

# 转化生长因子- $\beta_1$ 与心脏移植

黄雪珊 综述 陈道中 廖崇先 审校

(福建医科大学附属协和医院心外科, 福建省胸心外科研究所, 福建 福州 350001)

## Transforming Growth Factor- $\beta_1$ and Cardiac Transplantation

HUANG Xue-shan, CHEN Dao-zhong, LIAO Chong-xian

(Department of Cardiovascular Surgery, the Affiliated Union Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350001, China)

文章编号: 1004-3934(2004)04-0307-04

中图分类号: R654.2

文献标识码: A

**摘要:** 转化生长因子- $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )是一种普遍存在强效细胞生长增殖调节蛋白,在器官移植免疫中扮演重要角色。了解 TGF- $\beta_1$  的分子生物学及其在移植免疫中的作用,有助于进行 TGF- $\beta_1$  与心脏移植供心再灌注损伤、移植排斥反应、TGF- $\beta_1$  转基因治疗及移植血管病关系的研究。

**关键词:** 转化生长因子- $\beta_1$ ; 心脏移植; 基因治疗; 再灌注损伤; 排斥反应; 移植血管病

**Abstract:** Transforming growth factor beta1 (TGF- $\beta_1$ ), a known omnipresent cytokine, is a crucial potent protein of cellular growth and proliferation modulator and play an important role in organ transplantation immunity. The realization of molecular biology and transplantation immunity of TGF- $\beta_1$  will benefit investigate relationship of TGF- $\beta_1$  and cardiac graft reperfusion injury, graft rejection, TGF- $\beta_1$  gene transfer, cardiac graft vascular disease.

**Key words:** transforming growth factor- $\beta_1$ ; cardiac transplantation; gene therapy; reperfusion injury; rejection; graft vascular disease

转化生长因子- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ )是一种强效细胞生长增殖调节蛋白,在移植免疫的抗排斥反应、移植血管病发展中扮演重要角色,已成为近年细胞、组织、器官移植的研究热点。本文就 TGF- $\beta_1$  分子生物学及其在移植免疫中的作用, TGF- $\beta_1$  与心脏移植(cardiac transplantation)的供心再灌注损伤、移植排斥反应关系, TGF- $\beta_1$  转基因治疗在心脏移植中的应用, TGF- $\beta_1$  基因多态性与移植血管病关系的研究进展作一简要综述。

### 1 TGF- $\beta_1$ 分子生物学

TGF- $\beta$  是一大类多功能的细胞生长增殖调节蛋白,由 Todaro 等于 1978 年首次发现。TGF- $\beta$  家族中至少有 6 个结构相关的分子组成,其中 TGF- $\beta_1$ 、TGF- $\beta_2$ 、TGF- $\beta_3$  较多见,存在于大多数哺乳动物,具有极高的同源性,氨基酸的序列在不同类别的哺乳动物间高度保守, TGF- $\beta_1$  在体细胞系中所占比例最高(>90%),活性最强, TGF- $\beta_1$  作用范围也十分广泛<sup>[1]</sup>。编码人 TGF- $\beta_1$  的基因位于染色体 10-12,其长度大于 100kD,含有 6

合成的 TGF- $\beta_1$  为非活化型,以血小板、骨中含量最高,而抗原特异性 T 细胞(主要为 Th3 细胞)、树突状细胞(DC)以及激活的巨噬细胞可以产生非活化型及活化型两种形式的 TGF- $\beta_1$ 。活化型 TGF- $\beta_1$  是分子量为 25kD( $\approx 2.5 \times 10^4$ u)的二聚体多肽,2 个单体(含 112 个氨基酸)通过二硫键相连,其中有 9 个高度保守的半胱氨酸残基,通过二硫键形成半胱氨酸紧密结构,当二聚体结构被破坏则活性丧失。非活化型 TGF- $\beta_1$  分子量为 75kD( $\approx 7.5 \times 10^4$ u),包括 TGF- $\beta_1$  的活性结构及非活性相关蛋白(latency associated peptide, LAP),正常分泌的 TGF- $\beta_1$  是一种不能结合受体的无活性的“潜在的 TGF- $\beta_1$ ”,由成熟的 TGF- $\beta_1$  二聚体、两个 LAP 和一个 125~160kD( $\approx 12.5 \times 10^4$ u~ $16.0 \times 10^4$ u)的潜在 TGF- $\beta_1$  结合蛋白(LTBP)组成非共价化合物,成熟的 TGF- $\beta_1$  位于结合物的中间,其作用:(1)介导 TGF- $\beta_1$  的分泌;(2)保持 TGF- $\beta_1$  处于无活性的状态;(3)在特定的部位触发释放 TGF- $\beta_1$  而表现活性<sup>[2]</sup>。活化型 TGF- $\beta_1$  分泌

官,以内分泌方式发挥作用。

几乎所有细胞都表达  $\text{TGF-}\beta_1$  受体 ( $\text{T}\beta\text{R}$ ), 有功能的  $\text{T}\beta\text{R}$  至少有 3 型 ( $\text{T}\beta\text{R-I}$ 、 $\text{II}$ 、 $\text{III}$ ), 与  $\text{TGF-}\beta_1$  结合的主要为  $\text{I}$  型和  $\text{II}$  型受体, 是分子量分别为  $53 \sim 65\text{kD}$  ( $\approx 8.0 \times 10^4 \text{u} \sim 6.5 \times 10^4 \text{u}$ ) 和  $80 \sim 95\text{kD}$  ( $8.0 \times 10^4 \sim 9.5 \times 10^4 \text{u}$ ) 的跨膜糖蛋白, 其中  $\text{II}$  型受体与  $\text{TGF-}\beta_1$  有较高亲和力。 $\text{I}$  型和  $\text{II}$  型受体的结构十分相似, 都是由胞外配体结合区和细胞内参与信号传递的具有丝/苏氨酸激酶活性结构的区域所组成。 $\text{I}$  型受体要有  $\text{II}$  型受体同时参与才能与  $\text{TGF-}\beta_1$  结合, 而  $\text{II}$  型受体不需  $\text{I}$  型受体的存在即可与  $\text{TGF-}\beta_1$  结合, 但要有  $\text{I}$  型同时参与才能进行信息传递。 $\text{II}$  型受体不直接参与信号的传递过程<sup>[3]</sup>。活化的  $\text{TGF-}\beta_1$  直接结合  $\text{T}\beta\text{R-II}$  或通过多聚糖间接结合  $\text{T}\beta\text{R-II}$ , 形成  $\text{TGF-}\beta_1/\text{T}\beta\text{R-II}$  复合物并迅速导致  $\text{T}\beta\text{R-I}$  的磷酸化,  $\text{T}\beta\text{R-I}$  被激活, 然后通过  $\text{Smad}$  信号蛋白将信号从细胞浆转导到细胞核中, 磷酸化的  $\text{T}\beta\text{R-I}$  进一步使  $\text{Smad 2}$  或  $\text{Smad 3}$  磷酸化,  $\text{Smad 2}$  或  $\text{Smad 3}$  磷酸化后与  $\text{Smad 4}$  结合形成复合物, 复合物由胞浆移至胞核, 与其它转录因子相互作用, 调节靶基因的转录而产生效应<sup>[3]</sup>。

## 2 $\text{TGF-}\beta_1$ 与移植免疫

目前影响移植物长期存活的最大障碍仍是移植排斥反应, 如何有效地抑制或减弱移植排斥反应是提高组织器官移植成功率、延长存活时间的根本问题。通过移植前对供受体进行预处理、基因修饰等策略, 有效的诱导同种或异种受体产生供体特异性的免疫耐受 (tolerance) 或适应 (accommodation), 在移植免疫中具有广阔的应用前景<sup>[4]</sup>。细胞因子是免疫反应的调控者和效应者, 与移植免疫的关系极为密切, 倍受移植研究者的关注。目前的研究表明白细胞介素-2、-4、-10、-15 ( $\text{IL-2}$ 、 $\text{IL-4}$ 、 $\text{IL-10}$ 、 $\text{IL-15}$ )、 $\gamma$  干扰素 ( $\text{IFN-}\gamma$ )、 $\text{TGF-}\beta_1$  等细胞因子在组织、器官移植免疫耐受中扮演极为重要的角色<sup>[5]</sup>。 $\text{TGF-}\beta_1$  是诱导免疫耐受的一个重要的微环境因素, 对机体的免疫系统产生广泛的影响; 研究发现  $\text{TGF-}\beta_1$  具有促进细胞增殖及抑制细胞增殖的双向功能, 对于不同的靶细胞以及同一靶细胞在不同功能状态下显示不同的作用, 这与其基因多态性有关; 一般认为它是一种负性免疫调节因子, 但在某些特定条件下, 它又表现出正向免疫调节作用<sup>[5]</sup>。近年研究表明  $\text{TGF-}\beta_1$  是一种强大的免疫抑制因子, 在同种或异种器官移植免疫中起重要作用, 其功能比环孢素 ( $\text{CsA}$ ) 还

细胞、 $\text{NK}$  细胞、 $\text{IAK}$  细胞及活化巨噬细胞的增殖分化; (2) 调节  $\text{T}$  细胞表面协同刺激分子的表达水平, 抑制  $\text{IL-2R}$  及  $\text{IL-12R}$  的表达, 诱导  $\text{T}$  细胞凋亡; 抑制  $\text{Th1}$  型细胞分泌  $\text{IFN-}\gamma$ 、肿瘤坏死因子- $\alpha$  ( $\text{TNF-}\alpha$ )、 $\text{IL-2}$ ; 抑制  $\text{Th2}$  型细胞分泌  $\text{IL-4}$ 、 $\text{IL-5}$ 、 $\text{IL-6}$ 、 $\text{IL-9}$ 、 $\text{IL-10}$ 、 $\text{IL-13}$ , 拮抗  $\text{TNF-}\alpha$  及  $\text{IFN-}\gamma$  的活性; (3) 抑制  $\text{B}$  细胞分泌免疫球蛋白  $\text{G}$  ( $\text{IgG}$ ) 及免疫球蛋白  $\text{M}$  ( $\text{IgM}$ ), 诱导  $\text{B}$  细胞凋亡; (4) 抑制抗原递呈细胞 ( $\text{APC}$ ) 表面主要组织相容性复合物 ( $\text{MHC}$ )  $\text{I}$  类及  $\text{II}$  类分子表达, 干扰树突状细胞 ( $\text{DC}$ ) 的分化成熟, 下调和封闭移植组织  $\text{MHC}$  表达而使  $\text{T}$  细胞无能; (5) 改变不同黏附分子的表达, 干扰中性粒细胞及淋巴细胞对血管内皮细胞的黏附<sup>[1,2,5]</sup>。

## 3 $\text{TGF-}\beta_1$ 与心脏移植

3.1  $\text{TGF-}\beta_1$  与供心再灌注损伤: 供心保存质量仍是临床心脏移植中最关键问题之一, 保存良好的供心是移植术后早期快速恢复和减轻晚期移植物血管病的必要条件。供心缺血再灌注损伤的氧化应激将导致心肌细胞、内皮细胞活化及细胞因子的大量生成, 研究表明移植物再灌注损伤时  $\text{bcl-2}$  及  $\text{TNF-}\alpha$  明显下调, 而冠脉内灌注  $\text{TGF-}\beta_1$  能明显上调  $\text{bcl-2}$  和减少  $\text{TNF-}\alpha$  表达, 抑制心肌细胞凋亡, 采用治疗性的过度表达心肌  $\text{TGF-}\beta_1$  将有助于控制临床心脏移植中移植物的再灌注损伤<sup>[6]</sup>。但有人得出相反的结论, 采用含血/胰岛素停搏液进行心肌保护研究时移植物  $\text{TGF-}\beta_1$  表达明显减少, 移植物内皮细胞的损害减轻, 抑制心脏移植物血管病的进程<sup>[7]</sup>。研究发现许多介质 (如  $\text{NO}$ ) 保护再灌注损伤心肌的机制是通过  $\text{TGF-}\beta_1$  介导<sup>[8]</sup>。 $\text{TGF-}\beta_1$  保护心肌的机制尚不详,  $\text{TGF-}\beta_1$  促进组织修复在其中起关键性作用,  $\text{Chen}$  等研究表明缺血再灌注损伤时基质金属蛋白酶 ( $\text{MMPs}$ ) 表达及活性均上调, 引起心肌细胞与血管内皮细胞的重构, 而  $\text{TGF-}\beta_1$  通过抑制  $\text{MMP-1}$  上调实现心肌保护<sup>[9]</sup>。

3.2  $\text{TGF-}\beta_1$  与移植物排斥反应:  $\text{Wallick}$  首先报道了在同种异体心脏移植实验中, 腹腔内每天注射重组人  $\text{TGF-}\beta_1$  可明显延长移植物存活时间, 表明  $\text{TGF-}\beta_1$  在器官移植中的抗排斥反应作用。 $\text{Waltenberger}$  等<sup>[10]</sup> 采用大鼠异体心脏移植模型, 设置急性排斥反应和慢性排斥反应组 (应用  $\text{CsA}$  作为免疫抑制剂), 通过免疫组化、生物活性测定、 $\text{mRNA}$  表达的检测等, 观察移植物局部  $\text{TGF-}\beta_1$ 、 $\text{TGF-}\beta_2$  和  $\text{LTBP}$  表达, 发现  $\text{TGF-}\beta_1$  于移植后前期表达增加, 但此时已过急性排斥反应和慢性排斥反应

淋巴细胞和心肌间边缘处, 移植物免疫排斥反应过程中, 首先淋巴细胞浸润, 接着局部  $\text{TGF-}\beta_1$  增加, 反映了机体自身移植免疫抑制的协调性, 即  $\text{TGF-}\beta_1$  分泌的增加部分抑制了浸润淋巴细胞对移植物-异己细胞的杀伤, 此过程称为“自我限制 (self-limiting)”<sup>[8]</sup>; 移植区的  $\text{TGF-}\beta_1$  增加可能与移植心肌区适宜的纤维变性反应诱导有关, 因为  $\text{TGF-}\beta_1$  有诱导成纤维化及修复心肌的功能。用  $\text{TGF-}\beta_1$  培养的 DC, 其细胞表面的 MHC 类抗原性减弱, T 细胞协同刺激分子 B7-1 (CD80) 表达极弱, B7-2 (CD86) 表达呈阴性, 这种不成熟的 DC 在体外不能激发异体 T 细胞的混合淋巴细胞反应, 将此类 DC 注入受体体内能显著延长小鼠移植心脏的存活时间<sup>[11]</sup>。移植前行供体特异性输血 (DSBT) 预处理受体, 在大鼠同种移植心脏中可表达高水平的  $\text{TGF-}\beta_1$  mRNA 和其活性蛋白, 而应用抗  $\text{TGF-}\beta_1$  mAb 可阻断此种供体特异性免疫耐受的产生<sup>[12]</sup>。研究发现, 免疫抑制剂如 CsA 能增强 T 细胞内  $\text{TGF-}\beta_1$  mRNA 的表达, 增加其蛋白分泌和生物活性, 而 c-myc mRNA 表达减弱, 说明常规免疫抑制剂的功能发挥, 很大程度上都与  $\text{TGF-}\beta_1$  有关<sup>[13]</sup>。 $\text{TGF-}\beta_1$  在口服耐受及黏膜耐受中也起重要作用<sup>[14]</sup>。

器官移植中对抗免疫排斥反应的机制主要有诱导供体特异性免疫耐受或非特异性免疫抑制。 $\text{TGF-}\beta_1$  在特异性免疫耐受中的作用主要通过对其诱导的 T 细胞增殖活化发挥有效的负调节作用, 影响 T 细胞生长因子受体、转铁蛋白受体、c-myc 的表达, 抑制 Rb 蛋白磷酸化, 诱导 T 细胞凋亡;  $\text{TGF-}\beta_1$  可通过抑制  $\text{CD4}^+$  T 细胞分泌细胞因子从而降低细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL) 的杀伤活性; 对 B 细胞通过影响其增殖、调控其成熟和分化, 调节 B 细胞表面分子的表达, 抑制 IgM、IgA 等受体的表达; 也可抑制 NK 细胞增殖和分泌细胞因子, 下调 NK 细胞的穿孔素和颗粒酶 A 基因的表达; 促进巨噬细胞分泌 IL-10 而介导免疫抑制<sup>[15]</sup>。David 等<sup>[16]</sup>研究指出用 IL-10 诱导免疫耐受大鼠模型中,  $\text{TGF-}\beta_1$  的表达显著升高, 说明  $\text{TGF-}\beta_1$  在其中所扮演的重要角色。 $\text{TGF-}\beta_1$  和供体 DC 是供体特异性输注 (DST) 诱导心脏移植免疫耐受最为关键的组成部分<sup>[17]</sup>。最近有人证明在产生协同刺激信号的同时, 加用 IL-10 和  $\text{TGF-}\beta_1$  可致免疫耐受的产生, 这主要是因为加入了 IL-10 和  $\text{TGF-}\beta_1$  使  $\text{CD4}^+$  T 细胞的 T 细胞受体和 CD28 分子信号传递方式发生了改变<sup>[18]</sup>。

Stanford 大学 Boyer 的第一个重组 DNA 分子问世后, 基因工程技术蓬勃发展, 给心脏移植带来了深刻的革命, 开创了心脏移植发展的新思维。根据分子生物学原理, 利用基因工程技术, 对供心进行基因修饰等预处理, 有望解决同种异体及异种心脏移植中最棘手的免疫排斥反应问题<sup>[18]</sup>。细胞毒 T 细胞相关分子, 一种类似 CD28 的可溶性融合蛋白 CTLA4-Ig 与配体结合, 可以刺激  $\text{TGF-}\beta_1$  分泌增加, 研究提示全身性给予 CTLA4-Ig, 能防止对同种及异种移植物的排斥反应<sup>[19]</sup>。 $\text{TGF-}\beta_1$  可阻断免疫应答的第二信号 (CTLA4-Ig) 或凋亡分子 (Fas / FasL) 表达, 用  $\text{TGF-}\beta_1$  转染移植器官已逐渐得到人们的关注<sup>[15]</sup>。有人采用  $\text{TGF-}\beta_1$  基因治疗预防心脏移植后免疫排斥反应, 以复制缺陷型腺病毒作载体, 将免疫抑制细胞因子基因 IL-10 和  $\text{TGF-}\beta_1$  通过冠状动脉内灌注法导入供体心脏, 移植后 4 天发现有导入基因的表达<sup>[19]</sup>。Qin 等<sup>[20]</sup>在小鼠心脏移植模型上将携有受 SV40 启动子调控的质粒  $\text{TGF-}\beta_1$  基因直接注射入同基因和异基因移植植物中, 质粒本身及转移标记基因 ( $\beta$ -Gal) 均表达,  $\text{TGF-}\beta_1$  基因可持续表达 2 周, 经  $\text{TGF-}\beta_1$  处理的移植植物存活率是对照组的 2 倍。Josien 等<sup>[12]</sup>应用携带  $\text{TGF-}\beta_1$  基因的腺病毒在大鼠移植心脏上选择不同的四点进行注射, 发现有  $> 80\%$  的受体鼠移植植物存活超过 60 天。在 C57BL/6(H-2<sup>b</sup>)-CBA/J (H-2<sup>k</sup>) 非带血管的心脏移植试验中, 直接将含 5 ~ 40  $\mu\text{g}$  质粒 DNA ( $\text{pSVTGF-}\beta_1$ ) 注射至新生小鼠移植植物内, 然后移植给成年小鼠, 可使移植植物的存活明显延长 ( $25.1 \pm 2.1 \text{ d}$  vs  $12.0 \pm 0.7 \text{ d}$ ); 其所产生的抑制效应仅局限于移植植物内, 移植植物以外则不产生任何效应, 移植植物内供体特异性 CTL 和产生 IL-2 的辅助性 T 细胞 (HTL) 的浸润明显减少, 其他组织如脾脏则无此现象, 资料证实是  $\text{TGF-}\beta_1$  抑制了 Th 0 细胞和 Th 1 细胞转化成活化细胞, 而无需 Th 2 抑制因子参与<sup>[21]</sup>。Brauner 等<sup>[19]</sup>以免血管化心脏移植为模型供心冷保存时间采用冠脉内灌注法进行较为深入的  $\text{TGF-}\beta_1$  转基因治疗实验, 采用了腺病毒、逆转录病毒等不同的基因载体进行系列研究, 结果表明冠脉内灌注法进行转基因治疗的转导效果佳, 明显延长了同种移植心脏的存活时间 ( $11.1 \pm 1.7 \text{ d}$  vs  $6.9 \pm 0.9 \text{ d}$ ); 持续低流量灌注法优于快速高压灌注法, 载体的吸收率达 91% (平均 80%), 排斥平均斜率明显降低 ( $0.3 \pm 0.06$  vs  $0.46 \pm 0.15$ ), 其免疫效应与下调 B 细胞增殖和抗体生成有关。王吉等<sup>[22]</sup>证实小鼠血管

染对大约  $2/3$  的受体产生保护性作用,能明显延长移植植物存活时间,效果明显优于腺病毒携 TGF- $\beta_1$  DNA 的转染效果。Deng 等<sup>[23]</sup>应用 IL-10 和 TGF- $\beta_1$  基因在狗到大鼠的高度不相容异种胰岛移植模型中,也明显延长了胰岛移植物的存活时间;提示 TGF- $\beta_1$  基因在异种心脏移植中也将具有潜在的应用前景。

3.4 TGF- $\beta_1$  基因多态性与移植血管病: TGF- $\beta_1$  的基因多态性决定了其在免疫调节中是一把双刃剑,在移植早期 TGF- $\beta_1$  显示了明显的免疫抑制作用,而对长期存活的移植植物则表现了其促进移植植物纤维化的作用。研究表明 TGF- $\beta_1$  能影响移植心脏的血管病理变化,并最终导致移植植物失去功能,这与 TGF- $\beta_1$  的基因多态性有关<sup>[23]</sup>。临床心脏移植中,移植植物内 TGF- $\beta_1$  mRNA 表达与慢性排斥反应、移植植物冠状动脉硬化呈正相关<sup>[24]</sup>。研究还发现心脏移植受者长期应用 CsA,可引起肾慢性纤维化导致慢性功能丧失,与诱导硬化因子 TGF- $\beta_1$  的过量表达有关<sup>[25]</sup>。大鼠同种异体心脏移植慢性排斥反应的模型及对临床的心脏移植长期存活者的研究也显示在慢性排斥反应期间 TGF- $\beta_1$  及潜在的 TGF- $\beta_1$  蛋白呈高水平上调,证实了其参与移植组织结构重建和血管硬化的过程<sup>[26,27]</sup>。DeBruyne 等<sup>[28]</sup>用血红素氧合酶-1(HO-1)转基因治疗研究证实,HO-1 通过下调 TGF- $\beta_1$  等因子表达,阻止大鼠移植植物冠状动脉的慢性粥样硬化进程。

#### 4 结语

TGF- $\beta_1$  是一种很有潜力的强效免疫抑制因子,通过基因工程技术用 TGF- $\beta_1$  基因修饰供体器官,营造诱导免疫耐受的微环境,突破同种间或异种间的免疫屏障,使同种或异种心脏移植植物有功能地长期存活。进一步深入研究 TGF- $\beta_1$  的作用机制,发展完善转基因技术, TGF- $\beta_1$  作为一种新型的免疫抑制生物制剂在器官移植中的临床应用将指日可待。

#### [参考文献]

[1] Brand T, Schneider MD. The TGF beta superfamily in myocardium: ligands, receptors, transduction, and function[ J ]. J Mol Cell Cardiol. 1995; 27(1): 5-18.

[2] Govinden R, Bhoola KD. Genealogy, expression and cellular function of transforming growth factor-beta[ J ]. Pharmacol Ther. 2003; 98(2): 257-265.

[3] Tohs, Itoh F, Goumans MJ, et al. Signaling of TGF- $\beta$  family members through Smad proteins[ J ]. Eur J Biochem. 2000; 267(24): 6954-6967.

[4] Ardehali A, Reddy R, Laks H. Gene therapy and heart transplantation[ J ]. Expert Opin Invest Drugs. 2000; 9(5): 1021-1027.

[5] Hutchinson IV. The role of transforming growth factor-beta in transplant rejection[ J ].

pressure transfection of TGF-beta1 ameliorates ischemia-reperfusion injury in rat cardiac allografts[ J ]. J Heart Lung Transplant. 2002; 21(2): 244-250.

[7] Billia F, Carter K, Rao V, et al. Transforming growth factor-beta expression is significantly lower in hearts preserved with blood/insulin versus crystalloid cardioplegia[ J ]. J Heart Lung Transplant. 2002; 21(8): 918-922.

[8] Mehta JL, Chen HJ, Li DY. Protection of myocytes from hypoxia-reoxygenation injury by nitric oxide is mediated by modulation of transforming growth factor-beta1[ J ]. Circulation. 2002; 105(18): 2206-2211.

[9] Chen H, Li D, Sakken T, et al. TGF-beta 1 attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury via inhibition of upregulation of MMP-1[ J ]. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2003; 284(5): H1612-1617.

[10] Wallenberger J, Wanders A, Fellstrom B, et al. Induction of transforming growth factor-beta during cardiac allograft rejection[ J ]. J Immunol. 1993; 151(2): 1147-1157.

[11] Lu L, Li W, Zhong C, et al. Increased apoptosis of immunoreactive host cells and augmented donor leukocyte chimerism, not sustained inhibition of B7 molecule expression are associated with prolonged cardiac allograft survival in mice preconditioned with immature donor dendritic cells plus anti-CD40L mAb[ J ]. Transplantation. 1999; 68(6): 747-757.

[12] Josien R, Douillard P, Guillot C, et al. A critical role for transforming growth factor-beta in donor transfusion-induced allograft tolerance[ J ]. J Clin Invest. 1998; 102(11): 1920-1926.

[13] Khanna AK, Hosenpud JS, Plummer MS, et al. Analysis of transforming growth factor-beta and profibrogenic molecules in a rat cardiac allograft model treated with cyclosporine[ J ]. Transplantation. 2002; 73(10): 1543-1549.

[14] Sun JB, Li BL, Czerkinsky C, et al. Enhanced immunological tolerance against allograft rejection by oral administration of allogeneic antigen linked to cholera toxin B subunit[ J ]. Clin Immunol. 2000; 97(2): 130-139.

[15] Bickstaff A, Orosz C. Evidence for a limited contribution of immune regulation to cardiac allograft acceptance[ J ]. Hum Immunol. 2002; 63(10): 935-947.

[16] David A, Chetritt J, Guillot C, et al. Interleukin-10 produced by recombinant adenovirus prolongs survival of cardiac allografts in rats[ J ]. Gene Ther. 2000; 7(6): 505-510.

[17] Gagne K, Brouard S, Guillet M, et al. TGF-beta1 and donor dendritic cells are common key components in donor specific blood transfusion and anti-class II heart graft enhancement whereas tolerance induction also required inflammatory cytokines down-regulation[ J ]. Eur J Immunol. 2001; 31(10): 3111-3120.

[18] Guillot C, David A, Coathalen H, et al. Adenovirus-mediated cytokine gene transfer in heart allograft transplantation[ J ]. Biochem Soc Trans. 1999; 27(6): 864-869.

[19] Bauner R, Nonoyama M, Laks H, et al. Intracoronary adenovirus-mediated transfer of immunosuppressive cytokine genes prolongs allograft survival[ J ]. J Thorac Cardiovasc Surg. 1997; 114(6): 923-933.

[20] Qin L, Ding Y, Bomberg JS. Gene transfer of transforming growth factor-beta 1 prolongs murine cardiac allograft survival by inhibiting cell-mediated immunity[ J ]. Hum Gene Ther. 1996; 7(16): 1981-1988.

[21] Chan SY, Goodman RE, Sznuszkowicz JR, et al. DNA-liposome versus adenoviral mediated gene transfer of transforming growth factor beta1 in vascularized cardiac allografts: differential sensitivity of CD4+ and CD8+ T cells to transforming growth factor beta1[ J ]. Transplantation. 2000; 70(9): 1292-1301.

[22] Deng S, Ketchum RJ, Yang ZD, et al. IL-10 and TGF- $\beta$  gene transfer to rodent islets; effect on xenogeneic islet graft survival in native and B-cell-deficient mice[ J ]. Transplant Proc. 1997; 29: 2207-2208.

[23] Aziz TM, Burgess M, Hasleton PS, et al. Transforming growth factor-beta; association with arteriosclerosis and left ventricular dysfunction after heart transplantation[ J ]. Transplant Proc. 2001; 33(3): 2334-2336.

[24] Holweg CT, Baan CC, Balk AH, et al. The transforming growth factor-beta1 codon 10 gene polymorphism and accelerated graft vascular disease after clinical heart transplantation[ J ]. Transplantation. 2001; 71(10): 1463-1467.

[25] Iacha J, Hubacek JA, Viklicky O, et al. TGF-beta1 gene polymorphism is a risk factor

- [26] Khanna AK, Hosenpud JS, Plummer MS, et al. Analysis of transforming growth factor-beta and profibrogenic molecules in a rat cardiac allograft model treated with cyclosporine[J]. *Transplantation*, 2002, 73(10): 1543-1549.
- [27] Densem CG, Hutchinson IV, Cooper A, et al. Polymorphism of the transforming growth factor-beta 1 gene correlates with the development of coronary vasculopathy following cardiac transplantation[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2000, 19(6): 551-556.
- [28] DeBuynne LA, Magee JC, Buelow R, et al. Gene transfer of immunomodulatory peptides correlates with heme oxygenase-1 induction and enhanced allograft survival[J]. *Transplantation*, 2000, 69(1): 120-128.

收稿日期: 2003-08-04

修回日期: 2004-03-16

## 基因治疗在心血管疾病中的应用进展

董书强 综述 吕国祯 审校

(兰州军区兰州总医院心血管外科, 甘肃 兰州 730050)

### Recent Progress of Gene Therapy in Cardiovascular Diseases

DONG Shu-qiang Lǚ Guo-zhen

(Department of Cardiovascular Surgery, General Hospital of Lanzhou Military Region, Lanzhou 730050, China)

文章编号: 1004-3934(2004)04-0311-04

中图分类号: R459.9; R54

文献标识码: A

**摘要:** 心血管疾病是威胁人类健康的头号杀手, 近年来基因治疗技术的不断进步为其防治开辟了一条全新有效的途径, 尤其是在心肌缺血、心肌梗死、心力衰竭和心脏移植等领域已逐渐由实验研究过渡到临床应用, 取得了一定的治疗效果。本文就近年来该领域的主要进展作一综述。

**关键词:** 基因治疗; 心血管疾病

1994 年 Isner 等首次给一严重下肢缺血的患者注射携带血管内皮细胞生长因子(VEGF)基因的质粒脱氧核糖核酸(DNA), 证实有治疗作用, 这一结果加快了心血管疾病基因治疗的探索步伐。目前常用的基因载体包括质粒、腺病毒、腺相关病毒、逆转录病毒和脂质体等, 应用途径有直接组织注射、血管内注射、导管介入、心包内注入或经胸壁法等, 应用范围涉及心血管主要疾病。近 10 年的研究表明应用基因技术治疗心血管病有较高的安全性和临床效果, 本文就其研究进展作一综述。

#### 1 心肌缺血

治疗性血管新生, 即应用血管生成因子以促进缺血组织的血管再生, 首先是在外周动脉疾病中发现的, 将编码 VEGF 的质粒 DNA 注射到严重缺血的肢体, 血管造影可观察到新的侧支血管生成, 患肢的血供改善, 可缓解疼痛, 治疗缺血性溃疡和挽救患肢<sup>[1]</sup>。临床应用首先是安全性的问题, Laitinen 等<sup>[2]</sup>在给 10 例患者进行经导管动脉成形术时, 随机给 5 例患者注

照, 注射组仅有轻度 C-反应蛋白升高。另外一组应用编码成纤维细胞生长因子-4(FGF-4)或 VEGF-1 基因的 97 名患者随访 1~3 年, 仅 5 人死亡, 这与接受激光心肌血运重建术或传统药物治疗的 1 000 例患者的死亡率相比要好<sup>[3]</sup>。通过应用不同量的腺病毒载体注射分析研究发现, 注射小到中量的腺病毒载体, 患者出现的不良反应与个体或试验程序有关, 并非为载体本身所致<sup>[4]</sup>。在临床安全性得到肯定的前提下, 开始了心肌缺血基因治疗临床 I 期研究, Vale 等<sup>[5]</sup>应用经皮导管介入法进行心肌基因治疗, 有 6 例患者随机注射基因载体或空白对照载体, 注射后 90 天时治疗组心绞痛发作次数显著下降, 对照组和注射前一样, 3 例对照组患者因反复心绞痛发作最后转向基因治疗。另一组 30 例接受 phVEGF165 治疗的患者, 29 例心绞痛减轻, 舌下含服硝酸甘油的剂量减少, 14 例患者左室射血分数(EF)平均改善 5%, 心绞痛症状消失例数: 随访 6 个月时 20 例患者中有 12 例, 随访 12 月时 10 例中有 7 例。另一组测定运动耐受量, 基因治疗组较对照