

· 论 著 ·

金黄地鼠胰腺癌模型差异蛋白质组学研究*

侯令密¹, 汪建国², 幸天勇¹, 敬保迁³, 杨正伟⁴, 张小明⁵, 邓世山^{2△}

(川北医学院: 1. 附属医院普外三科; 2. 人体解剖学教研室; 3. 免疫与分子生物研究所;

4. 形态研究所; 5. 影像学研究所, 四川南充 637000)

摘要:目的 对金黄地鼠胰腺癌模型进行差异蛋白质组学研究, 探讨胰腺癌的发病机制并寻找胰腺癌相关生物学标志物。

方法 提取 10 例金黄地鼠胰腺癌模型癌组织和癌旁组织总蛋白, 使用二维聚丙烯酰胺凝胶电泳(2-DE)进行蛋白分离、PDQuest 7.0 软件分析获得差异蛋白质, 进行质谱(MALDI-TOF/TOF MS)鉴定。**结果** 获得 12 种差异蛋白质: 其中 5 种蛋白质, 包括肌动蛋白、 α -烯醇(化)酶、膜联蛋白 A4(Annexin A4)、角蛋白 8、胸腺嘧啶核苷激酶在胰腺癌组织中表达明显上调(>4 倍); 另外 7 种蛋白质, 包括蛋白酶体 $\alpha 1$ 亚单位、羧肽酶 B1、核糖体蛋白 P1、磷脂酶 A2、铁蛋白、连接蛋白 3、脑磷脂结合蛋白在胰腺癌旁组织中表达明显上调(>4 倍)。**结论** Annexin A4、连接蛋白 3、 α -烯醇(化)酶、羧肽酶 B1、核糖体蛋白 P1 等可能与肿瘤细胞的浸润和转移有关; 核糖体蛋白 P1、蛋白酶体 $\alpha 1$ 亚单位与肿瘤细胞的蛋白质生物合成及降解异常有关; 脑磷脂结合蛋白可能与肿瘤细胞膜的构建和重塑有关; Annexin A4 与蛋白酶体 $\alpha 1$ 亚单位可能是胰腺癌诊断与治疗相关的生物学标记物。

关键词: 胰腺肿瘤; 蛋白质组学; 生物学标记; 膜联蛋白 A4; 地鼠科

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2011. 36. 003

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)36-3646-04

Differential proteomic research on golden hamster pancreatic cancer model*

Hou Lingmi¹, Wang Jianguo², Xing Tianyong¹, Jing Baoqian³, Yang Zhengwei⁴, Zhang Xiaoming⁵, Deng Shishan^{2△}

(1. The Third Department of General Surgery, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College;

2. Department of Anatomy, North Sichuan Medical College; 3. Institute of Immunology and Molecular Biology,

North Sichuan Medical College; 4. Institute of Morphological Research, North Sichuan Medical College;

5. Institute of Medical Imaging Research, North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China)

Abstract: Objective To elucidate the pathogenesis of pancreatic cancer and screen specific biological markers associated with pancreatic cancer by differential proteomics analysis on golden hamster pancreatic cancer model. **Methods** Total proteins extracted from pancreatic cancer tissue and adjacent tissue of 10 golden hamster were subjected to two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis(2-DE) for protein separation. The obtained differential proteins were analyzed by PDQuest 7.0 software and identified by mass spectrometry (MALDI-TOF/TOF MS). **Results** 12 differential protein were obtained, including 5 up-regulated proteins in pancreatic cancer tissue including actin, α -enolase, Annexin A4, keratin 8, thymidine kinase(>4 times) and 7 up-regulated proteins in adjacent tissue including proteasome $\alpha 1$ subunit, carboxypeptidase B1, ribosomal protein P1, phospholipase A2, Ferritin, link protein 3, brain phospholipid-binding protein(>4 times). **Conclusion** Annexin A4, link protein 3, α -enolase, carboxypeptidase B1, ribosomal protein P1 may be associated with tumor cell invasion and metastasis. Ribosomal protein P1 and proteasome $\alpha 1$ subunit may be related to abnormal biosynthesis and degradation of protein in tumor cells. Brain phospholipid-binding protein may be connected with membrane construction and remodeling of tumor cells. Annexin A4 and proteasome $\alpha 1$ subunit may be the biological markers of pancreatic cancer associated with diagnosis and therapy.

Key words: pancreatic neoplasms; proteomics; biological markers; annexin A4; gophers

胰腺癌恶性程度极高, 预后极差, 5 年生存率小于 5%, 在中国的发病率和病死率呈逐渐上升趋势^[1], 其主要原因是起病隐匿、早期诊断困难、手术切除率低(<27%), 且胰腺癌的发病机制目前尚不完全清楚, 因此探讨胰腺癌的发病机制及寻找相关肿瘤标志物是目前肿瘤研究急需解决的问题。以二维聚丙烯酰胺凝胶电泳(2-DE)为基础的蛋白质组学具有高通量、高分辨率的特点, 已成为筛选胰腺癌特异性标志物的主要方法^[2]。本研究使用 2-DE、PDQuest 7.0 软件分析与质谱技术研究金黄地鼠胰腺癌模型差异表达蛋白, 以探讨胰腺癌的发病机制及寻找胰腺癌相关的肿瘤标志物。

1 材料与与方法

1.1 金黄地鼠胰腺癌模型建立 金黄地鼠 127 只, 均为雌性, 7~8 周龄, 体质量 250~300 g, 购于川北医学院实验动物中

心。将其分为两组, 其中实验组 100 只, 对照组 27 只。实验组动物进行 BOP[致癌诱导物质 N-亚硝基双(2-氧丙基)]用药, 将 BOP 粉末溶于生理盐水(1 mg/mL), 皮下注射 BOP 10 mg/kg。对照组动物每只皮下注射生理盐水 1 mL。每周用药 1 次, 共用药 7 次。成功获得 10 只胰腺癌模型(癌组织大于 50 mg, 病理学鉴定为胰腺癌)。

1.2 2-DE 为基础的蛋白质组学方法

1.2.1 样本制备 取 100 mg 组织, 液氮反复冷冻下充分研磨, 用总蛋白提取试剂盒(Bio-Rad, 美国)提取蛋白质。蛋白质样品使用 RC DC 蛋白质定量试剂盒(Bio-Rad, 美国)进行定量。使用 Cleanup Kit (Bio-Rad, 美国)对蛋白样本进行纯化, 去除杂质, 浓缩样品。对纯化后的蛋白进行再次定量(同前), 测定蛋白样品的最后浓度。

1.2.2 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)

对蛋白样品进行 SDS-PAGE,胶由 12% 的分离胶和 5% 的积层胶组成,考马斯亮蓝 R-250 染色。

1.2.3 2-DE 等电聚焦(isoelectronic focusing, IEF) 使用 17

cm,非线性,pH 5~8 的 IPG (Bio-Rad, 美国);上样量约 1.5 mg,上样体积约 320 μL。程序设定:被动水化,17 °C,12 h;S1:250 V,25 min,慢速;S2:1 000 V,2 h,快速;S3:8 000 V,5 h,线性;S4:8 000 V,60 000 伏/h,快速;S5:500 V,任意时间,快速。IEF 后取出胶条进行平衡:第一步,DTT 与平衡缓冲液为(1:50)g/mL,6 mL,15 min;第二步,碘乙酰胺与平衡缓冲液为(1:40)g/mL,6 mL,15 min。用 5% 低熔点琼脂糖封胶液封胶,进行 PAGE,当溴酚蓝指示剂蓝色线至底部时停止电泳,进行考马斯亮蓝 R-250 染色。

1.2.4 图像获得及分析 使用 UMAXpowerlook 1120 型扫描

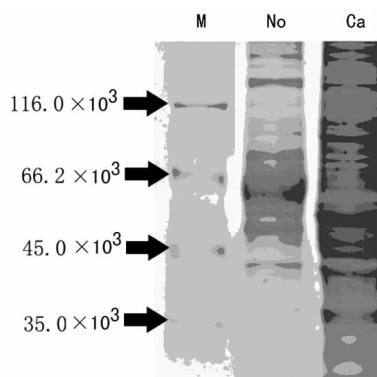
仪获得图像,分辨率为 300 bpi。采用 Excel 3.0 与 PDQuest 7.0 对图像进行分析。重复性检测:10 只黄金地鼠样本各进行 1~3 次 2-DE,取稳定出现的差异点进行质谱分析。分别在从胰腺癌和胰腺癌旁组织图谱中取出 5 个点和 7 个点进行质谱鉴定,然后检索数据库,分析蛋白质功能。

1.2.5 质谱鉴定 质谱仪为 4700 proteomics Analyzer(Ap-

plied Biosystems, USA);分析软件为 GPS Explorer TM software。所取蛋白质点进行酶切、点样[将完全干燥的肽段重新溶解于 0.5 g/L α-氨基-4-羧基肉桂酸(CHCA)溶液 0.7 μL(溶剂,0.1%TFA+50%ACN)中,并将其全部点到不锈钢基质辅助激光解附电脑法(MALDI)靶板上,并在室温下自然干燥]、鉴定。激光源为 355 nm 波长的 Nd:YAG 激光器,加速电压为 20 kV,采用正离子模式和自动获取数据模式采集数据。PMF 质量扫描范围为(0.7~3.5)×10³,且将强度最大的 5 个峰进行串级质朴分析;谱图用 myoglobin 酶解肽段进行外标校正。所得结果用 GPS(Applied Biosystems, USA)-MASCOT(Matrix Science, London, UK)进行数据库检索。搜索参数设置:数据库为 NCBI nr;检索种属为 green plant;数据检索方式为 combined;最大允许漏切位点为 1;酶为胰蛋白酶。质谱误差范围设置:PMF 0.3 D;MS/MS 0.4 D;在数据库检索时胰酶自降解峰和污染物峰都手工剔除。

2 结 果

2.1 SDS-PAGE 结果 金黄地鼠胰腺癌及癌旁组织蛋白质 SDS-PAGE 图发现:二者蛋白质条带清晰,条带差异明显,这种差异在 10 只样本中均恒定出现:在 54 × 10³、47 × 10³、33 × 10³、28 × 10³ 处有明显条带,见图 1。

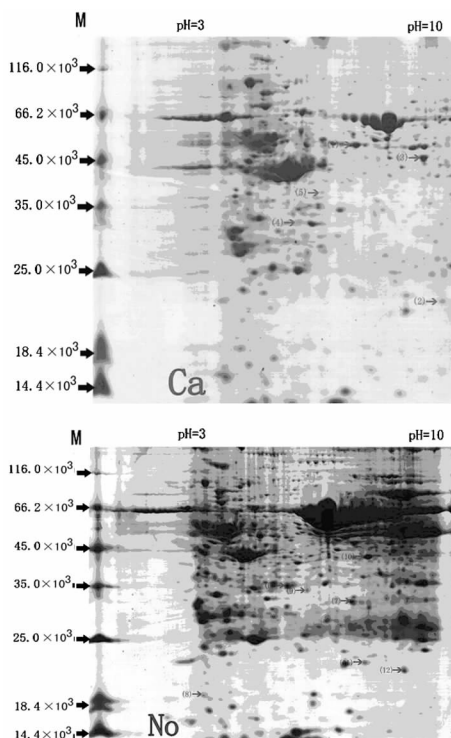


Ca:胰腺癌组织;No:胰腺癌旁组织;M:标记物。

图 1 模型癌组织与癌旁组织蛋白样本 SDS-PAGE 图

2.2 2-DE 及质谱结果 结果获得 12 种蛋白质:肌动蛋白、α-

烯醇(化)酶、膜联蛋白 A4(Annexin A4)、胸腺嘧啶核苷激酶、角蛋白 8 在胰腺癌组织中表达明显上调(>4 倍),蛋白酶体 α1 亚单位、羧肽酶 B1、核糖体蛋白 P1、磷脂酶 A2、铁蛋白、脑磷脂结合蛋白、连接蛋白 3 在胰腺癌旁组织中表达明显上调(>4 倍),见图 2、表 1。



Ca:胰腺癌组织;No:胰腺癌旁组织;M:标记物。

图 2 模型癌组织与癌旁组织蛋白样本 2-DE 图

表 1 金黄地鼠胰腺癌模型癌组织、癌旁组织过表达蛋白

在图中对应点编号	蛋白质名称	相对分子质量(D)	等电点	Accession No*	过表达于
(1)	角蛋白 8	54 513.5	5.70	gi 76779293	癌组织
(2)	胸腺嘧啶核苷激酶	2 895.6	9.99	gi 202071	
(3)	α-烯醇(化)酶	47 164.3	6.23	gi 162949733	
(4)	Annexin A4	33 209.7	5.28	gi 149036643	
(5)	肌动蛋白	41 666.7	5.21	gi 309090	
(6)	磷脂酶 A2	87 905.5	9.18	gi 149051177	癌旁组织
(7)	蛋白酶体 α1 亚单位	29 527.8	6.00	gi 33563282	
(8)	核糖体蛋白 P1	9 416.8	5.46	gi 109475161	
(9)	连接蛋白 3	283 774.8	8.03	gi 149043837	
(10)	羧肽酶 B1	47 471.3	5.37	gi 149048540	
(11)	铁蛋白	21 472.5	5.74	gi 120515	
(12)	脑磷脂结合蛋白	21 060.5	5.47	gi 158428857	

*:Accession No 为该蛋白质在蛋白质库中的序号。

3 讨 论

由于胰腺癌往往发现较晚,手术指征偏低,因此临床一线的胰腺癌标本较难获得。而 BOP-罗格列酮诱导的金黄地鼠模型具有模型稳定、遗传变异少、发病率高、动物廉价易得的优点,是研究胰腺癌理想的动物模型。本研究在金黄地鼠胰腺癌模型上进行差异蛋白质组学研究,获得了 12 种差异表达蛋白

质,主要有钙结合蛋白、蛋白酶、结构蛋白、信号传导蛋白等。

(1)钙结合蛋白:Annexin A4。Annexin A4 在原发性肝癌组织和人胰腺癌细胞株中高表达^[3-4]。Annexin 家族具有调控细胞生长、增殖,调节细胞骨架的胞内信号传导、抑制凋亡等功能,可能与胰腺癌的发生、发展有关。(2)蛋白酶: α -烯醇(化)酶、胸腺嘧啶核苷激酶、羧肽酶 B1、磷脂酶 A2。Huang 等^[5]通过 2-DE 及质谱技术鉴定肺癌细胞分泌蛋白,发现肌动蛋白、 α -烯醇(化)酶的表达增高。Tomaino 等^[6]通过 2-DE 和蛋白免疫印迹杂交方法也发现在胰腺癌组织和细胞系中 α -烯醇(化)酶的高表达性。有研究表明,上皮细胞钙黏蛋白能促进胰腺癌模型中胸腺嘧啶核苷激酶和鸟嘌呤的自杀疗法和增强其抗癌作用,主要通过旁观者效应和促进诱导细胞凋亡^[7]。Chefrour 等^[8]通过对胰腺癌细胞的耐药性研究发现,胸腺嘧啶核苷激酶与胰腺癌细胞的耐药性有密切关系。羧肽酶作为前胰岛素加工酶,其与胰腺关系密切,王晓春等^[9]通过酵母双杂交技术发现,在胰腺细胞中羧肽酶 B1 能与 HBsAg 结合,产生一系列的变化,但其与胰腺癌的发生、发展是否有关,还有待进一步研究。(3)结构蛋白:肌动蛋白、角蛋白。肌动蛋白是诱导细胞凋亡的重要因素^[10],与乳腺癌、大肠癌等的发生密切相关^[11-12],肌动蛋白家族中的血影蛋白,其高表达于胃肠道肿瘤,特别是与胰腺癌有密切关系^[13]。角蛋白是一类细胞骨架中间丝蛋白,表达于正常上皮及上皮源性原发肿瘤及其转移肿瘤细胞,是上皮细胞分化的标志,是上皮细胞骨架的组成成分,与许多肿瘤关系密切^[14-15]。(4)信号传导蛋白:脑磷脂结合蛋白。它是一类结构高度保守、生物功能多样、分布广泛的碱性胞浆蛋白,在神经元保护、生物膜的构建与重塑等生理过程中发挥重要作用。有研究表明,脑磷脂结合蛋白在正常胰腺中过表达,而在胰腺癌组织中低表达,并且可以用单克隆抗体制剂进行临床治疗^[16],为胰腺癌的治疗提供了新途径。在乙型肝炎病毒感染肝细胞性肝癌若发现脑磷脂结合蛋白的低表达,提示预后不良,可以作为高危人群的早期检测的生物标记物^[17]。(5)其他类:蛋白酶体 $\alpha 1$ 亚单位、铁蛋白。蛋白质的降解是生物体内十分重要的生理过程,主要包括溶酶体途径和泛素蛋白酶体途径。泛素蛋白酶体途径是一个选择性的降解过程,它通过选择性地降解蛋白质而控制着体内许多重要的生物学过程^[18]。蛋白酶体的表达异常常伴随整个蛋白质降解、表达的异常,而这种表现型通常则表现为机体的病态如肿瘤的发生等。有研究表明,肺癌、肝癌等患者血清中铁蛋白水平明显上升^[19-20]。肿瘤发生时,肿瘤细胞表面运铁蛋白受体增多,铁离子内移增多,造成细胞内铁超载所致,其表现往往是血清铁下降而铁蛋白增高。机体铁超载越重,相应的血清铁就可能越低,患者的预后就可能越差。Armstrong 等^[21]通过对胰十二指肠切除术后的患者研究也发现其体内铁蛋白水平降低,转铁蛋白水平增高。有文献报道,钙调节蛋白对细胞周期有影响^[22]。(6)与胰腺癌关系未报道蛋白:连接蛋白 3 和核糖体蛋白 P1 在胰腺癌旁组织中高表达,其与胰腺癌的关系尚无文献报道。连接蛋白家族共用一个具有 3 个独立折叠区域的蛋白质结构,即 N 末端的重复区域、中心的血影蛋白区域及 C 末端的杆状区域。肾内的连接蛋白会影响很多膜内蛋白在亚细胞场所的极化分布。相关研究显示其功能主要有,①连接蛋白 3 是钙黏蛋白 E 的一个分子伴侣,而钙黏蛋白 E 与肿瘤的侵袭与转移密切相关^[23];②维持轴突起始端的极性^[24];③与肌萎缩蛋白的调节密切相关,在贝肌营养不良的变异情况下,连接蛋白的连接被削弱^[25];④促进环状核苷酸介导的门口通道转运至杆菌纤

毛上的光感受器^[26]。核糖体蛋白 P1 由 40 S 的小亚基和 60 S 的大亚基构成,位于细胞质内,其可以选择性结合转录变体,后者能够编码不同的蛋白质。其相关报道主要有,①抗核糖体蛋白-P 蛋白及亚型抗体均为系统性红斑狼疮特异性的自身抗体,该系列抗体对抗双链 DNA 抗体或抗核糖蛋白抗体阴性的 SLE 患者诊断有参考意义,并且与狼疮精神损害相关;②核糖体蛋白 P1/ P2 通过亚基间的相互作用调节细胞质的翻译,从而影响细胞的增殖,P1/P2 减少会使细胞的增殖率降低^[27]。

本实验在组织水平上进行研究,以动物模型为基础,获得了可靠的蛋白质分析谱,此次质谱分析的 12 种蛋白质为胰腺癌的早期临床诊断提供了研究方向。其中 Annexin A4、连接蛋白 3、 α -烯醇(化)酶、羧肽酶 B1、核糖体蛋白等可能与肿瘤细胞的浸润和转移、生长调节、缺氧耐受及肿瘤组织的血管形成有关;核糖体蛋白 P1、蛋白酶体 $\alpha 1$ 亚单位与肿瘤细胞的蛋白质生物合成及降解异常有关;脑磷脂结合蛋白可能与肿瘤细胞膜的构建和重塑有关;其中 Annexin A4 与蛋白酶体 $\alpha 1$ 亚单位可能是胰腺癌诊断与治疗相关的生物学标记物。其功能定性及下游研究还需通过进一步实验验证,如免疫组化、Western blotting、RNA 干扰等。

参考文献:

- [1] Brenner H, Gonds A, Arndt V. Recent major progress in longterm cancer patient survival disclosed by modeled period analysis[J]. Clin Oncol, 2007, 25(22):3274-3280.
- [2] Wilkins MR, Sanchez JC, Gooley AA, et al. Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it[J]. Biotechnol Genet Eng Rev, 1996, 13(1):19-50.
- [3] 陈滨, 彭民浩, 李佳荃. 膜联蛋白 A4 在原发性肝细胞癌中的表达及其意义[J]. 广西医学, 2009, 31(3):308-311.
- [4] Sitek B, Sipos B, Alkatout I, et al. Analysis of the pancreatic tumor progression by a quantitative proteomic approach and immunohistochemical validation[J]. Proteome Res, 2009, 8(4):1647-1656.
- [5] Huang LJ, Chen SX, Luo WJ, et al. Proteomic Analysis of Secreted Proteins of Non-small Cell Lung Cancer[J]. Ai Zheng, 2006, 25(11):1361-1367.
- [6] Tomaino B, Cappello P, Capello M, et al. Circulating Autoantibodies to Phosphorylated alpha-Enolase are a Hallmark of Pancreatic Cancer[J]. J Proteome Res, 2011, 10(1):105-112.
- [7] Garcia-Rodríguez L, Abate-Daga D, Rojas A, et al. E-cadherin contributes to the bystander effect of TK/GCV suicide therapy and enhances its antitumoral activity in pancreatic cancer models[J]. Gene Ther, 2011, 18(1):73-81.
- [8] Chefrour M, Fischel JL, Formento P, et al. Erlotinib in combination with capecitabine(5' dFUR) in resistant pancreatic cancer cell lines[J]. J Chemother, 2010, 22(2):129-133.
- [9] 王晓春, 张锦前, 张晨宇, 等. HBsAg 结合胰腺细胞蛋白基因的酵母双杂交技术筛选[J]. 环境与健康杂志, 2009, 26(5):407-408.
- [10] Li PF, Dietz R, von Harsdorf R. Reactive oxygen species induce apoptosis of Vascular smooth muscle cell[J].

FEBS Lett, 1997, 404(2/3): 249-252.

- [11] Rey M, Irondelle M, Waharte F, et al. HDAC6 is required for invadopodia activity and invasion by breast tumor cells [J]. *Eur J Cell Biol*, 2011, 90(2/3): 128-135.
- [12] Chatzistamou I, Dioufa N, Trimis G, et al. p21/waf1 and smooth-muscle actin α expression in stromal fibroblasts of oral cancers [J]. *Anal Cell Pathol (Amst)*, 2010, 33(1): 19-26.
- [13] Jiang X, Gillen S, Esposito I, et al. Reduced expression of the membrane skeleton protein beta 1-spectrin(SPTBN1) is associated with worsened prognosis in pancreatic cancer [J]. *Histol Histopathol*, 2010, 25(12): 1497-1506.
- [14] Toivola DM, Omary MB, Ku NO, et al. Protein phosphatase inhibition in normal and keratin 8/18 assembly incompetent mouse strains supports a functional role of keratin intermediate filaments in preserving hepatocyte integrity [J]. *Hepatology*, 1998, 28(1): 116-128.
- [15] Toivola DM, Ku NO, Resurreccion EZ, et al. Keratin 8 and 18 hyperphosphorylation is a marker of progression of human liver disease [J]. *Hepatology*, 2004, 40(2): 459-466.
- [16] Wang X, Wang S, Tang X, et al. Development and evaluation of monoclonal antibodies against phosphatidylethanolamine binding protein 1 in pancreatic cancer patients [J]. *Immunol Methods*, 2010, 362(1/2): 151-160.
- [17] Xu YF, Yi Y, Qiu SJ, et al. PEBP1 downregulation is associated to poor prognosis in HCC related to hepatitis B infection [J]. *Hepatol*, 2010, 53(5): 872-879.
- [18] 沈子律, 许啸声, 李稻. 泛素蛋白酶体及其抑制 [J]. *现代肿瘤医学*, 2006, 14(11): 1454-1457.

- [19] 黄源. 机体铁超载与肿瘤 [J]. *癌症*, 1994, 13(4): 368-371.
- [20] 豪侠, 张奕伯. 肺癌患者血清 CYFRA2121、铁蛋白、铁检测的临床意义 [J]. *肿瘤学杂志*, 2001, 7(3): 156-157.
- [21] Armstrong T, Strommer L, Ruiz-Jasbon F, et al. Pancreaticoduodenectomy for peri-ampullary neoplasia leads to specific micronutrient deficiencies [J]. *Pancreatol*, 2007, 7(1): 37-44.
- [22] Heise N, Palme D, Misovic M, et al. Non-Selective Cation Channel-Mediated Ca-Entry and Activation of Ca(2+)/Calmodulin-Dependent Kinase II Contribute to G(2)/M Cell Cycle Arrest and Survival of Irradiated Leukemia Cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2010, 26(4/5): 597-608.
- [23] Kizhatil K, Davis JQ, Davis L, et al. Ankyrin-G is a molecular partner of E-cadherin in epithelial cells and early embryos [J]. *Biol Chem*, 2007, 282(36): 26552-26561.
- [24] Hedstrom KL, Ogawa Y, Rasband MN. AnkyrinG is required for maintenance of the axon initial segment and neuronal polarity [J]. *Cell Biol*, 2008, 183(4): 635-640.
- [25] Ayalon G, Davis JQ, Scotland PB, et al. An ankyrin-based mechanism for functional organization of dystrophin and dystroglycan [J]. *Cell*, 2008, 135(7): 1189-1200.
- [26] Kizhatil K, Baker SA, Arshavsky VY, et al. Ankyrin-G promotes cyclic nucleotide-gated channel transport to rod photoreceptor sensory cilia [J]. *Science*, 2009, 323(5921): 1614-1617.
- [27] Martinez-Azorin F, Remacha M, Ballesta JP. Functional characterization of ribosomal P1/P2 proteins in human cells [J]. *Biochem*, 2008, 413(3): 527-534.

(收稿日期: 2011-03-09 修回日期: 2011-08-12)

(上接第 3645 页)

- [6] Casella CR, Mitchell TC. Putting endotoxin to work for us: monophosphoryl lipid A as a safe and effective vaccine adjuvant [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(20): 3231-3240.
- [7] Evans JT, Cluff CW, Johnson DA, et al. Enhancement of antigen-specific immunity via the TLR4 ligands MPL adjuvant and Ribi. 529 [J]. *Expert Rev Vaccines*, 2003, 2(2): 219-229.
- [8] 金生, 张大志, 陈压西. Toll 样受体研究进展与临床免疫 [J]. *重庆医学*, 2004, 33(9): 1423-1426.
- [9] Caroff M, Karibian D. Structure of bacterial lipopolysaccharides [J]. *Carbohydr Res*, 2003, 338(23): 2431-2447.
- [10] Montminy SW, Khan N, McGrath S, et al. Virulence factors of *Yersinia pestis* are overcome by a strong lipopolysaccharide response [J]. *Nat Immunol*, 2006, 7(10): 1066-1073.
- [11] 冷静, 叶峻, 黎肇炎, 等. 成团泛菌低分子脂多糖的分离纯

化和鉴定 [J]. *广西医科大学学报*, 2003, 20(6): 840-842.

- [12] Iwamoto I, Goto S, Kera J, et al. Mechanistic analysis of high antitumor effect of intradermal administration of lipopolysaccharide from *Pantoea Agglomerans* [J]. *Med Oncol*, 1996, 13(2): 103-109.
- [13] 梁自乾, 李德绘, 韦俊, 等. LPS 霜剂在烧伤创面的应用 [J]. *广西医科大学学报*, 2000, 17(1): 16-17.
- [14] 王启辉, 申继清, 韦锦斌, 等. 成团泛菌低分子脂多糖的急性毒性、刺激性、致敏性及遗传毒性评估 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2011, 30(2): 175-183.
- [15] Goto S, Sakai S, Kera J, et al. Intradermal administration of lipopolysaccharide in treatment of human cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 1996, 42(4): 255-261.
- [16] 黄志明, 黄仁彬, 陈家欢, 等. 小麦非致病菌脂多糖对小鼠免疫功能的影响 [J]. *广西医科大学学报*, 2002, 19(2): 195-197.

(收稿日期: 2011-05-31 修回日期: 2011-09-12)