

ISSN 1009-3079

CN 14-1260/R

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE

JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003年9月15日 第11卷 第9期

(Volume 11 Number 9)



9/2003

ISSN 1009-3079



名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

World Journal of Gastroenterology® 被 SCI®-E, Research Alert®, Current Contents®/Clinical Medicine, Journal Citation Reports®, Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2002 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 2.532. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告: 世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●

2003 年 9 月 15 日 第 11 卷

第 9 期 (总第 113 期)

述 评

- 1269 胃肠道肿瘤的影像诊断和介入治疗 程英升, 尚克中
1273 胃食管反流病的内镜缝合治疗 杨云生, 令狐恩强

胃 癌

- 1275 α -连接素表达与胃癌生物学行为的关系 徐采朴, 周永宁, 陈渝
1279 老年人胃癌前黏膜癌变的胃镜随访 王孟薇, 杨少波, 张子其, 祝庆孚, 王刚石, 李晖, 姚晨, 吴本俨, 尤纬缔
1282 内皮抑素-血管内皮细胞抑制因子重组腺病毒对荷胃癌裸鼠的治疗 潘欣, 李喆, 张珉, 王泳, 潘卫, 戚中田
1286 PKC β 1 和 PKC β 2 在早期胃癌中的表达 冯瑞娥, 陈杰, 崔全才, 詹阳, 王振宇
1290 二烯丙基二硫对人胃癌 MGC803 细胞生长的影响 张良运, 凌晖, 苏琦, 宋颖, 梁晓秋
1294 胃黏膜癌变过程中 PTEN 基因编码产物的表达及意义 李异玲, 何向民, 郑华川, 吴东璘, 杨雪飞, 辛彦, 傅宝玉
1297 进展期胃癌病理和预后影响因素的关系 黄海力, 吴本俨, 尤纬缔, 申明识
1302 雌激素诱导基因 PS2/TFF1 在胃癌及癌前病变中的表达 李俊美, 罗和生, 姚宏昌
1306 GSTM1, GSTT1 基因多态与胃腺癌及幽门螺杆菌感染的关联 张友才, 邓长生, 周燕, 朱尤庆
1310 基质金属蛋白酶-7 表达与胃癌临床病理生物学行为的关系 孙晋民, 郑华川, 杨雪飞, 辛彦, 张荫昌
1314 毒物代谢酶基因多态与胃癌的关联 叶梅, 刘君炎, 邓长生
1318 胃癌中医证型相关基因的表达谱 刘莺, 李俊军, 朱文锋, 刘平

肝 癌

- 1322 MUC1 基因免疫抑制 H22 肝癌生长的实验研究 袁时芳, 王岭, 李开宗, 颜真, 韩苇, 张英起
1326 纺锤体组装关卡基因 hsMAD2 在人肝细胞肝癌中的表达及其意义 李擒龙, 王文亮, 张晓晖, 晏伟
1329 GnRH 类似物诱导肝癌细胞凋亡的体外研究 刘庆元, 窦科峰, 张金山, 孙岚, 黄鲁豫, 张远强
1333 bFGF 对人肝癌细胞系 Bel-7402 的生长调控 于卉影, 孙利平, 孙黎光, 丁晓慧
1337 经肝动脉注射 5-FU 白苕微球治疗兔 VX₂ 移植性肝癌 李欣, 冯敦生, 郑传胜, 柳曦, 孔健
1341 KAI1 正反义基因对 MHCC97-H 肝癌细胞 KAI1 蛋白表达的影响 司遂海, 杨建民, 罗元辉, 房殿春, 周平
1345 中药复方胃肠安血清诱导肝癌 SMMC-7721 细胞分化 赵海磊, 刘成, 赵爱光
1349 肝癌患者乙型肝炎病毒 X 基因变异的研究 代志琰, 徐启桓, 李刚, 马会慧, 汤正好, 舒欣, 姚集鲁
1353 复方中药 99-克星超声介入治疗肝癌裸鼠移植瘤凋亡与增生 林晓东, 林礼务, 何以教, 高上达, 杨发端, 薛恩生
1357 羟基磷灰石纳米粒子诱导人肝癌细胞凋亡模型的构建 刘志苏, 唐胜利, 艾中立, 孙权, 钱群, 何跃明, 朱忠超
1362 β -catenin 和 Cyclin D1 在肝癌肝内转移中的作用 苏小康, 赵先明, 李锦清, 崔学教, 谢晓华, 杨海燕, 徐发彬, 石明
1365 DC 负载凋亡肝癌细胞后的免疫应答 郭建巍, 秦力维, 蔡美英, 吕同德
1369 TRAIL 诱导肝癌细胞系 SMMC-7721 的凋亡作用 李小安, 房殿春, 司佩任, 张汝刚, 杨柳芹, 秦建平

大 肠 癌

- 1372 大肠肿瘤组织线粒体形态结构定量研究 吴正蓉, 申洪
1375 IL-4 增强 IL-2 活化的 A-NK 细胞对人直肠癌 CC95 的抗肿瘤作用 王志华, 申宝忠, 史历
1378 人源性大肠癌抗原基因的 SEREX 筛选 刘宇虎, 张振书, 钟东, 武金宝, 但汉雷, 赖卓胜, 王亚东, 张亚历, 肖冰
1382 直肠癌组织 CD44v6, DNA 含量的联合检测及临床意义 丁志杰, 单吉贤, 都姝妍
1385 胃泌素拮抗剂增加 CD 自杀基因对结直肠癌细胞的杀伤作用 王小军, 马庆久, 赖大年, 黎成金, 李金茂, 武永忠, 王青
1389 aFGF 和 genistein 对大肠癌细胞株 CCL229 PKC 及 ERK 活性的影响 尚海, 张颐, 单吉贤

基础 研究

- 1392 牛磺酸对 CCl₄ 诱导的大鼠肝纤维化的保护作用及其机制的研究 梁健, 杨光业, 张锡流, 庞玉生, 袁海峰, 梁劲松, 黄仁彬, 韦新, 韦明
1396 胰腺移植 ICAM-1 的表达及信号转导的因素 梁健, 王凤山, 刘永锋, 刘利民, 刘树荣, 崔宏, 邵春泉, 何三光

临床研究	1399 聚乙二醇 4 000 治疗老年人功能性便秘 85 例 张长青, 张国伟, 张葵玲, 付奕其
焦点论坛	1402 胃肠道肿瘤的影像诊断和介入治疗 程英升 1402 胃肠道肿瘤的 X 线诊断 尚克中, 程英升, 吴春根 1404 胃肠道肿瘤 CT 诊断 吴春根, 程英升, 尚克中 1406 胃肠道肿瘤 MRI 诊断 吴春根, 程英升, 尚克中 1408 胃肠道肿瘤超声诊断 胡兵, 周进祝 1410 胃肠道肿瘤核素诊断 陆汉魁 1413 胃肠道肿瘤血管和非血管双介入治疗 程英升, 尚克中
治疗指南	1416 肝细胞癌的诊断和治疗 陆嵘, 房静远
文献综述	1420 DNA 高甲基化与抑癌基因 刘仲敏, 刘芝华, 吴旻 1425 胃癌供血及其动脉介入化疗的研究进展 沈波, 朱金水 1429 腹膜粘连的分子机制及药物防治 曾健, 李晓辉 1433 肿瘤多药耐药和进展期大肠癌耐药细胞株建立研究进展 姚学清, 林锋 1436 肽转运载体的分子特征 韩飞, 施用晖, 乐国伟, 王立宽 1443 肝星状细胞与肝纤维化的研究进展 蒋业贵, 李兆申 1447 环氧化酶-2 与结直肠癌 姚红兵, 吴爱国, 朱卉娟 1451 幽门螺杆菌疫苗的研究进展 姜政, 黄爱龙, 陶小红, 王丕龙 1457 脂肪酸结合蛋白研究进展 冯爱娟, 陈东风 1460 肝移植后乙型肝炎病毒再感染相关因素的研究进展 王永刚, 王宇明
读者来信	1352 陈祖林 1368 汤伟
消息	1301 欢迎订阅 2004 年度世界华人消化杂志 1332 欢迎订阅 2004 年度 World Journal of Gastroenterology® 1424 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊 1450 WJG 搭建我国消化基础 and 临床研究惟一国际交流的平台 1464 世界胃肠病学杂志英文版获得 2003-2004 年国家自然科学基金重点学术期刊专项基金资助
封面故事	巴松湖又名错宗湖, 在藏文里又是绿色湖水的意思, 位于西藏林芝地区工布江达县境内, 该湖湖面海拔 3464 m, 是川藏东部最大的淡水堰塞湖之一。湖水清澈见底, 四周雪山倒映其中, 湖周原始森林密布, 群山环绕, 景美如画。湖中央飘着一座秀丽的湖心小岛, 湖心岛上有一座错宗寺, 建于唐代末年。(马俐 马娜 摄影)。

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(月刊)

创刊 1993-01-15

改刊 1998-01-25

出版 2003-09-15

原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀

黄象谦

黎介寿

刘耕陶

裘法祖

汤钊猷

王宝恩

危北海

吴孟超

吴成中

张金哲

张学庸

赵东海

周殿元

社长总编辑 马连生

中文编辑 潘伯荣

王瑾晖

英文编辑 王先林

排版 李少华

校对 李天华

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会

030001, 山西省太原市双塔西街 77 号

E-mail: wcjd@wjgnet.com

出版 世界胃肠病学杂志社

100023, 北京市 2345 信箱

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

电话 (010)85381892

传真 (010)85381893

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内 北京报刊发行局

国外 中国国际图书贸易总公司

(100044, 北京 399 信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部

(100023, 北京市 2345 信箱)

电话: (010)85381892

传真: (010)85381893

2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外

检索系统收录

美国《化学文摘(CA)》

荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》

俄罗斯《文摘杂志(PJ)》

中国科技论文统计与分析

中国学术期刊文摘

中国中医药信息服务网

中国生物医学文献光盘数据库

《中文科技资料目录(医药卫生)》

中国生物医学期刊目次数据库

中国医学文摘外科学分册(英文版)

中国医学文摘内科学分册(英文版)

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

ISSN 1009-3079

CN 14-1260/R

邮发代号

82-262

国外代号

M 4481

国内定价

每期 24.00 元 全年 288.00 元

广告经营许可证

1401004000050

www.wjgnet.com

人源性大肠癌抗原基因的 SEREX 筛选

刘宇虎, 张振书, 钟东, 武金宝, 但汉雷, 赖卓胜, 王亚东, 张亚历, 肖冰

刘宇虎, 张振书, 钟东, 武金宝, 但汉雷, 赖卓胜, 王亚东, 张亚历, 肖冰, 中国人民解放军第一军医大学南方医院全军消化内科研究所 广东省广州市 510515

刘宇虎, 男, 1963-06-01 生, 四川省越西县人, 博士生, 副主任医师。

国家自然科学基金项目, No. 30171053

项目负责人: 张振书, 510515, 广东省广州市, 中国人民解放军第一军医大学南方医院全军消化内科研究所. zhangzs@fimmu.edu.cn

电话: 020-61641561

收稿日期: 2002-12-08 接受日期: 2002-12-25

Screening of human colorectal carcinoma associated antigen genes by SEREX

Yu-Hu Liu, Zhen-Shu Zhang, Dong Zhong, Jin-Bao Wu, Han-Lei Dan, Zhuo-Sheng Lai, Ya-Dong Wang, Ya-Li Zhang, Bing Xiao

Yu-Hu Liu, Zhen-Shu Zhang, Dong Zhong, Jin-Bao Wu, Han-Lei Dan, Zhuo-Sheng Lai, Ya-Dong Wang, Ya-Li Zhang, Bing Xiao, Institute for Digestive Diseases of PLA, Nanfang Hospital, The First Military Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Supported by the National Natural Science Foundation of China, No. 30171053

Correspondence to: Zhen-Shu Zhang, Institute for Digestive Disease of PLA, Nanfang Hospital, The First Military Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. zhangzs@fimmu.edu.cn
Received: 2002-12-08 Accepted: 2002-12-25

Abstract

AIM: To screen and identify the human colorectal carcinoma associated antigen genes.

METHODS: Three human colorectal carcinoma cDNA phage expression libraries were constructed. They were screened from autologous and allogeneic sera of colorectal cancer patients by SEREX (serological identification of antigens by recombinant expression cloning). The sera were pre-absorbed by the extract *E. coli* XL1-blue. Four different serum-reactive cDNA clones were isolated by immunoscreening from a colon cancer-derived cDNA expression library. Positive clones were amplified by plate culture, the purified lambda phage DNA was cut by *Sfi* I restriction endonucleases and amplified with PCR in order to identify the insert size of cDNA by electrophoresis.

RESULTS: Three cDNA phage expression libraries were constructed. The titer of library was 2.39×10^6 nfu/L, 2.07×10^6 nfu/L and 1.86×10^6 nfu/L respectively. The range of the fragment length of exogenously inserted cDNA was between 0.5-4 kb, the average was 1.4 kb, 1.6 kb and 1.3 kb, respectively. Four gene clones were obtained by SEREX screening, the length of their insert fragments was 2.4 kb, 1.8 kb, 2.3 kb and 2.2 kb, respectively.

CONCLUSION: To screen and identify human colorectal carcinoma cDNA phage expression libraries by SEREX is a

useful method to search for human colorectal carcinoma associated antigen genes. It is important for early diagnosis and research of recombinant vaccine for colorectal cancer.

Liu YH, Zhang ZS, Zhong D, Wu JB, Dan HL, Lai ZS, Wang YD, Zhang YL, Xiao B. Screening of human colorectal carcinoma associated antigen genes by SEREX. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11(9):1378-1381

摘要

目的: 寻找人源性大肠癌相关抗原基因。

方法: 构建 3 个以 λ Tripl Ex2 噬菌体作载体的大肠癌抗原 cDNA 表达文库, 用自体或异体大肠癌患者血清应用 SEREX 方法进行免疫筛选。用平板法扩增阳性克隆噬菌体, 提取纯化 DNA, 用 *Sfi* I 酶切和 PCR 鉴定插入片段的大小。

结果: 构建成 3 个大肠癌抗原 cDNA 噬菌体表达文库, 滴度分别为 2.39×10^6 nfu/L, 2.07×10^6 nfu/L 和 1.86×10^6 nfu/L, 插入片段长度为 0.5-4 kb, 平均分别为 1.4 kb, 1.6 kb 和 1.3 kb。筛选发现 4 个阳性克隆, 插入 cDNA 片段大小分别为 2.4 kb, 1.8 kb, 2.3 kb 和 2.2 kb。

结论: 用 SEREX 方法筛选大肠癌抗原 cDNA 表达文库, 可获得有价值的大肠癌的重组抗原基因克隆, 将有利于大肠癌的早期诊断和重组疫苗的研究。

刘宇虎, 张振书, 钟东, 武金宝, 但汉雷, 赖卓胜, 王亚东, 张亚历, 肖冰. 人源性大肠癌抗原基因的 SEREX 筛选. *世界华人消化杂志* 2003;11(9):1378-1381
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1378.asp>

0 引言

cDNA 文库的应用, 为分离肿瘤抗原基因奠定了基础。重组克隆表达抗原的血清学鉴定技术 (serological identification of antigen by recombinant cDNA expression libraries. SEREX) 可直接鉴定肿瘤抗原。不需要特异 CTL 和瘤细胞的体外建株, 应用 cDNA 表达文库使抗原浓度成百倍的增加, 解决了既往肿瘤抗原抗体反应中的关键问题, 发现了大量的肿瘤抗原。我们用 SEREX 方法筛选人源性大肠癌 cDNA 噬菌体表达文库, 期能发现新的大肠癌相关基因。

1 材料和方法

1.1 材料 南方医院普外科大肠癌患者手术的新鲜癌组织 3 例; 大肠杆菌 *E. coli* XL1-blue 和噬菌体载体 λ TriplEx2

购自Clontech公司; Trizol试剂购自Gibco公司; SMARTTM cDNA library on struction kit购自Clontech; ExpandTM reverse transcriptase购自宝灵曼公司; MaxPlaxTM packaging extract kit 购自Epicentre公司; 硝酸纤维素膜(NC膜)购自Pall Corp; 碱性磷酸酶标记的羊抗人IgG抗体为Southern Biotechnology Associates, Inc; BCIP和NBT购自BBI公司; EX TagTM extrue酶购自TaKaRa; Sfi I酶购自NEB; 琼脂糖购自Gibco; 1 kb DNA ladder marker 购自NEB; 100 bp DNA ladder marker 购自MBI; Lambda DNA/Hind III marker 购自Promega; Orbital shaker incubator RKC CB700 摇床; Shaking bath SB-16 Techne摇床; UNO II Biometra 960型PCR仪; Sigma 3K-30 台式冷冻高速离心机; Vilber Lourmat 凝胶图像分析仪.

1.2 方法 用Trizol LS reagent试剂裂解组织并提取总RNA, 用RT-PCR合成cDNA第1链, 用LD-PCR合成cDNA第2链, 在蛋白酶K消化, Sfi I酶切后, 用Chroma Spin-400分离去除小于500bp的小片段, 与λ TriplEx2噬菌体载体连接, 体外包装, 构建成大肠癌抗原噬菌体cDNA表达文库. 取1支50 mL培养管, 加入15 mL含硫酸镁的LB, 加入四环素终浓度为15 mg/L. 挑选1个单个孤立的E.coli XL1-blue菌落加入, 37℃, 200 r/min摇床孵育6-8 h至A₆₀₀=2.0. 取0.5-1 mL菌液加入另1支有15 mL含硫酸镁、麦芽糖和四环素的LB 50 mL培养管, 37℃, 200 r/min摇床孵育4-6 h至对数生长期A₆₀₀=0.6-0.8. 5 000 r/min, 离心10 min, 弃上清, 用10 mmol/L硫酸镁7.5 mL重悬细菌沉淀, 制备成感受态菌液, 4℃冰箱存放. 按1:200接种于含硫酸镁、四环素的1 000 mL LB中, 37℃, 200 r/min振荡生长至饱和. 4℃, 4 000 r/min, 离心10 min, 沉淀细胞重悬于10 mL PBS中, 经超声粉碎制成E.coli XL1-blue裂解液. 每1 mL血清加8 mL裂解液, 于4℃摇床50 r/min振荡过夜. 4℃, 4 000 r/min, 离心10 min, 收集上清. 再用同样方法、同等量裂解液重复吸收3次, 制成血清预吸收液, 4℃冰箱存放. 取文库1 μL加入感受态菌液200 μL, 37℃孵育15 min, 使噬菌体黏附于细菌. 加入3 mL溶化冷却到48℃的含硫酸镁的LB顶层软琼脂, 混匀, 倒入预热到37℃底层硬琼脂90 mm平板中, 迅速涡旋铺平. 室温冷却10 min, 正立37℃孵育30 min, 倒置37℃孵育12-18 h. 见噬菌斑生长如针尖大小, 用平头镊将预先高压灭菌, 用20 mmol/L IPTG浸泡4 h, 室温自然干燥的NC膜平铺于平皿上, NC膜边缘不对称标记, 贴膜后42℃诱导4 h, 以使转移到NC膜的噬菌斑能充分诱导其融合蛋白形成. 小心将NC膜从平板上剥离取出, 放于湿润的纸巾上, 旁边放一装有氯仿的无盖平皿, 用一塑料罩将NC膜和平皿罩住15-20 min, 以固定NC膜. 平皿4℃保存, 以备挑出阳性克隆. 将NC膜迅速浸泡于大量1×TNT缓冲液中, 室温轻摇, 洗涤3次, 每次10 min, 以去除残存的琼脂. 将NC膜置于20 mL用TBST配制的100 g/L

脱脂奶粉的封闭液中, 室温轻摇90 min. 1×TNT缓冲液洗涤3次, 每次10 min. 将NC膜移入用PBS 1:50或1:100稀释的已预吸收的大肠癌患者血清中, 4℃轻摇过夜. 1×TNT缓冲液洗涤3次, 每次10 min. 将NC膜置于1:800稀释的碱性磷酸酶标记的羊抗人IgG抗体中, 室温轻摇60 min. 1×TNT缓冲液洗涤3次, 每次10 min. 凉干后, 置于含NBT 33 μL和BCIP 16.5 μL的碱性磷酸酶缓冲液中, 显色30 min. 阳性克隆进行第二轮和第三轮筛选. 阳性克隆采用平板法扩增噬菌体, 用消毒牙签挑选阳性噬斑, 置于装有1 mL 1×L.D.B溶液(噬菌体稀释液)的1.5 mL EP管内, 加入25 μL氯仿, 涡旋2 min, 于4℃放置过夜. 取50-100 μL噬菌体悬液加入500 μL感受态菌液, 用150 mm平板扩增噬菌体, 37℃孵育12-18 h或到噬斑相互融合止. 加入12 mL不含明胶的1×L.D.B, 4℃过夜. 平板室温, 50 r/min摇床1 h. 收集洗涤液到另一支50 mL离心管中. 用Qiagen公司试剂盒提取、纯化阳性克隆噬菌体DNA, 最后用50 μL pH8.0的TE溶解. 用NEB公司的Sfi I酶切50℃2 h. 用TaKaRa公司的EX TagTM extrue做PCR, 上游引物: 5'-TCCGAGATCTG GACGAGC-3' 下游引物: 5'-CCCTATAGTGAGTCGTA TTA-3' 条件: 94℃ 30 s, 58℃ 60 s, 72℃ 2 min, ×35循环. 用10 g/L琼脂糖凝胶, 1×TAE缓冲液, 60 V, 60 min电泳, 观察片段的大小.

2 结果

2.1 cDNA文库的质量鉴定 成功构建成3个大肠癌抗原cDNA噬菌体表达文库, 滴度分别为 2.39×10^6 nfu/L, 2.07×10^6 nfu/L和 1.86×10^6 nfu/L. 重组率分别为97.5%, 98.6%和98.5%. 插入外源cDNA片段大小范围从0.5-4 kb, 平均分别为1.4 kb, 1.6 kb和1.3 kb. 符合建库要求, 适合于大批量筛选cDNA克隆的大肠癌特异或相关抗原基因.

2.2 筛选阳性克隆 噬菌斑转移到NC膜上, 经显色反应后, 背景呈浅紫色, 阴性噬菌斑与背景相似, 有淡的噬菌斑影, 阳性的噬菌斑呈深蓝色. 图1为NC膜上复筛的阳性克隆.

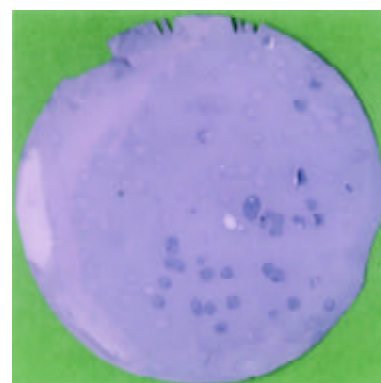
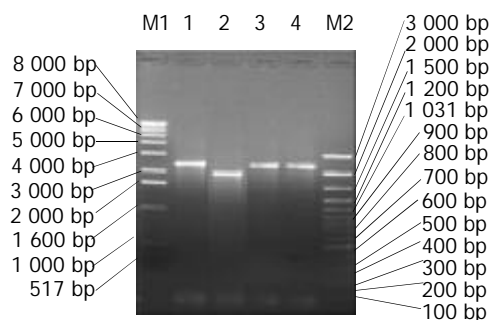


图1 SEREX筛选的阳性克隆(蓝色噬菌斑).

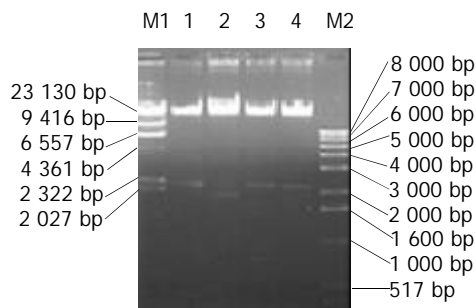
2.3 阳性克隆Sfi I酶切和PCR鉴定 通过对3个cDNA

噬菌体表达文库进行筛选, 获得4个阳性克隆, 扩增后提取纯化DNA, 用Sfi I 酶切和PCR鉴定, 分别为2.4 kb, 1.8 kb, 2.3 kb和2.2 kb(图2, 3).



M1: 1 kb DNA ladder marker; M2: 100 bp DNA ladder marker;
1-4: 4个阳性克隆cDNA片段的大小.

图2 阳性克隆外源插入cDNA片段的PCR鉴定.



M1: Lambda DNA Hind III marker; M2: 1 kb DNA ladder marker;
1-4: 4个阳性克隆cDNA片段的大小.

图3 阳性克隆外源插入cDNA片段的Sfi I 酶切结果.

3 讨论

目前国内研究大肠癌基因表达较多^[1-26], 而很少有人构建大肠癌抗原基因cDNA表达文库^[27]以寻找大肠癌相关基因. 用血清免疫学方法筛选cDNA文库(SEREX)是近来发现的获取特异性基因克隆的分子生物学技术, 是应用于重组疫苗和诊断抗原研究的一种有效方法. 应用SEREX技术在大肠癌已发现较多新基因. Scanlan et al^[28]发现48个抗原NY-CO-1-NY-CO-48, 17个为新基因, NY-CO-13为p53肿瘤抑制基因的突变体, NY-CO-27主要在胃肠道表达, 为组织特异性的亚型, 有半数患者的血清发生反应. Hampton et al^[29]发现2个癌基因专宿白血病病毒包膜蛋白(env)抗原和鼠ATRX蛋白抗原, env代表2个未突变的肿瘤抗原, 其DNA多核苷酸编码的env多肽在小鼠体内引起强烈而特异的免疫反应. Line et al^[30]发现5个基因, RHAMM和AD034基因有不同的组织表达. NAP1L1, RHAMM和AD034基因只在肿瘤组织中表达. AD034的序列与酪氨酸激酶的基序移码插入32 bp的位点是肿瘤分化的cDNA隐含的剪接位点. RHAMM cDNA序列有2个剪接变异, 有2个亚细胞位点. 多数患者的血清对C21ORF2、EPRS和NAP1L1有反应. Somers et al^[31]发现13抗原基因, 1个新基因, 与HSPC218同源, 可作为肿瘤疫苗候选基因及诊断与预后的标记物.

肿瘤抗原的鉴定不仅有助于阐明肿瘤免疫分子机制, 也是建立新的肿瘤免疫学诊断和防治方法的基础. 大多数人类肿瘤可表达若干种具有免疫原性的蛋白质, 但只有那些具有特异性或有一定优势的抗原(如CT抗原)可用于制备疫苗. 选择在组织限制性mRNA表达和肿瘤限制性免疫原性两个方面最有意义的抗原做进一步的研究. 由于肿瘤抗原同时存在特异性的体液免疫和细胞免疫, 其所揭示的T细胞和B细胞双识别肿瘤抗原现象, 广泛存在于肿瘤患者中. 用肿瘤特异的T淋巴细胞识别肿瘤抗原的多肽, 产生多价疫苗, 是肿瘤基因疫苗的一个策略. Okada et al^[32]进行肿瘤疫苗治疗的结果表明, 临床有望开展肿瘤的疫苗治疗. SEREX所鉴定的肿瘤抗原除可作为制备肿瘤疫苗的对象外, 还可作为大范围人群血清学调查, 肿瘤临床诊断以及肿瘤疫苗临床疗效监测的指标. 对大肠癌抗原基因的筛选, 对阳性克隆进一步做序列分析和生物活性鉴定, 可望对大肠癌的病因学、诊断、治疗有突破性的进展.

4 参考文献

- 1 Zhou HB, Zhang JM, Yan Y. Inactivation of DPC₄ gene in colorectal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2002;10:1140-1142
- 2 Xiao DS, Wen JF, Li JH, Hu ZL, Zheng H, Fu CY. Effect of transfected DPC4 gene on biological behaviours of human colorectal carcinoma cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2002;10:1004-1008
- 3 Zhou XD, Yu JP, Ran ZX, Luo HS, Yu BP. Expression of cFLIP and p53 mutation in adenocarcinoma of colon. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2002;10:536-539
- 4 Guo J, Shen ZX, Tan SY, Luo HS, Li HX, Feng ZQ, Yang J. Expression of MDM2, P53 and P14ARF in human colon cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2002;10:540-543
- 5 Xiang DB, Wu XH, Li ZP, Liu YS. Expression of β -catenin, cyclin D1 and c-myc in colorectal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2002;10:305-308
- 6 Yu LL, Yu JP, Ran ZX, Yu HG. Relationship between nuclear factor-kappa B, apoptosis and proliferation in colorectal neoplasia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2002;10:309-312
- 7 Fang XM, Yu JP, Luo HS. Relationship between hTERT and P16 gene expressions and telomerase activity in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2002;10:12-14
- 8 Zhang YL, Zhang ZS, Wu BP, Zhou DY. Early diagnosis for colorectal cancer in China. *World J Gastroenterol* 2002;8:21-25
- 9 Shen LZ, Wu WX, Xu DH, Zheng ZC, Liu XY, Ding Q, Hua YB, Yao K. Specific CEA-producing colorectal carcinoma cell killing with recombinant adenoviral vector containing cytosine deaminase gene. *World J Gastroenterol* 2002;8:270-275
- 10 Xiong B, Gong LL, Zhang F, Hu MB, Yuan HY. TGF β_1 expression and angiogenesis in colorectal cancer tissue. *World J Gastroenterol* 2002;8:496-498
- 11 Zhou CZ, Peng ZH, Zhang F, Qiu GQ, He L. Loss of heterozygosity on long arm of chromosome 22 in sporadic colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002;8:668-673
- 12 Xiong B, Yuan HY, Hu MB, Zhang F, Wei ZZ, Gong LL, Yang GL. Transforming growth factor- β_1 in invasion and metastasis in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2002;8:674-678
- 13 Fan RY, Li SR, Wu ZT, Wu X. Detection of P53 protein, K-ras and APC gene mutation in sporadic colorectal cancer tissue and exfoliative epithelial cells in stool. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:771-775
- 14 Li XW, Ding YQ, Cai JJ, Yang SQ, An LB, Qiao DF. Studies on mechanism of Sialy Lewis-X antigen in liver metastases of human colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2001;7:425-430

- 15 Zheng CX, Zhan WH, Zhao JZ, Zheng D, Wang DP, He YL, Zheng ZQ. The prognostic value of preoperative serum levels of CEA, CA19-9 and CA72-4 in patients with colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2001;7:431-434
- 16 Li XG, Song JD, Wang YQ. Differential expression of a novel colorectal cancer differentiation-related gene in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2001;7:551-554
- 17 Yi J, Wang ZW, Cang H, Chen YY, Zhao R, Yu BM, Tang XM. P16 gene methylation in colorectal cancers associated with Duke's staging. *World J Gastroenterol* 2001;7:722-725
- 18 Luo MJ, Lai MD. Identification of differentially expressed genes in normal mucosa, adenoma and adenocarcinoma of colon by SSH. *World J Gastroenterol* 2001;7:726-731
- 19 Cai Q, Lu HF, Sun MH, Du X, Fan YZ, Shi DR. Expression of CD44 v3 and v6 proteins in human colorectal carcinoma and its relevance with prognosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:1255-1258
- 20 Gu HP, Ni CR, Zhan RZ. Relationship of expressions of CD15, CD44v6 and nm23H1 mRNA with metastasis and prognosis of colon carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:887-891
- 21 Liu H, Wu JS, Li LH, Yao X. The expression of platelet-derived growth factor and angiogenesis in human colorectal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:661-664
- 22 Ji DJ, Cao Y, Zhang YL, Jiang P, Yu N, Feng FC, Zhou DY. Synchronous studies on variations of p53 gene transcriptions and expressions in colorectal carcinomas HT-29 and Lovo cell lines. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:77-79
- 23 Wu BP, Zhang YL, Zhou DY, Gao CF, Lai ZS. Microsatellite instability, MMR gene expression and proliferation kinetics in colorectal cancer with familial predisposition. *World J Gastroenterol* 2000;6:902-905
- 24 Wang Q, Wu JS, Lai DN, Ma QJ, Pan BR. Expression and significance of P16 protein in colorectal adenocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:1047-1048
- 25 Qiao Q, Wu JS, Zhang J, Ma QJ, Lai DN. Expression and significance of apoptosis related gene bcl-2, bax in human large intestine adenocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:936-938
- 26 Zhang LL, Zhang ZS, Zhang YL, Wu BP, Guo W, Liu XX, Zhou DY. Microsatellite instability in multiple primary colorectal cancers. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:397-399
- 27 Guo JM, Xiao BX, Luo CQ. The establishment of subtractive cDNA libraries of differentially expressed genes between colon cancer cells and their induced cells. *J NingBo University (NSEE)* 2001;14:102-106
- 28 Scanlan MJ, Chen YT, Williamson B, Gure AO, Stockert E, Gordan JD, Tureci O, Sahin U, Pfreundschuh M, Old LJ. Characterization of human colon cancer antigens recognized by autologous antibodies. *Int J Cancer* 1998;76:652-658
- 29 Hampton TA, Conry RM, Khazaeli MB, Shaw DR, Curiel DT, LoBuglio AF, Strong TV. SEREX analysis for tumor antigen identification in a mouse model of adenocarcinoma. *Cancer Gene Ther* 2000;7:446-455
- 30 Line A, Slucka Z, Stengrevics A, Silina K, Li G, Rees RC. Characterisation of tumour-associated antigens in colon cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2002;51:574-582
- 31 Somers VA, Brandwijk RJ, Joosten B, Moerkerk PT, Arends JW, Menheere P, Pieterse WO, Claessen A, Scheper RJ, Hoogenboom HR, Hufton SE. A panel of candidate tumor antigens in colorectal cancer revealed by the serological selection of a phage displayed cDNA expression library. *The J Immunol* 2002;169:2772-2780
- 32 Okada H, Attanucci J, Giezeman-Smits KM, Brissette-Storkus C, Fellows WK, Gambotto A, Pollack LF, Pogue-Geile K, Lotze MT, Bozik ME, Chambers WH. Immunization with an antigen identified by cytokine tumor vaccine-assisted SEREX (CAS) suppressed growth of the rat 9L glioma in vivo. *Cancer Res* 2001;61:2625-2631



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

