

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.47.017

[http://www.crter.org]

李增耀, 王彤. 硅纳米线生物传感器与肿瘤标记物的检测[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(47):8248-8254.

硅纳米线生物传感器与肿瘤标记物的检测**

李增耀, 王彤(南京医科大学附属无锡市人民医院腔镜外科, 江苏省无锡市 214000)

文章亮点:

1 此问题已知的信息: 传统的检测手段包括放射免疫检测法、酶联免疫吸附法、电化学免疫吸附法、荧光免疫分析法、化学发光免疫分析法等已经广泛应用于多种肿瘤标记物的检测, 但其缺乏一定的敏感性。

2 文章增加的新信息: 硅纳米线生物传感器拥有超高敏感性、无需二次标记等特点, 检测最低可达到 fg/mL 水平, 已被应用于前列腺癌肿瘤标记物、乳腺癌肿瘤标记物、结直肠癌肿瘤标记物、原发性肝癌肿瘤标记物等的检测, 展现了良好的应用前景, 获得了十分理想的检测限。但由于德拜长度等因素的影响, 目前大多数应用只能停留在对标准品溶液的检测, 缺乏对临床肿瘤患者血清的检测数据。

3 临床应用的意义: 未来将硅纳米线生物传感器应用于临床肿瘤患者血清样本肿瘤标记物的检测, 最终能够成为临床上常规诊断和基础理论研究的重要工具。

关键词:

生物材料; 生物材料综述; 肿瘤标记物; 纳米技术; 硅纳米线; 场效应晶体管; 生物传感器; 检测; 国家自然科学基金

主题词:

生物相容性材料; 肿瘤标记, 生物学; 纳米技术; 生物传感技术; 综述

基金资助:

国家自然科学基金(81371683/H1819)*

摘要

背景: 肿瘤标记物检测对于原发肿瘤的早期诊断、肿瘤高危人群的筛选、良性和恶性肿瘤的鉴别、肿瘤发展程度的判断、肿瘤治疗效果的评价及肿瘤预后和复发的预测等方面具有重要意义。

目的: 介绍硅纳米线生物传感器的检测原理和标记物检测实例, 为硅纳米线生物传感器最终应用于肿瘤标记物临床提供理论支持。

方法: 由第一作者检索 PubMed 数据库、中国知网数据库和谷歌学术搜索数据库等 2003 至 2013 年有关肿瘤标记物、硅纳米线生物传感器检测应用等方面的文章。

结果与结论: 硅纳米线生物传感器具有超高的敏感度、无需二次标记等优势, 已被应用于前列腺癌肿瘤标记物、乳腺癌肿瘤标记物、结直肠癌肿瘤标记物、原发性肝癌肿瘤标记物等的检测, 展现了良好的应用前景, 获得了十分理想的检测限。但由于德拜长度等因素的影响, 目前大多数应用只能停留在对标准品溶液的检测, 缺乏对临床肿瘤患者血清的检测数据。

Silicon nanowire biosensor in detecting tumor markers

Li Zeng-yao, Wang Tong (Department of Endoscopy Surgery, Wuxi People's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi 214000, Jiangsu Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Tumor markers are of great significance in early diagnosis of cancer, screening of high risk group with cancer, differential diagnosis between benign and malignant tumors, judgment of cancer progression, evaluation of cancer therapeutic effect and prediction of cancer recurrence and prognosis.

OBJECTIVE: To realize the importance of tumor marker for cancer early diagnosis by introducing the working principle and clinical application of silicon nanowires biosensor in detecting tumor markers.

METHODS: The first author searched PubMed, CNKI and Google Scholar Databases to retrieve relevant articles about tumor marker, working principle and application of silicon nanowires biosensor published from 2003 to 2013.

RESULTS AND CONCLUSION: Silicon nanowires biosensors with high sensitivity and without secondary marks show a good application prospect in detecting tumor markers. They have been used to detect tumor markers for prostate cancer, breast cancer, tumor markers of colorectal cancer, and primary liver cancer, and achieved an ideal limit of detection. However, due to the influence of Debye length, most of detections can only be performed in the standard solution. There is a lack of the serum data of cancer patients.

Subject headings: biocompatible materials; tumor markers, biological; nanotechnology; biosensing techniques; review

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81371683/H1819*

Li ZY, Wang T. Silicon nanowire biosensor in detecting tumor markers. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2013;17(47):8248-8254.

李增耀★, 男, 1985年生, 河北省秦皇岛市人, 满族, 2013年南京医科大学毕业, 硕士, 主要从事普外科研究。

daniu810@126.com

通讯作者: 王彤, 主任医师, 教授, 博士生导师, 南京医科大学附属无锡市人民医院腔镜外科, 江苏省无锡市 214000

aanti@163.com

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4344

(2013)47-08248-07

修回日期: 2013-09-06

(201303267/GW · W)

Li Zeng-yao★, Master, Department of Endoscopy Surgery, Wuxi People's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi 214000, Jiangsu Province, China daniu810@126.com

Corresponding author: Wang Tong, Chief physician, Professor, Doctoral supervisor, Department of Endoscopy Surgery, Wuxi People's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi 214000, Jiangsu Province, China aanti@163.com

Accepted: 2013-09-06

0 引言 Introduction

肿瘤标记物的检测对于恶性肿瘤的临床早期诊断具有重要意义^[1]。传统的检测手段包括放射免疫检测法、酶联免疫吸附法、电化学免疫吸附法、荧光免疫分析法、化学发光免疫分析法等已被广泛应用于多种肿瘤标记物的临床检测^[2-6]。然而运用传统手段对肿瘤标记物的检测一般只能达到ng/mL水平,无法完全适应肿瘤早期极低浓度的肿瘤标志物检测^[7-8]。此外,ELISA、CLIA等检测过程中需要二次标记,且放射免疫检测存在潜在的放射危害,这不仅增加了检测成本和难度,更不利于检测水平的进一步发展。因此,人们越来越意识到要实现对于极低浓度肿瘤标记物的快速、精确、安全检测,改善恶性肿瘤的早期临床诊断是很有必要且极具挑战的。

近年来,随着纳米生物医学技术的不断深化,各种纳米材料逐渐被开发应用于肿瘤标记物的检测领域中,如金纳米粒子、量子点、碳纳米管、硅纳米线等^[9-12]。其中硅以其良好的化学稳定性、易于表面修饰等优点引起人们的关注,而基于硅的纳米线生物传感器凭借其超高的敏感度、无需二次标记等优势在各领域逐渐展示出其广阔的发展前景。文章将就硅纳米线生物传感器在肿瘤标记物检测中的应用进行重点介绍。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 由第一作者检索PubMed数据库、中国知网数据库和谷歌学术搜索数据库2003至2013年期间的文章。英文检索词为“tumor markers, Silicon nanowires, biosensors”,中文检索词为“肿瘤标记物,硅纳米线,生物传感器”。

1.2 纳入与排除标准

纳入标准: ①文章所述内容需与肿瘤标记物、硅纳米线生物传感器检测应用以及检测影响因素等方面密切相关的文章。②同一领域选择近期发表或在权威杂志上发表的文章。

排除标准: 重复性研究。

1.3 数据的提取 共检索到文献305篇,其中英文文献118篇,中文文献187篇,排除与研究目的相关性差及内容陈旧、重复的文献252篇,纳入53篇符合标准的文献进行综述。

1.4 质量评价 符合纳入标准的53篇文献中,文献[1-13]说明了肿瘤标记物检测的重要性及传统的检测手段分类,文献[14-53]说明了硅纳米线生物传感器如何应用于肿瘤标记物检测及其影响因素与应用等方

面。

2 结果 Results

2.1 肿瘤标记物 肿瘤标记物是指由肿瘤细胞本身或人体内其他细胞对于肿瘤和其他良性病变发生应答而产生的含量明显高于正常值的一类物质。肿瘤标记物一般可在肿瘤患者的体液或病变组织中检测到,其多为蛋白质、多肽、激素和酶等。大多数恶性肿瘤早期并无明显症状,影像学、病理学检测等亦无法做出明确的早期诊断。而灵敏肿瘤标记物的检测对于肿瘤早期发现,治疗后评价,检测复发和转移等方面都具有一定的应用价值,可为患者争取治疗时间,延长患者生命^[13]。目前,临床上已确认将甲胎蛋白、癌胚抗原、前列腺特异抗原、糖类抗原等列为肝癌、结直肠癌、前列腺癌、卵巢癌、胆管癌等恶性肿瘤的诊断依据。

需要指出的是,传统检测手段对于上述肿瘤标记物的检测一般只达到ng/mL水平,而已报道的硅纳米线生物传感器对肿瘤标记物的检测最低可达到fg/mL水平,为肿瘤标记物的临床检测提供了新的途径^[14]。

2.2 硅纳米线生物传感器及其检测原理 硅纳米线是一种半导体构筑块,见图1所示^[15-17],其电学性能优秀、尺寸小、比表面积较大,这使得硅纳米线非常适合于制造超高敏感性生物传感器。

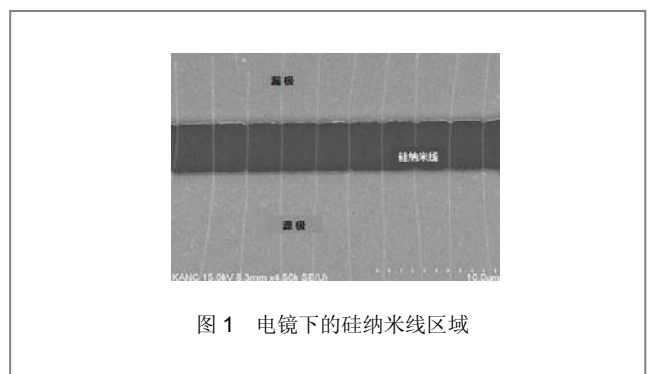
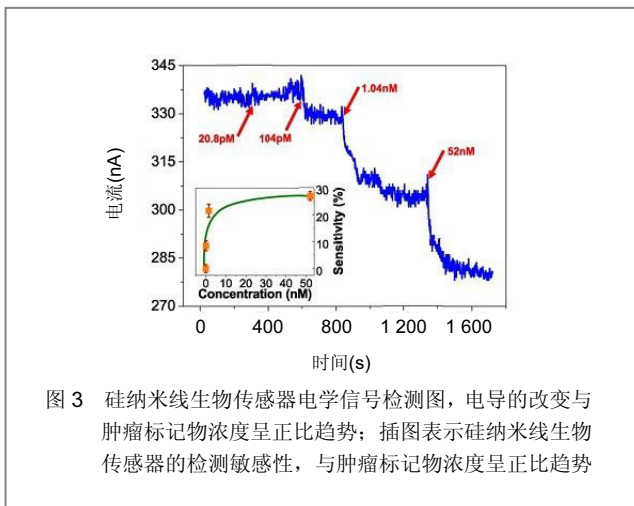
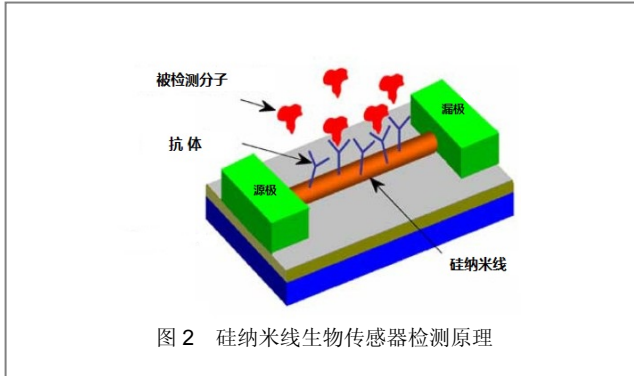


图1 电镜下的硅纳米线区域

目前,硅纳米线的制备主要有2种方式:“自上而下”法和“自下而上”法^[18-19]。前者是对晶体进行刻蚀、腐蚀或研磨,通过微纳加工技术获得硅纳米线^[20];后者则主要通过化学气相沉积法将晶体制备成一定长度和宽度的硅纳米线^[21]。基于硅纳米线的生物传感器是典型的以场效应晶体管为基础的器件,其具有源极、漏极和栅极。

硅纳米线生物传感器的感应机制是:以硅纳米线半导体中电导的改变为基础,源极和漏极与半导体通路桥接,栅极对半导体的电导进行调节。其检测原理是:检测前,在硅纳米线表面修饰被检测目标分子的

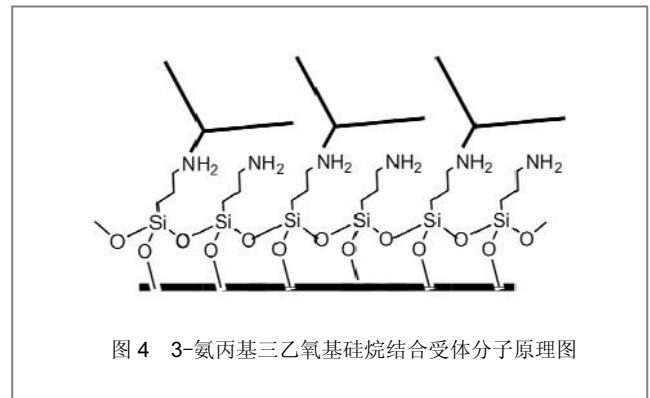
针对性受体。检测开始后, 将交流电压或直流电压作用于硅纳米线传感器, 其源极和漏极之间的半导体通路则成为器件的感应元件, 带电荷的被检测分子直接与受体分子结合绑定后可引起感应元件电导的改变, 见图2所示。因此, 凭借被检测分子在硅纳米线生物传感器表面绑定后转变成的电学信号, 最终可得到其相应的检测限^[22-25], 见图3所示。



2.3 硅纳米线生物传感器的表面修饰 硅纳米线生物传感器在进行检测前需对硅纳米线表面进行特异性受体分子的修饰, 以便识别特定的肿瘤标记物。目前最常用的表面修饰方法为共价结合法。共价结合是在不影响受体活性的前提下, 通过某种连接分子将受体分子与硅纳米线表面共价连接。由于硅纳米线表面可被氧化, 故依靠其表面的氧化层与某种化学试剂形成连接链即可完成。

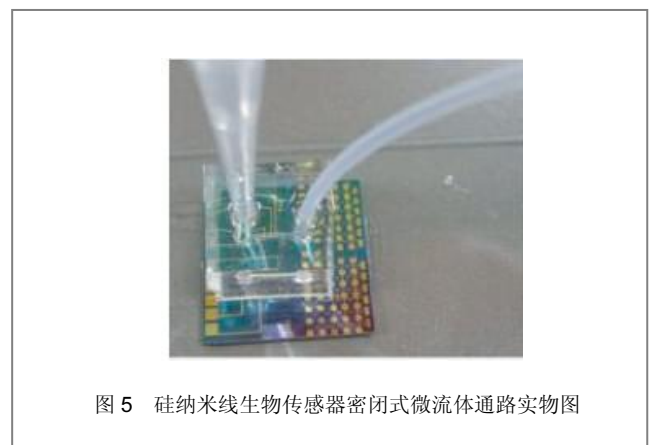
目前已报道的可形成连接链的化学试剂有3-氨丙基三乙氧基硅烷、N-羧基琥珀酰亚胺和1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐、3-氨丙基甲基二乙氧基硅烷、γ-甲基丙烯酰氧基丙基三甲氧基硅烷及3-氨基丙基-三甲氧基硅烷等^[22-24, 26-27]。其中较为常用是3-氨丙基三乙氧基硅烷与受体分子共价连接后固定到硅纳米线表面^[28], 见图4所示。3-氨丙基三乙氧基硅烷含有的氨基团可以固定肽核酸、DNA和抗体

等多种受体分子^[29-35]。



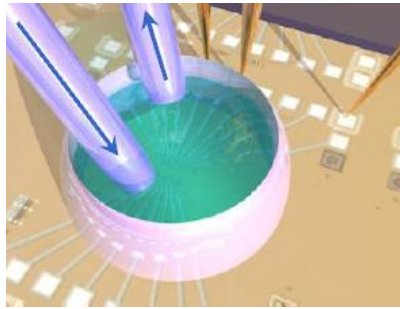
此外, 静电吸附作用也用于硅纳米线的表面修饰, 其主要依靠的是溶质离子与带有相反电荷吸附剂的吸引作用。2006年, Bunimovich等^[36]报道了一篇应用静电吸附作用对硅纳米线生物传感器表面成功修饰的研究。令人欣喜的是, 2007年, Park等^[37]又报道了1篇应用电阻加热法对硅纳米线表面进行选择性的修饰, 极大地促进了硅纳米线传感器表面修饰手段的发展。

2.4 流体交换系统 流体交换系统对于硅纳米线生物传感器对肿瘤标记物的检测过程是必不可少的, 它能够使肿瘤标记物分子快速到达硅纳米线传感器表面, 以便进行电学检测。目前主要有两种流体交换系统: 封闭式微流体通道和开放式液池。聚二甲基硅氧烷是制作微流体通道较为普遍的材料^[38], 见图5所示。

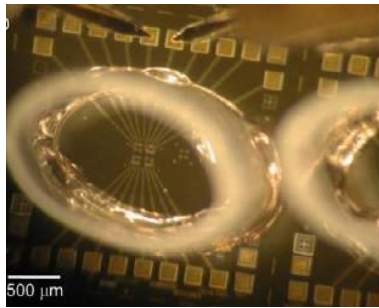


将微流体通道以可逆性封接的方式装配到硅纳米线生物传感器表面, 被检测溶液可直接通过管道进入其中进行检测。然而, 液体在微流体通道中的流速和聚二甲基硅氧烷材料本身所固有吸附特性不利于被检测物质与硅纳米线生物传感器表面探针分子的充分结合, 这在一定程度上影响了检测的高敏感性。开放性液池可由环氧树脂、丙烯酸材料等制成, 通过

切割成适当大小再装配到硅纳米线生物传感器表面^[35, 39], 见图6A, B所示。液体可直接通入其中进行检测, 且不受液体流速和液池材料的影响, 增加了检测的敏感性, 但是由于其为开放性检测, 故不利于在临床上实际应用。



A: 开放式液池模式图



B: 开放式液池实物图

图6 硅纳米线生物传感器表面的开放性液池

2.5 德拜长度的影响 德拜长度是指带电荷的被检测分子电场的的作用距离, 超过这个距离, 其作用基本上就被周围带有相反电荷离子的电场所屏蔽, 这种电荷屏蔽作用就是德拜长度的主要特点。硅纳米线传感器对被检测分子电荷的检测与其德拜长度直接相关, 也就是说, 较长的德拜长度可以减弱硅纳米线表面的电荷屏蔽作用。

德拜长度可用公式 $\lambda_D = \sqrt{\epsilon k_B T / q_2 c}$ 推算出来, 其中 λ_D 代表德拜长度, ϵ 代表介质的介电常数, k_B 是波尔兹曼常数, T 代表温度, q 代表电荷数, 而 c 为电解质溶液的离子浓度。由公式可知, 在高离子浓度的溶液中, 电荷屏蔽作用可从根本上阻碍电荷的检测^[40-43]。比如, 在一个100 mmol/L的缓冲溶液中, 德拜长度约为1 nm, 所以被检测分子的表面电势在超过1 nm的范围内将会被完全屏蔽。因为, 人体体液如血清的离子浓度也在100 mmol/L左右, 因此, 大多数硅纳米线生物传感器的检测在配置的标准品液中进行, 应用的缓冲液离子浓度一般低于10 mmol/L^[44]。

2.6 硅纳米线生物传感器对肿瘤标记物的检测实例 目前, 一些研究团队已经应用硅纳米线生物传感器成功完成了数种肿瘤标记物的检测, 检测结果十分理想, 展现了硅纳米线生物传感器良好的应用前景。然而由于德拜长度等因素的影响, 目前大多数应用只能留在对标准品溶液的检测, 对临床肿瘤患者血清的检测数据仍然缺乏。

硅纳米线生物传感器的应用:

设备类型	表面修饰	液体交换系统	应用	检测限	参考文献
n 型硅纳米线, p 型硅纳米线	3-氨基丙基-三甲氧基硅烷	微流体通路	前列腺特异性抗原、癌胚抗原、粘蛋白 1	0.9 pg/mL	22
n 型硅纳米线	3-氨丙基三乙氧基硅烷	微流体通路	前列腺特异性抗原	< 1 fg/mL	23
n 型硅纳米线, p 型硅纳米线	3-氨丙基甲基二乙氧基硅烷	开放式液池	血管内皮生长因子	n 型 1.04 nmol/L, p 型 20.8 pmol/L	24
p 型硅纳米线, n 型硅纳米线	3-氨丙基三乙氧基硅烷	微流体通路	C-反应蛋白	1 fmol/L	17
溶胶凝胶, 硅纳米线	3-氨丙基三乙氧基硅烷	开放性液池	白细胞介素 6	4.61 fmol/L	44
n 型硅纳米线, p 型硅纳米线	N-羟基琥珀酰亚胺和 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐	微流体通路	C-反应蛋白、前列腺特异性抗原	0.12-10 ng/mL, 0.18-8.87 ng/mL	45
n 型硅纳米线, p 型硅纳米线	3-氨丙基三乙氧基硅烷	开放性液池	前列腺特异性抗原	2.5 ng/mL, 30 U/mL	26
n 型硅纳米线	3-氨丙基三乙氧基硅烷	开放性液池	甲胎蛋白	10^{-15} mol/L	46

2.6.1 前列腺癌肿瘤标记物的检测 作为前列腺癌最有价值的肿瘤标记物, 前列腺特异性抗原已被广泛应用于前列腺癌的筛选、早期诊断和分期上, 其特异性高达97%^[47-48]。2007年, Kim等^[23]报道了应用n型硅纳米线生物传感器在微流体通路下对前列腺特异性抗原进行的超敏感检测。前列腺特异性抗原抗体应用3-氨丙基三乙氧基硅烷分子作为连接分子修饰到硅纳米线表面, 在无需对抗原前列腺特异性抗原标记的情况下, 对预先配置的不同浓度前列腺特异性抗原的标准品溶液进行检测, 最终得到了前列腺特异性抗原超敏感检测限<1 fg/mL。此外, 作者同时指出控制硅纳米线尺寸和制作时的掺杂程度可以影响硅纳米线

生物传感器的检测敏感性。遗憾的是,作者只进行了标准品溶液的检测,并没有对临床上前列腺癌患者的血清进行前列腺特异性抗原检测。

2.6.2 乳腺癌肿瘤标记物检测 糖类抗原CA15-3是乳腺癌的肿瘤标记物,30%~50%的患者其指标会明显升高,CA15-3也是乳腺癌术后监测的最佳指标^[49-50]。Stern等^[26]报道了通过射流净化芯片系统和硅纳米线生物传感器的整合,应用开放性液池对全血中CA15-3进行检测。射流净化芯片系统应用抗原抗体结合原理使肿瘤标记物从全血中分离,再通过光化学裂解得到纯化的肿瘤标记物,最后把纯化的肿瘤标记物转移到硅纳米线生物传感器中进行检测。Stern等获得CA15-3在全血中的检测值为30 U/mL。此检测方法能够克服硅纳米线生物传感器检测血清样本时非肿瘤标记物分子的非特异性结合作用,增加传感器应用的临床相关性。但其纯化过程较为繁琐,相当于对肿瘤标记物进行了一次标记。

2.6.3 结直肠癌肿瘤标记物检测 癌胚抗原为结直肠癌的辅助诊断指标,其为正常胚胎组织所产生的成分,出生后逐渐消失,或仅存极微量。当细胞癌变时,此类抗原表达可明显增多。Zheng等^[22]报道了应用硅纳米线生物传感器阵列在微流体通路下对癌胚抗原、前列腺特异性抗原、mucin-1三种肿瘤标记物配置液进行的同时多路复用检测。凭借该更为敏感的检测方法,Zheng等得到癌胚抗原的检测限为0.9 pg/mL。然而作者同样没有在血清样本中完成对癌胚抗原的检测。

2.6.4 原发性肝癌的肿瘤标记物检测 甲胎蛋白为一种糖蛋白,正常情况下,这种蛋白主要来自胚胎的肝细胞,胎儿出生约两周后甲胎蛋白从血液中消失,是诊断原发性肝癌的特异性肿瘤标记物,具有确立诊断、早期诊断、鉴别诊断的作用^[51]。Ivanov等^[46]报道了应用n型硅纳米线生物传感器在开放性液池下对甲胎蛋白标准品溶液进行检测,得到了10~15 mol/L的检测限。然而,作者同样没有进行血清样本的检测。

2.6.5 其他肿瘤标记物的检测 血管内皮生长因子属血小板源性生长因子家族的生长因子,其能增加血管通透性,并具有血管生成功能^[53]。恶性肿瘤的生长代谢、浸润转移和复发均与肿瘤的血供密切相关。因此,血管内皮生长因子作为一种广谱的肿瘤标记物对多种肿瘤的辅助诊断均有重要的临床价值,且对初诊肿瘤患者,血管内皮生长因子也是一个良好的检测指标。人类C-反应蛋白是感染和组织损伤时血浆浓度快速,急剧升高的主要急性期蛋白,恶性肿瘤患者C-反应蛋白大都升高,如C-反应蛋白与甲胎蛋白的联合检测,可用于肝癌与肝脏良性疾病的鉴别诊断,并且,

C-反应蛋白测定用于肿瘤的治疗和预后都有积极意义。Lee等^[24]报道了应用n型和p型硅纳米线生物传感器在开放性液池下分别对血管内皮生长因子标准品液进行检测,其得到的检测限为n型1.04 nmol/L, p型104 pmol/L。而Jung等^[17]报到的应用p型硅纳米线生物传感器在微流体通路下对C-反应蛋白标准品液的检测,得到C-反应蛋白的超敏感检测限为1 fmol/L。同样遗憾的是这两次检测都没有在血清样本下进行。

3 发展前景 Prospects

肿瘤标记物的早期精确检测对于目前的临床环境而言仍然是一个巨大的挑战,新技术的发展和其成功应用于临床以减少临床期望和现实之间的最大差异为目的。硅纳米线生物传感器检测技术是此领域中最新的研究进展之一,文章详细说明了将硅纳米线生物传感器应用于临床肿瘤标记物检测的多种优势,比如灵敏的超低检测限,无需二次标记等。但尽管如此,对于硅纳米线生物传感器最终能否应用于临床还需要多项技术的进一步完善,例如降低德拜长度的影响等。此外,针对硅纳米线生物传感器对肿瘤标记物检测的敏感性、特异性、可靠性等方面还需要与目前临床的检测金标准(ELISA等)进行比较研究,且为确保实验的重复性,预防系统性偏差,现已渐渐开始对各实验室的实验结果进行验证。最后明确了下一步实验的方向,即硅纳米线生物传感器对临床肿瘤患者血清样本中肿瘤标记物进行检测。总而言之,期待硅纳米线生物传感器技术在肿瘤标志物的检测方面能够发挥其巨大潜能,最终能够成为临床上常规诊断和基础研究的重要工具。

作者贡献: 第一作者和通讯作者构思并设计本综述,分析并解析数据,所有作者共同起草,经通讯作者审核,第一作者对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 无涉及伦理冲突的内容。

学术术语: 肿瘤标记物是指由肿瘤细胞本身或人体内其他细胞对于肿瘤和其他良性病变发生应答而产生的含量明显高于正常值的一类物质。肿瘤标记物一般可在肿瘤患者的体液或病变组织中检测到,其多为蛋白质、多肽、激素和酶等。

作者声明: 文章为原创作品,数据准确,内容不涉及泄密,无一稿两投,无抄袭,无内容剽窃,无作者署名争议,无与他人课题以及专利技术的争执,内容真实,文责自负。

4 参考文献 References

- [1] Meng J, Meng J, Duan J, et al. Carbon nanotubes conjugated to tumor lysate protein enhance the efficacy of an antitumor immunotherapy. *Small*. 2008;4(9):1364-1370.
- [2] Sato K, Hibara AM, Hisamoto H, et al. Microchip-based chemical and biochemical analysis systems. *Adv Drug Deliv Rev*. 2003;55(3):379-391.
- [3] Lai S, Wang S, Luo J, et al. Design of a compact disc like microfluidic platform for enzyme-link immunosorbent assay. *Anal Chem*. 2004;76(7):1832-1837.
- [4] Zhang S, Li X, Zhang F. CE-based simultaneous liquid-phase noncompetitive enzyme immunoassay for three tumor markers in human serum using electrochemical detection. *Electrophoresis*. 2007;28(23):4427-4434.
- [5] Al-Jamal WT, Al-Jamal KT, Bomans PH, et al. Functionalized-quantum-dot-liposome hybrids as multimodal nanoparticles for cancer. *Small*. 2008;4:1406-1415.
- [6] Fu Z, Yan F, Liu H, et al. A channel-resolved approach coupled with magnet-captured technique for multianalyte chemiluminescent immunoassay. *Biosens Bioelectron*. 2008;23(10):1422-1428.
- [7] Anderson NL, Anderson NG. The human plasma proteome: history, character, and diagnostic prospects. *Mol Cell Proteomics*. 2002;1:845-867.
- [8] Qian WJ, Jacobs JM, Liu T, et al. Advances and challenges in liquid chromatography-mass spectrometry-based proteomics profiling for clinical applications. *Mol Cell Proteomics*. 2006;5(10):1727-1744.
- [9] Huang KJ, Niu DJ, Xie WZ, et al. A disposable electrochemical immunosensor for carcinoembryonic antigen based on nano-Au/multi-walled carbon nanotubes-chitosans nanocomposite film modified glassy carbon electrode. *Anal Chim Acta*. 2010;659:102-108.
- [10] Liu J, Lau SK, Varma VA, et al. Multiplexed detection and characterization of rare tumor cells in Hodgkin's lymphoma with multicolor quantum dots. *Anal Chem*. 2010;82:6237-6243.
- [11] Liu G, Lin Y. Nanomaterial labels in electrochemical immunosensors and immunoassays. *Talanta*. 2007;74:308-317.
- [12] Lee MH, Lee DH, Jung SW, et al. Measurements of serum C-reactive protein levels in patients with gastric cancer and quantification using silicon nanowire arrays. *Nanomedicine*. 2010;6:78-83.
- [13] Lu M, Whitelegge JP, Whelan SA, et al. Hydrophobic fractionation enhances novel protein detection by mass spectrometry in triple negative breast cancer. *Proteomics Bioinform*. 2010;3(2):1-10.
- [14] Kim A, Ah CS, Yu HY, et al. Ultrasensitive, label-free, and real-time immunodetection using silicon field-effect transistors. *Appl Phys Lett*. 2007;91:103901.
- [15] Cui Y, Wei Q, Park H, et al. Nanowire nanosensors for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species. *Science*. 2001;293:1289-1292.
- [16] Patolsky F, Zheng G, Lieber CM. Fabrication of silicon nanowire devices for ultrasensitive, label-free, real-time detection of biological and chemical species. *Nat Protoc*. 2006;1:1711-1724.
- [17] Lee MH, Lee KN, Jung WW, et al. Quantitative measurements of C-reactive protein using silicon nanowire arrays. *Int J Nanomedicine*. 2008;3(1):117-124.
- [18] Cui Y, Wei QQ, Park HK, et al. Nanowire nanosensors for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species. *Science*. 2001;293:1289-1292.
- [19] Stern E, Klemic JF, Routenberg DA, et al. Label-Free Immunodetection with CMOS-Compatible Semiconducting Nanowires. *Nature*. 2007;445:519-522.
- [20] Zeng XB, Xu YY, Zhang SB, et al. Silicon nanowires grown on a pre-annealed Si substrate. *J Cryst Growth*. 2003;247(1):13-16.
- [21] Ciucci S, Angelo FD, Diligenti A, et al. Silicon nanowires fabricated by means of underetching technique. *Microelectron Eng*. 2005;78-79:338-342.
- [22] Zheng G, Patolsky F, Cui Y, et al. Multiplexed electrical detection of cancer markers with nanowire sensor arrays. *Nat Biotechnol*. 2005;23(10):1294-1301.
- [23] Kim A, Ah CS, Yu HY, et al. Ultrasensitive, label-free, and real-time immunodetection using silicon field-effect transistors. *Appl Phys Lett*. 2007;91:103901.
- [24] Lee HS, Kim KS, Kim CJ, et al. Electrical detection of VEGFs for cancer diagnoses using anti-vascular endothelial growth factor aptamer-modified Si nanowire FETs. *Biosens Bioelectron*. 2009;24(6):1801-1805.
- [25] Nair PR, Alam MA. Design considerations of silicon nanowire biosensors. *IEEE Trans Electron Devices*. 2007;54(12):3400,3408.
- [26] Stern E, Vacic A, Rajan NK, et al. Label-free biomarker detection from whole blood. *Nat Nanotechnol*. 2010;5(2):138-142.
- [27] Li Z, Chen Y, Li X, et al. Sequence-Specific Label-Free DNA Sensors Based on Silicon Nanowires. *Nano Lett*. 2004;4:245-247.
- [28] Thakurta SG, Subramanian A. Fabrication of dense, uniform aminosilane monolayers: A platform for protein or ligand immobilization. *Colloids Surf A: Physicochem Eng Aspects*. 2012;414(20):384-392.
- [29] Zhang GJ, Luo ZH, Huang MJ, et al. An integrated chip for rapid, sensitive, and multiplexed detection of cardiac biomarkers from fingerprick blood. *Biosens Bioelectron*. 2011;28(1):459-463.
- [30] Zhang GJ, Huang MJ, Luo ZH, et al. Highly sensitive and reversible silicon nanowire biosensor to study nuclear hormone receptor protein and response element DNA interactions. *Thomsen Biosens Bioelectron*. 2010;26(2):365-370.
- [31] Zhang GJ, Chua JH, Chee RE, et al. Label-free direct detection of miRNAs with silicon nanowire biosensors. *Biosens Bioelectron*. 2009;24:2504-2508.
- [32] Zhang GJ, Luo ZHH, Huang MJ, et al. Morpholino-functionalized silicon nanowire biosensor for sequence-specific label-free detection of DNA. *Biosens Bioelectron*. 2010;25(11):2447-2453.
- [33] Zhang GJ, Zhang L, Huang MJ, et al. Silicon nanowire biosensor for highly sensitive and rapid detection of Dengue virus. *Sens Actuator B: Chem*. 2010;146:138-144.
- [34] Chua J, Chee RE, Agarwal A, et al. Label-free electrical detection of cardiac biomarker with complementary metal-oxide semiconductor-compatible silicon nanowire sensor arrays. *Anal Chem*. 2009;81(15):6266-6271.

- [35] Zhang GJ, Huang M, Ang J, et al. Self-assembled monolayer-assisted silicon nanowire biosensor for detection of protein-DNA interactions in nuclear extracts from breast cancer cell. *Biosens Bioelectron.* 2011;26(7):3233-93239.
- [36] Bunimovich YL, Shin YS, Yeo WS, et al. Quantitative real-time measurements of DNA hybridization with alkylated nonoxidized silicon nanowires in electrolyte solution. *J Am Chem Soc.* 2006;128(50):16323-16331.
- [37] Park I, Li Z, Pisano AP, et al. Selective surface functionalization of silicon nanowires via nanoscale joule heating. *Nano Lett.* 2007;7(10):3106-3111.
- [38] Patolsky F, Zheng G, Lieber CM. Fabrication of silicon nanowire devices for ultrasensitive, label-free, real-time detection of biological and chemical species. *Nat Protocols.* 2006;1:1711-1724.
- [39] Stern E. Label-free sensing with semiconducting nanowires. Yale University, 2007.
- [40] Stern E, Wagner R, Sigworth FJ, et al. Importance of the Debye screening length on nanowire field effect transistor sensors. *Nano Lett.* 2007;7:3405-3409.
- [41] Zhang GJ, Zhang G, Chua JH, et al. DNA sensing by silicon nanowire: charge layer distance dependence. *Nano Lett.* 2008;8(4):1066-1070.
- [42] Sorgenfrei S, Chiu C, Johnston M, et al. Debye screening in single-molecule carbon nanotube field-effect sensors. *Nano Lett.* 2011;11(9):3739-3743.
- [43] Zheng G, Gao XPA, Lieber CM. Frequency domain detection of biomolecules using silicon nanowire biosensors. *Nano Lett.* 2010;10:3179-3183.
- [44] Pui TS, Agarwal A, Ye F, et al. Nanoelectronic detection of triggered secretion of pro-inflammatory cytokines using CMOS compatible silicon nanowires. *Biosens Bioelectron.* 2011;26(5):2746-2750.
- [45] Lee MH, Lee K, Jung SW. Multiplexed detection of protein markers with silicon nanowire FET and sol-gel matrix[C]//Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2012 Annual International Conference of the IEEE. IEEE, 2012: 570-573.
- [46] Ivanov YD, Pleshakova TO, Kozlov AF. SOI nanowire for the high-sensitive detection of HBsAg and α -fetoprotein. *Lab Chip.* 2012;12:5104-5111.
- [47] Vickers AJ, Savage C, O'Brien MF, et al. Systematic review of pretreatment prostate-specific antigen velocity and doubling time as predictors for prostate cancer. *J Clin Oncol.* 2009;27:398-403.
- [48] Shariat SF, Scardino PT, Lilja H. Screening for prostate cancer: an update. *Can J Urol.* 2008;15(6):4363-4374.
- [49] Rubach M, Szymendera JJ, Kaminska J, et al. Serum CA 15.3, CEA and ESR patterns in breast cancer. *Int J Biol Markers.* 1997;12(4):168-173.
- [50] Uehara M, Kinoshita T, Hojo T. Long-term prognostic study of carcinoembryonic antigen(CEA) and carbohydrate antigen 15-3 (CA 15-3) in breast cancer. *Int J Clin Oncol.* 2008;13:447-451.
- [51] Saito S, Ojima H, Ichikawa H, et al. Molecular background of α -fetoprotein in liver cancer cells as revealed by global RNA expression analysis. *Cancer Sci.* 2008;99:2402-2409.
- [52] Dvorak HF, Detmar M, Claffey KP, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: an important mediator of angiogenesis in malignancy and inflammation. *Int Arch Allergy Immunol.* 1995;107(1-3): 233-235.
- [53] Mori A, Arii S, Furutani M, et al. Soluble Flt-1 gene therapy for peritoneal metastases using HVJ-cationic liposomes. *Gene Therapy.* 2000;7(12): 1027-1033.



ISSN 2095-4344 CN 21-1581/R 2013 年版权归《中国组织工程研究》杂志社所有

● 关于临床注册

SCI 数据库收录的《脊柱杂志》对临床试验注册的要求

● *Spine Journal* (《脊柱杂志》), SCI 收录杂志, ISSN: 1529-9430, 2012 年影响因子 3.355。主要发表研究原著(临床/基础), 技术报告, 综述, 病例报告, 给编辑的信以及专题等稿件。

对临床试验注册的要求: 国际医学编辑委员会(ICMJE)对临床试验的定义为: 临床试验是指任何前瞻性分配人类受试者进行干预或研究医疗干预和健康结果之间的因果关系的研究项目。

《脊柱杂志》采用国际医学期刊编辑委员会(ICMJE)的提议, 要求临床试验在公共平台上进行临床试验注册作为临床试验文章出版的一项必要条件。所有对照试验, 都必须在符合根据国际医学编辑委员会(ICMJE)要求的公开临床实验注册中心进行临床试验注册。