



## ■ 实验室人员

· 肿瘤多药耐药研究单元

· 抗体工程研究单元

· 细胞凋亡研究单元

· 肿瘤基因治疗研究单元

· 肿瘤细胞分化研究单元

· 肿瘤预警及血管治疗单元

· 肿瘤靶向治疗研究单元

· 肿瘤疫苗研究单元

· 生物芯片研究单元

· 肿瘤增殖和转移研究单元

· 生物信息学研究单元

## ■ 肿瘤基因治疗研究单元

### 杨安钢



中共党员。教授，博士生导师，第四军医大学基础部免疫学教研室主任。教育部长江学者特聘教授，国家杰出青年科学基金获得者。

1981年毕业于河南豫北医专（新乡医学院），分别于1986年和1992年在第四军医大学硕士和博士研究生毕业并获得学位，1995年至1998年在美国Wake Forest大学医学院癌症中心做博士后研究，2002年至2003年在美国Baylor医学院细胞与基因治疗中心作访问教授。

杨安钢教授发表科研论文100多篇，其中在国际杂志发表40余篇，9篇影响因子在5.0以上，被他

人引用600多次。先后主持国家杰出青年科学基金课题、国家863计划课题、国家自然科学基金重点项目和面上项目、教育部“长江学者和创新团队发展计划”创新团队项目。曾获国家技术发明三等奖1项（排名第三）、中华医学科技三等奖1项（排名第一）、陕西省科学技术一等奖2项（排名第一和第四）；军队科学技术进步二等奖1项（排名第一）。申请国家发明专利4项，其中1项已获授权，2项已经公开。主编专著2部，参与编写专著3部。

由于工作成绩突出，2000年被聘为2001年享受政府特殊津贴，被评为“陕西省优秀留学回国人员”，现任中国生物化学与分子生物学会医学分会副理事长，科技部“973”项目人口与健康领域专家咨询组成员。

承担本科生、硕士研究生《医学免疫学》、《细胞与分子免疫学》课程的讲授，承担博士研究生的专题讲座。共培养毕业的博士研究生23名，硕士研究生22名，指导的博士生的论文被评为2007年度全国优秀博士学位论文提名论文。

杨安钢教授在科学技术方面的主要成绩有：

一、首次阐明转染的哺乳动物细胞可以长期产生建株和分泌免疫毒素，特异性杀伤肿瘤细胞或HIV-1感染细胞

杨安钢教授用抗肿瘤抗原HER2的抗体，或HIV-1被膜糖蛋白gp120的抗体的基因与毒素PE40的基因重组，构建了免疫毒素基因，转染后可使T淋巴细胞分泌免疫毒素，杀伤肿瘤细胞和HIV-1感染细胞。这首次证明基因转染的哺乳动物淋巴细胞能够产生和分泌免疫毒素，特异性地杀伤针对的肿瘤细胞或HIV感染细胞，由此形成了一类新型淋巴细胞。研究成果发表在《Nature》和《Nat Biotechnol》，编辑部特约专家写的评论与研究论文在《Nat Biotechnol》同期发表。该研究2000年被评为中国基础科学研究十大新闻之一。

二、创立了细胞内趋化因子的策略，为HIV感染和艾滋病的治疗提供了新方法

杨安钢教授对RANTES、MIP-1和SDF-1等趋化因子（它们是HIV辅受体CCR5或CXCR4的天然配体）基因进行了修饰，使其表达产物C-端融合有内质网滞留信号，结合细胞内新合成的CCR5或CXCR4，使其在细胞内降解而不能呈现在细胞表面。这种新型趋化因子intrakine基因转染的T淋巴细胞系和人外周血T淋巴细胞表面HIV辅受体的表达可降低到阴性细胞水平，它们均能有效抵抗HIV-1的感染，这为HIV感染和艾滋病的治疗提供了新的策略，结果发表于《Nat Med》和《Proc Natl Acad Sci USA》。杂志编辑部特约专家撰写的评论文章刊登在同期的《Nat Med》杂志。

三、创建了免疫促凋亡蛋白杀伤HER2阳性肿瘤的新方法

肿瘤生物治疗的基础研究具有重要的理论和实用意义。杨安钢教授克隆改造了人促凋亡分子caspas-3等的基因，与绿脓杆菌外毒素（PE）转膜结构域基因和抗HER2抗体的基因重组，构建成靶向促凋亡分子的基因。用重组表达载体转染细胞，证实表达蛋白对HER2阳性乳腺癌、胃癌细胞具有高效的杀伤作用。在建立的HER2阳性实体瘤裸鼠，治疗组肿瘤生长受到抑制，存活期显著延长，促凋亡蛋白特异性地分布在肿瘤组织。进而将白喉毒素（DT）等furin蛋白酶切割位点序列替换促凋亡分子中的PEA转膜结构域，证实这种靶向促凋亡分子能在细胞内膜转运，并有效地杀伤肿瘤细胞。这项研究的意义是构建和表

达到了杀伤肿瘤细胞的靶向促凋亡分子，同时可以降低了对人体的免疫原性。此项研究在国外SCI收录期刊发表论文5篇，包括《Cancer Res》、《J Biol Chem》和《J Immunol》。到目前论文被国外SCI收录期刊引用62次，包括《Hepatology》、《J Clin Invest》上的综述文章。申请的2项国家发明专利已公开，其中1项已获授权，并获2005年度陕西省科学技术一等奖。

#### 四、肿瘤和病毒的RNA干涉及其靶向输送研究

RNA干涉技术已被广泛应用于多种疾病的基因治疗研究中，但应用于临床还面临细胞摄取率低、无法靶向输送等问题。杨安钢教授根据HBV的基因序列设计多种siRNA，其中针对X基因的siRNA序列抑制效果最明显。他利用人源性抗HBsAg 噬菌体抗体库筛选高亲和力的Fab抗体，将其改造成单链抗体，证实其中一株单抗有良好的内化活性，以其作为siRNA输送的导向分子。把抗体基因与人的鱼精蛋白截短体(tP)的编码序列连接，构建成ScFv-Ck-tP重组基因，在大肠杆菌中进行诱导表达和纯化，证实其保持了较好的内化活性、HBsAg结合活性和核酸结合活性。用ScFv-Ck-tP融合蛋白将合成的siRNA、siRNA表达框或siRNA表达质粒pSUPER-H2靶向输送到HepG2.2.15细胞后，在mRNA水平、HBV DNA水平和蛋白水平均可检测到它们对HBV基因表达和复制的高效抑制。将ScFv-Ck-tP融合蛋白/siRNA或siRNA表达质粒经尾静脉注入HBV转基因小鼠，可持续高效地抑制小鼠体内HBV的基因表达。对HBV转基因小鼠血清ALT及 $\alpha$ -IFN的测定结果表明，用ScFv-Ck-tP融合蛋白实现的siRNA或siRNA表达质粒的靶向输送对肝脏无明显损害，也没有引起“脱靶”效应。此研究发表论文11篇，包括《Hepatology》和《J Viral Hepat》等期刊。已申请2项国家发明专利，其中1项已获授权。

代表性论文11篇（按发表时间排列）：

1 Wang F, Ren J, Qiu XC, Wang LF, Zhu Q, Zhang YQ, Huan Y, Meng YL, Yao LB, Chen SY, Xu YM, Yang AG. Selective cytotoxicity to HER2-positive tumor cells by a recombinant e23sFv-TD-tBID protein containing a furin cleavage sequence. Clin Cancer Res. 2010; 16(8): 2284-94. (通讯作者，影响因子6.488)

2 Qiu XC, Xu YM, Wang F, Fan QY, Wang LF, Ma BA, Jia LT, Zhao J, Meng YL, Yao LB, Chen SY, Yang AG. Single-chain antibody/activated BID chimeric protein effectively suppresses HER2-positive tumor growth. Mol Cancer Ther. 2008; 7(7):1890-9. (通讯作者，影响因子5.003)

3 Wang T, Zhao J, Ren JL, Zhang L, Wen WH, Zhang R, Qin WW, Jia LT, Yao LB, Zhang YQ, Chen SY, Yang AG. Recombinant immunoproapoptotic proteins with furin site can translocate and kill HER2-positive cancer cells. Cancer Res. 2007; 67:11830-11839. (通讯作者，影响因子7.656)

4 Wen WH, Liu JY, Qin WJ, Zhao J, Wang T, Jia LT, Meng YL, Gao H, Xue CF, Jin BQ, Yao LB, Chen SY, Yang AG. Targeted inhibition of HBV gene expression by single chain antibody-mediated siRNA delivery. Hepatology, 2007; 46(1):84-94. (通讯作者，影响因子10.731)

5 Yu CJ, Jia LT, Meng YL, Zhao J, Zhang Y, Qiu XC, Xu YM, Wen WH, Yao LB, Fan DM, Jin BQ, Chen SY, Yang AG. Selective proapoptotic activity of a secreted recombinant antibody/AIF fusion protein in carcinomas overexpressing HER2. Gene Ther, 2006; 13: 313-320. (通讯作者，影响因子4.836)

6 Xu YM, Wang LF, Jia LT, Qiu XC, Zhao J, Yu CJ, Zhang R, Zhu F, Wang CJ, Jin BQ, Chen SY, Yang AG. A caspase-6 and anti-human epidermal growth factor receptor-2 (HER2) antibody chimeric molecule suppresses the growth of HER2-overexpressing tumors. J Immunol, 2004; 173: 61-67. (通讯作者，影响因子6.702)

7 Zhao J, Zhang LH, Jia LT, Zhang L, Xu YM, Wang Z, Yu CJ, Peng WD, Wen WH, Wang CJ, Chen SY, Yang AG. Secreted antibody/granzyme B fusion protein stimulates selective killing of HER2-overexpressing tumor cells. J Biol Chem, 2004; 279: 21343-21348. (通讯作者，影响因子6.482)

8 Jia LT, Zhang LH, Yu CJ, Zhao J, Xu YM, Gui JH, Jin M, Ji ZL, Wen WH, Wang CJ, Chen SY, Yang AG. Specific Tumoricidal Activity of a Secreted Proapoptotic Protein Consisting of HER2 Antibody and Constitutively Active Caspase-3. Cancer Res, 2003; 63: 3257-3262. (通讯作者，影响因子8.649)

9 Yang AG, Chen SY. A new class of antigen-specific killer cells. Nat Biotechnol, 1997; 15: 46-51. (影响因子22.355)

10 Yang AG, Bai X, Huang XF, Yao C, Chen SY. Phenotypic knockout of HIV type 1 chemokine coreceptor CCR-5 by intrakines as potential therapeutic approach for HIV-1 infection. Proc Natl Acad Sci USA, 1997; 94: 11567-11572. (影响因子10.272)

11 Chen SY, Yang AG, Chen JD, Kute T, King CR, Collier J, Cong Y, Yao C, Huang XF. Potent antitumour activity of a new class of tumour-specific killer cells. Nature, 1997; 385: 78-80. (影响因子30.979)

12 Chen J, Bai X, Yang AG, Cong Y, Chen SY. Inactivation of HIV-1 chemokine coreceptor CXCR-4 by a novel intrakine strategy. Nat Med, 1997; 3: 1110-1116. (影响因子30.55)