

人 t-PA 基因治疗的实验研究

崔 宁 韩琴琴 陈灏珠 宋后燕*

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

将组织型纤溶酶激活剂(tissue-type plasminogen activator, t-PA)cDNA 转录单位导入体内可望长期升高机体的纤溶活性,从而防治以血栓形成为主要病理变化的疾病,体现 t-PA 基因治疗的效果。本文报道 t-PA 基因治疗的临床前研究。

将全长 1.9 kb 的 t-PA cDNA 与逆转录病毒载体 LNSX 重组后转染病毒包装细胞 PA317,形成重组逆转录病毒颗粒,电镜下,重组病毒散在分布于胞浆和胞外等处,呈球形,直径 90~150 nm 不等。重组病毒感染 NIH 3T3 细胞,经 G418 筛选培养,两周后形成阳性细胞克隆形成,培养液中病毒滴度达 5×10^5 cfu/ml。免疫荧光组织化学染色证实 t-PA 在胞内高效表达。

重组逆转录病毒颗粒分别经背部皮下、腹腔及骨骼肌等途径注入 30 只小鼠体内,定期从尾部取血,发色底物法测量 t-PA/PAI-1 活性。部分动物处死,取注射部位组织,经切片后进行免疫组织化学染色。结果表明小鼠注射重组病毒颗粒后血浆 t-PA 活性开始逐渐升高,并保持在基础水平的 3 倍以上,与此相反,PAI-1 活性明显降低。免疫组织化学染色证实 t-PA 在注射局部细胞中的表达水平明显高于对照动物。目前血浆 t-PA 水平已持续升高 3 月余。表明 t-PA 基因已成功地导入小鼠体细胞,在体细胞内表达的 t-PA 分泌进入血液循环,提高了血浆的纤溶活性。如果该项基因治疗应用于人体并获成功,将能有效地防治血栓性疾病。