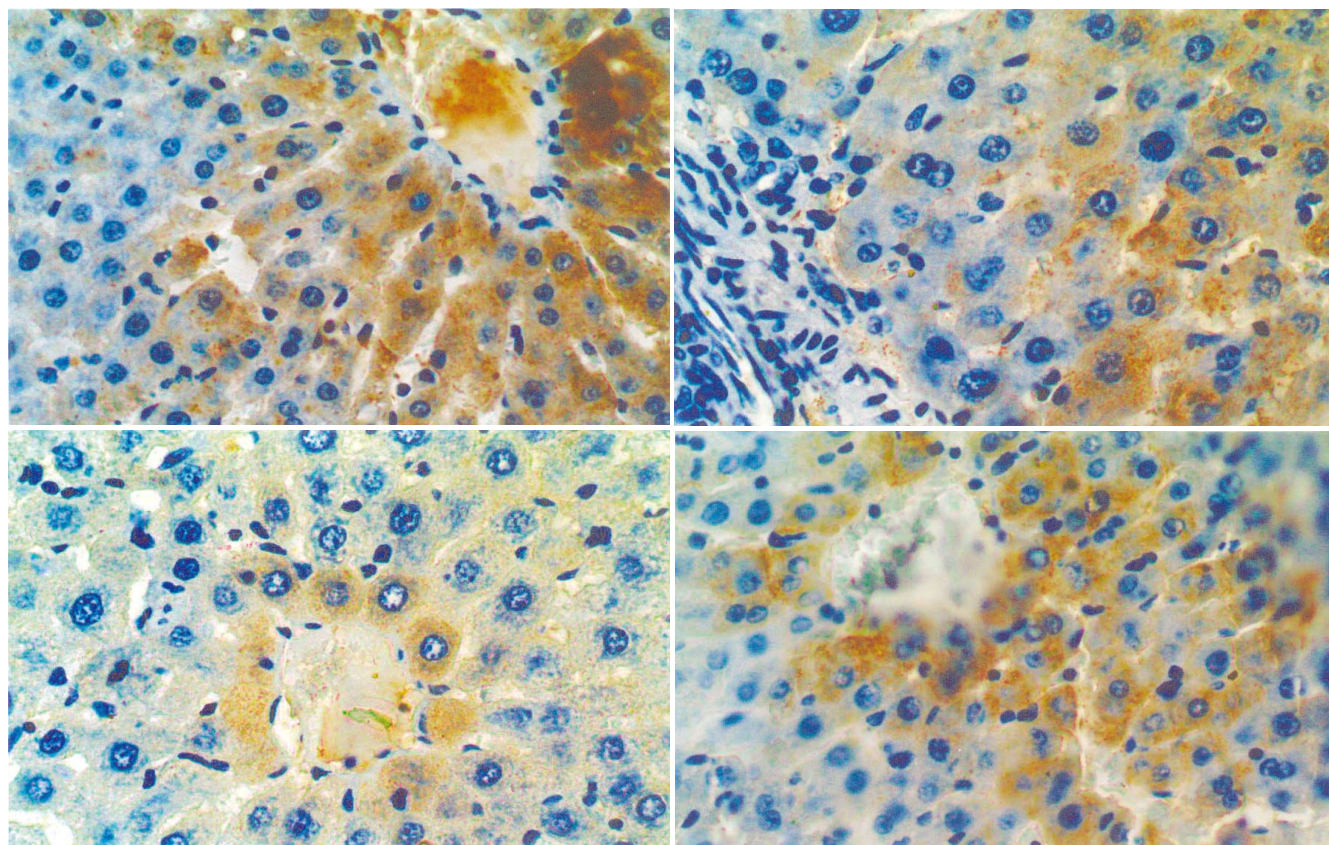


世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2005 年 10 月 15 日 第 13 卷 第 19 期 (Volume 13 Number 19)



19/2005

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊,
2003年百种中国杰出学术期刊,

《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学
类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊.

世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》,
荷兰《医学文摘库/医学文摘》,
俄罗斯《文摘杂志》收录.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

目次

2005年10月15日

第13卷

第19期

(总第147期)

述评

- 2289 胃癌表遗传学的研究进展 滕玥, 戴冬秋
2294 胃肠癌术后应用抗生素致伪膜性肠炎 马振海, 戴冬秋, 徐惠绵

基础研究

- 2297 谷氨酰胺对大鼠肝脏缺血再灌注损伤时肝组织谷胱甘肽含量和Bcl-2、Bax蛋白表达的影响
贾昌俊, 戴朝六, 张旭, 徐锋, 崔凯, 许永庆
2302 生存素siRNA表达质粒对MGC-803细胞增殖的影响
赵伟红, 郭俊明, 肖丙秀, 管忠, 肖东升
2306 人F3-GRIM19基因的克隆与表达 孙厚良, 刘洋, 李甲初, 曾昭淳
2310 解偶联蛋白-2在大鼠非酒精性脂肪肝中的表达
顾小红, 张云东, 冯爱娟
2314 COX-2在Barrett食管和食管腺癌中的表达及意义
刘心娟, 王邦茂, 阎雪燕, 刘文天, 吕宗舜, 张洁
2318 奥曲肽联合汉防己甲素对人胃癌细胞增殖的影响
王龙, 朱金水, 陈维雄, 朱励, 达伟, 王秀玲
2323 EB潜伏膜蛋白表达与肠上皮化生胃黏膜幽门螺杆菌感染的相关性
刘东屏, 于继红, 李茵茵, 王炳元
2327 瘦素及硬脂酰CoA去饱和酶-1在高脂饮食大鼠非酒精性脂肪肝发病中的作用
陆元善, 范建高, 方继伟, 丁晓东, 杨兆瑞
2332 从肠肌间神经丛抑制性神经递质的改变探讨IBS不同亚型的发病机制
徐俊荣, 罗金燕, 尚磊, 孔武明

临床研究

- 2339 便秘型肠易激综合征结肠黏膜组织蛋白质组双向凝胶电泳分析
彭丽华, 杨云生, 孙刚, 王巍峰
2343 生理盐水冲洗提高多层CT门脉造影图像质量的临床研究 肖亮, 徐克

文献综述

- 2349 与胃癌相关的DNA甲基化研究进展 张晔, 袁媛
2355 胃肠黏膜抗损伤和修复新进展 王玮, 孙梅
2360 钙和维生素D预防结直肠癌的机制及其临床应用 陆嵘, 房静远
2364 重症急性胰腺炎并发肾损害的发病机制 张喜平, 王蕾

研究快报

- 2371 应用抑制性消减杂交技术克隆乙型肝炎病毒DNA PTP1的反式调节基因
高学松, 成军, 甄真, 郭江, 张黎颖, 陶明亮
2375 活血健脾补肾法对结肠炎小鼠结肠组织TNF- α 及其mRNA表达的影响
张永锋, 陈如山, 吴正治, 李明, 陈曼茵
2378 蜜调通关散及其拆方对家兔肠道作用机制 梁劲军, 黄阳勇, 庆方
2381 复方甘草甜素下调细胞周期素依赖性激酶1启动子表达
王志凌, 成军, 张连峰, 邵凤娟, 刘蔚, 刘妍, 陶明亮

临床经验

- 2386 内镜下双重色素法联合超声内镜对食管早期癌及癌前病变的诊断价值
刘一品, 黄留业, 李延青
2389 中医药对乙型肝炎患者肝癌前期状态的干预17例
屠红, 张菁, 成伟中, 韩镭, 陆敏, 曹宏伟, 陈复华, 耿沁
2392 奥沙拉秦钠对溃疡性结肠炎一氧化氮合酶表达的影响 郝俊鸣, 江学良, 佟艳铭
2395 应用SELDI-TOF-MS技术建立直肠癌筛选血清蛋白质指纹图谱模型
闫志勇, 钱冬萌, 丁守怡, 宋旭霞, 王斌
2398 消化道肿瘤CT动脉造影分析83例 朱晓玲, 冯妹婷
2401 脐血与新鲜冰冻血浆治疗慢性重型肝炎的疗效比较
卢家桀, 唐红, 王晓辉, 刘真真, 叶慧

致 谢	2404 致谢世界华人消化杂志编委
消 息	2293 欢迎订阅2006年《世界华人消化杂志》 2301 第11届全国中西医结合结直肠肛门病学术会议征文通知 2309 2006年世界华人消化杂志由半月刊改为旬刊出版发行 2317 第一届全国临床营养支持学术会议通知 2326 2006年即将召开的国际会议 2331 消化道肿瘤外科治疗2006高级论坛征文通知 2338 《世界华人消化杂志》欢迎投稿 2348 WJG和世界华人消化杂志全文网站免费开通 2363 首届北京地坛感染病学术会议 2385 2006年第5届全国肝脏疾病学术研讨会议征文通知
封面故事	贾昌俊, 戴朝六, 张旭, 徐锋, 崔凯, 许永庆. 谷氨酰胺对大鼠肝脏缺血再灌注损伤时肝组织谷胱甘肽含量和 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响. 世界华人消化杂志 2005;13(19):2297-2301 http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2297.asp
国际会议	13th United European Gastroenterology Week, UEGW October 15-20, 2005 American College of Gastroenterology Annual Scientific Meeting October 28-November 2, 2005 ISGCON 2005 November 11-15, 2005 isgcon2005@yahoo.co.in www.isgcon2005.com Advanced Capsule Endoscopy Users Course November 18-19, 2005 www.asge.org/education II Latvian Gastroenterology Congress November 29, 2005 gec@stradini.lv www.gastroenterologs.lv 2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases December 1-3, 2005 c.chase@imedex.com www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm 10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus February 22-25, 2006 isde@sapmea.asn.au www.isde.net

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名
陈可冀 题写版权刊名
(半月刊)

创 刊 1993-01-15
改 刊 1998-01-25
出 版 2005-10-15
原刊名 新消化病学杂志

名 誉 总 编 辑 潘伯荣 社长总编辑 马连生
编 辑 部 主 任 张海宁 中文 编 辑 潘伯荣 张海宁
英 文 编 辑 张海宁 排 版 校 对 张敏 张勇 李琪

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街77号
出版 世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市2345信箱
E-mail: wjgd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>
电话: 010-85381901
传真: 010-85381893
印刷 北京科信印刷厂
发行 国内: 北京报刊发行局
国外: 中国国际图书贸易总公司
(100044, 北京市399信箱)
订购 全国各地邮电局
邮购 世界胃肠病学杂志社发行部
(100023, 北京市2345信箱)
电话: 010-85381901
传真: 010-85381893

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊, 2003年百种中国杰出学术期刊, 《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊. 世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

2005年版权归世界胃肠病学杂志社所有

ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

邮发代号 82-262
国外代号 M 4481

国内定价
每期24.00元 全年576.00元

广告经营许可证
1401004000050

www.wjgnet.com

World Chinese Journal of Digestology

October 2005 Contents in Brief Volume 13 Number 19

EDITORIAL

Advancement in research of gastric cancer epigenetics

Teng Y, Dai DQ 2289

Pseudomembrane colitis induced by usage of antibiotic after gastric intestinal cancer operation

Ma ZH, Dai DQ, Xu HM 2294

BASIC RESEARCH

Effects of glutamine on glutathione content and expression of Bcl-2 and Bax protein during hepatic ischemia and reperfusion injury in rats

Jia CJ, Dai CL, Zhang X, Xu F, Cui K, XU YQ 2297

Effects of survivin siRNA expression plasmid on proliferation of MGC-803 cells

Zhao WH, Guo JM, XIAO BX, Guan Z, Xiao DS 2302

Cloning and expression of human F3-GRIM19 gene

Sun HL, Liu Y, Li JC, Zeng ZC 2306

Expression of uncoupling protein 2 in nonalcoholic fatty liver of rats

Gu XH, Zhang YD, Feng AJ 2310

Expression of COX-2 in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma and its significance

Liu XJ, Wang BM, Yan XY, Liu WT, LV ZS, Zhang J 2314

Inhibitory effects of tetrandrine combined with octreotide on proliferation of gastric cancer cell lines cultured *in vitro*

Wang L, Zhu JS, Chen WX, Zhu L, Da W, Wang XL 2318

Relationship between expression of Epstein-Barr virus latent membrane protein and *H pylori* infection in gastric mucosa with intestinal metaplasia

Liu DP, Yu JH, Li YY, Wang BY 2323

Roles of leptin and stearyl-CoA desaturase-1 in pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease induced by a fat-rich diet

Lu YS, Fan JG, Fang JW, Ding XD, Yang ZR 2327

Role of inhibitory neurotransmitter of myoenteric plexus in carcinogenesis of irritable bowel syndrome with different subtypes

Xu JR, Luo JY, Shang L, Kong WM 2332

CLINICAL RESEARCH

Proteomic analysis of colonic mucosa by two-dimensional gel electrophoresis in constipation-predominant irritable bowel syndrome

Peng LH, Yang YS, Sun G, Wang WF 2339

Clinical application of normal saline flush in multi-detector CT photography on portal vein

Xiao L, Xu K 2343

REVIEW

Advancement in research of gastric cancer related DNA methylation

Zhang Y, Yuan Y 2349

New advancement in rehabilitation and anti-damage of gastric intestinal mucosa

Wang W, Sun M 2355

Mechanism and clinical usage of calcium and vitamin D in prevention of rectal cancer

Lu R, Fang JY 2360

Mechanism of severe acute pancreatitis combined with renal damage

Zhang XP, Wang L 2364

BRIEF REPORT

Cloning of hepatitis B virus DNA PTP1 transactivating genes by suppression subtractive hybridization technique

Gao XS, Cheng J, Zhen Z, Guo J, Zhang LY, Tao ML 2371

Effects of *Huoxue*, *Jianpi* and *Bushen* recipe on expression of TNF- α and its mRNA in mice with colitis

Zhang YF, Chen RS, Wu ZZ, Li M, Chen MY 2375

Effects of *Mitiao Tongguansan* decoction and its different ingredients on function of intestinal tract in rabbits

Liang JJ, Huang YY, Qing F 2378

Down-regulatory effects of glycyrrhizin on expression of cyclin-dependent kinase 1 gene promoter

Wang ZL, Cheng J, Zhang LF, Shao FJ, Liu W, Liu Yan, Tao ML 2381

CLINICAL PRACTICE

Evaluation of double staining combined with endosonography in detection of early esophageal cancer and precancerous lesions

Liu YP, Huang LY, Li YQ 2386

Traditional Chinese Medicine intervention for development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B: an analysis of 17 cases

Tu H, Zhang J, Cheng WZ, Han L, Lu M, Cao HW, Chen FH, Geng Q 2389

Effects of olsalazine sodium on expression of nitric oxide synthase in patients with ulcerative colitis: an analysis of 36 cases

Hao JM, Jiang XL, Tong YM 2392

Establishment of serum protein pattern model for screening rectal carcinoma by SELDI-TOF-MS

Yan ZY, Qian DM, Ding SY, Song XX, Wang B 2395

Analysis of artery computed tomography angiography for digestive tumor in 83 cases

Zhu XL, Feng ST 2398

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica and Abstract Journals

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

World Chinese Journal of Digestology Monthly
Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date October 15, 2005

Honorary-Editor-in-Chief

Bo-Rong Pan

President and Editor-in-Chief

Lian-Sheng Ma

Edited by Editorial Board of

World Chinese Journal of Digestology
PO Box 2345, Beijing 100023, China

Published by The WJG Press

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Overseas Distributor

China International Book Trading Corporation

PO Box 399, Beijing 100044, China

Code No.M4481

Mail-Order Circulation Section, The WJG Press
PO Box 2345, Beijing 100023, China

Telephone: +86-10-85381901

Fax: +86-10-85381893

Email: wcjd @ wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

Copyright © 2005 by The WJG Press

增高一致,表明UC时上皮细胞过量表达iNOS,产生大量NO. Lundberg *et al*^[9]也检测到UC患者结肠腔内NO浓度明显增高. 对上皮细胞大量表达iNOS产生的NO的作用意见不一. 有的认为NO可能形成氧屏障抵御细菌入侵,如应用iNOS抑制剂L-精氨酸加剧醋酸诱导的大鼠结肠炎;有的认为NO引起腹泻和组织损害,抑制iNOS产生的药物可以作为治疗UC的新的策略,可的松在体外可抑制iNOS的产生^[4],这可能也是可的松类药物治疗UC的机制之一.

奥沙拉秦钠在小肠不吸收,在结肠部位的细菌(氮分解酶)作用下,偶氮键断裂,产生两分子5-氨基水杨酸,发挥治疗作用^[5]. 其可能作用机制是: (1)通过抑制环氧化酶途径,阻断前列腺素的合成; (2)通过抑制脂氧化酶途径,干扰花生四烯酸代谢,抑制前列腺素E₂等致炎、致热物质的产生,使前列腺素E₂浓度下降并恢复正常,炎症好转或痊愈; (3)抑制巨噬细胞向发炎的黏膜移动,起到氧自由基清除作用,减少肠黏膜损伤;降低溃疡性结肠炎病人肠内白三烯LTB₄浓度和5-羟二十碳四烯酸(5-HETE)的生成量; (4)抑制血小板活化因子,抑制结肠脂肪酸氧化,通过和叶酸竞争抑制内皮细胞增生,增强机体免疫功能. 但关于其对一氧化氮合酶表达的影响未见报道. 本研究表明,奥沙拉秦治疗后,缓解期仅有5例患者黏膜上皮细胞表达iNOS,并且为弱阳性,提示奥沙拉秦钠可抑制iNOS的产生,减轻炎症,促进溃疡愈合.

Singer *et al*^[7]报道5例中4例上皮细胞有硝基酪氨酸表达,同样集中于黏膜和隐窝上皮,且在相同细胞中表达,但强度不同. Dijkstra *et al*^[8]未发现硝基酪氨酸表达. 本研究显示少数患者炎症部位肠黏膜表达硝基酪氨酸. 这种不一致现象可能与所用的抗体不同有

关,也可能与所选择的患者的病变程度有关.

文献未提及eNOS在结肠上皮细胞中的表达. 本文结果显示,仅5例患者的结肠黏膜上皮有eNOS表达,较胃黏膜上皮细胞的表达率低^[10],提示不同部位上皮细胞eNOS的表达率有差异.

4 参考文献

- 1 Jiang XL, Cui HF. An analysis of 10218 ulcerative colitis cases in China. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 158-161
- 2 江学良, 崔慧斐主编. 溃疡性结肠炎. 北京: 中国医药科技出版社 2005: 1-653
- 3 Palatka K, Serfozo Z, Vereb Z, Hargitay Z, Lontay B, Erdodi F, Banfalvi G, Nemes Z, Udvardy M, Altorjay I. Changes in the expression and distribution of the inducible and endothelial nitric oxide synthase in mucosal biopsy specimens of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 670-680
- 4 Gassull MA. Review article: the role of nutrition in the treatment of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20Suppl 4: 79-83
- 5 江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐风. 奥沙拉秦钠治疗慢性反复发作为型溃疡性结肠炎随机对照研究. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 1211-1213
- 6 Jiang XL, Cui HF. Different therapy for different types of ulcerative colitis in China. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1513-1520
- 7 Singer IL, Kawka DW, Scott S, Weidner JR, Mumford RA, Riehl TE, Stenson WF. Expression of inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine in colonic epithelium in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1996; 111: 871-885
- 8 Dijkstra G, Moshage H, van Dullemen HM, de Jager-Krikken A, Tiebosch AT, Kleibeuker JH, Jansen PL, van Goor H. Expression of nitric oxide synthases and formation of nitrotyrosine and reactive oxygen species in inflammatory bowel disease. *J Pathol* 1998; 186: 416-421
- 9 Lundberg JO, Hellstrom PM, Lundberg JM, Alving K. Greatly increased luminal nitric oxide in ulcerative colitis. *Lancet* 1994; 344: 1673-1674
- 10 Rajnakova A, Goh PM, Chan ST, Ngoi SS, Alponat A, Mochhala S. Expression of differential nitric oxide synthase isoforms in human normal gastric mucosa and gastric cancer tissue. *Carcinogenesis* 1997; 18: 1841-1845

电编 李琪 编辑 管鑫妍 审读 张海宁

应用 SELDI-TOF-MS 技术建立直肠癌筛选血清蛋白质指纹图谱模型

闫志勇, 钱冬萌, 丁守怡, 宋旭霞, 王斌

闫志勇, 钱冬萌, 丁守怡, 宋旭霞, 王斌, 青岛大学医学院 山东省青岛市 266021

通讯作者: 王斌, 266021, 山东省青岛市登州路38号, 青岛大学医学院.

wangbin31@yahoo.com

电话: 0532-82991508 传真: 0532-83812439

收稿日期: 2005-07-19 接受日期: 2005-08-26

Establishment of serum protein pattern model for screening rectal carcinoma by SELDI-TOF-MS

Zhi-Yong Yan, Dong-Meng Qian, Shou-Yi Ding, Xu-Xia Song, Bin Wang

Zhi-Yong Yan, Dong-Meng Qian, Shou-Yi Ding, Xu-Xia Song, Bin Wang, Medical College of Qingdao University, Qingdao 266021, Shandong Province, China

Correspondence to: Professor Bin Wang, Medical College of Qingdao University, 38 Dengzhou Road, Qingdao 266021, Shandong Province, China. wangbin31@yahoo.com

Received: 2005-07-19 Accepted: 2005-08-26

Abstract

AIM: To establish a serum protein pattern model for screening rectal carcinoma.

METHODS: The proteomic spectra of patients with rectal carcinoma, rectal polypus, and healthy people were obtained by surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (SELDI-TOF-MS) on WCX-2 chips. The collected data were compared and analyzed by Biomaker Wizard software (BPS) to set up the primary serum protein pattern model for screening rectal carcinoma. Then the pattern was evaluated by masked test.

RESULTS: A total of 26 protein was significantly different between the rectal carcinoma and normal controls ($P < 0.05$), among which 4 (m/z 9 295, 3 730, 3 938, and 4 095) were selected to set up an optimal serum protein biomarker pattern model. And the correct rate of this model was 96.8% (93/96). Its sensitivity and specificity was 95.0% (38/40) and 93.4% (45/48), respectively, when tested by masked samples.

CONCLUSION: The discovered serum protein pattern

model can efficiently identify patients with and without rectal carcinoma. SELDI-TOF-MS plays a valuable role in the diagnosis of rectal carcinoma and the discovery of new tumor-specific protein biomarkers.

Key Words: Rectal carcinoma; SELDI protein chip; Biomarker

Yan ZY, Qian DM, Ding SY, Song XX, Wang B. Establishment of serum protein pattern model for screening rectal carcinoma by SELDI-TOF-MS. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005; 13(19):2395-2398

摘要

目的: 建立直肠癌筛选血清蛋白质指纹图谱模型并初步验证.

方法: 用表面加强激光解析电离飞行时间质谱技术(SELDI-TOF-MS)及WCX2蛋白芯片获得新发直肠癌、直肠息肉患者和正常人血清的蛋白质指纹图谱, 用计算机软件进行比较分析, 建立直肠癌的筛选模型, 并对其进行了盲法验证.

结果: 直肠癌组与对照组共有26个蛋白质有显著性差异($P < 0.05$); 以其中4个蛋白质生物标志物(质/荷比9 295, 3 730, 3 938和4 095)组建的筛选模型检测正确率为96.8%(93/96), 经盲法验证, 其灵敏度为95.0%(38/40), 特异性为93.4%(45/48).

结论: 建立的血清蛋白质指纹图谱模型能够区分直肠癌与非直肠癌患者, SELDI-TOF-MS在直肠癌的诊断及肿瘤特异性蛋白质生物标志分子的筛选等方面具有一定价值.

关键词: 直肠癌; 蛋白质芯片技术; 生物标志分子

闫志勇, 钱冬萌, 丁守怡, 宋旭霞, 王斌. 应用SELDI-TOF-MS技术建立直肠癌筛选血清蛋白质指纹图谱模型. *世界华人消化杂志* 2005; 13(19):2395-2398
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2395.asp>

0 引言

直肠癌是一种常见恶性肿瘤, 在消化道恶性肿瘤中仅次于胃癌居第2位, 治疗后5 a存活率仅为50-60%, 居癌症死因第3位^[1]. 造成其高死亡率的主要原因是目前尚缺乏特异性高的早期诊断方法^[2]. 最近几年出现的表面加强激光解析电离飞行时间质谱技术(surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, SELDI-TOF-MS)是蛋白质组学研究中重要的工具, 已开始应用于肿瘤的早期诊断生物标志物

的筛选^[3-8]。我们利用该技术检测了直肠癌、直肠息肉以及健康人血清的蛋白质表达谱,分析并建立了用于直肠癌筛选血清蛋白质指纹图谱模型,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 直肠癌患者96例,为2003-02/2005-05期间青岛大学医学院第一、二附属医院、青岛市立医院、青岛市肿瘤医院经临床病理确诊且未经治疗的新发病例,其中男61例,女35例,中位年龄58岁(37-72岁)。另选性别、年龄匹配的直肠息肉患者30例和正常健康者58例作为非直肠癌对照。上述标本中,随机筛选56例直肠癌和40例非直肠癌对照用于建立血清蛋白质指纹图谱筛选模型,其余用于模型的验证分析。NaAc、尿素、水(HPLC级)、乙腈、三氟乙酸,SPA(Sinapinic acid),Triton, Tris-Cl均购自美国Sigma公司;蛋白质芯片时间质谱分析仪(PBSII C)、WCX-2弱阳离子交换蛋白质芯片(weak cation exchange)和All-in-one标准蛋白质NP20校正芯片为美国CIPHERGEN Biosystems公司产品。

1.2 方法

1.2.1 血清的采集和处理 采集各样本全血4-5 mL于洁净试管中,立即放入4℃静置4 h,4℃ 3 000 r/min离心20 min,剔除溶血标本,其余分离血清,4℃ 4 000 r/min再次离心5 min以去除残留的细胞碎片,将血清每管100 μL分装至新的离心管中,置-86℃冰箱保存备用。

实验前取出血清样品置冰上融化后,4℃ 12 000 g离心10 min去除血清中的不溶物。然后取10 μL血清加入20 μL U9缓冲液(9 mol/L尿素, 20 g/L CHAPS, 50 mmol/L Tris-HCl, 10 g/L DTT, pH9.0)混匀,冰浴300 r/min震荡30 min,然后加入360 μL WCX-2 缓冲液(50 mmol/L NaAc, pH4.0)冰上迅速混匀备用。

1.2.2 芯片的预处理和样品的检测 将芯片装入生物芯片处理器中,每孔加入200 μL WCX-2 缓冲液,置于振荡器(MS1 Minishaker)300 r/min 5 min,弃去缓冲液重复操作一次。每孔中加入100 μL上述处理好的血清样品300 r/min振荡1 h,甩出样品,加入200 μL WCX-2 缓冲液,室温300 r/min振荡洗涤芯片5 min,共洗涤2次后,加入200 μL HEPES(1 mmol/L, pH4.0)后立刻甩出。拆开芯片处理器取出芯片,干燥后立刻在每点上加SPA 0.5 μL,干燥后重复加SPA一次。

1.2.3 数据采集 采用PBS II C型质谱分析仪和CIPHERGEN proteinchip 3.1软件读取数据,数据采集前用All-in-one标准蛋白质的NP20芯片校正仪器,至误差在0.1%范围内,采用自动采集和处理数据,设置激光强度为210,检测敏感度9,优化分子质量范围为2-10 ku,最高分子量为50 ku,每点在不同位置共采集数据130次。

1.2.4 直肠癌血清蛋白质指纹图谱筛选模型的建立 随机筛选56例直肠癌和40例非肿瘤对照(直肠息肉18

例,健康人22例)用于建立诊断模型。将上述96例标本的蛋白质图谱去除背景噪音(baseline),再分别用总离子流、在人群血清中稳定存在的6 638 u蛋白峰对所有图谱进行标准化,以减少实验误差。然后用Biomarker Wizard软件计算直肠癌组和非肿瘤组各蛋白峰值的差异(P值),将此组数据进行转化,用BPS 5.1(Biomarker Patterns systems)软件筛选并建立最佳的诊断模型。

1.2.5 诊断模型的验证 用其余样本(直肠癌40例、直肠息肉12例,健康人36例)的蛋白质谱对上述建立的诊断模型进行盲法验证(masked analysis),分析该模型的特异性和灵敏度。

2 结果

2.1 直肠癌组和非直肠癌组蛋白质谱的差异比较 利用BPS软件对56例直肠癌和40例非直肠癌标本获得的蛋白质谱进行比较,共发现有26个蛋白峰有显著差异(P<0.05),部分图谱见图1。

2.2 直肠癌的血清蛋白质指纹图谱筛选模型 利用BPS 5.1软件对上述数据进行分析,建立了可通过分子量为9 295, 3 730, 3 938和4 095的4个蛋白质生物标志物来区分直肠癌和非直肠癌的筛选模型(图2)。

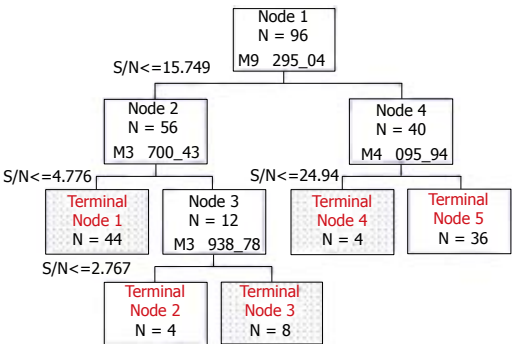


图2 直肠癌的血清蛋白质指纹图谱筛选BPS分类树模型。M: 用以分类的标志分子的分子质量; N: 样本例数。

如图所示,节点(Node)1为根节点,如果样本中分子量为9 295 u的蛋白质相对含量≤15.749则被划分到左侧的枝节点2中,反之则被划分到右侧的枝节点4中。依次类推,最终获得5个终节点(terminal node),其中终节点1,3,4为直肠癌患者,而终节点2,5为非直肠癌。

该分类树模型在建立时,56例直肠癌中55例区分正确,40例非直肠癌标本中有38例被错划为癌症,正确率为96.8%(表1)。

表1 分类树模型对96例建模样品的分析结果

组别	n	正确划分例数	正确率(%)
直肠癌组	56	55	98.2
对照组	40	38	95.1
合计	96	93	96.8

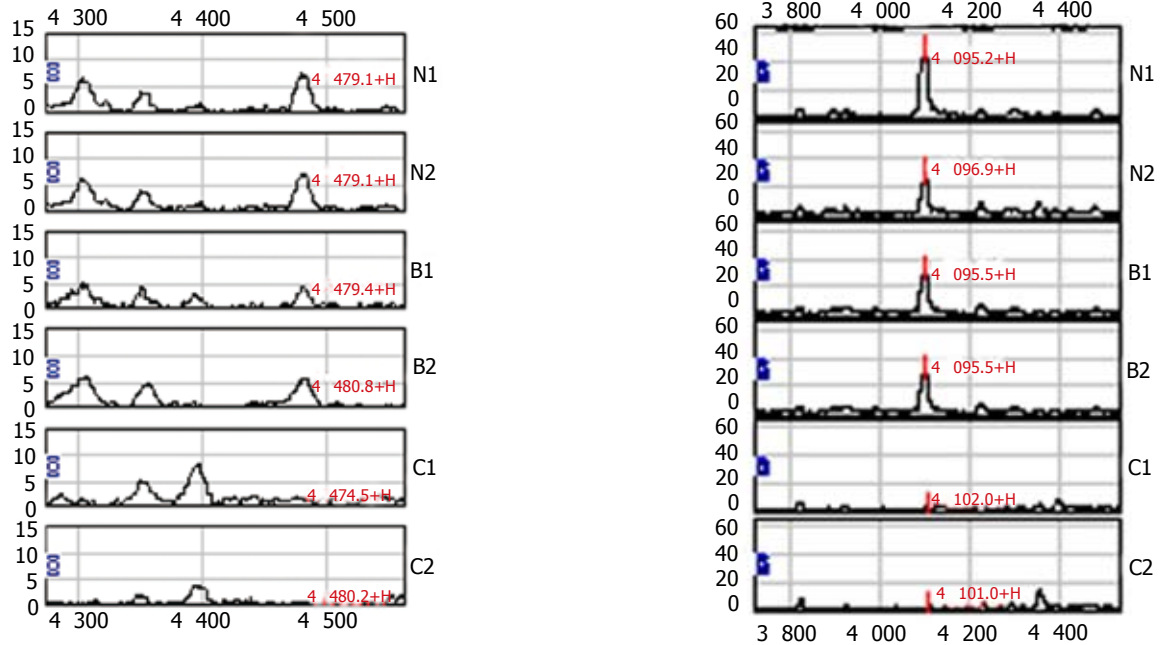


图1 直肠癌患者和对照组2个差异蛋白峰. N: 正常人; B: 直肠息肉患者; C: 直肠癌患者. 分子量约4 479和4 095的2个蛋白在直肠癌患者中含量显著低于正常人和直肠息肉患者.

2.3 诊断模型的盲法验证结果 用上述建立的模型对其余40例直肠癌、48例对照(直肠息肉12例, 健康人36例)的蛋白质谱进行盲法验证, 40例直肠癌中38例诊断正确, 48例对照中45例诊断正确, 此结果表明, 该方法的灵敏度为95.0%, 特异性为93.4%.

3 讨论

直肠癌是发生在直肠内的一种常见恶性肿瘤, 在消化道恶性肿瘤中仅次于胃癌而居第2位, 全球每年结、直肠癌新发病例数达94万, 其中近50万人死亡, 居癌症死因第3位. 近年来由于生活方式和饮食结构的改变, 直肠癌的发病率呈明显上升趋势, 发病高峰年龄提前了10岁左右^[1]. 早期直肠癌治疗预后较好, 进行根治性切除后5 a存活率约为50-60%, 其中I期直肠癌可达到90%以上, 因此早期发现对于提高患者的生存率非常关键^[2,9,10]. 目前早期诊断结、直肠癌的方法主要是纤维内镜检查, 该法不易为患者接受, 尤其不适合对健康人群的筛查; 检测血清中CEA、TPA和CA199等肿瘤标记物的方法敏感性与特异性还比较低, 因此, 在直肠癌病人确诊时约30-40%已发生远处转移^[10-12].

SELDI-TOF-MS是近年来发展起来的有效的差异蛋白质组学研究技术, 主要结合了质谱、层析等技术原理, 能对血清、尿液等原始样品进行大规模检测, 具有高分辨力, 高重复性, 操作简便等优点, 而且所需样品量少, 在蛋白质组学中得到越来越广泛的应用, 尤其是在筛选肿瘤标志物中, 用该技术将患者与正常人或其他某种疾病患者的图谱进行比较分析, 能够发现新的、特异性肿瘤等疾病的相关蛋白, 并快

速获得其蛋白质组学信息^[3,13]. 目前报道用该技术已经发现了膀胱癌、卵巢癌、前列腺癌、乳腺癌、肺癌、肝癌以及肾脏肿瘤等多种肿瘤的新的肿瘤特异性标志分子^[4-8,14,15]. 我们用SELDI蛋白芯片技术对新发直肠癌患者组和对照组进行蛋白质谱比较, 共发现有26个蛋白分子的相对含量显著差异; 建立的直肠癌筛选血清蛋白质指纹图谱模型利用其中分子质量为9 295, 3 730, 3 938和4 095的4个蛋白质生物标志物即可进行直肠癌的筛选, 其灵敏度为95.0%, 特异性为93.4%.

SELDI技术进行差异蛋白的比较, 其应用的成功关键是严格的平行操作和对照设计. 我们为避免不同病人因治疗方法、药物使用等因素引起血清蛋白改变的干扰, 所有直肠癌患者均选择新发、未经任何治疗的病例. 在对照设置时, 除实验组和对照组的年龄、性别等分布尽量匹配外, 非直肠癌组包含了直肠的良性病变病例, 可以避免因局部组织受损而造成的非肿瘤特异性蛋白的影响.

对于建立的直肠癌筛选血清蛋白质指纹图谱模型的验证, 我们选用了未用于建立模型的其他样本, 因此通过盲筛后获得的评价数据更科学、可靠. 尤其值得一提的是, 在盲筛时, 实验室1名健康志愿者的血清被筛选模型划为直肠癌组, 经过调查发现该志愿者3代以内的亲属中有3人患直肠癌, 因此已建议其高度重视.

为了完善所建立的模型, 我们正在将SELDI技术扩大到对治疗前后的直肠癌患者血清进行差异蛋白的研究, 此外还将增加其他肿瘤作为对照, 以使该直肠

癌筛选蛋白指纹图谱模型的特异性进一步提高, 并能作为患者疗效和预后的辅助判断方法。

4 参考文献

- 1 Zheng S. Challenge and opportunity in prevention and treatment of colorectal cancer in China. *Zhejiang Daxue Xuebao Yixueban* 2004; 33: 375-378
- 2 Mladen DM, Dragoslav MP, Sanja Z, Bozidar B, Snezana D. Problems in screening colorectal cancer in the elderly. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2335-2337
- 3 Merchant M, Weinberger SR. Recent advancements in surface-enhanced laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry. *Electrophoresis* 2000; 21: 1164-1177
- 4 Petricoin EF, Ardekani AM, Hitt BA, Levine PJ, Fusaro VA, Steinberg SM, Mills GB, Simone C, Fishman DA, Kohn EC, Liotta LA. Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer. *Lancet* 2002; 359: 572-577
- 5 Li J, Zhang Z, Rosenzweig J, Wang YY, Chan DW. Proteomics and bioinformatics approaches for identification of serum biomarkers to detect breast cancer. *Clin Chem* 2002; 48: 1296-1304
- 6 Banez LL, Prasanna P, Sun L. Diagnostic potential of serum proteomic patterns in prostate cancer. *J Urol* 2003; 170: 442-446
- 7 Zhukov TA, Johanson RA, Cantor AB, Clark RA, Tockman MS. Discovery of distinct protein profiles specific for lung tumors and pre-malignant lung lesions by SELDI mass spectrometry. *Lung Cancer* 2003; 40: 267-279
- 8 Suhr J, Eisenhardt A, Schmid KW, vom Dorp F, Otto T. Biochips in bladder cancer research. *Urologe A* 2003; 42: 927-932
- 9 Engel J, Kerr J, Eckel R, Gunther B, Heiss M, Heitland W, Jauch KW, Siewert JR, Holzel D. Quality of treatment in routine care in a population sample of rectal cancer patients. *Acta Oncol* 2005; 44: 65-74
- 10 Boyle KM, Sagar PM, Chalmers AG, Sebag-Montefiore D, Cairns A, Eardley I. Surgery for locally recurrent rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 929-937
- 11 Nicolini A, Caciagli M, Zampieri F, Ciampalini G, Carpi A, Spisni R, Colizzi C. Usefulness of CEA, TPA, GICA, CA 72.4 and CA 195 in the diagnosis of primary colorectal cancer and at its relapse. *Cancer Detect Prev* 1995; 19: 183-195
- 12 Yamamoto S, Akasu T, Fujita S, Moriya Y. Postsurgical surveillance for recurrence of UICC stage I colorectal carcinoma: is follow-up by CEA justified? *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 444-449
- 13 Seibert V, Ebert MP, Buschmann T. Advances in clinical cancer proteomics: SELDI-ToF-mass spectrometry and biomarker discovery. *Brief Funct Genomic Proteomic* 2005; 4: 16-26
- 14 Paradis V, Degos F, Dargere D, Pham N, Belghiti J, Degott C, Janeau JL, Bezeaud A, Delforge D, Cubizolles M, Laurendeau I, Bedossa P. Identification of a new marker of hepatocellular carcinoma by serum protein profiling of patients with chronic liver diseases. *Hepatology* 2005; 41: 40-47
- 15 Junker K, Gneist J, Melle C, Driesch D, Schubert J, Claussen U, Von Eggeling F. Identification of protein pattern in kidney cancer using ProteinChip arrays and bioinformatics. *Int J Mol Med* 2005; 15: 285-290

电编 李琪 编辑 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 临床经验 CLINICAL PRACTICE •

消化道肿瘤CT动脉造影分析83例

朱晓玲, 冯妹婷

朱晓玲, 辽宁省人民医院消化内科 辽宁省沈阳市 110016
通讯作者: 朱晓玲, 110016, 辽宁省沈阳市沈河区文艺路33号, 辽宁省人民医院消化内科. chenxiaoling57@163.com
电话: 024-24147900-8249 传真: 024-24147901
收稿日期: 2005-08-29 接受日期: 2005-09-06

Analysis of artery computed tomography angiography for digestive tumor in 83 cases

Xiao-Ling Zhu, Shu-Ting Feng

Xiao-Ling Zhu, Shu-Ting Feng, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Liaoning Province, Shenyang 110016, Liaoning

Province, China
Correspondence to: Xiao-Ling Zhu, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Liaoning Province, 33 Wenyi Road, Shenhe District, Shenyang 110016, Liaoning Province, China
chenxiaoling57@163.com
Received: 2005-08-29 Accepted: 2005-09-06

Abstract

AIM: To summarize the results of artery CT angiography (CTA) in patients with digestive tumor, and to explore the value of artery CTA in the diagnosis of digestive disease.

METHODS: A total of 83 patients, who were diagnosed