科学通报 2024 年 第 69 卷 第 31 期: 4516 ~ 4517
悦读科学
《中国科学》杂志社
SCIENCE CHINA PRESS

人工合成基因线路实现对膀胱癌化疗耐药的动态监测及反馈干预

郑彬彬, 牛立慢, 黄卫人*

深圳大学第一附属医院深圳市转化医学研究院, 深圳 518025

* 联系人, E-mail: wr.huang@siat.ac.cn

Artificial synthetic gene circuits for dynamic monitoring and feedback intervention of chemotherapy resistance in bladder cancer

Binbin Zheng, Liman Niu & Weiren Huang*

Shenzhen Institute of Translational Medicine, The First Affiliated Hospital of Shenzhen University, Shenzhen 518025, China

* Corresponding author, E-mail: wr.huang@siat.ac.cn

doi: 10.1360/TB-2024-0768

膀胱癌是最常见的泌尿系统肿瘤之一, 已成为当前人类健康面临的一个重大挑战. 临床实践中, 对于晚期或者已经发生转移的膀胱癌, 化疗是重要的治疗手段之一[1]. 患者在初次接受化疗时通常能表现出良好的响应性, 但随着病程的进展, 大多数患者会逐渐对一种甚至多种化疗药物产生耐药, 最终导致治疗失败乃至疾病复发[2]. 膀胱癌易耐药易复发的特点是导致其临床治疗效果一直难以进一步提高的重要原因. 克服化疗耐药性成为膀胱癌临床治疗亟需解决的关键难题.

肿瘤细胞可在化疗作用下引起自身耐药相关基因和通路的异常激活或功能失常, 进而通过抑制细胞凋亡、改变细胞周期、破坏药物靶点活性部位、减少药物摄取和增加药物外排等多种方式对抗药物治疗[3]. 为了帮助化疗药物克服肿瘤的获得性耐药机制, 常采用基因沉默等干预手段调控耐药通路上关键靶点的表达, 以达到解除耐药表型的目的[4]. 然而, 肿瘤细胞的获得性耐药表型受复杂的决策回路和信号网络调控, 通常在接受药物处理一段时间后才会显现. 在治疗时若只是简单地同时施加化疗药物与基因干预药物, 由于肿瘤的耐药滞后性, 基因药物因缺少作用靶点导致干预效果不佳[5]. 另一方面, 若基因干预过晚, 此时肿瘤耐药程度较高, 且不同耐药通路之间存在的交叉冗余和互补代偿效应会严重限制针对耐药基因的干预效果[6]. 因此, 如何在化疗过程中灵敏动态监控体内肿瘤细胞耐药通路的激活情况, 并在其应答产生耐药信号的早期阶段及时介入基因干预技术予以纠偏, 以预防耐药发生, 对于有效增敏化疗具有重要意义.

在研究长春新碱治疗膀胱癌的过程中发现, 膀胱癌细胞在长春新碱的刺激作用下, 其核转录因子NF-κB(nuclear factor-κB)被显著活化, 并进入细胞核中上调参与调控细胞周期的耐药基因*OIP5*(Opa-interacting protein 5), 最终获得对长春新碱的耐药性[7]. 基于此现象, 针对NF-κB作为膀胱癌应对长春新碱刺激产生的激活因子, 能否将其视作膀胱癌启动对长春新碱耐药应答的初始信号, 并以此开发决定基因干预治疗何时介入的"感知器"? 为此, 研究者结合CRISPR(clustered regularly interspaced short palindromic repeats)基因编辑技术和核酸适配体(aptamer)技术设计了一种具有核糖体"开关"功能的人工合成基因线路[8].

CRISPR/Cas9是一种强大的基因编辑工具, 由单链引导RNA(single-guide RNA, sgRNA)和Cas9核酸酶组成, sgRNA可作为一种智能"地址标签", 精确地引导Cas9酶应该去哪个基因"地址"进行剪切, 从而精确修改基因组DNA上特定的基因部分[9]. 可对CRISPR/Cas9的组成成分进行精细的修饰或改造, 以满足更加灵活与复杂的基因调控需求[10]. 研究者进一步工程化改造靶向OIP5的sgRNA, 将其与靶向NF-κB的RNA适配体组装在一起, 制备NF-κB/OIP5人工合成基因线路. 此基因线路装置与长春新碱同时进入肿瘤细胞后, 在长春新碱还没有引起肿瘤细胞NF-κB激活时, *OIP5*基因线路装置会保持"关闭"状态, 不干扰*OIP5*基因. 类似一个开关处于关闭模式, 等待接收特定信号. 一旦长春新碱激活了NF-κB, 活化的NF-κB会与*OIP5*基因线路装置相结合并引起其构象的转变, 从而"启动"这个开关. 开关一旦开启, 工程化sgRNA

© 2024《中国科学》杂志社

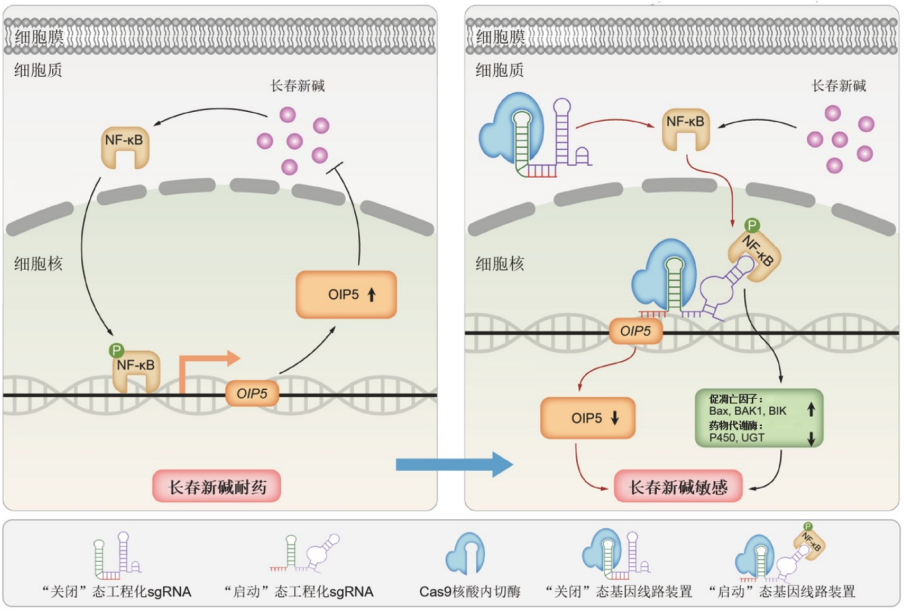


图 1 (网络版彩色) OIP5人工合成基因线路重塑膀胱癌长春新碱应答过程示意图[7]
Figure 1 (Color online) Diagram illustrating the remodeling of bladder cancer response process to vincristine by artificial synthetic OIP5 gene circuits[7]

就能引导Cas9对*OIP5*基因进行调控(图1).

利用上述NF-κB响应性的“开关”调控机制，只需简单地将*OIP5*基因线路装置与长春新碱同时给药，即可实现对体内肿瘤细胞耐药应答信号变化的准确与实时的监控，并且通过检测结合NF-κB的方式自主决定何时启动对*OIP5*耐药基因的干预调控，在耐药产生的早期阶段即从源头上避免了耐药反应的发生，从而为长春新碱的治疗过程保驾护航，实现“化疗免耐”的高效治疗策略. 值得一提的是，*OIP5*基因线路装置除了能够将NF-κB对OIP5的上调作用逆转为抑制作用，还可通过与NF-κB的竞争性结合阻止NF-κB介导的其他耐药通路(例如抗凋亡和药物代谢增强通路)的激活，从而以一种多层次多靶点的系统性干预手段实现对膀胱癌耐药的全面调控.

长春新碱是不耐受吉西他滨/顺铂治疗方案的晚期或转移性膀胱癌患者的常用药物，利用NF-κB/OIP5人工合成基因线路，可进一步拓展长春新碱的应用范围，并显著提升其治疗效果. 基于“核糖开关”的耐药信号基因线路有望拓展应用于其他化疗药物及其耐药通路中，为克服膀胱癌化疗耐药性提供更多基于合成生物学策略的新思路与新方法.

推荐阅读文献

1 Compérat E, Amin M B, Cathomas R, et al. Current best practice for bladder cancer: A narrative review of diagnostics and treatments. Lancet, 2022, 400: 1712–1721
2 Dyrskjøt L, Hansel D E, Efstathiou J A, et al. Bladder cancer. Nat Rev Dis Primers, 2023, 9: 58
3 Nussinov R, Tsai C J, Jang H. Anticancer drug resistance: An update and perspective. Drug Resist Updat, 2021, 59: 100796
4 Meng H, Mai W X, Zhang H, et al. Codelivery of an optimal drug/siRNA combination using mesoporous silica nanoparticles to overcome drug resistance in breast cancer *in vitro* and *in vivo*. ACS Nano, 2013, 7: 994–1005
5 Ahmadi S, Rabiee N, Bagherzadeh M, et al. Stimulus-responsive sequential release systems for drug and gene delivery. Nano Today, 2020, 34: 100914
6 Weiss F, Lauffenburger D, Friedl P. Towards targeting of shared mechanisms of cancer metastasis and therapy resistance. Nat Rev Cancer, 2022, 22: 157–173
7 Zheng B, Niu L, Xu H, et al. Engineering redirected NF-κB/OIP5 expression programs to enhance tumor responses to chemotherapy in bladder cancer. Sci Bull, 2023, 68: 3207–3224
8 Liu Y, Zhan Y, Chen Z, et al. Directing cellular information flow via CRISPR signal conductors. Nat Methods, 2016, 13: 938–944
9 Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, et al. A programmable dual-RNA–guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. Science, 2012, 337: 816–821
10 Yang L, Chen J. Expanding genome editing scopes with artificial intelligence. Sci Bull, 2023, 68: 2881–2883