

## 论著·临床研究

## 基于 MALDI-TOF-MS 技术建立肺腺癌诊断预测模型及其初步验证\*

荆心研<sup>1,2</sup>, 卢兆莲<sup>2</sup>, 张婷<sup>1,2</sup>, 胡成进<sup>2△</sup>

(1. 潍坊医学院医学检验学系, 山东潍坊 261000; 2. 济南军区总医院实验诊断科, 济南 250031)

**摘要:**目的 利用液体芯片结合基质辅助激光解析电离飞行时间质谱技术(MALDI-TOF-MS), 筛选肺腺癌患者与肺良性疾病和健康人血清中的差异性多肽, 建立肺腺癌诊断预测模型, 发现诊断肺腺癌的潜在标志物。方法 收集肺腺癌患者 37 例和健康体检者及肺部良性疾病患者(对照组)33 例, 其中肺腺癌组与对照组年龄、性别匹配, 将上述两组按 3:1 随机分为训练组(肺腺癌患者 30 例, 对照者 26 例)和测试组(肺腺癌患者 7 例, 对照者 7 例)。应用液体芯片-飞行时间质谱技术以及软件 ClinProTools 3.0 筛选训练组中肺腺癌组与对照组血清中的差异性多肽, 建立肺腺癌诊断预测模型。利用测试组中的血清标本对诊断模型进行验证, 评估该模型的诊断效能。结果 通过软件 ClinProTools 3.0 分析, 得到 9 个具有显著差异的多肽峰( $P < 0.05$ ), 其中肺腺癌中表达上调的峰  $m/z$  分别为 8976.5, 4469.05, 4966.78, 8925.5, 4531.05, 表达下调的峰  $m/z$  分别为 3304.44, 8594.76, 3266.82, 3195.52。根据遗传算法(GA)建立肺腺癌诊断预测模型, 该模型的整体识别能力为 94.49%, 利用测试组对该模型进行评估, 结果显示该模型的灵敏度为 100.0%, 特异度为 85.7%。结论 肺腺癌患者血清中与肺部良性疾病及健康人血清中存在差异性多肽, 利用这些差异性多肽峰建立肺腺癌诊断预测模型, 为肺腺癌的早期诊断提供了一种新的方法。

**关键词:**肺腺癌; 铜离子螯合纳米磁珠; 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱技术; 差异性多肽; 诊断模型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.09.003

中图法分类号:R734.2

文章编号:1673-4130(2018)09-1034-05

文献标识码:A

**Establishment of lung adenocarcinoma diagnosis and prediction model based on  
MALDI-TOF-MS technique and its preliminary verification\***

JING Xinyan<sup>1,2</sup>, LU Zhaolian<sup>2</sup>, ZHANG Ting<sup>1,2</sup>, HU Chengjin<sup>2△</sup>

(1. Department of Laboratory Medicine, Weifang Medical University, Weifang, Shandong 261000, China; 2. Department of Laboratory Diagnosis, General Hospital of Jinan Military Region, Jinan, Shandong 250031, China)

**Abstract: Objective** To use the liquid protein combined with MALDI-TOF-MS for screening the serum differential peptides markers in lung adenocarcinoma patients and to establish the lung adenocarcinoma diagnosed prediction model for founding the potential markers for the diagnosis of lung adenocarcinoma. **Methods** 37 patients with lung adenocarcinoma and 33 healthy subjects and benign lung disease which were made up in control group were collected, in the two groups the age and the sex were matched. The two groups were randomly divided into training group (30 cases of lung adenocarcinoma, 26 cases of control) and test group (7 cases of lung adenocarcinoma, 7 cases of control) according to 3:1. The differential diagnosis of lung adenocarcinoma and control group was performed by liquid chip-time-of-flight mass spectrometry and software ClinProTools 3.0 to establish a prediction model of lung adenocarcinoma. The diagnostic model was validated by using serum samples from the test group to assess the diagnostic efficacy of the model. **Results** Nine peptide peaks with significant differences ( $P < 0.05$ ) were obtained by ClinProTools 3.0 software analysis. The up-regulated peaks in lung adenocarcinoma ( $m/z$ ) were 8976.5, 4469.05, 4966.78, 8925.5, 4531.05, and the down-regulated  $m/z$  were 3304.44, 8594.76, 3266.82, 3195.52. According to the genetic algorithm(GA), the lung adenocarcinoma diagnosis and prediction model was established. The overall recognition ability of the model was

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81472497)。

作者简介:荆心研,女,在读硕士研究生,主要从事蛋白质组学的研究。△ 通信作者, E-mail: hcj6289@163.com。

本文引用格式:荆心研,卢兆莲,张婷,等. 基于 MALDI-TOF-MS 技术建立肺腺癌诊断预测模型及其初步验证[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(9):1034-1037.

94.49%。The model was evaluated by the test group. The results showed that the sensitivity of the model was 100.0% and the specificity was 85.7%.

**Conclusion** Among lung adenocarcinoma patients, serum benign lung disease and healthy, there are differences in the serum peptide. The use of differential peptide peaks to establish lung adenocarcinoma diagnostic prediction model for the early diagnosis of lung adenocarcinoma provides a new method.

**Key words:** lung adenocarcinoma; copper ion chelating nanometer beads; MALDI-TOF-MS; differences in polypeptides; diagnostic model

肺癌作为最常见的恶性肿瘤之一,致死率最高<sup>[1-4]</sup>。肺癌按组织病理学分类分为小细胞肺癌和非小细胞肺癌。非小细胞肺癌又分为腺癌(32%~40%)、鳞状细胞癌(25%~30%)、大细胞癌(8%~16%)<sup>[5]</sup>等,占所有肺癌的80%。75%的非小细胞肺癌患者就诊时已处于晚期或已存在远处转移,预后较差<sup>[6]</sup>。在肺癌的辅助诊断中,支气管镜检查的敏感性为30%~69%,痰液细胞学检查的敏感性只有8%<sup>[7]</sup>;低剂量CT只能检出结节直径大于4 mm的肿块,其假阳性率高,容易导致过度诊断,而且存在辐射的危害<sup>[8]</sup>;血清中的肿瘤标志物如癌胚抗原(CEA)、神经元烯醇化酶(NSE)、细胞角蛋白19片段(CY21-1)、鳞状细胞癌相关抗原(SCC)等特异性和敏感性较低<sup>[9]</sup>,不适于肺癌的早期诊断,临幊上迫切需要更有效的检测方法辅助诊断肺癌。

在绝大多数国家中,特别是中国、日本、沙特阿拉伯的女性肺癌患者中,肺腺癌的发病率是鳞癌的5倍<sup>[10]</sup>,这也是本实验对肺腺癌进行实验研究的原因之一。蛋白质组学技术在癌症的研究中应用广泛,血清蛋白质组学是蛋白质组学的一个重要分支,但血清中存在的高丰度蛋白会影响低丰度蛋白的检测,因此对血清中小分子蛋白和多肽研究的关键是去除血清中的大分子蛋白。目前有多种去除血清中大分子蛋白的方法,如二维凝胶电泳(2-DE)、多克隆高效液相色谱柱、多重亲和力去除系统(MARS)以及各种去除清蛋白和/IgG的商用试剂盒<sup>[11]</sup>。其中传统的二维凝胶电泳不仅费时费力、重复性差,而且不能有效分离低丰度蛋白和多肽<sup>[11][12]</sup>。液体蛋白芯片技术(磁珠技术)操作简便、耗时短、重复性好,可有效提取血清中的低丰度蛋白和多肽,并且适用于大样本的检测<sup>[13]</sup>,是实验的关键技术之一。应用提取的低丰度蛋白和多肽结合基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术(MALDI-TOF-MS)筛选肺腺癌患者与肺良性疾病患者、健康人血清中的差异性多肽,建立肺腺癌诊断预测模型,为肺腺癌的诊断提供新的检测方法。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

**1.1.1 肺腺癌组** 共收集潍坊医学院附属医院(2016-03-01至2016-09-30)及济南军区总医院(2016-10-01至2016-11-30)就诊患者中肺腺癌患者37例,在患者未进行任何治疗前收集患者血清标本。纳入

患者满足以下标准:(1)经组织病理学活检首次确诊为肺腺癌的患者;(2)患者此前未进行任何放、化疗,既往无肺癌史及其他恶性肿瘤史。

**1.1.2 对照组** 选取同期来自相同医院体检中心的健康体检者17例,肺部良性疾病患者(包括慢性阻塞性肺疾病9例、肺纤维化2例、肺部感染5例)16例,共33例。

**1.1.3 入组者基本情况** 将37例肺腺癌患者与33例对照者血清标本分别按3:1随机分为两组:训练组和测试组,其中训练组包括肺腺癌患者30例、对照者26例,用以建立肺腺癌诊断预测模型;测试组中肺腺癌患者、对照者各7例,用以验证模型。训练组与测试组患者在年龄、性别方面无统计学差异。该研究课题已上报医院伦理委员会,并经其批审同意。实验前所有研究对象均已签署知情同意书。

**1.2 仪器与试剂** 三氟乙酸(TFA,美国Sigma-Aldrich公司)、 $\alpha$ -氰基-4-羟基苯丙烯酸(HCCA,美国Sigma-Aldrich公司)、乙腈(ACN,美国Sigma-Aldrich公司)、无水乙醇(色谱纯,美国Sigma-Aldrich公司)、铜离子螯合磁珠(MB-IMAC- $\text{Cu}^{2+}$ ,德国BRUKER公司)、基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱及其原装配套试剂和定标品(MALDI-TOF/TOF-MS,德国BRUKER公司,型号:autoflex speed)、磁珠分离器(Life Technologies公司,型号:2114)、离心机(Eppendorf公司,型号:Centrifuge 5430 R)。

### 1.3 方法

**1.3.1 标本采集和预处理** 将纳入的对象抽取清晨空腹静脉血5 mL,3 500 r/min离心5 min后分离血清,置于-80℃冰箱保存。

**1.3.2 磁珠提取血清多肽** 取5  $\mu\text{L}$  磁珠与50  $\mu\text{L}$  铜离子螯合磁珠结合缓冲液(BB)混匀,将样品管在磁珠分离器上反复移动10次,弃去上清,重复2次;加入20  $\mu\text{L}$  BB,5  $\mu\text{L}$  血清,混匀后室温静置5 min;将样品管放入磁珠分离器静置20 s,弃去上清;加入100  $\mu\text{L}$  铜离子螯合磁珠清洗缓冲液(WB),在磁珠分离器上反复移动样品管10次,静置20 s,弃去上清,重复2次;向样品管中加铜离子螯合磁珠洗脱缓冲液(EB)混匀,室温静置5 min,将样品管放入磁珠分离器静置20 s,将上清液移至新的样品管并编号,得到各个样本血清中的多肽。

**1.3.3 仪器校正及质量控制** 实验前用混合的蛋白

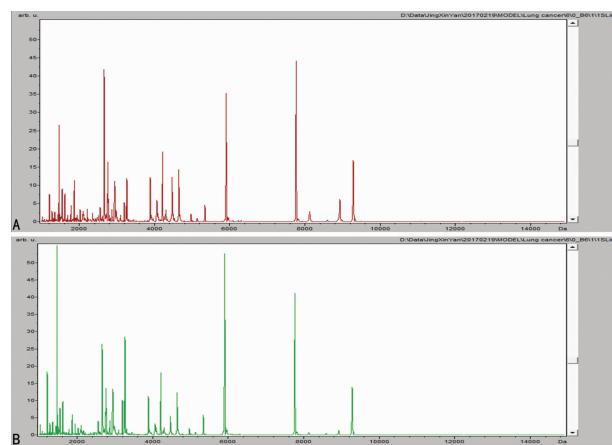
多肽标准品对质谱仪进行校正。全部健康体检者的血清各取 5  $\mu$ L, 混匀后制成混合血清, 用于验证仪器的稳定性。检测时, 每 10 个样本测试一份混合血清, 用质谱采集数据后, 将获得的混合血清的质谱峰进行比较, 得到 15 个稳定的多肽峰, 各个多肽峰的变异系数(CV)平均值为 0.02%, 说明实验重复性较好。

**1.3.4 样本检测** 将 1  $\mu$ L 多肽样本点样于 Polished Steel 靶板上, 自然干燥, 再将 1  $\mu$ L 基质(50% 乙腈和 2% 三氟乙酸配制的 3 mg/mL 的 HCCA)点样于已干燥的样品点上, 室温干燥后, 将靶板放入质谱仪; 对实验标本进行检测, 采集质谱图并分析。注明质量控制保证措施和质控流程。校准流程。

**1.4 统计学处理** 血清经铜离子螯合磁珠提取后, MALDI-TOF-MS 在正离子线性模式下进行检测, 获得的数据经软件 ClinproTools 3.0 对原始质谱图进行处理(包括平滑、基线去除及标峰等)后, 再进行统计学分析。将训练组中的 30 例肺腺癌患者及 26 例对照者的血清多肽谱, 结合 ClinproTools 3.0 软件内嵌的遗传算法(GA)进行统计学分析, 获得两组间的差异性多肽, 并建立肺腺癌的诊断预测模型。最后用测试组的 7 例肺腺癌患者和 7 例对照者对诊断预测模型进行盲样验证, 验证该模型的敏感性和特异性。

## 2 结 果

**2.1 训练组的血清多肽指纹图谱** 训练组纳入 30 例肺腺癌患者和 26 例对照者, 应用铜离子螯合磁珠提取其血清中的多肽后进行 MALDI-TOF-MS 检测, 得到肺腺癌组和对照组的血清多肽平均指纹图谱, 见图 1。



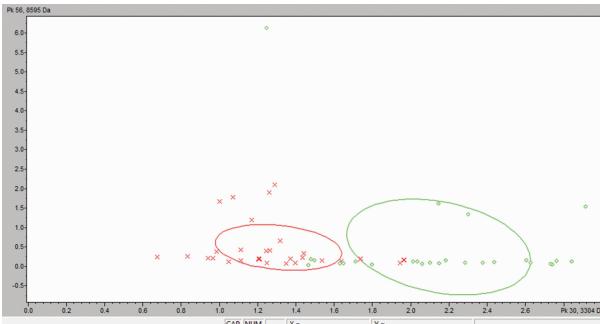
注: A 为肺腺癌组; B 为对照组

图 1 训练组中肺腺癌组和对照组血清中多肽的平均质谱图

**2.2 训练组的血清差异多肽结果分析** 肺腺癌组和对照组的血清多肽平均指纹图谱经 ClinProTools 3.0 软件分析后在  $m/z$  为  $(1\sim10)\times10^3$  范围中检测到 65 个蛋白峰, 筛选出有显著性差异的多肽峰 9 个( $P<0.05$ ), 其中肺腺癌组表达上调的有 5 个, 其  $m/z$  分别为 8 976.5、4 469.05、4 966.78、8 925.5、4 531.05, 表达

下调的多肽峰为 4 个, 其  $m/z$  分别为 3 304.44、8 594.76、3 266.82、3 195.52。其中差异最显著的峰为  $m/z$  为 3 304.44、3 195.52, 其 ROC 曲线的 AUC 值分别为 0.93、0.71。

**2.3 肺腺癌诊断预测模型的建立** 利用 GA 将筛选的差异性多肽峰应用 ClinProTools 3.0 软件建立肺腺癌诊断预测模型, 该模型的整体识别能力是 94.49%。其中对肺腺癌组和对照组的识别能力分别为 96.70%、92.31%。使用 ClinProTools 3.0 软件将获得的多肽峰排序, 差异最显著的峰分别作为 x、y 轴进行聚类分析, 获得的聚类分析结果见图 2。



注:左侧红色为肺腺癌组,右侧绿色为对照组

图 2 肺腺癌组和对照组的聚类分析

**2.4 诊断预测模型的验证** 测试组的肺腺癌患者和对照者的血清多肽指纹图谱用 ClinProTools 3.0 软件对建立的诊断预测模型进行验证, 7 例肺腺癌患者全部判断正确, 7 例对照者中有 6 例判断正确, 1 例判断错误。通过盲样验证, 该模型的准确率为 92.9%, 敏感度为 100.0%, 特异度为 85.7%。

## 3 讨 论

肺腺癌作为肺癌最常见的病理类型之一, 其发病机制未知、易早期转移、对放、化疗不敏感等特点已成为限制肺癌 5 年生存率的重要因素<sup>[14]</sup>。本实验将肺腺癌患者与肺部良性疾病患者和健康体检者的血清利用铜离子螯合磁珠提取多肽后进行质谱分析, 其目的是筛选出其中的差异性多肽, 利用这些多肽建立肺腺癌的诊断预测模型, 多个差异性多肽联合可提高肺腺癌诊断效能, 较临幊上测定单个肿瘤标志物具有更高的准确性。本实验共筛选出有显著性差异( $P<0.05$ )的多肽峰 9 个, 其中肺腺癌组表达上调的多肽峰有 5 个, 其  $m/z$  分别为 8 976.5、4 469.05、4 966.78、8 925.5、4 531.05, 表达下调的多肽峰有 4 个, 其  $m/z$  分别为 3 304.44、8 594.76、3 266.82、3 195.52。利用获得的差异性多肽峰建立的肺腺癌诊断预测模型, 对肺腺癌组和对照组的识别能力分别为 96.7% 和 92.3%, 该模型的敏感性和特异性均较高, 其诊断效能高于其他临幊血清标志物。

实验的关键之一是血清的前处理技术—铜离子螯合磁珠, 利用铜离子螯合磁珠提取血清中的小分子蛋白, 有效的去除了血液中的大分子蛋白、盐类及其他

杂质,为质谱分析提供了纯度较高的多肽。安娟等<sup>[15]</sup>同样利用铜离子螯合磁珠技术结合 MALDI-TOF-MS 对 133 例非小细胞肺癌患者和 132 例健康者的血清进行实验,得到 14 个有意义的差异性多肽峰,其中在非小细胞肺癌患者中表达上调的有 2 个,用其中的 3 个峰建立诊断预测模型,盲样验证准确率为 98.5%,灵敏度为 100.0%,特异度为 96.9%,而他们获得的峰与本实验获得的差异性蛋白峰大多数不同,只有一个  $m/z$  为 4 468.38 的多肽峰与本实验中  $m/z$  4 469.05 的结果相近且均表达上调,有待于将其分解为更小的肽段后进一步进行二级质谱分析及蛋白质数据库搜索验证。LIN 等<sup>[14]</sup>利用弱阳离子交换磁珠(MB-WCX)对肺腺癌患者和肺部良性疾病及健康对照者的血清提取低分子量蛋白后,进行 MALDI-TOF-MS,获得的特异差异峰的敏感性较癌胚抗原高,并进一步对获得的峰进行了深入研究,认为真核肽链释放因子 GTP 结合亚基(eRF3b)、补体 C3f 有可能成为肺腺癌诊断的潜在肿瘤标志物。此外,尚有部分学者利用其他前处理技术,如反向色谱-18 磁珠<sup>[16]</sup>、ZipTip 技术<sup>[17]</sup>对血清进行前处理,经过与 MALDI-TOF-MS 相结合,获得血清中的差异蛋白峰,为肺腺癌筛选潜在的肿瘤标志物提供更多可靠的方法。

本实验尚存在一些不足,如提取的差异性多肽是只能与铜离子螯合磁珠特异结合的小分子蛋白,尚有一部分不能与该类磁珠结合的多肽未能提取出来,因此提取的多肽不能代表血清中的全部多肽谱,未结合的多肽未能进行质谱分析,得到的差异峰并非全部的差异峰,导致实验结果不全面。杨帆等<sup>[18]</sup>先用小样本量的标本对弱阳离子交换磁珠(MB-WCX)、疏水磁珠(MB-HIC C8)、金属螯合磁珠(MB-IMAC- $\text{Cu}^{2+}$ )进行比较,发现弱阳离子交换磁珠在平均出峰量、平均峰面积、平均峰强度等方面均占优势,利用该磁珠富集乳腺癌患者和健康对照者血清中的多肽后,进行质谱分析,获得的诊断模型灵敏度和特异度均为 85.7%。可见不同磁珠对血清中小分子蛋白的提取存在一定差异,而多种磁珠结合可能会提高多肽的检出率,目前尚未有实验对肺腺癌患者的血清用多种磁珠进行检测,在后续的实验中需要用其他类型的磁珠或方法对血清进行前处理,结合本实验以获得更多差异明显的蛋白峰。另外,本实验选用肺腺癌患者及肺部良性疾病患者和健康人的血清作为研究对象,对特异的肺腺癌的差异性多肽和诊断预测模型小样本验证,以后将会纳入更多的肺腺癌和/或肺鳞癌及其他类型肺癌标本对该诊断预测模型进一步验证。

总之,本实验建立的肺腺癌诊断预测模型,以质谱技术为基础,研究血清中表达的多肽,通过对肺腺癌和肺部良性疾病患者和健康体检者血清中的多肽,可以发现肺腺癌特异的蛋白信息,为肺腺癌的诊

断提供了新方法,也为进一步建立其他肿瘤的血清学诊断模型奠定了基础。

## 参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2017[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30.
- [2] TORRE L A, SAUER A M, CHEN M S, et al. Cancer statistics for Asian Americans, Native Hawaiians, and Pacific Islanders, 2016: Converging incidence in males and females[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(3): 182-202.
- [3] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [4] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [5] ZAROGOULIDIS K, ZAROGOULIDIS P, DARWICHE K, et al. Treatment of non-small cell lung cancer (NSCLC)[J]. J Thorac Dis, 2013, 5(Suppl 4): S389-396.
- [6] SAITO S, ESPINOZA-MERCADO F, LIU H, et al. Current status of research and treatment for non-small cell lung cancer in never-smoking females[J]. Cancer Biol Ther, 2017, 18(6): 359-368.
- [7] KIM J O, GAZALA S, RAZZAK R, et al. Non-small cell lung cancer detection using microRNA expression profiling of bronchoalveolar lavage fluid and sputum[J]. Anti-cancer Res, 2015, 35(4): 1873-1880.
- [8] National Lung Screening Trial Research Team, ABERLE D R, ADAMS A M, et al. Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening[J]. N Engl J Med, 2011, 365(5): 395-409.
- [9] SIMSEK C, SONMEZ O, KEYF A I, et al. Importance of serum SELDI-TOF-MS analysis in the diagnosis of early lung cancer[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(3): 2037-2042.
- [10] MCINTYRE A, GANTI A K. Lung cancer-A global perspective[J]. J Surg Oncol, 2017, 115(5): 550-554.
- [11] SEONG Y, YOO Y S, AKTER H, et al. Sample preparation for detection of low abundance proteins in human plasma using ultra-high performance liquid chromatography coupled with highly accurate mass spectrometry[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2017, 1060(2): 272-280.
- [12] DU J, YANG S Y, LIN X L, et al. Biomarker discovery and identification from non-small cell lung cancer sera [J]. Front Biosci, 2011, 3(1): 1-10.
- [13] GUO N, WEN Q, LI Z, et al. Optimization and evaluation of magnetic bead separation combined with matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectroscopy (MALDI-TOF MS) for proteins profiling of peritoneal dialysis effluent[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(1): 1162-1175.

(下转第 1040 页)

胞早期出现损伤时, CysC 即开始表达升高, 且随着损伤的发展进一步表达水平上升, 因此 CysC 可以被用来测定肾脏的早期损伤<sup>[8]</sup>, 本研究发现 CysC 在糖尿病肾病和糖尿病患者这两组患者中的血清表达水平均升高, 而且与对照组比较其差异有统计学意义。

HCY 是体内由其他氨基酸合成而来, 其主要通过肾脏代谢, 当肾脏早期出现病变时, 体内 HCY 会出现升高的现象, 在本次研究中血清 HCY 在对照组、糖尿病组和糖尿病肾病组中水平均呈递增趋势。相关研究发现血清中 HCY 升高后可激活相关细胞毒应激反应, 会导致糖尿病肾小球细胞发生损伤, 与糖尿病肾病的发生发展具有密切关系<sup>[9]</sup>。

UALP 广泛分布于人体内各个器官, 由于其分子量比较大, 肾脏功能正常时, 其并不能通过肾小管上皮细胞, 当肾脏功能损伤后, 肾小管上皮细胞发生脱落, 导致尿液中的碱性磷酸酶升高, 因此 UALP 可以反映肾脏的损伤情况<sup>[10-12]</sup>, 本研究发现 UALP 的结果在对照组、糖尿病组和糖尿病肾病组中均有不同程度升高, 能够及时反映肾损伤情况。

综上所述 CysC、HCY 及 UALP 在糖尿病肾病诊断中具有较高的灵敏度和阳性预测值<sup>[13]</sup>, 尤其 CysC 具有较高灵敏度和特异性。血清 CysC 对于糖尿病发展的各个阶段水平改变具有差异性, 然而在糖尿病肾病的早期诊断较 Scr、BUN、等常见指标更为敏感<sup>[14-16]</sup>, 对于糖尿病患者而言, 应当定期监测这三项指标, 从而起到预防糖尿病肾病及其并发症的作用, 这三项指标在糖尿病肾病的检测中具有较为重要的价值。

## 参考文献

- [1] 蔡雪清, 夏珣陈, 杏娣. 血清同型半胱氨酸测定在糖尿病肾病中意义初步研究[J]. 实用中西医结合临床, 2016, 16(6): 40-41.
- [2] THOMAS S, VIBERTI G C. Diabetic nephropathy[J]. Medicine, 2014, 38(12): 639-643.
- [3] ELBE H, VARDI N, ESREFOGLU M, et al. Amelioration of streptozotocin-induced diabetic nephropathy by melatonin, quercetin, and resveratrol in rats[J]. Hum Exp Toxi-
- [4] STEC D F, WANG S, STOTHERS C, et al. Alterations of urinary metabolite profile in model diabetic nephropathy [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 456(2): 610-614.
- [5] 钱荣立. 关于糖尿病的新诊断标准与分型[J]. 中国糖尿病杂志, 2000, 8(1): 4-5.
- [6] 杨云山. 同型半胱氨酸与胱抑素 C 在 2 型糖尿病肾病早期诊断中的价值分析[J]. 中国医学工程, 2017, 25(1): 73-74.
- [7] 陈敏, 陈捷. 2 型糖尿病患者血清成纤维细胞生长因子 21 与胰岛素抵抗和胰岛  $\beta$  细胞功能的相关性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(24): 3566-3568.
- [8] 李蔚勃, 刘亚, 李喆颖. 同型半胱氨酸和转铁蛋白及 N-乙酰- $\beta$ -D-葡萄糖苷酶联合检测对糖尿病肾病的诊断价值[J]. 中国慢性病预防与控制, 2016, 24(10): 781-782.
- [9] 王国娟, 胡国平, 马维青, 等. 新诊断 2 型糖尿病伴高血压患者胱抑素 C 和 C 肽及胰升糖素水平的研究[J]. 中国慢性病预防与控制, 2016, 24(4): 259-261.
- [10] CURRIE G, MCKAY G, DELLES C. Biomarkers in diabetic nephropathy: Present and future[J]. World J Diabetes, 2014, 5(6): 763-776.
- [11] 陈绪林, 韩骏飞, 张芳琼, 等. 血清胱抑素 C、 $\beta$ -微球蛋白和尿碱性磷酸酶在糖尿病肾病诊断中的临床价值[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(7): 971-973.
- [12] 刘红燕, 王瑞, 施菁玲. 联合检测尿碱性磷酸酶、 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶在糖尿病肾病中的诊断价值[J]. 中国现代医学杂志, 2014, 24(26): 41-45.
- [13] 徐静, 贾爱华, 张春虹, 等. 胱抑素 C 及其他标志物诊断糖尿病肾病效能的比较[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2010, 31(4): 482-483.
- [14] 武炜. 多项指标对早期糖尿病肾病诊断效能的评价[J]. 中国药物与临床, 2016, 16(11): 1684-1686.
- [15] 楼小伟, 董芳. 血清胱抑素 C 在 2 型糖尿病肾病早期诊断中的临床应用[J]. 当代医学, 2011, 17(7): 234-236.
- [16] 贾爱华, 王荣, 刘新艳, 等. 胱抑素 C 及其他诊断糖尿病肾病标志物效能比较[J]. 中国医药导报, 2012, 9(27): 58-61.

(收稿日期: 2017-10-10 修回日期: 2018-01-04)

(上接第 1037 页)

- [14] LIN X, YANG S, DU J, et al. Detection of lung adenocarcinoma using magnetic beads based matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry serum protein profiling[J]. Chin Med J, 2010, 123(1): 34-39.
- [15] 安娟, 汤传昊, 王娜, 等. MALDI-TOF 质谱筛查 NSCLC 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.
- [16] MUSHARRAF S G, HASHMI N, CHOUDHARY M I, et al. Comparison of plasma from healthy nonsmokers, smokers, and lung cancer patients: pattern-based differen-

tiation profiling of low molecular weight proteins and peptides by magnetic bead technology with MALDI-TOF MS[J]. Biomarkers, 2012, 17(3): 223-230.

- [17] KLUPCZYN SKA A, SWIATLY A, HAJDUK J, et al. Identification of serum peptidome signatures of Non-Small cell lung cancer[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(4): 410.
- [18] 杨帆, 陈英剑, 胡成进. 基于质谱技术应用 CLINPROT 系统建立乳腺癌诊断模型[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(24): 3388-3390.

(收稿日期: 2017-11-20 修回日期: 2018-01-04)