

动脉粥样硬化基因治疗研究的回顾与展望

范 乐 明

(南京医科大学动脉粥样硬化研究中心, 南京 210029)

范乐明, 男, 1964 年毕业于南京医学院, 先后从事内科学临床和病理生理学的教学和科学研究等工作, 现任南京医科大学动脉粥样硬化研究中心主任、病理生理学教授、博士生导师。主要专业领域为脂蛋白代谢和动脉粥样硬化。1986 年曾于美国 Louisville 大学进修, 回国后从事脂蛋白受体研究工作, 先后承担国家“七五”和“八五”科技攻关任务。1995 年和 1997 年作为高级访问学者和王宽诚奖学金客座研究员, 赴英国伦敦大学进一步进修分子生物学实验技术。已在国内外杂志发表学术论文 60 余篇, 研究成果分别获得江苏省政府科技进步三等奖 2 项(1989 和 1992 年)、二等奖 2 项(1985 和 1996 年)、卫生部和国家教委科技进步二等奖各一项(1992 和 1997 年), 于 1993 年获准享受政府特殊津贴, 1995 年被江苏省政府授予“中青年有突出贡献专家”称号。现担任中国病理生理学会动脉粥样硬化专业委员会常务委员、江苏省病理生理学会常务理事和《中国动脉硬化杂志》常务编委。近年主要从事高脂血症和动脉粥样硬化基因治疗的基础研究。



基因治疗是指通过纠正遗传缺陷、表达治疗性基因产物或灭活致病基因而治疗疾病。心血管由于相对易于进入而被认为是基因治疗的最佳靶器官, 而且仅需目的基因的暂时性表达, 即可获得一定的治疗效应。有鉴于此, 基因治疗已成为心血管疾病治疗中很有希望的一个领域。动脉粥样硬化作为心血管疾病的最主要病理基础, 有关基因防治的研究显得十分活跃。本文就此领域作一简要回顾与展望。

1 基因转移方法

基因治疗成功的必要条件是将目的基因送达靶组织, 使之进入细胞并获得有效表达。已证明各种微孔的、涂有水凝胶的或带气囊的导管均有助于将目的基因送达心血管系统靶组织, 因而经血管内基因转移已成为心血管疾病基因治疗的可行方法^[1]。但是, 对需要通过动脉粥样硬化病灶转移者效率甚低, 因为这些部位通常富含结缔组织而可转染的细胞数量很有限。有人设计从血管内部注射或用乳头导管直接将基因送入动脉壁^[2], 也有使用硅橡胶或生物能分解的轴套(*collar*)^[3]、凝胶或在外膜直接注射的方法进行经血管外膜的基因转移。在血管吻合、修补、旁路等手术中, 采用经外膜的基因转移法更为方便。血管外的基因转移若能使外膜和中层平滑肌细胞或外膜毛细血管的内皮细胞表达能分泌的

治疗性蛋白质也同样能发挥治疗作用^[4]。向小动脉或毛细血管输送目的基因的另一种方法是注射涂有含目的基因表达质粒的生物可降解性微球^[5], 后者可在数天内不断释放治疗性表达产物。已发现多种器官的血管内皮细胞含有特异标记, 有利于脂质体和病毒载体的靶向性定位^[6]。若同时合用超声^[7]或微泡^[8]技术将有助于增加基因转移的效率。

将目的基因输入心包是治疗冠状动脉粥样硬化的另一种方法。已证实腺病毒注入心包可高效表达目的基因^[9], 此法也可用于心肌缺血、心功能不全、心肌病等治疗, 但需防止心包内出血和其他并发症。值得进一步探讨的是建立一种安全有效的经皮注入心包的方法, 作为向冠状动脉输送基因的途径。

先将病人体内的靶细胞取出, 在体外转染后经培养和筛选再植回体内有助于提高转染效率和安全性, 尤其适用于分泌性蛋白质的治疗性表达。骨骼肌细胞因量大和容易操作等特点而较常被采用^[10]。Cigffi 等^[11]将经载脂蛋白 E 基因转导的内皮细胞植回载脂蛋白 E 基因敲除小鼠体内, 获得了使该动物模型因缺乏载脂蛋白 E 所致的高胆固醇血症和动脉粥样硬化病变明显减轻的效果, 表明内皮细胞也可作为产生治疗性蛋白质的场所。

国内近年来发展的几种新的基因转移体系, 对血管系统的基因转移也很有用^[12]。例如应用内皮素受体介导的基因转移法可直接高效转染血管内皮细胞和平滑肌细胞;“基因缝线”和电针介导的基因

转移则使血管或骨骼肌的局部性基因转移更为有效而方便。

2 表达载体的改进

心肌内注射或冠状动脉灌注重组腺辅助病毒(*adeno-associated viruses*, AAV)载体已能使心肌细胞获得有效和稳定地转染^[13]。AAV的主要优点是可被整合入宿主细胞的基因组,从而使目的基因表达持久。另一特点是能感染静止期细胞,使其应用范围不象逆转录病毒那样仅限于分裂期细胞。晚近还发现AAV感染抗原递呈细胞的能力极低,较少激发细胞免疫^[14],因而更有利于临床的重复使用。其最大缺点是包装容量有限,除较小的目的基因外,一般不能再容纳有关调节组分。Ye等^[15]最近为此设计了一种双重载体系统,可通过口服雷帕霉素(*rapamycin*)调节目的基因的表达,他们使转移入骨骼肌的促红细胞生成素基因表达水平提高200倍。此外,AAV载体介导的目的基因的表达还可通过对启动子特异性的选择来控制其表达范围。

腺病毒载体虽已被广泛用于血管系统的基因转移,但病毒-靶细胞作用效率有限。近来对腺病毒结构、腺病毒与受体之间相互作用认识的进展促进了靶向性腺病毒载体发展。方法之一是加入双特异性分子,后者在阻止腺病毒与其天然受体结合的同时介导腺病毒与组织特异性受体相结合。另一种办法系通过基因工程消除腺病毒与天然受体结合的能力并在腺病毒外壳蛋白中增加一个新的组织特异性配基^[16]。Kibbe等^[17]借助基因工程使腺病毒的纤维外壳蛋白含有带正电的赖氨酸,使腺病毒具有对血管系统中常见的硫酸肝素受体的靶向性,从而明显提高了对血管系统的转移效率。

Veit等^[18]对以安全著称的阳离子脂质体进行优化,在兔平滑肌细胞获得约50%的转化率,并使人诱导型一氧化氮合酶(*iNOS*) 在活体兔内平滑肌细胞成功表达,持续5~6天,表明非病毒载体也可应用于心血管疾病的在体基因治疗。汤健等^[12]创建了用重组腺病毒纤维蛋白质镶嵌脂质体而成的“病毒脂质体”(adenosome),其转染平滑肌细胞的效率由单纯脂质体的2%提高到30%~40%以上。

3 基因转移在动脉粥样硬化防治中的应用

动脉粥样硬化病变一般在人早年即已开始,经20~30年才被临床发觉,其发病涉及很多基因和环境因素,因而任何局部性基因疗法对于动脉粥样硬

化的一级预防似不适用。然而,针对具体病人的主要危险因子或发病环节进行基因干预是可取的。对于致动脉粥样硬化的严重遗传性疾病,则可以采用补充正常基因或灭活致病基因的方法加以纠正。

3.1 针对主要危险因子或发病环节的基因干预

流行病学研究发现血浆高密度脂蛋白(HDL)浓度与动脉粥样硬化的发生呈负相关。一般认为载脂蛋白AI和载脂蛋白E在胆固醇逆转运(RCT)的分子机制中发挥重要作用,是HDL抗动脉粥样硬化作用的主要组分^[19]。已发现LCAT为HDL颗粒的成熟所必需,能调节血浆HDL浓度^[20]。HDL在外周细胞获取的胆固醇可被结合于HDL颗粒中的LCAT酯化(而LCAT又需要载脂蛋白AI激活),后者是将胆固醇从外周组织转移至肝脏并清除出体外的一个关键步骤^[19]。范乐明等^[21~23]据此设计载脂蛋白AI、载脂蛋白E和LCAT的联合基因增补策略:构建含载脂蛋白AI、载脂蛋白E3和LCAT cDNA的质粒载体、重组腺病毒载体、重组AAV质粒载体和能同时表达多个基因的多顺反子逆转录病毒载体,分别转染离体小鼠肌母细胞、人293细胞或直接注入小鼠骨骼肌。结果证实均能有效表达和分泌人载脂蛋白AI、载脂蛋白E和LCAT,提示以上述方法来实现体内高效、长期、同时表达和分泌上述三种胆固醇逆转运关键性蛋白质可能是一种防治动脉粥样硬化的安全而简易的方法。Hasty等^[24]最近从载脂蛋白E基因敲除的供体小鼠取出骨髓细胞,在体外用逆转录病毒转导载脂蛋白E基因后再移植回载脂蛋白E基因敲除的受体小鼠,结果使后者动脉壁巨噬细胞表达载脂蛋白E,并且明显减少了早期泡沫细胞性病灶的形成。认为载脂蛋白E在动脉壁巨噬细胞表达可促进其所负荷的胆固醇外流,并促进动脉壁胆固醇的逆转运。

脂蛋白(a)已被公认为动脉粥样硬化的独立危险因子,且与遗传有关,药物或饮食控制等措施均难以见效。特异性反义寡核苷酸虽可以减少其表达,但因载脂蛋白(a)与血纤维蛋白溶解酶原(plasminogen)的高度同源性使其临床应用受限。Morishita等^[25]采用能裂解靶基因的核糖酶(ribozyme)选择性抑制载脂蛋白(a)的表达,而对血纤维蛋白溶解酶原没有影响。对致动脉粥样硬化的载脂蛋白B100血浓度增高者,Greeve等^[26]采用肝脏靶向性转导载脂蛋白B mRNA编辑酶(editing enzyme)的催化亚单位,后者可使肝细胞转录的载脂蛋白B mRNA翻译成载脂蛋白B40而减少载脂蛋白B100的产生。氧化型LDL和清道夫受体(scavenger receptor, SR)在动

脉粥样硬化的发生发展中起重要作用。已证实分泌型的可溶性 A 类清道夫受体 (SR-A) 通过与细胞表面 SR-A 竞争对特异配基的结合, 可减少单核巨噬细胞对修饰型脂蛋白的摄取和降解。有报告通过基因转移技术增加抗氧化酶、可溶性清道夫受体的表达可防止泡沫细胞的形成^[27]。另一方面, B 类清道夫受体 (SR-BI) 则已被确认为高密度脂蛋白 (HDL) 的受体, 可介导肝细胞对 HDL 胆固醇的选择性摄取, 有助于外周组织胆固醇向肝脏的逆转运。Kazarisky 等^[28]最近对喂饲胆固醇的 LDL 受体缺陷小鼠注射含小鼠 SR-BI 基因的重组腺病毒载体, 使其肝细胞过表达 SR-BI, 结果小鼠动脉粥样硬化病灶的形成受到明显抑制。

内皮细胞受损和平滑肌细胞增殖也是动脉粥样硬化病变发生的重要环节, 针对性的基因干预应有用武之地。已证实促进血管生长的因子不仅在胚胎发生期间控制血管发育, 而且对成年血管功能的维持也很重要。例如血管内皮生长因子 (VEGF) 能刺激内皮细胞生成一氧化氮和释放前列腺素。在动脉壁, VEGF、一氧化氮和前列腺素均为细胞保护剂, 可促进内皮修复、防止血小板聚合并控制平滑肌细胞增殖^[29]。Miyatake 等^[30]报告用具有细胞杀伤作用的重组单纯疱疹病毒可抑制血管平滑肌细胞增殖。Murakami 等^[31]则通过激肽释放酶基因减轻血管成型术后大鼠动脉内平滑肌细胞增殖和新内膜形成。已证实针对 *c-myc*、*c-myc*、*cdc-2*、*cdk-2*、*ras*、*bcl-x*、*NF [KAPPA] B*、*E2F* 和增殖细胞核抗原 (PCNA) 等的反义寡核苷酸以及 *p21*、*p27*、*p53*、生长终止同源盒 (GAX)、衰老细胞源性抑制物 (senescent cell-derived inhibitor) 等基因也具有减轻实验动物动脉内膜增厚的能力。此外, 将一氧化氮合酶 (NOS)、金属蛋白酶组织抑制物 (tissue inhibitor of metalloproteinase)、环加氧酶 (cyclooxygenase) 等基因转移至动脉壁也能减轻实验动物的新生内膜增厚^[32]。

3.2 致动脉粥样硬化遗传性疾病的纠正

已发现多种遗传性疾病与动脉粥样硬化的发生发展有关。例如因低密度脂蛋白 (LDL) 受体缺陷所致的家族性高胆固醇血症患者, 往往早年就发生严重的动脉粥样硬化, 其纯合子患者多于成年期前即死于冠心病。对此不少实验室采用肝脏靶向性转移正常 LDL 受体基因的方法加以纠正, 而且技术方法不断改进以增进转染效率^[33]和延长转基因的表达时间^[34]。Chen 等^[35]构建 LDL 受体的重组 AAV 载体, 用腺病毒脂质体 (adenosome) 转导入实验性高胆固醇血症兔的肝脏, 结果使血浆 LDL 水平明显降

低, HDL/LDL 增高。脂蛋白脂酶和肝脂酶系脂蛋白代谢中的关键酶, 对于这些酶缺陷的患者, 采用肝脏靶向或肌肉靶向性的基因增补治疗也是有益的^[36]。由卵磷脂胆固醇酰基转移酶 (lecithin cholesterol acetyltransferase, LCAT) 缺陷所致的低 α -脂蛋白血症则可通过补充正常 LCAT 基因而获得缓解^[37]。

4 展望

已经进行的人类基因治疗方案已逾 300 项, 但迄今无一被证实完全有效, 其主要障碍是缺乏有效的基因转移系统以及缺乏对疾病发生发展机制的深入了解。在方法学方面, 今后需要发展更有效的转移方法和表达载体。有证据表明加用组织胺、鱼精蛋白等药物有可能改进目的基因向靶组织的转移; 采用聚合性复合物或核靶向性质粒有助于改善非病毒法基因转移的效率^[32]。对重组病毒载体则应进一步改进其免疫耐受性和安全性。选用由剪切应力改变、内皮损伤或特定药物等激活的启动子或对增殖的内膜平滑肌细胞特异性的启动子将可使由其控制的目的基因只在需要的时间和地点表达, 从而增加基因治疗的安全性^[38]。综合数种载体的优点组成新载体有望克服单个载体的缺点。例如将日本血凝病毒 (Hemagglutinating virus of Japan; Sendai virus, HVJ) 的融合蛋白与含目的基因 DNA 的脂质体结合组成 HVJ-liposomes 即成为有效的体内基因转移系统, 尤其适用于心血管系统。Kaneda 等^[39]已将此成功用于防止气囊损伤后再狭窄和实验性缺血。与其他病毒载体系统相比, 其免疫原性和细胞毒性明显减轻。若再加入 EBV (Epstein-Barr virus) 的复制子, 则目的基因的表达将更为持久。至今尚没有单一的载体系统能普遍适用于心血管系统, 近年将会发展一些心血管组织特异性和病理学特异性的最适载体。具有靶向性、持久性、可调节性和非免疫原性的合成性载体应该是载体发展的最终方向。

对病变性质、发病环节和机制的深入了解有助于设计正确的治疗方案。将来, 核磁共振成像术或血管内超声波扫描术有望可显示出心肌内或血管壁的病灶, 这将有助于阐明基本病变的本质和对目的基因的选择: 例如用于治疗富含脂质的粥样瘤的基因显然不同于治疗富含高度增殖的平滑肌的病灶; 而被确定为脆弱易损的斑块者则提示可选用抑制巨噬细胞功能、白细胞流入、基质金属蛋白酶或炎症介质的特异性治疗基因^[40]。迄今仅有少数生长因子或其基因被用于诱导缺血心肌或肢体的血管新生,

而人类基因组计划和基因芯片技术有可能找到更多的生血管因子。将来有可能联合使用 *VEGFs*、*FGFs* 和生血管素(*angiopoietins*)等多种血管生长因子以模拟更符合生理的血管新生作用。由多种治疗性基因组成的“基因鸡尾酒”或多种基因的序贯输入可能比单纯使用单一的生长因子更有效。对于动脉粥样硬化, 基因治疗的目标之一是抑制平滑肌细胞迁移和增殖、结缔组织形成以及不适当的生长因子的作用。新近发现天蚕抗菌肽(*preprocecropine A*) 基因可通过阻断 *PDGF* 表达或其受体或者阻断 *PCNA* 的表达或其受体而减轻平滑肌细胞增殖; 用以灭活内膜增厚发病环节中关键介质的核糖酶也有类似作用。进一步发现和鉴定信号转递途径中的转录因子或介质尚可进一步增加治疗性干预的靶基因^[41]。可以预计, 随着生物技术的高速发展以及对疾病本质的进一步认识, 动脉粥样硬化性心血管疾病的基因治疗必将获得更快的发展。

参考文献

- [1] Yla-Herttuala S. Vascular gene transfer [J]. *Curr Opin Lipidol*, 1997, **8**: 72- 76
- [2] Bailey SR. Mechanisms of delivery and local drug technologies [J]. *Semin Interv Cardiol*, 1996, **1**: 17- 23
- [3] Laitinen M, Pakkanen T, Luoma J, et al. Gene transfer into the carotid artery using an adventitial collar: comparison of the effectiveness of plasmid- liposome complexes, retroviruses, pseudotyped retroviruses and adenoviruses [J]. *Hum Gene Ther*, 1997, **9**: 1 645- 650
- [4] Laitinen M, Zachary I, Breier G, et al. VEGF gene transfer reduces intimal thickening via increased production of nitric oxide in carotid arteries [J]. *Hum Gene Ther*, 1997, **8**: 1 737- 744
- [5] Arras M, Mollnau H, Strasser R, et al. The delivery of angiogenic factors to the heart by microsphere therapy [J]. *Nat Biotechnol*, 1998, **15**: 159- 162
- [6] Folkman J. Clinical applications of research on angiogenesis [J]. *N Engl J Med*, 1995, **333**: 1 757- 763
- [7] Lawrie A, Briskin AF, Francis SE, et al. Ultrasound enhances reporter gene expression after transfection of vascular cells in vitro [J]. *Circulation*, 1999, **99**: 2 617- 620
- [8] Villanueva FS, Jankowski RJ, Klibanov S, et al. Microbubbles targeted to intercellular adhesion molecule- 1 bind to activated coronary artery endothelial cells [J]. *Circulation*, 1998, **98**: 1- 5
- [9] Lamping KG, Rios CD, Chun JA, et al. Intrapericardial administration of adenovirus for gene transfer [J]. *Am J Physiol*, 1997, **272**: H310- 317
- [10] Svensson EC, Tripathy SK, Leiden JM. Muscle- based gene therapy: realistic possibilities for the future [J]. *Mol Med Today*, 1996, **2** (4): 166- 172
- [11] Cioffi L, Sturtz F G, Wittmer S, et al. A novel endothelial cell- based gene therapy platform for the in vivo delivery of apolipoprotein E [J]. *Gene Therapy*, 1999, **6**(6): 1 153- 159
- [12] 汤健, 陈光慧, 周爱儒, 等. 心血管分子生物学的研究- 北京医科大学心血管基础研究所工作进展[J]. 北京医科大学学报, 1999, **31** (6): 481- 484
- [13] Svensson EC, Marshall DJ, Woodard K, et al. Efficient and stable transduction of cardiomyocytes after intramyocardial injection or intracoronary perfusion with recombinant adeno- associated virus vectors [J]. *Circulation*, 1999, **99**: 201- 205
- [14] Jooss k, Yang Y, Fisher KJ, et al. Transduction of dendritic cells by DNA viral vectors directs the immune response to transgene products in muscle fibers [J]. *J Virol*, 1998, **72**: 4 212- 223
- [15] Ye X, Rivera VM, Zolnick P, et al. Regulated delivery of therapeutic proteins after in vivo somatic cell gene transfer [J]. *Science*, 1999, **283**: 8 891
- [16] Wickham TJ. Targeting adenovirus [J]. *Gene Ther*, 2000, **7** (2): 110- 114
- [17] Kibbe MR, Murdock A, Wickham T, et al. Optimizing cardiovascular gene therapy: increased vascular gene transfer with modified adenoviral vectors [J]. *Arch Surg*, 2000, **135** (2): 191- 197
- [18] Veit K, Boissel JP, Buerke M, et al. Highly efficient liposome- mediated gene transfer of inducible nitric oxide synthase in vivo and in vitro in vascular smooth muscle cells [J]. *Cardiovasc Res*, 1999, **43** (3): 808- 822
- [19] Fielding CJ, Fielding PE. Molecular physiology of reverse cholesterol transport [J]. *J Lipid Res*, 1995, **36**: 211- 228
- [20] Brousseau ME, Kauffman RD, Herderick EE, et al. LCAT modulates atherogenic plasma lipoproteins and the extent of atherosclerosis only in the presence of normal LDL receptors in transgenic rabbits [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20** (2): 450- 458
- [21] Fan L, Dunkley MG, Owen JS, Dickson G. Efficient coexpression and secretion of antiatherogenic human apolipoprotein AI and lecithin- cholesterol acyltransferase by cultured muscle cells using adeno- associated virus plasmid vectors [J]. *Gene Therapy*, 1998, **5**: 1 434- 440
- [22] Fan L, Owen JS, Dickson. Construction and characterization of polycistronic retrovirus vectors for sustained and high-level coexpression of apolipoprotein A-I and lecithin cholesterol acyltransferase [J]. *Atherosclerosis*, 1999, **147** (1): 139- 145
- [23] 范乐明, 张慧, 陈琪, 等. 胆固醇逆转运相关蛋白基因在骨骼肌的表达 [J]. 生物化学与生物物理学报, 2000, **32** (2): 109- 114
- [24] Hasty AH, Linton MRF, Brandt SJ, et al. Retroviral gene therapy in apoE- deficient mice. ApoE expression in the artery wall reduces early foam cell lesion formation [J]. *Circulation*, 1999, **99**: 2 571- 576
- [25] Morishita R, Yamada S, Yamamoto K, et al. Novel therapeutic strategy for atherosclerosis: ribozyme oligonucleotides against apolipoprotein(a) selectively inhibit apolipoprotein (a) but not plasminogen expression [J]. *Circulation*, 1998, **98**: 1 898- 904
- [26] Greeve J, Jona VK, Chowdhury NR, et al. Hepatic gene transfer of the catalytic subunit of the apolipoprotein B mRNA editing enzyme results in a reduction of plasma LDL levels in normal and watanabe heritable hyperlipidemic rabbits [J]. *J Lipid Res*, 1996, **37**: 2 001

- 017

- [27] Laukkanen J, Lehtolainen P, Gough PJ, et al. Adenovirus-mediated gene transfer of a secreted form of human macrophage scavenger receptor inhibits modified low-density lipoprotein degradation and foam-cell formation in macrophages [J]. *Circulation*, 2000, **101** (10): 1 091- 096
- [28] Kozarsky KF, Donahee MH, Glick JM, et al. Gene transfer and hepatic overexpression of the HDL receptor SR-BI reduces atherosclerosis in the cholesterol-fed LDL receptor-deficient mouse [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000. **20** (3): 721- 727
- [29] Laitinen M, Hartikainen J, Eranen J, et al. Catheter-mediated VEGF gene transfer to human coronary arteries after angioplasty [J]. *Hum Gene Ther*, 2000, **110**: 263- 270
- [30] Miyatake SI, Yukawa H, Toda H, et al. Inhibition of rat vascular smooth muscle cell proliferation in vitro and in vivo by recombinant replication-competent herpes simplex virus [J]. *Stroke*, 1999, **30** (11): 2 431- 439
- [31] Murakami H, Yayama K, Miao RQ, et al. Kallikrein gene delivery inhibits vascular smooth muscle cell growth and neointima formation in the rat artery after balloon angioplasty [J]. *Hypertension (Baltimore)*, 1999, **34** (2): 164- 170
- [32] Yla-Herttuala S, Martin JF. Cardiovascular gene therapy [J]. *Lancet*, 2000, **355**: 213- 222
- [33] Pakkanen T, Laitinen M, Hippelainen M, et al. Enhanced plasma cholesterol lowering effect of retrovirus-mediated LDL receptor gene transfer to WHHL rabbit liver after improved surgical technique and stimulation of hepatocyte proliferation by combined partial liver resection and thymidine kinase-ganciclovir treatment [J]. *Gene Ther*, 1999, **6**: 34- 41
- [34] Stein CS, Martins I, Davidson BL. Long-term reversal of hypercholesterolemia in low density lipoprotein receptor (LDLR)-deficient mice by adenovirus-mediated LDLR gene transfer combined with CD154 blockade [J]. *J Gene Med*, 2000, **2** (1): 41- 51
- [35] Chen GH, Song LW, Zhu XJ, et al. Effect of adeno-associated virus-mediated transfer of low density lipoprotein receptor gene on treatment of hypercholesterolemia [J]. *Science China (Series C)*, 1998, **41**(4): 435- 441
- [36] Ashbourne EKJ, Liu G, Miao L, et al. Correction of hypertriglyceridemia and impaired fat tolerance in lipoprotein lipase-deficient mice by adenovirus-mediated expression of human lipoprotein lipase [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997. **17**: 2 532- 539
- [37] Seguret-Mace S, Latta-Mahieu M, Castro G, et al. Potential gene therapy for lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT)-deficient and hypoalphalipoproteinemic patients with adenovirus-mediated transfer of human LCAT gene [J]. *Circulation*, 1996, **94**: 2 177- 184
- [38] Ye X, Rivera VM, Zoltick P, et al. Regulated delivery of therapeutic proteins after in vivo somatic cell gene transfer [J]. *Science*, 1999, **283**: 88- 91
- [39] Kaneda Y, Saeki Y, Morishita R. Gene therapy using HVJ-liposomes: the best of both worlds [J]? *Mol Med Today*, 1999, **5** (7): 298- 303
- [40] Hakumaki JM, Poptani H, Sandmair AM, et al. MRS detects polyunsaturated fatty acid accumulation during gene therapy of glioma: implications for the in vivo detection of apoptosis [J]. *Nat Med*, 1999, **5**: 1 323- 327
- [41] Hart CE, Kraiss LW, Vergel S, et al. PDGF [BETA] receptor blockade inhibits intimal hyperplasia in the baboon [J]. *Circulation*, 1999, **99**: 564- 569

(此文 2000- 10- 09 收到)

(此文编辑 胡必利 朱雯霞)