

大肠癌细胞因子基因治疗的研究现状

王艳, 李岩

王艳, 中国医科大学第二临床学院二部消化内科 辽宁省沈阳市 110021
李岩, 中国医科大学第二临床学院消化内科 辽宁省沈阳市 110004
项目负责人: 李岩, 110004, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学第二临床学院消化内科. 02amy@sina.com
电话: 024-24147472
收稿日期: 2003-12-10 接受日期: 2004-05-09

摘要

大肠癌的免疫基因治疗作为手术和放化疗的辅助治疗手段有重要的意义. 选择编码细胞因子或其受体为目的基因导入肿瘤细胞或免疫效应细胞, 在肿瘤局部产生高分泌量的细胞因子, 激活抗肿瘤免疫反应, 使肿瘤的生长受到抑制或坏死消退, 克服了直接给药的严重毒副作用. 将肿瘤特异性转录调控序列(如启动子或增强子)与细胞因子基因连接并转染细胞, 驱动的目的基因, 增强基因治疗的靶向性, 做到有的放矢, 可达到特异性治疗的目的. 常见用于大肠癌基因治疗的细胞因子基因有IFN(干扰素)基因、TNF(肿瘤坏死因子)基因、IL(白介素)基因家族、CSF(集落刺激因子)基因家族、IGFR(胰岛素样生长因子受体)基因等. 将多种基因联合应用, 或细胞因子基因与其他治疗手段相联合可以提高抗肿瘤效应, 减少毒性

王艳, 李岩. 大肠癌细胞因子基因治疗的研究现状. 世界华人消化杂志 2004; 12(6):1445-1450

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1445.asp>

0 引言

大肠癌是常见的恶性肿瘤, 传统的手术、化疗、放疗等治疗方式已取得很大进展, 但均未能使其疗效得到明显的提高, 术后易复发及肝转移, 5 a生存率 < 30%. 近年来, 随着分子生物学及基因工程的发展, 基因治疗已成为肿瘤治疗的研究重点, 其中细胞因子基因治疗因其简单、安全、有效成为大肠癌基因治疗中较为常用的, 且具有临床应用潜力的治疗策略. 选择编码细胞因子或其受体为目的基因, 将其导入肿瘤细胞或免疫效应细胞, 在肿瘤局部产生高分泌量的细胞因子, 可使肿瘤细胞从无、弱免疫原性变为强免疫原性, 从而激活或增强机体的特异性抗肿瘤免疫反应, 使肿瘤的生长受到抑制或坏死消退, 达到抗肿瘤的目的, 克服了以往细胞因子直接给药及反复、多次应用所产生的严重毒副作用等缺点, 并取得了更明显的治疗效果, 有不少已进入临床试验阶段^[1-2]. 本文将就近年来大肠癌细胞因子基因治疗的国内外研究进展做一综述.

细胞因子是指由免疫细胞和非免疫细胞合成和分

泌的一组异质性多态调节因子, 具有广泛的生物学功能, 参与机体的多种生理和病理过程, 在介导机体多种免疫反应, 如肿瘤免疫、自身免疫、移植免疫等过程中发挥重要作用. 细胞因子的作用具有多向性、网络性的特点, 他们不仅可以单独发挥生物学作用, 而且不同的细胞之间还可以相互协同或制约. 细胞因子的抗癌机制可概括为以下几个方面: (1)直接调节肿瘤细胞的生长和分化; (2)对肿瘤细胞的毒性作用; (3)作用于肿瘤的血管和营养系统的关系来影响宿主/肿瘤的关系; (4)激发宿主对肿瘤的免疫反应, 如IL-2可激活LAK细胞; (5)刺激造血功能, 促进骨髓恢复^[3]. 外源性细胞因子已经广泛应用于肿瘤的临床治疗, 但他存在着大量使用后机体产生发热、过敏等毒副反应及由于机体产生相应抗体而降低其效价等不利因素, 使其大量使用受到限制^[4]. 将某些细胞因子(如IL-2、IL-4、IL-1、IL-6、IL-7、IL-12、INF- γ 、TNF- α 、G-CSF、GM-CSF等)的基因转染到肿瘤细胞或免疫细胞(如TIL、LAK细胞及细胞毒淋巴细胞)中, 以提高机体免疫系统对肿瘤细胞的识别和反应能力.

1 目前细胞因子基因治疗主要有以下几种方法:

1.1 细胞因子基因导入免疫效应细胞 将细胞因子基因导入肿瘤浸润淋巴细胞(TILs)或肿瘤特异性杀伤细胞(如LAK, CTL, 巨噬细胞等), 再将这些转基因免疫活性细胞回输入荷瘤宿主, 就能选择性聚集在肿瘤组织中, 产生细胞因子, 提高局部细胞因子水平, 使转基因免疫活性细胞发挥较强的抗肿瘤效应. 从理论上讲, 该方法是目前最为理想的一种过继性细胞免疫治疗方法. 但实践证明, 该方法治疗效果不尽人意, 存在明显的局限性, 主要表现在转基因免疫活性细胞在体内靶向性差, 存活时间短^[5], 目前这种方法很少用于大肠癌基因治疗.

1.2 细胞因子基因直接体内注射 向肌肉、瘤体内或腹腔内直接注射携带细胞因子的质粒或裸基因, 或体内注射携带细胞因子基因的腺病毒或痘苗病毒等. 其中IL-2基因腹腔注射治疗结肠癌肝转移的研究较多, 有的学者将IL-2DNA直接注入荷瘤小鼠腹腔, 结果发现肿瘤体积缩小, 小鼠存活期延长.

1.3 细胞因子基因导入成纤维细胞或树突状细胞 成纤维细胞易于获取和体外培养, 生命周期较长, 适于基因转移, 移植后可在体内长期存活, 且分泌细胞因子稳定, 临床应用安全可靠. Fakharai et al^[6-7]将IL-2基因

转染成纤维细胞导入鼠结肠癌动物模型 CT-26, 24 h 分泌 IL-2 达 100 u, 能明显抑制结肠癌肝转移, 而且这种作用是由细胞毒性 T 淋巴细胞介导的. 树突状细胞 (DC 细胞) 是体内最强的抗原递呈细胞, 具有很强的捕获和加工抗原的能力, 而且含有高水平的 MHC 分子、共刺激分子和黏附分子等. 将细胞因子基因导入 DC 细胞制备成 DC 疫苗诱导抗肿瘤免疫引起人们极大的关注, 近年来国内外的研究也较多^[8-9].

1.4 肿瘤细胞靶向的细胞因子基因治疗 组织特异性基因疗法, 即将肿瘤特异性启动基因与细胞因子基因连接并转染细胞, 这样该系统只在含有必需转录因子的特定肿瘤细胞中表达, 不侵犯正常细胞, 最理想的是将目的基因导入正在分裂的肿瘤细胞, 能准确地杀伤肿瘤细胞, 保护正常组织, 减少毒副作用, 提高靶向性^[10]. 近年来, 找到一种更加灵活、更具广泛意义的方法, 即选用肿瘤特异性的调控元件(启动子或增强子)以驱动目的基因表达于特定的靶细胞. 常用于胃肠道的特异性调控元件是癌胚抗原启动子(pCEA), 此外还有 Vilin、erb-B2 等. 其原理是非肿瘤细胞没有特定的转录激活因子, 因而不能转录出特定的 mRNA, 因此就不能表达出相应的蛋白, 而肿瘤细胞则具有该转录因子活性, 能激活特定蛋白的表达, 其转录激活作用又是通过结构基因上游的调控元件(启动子或增强子序列)而起作用的. 因此, 在正常细胞和肿瘤细胞都被转染的情况下, 当用该调控元件驱动目的基因时, 肿瘤细胞会特异的表达出目的基因的活性, 而正常细胞则不能.

CEA 在 90% 以上的结肠肿瘤中均有表达, 利用 CEA 转录调控序列构建肿瘤特异性调控元件(启动子或增强子)驱动的目的基因, 增强基因治疗的靶向性, 做到有的放矢, 从而大大提高肿瘤基因治疗的疗效, 减少治疗的不利因素. CEA 基因启动子调控的大肠癌的自杀因子基因表达质粒转染大肠癌细胞株, 使大肠癌细胞对前药的敏感性提高了 2 000 倍, 显示了 CEA 启动子基因调控在提高大肠癌基因治疗的特异性上的优越性, 这种靶向性化疗是近年来的研究热点^[11-12]. 该疗法以主动性免疫治疗为基础, 即将细胞因子基因转染入肿瘤细胞中, 制备出免疫原性更强的新型疫苗, 以激发机体产生显著的抗肿瘤免疫功能从而达到治疗肿瘤的目的. Pervin et al^[13]报道用 CEA 抗独特型抗体作为疫苗可产生相应的抗体和激发特异的 T 细胞反应. 1992 年 Kaufman et al^[14]自人大肠癌细胞文库中克隆了编码 CEA cDNA 基因, 制成病毒疫苗接种小鼠, 结果可诱导小鼠产生针对 CEA 的体液和细胞免疫反应. Cao et al^[15-18]克隆了人 CEA 启动子的核心区, CEA 启动子有严格的大肠癌特异性和表达持久性, 活性高于 SV40 启动子.

1.5 细胞因子基因修饰疫苗 研究新型、有效的肿瘤疫苗是近年来肿瘤免疫治疗的热点之一, 将细胞因子基因转导入肿瘤细胞制备成新型肿瘤疫苗是很有前景的课题. 但制备自体肿瘤疫苗既昂贵又费时费力, 而且不

是所有的原发性肿瘤细胞都能增生至足够的数量以用于制备肿瘤疫苗. 一种替代方法是将基因转导的肿瘤细胞系作为疫苗, 患者肿瘤细胞和疫苗细胞系的共同抗原是免疫应答的靶抗原, 肿瘤抗原是由与患者的 MHC 分子相关的 APC 递呈给 T 细胞, 因此, 患者与疫苗之间的 MHC 相容性并非必要. 常规的肿瘤疫苗采用灭活的肿瘤细胞, 目前常采用 X 或 γ 射线照射、⁶⁰Co 照射、反复冻融、丝裂霉素等.

近年来关于肿瘤核酸疫苗的研究较为深入, 所谓核酸疫苗, 就是把外源基因连接到真核质粒表达载体上, 然后将重组的质粒 DNA 直接注射到动物体内, 使外源基因在活体内表达, 产生的抗原激活机体的免疫系统引发免疫反应. 与传统的基因治疗相比, DNA 疫苗制备简便、安全长效, 可组建多价疫苗并可兼做预防和治疗性疫苗. 同时, 由于 DNA 免疫可以打破机体对 CEA 的免疫耐受, 因而可能具有比传统免疫基因治疗更强的肿瘤杀伤作用. 现在, 核酸疫苗免疫技术越来越受到人们的重视, 并被看作是继传统疫苗和基因工程亚单位疫苗之后的第 3 代疫苗. 研究发现人 CEA-DNA 疫苗可以激发 CEA 特异的体液和细胞免疫反应, 表现为可抵抗同源表达 CEA 结肠癌细胞的再接种^[19-20].

John Wayne 癌症研究所用另一种方法制备肿瘤疫苗, 即经过照射的肿瘤细胞与卡介苗(BCG)相结合, 卡介苗具有强烈的全身免疫刺激特性. Intracel 公司的结肠癌疫苗 Oncovax 由自身癌细胞与 BCG 融合而成, 已完成 III 期试验, 目前正在美国申请上市. 美国免疫应答公司把三个肿瘤细胞系和分泌白介素 2(IL-2)的成纤维细胞相结合以增强免疫应答, 用于治疗结肠癌. 另一种增强对肿瘤抗原的免疫应答的方法是把抗原置于病毒中, 采用标准的、高度免疫原性的和容易操作的病毒, 用基因工程方法使他表达特异性肿瘤抗原. Therion 公司还研制了携带癌胚抗原(CEA)的重组病毒用于治疗结肠癌.

目前在实验室研究中已经转染入肿瘤细胞的细胞因子有 IL-2、IL-4、IL-6、B7、IFN- γ 、GM-CSF、IL-12、IL-15、IL-18 等^[21-22]. 其中 IL-15、IL-18 是近年来才开始研究的细胞因子. 据报道, IL-15 转染疫苗可以提高人类 T 细胞对抗原的反应. IL-18 转染疫苗可能通过 CD4⁺ T 细胞和 NK 细胞引起潜在抗癌效应, 并发现此途径不同于 IL-12 和 IFN- γ 的途径. 对细胞因子转染疫苗的众多研究中显示 IL-12 和 IL-2 抑制局部肿瘤形成的作用最强, 而 GM-CSF 是至今为止所评价的 33 个基因产物中效力最强的. (2)增强肿瘤的免疫原性: 通过表达 MHC 分子、转染肿瘤抗原、表达某些肿瘤细胞所缺失的共刺激分子来增强肿瘤的免疫原性. 实验证明通过转染 MHC 分子可以增加 MHC 限制性肿瘤特异性抗原的表达, 从而增加 CD4⁺ T 细胞的活化. 目前研究表明共转染 B7 和 MHC II 基因可以弥补激活途径中须有 B7 参与的要求, 从而相互协同增强免疫原性和抗癌能力. B7 基因导入具有肿瘤抗原的肿瘤细胞后还可以

诱导机体打破肿瘤耐受状态, 获得针对 B7-1 的原发肿瘤的抑制作用. 并且新近研究还发现 INF- γ 可以促使瘤细胞表面 HLA I 类分子的表达显著提高, 且其 HLA I 类分子的专一位点 A2 表达的增强与 HLA I 类分子总体增加一致, 从而为免疫反应中的监测提供了途径. 与肿瘤发生有关的抗原基因的导入也可以增强其免疫原性. 目前研究较多的有 CEA、AFP、MART-1 或 gp100.

(3) 基因产物可以直接杀伤瘤细胞.

2 细胞因子基因治疗的载体系统

基因载体可分为两大类: 病毒载体和非病毒载体. 病毒作为载体是经过改建的、缺失某些结构蛋白的重组体, 即所谓复制缺陷病毒. 常用的有逆转录病毒、腺病毒等, 转染效率高, 可稳定地整合到宿主基因组. 非病毒载体有脂质体、多聚阳离子载体等. 此外, 现在还有很多方法直接导入外源基因, 如 DNA 直接注射法、基因枪、磷酸钙沉淀法等^[23]. 比较而言, 非病毒载体较为安全, 但转染效率较低而且价格昂贵.

3 常见用于大肠癌细胞的细胞因子基因

3.1 IFN(干扰素)基因

IFN 可分为 α 、 β 和 γ . IFN α 、 β 有广谱抗病毒作用, 促进多种细胞 MHC 类分子的表达, 提高巨噬细胞、NK 细胞、CTL 的抗肿瘤作用. IFN- γ 可上调多种细胞 MHC I、II 类分子表达. IFN 可抑制肿瘤细胞增生, 协同 IL-2 增强 LAK 活性, 上调瘤细胞上的 MHC I 类分子表达, 增强瘤细胞对杀伤细胞的敏感性^[24]. Hiroishi et al^[25]联合 CD80 和 IFN- α 基因导入 MC-38 结肠癌细胞, 发现导入 CD80 和 IFN- α 的 MC38 细胞与野生型 MC38(MC38-WT)细胞相比, 细胞毒性明显增强. 并能诱导鼠脾脏产生针对 MC38 的特殊的 CD8⁺CTL 细胞. 体外 MC38-IFN- α 和 MC38-CD80 较 MC38-WT 明显诱导 CD8⁺CTL 增生($P < 0.05 = CD8^+CTL$ 的凋亡下降, 并发挥抗肿瘤效应. Sabaawy et al^[26]用逆转录病毒介导 IFN- α 基因到结肠癌细胞系 COLO201 和 NIH3T3 中, 发现肿瘤细胞的增生和分化都被明显抑制, 且转导 IFN- α 基因的结肠癌细胞对 5-FU 的敏感性增加, 抗药性减低. Qin et al^[27]利用复制缺陷型逆转录病毒载体介导 IFN- β 基因转染接种结肠癌细胞的免疫缺陷小鼠体内, 发现仅有 1% 出现肿瘤生长, 决大多数小鼠的肿瘤细胞完全消退.

3.2 TNF(肿瘤坏死因子)基因

TNF- α 又称为恶质素, TNF- β 又称为淋巴毒素. TNF 在体内、外均能杀死某些肿瘤细胞, 或抑制其增生, 激活免疫细胞攻击肿瘤, 增强 IL-2 依赖的胸腺细胞、T 细胞的增生能力, 促进 IL-2、CSF、IFN- γ 等淋巴因子产生, 干扰肿瘤血液供应. 此外约 50% 的肿瘤本身可产生 TNF, 这种内源性 TNF 可改变肿瘤对外源性 TNF 的敏感性^[28]. Sato et al^[29]用 TNF 基因转导自身肿瘤细胞, 他们从 12 例中胃肠道癌肿瘤渗出液中建立起原代培养肿瘤细胞株, 使用逆转录病毒载体 MFG-TNF 把 TNF 基因转导给肿瘤细胞株, 12

例患者中 10 例 TNF 量在 72 h 内每 10^6 个细胞达 0.3-3.5 KU/L, 另外 2 个转导细胞株至少有 1 个 TNF 基因拷贝. Taniguchi et al^[30]将 TNF 基因转导结肠癌细胞后产生轻、中度抗肿瘤性, 同时静脉给予重组 IL-12(rIL-12)则可见明显的疗效, 甚至使肿瘤消失. Walther et al^[31]将 TNF α 基因转染结肠癌细胞系 LoVo(对外源性 TNF 敏感)和 LS-174T(对外源性 TNF 耐受), 经转导产生 TNF 的癌细胞与亲本细胞相比具有显著的形态学变化, 软琼脂集落形成减少, 裸鼠皮下注射 1×10^6 的转导后表达 TNF 的肿瘤细胞, 其成瘤性减弱, 肿瘤生长缓慢. 结肠癌中 TNF 受体的表达较低. Isobe et al^[32]将 TNF α 受体基因 (TNFR-55 后 TNFR-75 基因) 插入逆转录病毒载体并转染包装细胞系, 产生了高表达 TNFR-55 和 TNFR-75 的高滴度的病毒转染产物, 这两种受体能与 TNF 稳定结合, 使转染的肿瘤细胞更易于被重组的 TNF 杀伤.

3.3 IL(白介素)基因家族

目前已发现和命名的 IL 有 20 种, 其中 IL-2、4、6、7、12、15、18 在抗肿瘤免疫和辅助肿瘤治疗中具有重要作用. 将 IL-2 基因导入小鼠 C-26 结肠癌细胞内, 发现在导入基因 7-10 d 后有 76% 的小鼠其肿瘤完全消退^[33]. Gunji et al^[34]将 IL-2 基因导入小鼠 C-26 结肠细胞内发现能明显增加小鼠的存活率. Mendiratta et al^[35]将重组子 IL-12 基因和 PVP(聚乙烯吡咯烷酮)转染结肠癌细胞 CT26, 并移植裸鼠皮下, 发现瘤体和淋巴结中有 CD4⁺、CD8⁺T 细胞和 NK 细胞, 并表达 MHC I 分子, 以 CD8⁺T 细胞为主的细胞参与了主要的抗肿瘤免疫反应. 50% 的荷瘤鼠转染 IL-12/PVP 后, 肿瘤停止生长, 用野生型的 CT26 细胞再次接种到该鼠身上, 未见肿瘤生长. Mazzolini et al^[36]应用 CT26 结肠癌肝转移裸鼠模型, 导入重组免疫缺陷病毒 IL-12 (ADCMVIL-12), 亦发现以 CD8⁺ 为主的抗肿瘤免疫反应, 肿瘤明显消退. Xiao et al^[37]用逆转录病毒将人 IL-6 cDNA 导入结肠癌 HT-29 细胞, 癌细胞抑制率达 50%, 接种 HT-29/IL-6 细胞的裸鼠瘤体小于对照组, 用病毒上清液治疗, 可抑制肿瘤的生长.

最新命名的 IL-23 是 IL 家族的新成员, Wang et al^[38]将 IL-23 基因转染结肠癌 Colon26 细胞, 分别接种到裸鼠和免疫力正常的鼠, 发现肿瘤的生长明显减弱, 甚至消失. 进一步研究发现 Colon26/IL-23 鼠的脾细胞分泌的 IFN- γ 明显增加, T 细胞性介导的抗肿瘤免疫力增强. Satoh K 将 IL-12 基因导入树突状细胞^[39], 对结肠癌肝转移有明显治疗效果.

3.4 CSF(集落刺激因子)基因家族

包括 G-CSF(粒细胞集落刺激因子), M-CSF(巨噬细胞集落刺激因子), GM-CSF(粒细胞和巨噬细胞集落刺激因子), multi-CSF(多能细胞集落刺激因子, 即 IL-3), EPO(促红细胞生成素), SCF(干细胞生长因子), TPO(血小板生成素). 他们主要促进不同类型血细胞的分化、增生. 在癌症中主要用于防止和对抗放疗和化疗造成的各种血细胞的下降. 近期, 在体外用 GM-CSF 与 IL-4、TNF- α 协同扩增树突状细胞, 富集抗原后作为肿瘤疫苗. GM-CSF 多与其他细胞

因子基因或自杀基因联合应用^[40-41].

3.5 IGFR(胰岛素样生长因子受体)基因 胰岛素样生长因子(IGF)是一类具有胰岛素样生长刺激活性的免疫调节作用的多肽分子,主要是由IGF-I和IGF-II两种相关多肽组成.IGFsRNA存在于多种组织中,在许多肿瘤中表达增高,在结肠癌IGF-II的表达增高.阻断实验表明,异常表达IGF是肿瘤通过自身分泌作用得以不断生长的重要原因之一.因此,通过反义RNA技术封闭肿瘤的IGF表达可以达到抑制肿瘤生长的目的.IGF可促进血管内皮生长因子(VEGF)表达,进而促进肠癌增生,有人利用其反义RNA可抑制或封闭结肠癌细胞ICF-II的合成,从而抑制肿瘤生长^[42-45].

4 联合治疗

由于单一细胞因子基因治疗效果的不确定性,以及大量表达对机体的毒副作用,人们试将多种基因联合应用,或细胞因子基因与其他治疗手段相联合以提高抗肿瘤效应,减少毒性.

4.1 多种细胞因子基因联合 如IL-2+IL-12,IL-12+B7,IL-2+TNF,IL-12+IFN,IL-2+TNF+MHC-I等联合治疗肿瘤的报道较多^[46-48].Lechanteur et al观察了一个鼠结肠癌腹腔广泛转移的动物模型,将转导了IL-12基因和GM-CSF基因的鼠结肠癌细胞DHD/K12细胞腹腔注射后,腹腔肿瘤的数目明显减少,肿瘤的生长受阻,延缓,甚至停滞,小鼠的生存率提高.如果将转染后的DHD/K12细胞照射,则不能表达IL-12和GM-CSF,照射后的DHD/K12细胞腹腔注入,其抗肿瘤性消失.同时发现,转染IL-12基因和GM-CSF基因能唤起其他肿瘤细胞和机体的抗肿瘤免疫反应,这种抗肿瘤的免疫反应是由细胞毒性T淋巴细胞介导的.Stein et al^[49]利用TNF基因联合IL-2基因转导人大肠癌细胞株HCT-15、HCT-16,发现可使大肠癌耐药基因(mdr1基因)的表达明显下降,对化疗药物的敏感性大大提高.

4.2 细胞因子基因与自杀基因联合 自杀基因是编码某些特殊酶的基因,导入肿瘤细胞后可使无毒的前药转变为有活性的毒物,引起靶细胞死亡.将自杀基因与细胞因子基因联合应用,可以取长补短,提高治疗效果.一方面,自杀基因的表达可以直接杀伤一部分肿瘤细胞,消除肿瘤负荷;另一方面,细胞因子基因的表达可以激发机体的抗肿瘤免疫功能^[50-52].IL-2基因与自杀基因联合治疗大肠癌的报道较多,可协同增强抗肿瘤的效应.Chen et al^[53]对小鼠结肠癌肝转移的模型通过重组腺病毒载体分别转导ADV/RSV-M IL-2基因和ADV/RSV-TK基因,然后给予GCV治疗.实验证明分别用IL-2基因,TK基因和两者联合治疗的肿瘤面积分别为120 m²、25 m²和5 m²,并发现抗肿瘤效果的提高与IL-2介导的T细胞免疫增强有关.在此基础上,Chen et al^[54]应用HSV-TK(单纯疱疹病毒腺苷激酶基因)、

IL-2基因和GM-CSF基因联合治疗结肠癌肝转移荷瘤小鼠,结果显示联合自杀基因和两种细胞因子基因治疗优于TK基因和IL-2基因的单药治疗和联合治疗.将IL-12基因与IFN- α 基因分别导入鼠结肠癌细胞MC38,注射给小鼠,发现MC38/IFN- α 的抗肿瘤作用强于MC38/IL-12,同时应用MC38/IFN- α 和MC38/IL-12则效果比单独应用MC38/IFN- α 效果更好,说明IL-12与IFN基因具有协同抗肿瘤作用.Coll et al^[55]利用HSV-TK-GCV方法联合IL-2基因治疗接种了DHDProB结肠癌细胞的BDIX小鼠,结果有60%的小鼠完全治愈.

4.3 与放、化疗联合 Sabaawy et al^[56]将逆转录病毒介导的IFN- α 基因转导入结肠癌细胞株C201中,同时给予5-FU,结果对5-FU的敏感性增加,抗药性减低,疗效提高1.5-2.1倍.细胞因子基因治疗的同时给予化疗药物或进行放疗,亦可起到协同作用.另外,可在细胞因子基因治疗的同时给予外源的重组细胞因子,可减少重组细胞因子的用量及毒副作用.

5 大肠癌基因治疗存在的问题及展望

由于机体的免疫反应是有众多细胞因子参与,经过多种信号识别、传导的复杂应答过程,目前尚难以找到一种或几种细胞因子基因可以全面调动免疫系统并彻底消除肿瘤.其次,细胞因子存在双重性问题,即有些细胞因子不但不能消除肿瘤,而且能促进肿瘤的生长.另外,部分细胞因子本身的作用机制尚还未清楚,故细胞因子基因的治疗实验研究还有很多地方还有待于发展和深入.

目前技术上的困难主要有如何提高基因转导进入肿瘤细胞的效率,如何提高基因转导的靶向性,如何为复杂的目的基因提供容量大且安全、有效、廉价的载体以及载体的制备问题.大肠癌的细胞因子基因治疗在实验室研究和动物实验中观察到了明显的疗效,但在临床应用的有效性、安全性上还需要深入的研究,在基因导入的载体和靶向性上也需要进一步的完善^[57-60].如何使联合基因治疗作到更加稳定、高效、安全,以便进一步应用于临床治疗,还有待于进一步的研究和探讨.此外,如何解决所导入的细胞因子基因对机体的潜在的毒副作用和损伤,避免外源基因对正常细胞的致突变作用及引起自身免疫反应,也有待于进一步深入细致地总结和摸索.

总之,动物实验及实验室研究证实了细胞因子基因疗法对大肠癌的治疗价值,但是实验研究要过度到临床应用尚有不少问题和困难,相信随着对细胞因子及其基因的研究的不断深入,随着关键技术的逐步解决,大肠癌的基因治疗将不断完善,并早日为临床广大患者服务.

6 参考文献

- 1 王中川,傅传刚.大肠癌的生物治疗现状.中国肛肠病杂志

- 2002;22:37-39
- 2 范应芳, 黄宗海. 结直肠癌基因治疗研究进展. 世界华人消化杂志 2001;9:427-430
 - 3 李刚, 燕建树, 张庆林, 田志刚. 脑胶质瘤的细胞因子及细胞因子基因治疗. 国外医学肿瘤学分册 1998;25:119-121
 - 4 周郁, 周仲毅. 肿瘤细胞因子基因治疗的研究现状. 西北国防医学杂志 2001;22:66-67
 - 5 程蓓, 谢幸, 叶大风. 卵巢癌细胞因子基因治疗. 浙江医学 2000;21:699-701
 - 6 Fakhrai H, Shawler DL, Gjerset R, Naviaux RK, Koziol J, Royston I, Sobol RE. Cytokine gene therapy with interleukin-2-transduced fibroblasts: effects of IL-2 dose on anti-tumor immunity. *Hum Gene Ther* 1995;6:591-601
 - 7 Sobol RE, Shawler DL, Carson C, Van Bevern C, Mercola D, Fakhrai H, Garrett MA, Barone R, Goldfarb P, Bartholomew RW, Brostoff S, Carlo DJ, Royston I, Gold DP. Interleukin 2 gene therapy of colorectal carcinoma with autologous irradiated tumor cells and genetically engineered fibroblasts: a Phase I study. *Clin Cancer Res* 1999;5:2359-2365
 - 8 Morse NA, Nair SK, Nosca PJ, Hobeika AC, Clay TN, Deng Y, Boczkowski D, Proia A, Neidzwiecki D, Clavien PA, Hurwitz HI, Schlom J, Gilboa E, Lyster HK. Immunotherapy with autologous human dendritic cells transfected with carcinoembryonic antigen mRNA. *Cancer Invest* 2003;21:341-349
 - 9 Tirapu I, Rodriguez-Calvillo M, Qian C, Duarte M, Smerdou C, Palencia B, Mazzolini G, Prieto J, Melero I. Cytokine gene transfer into dendritic cells for cancer treatment. *Curr Gene Ther* 2002;2:79-89
 - 10 何艳, 苏先狮. 肿瘤疫苗的研究进展. 国外医学肿瘤学分册 2002;29:89-92
 - 11 戴益民. 靶向化疗:基因治疗研究的新热点. 世界华人消化杂志 1999;7:469-472
 - 12 Ueda K, Iwahashi M, Nakamori M, Nakamura M, Matsuura I, Ojima T, Yamaue H. Improvement of carcinoembryonic antigen-specific prodrug gene therapy for experimental colon cancer. *Surgery* 2003;133:309-317
 - 13 Pervin S, Chakraborty M, Bhattacharya-Chatterjee M, Zeytin H, Foon KA, Chatlerjee SK. Induction of antitumor immunity by an anti-idiotypic antibody mimicking carcinoembryonic antigen. *Cancer Res* 1997;57:728-734
 - 14 Kaufman H, Schlom J, Kantor J. A recombinant vaccinia virus expressing human carcinoembryonic antigen(CEA). *Int J Cancer* 1991;48:900-907
 - 15 Cao GW, Qi ZT, Pan X, Zhang XQ, Miao XH, Feng Y, Lu XH, Kuriya S, Du P. Gene therapy for human colorectal carcinoma using human CEA promoter controed bacterial ADP-ribosylating toxin genes human CEA: PEA and DTA gene transfer. *World J Gastroenterol* 1998;4:388-397
 - 16 Cao G, Kuriyama S, Cui L, Nagao S, Pan X, Toyokawa Y, Zhang X, Nishiwaki I, Qi Z. Analysis of the human carcinoembryonic antigen promoter core region in colorectal carcinoma-selective cytosine deaminase gene therapy. *Cancer Gene Ther* 1999;6:572-580
 - 17 Cao G, Kuriyama S, Gao J, Kikukawa N, Cui L, Nakatani T, Zhang X, Tsujinoue H, Pan X, Fukui H, Qi Z. Effective and safe gene therapy for colorectal carcinoma using the cytosine deaminase gene directed by the carcinoembryonic antigen promoter. *Gene Therapy* 1999;6:83-90
 - 18 Cao G, Kuriyama S, Gao J, Mitoro A, Cui L, Nakatani T, Zhang X, Kikukawa M, Pan X, Fukui H, Qi Z. Comparison of carcinoembryonic antigen promoter regions isolated from human colorectal carcinoma and normal adjacent mucosa to induce strong tumor-selective gene expression. *Int J Cancer* 1998;78:242-247
 - 19 Konishi F, Maeda H, Yamanishi Y, Hiyama K, Ishioka S, Yamakido M. Transcriptionally targeted in vivo gene therapy for carcinoembryonic antigen-producing adenocarcinoma. *Hiroshima J Med Sci* 1999;48:79-89
 - 20 Conry RM, LoBuglio AF, Loechel F, Moore SE, Sumerel LA, Barlow DL, Curiel DT. A carcinoembryonic antigen polynucleotide vaccine has in vivo antitumor activity. *Gene Ther* 1995;2:59-65
 - 21 宋永胜, 杨威, 张学. 联合应用 hIL-2 和 hGM-CSF 基因疫苗抗肿瘤作用的研究. 中国医科大学学报 2002;31:21-22
 - 22 覃新干, 陆云飞, 林进令, 邱庆明, 曾健. 肿瘤坏死因子基因转导的肿瘤疫苗对小鼠机体免疫的影响. 广西医科大学学报 2003;20:58-61
 - 23 郑天荣, 郑秋红, 林贤东, 谢云青, 龚福生. 基因枪介导重组 hGM-CSF 转移系统的建立及其在人肿瘤细胞中的稳定表达. 中国肿瘤生物治疗杂志 2002;9:203-206
 - 24 吴文溪, 丁强, 沈历宗, 华一兵, 许德华, 刘新垣. IFN- γ 基因转染抗大肠癌细胞的作用机制. 世界华人消化杂志 2003;11:294-297
 - 25 Hiroishi K, Tuting T, Lotze MT. IFN- α -expressing tumor cells enhance generation and promote survival of tumor-specific CTLs. *J Immunol* 2000;164:567-572
 - 26 Sabaawy HM, Ikehara S, Adachi Y, Quan S, Feldman E, Kancharla R, Abraham NG, Ahmed T. Enhancement of 5-fluorouracil cytotoxicity on human colon cancer cells by retrovirus-mediated interferon-alpha gene transfer. *Int J Oncol* 1999;14: 1143-1151
 - 27 Qin XQ, Tao N, Dergay A, Moy P, Fawell S, Davis A, Wilson JM, Barsoum J. Interferon-beta gene therapy inhibits tumor formation and causes regression of established tumors in immune-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:14411-14416
 - 28 Li TT, Li DJ, Tian CF, Liu X. The in-vitro biological characteristics of lung cancer cells infected with recombinant adenovirus expressing hTNF- α . *J Harbin Medical University* 2002;36:186-190
 - 29 Sato Y, Koshita Y, Hirayama M, Matuyama T, Wakimoto H, Hamada H, Nitsu Y. Augmented antitumor effects of killer cells induced by tumor necrosis factor gene-transduced autologous tumor cells from gastrointestinal cancer patients. *Hum Gene Ther* 1996;7:241895-1905
 - 30 Taniguchi F, Yamagishi H, Fujiwara H, Ueda Y, Fuji N, Yoshimura T, Oka T. Systemic administration of rIL-12 synergistically enhances the therapeutic effect of a TNF gene-transduced cancer vaccine. *Gene Ther* 1998;5:1677-1684
 - 31 Walther W, Fichtner I, Uckert W. Retrovirus-mediated gene transfer of tumor necrosis factor alpha into colon carcinoma cells generates a growth inhibition. *Anticancer Res* 1993;13: 1565-1573
 - 32 Isobe K, Fan ZH, Emi N, Nakashima I. Gene transfer of TNF receptor for treatment of cancer by TNF. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;202:1538-1542
 - 33 Stoppacciaro A, Forni G, Colombo MP. Different tumours, transduced with different cytokine genes as G-CSF and IL-2, show inhibition of tumour take through neutrophil activation but differ in T cell functions. *Folia Biol (Praha)* 1994;40:89-99
 - 34 Gunji Y, Tasaki K, Tagawa M, Matsubara H, Takenaga K, Suzuki T, Asano T, Ochiai T, Isono K, Sakiyama S. Inhibition of peritoneal dissemination of murine colon carcinoma cells by administrating retrovirus harboring IL-2 gene. *Cancer Gene Ther* 1998;5:339-343
 - 35 Mendiratta SK, Quezada A, Matar M, Wang J, Hebal HL, Long S, Nordstrom JL, Pericle F. Intratumoral delivery of IL-12 gene by polyvinyl Polymeric vector system to murine renal and colon carcinoma results in potent antitumor immunity. *Gene Therapy* 1999;6:833-839
 - 36 Mazzolini G, Qian C, Narvaiza I, Barajas N, Borrás-Cuesta F, Xie X, Duarte N, Melero I, Prieto J. Adenoviral gene transfer of interleukin 12 into tumors synergizes with adoptive T cell therapy both at the induction and effector level. *Hum Gene Ther* 2000;11:113-125
 - 37 Xiao B, Jing B, Zhang YL, Zhou DY, Zhang WD. Tumor growth inhibition effect of hIL-6 on colon cancer cells transfected with the target gene by retroviral vector. *World J Gastroenterol* 2000;6:89-92
 - 38 Wang YQ, Ugai S, Shimozato O, Yu L, Kawamura K, Yamamoto H, Yamaguchi T, Saisho H, Tagawa M. Induction of systemic immunity by expression of interleukin-23 in murine colon carcinoma cells. *Int J Cancer* 2003;105:820-824
 - 39 Satoh Y, Esche C, Gambotto A, Shurin GV, Yurkovetsky ZR, Robbins PD, Watkins SC, Todo S, Herberman RB, Lotze MT, Shurin MR. Local administration of IL-12-transfected dendritic cells induces antitumor immune responses to colon adenocarcinoma in the liver in mice. *J Exp Ther Oncol* 2002;2: 337-349
 - 40 Lechanteur C, Moutschen M, Princen F, Lopez M, Franzen J, Gielen J, Bours V, Merville MP. Antitumoral vaccination with

- granulocyte-macrophage colony-stimulating factor or interleukin-12-expressing DHD/K12 colon adenocarcinoma cells. *Cancer Gene Ther* 2000;7:676-682
- 41 Hayashi S, Emi N, Yokoyama I, Namii Y, Uchida K, Takagi H. Inhibition of establishment of hepatic metastasis in mice by combination gene therapy using both herpes simplex virus-thymidine kinase and granulocyte macrophage-colony stimulating factor genes in murine colon cancer. *Cancer Gene Ther* 1997;4:339-344
- 42 Hodzic D, Frey B, Marechal D, Scarcez T, Grootedaes M, Winkler R. Cloning of breakpoints in and downstream the IGF2 gene that are associated with overexpression of IGF2 transcripts in colorectal tumours. *Oncogene* 1999;18:4710-4717
- 43 Adachi Y, Lee CT, Coffee K, Yamagata N, Ohm JE, Park KH, Dikov MM, Nadaf SR, Arteaga CL, Carbone DP. Effects of genetic blockade of the insulin-like growth factor receptor in human colon cancer cell lines. *Gastroenterology* 2002;123:1191-1204
- 44 Winkler R, Delacroix L, Bensbaho K, Lambert S, Collette J, Hodzic D. IGF-II in primary human colorectal tumors: peptide level, activated promoters, parental imprinting and gene rearrangement. *Horm Metab Res* 1999;31:148-154
- 45 Lee CT, Park KH, Adachi Y, Seol JY, Yoo CC, Kim YW, Han SK, Shim YS, Coffee K, Dikov MM, Carbone DP. Recombinant adenoviruses expressing dominantnegative insulin-like growth factor-I receptor demonstrate antitumor effects on lung cancer. *Cancer Gene Therapy* 2003;10:57-63
- 46 Lardon F, Snoeck HW, Berneman ZN, Van Tendeloo VF, Nijs G, Lenjou M, Henckaerts E, Boeckxstaens CJ, Vandenabeele P, Kestens LL, Van Bockstaele DR, Vanham GL. Generation of dendritic cells from bone marrow progenitors using GM-CSF, TNF-alpha, and additional cytokines: antagonistic effects of IL-4 and IFN-gamma and selective involvement of TNF-alpha receptor-1. *Immunology* 1997;91:553-559
- 47 Eguchi J, Hiroishi K, Ishii S, Mitamura K. Interferon-alpha and interleukin-12 gene therapy of cancer: interferon-alpha induces tumor-specific immune responses while interleukin-12 stimulates non-specific killing. *Cancer Immunol Immunother* 2003;52:378-386
- 48 Mendiratta SK, Quezada A, Matar M, Thull NM, Bishop JS, Nordstrom JL, Peride F. Combination of interleukin 12 and interferon alpha gene therapy induces a synergistic antitumor response against colon and renal cell carcinoma. *Hum Gene Ther* 2000;11:1851-1862
- 49 Stein U, Walther W, Shoemaker RH. Modulation of *mdr1* expression by cytokines in human colon carcinoma cells: an approach for reversal of multidrug resistance. *Br J Cancer* 1996; 74:1384-1391
- 50 梨成金, 马庆久, 赖大年, 鲁建国, 王小军, 王青, 潘伯荣, 武永忠, 李金茂. CD/5-FC 系统对结肠癌细胞的杀伤作用. *世界华人消化杂志* 2003;11:535-539
- 51 钱伟峰, 宋惠娟, 黄宗海. 大肠癌的自我基因治疗. *腹部外科* 2000; 13:63-65
- 52 郭善禹, 顾琴龙, 朱正纲, 尹浩然, 林含箴. TK 基因 19- 丙氧鸟苷联合 mGM - CSF 基因治疗胃癌. *中华实验外科杂志* 2000;17: 297-299
- 53 Chen SH, Chen XH, Wang YB, Kosai K, Finegold MJ, Rich SS, Woo SL. Combination gene therapy for live metastasis of colon carcinoma *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92: 2277-2280
- 54 Chen SH, Kosai KI, Xu B, Pham-Nguyen K, Contant C, Finegold MJ, Woo SL. Combination suicide and cytokine gene therapy for hepatic metastasis of colon carcinoma: Sustained antitumor immunity prolongs animal survival. *Cancer Research* 1996; 56:3758-3762
- 55 Coll JL, Mesnil M, Lefebvre MF, Lancon A, Favrot MC. Long-term survival of immunocompetent rats with intraperitoneal colon carcinoma tumors using herpes simplex thymidine kinase/ganciclovir and IL-2 treatments. *Gene Ther* 1997;4:1160-1166
- 56 Sabaawy HE, Farley T, Ahmed T, Feldman E, Abraham NG. Synergetic effects of retrovirus IFN-alpha gene transfer and 5-FU on apoptosis of colon cancer cells. *Acta Haematol* 1999; 101:82-88
- 57 Palmer DH, Chen MJ, Kerr DJ. Gene therapy for colorectal cancer. *Br Med Bull* 2002;64:201-225
- 58 Chen MJ, Chung-Faye GA, Searle PF, Young LS, Kerr DJ. Gene therapy for colorectal cancer: therapeutic potential. *BioDrugs* 2001;15:357-367
- 59 Chung-Faye GA, Kerr DJ. ABC of colorectal cancer: Innovative treatment for colon cancer. *BMJ* 2000;321:1397-1399
- 60 王正文, 朱明才, 范维柯. 胃癌的基因治疗研究进展. *国外医学·临床生物化学和检验学分册* 2003;24:93-95

World Journal of Gastroenterology 栏目设置

《World Journal of Gastroenterology, WJG》主要开设以下栏目。(1)文献综述: 基于作者自己研究为主的综述性论文。(2)特色栏目 如食管癌、胃癌、肝癌、病毒性肝炎、中医中药、中西医结合等, 具有我国特色及国际领先水平的原创性研究论文。(3)基础研究 报道学术价值高、实验数据完整、具有原始性和创新性的研究成果。(4)临床研究 报道安全性和有效性的随机、双盲双模拟、多中心平行对照临床试验的临床研究论文。(5)研究快报 报道具有原始性和创新性的阶段性成果。(6)病例报告: 报道对临床工作者有指导意义的个案。