

MALDI-TOF-MS 在女性生殖道恶性肿瘤诊断中的应用

Application of MALDI-TOF-MS in the diagnosis of malignant tumor of the female genital tract

滕志淳 综述, 傅芬 审阅(南昌大学第二附属医院 妇产科, 江西 南昌 330006)

[摘要] 近年来,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)作为一种新的质谱技术成功检测出许多与疾病相关的新型生物标志物,尤其在肿瘤的诊治方面, MALDI-TOF-MS 可以快速检测出癌症患者体内特异的蛋白表达、辅助制定患者特异性的疗法、预测患者的治疗效果以及是否有复发的可能等。近年来,国内外学者开展了多项 MALDI-TOF-MS 在宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌三大女性生殖道恶性肿瘤中的早期筛查诊断研究,其应用于宫颈癌的蛋白组学诊断已被证实具有实验可行性;其可以检测固态、液态等多种形态样本的特点,为寻求无创早期诊断的子宫内膜癌研究者提供了新的研究方法;其在卵巢癌差异蛋白检测、化疗耐药相关分子检测中发挥了重要作用。但仍存在如何提高 MALDI-TOF-MS 检测的灵敏度以及满足蛋白质组学研究高通量的需要等问题。

[关键词] 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS);女性生殖道恶性肿瘤;子宫内膜癌;卵巢癌;宫颈癌

[中图分类号] R737.3;R730.4

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)04-0468-05

由于经济发展与全民卫生教育的不同步、环境恶化等因素的影响,女性生殖道恶性肿瘤,特别是排名前三位的宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌的发病率在近年明显提高。因此,寻找一种高敏感、高特异性且创伤小的新型检测方法,在肿瘤早期筛查中进行推广,从而实现疾病的早诊断、早治疗,具有重大现实意义。

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)是近些年来蛋白质组学研究中最为热门的质谱技术^[1],目前已经成功运用于筛选出与疾病相关的新型生物标志物,为临床疾病的早期诊断和治疗提供了良好的依据以及更为广阔的空间。

1 MALDI-TOF-MS 技术概况

当个体发生疾病的时候,其自身组织、细胞内的蛋白质成分也将随之发生相应改变。MALDI-TOF-MS 技术主要就是通过快速分析细胞以及组织中的蛋白质荷比的变化来了解细胞所产生的生物学变化^[2]。将组织或细胞与等量的基质混合构成共晶体,经激光照射,共晶体中的基质将样品解吸附并电离,生成带有电荷的蛋白质分子被引入飞行时间质量分析器进行质谱分析。由于离子的质荷比与离子的飞行时间成正比,所以根据各个离子的检测到的飞行时间可以测定其分子质量,并通过专用软件分析,制定出特异的指纹图谱^[3]。

与传统质谱技术相比, MALDI-TOF-MS 适用于

混合物及生物大分子的软电离,具有许多独特的优点:(1)灵敏度高;(2)准确度高,如 Maurer 等^[4]将经 MALDI-TOF-MS 分析获得的头颈部鳞癌的差异蛋白质图谱再次用于单盲测试,发现其准确率高达 96.5%;(3)制备样品的要求低,过程简单,样品中允许有一定量的杂质,如在预处理过程中加入的缓冲剂等浓度控制在一定范围,可不必在分析前除去;(4)检测范围广,可测定相对分子质量在 500 ~ 100 000 大小的多肽及蛋白;(5)可以用于组织切片的直接分析,切片大小要求低,即使是将直径只有几毫米的组织切片放置在 MALDI 的靶板上,向组织样品添加基质后无需任何分离步骤,该组织的分子及空间分布信息即可快速通过质谱分析获得;(6)检测样本多样,可以是血清、血浆、尿液、脑脊液、乳头抽吸液等临床上可直接获得的标本;(7)兼容性好,可以与双向电泳、液相色谱技术以及磁珠技术结合用于蛋白种类分析^[5-6];(8)速度快,高通量检测技术^[7-8]。综合以上的优点, MALDI-TOF-MS 技术更加适合用于临床检验中的大量标本的检测。

2 MALDI-TOF-MS 技术与肿瘤检测诊断

目前很多肿瘤缺乏早期准确的、特异性的诊断方法,大多数患者都是在出现相应临床症状后,再通

[作者简介] 滕志淳(1988-),女,江西省南昌市人,硕士生,主要从事妇产科肿瘤临床及基础研究,E-mail: tzc8877@163.com

[通信作者] 傅芬(Fu Fen, corresponding author), E-mail: fu_fen@163.com

过影像学、血液分析、病理学检查来诊断,延误了最佳的治疗时间,极大的降低了患者的存活率。研究发现,即使是无临床症状的早期癌症患者,其血液、尿液或者其他组织中的蛋白质的种类或数量已悄然改变^[9]。通过早期筛查体液或组织的蛋白差异,及早发现隐性的肿瘤患者,将为肿瘤诊治发挥重要作用。

MALDI-TOF-MS 技术诸多优势的展现,近年来国内外有很多将其运用在一些癌症研究上的成功案例,如乳腺癌^[10]、食管鳞状细胞癌^[11]、胃癌^[12]、肺癌^[9]、肝癌^[13]、膀胱癌^[14]、前列腺癌^[15]等。它可以快速检测出癌症患者体内特异的蛋白表达,与临床上直到患者出现相应病理学改变才能运用影像学检测出来相比,大大提前了诊断时间,提高了患者的生存期,节省了治疗费用,被认为是一种潜在的早期诊断工具,并可以运用于预测制定患者特异性的疗法、预见患者的治疗效果以及是否有复发可能等方面。

3 MALDI-TOF-MS 技术与女性生殖道恶性肿瘤检测诊断

3.1 MALDI-TOF-MS 在宫颈癌诊断中的应用

宫颈癌作为最常见的女性生殖道恶性肿瘤,与高危型人乳头瘤病毒(human papillomaviruses, HPV)的持续感染有紧密联系^[16]。但是,单独检测 HPV 缺乏诊断特异性,目前宫颈癌的诊断、治疗效果及预后复发的评估主要依赖于肿瘤的临床病理参数。随着蛋白质组诊断模式的发展,运用 MALDI-TOF-MS 技术检测宫颈癌患者的特异多肽标志物,为新型早期诊断方法提供更多的选择空间。Zhu 等^[17]采用二维凝胶电泳对 10 对宫颈癌患者的癌灶及癌旁正常组织蛋白进行分离,将差异表达的 55 个蛋白质点通过 MALDI-TOF-MS 进行检测,发现包含 TYK2, S100A9 和锌指蛋白 217 在内的 24 个蛋白质在癌症组织中高表达。另外, Song 等^[18]采用相同方法对宫颈癌与单纯性子宫肌瘤患者的宫颈组织进行比较,发现 20 个在癌症组异常表达上调的蛋白质,经 RT-PCR、Western blot、免疫组化综合检测后,锁定 B-FABP、NCK-1、CDK4 可能作为新的宫颈癌病理肿瘤标志物。以上研究结果表明,通过 MALDI-TOF-MS 技术发现癌症患者活体组织中的异常蛋白具有实验可行性。至于两者实验结果的差异,可能来源于实验步骤中的差异或者试剂使用的不同,也可能出于 MALDI-TOF-MS 技术重现性还需改善的原因。值得指出的是,活体组织蛋白质组学研究虽然较为成熟,但临床上取材较为艰难,检测前

处理较为繁复,不适于临床早期的疾病筛查和诊断,血清蛋白质组的研究渐渐开展开来。Liu 等^[19]通过 PBSII-C 蛋白芯片技术预处理了 85 例宫颈癌组及 80 例健康女性的血清标本,运用 Biomarker Wizard 系统分析获得的指纹图谱,发现两组血清蛋白存在明显差异,经过筛选确定了 3 个相对分子质量分别为 3 974、4 175、5 906 的差异多肽和蛋白,运用这些多肽和蛋白将癌症患者与健康人群分组的灵敏度达 93.3%,特异性达 95%;其中相对分子质量 5 906 的蛋白质与 Liu 早期研究发现的差异蛋白(相对分子质量 5 904.14)相近,这很可能是同一个蛋白质,分子量差异可能与样本预处理方式及分析统计软件的不同有关,这也意味着一个新型潜在生物标志物的发现。此外, MALDI-TOF-MS 还可以用于分析如四乙基铵(TEA)等特定物质的结构等,帮助理解其诱导细胞毒性的机制,并提供潜在的癌症生物标志物,这已经在人宫颈癌细胞 Hela 中得到证实^[20]。虽然 MALDI-TOF-MS 技术具有高效性,但是目前大量的研究都是建立在已知癌症患者,且大多数是晚期癌症患者的取样或者已知肿瘤细胞的研究上,癌症患者的数量及临床分期的限制导致建立出的诊断模型缺乏广泛性,因此暂无研究报道在对照组或者随机取样中检测到隐性癌症患者。继续扩增样本数量,研究早期宫颈癌的质谱图,将更有利于实现肿瘤早期诊断的目标。

3.2 MALDI-TOF-MS 在子宫内膜癌诊断中的应用

分段诊刮术是目前诊断子宫内膜癌最常用、最有价值的检查方法。但因诊刮术属于有创操作,并不属于每年体检常规项目,甚至很多已经出现临床症状的患者因惧怕其有创操作的风险而拒绝或者不配合诊刮,导致筛查工作的难以有效展开。MALDI-TOF-MS 可以检测固态、液态等多种形态的样本,为寻求无创早期诊断的内膜癌研究者提供了新的研究方法。Yang 等^[21]对 21 例恶性子宫内膜及 23 例良性子宫内膜组织蛋白进行分级分离,通过 MALDI-TOF-MS 分析发现两组间存在差异性,其中 CPN10 在恶性子宫内膜组织中高度表达,并用 Western blotting 及免疫组化等方法进一步证实。之后, Qiu 等^[22]人利用 MALDI-TOF-MS 及 ClinProTools 软件对比分析了子宫内膜癌组(30 例)及对照组(30 例)的血清蛋白,确定在坐标 pK 14.1 012.6 及 pK 115.6 052.9 内的 2 种蛋白质有明显差异表达,通过差异明显的多肽和蛋白 m/z 2 902.49、 m/z 5 068.89、 m/z 6 052.9 和 m/z 7 010.58 建立的子宫内膜癌诊断模型灵敏度达 97.62%、特异性达 100%,这证明了

MALDI-TOF-MS 在临床诊断方面的优势及其可行性。其次, MALDI-TOF-MS 的早期筛查可行性在分析子宫内膜病变机制的实验中获得了肯定^[23]。另外, Zhang 等^[24]通过 MALDI-TOF-MS 对比经孕激素治疗和未治疗的子宫内膜腺癌细胞株的蛋白差异, 为孕激素分子机制的进一步调查提供了一定的实验基础, 为子宫内膜癌治疗研究奠定了基础, 也为临床选药、评估患者疗效以及药物治疗靶向提供实验基础。

3.3 MALDI-TOF-MS 在卵巢癌诊断中的应用

作为女性生殖器官恶性肿瘤中死亡率最高的卵巢癌, 由于发病部位隐匿, 早期症状非特异性, 依靠目前双合诊检查、CA-125 及阴道超声相结合的诊断方式, 早期诊断的阳性率只有 30% ~ 45%^[25]。大多数患者发现时已经是临床晚期, 极大地减低了 5 年生存率。现在已有多项实验将 MALDI-TOF-MS 运用于卵巢癌的早期诊断、治疗以及预后判断的研究中。Qiu 等^[26]人利用 MB-WCX 预处理 20 例卵巢癌患者及 20 例健康对照人群血清样本后, 质谱分析并采集血清多肽指纹图谱, 采用 ClinProTools 软件分析获得了 5 个作为两组分类的差异多肽和蛋白, 质荷比分别为 m/z 4 648.21、 m/z 3 886.1、 m/z 9 066.38、 m/z 9 294.03 和 m/z 4 254.71, 其中前四个质峰在癌症组表达升高, 后者在癌症组表达降低。挑选其中质荷比为 m/z 4 648.21 及 m/z 9 294.03 的多肽和蛋白质建立卵巢癌血清诊断模型可以很好地将对卵巢癌患者与健康对照者区分开来。Wu 等^[27]人采用同法预处理 40 例卵巢癌患者及 60 例健康对照组的血清样本, 但在运用 MALDI-TOF-MS 质谱检测时, 将质量范围扩大为 1 000 ~ 50 000 Da, 并删除小于 2 000 Da 的质峰以排除误差, 获得 27 个差异蛋白, 选用其中表达上调明显的 m/z 5 486、 m/z 6 440 和 m/z 13 720 建立卵巢癌血清诊断模型辨别两组患者, 敏感性和特异性分别为 90%、86.7%。以上两人的实验样品预处理方法大致相同, 但由于 Wu 实验中相关参数的修改及优化等处理, 所获得的差异蛋白也不尽相同。在未来扩大样本例数、规范化的研究中, 应该注意保持实验仪器参数设定的一致性, 方便深入探讨所获得的差异蛋白与卵巢癌发生发展之间的关系, 其高表达是肿瘤细胞本身侵袭增殖的显示, 亦或者是本体细胞免疫反应的表达, 增加或减少这两个蛋白质在细胞中的表达, 对临床治疗有无靶向作用提供依据。

目前卵巢癌的化疗主要是采用顺铂及其类似化合物作为药物, 耐药反应往往是卵巢癌患者治疗失

败的主要原因^[28]。虽然一些基因, 如 GST-pi^[29]、XIAP^[30]、BCL-XL^[31]等已与耐药性卵巢癌显示出一些相关性, 但具体机制尚未达到普遍的共识。建立肿瘤抗化疗耐药相关分子的检测将在肿瘤的治疗方案的选择中发挥重要作用。Zhou 等^[32]基于先前的研究及顺铂耐药机制的研究, 通过二维凝胶电泳、MALDI-TOF-MS 和高效液相色谱-电喷雾串联 MS 联合分析人类卵巢癌顺铂耐药细胞株(COC1/DDP), 确定 5 个与顺铂耐药相关、显著改变 COC1/DDP 亲代细胞的差异蛋白点: 角蛋白 9, 角蛋白 1, dUTPase, ADCK 4 和丝切蛋白。且 Zhou 等^[32]通过定量 PCR 和 Western blotting 等方法进一步验证了以上蛋白质的异常表达。Li 等^[33]通过 MALDI-TOF-MS 对人类上皮性卵巢癌耐药细胞株的 22 个蛋白质点进行分析, 其中 16 个蛋白质表达了强度不同的特异性, 并且确定了丝切蛋白 1 在紫杉醇抗性中发挥重要作用。以上两组实验对于丝切蛋白的耐药影响有共同的结果, 为卵巢癌耐药机制的研究奠定了基础, 也为临床选药、评估患者疗效以及药物治疗靶向提供实验基础。另外, 食疗作为新型的辅助治疗的手段越来越被人们所推崇。Ajay 等^[34]通过 MALDI-TOF-MS 检测越蔓莓成分, 发现原花青素的含量明显高于其他水果, 有利于增强卵巢癌患者对于铂类耐药细胞敏感性。这些研究都为卵巢癌耐药机制、靶向治疗等方面的研究扩展新的思路。

卵巢癌的高复发率也是导致其病死率居高不下的主要原因。统计发现, 经初级肿瘤细胞减灭术和化疗等治疗后, 仍有高达 70% 的患者存在复发可能。Wang 等^[35]采用 MB-WCX 预处理了 49 例原发上皮性卵巢癌、21 例经 6 个月综合治疗后复发的卵巢癌、40 例良性妇科肿瘤患者及 40 例健康体检女性的血清样本, 运用 MALDI-TOF-MS 分析获得相应指纹图谱, 以良性组及健康组作为对比标准筛查恶性肿瘤特异蛋白。在原发组中发现 8 个差异蛋白质峰高表达, 根据其建立原发性卵巢癌诊断模型用于盲测的精确度为 87.50%; 而复发组中发现了 10 个差异蛋白高表达, 2 个差异蛋白低表达, 其盲测时准确性达 88.90% 以上。以上研究证明, 运用 MALDI-TOF-MS 及早发现含有高复发率表达蛋白的患者, 从而进行对症适量的治疗, 在当前临床工作中具有必需性及可行性。

4 问题与展望

虽然 MALDI-TOF-MS 显示了很多强大的功能, 但也面临着一系列的挑战, 最突出的问题就是如何

进一步提高 MALDI 检测的灵敏度以及满足蛋白质组学研究高通量的需要。此外,疾病和健康对照在研究中样本数量有限,疾病组大多数为中晚期癌症患者,血清预处理的方法是大多通过使用磁珠和质谱数据的分析,而不是分离出血清混合物样品的真实构成^[36]。在无症状的早期癌症患者的血液中蛋白质或多肽的差异变化也许无法最大程度地发现异常^[37],特异性不高,因此取同一个体的多种体液进行筛选从而确定最适合早期诊断和治疗靶点的媒介日益显现其重要性^[38]。且研究^[39]发现,癌症患者在手术前的体液组成含量与手术后相比有明显差别,故选择手术前后体液进行对比检验,有助于观察术后恢复,或提早准备进一步治疗方案。另外不同学者实验结果中所得到的差异蛋白质荷比往往有所不同,这可能主要是由于样本选取标准、预处理方法、分析软件、人为因素等不同所造成的^[40]。因此有必要在未来的研究中加大规模、集中规范地进行审查以及制定规范化的标准^[41]。最后, MALDI-TOF-MS 还需进一步改造为更低成本、更高效率的检测仪器,作为可以用于临床常规检验加以推广。

[参考文献]

- [1] Pusch W, Kostrzewa M. Application of MALDI-TOF mass spectrometry in screening and diagnostic research [J]. *Curr Pharm Des*, 2005, 11(20): 2577-2591.
- [2] Vestal ML. Modern MALDI time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Mass Spectrom*, 2009, 44(3): 303-317.
- [3] Voortman J, Pham TV, Knol JC, et al. Prediction of outcome of non-small cell lung cancer patients treated with chemotherapy and bortezomib by time-course MALDI-TOF-MS serum peptide profiling [J]. *Proteome Sci*, 2009, 7(1): 34.
- [4] Maurer K, Eschrich K, Schellenberger W, et al. Oral brush biopsy analysis by MALDI-ToF mass spectrometry for early cancer diagnosis [J]. *Oral Oncol*, 2013, 49(2): 152-156.
- [5] Mejias JH, Lu X, Osorio C, et al. Analysis of wheat prolamins, the causative agents of celiac sprue, using reversed phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) and matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) [J]. *Nutrients*, 2014, 6(4): 1578-1597.
- [6] Rana A, Minz RW, Aggarwal R, et al. A comparative proteomic study of sera in paediatric systemic lupus erythematosus patients and in healthy controls using MALDI-OF-TOF and LC MS-A pilot study [J]. *Pediatr Rheumatol Online J*, 2012, 10(1): 24.
- [7] Bryan RT, Wei W, Shimwell NJ, et al. Assessment of high-throughput high-resolution MALDI-TOF-MS of urinary peptides for the detection of muscle-invasive bladder cancer [J]. *Proteomics Clin Appl*, 2011, 5(9/10): 493-503.
- [8] Sogawa K, Watanabe M, Nomura F. Rapid identification of microorganisms using MALDI-TOF mass spectrometry [J]. *Rinsho Byori*, 2013, 61(1): 44-51.
- [9] 安娟,汤传昊,王娜,等. MALDI-TOF 质谱筛查患者血清特异性多肽的探索性研究 [J]. *中国肺癌杂志*, 2013, 16(5): 233-239.
- [10] Fan Y, Wang J, Yang Y, et al. Detection and identification of potential biomarkers of breast cancer [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2010, 136(8): 1243-1254.
- [11] Wan QL, Hou XS, Zhao G. Utility of serum peptidome patterns of esophageal squamous cell carcinoma patients for comprehensive treatment [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(5): 2919-2923.
- [12] Kim HK, Reyzer ML, Choi IJ, et al. Gastric cancer-specific protein profile identified using endoscopic biopsy samples via MALDI mass spectrometry [J]. *J Proteome Res*, 2010, 9(8): 4123-4130.
- [13] Chen XL, Zhou L, Yang J, et al. Hepatocellular carcinoma-associated protein markers investigated by MALDI-TOF MS [J]. *Mol Med Rep*, 2010, 3(4): 589-96.
- [14] Schwamborn K, Krieg RC, Grosse J, et al. Serum proteomic profiling in patients with bladder cancer [J]. *Eur Urol*, 2009, 56(6): 989-996.
- [15] 孙铁成,辛玲,宋黎明,等. 前列腺癌与良性前列腺增生细胞株差异核基质蛋白的鉴定 [J]. *中华男科学杂志*, 2012, 18(7): 583-589.
- [16] 齐淑贞,张国成,张津萍,等. 人乳头瘤病毒高低危基因型感染子宫颈组织的比较蛋白组学分析及其差异 [J]. *中国医学科学院学报*, 2007, 29(5): 597-602.
- [17] Zhu X, Lv J, Yu L, et al. Proteomic identification of differentially-expressed proteins in squamous cervical cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2009, 112(1): 248-256.
- [18] Song JY, Bae HS, Koo do H, et al. Candidates for tumor markers of cervical cancer discovered by proteomic analysis [J]. *J Korean Med Sci*, 2012, 27(12): 1479-1485.
- [19] Liu C, Pan C, Shen J, et al. Discrimination analysis of mass spectrometry proteomics for cervical cancer detection [J]. *Med Oncol*, 2011, 28(1): 553-559.
- [20] Huang L, Huang QY, Huang HQ. The evidence of HeLa cell apoptosis induced with tetraethylammonium using proteomics and various analytical methods [J]. *J Biol Chem*. 2014, 289(4): 2217-2229.
- [21] Yang EC, Guo J, Diehl G, et al. Protein expression profiling of endometrial malignancies reveals a new tumor marker: Chaperonin 10 [J]. *J Proteome Res*, 2004, 3(3): 636-643.
- [22] Qiu F, Gao YH, Jiang CG, et al. Serum proteomic profile analysis for endometrial carcinoma detection with MALDI-TOF MS [J]. *Arch Med Sci*, 2010, 6(2): 245-252.
- [23] Lomnyska MI, Becker S, Gemoll T, et al. Impact of genomic stability on protein expression in endometrioid endometrial cancer [J]. *Br J Cancer*, 2012, 106(7): 1297-1305.
- [24] 张瑜,张怡,林秋华. 孕激素对人工子宫内膜细胞系 Ishikawa 影响的蛋白质组学研究 [J]. *南方医科大学学报*, 2006, 26(8): 1110-1113.
- [25] Nguyen L, Cardenas-Goicoechea SJ, Gordon P, et al. Biomarkers

- for early detection of ovarian cancer [J]. Women's Health, 2013, 9(2): 171-187.
- [26] Qiu F, Liu HY, Dong ZN, et al. Searching for potential ovarian cancer biomarkers with matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. Am J Biomed Sci, 2009, 1(1): 80-90.
- [27] Wu S, Xu K, Chen G, et al. Identification of serum biomarkers for ovarian cancer using MALDI-TOF-MS combined with magnetic beads [J]. Int J Clin Oncol, 2012, 17(2): 89-95.
- [28] Yuan ZQ, Feldman RI, Sussman GE, et al. AKT2 inhibition of cisplatin-induced JNK/p38 and Bax activation by phosphorylation of ASK1: Implication of AKT2 in chemoresistance [J]. J Biol Chem, 2003, 278(26): 23432-23440.
- [29] Lu D, Shi HC, Wang ZX, et al. Multidrug resistance-associated biomarkers PGP, GST-pi, Topo-II and LRP as prognostic factors in primary ovarian carcinoma [J]. Br J Biomed Sci, 2011, 68(2): 69-74.
- [30] Ma JJ, Chen BL, Xin XY. XIAP gene downregulation by small interfering RNA inhibits proliferation, induces apoptosis, and reverses the cisplatin resistance of ovarian carcinoma [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2009, 146(2): 222-226.
- [31] Wong M, Tan N, Zha J, et al. Navitoclax (ABT-263) reduces Bcl-x(L)-mediated chemoresistance in ovarian cancer models [J]. Mol Cancer Ther, 2012, 11(4): 1026-1035.
- [32] Zhou J, Wei YH, Liao MY, et al. Identification of cisplatin-resistance associated genes through proteomic analysis of human ovarian cancer cells and a cisplatin-resistant subline [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2012, 13(12): 6435-6439.
- [33] Li M, Yin J, Mao N, et al. Upregulation of phosphorylated cofilin 1 correlates with taxol resistance in human ovarian cancer in vitro and in vivo [J]. Oncol Rep, 2013, 29(1): 58-66.
- [34] Singh AP, Singh RK, Kim KK, et al. Cranberry proanthocyanidins are cytotoxic to human cancer cells and sensitize platinum-resistant ovarian cancer cells to paraptatin [J]. Phytother Res, 2009, 23(8): 1066-1074.
- [35] Wang Y, Yu JJ, Zhu T, et al. Analysis of differentially expressed protein from primary and recurrent ovarian cancer serum [J]. Asian Pac J Trop Med, 2012, 5(7): 573-576.
- [36] Gatlin CL, White KY, Tracy MB, et al. Enhancement in MALDI-TOF MS analysis of the low molecular weight human serum proteome [J]. J Mass Spectrom, 2011, 46(1): 85-89.
- [37] Timms JF, Cramer R, Camuzeaux S, et al. Peptides generated ex vivo from serum proteins by tumor-specific exopeptidases are not useful biomarkers in ovarian cancer [J]. Clin Chem, 2010, 56(2): 262-271.
- [38] Rajagopal MU, Hathout Y, MacDonald TJ, et al. Proteomic profiling of cerebrospinal fluid identifies prostaglandin D2 synthase as a putative biomarker for pediatric medulloblastoma: A pediatric brain tumor consortium study [J]. Proteomics, 2011, 11(5): 935-943.
- [39] Zhang T, Wu X, Ke C, et al. Identification of potential biomarkers for ovarian cancer by urinary metabolomic profiling [J]. J Proteome Res, 2013, 12(1): 505-512.
- [40] McLerran D, Grizzle WE, Feng Z, et al. Analytical validation of serum proteomic profiling for diagnosis of prostate cancer: Sources of sample bias [J]. Clin Chem, 2008, 54(1): 44-52.
- [41] Tuck MK, Chan DW, Chia D, et al. Standard operating procedures for serum and plasma collection: Early detection research network consensus statement standard operating procedure integration working group [J]. J Proteome Res, 2009, 8(1): 113-117.
- [收稿日期] 2014-01-02 [修回日期] 2014-05-27
- [本文编辑] 黄静怡

· 读者 · 作者 · 编者 ·

参考文献题名后须标注文献类型和文献载体标志代码

本刊参考文献按照国家标准 GB/T 7714-2005《文后参考文献著录规则》的要求进行著录。该国家标准要求,每条文献的题名后都须标上[文献类型标志]或[文献类型标志/文献载体标志]。对纸质文献,如为期刊中析出文献,题名后应标上[J];如为专著中析出文献,题名后应标上[M]。对电子文献,如为网络期刊析出文献,题名后须标上[J/OL];如为网络专著中析出文献,题名后须标上[M/OL]。

现把常用的文献类型标志代码和电子文献载体标志代码介绍如下:

表 1 文献类型和文献载体标志代码

文献类型	标志代码	文献类型	标志代码	载体类型	标志代码
期 刊	J	报 纸	N	磁 带	MT
专 著	M	专 利	P	磁 盘	DK
汇 编	G	标 准	S	光 盘	CD
会 议 录	C	数 据 库	DB	联机网络	OL
学位论文	D	计 算 机 程 序	CP		
报 告	R	电 子 公 告	EB		