

家和地区通过回顾性研究,均得出相似的结论。我们的研究发现,Rg1 在多种生精障碍模型上均表现出良好的改善作用,其作用机制涉及 cAMP - CREM 精子发生信号转导途径。Rg1 可增加睾丸组织内两者的含量,增加血浆中睾丸酮的水平,从而维护精子发生微环境的稳定,为精子发生提供保障。

综上所述,人参有多靶点作用,其主要靶点是中枢神经系统,人参作用于中枢神经系统通过激活神经保护机制和神经细胞存活机制,通过下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴及下丘脑 - 垂体 - 性腺轴,提高神经可塑性包括神经发生,促进神经发育,调控神经递质、调质、激素和酶的生成释放,改善行为,提高对环境的适应力及有害因子的抵抗力,提高智能和性功能,直至延年益寿。我们应加强理论研究,彻底阐明细胞、分子机制和信号转导途径,以解开人参神奇之谜。

参考文献

- 1 Zhang JT. Nootropic mechanism of ginsenoside Rg1 influence on neuronal plasticity and neurogenesis. *Acta Pharmaceutica sin*, 2005, 40(5):385 - 388
- 2 Yang L, Liu Y, Liu CX. Pharmacokinetic properties of ginseng. The chemistry, metabolism and biological activities of ginseng. Chemical industry press. 2006:59 - 86
- 3 Wang YZ, Chen J, Chu SF, *et al.* Improvement of memory in mice and increase of hippocampal excitability in rats by ginsenoside Rg1's metabolites ginsenoside Rh1 and protopanaxatriol. *J Pharmacol Sci*,

2009,109(4):504 - 510

- 4 Liu M, Zhang JT. Effects of ginsenoside Rg1 on c - fos gene expression and cAMP level in rat hippocampus. *Acta Pharmacological Sinica*, 1996, 17(2):171 - 174
- 5 Wang YZ, Wang YS, Chu SF. Nootropic signal transduction of ginsenoside Rg1. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2008, 24(6):740 - 743
- 6 Hu JF, Xue W, Ning N, *et al.* Ginsenoside Rg1 activated CaMKII alpha mediated extracellular signal - regulated kinase/mitogen activated protein kinase signaling pathway. *Acta Pharmacol Sin*, 2008, 29(9):1119 - 1126
- 7 Shen L, Zhang J. Ginsenoside Rg1 increases ischemia - induced cell proliferation and survival in the dentate gyrus of adult gerbils. *Neurosci Lett*, 2003, 344:1 - 4
- 8 Shen L, Zhang J. NMDA receptor and iNOS are involved in the effects of ginsenoside Rg1 on hippocampal neurogenesis in ischemic gerbils. *Neurol Res*, 2007, 29(3):270 - 273
- 9 Shen LH, Zhang JT. Ginsenoside Rg1 promotes proliferation of hippocampal progenitor cells. *Neurol Res*, 2004, 26:422 - 428
- 10 Shen LH, Zhang JT. Culture of neural stem cells from cerebral cortex of rat embryo and effects of drugs on the proliferation ability of stem cells. *Yao Xue Xue Bao*, 2003, 38:735 - 738
- 11 Wang X, Chu S, Qian T, *et al.* Ginsenoside Rg1 Improves Male Copulatory Behavior Via Nitric Oxide/Cyclic Guanosine Monophosphate Pathway. *J Sex Med*, 2010, 7(2):743 - 750

(收稿:2010 - 01 - 11)

(修回:2010 - 03 - 12)

吡啶胺 2,3 - 二氧化酶抑制剂与肿瘤免疫治疗

孙 婷 蔡 炯

肿瘤的发生由正常细胞基因突变引起,产生异常抗原的表达,而免疫系统可以有效地识别、清除这些抗原,产生针对这些抗原的致敏 T 细胞,从而清除恶变的细胞,抑制肿瘤的发生^[1]。但是恶变细胞通过多种途径逃避免疫监视,使宿主免疫系统不能识别肿瘤抗原,不引起机体免疫应答,产生免疫耐受,使机体不能清除肿瘤细胞,导致肿瘤的发生发展^[1~3]。近年来与色氨酸代谢有关的吡啶胺 2,3 - 二氧化酶(IDO)和肿瘤免疫耐受的关系开始备受关注。IDO 是色氨

酸犬尿氨酸代谢途径的限速酶,参与许多疾病的免疫调节,如自身免疫反应性疾病、抗病毒免疫、肿瘤的免疫逃逸以及移植免疫等^[2]。大量的研究表明 IDO 在肿瘤细胞逃避免疫监视、肿瘤发生过程中起着重要作用^[3]。随着对 IDO 肿瘤免疫调控机制的研究,对 IDO 表达及其活性的调控将有可能成为肿瘤免疫治疗的一个靶点。本文着重阐述 IDO 诱导肿瘤免疫耐受的机制和应用 IDO 抑制剂治疗肿瘤的前景。

一、IDO 与肿瘤免疫耐受

色氨酸是 T 细胞活化增生过程中所必需的氨基酸,IDO 催化色氨酸降解,通过耗竭 T 细胞微环境中的色氨酸,抑制 T 细胞的增生,参与免疫调节过程。IDO 广泛分布于人和其他哺乳动物(如小鼠、大鼠、

作者单位:100730 北京协和医学院/中国医学科学院北京协和医院核医学科

通讯作者:蔡炯,电子信箱:jiongcai@sina.com

兔)的多种组织,显著表达于抗原递呈细胞如单核-吞噬细胞、树突状细胞、骨髓基质细胞和一些肿瘤细胞,同时在组织器官中的一些不完全抗原递呈细胞如小胶质细胞、气管上皮细胞也可诱导表达 IDO^[2]。生理状态下,IDO 为低水平表达,而且生物活性很低,其活性随着年龄的增长而有所衰退。肿瘤免疫耐受是肿瘤细胞极力逃脱免疫监视的一种作用方式,是肿瘤发生发展的重要原因。在机体正常免疫条件下,肿瘤细胞表达的异种抗原,通过宿主抗原递呈细胞递呈给初始型 T 细胞,从而诱导机体产生针对肿瘤细胞的免疫反应,杀伤肿瘤细胞,阻止肿瘤的发生。在一些疾病状态下,宿主免疫系统不能识别肿瘤抗原,从而不能引起免疫应答反应;或者,虽然能够识别这些异种抗原,却表现出反应迟钝的特性,也就是机体对肿瘤抗原产生免疫耐受,使机体不能清除肿瘤细胞,导致肿瘤的发生发展^[3]。

二、IDO 介导肿瘤免疫耐受的分子机制

IDO 介导免疫耐受的分子机制,主要有两个学说:一是局部色氨酸耗竭学说;一是代谢产物说。局部色氨酸耗竭导致免疫抑制的现象首先发现在 IDO 对 T 细胞产生的某些免疫抑制效应,可以被体外给予过多的色氨酸所逆转。体外培养的 T 细胞对色氨酸耗竭特别敏感,在色氨酸浓度较低时,T 细胞不能合成足够的蛋白质而滞留于细胞周期的 G₀ 期,从而抑制了 T 细胞的增生反应^[4]。除了局部色氨酸耗竭学说,色氨酸代谢物也可引起免疫抑制效应。研究发现,色氨酸的分解代谢产物对 T 细胞的增生具有抑制作用,犬尿酸、邻吡啶甲酸和喹啉酸可以抑制 CD4、CD8 T 细胞以及 NK 细胞的增生^[5]。即使 IDO 本身不出现,色氨酸-马尿酸途径中 IDO 下游的酶也可以引起免疫抑制。因此,许多色氨酸代谢产物具有免疫抑制功能。但这些色氨酸代谢产物的免疫抑制作用的分子机制还不清楚,某些代谢物抑制体外 T 细胞再生,引起 T 细胞凋亡,某些代谢物影响 NK 细胞的功能。研究发现,与色氨酸的代谢物之一犬尿酸结合的受体,它是一种 G 蛋白偶联受体 GPR35,其在免疫细胞的表达位点与 IDO 一致^[6]。是否有其他色氨酸代谢物受体,这些受体在体内的生物活性,是需要今后进一步研究的问题。

三、肿瘤高表达 IDO 的临床意义

在肿瘤患者中存在 IDO 的缓慢激活,IDO 高表达参与了肿瘤免疫耐受的形成,提示了肿瘤的进展。Uyttenhove 等发现多种人肿瘤细胞表面表达 IDO,并

通过 IDO 抑制局部 T 细胞的活化,使肿瘤细胞逃避机体免疫系统的攻击^[7]。在肺癌、胃癌、卵巢癌、前列腺癌、大肠癌、胰腺癌和宫颈癌等恶性肿瘤细胞中,均发现 IDO 表达明显增强^[2,3]。不仅肿瘤细胞表达 IDO 增强,宿主淋巴细胞特别是抗原递呈细胞(APC) IDO 表达也增强。研究发现,在黑色素瘤、肺癌以及其他肿瘤的引流淋巴结区发现 IDO 表达阳性的 T 细胞^[8]。这些淋巴结的 APC 高表达 IDO,使局部产生免疫抑制和 T 细胞无反应,产生免疫耐受,利于肿瘤的生长和转移。IDO 的高表达与肿瘤的临床预后密切相关。Lee 等对黑素瘤病人的淋巴结活检,并进行免疫组化分析,发现肿瘤细胞及 T 细胞高表达 IDO 的病人临床预后较差^[9]。Munn 等从黑色素瘤的肿瘤引流淋巴结区中取活组织进行免疫组织化学分析,同样发现有 IDO 表达的黑素瘤病人预后差^[10]。最近研究发现,人肝癌细胞表面表达 IDO,肝癌临床预后较差可能与肿瘤细胞表达 IDO 有关^[11]。

四、抑制 IDO 的活性是肿瘤免疫治疗的一个策略

成功的细胞毒性化学治疗面临肿瘤免疫耐受的挑战:一是化学治疗引起肿瘤细胞死亡释放肿瘤相关抗原,在肿瘤抗原递呈过程中产生免疫耐受;二是化学治疗会引起阶段性的淋巴细胞减少和稳态的破坏,在此期间 T 细胞更易发生免疫耐受而不是免疫应答;T 细胞的免疫耐受导致肿瘤化学治疗的失败^[12]。在不同肿瘤的动物模型中显示,协同免疫治疗可以增强肿瘤化学治疗的效果,免疫治疗已经成为肿瘤治疗的一个重要部分。IDO 的生物学功能是抑制过多免疫激活,在肿瘤免疫治疗中属于负调节机制。肿瘤免疫治疗的目的就是诱导炎症反应,激活免疫应答。如果免疫治疗激活内源性 IDO,IDO 具有潜在的减低免疫治疗效果。因此,增强肿瘤免疫治疗效果应该避免 IDO 的激活。近年来研究提示抑制 IDO 能够增强化疗药的抗肿瘤作用,因此通过抑制 IDO,阻断 IDO 阳性的 DCs 色氨酸的降解,增强 T 细胞的功能,成为肿瘤免疫治疗的一个重要手段。

五、IDO 抑制剂的选择

目前应用最广泛的 IDO 抑制剂是 1-甲基色氨酸(1-MT)。1-MT 存在两种异构体,左旋体和右旋体,左旋体与 IDO 的亲合力是右旋体的 10 倍,说明右旋体阻断 IDO 的活性远不如左旋体^[13]。事实上,关于右旋体 1-MT 的研究结果不一致:在体内鼠肿瘤模型中发现,与左旋和消旋体相比,右旋体同样抑制 T 细胞的非特异性免疫应答,但是使用体外纯化的

IDO,不能阻断体外纯化 IDO 的活性;在 IDO 基因敲除的鼠肿瘤模型中,右旋 1 - MT 同样不能抑制肿瘤的生长^[14]。这些不一致的实验结果,被发现的 IDO2 所解决,IDO2 可以被右旋体抑制,但是不能被左旋体抑制^[15]。IDO2 的表达与 IDO1 的表达也不一致,在生理状态下其活性也不及 IDO 的活性,但是在病理条件下,它的表达及活性可以增加^[15]。但是 IDO2 在人体各组织细胞的表达,IDO2 对色氨酸的降解作用,以及右旋 1 - MT 能否阻断体内细胞 IDO2 的活性等一系列的问题,仍需进一步研究。一些研究显示,单独使用 1 - MT 治疗肿瘤,只能延缓肿瘤的生长,不能使肿瘤消退,因此人们关注 1 - MT 能否适合单独应用治疗肿瘤^[14,16]。我们应该考虑到,1 - MT 不仅是阻断 IDO,可能还有其他的机制来影响肿瘤的生长。最近我们课题组设计并合成了与 1 - MT 类似结构,发现这类结构具有不同程度的抑制胃癌细胞和宫颈癌细胞生长的作用^[17],但是这类物质对肿瘤细胞的抑制作用和对 IDO 的抑制作用不一致,这种抗肿瘤细胞增生的作用不能单纯用抑制 IDO 活性来解释。

六、IDO 抑制剂抗肿瘤的证据

Ou X 等在 Lewis 肺癌小鼠模型研究中发现,使用聚乙二醇将 DC 细胞融入 LLC 肿瘤组织,不但增加肿瘤引流淋巴结中 IDO 阳性 T 细胞的表达,而且上调脾脏淋巴细胞 IDO 的表达,而联合使用 1 - MT 增强了 T 细胞特异性抗癌免疫应答,延缓了 LCC 肿瘤的生长^[18]。最近 Yen MH 等在胆囊癌和结肠癌动物模型中,转染 siRNA 阻断 IDO 基因的表达,不但增强了 T 细胞抗肿瘤免疫应答能力,而且明显减慢肿瘤细胞的生长^[19]。虽然单独使用 IDO 抑制剂的抗肿瘤作用有待进一步证实,但是多项实验结果证实,1 - MT 联合化学治疗的效果是肯定的。通过抑制 IDO,发挥免疫治疗的效果,这是应用 IDO 抑制剂抗肿瘤的最佳合理解释。Muller 等发现在自发性乳腺癌 MMTV - Neu 小鼠模型中,IDO 抑制剂 1 - MT 与细胞毒性抗肿瘤药紫杉醇、顺铂、环磷酰胺和阿霉素合用,能引起肿瘤的消退^[20];另一个 IDO 抑制剂甲基硫乙内酰脲色氨酸与紫杉醇联合用药也有相似的作用。这些研究提示小分子的 IDO 抑制剂能够增强化疗药的抗肿瘤作用^[21]。因此,使用 IDO 抑制剂作为免疫调节剂,联合放射疗法或细胞毒药物可能成为一种新的治疗肿瘤的有效方法。

随着对肿瘤免疫耐受机制的不断研究,肿瘤的免疫治疗已成为研究的重点。成功的肿瘤免疫治疗需

要多种免疫调节剂配合使用,关键的一步是阻断对肿瘤抗原的免疫耐受,激活免疫系统对肿瘤产生有效的免疫应答反应。针对 IDO 对肿瘤进行治疗的机制和制剂选择问题还需要进一步研究,在肿瘤治疗中阻断 IDO 的活性,增强抗肿瘤治疗效果是科研人员关注的问题,随着科学研究的发展,IDO 抑制剂有望成为理想的肿瘤免疫治疗制剂。

参考文献

- 1 Molano A, Illarionov PA, Besra GS, *et al.* Modulation of invariant natural killer T cell cytokine responses by indoleamine 2,3 - dioxygenase. *Immunol Lett*,2008,117(1):81 - 90
- 2 Belladonna ML, Grohmann U, Guidetti P, *et al.* Kynurenine pathway enzymes in dendritic cells initiate tolerogenesis in the absence of functional IDO. *J Immunol*,2006,177(1):130 - 137
- 3 Katz JB, Muller AJ, Prendergast GC. Indoleamine 2,3 - dioxygenase in T - cell tolerance and tumoral immune escape. *Immunol Rev*,2008,222:206 - 221
- 4 Chen PW, Mellon JK, Mayhew E, *et al.* Uveal melanoma expression of indoleamine 2,3 - deoxygenase: establishment of an immune privileged environment by tryptophan depletion. *Exp Eye Res*,2007,85(5):617 - 625
- 5 Driesen J, Popov A, Schultze JL. CD25 as an immune regulatory molecule expressed on myeloid dendritic cells. *Immunobiology*,2008,213(9 - 10):849 - 858
- 6 Wang J, Simonavicius N, Wu X, *et al.* Kynurenine acid as a ligand for orphan G protein - coupled receptor GPR35. *J Biol Chem*,2006,281:22021 - 22028
- 7 Uytendhoe C, Pilotte L, Theate I, *et al.* Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3 - dioxygenase. *Nat Med*,2003,9(10):1269 - 1274
- 8 Beutelspacher Sc, Serbecic N. Potential endogenous immunological self - protection of uveal melanoma by indoleamine 2,3 - dioxygenase. *Klin Monatsbl Augenheilkd*,2008,225(8):703 - 707
- 9 Lee J H, *et al.* Quantitative analysis of melanoma - induced cytokine - mediated immunosuppression in melanoma sentinel nodes. *Clin Cancer Res*,2005,11:107 - 112
- 10 Munn DH, *et al.* Expression of indoleamine 2,3 - dioxygenase by plasmacytoid dendritic cells in tumor - draining lymph nodes. *J Clin Invest*,2004,114:280 - 290
- 11 Pan K, Wang H, Chen MS, *et al.* Expression and prognosis role of indoleamine 2,3 - dioxygenase in hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*,2008,134(11):1247 - 1253
- 12 Frumento G, Piazza T, Di Carlo E, *et al.* Targeting tumor - related immunosuppression for cancer immunotherapy. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*,2006,6(3):233 - 237
- 13 Peterson A C, *et al.* Evaluation of functionalized tryptophan derivatives and related compounds as competitive inhibitors of indoleamine 2,3 - dioxygenase. *Med Chem. Res*,1994,3:531 - 544
- 14 Hou D Y, *et al.* Inhibition of IDO in dendritic cells by stereoisomers of 1 - methyl - tryptophan correlates with anti - tumor responses. *Cancer*

Res, 2007, 67: 792 – 801

- 15 Metz, R, *et al.* Novel tryptophan catabolic enzyme IDO2 is the preferred biochemical target of the antitumor indoleamine 2,3 – dioxygenase inhibitory compound d – 1 – methyl – tryptophan. *Cancer Res*, 2007, 67: 7082 – 7087
- 16 Muller AJ, Duhadaway JB, Donover PS, *et al.* Inhibition of indoleamine 2,3 – dioxygenase, an immunoregulatory target of the cancer suppression gene Bin1, potentiates cancer chemotherapy. *Nat Med*, 2005, 11: 312 – 319
- 17 Ting S, Li ZL, Tian H, *et al.* Synthesis and Biological Evaluation of Novel 1 – Alkyl – tryptophan Analogs as Potential Antitumor Agents. *Molecules*, 2009, 14: 5339 – 5348
- 18 Ou X, Cai S, Liu P, *et al.* Enhancement of dendritic cell – tumor fu-

sion vaccine potency by indoleamine – pyrrole 2,3 – dioxygenase inhibitor, 1 – MT. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2008, 134(5): 525 – 533

- 19 Yen MC, Lin CC, Chen YL, *et al.* A novel cancer therapy by skin delivery of indoleamine 2,3 – dioxygenase siRNA. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(2): 641 – 649
- 20 Muller AJ, Prendergast GC. Indoleamine 2,3 – dioxygenase in immune suppression and cancer. *Curr Cancer Drug Targets*, 2007, 7(1): 31 – 40
- 21 Kumar S, Malachowski WP, DuHadaway JB, *et al.* Indoleamine 2,3 – dioxygenase is the anticancer target for a novel series of potent naphthoquinone – based inhibitors. *J Med Chem*, 2008, 51(6): 1706 – 1718

(收稿: 2009 – 12 – 24)

卵巢上皮性癌病因学研究进展

宫艳秋 韩凤娟 吴效科 侯丽辉

卵巢恶性肿瘤是女性生殖器三大恶性肿瘤之一。其中, 卵巢上皮性癌(以下称卵巢癌)的恶性类型占卵巢恶性肿瘤的 85% ~ 90%, 病死率已超过其他恶性肿瘤, 高居榜首。其病因及发病机制不明, 以往的研究多集中在环境、行为、生殖等方面。近年来, 卵巢癌的病因学成了许多学者的研究热点。现将近 10 年来本病与性激素、癌基因和抑癌基因、细胞凋亡、血管生成及遗传等方面的相关病因学研究概况综述如下。

一、性激素与卵巢癌的关系

1. 雌激素(estrogen, E): 卵巢既是雌激素的合成器官, 同时又是雌激素作用的靶器官。卵巢癌通常被认为是激素依赖性疾病, 其发生与雌激素关系密切。雌激素主要通过雌激素受体(estrogen receptor, ER)的两种亚型 ER α 和 ER β 的结合而发挥生物学作用。在这两种亚型中, ER α 是卵巢癌的主要表达形式。Pujol^[1]等利用 RT – PCR 技术发现 ER β 在卵巢囊肿和正常卵巢的表达率为 78%, 而 ER α 仅为 29%; 在卵巢癌中, ER α 和 ER β 共同表达率为 80%, 且 ER α /ER β 的比率明显高于卵巢囊肿和正常卵巢, 约占 60%, 提示 ER α /ER β 比率升高在卵巢癌发生过程中可能起重要作用, 并认为 ER α 过表达是卵巢癌的标志之一。

究其原因, ER α 阳性卵巢癌中雌激素通过旁分泌作用于 ER α 阳性细胞, 直接刺激细胞内和间质中一种促有丝分裂的细胞素 – 间质细胞衍化因子的产生, 从而促进卵巢癌的发生。

2. 孕激素(P): 孕激素的生理作用主要是通过孕激素受体(progesterone receptor, PR)结合表达的。PR 亚型及其变异型在正常和恶变组织中均有表达, 在正常组织中表现为上皮细胞的内分泌功能; 在恶变组织中, 这种内分泌功能明显减退而表现为致癌作用。目前有报道: PR 在卵巢癌中阳性率为 31% ~ 50%, PR 含量较高的情况下, 卵巢癌的发病也相应增高。王建六^[2]等研究 PR 亚型发现: 卵巢肿瘤侧卵巢静脉血中孕激素浓度高于对侧正常卵巢, 血中孕激素浓度与卵巢肿瘤体积明显相关。由此可见, 孕激素及其受体与卵巢癌的发病具有相关性。

3. 雄激素(androgen, A): 卵巢表面上皮细胞是雄激素的敏感组织, 雄激素可通过促进卵巢表面上皮细胞增生、抑制细胞死亡, 高雄激素水平可诱发卵巢癌, 从而增加卵巢癌发病的危险性。Kathy 对 31 例卵巢癌患者和 62 例正常人进行病例对照研究发现, 相对于正常对照组, 卵巢癌患者血清中雄激素浓度明显升高, 有显著差异性 $P = 0.03$ 。因此认为高雄激素水平可诱发卵巢癌。

4. 促性腺激素:(卵泡刺激素 follicle – stimulating hormone, FSH; 黄体生成素 luteinizing hormone, LH) 卵巢的功能受促性腺激素的直接刺激和制约, 促性腺激

基金项目: 黑龙江省教育厅青年学术骨干支持计划资助项目 (1152G037)

作者单位: 150040 哈尔滨, 黑龙江中医药大学附属第一医院妇产科

通讯作者: 韩凤娟, 电子信箱: hanfengjuan2004@163.com