

[文章编号] 1007-385X(2002)04-0248-05

树突状细胞经 EB 病毒膜抗原 gp340 刺激后诱导抗肿瘤免疫应答

王 蒙, 粟永萍, 艾国平, 刘晓宏, 周进明, 程天民 (第三军医大学复合伤研究所, 重庆 400038)

[摘要] **目的:** 探索利用树突状细胞(dendritic cells, DC)制备针对 EB 病毒感染相关性肿瘤的疫苗,以解决 EB 病毒相关性肿瘤在机体内的免疫逃逸。**方法:** 来源于正常人骨髓的 CD34⁺造血干/祖细胞,体外以重组 hGM-CSF, hTNF- α , hIL-4, hIL-3 诱导培养 2 周,扩增出功能成熟的 DC,经 EB 病毒表面膜糖蛋白 gp340 刺激,探讨 DC 诱导 T 淋巴细胞介导免疫应答的能力,观察负载抗原 gp340 DC 诱导出的抗原特异性 CTL 对 EB 病毒相关性肿瘤细胞的杀伤作用。**结果:** 从人骨髓细胞中诱导扩增出的 DC 具有良好的免疫刺激活性;EB 病毒表面膜糖蛋白 gp340 可有效负载 DC,DC 加工处理抗原后激发 T 淋巴细胞增殖反应的能力进一步增强;在 EB 病毒相关性肿瘤细胞的杀伤实验中,只有负载了抗原 gp340 的 DC,才能刺激特异性 CTL 杀伤 EB 病毒相关性肿瘤细胞。**结论:** 以控制 EB 病毒感染的疫苗致敏 DC,能促进抗原提呈并启动抗肿瘤免疫,体外可有效杀伤 EB 病毒相关性肿瘤细胞。DC 疫苗作为一种针对 EB 病毒相关性肿瘤的新型治疗性疫苗,会有着良好的研究价值和开发前景。

[关键词] 树突状细胞; EB 病毒; gp340; Burkitt's 淋巴瘤; 疫苗; 免疫治疗

[中图分类号] R392.12 **[文献标识码]** A

Induction of Specific Cytotoxic T-lymphocyte Responses Against Tumor Associated with Epstein-Barr Virus Using gp340-Loaded Dendritic Cells Generated from Bone Marrow

WANG Meng, SU Yong-ping, AI Guo-ping, LIU Xiao-hong, ZHOU Jin-ming, CHENG Tian-min (Institute of Combined Injury, the Third Military Medical University, Chong Qing, 400038, China)

[Abstract] **Objective:** Designing dendritic-cell-based vaccines against cancer concerned with the infection of EBV to solve tumor escape. **Methods:** CD34⁺ hematopoietic stem cells of bone marrow were cultured in presence of hGM-CSF, hTNF- α , hIL-3, hIL-4 *in vitro* for two weeks to obtain large amount of DC. DC were characterized by FACS analysis and pulsed with the EBV envelope glycoprotein gp340. The gp340-loaded DC initiate T lymphocytes to induce T lymphocytes activated (CTL) against cancer concerned with the infection of EBV. **Results:** Marrow-derived DC expressing high levels of CD1a have typical dendritic morphology. They could acquire Epstein-Barr virus latent membrane glycoprotein gp340 efficiently and induce T cells increasing stimulatory capacity in MLR. Only gp340-loaded DC could induce special CTL against tumor cells concerned with the infection of EBV in cytotoxicity assays. **Conclusion:** Using DC pulsed with EBV vaccines against EBV infection could start up anti-tumor immunity and induce specific CTLs to availability kill tumor cells associated with EBV *in vitro*.

[Key words] dendritic cells; epstein-barr virus; gp340; Burkitt's lymphoma; vaccine; immunotherapy

* EB 病毒(epstein-barr virus, EBV)作为一种重要的病毒性病原体,全世界 95% 以上的人群在儿童期就已感染,EB 病毒感染与 Burkitt's 淋巴瘤(Burkitt's lymphoma, BL)及鼻咽癌(nasopharyngeal cancer, NPC)等多种恶性肿瘤相关,病毒感染的肿瘤细胞表面可表达相应病毒抗原^[1-2],而 EB 病毒相关性肿瘤均能产生不同的免疫逃逸机理,其中最主要的作用是下调 EB 病毒抗原表达。目前研究认为,机体的抗肿瘤反应以细

胞免疫为主,其中细胞毒 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes, CTL)可识别由 MHC I 类分子呈递的抗原肽并产生针对肿瘤细胞抗原的特异性免疫应答,结果产生对肿瘤细胞的特异性细胞毒作用。因此,测定肿瘤

* [基金项目] 重庆市院士基金项目(6317)资助

[作者简介] 王蒙(1977-),男,黑龙江哈尔滨人,硕士,主要从事肿瘤生物治疗方面的研究。E-mail: wangmen99@ yahoo.com.

病人的 CTL 活性是肿瘤免疫学研究的重要内容。目前控制 EB 病毒感染的 EB 病毒疫苗研究集中在 EB 病毒膜表面糖蛋白 gp340, 这与其良好的免疫原性和反应原性密切相关。我们在实验中拟用树突状细胞(dendritic cells, DC)负载 gp340 作为“肿瘤疫苗”考察其免疫刺激活性, 并诱导特异性 CTL 杀灭肿瘤细胞, 为 EB 病毒相关性肿瘤的治疗探索一条新途径。

1 材料与方法

1.1 器材

倒置显微镜和显微摄影仪: Olympus, Japan; 流式细胞仪: FACS Calibur 型, BD 公司, USA; 磁性细胞分选器和 Column MS/RS: MACS (431-02#, 0803#), Miltenyi Biotec Germany; 紫外分光光度计: Beckman, USA; ⁶⁰Co γ 射线辐照源: 本所钴源室。

1.2 试剂

人 CD34 分选试剂盒: Miltenyi Biotec Ginbit, Germany; 牛血清白蛋白、甲基纤维素、胶原酶 B: Sigma, USA; FCS (fetal calf serum): Hyclooon; IMDM, RPMI-1640: Gibco Brl, USA; GM-CSF: Kirin 公司; 抗 CD1 α 单克隆抗体、羊抗小鼠 IgG-FITC 荧光二抗: Coulter 公司; DNA 酶: SABC 公司; 淋巴细胞分离液: 天津 TBD 生物技术发展公司; IL-4: PEPRO TECH 公司; TNF- α : 北京白鹭园生物技术有限公司; 聚酰胺纤维(Nyoln Wool): USA; IL-3: 本室表达纯化(10 万单位/ml); EB 病毒表面膜糖蛋白 gp340: 英国布里斯托尔医科大学病理教研室 Andy Morgan 博士馈赠。

1.3 细胞来源

骨髓标本取自髓像正常的胸外科手术肋骨, 或髓像正常的献血员; 人外周血来自健康自愿供血者; 人 Burkitt's 淋巴瘤细胞株由中国科学院上海细胞所引进。

1.4 骨髓树突状细胞的扩增培养

取髓像正常骨髓, 采用甲基纤维素 + Ficoll 法制备单个核细胞, 利用 Mini-MACS 分离技术获得高纯度的 CD34⁺ 造血干/祖细胞; 体外用 100 ng/ml GM-CSF, 50 ng/ml IL-4, 200 U/ml IL-3 三联配方诱导、分化 DC, 其后每 4 天半量换液, 并补加相应细胞因子, 于第 10 天加入 TNF- α 50 U/ml, 培养第 14 天收集细胞计算细胞总数, 流式细胞仪检测细胞表面表型。

1.5 EB 病毒膜抗原 gp340 负载 DC

EB 病毒膜抗原 gp340 用 PBS 稀释为 20 μ g/ml, 0.2 μ m 过滤除菌, 加入到悬浮于无血清培养基的 DC 中, 终浓度为 3 μ g/ml, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 及饱和湿度的条件下培养 2 h (间断晃动)。

1.6 混合淋巴细胞反应

从人外周血中用淋巴细胞分离液 + 尼龙毛分离法分离纯化 T 淋巴细胞, 0.2% 台盼蓝染色计数活细胞比率后, 分别与不同浓度经 ⁶⁰Co γ 射线照射 20 Gy 去增殖后的 DC 及负载抗原 gp340 的 DC 混合培养, 在混合培养结束前, 用相差显微镜观察培养孔中 DC 和 T 淋巴细胞形态, 行 [³H]-TdR 掺入实验观察 DC 负载抗原 gp340 后的免疫刺激活性。

1.7 细胞毒性实验

采用 MTT 比色法考察在效靶比为 10:1 和 5:1 时负载抗原 gp340 DC 激活的 CTL 对人 Burkitt's 淋巴瘤细胞的杀伤作用。另外分别设 DC 及 gp340 刺激 T 淋巴细胞组作为对照组。结果计算:

CTL 活性(%) =

$$\frac{\text{靶细胞对照组 OD 值} - (\text{实验组 OD 值} - \text{效应细胞对照组 OD 值})}{\text{靶细胞对照组 OD 值}} \times 100\%$$

1.8 统计分析

采用 *t* 检验及单因素方差分析确定差异显著性。

2 结果

2.1 骨髓树突状细胞的诱导分化

CD34⁺ 造血干/祖细胞加入 IMDM 培养液中, 在细胞因子组合的联合作用下开始出现伸展出大量毛刺的细胞, 大部分细胞悬浮不贴壁, 形态不规则, 少数的贴壁有大而长的树根状突起伸出, 呈典型 DC 形态(图 1A, B)。FACS 分析显示表达 CD1 α 的细胞阳性率大于 70%, 同种混合淋巴细胞反应显示所扩增的 DC 能显著刺激同种异体 T 淋巴细胞的增殖, 证实其具有 DC 的功能特点, 具有很强的免疫刺激功能。

2.2 光镜观察

从人外周血中用淋巴细胞分离液 + 尼龙毛分离法分离纯化的 T 淋巴细胞形态均一, 细胞活性较好, 0.2% 台盼蓝染色计数活细胞比率大于 95%, 与 DC 混合培养时可见 DC 散在分布于 T 淋巴细胞中, T 淋巴细胞数量明显增加(图 1C)。

2.3 混合淋巴细胞反应

结果如图 2 显示, T 淋巴细胞受到同种异体 DC 表面异体组织相容抗原的刺激作用可发生增殖效应, 与对照组相比少量 DC 即可激发 T 淋巴细胞显著的增殖反应($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 尤其是 DC 负载抗原 gp340 后, 其对淋巴细胞增殖活性的激发能力与未经抗原 gp340 刺激组相比进一步增强($P < 0.05$), 表明本方法获得的 DC 具有极强的抗原提呈能力, 而对照组由于缺乏 APC, 故不能有效激发 T 淋巴细胞的增殖。

图1 DC 体外培养的形态

Fig. 1 Typical appearance of DC cultures *in vitro*

- A: Morphologic analysis of DC by phase-contrast microscopy (×200);
- B: Morphologic analysis of DC by scanning electron microscopy (×4000);
- C: Coculture of DC and T cells (×100)

细胞数量的增加而增加。在无 DC 条件下,由于缺乏 DC 抗原提呈并刺激 T 淋巴细胞产生特异性 CTL,故在细胞杀伤试验中 T 淋巴细胞杀伤肿瘤细胞的能力明显低于经抗原 gp340 负载 DC 组($P < 0.05$)。此外,DC 如无抗原呈递的对象,其本身是不能刺激 T 淋巴细胞产生特异性 CTL 的,故在细胞杀伤试验中能够识别并杀伤靶细胞的效率与经 gp340 刺激 DC 组相比极低($P < 0.05$)。

图2 DC 的免疫刺激活性及递呈 EB 病毒
表面膜糖蛋白 gp340 后的免疫刺激活性

Fig. 2 Effect of gp340-loaded DC on the proliferation
of T lymphocytes

图3 初始效靶比 5:1 的细胞毒活性

Fig. 3 Cell mediated cytotoxicity on native E:T ratio 5:1

2.4 DC 激活 T 淋巴细胞的细胞毒作用

图 3,4 中可见只有经 gp340 负载后的 DC 可以刺激 T 细胞产生特异性 CTL,并且其杀伤能力随着效应

图4 初始效靶比 10:1 的细胞毒活性

Fig. 4 Cell mediated cytotoxicity on native E:T ratio 10:1

3 讨论

在人类,已在 Burkitt's 淋巴瘤、鼻咽癌和 B 细胞淋巴瘤中检出 4 种 EB 病毒相关蛋白:早期抗原(early antigen, EA)、膜抗原(membrane antigen, MA)、病毒核衣壳抗原(virus capsid antigen, VCA)、EB 病毒核抗原(EBV nuclear antigen, EBNA)。其中膜抗原主要由 gp340 和 gp220 两种糖蛋白组成,业已证明,这两种高

分子量成份具有共同的抗原决定簇,实验发现膜抗原不仅能够诱导病毒中和抗体的产生,还可介导 ADCC 反应和细胞免疫反应^[3]。目前已开发出多种以 EB 病毒包膜糖蛋白 gp340 为基础的预防 EB 病毒感染的疫苗,其中 Aviron 公司的产品已进入 II 期临床试验阶段。相信不久的将来以 gp340 为主要成份的 EB 病毒疫苗将会上市,这将为抗原的来源提供充足的保证。因而,利用肿瘤细胞中 EB 病毒基因编码的肿瘤标志物的存在以及膜抗原 gp340 良好的免疫原性和反应原性,针对 EB 病毒相关性肿瘤的免疫策略可能用于治疗。

自 steinman 等^[4]首次报道 DC 以来,随着细胞生物学、分子生物学和免疫学等学科的飞速发展以及新的实验技术的涌现,针对肿瘤具有弱免疫原性、抗原调变现象、MHC 分子的下调或缺失、抗原加工递呈障碍等免疫特点而设计的 DC 疫苗已成为该领域的研究热点。目前用肿瘤抗原肽、肿瘤细胞裂解物、肿瘤细胞 RNA 体外冲击 DC 或将肿瘤相关性抗原基因转导到 DC 内,均被认为是具有前途的疫苗制备方案^[5]。

为了证实 DC 可以有效地提呈抗原 gp340,我们首先将分离的 DC 在体外与抗原 gp340 共培养,使 DC 能对抗原进行处理,并以 MHC-肽复合物方式在膜表面表达,其次通过混合淋巴细胞反应考察了抗原 gp340 负载 DC 的免疫刺激活性。细胞增殖反应的检测在一定程度上反应细胞的功能状态,结果发现少量 DC 即可显著激发同种 T 淋巴细胞的增殖,并可有效提呈 EB 病毒表面膜糖蛋白 gp340,使 gp340 的免疫原性和反应原性得以“放大”,大大增强了 T 细胞对特定抗原的免疫应答,从而刺激同种异体 T 淋巴细胞增殖的能力进一步增强,细胞的增殖通过^[3H]-TdR 掺入到细胞 DNA 中得以反应。说明 EB 病毒膜抗原 gp340 可经 DC 加工处理刺激 T 细胞特异性的增殖反应。

CTL 在肿瘤免疫中所起到的特异性抗肿瘤作用已被证实,而 DC 可通过液相吞饮功能、吞噬作用和受体介导的内吞作用捕获可溶性抗原和病毒性抗原,降解后的衍生肽段与 MHC II 类分子到达细胞表面介导 CD4⁺ T 细胞反应。最近研究发现:DC 能通过内源性途径(胞质溶胶途径)将加工的抗原肽与 MHC I 类分子结合,提呈给 CTL,并激活 CTL 发挥抗肿瘤作用^[6-7]。也有实验证明外源性抗原不必进入 APC 胞内亦能被 MHC I 类分子提呈给 T 细胞。此方面最重要的例子是体内存在的 Cross-Priming 现象^[8],即供体细胞的抗原可以被宿主的 APC 获取并通过 MHC I 类分子提呈。此外,抗原负载 DC 在呈递抗原的同时可分泌 IL-12、IL-6 等细胞因子,可有效的诱导宿主肿瘤特异性 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞应答^[9-10]。据此,我们设计

了 DC、负载 gp340 的 DC、gp340 和 T 淋巴细胞的不同组合的共培养以观察对 EB 病毒相关肿瘤细胞的特异性细胞毒作用。我们发现在 EB 病毒膜抗原 gp340 负载 DC 和 T 淋巴细胞共培养组中,存在能特异性识别并杀伤 EB 病毒相关肿瘤 Burkitt's 淋巴瘤细胞的 CTL,效应细胞数量越多,其杀伤能力越强,在同一靶细胞比时,随着刺激细胞数量的增多,具有特异性细胞毒活性的效应细胞数量相应增加,其对靶细胞的杀伤能力相应增强;在刺激细胞数量相同时,随靶细胞比值的增高,细胞毒活性增强。故说明 DC 负载 gp340 后可以刺激 T 淋巴细胞产生特异性 CTL。

在 DC + T 淋巴细胞共培养组中,可以发生 T 淋巴细胞增殖反应,但 DC 无抗原呈递的对象,其本身是不能刺激 T 淋巴细胞产生特异性 CTL 的,故在细胞杀伤试验中,在不同靶细胞比值下及不同数量刺激细胞存在的情况下,其识别及杀伤靶细胞的效率极低。

在 T 淋巴细胞 + gp340 培养组中,在无抗原呈递细胞 DC 存在条件下,由于缺乏 DC 的抗原提呈并刺激 T 淋巴细胞产生特异性 CTL,故在细胞杀伤试验中 T 淋巴细胞不具有杀伤 EB 病毒相关肿瘤细胞的能力。通过我们的实验,被负载抗原 gp340 的 DC 致敏的细胞毒性 T 淋巴细胞,在与带有相应抗原的靶细胞共同培养时表现出的对靶细胞的杀伤作用有如下特点:① 具有抗原特异性;② 效应细胞的杀伤能力随着其数量的增加而增加;③ 效应细胞需经抗原递呈细胞加工处理后抗原的致敏;④ 效应细胞与靶细胞共同孵育后即可表现出杀伤活性。

上述实验发现为 EB 病毒相关性肿瘤的治疗提供了一条新的思路,即从 EB 病毒相关性肿瘤患者的少量骨髓中分离 CD34⁺ 造血干/祖细胞,体外扩增出 DC,经抗 EB 病毒感染的 EB 病毒疫苗负载后作为肿瘤疫苗,接种于相应肿瘤病人,该过程的实质是以增强了免疫活力的 EB 病毒相关性肿瘤患者 DC 在其体内启动主动而特异的抗肿瘤免疫。相信随着控制 EB 病毒感染的 EB 病毒疫苗的上市,DC 接种将是一个很有前途的抗肿瘤免疫治疗手段。

[参考文献]

- [1] Magrath I. The pathogenesis of Burkitt's lymphoma[J]. Adv Cancer Res, 1990, 55: 133-270.
- [2] Morgan AJ. Epstein-Barr virus vaccines[J]. Vaccine, 1992, 10(9): 563-71.
- [3] North JR, Morgan AJ, Epstein MA. Observations on the EB virus envelope and virus-determined membrane antigen (MA) polypeptides[J]. Int J Cancer, 1980, 26(2): 231-40.
- [4] Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution[J]. J Exp Med, 1973, 137(5): 1142-1162.

[5] Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity[J]. Nature, 1998, 392(6673): 245-52.

[6] Tsai V, Kawashima I, Keogh E, *et al.* *in vitro* immunization and expansion of antigen-specific cytotoxic T lymphocytes for adoptive immunotherapy using peptide-pulsed dendritic cells[J]. Crit Rev Immunol, 1998, 18(1-2): 65-75.

[7] Albert ML, Sauter B, Bhardwaj-N. Dendritic cells acquire antigen from apoptotic cells and induce class I-restricted CTLs[J]. Nature, 1998, 392(6671): 86-89.

[8] 曹雪涛. 树突状细胞与肿瘤细胞的免疫治疗和基因治疗-树突

状细胞的细胞与分子生物学 Keystone 会议(英国)简介[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 1998, 5(2): 82-84.

[9] Lamont AG, Adorini L. IL-12: A key cytokine in immune regulation[J]. Immunol Today, 1996, 17(5): 214-217.

[10] Macatonia SE, Hosken NA, Litton-M, *et al.* Dendritic cells produce IL-12 and direct the development of Th1 cells from naive CD4⁺ T cells[J]. J Immunol, 1995, 154(10): 5071-5079.

[收稿日期] 2001 - 12 - 26 [修回日期] 2002 - 04 - 25

· 研究简报 ·

[文章编号] 1007-385X(2002)04-0252-01

EGF, Genistein 对垂体瘤细胞膜 PI 转换的影响

张 龙¹, 雷 霆², 薛德麟², 汪新华¹, 宋莲淑 (1. 解放军第 152 医院神经外科, 河南 平顶山 467000; 2. 华中科技大学同济医学院同济医院神经外科, 武汉 430030)

表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)和酪氨酸激酶抑制剂对垂体瘤细胞的增殖和分泌功能有重要影响,其作用机制之一在于对细胞内酪氨酸激酶信号传导通路的调节;同时也发现它们对细胞内第二信使 Ca²⁺ 水平变化有重要影响。在此,我们对 5 例垂体瘤的原代培养细胞中磷脂肌醇(phosphatidylinositol, PI)转换率变化进行检测,以探讨 EGF、酪氨酸激酶抑制剂 Genistein 对垂体瘤细胞信号传导调节的交互影响机制。

本研究从手术中所获垂体瘤标本 5 例,免疫组化病检及术前血清激素测定证实为 GH, PRL 混合腺瘤。

主要试剂及仪器:重组人 EGF(rhEGF)、Genistein、肌醇、³H-肌醇、氯化锂、次氯酸、甲酸铵、Dowex 柱, FJ2115 型 β-闪烁仪。细胞培养及 IP 转换率测定:各例标本经碎化、胰蛋白酶消化、³H-肌醇预标膜相关 PI(预标液含 5 μCi³H-肌醇/ml)等程序,用无血清培养基培养 48 h 后等分至 9 支培养管,随机分为 3 组(3 管/组);对照组(不加药)、EGF 组(加 EGF 20 ng/ml)、Genistein 组(加 Genistein 740 nmol/ml)再培养 4 h,每管加次氯酸液,上清经 Dowex 柱分离提取游离 IP,洗提液行液相闪烁计数;沉淀物加 NaOH(1 mol/L)溶解细胞膜性结构,经 HCL(1 mol/L)中和,留液体做液闪计数,测膜结合部分 IP 的放射活性;PI 转换率即为游离 IP 放射活性与总 IP(膜 + 游离)放射活性的百分比。

研究结果显示,5 例功能性瘤的基础 PI 转化率基本一致,其平均转化率为 47. 62%;给予 EGF, Genistein 48 h 时表现为抑制性调节效应,其 PI 转化率均有不同程度下降,分别下降至 41. 32%(T = 1. 962, P > 0. 1)和 37. 44%(T = 2. 801, P < 0. 05)。同时也发现它们对[Ca²⁺]_i 的抑制效应较 PI 转化率下降幅度更为明显,即在功能性垂体瘤中 EGF, Genistein 对 PI 转化率和[Ca²⁺]_i 的抑制性调节并非一致。

PI 水解与细胞 Ca²⁺ 的调节:大多数激素、神经递质及生长因子受体激活后可刺激细胞膜上的磷脂肌醇(PI)的转化及磷脂肌醇-特异性磷脂酶 C(PI-PLC)的激活;其中磷

脂酰肌醇水解生成 IP₃ 和甘油二酯(DG), IP₃ 激活其受体后,使内质网膜表面 Ca²⁺ 通道开放,贮于内质网的 Ca²⁺ 释放进入胞液;同时当内质网 Ca²⁺ 枯竭时亦可使胞膜 Ca²⁺ 通道激活;部分 IP₃ 再磷酸化后还可生成 IP₄, 进一步促进胞外 Ca²⁺ 内流;所以 PI 的水解产物 IP₃ 主要产生了对细胞内 Ca²⁺ 的调节。生长因子受体酪氨酸激酶的活化,也使另一底物 PI₃ 激酶(PI₃K)同时被激活,而 PI₃K-PLCγ-IP₃-Ca²⁺ 信号传导系统被认为对钙依赖性基因调控和增殖反应有普遍的意义。本研究结果所示酪氨酸激酶抑制剂 Genistein 能明显降低垂体瘤细胞的 PI 转换率,证明了酪氨酸激酶可调节 IP₃-Ca²⁺ 信号通路;进一步说明酪氨酸激酶抑制剂不仅能通过 Ras - MAPK 途径亦可通过 Ca²⁺ 调节途径影响细胞增殖的基因转录过程。

下丘脑合成的许多垂体激素释放激素是通过垂体细胞膜受体介导的 PI 水解而产生效应;近来对垂体瘤的研究证明它们中有高和低两种不同的 PI 转换率,并发现有较高 PI 转换率的垂体瘤伴随着 IL - 6 的自分泌增加,同时还发现垂体瘤细胞的 PI 转换率与垂体瘤的大小及其侵袭性无关,说明不同 PI 转换率的垂体瘤间存在相异的增殖刺激信号通路。在本研究中 EGF 对垂体瘤 IP₃-Ca²⁺ 系统的调节表现为明显的抑制性效应,这与多数研究所见生长因子刺激作用相背,有些学者分析其原因可能在于:1、垂体瘤细胞本身就有多个信号传导系统和/或信号传导系统多个偶联部位的缺陷,这已在较多的研究中被证实;2、EGF 对细胞钙通道呈拮抗作用或象 TRH 一样,在快速的增加钙动员后使胞膜钙通道失活;3、EGF 的作用中有蛋白激酶 C(PKC)活化参与,而 PKC 的负反馈调节表现为 Ca²⁺ 外排作用和降低生长因子受体的 PTK 活性;4、EGF 激活 PI₃K 后的脂质产物可抑制 EGF 的作用。

[关键词] 垂体腺瘤; 磷脂酰肌醇; 表皮生长因子; 酪氨酸激酶 [中图分类号] R736.9 [文献标识码] D

[收稿日期] 2001 - 12 - 28 [修回日期] 2002 - 03 - 18