

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X·2009·01·007

· 基础研究 ·

## 黏蛋白 1 多肽对 T 淋巴瘤 Jurkat 细胞生长的抑制及其机制

马吉春, 赵小霞, 高航, 方芳, 周静, 宋献美, 柳忠辉, 台桂香\* (吉林大学白求恩医学院免疫学教研室, 长春 130021)

**[摘要]** 目的: 探讨黏蛋白 1 (mucin 1, MUC1) 多肽对人 T 淋巴瘤 Jurkat 细胞生长的抑制作用及其机制。方法: 将 MUC1 多肽与 Jurkat 细胞共同培养, 锥虫蓝染色法观察 MUC1 多肽对该细胞生长的影响; 流式细胞术检测 Jurkat 细胞生长周期及其细胞表面 MUC1 的表达; Annexin V/PI 双标记法检测 Jurkat 细胞的凋亡; 应用抗体封闭实验检测 MUC1 多肽在 Jurkat 细胞表面作用的位点。结果: 10、20、40  $\mu\text{g/ml}$  MUC1 多肽作用使 Jurkat 细胞生长抑制分别达  $(32 \pm 4)\%$ 、 $(37 \pm 2)\%$ 、 $(46 \pm 5)\%$ , 未见凋亡细胞。流式细胞术检测结果表明 MUC1 多肽可诱导 Jurkat 细胞周期阻滞在  $G_0/G_1$  期, 在 Jurkat 细胞表面有 MUC1 蛋白的表达。采用 5  $\mu\text{g/ml}$  和 25  $\mu\text{g/ml}$  抗 MUC1 抗体封闭 Jurkat 细胞表面 MUC1 表位后, MUC1 多肽对细胞生长的抑制效应几乎全部消失。结论: MUC1 多肽能明显抑制 Jurkat 细胞生长, 其机制与该多肽通过和 Jurkat 细胞表面 MUC1 蛋白相互作用导致细胞周期阻滞在  $G_0/G_1$  期有关。

**[关键词]** 黏蛋白 1 多肽; Jurkat 细胞; 生长抑制; 细胞周期

**[中图分类号]** R733.4

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2009)01-029-05

## Soluble mucin 1 peptide inhibits proliferation of T lymphoma Jurkat cells and its related mechanisms

MA Ji-chun, ZHAO Xiao-xia, GAO Hang, FANG Fang, ZHOU Jing, SONG Xian-mei, LIU Zhong-hui, TAI Gui-xiang\* (Department of Immunology, Norman Bethune College of Medicine, Jilin University, Changchun 130021, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the inhibitory effect of mucin 1 (MUC1) peptide on the proliferation of T lymphoma Jurkat cells and the related mechanism. **Methods:** Jurkat cells were co-cultured with MUC1 peptide and effects of MUC1 peptide on Jurkat cell growth was examined by Trypan Blue staining. Cell cycle of Jurkat cells and membrane MUC1 protein expression were determined by flow cytometry. The apoptosis of Jurkat cells was examined by Annexin V/PI double staining. To further analyze whether soluble MUC1 peptide interacts with membrane MUC1 protein, MUC1 protein binding sites on the surface of Jurkat cells was blocked by an anti-MUC1 polyclonal antibody. **Results:** Proliferation of Jurkat cells was inhibited by soluble MUC1 peptide in a dose-dependent manner (MUC1 at 10, 20, and 40  $\mu\text{g/ml}$  resulted in inhibitory rates of  $(32 \pm 4)\%$ ,  $(37 \pm 2)\%$ , and  $(46 \pm 5)\%$ , respectively). No apoptosis was observed. Soluble MUC1 peptide induced  $G_0/G_1$  phase cell cycle arrest of Jurkat cells and membrane MUC1 protein was expressed on the surface of Jurkat cells. The inhibition of Jurkat cells by soluble MUC1 peptide was almost totally reversed by anti-MUC1 polyclonal antibodies at the concentrations of 5  $\mu\text{g/ml}$  to 25  $\mu\text{g/ml}$ . **Conclusion:** It is suggested that soluble MUC1 peptide can inhibit proliferation of Jurkat cells by interacting with membrane MUC1 protein on Jurkat cells and inducing  $G_0/G_1$  phase cell cycle arrest.

**[Key words]** mucin 1 (MUC1) peptide; Jurkat cells; growth inhibition; cell cycle

[Chin J Cancer Biother, 2009, 16(1): 29-33]

黏蛋白 1 (mucin 1, MUC1) 是 mucin 黏蛋白家族成员之一, 由多肽骨架和侧枝糖链构成, 主要分布在上皮细胞及其来源的肿瘤细胞 (乳腺癌、卵巢癌、肺癌、胰腺癌等) 以及多种血液肿瘤细胞表面。正常组织的 MUC1 与肿瘤组织不同, 前者糖基化丰富, 与免疫细胞相对隔离; 而后者异常丰富地表达于癌细胞表面, 糖基化不完全, 因此暴露出正常情况下隐蔽

**[基金项目]** 吉林省科技发展计划项目 (No. 20080931)。Supported by the Science and Technology Development Program of Jilin Province (No. 20080931)。

**[作者简介]** 马吉春 (1980-), 女, 黑龙江省嫩江县人, 博士生, 主要从事肿瘤免疫方面的研究

\* 通讯作者 (Corresponding author). E-mail: taiguixiang@163.com

的表位,成为免疫细胞攻击的靶点<sup>[1]</sup>。MUC1 通过 RNA 选择性剪切产生 3 种同种型: MUC1/REP, MUC1/SEC 和 MUC1/Y<sup>[2]</sup>。MUC1/REP 为膜结合型 MUC1, MUC1/SEC 为分泌型 MUC1, 两者均含有 20 个氨基酸的串联重复序列(VNTR); MUC1/Y 不含 VNTR, 分子较小。

膜结合型 MUC1 生物学功能除润滑、保护及调节细胞间的黏附等机械作用外, 还可通过各种途径参与肿瘤的侵袭和转移<sup>[3]</sup>。近年研究发现, 膜结合型 MUC1 作为一个癌基因可导致正常细胞转化并可抑制细胞凋亡<sup>[4,6]</sup>。在高表达 MUC1 腺癌患者体液中可发现较高含量的可溶性 MUC1<sup>[7]</sup>, 肿瘤来源的可溶性 MUC1 不能被 DC 细胞提呈, 因此限制 Th1 活化<sup>[8]</sup>, 从而使肿瘤细胞逃逸免疫系统的监视。还有报道<sup>[9]</sup>表明肿瘤细胞分泌可溶性 MUC1 可以直接抑制 T 细胞的增殖, 使其阻滞于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期。MUC1 作为癌基因在肿瘤细胞恶性转化中起重要作用, 但 MUC1 多肽对肿瘤细胞直接作用尚未见文献报道。本研究拟探讨 MUC1 多肽直接作用对 Jurkat 细胞生长的影响, 并深入探讨其作用机制, 为肿瘤治疗提供新的思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要实验材料

新生牛血清(NCS)购自杭州四季青公司, IMDM (Iscove's Modified Dulbecco's Medium) 购于 Gibco 公司。MUC1 多肽(由 MUC1 黏蛋白核心肽外串联重复序列组成, 共含有 130 个氨基酸)及纯化的兔抗人 MUC1 多克隆抗体为本室制备<sup>[10]</sup>。小鼠抗人 MUC1(HMPV)单克隆抗体购于美国 BD 公司, 小鼠抗人 MUC1(GP1.4)单克隆抗体购于英国 Thermo Scientific 公司, FITC 标记的羊抗小鼠荧光抗体购于美国 Santa Cruz 公司。淋巴细胞分离液、植物血凝素(PHA)、叠氮钠(NaN<sub>3</sub>)、锥虫蓝(Trypan Blue)购于美国 Sigma 公司; 吉姆萨(Giemsa)购于上海生物工程有限公司; Annexin V/PI 试剂盒购于南京凯基生物科技发展有限公司。T 淋巴瘤细胞株 Jurkat 购于美国 ATCC。

### 1.2 细胞培养

T 淋巴瘤细胞株 Jurkat 在含 10% 新生牛血清、100 U/ml 青霉素、100 U/ml 链霉素的 IMDM 培养液、5% CO<sub>2</sub> 孵箱 37 °C 条件下培养。

### 1.3 锥虫蓝染色法检测 MUC1 多肽对 Jurkat 细胞生长的影响

取对数生长期 Jurkat 细胞, 调密度至  $1 \times 10^6$  /

ml, 加入 96 孔板 100  $\mu$ l/孔, 并加入 MUC1 多肽 100  $\mu$ l/孔(终质量浓度为 10、20、40  $\mu$ g/ml), 5% CO<sub>2</sub> 孵箱中 37 °C 培养 48 h。采用锥虫蓝染色法计数活细胞。

生长抑制率(%) = (1 - 实验组细胞数/对照组细胞数) × 100%。

### 1.4 锥虫蓝染色法检测 MUC1 多肽对活化的人淋巴细胞生长的影响

采用淋巴细胞分离液分离健康人外周血淋巴细胞, 调细胞密度至  $2 \times 10^6$  /ml, 加入 96 孔板, 5  $\mu$ g/ml PHA 刺激 72 h, PBS 洗涤 2 次, 用 100 U/ml IL-2 刺激 72 h。然后 IMDM 调淋巴细胞密度至  $1.5 \times 10^6$  /ml, 加入 96 孔板, 并加入 MUC1 多肽至终质量浓度为 10、20、40  $\mu$ g/ml, 在 5% CO<sub>2</sub> 孵箱中 37 °C 培养 48 h, 锥虫蓝染色计数活细胞数。

### 1.5 显微镜下观察 Jurkat 细胞形态

分别收集对照组和经 MUC1 多肽 40  $\mu$ g/ml 刺激 48 h 的 Jurkat 细胞, 涂片, 采用 Giemsa 染色液染色 10 ~ 15 min, 水洗, 晾干后甘油封片, 置于显微镜下观察。

### 1.6 Annexin V/PI 双标记法检测 Jurkat 细胞凋亡

分别收集  $5 \times 10^5$  个对照组和经 MUC1 多肽 40  $\mu$ g/ml 刺激 48 h 的 Jurkat 细胞, 冷 PBS 洗涤 2 次后, 重悬于 500  $\mu$ l 结合缓冲液, 加入 5  $\mu$ l Annexin V-FITC 和 5  $\mu$ l PI 混合, 冰上避光孵育 30 min, 流式细胞仪检测细胞凋亡率。

### 1.7 流式细胞术检测 MUC1 多肽对 Jurkat 细胞周期的影响

分别收集  $1 \times 10^6$  个对照组和经 MUC1 多肽 40  $\mu$ g/ml 刺激 48 h 的 Jurkat 细胞, PBS 洗涤 2 次后, 加 PI 染色液 0.5 ml (50  $\mu$ g/ml PI, 10  $\mu$ g/ml RNase A, 0.03% TritonX-100) 避光染色 30 min, 用流式细胞仪进行检测。

### 1.8 流式细胞术检测 Jurkat 细胞表面 MUC1 表达

取  $1 \times 10^6$  个对数生长期 Jurkat 细胞, PBS 洗涤 2 次, 0.5% 多聚甲醛冰上固定 1 h, FCM 液(含 0.1% NaN<sub>3</sub>、2% NCS 的 PBS 溶液)洗 2 次, 加小鼠抗人 MUC1 单克隆抗体(HMPV)至终质量浓度为 5  $\mu$ g/ml, 冰上孵育 30 min, FCM 液洗 2 次, 加入 FITC 标记的羊抗小鼠 IgG 荧光抗体至终质量浓度为 15  $\mu$ g/ml, 冰上孵育 30 min, FCM 液洗 2 次, 用流式细胞仪进行检测。

### 1.9 Jurkat 细胞表面 MUC1 蛋白表位的封闭实验

首先采用抗 MUC1 多克隆抗体封闭 Jurkat 细胞 MUC1 的结合位点, 然后再用 20、40  $\mu$ g/ml MUC1 多

肽刺激。每个 MUC1 多肽剂量分别设 6 组:阴性对照组不加任何刺激;抗体对照组 I 和抗体对照组 II 分别经过 5、25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  抗体封闭但不加 MUC1 多肽;实验组 I 未经抗体处理直接加 MUC1 多肽;实验组 II 和实验组 III,分别经过 5、25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  抗体封闭后加 MUC1 多肽。实验如下:将抗人 MUC1 多克隆抗体 100  $\mu\text{l}$ (终质量浓度为 5、25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 加入  $2 \times 10^6$  Jurkat 细胞中,37  $^{\circ}\text{C}$  孵箱培养 1 h 后 PBS 洗涤 3 次。IMDM 调细胞密度至  $1 \times 10^6/\text{ml}$ ,100  $\mu\text{l}/\text{孔}$  加入 96 孔板中,加入 MUC1 多肽 100  $\mu\text{l}/\text{孔}$ ,至终质量浓度为 20、40  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ,5%  $\text{CO}_2$  孵箱 37  $^{\circ}\text{C}$  培养 48 h,锥虫蓝染色计活细胞数。

1.10 统计学处理

所有数据均为 3 次独立实验结果,并采用 SPSS10.0 软件进行统计学处理,数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,各项指标组间比较采用  $t$  检验。

2 结果

2.1 MUC1 多肽对 Jurkat 细胞生长的抑制作用

如图 1 所示,MUC1 多肽以剂量依赖关系抑制 Jurkat 细胞的生长,与对照组相比 MUC1 多肽 10、20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  刺激时,Jurkat 细胞增殖的抑制率分别达到  $(32 \pm 4)\%$  ( $P > 0.05$ ) 和  $(32 \pm 2)\%$  ( $P < 0.05$ )。40  $\mu\text{g}/\text{ml}$  时,Jurkat 细胞增殖被显著抑制,抑制率达到  $(46 \pm 5)\%$  ( $P < 0.01$ )。为检测 MUC1 多肽能否诱导 Jurkat 细胞凋亡,通过 Giemsa 染色结果显示,MUC1 多肽 40  $\mu\text{g}/\text{ml}$  刺激 48 h 的 Jurkat 细胞与对照组细胞相比,细胞形态学未见明显改变,未见凋亡细胞。进一步采用 Annexin V 和 PI 双染法仍未见凋亡细胞(图 2)。

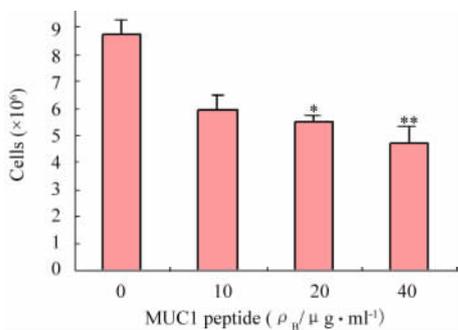


图 1 MUC1 多肽对 Jurkat 细胞生长的抑制作用  
Fig.1 Inhibitory effect of soluble MUC1 peptide on growth of Jurkat cells

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs 0  $\mu\text{g}/\text{ml}$

2.2 MUC1 多肽对活化的人淋巴细胞生长的影响

将人外周血淋巴细胞通过 PHA 活化及 IL-2 扩增后,加入 MUC1 多肽培养 48 h,活细胞计数结果显示,MUC1 多肽对活化的人淋巴细胞的生长几乎无影响(图 3)。

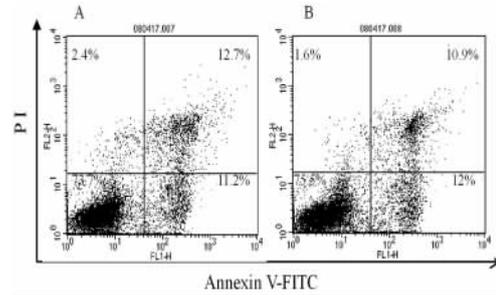


图 2 MUC1 多肽诱导 Jurkat 细胞凋亡检测结果  
Fig.2 Apoptosis of Jurkat cells induced by MUC1 peptide  
A: Control Jurkat cells; B: Jurkat cells were cultured for 48 h with MUC1 peptide in 40  $\mu\text{g}/\text{ml}$

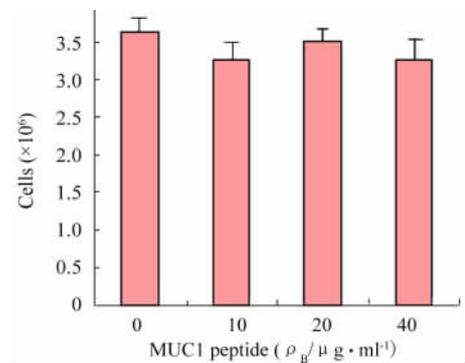


图 3 MUC1 多肽对活化的人外周血淋巴细胞生长的影响  
Fig.3 Effect of soluble MUC1 peptide on proliferation of activated human peripheral blood lymphocytes

2.3 MUC1 多肽诱导 Jurkat 细胞周期阻滞

采用流式细胞术检测 40  $\mu\text{g}/\text{ml}$  MUC1 多肽刺激 48 h 后 Jurkat 细胞的生长周期,结果(图 4)显示,Jurkat 细胞的 S 期细胞由 76.47% 降至 72.41%, $G_2/M$  期细胞数由 9.05% 降至 7.36%, $G_0/G_1$  期细胞由 14.03% 增加到 20.24%,但未见凋亡峰。提示 MUC1 多肽诱导 Jurkat 细胞生长抑制,细胞周期阻滞在  $G_0/G_1$  期。

2.4 MUC1 蛋白在 Jurkat 细胞表面的表达

为检测 MUC1 多肽对 Jurkat 细胞生长抑制机制,应用流式细胞术对 Jurkat 细胞表面 MUC1 的表达进行检测。结果如图 5 所示,Jurkat 细胞表面表达 MUC1 蛋白,实验组细胞的表达率为 86.5%,对照组细胞表达率为 0.2%。

### 2.5 细胞表面 MUC1 表位的封闭可阻止 MUC1 多肽对 Jurkat 细胞生长的抑制

为检测 MUC1 多肽是否通过结合细胞表面 MUC1 蛋白发挥作用, 首先采用抗 MUC1 抗体封闭细胞上 MUC1 结合位点, 然后用 MUC1 多肽刺激细胞。结果显示, 经抗体( 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  或 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  )处理但未经 MUC1 多肽刺激的 Jurkat 细胞生长略有抑制, 抑制率为( 10  $\pm$  3 )% 或( 14  $\pm$  2 )%。未经抗体处理, 单纯用 MUC1 多肽 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  或 40  $\mu\text{g}/\text{ml}$  刺激的 Jurkat 细胞生长均出现有明显抑制, 抑制率分别为( 45  $\pm$  3 )% 或( 47  $\pm$  3 )% (  $P < 0.01$  ); 当用 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  及 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  抗 MUC1 抗体封闭 Jurkat 细胞表面 MUC1 表位以后, 再用 MUC1 多肽 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  刺激 Jurkat 细胞时, MUC1 诱导的细胞生长抑制率分别为( 14  $\pm$  4 )% 和( 15  $\pm$  5 )% ; 而用 MUC1 多肽 40  $\mu\text{g}/\text{ml}$  刺激 Jurkat 细胞时, MUC1 多肽诱导的细胞生长抑制率分别为( 23  $\pm$  5 )% 和( 18  $\pm$  4 )%。结果提示, 当 Jurkat 细胞经抗体封闭后再用 MUC1 多肽刺激, 细胞增殖程度基本上恢复到单纯用抗体处理的抗体对照组水平。结果表明, 抗 MUC1 抗体对 Jurkat 细胞表面 MUC1 蛋白的封闭, 阻断了 MUC1 多肽对 Jurkat 细胞生长的抑制作用, 提示 MUC1 多肽可通过与细胞表面 MUC1 蛋白结合发挥对 Jurkat 细胞生长的抑制作用( 图 6 )。

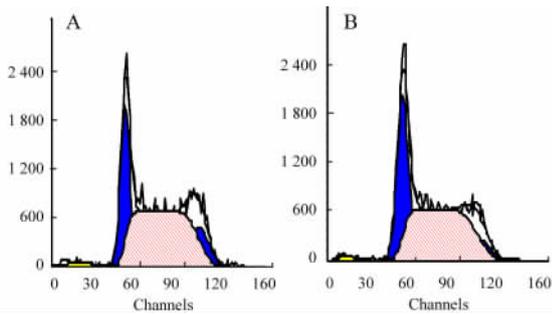


图 4 MUC1 多肽诱导 Jurkat 细胞周期阻滞  
Fig. 4 Cell cycle arrest of Jurkat cells induced by MUC1 peptide

A: Negative control; B: Jurkat cells were cultured for 48 h with MUC1 peptide in 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$

### 3 讨论

MUC1 是黏蛋白家族成员, 因其在肿瘤细胞与正常组织中的不同使其成为肿瘤疫苗研究的热点<sup>[1,11]</sup>。本研究发现 MUC1 多肽具有明显抑制 Jurkat 细胞生长的作用, 为探讨其作用机制, 进一步观察 MUC1 多肽能否诱导 Jurkat 细胞凋亡, Giemsa 染

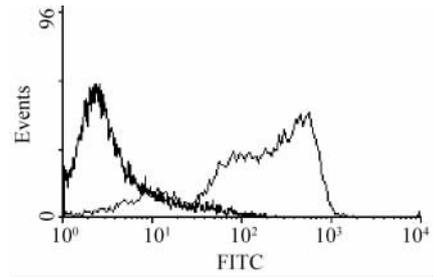


图 5 流式细胞仪检测 MUC1 在 Jurkat 细胞表面的表达  
Fig. 5 Expression of membrane MUC1 on surface of Jurkat cells detected by FCM

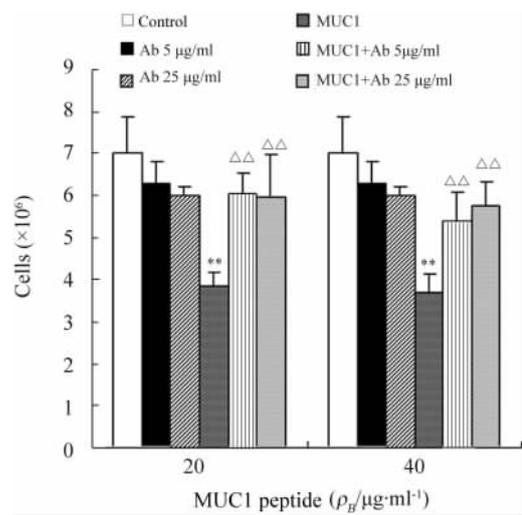


图 6 细胞表面 MUC1 蛋白表位封闭后 MUC1 多肽对 Jurkat 细胞生长的影响

Fig. 6 Effect of MUC1 peptide on growth of Jurkat cells pre-treated with anti-MUC1 antibody

\*\*  $P < 0.01$  vs control group;  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs MUC1 group

色和 Annexin V/PI 染色结果均未见明显的凋亡细胞。对 Jurkat 细胞生长周期检测结果显示, MUC1 多肽可诱导细胞周期阻滞在  $G_0/G_1$  期。研究<sup>[12-13]</sup>发现, 一些具有黏蛋白特点的分子可以作为配基与其自身受体结合, 例如 P-选择素糖蛋白配基 1 是黏蛋白样的糖蛋白, 经过适当的翻译后修饰可与 P-选择素结合。Baruch 等<sup>[2]</sup>报道体外及体内实验发现, 细胞膜上 MUC1/Y 可以与可溶性的 MUC1/SEC 结合。课题组设想 MUC1 多肽是否通过与 Jurkat 细胞表面 MUC1 蛋白的结合, 从而抑制 Jurkat 细胞生长。为了证实这一设想, 本研究首先采用流式细胞术检测 Jurkat 细胞表面 MUC1 分子的表达。结果显示 Jurkat 细胞表面表达 MUC1 分子, 与以往的研究结果一致<sup>[13]</sup>。进一步采用抗 MUC1 抗体封闭 Jurkat

细胞表面 MUC1 蛋白的结合位点,再通过 MUC1 多肽刺激,结果发现 MUC1 多肽对 Jurkat 细胞生长的抑制几乎全部消失,提示 MUC1 多肽可通过结合细胞表面 MUC1 结合位点发挥对细胞的抑制作用,这种结合可能向细胞内传导生长抑制信号。但细胞内的信号如何传递还有待于进一步探讨。如果 MUC1 多肽作为治疗血液肿瘤药物开发利用,首先应排除其对正常 T 细胞的影响,因此,本研究探讨了 MUC1 多肽对人外周血活化 T 细胞的作用,结果表明其对活化的正常 T 细胞无明显影响。最初在 1999 年 Chan 等<sup>[9]</sup>报道从正常上皮细胞分离的 MUC1 蛋白对 T 细胞增殖有抑制作用,但在 2002 年 Fattorossi 等<sup>[14]</sup>发现可溶性 MUC1 蛋白对 T 细胞增殖无影响。与上述研究不同的是,本研究选用的是重组的 MUC1 多肽,没有任何糖基化,通过实验证实了它对活化的正常 T 细胞无明显影响作用。

众所周知高表达的甲胎蛋白 AFP 作为一种癌基因,可以直接促进肿瘤细胞的生长,但是该蛋白内存在一个生长抑制基序,这个生长抑制基序作为一个隐藏的分子表位,近年来才被鉴定。这个基序有 32 个氨基酸,被称为生长抑制肽(GIP),已被化学合成并纯化。在体外试验中发现 GIP 具有抗癌活性,它可以抑制 9 种不同类型的癌细胞的生长<sup>[15]</sup>,其中对结肠癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌细胞具有明显的抑制作用,抑制率约达 80%;而对白血病细胞的抑制率较低,一般只有 15% 左右。该研究结果与本研究结果类似,进一步说明肿瘤抗原多肽具有抗肿瘤作用,上述研究为肿瘤治疗提供全新的方向。

本研究首次发现了细胞表面 MUC1 多肽(130 氨基酸)具有抑制血液肿瘤细胞生长的作用,而对正常淋巴细胞并无明显的影响。这一发现为肿瘤治疗提供了新思路。可以设想,其他肿瘤抗原也存在抑制性多肽,不同肿瘤相关抗原多肽可治疗不同的肿瘤,每一种肿瘤抗原多肽抗肿瘤谱可能不同。如果这一设想被证实,将可为恶性肿瘤的治疗提供一种新的有效手段。

## [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Yang E, Hu XF, Xing PX. Advances of MUC1 as a target for breast cancer immunotherapy [ J ]. *Histol Histopathol*, 2007, 22 ( 8 ): 905-922.
- [ 2 ] Baruch A, Hartmann M, Yoeli M, *et al.* The breast cancer-asso-

ciated MUC1 gene generates both a receptor and its cognate binding protein [ J ]. *Cancer Res*, 1999, 59( 7 ): 1552-1561.

- [ 3 ] LinksSingh PK, Wen Y, Swanson BJ, *et al.* Platelet-derived growth factor receptor beta-mediated phosphorylation of MUC1 enhances invasiveness in pancreatic adenocarcinoma cells [ J ]. *Cancer Res*, 2007, 67( 11 ): 5201-5210.
- [ 4 ] Leng Y, Cao C, Ren J, *et al.* Nuclear import of the MUC1-C oncoprotein is mediated by nucleoporin Nup62 [ J ]. *J Biol Chem*, 2007, 282( 27 ): 19321-19330.
- [ 5 ] Meerzaman D, Shapiro PS, Kim KC. Involvement of the MAP kinase ERK2 in MUC1 mucin signaling [ J ]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2001, 281( 1 ): L86-91.
- [ 6 ] Wei X, Xu H, Kufe D, *et al.* Human mucin 1 oncoprotein represses transcription of the p53 tumor suppressor gene [ J ]. *Cancer Res*, 2007, 67( 4 ): 1853-1858.
- [ 7 ] Creaney J, Segal A, Sterrett G, *et al.* Overexpression and altered glycosylation of MUC1 in malignant mesothelioma [ J ]. *Br J Cancer*, 2008, 98( 9 ): 1562-1569.
- [ 8 ] Monti P, Leone BE, Zerbi A, *et al.* Tumor-derived MUC1 mucins interact with differentiating monocytes and induce IL-10<sup>high</sup>IL-12<sup>low</sup> regulatory dendritic cell [ J ]. *J Immunol*, 2004, 172( 12 ): 7341-7349.
- [ 9 ] Chan AK, Lockhart DC, von Bernstorff W, *et al.* Soluble MUC1 secreted by human epithelial cancer cells mediates immune suppression by blocking T-cell activation [ J ]. *Int J Cancer*, 1999, 82 ( 5 ): 721-726.
- [ 10 ] 马吉春. 重组 MUC1 融合蛋白的制备及检测 MUC1 双抗体夹心 ELISA 方法的建立 [ D ]. 长春: 吉林大学白求恩医学院, 2007.
- [ 11 ] 于秀文,冯美燕,王静芬. 黏蛋白 MUC1、MUC2 在大肠腺癌中的表达及其临床意义 [ J ], *肿瘤防治研究*, 2004, 31( 4 ): 217-219.
- [ 12 ] Pouyani T, Seed B. PSGL-1 recognition of P-selectin is controlled by a tyrosine sulfation consensus at the PSGL-1 amino terminus [ J ]. *Cell*, 1995, 83( 2 ): 333-343.
- [ 13 ] Mukherjee P, Tinder TL, Basu GD, *et al.* MUC1 ( CD227 ) interacts with lak tyrosine kinase in Jurkat lymphoma cells and normal T cell [ J ]. *J Leukoc Biol*, 2005, 77( 1 ): 90-99.
- [ 14 ] Fattorossi A, Battaglia A, Malinconico P, *et al.* Constitutive and inducible expression of the epithelial antigen MUC1 ( CD227 ) in human T cells [ J ]. *Exp Cell Res*, 2002, 280( 1 ): 107-118.
- [ 15 ] Mizejewski GJ, Muehleman M, Dauphinee M, *et al.* Update of alpha fetoprotein growth-inhibitory peptides as biotherapeutic agents for tumor growth and metastasis [ J ]. *Chemotherapy*, 2006, 52 ( 2 ): 83-90.

[ 收稿日期 ] 2008 - 11 - 24 [ 修回日期 ] 2009 - 01 - 10

[ 本文编辑 ] 韩 丹