

文章编号: 1001-3806(2002)02-0159-02

光敏寡核苷酸介导光动力净化白血病细胞

许川山 余茜* 吴士明 唐建民

(第三军医大学新桥医院激光医学研究中心, 重庆, 400037)

摘要: 如何有效清除造血干细胞移植中残留白血病细胞一直是血液病学中的重要课题之一。目前, 所有药物净化方法收效甚微, 这促使人们寻求新的高效净化策略。试图通过光敏剂修饰反义寡核苷酸介导光动力净化白血病细胞, 以期临床有效净化造血干细胞移植中残留白血病细胞提供新方法。

关键词: 光敏剂; 反义寡核苷酸; 净化; 白血病细胞

中图分类号: TN249; R733.7 文献标识码: A

Leukemia cell purging through photodynamic therapy with oligonucleotide modified by photosensitizer

Xu Chuanshan, Yu Qian*, Wu Shiming, Tang Jianmin

(The Research Centre of Laser Medicine, Xinqiao Hospital, Third Military Medicine University, Chongqing, 400037)

Abstract: It is still an important subject in hematology how to effectively purge leukemia cell in hematopoietic stem cell transplantation. The up-to-date failure of all pharmacological purging attempts has been promoting the development of alternative strategies. A new clinical method to purge leukemia cell through photodynamic therapy with antisense oligonucleotides modified by photosensitizer is provided in the paper.

Key words: photosensitizer; antisense oligonucleotide; purging; leukemia cell

引言

造血干细胞移植是保证大剂量化疗和放疗安全用于治疗白血病、乳腺癌等恶性肿瘤的有效措施。由于供受者之间的 HLA 配型的相合性和年龄等的限制, 白血病患者中能进行异基因造血干细胞移植者不到 10%。在我国, 随着单亲子女家庭的增多, 血缘相近 HLA 配型相合的异基因造血干细胞比例将更低。自体造血干细胞移植 (ASCT) 为不能进行异基因造血干细胞移植 (Allo-SCT) 的病人带来了治愈的机会, 但 ASCT 面临一个严峻问题: 即移植后肿瘤的高复发率, 而移植中残留的微量肿瘤细胞克隆增殖是其复发的主要原因^[1,2]。因此, 有效清除移植中残留的肿瘤细胞已成为当前血液病和肿瘤学家的一个重要研究课题。

多年来, 人们研究了多种净化自体造血干细胞移植物的方法, 但多为探索性的。迄今为止, 未找到一种简便、高效的体外净化方法。

纵观国内外研究现状, 目前, 造血干细胞移植中肿瘤细胞体外净化技术仍然面临两大问题:

1. 现阶段研究较为完善的净化方法效力不高, 不能彻底清除恶性克隆细胞。
2. 缺乏特异性, 对正常细胞有严重毒性作用, 影响造血

功能恢复或造价过高, 难以实施, 因此, 新的有效净化方法有待迅速建立。

光动力疗法 (photodynamic therapy, PDT) 是一种继手术、放疗和化疗而来的第 4 种特殊类型的肿瘤治疗方法。此疗法的基本原理就是利用光敏剂选择性蓄积在恶性肿瘤组织 (或细胞), 在适当波长的光激活下产生一系列光化学和光生物学反应从而导致肿瘤细胞的不可逆损伤。近来, 国内外应用 PDT 体外净化 ASCT 中的肿瘤细胞取得令人振奋的成果。PDT 不仅能有效清除 ASCT 中的肿瘤细胞 (白血病细胞), 而且毒副作用少, 对放疗、化疗不敏感 (耐药) 的肿瘤细胞 (白血病细胞) 同样具有杀灭作用, 具有诱人的应用前景^[3-5]。但当前国内临床上使用的光敏剂均为 HPD, YHPD, PSD-007 (癌光琳), 在国外正式注册作为 PDT 药物的只有 photofrin II (光敏素 II)。photofrin II 与 HPD 相比, 肿瘤光生物活性高、毒副作用小。但是, 不管是 HPD, photofrin II, 还是 YHPD, PSD-007 都不是纯品, 而且组成比例不稳定, 排泄缓慢, 易发生光毒反应, 且对波长大于 630nm 的红光吸收很低, 难与商品化的半导体激光器 (670~850nm) 相匹配, 限制其临床应用^[4-6]。因此, 寻找和研究新型 PDT 药物的工作从未间断。目前, 国内外学者正致力于开发具有化学结构明确、毒副作用少、最低电子跃迁的吸收光谱带向 PDT 更佳波段 (700~900nm) 延伸且便于与半导体激光器光源匹配治疗较深层肿瘤的第 2 代 PDT 药物。已开发的苯并卟啉、内源性卟啉、酞菁等被认为是很有潜力的第 2 代 PDT 药物。研究表明, 对动物肿瘤和人皮肤癌的 PDT 治疗均有较好效果,

* 四川省泸州医学院附属医院康复理疗科。

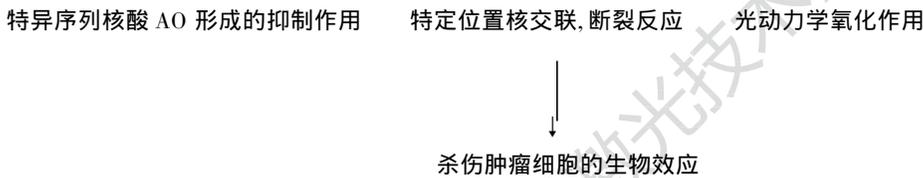
作者简介: 许川山, 男, 1968 年 3 月出生。博士, 主治医师。主要从事激光治疗临床及科研工作。

收稿日期: 2000-11-24 收到修改稿日期: 2001-06-04

且具有选择性杀伤白血病细胞的作用,有望成为治疗白血病的骨髓净化剂和清除血液制品污染的抗病毒试剂^[7-10]。尽管第2代 PDT 药物克服了光敏素的种种不足,有望成为法定 PDT 药物,但无论是第1代 PDT 药物,还是第2代 PDT 药物,它们均为结构非特异性药物,其抑癌活性的发挥主要依赖于蓄积有较多光敏剂的肿瘤组织(细胞)在特定波长光激活下产生的单态氧和羟自由基^[11]。这决定了第2代 PDT 药物仍不是选择性和特异性很强的光敏药物。其选择性和特异性均有待进一步的提高。我们在光动力治癌机理的实验研究中发现转染野生型 P53 基因和反义 bcl-2 特异序列可显著提高光敏剂的抑癌毒性,增强对凋亡的易感性,极大地减少了光敏剂的用法,降低其毒副作用(结果有待发表)。因此,我们认为:PDT 联合基因治疗有利于提高体外净化肿瘤细胞(白血病细胞)的效果。

反义寡核苷酸封闭技术是基因治疗的核心之一。根据碱基互补原则人工合成的反义寡核苷酸能与靶基因(mRNA)特异地结合,抑制靶基因(mRNA)的复制、转录、转运、剪接、翻译和表达。是在基因或信使 mRNA 水平上的抑制。因而其作用极具高度特异性和选择性。多年来,其特异反义抑制效应已在病毒及肿瘤细胞的抑制研究中得到肯定,现已被引入 ASCT 的体外净化领域,并显示良好的应用前景^[12-15]。但反义寡核苷酸封闭技术抑制作用的彻底有局限性。为探索造血干细胞移植的体外有效净化方法,我们根据光化学和反义寡核苷酸封闭的原理,拟建立一种特异插入、固定抑制的多重攻击的生物“导弹”型 PDT 体外净化方法,为临床上体外净化自体造血干细胞移植体中残留肿瘤细胞(白血病细胞)提供新的手段。其构想设计如下。

含肿瘤细胞的造血干细胞移植体+ 关键基因特异靶序列互补的反义寡核苷酸(光敏剂修饰)+ 激光照射



按此构想设计的生物“导弹”型 PDT 体外净化方法最突出的优点:就是充分利用了第2代 PDT 药物对肿瘤组织(白血病细胞)的高亲和性及其对核酸嵌合裂解作用,将其与反义寡核苷酸偶联构建一类新型 PDT 药物,使其定向到达癌细胞,作为核酸的配基,该新型 PDT 药物具有反义寡核苷酸的特异性靶向作用,能在互补结合处附近发挥其特异性断裂作用,既特异性抑制关键癌基因的表达,又利用光子+光敏剂产生的光化学效应杀伤癌细胞,达到反义封闭和光化学净化肿瘤细胞(白血病细胞)的双重目的,这不仅极大地提高了其净化效力,减少反义寡核苷酸和光敏剂的用量,降低其毒副作用,而且使 PDT 药物及光动力疗法更具选择性和特异性。同时,本课题的研究不但可以带来极大的社会效益,还可创造可观的经济效益。因为课题的完成将促进一整套体外净化肿瘤细胞新方法的建立,从而解除病人疾苦,节省额外开支;其次,新型 PDT 药物和配套激光器材的开发生产带来的经济效益也是巨大的。此研究成果亦将为临床治疗其他恶性肿瘤、病毒性疾病及新型 PDT 药物的开发研究提供借鉴。

参 考 文 献

- [1] 陈君敏,陈志哲. 中华血液学杂志, 1999, 20(8): 446~ 447.
 [2] 曹漫明,汪森明. 国外医学输血及血液学分册, 1999, 22(5): 334

~ 337.

- [3] Grebenova D, Cajthamlova H, Holada K *et al.* J Photochem Photobiol B, 1997, 39(3): 269~ 278.
 [4] Sato Y, Yamazaki T, Yasukawa K *et al.* Gan-To Kagaku Ryoho, 1999, 26(14): 2195~ 2000.
 [5] 楼方定,张伯龙,高春纪 *et al.* 军医进修学院学报, 2000, 21(1): 11~ 13.
 [6] 王瑞平,李迎新. 国外医学生物医学工程分册, 1999, 22(6): 355~ 359.
 [7] 王夺元,乐加昌,孙文芳 *et al.* 中国激光医学杂志, 1999, 8(4): 225~ 231.
 [8] 何玉英,安静仪,蒋丽金. 科学通报, 1999, 44(22): 2376~ 2383.
 [9] Andersan C. Photochem Photobiol, 1997, 65(5): 895~ 901.
 [10] Hemik S C. Biophotonics International, 1998, 34.
 [11] 李善良,王荣先,李美佳. 国外医学、放射医学核医学分册, 1999, 23(3): 124~ 127.
 [12] Verfaillie C M, McIvor R S, Zhao R C *et al.* Mol Med Today, 1999, 5(8): 359~ 366.
 [13] Maan A, Waller C F, Paranjape J M *et al.* Blood, 1998, 92(11): 4336~ 4343.
 [14] Fabritics P, Petti M C, Montefusco E *et al.* Blood, 1998, 91(9): 3156~ 3162.
 [15] 孙 竞,伍伯松,刘启发 *et al.* 中华血液学杂志, 2000, 21(8): 400~ 403.