

## · 研究快报 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.04.002

**SELDI-TOF-MS 技术筛查预测乳腺癌患者曲妥珠单抗耐药的生物标志物**

郑弘宇<sup>a</sup>, 陈慧菁<sup>b</sup>, 吴凡<sup>a</sup>, 黄伟炜<sup>a</sup>, 陈强<sup>a</sup>, 叶韵斌<sup>b</sup> (福建医科大学教学医院福建省肿瘤医院 a. 内科; b. 肿瘤免疫学研究室, 福建福州, 350014)

**[摘要]** 目的: 应用表面加强激光解析电离化飞行时间质谱技术(surface enhanced laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry, SELDI-TOF-MS) 比较乳腺癌曲妥珠单抗治疗耐药患者与非耐药患者血清蛋白质谱的差异, 筛选预测乳腺癌患者曲妥珠单抗耐药的标志蛋白。方法: 选择福建省肿瘤医院 2008 年 1 月至 2009 年 10 月曲妥珠单抗治疗的乳腺癌患者 35 例, 以临床界定标准将患者分为耐药组(11 例)和非耐药组(24 例)。应用 SELDI-TOF-MS 技术检测两组患者外周血蛋白质表达谱的差异, 以差异蛋白峰值比 1.5 为耐药的蛋白界定标准, 以此标准判定患者耐药与否。分析该蛋白界定标准评判曲妥珠单抗耐药的灵敏度、特异度以及阳性预测值、阴性预测值。结果: 以临床界定标准评判的曲妥珠单抗耐药的发生与患者年龄、分期、腋窝淋巴结转移和 ER/PR 双阴无关。临床耐药组和非耐药组患者外周血蛋白质表达谱比较显示, 耐药患者的蛋白峰 7 971 Da、9 284 Da 显著降低 ( $P < 0.05$ )。以蛋白界定标准评判患者曲妥珠单抗耐药与非耐药, 7 971 Da 评判时的灵敏度为 81.82% (9/11)、特异度为 83.33% (20/24)、阳性预测值为 69.23% (9/13)、阴性预测值为 90.91% (20/22); 以 9 284 Da 评判时的灵敏度为 72.73% (8/11)、特异度为 79.17% (19/24)、阳性预测值为 61.54% (8/13)、阴性预测值为 86.36% (19/22)。结论: 应用 SELDI-TOF-MS 技术检测的差异蛋白质峰 7 971 Da、9 284 Da 似可作为预测乳腺癌患者曲妥珠单抗耐药的生物标志物。

**[关键词]** 表面加强激光解析电离化飞行时间质谱技术; 乳腺肿瘤; 曲妥珠单抗; 耐药; 生物标志物

**[中图分类号]** R446.69; R737.9

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2010)04-0368-06

**SELDI-TOF-MS technology in screening for biomarkers of trastuzumab resistance in breast cancer patients**

ZHENG Hong-yu<sup>a</sup>, CHEN Hui-jing<sup>b</sup>, WU Fan<sup>a</sup>, HUANG Wei-wei<sup>a</sup>, CHEN Qiang<sup>a</sup>, YE Yun-bin<sup>b</sup> (a. Department of Internal Medicine; b. Laboratory of Tumor Immunology, Fujian Provincial Tumor Hospital & Teaching Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350014, Fujian, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the serum protein mass spectra between trastuzumab resistant and non-resistant breast cancer patients by SELDI-TOF-MS (surface enhanced laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry), so as to screen for biomarkers of trastuzumab resistance. **Methods:** Thirty-five breast cancer patients undergoing trastuzumab therapy in Fujian Tumor Hospital from Jan. 2008 to Oct. 2009 were included in this study. They included 11 trastuzumab resistant patients and 24 non-resistant patients according to clinical trastuzumab resistance standard. Serum protein mass spectrum difference between trastuzumab resistance and non-resistant patients was detected by SELDI-TOF-MS, and a protein peak ratio of 1.5 was used as SELDI-TOF-MS trastuzumab resistance standard. We analyzed the sensibility, specificity, positive and negative predictive values of the SELDI-TOF-MS trastuzumab resistance standard. **Results:** Trastuzumab resistance assessed by clinical trastuzumab resistance standard was not correlated with ages, clinical stages, lymph node metastases and double-negative expression of ER/PR in breast cancer patients. The expression of serum protein peaks 7 971 Da, 9 284 Da in trastuzumab resistant patients were significantly decreased ( $P < 0.05$ ) by comparing the serum proteomic mass spectra of trastuzumab resistant and non-resistant patients. We then used SELDI-TOF-MS trastuzumab resistant definition to judge trastuzumab resistant and non-resistant patients; the sensibility was 81.82% (9/11),

**[基金项目]** 福建省自然科学基金资助项目(No. 2007J0263)。Project supported by the Natural Science Foundation of Fujian Province(No. 2007J0263)

**[作者简介]** 郑弘宇(1964-),男,福建省福安市人,副主任医师,主要从事乳腺癌防治的基础和临床研究工作。E-mail: zhyfjt@163.com

specificity was 83.33% (20/24), positive predictive value was 69.23% (9/13), and negative predictive value was 90.91% (20/22) when peak 7 971 Da was used; and the sensibility was 72.73% (8/11), specificity was 79.17% (19/24), positive predictive value was 61.54% (8/13) and negative predictive value was 86.36% (19/22) when peak 9 284 Da was used. **Conclusions:** Examination of serum protein peaks 7 971 Da and 9 284 Da expression by SELDI-TOF-MS technology in breast cancer patients may be used for predicting trastuzumab resistance.

[ **Key words** ] surface enhanced laser desorption ionization time of flight mass spectrometry ( SELDI-TOF-MS ); breast cancer; trastuzumab; drug resistance; biomarker

[ Chin J Cancer Biother, 2010, 17(4): 368-373 ]

HER2 蛋白是原癌基因 *CerbB2* (*Her2/neu*) 编码的具有受体酪氨酸激酶 (receptor tyrosine kinase, RTK) 活性的跨膜糖蛋白, 属表皮生长因子受体家族。HER2 活化下游信号通路如 PI3K/Akt、Ras/MAPK 等, 参与调节细胞增殖、分化、抗凋亡等过程, 与肿瘤形成密切相关<sup>[1-3]</sup>。20% ~ 25% 的浸润性乳腺癌过表达 HER2 蛋白, 导致相应的信号转导系统过度活化, 细胞增殖失控, 更具侵袭性, 更容易复发和耐药, 是乳腺癌预后不良的一项独立危险因素。

曲妥珠单抗 (trastuzumab) 能与 HER2 特异性结合, 在转移性乳腺癌及早期乳腺癌中, 曲妥珠单抗联合化疗较单用化疗能明显提高生存率<sup>[4-5]</sup>。但曲妥珠单抗治疗有效者常在 1 年内产生耐药, 所以探讨曲妥珠单抗的耐药机制以及寻找能预测曲妥珠单抗疗效的生物学指标有十分重要的临床意义。但目前临床上尚未有此指标。

蛋白质是细胞代谢和调控途径的主要执行者, 蛋白质组学研究对肿瘤的早期诊断、发病机制和新药研发有重要意义。表面加强激光解析电离化飞行时间质谱 (surface enhanced laser desorption ionization time of flight mass spectrometry, SELDI-TOF-MS) 是一种全新的蛋白质组学研究技术平台, 具有高通量、快速、敏感等特点, 利用不同类型芯片捕获样本中的相关蛋白质, 可以在少量的生物粗样本中同时发现多个低丰度的生物标志物<sup>[6]</sup>。

本研究应用 SELDI-TOF-MS 技术分析经含曲妥珠单抗方案治疗的乳腺癌患者中耐药和非耐药患者血清蛋白质谱的差异蛋白峰, 以期探寻能够预测曲妥珠单抗治疗敏感性的生物标志物。

## 1. 材料与方法

### 1.1 标本来源

收集 2007 年 6 月至 2009 年 10 月期间我院收治的经病理学检查确诊的 HER2 阳性的女性乳腺癌患者 35 例, 均使用含曲妥珠单抗的方案治疗, 年龄 35 ~ 65 岁 (中位年龄 48 岁)。其中术后辅助化疗患

者 25 例、晚期复发转移患者 10 例。化疗方案包括: 25 例表柔比星 + 环磷酰胺 4 周期序贯紫杉醇 4 周期 + 曲妥珠单抗 (常规化疗药物使用时间为治疗开始第 1 周到第 24 周), 10 例多西他赛 6 周期 + 曲妥珠单抗 (常规化疗药物使用时间为治疗开始第 1 周到第 18 周)。收集这些患者治疗前后的血清标本, 抽血时间距末次治疗 (包括手术、化疗、放疗、免疫治疗等) 的时间  $\geq 2$  周, 以排除治疗因素对血清蛋白的影响。

### 1.2 主要试剂及仪器

ProteinChip Biology System (PBS II-C) 型质谱仪、弱阳离子交换型蛋白质芯片 (CM10)、生物芯片处理器 (Bioprocessor)、BioMarker Wizard 3.2 及 BioMarker Pattern Software 5.01 分析软件均为美国 Ciphergen 公司产品。曲妥珠单抗购自美国 Roche 公司。乙酸钠 (NaAC)、乙腈 (ACN)、三氟乙酸 (TFA)、尿素、CHAPS 缓冲液等试剂均购自美国 Sigma 公司。能量吸收分子 SPA 购自美国 Ciphergen 公司。

### 1.3 血清标本制备

所有血样均抽取患者晨间空腹时前臂静脉全血 5 ml, 于 4 °C 下 800 × g 离心 10 min, 取血清, 分装后保存于 -80 °C 冰箱备用。测定时血清标本冰浴中解冻, 10 000 × g、4 °C、离心 5 min, 取 10 μl 上清和 20 μl 缓冲液于 EP 管中充分混匀, 冰浴振荡 30 min 使蛋白质充分变性, 加入 360 μl CM10 缓冲液后尽快混匀。

### 1.4 SELDI-TOF-MS 检测患者外周血蛋白质谱

小心取出 CM10 芯片装入生物芯片处理器, 每孔加 200 μl CM10 缓冲液, 25 × g 震荡 5 min, 甩掉缓冲液。重复上述操作 1 次。第 2 次甩掉缓冲液后, 在芯片处理器各孔加 100 μl 处理好的样品, 室温下震荡 1 h。甩掉孔中液体, 每孔加 200 μl CM10 缓冲液, 室温震荡 5 min, 甩去孔中液体; 再加 200 μl CM10 缓冲液, 重复操作 1 次。取出芯片风干后, 立刻在各孔加 SPA 1 μl, 待全干后重复加 SPA 1 μl。

样品全干后,即可上质谱仪检测。将芯片置入 PBS II-C 型质谱仪, 芯片阅读机设置如下: 激光强度 205, 检测敏感度 10, 优化的蛋白质相对分子质量范围为 2 000 ~ 20 000。采用 CIPHERGEN Protein Chip 软件读取蛋白质芯片上的数据, 形成血清蛋白质谱图, 其纵坐标(峰值)为蛋白质相对含量, 横坐标为蛋白质荷比。采用 Biomarker Wizard 和 Biomarker Pattern 软件分析蛋白质谱图数据和蛋白质峰强度与数量的差异性。控制筛选出的蛋白质峰在 10% 以上的不同样本中同时存在, 且同一蛋白质峰在不同样本中的偏差 < 0.3%。

1.5 统计学处理

采用 CIPHERGEN Protein Chip 软件读取蛋白质芯片上的数据, 采用 Biomarker Wizard 统计学软件对不同组中相同质荷比的蛋白质含量进行方差分析,  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。Biomarker Pattern 软件用于分析数据建立分类树模型。

2 结果

2.1 曲妥珠单抗临床耐药与患者病理特征的关系

35 例使用含曲妥珠单抗方案治疗的患者随访 2 年, 曲妥珠单抗使用时间为治疗开始的第 1 周到 45 周。有 11 例患者在治疗开始后的第 27 ~ 43 周出现病情进展或复发转移, 临床上将这些在单独使用曲妥珠单抗治疗过程中发生疾病进展的病例定义为曲妥珠单抗耐药患者。这些患者中, 曲妥珠单抗耐药的发生与年龄、分期、腋窝淋巴结转移情况、ER/PR 双阴无关 ( $P > 0.05$ , 表 1)。

2.2 曲妥珠单抗临床耐药患者与非耐药患者血清蛋白质谱的差异

将这 35 例患者中临床耐药与非耐药两组患者治疗前的血清标本用 PBS II 质谱仪进行检测, 数据经软件分析后, 筛选出 2 个有统计学差异的蛋白质峰。与非耐药患者相比, 耐药患者的蛋白质峰 7 971 Da, 9 284 Da 表达降低(图 1)。

2.3 差异蛋白峰评判曲妥珠单抗耐药的有效性

临床耐药组患者血清中筛选出 7 971 Da 和 9 284 Da 2 个低表达蛋白质。以峰值比(非耐药组患者差异蛋白平均峰值/各患者该差异蛋白峰值) 1.5 为界值, 设定峰值比 > 1.5 判定为耐药患者, 峰值比 ≤ 1.5 判定为非耐药患者。与临床耐药资料对比后发现, 以蛋白质峰 7 971 Da 评判时, 灵敏度为 81.82% (9/11), 特异度为 83.33% (20/24), 阳性预测值为 69.23% (9/13), 阴性预测值为 90.91% (20/22) (表 3); 以蛋白质峰 9 284 Da 评判时, 灵敏

度为 72.73% (8/11), 特异度为 79.17% (19/24), 阳性预测值为 61.54% (8/13), 阴性预测值为 86.36% (19/22) (表 4)。

2.4 差异蛋白峰在 Swiss-Prot 蛋白库中的检索结果

根据 7 971 Da 峰的质荷比和等电点在 Swiss-Prot 蛋白库中(条件为质/荷比 ± 0.05%、PI 值 > 7.0)进行初步检索, 根据组织来源和生物学功能, 对所得候选蛋白(肽段)进行筛选, 发现该峰与小脯氨酸富含蛋白 2B (small proline-rich protein 2B, SPR-2B) 相符。该蛋白为 *SPRR2B* 基因编码产物, 属 SPRR 家族, 其编码产物在上皮细胞的角化过程中起着重要的调节作用。以同样方法进行检索和筛选后发现, 9 284 Da 峰与 PATE3 蛋白 (prostate and testis expressed protein 3) 相符, 该蛋白属 PATE 家族成员, 与细胞增殖有关。

表 1 曲妥珠单抗临床耐药与乳腺癌临床病理特征的关系  
Tab. 1 Relationship of drug-resistance to trastuzumab with clinicopathological features of breast cancer

Index	Case	Trastuzumab resistance		P
		[ n( % ) ]		
Age				
< 50	23	7	( 30.4 )	$P > 0.05$
≥ 50	12	4	( 33.3 )	
Stage				
I	4	1	( 25.0 )	$P > 0.05$
II	8	3	( 37.5 )	
III	13	4	( 30.8 )	
IV	10	3	( 30.0 )	
Axillary lymphoid metastasis				
Present	27	8	( 36.8 )	$P > 0.05$
Absent	8	3	( 37.5 )	
ER/PR both negative				
Yes	7	3	( 42.9 )	$P > 0.05$
No	28	8	( 28.6 )	

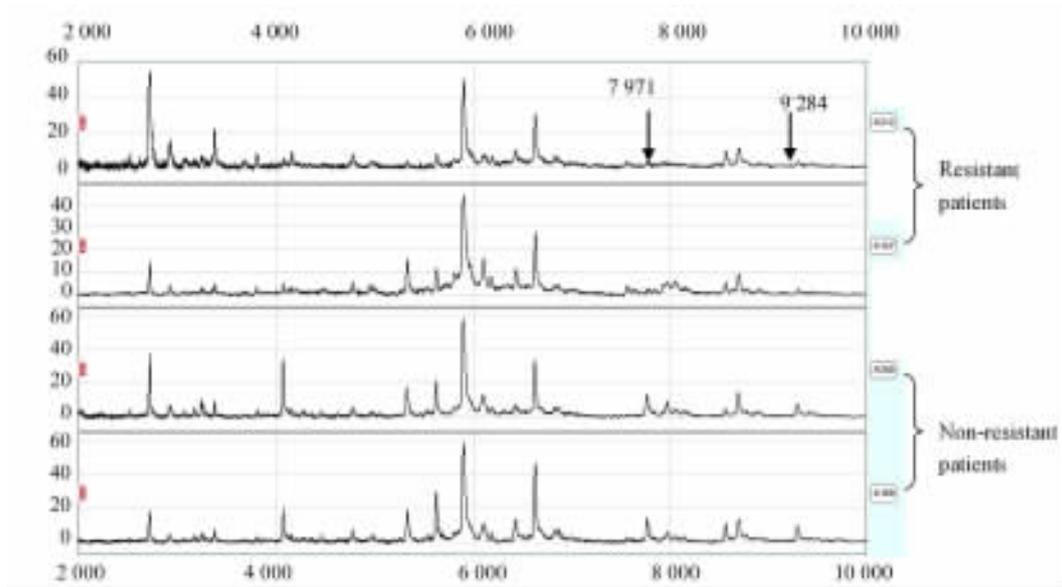


图 1 曲妥珠单抗临床耐药与非耐药患者血清蛋白质谱的差异峰

Fig. 1 Mass spectra of different serum protein peaks in trastuzumab-resistant and non-resistant groups

表 2 曲妥珠单抗临床耐药与非耐药患者血清蛋白的比较

Tab. 2 Comparison of serum proteins in trastuzumab-resistant and non-resistant groups

Group	Case	7 971 Da peak		9 284 Da peak	
		Pear value ( $\bar{x} \pm s$ )	Decreased peak [ n( % ) ]	Pear value ( $\bar{x} \pm s$ )	Decreased peak [ n( % ) ]
Resistance	11	4.02 ± 3.65	9 ( 81.82 )	3.91 ± 2.43	8( 72.73 )
Non-resistance	24	12.41 ± 5.45*	4( 16.67* )	8.42 ± 4.13*	5( 20.83* )

\*  $P < 0.05$  vs resistance group

表 3 曲妥珠单抗临床耐药与非耐药患者血清 7 971 Da 蛋白质峰表达的比较( n )

Tab. 3 Comparison of expression of serum 7 971 Da protein peak in trastuzumab resistant and non-resistant groups

Clinic group	7 971 Da		Total
	decreased	increased	
Resistance	9	2	11
Non-resistance	4	20	24
Total	13	22	35

表 4 曲妥珠单抗临床耐药与非耐药患者血清 9 284 Da 蛋白质峰表达的比较( n )

Tab. 4 Comparison of expression of serum 9 284 Da protein peak in trastuzumab resistant and non-resistant groups( n )

Clinic group	9 284 Da		Total
	decreased	increased	
Resistance	8	3	11
Non-resistance	5	19	24
Total	13	22	35

### 3 讨论

SELDI-TOF-MS 技术通过寻找和筛选不同样本之间蛋白质谱存的差异,从而获得对某些关键蛋白的定性和功能分析,又称差异蛋白组学<sup>[7]</sup>。本课题采用的 CM10 芯片表面由弱羧基阴离子构成,可捕获表面带有正电荷的蛋白质分子,因此富含带正电荷的碱性氨基酸,如赖氨酸、精氨酸和组氨酸等等电点蛋白质优先被捕获<sup>[8]</sup>。样本中的某类特定蛋白质吸附于特定的芯片表面后,洗去弱结合蛋白质,再加上特殊的能量吸收分子(energy absorbing molecular, EAM),利用激光脉冲辐射使吸附的蛋白质解析形成电荷离子;根据不同的质荷比,这些离子在真空电场中飞行时间存在差异,该差异会导致检测器接收到先后及强弱均不同的电信号,并由此绘制出蛋白质的飞行质谱图,其中纵坐标为蛋白质相对含量,横坐标为蛋白质质荷比。SELDI-TOF-MS 技术的特点之一就在于能够分析血清中蛋白质较完整的信息,能够发现未知生物标志物,所以在筛选预测

曲妥珠单抗敏感性标志物方面具有较大的优势<sup>[9]</sup>。

目前研究发现,曲妥珠单抗耐药机制主要由于细胞表面蛋白位阻 HER2 受体,导致曲妥珠单抗无法有效与 HER2 结合<sup>[10]</sup>,通过其他受体旁路(如其他 EGFR 家族成员)启动 HER2 下游的信号通路导致曲妥珠单抗耐药<sup>[11]</sup>。HER2 下游 PI3K/Akt 及 Ras/MAPK 信号通路持续活化<sup>[12-13]</sup>,ErbB 受体酪氨酸激酶反馈抑制物功能失调导致信号通路异常活化<sup>[14]</sup>,致使曲妥珠单抗介导的 G<sub>1</sub> 期停滞缺失<sup>[15]</sup>,胰岛素样生长因子 I 型受体(IGF-IR)通路过度活化<sup>[16-18]</sup>。而目前尚未有文献报道曲妥珠单抗耐药与年龄、肿瘤分期、腋窝淋巴结转移情况、ER/PR 是否双阴的关系。本实验发现,曲妥珠单抗耐药的发生与年龄、肿瘤分期、腋窝淋巴结转移情况、ER/PR 是否双阴无关,今后需扩大病例数进一步研究。

本实验应用 SELDI-TOF-MS 技术分析曲妥珠单抗治疗耐药组与非耐药组患者治疗前的外周血清标本,筛选出 2 个差异蛋白峰。蛋白质峰 7 971 Da、9 284 Da 在曲妥珠单抗耐药组中呈低表达,峰值分别为(4.02 ± 3.65 vs 12.41 ± 5.45 和 3.91 ± 2.43 vs 8.42 ± 4.13),差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。约 81.82% 的曲妥珠单抗耐药患者中蛋白质峰 7 971 峰值降低,而曲妥珠单抗非耐药患者中该比例为 16.67%;约 72.73% 的曲妥珠单抗耐药患者中蛋白质峰 9 284 峰值降低,曲妥珠单抗非耐药患者中该比例为 20.83% ( $P < 0.05$ )。以峰值比 1.5 为界值,蛋白质峰 7 971 Da、9 284 Da 低表达预测曲妥珠单抗耐药的灵敏度、特异度、阳性预测值及阴性预测值均较高。因此蛋白质峰 7 971 Da、9 284 Da 可能可以预测乳腺癌患者曲妥珠单抗治疗的敏感性。

通过 SELDI-TOF-MS 技术分析患者治疗前外周血中蛋白质峰 7 971 Da、9 284 Da 的峰值,该两峰值降低的乳腺癌患者可能对曲妥珠单抗治疗耐药。根据 7 971 Da 峰的质荷比和等电点在 Swiss-Prot 蛋白库中以条件(质/荷比 ± 0.05%, PI 值 > 7.0)进行初步检索,根据组织来源和生物学功能,对所得候选蛋白(肽段)进行筛选,发现其与 SPRR-2B 蛋白相符。该蛋白为 *SPRR2B* 基因编码产物,属 *SPRR* 家族,其编码产物在上皮细胞的角化过程中起着重要的调节作用。当致癌因素作用于上皮细胞时,基因的编码产物会大量表达,阻碍上皮细胞角化的形成;而当癌细胞形成以后,*SPRR* 基因随即停止表达,其原有表达产物亦会很快消失<sup>[19-20]</sup>。检索还发现,9 284 Da 峰与 PATE3 蛋白(prostate and testis expressed protein 3)相符,该蛋白属 PATE 家族产物,

与细胞增值有关<sup>[21]</sup>。但根据 Swiss-Prot 蛋白库中的初步检索结果并不能确定蛋白质峰 7 971 Da 及 9 284 Da 所代表的为何种蛋白质,仍需要经典的蛋白组学技术如 Western blotting 或利用串联质谱(MS-MS)来确定该蛋白成分。纯化分析这两个蛋白有助于寻找预测曲妥珠单抗耐药的相关血清蛋白。

本研究对 SELDI-TOF-MS 技术在预测乳腺癌患者曲妥珠单抗敏感性中的临床应用进行了先期探讨。随着病例数的进一步扩大,以及对筛选出的差异蛋白峰进一步分析,有可能在曲妥珠单抗应用方面为临床提供新的耐药标志物。

## 参考文献

- [1] Cho HS, Mason K, Ramyar KX, Stanley AM, Gabelli SB, Denny DW Jr, et al. Structure of the extracellular region of HER2 alone and in complex with the herceptin fab [J]. *Nature*, 2003, 421(6924): 756-760.
- [2] Richards KN, Zweidler-McKay PA, van Roy N, Speleman F, Trevino J, Zage PE, et al. Signaling of ERBB receptor tyrosine kinases promotes neuroblastoma growth *in vitro* and *in vivo* [J]. *Cancer*, 2010, 116(13): 3233-3243.
- [3] 李苏霞,张阳,徐建明,高峨眉,韩秀敏. 非小细胞肺癌组织中 HER2、HER3 蛋白表达及其临床意义 [J]. *肿瘤防治研究*, 2007, 34(10): 764-766, 815.
- [4] Smith I, Procter M, Gelber RD, Guillaume S, Feyereislova A, Dowsett M, et al. 2-year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer: A randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2007, 369(9555): 29-36.
- [5] McArthur HL. Update on administration of adjuvant trastuzumab [J]. *Clin Adv Hematol Oncol*, 2010, 8(5): 321-375.
- [6] Engwegen JY, Gast MC, Schellens JH, Beijnen JH. Clinical proteomics: Searching for better tumour markers with SELDI-TOF mass spectrometry [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2006, 27(5): 251-259.
- [7] Mathelin C, Tomasetto C, Cromer A, Rio MC. Proteomics and breast cancer [J]. *Gynecol Obstet Fertil*, 2006, 34(12): 1161-1169.
- [8] Sauter ER, Davis W, Qin W, Scanlon S, Mooney B, Bromert K, et al. Identification of a beta-casein-like peptide in breast nipple aspirate fluid that is associated with breast cancer [J]. *Biomark Med*, 2009, 3(5): 577-588.
- [9] Gast MC, van Dulken EJ, van Loenen TK, Kingma-Vegter F, Westerga J, Flohil CC, et al. Detection of breast cancer by surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry tissue and serum protein profiling [J]. *Int J Biol Markers*, 2009, 24(3): 130-141.
- [10] Nagy P, Friedländer E, Tanner M, Kapanen AI, Carraway KL, Isola J, et al. Decreased accessibility and lack of activation of ErbB2 in JIMT-1, a herceptin-resistant, MUC4-expressing breast cancer cell line [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(2): 473-482.
- [11] Diermeier S, Horváth G, Knuechel-Clarke R, Hofstaedter F,

- Szöllosi J, Brockhoff G, et al. Epidermal growth factor receptor co-expression modulates susceptibility to Herceptin in HER2/neu overexpressing breast cancer cells via specific ErbB-receptor interaction and activation [ J ]. *Exp Cell Res*, 2005, 304( 2 ): 604-619.
- [ 12 ] Chan CT, Metz MZ, Kane SE. Differential sensitivities of trastuzumab ( Herceptin )-resistant human breast cancer cells to phosphoinositide-3 kinase ( PI-3K ) and epidermal growth factor receptor ( EGFR ) kinase inhibitors [ J ]. *Breast Cancer Res Treat*, 2005, 91( 2 ): 187-201.
- [ 13 ] O'Brien NA, Browne BC, Chow L, Wang Y, Ginther C, Arbolada J, et al. Activated phosphoinositide 3-kinase/AKT signaling confers resistance to trastuzumab but not lapatinib [ J ]. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9( 6 ): 1489-1502.
- [ 14 ] Anastasi S, Sala G, Huiping C, Caprini E, Russo G, Iacovelli S, et al. Loss of RALT/MIG-6 expression in ErbB2-amplified breast carcinomas enhances ErbB-2 oncogenic potency and favors resistance to Herceptin [ J ]. *Oncogene*, 2005, 24( 28 ): 4540-4548.
- [ 15 ] Nahta R, Takahashi T, Ueno NT, Hung MC, Esteva FJ. P27 ( kip1 ) down-regulation is associated with trastuzumab resistance in breast cancer cells [ J ]. *Cancer Res*, 2004, 64( 11 ): 3981-3986.
- [ 16 ] Nahta R, Yuan LX, Zhang B, Kobayashi R, Esteva FJ, et al. Insulin-like growth factor-I receptor/human epidermal growth factor receptor 2 heterodimerization contributes to trastuzumab resistance of breast cancer cells [ J ]. *Cancer Res*, 2005, 65( 23 ): 11118-11128.
- [ 17 ] Jin Q, Esteva FJ. Cross-talk between the ErbB/HER family and the type I insulin-like growth factor receptor signaling pathway in breast cancer [ J ]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2008, 13( 4 ): 485-498.
- [ 18 ] Casa AJ, Dearth RK, Litzenburger BC, Lee AV, Cui X. The type I insulin-like growth factor receptor pathway: A key player in cancer therapeutic resistance [ J ]. *Front Biosci*, 2008, 13: 3273-3287.
- [ 19 ] Fischer DF, Backendorf C. Promoter analysis in the human SPRR gene family [ J ]. *Methods Mol Biol*, 2005, 289: 303-314.
- [ 20 ] Zinovyeva MV, Monastyrskaya GS, Kopantzev EP, Vinogradova TV, Kostina MB, Sass AV, et al. Identification of some human genes oppositely regulated during esophageal squamous cell carcinoma formation and human embryonic esophagus development [ J ]. *Dis Esophagus*. 2010, 23( 3 ): 260-270.
- [ 21 ] Levitin F, Weiss M, Hahn Y, Stern O, Papke RL, Matusik R, et al. PATE gene clusters code for multiple, secreted TFP/Ly-6/uPAR proteins that are expressed in reproductive and neuron-rich tissues and possess neuromodulatory activity [ J ]. *J Biol Chem*, 2008, 283( 24 ): 16928-16939.
- [ 收稿日期 ] 2010-05-18 [ 修回日期 ] 2010-06-24  
[ 本文编辑 ] 王莹

## · 科技动态 ·

### CD103<sup>-</sup>CD11b<sup>hi</sup>DC 通过 CD70 途径交叉提呈流感病毒抗原

何种类型的 DC 对呼吸道中的抗原作出反应,并将抗原交叉提呈给 CD8T 细胞一直是一个争论不休的问题。按整合素 CD103 和 CD11b 的表达情况,肺中的 DC 一般可分为两类: CD103<sup>-</sup>CD11b<sup>hi</sup> DC,主要定位在气管的黏膜下层;CD103<sup>+</sup>CD11b<sup>lo</sup> DC,主要存在于气管黏膜的上皮细胞之间。长期以来,对早已发现的这两群 DC 的功能并不明确。一种较为流行的观点认为, CD8 $\alpha$ <sup>+</sup> DC 交叉提呈可溶性抗原给 CD8<sup>+</sup> T 细胞。Randell 等最近在 *Nature Immunology* 上发表的文章详尽地阐述了这两个肺组织中存在的独特 DC 亚群在流感病毒感染过程中的作用。在流感病毒感染早期,流感病毒特异的 CD8 T 细胞是由 CD103<sup>-</sup>CD11b<sup>hi</sup>和 CD103<sup>+</sup>CD11b<sup>lo</sup>两种 DC 共同激活的;而在流感病毒感染晚期,CD103<sup>-</sup>CD11b<sup>hi</sup>的 DC 在激活病毒特异的 CD8 T 细胞起主要作用,CD103<sup>-</sup>CD11b<sup>hi</sup>的 DC 直接捕获呼吸道中的病毒抗原,在淋巴结中交叉提呈给 CD8 T 细胞,而无需将抗原转给淋巴结中的 CD8 $\alpha$ <sup>+</sup> DC。同时,CD103<sup>-</sup>CD11b<sup>hi</sup>的 DC 是流感病毒感染后惟一高表达 CD70 的 DC 亚群,CD103<sup>-</sup>CD11b<sup>hi</sup>DC 上的 CD70 可作为共刺激信号,结合 CD8 T 细胞上的 CD27,辅助激活 CD8 T 细胞。关于此类 CD103<sup>-</sup>CD11b<sup>hi</sup>DC 的来源,作者认为流感病毒感染后,大量单核细胞提前进入肺,并局部分化为 CD103<sup>-</sup>CD11b<sup>hi</sup>的 DC;在肺组织中捕获抗原并被激活后,迁移至纵隔淋巴结完成激活 CD8 T 细胞的使命。CD103<sup>+</sup>CD11b<sup>lo</sup>和 CD103<sup>-</sup>CD11b<sup>hi</sup>的 DC 由不同的单核细胞前体分化而来,而且需要不同的细胞因子和生长因子,例如 Flt3L 促进肺组织中 CD11b<sup>hi</sup>DC 的分化,而表皮来源的生长因子如 TGF- $\beta$  等促进肺组织中 CD103<sup>+</sup> DC 的分化。流感病毒感染后造成的肺组织损伤改变了微环境中细胞因子和生长因子的分泌,从而有利于 CD103<sup>-</sup>CD11b<sup>hi</sup>DC 的扩增。Randell 等的实验结果揭示,模仿正常流感病毒感染过程的鼻饲免疫中,交叉激活 CD8<sup>+</sup> T 细胞的主要是 CD103<sup>-</sup>CD11b<sup>hi</sup>DC,而非以前通过静脉或皮下免疫发现的 CD8 $\alpha$ <sup>+</sup> DC,从而对理解流感病毒感染的免疫反应有了更深刻的认识。

[ 田军摘译,许熊飞审阅. Ballesteros-Tato A, León B, Lund FE, et al. *Nat Immunol*, 2010, 11( 3 ): 216-224. ]