

重组人 p53 腺病毒制品治疗原发性肝癌的进展

班永光¹ 综述, 唐 军² 审校

(1. 山东大学山东省医学影像学研究所 山东 济南 250012; 2. 山东省医学影像学研究所 山东 济南 250021)

【摘要】 近几年来, 利用抑癌基因治疗原发性肝癌逐渐成为研究的热点之一, 重组人 p53 腺病毒(rAd-p53)制品治疗原发性肝癌也越来越受到高度关注。本文通过总结近几年这方面的研究进展, 以评价其临床应用价值与发展前景。

【关键词】 重组人 p53 腺病毒; 原发性肝癌

中图分类号: R735.7; R815 文献标识码: A 文章编号: 1006-9011(2006)04-0408-03

The advance in using recombinant human adenovirus p53 preparation for treatment of primary hepatocellular carcinoma BAN Yong-guang, TANG Jun. Shandong University Medical College, Shandong Medical Imaging Research Institute, Jinan 250012, China

【Abstract】 It becomes a study hot spot gradually in recent years using anti-oncogene for treatment of hepatocellular carcinoma (HCC), and it is increasingly highly concerned using rAd-p53 to treat HCC. This article is to evaluate its value of clinical application and to prospect advancement about it.

【Key words】 Recombinant human adenovirus p53; Hepatocellular carcinoma

在我国 HCC 不论是在发病率还是死亡率均高居世界首位, 而现阶段的所有治疗手段都存在这样或那样的缺陷和不足, 重组人 p53 腺病毒(rAd-p53)制品治疗原发性肝癌的研究进展较快, 本文对其最新研究进展作一综述。

1 HCC 的发生发展与 p53 基因的关系

经过 20 多年的研究, p53 基因被普遍认为是“基因卫士”, 估计至少有一半的人类恶性肿瘤与 p53 的基因突变有关^[1]。P53 基因定位于人染色体 17p13.1, 正常(野生型)p53 基因表达产物对细胞的生长分化起负调控作用, 具有抑制肿瘤发生和发展的功能。在肝癌细胞中, P53 基因往往出现突变或等位性缺失, 突变后的 p53 基因失去肿瘤抑制基因的功能, 甚至可能有癌基因的激活作用^[2]。国内外许多学者对于两者之间的关系做了大量的研究。

Bressac 等^[3]于 1990 年就在 DNA、RNA 和蛋白质水平对七个人类 HCC 衍生细胞株进行了研究, 结果发现 6/7 个 p53 异常, 这些 p53 表达的缺失或以不正常形式的表达常常伴随着 HCC 细胞株, 提示 p53 基因可能是肝细胞转化为恶性表型中的重要事件。Hirohashi^[4]也通过实验发现多功能抑癌基因 p53 的失活在 HCC 发生过程中起了重要作用, 很可能直接或间接造就了染色体的不稳定性, 增强了细胞增值和新生血管形成。Kondo 等^[5]用复色荧光原位杂交法发现: 在相当多的 HCC 中 p53 基因是缺失的。P53 基因畸变的多样性又促进了 HCC 的发生。

第一作者简介: 班永光(1979-), 男, 河南省商丘市人, 山东大学医学院影像医学专业在读硕士研究生, 主要从事影像诊断与介入放射学工作

通讯作者: 唐军 山东省医学影像学研究所介入放射室 250021

康光明等^[6]提取了 50 例有乙型肝炎病毒感染史的肝癌患者手术样本中的 DNA, 用聚合酶链式反应(PCR)扩增 5-9 外显子, 作单链构象多态性分析发现 p53 基因突变率超过 26%, 突变主要分布于 5-8 外显子。张国庆等^[7]也应用免疫组化法检测 p53 在 45 例肝癌组织中的表达, 提示抑癌基因 p53 突变与 HCC 的发生密切相关。

2 关于 rad-p53

重组人 p53 腺病毒(rAd-p53)制品是由复制性 5 型腺病毒载体与人 p53 基因重组而成的肿瘤基因治疗制品。p53 的结构和功能已前如述。5 型腺病毒是所有腺病毒类型中对人的致病性最低的一种, 正常情况下对人体不致病。腺病毒携带的 p53 基因普遍存在于人正常细胞中, 重组腺病毒能以不同的效能感染几乎所有的人类细胞, 包括分裂期和静息期的细胞。这些独特的生物学特性使 rad-p53 制品成为一个宽谱抗肿瘤基因产品。进入人体之后, 腺病毒分子就会感染肿瘤靶细胞并把携 p53 治疗基因的腺病毒基因传递给细胞浆和细胞核, 进行 p53 基因的表达和翻译, 从而发挥其抑癌基因的功能^[8]。

3 rad-p53 基因制品治疗 HCC 方面的研究

3.1 p53 基因制品治疗 HCC 的基础研究

体内高表达的 p53 基因通过以下两种可能的机制发挥抑癌作用:

3.1.1 高表达的外源性 p53 蛋白通过多种生物学途径抑制肿瘤细胞的增殖诱导肿瘤细胞的凋亡 Reiser 等^[9]将腺病毒介导的野生型 p53 基因导入肿瘤中, 高表达的外源性 p53 蛋白定位于核内, 且伴有 p21 及 bax 基因的诱导激活, p53 基因的表达抑制了肿瘤细胞的增殖, 同时可诱导肿瘤细胞的凋

亡。此外,还可上调 CD95(Apo-1/Fas)基因的表达,进而通过 Fas 途径促进肿瘤凋亡。赖祥进^[10]将克隆有 wt-p53 基因的 PVDHD 10-3 质粒,通过 Lipofetin 转染肝癌细胞株 BEL7402、BEL7404、HLE、HWH-7 及 SMMC7721,用 MTT 法观察细胞生长情况,发现 Wt-p53 基因能有效地抑制肝癌细胞株 BEL7404、HLE、HWH-7 的生长。

3.1.2 外源性 p53 通过提高肝癌细胞对化疗药物的敏感性发挥其抑癌作用 梁云等^[11]采用 p53 基因型不同的三种人肝癌细胞株 HepG2(部分 wt-p53) Hep3B(p53 - / +) 和 PLC/PRF/5(mt-p53),观察携带 wt-p53 基因的重组腺病毒联合化疗药物争光霉素、丝裂霉素或甲氨蝶呤对肝细胞的杀伤效应,最后发现 wt-p53 基因能提高肝癌细胞对化疗药物的敏感性,wt-p53 基因联合化疗药物治疗可望开辟克服肝癌耐药的新途径。Li 等^[12]也认为 wt-p53 基因转染不仅可诱导肝癌细胞生长抑制,而且增加了 BEL7402/5-Fu 细胞对 5-Fu 的敏感性。此外,杨晓红等^[13]通过实验也发现 wt-p53 基因可能是通过上调肝癌细胞对化疗药物的敏感性发挥其抑癌作用,Fas/Fasl 在 wt-p53 基因逆转肝癌细胞耐药性中具有一定的作用。施明^[14]也发现 BB2102 腺病毒载体转染肝癌细胞后能显著提高 p53 基因突变的 HLE 和 HuH27 细胞的杀伤作用。

3.2 p53 基因制品治疗 HCC 的动物实验研究

动物实验研究的焦点在于以何种途径导入 p53 基因、对化疗药物敏感性的影响以及通过生物学途径抑制肿瘤生长的机制等。

3.2.1 多种基因导入方式的比较 Anderson 等^[15]用携突变型 p53 基因的肝癌细胞株 MCA-RH777 构建同系鼠肝癌模型,经肝动脉给予 rAd-p53 制品,结果肿瘤的生长明显受到抑制,与全身静脉给药相比,提高了肿瘤组织的转基因表达,降低了全身暴露,显示出肝动脉途径传递基因到肿瘤组织的可行性,为进一步研究肝脏肿瘤的 rAd-p53 基因治疗奠定了基础。Choi 等^[16]采用瘤内注射 AdCMD-p53 对 HuH7 细胞荷瘤鼠治疗后,肿瘤生长受到明显抑制。此外,Gerolami 等^[17]报道通过肝动脉灌注给药能增加腺病毒载体介导的基因转移,与直接瘤内注射相比,肝动脉灌注能大大减少载体对正常组织的非特异性转染,增强基因转移的肝癌靶向性。Okimoto 等^[18]对荷瘤鼠行肝动脉注射 AdCMV-Lacz,48h 后又腹腔注射顺铂(3mg/kg),结果发现腺病毒载体基因治疗制品的肝动脉注射较门静脉时基因转染率高,即使与顺铂联合也不会导致肝功受损。

3.2.2 p53 基因制品能提高化疗药物的敏感性 王征旭等^[19]通过研究腺病毒介导人野生型 p53 抑癌基因对肝癌细胞系 HepG2 生物学行为的影响,发现肝癌细胞系 HepG2 导入野生型 p53 基因后,出现细胞凋亡,并对化疗药物顺铂的敏感性增加。Monika 等^[20]也认为由于人体肿瘤细胞中的突变型 p53 的存在,野生型 p53 基因能有效提高喜树碱的细胞毒性。

3.2.3 p53 基因制品通过生物学途径抑制肿瘤的生长 曲波等^[21]采用 PCR-ELISA 法定量检测昆明鼠肝癌组织端粒酶

活性及免疫组化法观察肝癌细胞中 Bcl-2 蛋白的表达情况,结果发现腺病毒介导的 wt-p53 基因能够显著抑制肝癌的生长,明显降低端粒酶的活性表达,下调 Bcl-2 基因蛋白的生长。

3.3 rad-p53 基因制品治疗 HCC 的临床试验研究

rad-p53 制品已在国内外肝癌的基因治疗临床试验中使用,并已取得了确切的疗效^[8]。

官泳松等^[22]采用经皮瘤内注射 rad-p53 联合 TACE 治疗中晚期肝癌 68 例,与同期病情相当的 82 例中晚期 HCC 单独的 TACE 治疗相对照,结果治疗组瘤体明显缩小,有效率为 67.6%,两组间差异有显著性意义($P = 0.02 < 0.05$),术后 3 个月和 6 个月生存率方面治疗组也显著高于对照组($P < 0.01$),说明用 rad-p53 联合 TACE 治疗 HCC 增强了抗癌效果,改善了患者的生存质量。朱志兵等^[23]也于 2004 年用 rad-p53 治疗晚期肝癌 45 例,治疗后 78.95% 的患者病情稳定,症状好转,一般状况改善。Habib 等^[24]用 wt-p53-CMV-Ad 制品治疗 319 例无法手术切除的、携突变型 p53 基因的肝癌患者采用肝动脉灌注给药。结果表明:腺病毒可成功介导 p53 基因在肿瘤细胞中持续表达,并诱导肿瘤细胞凋亡。

利用 rad-p53 基因制品治疗 HCC 的疗效已在基础研究、动物实验研究中得到了验证,虽然现阶段国内外在这方面的临床试验处于早期阶段,但它已经显示出了良好的前景,尤其是 rad-p53 制品与介入治疗、放疗、化疗以及手术等手段相结合的方法越来越成为国内外专家们研究的重点。相信不久的将来,随着研究的不断深入,利用 rad-p53 基因制品治疗原发性肝癌将更加广泛。

参考文献:

- [1] Shiraishi K, Kato S, Han SY, et al. Isolation of Temperature-sensitive p53 mutations from a comprehensive missense mutation library[J]. Biol Chem, 2004, 279: 540 - 546.
- [2] 杨冬华, 房殿春. 消化系统肿瘤诊断与治疗[M]. 北京: 人民出版社, 2002. 297 - 357.
- [3] Bressac B, Galvin KM, Liang TJ, et al. Abnormal structure and expression of p53 gene in human hepatocellular carcinoma[J]. Proc Natl Acad Sci, 1990, 87: 1973 - 1977.
- [4] Hirohashi S. Pathology and molecular mechanisms of multistage human hepatocarcinogenesis[J]. Princess Takamatsu Symp, 1991, 22: 87 - 93.
- [5] Kondo M, Marusawa H, Ueda Y, et al. Diverse p53 gene aberration in hepatocellular carcinoma detected by dual-color fluorescence in situ hybridization[J]. Gastroenterol Hepatol, 2004, 19: 1066 - 1073.
- [6] 康光明, 方志正, Martin V. 肝细胞癌病人中 p53 基因突变状况探讨[J]. 中华实验和临床毒理学杂志, 2001, 15(20): 163 - 165.
- [7] 张国庆, 欧江华, 王振华, 等. 抑癌基因 p53 在中晚期 HCC 中的表达及预后意义[J]. 中华肿瘤临床与康复, 2001, 8(2): 35 - 36.
- [8] Peng ZH. Current status of gene therapy in china: recombinant human Ad-p53 agent for treatment of cancers[J]. Human Gene Therapy, 2005, 9: 1016 - 1027.
- [9] Reister M, Neumann I, Schmiegel W, et al. Induction of cell proliferation arrest and apoptosis in hepatoma cells through adenovirus-mediated

- transfer of p53 gene[J]. *Hepatology*, 2000, 32:771 - 782.
- [10] 赖祥进. 转染野生型 p53 基因对人肝癌细胞生长的抑制作用[J]. *广西医学*, 2005, 27(2):165 - 167.
- [11] 梁云, 陆斌, 李晓冬, 等. 野生型 p53 基因提高肝癌细胞化疗药物敏感性的实验研究[J]. *第二军医大学学报*, 2002, 23(1):24 - 25.
- [12] Li YX, Lin ZB, Tan HR. Wild type p53 increased chemosensitivity of drug-resistant human hepatocellular carcinoma Bel7402/5-FU cells[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25:76 - 82.
- [13] 杨晓红, 唐思洁, 任碧轩, 等. 外源性 p53 基因转染的人肝癌细胞化疗药物敏感性的研究[J]. *免疫学杂志*, 2005, 21(2):148 - 149.
- [14] 施明, 王福生, 刘明旭, 等. 重组腺病毒载体介导的人野生型 p53 基因增强肝癌细胞对化疗药物的敏感性[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2001, 8(2):80 - 83.
- [15] Anderson SC, Johnson DE, Harris MP, et al. p53 gene therapy in a rat model of hepatocellular carcinoma: intra-arterial delivery of a recombinant adenovirus[J]. *Clin Cancer Res*, 1998, 4:1649.
- [16] Choi JY, Park YM, Kim BS, et al. Adenovirus-mediated p53 tumor suppressor gene therapy against subcutaneous HuH7 Hepatoma cell line Nodule of Nude Mice[J]. *J Korean Med Sci*, 1999, 14: 271 - 276.
- [17] Gorolami R, Cardoso J, Bralet MP, et al. Enhanced in vivo adenovirus-mediated gene transfer to rat hepatocarcinomas by selective administration into the hepatic artery[J]. *Gene Therapy*, 1998, 5:896.
- [18] Okimoto T, Yahata H, Itou H, et al. Safety and growth suppressive effect of intra-hepatic arterial injection of AdCMV-p53 combined with CDDP to rat liver metastatic tumors[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2003, 22:399 - 406.
- [19] 王征旭, 何振平, 吴祖泽, 等. 腺病毒介导人 p53 抑癌基因对肝癌细胞系 HepG2 生物学行为的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2002, 25(3):185 - 188.
- [20] Monika W, Christopher LM, Linda CH, et al. p53-mediated regulation of expression of a rabbit liver carboxylesterase confers sensitivity to 7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-piperidino] carbonyloxycamptothecin (CPT-11) [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 304:699.
- [21] 曲波, 潘海乐, 吕志武, 等. 野生型 p53 基因对肝癌组织端粒酶活性及 bcl-2 表达的影响[J]. *世界华人消化杂志*, 2004, 12(10):2461-2463.
- [22] 官泳松, 孙龙, 周翔平, 等. 重组人 p53 腺病毒基因局部注射联合肝动脉化疗栓塞治疗原发性肝癌[J]. *世界华人消化杂志*, 2005, 13(1):125 - 127.
- [23] 朱志兵, 刘积良, 隋捷, 等. 重组人 p53 腺病毒治疗晚期难治性肝癌的临床研究[J]. *中华医药杂志*, 2004, 3(11):11 - 14.
- [24] Habib NA, Hodgson HJ, Lemoine N, et al. A phase I/II study of hepatic artery infusion with wtp53-CMV-Ad in metastatic malignant liver tumours[J]. *Hum Gene Ther*, 1999, 10:2019 - 2034.

(收稿日期:2005 - 12 - 01 修回日期:2005 - 12 - 06)