蛋白的细胞外分泌,并且除多发性骨髓瘤8226细胞系外均有Fit-1(VEGF受体)的表达。Aguayo等[5]发现急、慢性白血病患者和骨髓增生异常综合征患者的VEGF表达显著升高。表明VEGF在血液系统肿瘤中的表达具有普遍性。

安全高效的基因载体是成功而有效的进行基因治疗的先决条件。在本实验中我们采用改良的Adeasy-1腺病毒载体系统表达VEGFsiRNA,延长小干扰RNA在体内的存在时间,提高转染效率,大大增强了体内实验的干扰效率,提高基因治疗的效果。

在本实验中,我们成功构建了含有针对VEGF特异性siRNA片段的重组腺病毒,即Ad5-VEGFsi。将其转染白血病K562细胞72 h后,RT-PCR和ELISA检测结果显示,实验组VEGF表达水平明显降低,细胞VEGF mRNA水平较对照组下降了66.55%,培养液上清VEGF蛋白浓度也相应降低了86.03%,而空载体Ad5组与对照组相比变化轻微。说明腺病毒Ad5-VEGFsi不仅可抑制人白血病K562细胞中VEGF基因的表达,还可以进一步抑制VEGF蛋白的表达。同时我们观察到将该载体感染K562细胞后,细胞生长明显受到抑制,且这种抑制作用随时间的延长而逐渐明显。此外,流式细胞仪检测结果显示,K562细胞的凋亡率较空载体组及对照组显著增加($P<0.01$),这与Ruan[6]、许文林等[7]研究结果相一致。由实验结果我们推测:K562细胞在正常情况下分泌的VEGF一方面可能经自分泌途径作用于肿瘤细胞表面的VEGF受体,促进白血病细胞的增殖;另一方面通过旁分泌途径作用于血管内皮细胞上VEGF受体,使内皮细胞分泌更多的细胞生长因子,促进白血病细胞的增殖。然而,关于VEGF抗凋亡的作用机制仍在进一步研究中,我们认为其抗凋亡机制可能是经自分泌途径,与白血病细胞上的受体结合,通过某种信号途径使一些原癌基因激活、抑癌基因失活,从而阻断凋亡途径实现的。

综上所述,腺病毒Ad5-VEGFsi可有效抑制K562细胞VEGF表达,抑制细胞增殖,促进细胞凋亡。因此,抑制VEGF表达可能成为血液肿瘤治疗的一项新措施。本研究也为进一步应用腺病毒介导RNAi技术开展对白血病的基因治疗奠定了基础。

参考文献:

[1] Bellamy W T, Richter L, Frutiger Y, *et al*. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in hematopoietic malignancies [J]. Cancer Res, 1999, 59(3): 728-733.

[2] 王 一, 肖志坚, 刘 澎, 等. 血管内皮细胞生长因子及其受体KDR、Flt1在急性髓系白血病中的表达及其意义[J]. 中华血液学杂志, 2003, 24(5): 249-252.

[3] Takei Y, Kadomatsu K, Yuzawa Y, *et al*. A small interfering RNA targeting vascular endothelial growth factor as cancer therapeutics[J]. Cancer Res, 2004, 64(10): 3365-3370.

[4] Kuramochi H, Hayashi K, Uchida K, *et al*. Vascular endothelial growth factor messenger RNA expression level is preserved in liver metastases compared with corresponding primary colorectal cancer[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(1): 29-33.

[5] Aguayo A, Kantarjian H, Manshouri T, *et al*. Angiogenesis in acute and chronic leukemias and myelodysplastic syndromes[J]. Blood, 2000, 96(6): 2240-2245.

[6] Ruan G R, Liu Y R, Chen S S, *et al*. Effect of antisense VEGF cDNA transfection on the growth of chronic myeloid leukemia K562 cells in vitro and in nude mice[J]. Leuk Res, 2004, 28(7): 763-769.

[7] 许文林, 沈慧玲, 袁 伟, 等. K562细胞血管内皮生长因子自分泌链作用的实验研究[J]. 中华血液学杂志, 2007, 28(3): 189-193.

(编辑 邓强庭)

我校研制的“口服重组幽门螺杆菌疫苗”获国家一类新药证书

国家科技部4月23日在京召开新闻发布会宣布,我校邹全明教授率领他的团队历时15年研制的“口服重组幽门螺杆菌疫苗”(简称*Hp*疫苗),日前获国家食品药品监督管理局批准颁发的国家一类新药证书。这是迄今为止世界上首个*Hp*疫苗,标志着我国在预防幽门螺杆菌感染及相关胃病研究领域跃居国际领先水平。

临床研究表明,*Hp*疫苗作为国际首创的新型疫苗,具有良好的有效性和安全性,其保护率高达72.1%,可以预防幽门螺杆菌的感染,对维护人类生命健康将起到重要作用。该项目已获得8项国家发明专利,是具有完全自主知识产权的创新药物。

*Hp*是全球感染率最高的细菌之一。我国*Hp*感染者超过6亿人。如何预防和根治*Hp*引发的疾病一直是困扰国际医学界的世界性难题。邹全明教授带领的研究团队历经15年拼搏,获取了*Hp*疫苗的设计原理、种子工程菌株、工艺流程等一批原创性成果。他们首次创建了分子内佐剂黏膜疫苗理论,并采取独特的基因工程疫苗分子构建模式,在黏膜表面产生免疫力,解决了*Hp*在黏膜表面感染而难以防治的难题;采用特殊工艺和剂型,克服了胃酸、胃蛋白酶对疫苗的破坏作用,提高了疫苗的稳定性和有效性。据悉,该疫苗的后期工作正积极推进,可望在不久的将来实现产业化。

——摘自《第三军医大学报》2009年第258期第1版