

基于蛋白质谱技术建立胃癌诊断预测模型及其初步验证

王娜娜^{1,3}, 张 婷^{2,3}, 宋御繁^{1,3}, 胡成进^{3△}, 陈英剑^{3▲}

(1. 泰山医学院, 山东泰安 271016; 2. 潍坊医学院, 山东潍坊 261053;

3. 解放军第九六〇医院实验诊断科, 山东济南 250031)

摘要:目的 基于高通量蛋白质谱技术利用 ClinProTools 系统筛选胃癌患者与健康对照者的血清差异蛋白/多肽, 建立胃癌诊断预测模型, 发现胃癌的潜在血清标志物。方法 收集胃癌患者血清标本 60 例、对照组血清标本 60 例, 按照 3:1 随机分为训练组(胃癌患者 45 例, 健康对照 45 例)和验证组(患者 15 例, 健康对照 15 例)。采用弱阳离子交换磁珠(WCX-MB)吸附低丰度蛋白/多肽, 通过基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)分析建立相应的蛋白表达指纹图谱, 筛选差异表达蛋白/多肽, 建立胃癌的诊断预测模型并进行验证。结果 筛选出 10 个具有显著差异的多肽峰, 差异最显著的 2 个多肽峰质荷比(m/z) 2 952.57 和 m/z 5 904.36 的受试者工作曲线(ROC)曲线下面积(AUC)分别为 0.93 和 0.81。运用遗传算法(GA)建立胃癌诊断预测模型, 验证组验证此模型, 结果显示此模型准确性为 90.00%, 灵敏度为 93.30%, 特异度为 86.70%。结论 MALDI-TOF MS 联合 WCX-MB 能够检测到胃癌患者与健康对照者的血清差异蛋白/多肽, 以此建立的胃癌蛋白质谱诊断预测模型存在着潜在的应用价值, m/z 2 952.57、5 904.36 有望成为诊断胃癌的潜在血清标志物。

关键词:基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱; 蛋白质组学; 胃癌; 诊断预测模型; 弱阳离子交换磁珠

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.22.006

中图法分类号:R735.2

文章编号:1673-4130(2018)22-2741-04

文献标识码:A

Establishment of diagnostic and prediction model of gastric cancer and its preliminary verification based on protein mass spectrometry

WANG Nana^{1,3}, ZHANG Ting^{2,3}, SONG Yufan^{1,3}, HU Chengjin^{3△}, CHEN Yingjian^{3▲}

(1. Taishan Medical University, Taian, Shandong 271016, China; 2. Weifang Medical University, Weifang, Shandong 261053, China; 3. Department of Laboratory Diagnosis, People's Liberation Army No. 960 Hospital, Jinan, Shandong 250031, China)

Abstract: Objective To screen the differential proteins/peptides of gastric cancer patients and healthy controls by ClinProTools system based on high-throughput protein mass spectrometry, and to establish the gastric cancer diagnosed prediction model for founding the potential serum markers of gastric cancer. **Methods** 60 patients with gastric cancer and 60 healthy controls were randomly divided into the training group (45 patients, 45 healthy controls) and the validation group (15 patients, 15 healthy controls). Low-abundance proteins/peptides were adsorbed by weak cation exchange magnetic beads (WCX-MB), and the corresponding protein expression fingerprints were established by matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) to screen differentially expressed proteins/peptides, established and validated the diagnostic prediction model for gastric cancer. **Results** A total of 10 significant differential peptide peaks were screened, Areas under the curve (AUC) in receiver operating characteristics (ROC) for the two most significant difference peaks of mass-to-charge ratio (m/z) 2 952.57 and m/z 5 904.36 were 0.93 and 0.81, respectively. The diagnostic prediction model of gastric cancer was established by using the genetic algorithm (GA). The validation group verified the model. The results showed that the accuracy of the model was

作者简介:王娜娜,女,在读硕士研究生,主要从事质谱蛋白质组学的研究。△ 通信作者, E-mail: hcj6289@163.com。▲ 共同通信作者, E-mail: yjqchen@126.com。

本文引用格式:王娜娜,张婷,宋御繁,等.基于蛋白质谱技术建立胃癌诊断预测模型及其初步验证[J].国际检验医学杂志,2018,39(22):2741-2744.

90.00%, the sensitivity and the specificity were 93.30% and 86.70%, respectively. **Conclusion** MALDI-TOF MS combined with WCX-MB can detect the serum differential proteins/peptides of gastric cancer patients and healthy controls, and the established gastric cancer protein prognosis prediction model has potential clinical application value, m/z 2 952.57, 5 904.36 might be the potential diagnostic marker for gastric cancer.

Key words: matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry; proteomics; gastric cancer; diagnostic prediction model; weak cation exchange magnetic beads

胃癌是全球第 4 大常见癌症^[1], 每年新发病例超过 100 万例^[2], 而中国的发病率占全球胃癌病例的 50% 以上^[3]。据国内最新癌症统计数据显示, 胃癌的发病率居全国癌症病例第 2 位, 病死率居第 3 位^[4]。较低的早期诊断率以及 5 年生存率仍然是目前临床上存在的问题^[5]。目前内窥镜取组织活检是胃癌诊断常用的方法, 但其是一种侵入性操作, 可能会出现不良反应^[6]。癌胚抗原(CEA)、癌抗原 CA19-9、癌抗原 CA72-4 等血清标志物虽然被广泛使用, 但其在诊断方面的灵敏度和特异度较低^[7]。因此, 临床上迫切需要找到灵敏度和特异度较高的胃癌新型血清标志物, 以辅助临床医生建立筛查策略并进一步为患者制订个体化治疗方案^[8]。

近年来, 高通量蛋白质组学技术成为生物学领域中广泛发展的技术, 已经应用于发现新型血清肿瘤标志物^[9]。基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)作为蛋白质组学研究中的先进技术, 联合磁珠吸附低丰度蛋白用于疾病相关蛋白的检测和鉴定^[10]。该方法利用磁珠选择性纯化低丰度蛋白质, 通过用缓冲液洗涤去除未结合的杂质, 然后将与磁珠结合的蛋白洗脱, 稀释, 并通过 MALDI-TOF MS 直接分析, 利用生物信息学整合来自大量样本的成百上千的数据。亲和磁珠纯化的技术可同时处理多个样品, 该方法灵敏且快速, 适用于临床诊断^[11]。本研究旨在应用 MALDI-TOF MS 联合弱阳离子交换磁珠(WCX-MB)技术分析胃癌组以及健康对照组血清蛋白图谱, 筛选出差异蛋白/多肽, 建立胃癌蛋白指纹图谱诊断预测模型并进行验证, 寻找可用于诊断胃癌的潜在标志物, 为胃癌的诊断提供新的策略。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集济南军区总医院 2017 年 10 月 10 日至 2018 年 5 月 10 日收治的具有完整临床资料的 60 例胃癌患者血清标本作为病例组, 其中男 45 例, 女 15 例; 年龄 49~80 岁, 平均(62.28±10.16)岁。选取 60 例同期健康体检者血清标本作为对照组, 其中男 42 例, 女 18 例, 年龄 45~68 岁, 平均(58.36±8.25)岁。病例组的纳入参考以下标准: (1) 患者在就诊前未经过手术以及放化疗治疗; (2) 组织病理学类型为胃腺癌; (3) 具有完整病理学诊断资料; (4) 排除其他肿瘤病史; (5) 在收集血清之前 1 个月患

者未接受过输血。对照组无肿瘤、高血压、糖尿病、肝炎等疾病。对照组与病例组在年龄和性别上比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性。本试验方案获济南军区总医院伦理与人类研究评审委员会批准。

1.2 仪器与试剂 基质辅助激光解吸飞行时间质谱仪(Autoflex Speed MALDI-TOF/TOF MS, 德国, Bruker 公司), 低温高速离心机(德国, Eppendorf 公司), 电子天平(瑞士, Mettler Toledo 公司)MTP AnchorChip 384 BC 靶板, Flexanalysis 软件, ClinPro Tools 软件(德国, Bruker 公司), 磁珠分离器(美国, Life Technology 公司), WCX-MB 试剂盒, 蛋白多肽标准品(德国 Bruker 公司), α -氰基-4 羟基肉桂酸(HCCA)、三氟乙酸(TFA)、丙酮、乙腈(ACN)、色谱级无水乙醇(美国 Sigma-Aldrich 公司), 双蒸水。

1.3 方法

1.3.1 标本采集及预处理 采集受试对象空腹静脉血 5 mL 置于真空采血管中(不加抗凝剂)并在室温下温育 30 min 以凝固。随后将样品以 3 000 r/min 离心 5 min。将分离的血清样品分装在 0.5 mL EP 管中, 储存于-80 °C 冰箱用于进一步分析, 避免反复冻融。

1.3.2 标本分组 将 60 例胃癌患者, 60 例健康体检者按照 3:1 的比例随机分为训练组(包括 45 例胃癌患者, 45 例健康体检者)和验证组(包括 15 例胃癌患者, 15 例健康体检者)。训练组用于建立胃癌诊断模型, 验证组用来评估模型的诊断效能。

1.3.3 磁珠富集低丰度蛋白/多肽 将血清标本从-80 °C 冰箱取出, 在-20 °C, 4 °C 冰箱中逐步复溶, 4 °C 10 000 r/min 离心 3 min, 取上清。(1) 将 10 μ L 结合缓冲液(BB)加入 500 μ L EP 管中; (2) 加入 10 μ L 磁珠至样品管中, 用加样枪吹打混匀, 避免气泡; (3) 向样品管中加入 5 μ L 血清, 加样枪吹打混匀, 静置 5 min; (4) 于磁珠分离器分离磁珠 1 min, 吸走悬浮液; (5) 样品管中加入 100 μ L 洗涤缓冲液(WB), 于磁珠分离器上将前后相邻两样品管交换移动 10 次, 静置 1 min, 去除悬浮液; (6) 重复洗涤步骤(5) 2 次, 注意最后一次悬浮液应该完全去除; (7) 向样品管加入 5 μ L 磁珠洗脱缓冲液(EB), 避免气泡, 于磁珠分离器贴壁静置 2 min, 然后将清澈的上清移入 200 μ L EP 管中; (8) 将 5 μ L 稳定缓冲液(SB)加入到收集的上清

液中,然后取混合物进行质谱分析。

1.3.4 校准与质量控制 用蛋白/多肽混合标准品校准仪器,以确保实验结果的准确性。随机选取 30 例健康体检者血清混合而成质量控制样本,评估质谱仪检测分析的一致性。经磁珠提取质控样本蛋白/多肽后,检测时每 15 个样本点一次靶,得到质控样本质谱图,找出稳定质谱峰,计算每批质谱图多肽峰的变异系数。

1.3.5 MALDI-TOF MS 检测样本 取 1 μ L 磁珠提取的蛋白/多肽样品点到 AnchorChip 靶板上,自然干燥后,再加 1 μ L 6 mg/mL HCCA (50% ACN, 2% TFA 溶解),室温下干燥后把靶板放入质谱仪中检测。采用 Flexanalysis 软件在正离子线性模式下,于相对分子质量 1~10 000 范围内采集数据,采用的激光强度为 70%,每个样品点累积轰击 100 \times 20 次。样品点样一式 3 份以评估方法的稳定性。

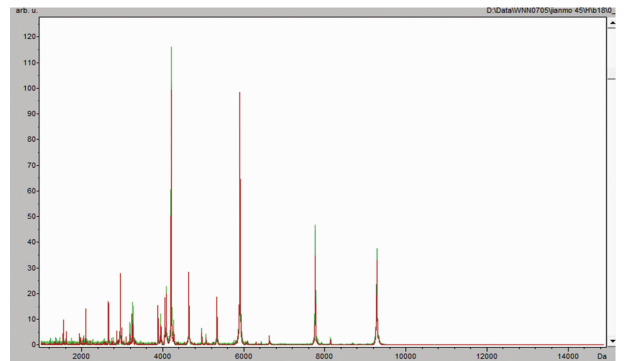
1.4 统计学处理 利用 ClinProTools 3.0 软件对原始质谱图进行分析,该软件使用标准的数据处理流程,包括光谱预处理,峰值采集和峰值计算等。对信噪比 ≥ 5 的肽峰进行分析。差异多肽的计算基于 *t* 检验或者 Wilcoxon 检验,对于统计分析,使用 3 种不同的数学模型算法:遗传算法(GA)、神经网络算法(SNN)及快速分类算法(QC)建立诊断模型。GA 是一种通过模拟自然进化过程中寻找最佳组合的方法,应用它来选择峰的组合,丢弃不好的峰,重复这个过程,直到找到最佳峰群。SNN 是基于原型的分类算法,如果将 1 组光谱分开,例如分成 2 类(癌症组,对照组),SNN 试图为每一类识别一些特征的光谱,这些光谱被命名为原型。基于这些原型建立分类模型。QC 是单变量排序算法,为每个组生成一个平均峰谱图,峰面积的平均值与某些统计数据一起存储在模型中,为了分类,QC 针对每个峰对峰面积进行排序,并且计算所有峰的加权平均。在本研究中,通过交叉验证和识别能力评估模型性能,选择最佳诊断预测模型,并于验证组验证模型的灵敏度和特异度。

2 结 果

2.1 质控结果分析 本试验每检测 15 个待测样本点一次质控样本,得到 8 个质控样本质谱图信息,选取相对分子质量 1~10 000 范围内的 8 个峰计算平均变异系数(CV 值),得到结果为 19.47% (范围为 15.26%~26.61%),检测方法的一致性满足需求。

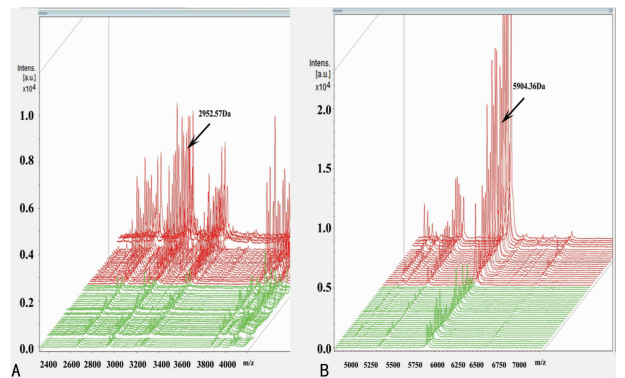
2.2 血清肽结果分析 采用 ClinProTools 3.0 软件对胃癌患者与健康对照样本的图谱进行分析,比较胃癌组与对照组的血清蛋白指纹图谱,通过 WCX-MB 和 MALDI-TOF MS 检测血清样品显示胃癌患者(红色)和对照组(绿色)具有从 1 000 至 10 000 的蛋白/多肽分布(图 1)。在此质量范围内,可以检测到大量

差异表达的蛋白质/多肽。胃癌组和对照组之间具有 117 个可区分的峰,其中 10 个多肽峰具有显著性差异并且其 AUC 值大于 0.70。在胃癌组中,质荷比(m/z) 5 904.36、2 952.57、2 661.01、5 336.69、2 862.87、5 247.61 表达上调,m/z 4 152.69、8 688.55、4 168.76、4 963.51 表达下调(见表 1)。选取差异最显著的 m/z 2 952.57、5 904.36 2 个多肽峰进行分析,图 2 为这两个峰在胃癌组中和对照组的表达水平。对差异峰做叠加质谱分析及 ROC 分析,m/z 2 952.57 的 AUC 值为 0.93,m/z 5 904.36 的 AUC 值为 0.81。见图 3。



注:红色为胃癌组,绿色为对照组

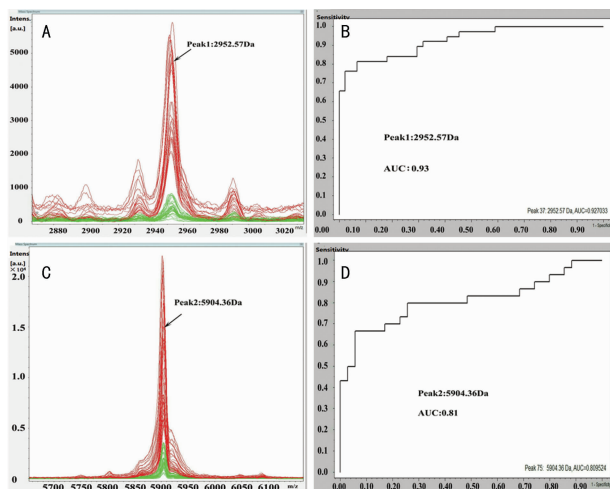
图 1 两组血清蛋白指纹图谱结果



注:A、B 分别为峰 m/z 2 952.57 和峰 m/z 5 904.36 在胃癌组(红色)和健康对照组(绿色)所有样品中的堆叠谱图

图 2 差异最显著 2 个峰的三维堆叠谱图

2.3 建立及验证胃癌诊断预测模型 利用 ClinProTools 3.0 软件分析两组质谱图,运用 3 种运算法则 GA、QC、SNN 来建立预测诊断模型,比较三者之间的交叉验证和识别能力,并用验证组验证所建模型的准确性、灵敏度和特异度。结果如表 2 所示,经比较 GA 模型性能较好,15 例胃癌患者中 14 例被正确识别,15 例健康体检者中 13 例被正确分类。该模型的诊断准确度为 90.00%,灵敏度为 93.30%,特异度为 86.70%,将其作为最终的诊断预测模型。以差异显著的 2 个峰 m/z 2 952.57、5 904.36 作为 x、y 轴做聚类分析,结果显示胃癌组和对照组可被明显区分。见图 4。



注:A 和 B 分别为 m/z 2 952.57 多肽峰的叠加谱峰图和 ROC 曲线图;C 和 D 分别为 m/z 5 904.36 多肽峰的叠加谱峰图和 ROC 曲线图。红色为胃癌组,绿色为对照组

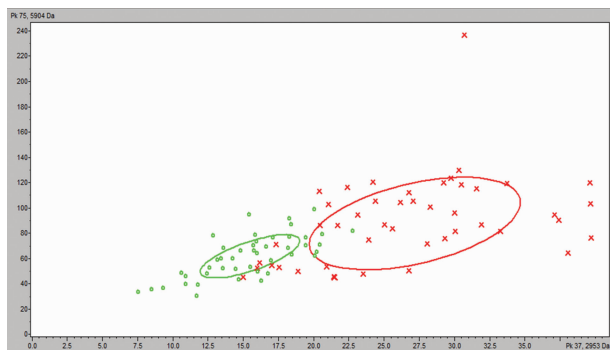
图 3 叠加谱峰图和 ROC 曲线

表 1 胃癌组与对照组相比具有差异的蛋白/多肽

相对分子质量	P	AUC	在胃癌组表达情况
5 904.36	0.001 250	0.81	上调
2 952.57	0.000 001	0.93	上调
2 661.01	0.000 740	0.78	上调
5 336.69	0.000 050	0.79	上调
2 862.87	0.000 007	0.80	上调
5 247.61	0.020 000	0.72	上调
4 152.69	0.000 040	0.78	下调
8 688.55	0.000 009	0.80	下调
4 168.76	0.020	0.72	下调
4 963.51	0.030	0.76	下调

表 2 3 种诊断预测模型的诊断表现 (%)

运算法则	交叉验证	识别能力	灵敏度	特异度	准确性
GA	90.57	97.58	93.30	86.70	90.00
SNN	90.12	93.59	80.00	86.70	83.33
QC	85.18	88.46	80.00	66.70	73.33



注:红色为胃癌组,绿色为对照组

图 4 基于 m/z 5 904 和 m/z 2 953 的聚类分析结果

3 讨论

近年来快速发展的 MALDI-TOF MS 作为精准医学发展的先进技术,以其高通量、高灵敏度等特点,为蛋白质组学的研究提供了一种高效的方法。虽然二维凝胶电泳(2D-PAGE),表面增强激光解吸/电离飞行时间质谱(SELDI-TOF MS)等血清蛋白质组学技术已被用于癌症的研究^[12],但是,2D-PAGE 由于费时费力、重复性差等缺点,不适合用于临床诊断^[13]。SELDI-TOF MS 技术与蛋白芯片联合使用也用于分析血清蛋白/多肽^[14],但是蛋白芯片的表面积较小,对于低丰度蛋白富集不完全,然而低相对分子质量血清蛋白质组含有大量尚未研究的生物标志物信息,其水平或表达异常是机体在疾病状态下的反映,因此对疾病的诊断或预后有一定作用。但是传统的电泳技术不能将小分子蛋白分辨出来,本实验采用的 WCX-MB 富集血清中低丰度蛋白/多肽,能够消除大分子蛋白的干扰,而且此法简单方便,适用于大样本的检测。此外,MALDI-TOF MS 结合先进的生物信息学软件可以找到具有差异的蛋白/多肽,这些蛋白/多肽有可能成为新的有价值的肿瘤标志物。目前该技术已用于许多实体器官恶性肿瘤标志物的筛选和鉴定^[15-16],为临床蛋白质组学研究提供了巨大的应用潜力。

既往也有学者使用 WCX-MB 联合 MALDI-TOF MS 进行胃癌多肽峰的鉴定^[17-18]。YANG 等^[17]使用 MALDI-TOF MS 来检测 70 例胃癌患者和健康体检者的血清标本,筛选出 81 个可区分的峰,建立 m/z 1 546.02、5 335.08 的诊断模型。使用电喷雾电离串联质谱仪(LC-ESI-MS/MS)鉴定这 2 种肽为丝氨酸蛋白酶抑制剂分支(α 抗蛋白酶)成员 1(SERPIN A1)和线粒体烯醇酶超家族成员 1(ENOSF1)亚型 2,在本文的实验中, m/z 5 336.69 类似于 m/z 5 335.08,极有可能也为 ENOSF1 亚型 2,但这是否是一种蛋白,还需要通过串联质谱技术进行鉴定。SHAO 等^[18]利用 MALDI-TOF MS 对 54 例胃癌患者和 18 例健康体检者进行分析,发现 m/z 2 863、2 661、5 910、5 341 等峰值具有差异。LIU 等^[11]对 28 例胃癌患者和 16 例健康体检者进行检测,发现 m/z 4 268.05、5 636.53、5 248.49、1 450.13、5 248.49、5 904.83、4 152.83、4 964.28 等峰具有差异,在本研究中也发现了与以上研究相似的蛋白/多肽峰 m/z 5 904.36、4 152.68、5 247.61、4 963.51、2 862.87 等峰值,进一步说明质谱技术检测的正确可靠性。此外,磁珠吸附蛋白联合液体芯片飞行时间质谱技术具有操作简单、高度自动化、高通量、高灵敏度的特点,适用于血清蛋白质组学分析,只需要 5 μ L 血清即可快速检测出患者的蛋白图谱,可以帮助临床医生及时做出诊断,同时减轻患者的痛苦和经济负担。

在本研究中,笔者将 MALDI-TOF MS 技术与 ClinProTools 软件结合使用来分析胃癌患者与健康对照者的血清蛋白质谱,获得了差异多肽峰的 m/z 、数目、丰度及表达情况,筛选出 10 个具有显著差异的多肽峰,运用 GA 算法建立胃癌诊断预测模型,验证组验证该模型准确性为 90.00%,灵敏度为 93.30%,特异度 86.70%。这表明该模型可以有效区分癌症患者和健康个体,具有运用到临床诊断的价值。其中胃癌组中 m/z 2 952.57、5 904.36 明显高于对照组,说明这 2 个蛋白可能在胃癌的发生、发展中起着重要的作用。在本试验中笔者选用了胃癌患者和健康体检者作为研究对象,以后将会纳入更多的胃良性病变者以及其他组织类型的胃癌标本对试验进一步完善和验证,此外本实验得到了差异蛋白的 m/z ,接下来需要通过 LC-ESI-MS/MS 对所选取的差异峰进行蛋白的鉴定,笔者还将进一步研究所候选血清标志物在胃癌发病机制中的生物学作用。

4 结 论

本试验基于高通量质谱检测技术得到了相应的胃癌蛋白表达指纹图谱,应用 ClinProTools 系统建立了具有较高灵敏度和特异度的诊断预测模型,这为临床上胃癌的诊断提供了一种新的更加简单快速的方法, m/z 2 952.57、5 904.36 的蛋白峰对于胃癌的诊断具有一定的价值,有望成为新的胃癌诊断标志物。本研究也说明 MB-WCX 联合 MALDI-TOF/MS 技术可以为肿瘤的诊断提供有价值的参考。

参考文献

[1] KARACA M, TURAL D, KOCOGLU H, et al. Adjuvant chemotherapy for gastric cancer in elderly patients has same benefits as in younger patients[J]. *J Cancer Res Ther*, 2018, 14(3): 593-596.

[2] VAN CUTSEM E, SAGAERT X, TOPAL B, et al. Gastric cancer[J]. *Lancet*, 2016, 388(10060): 2654-2664.

[3] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108.

[4] CHEN W, SUN K, ZHENG R, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2014[J]. *Chinese J Cancer Res*, 2018, 30(1): 1-12.

[5] CHEN P, LUO X, CHE Z, et al. Targeting of the C-Jun/BCL-XL/P21 axis accelerates the Switch from senescence to apoptosis upon ROC1 knockdown in gastric cancer cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(3): 1123-1138.

[6] KANDA M, KODERA Y. Recent advances in the molecu-

lar diagnostics of gastric cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(34): 9838-9852.

- [7] TSAI M M, WANG C S, TSAI C Y, et al. Potential prognostic, diagnostic and therapeutic markers for human gastric cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(38): 13791-13803.
- [8] KANG C, LEE Y J, LEE J E. Recent advances in mass spectrometry-based proteomics of gastric cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(37): 8283-8293.
- [9] YU J, HUANG Y, LIN C, et al. Identification of kininogen 1 as a serum protein marker of colorectal adenoma in patients with a family history of colorectal cancer[J]. *J Cancer*, 2018, 9(3): 540-547.
- [10] YANG J, ZHU J, HE K, et al. Proteomic profiling of invasive ductal carcinoma (IDC) using magnetic beads-based serum fractionation and MALDI-TOF MS [J]. *J Clin Lab Anal*, 2015, 29(4): 321-327.
- [11] LIU W, GAO X, CAI Q, et al. Identification of novel serum biomarkers for gastric cancer by magnetic bead [J]. *Front Biosci (Elite Ed)*, 2010, 2(3): 961-971.
- [12] WU C, LUO Z, TANG D, et al. Identification of carboxyl terminal peptide of Fibrinogen as a potential serum biomarker for gastric cancer [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(5): 6963-6970.
- [13] DENG F, ZHOU K, LI Q, et al. iTRAQ-based quantitative proteomic analysis of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(2): 1909-1918.
- [14] 曾艳, 韩红, 熊微, 等. 血清蛋白指纹图谱对多发性骨髓瘤诊断及分期诊断价值研究 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2017, 24(15): 1077-1082.
- [15] SINGH R, DAGAR P, PAL S, et al. Significant alterations of the novel 15 gene signature identified from macrophage-tumor interactions in breast cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2018, 1862(3): 669-683.
- [16] 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.
- [17] YANG J, XIONG X, WANG X, et al. Identification of peptide regions of SERPINA1 and ENOSF1 and their protein expression as potential serum biomarkers for gastric cancer [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(7): 5109-5118.
- [18] SHAO C, TIAN Y, DONG Z, et al. The use of principal component analysis in MALDI-TOF MS: a powerful Tool for establishing a mini-optimized proteomic profile [J]. *Am J Biomed Sci*, 2012, 4(1): 85-101.

(收稿日期: 2018-05-24 修回日期: 2018-07-29)