

·述 评 Comment·

肝癌介入治疗中应用 p53 的几个要点

官泳松, 贺 庆

【摘要】 重组人 p53 腺病毒注射液(recombinant human adenovirus p53, Ad-p53)已被用于与多种局部治疗方法联合治疗肿瘤。本文介绍在肝癌介入治疗过程中联合应用 Ad-p53, 应该重点研究两者的机制, 最大限度地发挥它们抗肿瘤的协同作用。提出瘤内注射是首选的基因给药途径, 建议单个肿瘤注射 Ad-p53 的最低用量, 以及注射 Ad-p53 后进行肝癌介入治疗的最佳时机。介绍以 p53 为靶点的治疗方法有好几种理论基础, 有些方法甚至相互对立, 因此在治疗前须先明确要对 p53 进行激活还是抑制。最后提出应用 Ad-p53 治疗晚期恶性肿瘤应慎重选择病例。

【关键词】 重组人 p53 腺病毒注射液; 经导管动脉化疗栓塞; 肝癌; 协同作用

中图分类号: R735.7 文献标识码: A 文章编号: 1008-794X(2008)-11-0761-03

Essentials in clinical application of p53 for tumors intervention-example of liver cancer GUAN Yong-song, HE Qing. State Key Laboratory of Biotherapy, West China Hospital, West China Medical School, Sichuan University, Chengdu 610041, China

【Abstract】 Recombinant human adenovirus p53(Ad-p53)injection has been used for treating tumors in combination with several local therapeutic methods. Taking liver cancer as an example, this article introduces the combination of Ad-p53 in procedures of interventional therapy. Mechanisms of their effects are emphasized to pursue an optimal synergism in killing tumors. Intratumoral injection is suggested as the first choice of Ad-p53 administration with the least recommended dosage for a single tumor. The optimal time for intervention of liver cancer is supposed to be 2 to 5 days after the administration of Ad-p53. There are several theories on the therapeutic method taking p53 as a target, some of them are contradictory; therefore one has to select either activating or inhibiting the p53 pathway beforehand. For advanced malignancies, the selection should be cautious for appropriater cases from the proper candidates. (J Intervent Radiol, 2008, 17: 0761-763)

【Key words】 Recombinant human adenovirus p53 injection; Transcatheter arterial chemoembolization; Live neoplasms Synergism

1 基因结合介入治疗的概念

基因治疗的方法多种多样, 其共同特点是将遗传物质即外源基因导入体细胞进行修饰, 获得治疗效果^[1]。肿瘤基因治疗的方法也有好几种, 如免疫治疗、溶瘤病毒治疗、基因转移等。当把 p53 用于肿瘤时, 所希望得到的治疗效果是诱导肿瘤细胞凋亡^[2]。导入过程可以在体内实现, 也可以在体外进行。治疗的关键是把基因安全地、高效率地转移到特定的靶细胞。

重组人 p53 腺病毒注射液 (recombinant human adenovirus p53, Ad-p53)^[3]的作用是将治疗基因转移

或插入到肿瘤细胞内, 由基因表达大量 P53 蛋白, 然后, p53 基因过表达^[2]产生的 P53 蛋白再通过一系列复杂的机制, 诱导肿瘤细胞停止生长和发生凋亡。大量资料表明, 依赖于 p53 的细胞凋亡, 是决定抗肿瘤治疗效果的一个相关因素^[4]。因此, p53 诱导肿瘤细胞发生凋亡的能力, 应是研究的重点^[5]。

介入治疗有好几种方法, 治疗肝癌使用得最多的是 TACE, 主要是通过化学药物或(和)血管栓塞, 使肿瘤组织受到物理或化学腐蚀、破坏, 或发生缺血坏死^[6]。破坏肿瘤血管, 是冷冻、加热等局部治疗的重要机制, 介入治疗也以局部治疗为主。有些化学治疗药物如顺铂^[7], 导致肿瘤细胞死亡, 造成肿瘤组织坏死, 除了诱导凋亡的作用外, 还有其他因素, 如有丝分裂突变。但化疗药物在介入治疗的各种作用中只占一部分。

作者单位: 610041 四川大学华西医院四川大学生物治疗国家重点实验室

通讯作者: 官泳松

我们应该注意的是：在应用于治疗肿瘤的时候，基因——主要是诱导肿瘤细胞凋亡；介入——主要是导致肿瘤组织坏死。两者机制不同。

体外实验证明，Ad-p53 与 5-氟尿嘧啶(5-Fu)联合使用，可以增强 5-Fu 的细胞毒作用，提高肿瘤细胞对 5-Fu 的化学敏感性^[8]。当用于无 p53 功能的胰腺癌细胞时，这种作用非常显著。Ad-p53 与热疗联合使用也有增效作用^[9]。在临床应用中，同样需要研究 Ad-p53 与介入治疗的协同作用。

总之，一种新方法的设计，既要考虑提高抗肿瘤效果，又要考虑减少不良反应。使 P53 蛋白在恶性肿瘤细胞中再表达和再激活，能增加肿瘤对放射线和化学药物等物理、化学治疗方法的敏感性，提高现有标准治疗方法的治疗效果。

2 基因药物 Ad-p53 的特点

“基因药物”不是过去意义上的药物，我们既不应将其作为化学药，也不能把它当成栓塞剂。应重点研究如何使它与介入法取得协同疗效。故有关 p53 的基础知识很重要。

在大多数的人类肿瘤中，p53 抑制肿瘤的功能都受到损害，其原因或是该基因发生了突变，或是与其他蛋白（如鼠双微蛋白 2）发生了反应。正常 p53 功能的丧失会导致癌肿的侵袭性增高，而且肿瘤对放射线和化疗药物的耐受也与表达突变的 P53 蛋白有关。于是，怎样采取新的策略，使人类肿瘤中 p53 的功能得以恢复，在很大程度上受到重视。目前已有两大策略受到较深入的研究，并对抗癌治疗产生了影响：①通过基因治疗重新表达野生型 p53 (wild-type p53, wt-p53)；②寻找能够恢复 wt-p53 功能的小分子物质。

Ad-p53 的安全性很好^[2]。作为单一疗法使肿瘤停止生长和逐渐缩小；还被用于治疗有耐药性的肿瘤，或用于提高放疗和化疗的疗效。在正确使用 Ad-p53 的前提下，p53 转基因的表达位于高水平，而且伴随发生 p53 途径其他基因的激活。p53 在肿瘤细胞中过表达，将诱导肿瘤细胞停止生长和发生凋亡。

3 肝癌治疗中 p53 的应用

3.1 充分理解 p53 与肝癌发生发展的关系

肝癌形成过程中，肝细胞的凋亡失调^[9]。当细胞增殖与细胞死亡之间的平衡被打破时，就会产生促肿瘤形成作用。一方面，一些促凋亡基因下调或失

活；另一方面，一些抗凋亡基因过度活跃。在肝癌细胞内，介导细胞存活的某些生长因子上调。充分利用 p53 的促凋亡作用，并选择性地抑制抗凋亡信号，可以明显地提高肝癌的疗效。

3.2 基因治疗的给药途径

首选瘤内注射，其他给药途径有经动脉^[10]、静脉、胆道、腔内等。有条件时可以在治疗过程中监测其表达。与瘤内注射比较，其他途径特别是静脉给药途径可能会影响其疗效，原因包括体液对腺病毒的中和作用^[11]、p53 抗体与 P53 蛋白的反应等。Ad-p53 采用无复制能力的腺病毒作为载体。人体液中存在对腺病毒特异性的中和抗体，这是基因到达靶点的一大障碍，明显影响以腺病毒为载体的基因治疗的疗效。当 p53 基因的表达发生变化，或 p53 基因出现突变时，会造成细胞内 P53 蛋白的浓度变化，于是有更多的 P53 蛋白转移到细胞外液和血液。许多研究证实^[12]，细胞内聚集的突变型 P53 蛋白，甚至大量的野生型 P53 蛋白都可能触发产生 p53 抗体。p53 抗体对表达后的外源 P53 蛋白也可能产生影响。

3.3 Ad-p53 与 TACE 联合治疗

Ad-p53 与 TACE 联合治疗时两者应有时间间隔。我们的方法是先注射 Ad-p53，2 ~ 5 d 后再进行 TACE。这样可以使 Ad-p53 和 TACE 产生较好的协同作用。其机制十分复杂，涉及到 p53 的表达高峰、DNA 的双链断裂后是被修复还是诱导细胞凋亡、由突变的 p53 引起的对野生型 p53 的消耗等。有实验证明，用 Ad-p53 转染人结肠腺癌细胞后，P53 蛋白的表达大约持续 5 d，峰值出现在转染后 48 h，在转染后 72 h 开始下降^[13]。由此可知，注射 Ad-p53 后 2 ~ 5 d 是进行 TACE 的较好时机。

3.4 用量的初步经验

瘤内注射 Ad-p53，每周 1 次，每次使用最小包装 1×10^{12} 病毒颗粒(viral particle, VP)，连续 4 周，部分患者可以得到治疗效果^[3]。根据肿瘤直径估计 Ad-p53 的大约用量见表 1。

表 1 单个肿瘤直接穿刺注射 Ad-p53 的建议最低用量

单个肿瘤直径(cm)	Ad-p53 的最低用量($n \times 10^{12}$ VP)
≤3	1
3~6	2
6~9	3
>9	4

4 P53 蛋白的功能

P53 主要作为转录蛋白，发挥两方面的重要功能^[14]。

4.1 生物学功能

细胞周期阻滞、诱导凋亡和促进分化。

4.2 转录调节功能

人类基因组存在上千个 p53 结合位点。受 p53 调节的基因包括细胞周期调节, 血管生成, DNA 修复、分化, 生长因子, 信号传导和凋亡等基本生命过程的众多基因。这些基因与 p53 之间的关系错综复杂, 大量的研究工作要做。

4.3 以 p53 为靶点的治疗方法

目前这一领域有多种理论, 既有对 p53 进行活化的, 也有对 p53 进行抑制的^[5]。要使体内的 p53 水平升高, 可以通过导入外源的 p53 基因, 也可以通过阻断 p53 与其负调节蛋白即人双微蛋白 2 的结合来实现。还有一个方法就是将突变的 p53 还原为其野生型构象。要抑制 p53 的活性, 既可以通过阻止 p53 介导的基因表达, 也可以通过抑制 p53 在线粒体中的促凋亡反应来实现。构思这些方法的基础是, 活化肿瘤内的 p53 具有细胞毒作用, 而对正常细胞内的 p53 进行抑制则有保护作用。然而激活 p53 也会诱发细胞周期停滞, 保护正常细胞免遭 DNA 损伤, 这就是为什么有许多缺乏 p53 的肿瘤很容易发生 DNA 损伤的缘故。根据这一理论, 人们开发出了细胞周期关卡抑制剂, 以消除 DNA 损伤诱发的细胞周期停滞。要保护正常细胞以免其提前进入有丝分裂, 然后通过关卡抑制剂诱发破坏性的有丝分裂, 摧毁有 p53 缺陷的肿瘤细胞。肿瘤中的 p53 常有缺陷, 要想充分利用这个特点, 必须透彻理解上述两类相互对立的方法, 在治疗前先明确要对 p53 进行激活还是抑制。

5 病例的选择

在介入治疗中联合应用 Ad-p53, 可以选择晚期恶性肿瘤, 但不应在终末期患者身上使用^[15]。我们的经验是预期寿命在 3 个月以上, 这可以采用表格法来进行初步的判断^[16]。不能指望一针见效, 也不可采取孤注一掷的作法^[17], 否则常常事与愿违。

【参考文献】

- [1] Cross D, Burmester JK. Gene therapy for cancer treatment: past, present and future[J]. Clin Med Res, 2006, 4: 218 - 227.
- [2] Roth JA. Adenovirus p53 gene therapy[J]. Expert Opin Biol Ther, 2006, 6: 55 - 61.
- [3] Zhang S, Xu G, Liu C, et al. Clinical study of recombinant adenovirus p53(Adp53) combined with hyperthermia in advanced cancer(a report of 15 cases)[J]. Int J Hyperthermia, 2005, 21: 631 - 636.
- [4] Van Dyke T. p53 and tumor suppression [J]. N Engl J Med, 2007, 356: 79 - 81.
- [5] Levesque AA, Eastman A. p53 based cancer therapies: Is defective p53 the Achilles heel of the tumor[J]? Carcinogenesis, 2007, 28: 13 - 20.
- [6] Shen Y, Liu P, Zhang A, et al. Tumor microvasculature response to alternated cold and heat treatment [J]. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc, 2005, 7: 6797 - 6800.
- [7] Cepeda V, Fuertes MA, Castilla J, et al. Biochemical mechanisms of cisplatin cytotoxicity[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2007, 7: 3 - 18.
- [8] Eisold S, Linnebacher M, Ryschich E, et al. The effect of adenovirus expressing wild type p53 on 5 fluorouracil chemosensitivity is related to p53 status in pancreatic cancer cell lines [J]. World J Gastroenterol, 2004, 10: 3583 - 3589.
- [9] Fabregat I, Roncero C, Fernandez M. Survival and apoptosis: a dysregulated balance in liver cancer[J]. Liver Int, 2007, 27: 155 - 162.
- [10] Atencio IA, Grace M, Borden R, et al. Biological activities of a recombinant adenovirus p53 (SCH 58500) administered by hepatic arterial infusion in a Phase 1 colorectal cancer trial [J]. Cancer Gene Ther, 2006, 13: 169 - 181.
- [11] Pichla-Gollon SL, Drinker M, Zhou X, et al. Structure based identification of a major neutralizing site in an adenovirus hexon [J]. J Virol, 2007, 81: 1680 - 1689.
- [12] Lutz W, Nowakowska-Swirta E. Gene p53 mutations; protein p53, and anti-p53 antibodies as biomarkers of cancer process [J]. Int J Occup Med Environ Health, 2002, 15: 209 - 218.
- [13] Yu ZW, Zhao P, Liu M, et al. Reversal of 5 fluorouracil resistance by adenovirus mediated transfer of wild type p53 gene in multidrug resistant human colon carcinoma LoVo/5 FU cells[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10: 1979 - 1983.
- [14] Balint EE, Vousden KH. Activation and activities of the p53 tumour suppressor protein[J]. Br J Cancer, 2001, 85: 1813 - 1823.
- [15] Vigano A, Dorgan M, Bruera E, et al. The relative accuracy of the clinical estimation of the duration of life for patients with end of life cancer[J]. Cancer, 1999, 86: 170 - 176.
- [16] Vigano A, Bruera E, Jhangri GS, et al. Clinical survival predictors in patients with advanced cancer [J]. Arch Intern Med, 2000, 160: 861 - 868.
- [17] Fried TR, Bradley EH, Towle VR, et al. Understanding the treatment preferences of seriously ill patients[J]. N Engl J Med, 2002, 346: 1061 - 1066.

(收稿日期: 2008-04-02)

作者: 官泳松, 贺庆, GUAN Yong-song, HE Qing
作者单位: 四川大学华西医院四川大学生物治疗国家重点实验室, 610041
刊名: 介入放射学杂志 **ISTIC PKU**
英文刊名: JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY
年, 卷(期): 2008, 17(11)
被引用次数: 0次

参考文献(17条)

1. Cross D, Burmester JK [Gene therapy for cancer treatment: past, present and future](#) 2006
2. Roth JA [Adenovirus p53 gene therapy](#) 2006
3. Zhang S, Xu G, Liu C [Clinical study of recombinant adenovirus p53 \(Adp53\) combined with hyperthermia in advanced cancer \(a report of 15 cases\)](#) 2005
4. Van Dyke T [p53 and tumor suppression](#) 2007
5. Levesque AA, Eastman A [p53 based cancer therapies: Is defective p53 the Achilles heel of the tumor?](#) 2007
6. Shen Y, Liu P, Zhang A [Tumor microvasculature response to alternated cold and heat treatment](#) 2005
7. Cepeda V, Fuertes MA, Castilla J [Biochemical mechanisms of cisplatin cytotoxicity](#) 2007
8. Eisold S, Linnebacher M, Ryschich E [The effect of adenovirus expressing wild type p53 on 5 fluorouracil chemosensitivity is related to p53 status in pancreatic cancer cell lines](#) [期刊论文] - [World Journal of Gastroenterology](#) 2004
9. Fabregat I, Roncero C, Fernandez M [Survival and apoptosis: a dysregulated balance in liver cancer](#) 2007
10. Atencio IA, Grace M, Bordens R [Biological activities of a recombinant adenovirus p53 \(SCH 58500\) administered by hepatic arterial infusion in a Phase I colorectal cancer trial](#) 2006
11. Pichla-Gollon SL, Drinker M, Zhou X [Structure based identification of a major neutralizing site in an adenovirus hexon](#) 2007
12. Lutz W, Nowakowska-Swirta E [Gene p53 mutations, protein p53, and anti-p53 antibodies as biomarkers of cancer process](#) 2002
13. Yu ZW, Zhao P, Liu M [Reversal of 5 fluorouracil resistance by adenovirus mediated transfer of wild type p53 gene in multidrug resistant human colon carcinoma LoVo/5 FU cells](#) [期刊论文] - [World Journal of Gastroenterology](#) 2004
14. Balint EE, Vousden KH [Activation and activities of the p53 tumour suppressor protein](#) 2001
15. Vigano A, Dorgan M, Bruera E [The relative accuracy of the clinical estimation of the duration of life for patients with end of life cancer](#) 1999
16. Vigano A, Bruera E, Jhangri GS [Clinical survival predictors in patients with advanced cancer](#) 2000
17. Fried TR, Bradley EH, ToMe VR [Understanding the treatment preferences of seriously ill patients](#) 2002

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfsxzz200811001.aspx

授权使用: qknfy(qknfy), 授权号: b0491606-20d4-441c-b35c-9df7018058fa

下载时间: 2010年9月20日