

[文章编号] 1007-385X(2006)05-0332-06

## 抑制食管癌与肺血管内皮黏附的功能性抗体的制备

遇 珑<sup>1</sup>, 潘 健<sup>1</sup>, 周 转<sup>1</sup>, 冉宇靓<sup>1</sup>, 胡 海<sup>1</sup>, 娄晋宁<sup>2</sup>, 杨治华<sup>1</sup>(1. 清华大学北京协和医学院肿瘤研究所细胞及分子生物学研究室, 北京 100021; 2. 卫生部中日友好医院临床医学研究所, 北京 100029)

[摘要] **目的:** 制备抑制食管癌细胞与肺血管内皮黏附的功能性单克隆抗体, 为研究食管癌转移的靶向治疗剂打下基础。

**方法:** 以人食管癌新鲜组织分离的肿瘤细胞免疫 BALB/c 小鼠, 将免疫小鼠脾细胞与 SP2/0 细胞融合后, 采用活细胞荧光、ELISA、免疫组化、肿瘤细胞-内皮细胞黏附实验、Western blotting 等方法筛选并鉴定抑制肿瘤细胞黏附的功能性单克隆抗体。

**结果:** 共融合获得了 1 134 株杂交瘤克隆, 在能与食管癌细胞膜反应的 486 株克隆中, 有 294 株与正常食管上皮不反应或低反应, 筛选到 15 株单抗显著地抑制食管癌细胞与人正常肺血管内皮黏附, 其中 2 株单抗识别的黏附分子相对分子质量分别为 30 000 和 60 000。**结论:** 成功获得了多株具有抑制食管癌细胞与肺血管内皮黏附的功能性抗体, 其中 2 株单抗具有治疗食管癌转移的潜在应用价值。

[关键词] 食管癌; 肺血管内皮细胞; 黏附; 功能性单克隆抗体

[中图分类号] R37 [文献标识码] A

## Preparation of functional antibody for inhibition of adhesion between esophageal carcinoma and pulmonary vascular endothelia

YU Long<sup>1</sup>, PAN Jian<sup>1</sup>, ZHOU Zhuan<sup>1</sup>, RAN Yu-liang<sup>1</sup>, HU Hai<sup>1</sup>, LOU Jin-ning<sup>2</sup>, YANG Zhi-hua<sup>1</sup>(1. Department of Tumor and Molecular Biology, Peking Union Medical College, Tsinghua University, Beijing 100021, China; 2. Institute of Clinical Medicine, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare monoclonal antibody for inhibition of adhesion between esophageal carcinoma and pulmonary vascular endothelia, so as to pave a way for the targeted treatment of esophageal carcinoma metastasis. **Methods:** Tumor cells were separated from esophageal carcinoma tissues and were used to immunize Balb/c mouse. The spleen cells of the immunized mouse were fused with SP2/0 cells. The anti-adhesion antibodies were then screened and identified by ELISA, immunohistochemistry, immunofluorescence, tumor-endothelial cell adhesion assay, and Western blotting. **Results:** Totally 1 134 clones of monoclonal antibodies were obtained after fusion. Among the 486 clones which could interact with the membrane of the esophageal carcinoma, 294 clones had no or weak reactions with normal esophageal epithelia. The 15 selected clones significantly suppressed the adherence between esophageal cancer cells and lung endothelia. Western blotting displayed that 2 of the clones reacted with the antigens having a molecular weight of 30 000 and 60 000, respectively. **Conclusion:** We have successfully obtained several clones of functional monoclonal antibodies which can suppress the adherence of esophageal carcinoma cells with lung micro-vascular endothelia, and 2 of the clones show promise in anti-metastasis therapy of esophageal carcinoma.

**Key words:** esophageal carcinoma; lung vascular endothelium; adhesions; functional monoclonal antibody

[Chin J Cancer Biother, 2006, 13(5): 332-337]

我国是世界上食管癌发病率最高的国家。食管癌的病死率较高, 5 年生存率不足 15%。其主要原因是食管癌扩散转移早, 术后复发、转移率高达 60% 以上, 对放、化疗不敏感。到目前为止, 临床上对转移性食管癌及食管癌的术后复发转移仍无有效的治疗手段和药物。2004 年美国 FDA 批准 C225 和 Avastin 等单抗靶

向药物用于治疗转移性结肠癌, 已在临床上取得了显

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(30230150); 国家重点基础研究发展规划(973 计划)项目(2002CB513106)

[作者简介] 遇 珑(1965-), 男, 北京市人, 本科, 主管技师, 主要从事肿瘤免疫治疗方面的研究

[通讯作者] 杨治华, E-mail: yang\_zhihua\_prof@yahoo.com.cn

著的疗效,为肿瘤转移的治疗提供了一种新的手段。肿瘤细胞与靶器官血管内皮的黏附是肿瘤转移的重要步骤<sup>[1]</sup>,阻断这种黏附作用就可以有效地抑制肿瘤转移<sup>[2-3]</sup>。临床资料显示,肺部是食管癌最早而最易发生远处转移的器官<sup>[4-5]</sup>。因此,若能有效地阻断食管癌细胞与肺血管内皮的黏附,就可能为食管癌的转移复发提供一种新的治疗手段<sup>[6-7]</sup>。本研究采用本室建立的高通量研制筛选功能性单抗的技术平台,获得了多株能显著抑制食管癌细胞与人肺血管内皮黏附的功能性单抗,为食管癌转移抗体治疗剂的研制奠定了基础<sup>[8-13]</sup>。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

小鼠骨髓瘤细胞 SP2/0 细胞与食管癌细胞系 KYSE30、EC9706、YES 2 为分子肿瘤学国家重点实验室王明荣教授惠赠;人食管癌内皮细胞 HECEC、人正常肺内皮细胞 HLEC 由中日友好医院临床医学科娄晋宁教授分离鉴定;6 周龄 BALB/c 小鼠购自中国药品生物制品检定所;M199、1640、DMEM、IMEM 培养基均购自 Gibco BRL 公司;胎牛血清(FBS)Hyclone 生产;Biotin-马抗小鼠 IgG、Biotin-马抗小鼠 IgM、HRP 标记羊抗小鼠 IgG、HRP 标记羊抗小鼠 IgM 均购自 Vector 公司; $\alpha$ -tubulin 兔多抗 Santa Cruz 生产;FITC 标记的羊抗兔购自 Vector 公司;Cy3 标记 avidin 购自 Jackson 公司;PVDF 膜由 Millipore 生产;明胶(gelatin)、DAPI 购自 Sigma 公司;单抗亚类检测试剂盒均由 SouthernBiotech 公司生产;SP 法免疫组化试剂盒购自福州迈新公司;Western blotting 试剂购自普利莱公司。

### 1.2 细胞培养

SP2/0 细胞采用含 10% FBS 的 DMEM 培养基培养;食管癌细胞系 KYSE30、EC9706、YES 2 采用含 10% FBS 的 1640 培养基培养;人食管癌内皮细胞 ECEC、人肺内皮细胞 HLEC 采用含 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  内皮生长添加剂物(EGCS)、20% FBS 的 M199 培养基传代培养于 2% 明胶包被的培养瓶。静止内皮细胞采用无 ECGS 的含 0.1% FBS 的 M199 培养液培养。

### 1.3 动物免疫

采用临床分离的食管癌新鲜组织标本,分离单个细胞,多聚甲醛固定后,每只 BALB/c 小鼠每次以(1~5) $\times 10^6$  细胞的剂量免疫,共 5 只,连续免疫 12 个月,每个月免疫 1 次。

### 1.4 免疫荧光检测

1.4.1 活细胞免疫荧光检测 按 9 000/孔将肿瘤细胞接种于 96 孔培养板,37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  温箱培养 2 d。细

胞约 70% 汇合后,用 PBS 洗涤每孔中的细胞后加入 1:500 的一抗,室温孵育 1 h,含 1% BSA 的 PBS 洗涤 5 次,每次 5 min;加入 60  $\mu\text{l}$  含 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  Biotin 标记二抗或 60  $\mu\text{l}$  含 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  FITC 标记抗体室温孵育 30 min,1% BSA 的 PBS 洗涤 5 次,每次 5 min;加入 60  $\mu\text{l}$  1:1 000 稀释的 Cy3-Avidin,室温孵育 30 min 后,PBS 洗涤 5 次,每次 5 min;最后用含 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  DAPI 的 50% 甘油 50  $\mu\text{l}$  封闭<sup>[8]</sup>。

1.4.2 固定细胞免疫荧光检测 在加入一抗前细胞经 4% 多聚甲醛固定 10 min,0.2% Triton X-100 通透 5 min,后续实验操作同于活细胞间接免疫荧光。

### 1.5 细胞融合

待免疫小鼠血清滴度达到 1:50 000 以上时,取  $1 \times 10^8$  免疫小鼠脾细胞与  $2 \times 10^7$  对数生长期的杂交瘤细胞系 SP2/0 融合。融合后接种 30 个直径 35 mm 的细胞培养皿内。置湿盒中于 5%  $\text{CO}_2$ 、37 $^{\circ}\text{C}$  温箱中培养。

### 1.6 免疫组织化学检测

免疫组化检测采用加强型链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶(SP)法。杂交瘤上清采用 1:5 和 1:25 两个稀释度。操作程序严格按照试剂盒说明书操作,镜下阳性细胞 < 10% 时定为阴性。

### 1.7 单抗亚类的 ELISA 检测

采用 Southern biotech 的单抗亚类 ELISA 检测试剂盒测定筛选获得的单抗亚型,操作严格按照试剂盒说明书进行。

### 1.8 抗体的黏附抑制试验

96 孔培养板经 2% 明胶、37 $^{\circ}\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$  温箱中包被 30 min 后,每孔  $9 \times 10^3$  人正常血管内皮细胞 HLEC 细胞接种于平板中。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养 24 h 后,镜检观察内皮生长至汇合后,置换传代内皮细胞培养液为静止内皮培养液(不含 ECGS、只含 0.1% FBS 的 M199 培养液)继续培养 3 d。用 CalceinAM 标记肿瘤细胞,然后肿瘤细胞与杂交瘤上清 37 $^{\circ}\text{C}$  孵育 1 h 封闭细胞表面的黏附分子。汇合静止的内皮细胞经无血清培养液洗涤 2 次后,每孔加入 100  $\mu\text{l}$  含  $2.5 \times 10^5$  个肿瘤细胞的细胞悬液。内皮细胞和肿瘤细胞在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  温箱中共同静止孵育 1 h 后,每孔加入 250  $\mu\text{l}$  无血清 1640 培养液振荡洗涤,每次 5 min,共计洗涤 6 次,以洗去未黏附的肿瘤细胞。随后,荧光显微镜镜检并拍照黏附的肿瘤细胞,每孔以拍摄 4 个不同的视野( $\times 100$ )。黏附的肿瘤细胞采用 IPP 5.1 plus 计数,并使用 SPSS10 软件进行统计分析。

### 1.9 蛋白质免疫印迹检测

以单克隆抗体细胞的培养上清作为一抗,按照普

利莱公司蛋白质印迹试剂盒的说明书进行 Western blotting 检测。

## 2 结果

### 2.1 小鼠免疫血清的测定

从食管癌新鲜组织标本中分离单个细胞,经固定后免疫 BALB/c 小鼠 5 只,分别于免疫后 2、4、6、8、10、11、12 个月从小鼠尾静脉取血分离血清。采用固定细胞和活细胞免疫荧光法检测免疫血清中的抗体滴度。在采用活细胞免疫荧光时,以  $\alpha$ -tublin 作为细胞膜是

否被通透的对照,如果对照  $\alpha$ -tublin 的免疫荧光阳性则说明细胞膜已经被通透,抗  $\alpha$ -tublin 的抗体分子进入了细胞;如果  $\alpha$ -tublin 为阴性,说明细胞没有被通透,抗体无法进入细胞内。当免疫后 10 个月时固定细胞免疫荧光检测小鼠血清的抗体滴度为 1:30 000 ~ 1:50 000。其中 3#小鼠血清滴度最高,为 1:50 000。活细胞免疫荧光检测小鼠血清抗体滴度为 1:4 000 ~ 1:6 000,3#小鼠的抗体滴度最高,达 1:6 000(图 1)。继续免疫 2 个月后,检测免疫血清的抗体滴度不再继续升高,准备融合。

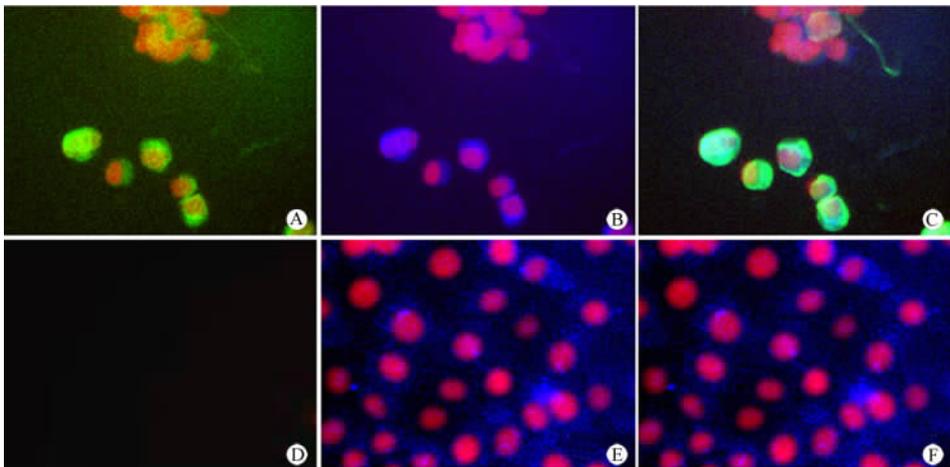


图 1 免疫荧光检测免疫血清的抗体滴度( × 200 )

Fig. 1 Immunofluorescence determination of antibody titer in serum( × 200 )

A: Immunofluorescence of fixed YES2 cells detected by  $\alpha$ -tubulin antibody; B: Immunofluorescence of fixed YES2 cells detected by immune serum ( 1:50 000 ); C: Merged view of A and B; D: Immunofluorescence of viable YES2 cells detected by  $\alpha$ -tubulin antibody; E: Immunofluorescence of viable YES2 cells detected by immune serum ( 1:6 000 ); F: Merged view of D and E. Nucleolus were stained blue by DAPI

当小鼠免疫血清活细胞免疫荧光的滴度达 1:6 000 时,采用肿瘤细胞-内皮细胞黏附实验检测小鼠免疫血清对食管癌细胞与正常人肺血管内皮黏附作用的影响,以便了解免疫血清中是否含有抑制食管癌细胞黏附的功能抗体。图 2 显示,免疫血清抗体滴度最高的 3#小鼠的血清对食管癌细胞 YES2 与人正常肺内皮黏附的影响。当免疫血清稀释 1:800 时,仍能显著抑制食管癌细胞与人肺内皮的黏附。正常鼠血清在稀释度 1:100 时不能明显抑制食管癌细胞与人肺血管内皮的黏附。

### 2.2 细胞融合及阳性克隆的筛选

待免疫小鼠血清中的抗体滴度不再升高时,取滴度最高的 3#小鼠脾细胞与 SP2/0 细胞进行融合,融合细胞接种 30 个含有 HAT 选择培养液的甲基纤维素培养基的平皿中。培养 8 ~ 12 d 后,从培养皿中挑取孤立的较大的 1 920 个细胞集落,接种 20 个 96 孔培养

板,最终从中获得了 1 134 个单克隆。以  $\alpha$ -tublin 作为细胞膜是否被通透的对照,采用活细胞免疫荧光法检测筛选了 1 134 个杂交瘤克隆上清与 2 种食管癌细胞系 NEC 和 YES2 的反应。最终获得了 486 个与 2 种食管癌细胞膜阳性反应的克隆。采用免疫组织化学检测了该 486 个阳性克隆的杂交瘤上清与正常食管组织的反应性,结果获得了 294 个与正常食管组织不反应或低反应的单抗克隆。

### 2.3 抑制食管癌细胞黏附的功能性单抗的筛选

采用肿瘤细胞-内皮细胞黏附实验对经过活细胞免疫荧光及免疫组化筛选获得的 294 株克隆单抗进行黏附功能的筛选。有 33 株能明显抑制食管癌细胞 YES2 与正常人肺内皮的黏附,重复 2 次实验均发现其抑制率在 30% 以上。其中 15 株对食管癌细胞黏附的抑制作用最强,抑制率在 50% 以上,结果如图 3。

### 2.4 功能性单抗的鉴定

采用单抗亚类检测试剂盒检测了 33 株具有功能的单抗的亚类, 结果发现, 其中有 3 株为 IgG1, 3 株为

IgG2a, 2 株为 IgG2b, 15 株为 IgM, 还有 10 株为混合亚类克隆。

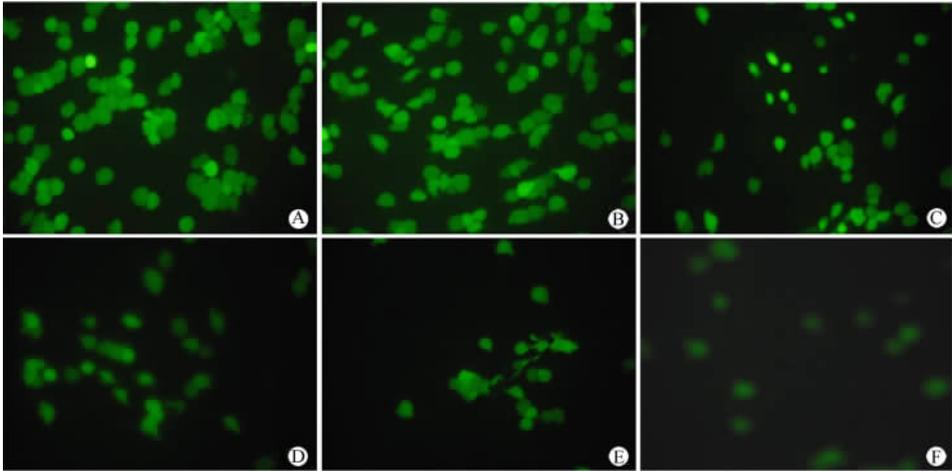


图 2 免疫血清对食管癌细胞与人正常肺血管内皮黏附的抑制作用( ×200 )

Fig. 2 Inhibitory effect of immune serum on adherence of esophageal carcinoma cells YES2 to human normal lung endothelial cells( ×200 )

A: Normal mouse serum, 1:100 diluted; B: Immune serum, 1:1 600 diluted; C: Immune serum, 1:800 diluted; D: Immune serum, 1:400 diluted; E: Immune serum, 1:200 diluted; F: Immune serum, 1:100 diluted

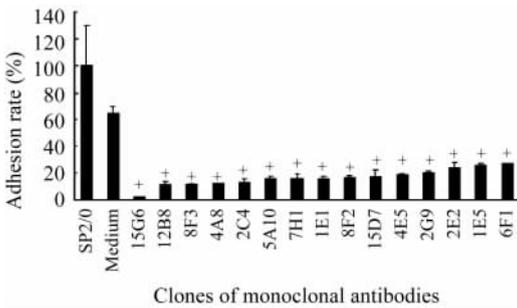


图 3 不同克隆株单抗对食管癌细胞与肺血管内皮黏附的抑制

Fig. 3 Inhibitory effect of monoclonal antibodies on adherence of esophageal carcinoma cells to human lung endothelial cells

Fifteen monoclonal antibodies significantly suppressed esophageal carcinoma cell adhesion(  $P < 0.05$  )

选择对食管癌细胞黏附抑制最强的 2 株单抗 15G6 和 12B8( 亚类检测均为 IgM )进行进一步的鉴定。活细胞免疫荧光检测发现这 2 株是识别食管癌细胞膜蛋白抗原的抗体( 图 4 )。用这 2 株单抗上清, 采用免疫组化检测了 10 例食管癌组织和癌旁组织。结果显示 15G6 单抗检测的 10 例食管癌组织中 7 例阳性, 10 例癌旁组织只有 2 例弱阳性, 其余 8 例均为阴性。12B8 单抗检测结果发现其中 5 例食管癌组织阳性, 癌旁组织有 1 例阳性( 图 5 )。

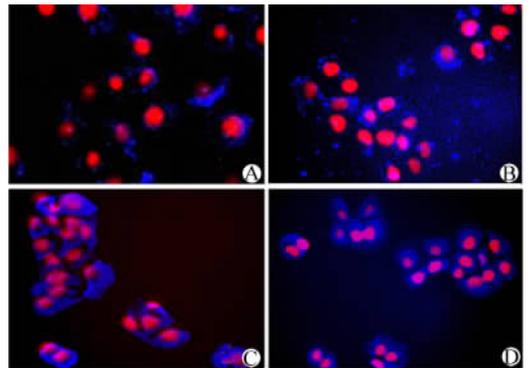


图 4 免疫荧光检测单抗株 15G6 和 12B8 与食管癌细胞的反应( ×200 )

Fig. 4 Immunofluorescence assay of 15G6 mAb and 12B8 mAb( ×200 )

A: Immunofluorescence of viable YES2 cells detected by 15G6 mAb; B: Immunofluorescence of viable YES2 cells detected by 12B8 mAb; C: Immunofluorescence of fixed YES2 cell detected by 15G6 mAb; D: Immunofluorescence of fixed YES2 cell detected by 12B8 mAb

提取食管癌细胞 YES2 的膜蛋白后进行 Western blotting, 结果表明, 15G6 单抗识别的抗原蛋白相对分子质量约为 30 000, 12B8 单抗识别的抗原蛋白相对分子质量约为 60 000( 图 6 )。

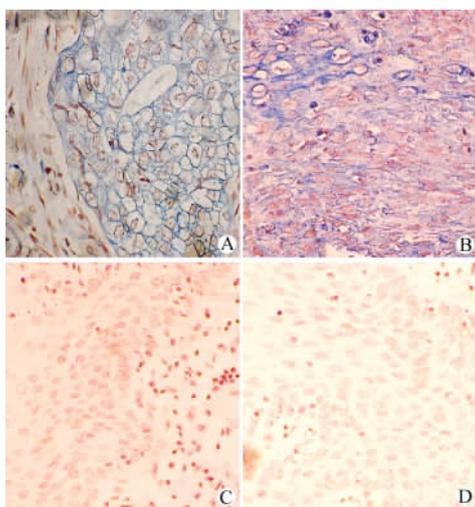


图 5 15G6 和 12B8 单抗免疫组织化学检测食管癌组织( SP, ×200 )

Fig. 5 Immunohistochemistry assay of 15G6 mAb and 12B8 mAb. ( SP, ×200 )

- A: Esophageal carcinoma tissue detected by 15G6 mAb;
- B: Esophageal carcinoma tissue detected by 12B8 mAb;
- C: Esophageal para-tumor tissue detected by 15G6 mAb;
- D: Esophageal para-tumor tissue detected by 12B8 mAb

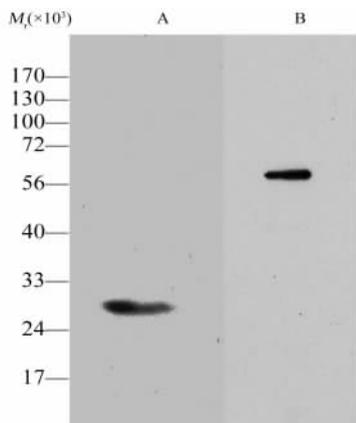


图 6 Western blotting 检测 15G6 和 12B8 单抗所识别的食管癌抗原蛋白

Fig. 6 Western blotting analysis of esophageal carcinoma antigen protein recognized by 15G6 and 12B8

- A: 15G6 mAb recognized a 30 000 antigen;
- B: 12B8 mAb recognized a 60 000 antigen

### 3 讨论

本研究从人食管癌新鲜组织标本中分离单个肿瘤细胞,经固定后免疫 BALB/c 小鼠 12 个月,固定细胞免疫荧光和活细胞免疫荧光检测免疫血清的抗体滴度分别为 1:50 000 以上和 1:6 000 以上。肿瘤细胞-内皮细胞黏附实验检测发现免疫血清稀释 1:800 时仍能显著抑制食管癌细胞 YES2 与正常人肺内皮的黏附;而

正常鼠血清在 1:100 时已不能抑制 YES2 与正常人肺内皮的黏附。这些结果表明免疫血清中含有能抑制食管癌细胞黏附的功能性抗体。

本实验改良了传统的单克隆抗体制备方法,建立和完善了高通量制备和筛选阳性单抗的方法。融合后的克隆采用活细胞免疫荧光实验筛选获得了 486 个抗食管癌细胞膜蛋白的阳性单抗杂交瘤株,再采用免疫组化法检测这些阳性克隆上清与人正常食管组织切片的反应,排除与正常食管组织反应的克隆,获得了 294 株能较特异与食管癌细胞反应而不与正常食管细胞反应的克隆。采用食管癌细胞 YES2 与人正常肺内皮黏附试验对 294 株阳性克隆进行了功能性筛选,结果发现了 33 株单抗克隆能显著抑制食管癌细胞与正常肺内皮的黏附,其中 15 株单抗的抑制率达 50% 以上,同时还发现了 8 株能促进食管癌细胞黏附的功能性抗体。这些研究结果表明本研究建立和优化的高通量制备抗肿瘤的单克隆抗体方法不仅可以获得大量的抗肿瘤细胞膜蛋白的单抗,还能获得抑制或促进肿瘤细胞黏附的功能性抗体。而采用传统的单抗制备方法研制抗肿瘤单抗,因筛选的起始克隆数少,筛选阳性克隆难以实现高通量,常常只能获得几株或十几株抗肿瘤的单抗,很难获得识别肿瘤细胞膜蛋白的单抗,更不容易获得具有功能的单抗。这是多年来很少获得有临床治疗价值的抗肿瘤单抗的重要原因。

本课题在能显著抑制食管癌黏附的 15 株功能性单抗中选择了抑制作用最强的 2 株单抗 15G6 和 12B8,进一步检测其对食管癌黏附的抑制作用分别达 92.0% 和 81.7%;免疫组化检测其食管癌组织的阳性率分别为 70% 和 50%,检测其癌旁组织的阳性率分别为 20% 和 10%,显示具有一定的肿瘤特异性。要进一步地明确这两株单抗的特异性还需要增加标本。但现可基本确认该 2 株能显著抑制食管癌与正常肺内皮黏附的功能性抗体可能具有抑制食管癌肺转移的潜在治疗价值。

提取食管癌细胞 YES2 的膜蛋白,用 15G6 和 12B8 两株单抗进行的 Western blotting 实验显示,该 2 株单抗识别的黏附分子的相对分子质量分别约为 30 000 和 60 000。下一步将用这 2 株单抗分离获得所识别的黏附分子,质谱鉴定获得其氨基酸序列,进而确定并获得相应的功能性基因,从而在基因水平上研究其功能及抑制肿瘤黏附的作用机制,最终为治疗食管癌肺转移提供新的靶位,也将为进一步研制能用于靶向治疗食管癌肺转移的人源化抗体生物药奠定重要基础<sup>[14-16]</sup>。

### [ 参考文献 ]

[ 1 ] Chibana Y, Fujii S, Ichikawa K, et al. Tumor cell dissociation

score highly correlates with lymph node metastasis in superficial esophageal carcinoma [ J ]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2005, 20( 9 ): 1371-1378.

- [ 2 ] Beckman M. CAMs are stopping cancer in its metastatic tracks [ J ]. *J Natl Cancer Inst*, 2006, 98( 9 ): 576-577.
- [ 3 ] Chan AO. E-cadherin in gastric cancer [ J ]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12( 2 ): 199-203.
- [ 4 ] 郑斌斌. 血管黏附分子在食管癌中的表达及其临床意义 [ J ]. *广州医学院学报*, 2004, ( 3 ): 31-33.
- [ 5 ] Heidemann J, Maaser C, Luger A, *et al.* Expression of vascular cell adhesion molecule-1 ( CD 106 ) in normal and neoplastic human esophageal squamous epithelium [ J ]. *Int J Oncol*, 2006, 28( 1 ): 77-85.
- [ 6 ] Delektorskaia VV, Perevoshchikov AG, Kushlinskii NE, *et al.* The features of expression of cellular adhesion molecules in primary colorectal cancer and its metastases [ J ]. *Vopr Onkol*, 2005, 51 ( 3 ): 328-333.
- [ 7 ] Kim MK, Odgerel Z, Kim MJ, *et al.* Application of monoclonal antibody, specific for intracellular orientia tsutsugamushi, to immunofluorescent antibody test for determining antibiotic susceptibility [ J ]. *Microbiol Immunol*, 2004, 48( 9 ): 655-660.
- [ 8 ] 张立勇, 丁 芳, 刘仲敏, 等. SLP-2 基因反义核酸对食管鳞癌细胞系 TE12 生长和繁殖的影响 [ J ]. *癌症*, 2005, 24( 2 ): 155-159.
- [ 9 ] Wu H, Lotan R, Menter D, *et al.* Expression of E-cadherin is associated with squamous differentiation in squamous cell carcinomas

[ J ]. *Anticancer Res*, 2000, 20( 3A ): 1385-1390.

- [ 10 ] Streit M, Schmidt R, Hilgenfeld RU, *et al.* Adhesion receptors in malignant transformation and dissemination of gastrointestinal tumors [ J ]. *J Mol Med*, 1996, 74( 5 ): 253-268.
- [ 11 ] Shiozaki H, Tahara H, Oka H, *et al.* Expression of immunoreactive E-cadherin adhesion molecules in human cancers [ J ]. *Am J Pathol*, 1991, 139( 1 ): 17-23.
- [ 12 ] Roye GD, Myers RB, Brown D, *et al.* CD44 expression in dysplastic epithelium and squamous-cell carcinoma of the esophagus. [ J ] *Int J Cancer*, 1996, 69( 4 ): 254-258.
- [ 13 ] Che Y, Luo A, Wang H, *et al.* The differential expression of SPARC in esophageal squamous cell carcinoma. [ J ] *Int J Mol Med*, 2006, 17( 6 ): 1027-1033.
- [ 14 ] Li P, Ling Z, Yang H, *et al.* Expression profile of metastasis-associated genes in esophageal squamous cell carcinoma [ J ]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2006, 26( 2 ): 167-171.
- [ 15 ] Saad RS, El-Gohary Y, Memari E, *et al.* Endoglin ( CD105 ) and vascular endothelial growth factor as prognostic markers in esophageal adenocarcinoma [ J ]. *Hum Pathol*, 2005, 36( 9 ): 955-961.
- [ 16 ] Stoecklein NH, Siegmund A, Scheunemann P, *et al.* Ep-CAM expression in squamous cell carcinoma of the esophagus: A potential therapeutic target and prognostic marker [ J ]. *BMC Cancer*, 2006, 6: 165.

[ 收稿日期 ] 2006 - 06 - 28

[ 修回日期 ] 2006 - 09 - 18

[ 本文编辑 ] 韩 丹

· 简 讯 ·

《中国肿瘤生物治疗杂志》2007 年度征订启事

《中国肿瘤生物治疗杂志》是由中国免疫学会和中国抗癌协会联合主办的国家级医学学术期刊( 刊号为 CN31 - 1725/R ), 双月刊。本刊为中国科技论文统计源期刊、医学核心期刊, 已被《中国科技论文与引文数据库》、《中国科学引文数据库》、《中国学术期刊综合评价数据库》、《中文生物医学期刊文献数据库》、《中国核心期刊( 遴选 ) 数据库》、《中国学术期刊文摘》、《中国医学文摘》及美国《化学文献》( CA ) 等国内外多数权威数据库和文摘刊物收录。

本刊为中国肿瘤生物治疗领域唯一的高级学术刊物, 重点报道我国肿瘤生物治疗方面基础理论与临床的最新研究成果、新实验技术及其学术进展, 宣传我国肿瘤生物治疗的政策和发展策略。主要栏目有述评、专家论坛、论著、研究快报、学术争鸣、技术方法、文献综述、专题讲座、科技动态等。以肿瘤防治专业的中高级临床和科研工作者、医药院校师生及其他相关学科的科技人员为读者对象。

《中国肿瘤生物治疗杂志》每期定价 8.00 元, 全年定价 48.00 元, 邮发代号: 4 - 576, 请通过邮局订阅。若错过, 可从本刊编辑部补订, 请将 48.00 元( 优惠免邮资 ) 寄本刊编辑部, 并注明详细通讯地址及邮政编码, 编辑部将负责如期寄至您的手中。

联系地址: 上海市翔殷路 800 号第二军医大学免疫楼

《中国肿瘤生物治疗杂志》编辑部

联系人: 王莹, 韩丹

邮政编码: 200433

联系电话: 021 - 55620605 × 22; 021 - 25070316 × 22; 传 真: 021 - 25074547

http: www. biother. org; E - mail: cjcb@ biother. org