

# 生物芯片在肺腺癌研究和诊疗中的应用进展

王亚南 综述, 顾国浩 审校

(苏州大学第一附属医院检验科, 江苏 215006)

**关键词:** 肺腺肿瘤; 诊断; 治疗; 生物芯片

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.02.043

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-4130(2011)02-0230-02

肺癌是当今世界上对人类健康与生命危害最大的恶性肿瘤,在所有肺癌中,80%以上为非小细胞肺癌(no-small cell lung cancer, NSCLC),而肺鳞癌与肺腺癌则是 NSCLC 两大最主要的病理类型。最近资料显示肺腺癌的发生率已超过肺鳞癌,腺癌亦是青年人肺癌的主要类型。

目前已经证实肺腺癌的发生发展是一个多基因参与、多步骤、多阶段的过程<sup>[1]</sup>,因此研究肺腺癌的发病机制,探索有关诊断、预后的生物学标记和新型治疗靶点,寻找更好的诊断和治疗方法具有重要的现实意义。

生物芯片根据检测分析的生物组不同分为基因芯片、蛋白质芯片、组织芯片和细胞芯片。现就生物芯片在肺腺癌中的应用进展作一综述。

## 1 基因芯片在肺腺癌研究和诊疗中的应用

基因芯片是将成千上万个 DNA 或寡核苷酸片段固定在玻璃、尼龙膜或硅片等载体上,与标记的样品探针杂交,分析样品中基因表达、基因序列、基因突变和多态性变化等情况<sup>[2]</sup>。该技术的发展为肺腺癌的发病机制的研究和诊疗提供了一种快速、高通量的检测方法。它是目前应用最广泛和最成熟的生物芯片。

**1.1 肺腺癌基因表达谱分析** 林嘉颖等在 2005 年以 10 例肺腺癌组织标本为材料,与含有 13 824 个基因的芯片进行杂交,发现了 119 个与肺腺癌发生发展有关的基因,这些基因可作为肺腺癌分子靶的候选基因。

**1.2 肺腺癌与肺鳞癌的基因表达异同** Garnis 等<sup>[3]</sup>应用 array-CGH(比较基因组杂交微阵列分析法)分析 15 例肺鳞癌和 15 例肺腺癌,除发现已知的肺癌中的基因改变如 EGFR、cyclinD1 等外,另外还鉴定在染色体 1、7、12 上的多个区域的异常。

赵健等<sup>[4]</sup>提取人肺鳞癌和肺腺癌组织及正常肺组织的 RNA,检测肺鳞癌和肺腺癌组织基因表达的异同。结果肺鳞癌和肺腺癌表达共同上调的基因 17 个,共同下调的基因 19 个;肺鳞癌表达显著高于肺腺癌的基因 20 个,显著低于肺腺癌的基因 14 个。

**1.3 用于肺腺癌的分型和分期** Hayes 等<sup>[5]</sup>确定了在临床上很有意义的三个肺腺癌亚型,他们把这三个亚型分别命名为细支气管型、鳞型和大细胞型,其不同亚型的相关基因分别为:细支气管型(RARG, MUC1, ERCC2 等)、鳞型(SART3, CXCR4, CD55 等)和大细胞型(ILF3, MMD, DNAJA1 等)。

**1.4 判断肺腺癌的预后和疗效** Larsen 等<sup>[6]</sup>对 48 例淋巴结阴性(I-II 期)的肺腺癌标本和已行根治术并至少生存了 36 个月的肺腺癌患者的肿瘤切除标本进行了基因序列比较分析。他们得到了一个有 54 个基因组成的,可以独立于肿瘤分期来判断肺腺癌复发危险性的序列,这一结果有助于更好的判断肺原

发腺癌根治切除后的患者的预后。Chen 等<sup>[7]</sup>发现在肺腺癌中 TRO 的过度表达是预后不良的一个重要指标。

**1.5 肺腺癌转移相关基因检测** 淋巴结转移是肺腺癌预后不良的一个主要因素, Moriya 等<sup>[8]</sup>对 41 例肺腺癌患者进行基因表达分析,试图找出一系列预示淋巴结转移的基因信号。基因结果分析揭示了 15 个预测淋巴结转移的基因,预示的准确性达到了 71.4%。

总的来说,在肺腺癌的实际诊疗应用方面,有意义的基因可分为以下几大类:与癌细胞生长和发育相关的基因如 DLX4, IRX5, CPDP1, LHX2 等;与抗凋亡相关的基因如 PIK3R2, STAT5B, IL6R, Survivin 等;与癌细胞侵袭扩散相关的基因如 E-cad, CXCR4, MMP15, PAI1, MUC1 等;与化疗药相关的基因如 FNTA, MTHFD1, ERCC2, XRCC1 等。

## 2 蛋白芯片在肺腺癌研究和诊疗中的应用

蛋白质芯片为阐明疾病的发生、发展机制及疾病的诊断和药物筛选提供前所未有的新信息。

**2.1 寻找肺腺癌的诊断标志物** Cho 等<sup>[9]</sup>针对非吸烟女性肺腺癌组织与癌旁组织进行检测分析,筛选出 52 个有明显表达差异的标志蛋白( $P < 0.05$ )。差异性最大的 10 个标志蛋白差异率为 60%~213%,其分子量分别为 6 266、6 561、6 664、6 995、9 513、9 784、11 722、13 984、17 879 及 54 166 U。

田应选等<sup>[10]</sup>应用激光显微切割(LCM)联合表面增强激光解吸离子化飞行时间质谱蛋白质芯片(SELDI-TOF-MS)及模式识别分类技术-支持向量机(SVM)筛选肺腺癌标志蛋白的可行性比较腺癌和配对正常细胞之间的 SELDI 谱图,共筛选出 84 个蛋白峰。将差异最明显的 10 个蛋白峰作为候选标志蛋白。与正常组织相比,6 种蛋白在腺癌中呈低表达,4 种蛋白在腺癌中呈高表达,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),初步筛选出 3 191 m/z 蛋白峰作为肺腺癌诊断标志蛋白。

蒋敏等<sup>[11]</sup>运用 SELDI-TOF 技术,采用 SAX-2 芯片,从 31 例肺腺癌患者血清和 31 例年龄、性别、吸烟情况均相匹配的正常人血清中筛选比较,找到差异蛋白峰共 102 个,其中 14 022.9 m/z 和 3 735.99 m/z 这两个差异表达蛋白质对诊断肺腺癌有十分重要的临床价值。

**2.2 揭示与肺腺癌转移相关的差异蛋白** 田甜等<sup>[12]</sup>应用表面增强基质辅助激光解析离子化-飞行时间质谱(SELDI-TOF-MS)对一系列转移能力递增的肺腺癌细胞进行蛋白质谱检测。采用 H4 和 WCX2 两种蛋白芯片筛选差异蛋白, Biomarker Wizard 软件分析结果显示 H4 和 WCX2 芯片共捕获到 32 个差异蛋白,其中 15 个蛋白在细胞随着转移能力增强而逐渐表达降低,相反 17 个蛋白则随着细胞转移能力的增强表达逐渐升高。在上述筛选到的 32 个差异蛋白中有 2 个蛋白可被两种芯片共同捕获。研究结果可筛选与肺腺癌转移密切相关的差

异蛋白,为揭示肺腺癌转移的分子机制提供理论依据。

### 3 组织芯片在肺腺癌研究和诊疗中的应用

组织芯片最为突出的优点是将基因、蛋白水平的研究与组织形态学相结合,能在细胞水平定位和蛋白水平检测,具有重要的实际意义和广阔的临床应用前景。

**3.1 筛选肺腺癌相关基因** 组织芯片和基因芯片配合使用在筛选肿瘤相关基因中有很好的互补作用。到目前为止,利用基因芯片已筛选了上百个新的候选肿瘤基因,但该技术不能将原发改变的基因和继发改变的基因区分开来,而组织芯片技术却能迅速完成该任务:先将基因芯片筛选出的基因做成探针,再将探针与组织芯片中众多的肿瘤组织进行荧光原位杂交,最后找出哪些基因与肿瘤有关。Luu 等人<sup>[13]</sup>发现在 195 例肺腺癌中 FB50 高表达。

**3.2 用于肺腺癌和肺鳞癌的区别** Deeb 等在 2004 年利用 Beecher 组织芯片仪从 130 例肺癌组织(I~III A 期)石蜡标本中每例钻取 2~3 个组织柱制备了 3 个 TMA 蜡块,并结合免疫组化 ABC 法评估了 E-cad 和 EGFR 在肺腺癌(AdC)和肺鳞状细胞癌(SCC)中的表达及其与临床病理和患者生存率的关系。研究者认为 E-cad、EGFR 的表达情况可作为肺 AdC 和 SCC 分层的依据,E-cad(-)和 E-cad 在细胞质中的异位表达与低生存率显著相关,EGFR 的表达与生存率无关。

**3.3 判断肺腺癌的预后** Tan 等在 2003 年用组织芯片分析了 140 例 NSCLC 中甲状腺转录因子(TTF-1)在预后中的作用。TTF-1 的表达与肺癌的分级和存活时间相关。在多参数分析中,TTF-1 呈阳性的患者预后情况好,整体存活时间延长 57.3 个月。其主要在腺癌中表达,表达缺失伴随肺癌的侵袭性增加。

### 4 细胞芯片在肺腺癌研究和诊疗中的应用

细胞芯片是近年来发展起来的一种检测细胞的新技术,它是对基因芯片和蛋白质芯片技术的重要补充。细胞芯片为分子医药学发展靶向免疫诊断、治疗肿瘤和其他细胞表面抗原相关疾病研究提供了一种新型研究方法。

随着生物芯片技术和生物信息学的不断进展,细胞芯片的制作技术将越来越成熟。细胞芯片技术通过应用免疫细胞化学、原位分子杂交等原理对细胞基因、蛋白表达水平进行定位检测等研究,已经在基因检测、基因表达、组分多态性分析、药物开发筛选和疾病诊断等诸多领域显示出重要的作用,在肿瘤的辅助诊断和预后判断方面也有着重要的应用价值,在临床诊断、科研和流行病学筛查中将有广泛的应用前景。

王新允等<sup>[14]</sup>应用自己研制的细胞芯片检测装置,成功制作了胸水细胞芯片,对 42 例肺腺癌患者进行检测,并对其进行了 HE 染色观察,镜下每一组织芯中均可见具有诊断意义的肿瘤细胞,基本无重叠现象。进行 FHIT 的免疫组化染色,各点形态完好,染色背景清晰,肿瘤细胞胞浆或胞核不同程度着色;细胞芯片免疫组化染色结果与其相应细胞涂片免疫组化结果相比较,检测结果完全一致;将细胞芯片免疫组化检测结果与进行 FHIT 免疫组化染色的组织芯片检测结果进行比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 5 展 望

由于肺腺癌的发生和发展是多基因参与、多阶段、多步骤的复杂生物过程,蛋白质、免疫学等技术手段已经不能及时有

效的对肺腺癌的发生和转移等生物学行为进行检测。生物芯片的出现,为肺腺癌研究揭开了崭新的篇章,它与传统方法的互补应用必将焕发无穷的魅力。基因芯片、蛋白芯片和组织芯片等新技术有着其他检测方法难以比拟的优越性,但因问世和使用时间较短,目前仍有一定的局限性而影响其应用。如存在较高的假阳性、假阴性,没有公认的参照标准,对海量数据缺乏高效的数据挖掘等问题。许多工作尚处于实验室的研究阶段,但这一领域的前景令人振奋,在不远的将来,相信生物芯片可以从临床研究实验室走入临床常规检测,为人类健康做出更大的贡献!

### 参考文献

- [1] 孙顺昌,贺敬波.肺癌的分子生物学研究及临床意义[J].国际检验医学杂志,2007,28(7):635-637.
- [2] 张琳琳,梁艳,李顺君.基因芯片在检验医学中的应用进展[J].国际检验医学杂志,2007,28(12):1117-1119.
- [3] Garnis C,Buys T,Lockwood W,et al. Detection of novel genetic alterations in non small cell lung carcinoma[J]. Lung Cancer, 2005,49(2):125-125.
- [4] 赵健,王树成,陈蔚文.基因芯片检测人肺鳞癌和肺腺癌基因表达的异同[J].基础医学与临床,2006,26(6):626-630.
- [5] Hayes DN, Mont IS, Parmigiani G, et al. Gene expression profiling reveals reproducible human lung adenocarcinoma subtypes in multiple independent patient cohorts[J]. Clin Oncol, 2006, 24(31): 5079-5090.
- [6] Larsen JE, Pavey SJ, Passmore LH, et al. Gene expression signature predicts recurrence in lung adenocarcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(10):2946-2954.
- [7] Chen KY, Lee YCG, Lai JM, et al. Identification of trophinin as an enhancer for cell invasion and a prognostic factor for early stage lung cancer[J]. European Journal of Cancer, 2007, 43(4): 782-790.
- [8] Moriya Y, Iyoda A, Kasai Y, et al. Prediction of lymph node metastasis by gene expression profiling in patients with primary resected lung cancer[J]. Lung Cancer, 2009, 64(1):86-91.
- [9] Cho W, Au J, Yip TT, et al. SELDI-TOF-MS fingerprintings as a novel reference pattern to distinguish cancer tissue from noncancer tissue in female nonsmoking adenocarcinoma patients in Hong Kong[C]. AACR Meeting Abstracts, 2007:616.
- [10] 田应选,杨拴盈,南岩东,等.激光捕获显微切割联合 SELDI 蛋白质芯片筛选肺腺癌早期诊断标志蛋白[J].四川大学学报:医学版,2009,40(1):157-161.
- [11] 蒋敏,顾国浩,王文静,等.用 SELDI-TOF-MS 技术筛查肺腺癌血清蛋白质标志物[J].临床检验杂志,2009,27(6):417-419.
- [12] 田甜,郝佳,徐安健,等.采用蛋白质组学技术筛选与肺腺癌有关的标志蛋白[J].现代仪器,2007,13(1):27-29.
- [13] Luu M, Sabo E, de la Monte SM, et al. Prognostic value of aspartyl(asparaginyl)- $\beta$ -hydroxylase/ humbug expression in non-small cell lung carcinoma[J]. Human Pathology, 2009, 40(5): 639-644.
- [14] 王新允,袁玲,郑海燕,等.肺癌中 FHIT 蛋白表达细胞芯片的研究[J].中国肺癌杂志,2009,12(2):131-134.

(收稿日期:2010-05-04)