

蛋白质组学在炎症性肠病研究中的应用

童明霞, 缪应雷

童明霞, 缪应雷, 昆明医学院第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032

作者贡献分布: 本文由童明霞完成; 缪应雷审阅.

通讯作者: 缪应雷, 副教授, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医学院第一附属医院消化内科. myldu@sina.com.cn
电话: 0871-5324888-2532

收稿日期: 2010-05-12 修回日期: 2010-07-03

接受日期: 2010-07-05 在线出版日期: 2010-08-08

Application of proteomics to the study of inflammatory bowel disease

Ming-Xia Tong, Ying-Lei Miao

Ming-Xia Tong, Ying-Lei Miao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Correspondence to: Associate Professor Ying-Lei Miao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China. myldu@sina.com.cn

Received: 2010-05-12 Revised: 2010-07-03

Accepted: 2010-07-05 Published online: 2010-08-08

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD), including ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD), is a chronic inflammatory disorder of the gastrointestinal tract. The initiation and development of IBD involve environmental and genetic factors, such as microorganisms. Complicated pathogenesis, diverse risk factors and atypical clinical features lead to a difficult diagnosis of IBD. The emergence of proteomics has given new impetus to IBD research. In this article, we will review the application of proteomics to the diagnosis of IBD and prediction of IBD-associated tumors.

Key Words: Proteomics; Inflammatory bowel disease; Biomarker

Tong MX, Miao YL. Application of proteomics to the study of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(22): 2333-2338

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克

罗恩病(Crohn's disease, CD), 是胃肠道慢性炎症性疾病. 环境、遗传、微生物、细胞和分子因素的共同作用介导了IBD的发生和发展. 由于IBD的病因复杂, 危险因素涉及多个方面, 临床表现极不典型, 因此造成对该病的诊断存在很大难度. 蛋白质组学的出现, 使炎症性肠病的研究有了进一步的发展. 本文就蛋白质组学在炎症性肠病的诊断及相关肿瘤预测方面的研究进行综述.

关键词: 蛋白质组学; 炎症性肠病; 标志物

童明霞, 缪应雷. 蛋白质组学在炎症性肠病研究中的应用. *世界华人消化杂志* 2010; 18(22): 2333-2338

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/2333.asp>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)在西方发达国家极为常见, 北美和欧洲发病率高达1/1 000. 随着我国经济水平的高速发展, 国人发病率亦呈上升趋势, 流行病学调查显示上海等沿海地区发病率已接近国外平均水平. 该疾病现正成为我国消化系统常见疾病和慢性腹泻的主要病因, 加之其病程迁延、活动期症状严重、治疗棘手, 已引起临床学者的高度重视. IBD是胃肠道慢性炎症性疾病. 环境、遗传、微生物、细胞和分子等因素的共同作用介导了IBD的发生和发展^[1,2]. 目前IBD的诊断是基于临床表现、内镜、组织学和放射学检查的结果, 尚无诊断的金标准^[3]. 基因组学已被广泛应用, 本研究小组^[4]已采用高通量基因芯片技术, 从全基因组角度比较UC患者与健康人群外周血单个核细胞差异表达基因, 通过生物信息学分析, 进一步采用半定量RT-PCR验证了3个明显差异表达基因, 支持基因芯片检测结果. 然而基因在转录前及转录调控过程中经过不同的剪接可能翻译成不同的蛋白质, 此外, 蛋白质在合成之后又可能经过包括磷酸化、糖基化、硫酸化、酰基化等不同的翻译后修饰过程, 导致基因的转录水平和蛋白质翻译水平的巨大差异. 因此, 仅从基因转录水平这一个角度不足以对蛋白质的种

■背景资料

IBD是胃肠道慢性炎症性疾病. 环境、遗传、微生物、细胞和分子等因素的共同作用介导了IBD的发生和发展. 目前IBD的诊断是基于临床表现、内镜、组织学和放射学检查的结果, 尚无诊断的金标准.

■同行评议者

颜宏利, 教授, 中国人民解放军第二军医大学遗传学教研室

■研发前沿

随着规模庞大的基因组测序的完成,人们逐渐认识到仅仅拥有完整的基因组序列并不能解释复杂的生命现象,由于基因组到蛋白质组间并不存在固定的线性关系,因此对疾病的蛋白质组学研究有着不可替代的意义和独特优势。

类和数量加以描述和预测,更不足以对主要由蛋白质演绎的复杂生命活动加以描述和预测。随着规模庞大的基因组测序的完成,人们逐渐认识到仅仅拥有完整的基因组序列并不能解释复杂的生命现象,由于基因组到蛋白质组间并不存在固定的线性关系,因此对疾病的蛋白质组学研究有着不可替代的意义和独特优势^[5,6]。并且蛋白质组研究是对基因组研究的重要补充,他是对生物体在蛋白质水平定量、动态、整体性的研究。蛋白质组学是一门对某一生物或细胞在特定生理或病理状态下表达的所有蛋白质的特征、数量和功能进行系统性研究的科学^[7]。蛋白质组学在医学方面的应用主要包括以下几个方面:通过寻找差异表达蛋白质以发现疾病相关的蛋白质;寻找用于诊断的疾病相关的标志物;研究疾病的发病机制等。蛋白质组学的核心技术为双向凝胶电泳(two-dimensional gel electrophoresis, 2-DE)和质谱分析,研究标本可分为:培养的细胞、生理或病理状态下的组织、各种体液等。目前血清蛋白质组学研究已经在前列腺癌、膀胱癌、乳腺癌和卵巢癌等疾病中发现了可能的诊断标志物^[8]。但目前对IBD的血清蛋白质组学研究鲜有提及。

1 蛋白质组学核心技术及其优点

1.1 2-DE 2-DE是蛋白质组学研究的核心技术之一,是目前唯一可将数千种蛋白质同时分离的方法。他利用了各种蛋白质等电点和相对分子质量的不同来分离复杂蛋白质组分,具有较高的分辨率和灵敏度,目前已成为复杂蛋白质组分检测和最好的生化技术。2-DE联合质谱技术被国际公认是目前蛋白质组研究技术的标准方法。2-DE具有以下优点:(1)分辨能力强;(2)信息量多,从2-DE图谱上可以初步得到细胞或组织内蛋白质的分布范围、表达蛋白质的个数等;(3)固定pH梯度胶条,IPG胶条机械性能好、重现性好、易处理;(4)可用计算机分析处理,并且能与质谱等分析鉴定方法相匹配。

1.2 荧光双向差异凝胶电泳 荧光双向差异凝胶电泳(fluorescence two-dimensional differential gel electrophoresis, F-2D-DIGE)是在传统2-DE基础上发展起来的定量分析凝胶蛋白质点的新方法。其特点是将3种待比较的蛋白样品用不同的荧光染料分别标记后在同一块凝胶上行双向电泳,通过激发不同荧光染料所得到的荧光强度

从而达到蛋白质差异比较的目的。此方法的优点是可以在同一块凝胶上比较不同来源或不同处理样本的蛋白质表达谱,能在较宽的动态范围内精确地对感兴趣的蛋白质进行定量。他避免了不同凝胶之间的差异对结果分析带来的困难,保证了实验条件的一致性,有利于差异表达点的筛选。F-2D-DIGE与传统的2-DE最大的差别在于前者采用了荧光试剂来标记蛋白质并通过荧光成像以获取电泳图像。

1.3 表面增强激光解析电离飞行时间质谱 蛋白质组谱技术是蛋白质组学研究的核心技术,是蛋白质组学研究的重要依托,具有高灵敏性和高精确性,可以分析极微量、低丰度的蛋白质,为检测细胞、组织、体液蛋白质的变化提供了技术手段。表面增强激光解析电离飞行时间质谱(surface-enhanced laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, SELDI-TOF-MS)法由Ciphergen公司推出,将蛋白质芯片技术与质谱联用,分析过程不会破坏蛋白质,整合蛋白质样品处理、生化反应及检测分析过程于一体,实现了新型、高效、快速、高通量的检测。与传统测定技术相比具有以下优势:(1)待测样本来源广泛,可直接检测不经处理的尿液、血液、脑脊液、关节腔滑液、支气管洗出液、细胞裂解液和各种分泌液等,获得样品中目标蛋白的相对分子质量;(2)在同一系统中集分离、纯化、鉴定、检测和数据分析为一体,高通量、操作自动化、快捷方便;(3)样品需要量少,检测速度快,适合临床诊断及大规模筛查;(4)灵敏度高,适合低丰度相对分子质量小蛋白质的发现,并能检测疏水蛋白质;(5)对样品中的盐和其他杂质有较高的兼容性^[9]。因此,SELDI-TOF-MS技术的出现使应用少量临床样本即可检测到与疾病发展密切相关的低丰度蛋白成为可能,也使蛋白质组学诊断模式发展成为一种有价值的诊断标准。

2 IBD相关的生物标志物

2.1 血小板因子4 血小板因子4(platelet factor 4, PF4)属于CXCL趋化因子家族的成员,并且主要由巨核细胞产生,储存在血小板 α 颗粒中并在损伤激活时被释放^[10-12]。Danese等^[13]之前就报道了IBD患者比健康对照组表现出较高的血小板活性状态,并且提出血小板功能不良可能是IBD的病理生理的一部分。有研究指出,IBD活动期患者血液中的血小板升高,可能与IBD

活动时机体释放多种与刺激血小板形成有关的IL-3、IL-6、血小板生成素有关, 这些细胞因子能增加血小板生成速率^[14]. 到目前为止, 很少有报道应用蛋白质组学方法研究体液(血清/血浆或者尿液)中IBD的生物标志物^[15]. Meuwis等^[16]将120例血清样本分为4组(30例克罗恩病, 30例溃疡性结肠炎, 30例非炎症性肠病和30名健康对照), 应用SELDI-TOF-MS比较血清蛋白发现PF4在IBD患者和炎症对照的患者血清中分布不同, 这可能反映了血小板的功能障碍. 除此之外, 通过ELISA法评估了PF4在我们样本血清中的水平, 并且与活动性疾病的PF4的SELDI分布是相关的. 但是, 基于ELISA试验的PF4的分布不能为从SELDI谱中获得的IBD患者提供良好的分离. 其他人也用ELISA技术研究了PF4的分布^[17,18]. 有趣的是, PF4存在很多不同的形式并且由成熟形式的蛋白酶解加工产生^[19-21]. Meuwis等^[16]检测到的PF4的主要形式准确在7 771 Da. 与ELISA不同, SELDI-TOF-MS技术能够鉴别PF4变体, 能够有效地从炎性消化系疾病中鉴别出活动性的IBD. 因此, 经过纯化和鉴定, PF4这个重要的生物标志物对IBD的诊断及病理生理学机制有着重要的作用. 用类似的方法, 对20例对英夫利昔单抗有反应或者无反应的克罗恩病(Crohn's disease, CD)患者的血清进行初步的研究^[22]. 在两项研究中, PF4被鉴定为潜在的生物标志物. 在SELDI峰的强度水平处, 确认PF4的水平与对英夫利昔单抗无反应者呈负相关. 然而, 这些相关性并没有通过ELISA法证实, 并且PF4没有表现出与其他疾病标志物(sCD40L, IL-6, CRP)或临床指标有任何相关性.

2.2 结合珠蛋白 结合珠蛋白(haptoglobin, Hp)又称触珠蛋白, 是血清 α_2 球蛋白组分中相对分子质量为85 000 Da的一种酸性糖蛋白, 广泛存在于人类和许多哺乳动物的血清及其他体液中, 主要在肝脏合成, 其降解也在肝脏. 其主要功能是通过与游离血红蛋白(hemoglobin, Hb)结合形成Hp-Hb复合物, 由于其分子较大, 不能从肾脏排出, 这样可以阻止Hb从肾小球滤过, 避免游离Hb对肾小管的损害. 此外, Hp作为一种急性期时相反应蛋白, 在参与宿主抗感染、损伤组织的修复以及内环境稳定的过程中起着重要作用. 当机体处在应激状态时, 血液中的Hp明显增多, 如心肌梗塞、肿瘤、炎症、创伤、感染等病理状态时. 除以上的功能外, Hp尚有抗氧化活性、抑制前列腺素合成、抑制细菌、促进血管生成及重要的

免疫作用^[23].

Hp是一个有2 α 和2 β 亚单位的多亚基蛋白复合体. Hp α 存在两种单体型Hp α_1 和Hp α_2 , 表现型为Hp1-1, Hp1-2, Hp2-2. Hp是由他的亚单位的重新分配所独立量化的, 被用于炎症或溶血的一般标志物, 并且随类型和疾病的演变波动. 早期的研究报道, 活动性IBD的Hp水平一般会增高, 与CD活性指数相关(Crohn's disease activity index, CDAI)^[24]. 而且, 还有报道用抗TNF成功治疗CD后Hp的水平呈整体下降^[25]. Meuwis^[16]等在缓解期的患者[他们中的一些经过抗肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)治疗]与活动期的患者相比, 观察到了Hp α_2 在血清中的低水平. Hp α_2 可能被认为是IBD新的特异性生物标志物, 且与疾病的临床活动性相关. 传统的炎性标志物, 如C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)并不完全与IBD临床和内镜活动性相关, 这一新的生物标志物可能对描述疾病的活动性有一定的补充作用. Kang等^[26]应用2-DE比较4例CD患者和8例健康人的血清蛋白质样本, 通过质谱鉴定Hp在CD患者的血清中表达上调, 说明Hp可能在CD的免疫失衡中有着重要的作用.

2.3 波形蛋白(vimentin) vimentin是一种中间丝波形蛋白, 大量表达于间充质细胞中, 在细胞结构的稳定方面起到重要的作用, 同时vimentin还与细胞的黏附、迁移、细胞信号传导、细胞生长凋亡及炎症反应有密切联系. 有研究发现, 用第85位天冬氨酸断裂的波形蛋白肽段转染细胞后, 干扰了正常波形蛋白的组装, 出现细胞变圆、细胞质收缩等凋亡特有的表现, 说明波形蛋白的裂解产物能促进凋亡^[27]. Yang等^[28]用TNF-2 α 刺激滑膜成纤维细胞后, 发现半胱氨酸蛋白酶4(caspase 4)被激活并降解vimentin, 破坏vimentin与P53蛋白形成的复合物, 从而诱发细胞凋亡. 已经报道了几个vimentin被caspase剪切降解的位点. Byun等^[27]报道vimentin被caspase-3/-7在Asp85(DSVD85-F)剪切, 或者在Asp259(IDVD259-V)位点被caspase-6剪切. 赵蕊梅等^[29]选取12例活动期溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者及12例正常肠黏膜为研究对象, 提取组织蛋白做2-D电泳、银染、胶图分析找差异点, 质谱鉴定蛋白质, 最后Western blot验证差异点. 结果共鉴定出蛋白质30个(上调16个, 下调14个), 成功选取其中的vimentin, 并得到Western blot方法的验证. 综上所述, 在UC患者的肠黏膜中存在vimentin被caspase水解片段的高

■ 相关报道

Brentnall等检测到S100P在UC相关的高度异型活检组织和结肠癌、UC进展者的非异型黏膜中过度表达, 而且免疫组织化学分析已经证实, S100P蛋白在UC进展的非异型结肠组织中的表达显著高于UC非进展的结肠黏膜, 进一步证明S100P可能成为一个潜在的生物标志物, 预测UC发展为结肠癌.

■同行评价

本文综述了蛋白质组学在炎症性肠病研究中的应用,有一定的新颖性,综述内容也比较丰富。

表达,而且Western blot验证了我们在差异蛋白组学中的这一发现。可见vimentin的降解片段与UC的发生发展存在重要的关系,可能参与UC的发病机制,并为临床治疗提供新的治疗靶点。

2.4 人中性粒细胞防御素组分 防御素是最大的自然抗生素的肽家族之一。其表现对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌、分枝杆菌、真菌和一些包裹病毒一定的抗菌活性。人中性粒细胞防御素组分(human neutrophil peptides 1-3, HNP1-3)是 α 防御素家族的一部分,并且是先天免疫的成分。HNP1-3是由中性粒细胞的前体细胞合成,并且在炎症状态下由成熟的循环中性粒细胞释放^[30,31]。在活动性UC或CD患者的回肠和结肠上皮细胞可以观察到HNP1-3的表达^[32]。Kanmura等^[33]应用蛋白质组学方法证实了在活动性UC中的HNP1-3的平均血浆浓度显著高于缓解期UC、感染性结肠炎及健康对照组,并且倾向于结肠癌患者。除此之外,对皮质类固醇有反应的UC患者的HNP1-3的血浆浓度在治疗后下降,然而无反应者HNP1-3的血浆浓度无变化。由此可见, HNP1-3是一个可能对诊断活动性UC和预测治疗结果有用的新型的生物标志物。

有报道HNP1-3的水平在结肠癌患者的肿瘤组织和血清中升高^[34]。也报道了由ELISA法决定的血浆HNP1-3浓度与健康对照相比,在结肠癌Duke's分级的C级和D级升高,在A级和B级不升高^[35]。然而Kanmura等^[33]研究显示了在结肠癌患者Duke's A级的HNP1-3的浓度高于非活动性UC和健康对照。虽然结肠癌患者Duke's A级的HNP1-3的浓度在此研究中与之前的研究中几乎相似^[35],但在健康对照中的HNP1-3的浓度在两项研究中均不同。另外Albrethsen等^[35]提到,通过SELDI蛋白芯片检测到除了Duke's C级和D级, A级和B级的结肠癌组织中的HNP1-3表达高于正常组织。这就有争议了,在肿瘤中升高的HNP1-3是局限在肿瘤细胞还是中性粒细胞。有一种可能,血浆HNP1-3的浓度在A级升高并且HNP1-3浓度作为结肠癌晚期患者评估的一个潜在的标志物^[34,35]。由此看来, HNP1-3可能不能鉴别活动性UC和结肠癌,但其可能作为UC患者发生结肠癌的一个辅助信号,对IBD的鉴别诊断是一个有用的标志物。

3 IBD相关肿瘤标志物

3.1 S100P蛋白 S100蛋白是1965年Heizmann等^[36]首先在牛脑组织中发现的一组相对分子质

量小的蛋白,因其能够100%溶解于中性饱和硫酸铵溶液而得名。S100蛋白是一个多基因钙结合家族包含了20种已知的成员^[37]。他们有广泛的细胞内和细胞外功能,包括蛋白磷酸化和酶活性的调节、钙平衡、细胞骨架成分的构成和转录因子的调节^[37]。一些S100蛋白位于线粒体膜并且一些S100蛋白通过诱导线粒体潜能的快速下降而在细胞凋亡中起着重要的作用^[38,39]。而S100P蛋白是S100家族的一个新成员,最初从胎盘(placenta)中分离出来,故命名为“S100P”^[40]。当前研究证明其与多种肿瘤的发生发展显著相关。S100P常常在一些上皮肿瘤类型包括胰腺^[41]和结肠中过表达。最近的研究提示S100P在分散的结肠癌有着重要的作用,其通过刺激细胞生长、迁移和影响一些促炎分子的信号传导通路^[42]。S100P的上调在胰腺癌的发展中是一早期分子事件,并且在前期损伤和侵袭性癌中处于高表达水平^[43,44]。

UC有发展为结肠癌的高危险性。结肠镜检查对UC患者来说是相当昂贵的而且耗时,并且是一项侵袭性的操作。因此,检测到异型性的生物标志物可以帮助那些有发展为癌症危险性的UC患者。Brentnall等^[45]检测到S100P在UC相关的高度异型活检组织和结肠癌、UC进展者的非异型黏膜中过度表达。而且免疫组织化学分析已经证实, S100P蛋白在UC进展的非异型结肠组织中的表达显著高于UC非进展的结肠黏膜,进一步证明S100P可能成为一个潜在的生物标志物,预测UC发展为结肠癌。除了S100P表达异常之外,有3个S100蛋白在UC进展中表达增加(S100A6, S100A11和S100H),两个其他的S100蛋白显著地低表达,这对于预测UC肿瘤形成有着重要的价值。

3.2 transgelin蛋白 transgelin又称SM-22alpha,是一种主要在脊椎动物平滑肌中表达的保守蛋白^[46,47]。彭佳远等^[48]研究发现transgelin蛋白在从正常组织至腺瘤再发展至腺癌的过程中,其表达量逐渐下降,而腺癌与肝转移之间的表达无显著差异,由此提示transgelin蛋白可能是结直肠黏膜恶变的一种重要标志物。李里等^[49]研究发现transgelin蛋白在结直肠癌的发生与进展过程中表达逐渐降低,这种表达减弱与肿瘤的分化程度及预后有关;在结直肠癌患者中血清transgelin水平上升,尤其以Duke B、C和D期更为明显。此研究结果提示, transgelin蛋白可能成为一种新的临床肿瘤标志物。研究发现, UC小鼠自发结肠肿瘤中transgelin蛋白的表达量较正常黏膜明显

下降^[50], 提示transgelin蛋白可能是UC相关结肠癌的一个候选标志物。

3.3 热休克蛋白 热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是一组高度保守的蛋白质, 在细胞生长、发育、分化、基因转录、蛋白质合成、折叠、分解、细胞骨架功能等方面发挥重要生理作用。无论生理或病理状态, HSP都是保护肠黏膜细胞所必需的。在UC病变部位及其正常黏膜的活检标本中发现结肠炎病变黏膜HSP减少, 可能是因为损伤条件下肠黏膜上皮的细胞生理功能削弱, 使HSP产生减少。并由于HSP减少而使损伤加重, 可见HSP发挥保护功能有一定的生理条件^[51]。Araki等^[52]通过2-DE和质谱评估UC相关的癌与分散的结肠癌细胞之间的不同蛋白的表达发现, HSP47是UC相关的癌细胞中高表达的蛋白之一, 并且免疫组织化学证实了在UC相关的癌中的表达显著高于分散的结肠癌, 其表达随肿瘤性病变的进展而增加。总之, HSP47的过度表达是UC相关的癌的一个独特的特征, 需要进一步研究说明他的临床意义。

4 结论

尽管蛋白质组学技术对于我们进一步研究IBD提供了强有力的支持, 但我们还应看到蛋白质组技术的不足。用于蛋白分离的2-DE对于极酸、极碱以及低丰度的蛋白分离效果差, 且无法实现高通量、自动化的操作极大地限制了我们对蛋白质组的研究。SELDI-TOF-MS技术只能给出蛋白的相对分子质量, 对目标蛋白的鉴定还需一系列后续工作。而且由于使用激光解析电离飞行时间质谱分离全蛋白, 目标蛋白多集中于10 000 Da以内。然而蛋白质组学技术毕竟使我们对IBD的研究更深入了一步, 为研究疾病的发生、发展过程提供了一个全新的思路, 通过对IBD相关的生物标志物及IBD相关的肿瘤标志物的研究, 有可能为IBD的诊断及治疗提供新的靶向因子, 以达到早期诊断、早期治疗的目的, 对临床工作有指导性的意义。

5 参考文献

- 1 Kok K, Stokkers P, Reitsma PH. Genomics and proteomics: implications for inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10 Suppl 1: S1-S6
- 2 Felley-Bosco E, André M. Proteomics and chronic inflammatory bowel diseases. *Pathol Res Pract* 2004; 200: 129-133
- 3 夏霖, 伍晓汀. 克罗恩病的诊断进展. *中国实用外科杂志* 2007; 27: 246-248
- 4 缪应雷, 肖玉良, 段丽平, 李晓燕, 陈丽芳, 李红纳. 寡聚核苷酸芯片检测溃疡性结肠炎患者基因表达谱的

- 研究. *中华消化杂志* 2009; 29: 775-777
- 5 Pandey A, Mann M. Proteomics to study genes and genomes. *Nature* 2000; 405: 837-846
- 6 Graves PR, Haystead TA. Molecular biologist's guide to proteomics. *Microbiol Mol Biol Rev* 2002; 66: 39-63; table of contents
- 7 Peng J, Gygi SP. Proteomics: the move to mixtures. *J Mass Spectrom* 2001; 36: 1083-1091
- 8 Petricoin EF, Ardekani AM, Hitt BA, Levine PJ, Fusaro VA, Steinberg SM, Mills GB, Simone C, Fishman DA, Kohn EC, Liotta LA. Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer. *Lancet* 2002; 359: 572-577
- 9 Kiehnopf M, Siegmund R, Deufel T. Use of SELDI-TOF mass spectrometry for identification of new biomarkers: potential and limitations. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45: 1435-1449
- 10 Bikfalvi A. Platelet factor 4: an inhibitor of angiogenesis. *Semin Thromb Hemost* 2004; 30: 379-385
- 11 Slungaard A. Platelet factor 4: a chemokine enigma. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37: 1162-1167
- 12 Stoeckle MY, Barker KA. Two burgeoning families of platelet factor 4-related proteins: mediators of the inflammatory response. *New Biol* 1990; 2: 313-323
- 13 Danese S, Motte Cd Cde L, Fiocchi C. Platelets in inflammatory bowel disease: clinical, pathogenic, and therapeutic implications. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 938-945
- 14 陈隆典, 杨英. 炎症性肠病疾病活动程度与血小板参数的相关性分析. *中华消化杂志* 2006; 26: 771-771
- 15 Alex P, Gucek M, Li X. Applications of proteomics in the study of inflammatory bowel diseases: Current status and future directions with available technologies. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 616-629
- 16 Meuwis MA, Fillet M, Geurts P, de Seny D, Lutteri L, Chapelle JP, Bours V, Wehenkel L, Belaiche J, Malaise M, Louis E, Merville MP. Biomarker discovery for inflammatory bowel disease, using proteomic serum profiling. *Biochem Pharmacol* 2007; 73: 1422-1433
- 17 Knot E, Ten Cate JW, Leeksa OC, Tytgat GN, Vreeken J. No evidence for a prethrombotic state in stable chronic inflammatory bowel disease. *J Clin Pathol* 1983; 36: 1387-1390
- 18 Vrij AA, Rijken J, Van Wersch JW, Stockbrügger RW. Platelet factor 4 and beta-thromboglobulin in inflammatory bowel disease and giant cell arteritis. *Eur J Clin Invest* 2000; 30: 188-194
- 19 Gupta SK, Hassel T, Singh JP. A potent inhibitor of endothelial cell proliferation is generated by proteolytic cleavage of the chemokine platelet factor 4. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 7799-7803
- 20 Van Damme J, Struyf S, Opdenakker G. Chemokine-protease interactions in cancer. *Semin Cancer Biol* 2004; 14: 201-208
- 21 Green CJ, Charles RS, Edwards BF, Johnson PH. Identification and characterization of PF4var1, a human gene variant of platelet factor 4. *Mol Cell Biol* 1989; 9: 1445-1451
- 22 Meuwis MA, Fillet M, Lutteri L, Marée R, Geurts P, de Seny D, Malaise M, Chapelle JP, Wehenkel L, Belaiche J, Merville MP, Louis E. Proteomics for prediction and characterization of response to infliximab in Crohn's disease: a pilot study. *Clin Biochem* 2008; 41: 960-967
- 23 Langlois MR, Delanghe JR. Biological and clinical significance of haptoglobin polymorphism in

- humans. *Clin Chem* 1996; 42: 1589-1600
- 24 Vucelić B, Milčić D, Krznarić Z, Korać B, Sentić M, Hadžić N, Stavljenić A, Cvorisćec D. [Serum acute phase proteins for determining disease activity of ulcerative colitis and Crohn disease] *Acta Med Austriaca* 1991; 18: 100-105
- 25 Kupcová V, Turecký L, Detková Z, Příkazská M, Keleová A. Changes in acute phase proteins after anti-tumor necrosis factor antibody (infliximab) treatment in patients with Crohn's disease. *Physiol Res* 2003; 52: 89-93
- 26 Kang L, Yang ZL, Liu W, Zhang LJ, Liu SJ, Huang MJ, Li MT, Wang JP. [Serum proteomic variation study in patients with Crohn disease] *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2008; 11: 266-269
- 27 Byun Y, Chen F, Chang R, Trivedi M, Green KJ, Cryns VL. Caspase cleavage of vimentin disrupts intermediate filaments and promotes apoptosis. *Cell Death Differ* 2001; 8: 443-450
- 28 Yang X, Wang J, Liu C, Grizzle WE, Yu S, Zhang S, Barnes S, Koopman WJ, Mountz JD, Kimberly RP, Zhang HG. Cleavage of p53-vimentin complex enhances tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-mediated apoptosis of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Am J Pathol* 2005; 167: 705-719
- 29 赵芯梅, 智发朝, 杨小明, 吕超蓝, 王焕景, 康滨, 吕有勇, 刘斯奇, 姜泊. 结肠黏膜vimentin降解在溃疡性结肠炎发病机制中的作用. *现代消化及介入诊疗* 2009; 14: 145-147
- 30 Ganz T, Selsted ME, Szklarek D, Harwig SS, Dahar K, Bainton DF, Lehrer RI. Defensins. Natural peptide antibiotics of human neutrophils. *J Clin Invest* 1985; 76: 1427-1435
- 31 van Wetering S, Sterk PJ, Rabe KF, Hiemstra PS. Defensins: key players or bystanders in infection, injury, and repair in the lung? *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 1131-1138
- 32 Cunliffe RN, Kamal M, Rose FR, James PD, Mahida YR. Expression of antimicrobial neutrophil defensins in epithelial cells of active inflammatory bowel disease mucosa. *J Clin Pathol* 2002; 55: 298-304
- 33 Kanmura S, Uto H, Numata M, Hashimoto S, Moriuchi A, Fujita H, Oketani M, Ido A, Kodama M, Ohi H, Tsubouchi H. Human neutrophil peptides 1-3 are useful biomarkers in patients with active ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 909-917
- 34 Melle C, Ernst G, Schimmel B, Bleul A, Thieme H, Kaufmann R, Mothes H, Settmacher U, Claussen U, Halbhauer KJ, Von Eggeling F. Discovery and identification of alpha-defensins as low abundant, tumor-derived serum markers in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2005; 129: 66-73
- 35 Albrethsen J, Møller CH, Olsen J, Raskov H, Gammeltoft S. Human neutrophil peptides 1, 2 and 3 are biochemical markers for metastatic colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2006; 42: 3057-3064
- 36 Heizmann CW, Fritz G, Schäfer BW. S100 proteins: structure, functions and pathology. *Front Biosci* 2002; 7: d1356-d1368
- 37 Salama I, Malone PS, Mihaimed F, Jones JL. A review of the S100 proteins in cancer. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 357-364
- 38 Brezová A, Heizmann CW, Uhrík B. Immunocytochemical localization of S100A1 in mitochondria on cryosections of the rat heart. *Gen Physiol Biophys* 2007; 26: 143-149
- 39 Ghavami S, Kerkhoff C, Chazin WJ, Kadkhoda K, Xiao W, Zuse A, Hashemi M, Eshraghi M, Schulze-Osthoff K, Klonisch T, Los M. S100A8/9 induces cell death via a novel, RAGE-independent pathway that involves selective release of Smac/DIABLO and Omi/HtrA2. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1783: 297-311
- 40 Emoto Y, Kobayashi R, Akatsuka H, Hidaka H. Purification and characterization of a new member of the S-100 protein family from human placenta. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 182: 1246-1253
- 41 Downen SE, Crnogorac-Jurcevic T, Gangeswaran R, Hansen M, Eloranta JJ, Bhakta V, Brentnall TA, Lüttges J, Klöppel G, Lemoine NR. Expression of S100P and its novel binding partner S100PBPR in early pancreatic cancer. *Am J Pathol* 2005; 166: 81-92
- 42 Fuentes MK, Nigavekar SS, Arumugam T, Logsdon CD, Schmidt AM, Park JC, Huang EH. RAGE activation by S100P in colon cancer stimulates growth, migration, and cell signaling pathways. *Dis Colon Rectum* 2007; 50: 1230-1240
- 43 Arumugam T, Simeone DM, Van Golen K, Logsdon CD. S100P promotes pancreatic cancer growth, survival, and invasion. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 5356-5364
- 44 Komatsu K, Andoh A, Ishiguro S, Suzuki N, Hunai H, Kobune-Fujiwara Y, Kameyama M, Miyoshi J, Akedo H, Nakamura H. Increased expression of S100A6 (Calcylin), a calcium-binding protein of the S100 family, in human colorectal adenocarcinomas. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 172-177
- 45 Brentnall TA, Pan S, Bronner MP, Crispin DA, Mirzaei H, Cooke K, Tamura Y, Nikolskaya T, Jebailey L, Goodlett DR, McIntosh M, Aebersold R, Rabinovitch PS, Chen R. Proteins That Underlie Neoplastic Progression of Ulcerative Colitis. *Proteomics Clin Appl* 2009; 3: 1326-1337
- 46 Genini M, Schwalbe P, Scholl FA, Schäfer BW. Isolation of genes differentially expressed in human primary myoblasts and embryonal rhabdomyosarcoma. *Int J Cancer* 1996; 66: 571-577
- 47 Zuber J, Tchernitsa OI, Hinzmann B, Schmitz AC, Grips M, Hellriegel M, Sers C, Rosenthal A, Schäfer R. A genome-wide survey of RAS transformation targets. *Nat Genet* 2000; 24: 144-152
- 48 彭佳远, 张清福, 秦环龙. 结肠癌发生和发展不同阶段的差异蛋白质组学实验研究. *肿瘤* 2008; 28: 1023-1028
- 49 李里, 彭佳远, 马延磊, 黄龙, 张鹏, 刘伟杰, 秦环龙, 蒋智铭. Transgelin蛋白在人结直肠癌中的表达及其临床意义. *肿瘤* 2009; 29: 765-771
- 50 Yeo M, Kim DK, Park HJ, Oh TY, Kim JH, Cho SW, Paik YK, Hahm KB. Loss of transgelin in repeated bouts of ulcerative colitis-induced colon carcinogenesis. *Proteomics* 2006; 6: 1158-1165
- 51 张迎春, 潘胜武, 贺静. 热休克蛋白与炎症性肠病. *实用医学杂志* 2009; 25: 155-157
- 52 Araki K, Mikami T, Yoshida T, Kikuchi M, Sato Y, Oh-ishi M, Kodera Y, Maeda T, Okayasu I. High expression of HSP47 in ulcerative colitis-associated carcinomas: proteomic approach. *Br J Cancer* 2009; 101: 492-497