

核酸适配子在消化系统疾病研究中的应用

徐国峰, 张焜和

■背景资料

1990年, 两个研究组分别在《Science》和《Nature》上发表论文, 首次报道了应用体外筛选技术筛选出能与靶分子高特异性、高亲和力结合的寡核苷酸配体-核酸适配子。此后, 核酸适配子在生命科学和化学领域的研究应用不断深入。

徐国峰, 张焜和, 南昌大学第一附属医院消化内科 江西省消化疾病重点实验室 江西省南昌市 330006
国家高技术研究发展计划(863计划)基金资助项目, No. 2007AA02Z462

江西省科技攻关计划基金资助项目, No. 20061B0302400

江西省卫生厅重大招标项目基金资助项目, No. 20074001

作者贡献分布: 徐国峰完成综述初稿; 张焜和审核修改。

通讯作者: 张焜和, 教授, 主任医师, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科, 江西省消化疾病重点实验室, yfyzkh@sina.com

收稿日期: 2010-07-08 修回日期: 2010-08-21

接受日期: 2010-08-31 在线出版日期: 2010-10-28

Application of nucleic acid aptamers for digestive disease research

Guo-Feng Xu, Kun-He Zhang

Guo-Feng Xu, Kun-He Zhang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University & Jiangxi Provincial Key Laboratory for Digestive Diseases, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program), No. 2007AA02Z462; the Key Technology R & D Program of Jiangxi Province, No. 20061B0302400; and the Major Program of Health Department of Jiangxi Province, No. 20074001

Correspondence to: Professor Kun-He Zhang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwai Zheng Avenue, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. yfyzkh@sina.com

Received: 2010-07-08 Revised: 2010-08-21

Accepted: 2010-08-31 Published online: 2010-10-28

Abstract

Nucleic acid aptamers, selected from a synthesized library of random single-stranded oligonucleotides by systematic evolution of ligands by exponential enrichment (SELEX), are oligonucleotide ligands binding to target molecules with high specificity and affinity. Nucleic acid aptamers have similar functions to antibodies, but possess the advantages of wider range of targets, better stability, easier modification and synthesis, showing promising prospects for diagnosis and treatment of diseases. In terms of digestive diseases, nucleic acid aptamers have been applied in the research of tumor markers, anti-tumor therapy, hepatitis virus C and liver imaging.

■同行评议者

黄国, 教授, 四川大学华西药学院药剂系

Key Words: Nucleic acid aptamers; Digestion disease; Application

Xu GF, Zhang KH. Application of nucleic acid aptamers for digestive disease research. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(30): 3220-3225

摘要

核酸适配子是能特异性结合靶分子的单链寡核苷酸配体, 通过指数富集的配体系统进化技术从人工合成的单链随机寡核苷酸文库中筛选得到。适配子的功能类似于抗体, 但某些特性优于抗体, 具有特异性高、亲和力强、靶标范围广、稳定性好、易于修饰、可人工合成等优点, 在疾病的诊断和治疗中有良好的应用前景。在消化系统疾病中, 适配子在肿瘤标志物、肿瘤治疗、丙型肝炎病毒、肝脏成像等领域的应用中已有报道。

关键词: 核酸适配子; 消化系统疾病; 应用

徐国峰, 张焜和. 核酸适配子在消化系统疾病研究中的应用. 世界华人消化杂志 2010; 18(30): 3220-3225

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3220.asp>

0 引言

1990年, Tuerk等^[1]和Ellington等^[2]建立了一种基于组合化学和PCR扩增的体外筛选新技术, 从人工合成的单链随机寡核苷酸文库中分别筛选出能与噬菌体T4 DNA聚合酶和有机染料分子高特异性和高亲和力结合的单链寡核苷酸配体。这种体外筛选技术称为指数富集的配体系统进化(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)技术, 筛选出的单链寡核苷酸配体称为核酸适配子(aptamer)。问世之后, SELEX技术不断丰富和发展^[3], 并筛选到针对不同靶标的适配子^[4], 在疾病的诊断和治疗中显示出良好的应用前景^[5,6]。针对血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)165的适配子已开发为治疗老年性视网膜黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)的上市药品Macugen(pegaptanib sodium)^[7]。本文将简要

介绍核酸适配子的筛选及其特性, 并在此基础上对核酸适配子在消化系统疾病研究中的应用作一综述。

1 核酸适配子的筛选和特性

核酸适配子的SELEX技术筛选过程大致如下: 构建人工合成的单链随机DNA(ssDNA)文库, 其中的寡核苷酸分子两端为固定序列, 用作PCR扩增时的引物结合部位, 中间为随机序列, 长度一般在20-110 nt, 库容量为 1×10^{14} - 1×10^{15} 。ssDNA文库可直接用于筛选, 也可转录为RNA文库后用于筛选(RNA文库构象较ssDNA文库丰富, 易于筛选出特异性和亲和力更好的适配子, 但操作相对复杂, 且稳定性不及ssDNA)。将随机寡核苷酸文库与靶标孵育, 然后分离靶标-核酸结合物, 洗脱下结合的寡核苷酸, 进行PCR扩增, 制备出新的文库, 开始下一轮筛选。如此反复数轮, 一般进行4-20轮筛选后, 靶标与文库的结合率不再升高, 终止筛选, 并将最后1轮文库进行克隆测序, 分离出适配子, 进行特异性和亲和力鉴定, 其中有价值的适配子可用于与靶标相关的分子识别研究。

RNA或ssDNA片段的特点是易于形成发卡、口袋、假节、G-四聚体等丰富的分子构象, 能与构象互补的分子通过“假碱基对”的堆积、氢键、静电等作用机制而特异性结合。用于核酸适配子筛选的文库多样性达到 1×10^{14} 以上, 理论上可以通过SELEX技术筛选出与自然环境中存在的几乎所有分子相结合的核酸适配子。

适配子的功能与抗体类似, 但与抗体相比, 有其独特的优点: (1)靶分子广: 用于筛选的靶标可以是蛋白、多肽、小分子有机物、无机离子, 也可以是完整的病毒、细菌、细胞, 有毒分子也可作为靶标。(2)高亲和力和高特异性: 适配子与靶分子结合的解离常数可达纳摩尔和皮摩尔每升的水平, 可以区分分子结构上一个甲基或一个羧基的差别。(3)易于标记和修饰: 适配子易与某些标记分子结合, 从而标记上荧光素、生物素等。适配子为寡聚核苷酸片段, 在体内容易被降解, 可进行化学修饰以避免核酸酶的降解作用, 且修饰后的适配子保持原有的生物学活性。(4)稳定性好: 适配子为核酸, 可在常温下运输、保存, 高温变性后可复性。(5)易于制备: 可通过PCR扩增、人工合成或分子克隆等手段制备, 满足不同的用量需要。(6)适合体内应用: 适配子无免疫原性且比抗体小, 可用于体内甚至

细胞内诊断和治疗。适配子的上述特性, 使之在临床诊断和治疗方面有良好的前景^[8-11], 目前在病毒^[12-14]、肿瘤^[15,16]、心血管系统^[17,18]、泌尿系统^[19]、血液系统^[20-22]及神经系统疾病^[23-25]等方面已有研究报道。

2 核酸适配子在消化系统疾病研究中的应用

核酸适配子能与靶分子高特异性和高亲和力结合, 使之可作为分子识别工具应用于靶分子的检测和分析, 也可作为功能分子应用于靶分子的功能阻断或激活, 因而在疾病的诊断、治疗及发病机制研究中发挥重要作用。在消化系统疾病研究中, 核酸适配子的应用主要在肿瘤和丙型肝炎两个领域。

2.1 在肿瘤标志物研究中的应用 以消化系肿瘤相关的标志物为靶标筛选适配子, 可为消化系肿瘤的诊断开辟新途径。粘蛋白(mucin, MUC)是黏液的主要成分, 是由上皮细胞分泌的高糖基化、高分子量糖蛋白, 其中MUC1在肿瘤组织中表达丰富, 糖基化不完全, 在消化系统上皮源性肿瘤中广泛表达, 是一种新的肿瘤标志物^[26-29]。Ferreira等^[30]筛选到一组MUC1的DNA适配子, 其检测低限为1 mg/L, 线性范围在8-100 mg/L, 在MUC1检测中具有良好的应用前景。癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)广泛存在于内胚叶起源的消化系统肿瘤, 是经典的结肠癌标志物。王立峰等^[31]经过7轮筛选, 获得的CEA适配子能与纯化的和天然的CEA蛋白特异性结合, 为高表达CEA的肿瘤的体外诊断及体内靶向诊断奠定了实验基础。我们采用甲胎蛋白的异质体AFP-L3为靶标进行SELEX技术筛选, 获得1组适配子, 其中部分适配子对肝癌血清具有较高的特异性^[32]。最近有人通过体内筛选, 得到在结肠直肠癌中表达上调的p38分子的RNA适配子, 在结肠直肠癌肝转移的诊断中可能有重要价值^[33]。

以细胞为靶标的核酸适配子筛选是“盲筛”^[34-36], 无需事先知道靶分子的相关知识和分离纯化靶分子, 因此可以在适配子筛选出来后用来捕获靶分子, 然后对捕获的靶分子进行分析鉴定, 从而发现新的标志物^[37]。Shangguan等^[38]通过SELEX技术筛选出1组能够特异性识别白血病细胞的核酸适配子, 并通过适配子发现了白血病细胞的特异性标志物-蛋白酪氨酸激酶7(protein-tyrosine kinase-7, PTK7)^[39]。

2.2 在肿瘤细胞表面分子研究中的应用 肿瘤细胞的发生和演变过程中, 各种相关基因表达异

■**研发前沿**
新生血管形成在实体瘤的生长过程中极为重要, 也是目前抗肿瘤策略研究的热点之一。

■相关报道

Vo等筛选到1组HCV的NS5B蛋白的适配子,可以特异性结合HCV的多聚酶,抑制其活性,具有潜在的抗HCV价值。

常,导致细胞各种表面分子尤其是表面蛋白分子的改变,成为肿瘤细胞区别于正常细胞的分子基础^[40-42]。Shangguan等^[43]以小鼠MEAR肝癌细胞系为靶标,进行细胞SELEX筛选,获得一组适配子,能特异性识别MEAR细胞,解离常数达到纳摩尔每升的水平,在小鼠体内能与肝癌细胞特异性结合,为适配子用于肿瘤的体内诊断提供了实验依据。Zhang等^[44]将小鼠MEAR肝癌细胞的特异性适配子TLS9a标记上量子点(quantum dot, QD)构建的量子点适配子(QD-Apt)只识别MEAR细胞,不识别BNL细胞和Hela细胞,且与细胞结合后不影响细胞的生长和活性,适合于活细胞成像。核仁素(nucleolin)在胃癌细胞表面丰富表达,与胃癌的发生发展关系密切^[45],Watanabe等^[46]发现核仁素的适配子AS1411与核仁素结合后明显抑制细胞增殖,使细胞周期阻滞。此外,适配子AS1411在肾细胞癌和急性髓系白血病的治疗已进入临床试验阶段^[47]。

以肿瘤细胞为靶标进行核酸适配子筛选^[48],有可能获得1组针对细胞表面不同分子的适配子,通过这些适配子的联合检测,可以了解细胞间表面分子的表达差异,达到肿瘤分子分型的目的^[49,50],为肿瘤的个体化诊断与治疗奠定基础。

2.3 在抗肿瘤研究中的应用 调控肿瘤生长相关的功能蛋白表达,可以抑制肿瘤细胞的生长,达到抗肿瘤的目的。大肠癌的 β -连环素(catenin)/T淋巴细胞因子(T-cell factor, TCF)的活力上调,其原因可能为结肠腺瘤性息肉(adenomatous polyposis coli, APC)基因突变失活,或 β -catenin发生突变后表达上调,从而激活其下游目的基因,抑制凋亡,促进肿瘤细胞的生长^[51]。Lee等^[52]筛选出针对 β -catenin的高亲和力RNA适配子,可抑制结肠癌细胞内的 β -catenin依赖细胞周期蛋白D1(cyclin D1)和细胞癌基因(cellular oncogene)c-Myc表达,阻滞细胞周期的进程,使肿瘤形成能力下降,有可能发展成为特异性肿瘤治疗药物。过氧化物酶增殖体激活受体 δ (peroxisome proliferator-activated receptor delta, PPAR- δ)是PPAR的3种亚型之一,参与炎症和肿瘤的形成。Kwak等^[53]为了了解PPAR- δ 在结肠癌发生发展中的作用,筛选出其特异性适配子并使之表达于数种结肠癌细胞系中,发现能抑制VEGF-A和环氧化酶2(cyclooxygenase-2, COX-2)的表达,特别是高水平表达PPAR- δ 适配子的HCT116细胞显示其致瘤性丧失,提示基于适配子的特异性抑制可能将成为肿瘤治疗的一种新途径。约90%

的胰腺癌存在K-ras基因突变,是胰腺癌发生的重要分子事件。Cogoi等^[54]将一段能特异性作用于K-ras基因启动子的寡核苷酸序列T-22AG稳定表达于胰腺癌细胞系Panc-1中,可使细胞的K-ras基因的mRNA及其蛋白表达产物p21 ras下降为对照的52%和40%,集落形成能力及增殖能力下降分别为对照的42%和34%。上述研究结果不但表明适配子可用于肿瘤发病分子机制研究,还为肿瘤的治疗提供了新的策略。

2.4 在抗肿瘤新生血管研究中的应用 新生血管形成在实体瘤的生长过程中极为重要,也是目前抗肿瘤策略研究的热点之一^[55,56]。与新生血管形成相关的因子可以作为SELEX的筛选靶标,筛选相应的适配子,应用于抗肿瘤新生血管形成的研究。VEGF在肿瘤的新生血管形成过程中起重要作用。Jellinek等^[57]筛选到1组能与VEGF特异结合的RNA适配子,可以抑制VEGF与细胞表面受体结合,阻断其功能。酪氨酸激酶受体Tie 2介导的细胞内事件在肿瘤新生血管形成过程中也发挥重要作用,其配体促血管生成素2(angiopoietin 2, Ang 2)在VEGF存在时起促血管生成作用。Sarraf-Yazdi等^[58]将小鼠结肠癌细胞CT26移植到小鼠的皮脊翼视窗(dorsal skinfold window chamber)内,再腹腔内注射Ang 2的适配子,发现可抑制Tie 2受体磷酸化,使移植瘤血管密度较对照组明显减少,肿瘤体积只有对照的50%,表明可抑制肿瘤新生血管形成和肿瘤生长。血小板衍生因子B(platelet-derived growth factor-B, PDGF-B)阻断剂可使肿瘤血管周细胞(pericytes)减少,抑制新生血管形成。Sennino等^[59]应用PDGF-B的适配子AX102可使转基因鼠的胰岛肿瘤的血管周细胞衰退,进而血管网变稀,这种现象在肺癌更为明显。

2.5 在丙型肝炎研究中的应用 以病原微生物的成分或完整的病原体颗粒为靶标筛选特异的核酸适配子,可用于微生物感染的诊断和治疗。HCV相关的适配子研究已有不少报道^[60]。Chen等^[61]利用细胞表面SELEX技术筛选出HCV外壳E2糖蛋白的适配子,其中适配子ZE2能与E2阳性细胞高特异性和亲和力结合,可以特异性捕获HCV颗粒,使用ZE2检测丙型肝炎患者血清中E2蛋白的结果与HCV RNA定量和抗-HCV抗体检测具有良好的相关性,因而认为ZE2有希望用于丙型肝炎表面抗原的早期诊断试剂开发。同时,适配子ZE2能竞争性抑制E2蛋白结合到HCV受体CD81,并且显著地阻断HCV体外感染肝细

胞Huh7.5.1, 因而有希望发展成为治疗丙型肝炎的药物. Lee等^[62]以HCV核心抗原为靶标进行筛选, 得到的RNA适配子只特异性结合核心抗原, 不与非结构蛋白5区(non-structure 5, NS5)结合, 用于检测血清中的HCV核心抗原具有良好的特异性, 可用于早期诊断HCV感染. Jones等^[63]筛选出3a亚型HCV多聚酶的适配子, 不与其他亚型HCV结合, 对于HCV的分型诊断具有潜在应用价值. Vo等^[64]筛选到1组HCV的NS5B蛋白的适配子, 可以特异性结合HCV的多聚酶, 抑制其活性, 具有潜在的抗HCV价值. 詹林盛等^[65]筛选出HCV NS3螺旋酶(non-structure 3 helicase, NS3h)的适配子, 其中适配子H2在体外对HCV NS3h的活性具有一定的抑制作用, 抑制率达44%, 显示出治疗的应用前景.

核酸适配子应用于HCV感染的诊断具有高度的敏感性. Cho等^[66]建立的基于微球的适配子亲和色谱芯片可从0.8 μ L标本中检测出低达9.6 fmol的HCV RNA聚合酶. Hwang等^[67]建立的基于HCV螺旋酶适配子的纳米化学检测技术能检测出极微量(100 pg/mL)的HCV螺旋酶.

2.6 在肝脏成像研究中的应用 肝脏去唾液酸糖蛋白受体(asialoglycoprotein receptor, ASGPR)是一种数量丰富的异源低聚物的内吞受体, 主要存在于肝脏实质细胞朝向窦状隙一侧的细胞膜表面, 又称为肝糖凝集蛋白或肝凝集素. 由于ASGPR在正常肝细胞和病变肝细胞表面均大量且特异性的表达, 多年来一直被用于肝脏成像方面的研究. 刘嘉等^[68]经过12轮筛选获得了具有高亲和力的肝脏ASGPR特异性RNA适配子, 为开发诊断肝脏疾病的靶向性试剂奠定基础.

3 结论

目前, 核酸适配子在消化系疾病研究中的应用主要集中在消化系肿瘤和丙型肝炎两个方面, 虽然相关报道不多, 真正意义上的临床应用也还没有, 但现有的研究成果已经显示出良好的应用前景. 随着核酸适配子在消化系疾病的不断深入研究, 可以预见适配子将为消化系疾病的诊断和治疗开辟全新的途径.

4 参考文献

- 1 Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. *Science* 1990; 249: 505-510
- 2 Ellington AD, Szostak JW. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature* 1990;

- 346: 818-822
- 3 张慧卿, 方念, 张焜和. 适配子筛选技术. *中国生物工程杂志* 2008; 28: 113-118
- 4 谭新颖, 张焜和. 从靶标的多样性看核酸适配子在分子识别中的优势与前景. *实验与检验医学* 2010; 28: 161-164
- 5 郭芳玉, 张贝, 张焜和. SELEX技术及核酸适配子在临床诊断中的应用前景. *国外医学·内科学分册* 2006; 33: 489-492
- 6 张贝, 郭芳玉, 张焜和. 核酸适配子及其在肿瘤诊断与治疗中的应用. *国际肿瘤学杂志* 2006; 33: 756-759
- 7 Rosina C, Bottoni F, Staurenghi G. Clinical experience with pegaptanib sodium. *Clin Ophthalmol* 2008; 2: 485-488
- 8 Thiel KW, Giangrande PH. Therapeutic applications of DNA and RNA aptamers. *Oligonucleotides* 2009; 19: 209-222
- 9 Cerchia L, Giangrande PH, McNamara JO, de Francis V. Cell-specific aptamers for targeted therapies. *Methods Mol Biol* 2009; 535: 59-78
- 10 Barbas AS, White RR. The development and testing of aptamers for cancer. *Curr Opin Investig Drugs* 2009; 10: 572-578
- 11 Perkins AC, Missailidis S. Radiolabelled aptamers for tumour imaging and therapy. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 2007; 51: 292-296
- 12 甘龙杰, 兰小鹏. SELEX技术在病毒感染诊断和治疗中的应用. *生物技术通讯* 2009; 20: 745-748
- 13 Kissel JD, Held DM, Hardy RW, Burke DH. Active site binding and sequence requirements for inhibition of HIV-1 reverse transcriptase by the RT1 family of single-stranded DNA aptamers. *Nucleic Acids Res* 2007; 35: 5039-5050
- 14 Jang KJ, Lee NR, Yeo WS, Jeong YJ, Kim DE. Isolation of inhibitory RNA aptamers against severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus NTPase/Helicase. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 366: 738-744
- 15 许川山, Albert WING Nang Leung, 杨青, 曾霞波. 利用SELEX技术构建靶向光敏药物. *中国激光医学杂志* 2006; 15: 386-388
- 16 张飞, 牛瑞芳. 核酸适配子在肿瘤学研究中的进展. *中华肿瘤防治杂志* 2006; 13: 1911-1914
- 17 Mann MJ, Whitemore AD, Donaldson MC, Belkin M, Conte MS, Polak JF, Orav EJ, Ehsan A, Dell'Acqua G, Dzau VJ. Ex-vivo gene therapy of human vascular bypass grafts with E2F decoy: the PREVENT single-centre, randomised, controlled trial. *Lancet* 1999; 354: 1493-1498
- 18 Kuliczowski W, Floyd J, Malinin A, Serebruany V. Aptamers: the emerging class of future anticoagulation for vascular disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2010; 8: 503-507
- 19 Farokhzad OC, Cheng J, Tepley BA, Sherifi I, Jon S, Kantoff PW, Richie JP, Langer R. Targeted nanoparticle-aptamer bioconjugates for cancer chemotherapy in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 6315-6320
- 20 Shanguan D, Li Y, Tang Z, Cao ZC, Chen HW, Mallikaratchy P, Sefah K, Yang CJ, Tan W. Aptamers evolved from live cells as effective molecular probes for cancer study. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 11838-11843
- 21 Tang Z, Shanguan D, Wang K, Shi H, Sefah K, Mallikaratchy P, Chen HW, Li Y, Tan W. Selection of aptamers for molecular recognition and characterization of cancer cells. *Anal Chem* 2007; 79:

■应用要点

核酸适配子与抗体都是生物分子的特异性配体, 但适配子有许多抗体不具备的特性, 如毒性分子、无免疫原性的小分子均可用作制备适配子的靶标. 因此, 当抗体制备或应用有困难时, 可选择核酸适配子.

■同行评价

本文可读性好, 具有较好的临床参考价值。

- 4900-4907
- 22 Herr JK, Smith JE, Medley CD, Shangguan D, Tan W. Aptamer-conjugated nanoparticles for selective collection and detection of cancer cells. *Anal Chem* 2006; 78: 2918-2924
- 23 袁超, 刘慧, 张天伟. SELEX技术在神经系统疾病研究中的应用. *医学分子生物学杂志* 2010; 7: 254-257
- 24 Takahashi T, Tada K, Mihara H. RNA aptamers selected against amyloid beta-peptide (A β) inhibit the aggregation of A β . *Mol Biosyst* 2009; 5: 986-991
- 25 de Franciscis V, Esposito CL, Catuogno S, Cellai L, Cerchia L. Aptamers as innovative diagnostic and therapeutic agents in the central nervous system. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2009; 8: 393-401
- 26 Inagaki Y, Xu H, Nakata M, Seyama Y, Hasegawa K, Sugawara Y, Tang W, Kokudo N. Clinicopathology of sialomucin: MUC1, particularly KL-6 mucin, in gastrointestinal, hepatic and pancreatic cancers. *Biosci Trends* 2009; 3: 220-232
- 27 Guo Q, Tang W, Inagaki Y, Midorikawa Y, Kokudo N, Sugawara Y, Nakata M, Konishi T, Nagawa H, Makuuchi M. Clinical significance of subcellular localization of KL-6 mucin in primary colorectal adenocarcinoma and metastatic tissues. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 54-59
- 28 Xu HL, Inagaki Y, Seyama Y, Sugawara Y, Kokudo N, Nakata M, Wang FS, Tang W. Expression of KL-6 mucin, a human MUC1 mucin, in intrahepatic cholangiocarcinoma and its potential involvement in tumor cell adhesion and invasion. *Life Sci* 2009; 85: 395-400
- 29 Zhang K, Tang W, Qu X, Guo Q, Inagaki Y, Seyama Y, Abe H, Gai R, Kokudo N, Sugawara Y, Nakata M, Makuuchi M. KL-6 mucin in metastatic liver cancer tissues from primary colorectal carcinoma. *Hepato-gastroenterology* 2009; 56: 960-963
- 30 Ferreira CS, Papamichael K, Guilbault G, Schwar-zacher T, Garipey J, Missailidis S. DNA aptamers against the MUC1 tumour marker: design of aptamer-antibody sandwich ELISA for the early diagnosis of epithelial tumours. *Anal Bioanal Chem* 2008; 390: 1039-1050
- 31 王立峰, 魏嘉, 殷海涛, 钱晓萍, 禹立霞, 刘宝瑞. 癌胚抗原特异性寡核苷酸适配子的体外筛选及其意义. *医学研究生学报* 2007; 20: 903-907
- 32 Zhang KH, Fang N, Zhang HQ, Chen WX, Zhu X, Lv NH. Selection and analysis of aptamers binding *Lens culinaris* agglutinin-reactive alpha-fetoprotein. *Hepatol Int* 2009; 3: 154
- 33 Mi J, Liu Y, Rabbani ZN, Yang Z, Urban JH, Sullenger BA, Clary BM. In vivo selection of tumor-targeting RNA motifs. *Nat Chem Biol* 2010; 6: 22-24
- 34 Sefah K, Shangguan D, Xiong X, O'Donoghue MB, Tan W. Development of DNA aptamers using Cell-SELEX. *Nat Protoc* 2010; 5: 1169-1185
- 35 Kim Y, Liu C, Tan W. Aptamers generated by Cell SELEX for biomarker discovery. *Biomark Med* 2009; 3: 193-202
- 36 Guo KT, Ziemer G, Paul A, Wendel HP. CELL-SELEX: Novel perspectives of aptamer-based therapeutics. *Int J Mol Sci* 2008; 9: 668-678
- 37 Ulrich H, Wrenger C. Disease-specific biomarker discovery by aptamers. *Cytometry A* 2009; 75: 727-733
- 38 Shangguan D, Cao ZC, Li Y, Tan W. Aptamers evolved from cultured cancer cells reveal molecular differences of cancer cells in patient samples. *Clin Chem* 2007; 53: 1153-1155
- 39 Shangguan D, Cao Z, Meng L, Mallikaratchy P, Sefah K, Wang H, Li Y, Tan W. Cell-specific aptamer probes for membrane protein elucidation in cancer cells. *J Proteome Res* 2008; 7: 2133-2139
- 40 罗飞兵, 张焜和. Glypican-3与原发肝癌关系研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 155-159
- 41 常彬霞, 辛绍杰. 甲胎蛋白及其临床应用研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 576-580
- 42 唐光华, 倪润洲, 肖明兵, 江枫, 陈健华, 黄华. 血小板衍化内皮细胞生长因子在胰腺癌组织中的表达及其临床意义. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 143-148
- 43 Shangguan D, Meng L, Cao ZC, Xiao Z, Fang X, Li Y, Cardona D, Witek RP, Liu C, Tan W. Identification of liver cancer-specific aptamers using whole live cells. *Anal Chem* 2008; 80: 721-728
- 44 Zhang J, Jia X, Lv XJ, Deng YL, Xie HY. Fluorescent quantum dot-labeled aptamer bioprobes specifically targeting mouse liver cancer cells. *Talanta* 2010; 81: 505-509
- 45 Watanabe T, Tsuge H, Imagawa T, Kise D, Hirano K, Beppu M, Takahashi A, Yamaguchi K, Fujiki H, Suganuma M. Nucleolin as cell surface receptor for tumor necrosis factor-alpha inducing protein: a carcinogenic factor of *Helicobacter pylori*. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136: 911-921
- 46 Watanabe T, Hirano K, Takahashi A, Yamaguchi K, Beppu M, Fujiki H, Suganuma M. Nucleolin on the cell surface as a new molecular target for gastric cancer treatment. *Biol Pharm Bull* 2010; 33: 796-803
- 47 Mongelard F, Bouvet P. AS-1411, a guanosine-rich oligonucleotide aptamer targeting nucleolin for the potential treatment of cancer, including acute myeloid leukemia. *Curr Opin Mol Ther* 2010; 12: 107-114
- 48 李真真, 韩跃武, 刘玲玲, 韩亚萍, 路艳, 王春霞. SELEX法体外筛选胃癌细胞适配子方法的建立. *生物技术* 2009; 19: 42-46
- 49 Sefah K, Tang ZW, Shangguan DH, Chen H, Lopez-Colon D, Li Y, Parekh P, Martin J, Meng L, Phillips JA, Kim YM, Tan WH. Molecular recognition of acute myeloid leukemia using aptamers. *Leukemia* 2009; 23: 235-244
- 50 Li N, Ebright JN, Stovall GM, Chen X, Nguyen HH, Singh A, Syrett A, Ellington AD. Technical and biological issues relevant to cell typing with aptamers. *J Proteome Res* 2009; 8: 2438-2448
- 51 Morin PJ, Sparks AB, Korinek V, Barker N, Clevers H, Vogelstein B, Kinzler KW. Activation of beta-catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in beta-catenin or APC. *Science* 1997; 275: 1787-1790
- 52 Lee HK, Choi YS, Park YA, Jeong S. Modulation of oncogenic transcription and alternative splicing by beta-catenin and an RNA aptamer in colon cancer cells. *Cancer Res* 2006; 66: 10560-10566
- 53 Kwak H, Hwang I, Kim JH, Kim MY, Yang JS, Jeong S. Modulation of transcription by the peroxisome proliferator-activated receptor delta-binding RNA aptamer in colon cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2009; 8: 2664-2673
- 54 Cogoi S, Quadrioglio F, Xodo LE. G-rich oligonucleotide inhibits the binding of a nuclear protein to the Ki-ras promoter and strongly reduces cell growth in human carcinoma pancreatic cells. *Biochemistry* 2004; 43: 2512-2523
- 55 Saijo N. [Treatment with antiangiogenic drugs] *Nippon Rinsho* 2010; 68: 1007-1013
- 56 Sato Y. [Anti-angiogenic drugs] *Nippon Rinsho* 2010;

- 68: 1054-1058
- 57 Jellinek D, Green LS, Bell C, Janjić N. Inhibition of receptor binding by high-affinity RNA ligands to vascular endothelial growth factor. *Biochemistry* 1994; 33: 10450-10456
- 58 Sarraf-Yazdi S, Mi J, Moeller BJ, Niu X, White RR, Kontos CD, Sullenger BA, Dewhirst MW, Clary BM. Inhibition of in vivo tumor angiogenesis and growth via systemic delivery of an angiopoietin 2-specific RNA aptamer. *J Surg Res* 2008; 146: 16-23
- 59 Sennino B, Falcón BL, McCauley D, Le T, McCauley T, Kurz JC, Haskell A, Epstein DM, McDonald DM. Sequential loss of tumor vessel pericytes and endothelial cells after inhibition of platelet-derived growth factor B by selective aptamer AX102. *Cancer Res* 2007; 67: 7358-7367
- 60 徐冬, 曹俊娜. 丙型肝炎病毒相关适配分子的研究进展. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1440-1445
- 61 Chen F, Hu Y, Li D, Chen H, Zhang XL. CS-SELEX generates high-affinity ssDNA aptamers as molecular probes for hepatitis C virus envelope glycoprotein E2. *PLoS One* 2009; 4: e8142
- 62 Lee S, Kim YS, Jo M, Jin M, Lee DK, Kim S. Chip-based detection of hepatitis C virus using RNA aptamers that specifically bind to HCV core antigen. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 358: 47-52
- 63 Jones LA, Clancy LE, Rawlinson WD, White PA. High-affinity aptamers to subtype 3a hepatitis C virus polymerase display genotypic specificity. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 3019-3027
- 64 Vo NV, Oh JW, Lai MM. Identification of RNA ligands that bind hepatitis C virus polymerase selectively and inhibit its RNA synthesis from the natural viral RNA templates. *Virology* 2003; 307: 301-316
- 65 詹林盛, 卓海龙, 王会中, 彭剑淳, 王全立. 丙型肝炎病毒NS3螺旋酶寡核苷酸适配子的筛选与鉴定. *生物化学与生物物理进展* 2005; 32: 245-249
- 66 Cho S, Lee SH, Chung WJ, Kim YK, Lee YS, Kim BG. Microbead-based affinity chromatography chip using RNA aptamer modified with photocleavable linker. *Electrophoresis* 2004; 25: 3730-3739
- 67 Hwang KS, Lee SM, Eom K, Lee JH, Lee YS, Park JH, Yoon DS, Kim TS. Nanomechanical microcantilever operated in vibration modes with use of RNA aptamer as receptor molecules for label-free detection of HCV helicase. *Biosens Bioelectron* 2007; 23: 459-465
- 68 刘嘉, 杨燕, 胡斌, 马智勇, 余源, 黄红平, 陆蒙古, 冯新华, 郭培宣, 杨东亮. 肝脏去唾液酸糖蛋白受体特异性RNA适配子的SELEX筛选与鉴定. *医学分子生物学杂志* 2009; 6: 197-202

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), 国内统一刊号CN 14-1260/R, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/*World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内23个省、市、自治区、特别行政区的496位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。