

· 综 述 ·

NIS 基因在肿瘤显像和治疗中的应用*

赵 祯 综述, 匡安仁[△] 审校

(四川大学华西医院核医学科, 成都 610041)

关键词: 钠碘同向转运体; 报告基因; 基因治疗; 肿瘤; 放射性核素

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.16.037

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)16-1885-03

基因转染介导放射性核素显像和治疗是将基因转染与核素显像和治疗相结合的方法, 基因转染使肿瘤细胞表达高水平的抗原、受体或膜蛋白, 特异性地摄取某一放射性核素或其标记物, 达到实现放射性核素显像诊断和内照射治疗的目的。钠碘同向转运体(sodium iodide symporter, NIS)是甲状腺滤泡细胞基底膜上的一种糖蛋白, 可逆浓度梯度向细胞内运碘, 是放射性碘治疗甲状腺疾病的基础。1996年, 鼠和人 NIS 基因被成功克隆, 使 NIS 基因转染肿瘤细胞介导放射性核素靶向显像和内照射治疗成为可能。已有文献综述 NIS 基因结构和功能、在不同组织中的表达、调节机制、摄碘能力等内容^[1], 本文就 NIS 基因在肿瘤显像和治疗中的应用作一综述。

1 NIS 作为报告基因在显像中的应用

1.1 报告基因显像 报告基因显像主要是利用基因融合、双顺反子、双启动子及双向转录等重组技术, 构建表达报告基因的载体, 将报告基因与治疗基因一同导入靶细胞或组织内, 然后注射与报告基因耦合的核素标记探针进行显像, 从而间接监测治疗基因的表达。放射性报告探针可反复、无创伤地监测基因表达的位置、数量及维持时间。NIS 介导核素治疗的同时本身也可作为报告基因直接进行肿瘤显像, 属于转运蛋白基因显像范畴, 利用放射性核素了解其在空间、不同时间靶/非靶组织的表达情况, 这对于治疗方案的制定、疗效的观察都具有重要的指导意义。放射性核素无需标记, 整个过程简洁、快速、直观、无创, 可用来监测肿瘤细胞、干细胞及巨噬细胞的活动^[2]。

1.2 NIS 基因监测肿瘤细胞、干细胞及巨噬细胞的活动 Ma 等^[3]以甲胎蛋白(AFP)启动子与增强子(AdPLEN)诱导 NIS 基因在肝癌细胞 HepG2(AFP 强阳性)中表达, Western-blotting 检测表明 AFP 启动子能在 AFP 阳性的 HepG2 细胞中诱导 NIS 基因的表达, HepG2 细胞的摄碘能力是肝癌细胞 SMMC7721(AFP 弱阳性)的 6 倍、宫颈癌细胞 HeLa(AFP 无表达)的 30 倍。瘤内转染 AdPLEN 的荷肝癌裸鼠尾静脉注射¹³¹I 后 2 h, 肿瘤部位放射性浓聚, 肿瘤显示清晰, 转染 AdPLEN 的肝癌病灶具有特异性摄碘能力, 可获得较好的显像效果, 证实利用 AFP 启动子与增强子联合调控 hNIS 基因对肝癌进行靶向核素显像是可行的。赵祯^[4]采用重组腺病毒 Ad-Sur-NIS, 对人肝癌细胞 HepG2、人肺癌细胞 A549、人激素非依赖性前列腺癌细胞 PC-3 进行转染。荷鼠^{99m}Tc 显像可见, 瘤内注射 Ad-Sur-NIS 组肿瘤部位放射性摄取明显增高, 肿瘤/对侧肌肉放射性比值(T/NT)为 35.11±4.43, 尾静脉注射 Ad-Sur-NIS 组肿瘤显影轻微增高(T/NT 为 5.22±0.81), 表明经外周静脉转染 Ad-Sur-NIS 成功, 与目前常用的肿瘤局部注射相比, 更加实用, 尤其对广泛转移病灶和深部肿瘤, 尽管明显低

于经瘤内转染。巨细胞病毒(CMV)启动子是非特异性强启动子, 阳性对照病毒 Ad-CMV-NIS 在肿瘤细胞和正常细胞中均能驱动 NIS 的转录和表达, 经尾静脉注射肿瘤未见显影(T/NT 为 2.03±0.67), 证明 Ad-Sur-NIS 对肿瘤组织的特异性和靶向性。阴性对照病毒 Ad-Sur-GFP 瘤内注射, 肿瘤亦未见显影(T/NT 为 1.79±0.51), 表明转染 Ad-Sur-NIS, NIS 使肿瘤细胞具有摄取^{99m}Tc 的能力而显影。

体内无创性监测干细胞移植治疗的影像学手段主要有 MRI、生物发光和放射性核素显像, 其中 NIS 作为报告基因可直接静脉注射放射性核素进行显像。胡硕等^[5]将 Ad-rNIS-EGFP 重组腺病毒载体转染至大鼠骨髓间充质干细胞(rat bone marrow mesenchymal stem cells, rBMSC), 转染细胞移植到大鼠心肌后, γ 显像能清晰显示移植部位的心肌, 心肌/右前肢放射性比值较对照组明显增高[(6.7±0.4) vs (3.0±0.2), $P=0.03$], 生物学分布实验和免疫组织化学检测结果均表明, rNIS 作为报告基因可有效监测 rBMSC 移植大鼠心肌。micro RNA(miRNA)是调节基因表达的非蛋白编码单链 RNA, 可作为新的肿瘤标志物。杨卫东等^[6]建立以 hNIS 为报告基因测量 miRNA 在细胞中表达的高灵敏度放射性核素新方法, 实现了实时活体监测 miRNA, 对于肿瘤的诊断具有重要意义。Seo 等^[7]建立稳定表达 NIS 和 GFP 的巨噬细胞系 RAW264.7/hNIS-GFP, ¹⁸F-FDG 和 ¹²⁴I PET 显像显示, NIS 作为报告基因可监测炎症动物模型中巨噬细胞的游走。

1.3 测定体内成像信号定量 NIS 表达 Groot-Wassink 等^[8]报道, C57/B6 鼠经尾静脉注射不同浓度的 Ad-CMV-NIS 重组腺病毒($10^8, 5 \times 10^8, 10^9, 2.5 \times 10^9$ PFU), 72 h 后进行 ¹²⁴I PET 显像, 显像完成后处死 C57/B6 鼠进行生物学分布实验, 随着 Ad-CMV-NIS 浓度增加, 病灶显影和摄碘能力逐渐增强, 二者表现出良好的线性相关性($r=0.9581$)。Vadysirisack 等^[9]建立稳定表达 NIS 的人甲状腺癌细胞(FTC133)、人宫颈癌细胞(HeLa)和鼠嗜铬细胞瘤细胞(PC12)系, 观察细胞内 NIS 蛋白表达水平与放射性碘吸收的相关性, 显示在一定范围内 NIS 蛋白水平增加, 放射性碘吸收增强, 二者呈线性相关, 继续增加 NIS 蛋白水平并不增加放射性碘吸收, 提示低水平 NIS 表达即可满足放射性核素显像, 监测基因表达水平和治疗基因持续时间。Penheiter 等^[10]研究亦显示出类似结果。Barton 等^[11]构建含双自杀基因 yCD/mutTKSR39rep 和报告基因 hNIS 的重组腺病毒(Ad5-yCD/mutTKSR39rep-hNIS), 6 例前列腺癌患者在直肠超声引导下直接注射重组腺病毒(5×10^{12} vp), 24 h 后进行 ^{99m}Tc SPECT/CT 显像, 监测双自杀基因在前列腺肿瘤中的分布、表达和消除情况。

2 启动子调控 NIS 基因在肿瘤治疗方面的应用

^{131}I 治疗分化性甲状腺癌 (different thyroid cancer, DTC) 已在临床广泛应用, 这是因为 DTC 细胞表达 NIS, 其逆浓度摄取血浆中的 ^{131}I , 使病灶浓聚大量的 ^{131}I , 利用 ^{131}I 发射的 β 射线发挥治疗作用。因此, NIS 基因转染介导放射性核素内照射治疗恶性肿瘤成为基因治疗又一发展方向。为提高 NIS 基因转染效率, 利用特异性启动子、增强子等转录调控元件增强 NIS 基因在肿瘤中的表达是常用的方法^[12-13]。

2.1 非肿瘤特异性启动子 非肿瘤特异性启动子属于强启动子, 如巨细胞病毒启动子 CMV, Ad-CMV-NIS 在肿瘤细胞和正常细胞中均能驱动 NIS 的转录和表达。黄蕤等^[14] 研究显示, Ad-CMV-NIS 感染激素非依赖型前列腺癌 PC-3 细胞, 细胞摄碘能力约为空病毒转染组的 120 倍, ^{125}I 在细胞内的半排期 $T_{1/2\text{ efflux}}$ 为 26.7 min, ^{125}I 在瘤体内的有效半衰期 $T_{1/2\text{ effective}}$ 为 5.4 h, ^{131}I 显像肿瘤显示清晰。然而, Ad-CMV-NIS 仅能进行肿瘤局部注射, 适用于局限性的表浅肿瘤, 在广泛转移病灶和深部肿瘤中的应用受到限制。如果静脉注射, 则非靶器官如肝脏摄取 Ad-CMV-NIS 相对较多, 而进入肿瘤细胞较少。 ^{131}I 在肿瘤中聚集相对较少达不到治疗效果, 同时又会增加对非肿瘤组织的辐射效应。

2.2 肿瘤特异性启动子 肿瘤特异性启动子可调控 NIS 基因选择性地表达在肿瘤靶细胞内, 最大程度增加对肿瘤组织的治疗效应, 尽量减小对正常组织的毒副作用。根据启动子的作用范围, 分为窄谱性启动子和广谱性启动子。

2.2.1 窄谱性启动子 窄谱性启动子作用范围较窄, 只能针对特异性表达该启动子基因的肿瘤细胞。Sptizweg 等^[15] 以前列腺癌特异抗原 (PSA) 启动子诱导 NIS 基因在前列腺癌细胞 LNCap (PSA 阳性) 中表达, LNCap 细胞摄碘力增加 50 倍, 而前列腺癌细胞 PC-3 和 DU-145 (PSA 阴性) 的摄碘能力没有变化, 该研究首次实现 NIS 基因的组织特异性表达。此后, Probasin 启动子在雄激素依赖的前列腺癌细胞^[16], MUC-1 启动子在乳腺癌细胞^[17] 以及 AFP 启动子在人肝癌细胞^[3, 18], 均可特异性启动 NIS 表达。然而, 该类启动子如 PSA 特异性启动子只能对激素依赖的前列腺癌细胞, 而对于激素非依赖的前列腺癌细胞, 其启动能力很弱, 限制了其进一步的运用。

2.2.2 广谱性启动子 广谱性启动子作用范围较广, 可作用于多种肿瘤细胞。凋亡抑制蛋白 Survivin 在大多数肿瘤组织异常高表达, 且与疾病的发展、预后密切相关。Huang 等^[19] 采用 Survivin 启动子调控 NIS 基因感染与前列腺癌 PC-3 细胞、肝癌 HepG2 细胞、黑色素瘤 A375 细胞, 感染 Ad-Sur-NIS 的恶性肿瘤细胞摄碘能力平均为空病毒转染组的 50 倍, 可特异性杀死 86%~92% 的恶性肿瘤细胞。该研究表明, Survivin 启动子具有肿瘤靶向性, 和针对多种肿瘤的广泛性, 而在非恶性肿瘤中不表达, 实现 NIS 转染的特异靶向性。然而, 感染 Ad-Sur-NIS 恶性肿瘤细胞的摄碘能力 ($12\ 092 \pm 977$ c. p. m.) 仅为感染 Ad-CMV-NIS 细胞 ($23\ 256 \pm 3\ 806$ c. p. m.) 的一半, 提示 Survivin 在启动基因表达强度上明显弱于非特异性启动子 CMV。

端粒酶反转录酶 (TRET) 在正常细胞中不表达或表达水平很低, 而在 85% 以上肿瘤中高表达^[20]。Shi 等^[21] 构建 Ad-hTRET-hNIS 重组腺病毒, 以 Ad-CMV-hNIS 为阳性对照, Ad-hTRET-hNIS 和 Ad-CMV-hNIS 转染肺癌 A549 细胞摄碘能力分别提高 23 倍和 31 倍, 克隆形成实验细胞成活率分别为 (31.2 ± 1.45)% 和 (23.6 ± 4.08)%, 而阴性对照 Ad-CMV 组为 (89 ± 2.99)%, 表明 hTRET 启动子调控 hNIS 基因可介导

肺癌放射性核素治疗, 但 hTRET 启动子在促表达方面仍弱于 CMV。Kim 等^[22] 以 hTRET 启动子诱导 NIS 基因在肝癌细胞 (Hep3B) 中表达, 细胞摄碘能力增加 20 倍 ($P < 0.05$), 细胞成活率为 (29.9 ± 2.8)%, 未转染组为 (67.6 ± 5.2)%, $P < 0.001$, 腹腔注射 ^{131}I 3mCi 后肿瘤生长受到抑制 ($P < 0.05$)。然而, 表达 NIS 基因 Hep3B 细胞内的碘很快流出 (10 min 流出 60%, 30 min 流出 80%, 有效半衰期 6 min), 肿瘤组织的摄碘率迅速降低 [30 min 为 (29.7 ± 7.8)% ID/g, 24 h 为 (0.6 ± 0.3)% ID/g], 提示碘的有效半衰期较短是影响治疗效果的主要因素之一。

3 问题与展望

转化医学是一门使体外研究和实验动物研究能够更好地应用于临床、直接服务于患者的交叉学科。NIS 基因可以利用影像方法对活体内分子的生物化学过程进行定性和定量研究, 是将基础医学研究成果迅速向临床应用转化的重要工具和主要路径, 可在疾病的诊断和治疗中发挥重要作用^[23-24]。然而, NIS 基因在转化医学中的应用还存在一些问题: (1) 组织特异性启动子或增强子能够诱导 NIS 基因在肿瘤的定向表达, 但表达强度上明显弱于非特异性启动子; (2)²¹¹At 和 ¹⁸⁸Re 能够克服 ^{131}I 有效半衰期较短的缺点, 但生产和运输困难限制了二者在临床上的广泛应用; (3) 转染 TPO 基因能否使 ^{131}I 有机化而延长有效半衰期还存有争议。

如上述问题能有效解决, 未来 NIS 基因应用于临床的最佳路径可能是成像-治疗一体化模式: 先对患者进行 NIS 基因放射性核素分子成像, 显示体内病灶中 NIS 基因的表达水平, 预测哪些患者会治疗有效, 哪些会无效, 进而指导开展个体化的分子靶向治疗。治疗前患者口服左旋甲状腺素钠片, 抑制促甲状腺激素 (TSH), 减少甲状腺对 ^{131}I 摄取, 保护正常甲状腺组织。治疗期间需监测甲状腺激素变化, 告知患者存在永久性甲状腺功能减退、终身服用甲状腺素片进行替代治疗的风险。

参考文献:

- [1] Bizhanova A, Kopp P. Minireview: the sodium-iodide symporter NIS and pendrin in iodide homeostasis of the thyroid[J]. *Endocrinology*, 2009, 150(3): 1084-1090.
- [2] Penheiter AR, Russell SJ, Carlson SK. The sodium iodide symporter (NIS) as an imaging reporter for gene, viral, and cell-based therapies[J]. *Curr Gene Ther*, 2012, 12(1): 33-47.
- [3] Ma XJ, Huang R, Kuang AR. AFP promoter enhancer increased specific expression of the human sodium iodide symporter (hNIS) for targeted radioiodine therapy of hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Invest*, 2009, 27(6): 673-681.
- [4] 赵祯. Ad-Sur-NIS 和 Smac A8 的制备及其介导肿瘤放射性核素显像与治疗的基础研究[D]. 成都: 四川大学, 2011.
- [5] 胡硕, 兰晓莉, 曹卫, 等. 利用报告基因 rNIS 监测大鼠骨髓间充质干细胞移植大鼠心肌的可行性研究[J]. *中华核医学杂志*, 2010, 30(3): 180-184.
- [6] 杨卫东, 赵荣, 秦伟伟, 等. hNIS 基因介导碘摄取测量 microRNA let-7 在肺癌 A549 细胞中的表达[J]. *中华核医学杂志*, 2009, 12(6): 379-382.
- [7] Seo JH, Jeon YH, Lee YJ, et al. Trafficking macrophage migration using reporter gene imaging with human sodi-

- um iodide symporter in animal models of inflammation [J]. *J Nucl Med*, 2010, 51(10):1637-1643.
- [8] Groot-Wassink T, Aboagye EO, Wang Y, et al. Quantitative imaging of Na/I symporter transgene expression using positron emission tomography in the living animal [J]. *Mol Ther*, 2004, 9(3):436-442.
- [9] Vadysirisack DD, Shen DH, Jhiang SM. Correlation of Na⁺/I symporter expression and activity; implications of Na⁺/I symporter as an imaging reporter gene [J]. *J Nucl Med*, 2006, 47(1):182-190.
- [10] Penheiter AR, Griesmann GE, Federspiel MJ, et al. Pin-hole micro-SPECT/CT for noninvasive monitoring and quantitation of oncolytic virus dispersion and percent infection in solid tumors [J]. *Gene Ther*, 2012, 19(3):279-287.
- [11] Barton KN, Stricker H, Elshaikh MA, et al. Feasibility of adenovirus-mediated hNIS gene transfer and ¹³¹I radioiodine therapy as a definitive treatment for localized prostate cancer [J]. *Mol Ther*, 2011, 19(7):1353-1359.
- [12] Knoop K, Kolokythas M, Klutz K, et al. Image-guided, tumor stroma-targeted ¹³¹I therapy of hepatocellular cancer after systemic mesenchymal stem cell-mediated NIS gene delivery [J]. *Mol Ther*, 2011, 19(9):1704-1713.
- [13] Verburg FA, Brans B, Mottaghy FM. Molecular nuclear therapies for thyroid carcinoma [J]. *Methods*, 2011, 55(3):230-237.
- [14] 黄蕤, 马晓娟, 李素平, 等. 重组 hNIS 病毒感染前列腺癌激素非依赖性细胞介导放射性碘治疗 [J]. *生物医学工程学报*, 2010, 27(5):1080-1084.
- [15] Spitzweg C, Zhang SB, Bergert ER, et al. Prostate-specific antigen (PSA) promoter-driven androgen-inducible expression of sodium iodide symporter in prostate cancer cell lines [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(9):2136-2141.
- [16] Trujillo MA, Oneal MJ, McDonough S, et al. A probasin promoter, conditionally replicating adenovirus that expresses the sodium iodide symporter (NIS) for radiovirotherapy of prostate cancer [J]. *Gene Ther*, 2010, 17(11):1325-1332.
- [17] Trujillo MA, Oneal MJ, Davydova J, et al. Construction of an MUC-1 promoter driven, conditionally replicating adenovirus that expresses the sodium iodide symporter for gene therapy of breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2009, 11(4):456-458.
- [18] Klutz K, Willhauck MJ, Wunderlich N, et al. Sodium iodide symporter (NIS)-mediated radionuclide (¹³¹I, ¹⁸⁸Re) therapy of liver cancer after transcriptionally targeted intratumoral in vivo NIS gene delivery [J]. *Hum Gene Ther*, 2011, 22(11):1403-1412.
- [19] Huang R, Zhao Z, Ma X, et al. Targeting of tumor radioiodine therapy by expression of the sodium iodide symporter under control of the survivin promoter [J]. *Cancer Gene Ther*, 2011, 18(2):144-152.
- [20] Li W, Tan J, Wang P, et al. Cotransfected sodium iodide symporter and human tyroperoxidase genes following human telomerase reverse transcriptase promoter for targeted radioiodine therapy of malignant glioma cells [J]. *Cancer Biother Radio*, 2011, 26(4):443-451.
- [21] Shi YZ, Zhang J, Liu ZL, et al. Adenovirus-mediated and tumor-specific transgene expression of the sodium-iodide symporter from the human telomerase reverse transcriptase promoter enhances killing of lung cancer cell line in vitro [J]. *Chinese Med J Peking*, 2010, 123(15):2070-2076.
- [22] Kim SH, Chung HK, Kang JH, et al. Tumor-targeted radionuclide imaging and therapy based on human sodium iodide symporter gene driven by a modified telomerase reverse transcriptase promoter [J]. *Hum Gene Ther*, 2008, 19(9):951-957.
- [23] Ahn BC. Sodium iodide symporter for nuclear molecular imaging and gene therapy: from bedside to bench and back [J]. *Theranostics*, 2012, 2(4):392-402.
- [24] Bellaoui W, Ghfir I, Guerrouj H, et al. Anti-cancer gene radioiodine therapy using the NIS: a very promising approach [J]. *Med Nucl*, 2011, 35(10):537-544.

(收稿日期:2012-12-28 修回日期:2013-01-22)

• 综述 •

Bmi-1 基因在头颈部肿瘤中的研究进展*

刘小艳¹综述, 许新华^{1,2△}审校

(1. 三峡大学第一临床医学院肿瘤科, 湖北宜昌 443003; 2. 三峡大学肿瘤研究所, 湖北宜昌 443003)

关键词: Bmi-1 基因; 结构功能; 头颈部肿瘤

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.16.038

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)16-1887-04

莫洛尼鼠白血病病毒整合位点-1 (B cell-specific moloney murine leukemia virus integration site 1, Bmi-1) 基因, 属于多梳

基因家族 (polycomb group genes, PcG), 为较早发现的哺乳类动物 PcG 成员。大量国内外研究表明, Bmi-1 基因表达异常与

* 基金项目: 湖北省卫生计生厅科研基金资助项目 (JX4B52); 2011 年宜昌市科技研究与开发基金资助项目 (A11301-04); 2011 年度湖北省自然科学基金资助项目 (2011CDB330)。 作者简介: 刘小艳 (1987~), 硕士研究生在读, 主要从事肿瘤综合治疗研究。 △ 通讯作者, Tel: (0717) 6487360; E-mail: xuxinhua@medmail.com.cn。