

田瑞军：蛋白质组学开启胰腺癌精准诊治

● 本报记者 张思玮 实习生 陈祎琪

在众多癌种中，胰腺癌被称为“癌中之王”。

《中国胰腺癌综合诊治指南(2020年版)》指出，近年来世界范围内胰腺癌的发病率和死亡率均呈上升趋势。2019年美国癌症协会发布的数据显示，美国胰腺癌新发病例数男性居第10位、女性居第9位，死亡率居恶性肿瘤第3位。

中国国家癌症中心最新统计显示，我国每年胰腺癌新发病例数近10万，约占恶性肿瘤病例数的2.42%；胰腺癌居中国城市男性恶性肿瘤发病率的第8位，居大城市(如北京、上海)人群恶性肿瘤死亡率的第6位。

可怕的是，胰腺癌的恶性程度极高，患者生存率极低，未接受任何治疗的中位生存时间仅有约4个月，近3/4患者在确诊后1年内死亡。同时预后极差，术后极易复发转移，总体5年生存率不足8%。

如何实现对胰腺癌的精准诊断与治疗成为全球科学家的难题。而近年来，蛋白质组学发展势头迅猛，为这一难题的解决提供了新思路。

发现胰腺癌“推手”LIF

现有研究指出，胰腺癌的恶性程度高且肿瘤微环境特殊。这表现为：第一，起病隐匿，不易察觉。胰腺位于腹部深处，胰腺肿瘤密度与周围正常胰腺组织接近，因此早期无特异的临床表现，等到确诊时基本已是中后期。第二，能够抵御抗癌药物和免疫监控的攻击。胰腺癌肿瘤细胞被重重包裹在富含胰腺星状细胞(PSC)的间质细胞层中，再加上胰腺四周环绕着大量血管，犹如戒备森严的城墙一般，抗癌药物很难进入并产生效用。

此前，尽管星状细胞与癌细胞间相互作用的重要性已被证实，但是具有显著生理性功能的介导这一胞间通信的信号蛋白尚未被发现。

直至2019年4月，南方科技大学化学系终身教授田瑞军团队与美国Salk研究所Tony Hunter教授团队通过多年合作研究终于发现了介导胰腺癌细胞与星状细胞之间信号传导的关键因子白血病抑制因子(LIF)。

据田瑞军介绍，团队通过系统地集成磷酸化蛋白质组学、分泌蛋白质组学和蛋白相互作用组学策略，对源于星状细胞的分泌因子和作用于癌细胞引起的胞内信号转导通路的变化进行了系统性解析，从而发现转录因子STAT3的磷酸化激活是癌细胞内最显著的信号变化，而星状细胞分泌的LIF则是导致这一分子事件的最关键旁分泌因子。

为确认LIF的功能，研究者利用胰腺癌转基因小鼠模型阻断LIF(均使蛋白质无功能)，从而观察其对胰腺肿瘤生长的影响。结果发现，如果没有功能性LIF信号传导，肿瘤进展减慢，并且癌细胞耐药性下降，胰腺癌化疗药物的治疗反应会得到改善。

在随后的靶向性质谱和高灵敏度ELISA检测中，大量临床组织样品的定量分析显示，LIF在胰腺肿瘤组织中特异性高表达，并且具有明显的胰腺癌特异性。同时，LIF蛋白在胰腺肿瘤组织中的表达量与病人的病理状况，特别是分化状态及生存期紧密相关，病人血液中的LIF变化水平与药理反应的病理分析结果高度一致。

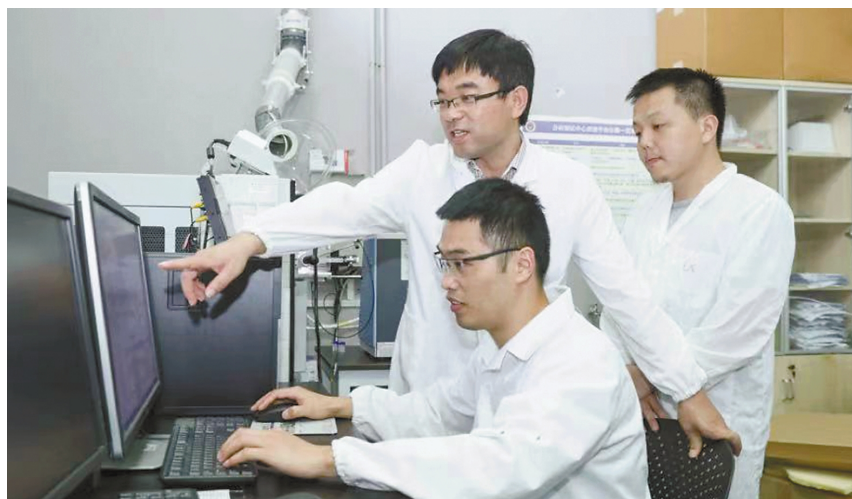
“通过血液中对LIF的检测，我们可以有效地区分正常人、胰腺癌病人及不同阶段的胰腺癌病人。”田瑞军在接受记者采访时说，这些都充分验证了LIF作为胰腺癌治疗靶点和生物标志物的可行性。

创新样本前处理技术

有了新的治疗靶点和生物标志物，田瑞军团队又将目光聚焦在临床样本上。

常规的蛋白质组学分析流程包括样品前处理、色谱分离、质谱检测和数据分析。其中，质谱检测技术以高鉴定通量、高灵敏度和高准确性而著称，但是也存在两点局限：一是以不同质荷比作为筛选原则导致同分异构体、同质形体难以区分；二是样本前处理流程严格复杂，样本要求高，须保证纯净、无杂质、高浓度并可被离子化。

随着技术的迭代升级，前一问题已经通过与液相色谱联用或采用人工处理方式得到解决，而后一问题却仍然面临不小的挑战，尤其是处理微量且成



田瑞军(右二)与学生讨论问题。

受访者供图

分复杂的临床样本。

早在2016年，田瑞军团队就发明了独特的基于离心移液枪头“Spintip”的集成式蛋白质组学前处理技术(SISPROT)。2022年，田瑞军团队又进一步开发出完全集成的样品制备技术Intact GlycoSISPROT，用于对低微克甚至纳克蛋白质样品进行位点特异性蛋白糖基化分析。

田瑞军说，Intact GlycoSISPROT有效整合了蛋白质样品前处理的所有操作步骤，包括蛋白质样品的预富集、还原、烷基化、酶解、反相除盐和糖肽富集，可实现3小时内完成上机检测。这既减少了因冻干和转移而造成的样本损耗，又提高了检测效率，另外样本所需量更少，富集效果更佳，是极具创新性的高通量全自动微量样本预处理技术。

与此同时，田瑞军团队对于Intact GlycoSISPROT的灵敏度和重现性也进行了系统优化和评估。在表征1 μ g样本中的胰腺细胞糖蛋白的比较实验中，Intact GlycoSISPROT鉴定出较传统方法2倍左右的完整糖肽、位点特异性糖型、糖蛋白和聚糖组合物，从而显露出明显优势。

“样品前处理是蛋白质组学分析不可缺少且至关重要的步骤之一，Intact GlycoSISPROT有望推动蛋白质组学更好地服务于微量临床样本分析。”田瑞军说。

LIF抑制剂进入临床试验

在发现了LIF在胰腺癌胞间通信中的关键作用后，2020年1月，由加拿

大Northern Biologics生物医药企业研发的首个anti-LIF抗体(MSC-1)获批胰腺癌临床I期试验。2021年8月，全球领先制药公司阿斯利康收购了MSC-1并展开临床II期试验。

在胰腺癌相关体检肿瘤标志物中，迄今为止应用最广泛的是糖链抗原19-9(CA19-9)、癌胚抗原(CEA)和糖链抗原125(CA125)。这其中，只有CA19-9是获得美国食品药品监督管理局(FDA)批准的胰腺癌生物标志物，而此次研究发现的LIF则是比CA19-9更准确且独立的测量指标和更好的治疗反应指标。

“将来，我们可以组合使用CA19-9和LIF这两种生物标志物，更好地预测疾病阶段和治疗效果，抗LIF抗体治疗也可以与其他治疗方法相结合用于治疗胰腺癌。”Tony Hunter教授兴奋地表示，LIF是他50多年科研生涯中最接近临床转化应用的一项研究，从2013年到2022年不过短短数年，LIF就已经从最初的盲筛走到了II期临床试验阶段。

“随着LIF在胰腺肿瘤中的重要生物学功能的揭示，胰腺癌患者有望走出低生存率的绝境，迎来新的生命曙光，同时以蛋白质组学为基础的精准医疗时代也即将盛大开启。”田瑞军说。

据悉，依托于国际原创性的高通量全自动微量样品预处理技术，田瑞军正在进行相关蛋白质组学项目转化。未来，临床蛋白质组学将为包括胰腺癌等重大疾病提供创新标志物和创新药物等解决方案。