

DOI:10. 11798/j. issn. 1007-1520. 201502010

· 论 著 ·

葡萄球菌肠毒素 A 与黑色素瘤抗原 A3 共表达真核质粒致敏小鼠淋巴细胞对喉癌细胞模型的影响

李 宁¹, 吉晓滨¹, 谢景华¹, 刘启才²

(1. 广州市第一人民医院耳鼻咽喉科, 广东 广州 510180; 2. 广州医科大学实验医学研究中心, 广东 广州 510182)

摘 要: **目的** 观察真核质粒 pMAGEA3-IRES-SEA 免疫小鼠后, 鼠脾淋巴细胞对喉癌细胞模型 B16/MAGE-A3 的杀伤作用。**方法** 将葡萄球菌肠毒素 A (staphylococcal endotoxin A, SEA) 和喉癌来源的黑色素瘤抗原 A3 (melanoma-associated antigen A3, MAGE-A3), 构建成基因共表达的真核质粒 pMAGEA3-IRES-SEA, 用电转染的方法免疫 BALB/C 小鼠单侧股四头肌。末次免疫 2 周后, 取脾分离淋巴细胞, 与 B16/MAGE-A3 细胞共同培养, MTT 法观察活化的淋巴细胞对 B16/MAGE-A3 的杀伤作用。**结果** ptk-IRES-SEA、pIRES2-EGFP/MAGE-A3 和 pMAGEA3-IRES-SEA 质粒组对 B16/MAGE-A3 细胞特异性杀伤率均高于空白质粒及生理盐水组 ($P < 0.05$); pMAGEA3-IRES-SEA 质粒组杀伤作用大于 ptk-IRES-SEA、pIRES2-EGFP/MAGE-A3 质粒组 ($P < 0.05$)。**结论** 构建的 pMAGEA3-IRES-SEA 真核质粒可通过电转染的方式输入到小鼠体内, 诱导特异性细胞免疫, 可提高杀伤 B16/MAGE-A3 细胞的作用。为 DNA 疫苗接种途径、方法及抗喉癌疫苗的研究提供了实验依据。

关 键 词: 喉癌; 葡萄球菌肠毒素 A; 黑色素瘤抗原; 体内免疫; 体外实验; 肿瘤细胞模型

中图分类号: R739.65 文献标识码: A 文章编号: 1007-1520(2015)02-0119-05

In vitro effect of lymphocyte from mice immunized by plasmid expressing MAGE-A3 antigen and staphylococcal endotoxin A on laryngocarcinoma cell model

LI Ning, JI Xiao-bin, XIE Jin-hua, LIU Qi-cai
(Department of Otolaryngology, the First People's Hospital of Guangzhou City, Guangzhou 510180, China)

Abstract: **Objective** To observe the killing effect of lymphocyte from spleen of mice immunized by plasmid expressing MAGE-A3 antigen and staphylococcal endotoxin A (pMAGEA3-IRES-SEA) on laryngeal carcinoma cell model of B16/MAGE-A3. **Methods** The eukaryotic expression vector was constructed to express the Staphylococcal endotoxin A (SEA) and human melanoma-associated antigen gene A3 (MAGE-A3) from laryngocarcinoma. The plasmid was then electrotransfected into unilateral hindlimb skeletal muscles of BALB/C mice. Two weeks after the final immunization, the spleen lymphocytes were separated and cultured together with B16/MAGE-A3 cells for 12 hours. The killing effect of the lymphocytes on laryngeal carcinoma cell model of B16/MAGE-A3 was detected with MTT assay. **Results** The killing rate of the activated lymphocytes (57.72%) was significantly higher than that of the control group. **Conclusion** The constructed pMAGEA3-IRES-SEA eukaryotic expressing plasmid can be effectively transmitted into mice and improve killing ability of spleen lymphocytes to B16/MAGE-A3 cells in vitro, which provides a theoretical basis for approach and method of DNA vaccine inoculation, and for the study of anti-laryngocarcinoma vaccine.

Key words: Laryngeal neoplasma; Staphylococcal endotoxin A; Human melanoma-associated antigen; In vivo immune; In vitro test; Tumor cell model

基金项目:广州市科技和信息化局社会发展应用基础研究专项(2013J4100024);广东省科技厅产业技术研究与开发资金计划项目(2012B031800340)。
作者简介:李 宁,男,硕士研究生,住院医师。
通信作者:吉晓滨,Email:chusebaba@163.com

近年,DNA疫苗被普遍应用于肿瘤疾病防治研究。它具有持续表达抗原,能诱导体液免疫和细胞免疫,避免免疫逃逸等特点。DNA疫苗研究的关键是证实其在活体内能否有效的产生特异性抗肿瘤效应^[1]。在前期实验中,我们用真核表达质粒将葡萄球菌肠毒素A和喉癌来源的黑色素瘤抗原A3构建基因共表达的真核质粒pMAGEA3-IRES-SEA。该质粒能在293T细胞内有效表达MAGE-A3及SEA基因^[2]。但其能否在体内诱导对喉癌细胞的杀伤作用,尚不明确。前期在小鼠体内外特异性免疫反应实验中,为了避免种属差异带来的排斥现象及非特异性免疫造成的实验误差,我们构建了具有表达人喉癌MAGE-A3抗原的小鼠B16/MAGE-A3细胞模型。本研究中,我们通过电转染的方式将pMAGEA3-IRES-SEA免疫小鼠一段时间后提取小鼠脾脏淋巴细胞,与喉癌模型B16/MAGE-A3细胞作用,判断小鼠体内表达的SEA超抗原和MAGE-A3肿瘤特异性抗原能否刺激体内免疫系统产生活化细胞毒性T细胞(cytotoxic T lymphocyte,CTL),观察活化的淋巴细胞对B16/MAGE-A3细胞的杀伤作用。

1 材料与方法

1.1 实验质粒及试剂

pIRES2-EGFP/MAGE-A3重组质粒、ptk-IRES-SEA重组质粒及pMAGEA3-IRES-SEA真核表达质粒、B16/MAGE-A3细胞均已在广州医科大学实验医学研究中心构建,质体转染试剂盒Lipofectamine LTX及Plus试剂、OPTI-MEM培养基为Invitrogen公司产品,G418购自Qiagen公司,EZ-SepTM Mouse1×淋巴细胞分离液购自深圳达科为生物技术有限公司。

1.2 实验动物和分组

BALB/C小鼠购于广东省医学实验动物中心(编号SYXK2010-0104),雄性,4~6周龄,体重12~15 g,均为SPF级,饲养于广州医科大学实验动物中心。取25只,随机分为5组,每组5只:①ptk-IRES-SEA重组质粒组;②pIRES2-EGFP/MAGE-A3重组质粒组;③pMAGEA3-IRES-SEA真核表达质粒组;④空质粒组;⑤生理盐水组。

1.3 实验器材及电转染方法

用多功能电融合/电穿孔仪ECM 2 001进行电转染实验。戊巴比妥钠按5 mg/100 mg比例腹腔注射麻醉小鼠,固定。在小鼠右侧股四头肌处,分别注

射50 μl对应的1 μg/μl浓度质粒,随即在肌肉注射针孔的两侧沿肌纤维纵轴方向,插入电击仪的两根电极针。电极针相距5 mm。停顿约5 sec后拔出注射针头,然后启动电击仪开始电击。电穿孔设置:选择模式为LV,电压为100 V,脉冲时间为50 ms,脉冲次数为正反各3次,间隔时间为1 sec。每隔2周用相同剂量相同浓度的质粒溶液免疫1次,共免疫3次。

1.4 小鼠脾淋巴细胞的分离

末次免疫后2周,断颈处死小鼠,浸泡于75%的乙醇中5 min。在超净台解剖出小鼠脾脏,置于200目网筛上,网筛下方用35 mm培养皿支撑。在脾脏表面加1 ml EZ-SepTM Mouse1×淋巴细胞分离液,保持脾脏湿润。脾脏在筛网上反复研磨,同时滴淋巴细胞分离液,研磨时间控制在5 min内。完成后,将下方收集的悬有脾脏细胞的分离液立即转移到15 ml离心管中,保持分离液总量5 ml。用移液器取500 μl的1 640培养基小心覆盖在分离液表面。保持两者液面分界明显。室温条件下,水平离心机800×g离心30 min。设置加速度和减速度都为第3档。离心结束后见离心管中分四层,从上往下依次为:1 640培养基层、脾淋巴细胞层、分离液层、红细胞及破裂细胞碎片层。吸出淋巴细胞层,再加入10 ml 1 640培养基,颠倒洗涤。室温,250 g离心10 min收集细胞。倾倒入清液,用含双抗和10%胎牛血清的RPML 1 640培养液重悬细胞,细胞计数。

1.5 测脾淋巴细胞杀伤率(MTT法)

用含有双抗和10%胎牛血清的RPML 1 640调整B16/MAGE-A3细胞,接种到96孔板,每孔接种3 000个细胞,作为靶细胞,同时设靶细胞对照组(不与效应细胞反应)。在37℃、5% CO₂孵箱培养2 h。脾淋巴细胞作为效应细胞,按效应细胞:靶细胞为20:1,将效应细胞加入96孔细胞培养板中,每孔终体积为100 μl。每组设6个复孔,同样设效应细胞对照组(孔内无靶细胞)。37℃、5% CO₂孵箱培养12 h后,每孔加入10 μl MTT溶液(5 mg/ml),继续培养4 h。3 000×g离心10 min,弃上清。每孔加入100 μl DMSO,置摇床上低速振荡10 min,使结晶物充分溶解。酶标仪测490 nm处的OD值。

杀伤率(%) = $1 - [\text{OD}(\text{效应细胞} + \text{靶细胞}) - \text{OD}(\text{效应细胞})] / \text{OD}(\text{靶细胞}) \times 100\%$

1.6 统计学方法

数据采用SPSS软件统计处理,组间比较采用t检验, $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

观察真核质粒 pMAGEA3-IRES-SEA 在 小 鼠 体 内 诱 导 特 异 性 抗 MAGE-A3 的 免 疫 反 应 发 生 的 情 况。结果显示在效靶比为 20:1 共同培养 12 h 时,ptk-IRES-SEA、pIRES2-EGFP/MAGE-A3 和 pMAGEA3-IRES-SEA 质粒组对 B16/MAGE-A3 细胞特异性杀伤率均高于空白质粒及生理盐水组 ($P < 0.05$);pMAGEA3-IRES-SEA 质粒组杀伤作用大于 ptk-IRES-SEA、pIRES2-EGFP/MAGE-A3 质粒组 ($P < 0.05$)。表明 pMAGEA3-IRES-SEA 真核表达质粒能诱导小鼠脾淋巴细胞抗 MAGE-A3 特异性 CTL 产生,杀伤活性能力较 pIRES2-EGFP/MAGE-A3、ptk-IRES-SEA 质粒强(表 1、图 1)。

表 1 各组小鼠免疫后脾淋巴细胞对 B16/MAGE-A3 细胞杀伤活性比较(% , $\bar{x} \pm s$)

分组	只数	对肿瘤细胞的杀伤率 (E:T=20:1)
ptk-IRES-SEA 重组质粒组	5	35.18 $\pm$ 2.38 [#]
pIRES2-EGFP/MAGE-A3 重组质粒组	5	28.45 $\pm$ 2.12 [#]
pMAGEA3-IRES-SEA 真核表达质粒组	5	57.72 $\pm$ 3.43 [*]
空质粒组	5	13.85 $\pm$ 0.95
生理盐水组	5	13.65 $\pm$ 1.35

注: #、* 与其他组相比 $P < 0.05$; * 与[#]相比 $P < 0.05$

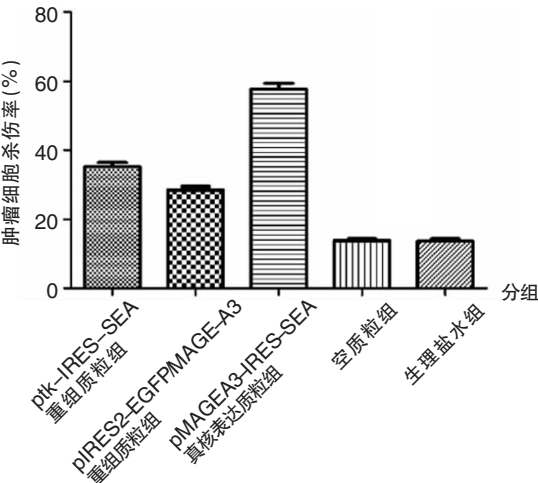


图 1 免疫小鼠后脾淋巴细胞杀伤活性的比较

3 讨论

3.1 DNA 疫苗的构建情况

DNA 疫苗是指人工克隆一段编码肿瘤特异性抗原的 DNA,通过质粒等方式注入机体,使其在体

内细胞中有效表达蛋白而成为肿瘤特异性抗原。这种抗原模仿了外源蛋白等抗原的递呈方式,解除了免疫耐受,诱导机体产生特异性抗肿瘤免疫应答,以达到控制和杀灭肿瘤细胞的目的^[3]。DNA 疫苗在宿主体内表达抗原过程与肿瘤细胞表达过程相似,可以克服 MHC 限制性,诱导 MHC 间交叉的 CTL 应答,使得细胞免疫效果更强。并且 DNA 疫苗只含有部分原癌基因序列,不会像瘤苗灭活不彻底而导致疾病的发生。本研究验证了 pMAGEA3-IRES-SEA 真核表达质粒对人喉癌具有 DNA 疫苗的免疫功能。

MAGE-A3 在多种类型的肿瘤组织中都有较高程度的表达,喉癌中表达率为 51.92%^[4],但在正常组织中不表达(除睾丸生殖细胞),由于睾丸生殖细胞不表达 MHC I/II 类分子,因而不能递呈 MAGE 抗原,因此,表达 MAGE 抗原的生殖细胞不会诱导体内的免疫应答^[5]。其存在肿瘤特异性,被认为是肿瘤特异性免疫治疗的靶点^[6]。

SEA 是细菌编码的具有免疫刺激作用并可致病 的 蛋 白 质 分 子,不 需 要 APC 的 处 理,以 完 整 的 蛋 白 质 分 子 形 式 直 接 与 APC 膜 上 MHC- II 类 分 子 抗 原 结 合 槽 外 侧 结 合,导 致 带 有 特 异 性 V β 节 段 的 T 细 胞 大 量 活 化 增 殖,其 活 化 的 T 细 胞 数 是 普 通 抗 原 的 数 千 倍 乃 至 数 万 倍^[7]。

但 SEA 的毒副作用限制了其应用。Ilbäck 等^[8]曾用 SEA 和抗结肠癌抗原 C215 单克隆抗体构建成融合蛋白进行了动物体内试验,结果表明该融合蛋白保持了 SEA 激活 T 细胞的能力,同时大大降低了 SEA 的毒副作用。SEA 结构的改变能降低与 MHC- II 分子的亲和力致使其毒性下降。为了使 MAGE-A3 基因质粒抗原表达量增多来增强机体免疫反应,同时 SEA 与 MAGE-A3 融合后 SEA 结构改变降低 SEA 抗原性,避免其激活全身大量 T 细胞引发免疫性疾病,我们将这两种基因序列整合到真核表达载体 IRES 序列的上、下游,成功构建 pMAGEA3-IRES-SEA 真核表达质粒。该质粒在前期试验中已证实能有效地在 293T 细胞中表达 MAGE-A3 和 SEA 蛋白^[2]。在基因工程中,DNA 疫苗常用人工构建的质粒作载体,构建多种有用的特征于一体^[9]。Wang 等^[10]利用 MAGE-A3 与热休克蛋白 70 基因,将两者整合到真核表达质粒上,构成 DNA 疫苗。疫苗免疫小鼠两周后,皮下接种表达 MAGE-A3 的 TC-1 瘤细胞,结果显示接种合成 DNA 疫苗的小鼠肿瘤的总 体 积 是 对 照 组 的 1/3。黄 亚 渝 等^[11]利 用 MAGE-n 与 T 淋 巴 细 胞 表 面 表 达 CD80 抗 原 基 因

构建 DNA 疫苗,免疫构建的小鼠的平均生存时间为 62 d,生命延长率为 75.14%;明显高于对照组。杨广民等^[12]利用 MAGE-1 与 IL-8 共表达 DNA 疫苗在小鼠体内诱导特异性免疫应答能力,免疫小鼠脾细胞的特异性杀伤率约 70%,明显高于对照组。我们将 MAGE-A3 与 SEA 整合在同一质粒上,发现其对肿瘤细胞的杀伤率为 57.72%。

3.2 B16/MAGE-A3 喉癌细胞模型

小鼠黑色素瘤 B16 细胞最初自发产生于 Jackson 实验室 C57BL/6 小鼠的耳部皮肤^[13],后发展形成实验动物移植性肿瘤、可在体外生长的传代培养细胞系。由于其基因背景清楚、成瘤率高,C57BL/6 小鼠的 B16 移植瘤模型在肿瘤研究中较常用^[14]。B16 细胞也能表达小鼠 Mage 抗原。本研究是在小鼠体内进行 pMAGEA3-IRES-SEA 质粒抗人喉癌 MAGE-A3 抗原的研究,为了更好地模拟表达人 MAGE-A3 抗原的小鼠喉癌模型,避免鼠淋巴细胞作用人喉癌细胞造成的种属差异诱发免疫排斥现象的发生及非特异性免疫造成的实验误差,我们在前期试验中构建了黑色素瘤 B16/MAGE-A3 细胞,将从人喉癌组织中扩增的 MAGE-A3 基因片段构建的真核表达质粒 pIRES2-EGFP/MAGE-A3,通过脂质体法转染到 B16 细胞中,通过 G418 筛选出稳定表达 MAGE-A3 的 B16/MAGE-A3 细胞,在保留 B16 细胞 Mage 抗原的同时,增加 MAGE-A3 抗原的表达,使得模型细胞 MAGE-A3 特异性更强。对模拟人喉癌相关 MAGE-A3 基因实验模型提供细胞株,保留了 B16 细胞株能在小鼠体内种植的特征,建立小鼠体内喉癌相关 MAGE-A3 基因肿瘤模型,这在动物体内实验研究 MAGE-A3 与喉癌相关的生物学功能、致病机制、免疫治疗方面,提供了材料。

3.3 疫苗对肿瘤细胞的杀伤效应

本实验利用电穿孔技术结合肌肉注射的方式给药,前期试验也验证了其有效性^[15]。ptk-IRES-SEA 质粒能诱导小鼠体内免疫反应,对 B16/MAGE-A3 细胞产生一定的杀伤,杀伤性较 pIRES2-EGFP/MAGE-A3 高。在 SEA 的直接刺激下,大量 CTL 细胞被激活,各 T 细胞亚类被激活并分泌出各种细胞因子,从而表现出对肿瘤细胞的明显杀伤作用。许多实验证实 SEA 的抗肿瘤活性,如 Rosendal^[16]给小鼠接种 C215 + B16 黑色素瘤,肺部出现微转移灶后,连续 4d 注射 C215Fab-SEA,85% - 99% 肿瘤生长受到抑制,血清 IL-2、TNF- α 和 IFN- γ 水平增高,CTL 活性增强。吉晓滨等^[17]曾利用金黄色葡萄球

菌肠毒素 A 与人淋巴细胞混合培养,激活淋巴细胞后与人喉鳞状细胞癌 Hep-2 细胞作用,喉癌细胞的抑制率为 42.68%。

pMAGEA3-IRES-SEA 真核质粒能有效地在小鼠体内表达,刺激小鼠免疫系统,产生针对 MAGE-A3 抗原的特异性 CTL 细胞,对 B16/MAGE-A3 细胞有特异性杀伤:①其产生的对肿瘤细胞的杀伤作用明显较 ptk-IRES-SEA、pIRES2-EGFP/MAGE-A3 质粒高,说明 pMAGEA3-IRES-SEA 真核质粒中的 MAGE-A3 和 SEA 在小鼠体内能同步表达,表达蛋白中包含两种编码蛋白的氨基酸序列,具有 MAGE-A3 和 SEA 抗原性,能被 MHC-I、II 类抗原提呈细胞识别,激活细胞免疫,较单独 MAGE-A3 或 SEA 抗原激活的体内免疫效应强。②pMAGEA3-IRES-SEA 真核质粒较 ptk-IRES-SEA 质粒、空白质粒及生理盐水组杀伤效率高,表明 SEA 能提高 MAGE-A3 抗原性,激活细胞免疫的作用较等量的 MAGE-A3 质粒较强,具体机制可能是 SEA 激活免疫细胞的同时,也将 MAGE-A3 抗原特征信息传递给了 CTL 细胞,使 MAGE-A3 的特异性 CTL 细胞大量被 SEA 激活。而这种特异性 CTL 细胞具有靶向性。

本课题将 MAGE-A3 与 SEA 结合构建 DNA 疫苗,通过电穿孔转染技术,能很好地诱导动物体内免疫反应,产生抗肿瘤细胞效应。可见构建双基因的真核表达质粒,通过有效地途径,能在动物体内共表达,表达产物能保持各基因编码蛋白的抗原性。细菌蛋白的基因通过载体,能有效地在动物体内表达^[18],并且产生相对应的免疫应答,这些也为 DNA 疫苗的设计提供了条件。

参考文献:

- [1] 楚琰,吴兴安. DNA 疫苗及其免疫途径的研究进展[J]. 中国医药生物技术,2010,5(4):285 - 288.
- [2] 吉晓滨,吕景礼,陈敬贤,等. 葡萄球菌肠毒素 A 和黑素瘤抗原 A3 基因重组真核表达载体的构建及其在 293T 细胞中表达[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科,2012,19(7):349 - 353.
- [3] Robinson HL. Nucleic acid vaccines: an overview[J]. Vaccine, 1997,15(8):785 - 787.
- [4] 吉晓滨,苏娟,陈敬贤,等. 黑色素瘤抗原在喉癌中的表达及临床评价[J]. 中华临床医师杂志(电子版),2011,5(24):7271 - 7276.
- [5] Chinnasamy N, Wargo JA, Yu Z, et al. A TCR targeting the HLA-A* 0201-restricted epitope of MAGE-A3 recognizes multiple epitopes of the MAGE-A antigen superfamily in several types of cancer[J]. J Immunol, 2011,186(2):685 - 696.

[6] 吕伟华,桑梅香,单保恩,等. MAGE-A 基因亚家族及其在肿瘤临床上的应用前景[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2013,20(2): 242 – 246.

[7] Omoe K, Nunomura W, Kato H, et al. High affinity of interaction between superantigen and T cell receptor Vbeta molecules induces a high level and prolonged expansion of superantigen-reactive CD4 + T cells[J]. Biol Chem, 2010,285(40):30427 – 30435.

[8] Ilbäck NG, Persson R, Gunnarsson K, et al. A new screening model for safety evaluation of superantigen-antibody recombinant fusion proteins (mAbFab-SEA/E) using telemetric monitoring in conscious rabbits[J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2002,48(1):31 – 39.

[9] 陈杰,高下,徐琳,等. LipofectamineTM2000 介导 pIRES2-DsRed2-Hath1、pIRES2-EGFP-NT3 质粒对 HEK293T 细胞共转染的实验研究[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2010,16(5): 335 – 340.

[10] Wang LF, Lisa Rollins, Gu QL, et al. A Mage3/Heat Shock Protein70 DNA vaccine induces both innate and adaptive immune responses for the antitumor activity[J]. Vaccine, 2009,28(2):561 – 570.

[11] 黄亚渝. MAGE-n 与 CD80 融合基因肿瘤疫苗的构建及体内抑瘤效应的研究[D]. 陕西:中国人民解放军第四军医大学, 2005.

[12] 杨广民,时阳,谭岩,等. MAGE-1 与 IL-18 共表达 DNA 疫苗在小鼠体内诱导特异性免疫应答能力的研究[J]. 中国免疫学杂志,2008,7(24):583 – 587.

[13] Sauane M, Su ZZ, Gupta P, et al. Autoerine regulation of mda-7/IL-24 mediates cancer-specific apoptosis[J]. PNAS, 2008,105(28): 9763 – 9768.

[14] Lowman MA, Rees PH, Benyon Rc, et al. human mast cell heterogeneity: histamine release from mast cells dispersed from skin, lung, adenoids, tonsils, and colon in response to IgE-dependent and nonimmunologic stimuli [J]. J Allergy Clin Immunol, 1988, 81(3):590 – 597.

[15] 李宁,吉晓滨,谢景华,等. SEA 和喉癌 MAGE-A3 构建的真核质粒 pMAGEA3-IRES-SEA 经过电穿孔转染在小鼠体内的转录[J]. 中华临床医师杂志(电子版),2014,8(1):110 – 115.

[16] Rosendal A, Kristensen K, Carlsson M, et al. Long-Term Survival and complete cures of B16 melanoma-carrying animals after therapy with tumor-targeted IL-2 and SEA[J]. Int J Cancer, 1999,81(1):156 – 163.

[17] 吉晓滨,臧林泉,谢景华,等. 超抗原活化淋巴细胞对喉癌 Hep-2 细胞系的抑制作用[J]. 广东医学,2007,28(12):1897 – 1899.

[18] 唐瑶云,肖健云,赵素萍,等. 质粒载体介导 CD 基因对喉癌细胞的杀伤作用研究[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2005,11(3):136 – 140.

(修回日期:2014 – 09 – 17)

(上接第 118 页)

度不宜作为喉咽鳞癌转移及预后的独立判断指标。同时, MVD-CD105 值随喉咽鳞癌组织的病理学分级升高而相对降低 ($P < 0.001$); 伴有淋巴结转移的实验组 MVD-CD 105 高于无转移组。提示, MVD-CD105 与喉咽鳞癌的临床特征具有相关性, 可以评估肿瘤的预后。喉咽鳞癌组织中, CD105 与临床多因素相关, 在进行新生血管标记方面, 明显优于 CD34, 更具特异性及实际意义。

由此可见, CD105 作为一种特异性较高的新生血管标记物, 在喉咽鳞癌中表现优于 CD34, 与肿瘤的进展、转移、预后等具有密切关系。对于我们在进行喉咽鳞癌基础研究工作中, 标记肿瘤新生血管具有很重要的指导意义。同时, 进一步研究显示 CD 105 可能作为肿瘤治疗的新靶点, 临床已经在逐步试用 CD105 单抗联合药物射线及生物毒素等进行靶向抗肿瘤治疗, 这也成为一种新的抗肿瘤途径。

参考文献:

[1] Weidner N, Folkman J, Pozza F, et al. Tumor angiogenesis: a new signi? cant and independent prognostic indicator in early stage breast carcinoma[J]. J Natl Cancer Inst, 1992,84(24):1875 – 1876.

[2] Maeda K, Chung YS, Takatuka S, et al. Tumor angiogenesis as a predictor of recurrence in gastric carcinoma[J]. Clin Oncol, 1995, 13(6):1477 – 1480.

[3] Fujieda S, Sunaga H, Tsuzuki H, et al. Expression of platelet-derived endothelial cell growth factor in oral and oropharyngeal carcinoma[J]. Clin Cancer Res. 1998,4(7):1583 – 1590.

[4] Gurudutta U, Vimal K, Yogesh K, et al. Hematopoietic Stem Cell Antigen CD34: Role in Adhesion or Homing[J]. Stem Cells and Dev, 2006,15(3):305 – 313.

[5] Suzawa K, Kobayashi M, Sakai Y, et al. Preferential induction of peripheral lymph node addressin on high endothelial venule-like vessels in the active phase of ulcerative colitis[J]. Gastroenterol, 2007,102(7):1499 – 1509.

[6] 李正贤,刘庚勋,颜美荣,等. 喉鳞状细胞癌中微血管密度与 COX-2、VEGF 表达及临床意义[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2008,5(14):339 – 342.

[7] Quackenbush EJ, Letarte M. Identification of several cell surface proteins of non-T non-B acute lymphoblastic leukemia by using monoclonal antibodies [J]. J Immunol, 1985, 134(2):1276 – 1285.

[8] Fonsatti E, Altomonte M, Nicotra MR, et al. Endoglin (CD105): a powerful therapeutic target on tumor-associated angiogenic blood vessels[J]. Oncogene, 2003, 22(42):6557 – 6563.

(修回日期:2014 – 09 – 22)