

河南省高等学校重点科研项目 结项报告

项目名称：循环肿瘤细胞检测 中的
应用

项目负责人：钟

项目完成人：牛、齐、许、杨、井、尤、李

项目承担单位：

(盖章)

填写日期： 2020 年 3 月 23 日

河南省教育厅
二〇一九年制

目 录

一、项目结项报告	1
二、项目实施完成的支撑材料	
1.项目计划任务书	16
2.项目研究报告	26
3.代表性论著、论文扫描件	56

一、项目结项报告

河南省高等学校重点科研项目结项简表

项目编号		项目名称	循环 疗临 过继性免疫治											
项目负责人		起止时间	2015 年 01 月 01 日--2016 年 12 月 31 日											
项目类别	☐ 基础研究项目 ☒ 软科学项目													
承担单位														
项 目 经 费（万元）														
总计	省财政拨款				单位匹配				其他					
2	2				0									
科技奖励情况(项)			成果应用情况				后续资助情况（项）							
国家	省部	其他奖励	是否鉴定	是否转化	转化收入 (万元)	授权专利 (项)	合计	经费 (万元)	国家	省部	横向			
专著 (部)		论文（篇）						人才培养情况（名）						
合计	中文	外文	合计	核心	其他	检索情况（篇）								
						合计	SCI	EI	ISTP	合计	博士后	博士	硕士	学士及其他
			5	3		2	2			2			2	

研究工作总结

研究工作总结是全面反映本项目研究工作的学术性总结报告。请按照下列提纲编写，要求简明扼要，实事求是，以学术内容为主，一般字数控制在 2000 字左右。如需要，可另加页。

一、研究内容和研究方法

研究内容：本研究拟利用循环肿瘤细胞检测系统，检测 NSCLC 患者接受肿瘤 CIK（cytokine-induced killer cells, CIK）前后外周血中循环肿瘤细胞 CTCs 的数量；以及进行化疗前后外周血相关免疫指标的变化，实时了解和判定 CIK 的治疗效果，为下一步治疗方案的调整和改进提出迅速、及时、准确的科学参考依据，以期使每一位接受个体化 CIK 细胞治疗的患者达到最理想的转归。一方面通过以循环肿瘤细胞检测这个手段，系统探索 CIK 细胞治疗与患者疾病转归的内在关系，进而减少肿瘤过继性免疫治疗的盲目性，推动 CIK 细胞治疗技术的提高和临床使用方案的完善；另一个方面探索接受 CIK 治疗患者多疗程化疗后免疫相关指标的变化，为后续的进一步联合 PD-1/PD-L1 免疫治疗等提供科学参考。

研究方法：

1、收集临床 NSCLC 肺癌患者治疗前和接收至少 5 周期的 CIK 治疗外周血 7.5 ml，然后采用 Cell search 循环肿瘤细胞检测系统进行检测，评估前后 CTC 数量的差异；

（1）共收集 2015 年 01 月-2015 年 12 月在新乡医学院第一附属医院住院期间的 72 例肺癌患者，研究病例均经纤维支气管镜或肿块穿刺活检明确诊断为肺恶性肿瘤，全部为初诊患者，未经任何放疗、化疗、手术或免疫治疗等治疗措施；

（2）既往无恶性肿瘤病史，排除严重感染性疾病、肝病、血液系统疾病、自身免疫性疾病、免疫缺陷病等影响免疫功能的疾病，未服用免疫抑制或免疫增强类药物；

（3）所有患者均接受 CIK 免疫细胞治疗和后续的含铂类两药联合化疗，每化疗周期前收集患者外周血标本；并收集病人完整的临床资料和常规实验室检查结果；

（4）最终统计分析病例共 23 例（患者信息统计表见下表 1），集齐连续 CIK 治疗前和治疗后（一个周期为 5 次输注）患者抗凝外周血 7.5 ml 以及 5 次化疗前外周血液标本抗凝血 2 ml，余病例失访、中间标本缺失或截至统计日期前未达 5 次 CIK 治疗/化疗。

2、在 CTC 检测基础上，采用流式细胞检测 23 例初诊肺癌患者 5 次化疗前外周血中 T 淋巴细胞及其亚群、B 淋巴细胞、NK 淋巴细胞数量，T 淋巴细胞表面共信号分子表达及细胞因子表达；并收集患者的完整临床资料及临床常规实验室检查指标。分析从第 1 次到第 5 次化疗过程中，上述指标是否具有显著的动态改变。应用 Flowjo 7.6.1 进行流式图分析，应用 SPSS 20.0 软件

进行统计分析。所有计量数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组间的比较采用独立样本 t 检验， $p < 0.05$ 为差异有统计学意义。

二、主要研究结果：

- 1、通过收集接收临床接收 CIK 治疗的患者 23 例，具体患者信息如下表。患者至少接收一周期的 CIK 治疗（共 5 次 CIK 输注），收集患者 CIK 细胞培养前的血液，采用 Cell search CTC 检测方法检测血液中 CTC 的数量；结果发现，经过多次 CIK 治疗后，外周血中 CD3+ 细胞显著增多，平均增加比率为 $15 \pm 3.7\%$ ，说明 CIK 细胞输注能够有效增加患者外周血中 CD3+ 细胞的比率；同时，CTC 细胞计数表明，CIK 输注后能够有效减少外周血中 CTC 的数量，CTC 数量从最开始的 53 ± 39.7 个左右下降到治疗的 48.5 ± 31.7 个（基于 23 例患者数量， $p = 0.076$ ）。由于 CTC 数量与肿瘤的预后高度相关，因此 CIK 治疗在预防 NSCLC 方面有一定的积极意义。总体而言循环肿瘤细胞数量有所下降，然差异不显著（ $p > 0.05$ ）；
- 2、患者在完成 CIK 周期治疗后，间隔一个月后，又开始接受多周期的化疗。收集该患者 CIK 治疗前多次化疗前后外周血，采用流式细胞术检测白细胞数量、CD3/4/8 细胞数量、NK 细胞比率、T 细胞表面 PD-1、LAG3、TIM3 等免疫相关指标的变化。

结果发现：统计分析发现，1）多次化疗中白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞、血小板、血红蛋白的水平显著下降；2）患者血生化（总蛋白、白蛋白、球蛋白、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、葡萄糖）指标变化不显著；3）肿瘤标志物 CEA、CA199、CA125 表达水平显著下降；4）CD8+T 淋巴细胞、CD19+B 淋巴细胞和 CD16+CD56+ NK 细胞水平下调，CD4+ T 淋巴细胞水平显著增加；5）CD4+T 淋巴细胞表面 PD-1 表达明显上调，PD-L1 表达明显下调，CCR-4、CD137、CTLA-4 和 LAG-3 表达整体变化不显著；6）CD8+T 淋巴细胞表面 PD-1、CTLA-4 和 CCR-4 表达上调，PD-L1 表达水平下调，CD137 整体表达无明显差异；7）外周血相关细胞因子（IL-2、IFN- γ 、IL-4、IL-6、IL-10、TNF- α 和 IL-17A）整体表达无显著差异。

三
并

年
性
册

治
具
P

三、研究成果的科学意义和应用前景

肺癌的发病率和死亡率目前均居世界首位，远处转移是导致肺癌患者死亡的主要原因，肿瘤一旦发生复发转移，疾病将很难治愈。循环肿瘤细胞（circulating tumor cells, CTCs）是指因自发或者诊断操作由原发灶和转移灶脱落进入外周血的肿瘤细胞，其存在于多种实体瘤中，与转移复发密切相关。在实体肿瘤中，CTCs 可以反映肿瘤负荷，预测疾病发展，协助治疗决策，因此它的诊断和预测价值以及在转化医学研究中的作用，越来越受到科学家们的重视。肿瘤过继性免疫治疗是近年来临床治疗手段中的一种新的尝试，5 年前国内多家医院开展自体免疫细胞治疗肿瘤的临床工作，多采用细胞因子活化杀伤治疗（Cytokine Induced Killer, CIK）细胞治疗方案。我省在 2015 年前诸多医院也大量开展 CIK 治疗，然 CIK 细胞治疗与患者疾病转归的内在关系，仍缺乏很好的随机对照临床关键数据，具有一定的盲目性。本项目采用循环肿瘤细胞检测和流式细胞术分析技术，探索性的检测肺癌患者接受 CIK 治疗后 CTCs 的变化，相关研究发现，患者接受 CIK 治疗后，CTCs 数量有一定程度的下降，表明 CIK 治疗能够在一定程度上改善患者的预后，具有一定的积极意义，为推动 CIK 细胞治疗技术的规范化开展和临床使用方案的完

善提供了技术参考。然整体而言,从统计学上角度来说,CTCs 下降没有显著性差异,因此简单的 CIK 输注可能需要进一步优化,需要联合其他治疗手段或者改变输注的顺序,如化疗后再行 CIK 输注或者联合当前的 PD-1/PD-L1 抗体进行联合治疗,就可能有效的提高 CIK 治疗的效果,然相关推论需要进一步的临床探索才能得以验证。

同时,流式细胞术分析表明,多次化疗能够显著影响 PD-1、PD-L1 等免疫相关指标,化疗过程中,外周血 CD4+T 淋巴细胞表面 PD-1 表达明显上调,PD-L1 表达明显下调, CD8+T 淋巴细胞表面 PD-1、CTLA-4 和 CCR-4 表达上调,化疗后期针对免疫检查点高表达患者,联合应用 PD-1 抗体、PD-L1 抗体或者 CCR-4 抗体可能具有更优的临床效果。化疗与免疫治疗的结合是肿瘤综合治疗的前沿探索,基于化疗对机体免疫功能的双向调节作用,治疗过程中机体免疫指标变化具有重要意义,然而目前国内缺乏对化疗过程中机体免疫指标的长线动态观察。本研究通过检测肺癌患者 5 周期化疗过程中外周血免疫相关指标动态变化,如 CD4+ T 细胞、CD8+T 细胞、CD19+ B 细胞和 CD16+CD56+ NK 细胞比率, T 细胞表面共信号分子 PD-1、PD-L1、CD137、CTLA-4、CCR-4 和 LAG-3 表达以及细胞因子表达情况,初步探索免疫治疗与化疗结合的有利切入点,为临床免疫治疗介入提供实验依据。相关研究结果为后续的临床化疗联合免疫治疗提供了科学依据和理论参考,具有一定的临床价值。

四、经费来源及使用情况

所有研究均为省财政拨款 2 万元,目前还剩余科研经费 0.0421 元。在支出的 1.9579 万元经费中,其中原材料/试剂/药品费 1.8529 万元,文章查新费 0.005 万元,管理费 0.1 万元。

五、预期计划(如有变动,须说明)的完成情况与存在的问题。

本课题研究内容已按照预期计划进行并部分顺利完成。

存在的问题:本项目是采用循环肿瘤细胞分析技术测定免疫细胞治疗(主要为 CIK 治疗)后 CTCs 的变化。2015 年度项目获批后,团队立即执行,然 2016 年‘魏则西’事件发生后,本项目依托医院的临床免疫细胞治疗全面叫停,因此影响本项目的进一步有效执行,导致本项目在 73 例入组患者的基础上最终仅收集了 23 例患者的 CTCs 数据,不能有效的体现 CIK 治疗后对 NSCLC 患者的疗效,因样本量偏小,相关结果从样本量角度可能缺乏让人信服的统计学差异。

在进行的过程中,在实验方法中有以下微调和改进:

在单独的循环肿瘤细胞检测的基础上,进一步采用流式细胞术分析多次化疗后相关免疫相关指标的变化。

表 1 河南省高等学校重点科研项目成果目录

成 果 名 称	主要完成 者	组织评议单位 及日期	授奖单位、奖励名称、 等级及日期	获准专利国别、类别 及专利号

请在附件中提供科学技术成果评议证明书、奖励证书或专利证书彩色扫描件。

表 2 河南省高等学校重点科研项目完成论著目录

主要作者	论 著 名 称	论 文：刊物名称，时间，卷（期）：起止页码 著 作：出版地：出版社，时间
M, Zhong G*	初诊肺癌患者多次化疗外周血免疫相关指标动态变化研究	中国肿瘤临床，2017；44（22）：21-25.
	敏 PD-1 抗体增强奥沙利铂体内外抗结肠癌的效果.	中国肿瘤生物治疗杂志，2018；10：999-1005.
	过表达 IL-18 抑制人结直肠癌细胞 HCT-116 的增殖	中国肿瘤生物治疗杂志，2018；2:142-147
	An arginine-rich cell penetrating peptide contained anti-gelatinase scFv-LDM fusion protein shows potent antitumor efficacy in pancreatic cancer.	J Cancer, 2018; 9(4):674-682.
	Chitooligosaccharides prevents the development of colitis-associated colorectal cancer by modulating the intestinal microbiota and mycobiota	Front Microbiol. 2019; 10: 2101. doi: 10.3389/fmicb.2019.02101

请在附件中提供代表性论著/论文（彩色扫描件，不超过 6 篇/册）和其余论著/论文的首页和有标注项目编号页的扫描件。

表 3-1 同行专家评议意见 (3 位)

项目名称		循环肿瘤细胞检测在肿瘤临床研究中的应用			
专家姓名		出生年月	1975.06	技术职务	研究员
文化程度 (学位)		博士	所学专业 微生物与 生化药学	现从事专业	抗肿瘤药物 研究
所 在 单 位	单位名称	中国医学科学院医药生物技术研究 (盖章)			
	通信地址	北京天坛西里1号		邮政编码	100050
	联系电话				
本研究为临床科研课题,利用循环肿瘤细胞检测系统及流式细胞术,检测肺癌患者接受肿瘤CIK前后外周血中CTCs的数量;以及患者进行化疗前后外周血相关免疫指标的变化,系统探索CIK细胞治疗与患者疾病转归的内在联系,进而减少肿瘤过继免疫治疗的盲目性,推动CIK细胞治疗技术的提高和临床使用方案的完善;另一方面探索接受CIK治疗患者多疗程化疗后免疫相关指标的变化,为后续的进一步联合PD-1/PDL1免疫治疗等提供科学参考。相关结果表明,CIK治疗后能在一定程度上减少CTCs的数量,表明在NSCLC中,CIK治疗能在一定程度上降低CTCs数量,因为样本量的因素,差异不够显著($P>0.05$),但有趋势;同时也体现了化疗对免疫的影响,相关结果也为后续联合免疫治疗提供实验参考。有定的参考价值。 专家签名: 2019年11月29日					

表 3-2 同行专家评议意见 (3 位)

项目名称		循环肿瘤治疗临床研究中的应用			
专家姓名		出生年月		技术职务	研究员
文化程度 (学位)	博士	所学专业	微生物与 生化药学	现从事专业	肿瘤药理学
所 在 单 位	单位名称	中国医学科学院医药生物技术研究所 (盖章)			
	通信地址	北京市西城区南纬路 2 号医药生物技术研究所		邮政编码	100050
	联系电话	1.)			
本研究利用循环肿瘤细胞检测系统检测细胞外, 检测肺癌患者接受肿瘤 CIK 前后外周血中 CTCs 的数量; 以及进行化疗前后外周血相关免疫指标的变化, 系统探索 CIK 细胞治疗与患者预后、免疫微环境、以及患者接受化疗后免疫相关指标的变化, 为后续进一步联合当前最热门的免疫治疗等提供科学参考。相关结果表明, CIK 治疗后能在一定程度上减少 CTCs 的数量, 表明在临床的 NSCLC 治疗中, CIK 的适时介入可能在提高患者生存期方面有一定的价值。同时免疫相关检测化疗对免疫的影响, 表明多周期化疗后诸多免疫指标发生改变, 如白血球数量、PD-1、PD-L1、CCR-4 表达等, 本实验结果也为临床后续的联合治疗策略提供了相关科学依据, 有一定的临床参考价值。 专家签名: 2019 年 11 月 26 日					

表 3-3 同行专家评议意见 (3 位)

项目名称		循环肿瘤细胞检测在肺癌研究中的应用			
专家姓名		出生年月	技术职务	研究员	
文化程度 (学位)		所学专业	现从事专业	微生物	
所在单位	单位名称	中国科学院沈阳应用生态研究所 (盖章)			
	通信地址	沈阳, ... 72号	邮政编码	110016	
	联系电话	3. (其他)			

本研究利用莱尔 CTC 检测系统及流式细胞术, 检测肺癌患者接受肿瘤 CIK 治疗前后外周血中 CTC 数量的变化, 以及化疗前后外周血相关免疫指标的变化。

研究结果表明, CIK 治疗可减少患者外周血 CTC 数量, 证实免疫细胞治疗的适度介入可在一定程度上提高肺癌患者的预后, 有助于改善生存质量。免疫相关检测体现了化疗对免疫的影响, 相关结果可为后续的联合免疫治疗 (PD-1/PD-L1, CTLA-4 抗体等) 提供实验参考和科学意义, 具有一定临床指导价值。

专家签名: _____
2019 年 11 月 22 日

表 4 经费决算表

项目编号:

来源 (万元)	合计	省财政拨款	单位匹配	其他
	2	2		
支出科目		金额(万元)	说明	
1.科研业务费	测试/计算/分析费			
	差旅费/会议费/国际合作与交流费			
	出版/文献/信息传播/知识产权事务费	0.005	查新费	
	其他			
	合计			
2.试验材料费	原材料/试剂/药品购置费	1.8529	购买相关流式抗体等	
	其他			
	合计			
3.仪器设备费	购置费			
	试制费			
	合计			
4.劳务费		0		
5.专家咨询费		0		
6. 其他	(不含财务规定不能支出的科目)	0.1	项目管理费按照 5%扣除	
总计		1.9579		
结余经费		0.0421		

财务负责人(签章):

财务管理部门

年 月



诚信承诺:

本人承诺对填写的各项内容真实性负责。

在高校重点科研项目实施过程中,遵守科学道德和诚信要求,严格执行有关科技项目管理规定,没有下列科研不端行为:

- (1) 在职称、简历以及研究基础等方面提供虚假信息;
- (2) 抄袭、剽窃他人科研成果;
- (3) 捏造或篡改科研数据;
- (4) 侵犯他人知识产权;
- (5) 其他科研不端行为。

项目负责人签字:

2020 年 3 月 20 日

承担单位科技管理部门审核意见:

同意结项

负责人(签章):

年 月 日

(公章)

科技处

070-00157024

二、项目实施完成的支撑材料

计划公布文号： 教科技〔2015〕95 号

项目下达编号： 15A320063

河南省高等学校重点科研项目

计划任务书

负 责 人：

项 目 名 称：

所 在 学 校：

联 系 电 话： _____

河南省教育厅 河南省财政厅

二〇一四年制

填写说明

一、本任务书规范高校重点科研项目的实施与管理，作为项目验收依据之一。

二、本任务书由项目负责人根据项目立项文件，依托河南省高校科技管理云服务平台填写，由项目承担单位科研管理部门和重点项目管理办公室核准。

三、“所属学科”应填写二级学科，详见教育部公布的学科分类与代码。

每份任务书按照计划下达通知选填其中之一。请在任务书上注明所属学科的具体类别，如“所属学科：数学”。

四、计划研究时间一般为 2-3 年。

一、基本信息

项目信息	项目名称	循环肿瘤细胞检测系统/过继性免疫治疗在肺癌研究中的应用		
	项目下达编号	15A320063		
	所属学科	临床医学-肿瘤学		
	开始日期	2015-01-01	截止日期	2016-12-31
	课题组 主要研究方向	肿瘤生物治疗		
负责人信息	姓 名		性 别	
	出生年月		职 称	
	最后学历		学 位	
	办公电话		手 机	
	电子邮件	1		
摘要	肿瘤的过继性免疫治疗是目前临床手术、放疗和化疗的有效补充，然而目前采用的 RECIST 肿瘤疗效评价标准不能及时、客观和有效的反应其临床疗效，因此如何采用更加有效的方法评估其临床疗效亟待研究。本研究拟以目前高发的小细胞肺癌为研究对象，采用循环肿瘤细胞检测系统检测患者接受过继性免疫治疗 CIK 细胞（cytokine induced killer cell)前后体内循环肿瘤细胞数量的变化，探索其在评估临床肿瘤的过继性免疫治疗疗效的可行性。为目前开展的临床 CIK 治疗提供新的临床疗效评估方法，同时也为肿瘤免疫治疗的临床有效开展提供技术支撑。			
关键词	循环肿瘤细胞，过继性免疫治疗，小细胞肺癌			

二、课题组成员（不含申请者）

[illegible]

《循环肿瘤细胞检测在肿瘤过继性免疫治疗临床研究中的应用》项目

研 究 报 告

项目完成单位： (公 章)

项 目 来 源： 河南省教育厅

研究起止时间： 2015.01-2016.12

项目所属学科： 肿瘤学 100214 (填到二级学科名称及代码)

联系人及电话：

编写日期： 2020 年 3 月 23 日

目 录

一、引言

二、材料与方法

三、结果与讨论

四、总结

五、参考文献

一、引言

循环肿瘤细胞(Circulating Tumor Cell, CTC)通常是指因自发或诊疗操作引起的从原发灶或转移灶侵入人体外周血的肿瘤细胞^[1]。此概念是在1869年由Ashworth等首次提出的^[2]。CTC一般以单细胞或者细胞团的形式存在于循环系统中。大部分侵入循环系统的肿瘤细胞会在短期内死亡,只有极少数具有高度转移倾向和活力的CTCs才能存活下来,相互聚集成团,并在一定条件下发展为转移灶^[3]。进入外周血循环是发生肿瘤转移的必要条件,因此在外周血中检测到肿瘤细胞预示着将有可能发生肿瘤转移,目前临床已经采用CTC作为评估肿瘤预后的参考指标之一^[4]。

近年来,CTCs在临床应用的研究获得了长足的发展,越来越多的研究表明其可以为多种肿瘤提供重要的预后信息,如转移性乳腺癌^[5],直肠癌^[6],前列腺癌^[7]等。由于CTCs检测的对象是血液标本,取材比传统意义上的组织活检更方便,而且可重复性强,而被称之为“液态的活检”^[8]。

多项研究发现CTCs作为肿瘤个体化治疗的一个重要靶标,在肿瘤转移起始中发挥重要作用^[9]。除了有助于肿瘤转移外,CTCs还具有上皮细胞-间充质转化(EMT)的特征,使得CTCs细胞具有一定的生存优势能够成功入侵新的组织位点并形成转移灶^[10]。Huang CH等研究发现血液中CTCs的数量与肿瘤的恶性程度有关,细胞数量的变化程度可反映治疗的效果^[9]。间变性淋巴瘤激酶(Anaplasticlymphomakinase, ALK)基因是一种致癌驱动基因,突变、基因扩增或染色体重排均可以导致ALK基因异常激活,从而促进肿瘤生长^[12]。在3-7%的非小细胞肺癌患者中ALK基因重排是一个独特的分子子集,主要是由于该基因发生重排并与其他基因进行了融合。Vincent Faugeroux等证实在ALK阳性的非小细胞肺癌患者中通过检测CTCs发现了ALK重排,这项研究为ALK阳性的患者在使用ALK抑制剂治疗诊断方面提供了新的观点^[10]。Wong SC等通过使用免疫磁珠富集法检测发现CK20阳性的CTCs细胞数与肿瘤淋巴结转移分期和淋巴结状态有关,对检测肿瘤的复发与转移提供了新的思路^[11]。Yie SM等通过检测发现胃癌和结肠癌患者外周血中CTCs的survivin(生存素)mRNA表达水平与肿瘤的转移和复发率成正比,并且发现检测CTCs细胞中survivin的表达比传统的检测血浆癌胚抗原(CEA)的含量在预测复发方面更为准确^[12]。Yuan D等发现CD44+/CD45-的

半月刊

1983年3月创刊

主编 郝希山

常务副主编 孙保存

编辑部副主任 刘惠琴

主管 中国科学技术协会

主办 中国抗癌协会

出版单位

《中国肿瘤临床》编辑部

电话/传真: (022)23527053

网址: www.cjco.cn

E-mail: cjco@cjco.cn cjcotj@sina.com

广告经营许可证号 1201034000040

印刷 天津中铁物资印业有限公司

总发

国内总发行: 天津市邮政报刊发行局

邮发代号: 6-18

海外总发行: 中国国际图书贸易集团有限公司

国外发行代号: M6690

订购 全国各地邮政局

邮购

《中国肿瘤临床》编辑部

邮政编码: 300060

地址: 天津医科大学肿瘤医院C楼3层

天津市河西区体院北环湖西路

国内定价: 35元 全年定价: 840元

ISSN 1000-8179

CN 12-1099/R

2017年版权归中国抗癌协会所有

特别声明: 本刊所有文章不代表中国抗癌协会和

编辑委员会的观点。如有印装质量问题, 请联系编辑

部进行调换

目次

基础研究

- 1115 PD0332991在套细胞淋巴瘤细胞集落形成中的作用
王芳 张新伟
- 1120 异甘草素增加人脑胶质瘤干细胞放射敏感性的实验研究
林瑜亮 党莹 孙红军 荔志云
- 1125 山茱萸提取物对大鼠原发性肝癌组织中B7-H6表达的影响
肖鹏 白桦 栗敏 刘桂举 李瑞君 梅家转

临床研究与应用

- 1130 恶性肿瘤患者合并侵袭性念珠菌感染的预后因素分析
李丁 张青 白长森 张文芳 郑珊 李峥 张鹏
- 1135 初诊肺癌患者多次化疗外周血免疫相关指标动态变化的研究
尤荣 陈—— 杨—— 许—— 路—— 钟——

- 1141 甲状腺乳头状癌颈侧区淋巴结跳跃转移危险因素分析
胡代星 周静 苏新良 吴凯南 何伟 曹益嘉 任浩宇 毛雨
宴怡 彭杰

术式交流

- 1146 3D打印技术在蝶骨嵴脑膜瘤切除术中的应用价值
刘宇清 何炳蔚 黄绳跃 杨智坤 庄江惠 陈明武 陈寿
廖正俭

国家基金研究进展综述

- 1151 放疗联合免疫治疗的生物学基础及研究进展
尹利梅 庞琛 卢铀

综述

- 1155 EGFR-TKI 治疗 S768I 突变非小细胞肺癌的研究进展
段桦 综述 崔慧娟 审校
- 1160 TIAM1 在儿童神经母细胞瘤中的研究进展
邱艳丽 综述 赵强 审校

病例报告与分析

- 1165 晚期复发舌癌挽救性手术和一蒂三瓣修复全舌及颈部复杂缺损 1 例
陈义波 李超 周雨秋 祝春燕 蔡永聪 王薇
- 1167 阿帕替尼治疗患者出现甲状腺功能减退 2 例
王伟星 胡毅 饶智国 章必成

读者·作者·编者 (1119)(1129)(1140)(1150)(1168)

2017 年第 44 卷第 22 期广告目录

- 封二:深圳万乐药业有限公司(THP®注射用盐酸吡柔比星)
- 前插 1:绿叶制药集团(力扑素-注射用紫杉醇脂质体)
- 前插 2:大连华立金港药业有限公司(榄香烯脂质体注射液 口服液)
- 封三:上海罗氏制药有限公司(注射用曲妥珠单抗)
- 封底:西安正大制药有限公司(平消胶囊)

《中国肿瘤临床》收录情况

中国中文(医学)核心期刊

中国科技核心期刊

中国科学引文数据库源期刊

RCCSE 中国核心学术期刊(A)

为美国《化学文摘》、美国《乌利希期刊指南》、日本《科学技术文献速报》、《中国学术期刊综合评价数据库》、《中国期刊网》、《中国期刊全文数据库(光盘版)》、《中国学术期刊文摘》收录;《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中国学术期刊网络出版总库》、中国知网全文上网。

《中国肿瘤临床》栏目一览

院士论坛、专家论坛、临床指南、专家共识、基础研究、临床研究与应用、MDT 论坛、新药临床试验、术式交流、国家基金研究进展综述、病情报告、特约综述、综述、病例报告与分析

初诊肺癌患者多

变化的研究*

尤^{①②} 陈^① 杨^① 许^① 路^② 钟^① 项目负责人为通讯作者

摘要 **目的:**探索免疫治疗与化疗相结合的有利切入点,为临床免疫治疗介入提供试验依据。**方法:**收集 2015 年 11 月至 2016 年 12 月 3 例肺癌患者,全部患者均完成连续 5 个周期的化疗,采用流式细胞术方法检测化疗过程中患者外周血免疫相关指标如 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、CD19⁺B 细胞和 CD16⁺、CD56⁺、NK 细胞比率,T 细胞表面共信号分子 PD-1、PD-L1、CD137、CTLA-4、CCR-4、LAG-3 以及细胞因子表达情况。分析多周期过程中,上述指标动态变化趋势。**结果:**在肺癌患者多个周期的化疗过程中,机体 CD8⁺T 淋巴细胞、CD19⁺B 淋巴细胞和 CD16⁺、CD56⁺、NK 细胞水平下调,CD4⁺T 淋巴细胞数量增加,差异具有统计学意义($P<0.05$);T 细胞表面共抑制分子 PD-1、CTLA-4 和 CCR-4 随治疗进行表达下调,差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**肺癌患者在多个周期的化疗中,实施淋巴细胞亚群数量及 T 细胞表面共抑制分子监测具有重要意义,化疗中后期针对免疫检查点高表达患者,联合应用 PD-1 抗体、PD-L1 抗体、CTLA-4 抗体或 CCR-4 抗体可能具有更优的治疗效果。

关键词 免疫治疗 T 细胞表面共信号分子 肺癌 多个周期的化疗

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2017.22.642

Profiling the dynamic changes of PBMC immune-related indicators in patients with lung cancer after chemotherapy cycles

Duo YOU^{1,2}, Yanan CHEN¹, Ru YANG¹, Zhishan XU¹, Ping LU², Genshen ZHONG¹

Correspondence to: Genshen ZHONG; E-mail: zhonggs@xxmu.edu.cn

¹Lab of Cancer Biotherapy; ²Department of Oncology, First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, China

This study was supported by the National Natural Science Foundation for Youth of China (No. 81201765), the Key Scientific Research Projects for Higher Education of Henan Province (No. 15A320063), and the Graduate Student Support of Scientific Research Innovation Projects of Xinxiang Medical University (No. YJSCX201509Z) and Young Backbone Teachers Fellowship in Henan Province (2016GGJS-105)

Abstract **Objective:** To explore the optimal time point for combining chemotherapy and immunotherapy and provide an experimental basis for immunotherapy intervention in clinical. **Methods:** Twenty-three lung cancer patients who completed five chemotherapy cycles between November 2015 and December 2016 in the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University were enrolled in this study. Numbers of T lymphocyte subsets, B lymphocytes, and NK lymphocytes in peripheral blood were counted. Expression levels of T lymphocyte co-suppression molecule and cytokines in the peripheral blood mononuclear cell were detected using flow cytometry to analyze the dynamic changes of such indicators from one cycle to five cycles of chemotherapy. **Results:** Significant decreases in the levels of CD8⁺ T lymphocytes, CD19⁺ B lymphocytes, and CD16⁺CD56⁺ NK cells and an increase in CD4⁺ T lymphocytes were observed in the course of multi-cycle chemotherapy for patients with lung cancer. Differences were statistically significant ($P<0.05$). The co-suppression molecular expression of PD-1, CTLA-4, and CCR-4 with T lymphocytes was downregulated, and the differences were significant ($P<0.05$). **Conclusion:** Profiling the dynamic changes of lymphocyte subsets and the expression of T lymphocyte co-suppression molecule are significant in multiple chemotherapy cycles for patients with lung cancer. In the later stage, the combined application of PD-1, PD-L1, CTLA-4, or CCR-4 antibody may exert good therapeutic effects for patients with a high expression level of related immune checkpoints.

Keywords: immunotherapy, T lymphocyte surface co-signaling molecules, lung cancer, multi-cycle chemotherapy

肺癌已成为全世界范围内发病率和死亡率居首位的恶性肿瘤,每年新发病例约 160 万,其总体治愈率<20%,其中晚期患者 5 年生存率不到 5%,非小细

胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)晚期患者给予标准含铂两药联合化疗,其中位总生存期(median overall survival, mOS)仅 10 个月^[1-2]。从免疫学的

作者单位:①

*本文课题受国

65)、河南省高校重点科研项目(编号:15A320063)、

)资助

通信作者:zhonggs@xxmu.edu.cn

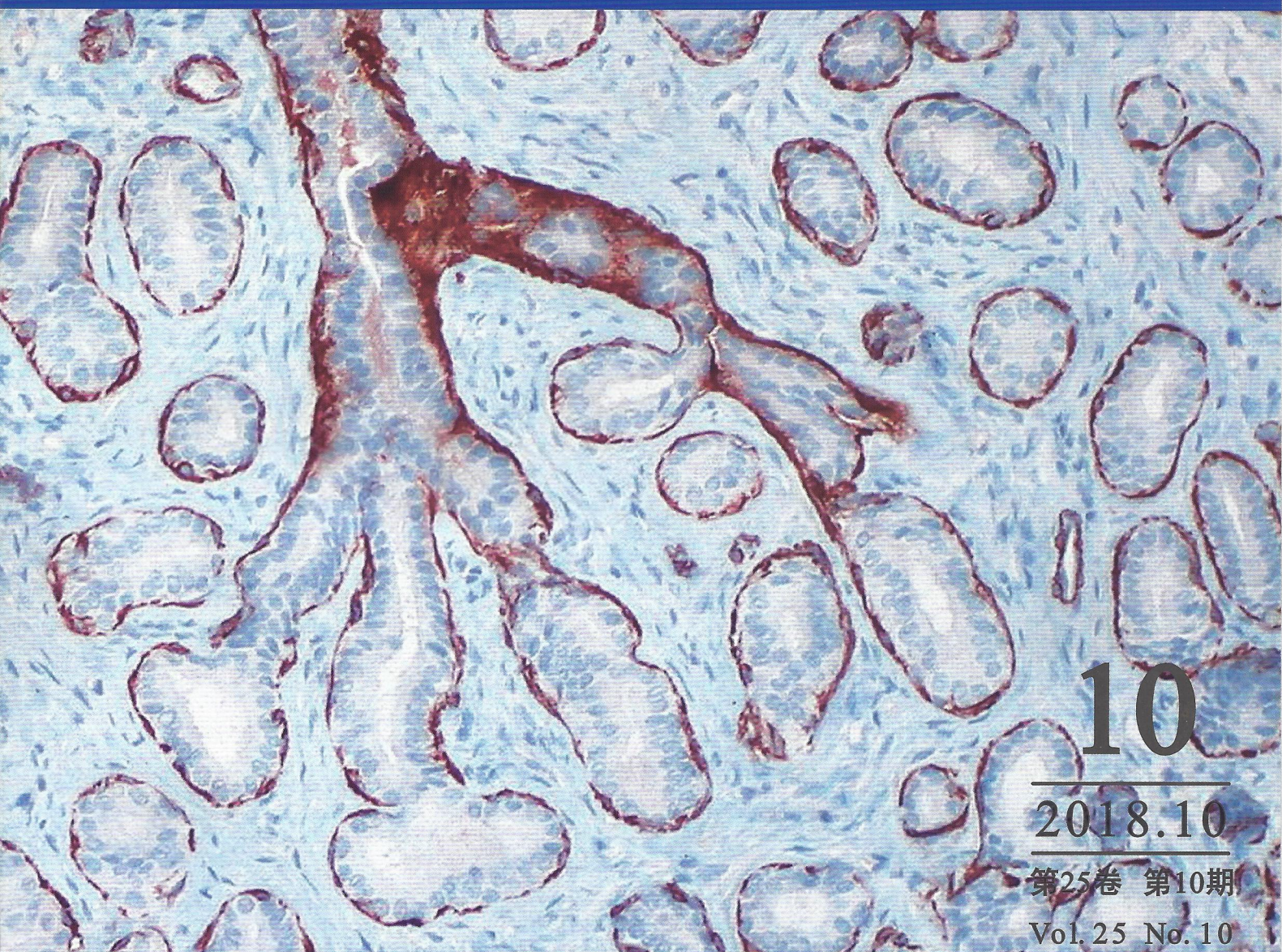
中国精品科技期刊
中国中文核心期刊
中国CSCD核心期刊
中国科技核心

RCCSE权威学术期刊
中国CSTPCD统计源期刊
解放军优秀医学期刊
中国抗癌协会优秀期刊

ISSN 1007-385X
CN 31-1725/R
CODEN ZZSZA5

中国肿瘤生物治疗杂志

Chinese Journal of Cancer Biotherapy



10

2018.10

第25卷 第10期

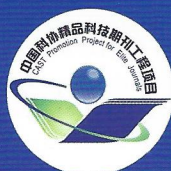
Vol. 25 No. 10

ISSN 1007-385X



9 771007 385186

10>



中国(第二届)精品科技期刊
RCCSE 中国权威学术期刊
中国中文(医学)核心期刊
中国科技核心期刊
中国科学引文数据库核心期刊
中国科技论文统计源期刊
解放军优秀医学期刊
中国抗癌协会优秀期刊

被以下国内数据库收录

中国科技论文与引文数据库
(CSTPCD)
中国科学引文数据库(CSCD)
中国学术期刊综合评价数据库
(CAJCED)
中国期刊全文数据库(CNKI)
万方数字化期刊全文数据库
(Wanfang Data)
中文科技期刊数据库(CQVIP)
中国生物医学文献光盘数据库
(CBMdisc)
中文生物医学期刊文献数据库
(CMCC)
中国科学评价研究中心数据库
(RCCSE)
《中文核心期刊要目总览(2018年版)》

被以下国外数据库收录

美国《化学文摘》(CA)
俄罗斯《文摘杂志》(AJ)
荷兰《医学文摘》(EMbase)
荷兰文摘与引文数据库(Scopus)
WHO 西太平洋医学索引(WPRIM)
美国《剑桥科学文摘》(CSA)
英国国际农业与生物科学研究
中文数据库(CABI)
英国全球健康数据库(GH)
波兰《哥白尼索引》(IC)
瑞典《开放获取期刊指南》(DOAJ)
WHO HINARI 数据库(HINARI)
美国《乌利希国际期刊指南》
(Ulrich IPD)

Indexed by

Chemical Abstracts (CA)
Abstracts Journal (AJ)
Excerpta Medica Database (EMbase)
SciVerse Scopus(Scopus)
WHO Western Pacific Region Index
Medicus (WPRIM)
Cambridge Scientific Abstracts (CSA)
Centre for Agriculture and Bioscience
International (CABI)
Global Health (GH)
Index Copernicus (IC)
Directory of Open Access Journals (DOAJ)
WHO HINARI Database(HINARI)
Ulrich's International Periodicals
Directory (Ulrich IPD)

1034 高强度聚焦超声波通过调控 miR-1297/PTEN 分子轴抑制胰腺癌细胞的增殖与迁移

陈坚,裴峰,徐周敏

临床研究

1042 LncRNA RP11-259P1.1 在小细胞肺癌组织中的表达及其临床意义

李晓华,代斌,周婷,周菁,肖贞良

1048 Galectin-3 在人乳腺癌组织中的表达及对 MCF-7 细胞恶性生物学行为的影响

邱鹏,马立志,汤肖肖,刘晓丽,窦艳,刘月平

1055 肺肉瘤样癌患者外周血中单核细胞与淋巴细胞比值的临床意义

杜伟娇,曹艳娇,张维红,孙蕾娜,魏枫,刘亮,曹水

综 述

1060 斑点型锌指结构蛋白在恶性肿瘤发生发展中的作用

何燕,张双,彭星辰

1064 miR-32 在恶性肿瘤发生发展中的作用及其机制

耿石磊,王熙才,陈艳

1072 长链非编码 RNA 在膀胱癌发生发展中的作用及其机制

王小飞,汪磊,李宁忱

1077 肿瘤浸润淋巴细胞治疗恶性黑色素瘤研究新进展

贾沙沙,付桥粉,宋鑫

1083 《中国肿瘤生物治疗杂志》常用英文缩略词表

1087 《中国肿瘤生物治疗杂志》稿约

本期广告

封二 沈阳三生制药有限责任公司(重组人血小板生成素注射液)

封三 上海恒润达生生物科技有限公司

封四 索尼(中国)有限公司(多功能全自动流式细胞分选仪)

插页 《中国肿瘤生物治疗杂志》第四届编辑委员会名单

《中文核心期刊要目总览》入编通知

责任编辑:党瑞山,王映红

责任校对:郑芹,韩丹,黄静怡,阮芳铭

终 审:于益芝,沈志超

项目负责人为第一作者

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2018.10.005

·基础研究(专题)·

PD-1 抗体增强奥沙利铂联合抗结肠癌的效果

钟永琛^{1a,b}, 刘

内二科; b. 河

心; d. 基础医学研究所, 河南省肿瘤医院, 郑州 450003; 2. 山东省肿瘤医院, 济南 250117)

[摘要] **目的:** 探讨奥沙利铂(oxaliplatin, OXA)联合PD-1抗体对结肠癌的抗肿瘤作用。**方法:** 选用结肠癌细胞系HCT-116和HT-29,用流式细胞术检测细胞中PD-L1的表达。采用T细胞共培养的方法检测OXA预处理HCT-116细胞联合PD-1抗体作用后细胞因子分泌及CD4/CD8亚型变化。建立BALB/c小鼠的结肠癌细胞CT26移植瘤模型,用OXA联合PD-1抗体治疗,评估其抗肿瘤活性;同时采用CD8抗体清除小鼠CD8⁺T细胞,评估CD8⁺T细胞在OXA抗肿瘤中的作用。**结果:** OXA能够显著上调结肠癌细胞表面PD-L1的表达。OXA预处理后的结肠癌HCT-116细胞和T细胞共培养后,与单纯培养的T细胞相比,能降低其培养上清中IL-2、IFN- γ 和TNF的水平(均 $P<0.05$)及体系中CD4⁺记忆性T细胞和CD8⁺T_{EMRA}比率($P<0.05$)、增加CD4⁺($P>0.05$)和CD8⁺($P<0.05$)初始T细胞比率;联合PD-1抗体后,与OXA预处理的HCT-116和T细胞共培养组相比,T细胞培养上清中IFN- γ 和IL-10含量($P<0.05$)以及CD8⁺T_{CM}和T_{EMRA}比率增加($P>0.05$)。体内抑瘤实验表明,OXA联合PD-1抗体可以增强其抗肿瘤活性,抑瘤率显著高于单用OXA组和 α PD-1组(58.2% vs 25.6%、29.1%,均 $P<0.05$);清除CD8⁺T细胞后,OXA的抗肿瘤活性由68.4%下降到46.2%($P<0.05$)。**结论:** OXA联合PD-1抗体具有联合增效的作用,同时CD8⁺T细胞在OXA的抗肿瘤活性中具有重要作用。

[关键词] 奥沙利铂;PD-1抗体;结肠癌;CD8⁺T细胞

[中图分类号] R730.51; R735.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)10-0999-07

PD-1 antibody enhanced anti-tumor efficacy of oxaliplatin against colon cancer *in vitro* and *in vivo*

ZHONG Genshen^{1a,b}, SUN Zhiyang^{1a}, CHEN Yanan^{1a}, XU Zhishan^{1c}, YANG Ru^{1c}, WU Minna^{1d}, SHI Huan², LU Ping^{1a}(1a. Department II of Oncology, the First Affiliated Hospital; 1b. Henan Collaborative Innovation Center of Molecular Diagnosis and Laboratory Medicine, School of Laboratory Medicine; 1c. Research Centre of Life Science and Technology, the First Affiliated Hospital; 1d. Department of Microbiology, College of Basic Medicine, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan, China; 2. Department of Oncology, Shandong Cancer Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250117, Shandong, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the anti-tumor effects of oxaliplatin (OXA) combined with PD-1 antibody on colon cancer. **Methods:** Flow cytometry was used to detect the expression of PD-L1 in colon cancer cell lines HCT-116 and HT-29. Co-culture method was used to detect the secretion of cytokines and the changes of CD4/CD8 subsets in T-cells that co-cultured with HCT-116 cells, which were pretreated with OXA in combination with/without PD-1 antibody; The CT26 transplanted tumor model of colon cancer in BALB/c mice was established and treated with the combination of OXA and PD-1 to evaluate their anti-tumor efficacy. Meanwhile, CD8 antibody was used to scavenge CD8⁺T cells in mice, and to evaluate the role of CD8⁺T cells in the anti-tumor effect of OXA *in vivo*. **Results:** OXA could significantly increase the expression of PD-L1 on the surface of colon cancer cells. Compared with pure T-cells, the T cells co-cultured with colon cancer HCT-116 cells that pre-treated by OXA, exhibited significantly reduced IL-2, IFN- γ and TNF levels (all $P<0.05$) in its culture supernatant and decreased ratio of CD4⁺ memory T cell / CD8⁺T_{EMER} ($P<0.05$), whereas there was increased cell proportion of the CD4⁺ ($P>0.05$) and CD8⁺ ($P<0.05$) naïve T cells. After co-treated with PD-1 antibody, compared with the single

[基金项目] 国家自然科学基金

81872361); 河南省高校重点科研资助项目 (No.15A320063, No.16A310022); 河南省

省骨干青年教师培养计划 (No.2016GGJS-105)。Project supported by the National Natural Science Foundation for Youth Scientists of China (No. 81602709; 81872361), the Key Scientific Research Projects for Higher Education of Henan Province (No. 15A320063, No.16A310022), and the Young Backbone Teachers Fellowship in Henan Province (No.2016GGJS-105)

[作者简介] 钟

nu.edu.cn

检索证明

经检索，以下 1 篇文章已被美国《科学引文索引》(SCIE) 数据库收录，其收录记录简要信息摘选如下：

1.

An arginine-rich cell penetrating peptide contained anti-gelatinase scFv-LDM fusion protein shows potent antitumor efficacy in pancreatic cancer

作者: Zhong, Juncheng; X Ru; 等.

JOURNAL OF CANCER 卷: 9 期: 4 页: 674-682 出版年: 2018

被引频次: 0

(来自 Web of Science 的核心合集)

经检索《Journal Citation Reports》数据库，期刊《JOURNAL OF CANCER》2018 年的影响因子: 3.182

经检索《中国科学院文献情报中心期刊分区表》(2018 年发布)，期刊《JOURNAL OF CANCER》的分区情况如下：

	学科名称	分区	Top 期刊
小类	ONCOLOGY 肿瘤学	3	-
大类	医学	3	否

特此证明

(详细内容见附件)

教育部科技查新工作站 Z16

检索人: 张倩

2019 年 9 月 18 日

Z16

第 1 条, 共 1 条

标题: An arginine-rich cell penetrating pepti
potent antitumor efficacy in pancreatic cancer

1 fusion protein shows

作者: Zh
Shenghi

SH (Zhang,
en, Yongsu)

来源出版物: JOURNAL OF CANCER 卷: 9 期: 4 页: 674-682 DOI: 10.7150/jca.22277 出版年: 2018

Web of Science 核心合集中的 "被引频次": 0

被引频次合计: 1

使用次数 (最近 180 天): 2

使用次数 (2013 年至今): 6

引用的参考文献数: 18

入藏号: WOS:000426971500007

PubMed ID: 29556325

语言: English

文献类型: Article

作者关键词: Pancreatic cancer; gelatinase; lidamycin; arginine-rich cell penetrating peptide; optical
imaging

KeyWords Plus: IN-VIVO; LIDAMYCIN; TUMOR

地址: [Zhong, Genshen] Xinxiang Med Univ, Sch Lab Med, Henan Collaborat Innovat Ctr Mol Diag & Lab
Med, Xinxiang 453003, Henan, Peoples R China.

[Zhong, Genshen; Xu, Zhishan; Yang, Ru] Xinxiang Med Univ, Inst Neurol, Lab Canc Biotherapy,
Affiliated Hosp 1, Xinxiang 453100, Henan, Peoples R China.

[Zhang, Shenghua; Li, Liang; Zhen, Yongsu] Chinese Acad Med Sci, Inst Med Biotechnol, Beijing
100850, Peoples R China.

[Zhang, Shenghua; Li, Liang; Zhen, Yongsu] Peking Union Med Coll, Beijing 100850, Peoples R China.

[Wu, Minna] Xinxiang Med Univ, Coll Basic Med, Xinxiang 450003, Henan, Peoples R China.

[Liu, Hongtao] Hubei Univ Chinese Med, Dept Biochem, Coll Basic Med, Wuhan 430065, Hubei, Peoples
R China.

通讯作者地址: Zhong, GS (通讯作者), Xinxiang Med Univ, Sch Lab Med, Henan Collaborat Innovat Ctr
Mol Diag & Lab Med, Xinxiang 453003, Henan, Peoples R China.

Zhong, GS (通讯作者), Xinxiang Med Univ, Inst Neurol, Lab Canc Biotherapy, Affiliated Hosp 1, Xinxiang
453100, Henan, Peoples R China.

Liu, HT (通讯作者), Hubei Univ Chinese Med, Dept Biochem, Coll Basic Med, Wuhan 430065, Hubei,
Peoples R China.

电子邮件地址: zhonggs@xxmu.edu.cn; hongtaoliu@hbtcm.edu.cn

作者识别号:

作者	Web of Science ResearcherID	ORCID 号
Zhc shen		0000-0003-2086-3834

出版商: IVYSPRING INT PUBL

出版商地址: PO BOX 4546, LAKE HAVEN, NSW 2263, AUSTRALIA

Web of Science 类别: Oncology

研究方向: Oncology

IDS 号: FY6OV

ISSN: 1837-9664

29 字符的来源出版物名称缩写: J CANCER

ISO 来源出版物缩写: J. Cancer

来源出版物页码计数: 9

开放获取: DOAJ Gold, Green Published

输出日期: 2019-09-18

Research Paper

An arginine-rich cell penetrating peptide contained anti-gelatinase scFv-LDM fusion protein shows potent antitumor efficacy in pancreatic cancer

Zhong^{1, 2✉}, Zhi

15✉

Yu Zhen³

项目负责人为第一兼通讯作者

1. Henan Xinxia
2. Labor
3. China.
4. Institu
5. Colleg
6. Depart
7. of Biochemis
8. try, College of Basic Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, Hubei province, China

* Contributed equally in this work.



u.cn (Genshen Zhong); hongtaoliu@hbtcm.edu.cn (Hongtao Liu)

© 1

terms of the Creative Commons Attribution (CC BY-NC) license

(<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>). See <http://ivyspring.com/terms> for full terms and conditions.

Received: 2017.08.08; Accepted: 2017.12.02; Published: 2018.01.08

Abstract

Pancreatic cancer (PC) is one of the most dangerous cancers with less than 5% survival rate in 5 years. This study was to evaluate the antitumor activities of dFv-LDP-AE and dFv-R-LDP-AE, two energized fusion protein targeting gelatinases, on pancreatic cancer. The fusion protein dFv-LDP-AE consists of two tandem anti-gelatinases scFv and an enediynes antibiotic lidamycin (LDM) for receptor binding and cell killing. To improve the penetration capability, the fusion protein dFv-LDP-AE was integrated with an arginine-rich cell penetrating peptide (Arg)₉ and then generated the fusion protein dFv-R-LDP-AE. The current study demonstrated that dFv-LDP and dFv-R-LDP had high affinity with the antigen gelatinases and PC cells, the integration of (Arg)₉ could increase the penetration rate of fusion protein in SW-1990 and PANC-1 cells. After enediynes-energized with chromophore of lidamycin, the energized fusion protein dFv-LDP-AE and dFv-R-LDP-AE showed potent cytotoxicity to PC cells and could induce the robust cell apoptosis and necrosis *in vitro*. Western blot showed that dFv-R-LDP-AE could increase PARP cleavage, and inhibited the expression of VEGF, Cyclin D1, Cox-2 and Bcl-2 in SW-1990 and PANC-1 cells. *In vivo*, at a tolerated dosage, dFv-LDP, dFv-LDP-AE and dFv-R-LDP-AE inhibited tumor growth by 20.42%, 56.31% ($P < 0.01$, compared to that of control) and 74.2% ($P < 0.05$, compared to that of dFv-LDP-AE) in pancreatic cancer SW-1990 xenografted mice, respectively. Moreover, the results of *in vivo* optical imaging showed that fusion protein dFv-R-LDP displayed prominent accumulation in the tumor in SW-1990 xenografted mice and Capan-2 orthotopic transplanted mice. These results showed that dFv-R-LDP-AE possessed potent antitumor efficacy on PC, which indicating it could be a promising candidate for targeting therapy of PC.

Key words: Pancreatic cancer; gelatinase; lidamycin; arginine-rich cell penetrating peptide; optical imaging

Introduction

Pancreatic cancer (PC) is one of the malignancies which greatly threaten the health of human health, the prognosis of PC is depressed and the 5-year survival rate was lower than 5% [1]. The debulking by surgery

is the best way to treat PC, however, more than 80% patient with PC was in advanced stage and lost the opportunity of surgery, moreover, there is no very effective medicine for the treatment of PC.

antitumor efficacy *in vivo*, as shown in Fig.6 A and B, the antitumor efficacy of dFv-R-LDP-AE was better compared to that of dFv-LDP-AE ($P < 0.05$).

For the mechanism under the antitumor efficacy of dFv-R-LDP-AE, the results of Western blot showed that the deregulated expression of VEGF, Cyclin D1, Cox-2 and Bcl-2, which might reflected in the inhibition of angiogenesis, cell cycle, inflammation and the acceleration of cell apoptosis. At the same time, the increased cleavage of PARP meant the augment of apoptosis which were induced by the dFv-R-LDP-AE in a dose-dependent manner. The optical imaging of the animal study using the FITC-labeled dFv-R-LDP demonstrated that the fusion protein possessed well pancreatic cancer targeting capability in the xenografted and orthotopic mice model, which suggested that the gelatinases could be a possible target for antibody targeting therapy in pancreatic cancer.

In sum, the results in this study demonstrated that antigelatinase scFv fused with the lidamycin had very good tumor inhibition efficacy *in vitro* and *in vivo*. As the fast internalization of lidamycin-contained fusion protein into the cancer cells was very important, the adding of a cell penetrating peptide (Arg)₉ in the skeleton of which could further improve the antitumor function *in vitro* and *in vivo*. Therefore, the energized fusion protein dFv-R-LDP-AE might have potential application in the treatment of pancreatic cancer.

Supplementary Material

Supplementary figure S1.

<http://www.jcancer.org/v09p0674s1.pdf>

Acknowledgements

This study was supported by the Natural Science Foundation of China (81373066), Key Scientific Research Projects for Higher Education of Henan Province (grant No. 17A310022; 15A320063), the Young Backbone Teachers Fellowship in Henan Province (143600430003), the 311111 project in Henan Province (131100210000), the Xinxiang Medical U

- receptor and insulin-like growth factor 1 receptor showing enhanced antitumor efficacy against non-small cell lung cancer. *Oncotarget*. 2017; 8: 27286-27299.
5. Gao R, Li L, Shang B, Zhao C, Sheng W, Li D. A gelatinases-targeting scFv-based fusion protein shows enhanced antitumor activity with endostar against hepatoma. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2015; 117: 105-116.
6. Jakubowska K, Pryczynicz A, Januszewska J, et al. Expression of matrix metalloproteinases 2, 7, and 9 in carcinogenesis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Dis Markers*. 2016; 2016:9895721. doi: 10.1155/2016/9895721.
7. Xiang T, Xia X, Yan W. Expression of matrix metalloproteinases-2/-9 is associated with microvessel density in pancreatic cancer. *Am J Ther*. 2017; 24(e): 431-434.
8. Zhong G, Zhang S, Li Y, Liu X, Gao R, Miao Q, Zhen Y. A tandem scFv-based fusion protein and its enediyne-energized analogue show intensified therapeutic efficacy against lung carcinoma xenograft in athymic mice. *Cancer Lett*. 2010; 295: 124-133.
9. Zhong GS, Wu MN, Guo XF, Zhang SH, Miao QF, Zhen YS. Antitumor activities of dFv-LDP-AE: an enediyne-energized fusion protein targeting tumor-associated antigen gelatinases. *Oncol Rep*. 2012; 28: 1193-1199.
10. Xu S. Internalization, trafficking, intracellular processing and actions of antibody-drug conjugates. *Pharm Res*. 2015; 32: 3577-83.
11. Skotland T, Iversen TG, Torgersen ML, Sandvig K. Cell-penetrating peptides: possibilities and challenges for drug delivery in vitro and in vivo. *Molecules*. 2015; 20: 13313-13323.
12. Ru Q, Shang BY, Miao QF, Li L, Wu SY, Gao RJ, Zhen YS. A cell penetrating peptide-integrated and enediyne-energized fusion protein shows potent antitumor activity. *Eur J Pharm Sci*. 2012; 47: 781-9.
13. Guo XF, Zhu XF, Shang Y, Zhang SH, Zhen YS. A bispecific enediyne-energized fusion protein containing ligand-based and antibody-based oligopeptides against epidermal growth factor receptor and human epidermal growth factor receptor 2 shows potent antitumor activity. *Clin Cancer Res*. 2010; 16: 2085-2094.
14. Zhong GS, Guo XF, Zhang SH, Zhen YS. Optimization of the assembly efficiency for lidamycin chromophore bound to its apoprotein: a case study using orthogonal array. *Biomed Environ Sci*. 2011; 24: 602-607.
15. Zhang S, Zhang H, He H, et al. In vivo real-time imaging of gemcitabine-leaded growth inhibition in the orthotopic transplantation model of human pancreatic tumor. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2011; 1: 220-225.
16. Mroczko B, Lukaszewicz-Zajac M, Wereszczynska-Siemakowska U, Groblewska M, Gryko M, Kedra B, Jurkowska G, Szmikowski M. Clinical significance of the measurements of serum matrix metalloproteinase-9 and its inhibitor (tissue inhibitor of metalloproteinase-1) in patients with pancreatic cancer: metalloproteinase-9 as an independent prognostic factor. *Pancreas*. 2009; 38: 613-618.
17. Xu Y, Li Z, Jiang P, Wu G, Chen K, Zhang X, Li X. The co-expression of MMP-9 and Tenascin-C is significantly associated with the progression and prognosis of pancreatic cancer. *Diagn Pathol*. 2015; 10:211.
18. Inoue M, Usuki T, Lee N, Hiram M, Tanaka T, Hosoi F, Ohie S, Otani T. Antitumor enediyne chromoprotein C-1027: mechanistic investigation of the chromophore-mediated self-decomposition pathway. *J Am Chem Soc*. 2006; 128: 7896-7903.

Competing Interests

The authors have declared that no competing interest exists.

References

1. Hidalgo M. Pancreatic cancer. *N Engl J Med*. 2010; 362:1605-1617.
2. Castellanos E, Berlin J, Cardin DB. Current treatment options for pancreatic carcinoma. *Curr Oncol Rep*. 2011; 13: 195-205.
3. Shao RG, Zhen YS. Enediyne anticancer antibiotic lidamycin: chemistry, biology and pharmacology. *Anticancer Agents Med Chem*. 2008; 8: 123-131.
4. Guo XF, Zhu XF, Gao HY, Zhong GS, Li L, Deng BG, et al. A bispecific enediyne-energized fusion protein targeting both epidermal growth factor

报告编号: 20194100XYYZ0779

SCI 收录引用检索证明报告

姓 名	钟 国 强 (ZHONG GS)	电 话	
单 位			
	数据库 SCI	检索年限 (2019-present)	检索式 AU=(ZHONG GS or ZHONG GenShen) and TI=(Chitooligosaccharides Prevents the Development of Colitis-Associated Colorectal Cancer by Modulating the Intestinal Microbiota and Mycobiota)
检 索 结 果	经计算机联机检索, 共同通讯作者) 等如下 1 篇文章已被美国《科学引文索引》(SCI) 数据库收录, 其收录记录简要信息摘选如下: 标题: Chitooligosaccharides Prevents the Development of Colitis-Associated Colorectal Cancer by Modulating the Intestinal Microbiota and Mycobiota Li, J, Yan, Dong, Wang, M, Zhong, GS (Zhong, Genshen) [1] 机构: [1] Xinxiang Med Univ, Sch Lab Med, Henan Key Lab Immunol & Targeted Therapy, Xinxiang, Henan, Peoples R China 来源出版物: FRONTIERS IN MICROBIOLOGY 卷: 10 文献号: 2101 DOI: 10.3389/fmicb.2019.02101 出版年: SEP 18 2019 文献类型: Article 被引频次: 0 (来自 Web of Science 核心合集) 影响因子: 4.259 (2018IF) 中科院 JCR 分区: 大类: 生物 2 区; 小类: 微生物学 2 区 (数据来自中科院 2018 年分区结果) 经检索《Science Citation Index》数据库, 期刊《FRONTIERS IN MICROBIOLOGY》为 2019 年 SCI 收录期刊。 经检索《Journal Citation Reports》数据库, 期刊《FRONTIERS IN MICROBIOLOGY》2018 年影响因子为 4.259。 (详细结果见 SCI 收录论文题录及中科院 JCR 期刊分区检索页) 特此证明!		
SCI	委托人已对本证明所列论文进行核对, 确认无误, 如有不实, 由委托人承担全部责任。 委托人签字: _____		
检索 机构	河南省 (新乡医学院) 医药卫生类查新工作站 (查新专用章) 省级医药卫生类科技查新专用章		
检索 时间	二〇一九年十一月十二日	检索员 (签字)	刘 睿 区

Web of Science



检索 返回检索结果

工具 检索和跟踪 检索历史 标记结果列表

Check for Full Text

出版商处的免费全文

查找全文

查找 PDF

全文选项

导出...

添加到标记结果列表

第 1 条, 共 1 条

Chitooligosaccharides Prevents the Development of Colitis-Associated Colorectal Cancer by Modulating the Intestinal Microbiota and Mycobiota

作者

(Xion

(Zhong, Genshen)^{1, 2}

2); Xiong, WC

1); Zhong, GS

FRONTIERS IN MICROBIOLOGY

卷: 10

文献号: 2101

DOI: 10.3389/fmicb.2019.02101

出版年: SEP 18 2019

文献类型: Article

查看期刊影响力

摘要

Gut microbes play a crucial role in the development of colorectal cancer. Chitooligosaccharides (COS), are oligomer that are depolymerized from chitosan and possess a wide range of biological activities. In this study, the effects of COS on colorectal cancer (CRC) development were evaluated using azoxymethane and dextran sulfate sodium (AOM/DSS) induced mouse model of CRC (CACM). In the COS-treated CRC group (CMCOS), COS protected mice from CRC by decreasing the disease activity index, tumor incidences and multiplicity, and the mRNA levels of COX-2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10, and IKK- β mRNA in colonic epithelial cells. The results of a cage-exchanged experiment, in which mice from the CACMe and CMCOSe treatments exchanged cages every day to interact with microbes, showed that gut microbes play an important role in preventing CAC by COS. The abundances of fecal bacteria (total bacteria, Lactobacillus, Enterococcus, Fusobacterium nucleatum and butyrate-producing bacteria) were detected by qPCR on the 0th, 1st, 3rd, 6th, 9th, and 10th weekends. Furthermore, microbiota and mycobiota were analyzed by high-throughput sequencing on an Illumina MiSeq PE300 system. COS protected mice from CRC by reversing the imbalance of bacteria and fungi, especially by reducing the abundance of Escherichia-Shigella, Enterococcus, and Turicibacter, and increasing the levels of Akkermansia, butyrate-producing bacteria and Cladosporium.

关键词

作者关键词: chitooligosaccharides; colitis-associated colorectal cancer; microbiota; mycobiota; high-throughput sequencing

KeyWords Plus: BASS DICENTRARCHUS-LABRAX; GUT MICROBIOTA; VAGOCOCCUS-FLUVIALIS; FUSOBACTERIUM-NUCLEATUM; MOLECULAR-WEIGHT; MOUSE MODEL; INFLAMMATION; DYSDIOSIS; OLIGOSACCHARIDES; DIET

作者信息

通讯作者地址: Wu, MN; Zhong, GS (通讯作者)

+ Xinxian Med Univ, Sch Lab Med, Henan Key Lab Immunol & Targeted Therapy, Xinxian, Henan, Peoples R China.

通讯作者地址: Wu, MN (通讯作者)

+ Xinxian Med Univ, Sch Basic Med Sci, Xinxian, Henan, Peoples R China.

地址:

+ [1] Xinxian Med Univ, Sch Lab Med, Henan Key Lab Immunol & Targeted Therapy, Xinxian, Henan, Peoples R China

+ [2] Xinxian Med Univ, Sch Basic Med Sci, Xinxian, Henan, Peoples R China

[3] Shaanxi Prov Second Peoples Hosp, Xian, Shaanxi, Peoples R China

+ [4] Xinxian Med Univ, Affiliated Hosp 1, Xinxian, Henan, Peoples R China

电子邮件地址: happy_minzi@163.com; zhonggs@xxmu.edu.cn

基金资助致谢

基金资助机构	显示详情	授权号
Key Scientific Research Projects for Higher Education of Henan Province		17A310022 15A320063
Young Backbone Teachers Fellowship in Henan Province		2016GGJS-105
Disciplinary group of Psychology and Neuroscience, Xinxian Medical University		2016PN-KFKT-12

引文网络

在 Web of Science 核心合集 中

0

被引频次

创建引文跟踪

78

引用的参考文献

查看相关记录

用于 Web of Science 中

在 Web of Science 中使用次数

3

最近 180 天

3

2013 年至今

进一步了解

此记录来自:

Web of Science 核心合集

- Science Citation Index Expanded

建议修正

如果希望提高此记录中数据的质量, 请提供修正建议。

期刊全称:	Frontiers in Microbiology					
期刊简称:	FRONT MICROBIOL		ISSN:	1664-302X		
年份:	2018年		综述:	否		
	学科名称				分区	Top期刊
小类	MICROBIOLOGY微生物学				2	-
大类	生物				2	否
期刊影响因子				总被引频次		
2015年	2016年	2017年	2015-2017年平均	2016年	2017年	2016年-2017年
4.165	4.076	4.019	4.087	15362	25111	40473
备注:						

说说您的看法 (AddJComment.aspx?title=Frontiers+in+Microbiology&issn=1664-302X&year=2018&department=新乡医学院&ip=61.54.100.37)

版权所有2019©中国科学院文献情报中心 科学计量中心 京ICP备12044385号 联系电话 010-82627304 京公网安备11010802012812号 推荐浏览器: Chrome, IE9+; 分辨率1024*768以上