

蛋白质组学在胃癌不同标本中的研究进展

李 滕, 王晓龙, 张成武
(青海大学附属医院, 青海 西宁 810001)

摘要:胃癌是世界上因癌症死亡的主要原因之一, 尽早发现肿瘤是改善胃癌预后的关键。因此, 寻找胃癌相关肿瘤标志物就成了当前研究领域的热点问题。蛋白质组学的广泛应用得益于其不断革新的研究技术, 使大量的胃癌标本得以被筛选, 比如细胞、组织、血液和幽门螺旋杆菌感染的标本等, 从而鉴别出具有相对特异性及灵敏度的新型潜在肿瘤标志物。我们对既往蛋白质组学在胃癌不同标本中的研究进行了回顾, 讨论了这些可能作为胃癌潜在标志物的蛋白质特征及作用, 并分析了目前蛋白质组学在胃癌研究方面存在的一些问题及发展前景。

关键词:蛋白质组学; 胃癌标本; 肿瘤标志物; 蛋白质组学技术

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2019)04-0295-06

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2019.04.A009

Research Advance in Proteomics of Gastric Cancer by Using Different Specimens

LI Teng, WANG Xiao-long, ZHANG Cheng-wu
(Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining 810001, China)

Abstract: Gastric cancer is one of the leading causes of cancer death in the world, early detection is the key to improve the prognosis of gastric cancer. Therefore, finding tumor markers related to gastric cancer has become a hot issue in the current research field. The widespread use of proteomics has benefited from its revolutionary research techniques, allowing a large number of specimens to be screened, such as cancer cell lines, cancer tissues, blood of cancer patients and specimens infected with *Helicobacter pylori*. Because of this, we can identify novel potential tumor markers with relatively high specificity and sensitivity. In this article we review the research progress in proteomics of gastric cancer by using different specimens, discuss the characteristics and functions of potential marker proteins of gastric cancer, and analyze some existing problems and prospects of proteomics in gastric cancer research.

Key words: proteomics; specimens of gastric cancer; tumor markers; proteomics research techniques

胃癌是世界上因癌症死亡的主要原因之一, 使其发病率在过去的 50 年里有所下降, 但每年仍确诊大约 100 万例新病例^[1,2]。亚洲是胃癌的高发区, 每年近四分之三的新发病例在亚洲被确诊^[3]。

蛋白质是生命活动的物质基础, 它与各种形式的生命活动紧密结合在一起, 人体的组织器官正是通过不同蛋白质的表达来呈现出不同的功能。同样的, 胃癌也是通过不同蛋白质的表达来呈现疾病的不同形式。随着科技的不断进步, 基因数量的有限性

和结构的稳定性与生命现象复杂多变的矛盾日益凸显。当人类基因组序列提前完成时, 人们开始将目光转向了由这些基因编码的全套蛋白质。

蛋白质组学(proteomics)最早由 Wasinger 于 1994 年提出, 发展至今已有 20 余年^[4]。研究内容从最初了解蛋白质的相关功能到将蛋白质的功能与生理、病理相关联; 研究领域从正常细胞的正常表达达到恶性肿瘤的特异表达, 再到良性疾病的差异表达; 研究方向也从刚开始对细胞差异表达的探索到对相关组织、器官甚至是动物模型的整体差异表达的研究。随着人们对蛋白质组学的深入研究, 为了从复杂的蛋白质组中探测数千种蛋白质, 发展高通量、高灵敏

收稿日期: 2019-01-26; 修回日期: 2019-02-21
基金项目: 青海省科学技术厅基金项目(2018-SF-113)
通信作者: 王晓龙, E-mail: 13437833@qq.com

度、高准确性的研究技术平台成为了当前的主要发展方向。蛋白质组学的研究技术也就从双向凝胶电泳(two-dimensional gel electrophoresis, 2-DE)、表面增强激光解吸电离(surface-enhanced laser desorption/ionization, SELDI)和蛋白质芯片(protein chip)技术逐渐发展为目前常用的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)、荧光差异凝胶电泳技术(difference in gel electrophoresis, DIGE)、同位素亲和标记技术(isotope coded affinity tags, ICAT)、细胞培养氨基酸稳定同位素标记技术(table isotope labeling by amino acids in cell culture, SILAC)、同位素标记相对和绝对定量技术(isobaric tag for relative and absolute quantitation, iTRAQ)以及串联质谱标签法(tandem mass tag, TMT)等^[5]。在此,我们回顾了过去数年间通过蛋白质组学方法寻找胃癌不同标本肿瘤标志物的研究进展,并讨论了这些可能作为胃癌潜在标志物的蛋白质的特征及作用。

1 蛋白质组学在胃癌不同标本中的应用

1.1 胃癌细胞系

近些年来,人们在胃癌细胞系方面的研究从未停止过脚步。小到细胞器,大到细胞分泌物,都是研究人员追逐的热点。GKN1(gastrokine 1),一种胃癌抑制因子,与胃癌的发生和发展密切相关^[6]。GKN1在胃黏膜细胞中表达,维持黏膜的完整性并参与黏膜细胞的修复,在肿瘤的早期转化过程中起着重要的组织修复作用^[7]。Yan等^[8]应用2-DE方法对人类SGC-7901胃癌细胞系进行的蛋白质组学分析中发现,GKN1具有抑制细胞生长和诱导胃癌细胞周期停滞的作用,在74种受GKN1调节的蛋白质中,烯醇化酶- α (α -enolase)在蛋白质的相互作用网络中扮演着重要的角色,烯醇化酶- α 低表达所导致的生长抑制和细胞周期停滞与GKN1表达的效果类似,据此,我们可以认为烯醇化酶- α 对胃癌细胞的生长抑制发挥着重要作用^[8]。

MET是一种与胃癌细胞的生长和浸润相关的癌基因^[9]。Torti等^[10]采用蛋白质芯片(protein arrays)技术对胃癌细胞系GTL16进行蛋白质组学分析,筛

选出4种受MET调节的蛋白质——IL-8、GRO α 、u-PAR、IL-6,但由于缺乏大量的临床实验,他们只是对这些蛋白质应用于胃癌靶向治疗的前景进行了预测。Guo等^[11]通过iTRAQ方法对MET过表达的胃癌细胞系SNU5进行了蛋白质组分析,发现线粒体是MET抑制剂的一个直接作用靶点,这对了解胃癌的发病机制及靶向药物治疗的途径提供了一条新的思路。

在胃上皮细胞方面,Yang等^[12]通过iTRAQ-LC/MS/MS方法分别对正常胃上皮细胞和多种胃癌细胞进行了蛋白质组学分析,比较了两者之间膜蛋白的相对表达水平,经过免疫印迹法验证,在多种差异表达蛋白中发现了SLC3A2蛋白在胃癌细胞中的高度表达,此外免疫荧光标记和免疫组化均证实了SLC3A2在胃癌细胞上的定位,根据他们的实验结果不难看出,SLC3A2作为一种潜在的肿瘤标志物,有助于人们在分子水平检测早期胃癌。Marimuthu等^[13]采用SILAC的定量蛋白质组学方法,以识别出肿瘤和非肿瘤性胃上皮细胞之间差异表达的分泌蛋白。与非肿瘤的胃上皮细胞相比,在胃癌的分泌腺中发现了2205个差异表达蛋白,其中263个蛋白在胃癌衍生细胞系中上调超过了4倍,并通过免疫组化标记的方法筛选出了3个候选蛋白——PCSK9、LMAN2、PDAP1,这三种蛋白在胃腺癌标本中的上调率分别为60%、73%和82%。因此我们认为这些蛋白可能成为胃腺癌早期检测的潜在肿瘤标志物。胃癌细胞对于肿瘤标志物的发现有着巨大的贡献,但這些潜在的肿瘤标志物仍需要大量的临床实验来验证它们的可靠性。

1.2 胃癌组织

病理学检查是确诊胃癌的主要方式。大部分胃癌患者都会接受手术治疗,术后切除的肿瘤组织就成了确诊胃癌的主要组织来源。Gao等^[14]曾利用TMT方法比较了非癌组织与胃癌组织质膜蛋白的相对表达水平,并首次发现了flotillin1在胃癌中的差异表达,提示flotillin1或许是胃癌的一个潜在标志物,从而有助于了解胃癌的致癌作用及早期筛查。

有无淋巴结转移是判断胃癌预后及肿瘤进展的重要指标,准确判定淋巴结的转移情况对于选择早期胃癌的治疗方式至关重要。为了寻找可能作为胃癌淋巴结转移的预测靶点,Jiang等^[15,16]人通过iTRAQ联

合 LC-ESI-MS/MS 的方法,发现了两对与胃癌淋巴结转移及 TNM 分期密切相关的蛋白质——MTA2 和 HDAC1、FABP1 和 FASN。在 32 例胃癌患者中,MTA2 和 HDAC1 共表达的灵敏度达到了 65.3%,特异性达到了 65.2%;在 43 例胃癌患者中,FABP1 和 FASN 共表达的灵敏度达到了 61.4%,特异性达到了 77.1%。虽然这 4 种蛋白质很有可能是人类胃癌淋巴结转移的预测因子,但 Jiang 等人并未对这 4 种蛋白质的作用机理进行详细阐述,两对蛋白质共表达的灵敏度及特异性也未进行实验比较,还需进一步的研究进行验证。

组织及细胞在癌变的过程中,必定伴随着能量代谢的重新分配,才能维持肿瘤组织的生存能力。Wang 等^[17]通过 iTRAQ 方法对胃腺癌标本的蛋白表达进行了分析,其中表达上调的蛋白质(比如 ANXA1)主要参与细胞的运动,而表达下调的蛋白质(比如 UQCRC1)是参与能量代谢的线粒体酶,为了探寻这些差异表达蛋白的相互联系,他们在早期胃癌的标本中进行了验证,发现有 61.36%出现了 ANXA1 的上调,其表达在晚期标本中进一步增加,而 UQCRC1 的表达均降低。这项研究证实了胃癌的发展与细胞活力的增加和线粒体能量代谢的降低密切相关,这对日后了解胃癌发生发展的机制提供了很好的实验基础。蛋白质组学技术在胃癌组织标本上的应用主要是为了寻找可能的检测靶点,继而能方便地将胃癌患者从健康人群中区分开来。

1.3 胃癌患者的血液

人类的体液,比如血液、尿液和胸腔积液等,都蕴含着肿瘤的相关信息,液体活检也因此成为一种可用于不同疾病早期检测的新策略。血液能够作为检测肿瘤标志物的理想标本,主要因为与肿瘤相关的特异性蛋白质会被释放到血液中;其次,血液取样过程简便、快速且创伤小。Liu 等^[18]采用 SELDI-TOF-MS 方法对胃癌及慢性胃病患者的血清进行了分析,筛选并确定了 3 种差异表达的蛋白——fibrinogen α -chain (纤维蛋白原 α 链)、apolipoprotein A-II (载脂蛋白 A-II) 和 lipid-laden proteins C-I (载脂蛋白 C-I),对这 3 种蛋白质的联合检测进行质谱分析验证,在 65 例胃腺癌患者中的灵敏度为 93.85%,在 53 例对照组中的特异性为 94.34%。

针对不同分期胃癌患者血浆差异蛋白的研究,

近些年来也已开展。Chong 等^[19]为了寻找新的生物标志物,通过 iTRAQ-LC-MS/MS 方法分别对早期和晚期胃癌患者的血浆进行蛋白质谱分析,发现了 C9 蛋白的高表达并通过免疫印迹法进行了验证,同时在胃癌细胞系及其培养基中也检测到了 C9 蛋白的高表达,对 119 个血浆样品的后续盲试验研究表明,C9 的灵敏度高达 90%,特异性为 74%。值得思考的是,一些免疫性疾病比如类风湿性关节炎也会出现 C9 蛋白的高表达,所以 C9 作为胃癌潜在标志物的应用还需要考虑患者的病史问题。Yoo 等^[20]也对不同分期胃癌患者的血浆进行了定量蛋白质组学分析(MRM-MS),验证并筛选了 4 个具有显著差异性的蛋白——vitronectin、clusterin isoform 1、thrombospondin 1 和 tyrosine-protein kinase SRMS,而这些蛋白均与细胞间粘附及相互作用有关,进一步增加了其作为潜在生物标志物的可能性。

除了血液之外,胃液也可以作为生物标志物鉴定的一种来源,目前对胃癌患者胃液的研究也已经开展。Wu 等^[21]对胃炎及不同分期胃癌患者的胃液进行蛋白质组学分析,发现了 15 种差异表达的蛋白,在这些蛋白中又筛选出了 3 种表达水平与胃癌的分期有明显相关性的蛋白质——S100A9、GIF、AAT,并通过 Western blot 进行了验证,因此,这 3 种蛋白的发现或许能够增加早期检测胃癌的方法,并避免活检带来的创伤。为了发现早期胃癌的生物标志物,Sousa 等^[22]通过蛋白质组学技术从肠型胃癌、化生和正常黏膜的样本中生成蛋白质组资料,从正常黏膜到化生到胃癌的演变过程中,检测到了 60 个上调蛋白和 87 个下调蛋白,其中 2 个上调的蛋白:LTF 和 DMBT1,分别被证实为多肽表达化生和肠上皮化生的特异性标志物,在癌症中,DMBT1 或 LTF 的表达越低,疾病分期越晚,预后越差。以上这些研究表明,蛋白质组学技术是可以成功地应用于血清生物标志物的发现,如果这些蛋白质一经证实,必定有利于胃癌的早期筛查和临床诊断。

1.4 与幽门螺旋杆菌相关的标本

幽门螺旋杆菌感染是导致胃癌的主要原因之一,全球有近一半的人感染了幽门螺旋杆菌^[23]。它是通过一种 IV 型分泌系统将癌蛋白 CagA 注入宿主细胞,从而导致胃癌发生^[24]。Momyaliev 等^[25]通过 2-D DIGE 方法对胃病患者不同胃位置(基底、体、窦)的

幽门螺旋杆菌的功能和类型进行蛋白质组学分析,发现了32种与早期胃癌相关的差异蛋白和14种与慢性胃病相关的差异蛋白,这些蛋白大都属于抗氧化蛋白组(SodB、KatA、AphC/TsaA、TrxA和Pfr)、三羧酸循环蛋白(Idh、FrdA、FrdB、FldA和AcnB)和热休克蛋白(GroEL和ClpB),这些蛋白的发现既有助于区分慢性胃病患者和早期胃癌患者,也能够为慢性胃炎的早期干预提供实验依据。有学者利用iTRAQ定量分析的方法,对肿瘤抑制因子FAF1和幽门螺旋杆菌相互作用导致胃癌的相关通路进行了研究,如果证实了这些途径,可以帮助我们更好地理解FAF1、幽门螺旋杆菌和胃癌之间的关系^[26]。

为了描述幽门螺旋杆菌的毒理作用,Zhou等^[27]建立了3个细胞系:单纯胃癌细胞系SGC-7901、被cagA+幽门螺旋杆菌感染的AGS细胞系和被cagA基因转染的SGC-7901细胞系,利用2-DE技术进行了蛋白质组学分析,发现了135个差异表达的蛋白质(73个表达上调,62个表达下调),其中又应用LC-MS/MS方法确定了10种在这3种细胞系中共同表达的蛋白质,包括6种上调蛋白—— β -actin、LDH、DLD、PRP19、ATP synthase和CaM,4种下调蛋白——p64 CLCP、RanGAP、P43和calreticulin。在人胃癌组织中, β -actin、LDH、DLD、PRP19和CaM出现了明显的高表达,RanGAP呈现低表达,这些差异表达的蛋白都通过Western blot进行了验证,这为了解幽门螺旋杆菌感染与胃癌的发病机制提供了新的认识。这项研究成果也进一步验证了幽门螺旋杆菌对胃癌的发生具有促进作用,并提醒我们应当早期行幽门螺旋杆菌的根治疗法。总之,幽门螺旋杆菌能够作为一种有前景的胃肠道疾病的诊断标志,而蛋白质组学的应用更有助于了解Hp相关胃癌的发病机制。

1.5 胃癌动物模型

目前,小鼠异种移植模型已被广泛用于研究胃癌的疾病进展及生物学表现,包括抗肿瘤药物的机制及疗效等。与采集人类血清样本不同,研究人员也开始利用小鼠异种移植模型来研究胃癌相关蛋白的表达。Juan等^[28]将5种不同类型的肿瘤细胞异种移植于小鼠体内,一个月后收集这些小鼠的血浆并采用2-DE方法进行蛋白质组学分析,结果仅在接受了胃癌细胞SC-M1异种移植的小鼠血浆中发现了

SAA(serum amyloid A)的表达上调,他们通过免疫组化确认了这种蛋白质仅来源于异种移植的小鼠,并在其他胃癌患者身上得到了验证,由此提出SAA可能是检测胃癌的一个潜在肿瘤标志物。Chong等^[29]采用iTRAQ-LC/MS/MS方法,同样是对异种移植小鼠的血浆进行蛋白质组学分析,用来比较不同大小肿瘤APOA1的表达水平,结果发现随着肿瘤的生长,APOA1的表达水平越低。但对于这两者的相关性可以达到一种怎样的程度,Chong等人并未进行进一步的研究。

2 胃癌蛋白质组学存在的问题及发展前景

肿瘤在发生、发展的过程中始终保持着与周围微环境的信息及物质交换。在癌变的过程中,通过能量代谢的重新分配以及这种频繁的交互作用,肿瘤细胞获得了6种特别的生物能力:①维持不断增殖的信号;②对生长抑制因子不敏感;③抵抗细胞凋亡;④永久复制;⑤诱导血管生成;⑥侵袭和转移的激活^[30]。肿瘤的发生和发展跟基因的变异密切相关,但是疾病的表现形式最终是通过蛋白质的差异表达而表现出来的,因此寻找与肿瘤相关甚至是肿瘤特异性的蛋白质具有重大的生物学意义。定量蛋白质组分析可以提供关于肿瘤组织中明显差异表达的蛋白质的信息。以上众多研究表明,这些潜在的生物标志物正是通过蛋白质之间的相互作用,从而调节胃癌的发生和发展。

目前蛋白质组学也存在着一些问题。①众所周知,蛋白质是由数量庞大的多肽及复杂的结构组成,所以蛋白质组学对疾病的研究始终需要一种敏感且易于使用的预分离方法来制备复杂样品中的蛋白质,因此高灵敏度、高通量的研究技术能够极大地提高实验结果的准确性。②蛋白质组学研究的对象一般是单一的细胞类型,而临床取得的标本(比如组织、血液等)除了研究所需要的肿瘤细胞外,还包含着各类正常的组织细胞(比如血细胞、血管等),这些正常蛋白的存在或许会对最终的研究结果产生一定程度的影响。此外,如何保证标本在临床取样过程中不被污染也给我们带来了一些问题。③由于患者数

量有限,许多研究并没有对胃癌进展的阶段和生物标志物之间进行相关性分析,同时对于已发现的潜在标志物也缺乏大量的临床验证。因此,有必要招募更多的早期疾病患者,以确定各种生物标志物,从而尽早地诊断患者。

为了解决这些问题,近些年来蛋白质组学也在不断的发展和革新其研究技术,使得蛋白质组学得到了广泛应用,这不仅提升了实验研究的成功率,也拓宽了蛋白质组学的研究领域。除了对胃癌生物标志物的探索,针对抗肿瘤药物的蛋白质组学研究也已经开展。为了解 Ginsenoside F2(F2)抑制人胃癌细胞的分子机制, Mao 等^[31]采用了 iTRAQ 的方法,对接受了 F2 治疗的胃癌细胞 SGC7901 进行了蛋白质组学分析,发现 F2 使得胃癌细胞的部分蛋白出现了差异表达,而这些差异表达的蛋白分别与核糖体蛋白-p53 信号通路和 Bcl-xl/Beclin-1 通路有关,所以这两条通路可能是 F2 治疗胃癌的作用靶点。蛋白质组学在抗胃癌药物的研究上也卓有成效。随着抗肿瘤药物作用机制研究的深入,更加敏感的治疗靶点逐渐被发现,这不仅有利于减少肿瘤耐药性的出现,而且能够指导临床用药。

3 总 结

由于晚期胃癌恶性程度高,预后偏差,因此尽早发现肿瘤是改善胃癌患者预后的关键。鉴于目前早期胃癌检测手段的有限性,人们一直在寻找特异性及灵敏度更高的肿瘤标志物。蛋白质组学的广泛应用,正显著地改变着我们对疾病的研究方式。大量潜在生物标志物的发现,为临床早期诊断胃癌及其他肿瘤提供了有力证据。随着蛋白质组学研究技术的不断革新,筛选更加精确的蛋白质将会更加容易,如果能够应用于临床,将有助于精准医学的建立,从而降低患者的疾病分期,提高手术切除率,改善患者的预后,甚至监测疾病的复发。现在,正是通过这些不断进步的研究技术,使得人们对胃癌的发生和发展有了更加深入的了解,也筛选出了许多具有相对特异性及灵敏度的新型潜在肿瘤标志物,为胃癌的早期筛查和诊断提供了可能的有效检测靶点。将来,蛋白质组学凭借其在肿瘤生物标志物领域取得的重大进展及所具备的独特优势,必定会为胃癌发病机制的研究及靶向药物的治疗提供新的途径。

参考文献:

- [1] Pelucchi C, Lunet N, Boccia S, et al. The stomach cancer pooling(StoP) project: study design and presentation[J]. *Eur J Cancer Prev*, 2015, 24(1): 16-23.
- [2] Fock KM. Review article: the epidemiology and prevention of gastric cancer[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2014, 40(3): 250-260.
- [3] Shen L, Shan YS, Hu HM, et al. Management of gastric cancer in Asia: resource-stratified guidelines[J]. *Lancet Oncol*, 2013, 14(12): e535-e547.
- [4] Wasinger VC, Cordwell SJ, Cerpa-Poljak A, et al. Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: mycoplasma genitalium[J]. *Electrophoresis*, 1995, 16(7): 1090-1094.
- [5] Changwon Kang, Yejin Lee, J Eugene Lee. Recent advances in mass spectrometry-based proteomics of gastric cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(37): 8283-8293.
- [6] Yoon JH, Choi WS, Kim O, et al. Gastrokine 1 inhibits gastric cancer cell migration and invasion by downregulating RhoA expression [J]. *Gastric Cancer*, 2017, 20(2): 274-285.
- [7] Rippa E, La Monica G, Allocca R, et al. Overexpression of gastrokine 1 in gastric cancer cells induces Fas-mediated apoptosis[J]. *J Cell Physiol*, 2011, 226(10): 2571-2578.
- [8] Yan GR, Xu SH, Tan ZL, et al. Proteomics characterization of gastrokine 1-induced growth inhibition of gastric cancer cells[J]. *Proteomics*, 2011, 11(18): 3657-3664.
- [9] Yonemura Y, Kaji M, Hirono Y, et al. Correlation between overexpression of c-met gene and the progression of gastric cancer[J]. *Int J Oncol*, 1996, 8(3): 555-560.
- [10] Torti D, Sassi F, Galimi F, et al. A preclinical algorithm of soluble surrogate biomarkers that correlate with therapeutic inhibition of the MET oncogene in gastric tumors[J]. *Int J Cancer*, 2012, 130(6): 1357-1366.
- [11] Guo T, Zhu Y, Gan CS, et al. Quantitative proteomics discloses MET expression in mitochondria as a direct target of MET kinase inhibitor in cancer cells[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2010, 9(12): 2629-2641.
- [12] Yang Y, Toy W, Choong LY, et al. Discovery of SLC3A2 cell membrane protein as a potential gastric cancer biomarker: implications in molecular imaging [J]. *J Proteome Res*, 2012, 11(12): 5736-5747.
- [13] Marimuthu A, Subbannayya Y, Sahasrabudhe NA, et al. SILAC-based quantitative proteomic analysis of gastric cancer secretome[J]. *Proteomics Clin Appl*, 2013, 7(5-6): 355-366.
- [14] Gao W, Xu J, Wang F, et al. Plasma membrane proteomic

- analysis of human Gastric Cancer tissues:revealing flotillin 1 as a marker for Gastric Cancer[J]. *BMC Cancer*,2015, 15(1):367.
- [15] 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, 471:29–37.
- [16] Jiang Z,Shen H,Tang B,et al. Identification of diagnostic markers involved in the pathogenesis of gastric cancer through iTRAQ-based quantitative proteomics [J]. *Data Brief*,2017, 11:122–126.
- [17] Wang X,Zhi Q,Liu S,et al. Identification of specific biomarkers for gastric adenocarcinoma by ITRAQ proteomic approach[J]. *Sci Rep*,2016, 6:38871.
- [18] Liu C,Pan C,Liang Y. Screening and identification of serum proteomic biomarkers for gastric adenocarcinoma[J]. *Exp Ther Med*,2012, 3(6):1005–1009.
- [19] Chong PK, Lee H, Loh MCS, et al. Upregulation of plasma C9 protein in gastric cancer patients[J]. *Proteomics*,2010, 10(18):3210–3221.
- [20] Yoo MW,Park J,Han HS,et al. Discovery of gastric cancer-specific biomarkers by the application of serum proteomics[J]. *Proteomics*,2017, 17(6):1600332.
- [21] Wu W,Juan WC,Liang CR,et al. S100A9,GIF and AAT as potential combinatorial biomarkers in gastric cancer diagnosis and prognosis[J]. *Proteomics Clin Appl*,2012, 6(3–4):152–162.
- [22] Sousa JF,Ham AJL,Whitwell C,et al. Proteomic profiling of paraffin-embedded samples identifies metaplasia-specific and early-stage gastric cancer biomarkers[J]. *Am J Pathol*,2012, 181(5):1560–1572.
- [23] Hatakeyama M. Helicobacter pylori,CagA and gastric cancer;a paradigm for hit-and-run carcinogenesis [J]. *Cell Host Microbe*,2014, 15(3):306–316.
- [24] Suzuki H,Mori H. World trends for H. pylori eradication therapy and gastric cancer prevention strategy by H. pylori test-and-treat[J]. *J Gastroenterol*,2018, 53(3):354–361.
- [25] Momynaliev KT,Kashin SV,Chelysheva VV,et al. Functional divergence of Helicobacter pylori related to early gastric cancer[J]. *J Proteome Res*,2010, 9(1):254–267.
- [26] Chen J,Ge L,Liu A,et al. Identification of pathways related to FAF1/H. pylori-associated gastric carcinogenesis through an integrated approach based on iTRAQ quantification and literature review[J]. *J Proteomics Res*,2016, 131(5):163–176.
- [27] Zhou J,Wang W,Xie Y,et al. Proteomics-based identification and analysis of proteins associated with helicobacter pylori in gastric cancer[J]. *PLoS One*,2016, 11(1):e0146521.
- [28] Juan HF,Chen JH,Hsu WT,et al. Identification of tumor-associated plasma biomarkers using proteomic techniques; from mouse to human[J]. *Proteomics*,2004, 4(9):2766–2775.
- [29] Chong PK, Lee H, Zhou J, et al. Reduced plasma APOA1 level is associated with gastric tumor growth in MKN45 mouse xenograft model[J]. *J Proteomics Res*,2010, 73(8):1632.
- [30] Demetriou C, Degli ED, Pullen FK, et al. Chemical carcinogenesis and the hallmarks of cancer;a temporal perspective[J]. *Eur J Clin Invest*,2018, 48(6):e12933.
- [31] Mao Q,Zhang PH,Yang J,et al. iTRAQ-based proteomic analysis of ginsenoside F2 on human gastric carcinoma cells SGC7901[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*,2016, 2016(1):2635483.