

消化液蛋白质组学在消化系统肿瘤诊断中的作用

万勤思, 张焜和

万勤思, 张焜和, 南昌大学第一附属医院消化内科 江西省消化疾病研究所 江西省南昌市 330006

万勤思, 主要从事消化系统肿瘤诊断的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81060197

作者贡献分布: 万勤思完成综述初稿; 张焜和审校修改。

通讯作者: 张焜和, 教授, 主任医师, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科, 江西省消化疾病研究所. yfyzkh@sina.com

收稿日期: 2012-06-29 修回日期: 2012-08-12

接受日期: 2012-09-04 在线出版日期: 2012-09-28

Advances in proteomics of digestive juices for the diagnosis of digestive system malignancies

Qin-Si Wan, Kun-He Zhang

Qin-Si Wan, Kun-He Zhang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Jiangxi Institute of Gastroenterology & Hepatology, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81060197

Correspondence to: Kun-He Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwai Zheng Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. yfyzkh@sina.com

Received: 2012-06-29 Revised: 2012-08-12

Accepted: 2012-09-04 Published online: 2012-09-28

Abstract

Body fluid proteomic analysis is a new technology and strategy for disease diagnosis and treatment. Blood is the most commonly used specimen in body fluid proteomics, but as a systemic fluid, it has limitations because of complex composition and low abundance of disease-related proteins. In contrast, local body fluids are closest to the lesions, contain more pathological information, and therefore are more valuable in clinical proteomics. In the digestive system, there are a variety of body fluids which are considered potential reservoirs of biomarkers for their quality and quantity of proteins will alter during lesions occurring in corresponding organs. In recent years, more and more clinical proteomic analyses of saliva, gastric juice, bile and pancreatic juice has been reported and the proteins related to digestive cancers have been found, and some proteins show application potentials

in cancer diagnosis. However, the proteomic analyses of digestive juices are facing technical challenges in terms of the reproducibility of results and standardization of specimen handling.

Key Words: Digestive juices; Proteomics; Digestive system malignancy; Diagnosis

Wan QS, Zhang KH. Advances in proteomics of digestive juices for the diagnosis of digestive system malignancies. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(27): 2589-2594

摘要

体液蛋白组学分析为疾病诊疗研究提供了新的技术与策略。血液是临床蛋白分析最常用的标本,但其作为一种系统性体液有其不足之处:成分复杂,与疾病相关的蛋白丰度很低,而局部性体液接近病变部位,其蛋白质组学分析能更好地反映疾病相关信息。消化系统产生胃液等多种局部体液,当相关器官发生病变时,相应消化液的蛋白质组成和数量将发生改变,因而消化液被认为是消化疾病标志物库。近年来关于唾液、胃液、胆汁和胰液的蛋白组学研究有不少报道,发现了一些消化系统肿瘤相关蛋白,其中有的显示出良好的诊断应用前景,而结果的重复性、标本处理的标准化等是消化液蛋白组学分析需解决的技术问题。

关键词: 消化液; 蛋白质组学; 消化系统恶性肿瘤; 诊断

万勤思, 张焜和. 消化液蛋白质组学在消化系统肿瘤诊断中的作用. *世界华人消化杂志* 2012; 20(27): 2589-2594

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2589.asp>

0 引言

临床蛋白组学分析为疾病的早期诊断、疗效监测和预后评估研究提供了全新的技术和策略^[1]。应用于临床蛋白组学分析的标本可以是组织或细胞,也可以是体液。组织作为临床蛋白组学分析的标本有不少缺点:一是获取困难,难于常规应用;二是细胞之间的异质性,可影响结果的准确性。相比之下,体液不存在上述缺点,更适合作为临床蛋白组学分析的标本,特别是需要动

■背景资料

蛋白质组学是迄今为止最强大的高通量大规模分析生物样本中各种蛋白质的方法。对临床标本进行蛋白组学分析,是建立临床适用的多靶标高通量检测技术的基础,也是寻找疾病新标志物的重要途径,在疾病的早期诊断、疗效评价和预后评估研究中具有重要意义。

■同行评议者

卢晓梅, 教授, 研究员, 新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院; 何敏, 教授, 广西医科大学医学科学实验中心; 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

临床体液标本取材容易, 适合追踪研究, 比组织细胞标本更具优势, 成为目前临床蛋白组学的主要标本类型, 其中局部体液(如消化液)比系统性体液(如血液)更靠近病变器官, 因此更能够反映病变组织的蛋白质表达改变, 在临床蛋白组学研究颇受人们关注。

态观察时更具优势. 血液是最容易获取的体液标本, 是体液蛋白质组学研究中常用的标本, 但血液作为一种系统性体液, 其成分不但十分复杂, 而且诸如白蛋白、球蛋白等高丰度蛋白占95%以上, 可严重干扰作为疾病标志物的低丰度蛋白的分析^[2]. 消化液(包括唾液、胃液、胆汁、胰液和肠液等)与血液、尿液等系统性体液最大的不同之处是更接近病变部位, 其成分在量和质方面的变化能更好地反映相应器官的病理变化. 近年来, 上述各种消化液(除肠液外)蛋白组学分析均有不少报道, 成为寻找消化系统疾病生物标志物的重要途径, 为消化系统恶性肿瘤的诊断提供了新方法. 现就消化液蛋白组学分析在消化系统恶性肿瘤诊断研究中的进展作一综述.

1 唾液蛋白组学分析与胃癌诊断

唾液是最容易收集的消化液, 收集过程无创, 作为临床蛋白组学分析标本有其独特优势^[3]. 2004年, Vitorino等^[4]报道了人唾液蛋白组学分析, 发现90种蛋白, 鉴定出10种以往在唾液中未见报道的蛋白. 后来Hu等^[5]进行了唾液全蛋白组分析, 鉴定出309种蛋白.

尽管唾液采样简便, 但其成分非常复杂, 其中有来自唾液腺分泌的蛋白, 有来自血清的蛋白, 还有来自口腔微生物的蛋白. Jagtap等^[6]对6个健康人的混合唾液上清进行了多源蛋白组学分析, 显示多肽可来自于链球菌等124种微生物, 蛋白可定位于糖代谢等20个KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes)通路, 显示唾液成分确实比上述其他消化液复杂.

唾液蛋白组学分析主要涉及干燥综合征^[7]、头颈部肿瘤^[8]、牙周病^[9]、乳腺癌^[10]、糖尿病^[11]等, 与消化系统疾病的关系研究较少^[12]. 国内学者Wu^[13]领导的研究小组对良性与恶性胃病患者的唾液蛋白组学进行了较为系统的分析. 他们比较了胃癌患者($n=23$)和正常对照($n=18$)的唾液蛋白组学分析差异, 发现了4种有差异的蛋白峰, 据此建立的诊断模型诊断胃癌的敏感度达95.6%, 特异度100%. 后来他们又对慢性胃炎患者和胃癌患者的唾液标本进行了比较分析^[14], 共得到了77个蛋白质峰, 其中1个具有显著统计学差异(质荷比为: 6 021.72 kDa), 据此建立了判别诊断模型能正确识别71.4%(10/14)的慢性胃炎患者和95.7%(22/23)的胃癌患者. 他们还对胃部疾病(胃癌、慢性胃炎和消化性溃疡)患者的舌

苔与唾液蛋白组学的关系进行了研究^[15], 通过比较正常薄白苔与常见消化系统疾病薄苔、厚苔、剥苔的唾液蛋白组学分析, 发现4个差异显著的蛋白峰, 并据此建立了不同舌苔的分类预测模型, 准确率达85.3%(64/75), 说明察舌辨证有其物质基础与现代科学内涵. 此外, 还有研究显示唾液蛋白组学分析可用于评价食欲^[16].

唾液中虽然含有与临床相关的蛋白和大约30%的血液蛋白, 可以像血液和尿液一样用作临床标本, 但唾液蛋白组学的临床应用却受制于其动态变化性及成分复杂性. Al-Tarawneh等^[12]系统分析了21篇有关唾液蛋白组学研究论文, 共有180个生物标志物, 但除干燥综合征外, 其他各种疾病相关的标志物在不同报道中一致性很差. 唾液中的蛋白组还会随年龄和性别而发生变化^[17]. 因此, 重复性问题成为目前唾液蛋白组学研究的主要问题之一.

2 胃液蛋白组学分析与胃癌诊断

胃液中含有胃黏膜分泌的蛋白质以及胃黏膜及病变组织脱落的蛋白质, 对胃液进行蛋白组学分析, 对于筛查胃癌和发现胃癌标志物具有重要意义. 2004年, Lee等^[18]报道了胃液蛋白组学分析结果, 健康受试者的胃液中有3个主要蛋白质: 胃蛋白酶A、C和胃脂肪酶, 而60%(18/30)的胃癌患者的胃液中没有检测到这3种蛋白; 胃癌患者的胃液成分更复杂, 有更多的蛋白质, 包括胃酶、血清蛋白、免疫球蛋白和 α 1-抗胰蛋白酶(α -1 antitrypsin, ATT), 其中ATT在60%的胃癌患者胃液中可检出, 而只有5%(3/56)的慢性萎缩性胃炎患者的胃液中能检出.

上述胃液蛋白组分析显示出在胃癌诊断中具有良好应用前景, 此后不少学者开展了类似的研究. Hsu等^[19]使用双向凝胶电泳进行了胃液的蛋白质分析, 发现凝胶图可分为3型: 基本型、特异型和非特异型, 其中特异型在健康对照、胃溃疡、十二指肠溃疡和胃癌的阳性率分别为6%、42%、6%和93%, 质谱分析特异型中的主要多肽是ATT. 后来他们通过吞线试验收集胃液^[20], 并用商业化的ELISA试剂盒检测胃液中的ATT, 发现胃癌患者胃液中的ATT水平($1\ 560\ \mu\text{g/dL} \pm 7\ \mu\text{g/dL}$)明显高于健康对照($36\ \mu\text{g/dL} \pm 7\ \mu\text{g/dL}$)、胃溃疡($562\ \mu\text{g/dL} \pm 92\ \mu\text{g/dL}$)和十二指肠溃疡($90\ \mu\text{g/dL} \pm 23\ \mu\text{g/dL}$), 诊断胃癌的受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线下面积(area under curve, AUC)高达

0.96, 敏感度为96%, 特异度为92%, 且早期胃癌与进展期胃癌之间并无明显差异。

与非胃癌患者相比, 胃癌患者的胃液蛋白组学分析可发现一系列上调和下调的蛋白峰, 直接应用这些蛋白峰提供的信息, 可对胃癌作出诊断. Kon等^[21]对胃癌患者胃液的蛋白组学分析显示有60个上调的蛋白峰和46个下调的峰, 应用差异蛋白峰对胃液标本进行聚类分析, 可将95%(18/19)的胃癌胃液聚在同一类, 75%(27/36)的非胃癌胃液聚在另一类, 其中9例聚类在胃癌组的非癌胃液多为胃癌前病变(腺瘤性息肉1例, 肠上皮化生4例); 这些蛋白峰对胃癌的诊断价值通过一组新病例(胃癌24例, 良性胃病29例)得到进一步验证, 其敏感度为88%, 特异度为93%。

胃是许多消化液的集合部位, 所以胃液中不可避免的含有唾液, 若存在消化道梗阻或十二指肠胃反流的情况, 胃液中还可能含有胰液、胆汁中的成分^[22]. 2010年, Liang等^[23]报道了应用鸟枪蛋白质组学方法建立了含327种蛋白的慢性胃炎胃液蛋白数据库, 其中除胃液中的固有蛋白外, 确实存在唾液蛋白成分(如唾液淀粉酶、胰抑素)、免疫相关蛋白、胰酶类, 以及血清蛋白(如血色素结合蛋白、转铁蛋白等). 胃腔外的体液成分混入胃液中, 将使胃癌蛋白质组学分析更为复杂。

胃液pH值能够影响胃液中的蛋白酶活性和胃黏膜的功能状态, 由此也会影响胃液的蛋白质构成. 新近Kam等^[24]对不同pH值的胃液进行了蛋白组学分析, 在酸性胃液发现了284个差异蛋白峰, 中性胃液发现347个差异蛋白峰, 其中有265(72.4%)相互重叠, 与中性胃液不同, 酸性胃液的差异蛋白峰主要是多肽, 6个具有潜在价值的胃癌标志物几乎在酸性胃液中检测不到其全长蛋白. 因为胃癌患者多有胃酸缺乏, 这种对中性胃液的蛋白组学技术可能更有助于发现胃癌标志物, 也可能是应对胃液蛋白组学分析技术挑战的策略之一。

3 胆汁蛋白组学分析与胆管癌诊断

胆汁由肝细胞及胆管上皮细胞分泌并在胆道系统内完成输送、贮存、浓缩过程, 其内蕴含丰富的肝脏和胆道疾病相关信息. 早期的胆汁分析发现其中有许多代谢酶, 包括 β -半乳糖苷酶和5'-核苷酸以及免疫球蛋白IgG和IgA^[25,26]. 2004年, Kristiansen等^[27]报道了一例胆管癌患者的胆汁蛋白组学分析结果, 发现了87种蛋白. 后来,

Guerrier等^[28]对胆囊胆汁的蛋白组学分析发现了222种蛋白. 最近Barbhuiya等^[29]对非肿瘤胆汁进行了多重分馏和高分辨率质谱分析, 得到了2 552种蛋白质, 这是迄今为止数量最多的胆汁蛋白质数据, 其中有1 659种蛋白质在之前的胆汁蛋白组学研究中未曾报道过。

对良恶性胆道疾病的胆汁蛋白组进行对比分析, 有可能发现胆管癌的标志物. 2007年, Chen等^[30]对1例胆管癌和1例胆石症的胆汁进行了二维凝胶电泳, 发现了20多种差异表达的蛋白. 后来其他的研究小组相继对胆道疾病患者的胆汁进行了蛋白质组学分析, 获得了一些有意义的发现, 在胆系疾病的诊断中显示出较好的价值^[31]. Farina等^[32]对因胰腺癌所致胆道狭窄的胆汁进行了蛋白组学分析, 共发现了127种蛋白, 其中34种此前未见报道, 通过不同病因的胆道梗阻患者的胆汁的验证分析, 发现其中CEACAM6和粘蛋白在胆管癌和胰腺癌中明显升高. Zabron等^[33]对通过胆汁蛋白组学分析所发现的中性粒细胞明胶酶相关的脂钙蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)进行了ELISA检测, 发现其水平在恶性胆胰疾病中明显高于良性胆胰疾病, ROC曲线下面积达到0.76, 敏感度和特异度分别为94%和55%, 而血清和尿液中的NGAL均无鉴别良恶性胆胰疾病的价值, 且其诊断价值独立于糖类抗原19-9(carbohydrate antigen 19-9, CA19-9), 但与CA19-9联合检测可提高诊断价值, 敏感度达85%, 特异度达82%, 其价值在新收集的良恶性胆胰疾病病例中也得到验证。

根据胆汁蛋白组学分析显示的差异表达蛋白或多肽, 可以建立诊断模型, 用于鉴别不同的胆道疾病. Lankisch等^[34]用毛细管电泳质谱(CE-MS)分析胆总管结石、原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)、胆管癌(cholangiocarcinoma, CC)患者胆汁中的差异表达多肽, 并建立起相应的诊断模型, 其中鉴别胆总管结石与CC/PSC模型的敏感度达93%, 特异度达86%, AUC为0.93, 鉴别CC和PSC的模型敏感度达84%, 特异度达78%, AUC达0.87, 显示胆汁蛋白组学分析对于鉴别良恶性胆道疾病具有良好的价值。

此外, 胆汁蛋白组学分析对了解胆固醇结石的形成机制也有帮助. 张殿彩等^[35]对胆固醇结石患者的胆囊胆汁的泡相和微胶粒相进行蛋白组学对比分析, 为筛选胆汁泡聚集、融合, 胆固醇

■ 相关报道

Hsu等对良恶性胃病患者的胃液蛋白质组进行了比较分析, 通过双向凝胶电泳和质谱分析, 发现胃癌胃液中 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶(ATT)普遍高于良性胃病; 然后他们检测了一批良恶性胃病患者的胃液中的ATT, 诊断胃癌的敏感度为96%, 特异度为92%, 且对早期胃癌同样效果良好。

■创新盘点

本文对近年来唾液、胃液、胰液和胆汁的蛋白组学分析及其临床意义进行了较系统全面的综述,介绍了所取得的重要研究成果,也指出存在的问题,较好地反映国内外消化液蛋白组学分析在消化系统肿瘤诊断方面的研究进展。

结石形成的关键调控蛋白质提供实验基础。

胆汁蛋白组学分析在技术上有其难度,其中高丰度的无关蛋白也是重要的干扰因素。Farina等^[36]对胆汁蛋白组学分析进行了技术层面的探讨,他们收集了1例胰腺癌引起胆道狭窄患者的胆汁,采用梯度加速离心的方法进行分馏,对沉淀和上清液分别进行聚丙烯酰胺凝胶电泳和胶内蛋白消化,再进行质谱分析,发现了812种蛋白,是常规方法发现蛋白质数量的3倍以上,其中许多蛋白与胰腺癌相关,且上清中多于沉淀。Farid等^[37]收集了4例胆管癌患者的胆汁,去除白蛋白和IgG后,再进行鸟枪法蛋白组学分析,总共发现813种蛋白,其中268种存在于3个患者以上。因此,从技术层面改善胆汁的蛋白组学分析对于发现更多的胆胰肿瘤相关蛋白具有重要意义。

4 胰液蛋白组学分析与胰腺癌诊断

胰液中含有丰富的蛋白质,包括消化酶类、炎性及其他分泌性蛋白、脱落性蛋白。Doyle等^[38]通过内镜下胰功能试验,收集了3例无明显胰腺病变患者的胰液进行蛋白组学分析,发现了285种蛋白,在胰泌素刺激前后蛋白质的量可增加1-2倍,但表达谱无明显变化,与已知的胰腺癌胰液蛋白组结果比较,只有小部分重叠,表明胰液可能含有大量的胰腺疾病标志物。由于胰腺癌早期发现困难,预后极差,人们对胰腺癌患者的胰液蛋白组学分析有着强烈的兴趣,以期从中发现有价值的胰腺癌标志物。

2004年,Grønborg等^[39]报道了胰癌患者的胰液蛋白组学分析结果,发现了170种蛋白,包括已知的肿瘤标志物,如CEA与MUC1,胰腺癌过表达的蛋白,如肝癌-小肠-胰腺/胰腺炎相关蛋白(HIP/PAP)和胰钙蛋白2,还发现了一些此前未报道过的胰癌相关蛋白,如肿瘤排斥抗原(pg96)、天青杀素(azurocidin),另有一种与HIP/PAP相似度达85%的新蛋白PAP-2。其后,Tian等^[40]对胰癌和非癌胰液的蛋白质组进行了比较,识别出了24个差异表达蛋白质,其中3个上调的蛋白[基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、癌基因DJ1和 α -1B-糖蛋白前体]得到Western blot的进一步证实,免疫组织化学证实他们在胰癌组织表达也明显增强,阳性率分别为82.4%、72.5%和86.3%,表明胰液蛋白组学分析确是寻找胰腺癌标志物的有效途径。

美国华盛顿大学Brentnall领导的研究小组对胰液蛋白组学进行了较系统的研究^[41],发现了一些胰腺癌相关的蛋白,找到了一种对胰腺癌

癌前病变有较大诊断价值的标志物。他们应用同位素标记的亲标签(ICAT)技术联合质谱分析,定量分析胰液的蛋白种类及其含量^[42],在胰癌患者的胰液中发现105种蛋白,其中30种蛋白的丰度与正常对照相比至少相差2倍以上,发现了许多与胰腺癌相关的蛋白,其中胰岛素样生长因子结合蛋白-2通过Western blot证实胰腺癌患者的胰液和癌组织中均升高。后来他们用同样的方法比较了胰腺炎和正常对照的胰液蛋白组学^[43],共发现72种差异蛋白,差异至少2倍以上者27种,其中19种过表达,8种低表达,27种差异表达蛋白中有9种在胰腺癌的胰液中也表达异常。他们还对胰腺癌癌前病变的胰液蛋白中升高的前梯度蛋白-2(anterior gradient-2, AGR-2)作了进一步研究^[44],制备了该蛋白的特异性单克隆抗体,并建立了ELISA检测方法,结果显示胰液中AGR-2的检测对鉴别胰腺癌前病变与包括胰腺炎在内的胰腺良性病变具有良好的价值,其敏感度达67%,特异度达90%。

我国学者也开展了胰液蛋白组学研究,并重要发现。朱峰等^[45]在胰腺癌胰液中发现一些差异表达蛋白质,其中PRSS 2前蛋白原和PLRP 1的表达增高2倍以上,弹性蛋白酶3B前蛋白原和糜蛋白酶原B前体则相反,表达降低2倍以上,其中弹性蛋白酶3B前蛋白原几乎不表达。Lv等^[46]通过蛋白组学发现胰癌胰液中的运甲状腺素蛋白(transferrin)升高,但其在胰癌细胞系中并无表达,在胰癌组织中只表达于胰岛,且存在明显的组织结构破坏,推测可能系胰癌生长导致组织结构破坏后运甲状腺素蛋白“漏入”胰管。这一发现提示胰癌胰液蛋白组学发现表达升高的蛋白并非都来自胰癌细胞。

胰液蛋白组学分析也存在一些挑战。胰液中含有大量的消化酶,可以消化其中的蛋白,标本收集后处理方式不同可以有不同蛋白组学分析结果,影响结果的重复性,使不同研究者之间的研究结果难以比较。Paulo等^[47]用不同的方法处理胰液标本进行SDS-PAGE,发现多种因素可影响其结果,因此标准化的胰液标本处理是进行蛋白组学分析的重要基础。一些胰癌相关蛋白在正常情况下也有一定水平的表达^[48],因此定量分析也具有重要意义。另外,胰液的收集一般采用逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangio-pancreatography, ERCP),这种有创性胰液标本收集方法也带来一定的限制。

5 结论

由于消化液最靠近病变细胞, 能够充分反映病变组织的蛋白质表达, 标志物浓度将高于血液, 在临床蛋白组学分析中具有优势, 被认为是一个重要的消化疾病标志物库。近年来通过对唾液、胃液、胆汁和胰液的蛋白组学分析, 的确发现了不少有关器官恶性肿瘤的相关性蛋白, 对其中小部分进行了鉴定分析和临床验证分析, 取得了可喜的进展。与此同时, 消化液蛋白质组学研究也存在一些问题: 一是不同研究者之间结果的重复性不好, 这有方法技术层面的原因, 也有标本本身内在因素的影响; 其次在标本取材方面, 除唾液外均存在一定的有创性, 特别是胰液、胆汁需要通过ERCP术取样, 增加了研究的难度。虽然临床蛋白组学的研究成果距实际应用可能还有很长的路要走^[49], 但是相信随着蛋白组学分析技术不断完善和标准化^[50], 对消化液蛋白组学所发现的候选肿瘤标志物不断进行临床验证和筛选, 基于消化液蛋白分析研究的疾病诊断新方法将会不断问世, 为消化系恶性肿瘤的诊断翻开新的一页。

6 参考文献

- Lopez E, Madero L, Lopez-Pascual J, Latterich M. Clinical Proteomics and OMICS clues useful in Translational Medicine Research. *Proteome Sci* 2012; 10: 35. [Epub ahead of print]
- Barbosa EB, Vidotto A, Polachini GM, Henrique T, Marqui AB, Tajara EH. Proteomics: methodologies and applications to the study of human diseases. *Rev Assoc Med Bras* 2012; 58: 366-375
- Dawes C. Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissues. *J Am Dent Assoc* 2008; 139 Suppl: 18S-24S
- Vitorino R, Lobo MJ, Ferrer-Correia AJ, Dubin JR, Tomer KB, Domingues PM, Amado FM. Identification of human whole saliva protein components using proteomics. *Proteomics* 2004; 4: 1109-1115
- Hu S, Xie Y, Ramachandran P, Ogorzalek Loo RR, Li Y, Loo JA, Wong DT. Large-scale identification of proteins in human salivary proteome by liquid chromatography/mass spectrometry and two-dimensional gel electrophoresis-mass spectrometry. *Proteomics* 2005; 5: 1714-1728
- Jagtap P, McGowan T, Bandhakavi S, Tu ZJ, Seymour S, Griffin TJ, Rudney JD. Deep metaproteomic analysis of human salivary supernatant. *Proteomics* 2012; 12: 992-1001
- Baldini C, Giusti L, Ciregia F, Da Valle Y, Giacomelli C, Donadio E, Sernissi F, Bazzichi L, Giannaccini G, Bombardieri S, Lucacchini A. Proteomic analysis of saliva: a unique tool to distinguish primary Sjögren's syndrome from secondary Sjögren's syndrome and other sicca syndromes. *Arthritis Res Ther* 2011; 13: R194
- Jarai T, Maasz G, Burian A, Bona A, Jambor E, Gerlinger I, Mark L. Mass spectrometry-based salivary proteomics for the discovery of head and neck squamous cell carcinoma. *Pathol Oncol Res* 2012; 18: 623-628
- Haigh BJ, Stewart KW, Whelan JR, Barnett MP, Smolenski GA, Wheeler TT. Alterations in the salivary proteome associated with periodontitis. *J Clin Periodontol* 2010; 37: 241-247
- Zhang L, Xiao H, Karlan S, Zhou H, Gross J, Elashoff D, Akin D, Yan X, Chia D, Karlan B, Wong DT. Discovery and preclinical validation of salivary transcriptomic and proteomic biomarkers for the non-invasive detection of breast cancer. *PLoS One* 2010; 5: e15573
- Rao PV, Reddy AP, Lu X, Dasari S, Krishnaprasad A, Biggs E, Roberts CT, Nagalla SR. Proteomic identification of salivary biomarkers of type-2 diabetes. *J Proteome Res* 2009; 8: 239-245
- Al-Tarawneh SK, Border MB, Dibble CF, Bencharit S. Defining salivary biomarkers using mass spectrometry-based proteomics: a systematic review. *OMICs* 2011; 15: 353-361
- Wu ZZ, Wang JG, Zhang XL. Diagnostic model of saliva protein finger print analysis of patients with gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 865-870
- 张晓丽, 王济国, 曹美群, 吴正治. 胃癌与慢性胃炎唾液蛋白质组鉴别诊断模型. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 926-931
- 张晓丽, 王济国, 曹美群, 吴正治. 消化系疾病不同舌苔唾液蛋白质组学的初步研究. *中国中医药科技* 2010; 17: 336-338
- Harden CJ, Perez-Carrion K, Babakordi Z, Plummer SF, Hepburn N, Barker ME, Wright PC, Evans CA, Corfe BM. Evaluation of the salivary proteome as a surrogate tissue for systems biology approaches to understanding appetite. *J Proteomics* 2012; 75: 2916-2923
- Fleissig Y, Reichenberg E, Redlich M, Zaks B, Deutsch O, Aframian DJ, Palmon A. Comparative proteomic analysis of human oral fluids according to gender and age. *Oral Dis* 2010; 16: 831-838
- Lee K, Kye M, Jang JS, Lee OJ, Kim T, Lim D. Proteomic analysis revealed a strong association of a high level of alpha1-antitrypsin in gastric juice with gastric cancer. *Proteomics* 2004; 4: 3343-3352
- Hsu PI, Chen CH, Hsieh CS, Chang WC, Lai KH, Lo GH, Hsu PN, Tsay FW, Chen YS, Hsiao M, Chen HC, Lu PJ. Alpha1-antitrypsin precursor in gastric juice is a novel biomarker for gastric cancer and ulcer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 876-883
- Hsu PI, Chen CH, Hsiao M, Wu DC, Lin CY, Lai KH, Lu PJ. Diagnosis of gastric malignancy using gastric juice alpha1-antitrypsin. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 405-411
- Kon OL, Yip TT, Ho MF, Chan WH, Wong WK, Tan SY, Ng WH, Kam SY, Eng AKH, Ho P, Viner R, Ong HS, Kumarasinghe MP. The distinctive gastric fluid proteome in gastric cancer reveals a multi-biomarker diagnostic profile. *BMC Med Genomics* 2008; 1: 54
- Duraker N, Naci Celik A, Gençler N. The prognostic significance of gastric juice CA 19-9 and CEA levels in gastric carcinoma patients. *Eur J Surg Oncol* 2002; 28: 844-849
- Liang CR, Tan S, Tan HT, Lin Q, Lim TK, Liu Y, Yeoh KG, So J, Chung MC. Proteomic analysis of human gastric juice: a shotgun approach. *Proteomics* 2010; 10: 3928-3931
- Kam SY, Hennessy T, Chua SC, Gan CS, Philp R, Hon KK, Lai L, Chan WH, Ong HS, Wong WK, Lim

■应用要点

通过本文较全面的了解消化液蛋白组学分析与消化系肿瘤诊断方面的有关进展后, 可利用我国临床病人多的优势, 从中选取重要的肿瘤标志物开展临床验证性研究, 也可针对消化液蛋白组学研究存在的问题, 改进技术, 进行更为有效的消化液蛋白组学研究。

■同行评价

该综述提供了消化液蛋白质组学在消化系统肿瘤诊断中的最新进展,较好地反映胃肠病蛋白组学的近期研究成果,内容较为新颖,有一定学术价值。

- KH, Ling KL, Tan HS, Tan MM, Ho M, Kon OL. Characterization of the human gastric fluid proteome reveals distinct pH-dependent protein profiles: implications for biomarker studies. *J Proteome Res* 2011; 10: 4535-4546
- 25 Reuben A. Biliary proteins. *Hepatology* 1984; 4: 46S-50S
- 26 Keulemans YC, Mok KS, de Wit LT, Gouma DJ, Groen AK. Hepatic bile versus gallbladder bile: a comparison of protein and lipid concentration and composition in cholesterol gallstone patients. *Hepatology* 1998; 28: 11-16
- 27 Kristiansen TZ, Bunkenborg J, Gronborg M, Molina H, Thuluvath PJ, Argani P, Goggins MG, Maitra A, Pandey A. A proteomic analysis of human bile. *Mol Cell Proteomics* 2004; 3: 715-728
- 28 Guerrier L, Claverol S, Finzi L, Paye F, Fortis F, Boschetti E, Housset C. Contribution of solid-phase hexapeptide ligand libraries to the repertoire of human bile proteins. *J Chromatogr A* 2007; 1176: 192-205
- 29 Barbhuiya MA, Sahasrabuddhe NA, Pinto SM, Muthusamy B, Singh TD, Nanjappa V, Keerthikumar S, Delanghe B, Harsha HC, Chaerkady R, Jalaj V, Gupta S, Shrivastav BR, Tiwari PK, Pandey A. Comprehensive proteomic analysis of human bile. *Proteomics* 2011; 11: 4443-4453
- 30 Chen B, Dong JQ, Chen YJ, Wang JM, Tian J, Wang CB, Zou SQ. Two-dimensional electrophoresis for comparative proteomic analysis of human bile. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007; 6: 402-406
- 31 Chen CY, Tsai WL, Wu HC, Syu MJ, Wu CC, Shiesh SC. Diagnostic role of biliary pancreatic elastase for cholangiocarcinoma in patients with cholestasis. *Clin Chim Acta* 2008; 390: 82-89
- 32 Farina A, Dumonceau JM, Frossard JL, Hadengue A, Hochstrasser DF, Lescuyer P. Proteomic analysis of human bile from malignant biliary stenosis induced by pancreatic cancer. *J Proteome Res* 2009; 8: 159-169
- 33 Zabron AA, Horneffer-van der Sluis VM, Wadsworth CA, Laird F, Gierula M, Thillainayagam AV, Vlavianos P, Westaby D, Taylor-Robinson SD, Edwards RJ, Khan SA. Elevated levels of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in bile from patients with malignant pancreatobiliary disease. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1711-1717
- 34 Lankisch TO, Metzger J, Negm AA, Vosskuhl K, Schiffer E, Siwy J, Weismüller TJ, Schneider AS, Thedieck K, Baumeister R, Zürgb P, Weissinger EM, Manns MP, Mischak H, Wedemeyer J. Bile proteomic profiles differentiate cholangiocarcinoma from primary sclerosing cholangitis and choledocholithiasis. *Hepatology* 2011; 53: 875-884
- 35 张殿彩, 项建斌, 蔡端, 王丽影, 查锡良. 胆汁泡相与微胶粒相的蛋白质表达谱对比观察. *中华医学杂志* 2008; 88: 3298-3301
- 36 Farina A, Dumonceau JM, Delhay M, Frossard JL, Hadengue A, Hochstrasser DF, Lescuyer P. A step further in the analysis of human bile proteome. *J Proteome Res* 2011; 10: 2047-2063
- 37 Farid SG, Craven RA, Peng J, Bonney GK, Perkins DN, Selby PJ, Rajendra Prasad K, Banks RE. Shotgun proteomics of human bile in hilar cholangiocarcinoma. *Proteomics* 2011; 11: 2134-2138
- 38 Doyle CJ, Yancey K, Pitt HA, Wang M, Bemis K, Yip-Schneider MT, Sherman ST, Lillemoe KD, Goggins MD, Schmidt CM. The proteome of normal pancreatic juice. *Pancreas* 2012; 41: 186-194
- 39 Grønborg M, Bunkenborg J, Kristiansen TZ, Jensen ON, Yeo CJ, Hruban RH, Maitra A, Goggins MG, Pandey A. Comprehensive proteomic analysis of human pancreatic juice. *J Proteome Res* 2004; 3: 1042-1055
- 40 Tian M, Cui YZ, Song GH, Zong MJ, Zhou XY, Chen Y, Han JX. Proteomic analysis identifies MMP-9, DJ-1 and A1BG as overexpressed proteins in pancreatic juice from pancreatic ductal adenocarcinoma patients. *BMC Cancer* 2008; 8: 241
- 41 Chen R, Pan S, Aebersold R, Brentnall TA. Proteomics studies of pancreatic cancer. *Proteomics Clin Appl* 2007; 1: 1582-1591
- 42 Chen R, Pan S, Yi EC, Donohoe S, Bronner MP, Potter JD, Goodlett DR, Aebersold R, Brentnall TA. Quantitative proteomic profiling of pancreatic cancer juice. *Proteomics* 2006; 6: 3871-3879
- 43 Chen R, Pan S, Cooke K, Moyes KW, Bronner MP, Goodlett DR, Aebersold R, Brentnall TA. Comparison of pancreas juice proteins from cancer versus pancreatitis using quantitative proteomic analysis. *Pancreas* 2007; 34: 70-79
- 44 Chen R, Pan S, Duan X, Nelson BH, Sahota RA, de Rham S, Kozarek RA, McIntosh M, Brentnall TA. Elevated level of anterior gradient-2 in pancreatic juice from patients with pre-malignant pancreatic neoplasia. *Mol Cancer* 2010; 9: 149
- 45 朱峰, 吕顺莉, 高军, 龚燕芳, 李兆申. 人胰腺癌胰液蛋白质差异表达分析. *中国肿瘤临床* 2008; 35: 265-268
- 46 Lv S, Gao J, Zhu F, Li Z, Gong Y, Xu G, Ma L. Transferrin, identified by proteomics, is overabundant in pancreatic juice from pancreatic carcinoma and originates from pancreatic islets. *Diagn Cytopathol* 2011; 39: 875-881
- 47 Paulo JA, Lee LS, Wu B, Repas K, Banks PA, Conwell DL, Steen H. Optimized sample preparation of endoscopic collected pancreatic fluid for SDS-PAGE analysis. *Electrophoresis* 2010; 31: 2377-2387
- 48 Paulo JA, Lee LS, Wu B, Banks PA, Steen H, Conwell DL. Mass spectrometry-based proteomics of endoscopically collected pancreatic fluid in chronic pancreatitis research. *Proteomics Clin Appl* 2011; 5: 109-120
- 49 Mischak H. How to get proteomics to the clinic? Issues in clinical proteomics, exemplified by CE-MS. *Proteomics Clin Appl* 2012 Jul 23. [Epub ahead of print]
- 50 Bladergroen MR, Derks RJ, Nicolardi S, de Visser B, van Berloo S, van der Burgt YE, Deelder AM. Standardized and automated solid-phase extraction procedures for high-throughput proteomics of body fluids. *J Proteomics* 2012 Jul 26. [Epub ahead of print]

编辑 李军亮 电编 鲁亚静