

The Clinical Application and Detection Methods of Small Cell Lung Cancer Tumor Marker: Pro-Gastrin Releasing Peptide

Zhenyu Chu, Xiaolin Zhou

The Institute of Radiation Medicine and Environmental Medicine, China Institute for Radiation Protection, CIRP, Taiyuan

Email: czy886521@126.com, xiaolin0824@sohu.com

Received: Feb. 11th, 2014; revised: Feb. 17th, 2014; accepted: Feb. 26th, 2014

Copyright © 2014 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Pro-gastrin releasing peptide (PGRP) is a new type of small cell lung cancer (SCLC) tumor markers. Numerous studies have demonstrated its better performance compared with other tumor markers in the diagnosis of SCLC, and considerable value in early screening, treatment evaluating, prognosis prediction and progression monitoring. Moreover, combined use of PGRP with other tumor markers may possess higher diagnostic accuracy than any alone does. Here we review the new progresses in the clinical application of PGRP as the SCLC tumor marker, and discuss the future directions.

Keywords

Pro-Gastrin Releasing Peptide; Tumor Marker; Small Cell Lung Cancer

PGRP作为小细胞肺癌肿瘤标志物的临床价值与检测方法

楚振宇, 周小林

中国辐射防护研究院, 太原

Email: czy886521@126.com, xiaolin0824@sohu.com

收稿日期: 2014年2月11日; 修回日期: 2014年2月17日; 录用日期: 2014年2月26日

摘要

前胃泌素释放肽(pro-gastrin releasing peptide, PGRP)是一种新型小细胞肺癌(SCLC)肿瘤标志物。大量研究证明其在诊断与鉴别诊断SCLC方面较其他肿瘤标志物有更良好的表现,在早期筛查、治疗监测、预后评价、复发预测等方面也有一定价值,与其他标志物联合检测可以进一步提高诊断准确性。本文对PGRP作为SCLC肿瘤标志物的临床应用价值及检测方法做一综述,探讨进一步研究方向,以期对临床诊断和治疗提供技术支持。

关键词

前胃泌素释放肽; 肿瘤标志物; 小细胞肺癌

1. 引言

肺癌是目前全球发病率和死亡率最高的恶性肿瘤[1]。按组织病理学分型可分为小细胞肺癌(SCLC)与非小细胞肺癌(NSCLC)。其中 SCLC 分化差,恶性程度高,进展迅速,易发生早期远隔转移,预后欠佳。然而 SCLC 对放化疗敏感,如早期发现,采用综合治疗后 5 年生存率可达 30% 以上,因此 SCLC 的早期诊断和治疗尤为重要。然而,目前临床通过病理学和影像学检查获得早期确诊殊为不易,一旦确诊往往已经进展到中晚期。血清神经元特异烯醇化酶(neuron specific enolase, NSE)等肿瘤标志物虽已应用于临床多年,但仍然存在特异性较低、假阳性率高等弊端,并且早期诊断效果不佳。近年来,越来越多的研究报告前胃泌素释放肽(pro-gastrin releasing peptide, PGRP)可以作为新的 SCLC 肿瘤标志物,其敏感性和特异性均高于 NSE,特别是对局限期 SCLC 诊断准确性优于 NSE,可以应用于临床早期诊断,提高早期诊断水平,对监测病情、评估疗效、预测预后亦有较高价值。本文综述了近年来关于 PGRP 作为小细胞肺癌肿瘤标志物的研究进展,探讨其临床应用价值和检测技术,提出相关领域今后的研究方向。

2. PGRP 的生物学特性

McDonald[2]等于 1978 年发现具有促胃泌素释放作用的胃泌素释放肽(gastrin releasing peptide, GRP)。随后 Cuttitta[3]发现低水平浓度的 GRP 即可刺激 SCLC 细胞 DNA 合成,因而认为 GRP 是 SCLC 的自主生长因子。Yamaguchi[4]-[6]等指出 GRP 是 SCLC 组织的产物,继而证明其是 SCLC 肿瘤标志物。但由于 GRP 半衰期过短,活性部分易降解,难以应用于临床检测。随后发现其前体物质 pro-GRP(pro-gastrin releasing peptide, PGRP),主要存在于非胃窦组织、神经纤维组织、脑组织和肺组织等神经内分泌细胞中,其血清浓度稳定并且与 GRP 浓度成正相关。最近, Torsetnes 等[7]对 PGRP 氨基酸序列三条肽段(LSAPGSQR, NLLGLIEAK, DLVDSLLQVLNVK)标记后利用液质联用联合免疫吸附方法进行检测,首次证实 PGRP 三种同型异构体的存在,并在病人血清中得以检测测量。因为 PGRP 在血液中含量稳定,经大量研究证明, PGRP 是一种较 NSE 更为可靠的小细胞肺癌的肿瘤标志物,其对 SCLC 的早期诊断、病情监测、疗效评估、预后预测等都有着一定的应用价值。

3. PGRP 的临床应用价值

3.1. PGRP 对临床诊断的价值

3.1.1. 特异度与敏感度

NSE 是当前临床诊断 SCLC 的首选肿瘤标志物,文献数据统计其诊断特异性在 60.9%~80.0%,敏感

度在 54.5%~61.0%，其阳性率为 60%~81%，但是有 7%~42% 的 NSCLC 和 11%~14% 的肺部良性疾病(benign pulmonary disease, BPD)患者 NSE 呈假阳性[8]，同样有文献[9]报道，有 20%~30% 的 NSCLC 病人 NSE 会升高。而 PGRP 则表现出良好的特异度和敏感度。从表 1 回顾性分析的数据可以看出，在特异度方面 PGRP 普遍高于 NSE 组，在敏感度方面更是表现出明显优势。表 2 的大样本 meta 分析则显示 PGRP 诊断 SCLC 特异度在 90% 以上，敏感度在 70% 以上。

3.1.2. 血清 PGRP 浓度提升水平

有文献提到[17]，小细胞肺癌患者血清中 PGRP 的平均测定值是临界值的 34 倍；而 NSE 的平均测定值是临界值的 3.5 倍，所以在诊断 SCLC 肿瘤标志物血清浓度提升水平方面 PGRP 较 NSE 更有说服力。当 PGRP 血清浓度高于 300 pg/mL 时，SCLC 的可能性高达 99%，当 PGRP 血清浓度高于 200 pg/mL 时，高度怀疑 SCLC[18]。

3.1.3. PGRP 假阳性表达的意义

Keita[19]等发现 NSCLC 患者中血清 PGRP 阳性的病例，病理结果大都显示肿瘤细胞有神经内分泌分化倾向。Catharina[20]等研究数据显示，PGRP 对小细胞神经内分泌癌(small cell neuroendocrine carcinoma, SCNEC)是最为敏感的标志物(灵敏性 73%)。也就是说，在排除了 SCLC 的 PGRP 阳性病例中，如果不能获得病理诊断，要优先考虑肿瘤细胞神经内分泌分化可能。

另外，Molina 等[21]提到，肾功能障碍的患者血清肌酐高于 353.6 mmol/L 时，血清 PGRP 浓度也会提高，所以在利用 PGRP 诊断时，一定要清楚了解病人肾功能的情况。

3.1.4. 联合诊断的价值

合理选用多种肿瘤标志物联合诊断可以进一步提升诊断效果，在鉴别诊断 SCLC、NSCLC、BPD 中作用明显好于单独检测[22]。王敏杰[23]等对 171 名病人进行 PGRP、TPS、NSE 三种肿瘤标志物的单独及联合检测，结果表明联合使用肿瘤标志物可以大幅提升敏感度。这一结果也与金欣等[24]得出的结论相一致。

Table 1. PGRP and NSE diagnostic specificity and sensitivity in SCLC

表 1. PGRP 和 NSE 诊断 SCLC 特异度与敏感度

文献	调研方法	病例(N)	特异度(%) PGRP 与 NSE	敏感度(%) PGRP 与 NSE
Shibayama [10]	回顾分析	467	96.5; 93.7	64.9; 43.0
杨谨 [11]	回顾分析	100	98.0; 92.0	73.0; 60.0
Nisman B [12]	回顾分析	162	97.7; 97.7	75.7; 37.8
赵先文 [13]	回顾分析	356	96.9; 95.5	88.7; 71.1
金霞霞 [14]	回顾分析	55	90.7; 67.4	83.3; 66.7

Table 2. The meta analysis of PGRP diagnostic specificity and sensitivity in SCLC

表 2. PGRP 诊断 SCLC 特异度与敏感度 Meta 分析

文献	调研方法	病例(N)	特异度(%)	敏感度(%)	AUC	CI
Yang [15]	meta	5146	92.1	71.6	0.9236	95%
Tang JH [16]	meta	6759	93.0	72.0	0.8817	95%

3.2. PGRP 对临床治疗的价值

3.2.1. PGRP 应用于早期筛查

Petra Stieber[25]指出 SCLC 细胞中 PGRP 的释放不依赖于肿瘤分期,也就是说在 SCLC 早期就可以在血清中检测到 PGRP 的存在,其在小细胞肺癌局限期和进展期释放水平非常相近,所以其早期诊断敏感性也能达到理想水平,因此 PGRP 在 SCLC 高危人群的早期筛查方面具有很大价值,这一特点是其他肿瘤标志物所不具备的。

3.2.2. PGRP 应用于治疗监测、疗效判断

Eva Wojcik[26]指出, PGRP 的血清浓度变化水平作为 SCLC 局限期病人的治疗监测工具要比 NSE 更为准确。Stefan[27]等对实验结果进行单因素分析显示:核小体、PGRP、NSE 和 CYFRA21-1 在第一第二疗程中维持高浓度水平并且随治疗进行其浓度水平降低有限,讨论这可能与治疗结果较差相关联。Niho 等[28]提到血清 PGRP 浓度较 CEA、CYFRA21-1 能更准确地反映病人病程,有 2/3 的病人其血清 PGRP 浓度在治疗前升高、治疗后下降、复发时再度升高,其浓度随治疗进程变化明显。

3.2.3. PGRP 应用于预后评价和复发预测

Takuo[29]等认为在诊断 SCLC 方面,PGRP 与 NSE 皆有一定的预后价值。Akira Ono[30]等研究发现,PGRP 血清浓度降低和肿瘤直径(SOD)有很大的相关关系,PGRP 的血清变化百分率在 SOD 和预后影响方面比 NSE 显示出更好的作用。

Okusaka 等[31]的统计在初次治疗后获得 PR 或 CR 后复发的病人中,其 PGRP 血清浓度正常者生存率要明显高于升高者。Niho[28]等随访 SCLC 复发患者,其中 PGRP、NSE、CEA 三者复发时升高比例分别为 74%、32%和 56%。Hirose[32]提到血清 NSE 和 PGRP 浓度作为探测复发的标志物并不能较症状诊断和影像学诊断更早,不过 Hirose 工作组检测血清浓度频率远低于其他人,这可能就是与其他实验组结果差异的原因所在。Sunaga[33]等随访 29 例 SCLC 病人其中 9 例复发,其血清 PGRP 浓度全部再度升高,另外有 17 个病人其治疗后 PGRP 血清浓度较治疗前降低幅度超过 50%,而他们的生存率明显超过降低幅度不足 50%的病人。

4. PGRP 的检测方法

4.1. 检测血浆 PGRP 浓度的价值

近期 Hye-Ran Kim 等[34]比较了测定新鲜血清和新鲜血浆 PGRP 浓度的优劣,相较于血清 PGRP 浓度,测定出的血浆浓度平均要高出 103.3%。在鉴别 SCLC 和 NSCLC、BPD 方面,测定血浆浓度的敏感性和特异度都要好于血清浓度。不过,也有文献报道[35]在采集病人血清和血浆浓度立即进行试验,得出的结果并不能显示二者有明显的不同,评估孰优孰劣还缺少大样本的研究验证,不过也有报道[36]指出血清 PGRP 浓度由于凝血酶的作用而不稳定,这在一定程度上影响了试验结果,同样有报道质疑血浆浓度的不可靠性,因为 PGRP 在血浆中可以从血小板和白细胞中不断释放,导致其浓度会不断增高,不过如果可以及时分离血浆和细胞成分则可以避免这种情况出现。

4.2. ELISA

当前,对于血清 PGRP 浓度一般采用 ELISA(酶联免疫吸附试验)方法进行定性定量检测,由于此方法已趋于成熟,试剂盒应用广泛,操作简便,利用此法获得的测定结果稳定可靠,可重复性好,LOD(limit of detection, 检出限)和 LOQ(limit of quantitation, 定量限)低,所以一直被广泛采用。一般标定 PGRP 血

清浓度是否正常的临界值浓度定为 46 pg/mL, Nisman 等[12]的文献报告指出, PGRP 血清浓度临界值浓度标定在 33.8 pg/mL~53 pg/mL 之间时, 其对 SCLC 的灵敏度为 47%~86%。

4.3. TR-IFMA(Time-Resolved Immunofluorometric Assay, 时间依赖免疫荧光法)

Marianne[37] [38]等比较了 TR-IFMA 与 ELISA 测定病人血清 PGRP 浓度时在诊断 SCLC、鉴别诊断和判断预后等方面的不同价值。结果显示两者都表现出良好的诊断特异度和敏感度, 不过在提示病人生存率和预后效果方面, TR-IFMA 要好于 ELISA, 利用 TR-IFMA 方法测定时, 当病人血清 PGRP 浓度以 85 pg/mL 作为临界值, 提示的病人生存率会有明显的不同($P = 0.0002$), 而相对的 ELISA 则不能给出满意的预后信息($P = 0.066$)。

4.4. LC-MS(Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, 液相色谱 - 质谱联用)

Winther 等[39]-[41]应用 LC-MS 联合免疫吸附方法检测 PGRP, 选取 NLLGLIEAK 为标记肽段, 通过测定标记肽来获取母本浓度, 使用三重四级杆质谱来提升敏感性, 其优点为可以通过一次实验测定几种标志物浓度, 敏感性更佳, 无交叉反应, 获得数据拥有良好的重复性、准确性和线性。缺点为相较于传统免疫方法和荧光方法, 方法稍显复杂, LOD 及 LOQ 偏高, 不过仍在 pg/mL 范围, 尚可满足临床检测。

5. PGRP 的其他应用

由于 PGRP 在小细胞肺癌患者肿瘤细胞中高度表达, 所以可以利用抗 PGRP 单克隆抗体与 PGRP 特异性结合的特点, 对肿瘤细胞进行显像研究。刘增礼及其研究组人员[42]-[44]利用放射性同位素碘-131 的显像性和示踪性, 对抗 PGRP 单抗进行标记, 获得包括 D-D₃、E-B₅ 等不同细胞株单抗在昆明小鼠体内代谢动力学模型和廓清途径, 并且观察荷小细胞肺癌裸鼠放射免疫显像及体内分布情况, 结果发现 ¹³¹I-E-B₅ 对瘤体的生长抑制作用明显大于 ¹³¹I-Na。同时, 也提出了 ¹³¹I 标记的抗 PGRP 单克隆抗体成为针对 SCLC 病人的新型放免药物的可能性。

另外, 周小林等[45]从小细胞肺癌细胞中克隆出 PGRP 基因并将其与真核表达载体 pcDNA3.1 连接, 成功构建基因疫苗后免疫小鼠, 实验结果显示免疫组血清产生的 PGRP 抗体浓度明显高于空质粒对照组, 说明基因疫苗在小鼠体内成功诱导了特异性免疫应答。

6. 问题与展望

综上所述, PGRP 是在诊断 SCLC 和鉴别诊断 SCLC 与 NSCLC、BPD 方面更可靠的肿瘤标志物, 联合检测的应用可以提高诊断的特异度与灵敏性, 降低假阳性率和假阴性率, 提高诊断准确性, 减少误诊、漏诊的可能性。PGRP 在 SCLC 病人的治疗监测、复发预测、疗效评价、生存率评估方面也有一定应用价值。随着高敏感度和高特异性检测手段的不断出现和应用, 血清中 PGRP 的检测越来越展现出其强大的临床应用前景。相信在各种检测手段越来越完善的同时, PGRP 作为小细胞肺癌肿瘤标志物实际应用于临床指日可待, 而这不啻于是全世界所有小细胞肺癌病人的福音。

参考文献 (References)

- [1] 钱桂生, 余时沧 (2012) 肺癌流行病学最新资料与启示. *中华结核和呼吸杂志*, **35**, 86-89.
- [2] McDonald, T.J., Nilsson, G., Vagne, M., et al. (1978) A gastrin releasing peptide from the porcine non-antral gastric tissue. *Gut*, **19**, 767-764.
- [3] Cuttitta, F., Carney, D.N., Mulshine, J., et al. (1985) Bombesin-like peptides can function as autocrine growth factors in human small cell lung cancer. *Nature*, **316**, 823-826.
- [4] Yamaguchi, K., Abe, K., Kameya, T., et al. (1983) Production and molecular size heterogeneity of immunoreactive ga-

- strin-releasing peptide in fetal and adult lungs and primary lung tumors. *Cancer Research*, **43**, 3932-3939.
- [5] Maruno, K., Yamaguchi, K., Abe, K., et al. (1989) Immunoreactive gastrin-releasing peptide as a specific tumor marker in patients with small cell lung carcinoma. *Cancer Research*, **49**, 629-632.
- [6] Miyake, Y., Kodama, T. and Yamaguchi, K. (1994) Pro-gastrin-releasing peptide (31-98) is a specific tumor marker in patients with small cell lung carcinoma. *Cancer Research*, **54**, 2136-2140.
- [7] Torsetnes, S.B., Nordlund, M.S., Paus, E., et al. (2013) Digging deeper into the field of the small cell lung cancer tumor marker PGRP: A method for differentiation of its isoforms. *Journal of Proteomic Research*, **12**, 412-420.
- [8] Thomas, L. (1998) Clinical laboratory diagnostics: Use and assessment of clinical laboratory results. Verlagsgesellschaft mbH, Germany.
- [9] Slodkowska, J., Zych, J., Szturmowicz, M., et al. (2005) Neuroendocrine phenotype of non-small cell lung carcinoma: Immunohistological evaluation and biochemical study. *The International Journal of Biological Markers*, **20**, 217-226.
- [10] Shibayama, T., Ueoka, H., Nishii, K., et al. (2001) Complementary roles of pro-gastrin-releasing peptide (PGRP) and neuron specific enolase (NSE) in diagnosis and prognosis of small-cell lung cancer. *Lung Cancer*, **32**, 61-69.
- [11] 杨谨, 李蓉, 李昂, 等 (2000) 前胃泌素释放肽片段 31-98 检测对小细胞肺癌的临床意义. *中华肿瘤杂志*, **22**, 216-218.
- [12] Nisman, B., Biran, H., Ramu, N., et al. (2009) The diagnostic and prognostic value of PGRP in lung cancer. *Anticancer Research*, **29**, 4827-4832.
- [13] 赵先文, 荆洁线, 韩存芝, 等 (2011) 小细胞肺癌血清 PGRP(31-98)与神经源性烯醇化酶同步检测的临床价值及其相关性. *肿瘤研究与临床*, **23**, 518-521.
- [14] 金霞霞, 陈世勇, 齐娟飞, 等 (2012) 血清 NSE、PGRP、CEA、SCCA 和 CYFRA21-1 联检在肺癌诊断中的意义. *放射免疫学杂志*, **25**, 83-86.
- [15] Yang, H.J., Gu, Y., Chen, C., et al. (2011) Diagnostic value of pro-gastrin-releasing peptide for small cell lung cancer: A meta-analysis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, **49**, 1039-1046.
- [16] Tang, J.H., Zhang, X.L., Zhang, Z.H., et al. (2011) Diagnostic value of tumor marker pro-gastrin-releasing peptide in patients with small cell lung cancer: A systematic review. *Chinese Medical Journal*, **124**, 1563-1568.
- [17] 周明非, 张贺秋, 凌世淦 (2000) 小细胞肺癌肿瘤标志物——前胃泌素释放肽酶联免疫检测方法的研究进展. *军事医学科学院院刊*, **24**, 143-146.
- [18] 蒋安帮, 黄礼年 (2012) 前胃泌素释放肽在肺癌中的临床意义. *医学综述*, **18**, 200-202.
- [19] Kudo, K., Ohyanagi, F., Horiike, A., et al. (2011) Clinicopathological finding of non-small-cell lung cancer with high serum progastrin-releasing peptide concentrations. *Lung Cancer*, **74**, 401-404.
- [20] Korse, C.M., Taal, B.G., Vincent, A., et al. (2012) Choice of tumour markers in patients with neuroendocrine tumours is dependent on the histological grade. A marker study of Chromogranin A, neuron specific enolase, progastrin-releasing peptide and cytokeratin fragments. *European Journal of Cancer*, **48**, 662-671.
- [21] Molina, R., Auge, J.M., Alicarte, J., et al. (2004) Progastrin-releasing peptide in patients with benign and malignant disease. *Tumor Biology*, **25**, 56-61.
- [22] Ando, S., Kimura, H., Iwai, N., et al. (2001) Optimal combination of seven tumour markers in prediction of advanced stage at first examination of patients with non-small cell lung cancer. *Anticancer Research*, **21**, 3085-3092.
- [23] 王敏杰, 李学祥, 高佳, 等 (2011) 血清 PGRP、TPS 及 NSE 在小细胞肺癌患者治疗监测中的应用. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, **34**, 152-157.
- [24] 金欣, 陈健魁, 佟雅丽, 等 (2007) 血清 PGRP、NSE、CYFRA21-1 联合检测对肺癌诊断和治疗的临床意义. *中国卫生检验杂志*, **17**, 1008-1022.
- [25] Stieber, P. (2009) Pro-gastrin-releasing peptide (PGRP)—A diagnostic biomarker for small-cell lung cancer. *Chinese Journal of Lung Cancer*, **12**, 183-186.
- [26] Wójcik, E., Kulpa, J.K., Sas-Korczyńska, B., et al. (2008) PGRP and NSE in therapy monitoring in patients with small cell lung cancer. *Anticancer Research*, **28**, 3027-3033.
- [27] Holdenrieder, S., von Pawel, J., Dankelmann, E., et al. (2008) Nucleosomes, PGRP, NSE, CYFRA21-1 and CEA in monitoring first-line chemotherapy of small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research*, **14**, 7813-7821.
- [28] Niho, S., Nishiwaki, Y., Goto, K., et al. (2000) Significance of serum pro-gastrin-releasing peptide as a predictor of relapse of small cell lung cancer: Comparative evaluation with neuron-specific enolase and carcinoembryonic antigen. *Lung Cancer*, **27**, 159-167.
- [29] Shibayama, T., Ueoka, H., Nishii, K., et al. (2001) Complementary roles of pro-gastrin-releasing peptide (PGRP) and neuron specific enolase (NSE) in diagnosis and prognosis of small-cell lung cancer (SCLC). *Lung Cancer*, **32**, 61-69.

- [30] Ono, A., Naito, T., Ito, I., et al. (2012) Correlations between serial pro-gastrin-releasing peptide and neuron-specific enolase levels, and the radiological response to treatment and survival of patients with small-cell lung cancer. *Lung Cancer*, **76**, 439-444.
- [31] Okusaka, T., Eguchi, K., Kasai, T., et al. (1997) Serum levels of pro-gastrin-releasing peptide for follow-up of patients with small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research*, **3**, 123-127.
- [32] Hirose, T., Okuda, K., Yamaoka, T., et al. (2011) Are levels of pro-gastrin-releasing peptide or neuron-specific enolase at relapse prognostic factors after reapse in patients with small-cell lung cancer. *Lung Cancer*, **71**, 224-228.
- [33] Sunaga, N., Tsuchiya, S., Minato, K., et al. (1999) Serum pro-gastrin-releasing peptide is a useful marker for treatment monitoring and survival in small-cell lung cancer. *Oncology*, **57**, 143-148.
- [34] Kim, H.-R., Oh, I.-J., Shin, M.-G., et al. (2011) Plasma PGRP concentrations sensitive and specific for discriminating small cell lung cancer from nonmalignant conditions or non-small cell lung cancer. *Journal of Korean Medical Science*, **26**, 625-630.
- [35] Nordlund, M.S., Bjerner, J., Warren, D.J., et al. (2008) Progastrin-releasing peptide: Stability in plasma/serum and upper reference limit. *Tumor Biology*, **29**, 204-210.
- [36] Yoshimura, T., Fujita, K., Kawakami, S., et al. (2008) Stability of pro-gastrin-releasing peptide in serum versus plasma. *Tumor Biology*, **29**, 224-230.
- [37] Nordlund, M.S., Stieber, P., Brustugun, O.T., et al. (2012) Characteristics and clinical validity of two immunoassays for PGRP. *Tumor Biology*, **33**, 1105-1113.
- [38] Nordlund, M.S., Warren, D.J., Nustad, K., et al. (2008) Automated time-resolved immunofluorometric assay for pro-gastrin-releasing peptide. *Clinical Chemistry*, **54**, 919-922.
- [39] Winther, B. and Reubsæet, J.L. (2007) Determination of the small cell lung cancer associated biomarker pro-gastrin-releasing peptide (PGRP) using LC-MS. *Journal of Separation Science*, **30**, 234-240.
- [40] Winther, B., Moi, P., Nordlund, M.S., et al. (2009) Absolute PGRP quantification in a clinically relevant concentration range using LC-MS/MS and a comprehensive internal standard. *Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, **877**, 1359-1365.
- [41] Winther, B., Nordlund, M., Paus, E., et al. (2009) Immuno-capture as ultimate sample cleanup in LC-MS/MS determination of the early stage biomarker PGRP. *Journal of Separation Science*, **32**, 2937-2943.
- [42] 石怡珍, 周小林, 徐巧玲, 等 (2010) 碘-131-抗PGRP(31-98)单克隆抗体 E-B₅ 放射免疫显像及放射免疫治疗实验研究. *中华核医学杂志*, **30**, 110-115.
- [43] 陈传新, 石怡珍, 杨仪, 等 (2011) 抗PGRP(31-98)单克隆抗体 D-D₃ 的碘-131 标记及其体内生物学分布研究. *重庆医学*, **40**, 752-754.
- [44] 徐巧玲, 周小林, 石怡珍, 等 (2009) 抗PGRP(31-98)单克隆抗体 E-B₅ 的碘-131 标记及体内生物分布研究. *中华核医学杂志*, **29**, 274-278.
- [45] 周小林, 蒯艳峰, 薛振伟, 等 (2010) 小细胞肺癌 PGRP 基因的克隆及疫苗构建. *免疫学杂志*, **26**, 651-655. <http://www.cajcd.edu.cn/pub/wml.html>