

蛋白质组学技术在大肠癌肿瘤标志物研究中的应用

刘伟杰, 秦环龙

背景资料
大肠癌是常见的消化道肿瘤之一, 早期检测和诊断是提高其生存率、改善预后的关键, 但目前仍缺乏特异的筛选标志物。蛋白质组学的迅速发展为解决上述难题提供了可靠的途径。

刘伟杰, 秦环龙, 上海交通大学附属第六人民医院普外科 上海市 200233
上海市科委基金资助项目, No. 05DJ14010
通讯作者: 秦环龙, 200233, 上海交通大学附属第六人民医院普外科. hlqin@sjtu.edu.cn
电话: 021-64942226 传真: 021-64701361
收稿日期: 2007-08-06 修回日期: 2007-12-06

Application of proteomic techniques in research on biomarkers for colorectal cancer

Wei-Jie Liu, Huan-Long Qin

Wei-Jie Liu, Huan-Long Qin, Department of General Surgery, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China
Supported by: Shanghai Science and Technology Commission Funded Projects, No. 05DJ14010
Correspondence to: Huan-Long Qin, Department of General Surgery, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China. hlqin@sjtu.edu.cn
Received: 2007-08-06 Revised: 2007-12-06

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is one of the most common cancers in humans, and is often diagnosed at an intermediate or late stage with poor prognosis. Early detection may improve prognosis greatly. Current biomarkers (such as CEA and CA-199) lack sensitivity and specificity for general population screening. Hence, there is a great need for new biomarkers for early detection of CRC. Recently, proteomics has rapidly developed and been applied to every field in the life sciences, especially tumor research. Proteomic techniques give us the possibility to discover early diagnostic and prognostic biomarkers for CRC. In this study, the utilization of proteomics techniques in research on biomarkers for CRC is reviewed briefly.

Key Words: Proteomics; Colorectal cancer; Biomarker

Liu WJ, Qin HL. Application of proteomic techniques in research on biomarkers for colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(36): 3836-3841

摘要

大肠癌是人类常见的肿瘤之一, 往往被诊断出时已是中晚期, 预后较差。因此, 早期诊断是治疗的关键, 能明显改善预后。虽然当前血清CEA和CA-199等的检测已被广泛应用于大肠癌的筛选, 但其缺乏特异性和敏感性, 这就需要进一步寻找新的标志物。近年来, 蛋白质组学的发展已深入到生命科学的各个领域, 尤其应用于肿瘤研究方面, 这就为我们发现新的大肠癌标志物提供了崭新的途径。本文对蛋白质组学技术在大肠癌肿瘤标志物研究中的应用进展作简要综述。

关键词: 蛋白质组学; 大肠癌; 标志物

刘伟杰, 秦环龙. 蛋白质组学技术在大肠癌肿瘤标志物研究中的应用. *世界华人消化杂志* 2007; 15(36): 3836-3841
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/3836.asp>

0 引言

大肠癌是常见的消化道肿瘤之一, 死亡率位居发达国家恶性肿瘤死亡率的第2位^[1], 在发展中国家发病率也呈逐年升高趋势^[2]。据调查显示, 目前大肠癌在中国大部分地区已经成为发病率上升最快的恶性肿瘤之一^[3]。由于大部分患者被确诊时已属中晚期, 术后又有一定的复发率, 因此早期诊断和复发的早期检测是其有效治疗的关键。虽然当前血清CEA、CA-199等的检测已被广泛应用于大肠癌的筛选, 但其存在假阳性率和假阴性率高的问题, 缺乏特异性和敏感性。随着后基因组时代的到来, 蛋白质组学(proteomics)迅速发展成为一门新学科。无论是从基因组的局限性, 还是从蛋白质自身研究发展的需要来看, 大规模、全方位的蛋白质组学的研究势在必行^[4-6]。蛋白质组学研究主要依赖三大技术: 蛋白质分离技术、蛋白质鉴定技术和生物信息学^[7-8]。已知细胞从正常状态转变为肿瘤的过程中, 细胞内蛋白质表达谱必然会发生一系列变化, 不同时期蛋白质的表达不同, 蛋白质组学分析技术可从细胞整体水平上检测到这种变化, 这就为寻找早期检测大肠癌肿瘤标

志物提供了一条崭新的途径. 本文就蛋白质组学技术在大肠癌肿瘤标志物研究中的应用进展作简要综述.

1 蛋白质组学概论及主要技术

1994年, Wilkins首先提出了“蛋白质组(proteome)”概念^[9], 其含义是指一个基因组、一个细胞或组织内表达的全部蛋白质. 蛋白质组学则是一衍生概念, 是指应用各种技术手段来研究蛋白质组的一门新兴学科, 通过对蛋白质的丰度和性质动态变化的考察, 揭示蛋白质的活动规律解释基因调控机制, 从而透视到生命的本质^[5]. 目前, 蛋白质组学研究已广泛应用于肿瘤生物学标记物的筛选和鉴定、肿瘤分类、治疗及肿瘤发生机制等方面^[10]. 其主要的技术方法有:

1.1 双向凝胶电泳(two-dimensional electrophoresis, 2-DE) 2-DE技术是蛋白质组学研究的核心技术之一, 由O'Farrell *et al*^[11]于1975年建立. 他作为一种比较成熟的技术已被广泛应用20余年, 也是目前对蛋白质组分辨率最高、重复性最好的分离技术^[12]. 其基本原理是根据蛋白质的等电点和分子量不同在二维凝胶上将蛋白质分成若干个点, 根据点的位置寻找差异表达蛋白进行质谱鉴定从而发现特异性标记物. 2-DE技术具有分辨率高、重复性好、操作方便和结果直观等优点, 但该技术不易分离极酸或极碱、分子量大于200 ku或小于10 ku、低丰度蛋白、难溶解蛋白和膜蛋白等. 近几年逐渐发展完善的高效液相色谱、差异凝胶电泳、毛细管电泳技术等新技术可以用作对2-DE的补充, 具有更好的重复性和灵敏度^[13-14].

1.2 质谱(mass spectrometry, MS) 1906年, Thomas发明了质谱仪. 20世纪80年代末美国科学家John B•Fenn和日本科学家田中耕一分别开发出电喷雾电离和基质辅助激光解吸电离两种软电离技术, 推动了生物质谱的发展. MS技术的基本原理是通过电离源将蛋白质分子转化为气相离子, 然后利用质谱分析仪的电场和磁场把蛋白质离子分离开, 最后确定离子的质荷比(M/Z)值, 分析鉴定未知蛋白质. 该技术具有高灵敏度、高精度、高通量和易自动化等优点, 不足之处是难于进行N端及C端的氨基酸序列鉴定. 目前常用于鉴定蛋白质的MS技术有: (1)基质辅助激光解吸离子化-飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS): 利用基质吸收激光的能量使固相的多肽样品离子化, 获得蛋白质的肽质量指纹图(PMF), 然后通过

相应的数据库搜索, 鉴定蛋白质; (2)电喷雾质谱(ESI-MS): 在喷射过程中以连续离子化方式使多肽样品电离; (3)串联质谱(MS/MS): 用于肽段的氨基酸测序; (4)表面增强激光解吸离子化-飞行时间质谱(SELDI-TOF-MS): 直接在固相吸附蛋白质的芯片表面使用脉冲氮激光能量, 使被捕获的靶蛋白从芯片表面电离出来, 根据靶蛋白在离子装置中的飞行时间测量出其分子质量.

1.3 激光捕获显微切割技术(laser capture microdissection, LCM)与蛋白质芯片(protein chip) 激光捕获显微切割技术(LCM)是组织水平上蛋白质组样品制备的一大突破. LCM是在不破坏组织结构, 保存要捕获的细胞和其周围组织形态完整的前提下, 直接从冰冻或石蜡包埋组织切片中获取目标细胞, 可以避免肿瘤组织的异质性对蛋白质分析的影响, 确保研究结果的可靠性. 该技术由Emmert-Buck *et al*^[15]于1996年发明, 是目前较为理想的细胞提取工具. 蛋白质芯片技术是一种高通量、微型化和自动化的蛋白质分析技术, 他无需进行蛋白质分离, 只是利用抗体或其他类型亲和探针构成的芯片进行检测, 可同时检测几千种蛋白质, 效率非常高. LCM和蛋白质芯片联合应用, 能快速应用少量的细胞产生和分析蛋白质谱或指纹, 这样可以评估正常和病理标本的全部变化.

1.4 生物信息学 随着功能基因组研究的深入, 2-DE、MS和蛋白质芯片分析等都将产生高通量的生物信息, 因此需要多种庞大的数据库作为支持, 数据库和分析软件成了蛋白质组学研究不可缺少的信息学手段. 针对不同的研究目的, 蛋白质数据库的种类各不相同, 包括蛋白质2-DE图谱数据库、蛋白质氨基酸序列数据库、蛋白质结构域与家族数据库和蛋白质高级结构及分类数据库等. 其中2-DE图谱数据库是蛋白质组学研究常用数据库, 分析软件有Melanie、PDQuest、Delta2D和Image Master等.

2 蛋白质组学技术在大肠癌肿瘤标志物研究中的应用

随着上述各项技术的不断发展, 蛋白质组学已能动态、整体和定量的观察大肠癌发生发展过程中蛋白质种类、数量的改变, 在寻找大肠癌肿瘤标志物的研究中已得到了广泛应用.

2.1 2-DE和MS的应用是肿瘤标志物研究的主要手段 Stulik *et al*^[16]利用2-DE和MS技术比较了正常和癌变大肠黏膜, 发现大肠癌中肝脂肪酸结

研发前沿
后基因组时代中, 生命科学的研究重心将从基因组学转移到蛋白质组学. 蛋白质组学在寻找敏感和新的肿瘤生物分子标记物方面有着极为广阔的应用前景.

创新盘点
SELDI-TOF-MS技术以整个蛋白质组作为检测对象,显示疾病过程中多重蛋白质变化、敏感性和特异性大于单一指标的诊断方法。

合蛋白、肌动蛋白结合蛋白/22- α 平滑肌蛋白和环氧酶2表达下调,而钙结合蛋白S100家族的几个成员(S100A9, S100A8, S100A11)和热休克蛋白70(HSP70)表达上调,且都有统计学意义。Chaurand *et al*^[17]通过MALDI-MS技术对鼠结肠癌变黏膜及正常黏膜进行对照分析,发现的特异性蛋白信号中也包括前述的S100A9, S100A8, S100A11,提示S100蛋白家族在大肠癌形成中可能具有重要意义。Jungblut *et al*^[18]经过2-DE发现一种p15.6/13 ku的蛋白只在肿瘤组织中表达,该蛋白的两个序列与来自于钙粒蛋白B(calgranulin B)的两个多肽能很好匹配,进一步的研究证实肿瘤和癌变前潜在肿瘤组织中calgranulin B有高热特异性的表达。湘雅医院裴海平 *et al*^[19]通过筛选大肠癌组织与正常大肠组织中的差异表达蛋白,选择在癌组织中高表达的30个点进行质谱和生物信息学分析,鉴定出这些差异蛋白包括谷胱甘-S-转移酶(GST), annexin IV, β -actin, APOA 1蛋白,肝型脂肪酸结合蛋白(L-FABP)和HSP27等。这些发现都有可能用作新的生物标记进行结肠癌前病变的筛选和早期发现结肠癌。

热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是一个成员庞大的多肽类蛋白质家族,作为分子伴侣,参与其他蛋白质的折叠、转运和合成等过程,并可与细胞内的其他肽类蛋白质结合,参与细胞的抗损伤、修复和热耐受过程。随着对热休克蛋白研究的不断深入, HSP在肿瘤发生和发展过程中的重要意义已引起广泛关注,现已发现多种HSP在肺癌^[20]、乳腺癌^[21]等多种肿瘤细胞中表达增强,与肿瘤的生物行为^[22]、肿瘤细胞凋亡^[23-24]、肿瘤抗药性^[25]和肿瘤免疫^[26]等密切相关。研究表明HSP与大肠癌之间也有着密切关系。除了前述的HSP70和HSP27外, HSP60、HSP90和HSP10等也相继被发现在大肠癌中呈过度表达^[27-30]。Coghlin *et al*^[31]利用2-DE、MS、免疫组化技术对268例大肠癌患者的肿瘤组织和正常结肠黏膜进行对照研究,发现在肿瘤组织中TCP-1的两个亚基 β 和 ϵ 表达明显上调, TCP-1- β 的过度表达又预示着不良的预后,而TCP-1也正是HSP60家族中的重要一员,在肌动蛋白、微管蛋白的组装和折叠中发挥重要的作用。王少彬 *et al*^[32]研究显示, HSP10在大肠腺瘤、大肠腺癌组织中的表达明显强于正常大肠黏膜组织,在腺瘤转变为腺癌的过程中, HSP10呈持续高表达状态,表明HSP10的高表达可能与大肠癌的发生发展有关。目前认为大肠癌的发生发展

经历原癌基因激活、抑癌基因失活和DNA低甲基化等多基因多步骤的变化过程^[33],其中 ras 基因突变是大肠癌发生的早期启动性事件^[34]。Lin *et al*^[35]研究发现, HSP10与 ras 基因之间存在着密切的关系, HSP10是 ras GTP酶发挥其功能不可缺少的辅助蛋白质之一,在细胞内信号转导通路中起重要作用。所以, HSP10也可能通过与 ras 基因间的作用,介导恶性肿瘤的发生。对HSP的研究已成为分子生物学的一大热点,相信也会成为寻找大肠癌肿瘤标志物的重要突破口。

核基质蛋白(nuclear matrix protein, NMP)也是值得大家关注的一类蛋白。核基质是存在于真核细胞核内的非水溶性纤维蛋白网络系统,其主要成分为非组蛋白,此外还含有少量的RNA和DNA。核基质蛋白在维持细胞核的形态结构、染色体组装、DNA复制和RNA转录等一系列活动中发挥重要作用,并且具有组织细胞特异性和肿瘤相关性。有研究表明^[36]某些抑癌基因如p53等产物可通过与核基质结合参与细胞周期和细胞生长的调节,如果核基质蛋白成分发生改变,则有可能引起癌基因或抑癌基因功能的改变,从而导致细胞生物学行为改变。特异性的NMP最早被发现于膀胱癌^[37]和前列腺癌^[38]等泌尿系统肿瘤,近年来也逐渐被证实存在于其他肿瘤(包括大肠癌)。Brunagel *et al*^[39]利用2-DE鉴定了人大肠癌中特异性NMP指纹的存在。高静 *et al*^[40]应用2-DE、免疫组化方法对12例大肠癌组织及正常大肠组织的NMP成分进行了比较,发现5个特异性NMP只存在于肿瘤组织中,另有3个特异性NMP只在正常组织中出现,同时还发现不同分期的大肠癌NMP表达也存在差异,核基质N4仅见于高分化无淋巴结转移的大肠癌,却在低分化伴有淋巴结转移的大肠癌中消失,提示正常、不同分化程度以及淋巴结转移与否的大肠癌核基质蛋白成分存在差异,在3例低分化伴有局部淋巴结转移者显示CB、MMP-9强阳性,这种差异性核基质蛋白的改变,有可能导致某些基因表达异常,包括酶如CB、MMP-9等的基因异常表达,从而促进肿瘤浸润转移。由此可见,特异性NMP有望成为大肠癌的肿瘤标志物,并可作为肿瘤分期的重要依据。

2.2 蛋白质芯片表面增强激光解析离子化-飞行时间(SELDI-TOF-MS)技术 是蛋白质组学研究中的一种全新的技术平台,在Hutchens *et al*^[41]研究的基础上, Ciphergen Biosystems公司发明了表面增强的激光解析/电离(SELDI)蛋白芯片

质谱技术平台, 主要由蛋白质芯片、飞行质谱和分析软件3部分组成, 具有高通量、多功能、易使用、快速度和低成本的优点, 成为一种快速、可重复、高度敏感、易于采用的分析手段和诊断工具, 也已被广泛应用到大肠癌肿瘤标志物的研究中. Chen *et al*^[42]利用SELDI-TOF-MS技术, 通过对147份血清标本(55例大肠癌和92名健康人)的检测, 发现4个差异表达的蛋白质峰, 通过生物信息学处理后, 利用这4个蛋白质峰组合的蛋白质特征性的表达谱可以将健康人与结肠直肠癌患者区分开, 其敏感性和特异性分别为82.6%和91.9%. Melle *et al*^[43]应用SELDI-TOF-MS技术研究了大肠癌组织和邻近正常黏膜的蛋白质指纹图谱以明确肿瘤特异性改变, 其中垂体腺苷酸环化酶激活肽、核异质性核糖核蛋白A1、黄素还原酶、钙结合蛋白、肿瘤转移抑制基因NM23-H2、亲环素A和平滑肌蛋白22- α 在受检标本中差异有显著意义. Shiwa *et al*^[44]也采用SELDI-TOF-MS技术研究了9种不同组织的肿瘤细胞株的蛋白质表达差异图谱, 结果在结肠癌细胞株中发现了差异蛋白, 并鉴定为 α -胸腺素原, α -胸腺素原的表达水平在结肠癌细胞中明显高于正常结肠黏膜细胞的表达, 提示其可能成为结肠癌诊断有意义的生物标记物. Albrethsen *et al*^[45]应用SELDI-TOF-MS比较结肠癌患者血清和正常人血清的蛋白质指纹图谱及结肠癌组织和正常结肠组织的蛋白质指纹图谱发现, 人中性粒细胞防御素组分(HNP1-3)在结肠癌患者血清中和结肠癌组织蛋白提取物中表达上调, 应用微流检测技术发现从结肠癌组织中提纯的HNP1-3对哺乳动物细胞是致命的, 从而得出结论, HNP1-3作为结肠癌的标志物, 可以和一些现有的方法联合用于诊断结肠癌, 也可作为治疗随访的预后标志物. 王全晖 *et al*^[46]采用SELDI-TOF-MS蛋白芯片技术对64例大肠癌患者手术前后和40名正常人进行了血清蛋白质谱对比分析研究, 发现有42个蛋白质峰具有判断性差别, 其中19个具有显著差别, 通过建立数据库和软件分析, 最终确立了以平均分子质量为5972.67Da、5927.21Da、6113.48Da、5908.55Da、4292.51Da这5个蛋白质组成的模板, 能正确地将大肠癌患者和正常人分组, 正确分组率达80%, 这些经过筛选得到的蛋白质可能成为早期诊断大肠癌重要的标志物.

2.3 LCM和蛋白质芯片技术 在最近的肿瘤研究中, LCM和蛋白质芯片等新技术发挥了重要作

用, 并被应用于大肠癌的研究. Lawrie *et al*^[47]对结肠癌切除标本上的癌组织应用LCM选择性地切取肿瘤细胞, 发现经过LCM处理后所获得的蛋白质状态单一, 更适合于2-DE, 溶解的蛋白质在2-DE胶上保持了预期的移动性, 对MS也无影响. Sreekumar *et al*^[48]应用抗体阵列确定了Lovo结肠癌细胞系的蛋白质表达图谱. Von Eggeling *et al*^[49]将LCM与蛋白质芯片相结合, 比较正常组织与肿瘤组织的蛋白质表达谱差异, 绘制出了蛋白质组表达谱. Kitahara *et al*^[50]联合应用LCM和cDNA微阵列, 研究了结肠癌发生中基因表达的变化, 发现44个基因上调, 191个基因下调.

3 结论

总之, 蛋白质组学在大肠癌肿瘤标记物研究方面取得快速进展, 其技术手段的不断进步加速了标记物的研究步伐. 虽然他仍有不尽完善之处, 例如2-DE还存在蛋白质的丢失、分离容量有限且操作费时和低丰度蛋白难以去除等, 这将影响肿瘤标记物研究的精确性与检出率, 但相信随着研究的深入及样本切割技术、电泳技术、芯片技术、质谱技术和生物信息学等的不断完善与发展, 蛋白质组学技术可以更加快速、灵敏、特异、自动化地进行肿瘤蛋白质组分析, 对大肠癌肿瘤标志物的研究必将取得实质性的进展.

4 参考文献

- 1 Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2137-2150
- 2 Eilstein D, Hedelin G, Schaffer P. Incidence of colorectal cancer in Bas-Rhin, trend and prediction in 2009. *Bull Cancer* 2000; 87: 595-599
- 3 Ji BT, Devesa SS, Chow WH, Jin F, Gao YT. Colorectal cancer incidence trends by subsite in urban Shanghai, 1972-1994. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7: 661-666
- 4 Alberts B. The cell as a collection of protein machines: preparing the next generation of molecular biologists. *Cell* 1998; 92: 291-294
- 5 Anderson NL, Anderson NG. Proteome and proteomics: new technologies, new concepts, and new words. *Electrophoresis* 1998; 19: 1853-1861
- 6 Appel RD, Palagi PM, Walther D, Vargas JR, Sanchez JC, Ravier F, Pasquali C, Hochstrasser DF. Melanie II--a third-generation software package for analysis of two-dimensional electrophoresis images: I. Features and user interface. *Electrophoresis* 1997; 18: 2724-2734
- 7 Mahon P, Dupree P. Quantitative and reproducible two-dimensional gel analysis using Phoretix 2D Full. *Electrophoresis* 2001; 22: 2075-2085
- 8 Gygi SP, Corthals GL, Zhang Y, Rochon Y,

应用要点
热休克蛋白、核基质蛋白等有关蛋白可作为今后重点研究的对象, 希望能从中找到特异性的大肠癌肿瘤标志物.

名词解释

核基质蛋白: 是存在于真核细胞核内的非水溶性纤维蛋白网络系统, 在维持细胞核的形态结构、染色体组装、DNA复制和RNA转录等一系列活动中发挥重要作用, 并且具有组织细胞特异性和肿瘤相关性。

- Aebersold R. Evaluation of two-dimensional gel electrophoresis-based proteome analysis technology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 9390-9395
- 9 Wilkins MR, Pasquali C, Appel RD, Ou K, Golaz O, Sanchez JC, Yan JX, Gooley AA, Hughes G, Humphery-Smith I, Williams KL, Hochstrasser DF. From proteins to proteomes: large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. *Biotechnology (N Y)* 1996; 14: 61-65
- 10 Bichsel VE, Liotta LA, Petricoin EF 3rd. Cancer proteomics: from biomarker discovery to signal pathway profiling. *Cancer J* 2001; 7: 69-78
- 11 O'Farrell PH. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J Biol Chem* 1975; 250: 4007-4021
- 12 Gorg A, Weiss W, Dunn MJ. Current two-dimensional electrophoresis technology for proteomics. *Proteomics* 2004; 4: 3665-3685
- 13 Wu SL, Hancock WS, Goodrich GG, Kunitake ST. An approach to the proteomic analysis of a breast cancer cell line (SKBR-3). *Proteomics* 2003; 3: 1037-1046
- 14 Alban A, David SO, Bjorkesten L, Andersson C, Sloge E, Lewis S, Currie I. A novel experimental design for comparative two-dimensional gel analysis: two-dimensional difference gel electrophoresis incorporating a pooled internal standard. *Proteomics* 2003; 3: 36-44
- 15 Emmert-Buck MR, Bonner RF, Smith PD, Chuaqui RF, Zhuang Z, Goldstein SR, Weiss RA, Liotta LA. Laser capture microdissection. *Science* 1996; 274: 998-1001
- 16 Stulik J, Koupilova K, Osterreicher J, Knizek J, Macela A, Bures J, Jandik P, Langr F, Dedic K, Jungblut PR. Protein abundance alterations in matched sets of macroscopically normal colon mucosa and colorectal carcinoma. *Electrophoresis* 1999; 20: 3638-3646
- 17 Chaurand P, DaGue BB, Pearsall RS, Threadgill DW, Caprioli RM. Profiling proteins from azoxymethane-induced colon tumors at the molecular level by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Proteomics* 2001; 1: 1320-1326
- 18 Jungblut PR, Zimny-Arndt U, Zeindl-Eberhart E, Stulik J, Koupilova K, Pleissner KP, Otto A, Muller EC, Sokolowska-Kohler W, Grabher G, Stoffler G. Proteomics in human disease: cancer, heart and infectious diseases. *Electrophoresis* 1999; 20: 2100-2110
- 19 裴海平, 朱红, 曾亮, 李宜雄. 应用二维电泳和质谱技术筛选大肠癌与正常肠组织的差异表达蛋白. *中国普通外科杂志* 2005; 14: 748-752
- 20 Cappello F, Di Stefano A, D'Anna SE, Donner CF, Zummo G. Immunopositivity of heat shock protein 60 as a biomarker of bronchial carcinogenesis. *Lancet Oncol* 2005; 6: 816
- 21 Barazi HO, Zhou L, Templeton NS, Krutzsch HC, Roberts DD. Identification of heat shock protein 60 as a molecular mediator of alpha 3 beta 1 integrin activation. *Cancer Res* 2002; 62: 1541-1548
- 22 Leonardi R, Pannone G, Magro G, Kudo Y, Takata T, Lo Muzio L. Differential expression of heat shock protein 27 in normal oral mucosa, oral epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2002; 9: 261-266
- 23 Dressel R, Grzeszik C, Kreiss M, Lindemann D, Herrmann T, Walter L, Gunther E. Differential effect of acute and permanent heat shock protein 70 overexpression in tumor cells on lysability by cytotoxic T lymphocytes. *Cancer Res* 2003; 63: 8212-8220
- 24 Zhao C, Wang E. Heat shock protein 90 suppresses tumor necrosis factor alpha induced apoptosis by preventing the cleavage of Bid in NIH3T3 fibroblasts. *Cell Signal* 2004; 16: 313-321
- 25 Yamamoto K, Okamoto A, Isonishi S, Ochiai K, Ohtake Y. Heat shock protein 27 was up-regulated in cisplatin resistant human ovarian tumor cell line and associated with the cisplatin resistance. *Cancer Lett* 2001; 168: 173-181
- 26 Srivastava P. Roles of heat-shock proteins in innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 185-194
- 27 王树东, 郑长青, 刘明杰. 不同类型热休克蛋白在大肠癌中的表达及其意义探讨. *中国实用内科杂志* 2003; 23: 429-430
- 28 Melle C, Bogumil R, Ernst G, Schimmel B, Bleul A, von Eggeling F. Detection and identification of heat shock protein 10 as a biomarker in colorectal cancer by protein profiling. *Proteomics* 2006; 6: 2600-2608
- 29 Cappello F, Bellafiore M, Palma A, David S, Marciano V, Bartolotta T, Sciume C, Modica G, Farina F, Zummo G, Bucchieri F. 60KDa chaperonin (HSP60) is over-expressed during colorectal carcinogenesis. *Eur J Histochem* 2003; 47: 105-110
- 30 Cappello F, Bellafiore M, David S, Anzalone R, Zummo G. Ten kilodalton heat shock protein (HSP10) is overexpressed during carcinogenesis of large bowel and uterine exocervix. *Cancer Lett* 2003; 196: 35-41
- 31 Coghlin C, Carpenter B, Dundas SR, Lawrie LC, Telfer C, Murray GI. Characterization and over-expression of chaperonin t-complex proteins in colorectal cancer. *J Pathol* 2006; 210: 351-357
- 32 王少彬, 陈俊辉, 陈理明, 黄杰雄, 邱前程. 热休克蛋白10在大肠癌的表达及其临床病理意义. *中国肿瘤临床与康复* 2007; 14: 203-207
- 33 Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990; 61: 759-767
- 34 Bos JL, Fearon ER, Hamilton SR, Verlaan-de Vries M, van Boom JH, van der Eb AJ, Vogelstein B. Prevalence of ras gene mutations in human colorectal cancers. *Nature* 1987; 327: 293-297
- 35 Lin KM, Hollander JM, Kao VY, Lin B, Macpherson L, Dillmann WH. Myocyte protection by 10 kD heat shock protein (Hsp10) involves the mobile loop and attenuation of the Ras GTP-ase pathway. *FASEB J* 2004; 18: 1004-1006
- 36 Varela I, Cadinanos J, Pendas AM, Gutierrez-Fernandez A, Folgueras AR, Sanchez LM, Zhou Z, Rodriguez FJ, Stewart CL, Vega JA, Tryggvason K, Freije JM, Lopez-Otin C. Accelerated ageing in mice deficient in Zmpste24 protease is linked to p53 signalling activation. *Nature* 2005; 437: 564-568
- 37 Attallah AM, Sakr HA, Ismail H, Abdel-Hady el-SK, El-Dosoky I. An office-based immunodiagnostic assay for detecting urinary nuclear matrix protein 52 in patients with bladder cancer. *BJU Int* 2005; 96: 334-339
- 38 Lakshmanan Y, Subong EN, Partin AW. Differential nuclear matrix protein expression in prostate cancers: correlation with pathologic stage. *J Urol* 1998; 159: 1354-1358
- 39 Brunagel G, Vietmeier BN, Bauer AJ, Schoen RE,

- Getzenberg RH. Identification of nuclear matrix protein alterations associated with human colon cancer. *Cancer Res* 2002; 62: 2437-2442
- 40 高静, 王娅兰. 大肠癌核基质蛋白变化与其生物学行为的关系. *重庆医科大学学报* 2006; 31: 302-306
- 41 Hutchens TW, Yip TT. Protein interactions with surface-immobilized metal ions: structure-dependent variations in affinity and binding capacity with temperature and urea concentration. *J Inorg Biochem* 1991; 42: 105-118
- 42 Chen YD, Zheng S, Yu JK, Hu X. Artificial neural networks analysis of surface-enhanced laser desorption/ionization mass spectra of serum protein pattern distinguishes colorectal cancer from healthy population. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 8380-8385
- 43 Melle C, Osterloh D, Ernst G, Schimmel B, Bleul A, von Eggeling F. Identification of proteins from colorectal cancer tissue by two-dimensional gel electrophoresis and SELDI mass spectrometry. *Int J Mol Med* 2005; 16: 11-17
- 44 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; 309: 18-25
- 45 Albrechtsen J, Bogebo R, Gammeltoft S, Olsen J, Winther B, Raskov H. Upregulated expression of human neutrophil peptides 1, 2 and 3 (HNP 1-3) in colon cancer serum and tumours: a biomarker study. *BMC Cancer* 2005; 5: 8
- 46 王全晖, 高春芳, 王秀丽, 赵光, 李冬晖, 许洋, 马龙华. 利用SELDI-TOF质谱技术分析大肠癌患者血清蛋白质谱的变化. *中国病理生理杂志* 2005; 21: 1896-1900
- 47 Lawrie LC, Curran S, McLeod HL, Fothergill JE, Murray GI. Application of laser capture microdissection and proteomics in colon cancer. *Mol Pathol* 2001; 54: 253-258
- 48 Sreekumar A, Nyati MK, Varambally S, Barrette TR, Ghosh D, Lawrence TS, Chinnaiyan AM. Profiling of cancer cells using protein microarrays: discovery of novel radiation-regulated proteins. *Cancer Res* 2001; 61: 7585-7593
- 49 von Eggeling F, Davies H, Lomas L, Fiedler W, Junker K, Claussen U, Ernst G. Tissue-specific microdissection coupled with ProteinChip array technologies: applications in cancer research. *Biotechniques* 2000; 29: 1066-1070
- 50 Kitahara O, Furukawa Y, Tanaka T, Kihara C, Ono K, Yanagawa R, Nita ME, Takagi T, Nakamura Y, Tsunoda T. Alterations of gene expression during colorectal carcinogenesis revealed by cDNA microarrays after laser-capture microdissection of tumor tissues and normal epithelia. *Cancer Res* 2001; 61: 3544-3549

同行评价
本文内容新颖, 文笔流畅, 具有较强的可读性.

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志在线办公系统

本刊讯 自2005-12-15起, 世界华人消化杂志正式开通了在线办公系统(<http://www.wjgnet.com/wcjd/ch/index.aspx>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流. 凡在在线办公系统注册的用户, 将可获得世界华人消化杂志最新出版消息.