

人尿激酶基因治疗的研究

崔 宁 韩琴琴 陈灏珠 宋后燕*

(上海医科大学附属中山医院,*分子遗传学研究室,上海市心血管病研究所,上海 200032)

尿激酶(urokinase,UK)为溶血栓药物,其来源为人尿,生产过程繁琐,而且有混杂肝炎病毒、爱滋病毒的危险。若将UK基因导入体内,表达有生物活性的UK,对提高血浆纤溶活性、预防血栓形成有重要作用,并能避免上述缺点。我们用动物实验证明将外源的UK基因导入体内后能够持续提高血浆的纤溶活性,为血栓性疾病的基因治疗展示了前景。

人肾细胞 mRNA 通过逆转录和 PCR 构建含 982 bp、编码小分子量尿激酶(micro-urokinase,mUK)的 cDNA 克隆,mUK cDNA 与 LNSX 逆转录病毒载体重组后用磷酸钙介导的贴壁细胞转染法转染病毒包装细胞 PA317,电

镜下观察到大量的重组病毒颗粒在 PA317 细胞内形成,分布于细胞各处,呈椭圆形,直径 80~120 nm,外壳较暗,核心较淡。收集的病毒颗粒感染 NIH3T3 细胞,证实培养液病毒滴度为 8×10^5 cfu/ml。病毒颗粒从小鼠皮下注入体内。尾部分取血测血浆的纤溶活性,并检测外源基因整合情况。病毒颗粒导入体内七天后血中的纤溶活性由基础水平的 0.69 IU/ml 升高至 2.72 IU/ml ($P < 0.05$),免疫荧光组织化学显示注射部位组织细胞呈强阳性。上述结果表明外源的 mUK 转录单位导入小鼠体内后得到预期表达,本研究显示了人类血栓性疾病基因治疗的可行性。