

肝细胞癌的蛋白质组学研究进展

杨国欢, 代智, 周俭

杨国欢, 代智, 周俭, 复旦大学肝癌研究所, 复旦大学附属中山医院 上海市 200032

国家高技术研究发展计划(863计划), No. 2007AA02Z479

作者贡献分布: 此课题由杨国欢, 代智及周俭设计, 本文写作由杨国欢完成。

通讯作者: 周俭, 200032, 上海市医学院路136号, 复旦大学肝癌研究所, 复旦大学附属中山医院. zhou.jian@zs-hospital.sh.cn
电话: 021-64041990 传真: 021-64037181

收稿日期: 2008-05-14 修回日期: 2008-06-24

接受日期: 2008-06-30 在线出版日期: 2008-08-08

Advance in proteomic study of hepatocellular carcinoma

Guo-Huan Yang, Zhi Dai, Jian Zhou

Guo-Huan Yang, Zhi Dai, Jian Zhou, Liver Cancer Institute and Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

Supported by: the National High Technology Research and Development Program of China (863 Project), No. 2007AA02Z479

Correspondence to: Jian Zhou, Liver Cancer Institute and Zhongshan Hospital, Fudan University, 136 Yixueyuan Road, Shanghai 200032,

China. zhou.jian@zs-hospital.sh.cn

Received: 2008-05-14 Revised: 2008-06-24

Accepted: 2008-06-30 Published online: 2008-08-08

Abstract

At present, studies of hepatocellular carcinoma focus on investigating the molecular mechanism of carcinogenesis, development, metastasis and recurrence and seeking biological markers for early diagnosis and metastasis prediction and targets for interfering therapy. In the post-genome era, proteomics provides novel insights into the research of hepatocellular carcinoma, which is controlled by multi-genes and multi-proteins. In this paper we reviewed the recent progress in proteomic study of hepatocellular carcinoma.

Key Words: Proteomics; Hepatocellular carcinoma

Yang GH, Dai Z, Zhou J. Advance in proteomic study of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(22): 2487-2492

摘要

探讨肝癌发生发展和转移复发的分子机制, 寻找早期诊断肝癌、预测转移的生物标志和干

找早期诊断肝癌、预测转移的生物标志和干预防治疗的靶点, 已成为当今肝癌研究的热点。随着后基因组时代的来临, 蛋白质组学为涉及多基因、多蛋白的肝细胞癌研究创造了新的契机。本文就肝细胞癌的蛋白质组学研究进展作简要综述。多基因、多蛋白的肝细胞癌研究创造了新的契机。本文就肝细胞癌的蛋白质组学研究进展作简要综述。

关键词: 蛋白质组学; 肝细胞癌

杨国欢, 代智, 周俭. 肝细胞癌的蛋白质组学研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16(22): 2487-2492

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/2487.asp>

0 引言

原发性肝癌(绝大部分是肝细胞癌)在全球癌症死亡率中居第三位, 在我国为第二位的癌症死因^[1]。由于肝癌起病隐匿, 绝大部分患者就诊时已界中、晚期, 预后很差。早期发现是提高外科干预和远期疗效的前提。手术切除和肝移植虽已被认为是肝癌获得根治的最好手段^[2], 但转移和复发仍是影响肝癌术后生存的最大障碍。探讨肝癌发生发展和转移复发的分子机制, 寻找早期诊断肝癌、预测转移的生物标志和干预防治疗的靶点, 已成为当今肝癌研究的热点。随着后基因组时代的来临, 蛋白质组学给涉及多基因、多蛋白的肝细胞癌研究创造了新的契机。本文就肝细胞癌的蛋白质组学研究进展作简要综述。

1 蛋白质组学概述

蛋白质组(proteome)由PROTEINS和GenOME两词组合而成, 最早见于1995-07的《Electrophoresis》杂志, 意思是proteins expressed by a genome, 即基因组表达的蛋白质^[3]。蛋白质组是一个在空间和时间上动态变化着的整体^[4]。

蛋白质组学(proteomics)研究是从整体的角度分析细胞内动态变化的蛋白质组成成分、表达水平与修饰状态, 了解蛋白质之间相互作

■背景资料

肝细胞肝癌是世界上病死率最高的恶性肿瘤之一。蛋白质组学是以生物体系整体蛋白为研究对象, 其研究以双向凝胶电泳和质谱技术为核心, 旨在研究蛋白质表达谱和蛋白质与蛋白质之间相互作用的新领域, 其已被广泛应用于疾病的相关研究。

■同行评议者

刘海林, 主任医师, 上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

■ 研发前沿

探讨肝癌发生发展和转移复发的分子机制,寻找早期诊断肝癌、预测转移的生物标志和干预治疗的靶点,已成为当今肝癌研究的热点。

用与联系,揭示蛋白质功能与细胞生命活动规律。由于对“全部蛋白质”进行研究存在一定的难度,因此,“功能蛋白质组学”(functional proteomics)的概念便应运而生^[5],其研究对象是功能蛋白质组,从局部入手研究蛋白质的各个功能亚群体,以便将来把多个群体组合起来,逐步描绘出接近于生命细胞的“全部蛋白质”的蛋白质图谱。狭义上讲,蛋白质组学是指不同条件下细胞内蛋白质的变化,比如正常细胞和异常细胞之间、细胞用药和不用药之间的蛋白质表达谱的区别,这在疾病研究和药物筛选上很有意义,是目前蛋白质组学在应用研究方面最具前景的领域^[6]。当然,随着蛋白质组研究的不断发展,蛋白质组学的概念也将不断发展和深化。

2 肝细胞癌的蛋白质组学研究进展

肝肿瘤是蛋白质组研究应用的领域之一。研究者运用蛋白质组学研究手段,通过比较正常和病理情况下肝癌细胞或组织中蛋白质在表达数量、表达位置和修饰状态上的差异,发现与病理改变有关的蛋白质和疾病特异性蛋白质,从而为疾病发病机制的研究提供线索,也可作为疾病诊断的分子标志、疾病治疗和药物开发的靶标。国内外不少学者在细胞、组织样品和血清等不同水平对肝细胞癌进行了研究,并初显成效。

2.1 细胞水平 对不同肝癌细胞系进行蛋白质组学研究,通过体外实验了解蛋白质功能,从而间接揭示肝细胞癌发病和转移机制。Cui *et al*^[7]用双相凝胶电泳及液相色谱-电喷雾电离-质谱(LC-ESI-MS)的方法比较了具有不同转移潜能人肝细胞癌细胞系Hep3B、MHCC97L和MHCC97H的蛋白质组,结果发现与没有转移潜能的Hep3B细胞系相比,在MHCC97H和MHCC97L中有16个蛋白质过表达,10个蛋白质表达下调。进一步的验证试验则提示,结合蛋白家族成员的差异蛋白S100A4通过调节基质金属蛋白酶-9的分泌和增强细胞侵袭力来促进HCC的侵袭和转移^[8]。Ding *et al*^[9-10]在MHCC97-H和MHCC97-L细胞系间差异表达的56个蛋白质点中成功鉴定出14种蛋白质,在高转移细胞系MHCC97-H中丙酮酸激酶M2、S100 A4及CK19等蛋白质高表达,而Mn-SOD、钙网蛋白前体和组织蛋白酶D等表达量下调。有趣的是这些被鉴定出来的蛋白质大部分和肿瘤的转移有关。他们还将反义EGFR的cDNA序列转染肝癌细胞,

发现肿瘤细胞生长受抑,与对照相比有40个蛋白质表达发生了变化,其中3个蛋白质的表达向正常细胞趋化。Lee *et al*^[11]研究了人肝癌细胞HepG2中高丰度蛋白质表达情况,并与另一种非常相近的肝癌细胞Hep3B进行了比较,发现差异两倍以上蛋白质有16个,特别是热休克蛋白(Hsp)的成员和不均一核糖核蛋白(hnRNP)家族。该差异为进一步描绘这两种蛋白家族间的相互作用及修饰提供基础。

甲胎蛋白(AFP)被认为是肝癌诊断和判断预后的标志物,肝细胞癌组织的诸多特征都与之有关,体内多种蛋白质与AFP协同发挥作用。为了鉴定这些蛋白质,Yokoo *et al*^[12]采用荧光双相凝胶电泳方法比较研究了9种能产生AFP的肝癌细胞系(JHH-5、HuH-1、PLC/PRL/5、Hep3B、HT-17、JHH-7、HuH-7、HepG2和Li-7)和7种不产生AFP的肝细胞系(HLE、JHH-6、Sk-Hep-1、JHH-4、HLF、RBE和SSP-25)之间蛋白质表达的变化情况,发现在产生AFP的细胞系中6个蛋白质上调,5个蛋白质下调。Srisomsap *et al*^[13]通过比较胆管细胞癌细胞系HuCCA-1、肝细胞癌细胞系(HepG2和HCC-S102)以及人乳腺上皮癌细胞系(MCF-7)的蛋白质表达谱,发现CK7、CK19、U2/2和galectin-3可作为鉴别胆管细胞癌和肝细胞癌的潜在标志物。Yuan *et al*^[14]比较了人肝癌细胞系逆转株(revertant)CL1及其源细胞系SMMC7721的蛋白质表达情况,发现19个蛋白质在表达上有明显差异($P<0.01$)。与SMMC7721细胞相比,逆转株CL1中一些与肿瘤抑制相关的蛋白质如maspin表达上调,而与肿瘤生长相关的蛋白质如组织蛋白酶D(cathepsin D)表达下调。在肝癌发生相关蛋白质组学的研究中,Fujii *et al*^[15]比较了9个HCC细胞系和5个正常肝细胞系,发现鉴定出来的蛋白质参与细胞周期调节、与抑癌基因产物结合、与脂肪酸结合及翻译调节等环节。Western blot显示HCC组织中PCNA、EB1和E-FABP过表达,后二者的异常表达为首次在肝细胞癌进展的研究中涉及。果蝇zeste基因增强子同源物2(enhancer of zeste homolog 2, EZH2)在肝癌发生中发挥重要作用,在此基础上,Chen *et al*^[16]对EZH2下游通路进行功能蛋白质组学研究,发现敲除EZH2组中60s酸性核糖体蛋白P0(L10E)表达上调,而在EZH2过表达的肝细胞内表达下调,提示L10E是EZH2作用的下游靶标。

2.2 组织样本水平 为提高和改善肝细胞癌诊断

及预后, 亟待探索和鉴定有效的分子标志物. 对肝细胞癌组织进行蛋白质组学研究是最直接和最有说服力的途径^[17]. Park *et al*^[18]在肝癌组织铁蛋白轻链(tissue ferritin light chain, T-FLC)的蛋白质组学及分子机制的研究中发现, HCC患者的贮铁蛋白T-FLC表达明显抑制或减少到不可检测的水平, 而转铁蛋白受体(transferrin receptor, TfR)呈过度表达. 有趣的是, T-FLC相对应的mRNA水平与正常组织中的水平几乎一致, 这表明T-FLC基因的翻译和翻译后修饰可能是引起T-FLC表达抑制的原因. 而且, 利用PCR为基础的杂合子丢失分析研究发现, 19例HCC患者中只有1例显示T-FLC所处的19q13.3-q13.4染色体缺乏, 表明由结构基因改变而引起T-FLC表达抑制的可能性不大, 这在一定程度上回答了HCC形成过程中铁缺失的问题. Melle及其同事^[19]对显微切割的非肝癌组织、肝癌中央组织及肿瘤边缘组织进行比较研究, 首次确定铁蛋白轻链亚基(ferritin light subunit, FLS)及腺苷酸激酶-3在肝肿瘤组织中低表达, 而胆绿素还原酶B高表达. Yoon *et al*^[20]用双相电泳技术对11例HCC肝组织及其对应的非肿瘤组织核基质蛋白组分进行对比分析, 发现钙网织蛋白在HCC的核基质中大量存在, 但两种组织中钙网织蛋白总量相似. 钙网织蛋白-核基质的形成和扩展可能与细胞生长的激活有关. Yi *et al*^[21]运用双向凝胶电泳发现, 致死蛋白Mortalin(基因HSPA9)在HCC组织中过表达, 同时肿瘤早期复发者的致死蛋白水平高于无瘤生存组. 因此, 致死蛋白有望成为肝癌根治性切除术后预测早期复发的肿瘤标志物. Zeindl-Eberhart *et al*^[22]将人HCC样品经2-D分离, 切取分子质量约30 000-40 000/PI 612-718的区域中, 大约90个点进行肽质量指纹图谱分析, 找到6个变异体蛋白, 其中人的醛糖还原酶样蛋白-1(hARLP-1)是人肝癌中检测到的最主要的醇醛酮还原酶超家族成员. hARLP拥有4种异构体(hARLP-1、hARLP-2、hARLP-3和hARLP-4). 经免疫印迹和免疫组化分析, 95%的HCC样品对hARLP家族反应呈阳性, 因此可作为HCC免疫组化诊断的标志物. Yang *et al*^[23]在研究通过注射肿瘤细胞到肝左叶而得到的肝癌模型的蛋白质组时, 发现脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)和他的受体在肿瘤组织和肝癌细胞系中能特异性地表达, 而在非肿瘤肝组织和正常细胞系中没有表达, 该因子能以Hsp90依赖的方式促进肿瘤细胞的增殖.

肝癌的发生与病毒感染密切相关, 为阐释感染HCV后肝癌发生的机制, Yokoyama *et al*^[24]比较了感染HCV患者的肿瘤和非肿瘤组织间蛋白质表达的情况, 结果表明, 超过50%的患者中有11个蛋白质在HCC组织中表达下调. Takashima *et al*^[25]用双相凝胶电泳和基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱分析HCV相关性HCC样本, 发现与癌旁组织相比, 有9个蛋白质在癌组织中表达上调, 其中GRP78、GRP75和HSP70.1明显上调, HSC70趋向过表达. 表明这4种蛋白质在HCV相关性HCC的致病过程中起重要作用, 有可能成为诊断和治疗的分子靶标. Kim *et al*^[26]比较HBV阳性、HCV阳性及HBV和HCV同时阴性的三组HCC患者的组织样品各7例, 发现癌组织与癌旁组织相比共有60个蛋白质表达发生了变化, 其中14个差异蛋白质为三组HCC患者所共有, 而另外46个差异蛋白质各组表达均不相同, 提示其与病毒感染相关, 且HBV与HCV诱发肝癌的机制可能不同. Sun *et al*^[27]用荧光双向差异凝胶电泳(2D-DIGE)的方法分析了12例HBV相关性HCC标本, 结果提示共有61个位点显著上调、158个位点下调. Western blot及免疫组化证实Hsp70和Hsp90家族的蛋白质及不均一核糖核蛋白C1/C2过度表达, 这些蛋白可能是潜在的肿瘤标志物. Ward *et al*^[28]提出假说认为HCV相关性HCC的蛋白质组学特征在成功治疗后会像AFP一样“正常回归”, 但结果显示部分SELDI峰未如期回复, 说明HCC的蛋白质组学特征和肿瘤负荷并不成直接的线性关系, 而可能和肝脏本身的病变或癌前病灶有关. Li *et al*^[29]运用激光捕获显微切割技术(laser capture microdissection, LCM)获取HCC和癌旁组织, 并通过同位素亲和标签和二维液相色谱串联质谱技术进行分析, 共有644个蛋白得到定性, 261个蛋白得到定量. LCM技术可在不损伤细胞结构的情况下, 从异质性的肿瘤组织内切割或分离出特定的细胞或组织, 该技术联合同位素亲和标签和二维液相色谱串联质谱技术, 可大规模的对HCC组织进行定性和定量分析.

2.3 血清水平 血清作为临床研究中最易获得的标本, 具有创伤小、易监测等特点, 而被广泛用于比较肿瘤与非肿瘤患者血清的蛋白质组学差异及肿瘤候选标志物的检测^[30]. Steel *et al*^[31]用蛋白质组学方法, 从处于疾病不同阶段的个体中采集血清, 经双相电泳及基质辅助激光解吸飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)分析来鉴

■ 相关报道

Takashima *et al*对15组HCC组织和非肝癌组织、5例正常肝组织进行蛋白质组学及重组cDNA表达文库血清学分析法的研究, 找到在HCC血清中免疫反应明显增高的三种自身抗体, 这三种特异性抗体可作为HCC诊断的候选标志物.

■名词解释

1 蛋白质组(proteome): 源于蛋白质(PROTEin)与基因组(genOME)两个词的结合, 指细胞内全部蛋白质的存在及其活动方式, 后引申为一种基因组所表达的全套蛋白质, 即“proteins expressed by a genome”, 而一种基因组可包括一种细胞乃至一种生物。这是一动态概念, 他不仅在一个机体的不同组织和细胞中不同, 而且在同一机体的不同发育阶段、不同生理状态及不同外界环境下也有不同。

2 蛋白质组学(proteomics): 蛋白质组为研究对象, 大规模、有系统地研究蛋白质的特征及结构, 包括蛋白质的表达水平、翻译后修饰、蛋白质间的相互作用等, 并由此获得对疾病过程、细胞生理生化特征和调控网络的广泛完整的认识。

定随病程变化的蛋白质多肽, 证实HCC患者血清中有两种多肽(补体C3的羧基端和载脂蛋白A1的异形体)水平较健康对照明显降低。Paradis *et al*^[32]用表面加强激光解吸电离飞行时间质谱(SELDI-TOF-MS)研究了82个肝硬化患者的血清(其中44例有肝癌, 38例无肝癌), 并比较了这两组样品的蛋白质表达情况, 发现玻璃体结合蛋白(vitronectin)的催化片段(catalytic fragment)可作为合并慢性肝病的HCC患者新的血清标志物。Poon *et al*^[33]比较了20例慢性肝病(AFP<500 g/L)和38例肝癌患者的血清, 发现在2384个共有的血清蛋白质表达谱中, 250个点蛋白质的表达有明显差异。Lee *et al*^[34]通过对HCC患者与肝硬化及正常人的血清蛋白质组学研究, 发现补体C3a在慢性丙肝和HCV相关性肝癌患者中差异表达。Yang *et al*^[35]联合应用2-DE和纳升电喷雾质谱法(nano-HPLC-ESI-MS/MS)比较了5例HCC患者和正常对照的血清, 发现在差异表达的14种蛋白质中12种表达上调, 2种表达下调。在鉴定的317种蛋白中有29种的蛋白可信度较高, 其中6种仅出现在HCC患者中, 可作为HCC的生物学标志。

不少研究者致力于探寻早期诊断HCC的标志物的蛋白质组学研究。Ward *et al*^[36]对182例丙肝肝硬化患者的血清进行蛋白质组学研究, 发现有2个SELDI峰HCC组较非HCC组平均升高50%($P<0.001$), 经鉴定他们分别为kappa和lamda免疫球蛋白的轻链, 这为单独或联合应用上述蛋白进行早期诊断HCC 提供了新的途径。Zinkin *et al*^[37]运用蛋白质组学方法对HCC患者和丙肝肝硬化患者进行比较研究, 发现SELDI-TOF-MS 诊断HCC的敏感度和特异度分别为79%和86%, 优于AFP、PIVKA-II等传统指标。Le Naour *et al*^[38]分析了37例HCC患者、31例慢性HBV/HCV感染而无HCC的患者、143例对照(116例其他肿瘤患者, 3例SLE患者, 24例健康人)的血清, 发现8种蛋白质的抗体在超过10%的HCC患者血清中检出, 而健康个体中没有($P<0.05$)。其中4种抗体在慢性肝炎患者血清中有相对较高的检出率, 而另4种抗体则主要在HCC患者血清中检出。这些抗体可用于合并慢性肝炎的HCC患者的早期诊断。Takashima *et al*^[39]对15组HCC组织和非肝癌组织、5例正常肝组织进行蛋白质组学及重组cDNA表达文库血清学分析法(serological analysis of recombinant cDNA expression libraries, SEREX)的研究, 找到在HCC血清中免疫反应明

显增高的三种自身抗体(HSP70、peroxiredoxin和Mn-SOD), 这三种特异性抗体可作为HCC诊断的候选标志物。

3 结论

从细胞、组织及血清等不同水平进行蛋白质组学研究, 为揭示肝细胞癌的发病机制及发现肿瘤标记物提供了新的途径。由于蛋白组成复杂、性质不稳定, 易发生相互作用, 因此, 对于不同来源的样品, 选取正确的制备方法、合适的研究策略, 可以使研究取得事半功倍的效果^[40]。人类蛋白组组织(HUPO)提出制定相对统一的样品制备及处理方案将有助于提高结果的稳定性和可比性^[41]。

总之, 蛋白质组作为连接基因组与临床应用之间的桥梁, 为从整体水平研究肝细胞癌开辟了更广阔的前景, 但面临的主要问题是检测的敏感性不高, 低丰度蛋白通常被高丰度蛋白掩盖而很难分离, 因而丢失许多重要的蛋白质信息。目前正致力于发展高分辨率、高敏感性和高通量的蛋白质分离和鉴定技术。可以相信, 随着研究技术的进一步发展, 生物信息学工具的完善, 蛋白质组研究数据的不断积累, 蛋白质组学最终将成为攻克肝细胞癌的强有力武器。

4 参考文献

- 1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108
- 2 Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2003; 362: 1907-1917
- 3 Kahn P. From genome to proteome: looking at a cell's proteins. *Science* 1995; 270: 369-370
- 4 Nowak R. Entering the postgenome era. *Science* 1995; 270: 368-369, 371
- 5 Abbott A. And now for the proteome... *Nature* 2001; 409: 747
- 6 Humphrey-Smith I, Cordwell SJ, Blackstock WP. Proteome research: complementarity and limitations with respect to the RNA and DNA worlds. *Electrophoresis* 1997; 18: 1217-1242
- 7 Cui JF, Liu YK, Pan BS, Song HY, Zhang Y, Sun RX, Chen J, Feng JT, Tang ZY, Yu YL, Shen HL, Yang PY. Differential proteomic analysis of human hepatocellular carcinoma cell line metastasis-associated proteins. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004; 130: 615-622
- 8 Cui JF, Liu YK, Zhang LJ, Shen HL, Song HY, Dai Z, Yu YL, Zhang Y, Sun RX, Chen J, Tang ZY, Yang PY. Identification of metastasis candidate proteins among HCC cell lines by comparative proteome and biological function analysis of S100A4 in metastasis in vitro. *Proteomics* 2006; 6: 5953-5961
- 9 Ding SJ, Li Y, Shao XX, Zhou H, Zeng R, Tang ZY, Xia QC. Proteome analysis of hepatocellular carcinoma cell strains, MHCC97-H and MHCC97-L, with different metastasis potentials. *Proteomics* 2004;

- 4: 982-994
- 10 Ding SJ, Li Y, Tan YX, Jiang MR, Tian B, Liu YK, Shao XX, Ye SL, Wu JR, Zeng R, Wang HY, Tang ZY, Xia QC. From proteomic analysis to clinical significance: overexpression of cytokeratin 19 correlates with hepatocellular carcinoma metastasis. *Mol Cell Proteomics* 2004; 3: 73-81
- 11 Lee CL, Hsiao HH, Lin CW, Wu SP, Huang SY, Wu CY, Wang AH, Khoo KH. Strategic shotgun proteomics approach for efficient construction of an expression map of targeted protein families in hepatoma cell lines. *Proteomics* 2003; 3: 2472-2486
- 12 Yokoo H, Kondo T, Fujii K, Yamada T, Todo S, Hirohashi S. Proteomic signature corresponding to alpha fetoprotein expression in liver cancer cells. *Hepatology* 2004; 40: 609-617
- 13 Srisomsap C, Sawangareetrakul P, Subhasitanont P, Panichakul T, Keeratichamroen S, Lirdprapamongkol K, Chokchaichamnankit D, Sirisinha S, Svasti J. Proteomic analysis of cholangiocarcinoma cell line. *Proteomics* 2004; 4: 1135-1144
- 14 Yuan Q, An J, Liu DG, Sun L, Ge YZ, Huang YL, Xu GJ, Zhao FK. Proteomic analysis of differential protein expression in a human hepatoma revertant cell line by using an improved two-dimensional electrophoresis procedure combined with matrix assisted laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry. *Electrophoresis* 2004; 25: 1160-1168
- 15 Fujii K, Kondo T, Yokoo H, Yamada T, Iwatsuki K, Hirohashi S. Proteomic study of human hepatocellular carcinoma using two-dimensional difference gel electrophoresis with saturation cysteine dye. *Proteomics* 2005; 5: 1411-1422
- 16 Chen Y, Lin MC, Wang H, Chan CY, Jiang L, Ngai SM, Yu J, He ML, Shaw PC, Yew DT, Sung JJ, Kung HF. Proteomic analysis of E2H2 downstream target proteins in hepatocellular carcinoma. *Proteomics* 2007; 7: 3097-3104
- 17 Li C, Yi-Hong, Tan YX, Ai JH, Zhou H, Li SJ, Zhang L, Xia QC, Wu JR, Wang HY, Zeng R. Analysis of microdissected cells by two-dimensional LC-MS approaches. *Methods Mol Biol* 2008; 428: 193-208
- 18 Park KS, Kim H, Kim NG, Cho SY, Choi KH, Seong JK, Paik YK. Proteomic analysis and molecular characterization of tissue ferritin light chain in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2002; 35: 1459-1466
- 19 Melle C, Ernst G, Scheibner O, Kaufmann R, Schimmel B, Bleul A, Settmacher U, Hommann M, Claussen U, von Eggeling F. Identification of specific protein markers in microdissected hepatocellular carcinoma. *J Proteome Res* 2007; 6: 306-315
- 20 Yoon GS, Lee H, Jung Y, Yu E, Moon HB, Song K, Lee I. Nuclear matrix of calreticulin in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2000; 60: 1117-1120
- 21 Yi X, Luk JM, Lee NP, Peng J, Leng X, Guan XY, Lau GK, Beretta L, Fan ST. Association of mortalin (HSPA9) with liver cancer metastasis and prediction for early tumor recurrence. *Mol Cell Proteomics* 2008; 7: 315-325
- 22 Zeindl-Eberhart E, Haraida S, Liebmann S, Jungblut PR, Lamer S, Mayer D, Jager G, Chung S, Rabes HM. Detection and identification of tumor-associated protein variants in human hepatocellular carcinomas. *Hepatology* 2004; 39: 540-549
- 23 Yang ZF, Ho DW, Lam CT, Luk JM, Lum CT, Yu WC, Poon RT, Fan ST. Identification of brain-derived neurotrophic factor as a novel functional protein in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2005; 65: 219-225
- 24 Yokoyama Y, Kuramitsu Y, Takashima M, Iizuka N, Toda T, Terai S, Sakaida I, Oka M, Nakamura K, Okita K. Proteomic profiling of proteins decreased in hepatocellular carcinoma from patients infected with hepatitis C virus. *Proteomics* 2004; 4: 2111-2116
- 25 Takashima M, Kuramitsu Y, Yokoyama Y, Iizuka N, Toda T, Sakaida I, Okita K, Oka M, Nakamura K. Proteomic profiling of heat shock protein 70 family members as biomarkers for hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *Proteomics* 2003; 3: 2487-2493
- 26 Kim W, Oe Lim S, Kim JS, Ryu YH, Byeon JY, Kim HJ, Kim YI, Heo JS, Park YM, Jung G. Comparison of proteome between hepatitis B virus- and hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 5493-5500
- 27 Sun W, Xing B, Sun Y, Du X, Lu M, Hao C, Lu Z, Mi W, Wu S, Wei H, Gao X, Zhu Y, Jiang Y, Qian X, He F. Proteome analysis of hepatocellular carcinoma by two-dimensional difference gel electrophoresis: novel protein markers in hepatocellular carcinoma tissues. *Mol Cell Proteomics* 2007; 6: 1798-1808
- 28 Ward DG, Cheng Y, N'Kontchou G, Thar TT, Barget N, Wei W, Martin A, Beaugrand M, Johnson PJ. Preclinical and post-treatment changes in the HCC-associated serum proteome. *Br J Cancer* 2006; 95: 1379-1383
- 29 Li C, Hong Y, Tan YX, Zhou H, Ai JH, Li SJ, Zhang L, Xia QC, Wu JR, Wang HY, Zeng R. Accurate qualitative and quantitative proteomic analysis of clinical hepatocellular carcinoma using laser capture microdissection coupled with isotope-coded affinity tag and two-dimensional liquid chromatography mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics* 2004; 3: 399-409
- 30 Omenn GS. Strategies for plasma proteomic profiling of cancers. *Proteomics* 2006; 6: 5662-5673
- 31 Steel LF, Shumpert D, Trotter M, Seeholzer SH, Evans AA, London WT, Dwek R, Block TM. A strategy for the comparative analysis of serum proteomes for the discovery of biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Proteomics* 2003; 3: 601-609
- 32 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
- 33 Poon TC, Yip TT, Chan AT, Yip C, Yip V, Mok TS, Lee CC, Leung TW, Ho SK, Johnson PJ. Comprehensive proteomic profiling identifies serum proteomic signatures for detection of hepatocellular carcinoma and its subtypes. *Clin Chem* 2003; 49: 752-760
- 34 Lee IN, Chen CH, Sheu JC, Lee HS, Huang GT, Chen DS, Yu CY, Wen CL, Lu FJ, Chow LP. Identification of complement C3a as a candidate biomarker in human chronic hepatitis C and HCV-related hepatocellular carcinoma using a proteomics

■同行评价

本文内容全面, 可读性较强, 但各部分内容之间缺少有机的联系。

- approach. *Proteomics* 2006; 6: 2865-2873
- 35 Yang MH, Tyan YC, Jong SB, Huang YF, Liao PC, Wang MC. Identification of human hepatocellular carcinoma-related proteins by proteomic approaches. *Anal Bioanal Chem* 2007; 388: 637-643
- 36 Ward DG, Cheng Y, N'Kontchou G, Thar TT, Barget N, Wei W, Billingham LJ, Martin A, Beaugrand M, Johnson PJ. Changes in the serum proteome associated with the development of hepatocellular carcinoma in hepatitis C-related cirrhosis. *Br J Cancer* 2006; 94: 287-292
- 37 Zinkin NT, Grall F, Bhaskar K, Otu HH, Spentzos D, Kalmowitz B, Wells M, Guerrero M, Asara JM, Libermann TA, Afdhal NH. Serum proteomics and biomarkers in hepatocellular carcinoma and chronic liver disease. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 470-477
- 38 Le Naour F, Brichory F, Misek DE, Brechot C, Hanash SM, Beretta L. A distinct repertoire of autoantibodies in hepatocellular carcinoma identified by proteomic analysis. *Mol Cell Proteomics* 2002; 1: 197-203
- 39 Takashima M, Kuramitsu Y, Yokoyama Y, Iizuka N, Harada T, Fujimoto M, Sakaida I, Okita K, Oka M, Nakamura K. Proteomic analysis of autoantibodies in patients with hepatocellular carcinoma. *Proteomics* 2006; 6: 3894-3900
- 40 Hunt SM, Thomas MR, Sebastian LT, Pedersen SK, Harcourt RL, Sloane AJ, Wilkins MR. Optimal replication and the importance of experimental design for gel-based quantitative proteomics. *J Proteome Res* 2005; 4: 809-819
- 41 Rai AJ, Gelfand CA, Haywood BC, Warunek DJ, Yi J, Schuchard MD, Mehig RJ, Cockrill SL, Scott GB, Tammen H, Schulz-Knappe P, Speicher DW, Vitzthum F, Haab BB, Siest G, Chan DW. HUPO Plasma Proteome Project specimen collection and handling: towards the standardization of parameters for plasma proteome samples. *Proteomics* 2005; 5: 3262-3277

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志修回稿须知

本刊讯 为了保证作者来稿及时发表,同时保护作者与世界华人消化杂志的合法权益,本刊对修回稿要求如下。

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表,所有作者均符合作者条件,所有作者均同意该文代表其真实研究成果,保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系,修改并最终审核核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信,保证无泄密,如果是几个单位合作的论文,则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版版权转让给本刊编辑部。

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后,认为内容需要修改、补充或删除时,本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改,而作者必须于15 d内将修改后的稿件及光盘寄回编辑部,同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统;逾期寄回的,作重新投稿处理。

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权,文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流,但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年;卷(期);起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动,须经得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意,其编辑版权属本刊所有。编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布;作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录。(常务副总编辑:张海宁 2008-08-08)