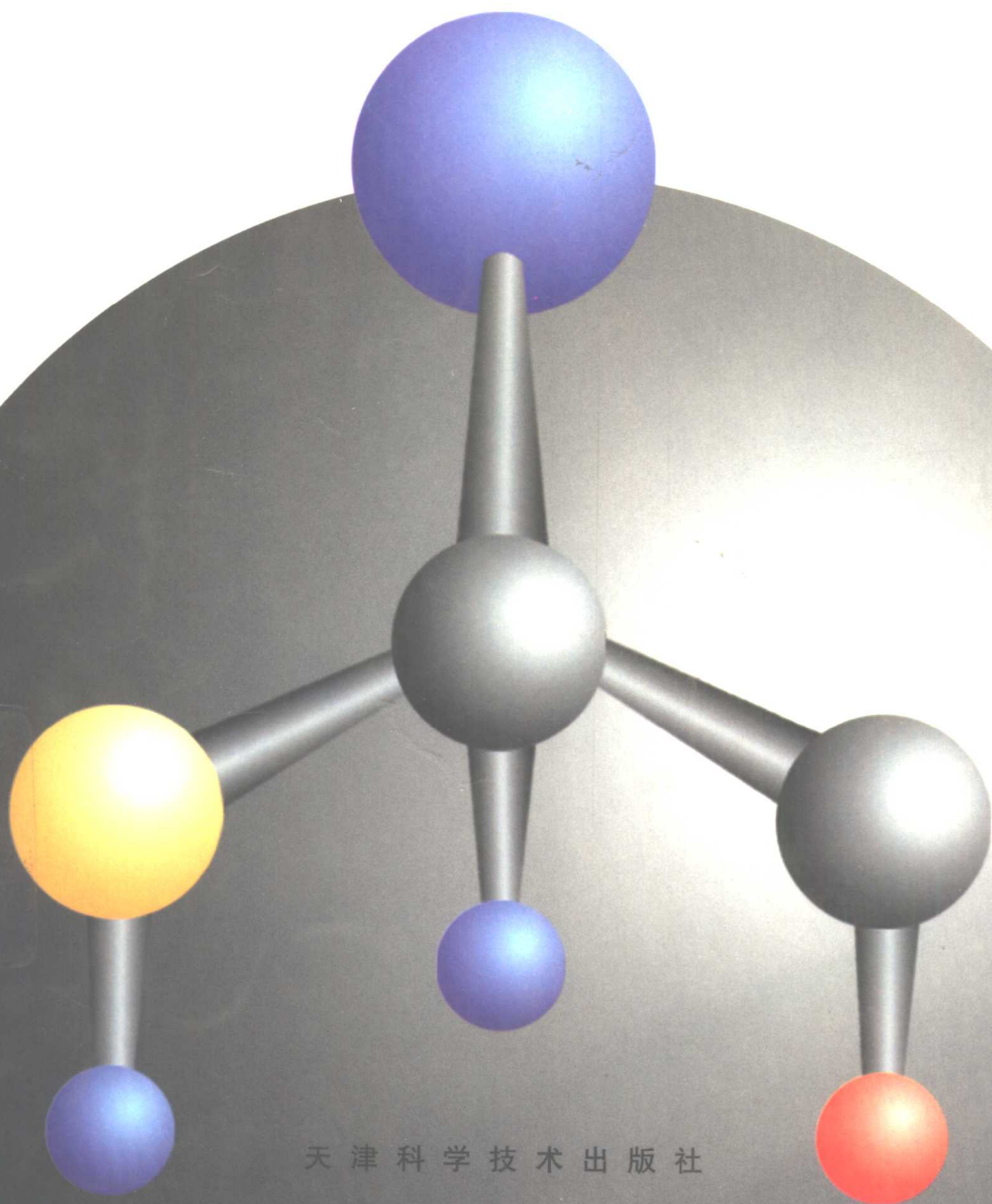


21世纪

分子医药学前沿

主编 夏宝森 陈乃宏 刘克辛



天津科学技术出版社

7
S
1

《21 世纪分子医药学前沿》

主编 夏宝森 陈乃宏 刘克辛

天津科学技术出版社

FD338/36

17

图书在版编目(CIP)数据

21 世纪分子医药学前沿/夏宝森,陈乃宏,刘克辛主编. - 天津:天津科学技术出版社,2001.1

ISBN 7-5308-2979-3

I. 2… II. ①夏…②陈…③刘… III. 分子生物学:医药学-研究-进展 IV. R318

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2000)第 78804 号

责任编辑:于伯海

版式设计:雒桂芬

责任印制:张军利

天津科学技术出版社出版

出版人:王树泽

天津市张自忠路 189 号 邮编 300020 电话(022)27306314

天津新华印刷二厂印刷

新华书店天津发行所发行

*

开本 787×1092 1/16 印张 15.25 插页 2 字数 361 000

2001 年 1 月第 1 版

2001 年 1 月第 1 次印刷

印数:1-2 050

定价:28.00 元

策 划 在日中国科学技术者联盟—医学与药学协会

主 编 夏宝森 陈乃宏 刘克辛

副主编 戴昭宇 回爱民 那 杰 李小康 杨维兴

编 委 (以拼音为序)

陈乃宏 迟玉明 戴昭宇 何 维

回爱民 金 锋 李小康 刘克辛

刘焕亮 那 杰 倪健伟 苏式兵

孙 琳 汪先恩 王庆平 王殿升

吴 坚 夏宝森 杨维兴 赵丰宇

赵中振

序1

当今的世界科技形式可谓是风起云涌,日新月异。伴随着经济与社会的发展,各发达国家之间争分夺秒般的科技竞争也正愈演愈烈。对包括医药领域在内的世界科技进展、知识更新与信息递增速度,我们若用山中一岁,世上千年来比喻,或许已并非过言。不知秦汉,遑论魏晋?闭关自守,固守自封,自然就难以察觉山外有山,天外有天。

以因特网信息的空前剧增和裂变为契机,科技研究在我们目前的地球上已越来越难分国界。而加强海内外的学术交流与合作,及时了解、把握并借鉴国际医学领域中层出不穷的新学科、新技术、新方法、新思维以及新苗头和新动向,对于加快与世界先进水平相比从整体来看还显得薄弱的我国医药学研究和发展的意义已无需多言。

近年来,我们刻意强调重视发展以分子生物学、遗传学、生化学和免疫学、药理学为代表的基础医学研究的重要性与迫切性,强调与高新技术相结合的分子生物学等基础研究的重大价值和潜在效益。因为已有俯拾皆是实例表明,临床医学往往要在这些基础研究实现突破之后才能大踏步地向前。

今天我十分欣喜地读到由第一线从事科学研究、临床工作的在日医药学者汇集群体的智慧与能量共同编著的《21世纪分子医药学前沿》一书文稿。作者们立足于日本而放眼全球,在密切追踪分子生物学等医学领域研究的世界最前沿同时,他们还强烈地关注着国内发展的需求。本书内容不仅仅是对医学各相关领域中国际上最新研究与最新动态的综述与摘编,其中更蕴含着作者们切身的体会与独特的见解,融入许多精微入细的分析与评介,倾注了海外学子们各自辛勤研究的汗水和心血。作者们的目光大多集中于以分子生物学为中心的目前医药各研究领域的热点与重点,于选题方面诚可谓精益求精,独具慧眼。在信息泛滥而令许多人不知所从的今天,我认为本书内容新颖可贵,值得向国内医药读者广泛推荐。

我作为曾在日工作数年的教育参赞,深深理解这批身居海外、心向祖国的年轻医药学者们的心声和甘苦。但愿我国医药队伍中的这支海外生力军,在继往开来的21世纪里,为祖国医药事业的腾飞和科教兴国战略的实现,不断作出更大的贡献!特此为序。

中国医学科学院 院长

中国协和医科大学校长

中国工程院院士

巴德年

2000年4月21日

序 2

为了日中两国人民永久的和平友好,1984 年在北京创建了中日友好医院。1985 年经日本厚生省的认可在东京成立了日中医学协会。该协会的宗旨是积极促进日本与中国的医药学、医疗保健等方面的学术交流。笔者作为该协会的常务理事,多年来和同仁们与日本医学会、日本医师会、日本药学会、日本药剂师会、日本齿科学会、日本护理协会及日本经济团体联合会等日本医疗界和经济界等主要团体进行协作,为了更好地实现这一宗旨而努力工作。

我们迄今,与中国卫生部、中华医学会、国家医药管理局、中医药管理局、中华护理学会、预防医学会等协作,在日中医疗医药界的学术交流,人才交流,学会间的交流与促进研究等多方面开展了大量的工作。特别是自 1987 年以来该协会承担“笹川医学奖学金”项目的运营以来,至此已有 1200 人的中国研究者前来日本各地从事相关的基础研究、临床研究、护理学以及医院管理等方面进行进修和学习。该项目不论是从学术交流还是从人才培养的角度均受到好评。

21 世纪必将以信息产业的飞跃为动力,以产业为中心,以经济和文化领域为阵地,将有大幅度国际化浪潮的迅猛出现。当然,在医药、医疗领域的国际化倾向也会有显著的发展。特别是以基因重组创药为首的分子水平的新药开发将成为该领域的先导。然而,日中间从某种意义上讲,都有追随美国的倾向。由于情报学的技术革命,21 世纪将成为人们对价值观及创造性逐渐发生变化的时代。从事医药和医疗工作的日中同仁们应该密切关注这一时代的潮流,开创我们日中医学的新纪元。从历史的角度看,自 18 世纪的产业革命和鸦片战争起,东方各国饱受西方列强的凌辱,20 世纪是亚洲各国为了争取独立而努力奋斗的时代,21 世纪应该是整个东方发展壮大的时代。

在这样的背景下,“在日中国科学技术者联盟——医学与药学协会”在日中医药学界许多团体的大力支持下,本着“架桥·务实·贡献”的宗旨,自 1996 年创立以来,立足于日本望眼于大陆、台湾、香港以及欧美等国家和地区,积极开展医药学领域的学术活动,在日中民间的学术交流中发挥了重要的作用。我相信在未来的日中交流中这些年轻学者也将是重要的力量。1998 年该协会出版的《日本传统医药学现状和趋势》,为日中间的传统医药学领域的交流起了极大的作用受到日中社会各界的好评。《21 世纪分子医药学

前沿》的出版，在现代医药学领域为日中间的进一步交流也将起到积极作用。我衷心地期望日中两国政府、社会予与他们极大的关注和支持。

最后，衷心地祝愿在继往开来的时代，日中两国的青年学者齐心协力，为构筑新纪元的医药学基础及进一步发展 21 世纪分子医药学而奋斗。

日中医学协会 常务理事
中国医科大学 客座教授

安达勇

2000 年 5 月吉日

前言

前言

国内改革开放的大好形势及分子生物学高新技术的迅猛发展,吸引了我们这些海外学子欲为祖国经济建设的宏伟蓝图锦上添花。本着为中日文化和技术交流而“架桥、务实、贡献”的宗旨,活跃在东瀛的“在日中国科学技术者联盟医药协会”的我们近200名会员在扎扎实实、一步一个脚印地不断充实、发展自身的同时,也时刻关注着祖国、放眼于世界。我们最大的愿望就是以海外之所学,奉中华之所用,促进国内与国际间的医药学术交流。

21世纪是分子生物学向纵深发展的新世纪。在这划时代的新纪元里,分子生物学领域的研究成果必将为人类的健康做出更大的贡献。在分子生物学这片土地上耕耘的在日约40名海外学子集各自多年钻研之成果、汇世界当今研究之进展,将对祖国的一片深情凝集在这本《21世纪分子医药学前沿》之中。我们旨在为国内分子生物学高新技术的发展起到抛砖引玉、添砖加瓦的作用。

本书汇集了当今世界在分子生物学、分子医学研究领域的最新进展,包括用现代化研究方法分析疾病的发病机理、用基因工程的手段开发研究疾病的治疗药物、对临床多种疾病在分子生物学领域尖端研究的详细综述以及对21世纪人类瞩目的基因治疗内容的评价等。从基础到临床,本书融汇了当代分子生物学,分子医学在生理、生化、药理、病理、诊断以及基因工程、细胞凋亡、转基因动物等高深研究领域的最新动态,引用大量国际上的研究信息。本书不仅仅面向于分子生物学、医药学领域研究者,还会适合于医药大专院校的学生以及临床医生、制药企业等参考。

从1999年5月开始,历时近1年,我们完成了这本《21世纪分子医药学前沿》。因水平、能力和时间有限,在本书中还有许多不足之处,不过我们衷心期待《前沿》一书能为国内分子生物学以及现代医药学的发展做出贡献。

在日中国科学技术者联盟医药协会
《21世纪分子医药学前沿》编委会
2000年4月

目 录

第1章 分子生物学

肝细胞增殖因子(HGF)在肝脏病分子医学方面的研究进展	2/刘克辛
一个主导生死的细胞内第二信使	
——钙离子信号的最新研究进展	11/许锦文
细胞粘附分子的研究进展	20/王殿升
$\gamma\delta$ T 细胞的抗原识别机理	26/何 维
p53 基因治疗研究的现状	31/金 锋
荧光原位杂交和比较基因组杂交技术及应用	39/杨增全
从脑中枢到内分泌、生殖腺以及免疫系统的神经肽 PACAP 及其受体	44/周成基

第2章 基础医学

从局部突触网络来研究中缝背核在痛与镇痛中的作用	52/王庆平 管建莲
脑缺血研究的进展	58/赵丰宇
DNA 甲基化异常与癌	66/孙 琳 回爱民
细胞周期调控与肝癌	72/回爱民 孙 琳
骨质疏松症与遗传基因	78/吴 坚 时田章史
血管新生在恶性肿瘤的进展及治疗上的意义	84/赵 斌 回爱民 矢崎晓辉
大脑皮层运动区 V, VI 层皮质	
——丘脑投射神经元的电生理特性及投射形式	91/那 杰
日本免疫学研究体制的现状	103/姜国芝
小柴胡汤在现代医疗体系中的研究与应用	109/戴昭宇

第3章 临床医学

消化道癌症的浸润、转移和治疗

——分子生物学的研究

胰腺癌的基因诊断

世纪之交 AIDS 研究的新进展

高血压的发病机理及治疗的最新进展

老年痴呆的病因病理研究进展

消化性溃疡的研究与治疗

器官移植领域的基因治疗研究进展

126/ 苏式兵 李益群

133/ 王颖 王湘辉 苏式兵

141/ 辛小蜜 刘焕亮

147/ 王岳鹏 陈洁 王岳

153/ 陈乃宏 谭茹

160/ 汪先恩

164/ 李小康

第4章 药学

脑中风治疗药物的研究开发现状

现代生物制剂与未来的新药

基因技术在生药分析中的研究进展

药物和先导化合物的来源——天然物

氨基酸的新药理作用

天然药鉴别新方法

靶向给药与新药开发

头孢妥仑匹酯的体外抗菌活性

——对病原菌特别是呼吸道系统感染菌的作用机理

在日中国科学技术者联盟(ACSEJ)医学与药学协会简介

作者简历

编后记

170/ 倪健伟

175/ 夏宝森 孙宝敏

183/ 曹晖 刘玉萍

189/ 迟玉明 赵晞瑛

200/ 孙宝敏 夏宝森

205/ 赵中振 康廷国 张艳波 张文军

210/ 芮茗

214/ 杨维兴等

224

227

231

第 1 章

分子生物学

分子生物学

肝细胞增殖因子(HGF)

在肝脏病分子医学方面的研究进展

● 刘克丰

到目前为止,肝细胞增殖因子(Hepatocyte Growth Factor, HGF)被公认为是最强的肝再生促进剂。1987年日本的中村敏一先生最初从3000只大白鼠的血小板中将HGF纯化成单一的蛋白质,1989年根据HGF N末端氨基酸序列成功地克隆了HGF cDNA并解明了HGF的全氨基酸序列,继而用基因重组的方法人工合成了HGF(recombinant HGF)。随着研究的进展,发现HGF不仅仅有强有效的抗肝炎、肝再生作用,还可用来治疗急慢性肾功能不全、肺炎、肺纤维化、外伤、胃溃疡以及循环系统等疾病。HGF的这种多功能的、强有效的药理治疗作用促使众多的医药科学工作者们投身于HGF的开发研究之中。目前HGF虽然还没有被应用于临床,但是突飞猛进的科学发展提示这一天已为期不远。本文以肝脏病的生理、病理、治疗为基础,向国内同行们介绍近年来HGF在分子医学方面的研究进展。

一、HGF的分子生物学基础

(一)HGF及其受体的构造

HGF为分子量69kD的重链(α 链,465个氨基酸)和分子量34kD的轻链(β 链,234个氨基酸)以二硫键连接组成的异二聚体(Heterodimer)糖蛋白质⁽¹⁾。 α 链的N末端有发夹区域(Hairpin domain, 27个氨基酸)和4个卷曲区域(Kringle domains,简称K1-K4)组成的花瓣式构造为其分子结构特点(图1)。Kringle domain由80个氨基酸组成双链结构,以三个内在的二硫键架桥。 β 链含有丝氨酸蛋白酶样区域(Serine protease-like domain)。一条链的前驱体HGF(pro HGF)不具有生物活性,两条链的HGF才是成熟的具有生物活性的HGF分子。人HGF的基因位于第7染色体的长臂上(7p11.2-21)。HGF的生成过程是HGF基因(70kb)→一条链的HGF mRNA(6kb)→一条链的HGF前驱体→两条链的成熟的HGF。

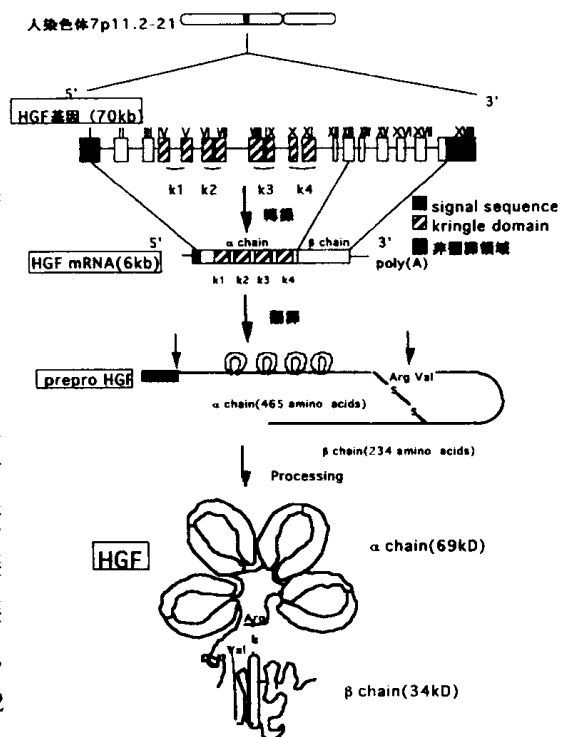


图1 HGF基因、HGF mRNA、pro-HGF及成熟HGF的模式构造

HGF 受体为分子量 50kD 的 α 链和 145kD 的 β 链组成的异二聚体(图 2)。HGF 受体是在 1984 年从人骨肉瘤细胞中发现的癌基因(proto - oncogene),称为 c - met。人 HGF 受体的基因也位于第 7 染色体的长臂上(7q31.1 - 34)。HGF 受体为膜贯通蛋白质, β 链的细胞内区域有被称为信号发送机的酪氨酸激酶区域(Tyrosine kinase domain)。

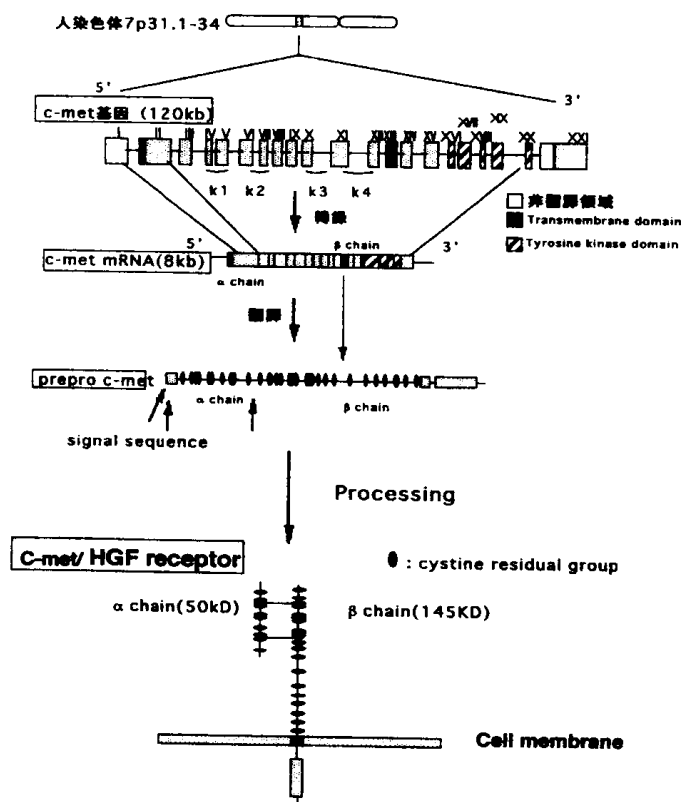


图 2 C-met 基因、C-met mRNA、Prepro c-met 及成熟 c-met 的模式构造

(二)成熟 HGF 激活机制

HGF 与 HGF 受体结合后,HGF 受体的 C 末端近侧 2 处的酪氨酸残基(Tyr1349 和 Tyr 1356)被磷酸化。该步骤是 HGF 进行各种细胞内情报传递所必须的。HGF 与 HGF 受体结合后其各种生物活性是怎样通过细胞内情报传递系统而发挥的,目前还没有完全被阐明。一般认为,HGF 的细胞增殖促进作用是通过激活 Grb - 2/Sos→Ras→Raf→→MAPK 的途径,HGF 的细胞迁移促进作用是通过激活 PLC - γ 、PI - 3 - K→Rho 的途径、HGF 的形态形成诱导作用是通过激活 Gab - 1、Stat - 3、HGF 的抗细胞死作用是通过激活 Bag - 1、Bcl - xL、Bcl - 2 来实现的。

表 1 HGF 的性质及生物活性

一、化学性质	
分子量(SDS - PAGE):	82 ~ 85kD(非还原)
α 链:	69kD(还原)
β 链:	34kD(还原)
失活处理:	1. 加热(100℃, 3min)
	2. 酸(1mol/L 醋酸)
	3. 胰蛋白酶(Trypsin)消化

4. 二硫苏糖醇(Dithiothreitol, DTT)还原

高亲和力: 1. 肝素(Heparin)

2. 刀豆球蛋白 A(Concanavalin A)

3. 铜

二、生物学性质

HGF 受体

高亲和力: 解离常数(K_d) = 20 - 30p mol/L

sites/cell = 200 - 1000(B_{max} = 565sites/cell)

低亲和力: 解离常数(K_d) = 300 - 500p mol/L

sites/cell = 10000 - 20000(B_{max} = 15000sites/cell)

最大活性浓度: 5 - 10ng/ml(60 - 90p mol/L)

有相加效果的细胞因子: 上皮细胞增殖因子(Epidermal growth factor, EGF)

胰岛素(Insulin)

Transforming growth factor - α (TGF - α)

种特异性: 无

HGF 的产生细胞: 肝非实质性细胞: Kupffer cell、Ito cell、肝血窦血管内皮细胞等

成纤维细胞: 胎儿肺成纤维细胞(MRC - 5、IMR - 90)等

人皮肤成纤维细胞

人支气管成纤维细胞

人大肠成纤维细胞

NIH 3T3mouse 成纤维细胞等

血球系细胞: 肺泡巨噬细胞

Kupffer cell

HL - 60 人前骨髓性白血病细胞

大鼠血小板等

血管内皮细胞: 人脐带静脉血管内皮细胞

人大动脉血管内皮细胞

人肺动脉血管内皮细胞

肝血窦血管内皮细胞等

其它细胞: 血管平滑肌细胞

胰岛郎罕氏 A 细胞

HGF 的诱导因子和药物: IL - 1(Interleukin - 1)

bFGF(basic fibroblast growth factor)

PDGF(platelet - derived growth factor)

PGE2(prostaglandin E2)

Heparin

Cilostazol(抗血小板药)⁽²⁷⁾

靶细胞及生物学功能

1. 增殖促进(Mitogen): 肝细胞、肝干细胞、胆管上皮细胞、肾小管上皮细胞、胃粘膜上皮细胞、角膜上皮细胞、肺泡 II 型细胞、支气管上皮细胞、毛发乳头上皮细胞、甲状腺上皮细胞、乳腺上皮细胞、前列腺上皮细胞、血管内皮细胞、表皮角质化上皮细胞、黑色素上皮细胞、关节软骨细胞、造血系前驱细胞、心肌细胞、胎盘滋养层细胞等
2. 迁移促进(motogen): 肾小管上皮细胞、胆管上皮细胞、表皮角质化上皮细胞、胃粘膜上皮细胞、角膜上皮细胞、甲状腺上皮细胞、乳腺上皮细胞、血管内皮细胞、关节软骨细胞等

3. 形态形成诱导(morphogen):肝干细胞、肾小管上皮细胞、胆管上皮细胞、乳腺上皮细胞、胎儿肺上皮细胞等
4. 抗细胞凋亡(Anti-apoptosis):肝细胞、肾小管上皮细胞、血管内皮细胞、胰腺 β 细胞、各种神经原(海马神经原、大脑皮质神经原、运动神经原、知觉神经原等)
5. 肿瘤增殖抑制(Tumor suppressor):小鼠黑色素瘤细胞(B6/F1)、人皮肤癌细胞(KB)、肝癌由来细胞(HepG2)等

二、肝再生、肝疾患中 HGF 的动态

肝脏是人体中再生能力最强的器官之一。将大白鼠或小鼠的肝脏切除 2/3 后,10~14 天残余的肝脏就可恢复到原来的大小。人也不例外,例如将 400g 肝脏移植给人,1 个月后移植的肝就可增殖到 1kg,2 个月后就恢复到正常肝脏的大小(1.2~1.5kg)。人们认识这一现象由来已久,并推测有一种未知的液性因子驱动肝脏再生。HGF 的发现,证实了这种推测的正确性。目前 HGF 被认为是最强的促进肝脏再生的驱动器。

大鼠经 70% 肝部分切除后 2~3 小时开始血中 HGF 的浓度急剧增加,24 小时到达高峰达正常浓度(0.1~0.2ng/ml)的 20~30 倍⁽⁵⁻⁶⁾。随着肝再生过程的结束,HGF 的血中浓度恢复到正常水平。这说明 HGF 在肝再生过程中起到了驱动器的作用。进一步证实这一推测的是当小鼠经 30% 肝部分切除后给小鼠静脉注射基因重组的 HGF,促进了肝脏再生⁽⁷⁾。如前所述,大鼠经 70% 肝部分切除后 2~3 小时血中 HGF 的浓度开始急剧增加,但是肝部分切除后 12~24 小时残余肝中 HGF mRNA 才升高,这说明肝部分切除后血中增加的 HGF 是从其它器官供给的。实验表明,肝部分切除后远隔脏器如肾、肺、脾等未损伤脏器中 HGF mRNA 迅速升高,合成的 HGF 经血流供给肝,称为 HGF 的内分泌(Endocrine)机制;此外肝非实质性细胞(Kupffer cell、Ito cell、肝血窦血管内皮细胞)等也可生成 HGF 供给肝实质性细胞,称为 HGF 的旁分泌(Paracrine)机制。Endocrine 和 Paracrine 的促进因子是一种被称为 Injurin 的液性蛋白质⁽⁸⁾。当肝伤害时,Injurin 释放出,通过 Endocrine 和 Paracrine 机制,调节 HGF 的产生,从而修复损伤的肝脏。这种 Injurin 不是单一的蛋白质,是白细胞介素 1(Interleukin-1, IL-1)、bFGF(basic fibroblast growth factor)、血小板由来因子(Platelet-derived Growth factor, PDGF)和前列腺素(prostaglandin)等细胞因子的复合体。

三、肝疾患治疗中 HGF 的作用

到目前为止,还没有发现治疗肝炎的特效药。HGF 的出现,使亿万肝炎等肝疾患病人见到了曙光。

(一)防止剧症肝炎、急性肝炎的发生

Fas 是细胞凋亡(Apoptosis)的促进因子。抗 Fas 抗体可使传递细胞凋亡信号的 Fas 受体活性化从而导致细胞凋亡。当给小鼠投与抗 Fas 抗体 5~6 小时可导致典型的剧症肝炎。血中谷丙转氨酶(GPT)明显上升。此时如观察肝组织切片,可发现 80% 的肝细胞趋向细胞凋亡、80% 的小鼠死亡。但是事先给小鼠投与 HGF,然后再投与同样量的抗 Fas 抗体,则 GPT 几乎完全被抑制,100% 的小鼠生存⁽⁹⁾。这说明 HGF 有明显的防止剧症肝炎、急性肝炎发生的功能。

在此实验中,HGF 抗细胞凋亡的机理在于 HGF 可诱导抗细胞凋亡的 Bcl-xL 的表达,从而

抑制促进细胞凋亡途径上的反应酶 Caspase,因此抑制了 Fas 受体活性化而抑制细胞凋亡。此外,Bcl-xL 的表达可使 HGF 受体活性化,加强了 HGF 的功能。除了上述动物病态模型外,HGF 还可防止由 α -Naphthylisothio-cyanate (ANIT) 导致的胆红素、GPT 升高,促进肝细胞的 DNA 合成⁽⁷⁾。

(二)防止和治疗肝硬化、肝纤维化

长期给大鼠投与二甲基硝胺(Dimethylnitrosamine, DMN)可导致大鼠肝硬化、肝纤维化。二甲基硝胺投与 3 周时是肝纤维化发病时期,此时如连日投与 HGF 3 周,则肝纤维化明显改善⁽¹⁰⁾。二甲基硝胺投与 6 周,90% 的大鼠因肝功能不全而死亡,而从第 3 周开始投与 HGF 3 周,则所有的大鼠均存活。除了 HGF 可改善肝功能外,HGF 治疗肝硬化、肝纤维化的机制在于 HGF 的投与可明显抑制纤维化的促进因子 TGF β 1 (Transforming growth factor β 1) 的表达。当肝慢性伤害时,TGF β 1 的表达亢进,抑制 HGF 的表达,从而促进胶原纤维(collagen)、Fibronectin、昆布氨酸(laminine)蓄积于细胞外 Matrix,抑制肝细胞增殖、诱导细胞凋亡、导致肝硬化、肝纤维化及其它脏器的纤维化。在肝慢性伤害的期间,如投与 HGF,则 TGF β 1 的表达被抑制,从而改善、治疗了肝硬化、肝纤维化。

(三)治疗脂肪肝,改善脂质代谢

给大鼠食饵中掺入酒精喂养 37 天,可造成肝细胞内大量脂肪滴蓄积,导致典型的脂肪肝。当大鼠食饵中掺入酒精喂养 30 天开始,在继续喂与酒精食饵的过程中持续 1 周投与 HGF,则肝组织的脂质明显减少,脂肪肝的程度显著改善。酒精性脂肪肝的发病机理被认为是载脂蛋白 B(apolipo protein B, apoB)的合成低下,从而使极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)的构成减少而导致脂肪肝。HGF 可促进载脂蛋白 B 的合成,并促进 VLDL 的分泌。此外 HGF 还可以促进 VLDL 及高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)向血中移行,促进血中脂蛋白脂肪酶(Lipoprotein lipase)的活性,促进 VLDL 转换成 LDL(low density lipoprotein),并促进末梢组织摄取 LDL 从而促进全身组织的脂质代谢。因此说 HGF 有希望成为根治脂肪肝的新药,并根据上述原理,成为预防、治疗动脉硬化的特效药。

(四)促进肝储备能,应用于肝脏外科

如前所述,肝脏切除 2/3 后,10~14 天残余的肝脏就可恢复到原来的大小。但是大部分肝脏切除后,残余肝虽然有再生功能,然而残余肝的储备能则明显下降,如血清白蛋白、纤维蛋白原等合成功能降低,血液凝固机能低下等。HGF 不仅仅可促进肝再生,还可明显促进血清白蛋白、纤维蛋白原等合成功能,并促进肝脏的血液凝固机能。因此,在肝癌外科切除术后,以及肝移植术后 HGF 有望成为促进肝储备能的特效药。

(五)治疗肝癌

前所述及,HGF 受体是从人骨肉瘤细胞中发现的癌基因,称为 c-met。在很多癌细胞中可大量发现 HGF 受体,如肺癌、胃癌等。很多研究结果表明 HGF 有促进某些癌浸润及扩散的作用。但是对肝癌细胞(如 HepG2)、小鼠黑色素瘤细胞(B6/F1)、人皮肤癌细胞(KB)则有明显的抑制作用。HGF 的这种增殖促进、增殖抑制的双向作用(Didirectional action)机制至今尚未明了。有人发现,在使 HGF 基因强制表达的转移基因小鼠(Transgenic mouse, Tg)模型中,肝细胞可产生 HGF(正常时肝细胞不能产生 HGF),这种转移基因小鼠肝脏的 DNA 合成能(例如 Liver labeling index)为正常小鼠的 2 倍⁽¹⁴⁾。正常小鼠肝脏切除 70% 后,8~10 天残余的肝脏可恢复到原来的大小。而这种转移基因小鼠 70% 肝脏切除后 4~5 天残余的肝脏就可恢复到原来的

水平。有趣的是,这种转移基因小鼠的肝不产生癌变,这说明这种转移基因小鼠体内高浓度的 HGF 可预防肝癌的发生。HGF 作为抗肝癌药的开发引起了众多科学工作者的瞩目。

(六)HGF 基因治疗肝硬化

用 1% 的二甲基硝胺(Dimethylnitrosamine)每周 3 次连续 3 天给大鼠腹腔内投与,4 周后作成肝硬化/肝纤维化动物模型。其后,如继续投与二甲基硝胺,则所有的动物均死亡。但如用 HVJ(Hemagglutinating virus of Japan)liposome 法⁽¹¹⁾将 HGF 基因导入大鼠的四肢骨骼肌,可使大鼠血清中 HGF 浓度持续维持高值(正常的 6 倍)^(13,14), HGF 受体的表达增强,产生明显的磷酸化。肝组织切片检查结果表明,HGF 基因导入组肝纤维化消失,与正常肝组织像大致相同。HGF 基因导入组的大鼠全例生存。此外,肝纤维化的标志物 TGF β 1 的 mRNA 以及 TGF β 1 和 α -SMA(α -smooth muscle actin)的量明显被抑制,用 PCNA (Proliferative cell nuclear antigen)染色检查发现细胞核分裂像明显增加,约 50% 的细胞进入细胞增殖周期。HGF 基因治疗肝硬化的机理在于,HGF 基因导入骨骼肌后,骨骼肌中产生的 HGF 分泌入血,该 HGF 诱导了内因性的 HGF 活性化使之成为成熟性的 HGF 而作用于肝脏,HGF 与 HGF 受体结合后促进了 HGF 受体的磷酸化,使肝细胞增殖增强,抑制细胞凋亡。另外,通过抑制 TGF β 1 的 mRNA 而抑制肝纤维化,从而治疗肝硬化。

四、从 HGF 的药代动力学看 HGF 的 DDS 开发

药代动力学是 DDS(Drug delivery system)开发的基础。DDS 的开发对最大限度发挥药物的疗效,减少药物的副作用,增加药物在靶细胞的浓度和作用时间具有极为重要的意义。

¹²⁵I-HGF 给大鼠静脉注射后,其在体内的消失极为迅速,分布相半衰期只有 4 分钟,消失相半衰期也只有 45 分钟。分布实验表明,肝脏是 HGF 的主要消除器官。大约有 70% 的 ¹²⁵I-HGF 经肝脏消除⁽¹⁵⁾。像其它细胞因子一样,HGF 也通过 Receptor-mediated endocytosis(RME)机制从体内消除。除了与 HGF 受体特异性结合之外,大部分 HGF 与细胞表面及细胞外间隙 HGF 的非特异性结合部位的肝素样物质(Heparin-like substances)结合而经非特异性消除⁽¹⁶⁻²²⁾。笔者推测 HGF 从体内迅速消除与其和体内非特异性结合部位 Heparin 及 Heparan sulphate 等 Heparan sulphate proteoglycans(HSPGs)结合有关。笔者发现,将 HGF 和 Heparin 的复合体(Complex)给大鼠静脉注射后,可明显降低 HGF 的血浆清除率⁽¹⁶⁾,增加 HGF 的血浆浓度和滞留时间。提示 Complex 可降低 HGF 的非特异性消除。体外实验表明,该 Complex 保持了 HGF 的促进初代培养大鼠肝细胞的 DNA 合成活性⁽¹⁷⁾。但是体内实验表明该 Complex 不能增加 HGF 的肝再生作用。提示虽然 Complex 可降低 HGF 的非特异性消除,但是 Complex 影响了 HGF 与 HGF 受体结合,从而影响了 HGF 肝再生促进活性的发挥。如果用一种药物事先将 HGF 的非特异性结合部位阻断,那么 HGF 可能集中与 HGF 受体结合,从而最大限度的发挥其生物活性。在这个假说驱动下,笔者首次发现鱼精蛋白(Protamine)可阻断 HGF 的非特异性消除,进而探讨了 HGF 促进肝病态大鼠(α -naphthylisothiocyanate, ANIT)肝保护,肝再生作用时鱼精蛋白的影响。体内实验表明,鱼精蛋白提前静脉给药,可使肝病态大鼠 HGF 的肝标记指数(Labeling index)提高 4~5 倍,同样效果也可见于肝部分切除大鼠。鱼精蛋白还可使 HGF 的降低血清胆红素,降低血清谷丙转氨酶(GPT)等肝保护作用增强。鱼精蛋白静脉注射可明显降低 HGF 的血浆清除率,并能使 HGF 血药浓度曲线下的面积(AUC)增加 2.5 倍。但是由鱼精蛋