

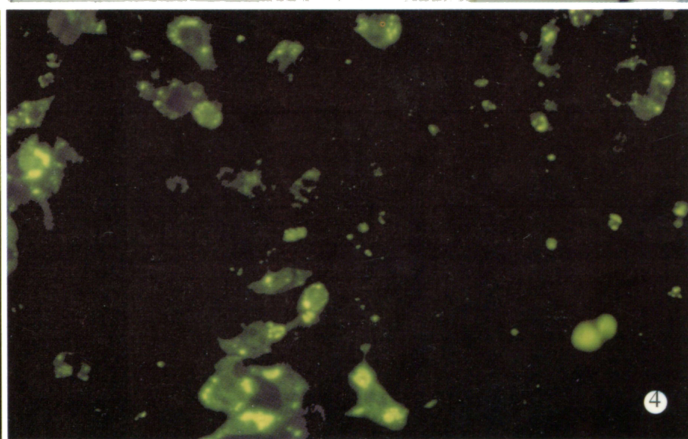
世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 4 月 15 日 第 11 卷 第 4 期

(Volume 11 Number 4)



4/2003

ISSN 1009-3079

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生



World Journal of Gastroenterology® 被 SCI®-E, Research Alert®, Current Contents®, Clinical Medicine, Journal Citation Reports®, Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2001 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 1.445. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告: 世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

目次

2003 年 4 月 15 日 第 11 卷 第 4 期 (总第 108 期)

述评

373 新基因结构与功能研究的策略 成军

病毒性肝炎

- 378 丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白 6 基因和蛋白的生物信息学分析 成军,李克,陆荫英,王琳,刘妍
385 酵母双杂交技术筛选 Hcbp6 结合的肝细胞蛋白编码基因 王琳,李克,成军,陆荫英,张健,陈天艳,洪源,刘妍,王刚,钟彦伟
389 噬菌体表面展示技术筛选 HCBP6 人源单链可变区抗体 钟彦伟,成军,张忠东,孙敏,李强,李克,王琳,李莉,张玲霞,陈菊梅
394 丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白 6 基因转染肝癌细胞的基因表达谱芯片分析 刘妍,成军,李克,杨倩,陆荫英,王琳,王建军
399 应用抑制性消减杂交技术克隆丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS3 反式激活的相关基因 牟劲松,刘妍,王刚,成军,段惠娟,李克,陆荫英,王琳,王惠芬

肝 癌

- 404 单克隆抗体 3A5- 复方中药安迪偶联物的肝癌导向治疗 梁军,孙纪元,谢艳华,栗燕,闫露,王四旺
408 树突状细胞内外对肝癌细胞的抑制作用 郭建巍,秦力维,蔡美英,吕同德
411 肝癌组织中 survivin 蛋白表达的意义 陈涛,贾玉容,田伏洲,蔡忠红,李广阔
415 热休克蛋白 70 与 IL-2 对小鼠肝癌移植模型的治疗比较 傅庆国,沈晓东,孟凡东,郭仁宣
419 肝癌 DC 疫苗活化的 CTL 对人肝癌裸鼠皮下移植瘤的抑制作用 郭建巍,秦力维,蔡美英

基 础 研 究

- 422 HBeAg 肝细胞结合蛋白基因的筛选与克隆 陆荫英,王琳,李克,刘妍,成军,张玲霞
426 酵母双杂交技术筛选 HBeAg 肝细胞结合蛋白基因 陆荫英,王琳,成军,李克,刘妍,张玲霞
430 大鼠肝卵圆细胞的生物学特征 陈耀凯,王宇明,李俊刚,郎松
434 肝硬变大鼠肝部分切除术后残肝 TGF- α 、HGF、PCNA 和 IGFBP-1s mRNA 的变化 陈平,李昆,董家鸿,韩本立
438 细菌内同源重组法构建 HBV S 区和 C 区基因非复制型腺病毒载体及其体外表达 黄呈辉,欧阳玲,马会慧,汤正好,李刚,姚集鲁
442 大鼠肠巨噬细胞 TNF α 表达及复方大承气汤的影响 陈海龙,王辉,李文利,范琦
446 家兔回肠淋巴管铸型的扫描电镜研究 滕诚毅,王晓平,魏双艳,王广友,汤凤彩

焦 点 论 坛

- 450 酵母单杂交技术的原理及应用 马守东,洪源,成军
451 酵母双杂交系统的原理及应用 陈天艳,成军,张树林
456 抑制性消减杂交技术原理及应用 杨倩,成军,刘妍,王建军,张树林
459 噬菌体展示技术的原理及应用 张忠东,成军,张树林
461 基因芯片技术在肝炎病毒研究中的应用 刘妍,成军,王建军,杨倩,陆荫英
464 丙型肝炎病毒与 JAK-STAT 信号转导系统 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳
466 丙型肝炎病毒与 MAPK 信号转导系统 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳
469 肿瘤抑制因子 p21/waf1 与肝炎病毒复制与表达的调节研究 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳
472 乙型肝炎病毒对细胞信号转导的影响 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳
474 生物信息学技术与新基因的研究 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳

研 究 快 报

- 478 中药复方肠安泰对肠癌肺转移模型小鼠肠黏膜固有层 B 细胞及 IL-12 的影响 王文萍,王垂杰,姜良铎,饭乡正明
481 细胞外信号调节激酶在胃癌组织中的表达及其与幽门螺杆菌感染的关系 褚传莲,李延青,张燕,李文婕,赵宪邨

研究快报	483 实验性肝纤维化形成过程中几种基质金属蛋白酶表达的研究 李保森,游绍莉,赵志海,辛绍杰,赵景民,王松山 486 鼠肝移植对胃黏膜损伤的实验研究 褚延魁,马庆久,鲁建国,刘维,何显力,杜锡林,乔庆,王胜智
临床经验	488 重叠丙型肝炎病毒感染在慢性乙型肝炎患者肝脏病变中的作用 商庆华,于建国,徐传镇,肖德明,尹燕明,陈崇兴,张光曙 491 正常人胃左静脉的声象图及血流动力学特征 夏建国,董胜翔,李凤华 494 手术与非手术治疗重症急性胰腺炎 120 例 金世龙,侯庆福,顾红光,王仁云,廖维健
消息	388 欢迎订阅 2003 年度世界华人消化杂志 393 欢迎订阅 2003 年度 World Journal of Gastroenterology® 398 中国科技期刊走向世界的步伐正在加快 403 世界华人消化杂志和 World J Gastroenterol 电子版目次 407 提供您使用世界华人消化杂志和 World J Gastroenterol 电子版 414 世界华人消化杂志和 WJG 获得商标注册 418 美国国立医学图书馆 2002 年度收录中国医学期刊名单 425 世界胃肠病学杂志英文版获得 2003-2004 年国家自然科学基金重点学术期刊专项基金资助 433 WJG 搭建我国消化化学基础和临床研究惟一国际交流的平台 437 世界胃肠病学杂志英文版获得第二届国家期刊奖百种重点期刊 477 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊
征文通知	429 第五届上海国际肝癌肝炎会议征文启事 480 全国第八届中西医结合普通外科学术研讨会征文通知
电子版	2003 世界华人消化杂志电子版 http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2003.htm 2002 世界华人消化杂志电子版 http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2002.htm 2001 世界华人消化杂志电子版 http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2001.htm 2003 World J Gastroenterol 电子版 http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2003.htm 2002 World J Gastroenterol 电子版 http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2002.htm 2001 World J Gastroenterol 电子版 http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2001.htm
读者来信	493
封面故事	377 中国人民解放军第 302 医院传染病研究所、基因治疗研究中心

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名
陈可冀 题写版权刊名
(月刊)
创刊 1993-01-15
改刊 1998-01-25
出版 2003-04-15
原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀 张金哲
黄象谦 张学庸
黄志强 赵东海
黎介寿 周殿元
刘耕陶 社长总编辑 马连生
裘法祖 中文编辑 潘伯荣
汤钊猷 王瑾晖
王宝恩 英文编辑 任师颜
危北海 排版 李少华
吴孟超 校对 李天华
吴咸中

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街 77 号
E-mail: wcjd@wjgnet.com
出版 世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市 2345 信箱
E-mail: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>
电话 (010)85381892
传真 (010)85381893
印刷 北京科信印刷厂
发行 国内 北京报刊发行局
国外 中国国际图书贸易总公司
(100044, 北京 399 信箱)
订购 全国各地邮电局
邮购 世界胃肠病学杂志社发行部
(100023, 北京市 2345 信箱)
电话: (010)85381892
传真: (010)85381893
2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外
检索系统收录
美国《化学文摘(CA)》
荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》
俄罗斯《文摘杂志()》
中国科技论文统计与分析
中国学术期刊文摘
中国中医药信息服务网
中国生物医学文献光盘数据库
《中文科技资料目录(医药卫生)》
中国生物医学期刊目次数据库
中国医学文摘外科学分册(英文版)
中国医学文摘内科学分册(英文版)

特别声明
本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

ISSN 1009-3079 邮发代号 国外代号 国内定价 广告经营许可证
CN 14-1260/R 82-262 M 4481 每期 24.00 元 全年 288.00 元 1401004000050

COMMENTARY

Strategy in study the structure and function of novel gene

Cheng J 373

VIRAL HEPATITIS

Bioinformatics analysis of human hepatitis C virus core protein-binding protein 6 gene and protein

Cheng J, Li K, Lu YY, Wang L, Liu Y 378

Screening of gene encoding of hepatic proteins interacting with Hcbp6 via yeast two hybridization

Wang L, Li K, Cheng J, Lu YY, Zhang J, Chen TY, Hong Y, Liu Y, Wang G, Zhong YW 385

Screen for human single chain variable region in antibody against human hepatitis C virus core protein binding protein 6

Zhong YW, Cheng J, Zhang ZD, Sun M, Li Q, Li K, Wang L, Li L, Zhang LX, Chen JM 389

Gene expression profile of HepG2 cell transfected with hepatitis C virus core protein-binding protein 6 gene

Liu Y, Cheng J, Li K, Yang Q, Lu YY, Wang L, Wang JJ 394

Cloning of genes transactivated by NS3 protein of HCV with suppressive and subtractive hybridization

Mu JS, Liu Y, Wang G, Cheng J, Duan HJ, Li K, Lu YY, Wang L, Wang HF 399

LIVER CANCER

Effect of monoclonal antibody 3A5 coupled with Chinese medicine compound Andi in targeted treatment of hepatocellular carcinoma

Liang J, Sun JY, Xie YH, Li Y, Yan L, Wang SW 404

Inhibition of dendritic cells against hepatocellular carcinoma *in vitro* and *in vivo*

Guo JW, Qin LW, Cai MY, Lu TD 408

Expression of survivin protein in hepatocellular carcinoma tissues and its relationship with clinical pathological features and prognosis.

Chen T, Jia YR, Tian FZ, Cai ZH, Li GK 411

Comparison of therapeutic efficacy between tumor-derived heat shock protein 70 and interleukine-2

Fu QG, Shen XD, Meng FD, Guo RX 415

Cytotoxic lymphocytes primed by DC based hepatocellular carcinoma vaccine against growth of carcinoma xenograft on nude mice

Guo JW, Qin LW, Cai MY 419

BASIC RESEARCH

Screening and cloning of gene encoding HBcAg interacting protein in hepatocytes

Lu YY, Wang L, Li K, Cheng J, Liu Y, Zhang LX 422

Screening of HBcAg interacting proteins in hepatocytes with yeast-two hybrid technique

Lu YY, Wang L, Li K, Liu Y, Cheng J, Zhang LX 426

Biological characteristics of rat hepatic oval cells

Chen YK, Wang YM, Li JG, Lang S 430

Changes of TGF- α , HGF, PCNA and IGFBP-1s mRNA after partial hepatectomy in rat liver

Chen P, Li K, Dong JH, Han BL 434

Construction of replication-deficient recombinant adenoviral vector carrying HBV S and C region gene by homologous recombination in bacteria and its expression *in vitro*

Huang CH, Ou-Yang L, Ma HH, Tang ZH, Li G, Yao JL 438

TNF α expression and effects of Dachengqi Decoction compound in gut macrophages

Chen HL, Wang H, Li WL, Fan Q 442

Lymphatic corrosion casts in rabbit ileum: scanning electronmicroscopic studies

Teng CY, Wang XP, Wei SY, Wang GY, Tang FC 446

FOCUSED FORUM

Principle and applications of yeast single hybridization

Ma SD, Hong Y, Cheng J 450

Principle of yeast two hybridization and its applications

Chen TY, Cheng J, Zhang SL 451

Principle and applications of suppressive and subtractive hybridization technique

Yang Q, Cheng J, Liu Y, Wang JJ, Wang SL 456

Principle of phage display technique and its application

Zhang ZD, Cheng J, Zhong YW, Zhang SL 459

Gene chip technique in the pathogenesis of viral hepatitis

Liu Y, Cheng J, Wang JJ, Yang Q, Lu YY 461

Hepatitis C virus and signal transduction system of JAK-STAT

Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L 464

Hepatitis C virus and signal transduction system of MAPK

Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L 466

Tumor inhibitive factor p21/waf1 and regulation of replication and expression of hepatitis virus

Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L 469

Effect of Hepatitis B virus on cellular signal transduction

Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L 472

Study on Bioinformatics and new gene

Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L 474

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi \$

World Chinese Journal of Digestology
Monthly \$ \$

Founded on 15th January, 1993

Renamed on 25th January, 1998

Publication date 15th April, 2003

Honorary-Editor-in-Chief

Bo-Rong Pan

President and Editor-in-Chief

Lian-Sheng Ma

ISSN 1009-3079 **CN** 14-1260/R

Edited by Editorial Board of World Chinese Journal of Digestology
P.O.Box 2345, Beijing 100023, China

Published by The WJG Press

77, Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Overseas Distributor China International Book Trading Corporation
P.O.Box 399, Beijing 100044, China **Code No.** M4481

Mail-Order Circulation Section, The WJG Press

P.O.Box 2345, Beijing 100023, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

Email: wcjd @ wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

Copyright © 2003 by The WJG Press

Indexed/

Abstracted by

Chemical Abstracts

EMBASE/

Excerpta Medica

Abstract Journal

单克隆抗体3A5 - 复方中药安迪偶联物的肝癌导向治疗

梁 军,孙纪元,谢艳华,栗 燕,闫 露,王四旺

梁军,中国人民解放军第四军医大学唐都医院放疗科 陕西省西安市 710038
孙纪元,谢艳华,王四旺,中国人民解放军第四军医大学药物研究所 陕西省西安市 710032
栗燕,闫露,中国人民解放军第四军医大学西京医院综合诊疗科 陕西省西安市 710032
梁军,男,1964-06-24 生,吉林省吉林市人,汉族,医学硕士,主治医师,讲师.
陕西省中医药基金课题, No.00531
项目负责人:王四旺,710032,陕西省西安市长乐西路17号,中国人民解放军第四军医大学药物研究所. wangsiw@fmmu.edu.cn
电话:029-3377181 传真:029-3377181
收稿日期:2002-12-08 接受日期:2002-12-22

Effect of monoclonal antibody 3A5 coupled with Chinese medicine compound Andi in targeted treatment of hepatocellular carcinoma

Jun Liang, Ji-Yuan Sun, Yan-Hua Xie, Yan Li, Lu Yan, Si-Wang Wang

Jun Liang, Department of Radiotherapy, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, Shaanxi Province, China
Ji-Yuan Sun, Yan-Hua Xie, Si-Wang Wang, Institute of Pharmaceuticals, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China
Yan Li, Lu Yan, Department of Comprehensive Diagnosis and Therapy, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China
Supported by the Fund for Traditional Chinese Medicine Research of Shaanxi Province, No.00531
Correspondence to: Dr. Si-Wang Wang, Institute of Pharmaceuticals, Fourth Military Medical University, Changle Xi Road, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China. wangsiw@fmmu.edu.cn
Received: 2002-12-08 Accepted: 2002-12-22

Abstract

AIM: To explore the anti-tumor effect of monoclonal antibody 3A5 coupled with Chinese medicine compound Andi injection in targeted treatment of hepatocellular carcinoma (HCC).

METHODS: Monoclonal antibody 3A5 was used to prepare conjugates with Andi powder. The immunoreactivity of the conjugates on human HCC BEL-7402 cell was detected by ELISA. The targeted therapeutic effects of 12, 24 and 50 mg/kg conjugates were observed in mice/nude mice transplantation tumor models. The positive control group was treated with 5-FU.

RESULTS: The detection of clone production indicated that 3A5-Andi has more cytotoxicity than Andi, and their IC_{50} were 2.8 mg/L and 5.1 mg/L respectively ($P < 0.01$). The survival rates of 24 mg/kg and 50 mg/kg of 3A5-Andi *ip* on mice transplantation ascites H₂₂ HCC were 133% and 167 % respectively ($P < 0.05$), but those of 12 mg/kg and 24 mg/kg of Andi only were 112 % and 138 % respectively ($P < 0.05$). The inhibitory rates of 24 mg/kg of 3A5-Andi and 12 mg/kg of Andi *iv* on nude mice transplanted human HCC BEL-7402 cell tumor were 63.5 % and 52.5 % respectively ($P > 0.05$). The inhibitory rates of 24 mg/kg 3A5-Andi and 12 mg/kg Andi *pt* on human HCC BEL-7402 cell were 75.4 % and 61.0 %

respectively ($P > 0.05$).

CONCLUSION: 3A5-Andi conjugates have a tumor targeted therapeutic effect. This effect is stronger than that of Andi only on nude mice transplanted human HCC BEL-7402, and the administration of *pt* is better than that of *iv*.

Liang J, Sun JY, Xie YH, Li Y, Yan L, Wang SW. Effect of monoclonal antibody 3A5 coupled with Chinese medicine compound Andi in targeted treatment of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11(4):404-407

摘要

目的: 探讨单克隆抗体 3A5 - 复方中药安迪粉针剂偶联物 (3A5-Andi) 的肝癌导向治疗作用。

方法: 用单克隆抗体 3A5 与安迪粉针剂 (Andi) 制备偶联物, ELISA 检测 3A5-Andi 偶联物保持对人肝癌 BEL-7402 细胞的免疫反应性; 采用小鼠/裸鼠移植性肿瘤模型, 5-FU 为阳性对照组, 观察 12、24 和 50 mg/kg 的导向治疗作用。

结果: 克隆生成法显示, 3A5-Andi 具有比 Andi 更强的细胞毒性, 二者的 IC_{50} 分别为 2.8 mg/L 和 5.1 mg/L ($P < 0.01$)。24 mg/kg 和 50 mg/kg 3A5-Andi *ip* 对小鼠移植性腹水型 H₂₂ 肝癌的生命延长率 (LPR) 分别为 133 % 和 167 % ($P < 0.05$); 而 12 mg/kg 和 24 mg/kg Andi 的 LPR 分别为 112 % 和 138 % ($P < 0.05$)。24 mg/kg 3A5-Andi 和 12 mg/kg Andi *iv* 对裸鼠移植性人肝癌 BEL-7402 细胞瘤的瘤重抑制率分别为 63.5 % 和 52.2 % ($P > 0.05$)。24 mg/kg 3A5-Andi 和 12 mg/kg Andi *pt* 对 BEL-7402 人肝癌的抑制率分别为 75.4 % 和 61.0 % ($P > 0.05$)。

结论: 3A5-Andi 偶联物具有一定的肿瘤导向治疗作用; 3A5-Andi 与 Andi 比较, 3A5-Andi 对裸鼠移植人肝癌 BEL-7402 具有较强的治疗作用; *pt* 方式 3A5-Andi 比 *iv* 疗效更好。

梁军, 孙纪元, 谢艳华, 栗燕, 闫露, 王四旺. 单克隆抗体 3A5 - 复方中药安迪偶联物的肝癌导向治疗. 世界华人消化杂志 2003;11(4):404-407
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/404.htm>

0 引言

我们以往的研究已经证实复方中药安迪粉针剂 (Andi) 具有明显抗肿瘤活性, 而毒副作用较低。目前, 随着单克隆抗体产品, 如 Herceptin、Rituxan 及 Panorex 等在美国及欧洲的批准上市, 使得以单抗为载体的抗肿瘤导向药物研究再度引起人们的关注。肝癌在我国常见。所以, 我们采用抗人肝癌大鼠型单克隆抗体 3A5 与 Andi

制成偶联物, 并就偶联物的肿瘤导向治疗作用进行了实验研究.

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌 BEL-7 402 细胞, 由本校病理学教研室惠赠, 引株采用含 100 ml/L 小牛血清 -RPMI1 640 培养液, 于 50 mL/L CO₂, 37 °C, 100 % 湿度的 HEL-LAB 型 CO₂ 培养箱(美国生产)内培养, 每周传代 2 次; Balb/c (nu/nu) 裸鼠, 昆明小鼠, 雌雄兼用; 6-7 wk, 18.5-20.6 g; 动物购自第四军医大学实验动物中心; 抗肝癌大鼠单克隆抗体 3A5 为 IgG 型单抗, 与人肝癌细胞 BEL-7402 呈强阳性反应. Andi 为本校药物研究所生产(蟾酥和人参组成), 按文献[1]方法制备. 批号: 20000318. 碳二亚胺(EDC)、N- 羟基琥珀酰亚胺均购自 Sigma 公司.

1.2 方法 单克隆抗体 3A5 的制备与纯化按文献[J Immunol Methods 1984;71:9]提供的方法进行, 取杂交瘤腹水用 MARK 3-Sepharose 4B 亲和层析柱纯化, 依次用 PBS, PBS+2.5 mol/L NaCl 和 0.1 mol/L 甘氨酸 - 盐酸缓冲液洗脱, 将第 2 蛋白峰用 0.3 mol/L Tris-HCl(pH 8.0)缓冲液中和后, 再用 PBS 透析、浓缩备用. 单抗 3A5 与 Andi 偶联物的制备按文献[Methods Enzymol 1983;93:168]活泼酯法制备, 滴定透析外液, 测定其中 Andi 量, 推算偶联物中 Andi 的含量并计算单抗与药物的浓度比. 免疫反应性检测采用 ELISA 法测定 3A5 对人肝癌 BEL-7402 细胞的免疫反应性[Methods Enzymol 1983;92:168]. 采用克隆生成测定法观察 3A5-Andi 对 BEL-7402 细胞杀伤作用, 取对数生长的肿瘤细胞接种于 96 孔培养板中, 每孔 50 个细胞, 培养 24 h. 加入待测样品, 每一药物浓度设 4 个平行孔, 各药物均用无血清 RPMI 1640 培养液稀释, 对照组(CN)只加无血清 RPMI 1 640 培养液, 每孔加液 50 μ L. 药物与细胞接触 24 h, 吸去培养液, 用无血清 RPMI 1 640 培养液洗 2 次, 然后加入含血清的 RPMI 1 640 新鲜培养液, 继续培养. 接种 7 d 后在倒置显微镜下数细胞集落数(细胞数超过 30 个以上), 以 CN 组细胞集落数为 100 %, 求得药物不同浓度下的集落生成率. 对小鼠 H₂₂ 腹水型肝癌的影响实验: 18-22 g 昆明小鼠腹腔接种 H₂₂ 细胞 6×10^5 /L. 次日 ip 12, 24, 50 mg/kg 3A5-Andi 和 6, 12, 24 mg/kg Andi, 1 次/d, 共 18 次; CN 组 ip NS. 记录动物存活时间, 按公式 $(t_1/t_2 - 1) \times 100\%$ 计算生命延长率[increase life span ILS; t_1 治疗组动物生存时间, t_2 CN 组动物生存时间]; 实验过程中每 5 d 测量动物体质量 1 次. 对人肝癌裸鼠移植瘤的影响: 将直径 2 mm 的 BEL-7 402 人肝癌瘤块接种于 balb/c (nu/nu) 裸鼠右腋下. 于接种后 3 d iv 和瘤体周围注射(pt) 3A5-Andi 和 Andi, 3A5-Andi 的剂量为 24 mg/kg, Andi 的剂量为 12 mg/kg, 2d / 次, 共 6 次. CN 组动物 iv 和 pt 生理盐水(NS). 各组动物均为 8 只. 治疗期间每 5 d 测量肿瘤长径 a (cm) 以及与其相垂直的短径 b (cm) 1 次并按下式计算瘤质量: $m(\text{瘤})/g = (a \times b^2) \times 0.5$. 于 30 d 后

处死动物, 剥离瘤块称质量, 并计算抑瘤率.

统计学处理 采用多样本秩和检验方法(Kruskal-Wallis 法)检验 ILS; 单因素方差分析法检验瘤质量差异.

2 结果

纯化 3A5 抗体对 BEL-7 402 细胞呈强阳性反应. 经测定偶联物中的 3A5 与 Andi 浓度比约为 1 : 68. 将 3A5 单抗与 3A5-Andi 分别以 PBS 倍比稀释成一系列浓度, 用 ELISA 法测定他们对靶细胞 BEL-7 402 的反应性. 结果表明偶联物中 3A5 反应性未见明显改变(图 1)

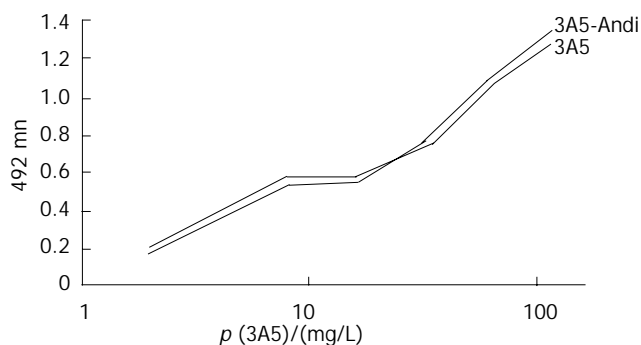


图 1 3A5-Andi 及 3A5 单抗对人肝癌 BEL-7 402 细胞的免疫反应性.

2.1 对人肝癌细胞的杀伤作用 克隆形成测定结果, 药物与细胞作用 24 h, 3A5-Andi 和 Andi 对人肝癌 BEL-7 402 细胞的半数抑制浓度(IC₅₀)分别为 2.8 mg/L 和 5.1 mg/L. 3A5-Andi 对靶细胞的杀伤力强于 Andi (图 2).

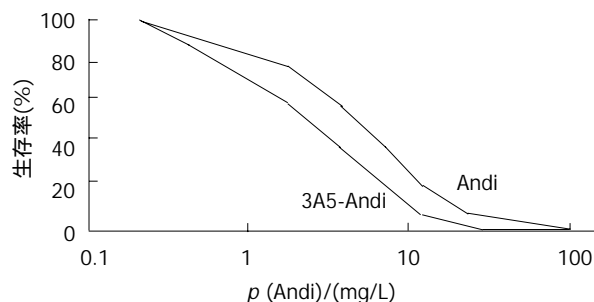


图 2 3A5-Andi 和 Andi 对人肝癌 BEL-7 402 细胞的抑制作用.

2.2 对腹水型 H₂₂ 肝癌荷瘤小鼠的影响 3A5-Andi 对腹水型 H₂₂ 肝癌荷瘤小鼠的治疗作用明显强于 Andi 组(P < 0.01). 50 mg/kg 3A5-Andi 组观察 60 d 尚存活 3 只动物, 解剖发现腹腔内无腹水和肿瘤(表 1).

2.3 对裸鼠人肝癌移植性肿瘤的影响 3A5-Andi 对移植人肝癌 BEL-7 402 肿瘤的生长, 在接种后 15 d 内不明显, 15 d 后 CN 组肿瘤生长速度明显加快, 而 3A5-Andi 和 Andi 治疗组则显著抑制, 其抑制程度 3A5-Andi 强于 Andi 组, 且随时间延长而抑制作用更趋显著. 12 mg/kg Andi iv 组抑瘤率为 52.2 %; 24 mg/kg 3A5-Andi iv 组肿瘤抑制率为 63.5 %, 但二者比较无显著性差异(P > 0.05, 表 2); pt 给药方式, 二者的抑瘤率分别为 61.0 % 和 75.4 % (P > 0.05).

表1 Andi及3A5-Andi对腹水型H₂₂肝癌荷瘤小鼠的LPR (n=20)

分组	给药量/mg/kg	t(中位生存)/d	LPR/%	存活动物数 60 d
CN	10(H ₂ O)	13.5		
Andi	24	32.1 ^b	138	2
Andi	12	28.6 ^b	112	1
Andi	6	25.5 ^b	89	0
3A5-Andi	50	36.1 ^b	167	3
3A5-Andi	24	31.5 ^b	133	2
3A5-Andi	12	29.0 ^b	115	1

^bP<0.01 vs CN.

表2 Andi及3A5-Andi对裸鼠移植人肝癌BEL-7 402的治疗作用(n=8)

分组	剂量/mg/kg	给药途径	m(裸鼠)/g	m(瘤)/g	抑瘤率/%
CN	10	pt	4.01 ± 1.06	1.95 ± 1.21	
Andi	12	pt	5.63 ± 1.38	0.76 ± 0.49 ^b	61.0
3A5-Andi	24	pt	6.11 ± 1.40	0.48 ± 0.22 ^b	75.4
CN	10	iv	3.88 ± 0.97	1.86 ± 0.92	
Andi	12	iv	5.57 ± 1.24	0.89 ± 0.52 ^d	52.2
3A5-Andi	24	iv	5.35 ± 1.26	0.67 ± 0.25 ^d	63.5

^a为实验末与实验前裸鼠的体重质量差值。^bP<0.01 vs CN(pt); ^cP<0.05 vs CN(iv).

3 讨论

近年来,对中草药抗肝癌的作用和机制进行了广泛研究^[2-13]. Andi抑制癌细胞生长的途径是多方面的. 梁军 et al^[1]的研究表明, Andi对HL-60细胞具有显著的诱导分化作用. 在孙纪元 et al^[14]的研究中,已发现Andi具有促进⁶⁰Co-射线照后小鼠骨髓造血干细胞(CFU-S)向粒-单核系祖细胞(CFU-GM)分化的作用,并使白细胞升高. 单抗和单抗导向药物经区域性给药后(包括动脉灌注、腔内给药、瘤内或瘤旁给药),由于其具有大分子的药代动力学性质,使得偶联物在肿瘤部位滞留时间延长,局部浓度高,且减少了非肿瘤组织对导向药物的摄取,从而具有独特的应用价值,在临床应用中已取得一定的治疗效果,成为导向治疗中值得重视的方法^[15-31]. 安迪粉针剂与抗肝癌大鼠单抗3A5偶联对肿瘤的治疗作用还未见报道.

我们将安迪粉针剂与抗肝癌大鼠单抗3A5偶联,观察其经静脉给药和肿瘤局部给药对肿瘤的治疗作用. 结果表明,3A5-Andi保持3A5单抗对BEL-7402细胞的免疫反应性,与3A5单抗相比活性相当. 克隆生成法测定结果,3A5-Andi保持了Andi的细胞毒活性. 对小鼠腹水型H₂₂肝癌的治疗结果表明:3A5-Andi比Andi具有较强的治疗作用,其中ip 50 mg/kg 3A5-Andi观察60 d时尚存活3只动物,经解剖发现腹腔内无腹水及肿瘤. 对裸鼠人肝癌BEL-7 402细胞移植瘤的治疗结果表明,3A5-Andi抑瘤作用强于Andi;pt的治疗效果

优于iv方式.

总之,实验结果提示:(1)3A5-Andi偶联物具有一定的肿瘤导向治疗作用.(2)3A5-Andi与Andi比较,3A5-Andi对裸鼠移植人肝癌BEL-7 402具有较强的治疗作用;(3)pt方式3A5-Andi比iv疗效更好.

4 参考文献

- Liang J, Sun JY, Xie YH, Wang SW, Li YR. Inducement of differentiation of HL-60 cells by Chinese medicine Andi. *Disi Junyi Daxue Xuebao* 2001;23:318-319
- Wang XL, Liu P, Liu CH, Liu C. Effects of coordination of FZHY decoction on functions of hepatocytes and hepatic satellite cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:663-665
- Meng ZQ, Guo WJ, Yu EX, Song MZ, Huang WX. Inhibition of telomerase activity and induced apoptosis of liver cancer cell SMMC-7721 by drug serum of Jianpi Liqi herbs. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:879-882
- Jiang SM, Xiao ZM, Song JG, Xu ZH, Ma SL. Effects of BPF extracts on proliferation and mitochondria metabolism of human hepatoma SMMC-7 721 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:310-313
- Huang ZM, Yang XB, Cao WB, Chen HY, Zhang JZ, Teng L, Chen HS, Cai GM, Liu DP. Inhibition of Qinling Chongji on HBsAg and HBeAg secretion in cultured cell line 2215. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:184-186
- Guo WJ, Yu EX, Zheng SG, Shen ZZ, Luo JM, Wu GH, Xia SA. Study on the apoptosis and cell cycle arrest in human liver cancer SMMC7721 cells induced by Jianpiliqi herbs. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:52-55
- Xiao ZM, Song JG, Xu ZH, Zhang SY, Jiang SM. The effects of the extracts from AMB on proliferation and mitochondria metabolism of human hepatoma SMMC-7721 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:46-48
- Yin F, Yao SK, Wu XM, Gao HS, Li ZH. Serapharmacological study of Ganzheng oral solution on proliferation and expression of ERK in SMMC721 cells with transforming growth factor α . *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:1017-1020
- Fan JJ, Jia ZP, Xie JW, Ma J, Wang R, Xie H, Xu LT. Synergistic anti-hepatoma effect and its mechanism of Stellera chamaejasme mouse drug-serum with cytotoxic chemotherapeutic agents in vitro. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:1008-1012
- Han JQ, Hu C, Liu SX, Xiu HM, Xu Z, Hu DR. The mechanism of the Chinese herbal compound in protecting hepatocyte in vitro. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:902-906
- Si WK, Pan J, Lu H, Li ZQ. Study on matrine inhibiting proliferation of HepG2 cell and the relation between its dosage and inhibiting style. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:185-189
- Shi LC, Wu WY, Zhang WB, Qu YQ, Tan M, Xiao CM. Effect of curcuma aramatica oil on proliferating cell nuclear antigen of hepatoma in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:156-157
- Liu X, Yuan JP, Chung CK, Chen XJ. Antitumor activity of the sporoderm-broken germinating spores of Ganoderma lucidum. *Cancer Lett* 2002;182:155-161
- Sun JY, Xie YH, Wang SW. Pharmacodynamic Studies of Chinese medicine Andi in rats with Aplastic Anemia. *Disi Junyi Daxue Xuebao* 2001;23:329
- Sun ZW, Liu YF, Ma LH, Li GH. A preliminary study on targeting effect of scFv₍₂₅₎ fusing to TNF α against hepatocellular carcinoma. *Xibao Yu Fenzi Mianyi Zazhi* 2001:125
- Li M, Li H, Xiao L, Jiang Z, Li H, Mu J. Antitumor activity of the lysates prepared from anti-CD3 antibody activated killer cells. *Huaxi Yike Daxue Xuebao* 2000;31:49-51
- Nakamoto Y, Kaneko S, Fan H, Momoi T, Tsutsui H, Nakanishi K, Kobayashi K, Suda T. Prevention of hepatocellular carcinoma development associated with chronic hepatitis by anti-fas ligand antibody therapy. *J Exp Med* 2002; 211:1105-1111
- Yang LJ, Wang WL. Preparation of monoclonal antibody against apoptosis-associated antigens of hepatoma cells by subtractive immunization. *World J Gastroenterol* 2002;8:808-814

- 19 Jiang P, He S, Zhang C. In vitro hepatic targeting tendency of galactosyl-anti CD3 McAb-TILS. *Huaxi Yike Daxue Xuebao* 1999; 30:72-74
- 20 Yang LJ, Sui YF, Chen ZN. Preparation and activity of conjugate of monoclonal antibody HAb18 against hepatoma F(ab')₂ fragment and staphylococcal enterotoxin A. *World J Gastroenterol* 2001;7:216-221
- 21 Bian HJ, Chen ZN, Deng JL. Direct technetium-99m labeling of anti-hepatoma monoclonal antibody fragment: a radioimmunoconjugate for hepatocellular carcinoma imaging. *World J Gastroenterol* 2000;6:348-352
- 22 Liu X, Shang B, Liu X. Inhibition of the growth of hepatoma and hepatic metastasis by pingyangmycin conjugated with Fab' fragment of monoclonal antibody. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2001;81:201-204
- 23 Chen BM, Cheng TL, Tzou SC, Roffler SR. Potentiation of antitumor immunity by antibody-directed enzyme prodrug therapy. *Int J Cancer* 2001;94:850-858
- 24 Koning GA, Morselt HW, Gorter A, Allen TM, Zalipsky S, Kamps JA, Scherphof GL. Pharmacokinetics of differently designed immunoliposome formulations in rats with or without hepatic colon cancer metastases. *Pharm Res* 2001;18:1291-1298
- 25 You SY, Zhang CY, Yi XP, Huang W. Evaluation of clinical significance of isoferitin by development of new monoclonal antibodies specific for acidic isoferitin. *Hybridoma* 2001;20:243-248
- 26 Wei YQ, Huang MJ, Yang L, Zhao X, Tian L, Lu Y, Shu JM, Lu CJ, Niu T, Kang B, Mao YQ, Liu F, Wen YJ, Lei S, Luo F, Zhou LQ, Peng F, Jiang Y, Liu JY, Zhou H, Wang QR, He QM, Xiao F, Lou YY, Xie XJ, Li Q, Wu Y, Ding ZY, Hu B, Hu M, Zhang W. Immunogene therapy of tumors with vaccine based on Xenopus homologous vascular endothelial growth factor as a model antigen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:11545-11550
- 27 Yoshida Y, Myozaki M, Kuroda E, Yamashita U. Cytotoxic effect of an anti-liver monoclonal autoantibody obtained after neonatal thymectomy in mice. *J Autoimmun* 2001;16:373-382
- 28 Oriuchi N. Immunoscintigraphy and radioimmunotherapy of cancer using monoclonal antibodies. *Gan To Kagaku Ryoho* 1999; 26:762-767
- 29 Shigeoka H, Karsten U, Okuno K, Yasutomi M. Inhibition of liver metastases from neuraminidase-treated colon 26 cells by an anti-Thomsen-Friedenreich-specific monoclonal antibody. *Tumour Biol* 1999;20:139-146
- 30 Yamamoto K, Kitamura K, Nishida S, Ichikawa D, Okamoto K, Yamaguchi T, Takahashi T. Iodine-131 human-mouse chimeric Fab monoclonal antibody A7 guided surgery for colorectal cancer patients: a pilot study. *Surg Today* 1999;29:190-193
- 31 Mohr L, Schauer JJ, Boutin RH, Moradpour D, Wands JR. Targeted gene transfer to hepatocellular carcinoma cells in vitro using a novel monoclonal antibody-based gene delivery system. *Hepatology* 1999;29:82-89

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2003 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

提供您使用世界华人消化杂志和 World J Gastroenterol 电子版

本刊讯 世界华人消化杂志 (原新消化病学杂志) 从 1993-2002 年的电子版全部出版. 世界华人消化杂志过刊索引: 新消化病学杂志, 1993 (1-4 期); 新消化病学杂志, 1994 (1-4 期); 新消化病学杂志, 1995 (1-4 期); 新消化病学杂志, 1996 (1-12 期); 新消化病学杂志, 1997 (1-12 期); 华人消化杂志, 1998 (1-12 期); 世界华人消化杂志, 1999 (1-12 期); 世界华人消化杂志, 2000 (1-12 期); 世界华人消化杂志, 2001 (1-12 期). 世界华人消化杂志现刊索引: 2002 (1-12 期).

World Journal of Gastroenterology (原中国新消化病学杂志) 从 1993-2002 年的电子版全部出版. 过刊索引: China Natl J New Gastroenterol, 1995 (1 期); China Natl J New Gastroenterol, 1996 (1-4 期); China Natl J New Gastroenterol, 1997 (1-4 期); World J Gastroenterol, 1998 (1-6 期); World J Gastroenterol, 1999 (1-6 期); World J Gastroenterol, 2000 (1-6 期); World J Gastroenterol, 2001 (1-6 期). 现刊索引: World J Gastroenterol, 2002 (1-6 期).

世界华人消化杂志和 World J Gastroenterol 的电子版网址如下: 2002 世界华人消化杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2002.htm> 2001 世界华人消化杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2001.htm> 2000 世界华人消化杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2000.htm> 1999 世界华人消化杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/1999.htm> 1998 华人消化杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/1998.htm> 1997 新消化病学杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/1997.htm> 1996 新消化病学杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/1996.htm> 1995 新消化病学杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/1995.htm> 1994 新消化病学杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/1994.htm> 1993 新消化病学杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/1993.htm> 2002 World J Gastroenterol 电子版 <http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2002.htm> 2001 World J Gastroenterol 电子版 <http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2001.htm> 2000 World J Gastroenterol 电子版 <http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2000.htm> 1999 World J Gastroenterol 电子版 <http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/1999.htm> 1998 World J Gastroenterol 电子版 <http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/1998.htm> 1997 China Natl J New Gastroenterol 电子版 <http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/1997.htm> 1996 China Natl J New Gastroenterol 电子版 <http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/1996.htm> 1995 China Natl J New Gastroenterol 电子版 <http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/1995.htm>

(世界胃肠病学杂志社 2002-12-28)



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

