

靶向前列腺癌细胞的 EpCAM 特异性核酸适配体的细胞 SELEX 筛选

仲津漫, 黄旭方, 文娣娣, 康晓伟, 宦怡, 任静

(空军军医大学西京医院放射科, 陕西 西安 710032)

摘要:目的 探讨利用细胞指数富集配基的系统进化(SELEX)技术筛选特异性靶向并结合上皮细胞黏附分子(EpCAM)阳性前列腺癌(PCa)细胞的适配体的方法。方法 设计随机 DNA 文库,以表达 EpCAM 分子的人 PCa 细胞为靶标,利用细胞 SELEX 技术筛选 EpCAM 特异性 DNA 适配体。经过 12 轮体外筛选,对 DNA 产物进行克隆和测序,用流式细胞术、细胞免疫荧光技术检测适配体对靶细胞特异性结合的能力。结果 从随机单链 DNA 文库中筛选出的 2 条 EpCAM 适配体 Ep1 和 Ep2 均能特异性结合人 PCa 细胞 LNCaP、PC-3、DU145 和慢病毒表达载体 pCDH-EpCAM 转染的 HEK293T 细胞,而不能结合空载体 pCDH 转染的 HEK293T 细胞,且 Ep1 对各细胞的结合率分别为 61.0%、74.3%、59.1%、60.3%、5.4%,Ep2 对各细胞的结合率分别为 65.1%、77.8%、54.2%、58.3%、3.3%。结论 经细胞 SELEX 技术筛选的 EpCAM 适配体能特异性识别并靶向 EpCAM 阳性的 PCa 细胞,有望为 PCa 的特异性诊断和靶向性治疗提供新思路,同时也为其他恶性肿瘤特异性诊疗方案的研究奠定实验基础。

关键词:细胞指数富集配基的统计进化;适配体;前列腺癌;上皮细胞黏附分子

DOI:10.3969/j.issn.1002-1671.2019.06.034

中图分类号:R817.33;R737.25 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1671(2019)06-0988-05

SELEX screening of EpCAM-specific nucleic acid aptamer targeting prostate cancer cells

ZHONG Jinman, HUANG Xufang, WEN Didi, KANG Xiaowei, HUAN Yi, REN Jing

(Department of Radiology, Xijing Hospital, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract: Objective To investigate the methods of screening specific aptamers for (EpCAM)-positive prostate cancer (PCa) cells by cell-SELEX technique. **Methods** A random DNA library was designed to screen EpCAM-specific DNA aptamers from human prostate cancer cells expressing EpCAM molecule by cell-SELEX technique. After 12 rounds of in vitro screening, DNA products were cloned and sequenced. Flow cytometry and cellular immunofluorescence were used to detect the specific binding ability of aptamers to target cells. **Results** Two aptamers of Ep1 and Ep2 were selected. Both of them could specifically bind to EpCAM-positive cancer cells LNCaP, PC-3, DU145, and HEK293T cells transfected with target molecule. The binding rates of Ep1 were 61.0%, 74.3%, 59.1% and 60.3%. The binding rates of Ep2 were 65.1%, 77.8%, 54.2% and 58.3%. Neither of them could bind to HEK293T cells transfected with empty vector with the binding rate of 5.4% in Ep1 and 3.3% in Ep2, respectively. Flow cytometry analysis and confocal images indicated that the EpCAM aptamers could specifically recognize human PCa cells expressing EpCAM, but could not bind to EpCAM-negative cells. **Conclusion** EpCAM aptamers derived from cell-SELEX technology can recognize and bind to EpCAM-positive PCa cells specifically, which may provide new ideas for the specific diagnosis and targeted therapy of prostate cancer, and lay an experimental basis for the other specific diagnosis and treatment schemes of malignant tumors.

Key words: cell-systematic evolution of ligands by exponential enrichment; aptamer; prostate cancer; epithelial cell adhesion molecule

前列腺癌(prostate cancer, PCa)是中老年男性常见的泌尿系恶性肿瘤^[1-2]。早期 PCa 病灶局限,治愈率高,患者可获得较长生存期,但到了晚期,患者预后

较差,近 30%出现复发,并可在 18 个月内进展为前列腺特异性抗原显著增高样复发阶段^[3]。雄激素剥夺性治疗(androgen deprivation therapy, ADT)是晚期转移性 PCa 的一线治疗方案^[4],然而有研究证实 ADT 治疗效果良好的 PCa 患者在历经一个 3~5 年的过渡期后最终转变为雄激素非依赖性 PCa(androgen independent prostate cancer, AIPC),使病情急剧恶化^[5]。目前对

作者简介:仲津漫(1990-),女,满族,河北省遵化市人,在读博士。研究方向:腹部影像学。

通信作者:任静, E-mail: jrenmm@126.com

基金项目:国家自然科学基金项目(81370039; 81220108011)。

PCa的早期诊断及精准治疗尚缺乏特异性手段。

上皮细胞黏附分子(Epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)是一种跨膜糖蛋白,最初在人结肠癌组织中被发现,其在快速增殖的癌灶中呈高表达^[3]。研究证实 EpCAM 分子不仅作用于细胞间的黏附过程,还在细胞信号传导、肿瘤细胞迁移、增殖及分化中发挥重要作用^[6]。PCa 及癌旁组织中均存在 EpCAM 高表达,且其表达量与 PCa 术前及术后 Gleason 评分正相关,与无复发生存率负相关。过表达 EpCAM 可显著增强 PCa 细胞增殖、侵袭的能力,与 AIPC 的发生发展显著关联^[7]。因此,EpCAM 可作为一种理想的分子为 PCa 的早期诊断和靶向治疗提供有效靶点。

近年来发展的指数富集配基的系统进化(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)技术可从随机单链核酸序列库中筛选出与靶物质特异性结合的寡核苷酸序列,即适配体^[8]。与抗体相比,适配体具有分子量小、易合成修饰、稳定性高、低免疫原性等特点^[9],有望取代抗体,为疾病的早期诊断和靶向治疗提供有效的方法。

本研究以高表达 EpCAM 的 PCa 细胞为靶标,利用细胞 SELEX 技术筛选可特异性结合 EpCAM 的适配体,为 PCa 的早期诊断和靶向治疗提供一种新方法。

1 材料与方法

1.1 主要仪器和试剂 人 PCa 细胞系 LNCaP、PC-3、DU145 购自中国科学院上海生命科学研究细胞库;人源胚胎肾细胞 HEK293T 由空军军医大学生物化学与分子生物学教研室苏金老师惠赠;链霉亲和素磁珠(BeaverBeads™ Streptavidin)购自苏州海狸纳米科技有限公司;兔抗人 EpCAM 抗体(ab71916)、HRP 标记的山羊抗兔 IgG(ab7621)购自英国 Abcam 公司;HRP 标记链霉亲和素购自康为世纪生物科技有限公司;FITC 标记的山羊抗兔 IgG(BA1105)购自武汉博士德生物工程有限公司;其他试剂均为进口分装或国产分析纯试剂。

PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司),磁性分离器(西安金磁纳米生物技术有限公司),Fluo View 激光共聚焦显微镜(日本 Olympus 公司),FACS Calibur 流式细胞仪(美国 BD 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞 SELEX 技术筛选 EpCAM 适配体 设计随机单链 DNA 文库和上、下游引物:DNA 文库 ssDNA: TTCTTCAAGTCCGCCATGCC-N40-CGACAAG-CAGAAGAACGGCA;上游引物 primer-F: 5'-TTCTTCAAGTCCGCCATGCC-3';下游引物 primer-R: 5'-

TGCCGTTCTTCTGCTTGTCG-3';带有生物素标记的上游引物 bio-primer-F: 5'-(bio)-TTCTTCAAGTCCGCCATGCC-3';带有生物素标记的下游引物 bio-primer-R: 5'-(bio)-TGCCGTTCTTCTGCTTGTCG-3'。设计好的文库和引物由上海生工生物工程有限公司合成。

将随机单链 DNA 文库用灭菌双蒸水充分溶解,在 95℃ 变性 5 min,冰浴 10 min。用慢病毒表达载体 pCDH-EpCAM 转染 HEK293T 细胞,将预处理的 DNA 文库与转染细胞在 37℃ 孵育,用酚-氯仿-异戊醇抽提细胞 DNA,然后用预冷的乙酸钠和异丙醇进行 DNA 沉淀,并以此为模板行 PCR 扩增。

将上述 PCR 产物用磁珠配套 Buffer 缓冲液稀释,充分振荡重悬磁珠、磁性分离,然后用预冷的乙酸钠和异丙醇进行 DNA 沉淀,经离心所得的白色沉淀即为本轮筛选得到的单链 DNA 混合物,以此作为下一轮筛选的文库和 DNA 模板。从第 6 轮开始用空慢病毒表达载体 pCDH 转染 293T 细胞进行反筛选,以增强 DNA 产物对靶细胞的特异性结合。实验共进行 12 轮筛选,最后 1 轮筛选得到的白色沉淀即为目的 DNA 产物。

1.2.2 DNA 产物的克隆和测序 将最后 1 轮筛选得到的 DNA 产物用灭菌双蒸水充分溶解,并以此为模板行 PCR 扩增。将 PCR 产物与 pTOPO 载体连接,连接产物全部转化至大肠杆菌感受态 DH5a 中进行扩增。挑取数个单克隆,分别置于 LB 培养基中培养 12~14 h。菌液 PCR 产物行核酸凝胶电泳,对电泳中出现阳性结果的菌液样品进行 DNA 测序。

1.2.3 Western Blot 检测细胞中 EpCAM 的表达 分别对 LNCaP、PC-3、DU145,慢病毒表达载体 pCDH-EpCAM 转染的 HEK293T 细胞,空载体 pCDH 转染的 HEK293T 细胞提取蛋白。各蛋白样品经 SDS-PAGE 凝胶电泳浓缩分离后转至 NC 膜上,用 50 g/L 脱脂奶粉室温封闭 1 h,然后将 NC 膜放入兔抗人 EpCAM 封闭缓冲液(1 : 1 000 稀释),4℃ 孵育过夜,洗膜后将 NC 膜放入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 封闭缓冲液(1 : 5 000),室温孵育 1 h,再次洗膜,将膜浸入化学发光液中,在凝胶成像仪上成像。

1.2.4 验证筛选出的 DNA 序列对靶细胞特异性结合的能力

1.2.4.1 流式细胞术检测 取生长状态良好的 LNCaP、PC-3、DU145,慢病毒表达载体 pCDH-EpCAM 转染的 HEK293T 细胞,空载体 pCDH 转染的 HEK293T 细胞,经胰酶消化后离心,加入流式洗液重悬细胞,用胎牛血清封闭 30 min,然后加入 200 pmol FITC 标记的单链 DNA 避光孵育 45 min,经 PBS 洗涤后,再加入 200 μL 流式洗液重悬细胞,用流式细胞仪检测各样品

的荧光强度。

1.2.4.2 细胞免疫荧光检测 取生长状态良好的 LNCaP、PC-3、DU145 细胞, 分别接种于 20 mm 共聚焦培养皿中培养, 待细胞完全伸展并处于对数生长期时, 用 PBS 洗涤细胞并加入 4% 多聚甲醛固定细胞, 用 5% BSA 室温封闭 1 h, 然后加入 200 pmol FITC 标记的单链 DNA 避光孵育过夜, 隔日用 DAPI 染核后, 用抗荧光淬灭封片剂封片, 置于激光共聚焦显微镜下观察。

2 结果

2.1 EpCAM 适配体的细胞 SELEX 筛选 本实验利用细胞 SELEX 技术从随机单链 DNA 文库中筛选 EpCAM 特异性核酸适配体, 共筛选 12 轮, 对每一轮筛选得到的 DNA 产物行流式细胞术, 分别检测其与 EpCAM 特异性结合的能力。结果显示, 随筛选次数增加, DNA 产物与慢病毒表达载体 pCDH-EpCAM 转染的 HEK293T 细胞结合的荧光强度逐渐增强(图 1A), 而与空载体 pCDH 转染的 HEK293T 细胞结合的荧光强度未见明显增强(图 1B), 表明筛选出的 DNA 产物能与 EpCAM 阳性的 HEK293T 细胞特异性结合, 且结合能力随筛选次数的增加逐渐增强, 至第 12 轮筛选时, DNA 产物与慢病毒表达载体 pCDH-EpCAM 转染的 HEK293T 细胞的结合达到饱和。

2.2 EpCAM 适配体的克隆和测序鉴定 将第 12 轮筛选得到的 DNA 产物行 PCR 扩增、连接、转化, 随机挑取 67 个单克隆, 经菌落 PCR 后核酸电泳鉴定, 将出现目的条带的 42 个样品测序。根据测序序列的丰度、同源性, 以及预测的 DNA 构型的热力学稳定性, 最终选取 2 条 DNA 序列作为目的适配体序列(表 1)。

2.3 Western Blot 检测靶细胞中 EpCAM 蛋白的表达 分别对 LNCaP、PC-3、DU145, 慢病毒表达载体 pCDH-EpCAM 转染的 HEK293T 细胞以及空载体 pCDH 转染的 HEK293T 细胞提取蛋白, 用 Western Blot 分析各蛋白样品中 EpCAM 的表达情况。结果显示, LNCaP、PC-3、DU145 细胞蛋白样品以及慢病毒表达载体 pCDH-EpCAM 转染的 HEK293T 细胞蛋白样品均可以在 35 kD 的位置检测到与预期大小一致的特异性条带, 而空载体 pCDH 转染的 HEK293T 细胞蛋白样品未见特异性条带出现(图 2)。实验表明 LNCaP、PC-3、DU145 细

胞均表达 EpCAM, 而 HEK293T 细胞不表达 EpCAM, 但将慢病毒表达载体 pCDH-EpCAM 转染入 HEK293T 细胞后, HEK293T 细胞也表达 EpCAM。

2.4 验证适配体对 EpCAM 阳性细胞特异性结合的能力

2.4.1 流式细胞术 流式细胞术结果显示, 适配体 Ep1 和 Ep2 均能特异性结合 LNCaP、PC-3、DU145 细胞和慢病毒表达载体 pCDH-EpCAM 转染的 HEK293T 细胞, 而不能结合空载体 pCDH 转染的 HEK293T 细胞, 且 Ep1 对各细胞的结合率分别为 61.0%、74.3%、59.1%、60.3%、5.4%, Ep2 对各细胞的结合率分别为 65.1%、77.8%、54.2%、58.3%、3.3%(图 3), 表明筛选出的适配体能特异性靶向 EpCAM 阳性的细胞。

2.4.2 细胞免疫荧光 细胞免疫荧光结果显示, 与适配体 Ep1 和 Ep2 孵育后, LNCaP、PC-3、DU145 的细胞膜均可观察到明显的绿色荧光, 而与随机 DNA 文库孵育后, 细胞膜均未见明显的荧光显示(图 4), 表明适配体 Ep1 和 Ep2 能特异性识别 EpCAM 阳性的细胞。

3 讨论

PCa 的治疗和预后主要取决于其临床分期和病理分级^[10], 早期或局限性 PCa 的 5 年生存率可达 100%, 但到了晚期, 其 5 年生存率仅为 28%^[11]。然而 PCa 在早期多无明显临床症状, 大部分患者在就诊时已是晚期, 失去了根治性手术的机会。PCa 的成功治疗有赖于对其早期诊断和精确定位, 因此, 寻找一种新型的高特异性、高灵敏度的诊疗方案至关重要。

在过去的几十年间, 研究者在探寻 PCa 的生物学基础及其恶性增殖、血管生成、转移和肿瘤逃逸等方面已取得相当大的进展, 越来越多的潜在治疗靶点也陆续被揭开, 如雄激素受体、信号传导通路、血管生成以及肿瘤相关抗原等^[12-13]。基于这些进展, 在基因分子水平上发展高特异性和高灵敏度的分子探针对 PCa 的早期诊断、靶向治疗以及预后监测均具有重要意义。

EpCAM 是人类上皮恶性肿瘤的标志物, 癌前组织、肿瘤组织及转移组织中均存在 EpCAM 的高表达^[14], EpCAM 已成为当前肿瘤防治策略中极具前景的分子靶标。当前, 大多数基于 EpCAM 的诊断和治

表 1 已鉴定的 DNA 适配体序列

适配体	DNA 序列
Ep1	5'-CTGTTCTCGGTCGCGACCTATCTGGTCGTCGCCGCGCTCGTGTTTCGGAACGCTCA TCGCGTTCGGGCTCGGCG-3'
Ep2	5'-GGACTTGAAGAAAAGGGCGACACGCGAAGTCGATGTCGCTGCTGCTGAAGTCA-3'

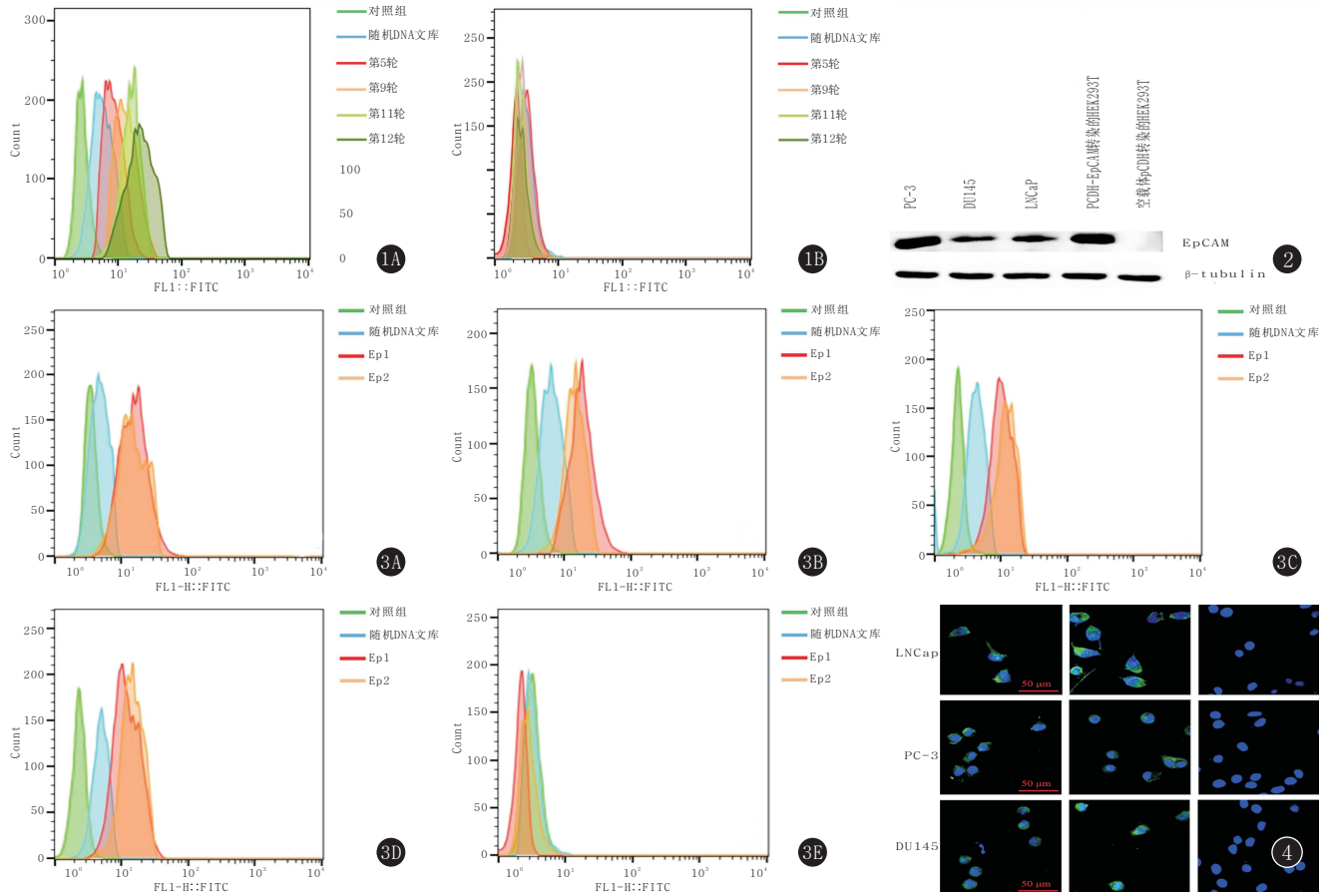


图 1A,B 流式细胞术检测 DNA 产物对靶细胞的亲性和性。A. 第 5、9、11、12 轮筛选的 DNA 产物分别与慢病毒表达载体 pCDH-EpCAM 转染的 HEK293T 细胞的亲和性检测,以随机 DNA 文库作为阴性对照;B. 第 5、9、11、12 轮筛选的 DNA 产物分别与空载体 pCDH 转染的 HEK293T 细胞的亲和性检测,以随机 DNA 文库作为阴性对照 图 2 Western Blot 检测 PCa 各细胞株及转染的 HEK293T 细胞中 EpCAM 的表达情况 图 3A~E 流式细胞术检测适配体 Ep1、Ep2 对 EpCAM 阳性细胞特异性结合的能力。A. LNCaP;B.PC-3;C.DU145;D.pCDH-EpCAM 转染的 HEK293T;E.空载体 pCDH 转染的 HEK293T 图 4 激光共聚焦显微镜观察适配体 Ep1、Ep2 对 EpCAM 阳性细胞特异性结合的能力

疗策略均有赖于抗 EpCAM 抗体,但由于抗体分子量较大,因而应用受到限制,这也是其在初期临床试验中检测癌细胞的灵敏度较低、难以为研究者提供客观临床反馈的主要原因。此外,抗体体积较大,会影响其与靶点结合的亲和性,使机体产生免疫原性^[15]。因此,探寻一种体积小、稳定性高的 EpCAM 结合配体对于 PCa 的早期诊断及靶向治疗至关重要。

核酸适配体及细胞 SELEX 技术的发展为解决上述议题提供了新方法。当前,筛选分子量小、低免疫原性、高特异性、高亲和力的适配体是研究 PCa 及其他恶性肿瘤诊治一体化的重要手段。本研究利用细胞 SELEX 技术,以 EpCAM 阳性的人 PCa 细胞为靶细胞株,从随机寡核苷酸文库中筛选出了 EpCAM 特异性适配体,并成功验证了其靶细胞的亲和性。结果证实,笔者筛选出的适配体能特异性识别并靶向 EpCAM 阳性的细胞。由此,本研究筛选的 EpCAM 适配体有望为 PCa 的特异性诊断及靶向性治疗提供新思路,同时也为其

他恶性肿瘤特异性诊疗方案的研究奠定实验基础。

参考文献:

[1] 杨亚英,宋光义,包颜明.前列腺癌的影像学研究与进展[J].实用放射学杂志,2005,21(5):533-536.DOI:10.3969/j.issn.1002-1671.2005.05.024.

[2] 李桂萍,刘剑羽.MRI 对前列腺癌及增生性疾病的诊断价值及其与病理对照研究[J].实用放射学杂志,2008,24(6):793-795,798.DOI:10.3969/j.issn.1002-1671.2008.06.022.

[3] NI J,COZZI P J,DUAN W,et al.Role of the EpCAM (CD326) in prostate cancer metastasis and progression[J].Cancer Metastasis Rev,2012,31(3/4):779-791.DOI:10.1007/s10555-012-9389-1.

[4] 李香营,韩向君,杨光,等.多 b 值 DWI 联合 PSA 评估前列腺癌内分泌治疗效果及相关性研究[J].实用放射学杂志,2017,33(9):1390-1393.DOI:10.3969/j.issn.1002-1671.2017.09.017.

[5] LU M,LU H,KONG Q.Leading causes of castration-resistant prostate cancer[J].Expert Rev Anticancer Ther.2015,15(4):425-432. DOI:10.1586/14737140.2015.1007957.

(下转第 1028 页)

[3] 石双任, 陈宏伟, 鲍健, 等. 肾上腺外髓质脂肪瘤的 CT 诊断[J]. 中国医学影像技术, 2011, 27(10): 2075-2078. DOI: 10.13929/j.1003-3289.2011.10.061.

[4] 江岷芮, 邓晓娟, 程诚, 等. 脾脏髓质脂肪瘤 1 例[J]. 中国临床医学影像杂志, 2016, 27(5): 376-377.

[5] 陈小启, 顾基伟, 向军益, 等. 肾上腺髓质脂肪瘤的 CT 与 MRI 诊断[J]. 实用放射学杂志, 2012, 28(10): 1583-1586. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1671.2012.10.025.

(收稿日期: 2018-03-14; 修回日期: 2018-05-08)

(上接第 987 页)

[2] 陈轶, 李华, 陈苗苗, 等. 骨质疏松椎体急性压缩性骨折与转移瘤 MRI 鉴别诊断[J]. 实用放射学杂志, 2013, 29(7): 1155-1157, 1163. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1671.2013.07.034.

[3] 吕晓波, 王志强, 樊鹏飞, 等. In-phase 和 out-phase 图像在脊柱良恶性病变中应用分析[J]. 中国辐射卫生, 2016, 25(5): 630-632. DOI: 10.13491/j.cnki.issn.1004-714x.2016.05.051.

[4] 代岳, 王姗, 徐慧婷, 等. IDEAL-IQ 技术对不同年龄椎体骨髓脂肪含量的定量评价[J]. 中国医学计算机成像杂志, 2017, 23(2): 161-165. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5741.2017.02.012.

[5] REEDER S B, PINEDA A R, WEN Z, et al. Iterative decomposition of water and fat with echo asymmetry and least-squares estimation (IDEAL): application with fast spin-echo imaging[J]. Magn Reson Med, 2005, 54(3): 636-644. DOI: 10.1002/mrm.20624.

[6] SHARMA S D, HU H H, NAYAK K S, Chemical shift encoded water-fat separation using parallel imaging and compressed sensing[J]. Magn Reson Med, 2013, 69(2): 456-466. DOI: 10.1002/MRM.24270.

[7] 杨正汉. 磁共振成像技术指南[M]. 北京: 人民军医出版社, 2007: 195-200.

[8] 郑修竹, 于金芬, 张红, 等. MR 水、脂分离 Dixon 方法及弥散成像对椎体骨折性质的鉴别研究[J]. 医学影像学杂志, 2015, 25(10): 1859-1863.

[9] 任爱军, 郭勇, 田树平, 等. IDEAL 技术在脊柱病变的应用[J]. 放射学实践, 2011, 26(10): 1096-1099. DOI: 10.3969/j.issn.1000-0313.2011.10.020.

[10] 李静, 李婷, 鲜军舫. 眼眶 MR 成像 IDEAL 技术脂肪抑制效果和图像质量评价研究[J]. 放射学实践, 2016, 31(8): 695-699. DOI: 10.13609/j.cnki.1000-0313.2016.08.005.

[11] 成芳, 邹爱华, 叶惟靖, 等. 营养性肥胖儿童青少年睾丸脂肪含量的 MRI 同相和反相位成像评价[J]. 实用放射学杂志, 2012, 28(11): 1750-1753, 1759. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1671.2012.11.023.

[12] 雷立存, 何丽, 刘斋, 等. 磁共振化学位移成像对骨质疏松的诊断价值[J]. 中国临床医学影像杂志, 2014, 25(9): 648-651.

[13] DISLER D G, MCCAULEY T R, RATHER L M, et al. In-phase and out-of-phase MR imaging of bone marrow: prediction of neoplasia based on the detection of coexistent fat and water[J]. AJR, 1997, 169(5): 1439-1447. DOI: 10.2214/ajr.169.5.9353477.

[14] 苏丹, 刘志兰, 周宙. 化学位移同反相位成像在脊柱病变中的应用价值[J]. 实用诊断与治疗杂志, 2008, 22(6): 438-439, 442. DOI: 10.3969/j.issn.1674-3474.2008.06.016.

[15] 肖梦强, 刘金丰, 沈梓璇, 等. 正反化学位移成像在椎体压缩骨折病因分析中的应用价值[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2014, 12(5): 17-20. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5131.2014.05.05.

(收稿日期: 2018-03-13; 修回日期: 2018-11-30)

(上接第 991 页)

[6] PATRIARCA C, MACCHI R M, MARSCHNER A K, et al. Epithelial cell adhesion molecule expression (CD326) in cancer: a short review[J]. Cancer Treat Rev, 2012, 38(1): 68-75. DOI: 10.1016/j.ctrv.2011.04.002.

[7] BENKO G, SPAJIC B, KRUSLIN B, et al. Impact of the EpCAM expression on biochemical recurrence-free survival in clinically localized prostate cancer[J]. Urol Oncol, 2013, 31(4): 468-474. DOI: 10.1016/j.urolonc.2011.03.007.

[8] TUERK C, GOLD L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase[J]. Science, 1990, 249(4968): 505-510.

[9] HU M, ZHANG K. The application of aptamers in cancer research: an up-to-date review[J]. Future Oncol, 2013, 9(3): 369-376. DOI: 10.2217/fon.12.201.

[10] 王希明, 包婕, 朱默, 等. 第一版和第二版前列腺影像报告和数据库评分对移行带前列腺癌的诊断价值[J]. 中华放射学杂志, 2017, 51(6): 427-431. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1201.2017.06.006.

[11] GOMELLA L G, PETRYLAK D P, SHAYEGAN B. Current management of advanced and castration resistant prostate cancer[J]. Can J Urol, 2014, 21(2 Suppl 1): 1-6. DOI: 10.1007/s11255-013-0516-x.

[12] CULIG Z, SANTER F R. Androgen receptor signaling in prostate cancer[J]. Cancer Metastasis Rev, 2014, 33(2/3): 413-427. DOI: 10.1007/s10555-013-9474-0.

[13] LI Y, COZZI P J. Angiogenesis as a strategic target for prostate cancer therapy[J]. Med Res Rev, 2010, 30(1): 23-66. DOI: 10.1002/med.20161.

[14] BELTRAN H, BEER T M, CARDUCCI M A, et al. New therapies for castration-resistant prostate cancer: efficacy and safety[J]. Eur Urol, 2011, 60(2): 279-290. DOI: 10.1016/j.eururo.2011.04.038.

[15] SONG Y, ZHU Z, AN Y, et al. Selection of DNA aptamers against epithelial cell adhesion molecule for cancer cell imaging and circulating tumor cell capture[J]. Anal Chem, 2013, 85(8): 4141-4149. DOI: 10.1021/ac400366b.

(收稿日期: 2018-08-04; 修回日期: 2018-09-28)