

L'approche immuno-protéomique SERPA : définition et intérêt biomédical dans les cancers du sein

Bechr Hamrita, MD¹, Hela Ben Nasr, MD¹, Karim Chahed, MD¹, Lotfi Chouchane, MD¹

(1) Laboratoire d'Immuno-Oncologie Moléculaire, Faculté de Médecine de Monastir; Tunisia

✉ Corresponding Author: Dr Bechr Hamrita, MD

Laboratoire d'Immuno-Oncologie Moléculaire, Faculté de Médecine de Monastir, 5019 Monastir, Tunisia.

E-mail: bechrhamrita@yahoo.fr

Key words: Cancer du sein, Protéomique, Serpa, Protéines marqueurs, Autoanticorps.

Submitted: March 2010 - Accepted: 30 May 2010

ISSN: 2070-254X

Abstract

Le cancer du sein représente la première cause de mortalité féminine. Il est défini comme étant une prolifération anormale et anarchique des certaines cellules. L'expression de nombreuses protéines est altérée lors de la transformation cancéreuse et lors de la progression tumorale. Cette expression protéique peut déclencher une réponse d'autoimmunité et la libération d'autoanticorps qui semblent avoir un rôle cruciale dans le pronostic, le diagnostic que pour la création de nouvelles cibles thérapeutiques potentielles. Aujourd'hui l'approche immuno-protéomique SERPA (SERological Proteomic Analysis) permet la recherche simultanée d'autoanticorps et l'identification des épitopes antigénique immunodominant. Cette technique présente l'immense avantage d'être rapide et spécifique. Dans cette revue nous avons mis l'accent sur l'apport de cette approche immuno-protéomique au niveau des cancers du sein d'une part, et d'autre part à la découverte de nouveaux marqueurs de diagnostiques et de pronostiques.

Introduction

Le cancer du sein est un problème de santé publique majeur, à la fois dans les pays développés ou en cours de développement (1). C'est une maladie multifactorielle impliquant à la fois des facteurs génétiques et des facteurs liés à l'environnement. Cette pathologie est la conséquence de dérèglements dans la machinerie cellulaire qui résultent de l'activation de gènes menant à la prolifération cellulaire (oncogènes), de l'inhibition de gènes contrôlant de façon négative cette prolifération (gènes suppresseurs de tumeurs) ou de dérèglements affectant ces deux mécanismes à la fois (2). Le cancer du sein est une prolifération anormale des cellules dans la glande mammaire. La perte du contrôle de cette prolifération aboutit à une croissance cellulaire anormale et à une multiplication cellulaire très importante qui dépasse la mort cellulaire. Ces caractères se transmettent d'une génération cellulaire à une autre d'où l'apparition d'un clone de cellules immortelles. Ce clone de cellules indésirables finit par former un nodule appelé tumeur (3) and (4).

La détermination et la compréhension des phénomènes liés à la carcinogénèse nécessitent une approche génétique qui permettra de caractériser les différents gènes impliqués dans la prolifération tumorale et de déchiffrer les voies de signalisation intracellulaires menant au déclenchement et à la progression des tumeurs (5). Parallèlement, des études protéomiques, s'imposent et permettront d'analyser et

de caractériser des marqueurs protéiques impliquées dans le développement tumoral (5). Ces études protéomiques sont fondées sur des techniques des séparations d'échantillons protéiques complexes, telles que l'électrophorèse bidimensionnelle (2-DE), la technique SERPA (SERological Proteomic Analysis), et la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF : Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time Of Flight (6). La spectrométrie de masse permet depuis une dizaine d'années de répondre à de nombreuses questions biologiques, notamment, concernant l'identification des marqueurs protéiques et leur caractérisation (modifications post-traductionnelles, modifications chimiques, mutations d'acides-aminés...). Ainsi, la spectrométrie de masse couplée à l'électrophorèse bidimensionnelle, au sein de l'approche protéomique ont évolué afin de devenir un outil puissant de choix (7). En effet, la spectrométrie de masse permet d'obtenir des informations sur les masses des peptides intacts, mais aussi des informations de séquences par spectrométrie de masse en tandem (MS/MS), indispensables pour confirmer les identifications litigieuses mais aussi pour caractériser les peptides de protéines n'appartenant pas aux banques de données protéiques (7). Plusieurs études protéomiques permettraient de caractériser de nouveaux marqueurs protéiques qui faciliteraient le diagnostic précoce du cancer du sein et aideraient à déchiffrer les différentes voies de signalisation intracellulaires menant au déclenchement et à la progression des tumeurs. De telles données devraient permettre l'élaboration de nouvelles cibles thérapeutiques et mener au développement de stratégies innovatrices pour combattre le cancer (5).

La recherche de marqueurs protéiques tumoraux et sériques

Afin d'élucider les phénomènes liés à la carcinogénèse, des études de génomique sont indispensables pour caractériser les différents gènes ainsi que les voies de signalisation intracellulaires menant au processus tumoral. Parallèlement, des études de protéomique permettront de comprendre les relations structure-fonction des différentes protéines impliquées dans ce processus tumoral et l'identification de nouveaux marqueurs pathologiques (7). Par définition, un marqueur tumoral est une molécule présente dans l'environnement tumoral et qui fait appel aux notions de spécificité, de sensibilité et de valeur prédictive positive. Sa concentration devrait montrer une corrélation entre le taux du marqueur et la taille de la tumeur. Plusieurs travaux ont abordé la caractérisation de nouveaux marqueurs protéiques cellulaires et sériques associés au développement de cancer du sein, moyennant la 2-DE couplée à la spectrométrie de masse qui pourraient être associés au

développement des cancers mammaires (Tableau 1) (7). Une étude protéomique réalisée par Roberts et al. (8) a montré une surexpression du récepteur d'estrogène (RE) dans le cadre du cancer mammaire. Ce marqueur protéique a démontré le premier impact dans la prise en charge thérapeutique des cancers du sein. Les travaux de Hondemarck H et al. (7) ont montré, dans le cadre de cancer du sein, la surexpression, de certains marqueurs protéiques telles que la protéine Glucose Regulated Protein (GRP 78), la calreticuline, la tropomyosine 3 et la vimentine. Une autre étude protéomique menée par Vercouter-Edouart et al. (9) a permis de caractériser la protéine chaperonne moléculaire 14-3-3 sigma, comme marqueur potentiel précoce de la cancérisation mammaire. La forme 14-3-3 sigma a été fortement inhibée dans les cancers du sein ainsi que dans des lignées cellulaires tumorales, MCF-7 et MDA-MB-231. Ces résultats ont permis d'attribuer le rôle de suppresseur de tumeurs à cette protéine (9). Une autre étude protéomique ayant utilisé la 2-DE couplée à la spectrométrie de masse a été appliquée sur des lignées mammaires (MCF-10A, BT474, and MDA-MB-468). Cette étude a montré une forte expression de kallikreines 5, 6 et 10 en tant que biomarqueurs du cancer du sein (10). Une étude protéomique combinant la 2-DE/MALDI-TOF, dans le cadre du cancer mammaire, a montré la surexpression de plusieurs protéines du cytosquelette à savoir, la vimentine, la β 5-tubuline et l'actine G (14). Ces protéines semblent être impliquées dans l'invasion tumorale (11). Imai et al. (12) ont montré, dans le cancer du sein, la surexpression de protéines telles que, l'annexine-2, la galectine-1 et la tropomyosine-1. Cette étude a montré aussi, que ces marqueurs semblent avoir un rôle dans la progression tumorale et peuvent être utilisés en tant que des cibles thérapeutiques potentielles (12). Une étude récente visant à identifier de marqueurs potentiels au niveau du cancer mammaire et employant la 2-DE couplée au MALDI-TOF MS, les sérums de 54 contrôles et de 76 patientes atteintes d'un cancer mammaire ont été comparés. Cette étude a mis en évidence une expression différentielle de HSP27 et de 14-3-3 sigma dans le sérum des patientes atteintes d'un cancer mammaire (13). Ricolleau et al. (14) ont appliqué la méthode des puces à protéines à la caractérisation de marqueurs utiles au pronostic du cancer du sein. Cette étude a montré une surexpression de l'ubiquitine et de la chaîne légère de la ferritine (14).

La recherche d'auto-anticorps moyennant l'approche serpa

De nouvelles technologies sont apparues récemment, aboutissant au concept de la détection de nouveaux marqueurs protéiques potentiels. L'immunocriblage est basée généralement sur l'approche SERPA qui permet l'analyse des modifications globales du répertoire d'autoanticorps et la découverte de nouveaux marqueurs tumoraux sériques utiles aussi bien pour le diagnostic, le pronostic que pour le suivi thérapeutique de la maladie (6). L'analyse sérologique d'autoanticorps par cette approche, se définit comme étant une combinaison de 2-DE, le transfert des protéines cellulaires et tumorales séparées sur membrane immobilisante telle que la membrane PVDF (polyvinyl difluorure), support d'une réaction antigène/anticorps avec les sérums de malades et témoins, suivi de l'analyse comparative des gels et de l'immunoblot (Figure 1). La caractérisation des antigènes sera établie généralement par la spectrométrie de masse (6). La technique protéomique SERPA présente l'immense avantage d'être rapide et spécifique. Cette technique permet, non seulement la recherche simultanée de toutes les autoanticorps, en une seule fois, mais aussi l'identification des épitopes antigénique immunodominant (6). Actuellement la recherche d'autoanticorps au niveau du sérum est une voie de recherche très attrayante. Des anticorps dirigés contre des immunodéterminants antigéniques néoplasiques sont mis en évidence dans les cancers du sein. L'approche immuno-protéomique SERPA permet l'analyse du répertoire d'autoanticorps ainsi la découverte de nouveaux marqueurs tumoraux sériques à utilité médicale (6).

Cette approche immuno-protéomique, a permis d'identifier des antigènes tumoraux mammaires qui sont capables de déclencher une réponse immunitaire humorale. Ces marqueurs spécifiques pourraient par la suite, être utiles aux diagnostics et aux pronostics des cancers mammaires (6). Bien que la détection d'autoanticorps soit une approche encore nouvelle en cancérologie, elle fait partie aujourd'hui de la stratégie diagnostique et pronostique de cancer du sein (6). Cette étude a permis de montrer la présence d'auto-anticorps de type IgG dirigés contre des protéines impliquées dans le processus tumoral. L'identification de marqueurs tumoraux impliqués dans le développement de la pathologie mammaire a permis de définir et d'identifier autant de cibles thérapeutiques potentielles pour la mise au point de médicaments, que d'acteurs cruciaux pour le diagnostic et le pronostic de cette maladie. Plusieurs travaux se sont inscrits dans cette voie d'immunocriblage. Les autoanticorps anti-P53 sont décrits comme étant surexprimés dans de nombreux cancers, à savoir, le cancer du sein, le cancer colorectal et le cancer de la langue (15) and (16).

D'autres études ont montré que ces autoanticorps anti-P53 sont dus généralement, à une altération de la protéine P53 au cours de la tumeur et que la concentration sérique des anticorps anti-P53 est corrélée avec la surexpression de la protéine P53 altérée dans la tumeur (17). Une autre étude menée par Le Naour F et al. (6) a permis de caractériser la protéine RS/DJ1, comme marqueur potentiel des cellules tumorales du sein. Il a été démontré que cette protéine est capable de déclencher une réaction d'autoimmunité et à la production d'autoanticorps anti-RS/DJ1. Une autre étude protéomique a été appliquée par la même équipe 6 sur les sérums des patients ayant un cancer du foie, a montré plusieurs antigènes qui sont capables de déclencher une réponse d'autoimmunité, à savoir, la calreticuline, la Hsp 60, la β -tubuline, la cytokératine 8, la cytokératine 18, la F1-ATP synthase et la créatine Kinase β . Ces protéines connues participent à différentes fonctions biologiques comme l'architecture du cytosquelette, le stress cellulaire et le métabolisme intermédiaire (6). Dans le même cadre, une étude récente de Zimmermann et al. (18) a montré l'expression d'autoanticorps anti-cardiolipine et anti-beta2 glycoprotéine-1 dans le cadre du cancer mammaire. Les mécanismes précis qui gouvernent cette auto-immunisation ne sont pas encore élucidés. Récemment, une étude protéomique (SERPA), a été réalisée sur le cancer du sein de type carcinome canalaire infiltrant, a montré pour la première fois une forte expression d'auto-anticorps ciblant des protéines de stress oxydatif, à savoir, la peroxyredoxine 2, la protéine disulfide isomérase et la manganèse superoxyde dismutase (MnSOD), des protéines chaperonnes, la HSP60 et la β cristalline. Une protéine suppresseur de tumeur, la prohibitine, et des protéines impliquées dans l'architecture du cytosquelette telles que la cytokératine 8, la cytokératine 18 et la β tubuline (19). La peroxyredoxine 2, et des membres de la famille des heterogeneous nuclear ribonucleoprotein (hnRNP), à savoir, la hnRNPK et hnRNP A2/B1, protéines impliquées dans l'apoptose, l'épissage et le transport d'ARNm du noyau vers le cytoplasme (19). La peroxyredoxine 2, protéine cytosolique, joue un rôle anti-oxydatif contre le stress oxydant 20. Une protéine comme la peroxyredoxine 2, a un rôle important dans la régulation et le contrôle de la transformation oncogénique de l'épithélium mammaire, car elle est impliquée dans la protection de cellules mammaires contre les oxydations radicalaires et permet aussi de moduler la prolifération cellulaire et l'apoptose de certaines cellules malignes (20). A nos jours, peu d'études qui ont mentionné la présence d'autoanticorps contre les peroxyredoxines chez des sujets ayant une malignité. Ces études rétrospectives portant sur la détection d'autoanticorps dirigés contre la peroxyredoxine, ont montré l'importance de ces autoanticorps comme étant des marqueurs de diagnostic, de pronostic, et qui serait d'un grand apport dans la prévention de la maladie. Une étude protéomique réalisée par Fujita et al. (21) ont montré que la peroxyredoxine VI se comporte comme étant un marqueur protéique potentiel de pronostic chez les patientes souffrant d'un cancer du

l'œsophage (21). L'approche SERPA montre de même la présence d'autoanticorps contre le manganèse superoxyde dismutase (MnSOD) et la protéine disulfide isomérase (PDI) chez les sérums des patientes souffrant d'un cancer du sein (20). La MnSOD, est une enzyme mitochondriale qui fait partie de l'arsenal défensif, qui protège les cellules contre des espèces réactives (ROS). Cette enzyme protège l'ADN et les membranes cellulaires d'un dommage destructif causé par le stress oxydatif (22). Plusieurs travaux portant sur la détection d'autoanticorps dirigés contre certains antigènes tumoraux ont mis en évidence des autoanticorps anti-MnSOD (22) and (23). Ces autoanticorps ont été utilisés comme étant des marqueurs de diagnostic utile pour cette pathologie maligne (22). Bien que les mécanismes biologiques qui sont responsables de la synthèse d'autoanticorps chez les patients cancéreux demeurent inconnus, leur présence a été suggérée au pouvoir pathogène de ces protéines dans les tissus tumoraux (24). D'autres travaux suggèrent que cette augmentation puisse être un facteur de contribution de leurs immunogénités (22). Des autoanticorps anti-protéines chaperonnes ont été de même identifiées dans le cancer du sein par l'approche SERPA, à savoir, la HSP 60 et la cristalline β (20). Les protéines chaperonnes HSP « Heat Shock Protein » sont des protéines ubiquitaires hautement conservées au cours de l'évolution. Ces protéines chaperonnes aident la cellule à vivre et à fonctionner et permettent aussi l'adressage des protéines dans le compartiment cellulaire adéquat. Récemment, une étude protéomique a signaler que la surexpression de la protéine HSP60 au niveau de cancer du sein, peut avoir une valeur pronostique d'autant qu'elle est corrélée avec la présence d'un métastase ganglionnaire (25). Ces données rapportées ainsi confirment que les changements de la conformation protéique mènent dans le cas du cancer du sein à une réaction d'autoimmunité. Ces activités immunologiques sont liées généralement aux systèmes des repliements protéiques qui puissent être un marqueur important dans la carcinogenèse mammaire. Des autoanticorps anti-protéines chaperonnes autres que la HSP60 ont été rapportées dans la malignité du sein (26). Parmi ces protéines chaperonnes qui déclenchent une réaction d'autoimmunité au niveau de cancer du sein, on note la protéine HSP90, dont la surexpression d'autoanticorps est associée avec un faible taux de survie (27). Dans le cancer du sein, la surexpression de taux de la protéine HSP60 puisse être un facteur déterminant de cette immunogénité. Murshid et al. (28) ont montré que les protéines chaperonnes Hsps, représente une voie thérapeutique impérative à suivre pour combattre les cancers. La tubuline β , protéine impliqué dans l'architecture du cytosquelette est dans la contraction musculaire a montré par SERPA un rôle immuno-antigénique dans le cancer du sein. Cette protéine intervient dans la motilité cellulaire et dans la structuration de la matrice cytoplasmique. Des études rétrospectives portant sur la détection d'autoanticorps dirigés contre certains antigènes tumoraux ont mis en évidence des autoanticorps anti-tubuline β . Parmi ces travaux, on note celle de Cuij et al. (29) qui ont pu détecter d'autoanticorps anti-tubuline β chez des patients qui souffrent d'une leucémie (29). Des études immuno-protéomiques moyennant l'approche SERPA ont mis en évidence des autoanticorps anti-cytokératine 8 et anti-cytokératine 18 (20). Parmi ces études on note celles de Le Naour F et al. (13) qui ont pu identifier la présence d'autoanticorps anti-cytokératine 8 et anti-cytokératine 18 chez des patientes ayant un cancer hépatique (13). Plusieurs études ont suggéré que la présence d'autoanticorps anti-cytokératine 8 se produira généralement, en réponse aux dommages et à la mort cellulaires qui ont été trouvé aux niveaux sériques des patientes présentant une fibrose pulmonaire, et une autoimmunité d'origine hépatique (13). La production de ces autoanticorps anti-cytokératines 8 et 18 et probablement due à une mal réorganisation des cytokératines qui se produit au cours de l'apoptose. Des autoanticorps anti-cytokératine 18 se sont également déterminés dans les sérums des patients atteints d'un cancer gastrique et chez les patients souffrant d'une fibrose pulmonaire (30). Ces autoanticorps sont dus à la mise en jeu d'une réaction immunitaire vis à vis des constituants du soi (30).

Certains chercheurs montrent que la présence des ces autoanticorps non pathogènes représente un phénomène normal chez un sujet sain (31). Bien que le mécanisme responsable des déclenchements d'une réaction d'autoimmunité contre les cytokératines chez les sujets normaux reste à déterminer, il a été suggéré, que les antigènes immunodominants du cytosquelette puissent être la première cible en cas ou non d'une pathologie maligne. De même, une autre analyse protéomique (SERPA) réalisée par Desmetz et al. (32) ont identifié une protéine du cytosquelette (la cytokératine 18), comme étant des antigènes potentiels du cancer du sein (32). L'approche SERPA, a permis aussi de démontrer la présence d'autoanticorps anti-prohibitine. La prohibitine est un autre antigène qui se trouve capable de déclencher une réaction d'autoimmunité chez les patientes souffrant d'un cancer du sein de type carcinome canalaire infiltrant. C'est une protéine chaperonne qui participe aux défenses antioxydant et participe aux défenses antioxydant (33). C'est une protéine qui est impliquée dans le contrôle de cycle cellulaire, dans la différenciation et jouant le rôle d'une protéine suppresseur de la tumeur. Cette protéine est connue par ses interactions directes avec des protéines qui interviennent dans la régulation du cycle cellulaire, à savoir, la Rb/E2F et la p53 (34). Peu d'études qui ont montré la présence d'autoanticorps contre la prohibitine dans le cadre du cancer du sein, cependant, des études antérieures ont montré la présence des anticorps anti-prohibitine chez de patients atteint d'une leucémie aigue (29). Des autoanticorps qui reconnaissent une protéine suppresseur de tumeur, la P53, ont été mis en évidence dans le sérum de 101 patients ayant une tumeur pulmonaire. Ces autoanticorps anti-P53 sont dus à une altération de la protéine P53 (mutation faux sens) qui est donc responsable de cette malignité. Des mutations ont été également rapportées dans le gène de la prohibitine est qui sont étroitement liée aux cancers du sein et de l'ovaire (34). Bien que les mécanismes responsables de développement de cette immunogénité contre ces antigènes dans le cancer du sein ne soient pas encore élucidés, il est probablement dû à diverse modifications protéiques produites au cours de phénomène apoptotiques (35). Dans ce contexte une autre étude a prouvé que l'anticorps anti-hnRNPB1 (131I-hnRNPB1) permet l'inhibition de la progression tumorale chez les souris (36). D'autres études ont montré que ces protéines (hnRNP) et la prohibitine ouvrent de grands espoirs en médecine dans l'identification d'antigènes vaccinaux dans les domaines thérapeutiques (19), (37) and (38). Sur la même démarche l'approche SERPA a permis d'identifier l'haptoglobine related protein (Hpr) comme étant une autre protéine capable de déclencher une réaction d'autoimmunité (19). Cette protéine est utilisée comme étant un indicateur de la progression de la maladie est de la thérapie antitumorale. Dans une étude réalisée sur le cancer du sein, une immunoréactivité remarquable de l'Hpr a été noté, principalement dans le carcinome invasif plutôt qu'un carcinome mammaire in situ, et que cette réactivité et corrélée avec le phénotype tumoral agressif (39). Epelbaum et al. (40) suggèrent que la synthèse et la sécrétion de l'Hpr par les cellules cancéreuses pourrait être utiles dans le diagnostic de la tumeur, ainsi, ceci peut expliquer au mois un des mécanismes responsables de cette immunoréactivité (40).

Conclusion

La combinaison d'une approche protéomique avec une méthode immunologique, SERPA, a permis finalement, d'identifier de nouvelles protéines à cibler afin d'augmenter l'efficacité de la thérapeutiques anticancéreuses. Cette approche immuno-protéomique SERPA a permis de montrer pour la première fois la présence d'autoanticorps dirigés contre la prohibitine, HSP60, Hpr, β tubuline, et la peroxiredoxine 2 dans le cadre de cancer du sein. Jusqu'à présent, les mécanismes responsables de la synthèse d'autoanticorps sont méconnus. Cette approche immuno-protéomique ouvre maintenant des nouvelles perspectives

prometteuses aussi bien en recherche fondamentale pour une meilleure connaissance des processus biologiques qui régissent la vie d'une cellule, qu'en biomédecine pour l'identification de nouveaux marqueurs liés à la pathologie mammaire. Cependant, d'autres études sont nécessaires sur les tissus tumoraux mammaires pour l'identification de nouveaux antigènes qui sont capables de produire une réponse d'autoimmunité. De même d'autres études sont indispensables, sur un grand nombre des patientes avant et après traitements, qui permet d'évaluer et de cribler les antigènes et/ou les anticorps pour une meilleure utilisation en tant que marqueur de diagnostic et de pronostic des cancers. Ces progrès en biologie moléculaire ont été à l'origine d'une révolution, tant du point de vue de la compréhension des mécanismes oncogénétiques à l'échelle moléculaire, que du développement de nouveaux traitements par un transfert de connaissances de la biologie fondamentale à la clinique.

Références bibliographiques

- Hill C, Doyon F. Frequency of cancer in France: 2004 update. *Bull Cancer* 2004; 1:9-14.
- Smith-Warner S, Spiegelman D, Yaun S S, van den Brandt P A, Folsom A R, Goldbolm R A. Breast Cancer Gene 1 (BRCA1): Role in Cell Cycle Regulation and DNA Repair Perhaps Through Transcription. *J Cel Biochem*. 2003; 88: 1084-91.
- Fernández M, Semela D, Bruix J, Colle I, Pinzani M, Bosch J, et al. Angiogenesis in liver disease. *J Hepatol*. 2009; 50:604-20.
- Hondermarck H. Breast Cancer. *Molecular & Cellular Proteomics* 2003; 2:81-91.
- Mathelin C, Tomasetto C, Cromer A and Rio M C. Protéome et cancer du sein. *Gynécologie Obstétrique et Fertilité*. 2006 ; 34 :1161-69
- Le Naour F, Misk D E, Krause M C, Deneux L, Giordano T J, Scholl S, et al . Proteomics-based identification of RS/DJ-1 as a novel circulating tumor antigen in breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2001 ;11 : 3328-35.
- Hondermarck H, Vercoutter-Edouart A S, Révillion F, Lemoine J, el-Yazidi-Belkoura I, Nurcombe V, et al . Proteomics of breast cancer for marker discovery and signal pathway profiling. *Proteomics*. 2001;10:1216-32.
- Roberts K, Bhatia K, Stanton P, Lord R. Proteomic analysis of selected prognostic factors of breast cancer. *Proteomics*. 2004 ;3 : 784-92.
- Vercoutter-Edouart A S, Lemoine J, Le Bourhis X, Louis H, Boilly B, Nurcombe V, et al . Proteomic analysis reveals that 14-3-3sigma is down-regulated in human breast cancer cells. *Cancer research*. 2001;61: 76-80.
- Kulasingam V, Diamandis E P. Proteomics analysis of conditioned media from three breast cancer cell lines: a mine for biomarkers and therapeutic targets. *Mol Cel Proteomics*. 2007 ;11 :1997-11.
- Chahed K, Kabbage M, Ehret-Sabatier L, Lemaitre-Guillier C, Remadi S, Hoebeke J, et al .Expression of fibrinogen E-fragment and fibrin E-fragment is inhibited in the human infiltrating ductal carcinoma of the breast: the two-dimensional electrophoresis and MALDI-TOF-mass spectrometry analyses. *Int J Oncol*. 2005; 27 :1425-31.
- Imai K, Ichibangase T, Saitoh R, Hoshikawa Y. A proteomics study on human breast cancer cell lines by fluorogenic derivatization-liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Biomed Chromatogr*. 2008 ; 11 :1304-14.
- Le Naour F, Brichory F, Misk D E, Bréchet C, Hanash S M, Beretta L, et al . A distinct repertoire of autoantibodies in hepatocellular carcinoma identified by proteomic analysis. *Mol Cell Proteomics*. 2002 ;3 :197-203.
- Ricolleau G, Charbonnel C, Lode L, Loussouarn D, Joalland MP, Bogumil R, et al. Surface-enhanced laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry protein profiling identifies ubiquitin and ferritin light chain as prognostic biomarkers in node-negative breast cancer tumors. *Proteomics*. 2006 ; 6 :1963-75.
- Soussi T. The p53 tumor suppressor gene: from molecular biology to clinical investigation. *Ann N Y Acad Sci*. 2000; 10:121-37.
- Suppiah A, Alabi A, Madden L, Hartley J E, Monson JR, Greenman J, et al. Anti-p53 autoantibody in colorectal cancer: prognostic significance in long-term follow-up. *Int J Colorectal Dis*. 2008 ;6 : 595-600.
- Tang R, Ko M C, Wang J Y, Changchien C R, Chen H H, Hsu K C, et al. Humoral response to p53 in human colorectal tumours: a prospective study of 1209 patients. *Int J Cancer*. 2001;94: 859-63.
- Zimmermann-Górska I, Grodecka-Gazdecka S, Białkowska-Puszczewicz G, Puszczewicz M, Goździcka M, Kondarewicz P, et al . Anticardiolipin and anti-beta2 glycoprotein-1 antibodies patients with breast carcinoma: a pilot study. *Pol Arch Med Wewn*. 2007 ;117 : 24-27.
- Hamrita B, Chahed K, Kabbage M, Guillier L, Trimeche M, Chaïeb A, et al . Identification of tumor antigens that elicit a humoral immune response in breast cancer patients' sera by serological proteome analysis (SERPA). *Clin Chim Acta*. 2008;393: 95-102.
- Y.M. Chung, Y.D. Yoo, J.K. Park, Y.T. Kim, H.J. Kim. Increased expression of peroxiredoxin II confers resistance to cisplatin. *Anticancer Res*. 2001; 21:1129-33.
- Fujita Y, Nakanishi T, Hiramatsu M. Proteomics-based approach identifying autoantibody against peroxiredoxin VI as a novel serum marker in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2006; 12: 6415-20.
- Yang F, Xiao Z Q, Zhang X Z. Identification of tumor antigens in human lung squamous carcinoma by serological proteome analysis. *J Prot Res*. 2007;6:751-58.
- Nagai M, Hasegawa M, Takehara K, Sato S. Novel autoantibody to Cu/Zn superoxide dismutase in patients with localized scleroderma. *J Invest Dermatol*. 2004; 122: 594-601.
- Takashima M, Kuramitsu Y, Yokoyama Y. Proteomic analysis of autoantibodies in patients with hepatocellular carcinoma. *Proteomics*. 2006; 6: 3894-00.
- Li D Q, Wang L, Fei F. Identification of breast cancer metastasis-associated proteins in an isogenic tumor metastasis model using two-dimensional gel electrophoresis and liquid chromatography-ion trap-mass spectrometry. *Proteomics*. 2006 ;6 :3352-68.
- Canelle L, Bousquet J, Pionneau C. An efficient proteomics-based approach for the screening of autoantibodies. *J Immunol Methods*. 2005; 299:77-89.
- Conroy S E, Sasieni P D, Fentiman I, Latchman D S. Autoantibodies to the 90 kDa heat shock protein and poor survival in breast cancer patients. *Eur J Cancer*. 1998;34: 942-44.
- Murshid A, Gong J, Calderwood S K. Heat-shock proteins in cancer vaccines: agents of antigen cross-presentation. *Expert Rev Vaccines*. 2008; 7: 1019-30.
- Cui J W, Li W H, Wang J. Proteomics-based identification of human acute leukemia antigens that induce humoral immune response. *Mol Cell Proteomics*. 2005; 4: 1718-24.
- Dobashi N, Fujita J, Ohtsuki Y. Detection of anti-cytokeratin 8 antibody in the serum of patients with cryptogenic fibrosing alveolitis and pulmonary fibrosis associated with collagen vascular disorders. *Thorax*. 1998;53: 969-74.
- Kurki P, Virtanen I. The detection of human antibodies against cytoskeletal components. *J Immunol Methods*. 1984 ;67 : 209-23.
- Desmetz C, Bibeau F, Boissière F, Bellet V, Rouanet P, Maudelonde T, et al. Proteomics-based identification of HSP60 as a tumor-associated antigen in early stage breast cancer and ductal carcinoma in situ. *J Proteome Res*. 2008; 9: 3830-37.
- Fusaro G, Dasgupta P, Rastogi S, Joshi B, Chellappan S. Prohibitin induces the transcriptional activity of p53 and is exported from the nucleus upon apoptotic signaling. *J Biol Chem*. 2003; 278:47853-61.
- Sato T, Saito H, Swensen J. The human prohibitin gene located on chromosome 17q21 is mutated in sporadic breast cancer. *Cancer Res*. 1992 ;52 :1643-46.

35. Levine J S, Koh J S. *The role of apoptosis in autoimmunity: immunogen, antigen, and accelerant. Semin Nephrol.*1999; 19:34-47.
36. Chen M Y, Li W M, Xu D. Chen W B. *Experimental study for the targeting therapy of mouse lung carcinoma treated by anti-hnRNP1 monoclonal antibody with 131I. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2007; 5: 766-69.
37. Greidinger E L, Gazitt T, Jaimes K, Hoffman R W. *Human T cell clones specific for heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2 autoantigen from connective tissue disease patients assist in autoantibody production. Arthritis Rheum.* 2004;50: 2216-22.
38. Grun B, Benjamin E, Sinclair J, Timms J F, Jacobs I, Gayther S A. *Three-dimensional in vitro cell biology models of ovarian and endometrial cancer. Cell Prolif.* 2009; 16:1188-92.
39. Kuhajda F P, Katumuluwa A I, Pasternack G R. *Expression of haptoglobin-related protein and its potential role as a tumor antigen. Proc Natl Acad Sci USA.* 1989;86:1188-92.
40. Epelbaum R, Shalitin C, Segal R. *Haptoglobin-related protein as a serum marker in malignant lymphoma. Pathol Oncol Res.* 1998; 4:271-76.
41. Brichory F, Beer D, Le Naour F, Giordano T, Hanash S. *Proteomics-based identification of protein gene product 9.5 as a tumor antigen that induces a humoral immune response in lung cancer. Cancer Res.* 2001; 21:7908-12.
42. Chang J W, Lee S H, Jeong J Y. *Peroxiredoxin-I is an autoimmunogenic tumor antigen in non-small cell lung cancer. FEBS Lett.* 2005; 579:2873-77.
43. Chapman C J, Murray A, McElveen J E, Sahin U, Luxemburger U, Türeci O, et al. *Autoantibodies in lung cancer: possibilities for early detection and subsequent cure. Thorax.* 2008;3: 228-33.
44. Kanojia D, Garg M, Gupta S, Gupta A, Suri A. *Sperm-associated antigen 9, a novel biomarker for early detection of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009; 18 :630-39.
45. Klade C S, Voss T, Krystek E, Ahorn H, Zatloukal K, Pummer K, et al. *Identification of tumor antigens in renal cell carcinoma by serological proteome analysis. Proteomics.* 2001 ; 7 :890-98.
46. Raedle J, Oremek G, Truschnowitsch M, Lorenz M, WK Roth, Caspary W F, et al. *Clinical evaluation of autoantibodies to p53 protein in patients with chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. Eur J Cancer.* 1998; 34: 1198-03.
47. Nakanishi T, Takeuchi T, Ueda K, Murao, Shimizu A. *Detection of eight antibodies in cancer patients' sera against proteins derived from the adenocarcinoma A549 cell line using proteomics-based analysis. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2006 ;1 :15-20.
48. Qiu J, Choi G, Li L, Wang H, Pitteri S J, Pereira-Faca S R, et al. *Occurrence of autoantibodies to annexin I, 14-3-3 theta and LAMR1 in prediagnostic lung cancer sera. J Clin Oncol.* 2008; 31:5060-66.