

文章编号 1006-8147(2021)01-0094-05

综述

蛋白质组学技术在胃癌研究中的应用

赵珍珍 综述, 邓靖宇 审校

(天津医科大学肿瘤医院胃部肿瘤科, 国家肿瘤临床医学研究中心, 天津市“肿瘤防治”重点实验室, 天津市恶性肿瘤临床医学研究中心, 天津 300060)

摘要 根据世界卫生组织的数据, 胃癌是世界上第三大癌症相关死亡原因。尽管诊断和治疗技术日新月异, 大多数胃癌病例都是进展期确诊的, 治疗效果欠佳, 所以胃癌的早期诊断、早期治疗对于改善胃癌患者的预后非常关键。蛋白质组学正高速发展, 研究显示在基因、细胞、组织、个人和群体水平上表达的人类蛋白质组存在巨大复杂性。近年来, 研究者利用先进的蛋白质组学技术, 将胃癌患者和健康对照者的样本进行差异分析, 寻找新的、可靠的肿瘤标志物, 对胃癌的早期诊断、预后预测和靶向治疗具有重要意义。

关键词 胃癌; 蛋白质组学; 生物标志物

中图分类号 R735.2

文献标志码 A

胃癌是世界范围内发病率和死亡率都很高的疾病, 特别是在东亚地区。来自 2018 年 GLOBOCAN 的数据显示, 全球胃癌新增病例 1 033 701 例, 死亡病例 782 685 例^[1]。目前, 胃癌的早期诊断方法有限, 患者通常在被确诊时已为进展期, 其预后往往较差。因此, 早期诊断是改善患者预后的关键, 这也是许多研究者追求的目标^[2]。生物标志物是指能反映生物体内的生理、生化、免疫和遗传等多方面的分子水平改变的物质, 患者样本(如血液、血浆、唾液和尿液)中生物标志物的水平可以反映患者的健康或疾病状态, 以及对抗癌治疗的反应。由于胃癌的强异质性, 采用蛋白质组学技术发现新的特异性生物标志物, 将可以大大提高患者诊断的敏感性和准确性^[3]。

1994 年, 提出了蛋白质组学的概念, 此后蛋白质组学及其相关技术迅速发展, 在临床生物学的研究中逐渐得到了广泛的应用^[4]。研究者使用各种蛋白分离技术, 如二维凝胶电泳(2-dimensional electrophoresis, 2-DE)、荧光差异双向电泳(two dimension difference gel electrophoresis, 2D-DIGE)、同位素标记相对和绝对定量(isobaric tags for relative and absolute quantification, iTRAQ)、亲水相互作用液相色谱(hydrophilic affinity chromatography, HILIC)筛选新的胃癌生物标志物的潜在靶蛋白, 然后通过蛋白印迹、酶联免疫吸附或免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)方法进一步验证, 可以发掘在恶性肿瘤发生中起关键作用的生物标志物。蛋白质组学

技术广泛用于分离各种复杂的样本, 识别差异表达的蛋白质, 有助于检测与胃癌早期状态和预后相关的分子, 寻找更高敏感性和特异性的胃癌新疗法。本文总结了蛋白质组学的发展过程及其在胃癌的诊断、治疗中的应用。

1 常用的蛋白质组学技术

1.1 2-DE 和荧光差异双向电泳技术 该技术作为一种经典的蛋白质组学技术, 能够定量比较蛋白质, 并在同一凝胶上显示蛋白质的异构体, 是蛋白质组学研究中常用的技术。在 2-DE 中, 先根据蛋白质在一维电泳中的等电点进行分离, 再将蛋白质转移到 SDS-聚丙烯酰胺双向凝胶中, 最后根据相对分子质量进行分离。通过使用 2-DE 技术, 许多研究小组已经成功地从胃癌组织、胃癌细胞株和胃液中检测出肿瘤生物标志物。Repetto 等^[5]利用 2-DE 技术, 对胃癌患者和正常人的血清进行比较, 发现与正常血清相比, 胃癌患者血清纤维蛋白原 β 链(fibrinogen-beta, FGB)表达升高。

2D-DIGE 技术是一种新的蛋白质组学技术, 它通过三色荧光染料分别对内标和生物样本进行标记, 能够在一张 2D 胶上对实验组和对照组两个样本的多种蛋白质进行分离, 并分别单独成像。Suarez 等^[6]利用 2D-DIGE 技术, 发现幽门螺杆菌肽聚糖的修饰增强了核苷酸结合寡聚结构域蛋白 1(nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 1, NOD1)的活性, 完善了胃癌的发生途径。近年来, 2-DE 和 2D-DIGE 技术被广泛应用于胃癌患者的血液、胃液、组织等标本的蛋白分离中, 对于

作者简介 赵珍珍(1997-), 女, 硕士在读, 研究方向: 肿瘤学; 通信作者: 邓靖宇, E-mail: dengery@126.com

胃癌的潜在生物标志物的筛选起到了重要作用。

1.2 表面增强激光解吸电离技术(surface-enhanced laser desorption ionization, SELDI) 该技术最初是由 Hutchens^[7]定义的。它使用特定的探针表面或阵列,有很强的表面亲和力和捕获能力,可以直接分离蛋白质样品,所需进样量少至 0.5 μL ,已广泛应用于胃癌^[8]、结直肠癌^[9]和卵巢癌^[10]等肿瘤的诊断研究。使用 SELDI 和抗体芯片结合 LC-MS/MS 技术, Guda 等^[11]证明胃癌患者血清和组织中迁移抑制因子(migration inhibitory factor, MIF)的表达增加,这一结果由 ELISA 证实。据其他研究小组报道, SELDI-MS 在分析胃癌患者的血清图谱方面,有较高的灵敏度(>90%)和特异度(>80%)^[12-13]。与现有的液相色谱-质谱联用(liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS)和二维凝胶电泳-质谱联用(2-dimensional electrophoresis mass spectrometry, 2-DE-MS)技术相比, SELDI 技术具有多功能、高特异性、方便、快速和经济等优点。基于 SELDI 的蛋白质图谱已经成功地应用于血清、血浆和组织活检等不同诊断样本,辅助胃癌和胃癌相关的生物标志物的鉴定。

1.3 基于磁珠富集的液体芯片技术 液体芯片技术通过使用不同功能的磁珠来分离蛋白质样品,对于血清和其他复杂生物样品的分离有极大的灵活性。该技术中的磁珠与样品之间的总表面接触面积远远大于其他类似技术,使得磁珠和样品很容易充分混合。此外,该技术还具有易于自动化处理、易于定量等优点,便于对有生物标志物潜能的蛋白进一步纯化,使液体芯片系统具有高灵敏度和高重复性。这种技术已经被用来筛选许多恶性肿瘤的血清蛋白,如胰腺癌^[14]和肝癌^[15]。在胃癌方面, Shi 等^[16]使用磁珠纯化和基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)技术在 32 例患者的 64 个样本中筛选潜在的生物标志物,同时采用 30 名健康志愿者作为对照, ELISA 结果显示胃癌患者血清纤维蛋白原 α 链(fibrinogen α -chain, FGA)、胎球蛋白(a 2 -HS-glycoprotein, AHSG)和载脂蛋白 A-I (apolipoprotein A-I, ApoA-I)水平与健康对照组比较差异有统计学意义,对胃癌患者有良好的诊断价值。通过磁珠富集的液体芯片技术,可以更好地了解蛋白质组谱,为今后发现与疾病相关的新的蛋白标志物奠定良好的基础。

1.4 质谱和生物信息学技术电喷雾电离质谱(electrospray ionization mass spectrometry, ESI-MS)和基质

辅助激光解吸质谱(matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry, MALDI-MS)这两种方法是 20 世纪 80 年代末发现的两种电离方法,它们的出现给主要用于小分子研究的传统质谱技术带来了革命性的变化^[17]。电喷雾质谱的优点是它可以与各种分离技术相结合,例如可以与液相色谱-串联质谱相结合来检测大分子^[18]。在液相色谱串联质谱(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)中,复杂的蛋白质样品先用蛋白酶消化,然后用一维或多维色谱预分离,最后用 MS/MS 对肽段混合物进行了分析。LC-MS/MS 弥补了二维聚丙烯酰胺凝胶电泳联合质谱(2 dimensional polyacrylamide gel electrophoresis mass spectrometry, 2D-PAGE-MS)的不足,均匀地区分了高丰度和低丰度蛋白质,而且有很高的自动化水平。因此, LC-MS/MS 可以与多种蛋白质分离技术相结合用以鉴定与胃癌相关的差异蛋白。Jiang 等^[19]将 iTRAQ 和 LC-ESI-MS/MS 技术结合,发现胃癌组织中转移相关蛋白 2(metastasis-associated protein 2, MTA2)和组蛋白脱乙酰酶 1(histone deacetylases1, HDAC1)表达水平与胃癌淋巴结转移密切相关。

基质辅助激光解析电离(matrix-assisted laser desorption ionization, MALDI)的质谱图主要由单电荷离子产生,并由飞行时间(time of flight, TOF)探测器检测,使谱图中的离子与肽或蛋白质的重量之间存在一一对应关系。从理论上说,如果 TOF 管有足够的长度,则 TOF 探测器可以探测到的分子质量数可以是无限的。因此, MALDI-TOF-MS 适用于蛋白质、肽、核苷酸和多糖等生物大分子的分析^[20]。此外,通过适当调整可使 MALDI 技术具有识别翻译后修饰的蛋白质的能力,是鉴定蛋白质最常用的方法。

生物信息学技术在蛋白质组学的样本处理和统计中得到了广泛的应用,通过质谱技术获取有效数据,然后由后台处理软件对数据进行可视化和采集,最后,基于蛋白质表达谱数据建立预测模型。通过与现有蛋白质数据库的比较,可以识别出每个特定的蛋白质组。目前,最常用的蛋白质数据库是 Uniprot (Universal Protein),它整合了 Swiss-Prot、TrEMBL 和 PIR-PSD 数据库,是目前信息最丰富的,资源最广的免费蛋白质数据库^[21]。大规模数据库的建立和蛋白质组学的发展相辅相成,将数据库中丰富的资料和临床研究相结合,是目前的研究热点,且将在未来对胃癌生物标志物的发现起到至关重要的作用。

2 胃癌的蛋白质组学研究的标本来源

2.1 血液 血液是发现胃癌生物标志物的一个重要来源,研究者采集不同分期、不同肿瘤类型的胃癌患者与健康个体的血清标本,利用 iTRAQ、蛋白质芯片阵列、2-DE、2D-DIGE、SELDI、液相芯片等方法提取和分离蛋白质,然后通过质谱和生物信息学进行鉴定,之后用蛋白印迹、酶联免疫吸附或免疫组织化学等方法验证潜在生物标志物的有效性,再将其和常规生物标志物进行敏感性和特异性比较。

近年来,研究者对不同阶段胃癌患者的血清进行 MALDI-TOF-MS 和 2-DE 分析发现了一些生物标志物,其敏感性和特异性优于先前已知的胃癌血清生物标志物[胃蛋白酶原(pepsinogen,PG)、糖类抗原 72-4(carbohydrate antigen 72-4,CA72-4)、糖类抗原 19-9(carbohydrate antigen 19-9,CA19-9)和癌胚抗原(carcinoembryonic antigen,CEA)]^[22-23]。Yoo 等^[13]利用定量蛋白质组学,分析肿瘤组和对照组的血浆成分,发现 4 种蛋白(玻璃连结蛋白、聚集素亚型 1、凝血酶反应蛋白 1 和酪氨酸蛋白激酶)在肿瘤组和正常对照组之间有显著变化,这些蛋白作为胃癌的潜在诊断标志物值得进一步研究。血液标本在临床上易获得,且对患者伤害较小,研究者们利用蛋白质组学技术已经发掘了很多较为可靠的胃癌血清标志物,如果可以在临床上大规模普及,将会极大地提高早期胃癌的检出概率,改善患者预后。

2.2 胃液 胃液在人体中大量存在,它帮助消化过程,是抵御传染病的屏障,也可以作为鉴定生物标志物的来源。近年来,一些研究者将蛋白质组学研究应用于胃液检测,筛选生物标志物,补充现有的诊断工具,促进胃癌的准确和快速的诊断。虽然到目前为止还没有研究发现胃液中存在稳定可靠的早期胃癌生物标志物,但蛋白质组学分析发现胃癌患者与健康人群胃液中的蛋白质生物标志物水平存在显著差异,尤其是胃蛋白酶相关蛋白,如胃蛋白酶原 C、胃蛋白酶 A、 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶和胃蛋白酶原 II,已被证明在胃癌中表达发生了变化^[24]。研究者认为,分析这类蛋白可以帮助准确诊断早期胃恶性肿瘤。Wei 等^[25]运用蛋白质组学技术,对 70 例胃癌患者和 17 例良性胃炎患者的胃液蛋白质组进行定量比较,提出了一种简单的用于早期胃癌检测的生物标志物小组评分矩阵,诊断灵敏度为 95.7%。目前,胃液作为早期胃癌生物标志物的可靠来源的效用尚未得到证实。获取胃液样本会带来一定程度的风险,可接受性也有待商榷。在早期胃癌中,胃液不被

认为是生物标志物的理想来源。然而,特定胃液生物标志物的存在可以进一步帮助评估有症状的患者,有助于明确的诊断。

2.3 组织 研究人员通过手术切除、内窥镜活检、冷冻切片和异种移植小鼠获取胃癌组织,运用 2-DE、蛋白质芯片阵列、ICAT 和 iTRAQ 分析比较胃癌不同分期、不同 HER-2 状态和淋巴结转移(LNM)的区别。近年来,研究者以胃组织为研究对象,应用蛋白质组学,对潜在的胃癌标志物进行了研究,如 Seo 等^[26]研究证明潜在的组织生物标志物,如人表皮生长因子受体-2(human epidermal growth factor receptor 2,HER2)、人中性粒细胞肽 1-3(human neutrophil peptide, HNP1-3)和迁移抑制因子(MIF)在肿瘤组织中过表达,也是有助于胃癌筛查的生物学指标,其中 HER2 被证明是胃癌和乳腺癌的治疗靶点。这些研究表明,通过应用各种蛋白质组学方法对组织标本的检测,有助于发现潜在的生物标志物,促进对胃癌患者更有效的临床评估。

2.4 细胞 近年来,研究者利用细胞系的不同特征来建立全球蛋白质图谱,辅助监测因肿瘤治疗而改变的蛋白质之间的相互作用,他们还建立了非转移性胃癌细胞系 SC-M1 和转移性胃癌细胞系 TMC-1 的定性和定量蛋白质组学图谱,并用 ICAT 和二维 LC-MS/MS 进行分析^[27]。Yumnam 等^[28]应用蛋白质组学技术,在 AGS 胃癌细胞中鉴定了一批潜在的生物标志物。因为胃癌细胞系具有不同的特性,容易根据培养条件、试剂或药物处理以及样品处理而改变,所以为了将这些预测性细胞生物标志物用于临床,需要在临床标本中对这些标志物进行严格的活体评估。

3 蛋白质组学在胃癌研究中的应用

3.1 诊断 早期诊断、早期治疗一直是控制各种肿瘤的重要策略,如胃癌、乳腺癌、肺癌和胰腺癌等^[29-30]。有效的生物标志物可以加速胃癌的早期诊断、早期治疗,减少疾病进展、晚期癌症和死亡的可能性,并增加根治的概率。

评估潜在生物标志物实用性的最佳方法是将其敏感性和特异性与经典的肿瘤生物标志物进行比较。Roointan 等^[31]利用抗体微阵列的肿瘤蛋白质组学技术已经鉴定出一种基于炎性蛋白的胃癌标志物。这一方法还发现了在正常胃黏膜和肿瘤胃黏膜中表达有差异的 21 种蛋白。蛋白质组可以被视为基因组的功能性细胞等价物,更直接影响肿瘤表型、从而影响癌细胞行为的是蛋白质组而不是基因组,所以蛋白质组学在发现生物标志物、提高早期

胃癌的诊断效率方面有明显优势。

3.2 预后 运用蛋白质组学可以发现和胃癌预后相关的生物标志物,监测肿瘤患者手术、放疗或化疗后的肿瘤状态,为进一步的治疗提供参考。

目前胃癌的预后和治疗策略的选择是由肿瘤、淋巴结和转移(TNM)系统等分期方案指导的。胃癌治疗的黄金标准仍然是手术切除,但由于Ⅱ期或Ⅲ期患者疾病进展的风险很大,增加辅助治疗变得重要。胃癌的强异质性使它在临床结果、患者表现和对化疗药物的反应方面有不可避免的变异性。因此,尽管TNM系统在指导胃癌预后方面仍然有用,但许多研究人员试图通过开发准确可靠的生物标志物来预测胃癌的临床结果,从而提高这一框架的准确性^[32]。如Booth等^[33]使用MALDI成像技术分析组织标本,发现CRIP1和HNP-1为胃癌的预后因素。

尽管越来越多的研究表明胃癌中可能的蛋白质生物标志物,TNM分期系统仍然是指导胃癌预后的主要工具。目前尚无临床常规使用的有效预后生物标志物。

3.3 治疗靶点 胃癌的研究重点是改善预后和降低化疗毒性,分子靶向药物治疗可以实现这两个目标。通过蛋白质组学发现胃癌的治疗靶点,可以为患者提供精准的治疗方案,改善患者预后。HER家族是肿瘤治疗的主要靶点之一。该家族有4个相关成员:HER1(ErbB1或EGFR)、HER2(ErbB2)、HER3(ErbB3)和HER4(ErbB4)。HER2是胃肿瘤中一个重要的生物标志物,可通过曲妥珠单抗抗体(单抗)进行特异性靶向治疗。对于晚期胃癌或胃食管交界处癌患者,与单纯化疗相比,曲妥珠单抗联合化疗可提高患者生存率^[34]。

在贲门癌中,乳酸脱氢酶A(lactate dehydrogenase A,LDHA)上调,丙酮酸脱氢酶B(pyruvate dehydrogenase B,PDHB)下调。LDHA产生的乳酸是晚期肿瘤分级和预后不良的指标。最近的一项研究表明,PDHB可以减少乳酸的产生和肿瘤细胞增殖。LDHA和PDHB表达水平的改变导致丙酮酸进入Krebs循环而不是糖酵解途径,从而抑制胃癌细胞的生长和迁移^[35]。LDHA和PDHB之间的调控关系可以为胃癌的药物提供开发思路。

近年来研究者运用蛋白质组学深入了解胃癌的生物学和发病机制,发现大量与胃癌相关的分子,具有潜在的诊断、判断预后和筛查作用。蛋白质组学技术在过去几年中有了很大的进步,胃癌在基因和蛋白表达水平上的异质性表明,生物标志物研究

大有可为,但新兴的生物标志物与大规模的患者研究之间缺乏一致性,实验室之间需要在样本采集和准备方面确立统一标准(例如使用新鲜组织或福尔马林固定的蜡包埋组织),验证新的发现,并产生可靠的结果。

随着人口日益老龄化,内窥镜检查的更广泛使用,以及更多样化的个性化治疗选择,胃癌临床治疗的复杂性在未来会进一步增加。早期发现、早期诊断、早期治疗是降低胃癌死亡率和发病率的关键,迫切需要开发准确的生物标志物,提高胃癌的早期诊断技巧和治疗效果。目前为止已发现的与胃癌相关的生物标志物大量处于探索阶段,因此胃癌生物标志物最终从实验室到临床的转化需要研究人员和临床医生的密切合作,以探索其在胃癌早期诊断、预后和监测治疗效果方面的临床应用价值。使用蛋白质组技术发现的生物标志物将为胃癌的精准治疗做出巨大贡献。

参考文献:

- [1] Bray F,Ferlay J,Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin,2018,68(6):394
- [2] Marrelli D,Polom K,De Manzoni G, et al.Multimodal treatment of gastric cancer in the West:Where are we going? [J].World J Gastroenterol,2015,21(26):7954
- [3] Sheynkman G M,Shortreed M R,Cesnik A J,et al. Proteogenomics: integrating Next-Generation sequencing and mass spectrometry to characterize human proteomic variation [J]. Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif),2016,9(1):521
- [4] Wasinger V C,Cordwell S J,Cerpa-Poljak A, et al. Progress with gene-product mapping of the mollicutes:mycoplasma genitalium[J]. Electrophoresis,1995,16(7):1090
- [5] Repetto O,Maiero S,Magris R,et al. Quantitative proteomic approach targeted to fibrinogen β chain in tissue gastric carcinoma[J]. Int J Mol Sci,2018,19(3):759
- [6] Suarez G,Romero-Gallo J,Piazuelo M B,et al. Modification of helicobacter pylori peptidoglycan enhances NOD1 activation and promotes cancer of the stomach[J]. Cancer Res,2015,75(8):1749
- [7] Hutchens T W.Erratum to:10th asilomat conference on mass spectrometry:time of flight mass spectrometry[J]. J Am Soc Mass Spectrom,1993,4(7):612
- [8] Zhang H,Li H,Guo F,et al. Screen and identification of serum protein biomarkers in gastric cancer[J]. Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi,2016,19(3):317
- [9] Ao K,Robert A. Binary markov random fields and interpretable mass spectra discrimination[J]. Stat Appl Genet Mol Biol,2017,16(1):13
- [10] Alan K W,Boon-Kiong L,Norhaniza A, et al. Application of SELDI-TOF in N-glycopeptides profiling of the urine from patients with endometrial,ovarian and cervical cancer[J]. Arch Physiol Biochem,2016,122(3):111

- [11] Guda M R, Rashid M A, Asuthkar S, et al. Pleiotropic role of macrophage migration inhibitory factor in cancer[J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(12):2760
- [12] Mohri Y, Toiyama Y, Kusunoki M. Progress and prospects for the discovery of biomarkers for gastric cancer: a focus on proteomics[J]. *Expert Rev Proteomics*, 2016, 13(12):1131
- [13] Yoo M W, Park J, Han H S, et al. Discovery of gastric cancer specific biomarkers by the application of serum proteomics[J]. *Proteomics*, 2017, 17(6):1600332
- [14] Saraswat M, Joenväärä S, Seppänen H, et al. Comparative proteomic profiling of the serum differentiates pancreatic cancer from chronic pancreatitis[J]. *Cancer Med*, 2017, 6(7):1738
- [15] Mato J M, Elortza F, Lu S C, et al. Liver cancer-associated changes to the proteome: what deserves clinical focus[J]. *Expert Rev Proteomics*, 2018, 15(9):749
- [16] Shi F, Wu H, Qu K, et al. Identification of serum proteins AHSG, FGA and APOA-I as diagnostic biomarkers for gastric cancer[J]. *Clin Proteomics*, 2018, 15:18
- [17] Aebersold R, Goodlett D R. Mass spectrometry in proteomics[J]. *Chem Rev*, 2001, 101(2):269
- [18] Seger C, Salzmann L. After another decade; LC-MS/MS became routine in clinical diagnostics[J]. *Clin Biochem*, 2020, 82(11):2
- [19] Jiang Z, Sun X, Zhang Q, et al. Identification of candidate biomarkers that involved in the epigenetic transcriptional regulation for detection gastric cancer by iTRAQ based quantitative proteomic analysis[J]. *Clin Chim Acta*, 2017, 471:29
- [20] Alcolea-Medina A, Fernandez M, Montiel N, et al. An improved simple method for the identification of Mycobacteria by MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization mass spectrometry)[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):20216
- [21] Mcgarvey P B, Nightingale A, Luo J, et al. UniProt genomic mapping for deciphering functional effects of missense variants[J]. *Hum Mutat*, 2019, 40(6):694
- [22] Wu D, Zhang P L, Ma J, et al. Serum biomarker panels for the diagnosis of gastric cancer[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(4):1576
- [23] Su X, Ye Z, Wang Z, et al. Epstein-Barr virus infection associated with pepsinogens and *Helicobacter pylori* infection in patients with gastric cancer[J]. *Virus Res*, 2018, 256(17):1
- [24] Skinner W S, Phinney B S, Herren A, et al. Using LC-MS based methods for testing the digestibility of a nonpurified transgenic membrane protein in simulated gastric fluid[J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(25):5251
- [25] Wei W, Wen W Y, Maxey C C. A simple biomarker scoring matrix for early gastric cancer detection[J]. *Proteomics*, 2016, 16(22):2921
- [26] Seo S, Ryu M H, Park Y S, et al. Loss of HER2 positivity after anti-HER2 chemotherapy in HER2-positive gastric cancer patients: results of the GASTric cancer HER2 reassessment study 3 (GASTHER3)[J]. *Gastric Cancer*, 2019, 22(3):527
- [27] Momynaliev Kuvat T, Kashin Sergey V, Chelysheva Vera V, et al. Functional divergence of *Helicobacter pylori* related to early gastric cancer[J]. *J Proteome Res*, 2010, 9:254
- [28] Yumnam S, Raha S, Kim S M, et al. Identification of a novel biomarker in tangeretin-induced cell death in AGS human gastric cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(6):3249
- [29] Chen J, Wang L, Wu F F, et al. Early detection of cardiotoxicity by 3D speckle tracking imaging of area strain in breast cancer patients receiving chemotherapy[J]. *Echocardiography*, 2019, 36(9):1682
- [30] Mork M, Quesada P R, Bannon S, et al. Pancreatic cancer early detection and interception in an atypical case of Peutz-Jeghers syndrome[J]. *Pancreas*, 2019, 48(4):e29
- [31] Roojintan A, Ahmad M T, Ibrahim W S, et al. Early detection of lung cancer biomarkers through biosensor technology: a review[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 164(10):17
- [32] Lan P, Jing W, Yong F, et al. Correlations of TNM staging and lymph node metastasis of gastric cancer with MRI features and VEGF expression[J]. *Cancer Biomark*, 2018, 23(1):53
- [33] Booth W T, Walker N B, Lowther W T, et al. Cannabinoid receptor interacting protein 1a (CRIP1a): function and structure[J]. *Molecules*, 2019, 24(20):3672
- [34] Park J S, Lee N, Beom S H, et al. The prognostic value of volume-based parameters using (18)F-FDG PET/CT in gastric cancer according to HER2 status[J]. *Gastric Cancer*, 2018, 21(2):213
- [35] Cai Z, Zhao J S, Li J J, et al. A combined proteomics and metabolomics profiling of gastric cardia cancer reveals characteristic dysregulations in glucose metabolism[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2010, 9(12):2617

(2020-05-18 收稿)