

[文章编号] 1007-385X(2007)02-0158-05

## 重组人血管内皮细胞抑制因子在大鼠体内的组织分布及药代动力学

刘江秋<sup>1</sup>, 凌磊<sup>2</sup>, 刘延秋<sup>3</sup>, 李杰英<sup>2</sup>, 赵炜<sup>2</sup>, 朱荔清<sup>2</sup>, 朱晓红<sup>2</sup>, 吴彩中<sup>2</sup>, 徐璐<sup>2</sup>, 李忠义<sup>1</sup>(1. 沈阳军区联勤部疾病预防控制中心, 沈阳 110034; 2. 中国人民解放军第202医院, 沈阳 110003; 3. 济南军区联勤部疾病预防控制中心, 济南 250014)

**[摘要]** **目的:** 研究重组人血管内皮细胞抑制因子(rhEndostatin)静脉注射后在 Wistar 大鼠体内的药代动力学过程, 为其临床应用提供药代动力学数据。 **方法:** 应用放射性核素示踪技术结合三氯醋酸沉淀法(TCA沉淀法), 对<sup>125</sup>I-rhEndostatin 静脉注射大鼠后不同时间、不同组织内的核素分布量进行测定, 并将血药浓度-时间数据经计算机拟合, 计算出相应参数。 **结果:** <sup>125</sup>I-rhEndostatin 静脉注射大鼠后, 药物的分布半衰期平均为(0.154 ± 0.024)h, 消除半衰期为(4.03 ± 0.58)h。血药浓度-时间曲线下面积(AUC)与剂量呈正相关, 相关系数为0.994 0。血浆清除率(CLs)均值为(0.165 ± 0.024)L/h, 高、中、低剂量 CLs 基本相同。该药在大鼠肝、肺、脾、胃、甲状腺中有较高聚集, 主要经肾脏排泄。 **结论:** <sup>125</sup>I-rhEndostatin 在大鼠体内的药代动力学过程基本符合线性药动学特征, 血药浓度-时间曲线符合二房室模型。

**[关键词]** 血管内皮细胞抑制因子; <sup>125</sup>I 标记; 组织分布; 药代动力学

**[中图分类号]** R734.2

**[文献标志码]** A

## Distribution and pharmacokinetics of recombinant human endostatin in rats

LIU Jiang-qiu<sup>1</sup>, LING Lei<sup>2</sup>, LIU Yan-qiu<sup>3</sup>, LI Jie-ying<sup>2</sup>, ZHAO Wei<sup>2</sup>, ZHU Li-qing<sup>2</sup>, ZHU Xiao-hong<sup>2</sup>, WU Cai-zhong<sup>2</sup>, XU Lu<sup>2</sup>, LI Zhong-yi<sup>1</sup>(1. Centre of Disease Prevention and Control, PLA Shengyang Military Area Command, Shengyang 110034, China; 2. No. 202 Hospital of PLA, Shenyang 110003, China; 3. Centre of Disease Prevention and Control, PLA Jinan Military Area Command, Jinan 250014, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the *in vivo* pharmacokinetics of recombinant human Endostatin (rhEndostatin) in Wistar rats after *i. v.* injection, so as to provide pharmacokinetic data for clinical application. **Methods:** Radioactive isotopic (<sup>125</sup>I) tracing combined with trichloroacetic acid (TCA) precipitation was used to measure the residual isotope in different tissues at different time points after *i. v.* injection of <sup>125</sup>I-rhEndostatin to the rats. Plasma drug concentration-time data were analyzed by computer fitting. Compartment model and the pharmacokinetic parameters were also established. **Results:** The distribution half-life time and elimination half-life time of rhEndostatin in rats were (0.154 + 0.024) h and (4.03 + 0.58) h, respectively. The AUC were positively correlated with dosages of rhEndostatin ( $r = 0.9940$ ). The mean of CLs value was (0.165 ± 0.024)L/h; the CLs values for high, middle or low dosages were basically the same. The liver, lung, spleen, stomach and thyroid were the major organs for deposition of <sup>125</sup>I-rhEndostatin. Urinary excretion was the major pathway of elimination. **Conclusion:** The pharmacokinetics of <sup>125</sup>I-rhEndostatin in rats basically has a linear character, and the plasma drug concentration-time curve consists to a two-compartment model.

**[Key words]** endostatin; <sup>125</sup>I labeling; tissue distribution; pharmacokinetics

[Chin J Cancer Biother, 2007, 14(2): 158-162]

新生血管生成是肿瘤生长、浸润和转移的一个重要因素<sup>[1]</sup>, 近年来通过血管生成抑制剂进行抗肿瘤新生血管治疗的研究进展迅速, 并取得了显著疗效<sup>[2-4]</sup>。Orilly 等<sup>[5]</sup>1997 年发现了一种相对分子质量为 20 000 的蛋白质, 将其命名为血管内皮抑制素(Endostatin)。Endostatin 是特异的血管内皮细胞生长抑制因子, 通过抑制肿瘤血管内皮细胞的生长起到抗肿瘤作用<sup>[6-9]</sup>。李忠义等<sup>[10]</sup>从人肝脏 cDNA 文

库中筛选克隆到 *Endostatin* 基因, 在国内率先在酵母菌中表达出可溶性 rhEndostatin。本研究用 Wistar 大鼠对 rhEndostatin 进行药代动力学研究, 以期 rhEndostatin 的临床应用提供药代动力学数据。

**[基金项目]** 辽宁省科学技术厅科技基金资助(No. 2001226001)

**[作者简介]** 刘江秋(1949-), 女, 汉族, 湖北省武汉市人, 研究员, 主要从事抗肿瘤基因药物及病毒疫苗方面的研究

**[通讯作者]** 李忠义, E-mail: huili329@tom.com

## 1 材料与方法

### 1.1 主要实验材料

药代动力学实验用样品: rhEndostatin 注射液 5 mg/ml (5 ml/支), 批号为 20050201; 药代动力学标记用样品: rhEndostatin 注射液 15 mg/ml (5 ml/支), 批号为 20050510, 纯度均 > 98%, 辽宁卫星生物制品研究所生产与提供<sup>[10]</sup>。三氯醋酸、磷酸盐缓冲液 (50  $\mu$ mol/L pH7.2) 为国产分析纯试剂。 $\gamma$ -计数仪 (LKB WALLAC 1282 COMPUGAMMA, UNIVERSAL GAMMA COUNTER)。离心机 (德国马丁 T-23)。Wistar 大鼠, 雌雄各半, 体重 (190  $\pm$  10) g, 购自中国药品生物制品检定所动物中心, 实验动物合格证: 京动管质字 (1994) 079 号。Na<sup>125</sup>I 购自 Amersham-Pharmacia Biotech UK, 比活度为 3.7 GBq/mg, 批号: 0110195015。其他试剂购自 Sigma 公司。

### 1.2 <sup>125</sup>I-rhEndostatin 的制备

采用氯胺 T 标记法标记, 以 Sephadex G-50 柱层析法分离, 洗脱液为 50 mmol/L (pH 7.2) 磷酸盐缓冲液, 收集<sup>125</sup>I-rhEndostatin 峰部分。经三氯醋酸沉淀法和纸层析法鉴定 (展开剂为正丁醇: 冰醋酸: 水 = 5:4:3), 上行 Rf = 0.353, <sup>125</sup>I-rhEndostatin 放射化学纯度 > 97.5%。<sup>125</sup>I-rhEndostatin 比放射活度为 10 MBq/ml, 22.2 MBq/mg。

### 1.3 rhEndostatin 大鼠药代动力学实验

取 Wistar 大鼠 30 只, 分高、中、低 3 个剂量组, 每组各 10 只, 雌雄各半。高剂量为 4.5 mg/kg (236 kBq/100 g)、中剂量为 1.5 mg/kg (205 kBq/100 g)、低剂量为 0.5 mg/kg (159 kBq/100 g)。大鼠尾静脉注射 rhEndostatin 不同剂量后, 分别于 5、10、15、30、45、60、90、120、180 和 240 min 眼眶采血, 加入含肝素抗凝的试管中, 离心, 制备血浆。取 100  $\mu$ l 血浆加入 1 ml 10% TCA, 4 000 r/min 离心 10 min, 弃去上清液, 用  $\gamma$ -计数仪测定沉淀物放射性。

药代动力学参数计算方法: 将血药浓度-时间数据以 3P97 程序经计算机拟合, AIC 法判断房室模型, 并计算出药代动力学参数。

### 1.4 rhEndostatin 大鼠组织分布实验

取 Wistar 大鼠 30 只, 随机分为 5 组, 雌雄各半, 按中剂量给药, 每只大鼠 1.5 mg/kg (205 kBq/100 g, 1 025 kBq/ml) 尾静脉注射, 各组分别于给药后 5 min、30 min、1 h、2 h、4 h 断颈处死 (每时间点 6 只动物, 雌雄各半), 迅速依次取出脑、甲状腺、心、肺、肝、脾、肾、胃、肠、睾丸 (子宫)、脂肪、肌肉和血清, 用组织天平称重、匀浆机匀浆, 加 200  $\mu$ l 10% TCA,

4 000 r/min 离心 10 min, 弃去上清液,  $\gamma$ -计数仪测定沉淀物放射性。血清取 100  $\mu$ l 进行相同的操作。

### 1.5 rhEndostatin 大鼠体内排泄实验

1.5.1 大鼠尿和粪便排泄观察 取 12 只大鼠, 雌雄各半, 每个代谢笼放 2 只大鼠, 按中剂量 1.5 mg/kg (205 kBq/100 g, 1 025 kBq/ml) 尾静脉注射给药后 0-2、2-4、4-6、6-8、8-10、10-12 和 12-24 h 共 7 个时段分别收集尿和粪便, 测定各时段尿排泄总体积和粪便总排泄量。取 1 ml 尿样  $\gamma$ -计数仪测定放射性; 粪便取全部,  $\gamma$ -计数仪测定放射性。

1.5.2 大鼠胆汁排泄动态观察 取 6 只大鼠, 乌拉坦麻醉, 分离胆管并插管, 按中剂量 1.5 mg/kg (205 kBq/100 g, 1 025 kBq/ml) 给药, 于给药后 0-2、2-4、4-6、6-8、8-10 和 10-12 h 共 6 个时段分段收集胆汁,  $\gamma$ -计数仪测定各段胆汁的放射性。

## 2 结果

### 2.1 rhEndostatin 在大鼠体内的血药浓度和药代动力学参数

大鼠分别按 4.5 mg/kg (高剂量)、1.5 mg/kg (中剂量)、0.5 mg/kg (低剂量) 静脉注射<sup>125</sup>I-rhEndostatin 后, 经时过程的血药浓度见图 1 所示, 其主要药代动力学参数见表 1 所示。

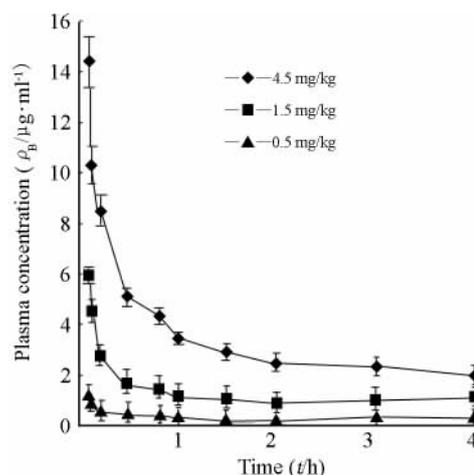


图 1 大鼠静脉注射<sup>125</sup>I-rhEndostatin 的血药浓度-时间曲线

Fig. 1 Plasma concentration-time curve of <sup>125</sup>I-rhEndostatin after i. v. injection to rats

大鼠静脉注射<sup>125</sup>I-rhEndostatin 血药浓度曲线成明显的双相处置特征, 经 3P97 药代动力学程序拟合 (Weight = 1/c<sup>2</sup>), 进一步证明药代动力学过程符合二室模型<sup>[11]</sup>。

表1 大鼠静脉注射<sup>125</sup>I-rhEndostatin 后的药代动力学参数  
Tab. 1 Pharmacokinetic parameters of <sup>125</sup>I-rhEndostatin after i. v. injection to rats

<sup>125</sup> I-rhEndostatin ( $\rho_B/\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	AIC	Degree of fitting	$t_{1/2\alpha}$ ( $t/h$ )	$t_{1/2\beta}$ ( $t/h$ )	K21 ( $h^{-1}$ )	K10 ( $h^{-1}$ )	K12 ( $h^{-1}$ )	Vc ( $\text{kg}^{-1}$ )	CLs ( $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$ )	AUC ( $\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{ml}^{-1}$ )
4.5	-18.6	0.108	0.149	3.94	0.982	0.832	3.002	0.208	0.173	26.02
1.5	-19.1	0.106	0.133	3.51	1.095	0.936	3.359	0.147	0.138	10.88
0.5	-29.7	0.062	0.180	4.65	0.904	0.634	2.460	0.288	0.183	2.74
RSD(%)			16	14	10	19	15	33	14	

从图2可见,大鼠静脉注射后药物浓度-时间时曲线下面积(AUC)与剂量呈直线关系,AUC与给药剂量的线性回归方程为 $Y = 5.6415X + 0.99$ ( $r = 0.9940$ ),剂量改变后 $t_{1/2\beta}$ 等参数无明显改变;CLs均值为( $0.165 \pm 0.024$ ),高、中、低剂量CLs分别为0.173、0.138、0.183,三者基本相同,说明该药在大鼠体内的药代动力学过程基本符合线性药代动力学特征。

2.2 <sup>125</sup>I rhEndostatin 在大鼠体内的组织分布

大鼠尾静脉按中剂量 1.5 mg/kg(205 kBq/100 g)注射后,分别在第5 min、30 min、1 h、2 h、4 h测定脑、甲状腺、心、肺、肝、脾、肾、胃、肠、睾丸(子宫)、脂肪、肌肉和血清中药物浓度。结果(表2)表明,静注<sup>125</sup>I-rhEndostatin后,该药很快分布到机体的各组织,大多数组织在5 min即达到较高浓度;其中肾脏

浓度最高,可能与该药主要经过肾脏排泄有关;肝、脾、肺、甲状腺、血清组织也均有较高浓度。

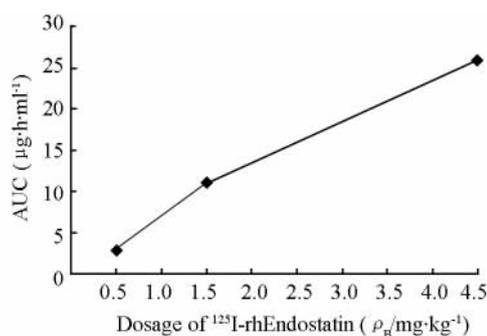


图2 大鼠静脉注射<sup>125</sup>I- rhEndostatin 后的 AUC-剂量曲线  
Fig. 2 AUC-dosage curve of <sup>125</sup>I-rhEndostatin after i. v. injection to rats

表2 大鼠静脉注射<sup>125</sup>I-rhEndostatin 后不同时间的药物组织分布( $w_B/\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ )

Tab. 2 Tissue distribution of <sup>125</sup>I-rhEndostatin in rats after i. v. injection at a single dose of 1.5 mg/kg( $w_B/\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ )

Time	Brain	Thyroid	Heart	Lung	Liver	Spleen	Stomach	Intestine	Kidney	Genitals	Muscle	Adipose	Serum ( $\rho_B/\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ )
5 min	156	1 147	641	2 530	6 400	6 371	1 262	721	16 473	253	114	340	2 205
30 min	52	1 827	954	3 596	1 224	3 171	1 051	991	38 429	739	374	250	3 779
1 h	69	764	628	5 026	679	1 302	736	543	22 939	1 250	326	156	1 824
2 h	36	581	1 052	3 003	479	1 048	804	636	23 773	817	363	171	1 870
4 h	21	549	264	1 785	285	672	795	298	12 361	414	181	111	1 503

2.3 <sup>125</sup>I-rhEndostatin 在大鼠体内的排泄

2.3.1 尿排泄 大鼠在静脉注射<sup>125</sup>I-rhEndostatin (1.5 mg/kg)后,尿12 h的累积排泄百分率为( $48.39 \pm 2.88$ )%,24 h的累积排泄百分率为( $70.58 \pm 3.73$ )%,12 h后尿中药物的排泄速率变慢。这些结果说明肾脏是该药的主要排泄途径(图3)。

2.3.2 粪便排泄 大鼠静脉注射<sup>125</sup>I-rhEndostatin (1.5 mg/kg)后,粪便的12 h累积排泄百分率为

( $0.77 \pm 0.35$ )%,24 h的累积排泄百分率为( $1.53 \pm 0.37$ )%。药物在粪便中排泄较少,说明粪便不是该药的主要排泄途径(图3)。

2.3.3 胆汁排泄 大鼠静脉注射<sup>125</sup>I-rhEndostatin后,胆汁的12 h累积排泄百分率为( $0.09 \pm 0.05$ )%。药物在胆汁中的排泄较少,说明胆汁不是该药的主要排泄途径(图3)。

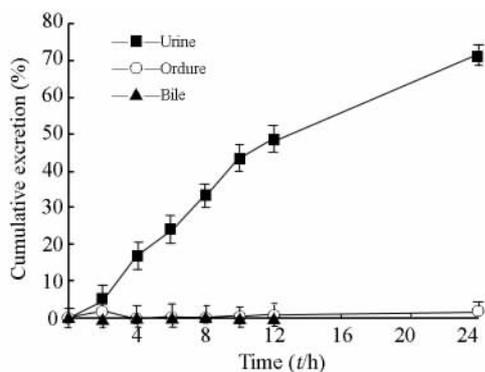


图3 大鼠静脉注射<sup>125</sup>I-rhEndostatin (1.5 mg/kg) 后不同途径的平均累积排泄率

Fig. 3 Cumulative excretion rate of <sup>125</sup>I-rhEndostatin after *i. v.* injection to rats at a dose of 1.5 mg/kg

### 3 讨论

有关生物工程类药物的药代动力学,目前多采用生物检定法和核素标记法(主要是碘标法)进行研究<sup>[12]</sup>。碘标法具有灵敏度高、省时、省力等优点,但该方法存在标记核素易脱落、标记氨基酸的生物再利用等问题,导致样品的总放射性并不代表原形标记物的浓度。为了准确分析生物工程类药物,必须分离并分别测定血浆或尿粪中标记原形物和代谢产物的放射性活度。酸沉淀法就是其中的一种简便有效的分离方法,酸沉淀后测得的放射性可被用来代表原形重组蛋白质药物。

本研究采用碘标记结合TCA沉淀法分析了rhEndostatin在大鼠体内吸收、分布、排泄动力学及组织分布,结果表明,静脉给药条件下,rhEndostatin在大鼠体内的药代动力学行为符合二房室模型处置特征,分布半衰期平均为(0.154 ± 0.024)h,消除半衰期为(4.03 ± 0.58)h。AUC与剂量呈线性关系( $r=0.9940$ )。AUC( $\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{ml}^{-1}$ )对剂量(mg/kg)的回归方程为 $Y=5.6415X+0.99$ ,剂量改变后 $t_{1/2\beta}$ 等参数无明显改变,高、中、低剂量CLs均值基本相同,说明该药在大鼠体内的药代动力学过程基本符合线性药代动力学特征。

大鼠静脉注射药物后该药可很快向机体的各组织分布,大多数组织在5 min后即达到较高浓度,其中肾脏浓度最高,可能与该药主要经过肾脏排泄有关;肝、肺、脾、胃、甲状腺中药物有较高聚集;在生殖器官、脑内浓度很低,表明本药物对生殖系统的影响较低,且不能透过血脑屏障。此外,该药在不同组织中的药物浓度随着时间变化排列顺序有所变化。肺

中浓度由5 min的第4位升到30 min的第3位,而1-4 h时间段则达到第2位,说明rhEndostatin在肺内代谢相对肝、脾中的慢,这可能也是对rhEndostatin治疗实验性肺癌效果较好<sup>[13-14]</sup>的一个佐证。

多肽和蛋白质类药物的失活和消除机制十分复杂,许多组织都是潜在的分解代谢和消除部位。本研究排泄实验结果表明,rhEndostatin主要通过泌尿系统排泄,在粪便和胆汁中排泄量较少。大鼠在给药后0-10 h时段药物排泄速率较快,10 h后排泄速率减慢,12 h的累积排泄速率平均为(48.4 ± 2.9)%,24 h的累积排泄率平均为(70.6 ± 3.7)%。

Endostatin是近年来发现的内源性血管生成抑制剂。大量体内和体外研究表明,Endostatin能抑制毛细血管内皮细胞的增殖和迁移,从而抑制新生血管生成和肿瘤生长<sup>[15-19]</sup>。抗血管新生联合药物治疗为此提供了新的治疗契机。因此,rhEndostatin在大鼠体内药代动力学过程的研究对其进一步的开发具有指导价值。此外,利用其特异性靶向新生血管的特性,通过放射性核素的标记,为肿瘤的诊断甚至治疗提供了可能。

### [参考文献]

- [1] Harris AL. Anti-angiogenesis therapy and strategies for integrating it with adjuvant therapy[J]. *Recent Result Cancer Res*, 1998, 152: 341-352.
- [2] Folkman J. Tumor angiogenesis, a possible control point in tumor growth[J]. *Ann Intren*, 1975, 82(1): 96-100.
- [3] Folkman J, Watson K, Ingber D, *et al.* Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia [J]. *Nature*, 1989, 399(6219): 58-61.
- [4] O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, *et al.* Angiostatin: A novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma[J]. *Cell*, 1994, 79(2): 315-328.
- [5] O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, *et al.* Endostatin: An endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth[J]. *Cell*, 1997, 88(2): 277-285.
- [6] Skovseth DK, Veuger MJ, Sorensen DR, *et al.* Endostatin dramatically inhibits endothelial cell migration, vascular morphogenesis, and perivascular cell recruitment *in vivo* [J]. *Blood*, 2005, 105(3): 1044-1051.
- [7] Velde EA, Reijerkerk A, Brandsma D, *et al.* Early endostatin treatment inhibits metastatic seeding of murine colorectal cancer cells in the liver and their adhesion to endothelial cells [J]. *Br J Cancer*, 2005, 92(4): 729-735.
- [8] Boehm T, Folkman J, Browder T, *et al.* Antiangiogenic therapy of experimental cancer does not induce acquired drug resistance [J]. *Nature*, 1997, 390(6658): 404-407.
- [9] Indraccolo S, Gola E, Rosato A, *et al.* Differential effects of angiostatin, endostatin and interferon-alpha(1) gene transfer on in

- vivo growth of human breast cancer cells[ J ]. *Gene Ther*, 2002, 9 ( 13 ): 867-878.
- [ 10 ] 李忠义,汪军远,刘江秋,等. 重组人内皮细胞生长抑制因子—Endostatin 的表达和纯化[ J ]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2002, 9 ( 2 ): 110-112.
- [ 11 ] 梁文权. 生物药剂学与药物动力学[ M ]. 北京:人民卫生出版社, 2003, 149.
- [ 12 ] 据志昌. 生物技术药物药代动力学研究的分析方法[ J ]. *卫生研究*, 2002, 31( 2 ): 133-135.
- [ 13 ] 李忠义,刘江秋,徐璐,等. 重组人血管内皮抑制素对小鼠 Lewis 肺癌肿瘤抑制作用[ J ]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2003, 10( 4 ): 274-276.
- [ 14 ] Cui R, Takahashi K, Takahashi F, *et al.* Endostatin gene transfer in murine lung carcinoma cells induces vascular endothelial growth factor secretion resulting in up-regulation of *in vivo* tumorigenicity [ J ]. *Cancer Lett*, 2006, 232( 2 ): 262-271.
- [ 15 ] Huang BJ, Liu RY, Huang JL, *et al.* Long-Term Toxicity Studies in Canine of E10A, An Adenoviral Vector for Human Endostatin Gene[ J ]. *Hum Gene Ther*, 2007, 18( 3 ): 207-221.
- [ 16 ] Persano L, Crescenzi M, Indraccolo S. Anti-angiogenic gene therapy of cancer: Current status and future prospects[ J ]. *Mol Aspects Med*, 2007, 28( 1 ): 87-114.
- [ 17 ] Mulder WJ, van der Schaft DW, Hautvast PA, *et al.* Early *in vivo* assessment of angiostatic therapy efficacy by molecular MRI[ J ]. *FASEB J*, 2007, 21( 2 ): 378-383.
- [ 18 ] Tanabe K, Maeshima Y, Ichinose K, *et al.* Endostatin peptide, an inhibitor of angiogenesis, prevents the progression of peritoneal sclerosis in a mouse experimental model[ J ]. *Kidney Int*, 2007, 71( 3 ): 227-238.
- [ 19 ] Najmunnisa N, Mohammed KA, Brown S, *et al.* Talc mediates angiostasis in malignant pleural effusions via endostatin induction [ J ]. *Eur Respir J*, 2007, 29( 4 ): 761-769.
- [ 收稿日期 ] 2007 - 03 - 10 [ 修回日期 ] 2007 - 04 - 10
- [ 本文编辑 ] 韩丹

## · 科技动态 ·

抑癌基因 *PTEN* 功能失活促使神经胶质瘤表达 B7-H1 并介导肿瘤免疫抵抗

肿瘤免疫抵抗是原发性脑肿瘤的特征之一。美国每年新发脑肿瘤患者达到 2 万人,其中多形性神经胶质瘤是一种来源于神经胶质细胞的恶性肿瘤,其恶性程度极高,传统治疗手段疗效差,5 年存活率小于 2%。新近临床上倾向于使用实验性免疫治疗手段尝试治疗,因此探讨肿瘤免疫抵抗及逃逸机制有着重大意义。B7-H1( 亦称 PD-L1、CD274 )是一种在正常组织中发生转录但极少翻译的基因,以往报道其在恶性肿瘤组织中表达增强并介导肿瘤免疫抵抗。在多形性神经胶质瘤中,B7-H1 的表达增加。据此,作者着重探讨抑癌基因 *PTEN* 在神经胶质瘤中与 B7-H1 的表达及肿瘤免疫抵抗之间的关系。

抑癌基因 *PTEN* 是 PI3K 途径的抑制分子,能够抑制 PI3K 信号途径进而负调控下游 Akt 的活化。*PTEN* 功能失活存在于很多恶性肿瘤中,其在恶性肿瘤的转化及免疫抵抗中发挥重要的作用。人神经胶质细胞高表达活化 Ras 及 Akt 后,B7-H1 的表达明显增强;在 *PTEN* 功能缺失的神经胶质瘤细胞系 SF126、SF210、U87、U251、U373 中,B7-H1 的表达亦明显增强。同时观察到,Akt 特异性抑制剂以及高表达 *PTEN* 均可明显抑制 U87 和 SF126 细胞中 B7-H1 的表达。以上结果显示,抑癌基因 *PTEN* 可以通过抑制 PI3K 信号途径及下游 Akt 的活化,阻断细胞表达免疫抑制性分子 B7-H1;在 *PTEN* 功能缺失后,肿瘤细胞可通过高表达 B7-H1 进而实现免疫抑制。

U87 细胞系中,*PTEN* 失活或 Akt 活化均可导致细胞多聚核糖体中 B7-H1 转录产物增加,提示 *PTEN* 失活可通过增强 B7-H1 转录产物的翻译进而提高细胞表面 B7-H1 的表达。以往报道 PI3K 信号途径下游可通过活化 S6K1 及 eIF4E 激活 mRNA 翻译,其中高表达 S6K1 可增强细胞 B7-H1 的表达,而高表达 eIF4E 无此作用。故可认为在肿瘤细胞中,抑癌基因 *PTEN* 功能的失活可通过增强 PI3K 信号途径下游 S6K1 的活化,进而在转录后水平增强肿瘤细胞表面免疫抑制性分子 B7-H1 的翻译水平。

在 U87 神经胶质瘤细胞中,抑癌基因 *PTEN* 的功能缺失导致其抵抗 IL-13R $\alpha$ 2 特异性 T 细胞的杀伤。此细胞在高表达野生型 *PTEN* 后 T 细胞杀伤增强,同时高表达野生型 *PTEN* 及免疫抑制性分子 B7-H1 后又介导杀伤抵抗。使用 B7-H1、PD-1 特异性阻断抗体或 B7-H1 干扰 RNA 亦可增强 IL-13R $\alpha$ 2 特异性 T 细胞杀伤肿瘤细胞。由此进一步证明 *PTEN* 功能缺失可增强 B7-H1 的表达,进而介导肿瘤细胞抵抗免疫杀伤。

总之,神经胶质瘤细胞中抑癌基因 *PTEN* 的功能失活可导致 PI3K 信号途径过度激活,促使下游信号分子 Akt 过度活化并相应激活下游 S6K1,导致肿瘤细胞表面免疫抵抗分子 B7-H1 翻译增多,并介导肿瘤细胞抵抗免疫杀伤。本文提出了作用靶点为 PI3K 及 Akt 的肿瘤生物治疗新机制,但 *PTEN* 的功能缺失及 B7-H1 的高表达在体内是否以同样的方式介导了肿瘤的免疫杀伤抵抗,仍有待进一步实验证明。

[ 侯晋摘译,安华章审阅. Parsa AT, Waldron JS, Panner A, *et al.* *Nat Med*, 2007, 13( 1 ): 84-88. ]