

## 全人源抗 Trop-2 IgG 的制备及对卵巢癌细胞生物特性的影响

刘金荣<sup>1</sup>,白璐月<sup>2</sup>,唐 奇<sup>3</sup>,王一荃<sup>4</sup>,叶春萍<sup>1</sup>,殷郑娜<sup>1</sup>,朱 进<sup>5</sup>,冯振卿<sup>3</sup>,童 华<sup>1\*</sup>,张慧林<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>南京医科大学附属南京妇幼保健院妇产科,江苏 南京 210004;<sup>2</sup>南京医科大学第二附属医院耳鼻喉科,江苏 南京 210011;<sup>3</sup>南京医科大学卫生部抗体技术重点实验室,江苏 南京 210029;<sup>4</sup>上海市中医医院中医内科,上海 200071;<sup>5</sup>南京军区军事医学研究所,江苏 南京 210002)

**[摘要]** 目的:构建全人源抗人滋养层细胞表面抗原 2(human trophoblast cell surface antigen 2,Trop-2)抗体 IgG 真核表达系统,表达并纯化该抗体,并检测其对卵巢癌细胞生物特性的影响。方法:构建全人源抗 Trop-2 抗体 IgG 的重组表达载体;在 293FreeStyle(293F)真核表达体系中表达并纯化该抗体。使用 SDS-PAGE、ELISA、亲和力测定、免疫荧光等方法鉴定该抗体并分析其免疫学活性;使用 cell counting kit-8(CCK-8)法、划痕实验、Transwell 实验和细胞凋亡实验分析其对卵巢癌细胞特性的影响。结果:成功制备出全人源抗 Trop-2 IgG;经多种方法检测,该抗体能与 Trop-2 蛋白特异性结合;对表达 Trop-2 的卵巢癌细胞增殖、侵袭、迁移和凋亡有明显影响。当抗体浓度为 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,卵巢癌细胞 HO8910 的生存率仅为 55.95%( $P < 0.01$ ),划痕愈合率仅为 24.71%(对照组为 70.80%, $P < 0.01$ ),侵袭细胞数是对照组的 32.11%( $P < 0.05$ ),细胞凋亡率是对照组的 2 倍( $P < 0.05$ )。结论:全人源抗 Trop-2 IgG 可特异性识别卵巢癌细胞表面的 Trop-2 蛋白,对卵巢癌细胞的恶性行为具有明显的抑制作用。因此,全人源抗 Trop-2 IgG 在卵巢癌的靶向治疗中有潜在应用价值。

**[关键词]** Trop-2;全人源 IgG;卵巢癌

**[中图分类号]** R737.31

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2016)03-280-07

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20160306

## Preparation of a full human anti-Trop-2 IgG and its effect on ovarian cancer cells

Liu Jinrong<sup>1</sup>, Bai Luyue<sup>2</sup>, Tang Qi<sup>3</sup>, Wang Yiquan<sup>4</sup>, Ye Chunping<sup>1</sup>, Yin Zhengna<sup>1</sup>, Zhu Jin<sup>5</sup>, Feng Zhenqing<sup>3</sup>, Tong Hua<sup>1\*</sup>, Zhang Huilin<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Obstetric and Gynecologic Department, Nanjing Maternity and Child Care Hospital Affiliated to NJMU, Nanjing 210004; <sup>2</sup>Department of Otolaryngology, the Second Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210011; <sup>3</sup>Key Laboratory of Antibody Technique of Ministry of Health, NJMU, Nanjing 210029; <sup>4</sup>Internal Medicine of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071; <sup>5</sup>Medical Research Institute of Nanjing Military Region, Nanjing 210002, China)

**[Abstract]** **Objective:** We sought to construct a full human anti-Trop-2 IgG expression vector, and to express and purify it, then analyze the effect of anti-Trop-2 IgG in human ovarian cancer cells. **Methods:** The recombinant expression vector of full human anti-Trop-2 IgG was constructed and the IgG was expressed in 293 FreeStyle(293F) cell eukaryotic expression system and then purified using AKTA system. The immune activity of the IgG was verified and analyzed by SDS-PAGE, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), affinity assay, Western blot assay, flow cytometry method (FCM) and immunofluorescence assay. The effect on the character of ovarian cancer cells was detected by cell counting kit-8 (CCK-8) assay, wound healing assay, transwell test and cell apoptosis assay. **Results:** The results demonstrated that the full human anti-Trop-2 IgG was successfully produced. The IgG specifically bound Trop-2 protein, and it could play an important role in the proliferation, migration and invasion of ovarian cancer cells as well as in inducing ovarian cancer cell apoptosis. When the concentration of IgG was at 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , only 55.95% ( $P < 0.01$ ) of HO8910 cells survived. The amount of invasive cells in the experimental group was only 32.11% of those in the control group ( $P < 0.05$ ). The wound healing

**[基金项目]** 南京市医学科技发展项目(ZKX12025);南京市科学技术委员会科技发展项目(201208025);南京市医学科技发展项目(ZKX13045);南京市科学技术委员会科技发展项目(201402023)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: thua8@163.com; zhl068@163.com

rate of the experimental group was 24.71% while that of control group being 70.80% ( $P < 0.01$ ), and the apoptosis rate was 2-folds higher than the control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The full human anti-Trop-2 IgG could specifically bind Trop-2 protein on the surface of ovarian cancer cells and restrain the malignant biological behavior of ovarian cancer cells. The IgG has potential applications in ovarian cancer targeting therapy.

[**Key words**] Trop-2; full human IgG; ovarian cancer

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(03):280-286]

卵巢癌是严重危害女性健康及生命安全的恶性肿瘤之一。在世界范围内,每年约有 225 500 例新发病例,其中有 140 200 例为死亡病例<sup>[1]</sup>。近几十年来,尽管医疗水平和技术不断提高,卵巢癌病死率仍居所有妇科恶性肿瘤的首位,其 5 年生存率也一直徘徊在 30%~40%<sup>[2]</sup>。分子靶向治疗是一种新的治疗模式,单克隆抗体可将药物导向肿瘤细胞或作为药物抑制肿瘤生长,为肿瘤治疗提供了新手段<sup>[3-4]</sup>。因此,肿瘤靶向治疗中如何选择有效靶标是目前研究的热点。

人滋养层细胞表面抗原 2(human trophoblast cell surface antigen 2, Trop-2)是一种单次跨膜的表面糖蛋白,它在人正常组织中不表达或者低表达,但在多种上皮癌中过表达,例如宫颈癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌等,其中在卵巢癌中的表达率高达 66%,且在 38%的卵巢癌中高表达<sup>[5]</sup>。目前有多项研究发现,Trop-2 是一种与多种肿瘤侵袭行为密切相关的肿瘤相关抗原,有促进肿瘤细胞侵袭和转移的作用<sup>[6-7]</sup>。此外,还有研究发现 Trop-2 与细胞周期蛋白 D1(cyclin D1)和细胞内钙离子浓度以及磷酸激酶 C(PKC)调控密切相关,同时还能通过激活 ERK 通路,调节肿瘤细胞的增殖生长和侵袭转移<sup>[8]</sup>。因此,Trop-2 可以作为许多恶性肿瘤靶向治疗的靶点<sup>[9]</sup>。

有关治疗性抗体的研发越来越倾向全人源抗体的制备。全人源抗体无免疫排斥性,亲和力更高,尤其是 IgG,不仅保留了特异性识别抗原的特性,还具有抗体的其他生物学功能,例如:免疫调节、激活补体、抗体依赖的细胞毒效应等;此外,IgG 在体内半衰期较长,稳定性较好,对后续的药物研发有更大的应用价值<sup>[10]</sup>。在前期研究中,本实验室从全人源抗体库筛选出多株具有生物学活性的抗 Trop-2 抗体 Fab,并证实其中有中和活性<sup>[11]</sup>。本研究拟在此基础上利用真核表达系统构建并纯化全人源抗 Trop-2 IgG,并检测其对卵巢癌生物学特性的影响,为卵巢癌抗体治疗的进一步研究提供理论基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

大肠杆菌 DH5- $\alpha$  (Invitrogen 公司,美国),293F 细胞和 FreeStyle 293F Expression Medium (Invitrogen 公司,美国),人卵巢癌细胞 (HO8910 细胞、A2780 细胞)和正常卵巢上皮细胞(Iose386 细胞)由本实验室保存。真核表达载体 pFUSE-CHIg-hG1、pFUSE-CLIg-hk (Invitrogen 公司,美国),人源抗 Trop-2 Fab 表达载体由南京医科大学卫生部抗体技术重点实验室构建并保存。

限制性内切酶 *Fsp* I (R0135)和 *Bmt* I (R0658) (Invitrogen 公司,美国),Protein A 亲和纯化柱(GE 公司,美国),Trop-2 多抗和重组 Trop-2(R&D 公司,美国),PE 标记的 anti-human Trop-2 抗体(e-Bioscience 公司,美国),CCK-8 试剂(DOJINDO 公司,日本),Annexin V/PI 凋亡检测试剂盒(BD 公司,美国)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 抗 Trop-2 IgG 真核表达质粒的构建

用限制性内切酶酶切消化抗体真核表达载体 pFUSE-CHIg-hG1、pFUSE-CLIg-hk;以抗 Trop-2 Fab 为模板,扩增抗体重链和轻链可变区序列,将抗体可变区基因 PCR 产物克隆到真核表达质粒中;转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$  后,筛选阳性克隆并酶切鉴定,对酶切鉴定正确的克隆测序以确认序列连接正确。

#### 1.2.2 抗 Trop-2 IgG 的表达与纯化

将测序正确的 pFUSE-CHIg-hG1-Trop-2H 和 pFUSE-CLIg-hk-Trop-2K 重组质粒转染到 293F 细胞中,120 h 后收集细胞培养上清;使用蛋白纯化系统和 Hitrap Protein A 预装柱纯化;纯化后 SDS-PAGE 鉴定。

#### 1.2.3 抗 Trop-2 IgG 免疫学特性分析

ELISA 检测:重组人 Trop-2 蛋白(0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )包板,封闭后加入纯化后以梯度稀释 ( $1 \times 2^{-1} \sim 1 \times 2^{-11}$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ )的抗体,以无关抗体作阴性对照,以 HRP 标记的羊抗人 Fab(1:4 000)作二抗,酶标仪读数测定

450 nm 的吸光度值。

**亲和力检测:**重组 Trop-2 抗原用缓冲液稀释到 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 将抗 Trop-2 IgG 稀释成 1、5、10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  3 个浓度梯度, 采用 BLItz 分子间相互作用系统分析抗 Trop-2 IgG 的亲和力。

**免疫荧光检测:**将对数生长期的细胞消化, 重悬后计数, 每孔 2 000 个细胞铺 96 孔板, 待细胞贴壁, 加 PE 标记的 anti-human Trop-2 抗体孵育, RIPA 染色; 取等量细胞, 用间接法加上述 IgG 和 anti-human FITC 孵育, RIPA 染色; 分别用荧光显微镜观察两组细胞的荧光标记。

#### 1.2.4 抗 Trop-2 IgG 对细胞的抑制作用

**CCK8 实验:**取对数生长期的细胞, 消化重悬后计数, 调整细胞密度为  $1 \times 10^5$  个/mL, 每孔 100  $\mu\text{L}$  接种于 96 孔板, 设 0、100、200、400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  4 个浓度梯度, 每个梯度 3 个复孔, 以只加培养基不加细胞的空白对照孔调零。48 h 后, 每孔加 10  $\mu\text{L}$  CCK8, 37 $^{\circ}\text{C}$  孵育 2 h 后用酶联免疫检测仪测定细胞在 450 nm 处的吸光度。

**划痕实验:**将细胞接种于 24 孔板中, 待细胞覆盖至板底 90% 后, 100  $\mu\text{L}$  枪头沿孔底划笔直划线, PBS 洗掉划落细胞。对照组不加抗体, 实验组加全分子抗 Trop-2 IgG 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。于 0、24、48 h 在倒置显微镜下观察、拍照, 测量划痕闭合宽度。

**Transwell 侵袭实验:**将 Matrigel 铺在 Transwell 上室底部聚碳酸酯膜上, 在培养箱内孵育风干, 备用。无血清培养基重悬细胞, 调整细胞密度为  $2 \times 10^5$  个/mL, 取 200  $\mu\text{L}$  加入 Transwell 上室, 下室为含趋化因子的无血清培养基。培养 48 h 后, 用棉签擦去上室细胞, 甲醇固定下室膜 30 min, PBS 洗去固定

液, 0.1% 结晶紫染色 20 min, PBS 洗涤 3 次, 倒置显微镜观察、拍照、计数分析。

**细胞凋亡实验:**将细胞  $5 \times 10^4$  个/孔接种于 6 孔板, 待细胞贴壁后换无血清培养基, 对照组不加抗体, 实验组加 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  抗 Trop-2 IgG, 24 h 后收集细胞及细胞上清, 加入 Annexin V 和 PI, 室温避光孵育 15 min, 1 h 内用 BD FACSCalibur 流式细胞仪进行分析。Annexin V 单阳性(右下象限)为早期凋亡, Annexin V、PI 双阳性(右上象限)为晚期凋亡, 凋亡率为二者合计。

#### 1.3 统计学方法

用 SPSS21.0 统计软件进行统计学分析, 对于率和构成比资料的比较, 采用卡方检验; 对计量资料的统计分析采用 *t* 检验,  $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 抗 Trop-2 IgG 真核表达质粒的构建

以前期实验所得的 Fab 模板, PCR 扩增后经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳鉴定, 分别扩增出长度 389 bp 的 VH 基因和 325 bp 的 V $\kappa$  基因, 结果显示目的条带与预期结果相符(图 1A)。将上述 PCR 产物分别加入经限制性内切酶处理、线性化的 pFUSE-CHIg-hG1 和 pFUSE-CLIg-hk 质粒, 使用 Infusion PCR 试剂盒, 完成质粒重组(图 1B)。重组后的质粒转入 DH5 $\alpha$  后, 挑选阳性克隆送公司测序, 证实与设计序列完全相同。

### 2.2 抗 Trop-2 IgG 的表达与纯化

收集 293F 细胞上清, 用 Protein A 亲和层析柱纯化, 获得的抗 Trop-2 抗体产量为 50 mg/L。将超滤浓缩后的抗体、纯化后收集的流穿液、纯化前的细

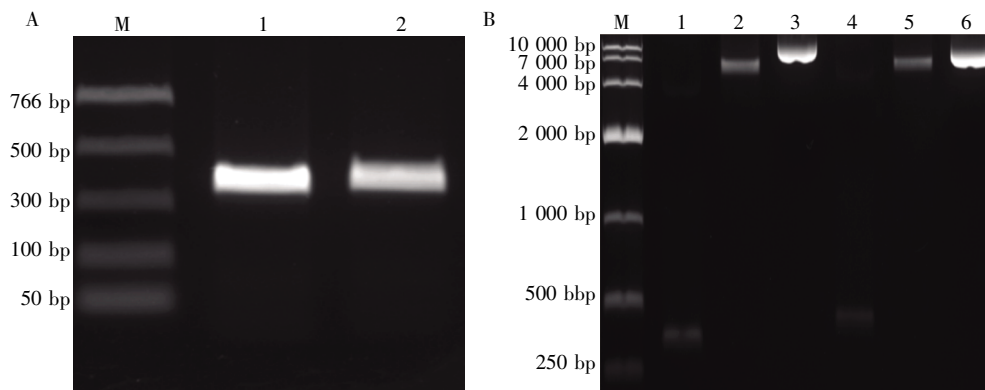
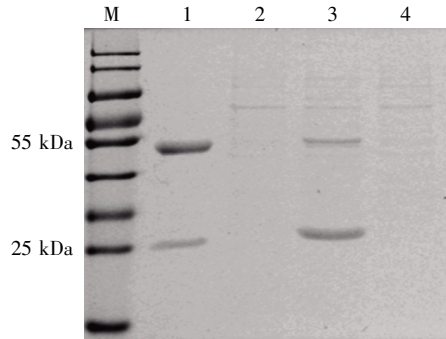


图 1 重组抗 Trop-2 IgG 重链及轻链表达质粒的构建及鉴定  
A: 抗 Trop-2 Fab VH、V $\kappa$  扩增产物。M: Marker; 1: H 链; 2:  $\kappa$  链; B: 抗 Trop-2 VH、V $\kappa$  与线性化质粒通过 Infusion PCR 重组。M: Marker; 1: 抗 Trop-2 V $\kappa$ ; 2: pFUSE-CLIg-hk 质粒; 3: pFUSE-CLIg-hk 质粒+抗 Trop-2 V $\kappa$ ; 4: 抗 Trop-2 VH; 5: pFUSE-CHIg-hG1 质粒; 6: pFUSE-CHIg-hG1 质粒+抗 Trop-2 VH。

图 1 重组抗 Trop-2 IgG 重链及轻链表达质粒的构建及鉴定

Figure 1 Construction and identification of the recombinant expression plasmids with anti-Trop-2 VH/V $\kappa$

胞上清、未转染的 293F 细胞上清进行 SDS-PAGE 电泳。结果显示,纯化的抗体无明显杂质,纯度较高(图 2)。



M:Marker;1:纯化后的抗体;2:流穿液;3:纯化前的细胞上清;4:293F 细胞上清。

图 2 真核表达并纯化的抗 Trop-2 抗体的 SDS-PAGE 检测  
Figure 2 SDS-PAGE analysis of purified antibody

### 2.3 抗 Trop-2 IgG 免疫学特性分析

#### 2.3.1 ELISA 检测

用重组抗原 Trop-2 (0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 包板,用间接 ELISA 法检测,结果显示,抗 Trop-2 IgG 与重组 Trop-2 蛋白可特异性结合,具有较好的量效关系(图 3)。

#### 2.3.2 亲和力检测

将重组 Trop-2 抗原用缓冲液稀释到 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,将抗 Trop-2 IgG 稀释成 1、5、10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  3 个浓度梯度,采用 BLItz 分子间相互作用系统分析抗 Trop-2 IgG 的亲和力为  $2.699 \times 10^{-10}$  mol/L。

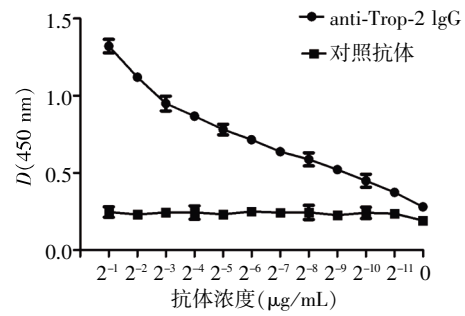


图 3 ELISA 检测全人源抗 Trop-2 IgG 与抗原的结合活性  
Figure 3 ELISA analysis of the binding activity of full human anti-Trop-2 IgG to Trop-2

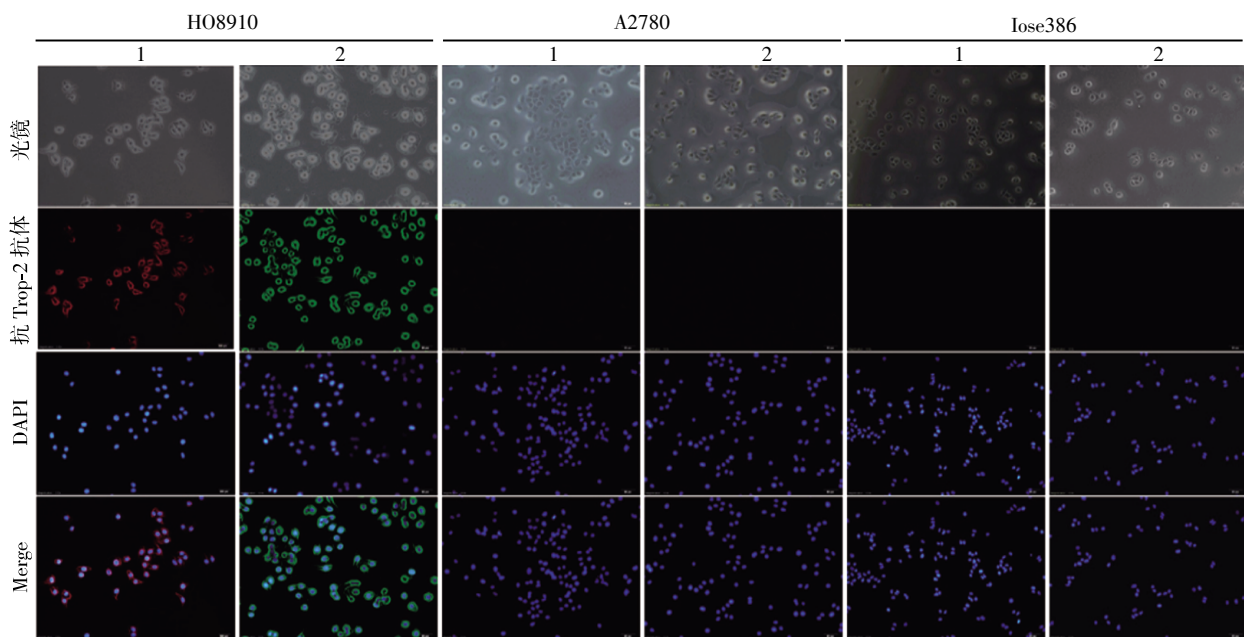
#### 2.3.3 免疫荧光检测

以 PE 标记的 anti-human Trop-2 抗体标记细胞作对照,用荧光显微镜观察荧光标记情况,HO8910 细胞高表达 Trop-2(红色标记),A2780 和 Iose386 细胞不表达 Trop-2;而 HO8910 细胞也可被抗 Trop-2 IgG 标记(绿色荧光),A2780 和 Iose386 细胞则不能(图 4)。说明抗 Trop-2 IgG 可与高表达 Trop-2 的 HO8910 细胞特异性结合,而与低表达 Trop-2 的 A2780 和 Iose386 细胞不结合。

### 2.4 抗 Trop-2 IgG 对卵巢癌细胞的抑制作用

#### 2.4.1 CCK-8 检测细胞增殖

CCK-8 结果显示,当全人源抗 Trop-2 IgG 浓度分别为 100、200、400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,HO8910 细胞的生存率分别为 90.83%、82.12%、55.95%,与未加抗体组相比,差异均有统计学意义;而 A2780 和 Iose386

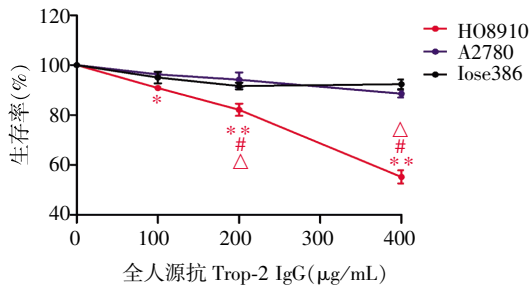


1:PE 标记的 anti-human Trop-2 组;2:全人源抗 Trop-2 IgG 组。

图 4 免疫荧光检测全人源抗 Trop-2 IgG 与细胞的特异性结合( $\times 100$ )

Figure 4 The combination of full human anti-Trop-2 IgG with cell surface by immunofluorescence microscopy( $\times 100$ )

细胞在 400 μg/mL 抗体浓度作用下,生存率分别为 88.56%、92.33%,与在相同浓度抗体作用下的 HO8910 细胞生存率比较,差异均有统计学意义( $P < 0.01$  图 5)。



HO8910 不同浓度加抗体组分别和未加抗体组的生存率比较, \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.05$ ; HO8910 加抗体组与 A2780 加抗体组间生存率的比较, \* $P < 0.05$ ; HO8910 加抗体组与 Iose386 加抗体组间生存率的比较,  $\Delta P < 0.05$ 。

图 5 不同浓度全人源抗 Trop-2 IgG 对细胞增殖的影响  
Figure 5 Effect of anti-tumor cytotoxicity of full human anti-Trop-2 IgG on proliferation of cells in different concentration

2.4.2 划痕实验

48 h 后 HO8910 细胞 400 μg/mL 抗 Trop-2 IgG 组与未加抗体组划痕宽度变化分别为 24.71%、70.80%(图 6),两者差距有统计学意义( $P < 0.01$ ); 而 A2780 和 Iose386 细胞加抗体组与不加抗体组划痕愈合率比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

2.4.3 Transwell 侵袭实验

HO8910 细胞加抗体组侵袭细胞数明显少于未加抗体组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); A2780 和

Iose386 细胞加抗体组和未加抗体组侵袭细胞数差异无统计学意义( $P > 0.05$ ,图 7)。

2.4.4 细胞凋亡实验

HO8910 细胞加抗体组凋亡率为 24.41%, 不加抗体组为 11.17%,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 而 A2780 细胞加抗体组和不加抗体组凋亡率分别为 8.95%和 9.15%, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); Iose386 细胞加抗体组和不加抗体组凋亡率分别为 6.12%和 8.89%,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ,图 8)。

3 讨论

Trop-2 是一个跨膜糖蛋白,在正常上皮组织中低表达或不表达,但在多种上皮恶性肿瘤中高表达。Trerotola 等<sup>[5]</sup>收集了 58 例卵巢癌组织标本和 7 例正常卵巢组织标本,发现 66%的患者有 Trop-2 表达,在 38%的卵巢癌组织中高表达,而正常卵巢组织中均为低表达。本研究选用了 2 株卵巢癌细胞(HO8910 和 A2780)和 1 株卵巢上皮细胞(Iose386),经检测,其中 HO8910 高表达 Trop-2, A2780 和 Iose386 不表达 Trop-2。当抗体浓度为 400 μg/mL 时: CCK-8 结果显示, HO8910 的生存率只有 55.95% ( $P < 0.01$ ); 划痕实验结果显示, HO8910 的愈合率不到未加抗体组的 35.71% ( $P < 0.01$ ); Transwell 实验显示, HO8910 的侵袭细胞数为未加抗体组的 32.11% ( $P < 0.05$ ); 细胞凋亡实验显示, HO8910 的细胞凋亡率是未加抗体组的 2 倍以上 ( $P < 0.05$ )。以上结果证实,通过全人源抗 Trop-2 IgG 抑制 Trop-2 的功能,可抑制卵巢癌细胞的增殖、侵袭、迁移,并诱导其凋亡。有文

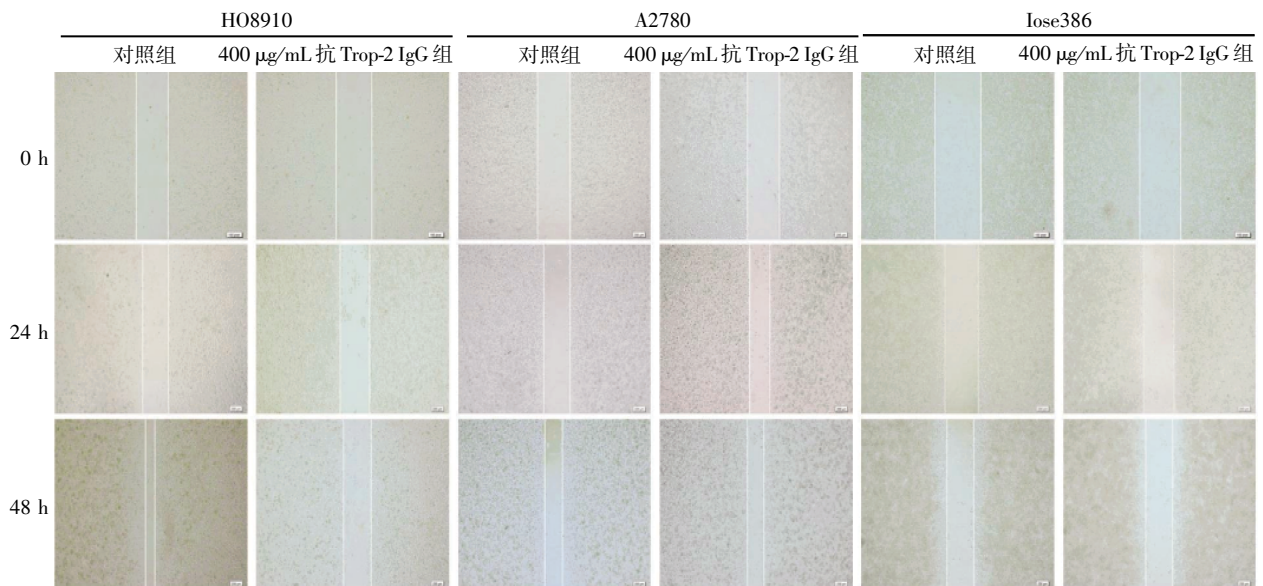


图 6 划痕实验检测全人源抗 Trop-2 IgG 抑制 HO8910 细胞的迁移 (×40)  
Figure 6 Full human anti-Trop-2 IgG inhibited the migration of HO8910 cells detected by wound healing assay (×40)

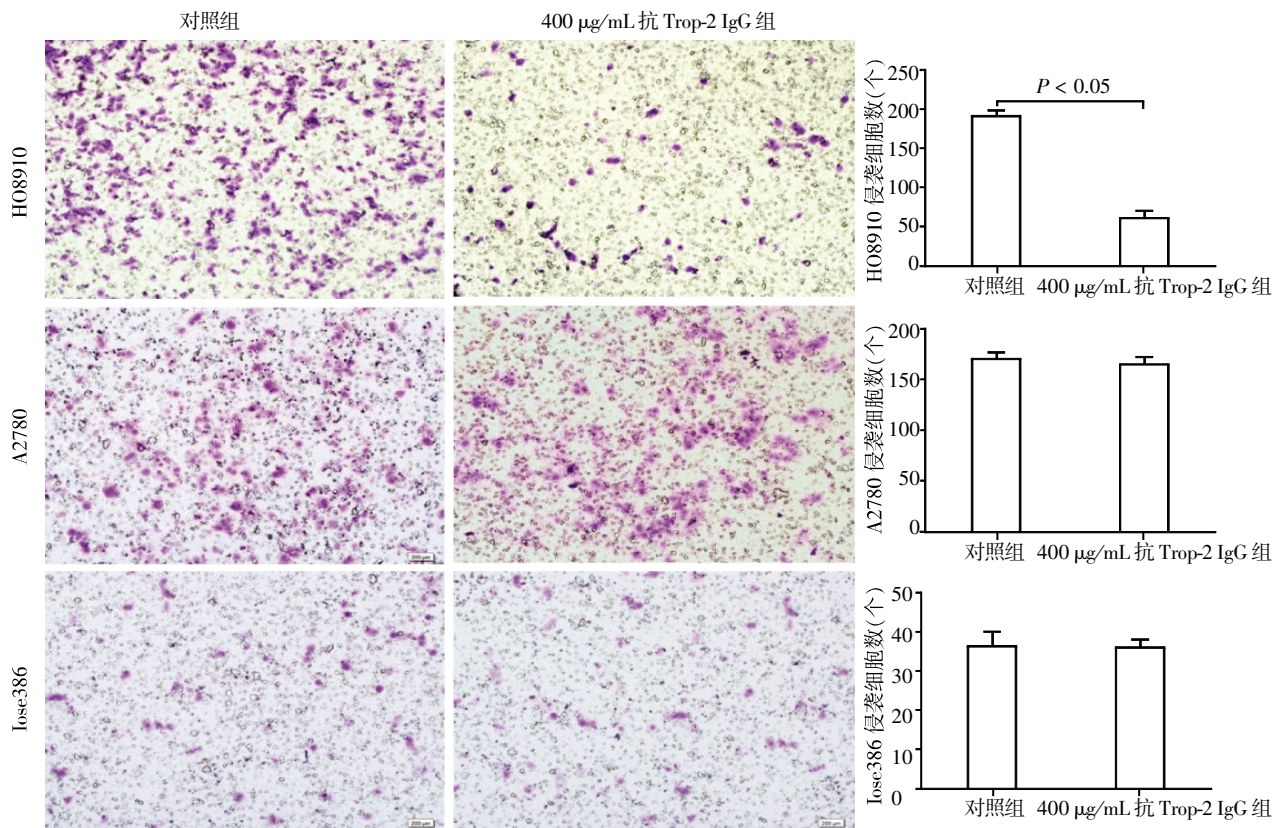


图 7 全人源抗 Trop-2 IgG 对细胞侵袭能力的影响

Figure 7 Effect of full human anti-Trop-2 IgG on invasion of cells

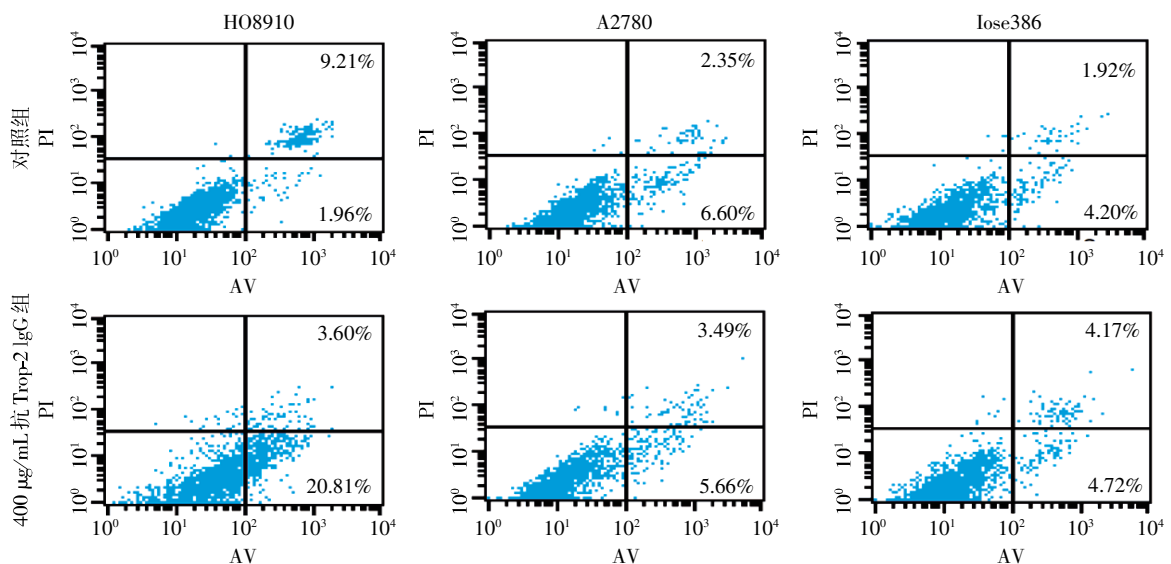


图 8 流式细胞术检测细胞凋亡

Figure 8 Cell apoptosis was analyzed by flow cytometry

献报道,<sup>131</sup>I 标记的 RS37 抗体可抑制肺癌和胰腺癌裸鼠移植瘤的生长<sup>[12]</sup>。Lin 等<sup>[11]</sup>通过大容量噬菌体抗体库筛选出人源抗 Trop-2 的 Fab 片段,在鉴定其抗体特性的基础上证实其对乳腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭有抑制作用,并可诱导乳腺癌细胞凋亡;在动物模型中证实其可抑制乳腺癌肿瘤的增长。梁洁

等<sup>[13]</sup>通过小鼠杂交瘤技术制备出抗 Trop-2 单抗,可与多种表达 Trop-2 的组织及细胞特异性结合,并能抑制乳腺癌细胞的增殖。王小英等<sup>[14]</sup>优化了全人源抗 Trop-2 Fab 的原核表达条件,并发现其对胰腺癌细胞增殖、侵袭、迁移的抑制作用。褚楚等<sup>[15]</sup>用全人源抗 Trop-2 Fab 处理宫颈癌细胞,发现宫颈癌细胞

增殖、侵袭、迁移的能力均降低,凋亡率增加。

本研究中的全分子 IgG 抗体在 Fab 的基础上制备,不仅保留了 Fab 的特异性,同时还具备了 IgG 的功能。抗体介导的靶向治疗中需要良好的载体,本研究所制备的全人源抗 Trop-2 IgG 即可作为药物独立发挥作用,也可作为载体,偶联化疗药物、药物载体,或与细胞毒素相融合,通过抗体的识别作用,有选择性将化疗药物导向肿瘤细胞,发挥肿瘤抑制作用,避免或减轻其对正常组织的毒性。

Trop-2 作为一种膜蛋白,与多种肿瘤的发生发展有关,因此,Trop-2 有可能成为肿瘤治疗的良好靶点。研究制备的全人源抗 Trop-2 IgG 可特异性识别卵巢癌细胞表面的 Trop-2 蛋白,对卵巢癌的生长有抑制作用,因此该抗体可能在肿瘤免疫学诊断、靶向治疗及预后评价等方面有临床应用价值。

#### [参考文献]

- [1] Siegel R,Naishadham D,Jemal A. Cancer statistics,2013 [J]. CA Cancer J Clin,2013,63(1):11-30
- [2] 丰有吉,沈 铿. 妇产科学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2010:340
- [3] Dornhöfer N,Spong S,Bennewith K,et al. Connective tissue growth factor-specific monoclonal antibody therapy inhibits pancreatic tumor growth and metastasis[J]. Cancer Res,2006,66(11):5816-5827
- [4] Sawada N,Ishiwata T,Naito Z,et al. Immunohistochemical localization of endothelial cell markers in solitary fibrous tumor[J]. Pathol Int,2002,52(12):769-776
- [5] Trerotola M,Cantanelli P,Guerra E,et al. Upregulation of Trop-2 quantitatively stimulates human cancer growth[J]. Oncogene,2013,32(2):222-233
- [6] Guerra E,Trerotola M,Dell' Arciprete R,et al. A bicistronic CYCLIN D1-TROP2 mRNA chimera demonstrates a novel oncogenic mechanism in human cancer[J]. Cancer Res,2008,68(19):8113-8121
- [7] Nakashima K,Shimada H,Ochiai T,et al. Serological identification of TROP2 by recombinant cDNA expression cloning using sera of patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. Int J Cancer,2004,112(6):1029-1035
- [8] Cubas R,Zhang S,Li M,et al. Trop2 expression contributes to tumor pathogenesis by activating the ERK MAPK pathway[J]. Mol Cancer,2010,9(6):253
- [9] Villablanca EJ,Renucci A,Sapède D,et al. Control of cell migration in the zebrafish lateral line:implication of the gene "tumour-associated calcium signal transducer,"tactstd[J]. Dev Dyn,2006,235(6):1578-1588
- [10] Winter G,Griffiths AD,Hawkins RE,et al. Making antibodies by phage display technology[J]. Annu Rev Immunol,1994,12(9):433-455
- [11] Lin H,Zhang H,Wang J,et al. A novel human Fab antibody for Trop2 inhibits breast cancer growth *in vitro* and *in vivo*[J]. Int J Cancer,2014,134(5):1239-1249
- [12] Stein R,Govindan SV,Chen S,et al. Radioimmunotherapy of a human lung cancer xenograft with monoclonal antibody RS7:evaluation of (177)Lu and comparison of its efficacy with that of (90)Y and residualizing (131)I[J]. J Nucl Med,2001,42(6):967-974
- [13] 梁 洁,刘琼琼,张慧林,等. 抗人滋养层细胞表面抗原-2 单抗的制备及免疫学特性分析[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2011,31(5):645-650
- [14] 王小英,林 红,张慧林,等. 人源抗 Trop-2 抗体 Fab 的制备及条件优化[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2012,32(1):35-39
- [15] 褚 楚,刘金荣,张慧林,等. 人源抗 Trop-2 Fab 对宫颈癌细胞生物学特性的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2015,35(3):320-325

[收稿日期] 2015-10-13