

·基础研究·

大肠癌唾液蛋白指纹图谱分子诊断模型研究

贺佐梅¹, 黄飞娟³, 周小青¹, 吴正治^{1,3,4,5*}, 谢梦洲^{1,2*}

(1.湖南中医药大学中医诊断国家重点学科,湖南省2011数字中医药协同创新中心,湖南长沙410007;2.抗肿瘤中药创制技术湖南省工程研究中心,湖南长沙410007;3.广东医学院附属福田医院,广东深圳518033;4.深圳大学第一附属医院,广东深圳518035;5.深圳市老年医学研究所,广东深圳518020)

[摘要] 目的 研究建立大肠癌(colorectal cancer, CRC)唾液蛋白质指纹图谱新型分子诊断模型。方法 采集34例肠癌患者、45例健康志愿者(正常组)的唾液标本,用弱阳离子交换型(WCX)纳米磁珠联合基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)技术进行检测,获得各标本的蛋白指纹图谱。用Biomarker Wizard软件分析所获得的蛋白指纹图谱找出差异蛋白,再用Biomarker Patterns 5.0.2建立鉴别诊断模型。**结果** 共检测到312个肠癌差异蛋白质峰,两组比值大于3(肠癌/正常对照>3,或者正常对照/肠癌>3),其中有37个差异蛋白质峰有统计学意义($P<0.05$);其中有7个差异蛋白质峰肠癌组表达上调,28个差异蛋白质峰肠癌组表达下调,有35个差异蛋白质峰有显著差异($P<0.01$)。筛选建立了由m/z为2 501.26、4 779.95、3 140.39的3个差异蛋白峰组成的肠癌与正常组的诊断模型,该模型的灵敏度和特异度分别为88%(30/34)和98%(44/45);通过交叉验证法进一步验证诊断模型的可靠性,结果该模型的灵敏度和特异度分别为85%(29/34)和88%(37/45)。**结论** 用WCX结合MALDI-TOF-MS技术建立的唾液蛋白诊断模型为肠癌的诊断提供了新途径。

[关键词] 大肠癌;唾液;蛋白质组;分子诊断模型;蛋白指纹图谱;基质辅助激光解析电离飞行时间质谱

[中图分类号] R735.3;R241 **[文献标识码]** A **[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.04.005

Establishment of Saliva Protein Fingerprint Molecular Diagnostic Models for Screening Colorectal Cancer

HE Zuomei¹, HUANG Feijuan³, ZHOU Xiaoqing¹, WU Zhengzhi^{1,3,4,5*}, XIE Mengzhou^{1,2*}

(1. National Key Discipline of TCM Diagnosis, 2011 Collaborative Innovation Center of Digital Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha Hunan 410007, China; 2. Hunan Engineering Research Center for the Technology of Creation & Manufacture of Chinese Medicine for Anti-tumor, Changsha Hunan 410007, China; 3. Futian Affiliated Hospital of Guangdong Medical Institute, Shenzhen, Guangdong 518033, China; 4. The First Affiliated Hospital of Shenzhen University, Shenzhen, Guangdong 518035, China; 5. Shenzhen Institute of Geriatrics, Shenzhen, Guangdong 518020, China)

[Abstract] **Objective** To establish a novel molecular diagnostic model of saliva protein fingerprint in colorectal cancer (CRC) patients. **Methods** Saliva samples from 34 patients with CRC, and 45 healthy people were analyzed by weak cationic-exchange magnetic beads (MB-WCX) and matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) methods. Subsequently, we compared the saliva peptide signatures of the two groups and obtained differently expressed peptides by using of Biomarker Wizard, then establish a diagnostic model to diagnose gastric carcinoma by using of Biomarker Patterns 5.0.2. **Results** 312 differentially expressed protein peaks were detected, the ratio of two groups >3.0 (CRC/control >3.0, or control/ CRC >3.0), including 37 protein peaks were statistically significant ($P<0.05$); 7 peaks were up-regulated, 28 peaks were down-regulated, there were 35 different protein peaks have significant difference ($P<0.01$). Further more, we screened and built a saliva proteomic models with 3 protein molecules m/z 2501.26, 4779.95, 3140.39

[收稿日期] 2016-01-28

[基金项目] 国家自然科学基金项目资助(81273665);湖南中医药大学中医诊断学国家重点学科开放基金项目(201401)。

[作者简介] 贺佐梅,女,硕士,研究方向为中医诊断(消化系统病证结合唾液蛋白质组学研究)。

[通讯作者] * 吴正治,男,博士,教授,博士研究生导师,E-mail: szwz001@163.com。谢梦洲,女,博士,研究生,教授,硕士生导师,E-mail: xiemz64@qq.com。

to distinguish CRC groups and normal groups. The sensitivity of this model was 88% (30/34), and the specificity was 98% (44/45). The reliability of this model was further verified with a sensitivity of 85% (29/34) and a specificity of 88% (37/45) by cross validation method. **Conclusion** Saliva proteomic profiling by using MALDI-TOF-MS combined with WCX technique is a novel potential tool for the clinical diagnosis of CRC.

[Keywords] colorectal cancer; saliva; proteome; molecular diagnostic model; protein fingerprint; matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry

大肠癌(colorectal cancer,CRC)是世界范围内男性和女性第三个常见的癌症^[1],是胃肠道常见的恶性肿瘤,以41-65岁发病率最高^[2]。肠癌如果早期发现5年生存率可达90%,而有转移的进展期大肠癌其5年生存率低于10%^[3]。

内窥镜检查仍然是大肠癌诊断的金标准,虽然内镜设备得到了一次次升级变革,从传统的全结肠电子内镜到放大内镜及染色内镜、窄带内镜(NBI)、自发荧光内镜(AFE)、共聚焦激光显微内镜(CEM)、超声内镜(EUS)、结肠胶囊内镜(CCE)^[4]等各项先进技术在内镜中的应用,提高了分辨率,但仍然价格昂贵且对人体伤害较大,严重限制了大肠癌的早期诊断^[5]。而新近发展起来的大肠癌肿瘤标志物检测,单项指标检测准确率低,多项指标联合检验虽可一定程度上提高检测的准确性,但结果的准确性(<70%)仍不能满足临床诊断肠癌需要,且血液检测亦为有创检测^[6]。目前为止还没有一个快速、准确而又适合于大规模筛查的大肠癌早期诊断方法,因此,寻求一个简便、快速、准确率高的无创检查新方法势在必行。

因此,本研究选用大肠癌患者唾液标本,运用弱阳离子交换型(WCX)纳米磁珠芯片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,拟从唾液蛋白质组学变化探索肠癌分子基础并建立分子诊断模型。

1 临床资料

1.1 病例选择标准

1.1.1 诊断标准 大肠癌诊断标准:有明确的肠镜下活检病理和手术病理学确诊的大肠癌^[7]。

健康人标准:经病史、查体、常规心电图、超声心动图、常规生化检查未发现相关疾病者^[8]。

1.1.2 纳入标准 (1)符合诊断标准而且未经手术和化疗;(2)年龄在20-75岁之间;(3)自愿且能够配合参加的受试对象。以上3项必须全部符合才能纳入。

1.1.3 排除标准 (1)不符合上述诊断标准者;(2)

年龄<20或>75岁者;(3)患有口腔局部及唾液腺的炎症、消化道溃疡、肿瘤及先天性疾病;患有舍格伦综合征、囊性纤维病;患有其他系统严重并发疾病。

1.1.4 质量控制 (1)采用统一诊断标准、统一调查表格、统一调查方法;(2)调查者在调查时严格按照“标准化”执行,减少调查者偏倚,确保资料的一致性和真实性;(3)电子胃镜及病理结果均由1月内三级甲等医院诊断。

1.2 病例来源

本研究共纳入2014年12月-2015年04月在湖南省肿瘤医院肠癌组患者34例,其中直肠癌20例,结肠癌13例,结直肠癌1例;男22例、女12例;年龄26~74岁,中位年龄58岁。正常对照组45例,男28例、女17例;年龄23~72岁,中位年龄52岁,均来自于湖南中医药大学附属第一医院体检科健康自愿者。所有病例均按照纳入标准进行纳入。

2 实验方法

2.1 主要仪器和试剂

蛋白指纹图谱(液体芯片)试剂盒(WCX磁珠、Wash Buffer、Elution Buffer、U9裂解液)及MALDI-TOF-MS(蛋白指纹图谱仪I型),均为湖州赛尔迪生物医药科技有限公司产品,试剂盒批号为K20150501;dH₂O(HPLC级)、CHCA为Sigma公司产品。

2.2 样品收集与预处理

按照本课题专用临床观察表进行临床观察记录。取材前一天晚上临睡前清水漱口三次(不再进食任何食物和药物),采用非刺激性唾液采集方式,第二天晨起漱口前空腹取材。由经过培训的课题组专人取材,前5 min内的唾液自然吞下后开始收集,患者将已经过消毒的无菌小圆柱形棉花含入口中,口腔唾液积聚至一定量后,将该棉花吐入置于冰浴中的15 mL唾液离心管内,4℃下静置1 h后,3 000 r/min,4℃下离心10 min,冰浴上分装在1 mL EP管中,每管200 μL,于-80℃冰箱冷冻保存。实验时取出样本,冰上解冻,所有检测唾液样本均一次冻融。取5 μL唾液加入10 μL U9裂解液,混合孵育

30 min后,加入 185 μL Wash Buffer 稀释(唾液最终上样量为 2.5 μL)。

2.3 纳米磁珠预处理、上样和洗脱

(1)取 WCX 纳米磁珠 50 μL 加入到 200 μL -PCR 管,置于磁铁上孵育 1 min(注意避免由于孵育时间过长导致磁珠结块),去除上清液;(2)再依次加入 100 μL Wash Buffer 洗脱 5 min,在磁铁上孵育 1 min,去除上清液;再重复操作本项步骤一次;(3)向每个装有纳米磁珠的 PCR 管中加入 100 μL 处理好的唾液样品,混匀后,置于室温孵育 30 min,将 PCR 管置于磁铁上孵育 1 min,去除上清液;(4)每管加入 100 μL Wash Buffer 洗脱 5 min,然后将 PCR 管置于磁铁上孵育 1 min,去除上清液;再重复操作本项步骤一次;(5)在 PCR 管中加入 10 μL Elution Buffer 洗脱 5 min(不能少于 5 min),将 PCR 管置于磁铁上孵育 1 min,取 5 μL 上清液移至另一个 PCR 管中;(6)装有 5 μL 上清液的 PCR 管中加入 5 μL CHCA(基质)饱和溶液,充分混匀(混合到样品颜色发灰,而没有明显的沉淀并及时上样),取 2 μL 混合溶液(1 μL 唾液样品+1 μL 基质)加样到 Au/Steel 芯片上,待干后放入仪器读取。

2.4 芯片检测、数据采集和参数设置

采用 MALDI-TOF MS 读取芯片信息。设置激光强度为 190,灵敏度为 5,收集数据的质荷比(m/z)范围为 2 000~25 000 m/z,优化范围为 2 000~15 000 m/z,信号收集位置 40~60,平均每点收集 20 次,收集总点为 100 次。已知多肽标准芯片标

准(all-in-one),激光离子流 0.5。用 Ciphergen Proteinchip Software 3.2.1 软件自动采集数据,纵坐标为峰强度(蛋白相对含量),横坐标为蛋白质质荷比(m/z)。

2.5 数据分析

对位于 2 000~25 000 m/z 峰值,用 Biomarker Wizard 软件过滤噪音。设置初始的噪音过滤值为 5,二次信噪比为 2,以 10%为最小阈值进行聚类,经上述数据预处理后,采用 *t* 检验比较 2 组唾液蛋白质质谱数据(由 Biomarker Wizard 软件完成),找出 2 组之间具有统计学意义的差异表达蛋白质峰。用 Biomarker Pattern Software 5.0.2 采用决策树算法计算出多个变量(m/z 蛋白质质谱峰)变化对两样本的判别价值,确定最佳的筛选模型(即诊断模型)。

3 结果

3.1 数据分析及建立诊断模型

肠癌组、正常对照组两组共 79 份唾液标本,经过标准化后,在相对分子质量为 2 000~25 000 m/z 范围内共检测到 312 个蛋白质峰,两组比值大于 3(肠癌/正常对照>3,或者正常对照/肠癌>3),其中有 37 个差异蛋白质峰有统计学意义($P<0.05$,见表 1),28 个差异蛋白质峰表达下调(典型下调对比图谱,图 1-A、图 1-B),其中有 7 个差异蛋白质峰表达上调(典型上调对比图谱,图 1-C),有 35 个差异蛋白质峰有显著差异($P<0.01$)。

用 Biomarker Pattern Software 5.0.2 采用决策

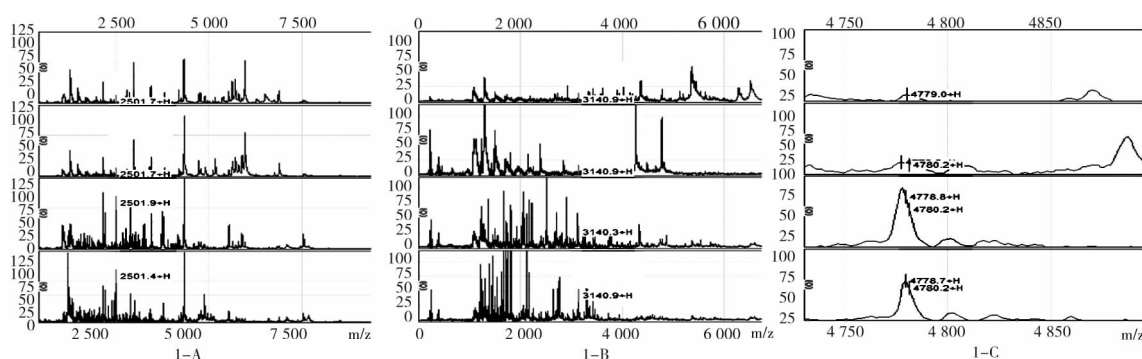


图 1-A: m/z 为 2501 的峰,上第 1、2 幅图为肠癌组,下第 3、4 幅图为正常对照组。与正常对照组相比,肠癌组表达下调。纵坐标为峰强度(蛋白相对含量),横坐标为蛋白质质荷比(m/z)。

图 1-B: m/z 为 3140 的峰,上第 1、2 幅图为肠癌组,下第 3、4 幅图为正常对照组。与正常对照组相比,肠癌组表达下调。纵坐标为峰强度(蛋白相对含量),横坐标为蛋白质质荷比(m/z)。

图 1-C: m/z 为 4779 的峰,上第 1、2 幅图为正常对照组,下第 3、4 幅图为肠癌组。与正常对照组相比,肠癌组表达上调。纵坐标为峰强度(蛋白相对含量),横坐标为蛋白质质荷比(m/z)。

图 1 肠癌组与正常对照组 MALDI 质谱峰图

表1 肠癌组与正常组之间差异有统计学意义的蛋白质峰

序号	m/z	肠癌组 Mean±SD	正常对照组 Mean±SD	肠癌/正常	正常/肠癌	P值	肠癌组上调/下调
1	2 501.261	5.556±10.366	37.875±22.725	0.147	6.817	0	下调
2	2 081.701	1.116±2.845	6.928±3.682	0.161	6.207	0	下调
3	2 524.892	1.375±2.641	6.509±3.852	0.211	4.733	0	下调
4	2 310.254	0.091±1.288	3.734±3.304	0.024	40.981	0	下调
5	3 038.824	1.320±1.500	4.541±2.337	0.291	3.442	0	下调
6	2 895.062	3.840±5.357	23.219±15.853	0.165	6.046	0	下调
7	2 164.949	4.439±9.645	20.805±17.125	0.213	4.687	0	下调
8	2 084.271	1.837±4.230	5.835±4.173	0.315	3.177	0	下调
9	2 168.91	6.021±5.303	21.356±13.262	0.282	3.547	0	下调
10	3 140.392	1.806±3.164	8.157±8.497	0.221	4.517	0	下调
11	2 162.695	4.697±9.925	18.131±15.636	0.259	3.86	0	下调
12	2 106.33	1.180±2.388	4.282±2.211	0.276	3.629	0	下调
13	7 101.905	0.558±0.724	2.996±2.564	0.186	5.365	0	下调
14	3 775.184	2.902±3.827	10.073±7.543	0.288	3.471	0	下调
15	2 079.697	0.933±1.732	4.139±3.578	0.225	4.435	0	下调
16	2 218.836	4.648±7.089	20.580±17.197	0.226	4.428	0	下调
17	2 543.519	1.083±1.502	3.422±2.221	0.316	3.16	0	下调
18	2 507.315	4.825±15.217	15.181±19.886	0.318	3.146	0	下调
19	2 116.181	4.387±6.309	19.951±18.668	0.22	4.547	0	下调
20	2 216.82	3.913±5.662	17.901±19.297	0.219	4.575	0	下调
21	2 562.458	0.628±1.247	2.175±1.243	0.289	3.462	0	下调
22	3 216.282	1.209±1.949	6.449±6.330	0.187	5.334	0	下调
23	2 120.876	1.286±4.049	6.463±8.805	0.199	5.025	0	下调
24	2 516.565	0.843±1.177	2.712±1.911	0.311	3.216	0	下调
25	8 529.283	3.254±3.926	0.763±0.767	4.263	0.235	0	上调
26	4 779.959	16.979±14.273	5.590±3.324	3.037	0.329	0	上调
27	3 747.088	2.568±3.712	9.038±10.086	0.284	3.519	0	下调
28	2 075.476	0.866±2.276	2.692±2.273	0.322	3.107	0	下调
29	2 054.945	1.492±2.390	4.608±4.843	0.324	3.088	0	下调
30	3 031.489	1.531±2.198	4.760±4.523	0.322	3.109	0	下调
31	23 143	0.112±0.125	0.031±0.029	3.613	0.277	0	上调
32	2 276.881	0.474±1.099	1.493±1.439	0.317	3.151	0	下调
33	4 267.418	16.790±20.741	4.879±4.534	3.441	0.291	0.001	上调
34	6 284.271	3.216±3.695	0.789±1.273	4.076	0.245	0.003	上调
35	13 038.71	1.188±1.550	0.293±0.818	4.058	0.246	0.009	上调
36	12 569.13	0.742±0.869	0.181±0.342	4.098	0.244	0.012	上调
37	2 296.236	0.482±1.236	1.553±2.680	0.311	3.22	0.03	下调

树算法计算出多个变量(m/z 蛋白质质谱峰)变化对两样本的判别价值,确定最佳的筛选模型(图2),最终选定 m/z 为 2 501.26、4 779.95、3 140.39 建立大肠癌与正常对照组的判别模型,该模型的灵敏度和特异度分别为 88%(30/34)和 98%(44/45)(表2)。

当满足条件以下条件之一者: ① 2 501.26 m/z ≤ 14.31 且 4 779.95 m/z > 8.82; ② 2 501.26 m/z ≤ 14.31 且 4 779.95 m/z ≤ 8.82、3 140.39 m/z ≤ 3.09, 提示为大肠癌标本;当满足条件以下条件之一者: ① 14.31 且 4 779.95 m/z ≤ 8.82、3 140.39 m/z > 3.09, 提

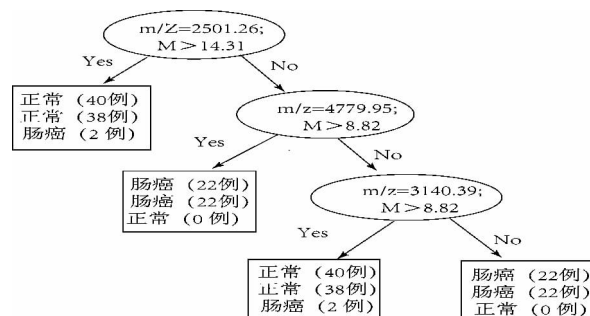


图2 2 501.26、4 779.95 和 3 140.39 三个差异峰组成的诊断模型

表2 所建诊断模型对肠癌的诊断效率(临床回顾检验结果)

组别	例数	正确诊断(例)	错误诊断(例)	正确率(%)
肠癌组	34	30	4	88
正常组	45	44	1	98

示为正常标本。M:质谱峰相对强度。

3.2 诊断模型十字交叉验证

对所建立的大肠癌诊断模型采用十字交叉法进行验证,结果该模型的灵敏度和特异性分别为85%(29/34)和88%(37/45)(表3)。十字交叉验证的ROC曲线值为0.958(图3-A、图3-B),进一步的分析验证了所建立模型的准确性。

表3 所建诊断模型对肠癌的诊断效率(十字交叉验证结果)

组别	例数	正确诊断(例)	错误诊断(例)	正确率(%)
肠癌组	34	29	5	85
正常组	45	37	8	88

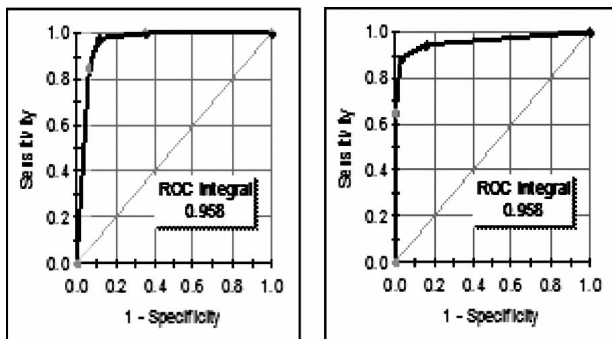


图3-A

图3-B

图3-A,肠癌组十字交叉验证的敏感性、特异性及ROC曲线。横轴坐标为假阳性率(1-特异性),纵坐标为真阳性率(灵敏度)。

图3-B,正常对照组十字交叉验证的敏感性、特异性及ROC曲线。横轴坐标为假阳性率(1-特异性),纵坐标为真阳性率(灵敏度)。

图3 肠癌组与正常对照组的鉴别诊断模型
十字交叉验证的ROC曲线

4 讨论

结直肠癌是常见肿瘤之一,肝脏是结直肠癌最常见、最易发生的转移器官^[9],然而结直肠癌的早期诊断、与肠良性病变的鉴别以及判断是否发生转移尚缺乏有效手段。目前蛋白指纹图谱技术在肠癌的研究主要有:大肠癌与正常人的鉴别诊断、大肠癌无转移与大肠癌肝转移(同时性肝转移/异时性肝转移)的鉴别、大肠良性病变与大肠癌鉴别,以及大肠癌预后模型等。采用蛋白质组学技术进行大肠癌研究,各研究者均得到敏感性、特异性、准确性较高的分子诊断模型,然而,各研究者所筛选得到的差异蛋白

质峰差异很大。大肠癌与正常对照组的差异蛋白对比研究,柳俊刚等^[10]发现 m/z 为3 223.43、7 971.57、11 493.00;崔丹瑜等^[11]发现 m/z 为5 909.5、5 341.2、6 852.8、6 811.3、3 928.6、6 635.8、9 933;林建军等^[12]发现 m/z 为2 870.7、3 084.0、9 180.5、13 748.8;张巍等^[13]发现为2 974.3、282.5、948.2、957.2、982.5、920.6、647.6、661;Liao CC等^[14]发现1 800~16 000 Da范围内的73个峰;Xu W^[15]发现15个差异蛋白(2 900~9 000 Da);周智勇等^[16]发现26个下调蛋白、52个上调蛋白,范围在4 000 Da~1 110 Da。大肠癌无转移与肝转移的差异蛋白对比研究,柳俊刚等发现 m/z 为3 223.43、3 511.88、8 894.49;崔丹瑜等发现在肝转移组 m/z 为7 570.7、7 795.7、7 939.8、8 137.8、8 925.9、9 196.11、814.7、837低表达,而 m/z 为5 813蛋白点高表达。肠良性病变与大肠癌差异蛋白对比研究,Xu W等发现 m/z 为3 570.3、3 101.4、869在腺瘤组高表达,在大肠癌组低表达;张巍等发现 m/z 为3 016.66、172个蛋白点在两组比较中差异显著。李小琼等^[17]对正常组、良性病变组以及(术前)组三者的差异蛋白研究发现7个差异点, m/z 分别为4 955.5、5 325.5、5 890.6、6 615.7、7 739.8、8 109.8、8 575。于新哲等^[18]发现,结直肠癌无转移对比结直肠癌异时性肝转移组,得到0个差异蛋白峰,无统计学差异($P>0.05$);结直肠癌异时性肝转移组对比同时性肝转移组,得到1个差异蛋白峰, $m/z=4 355.26$ ($P<0.05$);由此可见,实验可重复性不足,可能与实验中样品的预处理方法(芯片的种类、厂家、批号等)、试验操作者技能水平、研究者所采取的质谱方法(MALDI、SELDI或其他)、数据分析方法(SVM、留一法等)等不一致有关。

现有研究多针对肠癌患者血液标本或者组织标本的有创检测,受试者依从性差,不利于反复采样、实时动态监测以及人群盲筛推广,具有一定的限制性,不能广泛应用。笔者从无创角度,采用唾液样本进行肠癌的诊断研究,拟取得肠癌早期、无创诊断新方法。唾液取样是一种快速、无创、安全、无痛苦的过程,唾液中大量物质能够很好地反映人体全身状态,是一种生物全息律的具体表现之一。唾液检测可用于自身免疫系统疾病^[19]、内分泌系统疾病^[20]、心理学研究^[21]等各系统疾病的诊断、疗效监测及病情进展的研究,尤其在各系统肿瘤的研究颇多。研究发现大肠癌疾病与唾液中的B型内皮素受体(endothelin receptor type B, EDNRB)量有关联^[22]。因而,本课题设想可通过唾液中的特异生物标志物实现大肠癌的非创诊断。吴正治^[23]等将唾液蛋白质组学技术运用

于中医舌苔原理与微观辨证学的研究,发现不同舌苔与唾液蛋白质组具有相关性,并认为舌苔原理研究的进一步突破,有赖于以分子整体观为基础的技术方法学的突破。唾液由唾液腺产生,是消化系统的重要组成部分。“脾在液为涎,肾在液为唾”,因而中医认为唾液与脾肾密切相关,尤其是与脾胃密切相关。蛋白质是生命活动的表达者,而中医病证各阶段必有蛋白质为物质基础,因此,推断唾液中的某些生物标志物(蛋白质)能够有助于中医脾胃系统病证诊断的研究^[24]。

本实验将 WCX 与 MALDI-TOF-MS 技术相结合,进一步探索肠癌患者唾液差异表达蛋白,发现了 312 个肠癌差异蛋白质峰,两组比值大于 3(肠癌/正常对照>3,或者正常对照/肠癌>3),其中有 37 个差异蛋白质峰有统计学意义($P<0.05$),其中有 7 个差异蛋白质峰肠癌表达上调,28 个差异蛋白质峰肠癌表达下调,有 35 个差异蛋白质峰有显著差异($P<0.01$)。选取 m/z 为 2 501.26、4 779.95、3 140.39 建立肠癌组与正常对照组的判别模型,该模型的灵敏度(88%)和特异度(98%)均高,采用交叉交叉验证,灵敏度和特异度分别为 85%、88%,可见,该模型对肠癌的诊断具有一定的价值。

参考文献:

- [1] Qiao J, Fang CY, Chen SX, et al. Stroma derived COL6A3 is a potential prognosis marker of colorectal carcinoma revealed by quantitative proteomics. *Oncotarget*. 2015 Oct 6; 6 (30):29 929–29 946.
- [2] 康清杰, 向 征. 结肠癌筛查和诊疗的研究进展 [J]. *重庆医学*, 2015,44(28):4 001–4 003.
- [3] 王丽强, 玄延花. 大肠癌早期诊断研究进展[J]. *中国实验诊断学*, 2014,18(8):1 380–1 383.
- [4] 吴 忠. 大肠癌结肠镜检查与分析[J]. *中国药物经济学*, 2015,(1): 137–138.
- [5] 邱云平. 基于色谱质谱联用技术的大肠癌代谢组学研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2008.
- [6] 张 祯, 徐晓莉, 徐 笛. 直肠癌血清肿瘤标志物联合检测的临床意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2015,36(20):3 053–3 054.
- [7] 付晓伶, 张彦博, 王文海. 健脾清肠法对化疗致肠屏障功能障碍的大肠癌患者细胞因子的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2015,30(6):2 171–2 175.
- [8] 万素娟, 王红宇. 健康人 Tp-Te 间期和 Tp-Te/QT 比率的探讨[J]. *实用医技杂志*, 2011,18(2):122–123.
- [9] 孙 敏, 黄 东, 李 恒, 等. 结肠癌肝转移血清蛋白指纹图谱诊断模型的建立及临床应用[J]. *湖北医药学院学报*, 2012,31(3):191–196.
- [10] 柳俊刚. 应用蛋白指纹图谱技术筛选结肠癌及肝转移特异性相关蛋白的初步研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2010.
- [11] 崔丹瑜. 应用蛋白指纹图谱技术对大肠癌及其肝转移蛋白质组的研究[D]. 广州: 第一军医大学, 2007.
- [12] 林建军, 刘池波, 郭仁勇. 基于 WCX 纳米磁珠的血清蛋白指纹图谱模型在大肠癌诊断中的应用 [J]. *中国病理生理杂志*, 2010,26 (11):2 086–2 090.
- [13] 张 巍, 邓明明, 王开正. SELDI 蛋白质芯片技术在结肠癌临床诊断中的应用研究[J]. *泸州医学院学报*, 2010,33(1):5–10.
- [14] Liao CC, Ward N, Marsh S, et al. Mass spectrometry protein expression profiles in colorectal cancer tissue associated with clinico-pathological features of disease [J]. *BMC Cancer*, 2010,10:410.
- [15] Xu W, Chen Y, He W, et al. Protein fingerprint of colorectal cancer, adenomatous polyps, and normal mucosa using ProteinChip analysis on laser capture microdissected cells[J]. *Discov Med*, 2014,17(95):223–231.
- [16] 周智勇. 应用蛋白指纹图谱技术对结肠癌血清蛋白质组的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2012.
- [17] 李小琼. 大肠癌血清差异蛋白质组诊断和预后模型的建立[D]. 泸州: 泸州医学院, 2011.
- [18] 于新哲. 应用 CLINPROT 技术建立早期诊断结肠癌及肝转移预测模型[D]. 上海: 复旦大学, 2010.
- [19] Condò R, Costacurta M, Docimo R. The anti-transglutaminase auto-antibodies in children's saliva with a suspect coeliac disease: clinical study[J]. *Oral Implantol (Rome)*, 2013,6(2): 48–54.
- [20] Mook-Kanamori DO, Selim MM, Takiddin AH, et al, 1,5-Anhydroglucitol in saliva is a noninvasive marker of short-term glycemic control[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014,99(3): 479–483.
- [21] Sigurdsson B, Palsson SP, Aevarsson O, et al, Saliva testosterone and cortisol in male depressive syndrome, a community study. The Sudurnesjamenn Study [J]. *Nord J Psychiatry*, 2014,68(8):579–587.
- [22] Schussel J, Zhou XC, Zhang Z, et al. EDNRB and DCC salivary rinse hypermethylation has a similar performance as expert clinical examination in discrimination of oral cancer/dysplasia versus benign lesions[J]. *Clin Cancer Res*, 2013,19(12): 3 268–3 275.
- [23] 张晓丽, 王济国, 曹美群, 等. 消化系疾病不同舌苔唾液蛋白质组学的初步研究[J]. *中国中医药科技*, 2010,17(4):336–338.
- [24] 谢梦洲, 贺佐梅, 周小青, 等. 唾液检测的应用进展[J]. *湖南中医药大学学报*, 2016,36(2):76–80.

(本文编辑 李 杰)