

# WCX磁珠联合MALDI-TOF-MS技术在结直肠癌诊断中的应用

王秀丽, 高春芳, 范乃军

## ■背景资料

结直肠癌的诊断及治疗发生了很大改进,但其发病率和死亡率并未发生根本的变化,主要原因在于缺乏高灵敏度、特异度的早期诊断方法。蛋白质组学具有高通量、高灵敏度等技术优势,为肿瘤早期诊断的研究开拓了新的视野。

王秀丽, 高春芳, 范乃军, 中国人民解放军第150中心医院全军肛肠外科研究所 河南省洛阳市 471000

王秀丽, 副主任技师, 主要从事细胞分子生物学以及消化系统肿瘤的早期诊断研究。

作者贡献分布: 王秀丽与范乃军对此文所作贡献均等; 此课题由高春芳设计; 研究过程和数据分析由王秀丽与范乃军完成; 本论文写作由王秀丽与范乃军完成。

通讯作者: 高春芳, 教授, 471000, 河南省洛阳市涧西区华夏西路2号, 中国人民解放军第150中心医院全军肛肠外科研究所。chunfanggao@126.com

电话: 0379-64169372

收稿日期: 2012-04-09 修回日期: 2012-05-11

接受日期: 2012-06-01 在线出版日期: 2012-07-18

## Diagnosis of colorectal cancer by MALDI-TOF-MS combined with WCX magnetic beads

Xiu-Li Wang, Chun-Fang Gao, Nai-Jun Fan

Xiu-Li Wang, Chun-Fang Gao, Nai-Jun Fan, Institute of Anal-Colorectal Surgery, the 150th Central Hospital of Chinese PLA, Luoyang 471000, Henan Province, China

Correspondence to: Chun-Fang Gao, Professor, Institute of Anal-Colorectal Surgery, the 150th Central Hospital of Chinese PLA, 2 Huaxia West Road, Jianxi District, Luoyang 471000, Henan Province, China. chunfanggao@126.com

Received: 2012-04-09 Revised: 2012-05-11

Accepted: 2012-06-01 Published online: 2012-07-18

## Abstract

**AIM:** To explore the difference in serum proteomic spectra between patients with colorectal cancer and healthy individuals, and to identify the specific protein biomarkers.

**METHODS:** Serum samples collected from 67 colorectal cancer patients and 66 healthy individuals were randomized into model construction group and validation group. Magnetic beads-based weak cation exchange (MB-WCX) kit and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) were used to profile serum proteome. Flex analysis software was used to analyze protein peaks for significant difference. A diagnostic model was then built using ClinproTools 2.2 software and evaluated blindly for reliability.

**RESULTS:** Thirty-three differentially expressed proteins in serum were screened between colorectal cancer patients and healthy individuals, including 25 up-regulated proteins and 8 down-regulated ones. Five proteins (759, 3316, 4645, 4248, and 2645 Da) were used for building a ClinProt model which was able to classify colorectal cancer patients and healthy individuals with a sensitivity of 94.12% (32/34) and a specificity of 96.97% (32/33). A double blind validation test showed that the ClinProt model yielded a sensitivity of 93.94 (31/33) and a specificity of 96.97% (32/33).

**CONCLUSION:** Combination of MALDI-TOF-MS with WCX kit allows to directly screen proteins differentially expressed in the serum of patients with colorectal cancer, and these proteins can be used to diagnose early-stage colorectal cancer.

**Key Words:** Colorectal cancer; Proteomics; Magnetic beads; Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry

Wang XL, Gao CF, Fan NJ. Diagnosis of colorectal cancer by MALDI-TOF-MS combined with WCX magnetic beads. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(20): 1900-1905

## 摘要

**目的:** 比较结直肠癌与正常人血清蛋白质谱的变化, 筛选特异性蛋白标志物, 建立结直肠癌诊断分类树模型。

**方法:** 收集血清样本133例(其中结直肠癌67例, 正常人66例), 随机分为建模组和验证组。运用弱阳离子纳米磁珠(magnetic bead-weak cation exchange, MB-WCX)联合基质辅助激光解吸离子飞行质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS), 建立结直肠癌与正常人血清蛋白质谱。用Flex Analysis 2.4软件收集数据, 应用ClinproTools 2.2软件对建模组34例结直肠癌和33例正常人血清差异蛋白质谱进行定量分析, 应用Genetic Algorithm

## ■同行评议者

何敏, 教授, 广西医科大学医学科学实验中心

算法建立结直肠癌诊断模型,应用所获取的诊断模型对验证组样本(33例结直肠癌和33例正常人)进行分类诊断,以评价诊断模型的诊断价值。

**结果:**通过比较分析结直肠癌与正常人血清蛋白质谱,发现共有33个差异蛋白峰( $P<0.05$ ),其中在结直肠癌中表达上调25个,表达下调8个。利用其中5个差异峰( $M_r$ 分别为759, 3 316, 4 645, 4 248, 2 645 Da)建立诊断模型,获得了94.12%(32/34)敏感性和96.97%(32/33)的特异性,经独立样本双盲验证,其灵敏度为93.94%(31/33),特异度为96.97%(32/33)。

**结论:**基于磁珠分离和MALDI-TOF-MS技术能直接检测出结直肠癌患者血清差异表达蛋白,建立的诊断模型具有较高的敏感性和特异性,对提高结直肠癌的诊断具有一定的临床意义。

**关键词:**结直肠癌; 蛋白组学; 纳米磁珠; 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术

王秀丽, 高春芳, 范乃军. WCX磁珠联合MALDI-TOF-MS技术在结直肠癌诊断中的应用. 世界华人消化杂志 2012; 20(20): 1900-1905  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1900.asp>

## 0 引言

结直肠癌是常见恶性肿瘤之一,在北美、澳洲、西欧等地区高发<sup>[1]</sup>。在我国,随着人们生活水平的提高、饮食结构及生活方式的改变,结直肠癌的发病率亦呈上升趋势,与肺癌、胃癌、肝癌、乳腺癌等各种恶性肿瘤一起,成为中国人口的第2大死因<sup>[2]</sup>。早期患者及时手术治疗后5年生存率可到90%以上,但中晚期患者即使行以手术为主的综合治疗,仍有半数以上患者死于局部复发或转移<sup>[3]</sup>。目前,结直肠癌诊断技术虽然大有提高,但仍有半数以上患者在首次就诊时已属中晚期,因此同其他恶性肿瘤一样,早期诊断是提高患者生存率和生活质量的关键<sup>[4]</sup>。

本研究利用弱阳离子纳米磁珠(magnetic bead-weak cation exchange, MB-WCX)联合基质辅助激光解析离子化飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)技术对结直肠癌患者与健康志愿者血清蛋白质谱的变化进行分析对比,旨在发现可用于结直肠癌早期临床诊断的新方法,以期提高早期诊断水平,改善预后。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本项目研究得到我院伦理委员会认证,所纳入病例及健康志愿者知情同意后行标本采集和相关检查。本组结直肠癌患者67例,术后经病理诊断为结直肠癌,其中TNM I期17例, TNM II期60例,男女比例为2.2:1.0,平均年龄56岁 $\pm$ 4.7岁,术前经B超等影像学检查,除外肝转移。同时,收集健康志愿者血清66例,男女比例、年龄等与结直肠癌组差异无统计学意义,经结肠镜、B超等除外肠道、肝脏占位性病变。以上血清标本均由中国人民解放军150中心医院肛肠外科研究所及其门诊提供。按照完全随机化的方法,将结直肠癌患者与健康志愿者分为建模组与验证组,其中,建模组包括结直肠癌34例与健康志愿者33例,验证组健康志愿者与结直肠癌各33例。

采集志愿者清晨空腹静脉全血5 mL(不加抗凝剂),室温静置30 min后,以2 000 r/min离心15 min,将上层血清取出并分装,冻存于-80℃冰箱。实验时,样品常温解冻,待用。结直肠癌患者于术前当日清晨采集。MALDI-TOF-MS(Autoflex-III)、MB-WCX及其缓冲液体系、 $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸( $\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamic acid, HCCA)和混合标肽均购自Bruker公司。乙腈(ACN)、三氟乙酸(TFA)、SPA(Sinapinic acid)、尿素、DTT、CHAPS、Tris-HCl、NaAC等购自美国Sigma公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 WCX纯化多肽:**(1)4℃冰箱取出磁珠试剂盒,取出弱阳离子磁珠悬浮液一管,手动上下摇动,完全混匀磁珠悬浮液,1 min;(2)取出10  $\mu$ L磁珠结合缓冲液(BS)加入200  $\mu$ L样品管中,再加入10  $\mu$ L磁珠及5  $\mu$ L血清,用加样枪上下吸打混匀,避免产生气泡;(3)室温静置5 min,将样品管放入磁珠分离器,使磁珠贴壁1 min,磁珠与悬浮液体分离,用加样枪吸去悬浮液体;(4)加入100  $\mu$ L磁珠清洗缓冲液(WS),在磁珠分离器前后相邻两孔间反复移动样品管10次,使样品管在磁珠分离器上静置,磁珠贴壁,用加样枪吸去悬浮液体,枪头应避免接触到磁珠,避免吸走磁珠,重复本步骤2次;(5)从磁珠分离器上取下样品管,并向样品管中加入5  $\mu$ L磁珠洗脱缓冲液(ES),混匀贴壁的磁珠,反复吸打10次,将样品管放入磁珠分离器,磁珠贴壁2 min,磁珠与悬浮液体充分分离后,将上清液移入干净的0.5 mL样品管(先在管内加入5  $\mu$ L稳定缓冲液(SS),用加样枪小心吸打

## ■ 研发前沿

应用磁珠分离结合MALDI-TOF-MS检测进行比较蛋白质组学研究,可以发现差异蛋白。通过软件分析,建立诊断模板,对疾病的筛查有重要价值,是疾病蛋白质组学研究的热点,但由于所发现的多肽多是低丰度、小分子量蛋白,其鉴定是一项具有挑战性的工作。

## ■相关报道

磁珠结合MALDI-TOF-MS技术已应用于食管癌、乳腺癌、类风湿等疾病诊断研究,通过软件分析,建立了具有较高诊断价值的诊断模型。

表 1 在结直肠癌与健康志愿者血清中差异表达的蛋白

差异蛋白质 荷比(M/Z)	峰曲线下面积(mean ± SD)		P值	在结直肠癌组 的表达变化
	结直肠癌组	健康志愿者		
759	72.04 ± 18.84	36.92 ± 15.49	<0.001	↑
785	47.78 ± 13.39	24.47 ± 10.21	<0.001	↑
797	21.85 ± 17.92	71.68 ± 23.65	<0.001	↓
810	27.66 ± 8.50	16.60 ± 9.31	<0.001	↑
824	13.64 ± 12.26	46.51 ± 16.94	<0.001	↓
1208	3.38 ± 1.91	2.49 ± 0.96	0.0485	↑
1467	27.51 ± 28.71	11.57 ± 8.64	<0.001	↑
1520	5.70 ± 3.87	2.98 ± 1.38	<0.001	↑
1618	38.31 ± 32.68	18.24 ± 11.60	0.00144	↑
1779	4.36 ± 2.14	2.70 ± 1.33	<0.001	↑
1866	12.07 ± 6.66	6.56 ± 4.72	<0.001	↑
2645	0.13 ± 0.24	0.08 ± 0.12	<0.001	↑
2661	42.47 ± 16.21	36.58 ± 20.65	0.0485	↑
2699	1.28 ± 1.33	3.47 ± 2.04	<0.001	↓
2724	2.08 ± 0.83	1.55 ± 0.98	0.00688	↑
3192	4.76 ± 2.18	3.50 ± 1.87	0.0168	↑
3241	15.70 ± 7.99	11.95 ± 10.44	0.0185	↑
3278	0.86 ± 0.41	1.42 ± 0.70	<0.001	↓
3316	0.59 ± 0.28	1.33 ± 0.76	<0.001	↓
3383	6.85 ± 2.56	2.48 ± 1.82	<0.001	↑
3936	2.59 ± 1.09	1.84 ± 1.00	0.00231	↑
3952	8.05 ± 4.83	5.34 ± 3.83	0.00687	↑
4055	7.16 ± 3.66	5.51 ± 4.68	0.0115	↑
4071	4.11 ± 1.53	2.77 ± 1.26	<0.001	↑
4092	26.00 ± 15.57	17.99 ± 8.85	0.0296	↑
4248	1.60 ± 0.70	3.81 ± 1.87	<0.001	↓
4645	13.76 ± 5.56	6.85 ± 4.78	<0.001	↑
5338	10.96 ± 5.72	7.74 ± 4.78	0.0184	↑
4964	7.46 ± 5.78	4.45 ± 5.00	0.00845	↑
5944	0.56 ± 0.53	1.51 ± 1.05	<0.001	↓
6635	0.26 ± 0.40	1.29 ± 1.88	<0.001	↓
7774	13.45 ± 6.46	2.98 ± 3.81	<0.001	↑
9298	16.81 ± 7.33	7.51 ± 6.65	<0.001	↑

混匀); (6)先点1 μL洗脱样品,室温放干后,再点1 μL基质(3 g/L CHCA, 50% ACN, 2% TFA),室温放干,准备质谱分析。

1.2.2 质谱检测与数据采集: 采用Autoflex-III MALDI-TOF-MS仪器,应用线性模式,采集范围为相对分子量范围600-18 000. 应用Flex Analysis 2.4软件收集数据, ClinproTools 2.2软件进行分析,包括质谱图的平滑、衰减及标峰处理,并输出含有质荷比值和峰强度的Excel格式数据,软件自动对数据进行统计学处理,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义. ClinproTools 2.2分析建模组样本质谱图,采用Genetic Algorithm算法建立诊断模板,计算灵敏度与特异度. 用诊断模板对验证组样本进行分组,以评价诊断模板的诊断价值。

## 2 结果

2.1 差异蛋白质定量分析 建立建模组样本(结直肠癌34例,正常人33例)血清蛋白质谱,在分子量600-18 000范围内共检测到70个蛋白峰,代表性蛋白质谱见图1. 比较分析结直肠癌与健康志愿者之间差异蛋白质谱,共发现33个蛋白峰有显著性差异( $P<0.05$ ). 其中在结直肠癌中表达上调峰25个,表达下调峰8个(表1). 从图2可见,以m/z 759, 3 316, 4 645, 4 248和2 645 5个差异蛋白峰为例,这5个质谱峰分别呈明显上调和下调趋势。

2.2 诊断模板的建立 利用ClinproTools 2.2中Genetic Algorithm算法建立了由上述5个差异表达蛋白(Mr分别为759, 3 316, 4 645, 4 248, 2 645

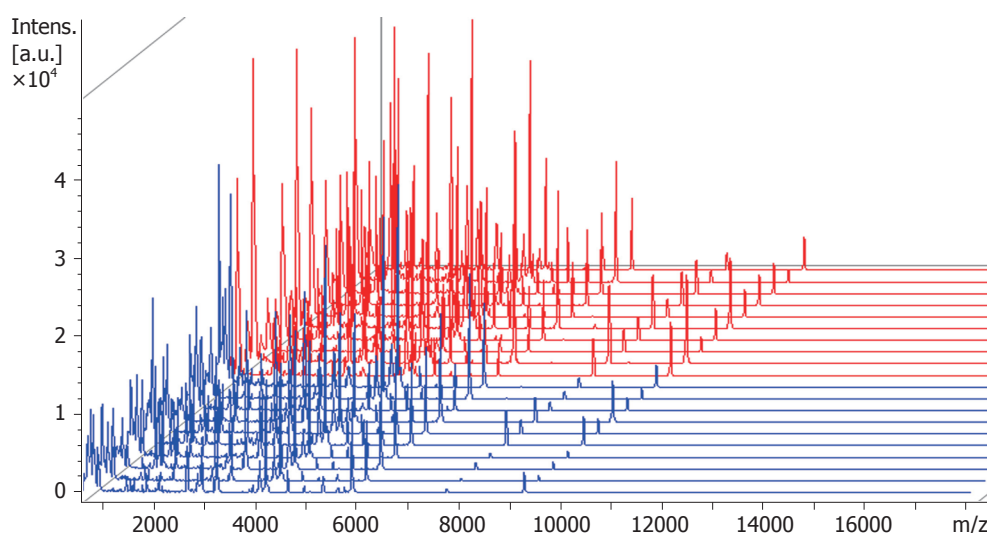


图1 结直肠癌与健康志愿者代表性蛋白质谱. 其中红色代表结直肠癌, 蓝色代表健康志愿者.

#### ■创新盘点

利用磁珠结合MALDI-TOF-MS技术进行结直肠癌的比较蛋白质组学研究, 发现了多个有意义的蛋白, 通过软件分析建立了诊断模板, 通过双盲验证, 评价了诊断模型的临床应用价值.

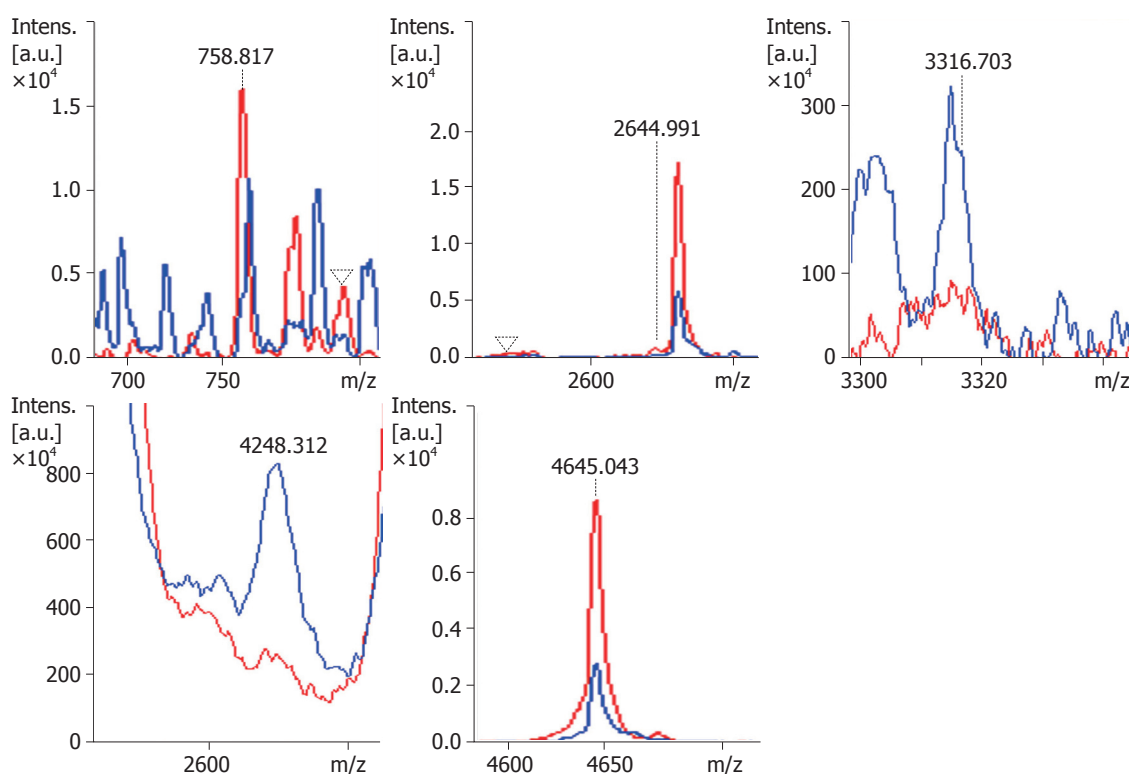


图2 质荷比为758、2645、3316、4248及4645 5个蛋白在结直肠癌中表达变化. 红色代表结直肠癌, 蓝色代表健康志愿者.

Dr)组成的诊断模型, 获得了94.12%(32/34)敏感性和96.97%(32/33)的特异性.

**2.3 诊断模板的评价** 为进一步评价本研究中所建立诊断模板的诊断价值, 我们将利用诊断模板对验证组样本进行双盲验证, 结果显示其灵敏度为93.94%(31/33), 特异度为96.97%(32/33), 约登指数为0.91.

### 3 讨论

结直肠癌为常见的恶性肿瘤之一, 据统计我国

结直肠癌发病率有升高趋势, 严重威胁着人们的身心健康. 患者如获得早期诊断和治疗, 5年生存率将达到90%<sup>[5]</sup>. 遗憾的是, 大部分患者在确诊时已处于进展期或已有转移, 错过了极佳的治疗窗口期. 其原因是在无特异性高的早期诊断方法, 因此从血清中寻求特异生物标志物用于结直肠癌的诊断是临床急需解决的难题. 结直肠癌早期诊断方法如直肠指诊、粪潜血试验、肠黏膜脱落细胞学检查及影像学检查等均不同程度地存在敏感性与特异性不高的问题,

## ■应用要点

磁珠结合MALDI-TOF-MS技术可用于结直肠癌的初步筛查,为血清标志物的发现提供了目标蛋白。

而合适的肿瘤标志物将有利于癌症的检出。目前临床应用最为广泛的结直肠癌相关性肿瘤标志物癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA),敏感性为60.27%,特异性仅为23.2%,其敏感性与特异性较低,临床应用价值有限,目前血清CEA只是对结直肠癌的复发及转移有重要意义<sup>[6]</sup>。

蛋白质组最早由澳大利亚Williams和Wilkins于1994年提出,指的是“一个细胞或组织所表达的全部蛋白质”。蛋白质组学是以蛋白质组为研究对象,从整体水平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,以及蛋白质之间的相互作用与联系,揭示蛋白质功能,从蛋白质水平进一步认识生命活动的机理和疾病发生机制<sup>[7-10]</sup>。由于SELDI-TOF-MS技术本身具有较强的操作依赖性,实验结果可因样品来源和处理条件的不一致或操作过程的非标准化,造成实验结果批次之间或同类样本在不同检测单位之间的平行性与可重复性较差,使实验结果的可信度遭到质疑<sup>[11]</sup>。MALDI-TOF-MS是目前蛋白质组学研究的核心技术,具有高灵敏度、高通量、重复性好等优点,纳米磁珠可以根据蛋白质组分的理化性质不同对蛋白质进行分离提纯,具有较好的重复性,两者结合为疾病蛋白组研究提供了有力的工具,目前已用于食管癌、肾移植、风湿类疾病、酒精中毒及乳腺癌等标志物的研究<sup>[12-17]</sup>。

本研究采用纳米磁珠联合MALDI-TOF-MS技术对34例结直肠癌患者和33例健康志愿者进行了血清蛋白质谱对比分析研究,结果发现有70个蛋白质峰具有判断性差别,其中32个蛋白质峰具有显著性差异( $P<0.05$ )。将两组血清蛋白质谱建立数据库,利用ClinproTools统计软件对数据库进行分析,确立了以m/z为759, 3 316, 4 645, 4 248和2 645等5个蛋白质所组成的模板,能正确地将结直肠癌患者与正常人分组,正确分组率达97%。为进一步评价诊断模板的诊断价值,我们将收集的另外一组样本作为验证组,由建立的诊断模板对验证组样本在双盲的条件下进行分类,结果显示,该模板可以将33例结直肠癌中的31例正确分组,33例正常人中的32例进行正确分组,其灵敏度和特异度分别为93.94%(31/33)和96.97%(32/33),约登指数为0.91,具有较高的诊断价值。

总之,我们采用WCX磁珠结合MALDI质谱对结直肠癌血清蛋白质谱进行了研究,发现了一组差异蛋白质,并建立了具有较高灵敏度和

特异度的诊断模板。所发现的差异蛋白为结直肠癌发生、发展研究提供了新的线索,所建立的诊断模板为结直肠癌的诊断提供了新的有效方法,对提高诊断水平具有重要意义。

## 4 参考文献

- 1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90
- 2 陈万青, 张思维, 郑荣寿, 雷正龙, 李光琳, 邹小农, 赵平. 中国肿瘤登记地区2007年肿瘤发病和死亡分析. *中国肿瘤* 2011; 20: 162-169
- 3 Kanemitsu Y, Kato T, Hirai T, Yasui K, Morimoto T, Shimizu Y, Kadera Y, Yamamura Y. Survival after curative resection for mucinous adenocarcinoma of the colorectum. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 160-167
- 4 Smith RA, Cokkinides V, Brooks D, Saslow D, Shah M, Brawley OW. Cancer screening in the United States, 2011: A review of current American Cancer Society guidelines and issues in cancer screening. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 8-30
- 5 Engwegen JY, Helgason HH, Cats A, Harris N, Bonfrer JM, Schellens JH, Beijnen JH. Identification of serum proteins discriminating colorectal cancer patients and healthy controls using surface-enhanced laser desorption/ionisation-time-of-flight mass spectrometry. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1536-1544
- 6 Duffy MJ, van Dalen A, Haglund C, Hansson L, Holinski-Feder E, Klapdor R, Lamerz R, Peltomaki P, Sturgeon C, Topolcan O. Tumour markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines for clinical use. *Eur J Cancer* 2007; 43: 1348-1360
- 7 Shin S, Cazares L, Schneider H, Mitchell S, Laronga C, Semmes OJ, Perry RR, Drake RR. Serum biomarkers to differentiate benign and malignant mammographic lesions. *J Am Coll Surg* 2007; 204: 1065-1071; discussion 1071-1073
- 8 Issaq HJ, Xiao Z, Veenstra TD. Serum and plasma proteomics. *Chem Rev* 2007; 107: 3601-3620
- 9 Cho WC. Contribution of oncoproteomics to cancer biomarker discovery. *Mol Cancer* 2007; 6: 25
- 10 Ikonomou G, Samiotaki M, Panayotou G. Proteomic methodologies and their application in colorectal cancer research. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2009; 46: 319-342
- 11 Poon TC. Opportunities and limitations of SELDI-TOF-MS in biomedical research: practical advices. *Expert Rev Proteomics* 2007; 4: 51-65
- 12 Sui W, Huang L, Dai Y, Chen J, Yan Q, Huang H. Proteomic profiling of renal allograft rejection in serum using magnetic bead-based sample fractionation and MALDI-TOF MS. *Clin Exp Med* 2010; 10: 259-268
- 13 Liu LH, Shan BE, Tian ZQ, Sang MX, Ai J, Zhang ZF, Meng J, Zhu H, Wang SJ. Potential biomarkers for esophageal carcinoma detected by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 855-861
- 14 Du J, Yang S, Lin X, Bu L, Nan Y, Huo S, Shang W. Use of anchorage-free time-of-flight spectrometry technology to screen tumor biomarker proteins in serum for small cell lung cancer. *Diagn Pathol* 2010; 5: 60
- 15 Dai Y, Hu C, Wang L, Huang Y, Zhang L, Xiao X, Tan Y. Serum peptidome patterns of human sys-

## ■名词解释

MALDI-TOF-MS: 激光解析离子化飞行时间质谱与蛋白质分离纯化技术(磁珠)相结合,经配套软件对结果定量分析,发现疾病差异蛋白,建立诊断模板,并可利用此模板对疾病进行筛查诊断,具有高通量、高灵敏度等技术优势。

- temic lupus erythematosus based on magnetic bead separation and MALDI-TOF mass spectrometry analysis. *Scand J Rheumatol* 2010; 39: 240-246
- 16 Sogawa K, Satoh M, Koderu Y, Tomonaga T, Iyo M, Nomura F. A search for novel markers of alcohol abuse using magnetic beads and MALDI-TOF/TOF mass spectrometry. *Proteomics Clin Appl* 2009; 3: 821-828
- 17 Fan NJ, Gao CF, Zhao G, Wang XL, Liu QY. Serum peptidome patterns of breast cancer based on magnetic bead separation and mass spectrometry analysis. *Diagn Pathol* 2012; 7: 45

#### ■同行评价

本研究利用磁珠结合MALDI-TOF-MS技术发现了一些有意义的蛋白, 对临床上结直肠癌的诊断和治疗提供了一定的参考价值。

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

### • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》正文要求

**本刊讯** 本刊正文标题层次为 0引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: … 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: <sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>1</sup> $P<0.05$ , <sup>2</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>3</sup> $P<0.05$ , <sup>4</sup> $P<0.01$ .  $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t=4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$ , 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5)致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.