

· 综述 ·

乳腺癌基因治疗研究现状

吴爱国

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤之一,其发病率逐年增高,有超过宫颈癌而居女性恶性肿瘤首位的趋势。目前,乳腺癌的常用治疗手段主要是以传统的手术治疗为主,术后辅以局部或全身的放射治疗、化疗及内分泌治疗。这些手段虽然可使患者获得较高的生存率甚至临床治愈,但术后复发及远处转移的问题仍然是困扰学者们的一大难题。随着分子生物学技术及免疫学技术的迅猛发展和人类对乳腺癌发病机制认识的不断深入,基因治疗逐渐成为肿瘤生物学治疗中的重要组成部分,在乳腺癌治疗中显示出良好的应用价值,并且取得了一定的效果,将日渐成为一项有前景的治疗选择。现就近年来乳腺癌基因治疗的方法与现状作一综述。

1 抑制癌基因的功能

原癌基因是人体细胞固有的基因,其表达产物在正常状态下为细胞增殖分化所必需的,在特定条件下,原癌基因被激活而诱导细胞向恶性转化或使细胞恶变。乳腺癌基因治疗的方式之一是敲除显性的癌基因,从而削弱肿瘤的生长和浸润能力。这个目的可以在三个水平上实现。

1.1 原癌基因的翻译水平

即用反义寡核苷酸(ODNS)或 RNA 干扰技术阻止癌基因 mRNA 转录和翻译。许多与乳腺癌有关的基因可受反义寡核苷酸的有效靶击。Kenney^[1]的研究表明,一种 myc 反义核酸对雌激素依赖型和非依赖型乳腺癌细胞均有抑制作用,转化生长因子 α (TGF- α) 的反义信使 RNA 能抑制雌激素诱导的雌激素反应性乳腺癌细胞的增殖。反义核酸体外转化乳腺癌细胞能够下调 erbB-2 的表达并适当抑制细胞的增殖。RNA 干扰是一种由双链介导的基因沉默现象, RNA 干扰能特异性抑制同源基因的表达。有研究报道,上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM) siRNA 能使 EpCAM 发生基因沉默现象,减缓了乳腺癌细胞的增殖、浸润和迁移^[2]。然而,如果直接将这些体

外合成的 siRNA 导入哺乳动物细胞内,仅引起 4 ~ 7 d 的基因沉默,不足以持续影响细胞生理功能。Brummelkamp 等^[3]构建了一个载体系统-pSUPER。该系统使用 RNA 聚合酶 III H1-RNA 基因启动子,将 siRNA 相应的正义链和反义链整合到启动子下游处,两序列间隔 5 个碱基。导入哺乳动物细胞后,利用 RNA 聚合酶转录大量的单链 RNA,再折返形成 19 bp 的双链 siRNA。由于这些 siRNA 的一端存在发夹结构,故称为短发夹 RNA (short hairp in RNAs, shRNAs)。同样,这些被转染的哺乳动物细胞出现了持久而稳定的特异性蛋白合成的抑制,并出现了相应的表型。研究表明 shRNAs 的干扰效果优于 siRNA 的干扰效果^[4]。

1.2 基因产物水平

以显性负突变体干扰肿瘤细胞内信号转导。如酪氨酸激酶受体基因可在乳腺癌中发生扩增及过量表达,这种过量表达的受体通过与相应配体如表皮生长因子(EGF)结合而刺激肿瘤细胞的生长。向肿瘤细胞质内转染该受体的突变型基因后,其对 EGF 的亲合力丧失,受体内吞及生物学信号传导功能丧失,肿瘤细胞生长受抑制。Senmaru 等^[5]将 h-ras 癌基因 116 位密码子的酪氨酸替换为天冬氨酸后表达显性负突变 ras 蛋白,竞争正常 ras 蛋白作用位点,干预 ras 信号通路,抑制肿瘤细胞增殖。Lee 等^[6]在雌激素受体阳性乳腺癌中转入 ER 显性负突变体后也能显著抑制肿瘤细胞生长。

1.3 使新生的原癌蛋白不能达到正确的细胞内位置

即用细胞内抗体预先占据胞内定位系统,隔离胞内生长因子受体,从而阻断癌基因蛋白到达其适宜的细胞内靶位。如转染了胰岛素样生长因子(IGF-1)结合蛋白的肿瘤细胞只能实现胞外结合 IGF-1,即便在高浓度 IGF-1 存在下 Balb/c 细胞的生长也被抑制,此外还可使生长因子受体在胞内的正常定位崩解^[7]。

2 恢复抑癌基因的功能

抑癌基因又称肿瘤易感基因,是一大类可抑制细胞生长、增殖、分裂的基因,可诱导细胞凋亡,其缺乏和失活与肿瘤的发生、发展有密切的关系。通过恢复抑癌基因的功能来抑制肿瘤的发展或恢复其正常细胞表型称抑癌基因的基因治疗。目前已分离克隆的抑癌基因主要有 p53、视网膜母细胞瘤(Retinoblastoma, Rb)基因、ERBA、WT1、结肠直肠癌缺失(delete in colorectal carcinoma, DCC)基因、大肠癌突变(mutated in colorectal carcinoma, MCC)基

因、腺瘤性结肠息肉病(adenomatous polyposis coli, APC)基因、nm23、多肿瘤抑制(multiple tumor suppressor, MTS)基因、TIMP、脆性组氨酸三联体(Fragile histidine triad, FHIT)基因、BRCA1 和 BRCA2 等,而以 p53、FHIT、BRCA1 和 BRCA2 等实验研究较多。现在常用的方法是以腺病毒为载体,将相应的抑癌基因转染乳腺癌细胞,抑制乳腺癌细胞的生长。p53 基因是研究较为深入的一种,野生型可直接抑制 DNA 复制,使细胞出现 G₁ 期阻滞,调控细胞凋亡。乳腺癌患者中有 40% 出现 p53 基因的缺失或突变。Obermiller 等^[8]将野生型 p53 基因导入 p53 基因缺失或变异的乳腺癌细胞,可抑制肿瘤细胞的生长,促使肿瘤细胞凋亡。FHIT 基因是一种新发现的抑癌基因。FHIT 基因的大片段缺失常存在于包括乳腺癌在内的许多肿瘤中。有研究表明用腺病毒转染 FHIT(Ad-FHIT)后,可激活 caspase-2 释放细胞色素 2,最终导致乳腺癌细胞凋亡^[9]。

3 基因免疫治疗

免疫治疗是一种诱发针对肿瘤细胞相关抗原特异性免疫反应的治疗。基因免疫治疗的目的是提高肿瘤细胞的免疫原性,激发机体抗肿瘤免疫。目前应用于临床试验的免疫基因治疗有以下 3 种。

3.1 全肿瘤细胞疫苗

即采用转基因手段促进机体对肿瘤细胞的免疫反应。将编码促进免疫反应细胞因子的基因直接在体内转染到肿瘤细胞内,或在体外将这些基因转染到肿瘤细胞内,将肿瘤细胞经放射线照射灭活后,自身移植于体内,以增强免疫反应。目前用于该方面研究的免疫增强细胞因子包括白细胞介素-2、12,干扰素,粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)等。直接注射这些细胞因子效果差,且有一定副作用,而通过基因转导方法修饰肿瘤细胞或免疫效应细胞,能增强免疫细胞的活性,发挥机体抗肿瘤免疫功能,从而达到治疗目的。近年有报道泰素联合编码 IL-12 基因的质粒 p2CMVm IL-12 治疗对泰素不敏感的 4T1 小鼠乳腺癌模型,其抑制肿瘤生长和肺转移的作用明显优于单纯泰素治疗组,且未增加对机体的毒副作用^[10],而 IL-12 基因的这种抗肿瘤作用可能与 NK 细胞关系密切^[11]。Janat Amsbury 等^[10]将 IL-12 复合物局部肿瘤注射联合多西紫杉醇化疗治疗小鼠乳腺癌。结果显示,无论是多西紫杉醇耐药组还是敏感组,联合用药均较单用化疗组在肿瘤体积和肺转移方面疗效更明显。Shi 等^[12]报道用

GM-CSF 体外转染乳腺癌细胞制备的细胞疫苗,在体外和体内动物实验中均可诱导肿瘤特异性免疫反应,疗效优于直接全身应用外源性 GM-CSF,有望能尽早应用于临床实验。Peplinski 等^[13]建立了 17 例重组疫苗病毒编码的细胞因子联合强、弱疫苗病毒启动子的模型。将多种细胞因子基因如 GM-CSF、IL-2、hIL-1、IFN- β 、IFN- γ 等转入同一种乳腺癌细胞中,可进一步抑制肿瘤生长,显示了联合基因治疗比单一的基因疗法更有效。

3.2 肿瘤抗原靶向基因治疗

肿瘤抗原在一定条件下能够激发机体的体液和细胞免疫产生抗肿瘤作用。这种方法较全肿瘤细胞作为疫苗用于增强对肿瘤的免疫反应更具吸引力。目前用于乳腺癌免疫治疗的特异抗原包括 HER-2、癌胚抗原(CEA)、MAGE-1、MUC-1 等。这些抗原在肿瘤组织中的表达高于周围正常组织,并具有被细胞毒性 T 细胞(CTL)识别的抗原簇。应用基因工程技术,将编码 HER-2、CEA、MAGE-1、MUC-1 等肿瘤相关抗原的基因修饰后,克隆到逆病毒载体,转入体内,诱导机体产生针对这些抗原的特异性抗体,或者在体外将这些抗原的不同抗原簇进行克隆和表达,筛选出能够抑制肿瘤细胞生长的抗体。目前已经成功应用于临床的赫赛汀(herceptin)就是针对乳腺癌细胞表面 erbB-2 抗原决定簇的人工合成单克隆抗体。其主要作用机制是:(1) herceptin 与 HER-2 受体结合,抑制细胞生长信号传递通路;(2)加速 HER-2 受体降解,使 HER-2 受体表达下调;(3)在人外周血单核细胞存在时,herceptin 对人肿瘤细胞株可介导抗体依赖的细胞毒作用(ADCC),杀伤靶细胞;(4)抑制血管内皮生长因子的生成,阻断肿瘤内血管组织生长^[14]。MUC-1 存在于腺上皮细胞表面的顶端,为跨膜蛋白,在乳腺癌多数有过度表达和异常糖基化,具有特异抗原性,是免疫治疗的靶目标。它由肿瘤细胞产生,经常存在于循环系统内,可被不同的抗体作为肿瘤标志物(CA15.3)发现,可作为早期复发的检测和评估疗效的重要指标。Scholl 等^[15]将人 MUC-1 和 IL-2 基因重组到 TG1031 疫苗病毒,对 9 例失去手术机会的晚期乳腺癌患者,采用肌肉内注射方法接种 TG1031。尽管仅发现 1 例患者体内 CEA 水平下降,10 周保持临床稳定,但在 2 例患者体内发现 MUC-1 特异性 T 淋巴细胞毒反应,未发现临床严重副作用。免疫组织化学检查显示,接种疫苗后在肿瘤活检中 T 记忆细胞(CD45RO)增加。

3.3 激发针对不同肿瘤相关抗原的免疫反应

近年来,新的肿瘤疫苗概念已建立在 T 细胞双识别信号的新理论上,只有

在肿瘤抗原和 MHC 抗原同时被识别时才能激活 CTL。对于大多数肿瘤抗原来说,只有少部分能符合这一要求,由抗原递呈细胞(antigen present cell, APC)参与的抗原处理是启动细胞免疫的必备条件。APC 包括树突状细胞(dendritic cell, DC)和激活 B 细胞。外来抗原和体内异常蛋白均由 APC 处理变为可被免疫细胞识别的抗原后,才能激活免疫反应。DC 作为抗原递呈细胞,可诱导出高效而特异的抗肿瘤免疫。近年来通过遗传学改建 DC,将肿瘤抗原的编码基因转染 DC,能在 DC 内持续表达肿瘤抗原,既克服了肽与 DC 负载后 MHC II 抗原多肽复合物的解离问题,又能使表达的抗原有效地与 MHC 分子结合并呈递给 CTL。动物试验及临床结果表明,它能诱导机体产生特异性 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞抗肿瘤免疫应答,且不良反应较小,显示了良好的应用前景。Wan 等^[16]以腺病毒作为载体,将表达 PymT(Polyoma middle T)基因的腺病毒转染 DC,回输给乳腺癌小鼠动物模型后,全部动物都激发了特异性抗移植瘤反应,且均未出现明显的肝脏毒性反应。鉴于 MUC-1 在乳腺癌、卵巢癌等腺癌细胞上大量表达,Koido 等^[17]将编码 MUC-1 抗原的 RNA 借助质粒转染 DC,并通过小鼠的尾静脉注入体内,对表达 MUC-1 蛋白的肿瘤细胞诱导出特异性免疫应答。

4 自杀基因治疗

静脉内化疗有其局限性,要想全身无明显的毒性反应,在肿瘤局部就很难达到必需的药物浓度。应用自杀基因疗法可以解决这个问题。自杀基因又称为药物敏感基因,一般为某种外源性酶解前药基因。该基因导入细胞后,其表达的编码产物可使无毒的前药成分酶解成为有毒性的物质,杀死肿瘤细胞,增强化疗效果,却无全身的或局部的毒性反应。这类基因包括单纯疱疹病毒胸苷激酶(HSV-tK)基因,水痘-带状疱疹病毒胸苷激酶(VZV-tK)基因,胞嘧啶脱氨酶(cytosine deaminase, CD)基因,细胞色素 P-450 基因,黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶(XGPRT)基因,嘌呤核苷磷酸化酶(PNP)基因,大肠杆菌硝基还原酶(EC-NR)基因,亚麻苦甙还原酶(linamarase)基因等。其中研究最深入且与肿瘤基因治疗关系最密切的是 HSV-tK 基因和 CD 基因。有报道,HSV-tK 能特异性地将核苷类似物更昔洛韦(ganciclovir, GCV)代谢为毒性产物。用 GCV 治疗已转有 HSV-tK 基因的乳腺癌大鼠模型,可以观察到肿瘤排斥现象。Zeng 等^[18]建立了强力霉素调控逆病毒介导体系,转染的 MCF-7 细胞经过强力霉素和 GCV 治疗后停滞于 S 期,体内实验显示治疗后肿瘤急剧缩

小,出现坏死。目前研究显示,转染一种自杀基因,即使每一种前药物的浓度达到最高,也不能完全阻止肿瘤生长,而把两种自杀基因联合转染肿瘤细胞,即使每一种前药物的浓度很低,也能杀伤肿瘤,取得良好的治疗效果^[19]。因此,联合转染至少两种自杀基因效果更佳。当前自杀基因治疗研究趋势为将靶向转导和靶向转录方法应用于自杀基因,设计组织特异性调控因子如 CEA、hTERT 启动子、热休克蛋白(HSP70)启动子、erbB-2 启动子/增强子调控靶基因在肿瘤细胞中选择性表达^[20-21]。Hernandez 等^[22]利用基因工程方法构建含雌激素反应元件和低氧反应元件的杂和启动子,调节 HSV-tk 基因在乳腺癌细胞中的转录,使自杀基因表达更具可控性。Pandha 等^[23]利用含 erbB-2 启动子驱动的 CD 基因质粒 DNA 原位注射到肿瘤部位使 CD 基因在 erbB-2 阳性乳腺癌细胞中高效表达,加入前药物后,显著抑制了肿瘤生长。该方法安全,无明显毒副作用,提供了一个靶向驱动自杀基因转录的治疗模式。

5 多药耐药基因治疗

多药耐药(multidrug resistance, MDR)是指肿瘤细胞接触一种抗癌药物产生耐药同时也对其他结构和作用机制不同的药物产生耐药。肿瘤细胞的多药耐药性及大剂量化疗的严重骨髓抑制是目前临床上化疗失败的主要原因。目前已分离了 MDR1 和 MDR3 两种多药耐药基因,其他耐药基因还有二氢叶酸脱氢酶(DHFR)基因及 O6 甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶(MGMT)基因等。将耐药基因导入骨髓造血干细胞使之获得耐药表型,然后自体回输以免遭化疗药物破坏,就可以大大增加肿瘤患者对化疗药物的耐受性,为临床大剂量化疗最大限度地杀伤肿瘤细胞以及多次重复化疗提供了可能。Takahashi 等^[24]在乳腺癌的 MDR1 基因治疗临床研究中发现,进展期乳腺癌和复发性乳腺癌患者行大剂量化疗的同时移植已转入 MDR1 基因的自体同源外周干细胞(PBSCT),而后再用多西他赛化疗,能明显抑制肿瘤生长,改善预后,无其他明显的不良反应。在美国,对高剂量化疗合并自体造血干细胞移植的肿瘤患者,业已开始耐药基因的临床试验。Cowan 等^[25]将 4 例乳腺癌患者的造血细胞提取后,体外转染 MDR1 基因,体外应用大剂量化疗药物杀死可能污染的肿瘤细胞后,将转染了 MDR1 的造血细胞自身移植,给予大剂量的紫杉醇治疗后,3 例患者的移植细胞中仍可检测到 MDR1 的表达,转染 MDR1 的细胞存活率与骨髓抑制成反比,无严重毒副作用发生。此研究为大剂量化疗药物应用而又避免骨髓严重抑制提供了新途径。

6 抗肿瘤血管形成基因治疗

肿瘤的生长和转移是一个依赖于血管生成的过程。血管形成是包括内皮细胞的激活、增殖、迁移、血管基底膜的破坏、血管和血管网的形成,以及先前存在的血管网的连接等复杂过程。肿瘤血管生成是由肿瘤细胞和肿瘤浸润炎症细胞如巨噬细胞或肥大细胞产生的促血管生长因子所介导的。促血管生长因子是肿瘤生长所必需的,不少细胞因子与肿瘤血管形成密切相关,其中内皮抑素、血管抑素和干扰素- α 是目前研究的重点。人们利用各种基因治疗载体将抗血管生成因子包括内皮抑素、反义血管内皮细胞生长因子(VEGF)、血管抑素和干扰素- α 等运送到体内,以期望抑制肿瘤的生长。Chen 等^[26]用编码内皮抑素和血管抑素的质粒在体内有效地抑制了血管的生成,瘤内注射 PCI-Endo 和 PCI-Angio 能分别使肿瘤体积缩小 36 % 和 49 %。Gyorffy 等^[27]分别使用鼠源性血管抑素和 IL-12 瘤内注射(Ad-Angio 和 Ad-IL-12) 治疗乳腺癌动物模型,结果 Ad-Angio 显著抑制了肿瘤的生长,65% 的肿瘤退化;Ad-IL-12 引起 20 % 肿瘤退化,13 % 肿瘤完全消失。二者联合注射使 96% 的肿瘤退化,54% 完全消失,并且提高了动物对再次接种的肿瘤细胞的免疫力。目前所知作用最强的促血管生长因子是 VEGF,学者们正致力于研究开发 VEGF / VEGFR 的抗血管生成潜力。张淑华等^[28]通过 RNAi 抑制 VEGF 表达的抗血管生成疗法,也发现可以明显抑制乳腺癌细胞的增殖。

7 凋亡基因治疗

近十几年来,与乳腺癌发病有关的许多凋亡相关因子异常已被确认,如细胞生长因子及其受体、erbB-2、IGF-1 的过度表达,凋亡信息传导通路中的抗凋亡因子 P53、Bcl-2 家族、Bax、半胱氨酸蛋白水解酶、热休克蛋白的异常表达等均在乳腺癌的发生中起重要作用。其中研究最多的是具有抗凋亡作用的腺病毒基因 E1A。腺病毒基因 E1A 能抑制 HER-2 基因的表达,从而促进细胞凋亡。美国休斯敦 Anderson 癌症中心进行了一项对晚期乳腺癌患者 E1A 基因治疗的临床 I 期研究,6 名晚期乳腺癌伴转移患者的肿瘤细胞均呈 erbB-2 过度表达,每周接受 1 次胸腔内或腹腔内脂质体-E1A 注射,结果乳腺癌细胞中 HER-2 的表达下调,胸水和腹水中的癌细胞计数减少,癌细胞的凋亡增加^[29]。Yoo 等^[30]开展的一项临床 I 期研究,通过瘤内注射 tgDCC-E1A 治疗复发性乳腺癌,没有发现与剂量有关的毒性反应,肿瘤细胞内 E1A 基因高度表达,

HER-2 基因表达下调,肿瘤出现大块坏死,其中 1 例患者在治疗后 12 周肿瘤消失。管海涛等^[31]针对乳腺癌细胞中的 survivin 基因进行 RNA 干扰研究,发现癌细胞的增殖抑制率达 33%,并且可以诱使 12.9% 的癌细胞发生凋亡。

8 使用溶瘤病毒

溶瘤病毒不是靠携带外源基因转染肿瘤细胞杀伤肿瘤细胞,而是通过直接感染肿瘤细胞后“溶解”肿瘤细胞。常见的溶瘤病毒包括突变的腺病毒 ONYX-015 (dl1520)、HSV-1 突变体 G207,人类逆转录病毒 3、水泡性口炎病毒(VSV)和 EB 病毒等。为了提高溶瘤毒素的靶向性,学者们将组织和肿瘤特异性启动子插入溶瘤病毒的基因组,控制基因表达。Hernandez 等^[32]将对低氧和雌激素反应的双特异启动子插入人类腺病毒 5 型基因组的 E1A 和 E4 区,利用该系统构建了 AdEHT2 和 AdEHE2F,从而杀死低氧条件和雌激素受体阳性的乳腺癌细胞。同理,因端粒反转录酶和 E2F-1 启动子在肿瘤细胞中常被激活,将其分别插入 AdEHT2 和 AdEHE2F 的 E4 区,能杀伤肿瘤细胞。

9 存在的问题和展望

乳腺癌基因治疗已经取得了初步成功。但要使其真正成为临床综合治疗的一部分,或成为乳腺癌根本的对因治疗而应用于临床,还有很长的路要走。许多问题需要在未来工作中进一步完善和解决。目前乳腺癌基因治疗存在的问题主要有:(1)在治疗基因的选择上,大多数研究仅仅局限于乳腺癌病理生理过程中的某一环节,并没有找到乳腺癌发病的关键问题,基因转染效率低、缺乏旁观者效应、细胞杀伤效率低、治疗效果不理想,因此,真正可用于临床治疗的新基因太少,而通过靶向沉默明显降低癌细胞转移的目的基因更加匮乏。(2)目前仍缺乏高效性、特异性、导向性治疗基因载体。(3)如何使治疗基因持续有效的高表达并进行精确的调控,目前尚无合理的手段。(4)基因治疗用于人体的剂量、途径、安全性及伦理学等方面的问题尚未解决。(5)目前绝大多数研究仅限于细胞或动物实验,缺少临床大宗病例的对照研究,临床实验结果尚不能支持大规模的随机Ⅲ期临床实验。目前的临床应用仅局限于局部治疗,如肿瘤瘤体内直接注射、腔内注射等,全身系统性治疗尚未见报道。但是,随着乳腺癌基因研究不断深入和分子医学不断进步,医学实验设备、细胞生物学、蛋白质组学、纳米技术的不断发展,乳腺癌基因治疗的研究一定会取得更大的进展。

【关键词】 乳腺癌; 基因治疗

【中图法分类号】 R737.9

【文献标识码】 A

参考文献

- [1] Kenney N J, Saeki T, Gottardis M, *et al.* Expression of transforming growth factor , an antisense mRNA , inhibits the estrogen-induced production of TGF2 and estrogen-induced proliferation of estrogen-responsive human breast cancer cells. *J Cell Physiol*,1993,156:497 – 514.
- [2] Osta W A, Chen Y, Mikhitarian K, *et al.* EpCAM is over expressed in breast cancer and is a potential target for breast cancer gene therapy. *Cancer Res*,2004,64:5818 – 5824.
- [3] Brummelkamp T R, Bernards R, Agami R. A system for stable expression of short interfering RNAs in mammalian cells. *Science*,2002,296:550 – 553.
- [4] Leirdal M, Sioud M. Gene silencing in mammalian cells by preformed small RNA duplexes. *Biochem Biophys Res Commun*,2002,295:744 – 748.
- [5] Senmaru N, Shichinohe T, Takeuchi M, *et al.* Supp resion of Erk activation and *in vivo* growth in esophageal cancer cells by the dominant negative Rasmutant, N116Y. *Int J Cancer*,1998,78:366 – 371.
- [6] Lee E J, Jakacka M, Duan W R, *et al.* Adenovirus-directed expression of dominant negative estrogen receptor induces apoptosis in breast cancer cells and regression of tumors in nude mice. *Mol Med*,2001, 7: 773 – 782.
- [7] Deshane J, Siegal G P, Alvarez R D, *et al.* Targeted tumor killing *via* an intracellular antibody against erbB-2. *J Clin Invest*,1995,96:2980 – 2989.
- [8] Obermiller P S, Tait D L, Holt J T. Gene therapy for carcinoma of the breast: Therapeutic genetic corretioncorrection strategies. *Breast Cancer Res*,2000,2:28 – 31.
- [9] Seignani C, Calin G A, Cesari R, *et al.* Restoration of fragile histidine triad (FHIT) expression induces apoptosis and suppresses tumorigenicity in breast cancer cell lines. *Cancer Res*,2003,63:1183 – 1187.
- [10] Janat Amsbury M M, Yockman J W, Lee M, *et al.* Combination of local, nonviral IL-12 gene therapy and systemic paclitaxel treatment in a metastatic breast cancer model. *Mol Ther*,2004,9:829 – 836.
- [11] Rakhmievich A L, Hooper A T, Hicklin D J, *et al.* Treatment of experimental breast cancer using interleukin-12 gene therapy combined with anti-vascular endothelial growth factor receptor-2 antibody. *Mol Cancer Ther*,2004,3:969 – 976.
- [12] Shi F S, Weber S, Gan J, *et al.* Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) secreted by cDNA transfected tumor cells induces a more potent antitumor response than exogenous GM-CSF. *Cancer Gene Ther*,1999, 6:81 – 88.
- [13] Peplinski G R, Tsung K, Meko J B, *et al.* Prevention of murine breast cancer by vaccination with tumor cells modified by cytokine-producing recombinant vaccinia viruses. *Ann Surg Oncol*,1996,3:15 – 23.
- [14] Petit A M, Rak J, Hung M C, *et al.* Neutralizing antibodies against epidermal growth factor and ErbB-2/neu receptor tyrosine kinases down-regulate vascular endothelial growth factor production by tumor cells in vitro and *in vivo*: angiogenic implications for signal transduction therapy of solid tumors. *Am J Pathol*,1997,151:1523 – 1530.
- [15] Scholl S M, Balloul J M, Le Goc G, *et al.* Recombinant vaccinia virus encoding human MUC1 and IL-2 as immunotherapy in patients with breast cancer. *J Immunother*,2000,23:570 – 580.
- [16] Wan Y, Bramson J, Carter R, *et al.* Dendritic cells transduced with an adenoviral vector encoding a model tumor-2associated antigen for tumor vaccination. *Hum Gene Ther*,1997, 8:1355 – 1363.
- [17] Koido S, Kashiwaba M, Chen D S, *et al.* Induction of antitumor immunity by vaccination if dendritic cells transfected

- with MUC1 RNA. J Immunol, 2000, 165: 5713 – 5719.
- [18] Zeng Z J, Li Z B, Luo S Q, *et al.* Retrovirus-mediated tk gene therapy of implanted human breast cancer in nude mice under the regulation of Tet-On. Cancer Gene Ther, 2006, 13: 2970 – 2975.
- [19] Uckert W, Kammertons T, Haack K, *et al.* Double suicide gene (cytosine deaminase and herpes simplex virus thymidine kinase) but not single gene transfer allows reliable elimination of tumor cells *in vivo*. Hum Gene Ther, 1998, 9: 855 – 865.
- [20] Lin T, Huang X, Gu J, *et al.* Long-term tumor-free survival from treatment with the GFP-TRAIL fusion gene expressed from the hTERT promoter in breast cancer cells. Oncogene, 2002, 21: 8020 – 8028.
- [21] Braiden V, Ohtsuru A, Kawashita Y, *et al.* Eradication of breast cancer xenografts by hyperthermic suicide gene therapy under the control of the heat shock protein promoter. Hum Gen Ther, 2000, 11: 2453 – 2463.
- [22] Hernandez A R, Pihlaja M, Nunez G, *et al.* Evaluation of a new dual-specificity promoter for selective induction of apoptosis in breast cancer cells. Cancer Gene Ther, 2001, 8: 298 – 307.
- [23] Pandha H S, Martin L A, Rigg A, *et al.* Genetic prodrug activation therapy for breast cancer; a phase I clinical trial of erbB-2-directed suicide gene expression. J Clin Oncol, 1999, 17: 2180 – 2189.
- [24] Takahashi S, Sugimoto Y. Gene therapy for breast cancer. Nippon Rinsho, 2005, 63: 476 – 482.
- [25] Cowan K H, Moscow J A, Huang H, *et al.* Paclitaxel chemotherapy after autologous stem-cell transplantation and engraftment of hematopoietic cells transduced with a retrovirus containing the multidrug resistance complementary DNA (MDR1) in metastatic breast cancer patients. Clin Cancer Res, 1999, 5: 1619 – 1628.
- [26] Chen Q R, Kumar D, Sanford A, *et al.* Liposomes complexed to plasmids encoding angiostatin inhibit breast cancer in nude mice. Cancer Res, 1999, 59: 3308 – 3312.
- [27] Gyorffy S, Palmer K, Podor T J, *et al.* Combined treatment of a murine breast cancer model with type 5 adenovirus vectors expressing murine angiostatin and IL-12 : a role for combined anti-angiogenesis and immunotherapy. J Immunol, 2001, 166: 6212 – 6217.
- [28] 张淑华, 葛银林, 罗达亚, 等. 小干扰 RNA 靶向 VEGF 基因体内外抑制乳腺癌细胞 MCF-7 的增殖. 中国生物化学与分子生物学报, 2007, 23: 68 – 73.
- [29] Hortobagyi G N, Ueno N T, Xia W, *et al.* Cationic liposome-mediated E1A gene transfer to human breast and ovarian cancer cells and its biologic effects; a phase I clinical trial. J Clin Oncol, 2001, 19: 3422 – 3433.
- [30] Yoo G H, Hung M C, Lopez B G, *et al.* Phase I trial of intratumoral liposome E1A gene therapy in patients with recurrent breast and head and neck cancer. Clin Cancer Res, 2001, 7: 1237 – 1245.
- [31] 管海涛, 薛兴欢, 王西京, 等. 靶向 survivin 的 siRNA 抑制乳腺癌 MCF-7 细胞增殖并诱导其凋亡. 中华肿瘤杂志, 2006, 28: 326 – 329.
- [32] Hernandez A R, Pihlaja M, Qian D, *et al.* New oncolytic adenoviruses with hypoxia and estrogen receptor-regulated replication. Hum Gene Ther, 2002, 13: 1737 – 1750.

(收稿日期: 2008-04-28)

(本文编辑: 周艳)