

双基因联合放射提高脑胶质瘤疗效的研究进展

徐媛媛 蒋昕 杨磊 王洁 刘芬菊

(苏州大学医学部放射医学与防护学院, 江苏省放射医学与防护重点实验室 苏州 215123)

摘要 基因方法治疗脑胶质瘤已成为生物学领域研究的热点, 而双基因结合治疗研究倍受关注。基因-放射联合成为脑胶质瘤治疗的新思路, 它实施放射治疗和基因治疗联合的策略。本工作在综述脑胶质瘤基因治疗研究的基础上, 重点阐述双基因与放射联合的特点及最新研究进展。

关键词 胶质瘤, 放射治疗, 基因治疗, 双基因

中图分类号 R739.41, R730.58

脑胶质瘤是最常见的原发性中枢神经系统恶性肿瘤, 约占成人原发性颅内肿瘤的 50%–60%, 在我国这一比例为 43.5%。Deorah 等^[1]报道, 在所有胶质细胞瘤中占半数的胶质母细胞瘤患者的 1 年生存率约为 30%, 5 年生存率不足 5%。

1 脑胶质瘤常规治疗手段

目前, 脑胶质瘤的基本治疗手段还是手术切除、化疗和放疗。随着分子生物学、免疫生物学、肿瘤免疫学和医学生物工程的发展, 脑胶质瘤还出现了新的疗法如免疫治疗^[2]、分子靶向治疗^[3-5]和热疗^[6]等。

1.1 手术

手术是治疗脑胶质瘤的首选手段。胶质瘤手术的目的包括: “全切”或近全切处理肿瘤占绝大多数, 以获得精确的病理诊断, 消除占位效应, 降低颅内压, 为放疗或化疗等联合治疗创造条件, 减轻患者神经系统的症状和体征。但是由于脑胶质瘤浸润性生长的特点, 理论上手术不可能完全切除肿瘤组织, 生长在脑干等重要部分的肿瘤则很难手术切除。

1.2 化疗

化疗是脑胶质瘤治疗的重要环节, 化疗对进一步杀灭残留的肿瘤细胞具有重要的作用。但是由于血脑屏障 (Blood brain barrier, BBB) 严重影响抗癌药物在脑内转运, 且有相当一部分胶质瘤对抗癌药物有抗药性, 导致胶质瘤的化疗效果不明显。

1.3 放射治疗

术后放疗是最主要的术后辅助治疗手段, 术后早期放射治疗约可提高 5 年生存率 20%^[7]。但是, 该手段对脑瘤的临床治疗效果也不是很满意, 因为大多数脑胶质瘤细胞对射线具有抗性, 加大照射剂量又会增加对周围正常脑组织的辐射损伤。因此, 如何通过有效途径增加胶质瘤细胞的辐射敏感性, 降低放疗中正常脑组织的放射损伤, 提高患者放疗效果和治愈率显得尤为重要。

2 脑胶质瘤的基因治疗

综上所述, 手术、化疗、放疗等常规手段治疗脑胶质瘤均达不到理想的效果, 而且即使是相同病理类型和级别的胶质瘤, 治疗效果也存在个体差异。由于肿瘤内在的生物学特性, 尤其在基因水平上的差异是关键所在, 随着分子生物技术研究的不断深入, 利用基因治疗胶质瘤已成为一种极具前景的手段。在脑胶质瘤的基因治疗中应用较多的方法包括: 细胞周期调节、自杀基因、免疫基因疗法以及抑癌基因和抗血管生成治疗等。

细胞周期调节疗法使用基因药物直接作用肿瘤细胞周期, 抑制细胞分裂, 主要有 p16、c-myc 和 Rb 等; 自杀基因治疗是指将某些病毒或细菌的基因导入靶细胞中, 其表达的酶可催化无毒的药物前体转变为细胞毒性物质, 从而导致携带该基因的受体细胞被杀死, 主要有 HSV1-tK 和 CD/5-FC 系统等; 免疫基因治疗是通过提高机体的特异性抗肿瘤免疫

国家自然科学基金项目 (31270897、30870585)、江苏高校优势学科建设工程项目 (PAPD) 资助

第一作者: 徐媛媛, 女, 1986 年 4 月出生, 2010 年毕业于苏州大学放射医学专业, 现为苏州大学放射生物学专业在读硕士研究生

通讯作者: 刘芬菊, Email: fangsh@suda.edu.cn

收稿日期: 初稿 2012-01-18, 修回 2012-03-23

力杀灭肿瘤细胞,对正常细胞不产生影响,主要的基因有 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IF-}\gamma$ 和 DC 等;抑癌基因是指正常细胞内存在的能抑制细胞转化和肿瘤发生的一类基因群,p53 基因是与人类肿瘤密切相关的抑癌基因;血管生成是肿瘤生长和转移的必要条件,抑制肿瘤血管生成对于肿瘤治疗来说可能是一种非常有效的策略,研究显示下调 VEGF、PDGFR 和 β -FGF 等血管形成相关基因的表达会抑制肿瘤的生长。

3 基因与放射联合治疗脑胶质瘤

3.1 基因与放射联合治疗肿瘤的特点

肿瘤的发生和发展是一个复杂的过程,涉及多种不同因素,针对单一因素的治疗往往难以达到理想的疗效。放射治疗虽然可以治愈部分肿瘤,但对一些肿瘤尤其是一些中晚期肿瘤的疗效并不理想,其放射性损伤的发生率也较高;一些基因虽然本身具有很好的抑瘤作用,但是由于在体内表达过低,达不到很好的治疗效果。

肿瘤细胞的放射敏感性是决定放疗疗效的关键因素之一,选择能够改善肿瘤细胞的辐射抗性、增加肿瘤细胞放射敏感性的基因与放射治疗联合应用,能提高放射治疗的治愈率^[8]。研究发现^[9],细胞放射敏感性的高低与细胞凋亡相关基因、细胞周期调控基因等基因有关,如 p53、Bcl-2、p21、Bax 和 ATM 等,近年来又发现 cx43、Tob1、p73、热休克蛋白基因等一系列基因也与辐射敏感性密切相关。通过提高辐射敏感基因的表达,或使用 siRNA 技术降低辐射抗性基因的表达,均能增加肿瘤细胞的放射敏感性,诱导细胞周期阻滞^[10]、细胞凋亡^[11]、改善细胞缺氧^[12]等,从而达到杀灭肿瘤细胞提高放疗疗效效果。

放射治疗由于辐射的靶向性和可控性,能够实现对象基因表达的时空调控^[13]。电离辐射能诱导目的基因表达,将辐射诱导性基因的调控序列与可经射线诱导表达并对肿瘤具有杀伤作用的基因转入肿瘤细胞,随后进行照射,诱导基因表达,通过射线和基因的双重作用杀伤肿瘤^[14]。目前的研究^[15-17]表明,电离辐射诱导启动子 Egr-1 在射线诱导下游基因表达过程中发挥了重要作用,其能与治疗基因结合(如肿瘤坏死因子 α 基因、凋亡基因和自杀基因等),构成基因-放射治疗体系,使表达产物局限于肿瘤组织以发挥杀伤效应。

故将基因与放射相联合治疗肿瘤具有很大的优势,有望成为探索肿瘤综合治疗的新方法。

3.2 单基因与放射联合治疗脑胶质瘤

回顾以往单基因与放射联合治疗脑胶质瘤的研究,Timiryasova 等^[18]研究发现放射治疗能增强 p53 基因治疗脑胶质瘤的疗效,两者结合能通过促进脑胶质瘤细胞凋亡/坏死以及上调固有免疫防御机制达到抗肿瘤的效应。Hama 等^[19]将腺病毒介导的 p16 基因转染入 p16 空白胶质瘤细胞系中诱导细胞进入 G1 期阻滞,该期对辐射敏感性较高,结果显示转染 p16 基因组比空白组死亡率高,而且是通过减少细胞分裂和促进细胞异常成核机制达到促进胶质瘤细胞死亡的效果。Okada 等^[20]为了研究使用疫苗接种治疗胶质瘤的安全性和可行性,对复发型胶质瘤患者行肉眼肿块切除术后,注射转染了 IL-4 的自体成纤维细胞和照射过的自体胶质瘤细胞混合液;对新诊断为脑胶质瘤的患者在接受手术切除和放射治疗后,注射了 IL-4 转染的成纤维细胞和载有自体肿瘤溶解物的 DC 细胞的混合液,结果表明患者产生了很强的免疫应答,临床和放射治疗效果得到提升。McBride 等^[21]为了探索胸苷激酶自杀基因与放射联合治疗脑胶质瘤的机制,在 13 名切除原位胶质瘤患者体内注入腺病毒介导的胸苷激酶,以激活伐昔洛韦前药,术后一周进行放射治疗,结果显示病人能够很好地耐受治疗,且达到了 12.4 个月的中位生存期和 25% 的 3 年生存率。

3.3 双基因与放射联合治疗脑胶质瘤

多个外源基因同时表达在生物学领域中具有广泛的应用价值,尤其在针对肿瘤等疾病发生发展的各个环节,设计多基因共表达载体的联合基因治疗受到了很大关注。双基因或多基因的构建主要有两种方法:一是将多个携带不同治疗基因的独立载体系统同时转染靶细胞表达多个基因^[22],优点是自主调节各表达载体的比例,但是效率不高,载体的副作用明显;二是在同一载体上实现多基因共表达^[23],与第一种方法相比在同一载体上实现多基因共表达可提高转移及表达效率。

近年来也出现了关于双基因联合放射治疗脑胶质瘤的研究,He 等^[24]研究了 MGMT 基因和脑胶质瘤干细胞(GSC)标志 CD133 因子在胶质瘤辐射治疗的抗性作用,用甲基化聚合酶联反应和免疫组化的方法,检查 59 名脑胶质瘤患者 MGMT 和 CD133 的表达水平,结果表明这些患者 CD133 的表达水平和辐射抵抗有关,有 CD133 表达的患者中位生存期(14 个月)低于无 CD133 表达的患者(35 个月),而且有 MGMT 和 CD133 共同表达的患者经放射治疗后疗效最差(中位生存期 7 个月)。siRNA 干扰

的表达可改善辐射抗性, 提高放射治疗疗效。Gao 等^[25]使用了 siRNA 质粒干扰了 U251 胶质瘤细胞中 STAT3 和 ErbB2 基因的表达, 再将细胞进行 2、4、6 Gy 剂量的照射, 结果发现肿瘤细胞生长得到抑制, 辐射敏感性得到提升且诱导了线粒体依赖的细胞凋亡。Gridley 等^[26]为了研究质粒 DNA 编码的 TNF- α 和 bax 基因共表达联合辐射治疗脑肿瘤的可行性, 首先提高皮下种植脑胶质瘤老鼠的 pGL1-bax 基因表达, 联合辐射治疗, 结果显示该基因表达与凋亡有关, 但并未显著影响肿瘤的生长。当将 pGL1-TNF- α 与 pGL1-bax 共表达联合辐射治疗之后, 结果表明瘤体明显缩小, 而且脾集落, 白细胞, 血小板等计数也有所升高, 故 TNF- α /bax 双基因联合辐射与单基因 bax 联合辐射相比是一种更为有效的方法。

4 问题与展望

处在初步阶段脑胶质瘤基因治疗面临着相当多的问题, 如重组的目的基因整合于染色体上的随机性, 病毒载体应用于人体的安全性, 外源基因表达水平的难以控制, 载体传递方式重复性差等。而多基因共表达也存在表达效率太低和各表达基因会相互干扰, 在表达体系中可能发生基因重排和丢失等缺陷。但是胶质瘤基因治疗亦有许多很好的治疗前景, 比如抑制多重耐药基因的表达, 抑癌基因 p53 的恢复等, RNA 干扰技术也因其具有特殊的基因沉默方式而很快应用于各相关基因的治疗中。

胶质瘤的基因与放射联合治疗虽然起步较晚, 但是在放射治疗基础上, 将基因治疗与其有机结合、相互渗透, 已显示出良好的前景。随着基因治疗实验研究的不断深入和治疗技术的不断完善, 基因与放射联合治疗的安全性和高效性问题必将得到解决, 最终被广泛用于胶质瘤的预防和治疗。

参考文献

- Deorah S, Lynch C F, Sibenaller Z A, *et al.* Trends in brain cancer incidence and survival in the United States: surveillance, epidemiology, and end results program, 1973 to 2001[J]. *Neurosurg Focus*, 2006, **20**(4): E1
- 徐昊, 王占祥. 脑胶质瘤的被动免疫治疗. *中国肿瘤临床*, 2011, **38**(20): 1295-1298
XU Hao, WANG Zhanxiang. Passive immunotherapy for gliomas. *Chinese Journal of Clinical Oncology*, 2011, **38**(20): 1295-1298
- Zhang Y, Chao T, Li R, *et al.* MicroRNA-128 inhibits glioma cells Proliferation by targeting transcription factor E2F3a[J]. *J Mol Med*, 2009, **87**(1): 43-51
- Fan Q W, Cheng C, Knight Z A, *et al.* EGFR signals to mTOR through PKC and independently of Akt in glioma[J]. *Sci Signal*, 2009, **55**(1): 4
- Aguado T, Carracedo A, Julien B, *et al.* Cannabinoids induce glioma stem-like cell differentiation and inhibit gliomagenesis[J]. *J Biol Chem*, 2007, **282**(9): 6854-6862
- 秦丽娟, 谷艳婷, 王银环, 等. 热疗上调细胞间隙连接通讯对胶质瘤侵袭性的影响及其机制. *中国药理学通报*, 2011, **27**(12): 1692-1695
QIN Lijuan, GU Yanting, WANG Yinhuan, *et al.* Influence of hyperthermia up-regulated gap junctional intercellular communication on tumor invasiveness and its mechanism. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2011, **27**(12): 1692-1695
- Kortmann R D. Radiotherapy in low-grade gliomas: pros[J]. *Semin Oncol*, 2003, **30**(6 Suppl 19): 29-33
- Hingorani M, White C L, Agrawal V K, *et al.* Combining Radiation and Cancer Gene Therapy: A Potential Marriage of Physical and Biological Targeting? *Current cancer drug targets*, 2007, **7**(4): 389-409
- 李伟, 江其生. 细胞辐射敏感性相关基因的研究进展. *放射免疫学杂志*, 2009, **22**(2): 131-133
LI Wei, JIANG Qisheng. The research progress of cell radiosensitivity related genes. *Journal of Radioimmunology*, 2009, **22**(2): 131-133
- Henneuin C, Quero L, Favaudon V, *et al.* DNA repair and tumour radiosensitivity: focus on ATM gene. *Bull Cancer*, 2011, **98**(3): 239-46
- 崔滨滨, 刘明, 赵鹏, 等. 重组腺病毒介导的野生型 p53 基因对结直肠癌细胞的放射治疗增敏作用. *中华外科杂志*, 2005, **43**(15): 1002-1005
CUI Binbin, LIU Ming, ZHAO Peng, *et al.* Radiosensitivity on colorectal neoplasms by recombinant adenoviral-mediated wild-type p53 gene. *Chin J Surg*, 2005, **43**(15): 1002-1005
- Mariqnot L, Foley R, Southgate T D, *et al.* Hypoxia response element-driven cytosine deaminase/5-fluorocytosine gene therapy system: a highly effective approach to overcome the dynamics of tumor hypoxia and enhance the radiosensitivity of prostate cancer cells in vitro. *J Gene Med*, 2009, **11**(2): 169-179
- Yang J, Jin G, Liu X, *et al.* Therapeutic effect of pEgr-IL18-B7.2 gene radiotherapy in B16 melanoma-bearing mice. *Hum Gene Ther*, 2007, **18**(4): 323-332

- 14 张春丽, 王荣福. 电离辐射诱导启动子 Egr-1 调控的基因放射治疗. 肿瘤学杂志, 2010, **16**(3): 238-241
ZHANG Chunli, WANG Rongfu. Genetic radiotherapy regulated by ionizing radiation via Egr-1 promoter. Journal of Oncology, 2010, **16**(3): 238-241
- 15 徐小洁, 丁丽华, 王凌雪, 等. 人 Egr-1 启动子的克隆及其在肿瘤细胞中的辐射诱导反应. 细胞与分子免疫学杂志, 2009, **25**(11): 973-975
XU Xiaojie, DING Lihua, WANG Lingxue, *et al.* Construction of human of human Egr-1 promoter and its response to ionizing radiation in tumor cells. Chin J Cell Mol Immunol, 2009, **25**(11): 973-975
- 16 Zaqurovskaya M, Shareef M M, Das A, *et al.* EGR-1 forms a complex with YAP-1 and upregulates Bax expression in irradiated prostate carcinoma cells. Oncogene, 2009, **28**(8): 1121-1131
- 17 郭睿, 李彪. 早期生长反应基因 1 启动子介导肿瘤基因-放疗的研究进展. 国家放射医学核医学杂志, 2010, **34**(4): 206-208, 209
GUO Rui, LI Biao. The progress of tumor gene-radiotherapy induced by Egr-1 promoter. International Journal of Radiation Medicine and Nuclear Medicine, 2010, **34**(4): 206-208, 209
- 18 Timiryasova T M, Gridley D S, Chen B, *et al.* Radiation enhances the anti-tumor effects of vaccinia-P53 gene therapy in glioma. Technol Cancer Res Treat, 2003, **2**(3): 223-235
- 19 Hama S, Matsuura S, Tauchi H, *et al.* p16 gene transfer increases cell killing with abnormal nucleation after ionising radiation in glioma cells. Br J Cancer, 2003, **89**(9): 1802-1811
- 20 Okada H, Lieberman F S, Walter K A, *et al.* Autologous glioma cell vaccine admixed with interleukin-4 gene transfected fibroblasts in the treatment of patients with malignant gliomas. J Transl Med, 2007, **5**: 67
- 21 McBride W H. Integration of adenovirus thymidine kinase suicide-gene therapy with surgery and radiation therapy for malignant glioma. Future Oncol, 2012, **8**(1): 17-20
- 22 Pei Z, Chu L, Zou W, *et al.* An oncolytic adenoviral vector of Smac increases antitumor activity of TRAIL against HCC in human cells and in mice. Hepatology, 2004, **39**(5): 1371-1381
- 23 Ngoi S M, Chien A C, Lee C G. Exploiting internal ribosome entry sites in gene therapy vector design. Curr Gene Ther, 2004, **4**(1): 15-31
- 24 He J, Shan Z, Li L, *et al.* Expression of glioma stem cell marker CD133 and O6-methylguanine-DNA- methyltransferase is associated with resistance to radiotherapy in gliomas. Oncol Rep, 2011, **26**(5): 1305-1313
- 25 Gao L, Li F, Dong B, *et al.* Inhibition of STAT3 and ErbB2 supresses tumor growth, enhances radiosensitivity, and induces mitochondria-dependent apoptosis in glioma cells. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2010, **77**(4): 1223-1231
- 26 Gridley D S, Timiryasova T M, Miller G M, *et al.* Evaluation of TNF-alpha/Bax gene therapy and radiation against C6 glioma xenografts. Technol Cancer Res Treat, 2003, **2**(1): 41-50

The research progress of double gene combined with radiation for improving glioma curative effect

XU Yuanyuan JIANG Xin YANG Lei WANG Jie LIU Fenju

(School of Radiation Medicine and Protection, Medical College of Soochow University,

Jiangsu Provincial Key Laboratory of Radiation Medicine and Protection, Suzhou 215123, China)

ABSTRACT Gene therapy for glioma is becoming more and more popular in the field of biology, and the double gene therapy has attracted much attention. In recent years, the gene-radiation therapy provides a novel possibility for better treatment of glioma, which combine the speciality of both radiation treatment and gene therapy. This review is aimed to summarize the gene therapy of glioma, especially the latest progress of combination of double gene delivery and radiation therapy.

KEYWORDS Glioma, Radiation therapy, Gene therapy, Double gene

CLC R739.41, R730.58