·

### 糖尿病诊治研究新进展

由中华医学会广东内分泌学会与美国礼来公司共同主办的“糖尿病诊治研究新进展专家研讨会”于1997年10月24日在广州举行。省内近百名代表参加了会议。会议由中山医科大学孙逸仙纪念医院程桦教授主持,特邀15届美国糖尿病协会(ADA)主席 Dr. Kathleen L. Wishner 作专题演讲。现提要如下:

1 流行病学 糖尿病(DM)是世界流行性疾病,DM4已成为世界第5位死亡主因,其患病数量现约为1.32亿,估计将迅速增至2010年的2.4亿及2025年的2.99亿!增加的新患者将主要在中国、印支亚大陆及非洲等发展中国家,这将是21世纪全球卫生问题的严重挑战。

2 DM 诊断与分型新标准 ADA 建议把DM进行病因学分型,即分为1型DM、2型DM、特异型及妊娠DM 4种类型。取消IDDM与NIDDM这一医学词语,因它已被混淆和常常导致对病人的分型是基于治疗而不是发病机制;葡萄糖耐量降低(IGT)不作为1种分型,而是DM发展过程中的一个阶段;删除营养不良相关性DM这一分型。诊断标准中建议以空腹血浆葡萄糖(FPG)≥7.0 mmol/L作为DM新的FPG诊断标准,因该FPG值能体现与糖负荷后2 h 11.1 mmol/L具有相当的值,两者均是大、小血管并发症发生危险性增加的很好的分割点。

3 DM 的预防 强调IGT阶段开始强化生活方式及药物干预。现美国正进行一项由NIH负责的多中心参加的DM预防计划(DPP),旨在探讨用二甲双胍及曲格列酮(Troglitazone)对IGT进行干预能否防止其向DM转化。

4 DM 的治疗 长期控制高血糖可减少并发症的发生。新的治疗包括胰岛素增敏剂(曲格列酮)、胰岛素类似物(Lyspro 胰岛素、Humalog)、胰升糖素样多肽(GLP-1)、PKC $\beta$ 抑制剂、 $\beta_3$ -肾上腺受体激动剂、NYP-5抑制剂、Leptin类似物。

胰岛素增敏剂曲格列酮是目前治疗2型DM及胰岛素抵抗较全面的1个药物,它具降糖、降脂、降压、改善胰岛素抵抗而不刺激胰岛素分泌等多种益处。Lyspro 胰岛素比普通胰岛素制剂更能模拟人胰岛素的生理分泌模式,它起效快,能有效地控制餐后高血糖,且低血糖的发生率低;Humalog(NPL)则是鱼精蛋白与Lyspro 配制而成的新型中效制剂。GLP-1可增加内源性胰岛素,减少胰升糖素诱发游离脂肪酸的释放,延缓胃排空,从而降低高血糖,但其作用时间短,故还需研制长效GLP-1类似物。PKC $\beta$ 抑制剂可以预防并发症,因PKC是细胞内基因表达的调整物和信号传递物,高血糖可使PKC激活而引起并发症。 $\beta_3$ -肾上腺受体激动剂可增加能量消耗,NYP-5抑制剂则可抑制食欲,两者均可望用于DM肥胖的治疗。Leptin在肥胖大鼠的治疗中效果显著,但用于人身上则剂量较大,故目前正在研制可用于治疗人类肥胖的Leptin类似物。

(肖海鹏)