



鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体抑制裸鼠移植 人胰腺癌体内研究

刘朝阳, 王小兵, 张 伟

(中国医学科学院, 中国协和医学院, 肿瘤研究所肿瘤医院, 北京 100021)

【摘要】 目的 初步研究鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体对胰腺癌体内给药的抗肿瘤活性, 为 hMIC-1 抗体应用于肿瘤治疗提供实验依据。**方法** 2 种人胰腺癌细胞株 PANC-1 和 SW1990 各腋窝皮下接种 24 只 Balb/c 裸鼠, 共计 48 只皮下接种荷瘤裸鼠分别随机共分为 8 组, 每组 6 只荷瘤鼠。模型对照组荷瘤裸鼠腹腔注射 0.9% 氯化钠注射液 (10 mL/kg, NS, Biw, ip × 8), 阳性对照组荷瘤裸鼠腹腔注射键择 (50 mg/kg, qw, ip × 4), 鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体组分别荷瘤鼠尾静脉内注射鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体 (10 mg/kg, Biw, ip × 8) 共 4 周或 (2 mg/kg, Biw, ip × 8) 共 4 周。观察荷瘤裸鼠日常表现、肿瘤生长、实验后肿瘤组织切片 HE 染色后光镜下的组织形态学改变。**结果** 荷瘤裸鼠尾静脉内注射鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体组裸鼠 (10 mg/kg, Biw, iv × 8) 肿瘤生长缓慢, 瘤体明显小于模型对照组, 并呈现量效关系。镜下观察鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体组实验后肿瘤组织切片胰腺结构破坏, 有大量淋巴细胞浸润, 肿瘤细胞明显坏死, 细胞溶解。**结论** 尾静脉内注射鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体 (10 mg/kg, Biw, iv × 8) 能有效抑制裸鼠移植人胰腺癌 PANC-1 肿瘤生长, 使瘤组织坏死、结构破坏。

【关键词】 鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体; 人胰腺癌; PANC-1; SW1990; 抑瘤作用; 体内

【中图分类号】 R73 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2014) 03-0014-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.003.004

Effective of anticancer mouse monoclonal antibody against hMIC-1 targets pancreatic tumor for nude mice in vivo

LIU Zhao-yang, WANG Xiao-bing, ZHANG Wei

(Cancer Institute, Chinese Academy of Medical Sciences Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

【Abstract】 Objective To investigate a antitumor effects of mouse original monoclonal antibody against hMIC-1 as intravenous administration with human pancreatic tumor in vivo and providing experimental data. **Methods** The forty-eight mice were randomized into eight groups for loaded with two pancreatic tumor cell lines panc-1 or sw1990 respectively, and individual tumor growth was observed, antitumor efficacy was evaluated after using mouse original monoclonal antibody against hMIC-1 by intravenous administration. The pathological change with formalin fixed, paraffin embedded tissues section was viewed. **Results** There was a significant difference in tumor volume and weight in intravenous injection of mouse original monoclonal antibody against hMIC-1 on load pancreatic tumor with nude mice group compared with that in

【基金项目】 国家高技术研究发展计划‘863’资助项目 (2007AA027485)。

【作者简介】 刘朝阳, 男, 副主任技师, 学士, 研究方向: 肿瘤药理、肿瘤分子药理及肿瘤分子生物学, 抗肿瘤药物研究。E-mail: Liuzhy118@163.com。

【通讯作者】 张伟, 男, 研究员, 研究生导师, 研究方向: 肿瘤分子标志物, 肿瘤分子细胞生物学, 基因工程药物研究。E-mail: LiyDoctor@126.com; zhangww1954@126.com。

the control group after four week treatment, and the mouse original monoclonal antibody against hMIC-1 demonstrated a close association between inhibition of tumor volume growth and dose-effective in the two xenograft models examined. Under examined microscope, the pancreatic tumor tissue was destroyed evidently in mouse original monoclonal antibody against hMIC-1 group. **Conclusions** The antitumor effect of intravenous injection for mouse original monoclonal antibody against hMIC-1 is better than that of systemic using gemcitabine.

【Key words】 Mouse original monoclonal antibody against hMIC-1; Pancreatic tumor; PANC-1; SW1990; Inhibitive tumor action; In vivo

巨噬细胞抑制因子 1 (macrophage inhibitory cytokine-1, MIC-1) 是人转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 超家族中的重要分支成员,1997 年, Bauskin 等^[1] 研究巨噬细胞活化相关基因时从 U937 细胞系 cDNA 文库中首先分离出巨噬细胞抑制因子。后来, 相同的蛋白被报告为胎盘转化生长因子 β (placental transforming growth factorbeta, PTGFB), 前列衍生腺因子 prostate derived factor, PDF), 生长分化因子 15 (growth/differentiation factor 15, GDF15), 胎盘骨形态发生蛋白 (placental bone morphogenetic protein, PLAB), 非甾体抗炎药激活基因 (nonsteroidal anti-inflammatory drug-activated gene, NAG-1)。该因子在正常生理情况下, 胎盘是仅有高表达组织, 不同的上皮细胞 (包括神经上皮) 表达 MIC-1 mRNA 较低, 除中枢神经系统上皮细胞 (脉络丛, 室管膜) 通过免疫组化方法可发现少量 MIC-1 蛋白表达外, 在其他组织很难发现, 但该因子在炎症、肿瘤发生时可大量表达^[2]。MIC-1 表达和肿瘤有着密切的联系, MIC-1 能抑制 cyclin D1 抑癌基因的表达, 从而促进胃肠道固体瘤的发生。胰腺癌是一种临床表现隐匿、发展迅速预后差的消化道恶性肿瘤, 80% ~ 85% 胰腺癌患者就诊时, 病变已经到了晚期, 手术切除率只有 15% 左右, 患者平均生存期仅为 4 ~ 6 月, 5 年生存率几乎为零。MIC-1 异常升高可能预警着病变的发生, 在一些疾病中显示出一定的临床诊断价值。MIC-1 作为候选血清肿瘤标志物已进行了较为广泛的研究^[3], 研究表明 MIC-1 联合 CA199 检测可提高胰腺癌检测的敏感性。通过比较肿瘤患者与正常人基因表达情况, 发现 MIC-1 基因在肿瘤患者表达水平明显升高, 由于 MIC-1 是分泌性细胞因子, 能够进入血液发挥远距离作用。MIC-1 过表达具有促进肿瘤细胞侵袭、转移的作用。积极研究和探索肿瘤及胰腺癌治疗新途径新药物在肿瘤和胰腺癌研究方面具有重要意义。单克隆抗体制备实验期长, 影响因素多, 包括抗原制备、动物免疫、脾细胞和骨髓瘤细胞制备、细胞融

合、杂交瘤细胞选择性培养、杂交瘤细胞筛选与克隆化、抗体鉴定、分泌单克隆抗体杂交瘤细胞系的建立以及单克隆抗体制备。我们科室从新鲜人胎盘组织 (北京市朝阳区医院妇产科提供) 提取 RNA 获得 MIC-1 基因片段, 并定点突变其 5' 端 7 个密码子, 将 MIC-1 基因 5' 端的 7 个非酵母偏好密码子改造为酵母的同义优越密码子, 从而显著提高其在毕赤酵母中的表达量, 通过基因重组方法获得人 MIC-1 蛋白表达质粒, 筛选出稳定高表达人 MIC-1 重组蛋白毕赤酵母 GSII5 菌株, 建立种子库, 优化发酵、表达和纯化工艺, 采用 ELISA 法测定单克隆抗体免疫球蛋白类型与亚型, SDS-PAGE 电泳检测表达产物, ELISA 间接法测定抗体的浓度, western blot 方法检测免疫后小鼠抗血清特异性, 抗体经蛋白 A 亲和层析柱纯化后纯度可达 95% 以上。本实验以研究室制备的酵母重组 hMIC-1 抗原作为免疫原制备出抗 hMIC-1 单克隆抗体为深入开展功效研究, 抗肿瘤作用研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 药物和试剂

鼠抗人 MIC-1 单克隆抗体无菌液由中国医学科学院肿瘤医院研究所生物检测中心制备, 日常冷冻保存 -70℃ 冰箱中, 抗体纯度达 95% 以上。注射用盐酸吉西他滨 (键择 Gemcitabine Hydrochloride for Injection), 进口药品注册证号 H20050171, 产品批号 A634640A, France Lilly 产品。无菌 0.9% 氯化钠注射液, 北京双鹤药业股份有限公司产品, 国药准字 H11021190, 批号 D201006312。

1.2 动物

Balb/c 裸鼠, 16 ~ 18 g, SPF 级, 中国医学科学院实验动物研究所提供 [SCXK (京) 2009-0004]。实验在中国医学科学院中国协和医学院肿瘤医院研究所肿瘤医院实验室完成 [SYXK (京) 2013-002]。

1.3 人可移植性胰腺癌细胞株

PANC-1 由 Lieber M. 等建株, SW1990 由

Kyriazis AP. 等建株,中国医学科学院肿瘤研究所生物检测中心液氮保存。

BD Ultra-Fine 29G 舒锐一次性使用无菌、无毒、无热源胰岛素注射器,美国 BD 公司产品,批号 9019189,注册证号国食药监械(进)字 2007 第 3151306 号,产品执行标准 YZB/USA2418-2006。

BD 一次性使用无菌、无毒、无热源带注射针注射器,美国 BD 公司产品,批号 0076363,注册证号国食药监械(进)字 2007 第 3150778 号,产品执行标准 YZB/SIN2414-2006。医用净化工作台,CJ-2F 型,净化等级 100 级(美国联邦标准 209E),平均菌落数 ≤ 0.5 个/皿·h,平均风速 $0.4 \pm 20\%$,噪声 ≤ 62 dB(A),振动 $\leq 3 \mu\text{m}$ (X,Y,Z 方向),苏州市冯氏实验动物设备有限公司产品。librorEB-280 型分析天平。82-1 型电动离心机。Sartorius Laboratory 精密天平,量程范围 0.01 ~ 100 g。奥豪斯电子精密天平,量程范围 0.01 ~ 510 g,U. S. A OHAUS coep 产品。电子数显卡尺,桂林广陆数字测控股份有限公司产品,型号 SF2000,分辨率 0.01 mm,规格 0 ~ 150 mm,标准 GB/T14899-94。日本 NIKON 倒置显微镜、Olympus/PM-6 显微镜。多用可调照明放大镜,北京鸿泰顺达公司生产,型号 JS126。多功能实验(鼠)采血解剖放大仪,莱尔(北京)净化设备有限公司制造,MODEL 8609。

1.4 肿瘤移植实验方法

鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体对裸鼠移植人胰腺癌 PANC-1 和 SW1990 体内作用取经体外细胞培养已在裸鼠体内皮下传代生长良好人胰腺癌 PANC-1 和 SW1990 肿瘤结节,超净台中无菌操作制成瘤细胞液,接种于裸鼠腋窝皮下, 7×10^6 cell/鼠。将动物分别随机分为 4 组,每组 6 只,称体重标号,PANC-1 和 SW1990 共 8 组。实验分别为模型对照组、阳性药键择(Gem 50 mg/kg)组、鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体高剂量(10 mg/kg)组、鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体低剂量(2 mg/kg)组。实验组在接种肿瘤后肿瘤体积生长到约 $80 \sim 100 \text{ mm}^3$ 时,每周尾静脉注射鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体液 2 次,以后每周相同时间尾静脉注射鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体液 2 次,实验全程共注射鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体液 8 次。阳性药键择(Gem 50 mg/kg)组开始给药时间同实验组,每周腹腔注射 1 次,以后每周相同时间腹腔注射 1 次,实验全程共注射 4 次。模型对照组相同时

间腹腔注射 0.9% 无菌 NaCl 注射液 10 mL/kg,实验全程共注射 8 次。各组给药时间从接种肿瘤后第 10 天开始。裸鼠饲养在 IVC-II 型(智能型)独立送风隔离笼具屏障系统辅以洁净层流柜的动物饲养室内,室温 $20^\circ\text{C} \sim 22^\circ\text{C}$,相对湿度 40% ~ 60%。实验动物使用许可证号 SYXK(京)2008-0025。裸鼠食用灭菌裸鼠饲料,SPF 级,中国医学科学院实验动物研究所产品,许可证号 SCXK(京)2009-0008,执行标准 GB14924.3-2001。于实验开始后每 4 天用卡尺测一次皮下肿瘤体积,日常观察荷瘤鼠表现,末次给药结束后,于肿瘤接种后第 37 天处死动物,完整剖取瘤结并称瘤重和体重,计算相对肿瘤增殖率,分别取实验结束时 PANC-1 和 SW1990 模型对照组和鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体治疗组肿瘤组织做病理切片,苏木精-伊红 HE 染色,Olympus/PM-6 光学显微镜下观察肿瘤组织变化,试验结果用 Office Excel 软件进行统计学分析。

1.5 统计方法

所有数据以 $\bar{X} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异显著,有统计学意义。

药效判定标准:肿瘤抑制率 = $\{1 - (\text{给药组平均瘤重}(T)/\text{对照组平均瘤重}(C))\} \times 100\%$;肿瘤体积(V) = 肿瘤长径(L) × 肿瘤短径(S)²/2。按以下公式计算相对肿瘤体积(RTV)和肿瘤体积抑制率 $\text{IR}_{\text{TV}}(\%)$

$$\text{RTV} = V_t/V_0$$

V_t :测量肿瘤得到的瘤体积

V_0 :初始瘤体积(给药前)

$T/C\% = \text{给药组的 RTV 平均值}/\text{对照组的 RTV 平均值} \times 100\%$

根据 $T/C\%$ 计算肿瘤体积抑制率 $\text{IR}_{\text{TV}}(\%) = \{1 - (T/C)\} \times \%$

2 结果

2.1 鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体对人胰腺癌 PANC-1 和 SW1990 抑制作用

实验结果表明,鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体对人胰腺癌 PANC-1 具有明显抑瘤活性(10 mg/kg, Biw, iv × 8),肿瘤抑制率 67.65%,抑瘤效应与剂量间具有量效关系,抑瘤效果优于键择腹腔给药组(Gem 50 mg/kg, qw, ip × 4) ($P < 0.01$) (表 1、彩插 4 图 1、2)。

表 1 鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体对裸鼠移植人胰腺癌抑瘤作用观察
Tab.1 Effect of monoclonal antibody against hMIC-1 on pancreatic tumor in nude mice

组别 Groups	剂量 Dose (mg/kg)	动物数 Number of mice (n)	给药方式 Mode of administration	体重(实验前/实验结束) Body weight($\bar{x} \pm s$, g) Before Exp. After Exp.	瘤重 Tumor weight ($\bar{x} \pm s$, g)	肿瘤抑制率 Inhibition of rate (%)	P
Panc-1 Control	N. S. Δ 10 mL	6	ip $\times$ 8, Biw	17.4 $\pm$ 1.7	22.5 $\pm$ 1.8	1.70 $\pm$ 0.45	
Gem	50	6	ip $\times$ 4, QW	17.1 $\pm$ 1.9	21.3 $\pm$ 1.9	0.74 $\pm$ 0.19**	56.57
hMIC-1	10	6	iv $\times$ 8, Biw	16.9 $\pm$ 1.6	22.0 $\pm$ 1.4	0.55 $\pm$ 0.13**	67.65
hMIC-1	2	6	iv $\times$ 8, Biw	17.0 $\pm$ 1.8	22.6 $\pm$ 1.7	1.14 $\pm$ 0.30*	33.14
SW1990 Control	N. S. Δ 10mL	6	ip $\times$ 8, Biw	17.1 $\pm$ 1.2	22.9 $\pm$ 2.3	1.75 $\pm$ 0.24	
Gem	50	6	ip $\times$ 4, QW	17.8 $\pm$ 1.0	21.9 $\pm$ 1.8	0.87 $\pm$ 0.32**	50.24
hMIC-1	10	6	iv $\times$ 8, Biw	17.2 $\pm$ 1.8	22.0 $\pm$ 2.2	1.07 $\pm$ 0.33*	38.87
hMIC-1	2	6	iv $\times$ 8, Biw	17.3 $\pm$ 1.1	22.7 $\pm$ 1.8	1.39 $\pm$ 0.18 [#]	20.44

注: * 与对照组比, $P < 0.05$; # 与对照组比, $P > 0.05$ 。 Δ N. S. 生理盐水。

Note: * vs control, $P < 0.05$; # vs control, $P > 0.05$; Δ N. S., Normal saline.

2.2 鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体对人胰腺癌 PANC-1 和 SW1990 裸鼠体内移植生长影响

实验第六周结束后对人胰腺癌 PANC-1 实验, 鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体组 (10 mg/kg, Biw, iv $\times$ 8) 动物肿瘤体积平均为 559 mm³, 与荷瘤模型对照组动物肿瘤平均体积比较, 肿瘤体积抑制率为 66.82%。荷瘤模型对照组动物肿瘤体积平均为 1685 mm³, 键择腹腔给药组 (Gem 50 mg/kg, qw, ip $\times$ 4) 动物肿瘤体积平均为 765 mm³, 肿瘤体积抑制率为 54.59%。鼠抗 hMIC-1 单克隆抗体高剂量组实验结束时肿瘤体积与荷瘤模型对照组比较差异极显著 $P < 0.01$ 。对人胰腺癌 SW1990 实验, 鼠抗 hMIC-1 单克隆抗体组 (10 mg/kg, Biw, iv $\times$ 8) 动物肿瘤体积平均为 1045 mm³, 肿瘤体积抑制率为 39.83%。荷瘤模型对照组动物肿瘤体积平均为 1737 mm³, 键择腹腔给药组 (Gem 50 mg/kg, qw, ip $\times$ 4) 动物肿瘤体积平均为 881 mm³, 肿瘤体积抑制率为 49.28%。鼠抗 hMIC-1 单克隆抗体高剂量组实验结束时肿瘤体积与荷瘤模型对照组比较差异显著 $P < 0.05$ 。

2.3 实验结束后 PANC-1 移植瘤组织病理形态学观察

实验结束后, 进行移植瘤组织病理学检查, 光镜下可见荷瘤模型对照组癌组织, 肿瘤细胞结构清楚, 细胞完整, 癌细胞圆形或椭圆形, 核大, 核仁明显, 细胞大小不等, 癌细胞被纤维组织分隔成大小不等的癌巢, 其中可见腺管、腺腔样结构。鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体组可见肿瘤细胞被破坏, 光镜下可见有大量淋巴细胞浸润, 肿瘤细胞明显坏死,

细胞溶解。表明鼠抗 hMIC-1 单克隆抗体对肿瘤细胞具有明显抑制作用 (图 3)。

3 讨论

巨噬细胞抑制因子 MIC-1 (又称 GDF-15, NAG-1, PDF, PLAB, PTGFB) 是分泌型细胞因子, 含有保守的 7 个半胱氨酸结构域。MIC-1 在合成过程中先装配成前体蛋白, 然后剪切加工成 25×10^3 二聚体蛋白。MIC-1 基因定位于人染色体 19p13.2 - p13.1, 共编码 308 个氨基酸, 包括 29 个氨基酸信号肽、167 个氨基酸的前肽及 112 个氨基酸成熟蛋白多肽链。在探索肿瘤分子水平改变过程中, 研究发现许多肿瘤存在 MIC-1 基因表达, MIC-1 的表达水平的升高与肿瘤及机体分化和发育有密切关系^[4-6]。在前列腺癌和结肠癌标本中均检测到 MIC-1 表达水平明显高于对应的正常组织, 在胰腺癌、黑色素瘤和甲状腺癌细胞株分泌大量的 MIC-1 蛋白。在多种上皮肿瘤细胞系中, MIC-1 能够被多种抗癌药物诱导表达上调, 上调表达的 MIC-1 能够促进 P21 表达, 使细胞停止在 G1 期, 促进细胞凋亡^[7-8]。研究表明人 MIC-1 表面至少存在五个特异的抗原表位, 针对位于 N 端的表位 1 (1-13 氨基酸) 的抗体是唯一能用于 ELISA 试剂盒的单抗, 而表位 2 和表位 5 是受体结合位点, 是功能抗体潜在的抗原表位, 外源加入针对表位 5 的抗体能够抑制癌细胞的生长。

鼠抗体对靶抗原具有特异性, 但它不能激活相应人效应系统, 抗体依赖性细胞介导细胞毒作用 (ADCC)、补体依赖细胞毒作用 (CDC) 等, 鼠抗体作

为外源蛋白进入人体,会使人体免疫系统产生应答,即产生人抗鼠抗体(human anti-mouse antibody, HAMA),而且异源蛋白在人体内很快被清除,半寿期较短,因此,作为治疗性抗体要进行人源化抗体改造。人源化抗体包括嵌合抗体、改型抗体和全人源化抗体等,人源化抗体可以减少异源抗体对人类机体造成的免疫副反应。用 DNA 重组技术和抗体库技术可使鼠源性单克隆抗体进行人源化改造。人源化抗体减少了异源性抗体免疫原性,同时保留了亲本抗体特异性结合抗原能力,明显降低由鼠源单克隆抗体所致的人抗鼠抗体反应,鼠抗人 MIC-1 单克隆抗体人源化改造工作正在科室探索。

防止肿瘤中血管生成是阻止肿瘤生长的方法之一^[9],VEGF 蛋白被认为是血管形成的靶蛋白,然而,靶向作用于 VEGF 蛋白在黑色素瘤病人中并不能防止肿瘤生长。研究人员在美国病理学杂志中报道,与没有肿瘤的人相比,在 67% 的黑色瘤病人中 MIC-1 蛋白的含量水平要高出 5~6 倍。研究人员找寻血管形成的其他蛋白时发现 MIC-1 是血管形成这一过程调控者, MIC-1 蛋白可以促进肿瘤中血管的产生,通过靶蛋白 MIC-1 可以阻止高侵袭力和致死性黑色素瘤生长,在病人的血中消除 MIC-1 可以用于防止肿瘤血管形成使肿瘤组织缺少细胞营养和无法移除细胞产生的有毒代谢产物使肿瘤死亡。靶向作用于 MIC-1,在动物和人组织样本中使 MIC-1 蛋白的水平下降 300%~400%,防止了血管的形成和减少了肿瘤的发展约 300%^[10-15]。肿瘤细胞通过分泌蛋白作用于肿瘤周围的血管在原血管上引起新的血管形成,这些新血管长入肿瘤细胞中提供营养并带走代谢产物,血管的形成导致形成了功能完善的血管结构,提供其需要的营养和带走细胞代谢产物,使肿瘤得以生长。因此,使 MIC-1 降低的药物可能是有效治疗肿瘤重要武器的一部分。1895 年,Hericourt 和 Richet^[16]将癌细胞注入动物体内,用产生的抗血清治疗癌症病人,发现病人症状得到明显改善,从此开始将抗体治疗应用于临床的研究。基因工程技术的发展,抗体基因结构的阐明, DNA 重组技术应用促进治疗性抗体的发展, MIC-1 单克隆抗体有可能在临床具有诊断价值及肿瘤治疗的作用。科室前期用荧光标记 MIC-1 单克隆抗体对荷瘤裸鼠作用后,用小动物活体成像观察及取荷瘤裸鼠皮下瘤做免疫组化 CD31 观察,结果显示 MIC-1 单克隆抗体主要聚集在肿瘤区域,肿瘤组

织内新生血管和微血管密度与肿瘤模型对照组比较明显减少,提示 MIC-1 单克隆抗体对肿瘤的新生血管形成具有抑制作用,且具有一定的靶向性。

由于胰腺癌早期症状不典型,绝大多数患者就诊时已属中晚期,手术切除是唯一可以治愈的机会,但是,胰腺解剖结构复杂,手术切除率低,即使根治性手术也很难完全切净肿瘤,术后复发转移率高,而复发和转移缺乏有效的监测手段,缺乏有效的治疗措施,因而预后极差,死亡率为恶性肿瘤之首。本实验 Balb/c 荷瘤裸鼠尾静脉内注射鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体(10 mg/kg, Biw, ip × 8)共 4 周或(2 mg/kg, Biw, ip × 8)共 4 周,动物无死亡,在实验期内动物的饮食,二便,步态等均未见异常,所有实验动物活动自如,实验结束时与模型对照组比较,体重无明显差异,体重增加,未表现毒性反应。实验结束后脱颈椎处死小鼠,实验组动物进行尸解,肉眼观察心、肝、脾、肺、胃、小肠、肾等未见异常改变,未显示抗体毒性反应。实验初步显示鼠抗人 hMIC-1 单克隆抗体可抑制裸鼠移植人胰腺癌的生长为 MIC-1 的应用研究提供了新思路。

参考文献:

- [1] Bauskin AR, Valenzuela SM, Moore AG, et al. MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF-beta superfamily[J]. Proc Natl Acad Sci US A, 1997, 94(21):11514-11519.
- [2] Fairlie WD, Moore AG, Bauskin AR, et al. MIC-1 is a novel TGF-beta superfamily cytokine associated with macrophage activation[J]. J Leukoc, 1999, 65(1):2-5.
- [3] Fairlie WD, Zhang HP, Wu Wm, et al. The propeptide of the transforming growth factor-beta superfamily member, macrophage inhibitory cytokine-1 (MIC-1), is a multifunctional domain that call facilitate protein folding and secretion[J]. J Biol Chem, 2001, 276(20):16911-16918.
- [4] Welsh JB, Sapinoso LM, Kern SG, et al. Large-scale delineation of secreted protein biomarkers overexpressed in cancer tissue and serum[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(6):3410-3415.
- [5] Kim JS, Baek SJ, Sali T, et al. The conventional nonsteroidal anti-inflammatory drug sulindac sulfide arrests ovarian catnecr cell growth via the expression of NAG-1/MIC-1/GDF-15[J]. Mol Cancer Ther, 2005, 4(3):487-93.
- [6] Killan D, Chen SJ, Johansson SL, et al. Dysregulated expression of MIC-1/PDF in human prostate tumor cells[J]. Biochem Biophys Res Commum, 2003, 30(50):598-604.
- [7] Yamaguchi KLee SH, Eling TE, Back SJ. A novel peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligand, MCC-555, induces apoptosis via posttranscriptional regulation of NAG-1 in colorectal

- cancer cells[J]. Mol Cancer Ther, 2006, 5(5):1352-1361.
- [8] S. J. Huh, C.-Y. Chung, A. Sharma, G. P. Robertson. Macrophage Inhibitory Cytokine-1 Regulates Melanoma Vascular Development[J]. *American Journal Of Pathology*, 2010, 176(6): 2948-2952.
- [9] 翟羽,侯洁,蔡月花. 地塞米松对小鼠 H22 肿瘤生长及血管生成的抑制作用[J]. 中国比较医学杂志, 2004, 14(1): 16-19.
- [10] M. Mimeault, S. K. Batra. Divergent molecular mechanisms underlying the pleiotropic functions of macrophage inhibitory cytokine-1 in cancer[J]. J Cell Physiol, 2010, 224(3): 626-635.
- [11] S Senapati, S Rachagani, K Chaudhary, et al. Overexpression of macrophage inhibitory cytokine-1 induces metastasis of human prostate cancer cells through the FAK-RhoA signaling pathway[J]. *Oncogene*, 2010, 29(9): 1293-1302.
- [12] Boyle GM, Pedley J, Martyn AC, et al. Macrophage inhibitory cytokine-1 is overexpressed in malignant melanoma and is associated with tumorigenicity[J]. *J Invest Dermatol*, 2009, 129(3):383-391.
- [13] Khaled YS, Elkord E, Ammori BJ. Macrophage inhibitory cytokine-1: a review of its pleiotropic actions in cancer[J]. *Cancer Biomark*, 2012, 11(5):183-190.
- [14] Mimeault M, Batra SK. Novel biomarkers and therapeutic targets for optimizing the therapeutic management of melanomas[J]. *World J Clin Oncol*, 2012, 3(3):32-42.
- [15] Yamashita T, Yoneta A, Hida T. Macrophage inhibitory cytokine-1: a new player in melanoma development[J]. *J Invest Dermatol*, 2009, 129(2):262-264.
- [16] Drews J. Drug discovery: a historical perspective[J]. *J Science*, 2000, 287(5460):1960-1964.

〔修回日期〕2013-12-30

更正

《中国比较医学杂志》第 23 卷第 6 期作者马萍发表的“蓝莓花色苷预处理对大鼠心肌梗死的保护作用”一文,因作者疏忽,将基金项目编号写错,原“黑龙江省教育厅资助课题(30670484)”更正为“黑龙江省教育厅资助课题(12511318)”,特此更正