

蛋白质芯片在肿瘤以及恶性腹水诊断中的应用

于佳慧, 曲波, 李宝杰

于佳慧, 曲波, 李宝杰, 哈尔滨医科大学附属第二临床医院消化内科
黑龙江省哈尔滨市 150086
项目负责人: 曲波, 李宝杰, 150086, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学附
属第二临床医院消化内科. carolineyjh@yahoo.com.cn
电话: 0451-86673703
收稿日期: 2004-11-09 接受日期: 2004-11-29

摘要

腹水是一种临床常见病症, 病因复杂, 其病因诊断尤其是良、恶性腹水的鉴别具有重大意义. 蛋白质芯片是近年来新兴起的生物学技术, 具有高通量、高敏感性和高特异性的特点, 可同时分析多个生物标本或检测多种疾病, 被广泛应用于医学研究. 本文介绍了蛋白质芯片基本原理、临床应用, 尤其在肿瘤标志物的筛选和良、恶性腹水的鉴别诊断方面的研究进展.

于佳慧, 曲波, 李宝杰. 蛋白质芯片在肿瘤以及恶性腹水诊断中的应用. 世界
华人消化杂志 2005;13(3):385-388
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/385.asp>

0 引言

人类基因组(genome)排序工作的完成, 是人类医学史上的里程碑. 生物芯片技术将微加工技术和微电子技术结合起来, 在固体芯片上构建微生物化学分析系统, 以实现细胞、蛋白质、DNA 以及其他生物组分的更加准确、快速、大批量信息分析, 已经成为疾病诊断的重要手段. 生物芯片包括基因芯片、蛋白质芯片和微缩实验室. 基因芯片虽可在 mRNA 水平上分析整个基因组表达的情况, 但生命活动的主体是人体内存在的 10 万种以上的蛋白质, 而蛋白表达水平并不是完全与 mRNA 表达水平相一致, 得到表达的蛋白要经过翻译后修饰, 因此仅用基因芯片研究基因功能是不全面的. 作为一种高通量、高灵敏度、高特异性且微型化的蛋白质分析技术, 蛋白质芯片成为现阶段研究的热点之一. 现就蛋白质芯片的原理及其在肿瘤及恶性腹水的早期诊断中的应用做以下综述.

1 蛋白质芯片基本原理

蛋白质芯片又名蛋白质阵列或蛋白质微阵列, 大致类似于基因芯片, 把成千上万种探针蛋白高密度排列在固相支持物表面上, 通过探针蛋白特异性地捕获样品中的靶蛋白, 洗去未结合的其他蛋白后, 运用相应检测系统对靶蛋白进行定性、定量分析.

蛋白质芯片选用抗体、抗原、受体、酶作为探针蛋白, 探针蛋白可事先合成或经纯化制备, 也可在芯片上直接合成. 芯片载体常用玻璃载片, 另有纤维素膜、

多孔凝胶块玻片以及微孔板等.

检测靶蛋白的方法分直接检测法和蛋白质标记技术. 直接检测法通常是利用生物传感器, 如基质辅助激光解吸电离飞行时间、电喷雾质谱分析、表面等离子共振技术等来鉴定结合在芯片上的靶蛋白或小分子配体. 表面增强激光解吸及电离飞行时间质谱(surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight, SELDI-TOF)因其具有方便、快速、灵敏度高、蛋白信息量多等优点是目前被广泛接受和应用的蛋白质芯片检测技术. 蛋白质标记技术与基因芯片一样, 预先标记待测样品中的蛋白质, 如荧光物质或同位素, 并以类似基因芯片的标准扫描仪照相技术、激光扫描系统等检测芯片信号, 最后通过专门的计算机软件进行图像分析和结果解释.

2 蛋白质芯片的临床应用及进展

任何疾病在发生病理变化之前, 细胞内的蛋白质在成分和数量上都会有相应的改变. 所以从理论上讲, 通过对蛋白质的动态观察可以筛选出对疾病早期诊断的指标和征兆. 实现这种诊断的前提是要找到疾病的特殊标志分子. 这种筛选是大通量的, 传统的检测方法无法实现. 蛋白质组学的开展和研究以及新技术的兴起实现了大规模的筛选, 同时也通过建立蛋白质组学质谱来动态观察一系列蛋白质的变化, 从而指导临床的诊断和治疗.

蛋白质芯片是近年来蛋白质组学研究中兴起的新研究方法. 与传统的蛋白质研究方法相比, 他可以在一次实验中提供相当大的信息量, 使我们能够全面、准确的研究蛋白表达谱, 这是传统的蛋白研究方法无法做到的. 蛋白质组芯片具有高度灵敏性, 可以检测出蛋白样品中微量蛋白的存在, 检测水平已达 $\mu\text{g/L}$ 级. 德国科学家 Lueking *et al*^[1] 用人类甘油醛-3-磷酸盐脱氢酶(GAPDH, Swiss-Prot P04406), 人类热休克蛋白 90 α C 末端片段(M_r 43 300)(HSP90 α , Swiss-Prot P07900)和鼠免疫球蛋白重链结合蛋白(BIP, Swiss-Prot P06767)蛋白抗体制作成抗体阵列, 可以检测某种蛋白达到 10 nmol/L. 美国科学家 Haab *et al* 运用绿色荧光(green fluorescence)标记抗体微阵列, 用红色荧光(red fluorescence)标记蛋白混合物, 并运用计算机识别(R/G)的信号强弱, 来进行检测, 检测水平可达到 1 $\mu\text{g/L}$. 因此, 运用蛋白质芯片技术结合蛋白质谱或蛋白质差示分析, 对疾病中一些上调或下调的蛋白质在数量和结构上进行定性和定量分析, 从中发现疾病发生的特殊标志分子, 进而指导临床, 对疾病的筛选普查、早期诊断、治疗以及预后具有重大意义.

就应用而言,蛋白质芯片可分为两种类型:一种是蛋白质功能芯片(protein function chip),他由成千上万的天然蛋白质固定在一平面载体上构建而成,这种芯片可以同时检测大量蛋白质的功能,故得名;另一种是蛋白质检测芯片(protein detecting chip),他是由大量蛋白质结合物质构建的芯片。

2.1 蛋白质功能芯片 在蛋白质功能芯片中,每一个蛋白质位于芯片中的一个特定位点,他可用于同时研究大量天然蛋白质的功能,分析他们的生物化学活性,诸如酶的活性、抗体特异性等,此外,蛋白质芯片在整个基因组水平上使DNA序列信息与蛋白质产物之间建立直接联系.蛋白质功能芯片在基础医学研究中应用比较广泛。

2.2 蛋白质检测芯片 蛋白质检测芯片上各位点并非天然蛋白质,而是各蛋白质的高特异性配体,这些配体可以在复杂的生物学溶液(如细胞提纯液)中识别他们的靶肽.这种芯片能够在同一生物学样本中同时检测大量蛋白质的水平,因此可作为一种分析工具,其应用领域将远远超过基础研究,被广泛应用于临床诊断、药物研究、环境监测等。

蛋白质芯片具有显示人体液中DNA、蛋白质、肽和抗体的能力,这将增加对健康及疾病的认识.例如,通过检测并对比人健康与患病状态下的血浆、脑脊液或其他体液成分,将有可能识别疾病相关蛋白,从而不仅可以加深对这种疾病的认识,而且可以借助这些疾病相关蛋白,分析此疾病的易感性,帮助其临床诊断、观察疾病进程、治疗效果和估计预后。

2.2.1 在肿瘤标志物筛选中的应用 肿瘤细胞的基因突变和多态性是肿瘤分子生物学的重要特征之一,有研究表明^[2],50%的乳腺癌,56%的前列腺癌,35%的结肠癌在转移之前,用常用的检测方法难以检测,而在肿瘤早期就在蛋白水平发生微小的变化.因此用高灵敏度的蛋白芯片技术寻找新的肿瘤标志物用于早期诊断和监测治疗效果,已成为临床医学研究的一项热门趋向^[3-4]。

2.2.2.1 卵巢癌 用传统的卵巢癌标志物CA125检测,仅有50-60%的I期卵巢癌患者其CA125浓度升高,且阳性预测值低,需与B超等其他诊断方法结合使用.由于卵巢内病理变化可以引起血清中蛋白质组的改变,Petricoin *et al*^[5]利用SELDI/TOF MS对50名健康女性及50例卵巢癌患者的血清进行分析,发现荷质比为534, 989, 2 111, 2 251, 465处的5个波峰同时变化(与健康人相比,患者血清中2 251波峰下降,其余均升高).将这一蛋白质波谱模型用于分析116个未标记的血清样本,诊断卵巢癌敏感性为100%,特异性为95%,阳性预测值为94%,而同样的样品用CA125检测,阳性预测值为35%.由此可见,该方法简单、迅速,敏感性及特异性高,用于高危人群筛查具有非常好的前景。

2.2.1.2 胰腺癌 Rosty *et al*^[6]使用SELDI-TOF MS对胰液及血清中的微量表达蛋白质进行测定,在67%(10/15)的胰腺癌患者及14%(1/7)的其他胰腺疾病患者中发现一个分子质量为 M_r 16 570的蛋白质.蛋白质芯片免疫测定

技术证明该种蛋白质为HIPPPAP I (hepatocarcinoma-intestine pancreas pancreatitis associated protein I).与对照组相比胰腺癌患者血清及胰液中该蛋白质水平都明显升高,且胰液中HIPPPAP I水平超出血清的1 000倍.胰液中HIPPPAP I水平超过20 mg/L者患胰腺癌的危险性是低于20 mg/L者的21.9倍,预测胰腺癌的敏感性和特异性分别为75%、87%,其浓度与肿瘤大小、淋巴结转移、肿瘤分期无关.由此说明,在检测胰腺癌的标志物方面,血清的敏感性不如胰液,胰液中HIPPPAP I的测定可能有助于胰腺癌的诊断.其局限性在于急性胰腺炎时该蛋白质水平亦升高。

2.2.1.3 大肠癌 Roboz *et al*采用SELDI-TOF分析了大肠癌患者与正常对照之间的血清蛋白图谱之间的差异,其中大肠癌患者高表达 M_r 8 942蛋白,而 M_r 9 300的蛋白呈低表达,正常对照组上述两个蛋白的表达情况与患者组正好相反.实验过程中用胰岛素作为内标参照.根据质谱检测结果患者组 M_r 8 900表达量为正常对照组的3倍.实验结果表明 M_r 8 900和 M_r 9 300蛋白可作为检测大肠癌的肿瘤标志物.Watkins *et al*也报道发现 M_r 13 800蛋白可作为结肠癌的肿瘤标志物.Zhao *et al*^[7]用SELDI-TOF建立结肠癌蛋白质组指纹库对结肠癌患者血清进行双盲检测,结果显示准确率为96.8%(116/120),敏感性和特异性分别为95.9%(70/73)、97.9%(46/47)。

2.2.2 多种肿瘤标志物合成蛋白质芯片的应用 Veenstra^[8]认为,疾病发生时,其细胞的蛋白的数量和结构均发生特征性变化,恶性肿瘤的生长是极其复杂的多病因过程,观察一系列的蛋白标志物的变化可提高疾病筛选和诊断的准确率和特异性.他提出用蛋白芯片来检测更多的蛋白标志物,从而对疾病做出早期明确诊断,尤其是对那些症状表现多样化或疾病早期症状不典型的患者更有意义。

上海数康生物公司开发多肿瘤标志物检测系统将最常见的12种肿瘤标志物集成在一张芯片上,使原来需要进行12次实验的操作一次完成.一次检测提供12种肿瘤标志物的信息,使医生可以更好的从相对全方位的信息角度做出准确判断.国内现已有研究将此蛋白芯片用于肿瘤筛选和早期诊断。

邓安梅 *et al*^[9-10]采用12种肿瘤标志物蛋白质芯片(C12)对结肠癌、肺癌患者以及正常对照组、疾病对照组的血清进行检测分析,结果表明CEA, A19-9, A242联合检测结直肠癌患者血清阳性率可达83.3%;肺癌患者的C12阳性率显著高于正常对照、疾病对照组,其图像直观,易于鉴别,蛋白质芯片的反应强度与血清标本中含量具有较好的相关性.用蛋白质芯片试剂盒联合检测肺癌患者NSE、CEA、CA242和CA19-9,达到80%的阳性率,可为临床诊治提供有价值的依据.齐军 *et al*^[11]用C12分析53例卵巢肿瘤患者、12例良性卵巢囊肿以及98名正常对照人群血清,结果表明,单一CA19-9检测各组差异无显著性,使用多肿瘤标志物检测系统时,肿瘤组与健康组,良性肿瘤组与健康组均差异有显著意义.张露 *et al*^[12]使用多

肿瘤标志物检测系统结合人工智能用于肝癌诊断的研究之中,使用单一指标检测肝癌组的阳性检出率为66%,而使用多肿瘤标志物检测系统后检出率提高为92%,但存在假阳性,结合人工智能分析后,阳性降低,肝癌组的正确诊断率为88%,特异性明显升高.王平 *et al*^[13]用多肿瘤标志物蛋白质芯片检测系统,对正常人、胰腺癌和胰腺良性疾病患者血清中的肿瘤标志物进行检测,结果表明肿瘤标志物CA19-9和CA242对胰腺癌的诊断意义最大,CA125虽然被广泛认为是诊断卵巢癌的肿瘤标志物,但在胰腺癌中也有阳性表达.运用蛋白质芯片系统联合检测,显著提高胰腺良、恶性疾病的敏感性和特异性,与传统的免疫化学发光法相比,结果差异均无显著意义.在正常人组和胰腺良性疾病组,2种方法的检测结果一致率分别达100%和95%.而蛋白质芯片系统检测方法更加便捷、快速,说明蛋白质芯片检测系统对胰腺癌的诊断具有更高的临床意义.

3 蛋白质芯片与腹水

腹水是非常常见的临床体征,其病因和发生机制非常复杂.肝脏和门脉循环系统疾病如慢性肝病、门脉性肝硬化、肝癌等;心血管系统疾病如充血性心力衰竭、心包炎、心包压塞等;肾脏疾病如肾炎、肾病综合征等;腹膜疾病如结核性腹膜炎、腹膜恶性肿瘤等;女性生殖系统的许多良恶性疾病以及营养缺乏、淋巴系统疾病等均可导致腹水的出现.对于腹水的病因诊断和良恶性腹水的鉴别具有非常重要的临床意义.

传统的腹水常规检查方法特异性和敏感性差,腹水细胞学检查特异性虽高,但敏感性低(约为40-60%).Fiegl *et al*^[14]将细胞形态学和原位杂交荧光(fluorescence in situ hybridization, FISH)方法联合检测原发性恶性间皮瘤、转移性间皮瘤、反应性间皮瘤导致的腹水,敏感性从44%提高至61%.

肿瘤标志物是指肿瘤细胞合成、分泌或脱落到体液或组织中的生物活性物质,通过测定其含量对肿瘤有辅助诊断价值.近年的研究表明血清及腹水肿瘤标志物等测定具有敏感性及特异性高,简单且无创的优点,已成为临床上判断良性和恶性腹水的重要方法之一.目前公认诊断价值较高的标志物是AFP,CEA,CA19-9,CA50及CA125等.国内外研究^[15-16]表明,单一的肿瘤标志物在多种肿瘤中都有高表达,不具有器官特异性,因此,更多研究尝试运用多种肿瘤标志物联合检测,以提高诊断特异性.Jiang *et al*^[17]联合TGF,CA19-9,CA242针对胰腺癌的诊断中,单一指标的灵敏度和特异性为91.6%和93.5%,联合检测后的灵敏度和特异性变为77.0%和100.0%.Wu *et al*研究表明联合CA242和CEA可提高结肠癌诊断的准确性并有助于临床预后的评价.Alexandrakis *et al*研究表明CA19-9,CA50,CEA的高分泌对胆管癌具有确诊性.Su *et al*^[18]联合E-cadherin,CEA和calretinin检测93例细胞学检

测无明显特异的浆膜积液,针对转移性间皮瘤,单一指标的敏感性为85.5%、79.6%和81.6%,特异性为100%、97.4%和87.2%,联合E-cadherin和CEA后的敏感性变为96%,结果表明,联合E-cadherin,CEA和calretinin可更有效的帮助在细胞学检测中无明显特异的浆膜积液进行鉴别诊断.国内也有报道联合应用铁蛋白、癌胚抗原、人绒毛膜促性腺激素、对恶性胸腹水进行检测,得出多种肿瘤标志物联合检测可提高阳性率的结论.

消化系肿瘤多伴有腹膜转移,具有极高的致死率.由于癌症的演变、转移是多阶段、多因素、多基因参与的复杂病理过程,具体机制尚未十分清楚.Sakakura *et al*^[19]运用基因芯片技术针对消化系肿瘤以及恶性腹水中的细胞系进行检测,得到一系列肿瘤相关调控基因变化.然而,癌变的最终效应由蛋白质表达来完成,目前已发现有200多种的翻译后加工模式能够影响蛋白质的稳定性、靶位点、半衰期及蛋白质-蛋白质、蛋白质-核酸间的相互作用,故仅在基因水平进行研究不能阐明癌症的病理机制,无法筛选出理想的标志物.蛋白质芯片作为基因芯片技术的良好补充,成为目前研究的热点.Meiko *et al*^[20]应用SELDI蛋白质芯片平台针对39个从肿瘤组织、腹水等体液中分离建立起的细胞系进行检测,寻找到一种潜在的具有高度特异性的结肠癌肿瘤标记物,同时证明,蛋白质芯片平台可以完成肿瘤标记物从发现到筛查、评估的全过程.

蛋白质芯片具有高灵敏性、高特异性、多指标并列的特点,可作为疾病早期诊断尤其肿瘤的早期筛选的强有力的工具.同时,蛋白质芯片检测通过不同的表面修饰而选择性地捕获蛋白质,有效地降低了被检样品中蛋白质的复杂性,具有快速、简单、敏感、样品用量极少的优点,被广泛用于临床.李新辉 *et al*^[21]用多种肿瘤标志物蛋白质芯片系统针对126例腹水患者的腹水和血清进行检测,得出3项以上阳性对恶性腹水的敏感性为63%,特异性达96%.结果表明,蛋白质芯片通过对血清、腹水、脑脊液等体液的检测来实现临床对肿瘤的快速准确诊断,病情鉴别及疗效动态观察和肿瘤分类、分期、定位,克服了腹水成因复杂以及肿瘤细胞生物学特征的复杂性和多态性等给诊断和治疗带来的困难.

4 蛋白质芯片的应用前景和存在问题

人类基因组计划测序完成之后,人类对疾病的认识和早期诊断及治疗上升到新的台阶.由于蛋白质表达与活性基因表达的mRNA无直接相关性,蛋白质的表达、活性、空间构象等在疾病任何时期的基因转录后调节之后均可发生变化.有研究表明,人类每种基因可产生六种以上的蛋白质.所以,了解正常细胞阶段蛋白质的结构功能以及疾病发生之后蛋白质的一系列变化可以为疾病的诊断、预防与治疗提供一个内在的信息指导.肿瘤发生之前,通过翻译后调节产生一系列的具有重要信息的蛋白质的变化,检测这些蛋白质的变化可以为肿瘤的早期诊断,治疗以及

预后提供一个更准确指导. 蛋白质组学作为疾病基因学研究的重要补充, 既可以推动基因组学发展, 验证基因组学方面的变化, 同时还可以基于蛋白质特点发现新的基因. 推测疾病状态下基因的变化^[22], 已成为现阶段研究热点.

蛋白质芯片技术是蛋白质组学中新兴起的重要蛋白质检测技术, 受蛋白质空间构象和生物学活性的影响, 蛋白质芯片在制作方面以及蛋白质的纯化方面还存在一系列的困难. 另外, 为了方便种类繁多的蛋白质的功能检测和分析, 通过不同途径或方式获取并用于制作蛋白芯片的蛋白质必须首先经过纯化. 正常和异常情况下蛋白质与蛋白质之间的相互作用的差别都需要我们进一步去探索.

总之, 高通量分析平台蛋白芯片技术的建立将为蛋白质功能及其相关的研究提供快速、高信息量和更为直接的研究方法, 与其他的分子生物学分析方法相比, 蛋白芯片技术具有快速、平行的优越性. 但有芯片制作方面存在的问题, 目前用于临床检测的蛋白质芯片还比较单一, 有待于进一步开发和改进, 以提高疾病诊断的准确性和特异性.

5 参考文献

- 1 Lueking A, Horn M, Eickhoff H, Bussow K, Lehrach H, Walter G. Protein microarrays for gene expression and antibody screening. *Anal Biochem* 1999;270:103-111
- 2 Liotta LA, Kohn EC. The microenvironment of the tumor-host interface. *Nature* 2001;411:375-379
- 3 李新华, 张万岱, 肖冰, 张振书. 微阵列技术及其在消化系统疾病研究中的应用进展. *世界华人消化杂志* 2003;11:1054-1058
- 4 翁永强, 邱双健, 刘银坤, 汤钊猷. 肿瘤标志物的蛋白质组学. *世界华人消化杂志* 2004;12:1188-1190
- 5 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
- 6 Rosty C, Christa L, Kuzdzal S, Baldwin WM, Zahurak ML, Carnot F, Chan DW, Canto M, Lillemoe KD, Cameron JL, Yeo CJ, Hruban RH, Goggins M. Identification of hepatocarcinoma-intestine-pancreas/pancreatitis-associated protein I as a biomarker for pancreatic ductal adenocarcinoma by protein biochip technology. *Cancer Res* 2002;62:1868-1875
- 7 Zhao G, Gao CF, Song GY, Li DH, Wang XL. Identification of colorectal cancer using proteomic patterns in serum. *Ai Zheng* 2004;23:614-618
- 8 Veenstra TD, Prieto DA, Conrads TP. Proteomic patterns for early cancer detection. *Drug Discov Today* 2004;9:889-897
- 9 邓安梅, 仲人前, 陈孙孝, 周晔, 孔宪涛. 用蛋白质芯片技术检测结直肠癌患者的肿瘤标志物. *中华消化杂志* 2002;22:501-502
- 10 邓安梅, 仲人前, 陈孙孝, 周晔, 孔宪涛. 用蛋白质芯片联合检测肺癌患者血清中的肿瘤标志物. *中国免疫学杂志* 2002;18:701-703
- 11 齐军, 车轶群. 使用多肿瘤标志物蛋白芯片诊断系统检测卵巢肿瘤. *中华检验医学杂志* 2003;26:358-360
- 12 张露, 丛冠宁, 杨小丽, 郑怀竟. 多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统结合人工智能在肝癌诊断研究中的初步评价. *中国医药导刊* 2003;23:35-36
- 13 王平, 崔天益, 刘涛, 谢俊丽, 高琼, 吴健民. 蛋白质芯片联合检测胰腺癌患者血清肿瘤标志物的意义. *中华检验医学杂志* 2003;26:11-14
- 14 Fiegl M, Massoner A, Haun M, Sturm W, Kaufmann H, Hack R, Krugmann J, Fritzer-Szekeres M, Grunewald K, Gastl G. Sensitive detection of tumour cells in effusions by combining cytology and fluorescence in situ hybridisation(FISH). *Br J Cancer* 2004;91:558-563
- 15 黄跃, 林明芳, 邱小雪. 血清 CA125, CA19-9, CA50 含量对消化系统肿瘤的诊断价值. *华人消化杂志* 1998;6:1063-1064
- 16 冷爱民, 张桂英. CA125 在肝硬化患者中的前瞻性观察. *世界华人消化杂志* 2004;12:1759-1760
- 17 Jiang JT, Wu CP, Deng HF, Lu MY, Wu J, Zhang HY, Sun WH, Ji M. Serum level of TSGF, CA242 and CA19-9 in pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2004;10:1675-1677
- 18 Su XY, Li GD, Liu HB, Jiang LL. Significance of combining detection of e-cadherin, carcinoembryonic antigen, and calretinin in cytological differential diagnosis of serous effusion. *Ai Zheng* 2004;23:1185-1189
- 19 Sakakura C, Hagiwara A, Nakanishi M, Shimomura K, Takagi T, Yasuoka R, Fujita Y, Abe T, Ichikawa Y, Takahashi S, Ishikawa T, Nishizuka I, Morita T, Shimada H, Okazaki Y, Hayashizaki Y, Yamagishi H. Differential gene expression profiles of gastric cancer cells established from primary tumour and malignant ascites. *Br J Cancer* 2002;87:1153-1161
- 20 Shiwa M, Nishimura Y, Wakatabe R, Fukawa A, Arikuni H, Ota H, Kato Y, Yamori T. Rapid discovery and identification of a tissue-specific tumor biomarker from 39 human cancer cell lines using the SELDI proteinchip platform. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;12:18-25
- 21 李新辉, 胡晖, 杨杰. C-12 多肿瘤标志物检测对良恶性腹水鉴别诊断价值的探讨. *中国医师杂志* 2004;6:934-936
- 22 褚福亮, 王福生. 蛋白质谱分析方法特点及其在蛋白质组学研究领域中的应用. *世界华人消化杂志* 2002;10:1431-1435

编辑 张海宁