专家述评

质谱技术—检验医学发展的新动力

刘树业

作者单位:300170 天津市,天津市第三中心医院检验科

doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2012.02.001

质谱(mass spectrometry, MS)是带电原子、分子或分子碎片按质荷比(或质量)的大小顺序排列的图谱。MS 的开发历史要追溯到 1906 年 Thomson 发明的抛物线 MS 装置[1]。电喷雾电离和基质辅助激光解吸电离是诞生于 80 年代末期的两种软电离技术。这两种技术的出现被公认为是 MS 学中的革命性突破。他们具有高灵敏度和高质量检测范围,使得对分子量高达几万到几十万的生物大分子进行准确分析成为可能,从而使 MS 技术真正走入生命科学领域。MS 技术在生命科学领域的应用为 MS 的发展注入了新的活力,并形成了独特的生物 MS 技术[2]。

MS 分析的原理是将样品转化为运动的带电气态离子,在磁场中按质荷比大小分离并记录的分析方法。不同质荷比的离子聚焦于不同点上,其焦面接近于平面,在此处用检测系统进行检测即可得到不同质荷比的谱线,即 MS。通过 MS 分析,可以获得分析样品的分子量、分子式和分子结构等多方面的信息[3]。

医学领域中常用的 MS 技术主要有电喷雾 MS 技术、基质辅助激光解吸附 MS 技术、快原子轰击 MS 技术、同位素 MS 技术。与具有高效分离能力的色谱法联用使得混合体系分离、鉴定乃致定量分析一次性完成成为可能,如气相色谱-质谱联用 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)技术、液相色谱-质谱联用 (liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)技术等。

近年来,MS 技术在国内医学领域的应用越来越受到重视。通过在维普数据库及中国学术期刊数据库的检索(检索主题词为质谱技术),显示 2000 年之前有关 MS 技术的文章很少,而到了 2002 年之后逐渐增多,仅 2004 和 2005 年两年就达 43 篇之多,但与国外的相关研究相比还是非常少的。各数据库相关文献搜索数量见表 1。

表 1 1979-2011 年 MS 技术相关文献检索结果(篇)

时间	维普数据库	中国全文期刊数据库	MEDLINE 数据库
1979-1988 年	-	4	1192
1989-1999 年	3	13	6407
2000-2001 年	5	8	3958
2002-2003 年	23	21	5232
2004-2005 年	42	43	7818
2006-2007 年	48	68	10427
2008-2009 年	47	98	12120
2010-2011 年	36	90	14095
合计	204	345	61249

注:MEDLINE 检索方法:检索"简要"中包含"mass spectrometry"或"MS"一词者;维普、中国全文期刊数据库和 MEDLINE 数据库检索结果截至 2011 年 12 月

1 MS 技术在检验医学中的应用

生物 MS 技术可以提供快速、易解的多组分分析方法,且具有灵敏度高、选择性强、准确性好,其应用范围远超过放射免疫分析法和化学分析法[4];生物 MS 在检验医学中主要用于生物体内组分序列分析、结构分析及含量测定等。本文主要从以下 6 个方面进行介绍。

1.1 单个组分检测 MS 技术在检验医学中应用较早并且较广泛的是采用 GC-MS 对小分子生物标志物的检测。目前,MS 技术用于检测氨基酸、脂肪酸、维生素、微量元素等几十种小分子生物标志物,方法也较完善,如激素的检测和利用串联质谱法检测新生儿氨基酸、游离肉毒碱和酰肉碱。其中,串联质谱技术因其具有高度灵敏而成为筛查苯丙酮尿症患儿血液中苯丙氨酸浓度的首选方法,在新生儿筛查中发挥越来越大的作用[5,6]。

大分子生物标志物按其结构可分为蛋白质、糖蛋白和核苷酸。临床实验室通过 MS 技术测量代谢物浓度,检测与疾病有关的异常功能蛋白和结构蛋白等,为疾病诊断提供依据。与传统方法相比,MS 技术具有操作简便、省时、结果直观等特点。

1.2 肿瘤标志物检测 肿瘤标志物的检测是生物 MS 技术在检验医学应用中最为突出的一个方面。肿瘤标志物是由肿瘤组织自身产生,可反映肿瘤存在和生长的一类生化物质。其存在或量变可以提示肿瘤的性质,借以了解肿瘤的组织发生、细胞分化、细胞功能,以帮助肿瘤的诊断、分类、预后判断以及治疗指导。然而目前的肿瘤标志物敏感性和特异性均不

万方数据

高，因此临床急需找到新的肿瘤标志物。在肿瘤早期，蛋白质水平就可出现细微但重要的改变[7]。生物 MS 技术正是利用这一变化，基于蛋白质组学水平来寻找新的肿瘤标志物。生物 MS 技术具有快速、灵敏、高通量等特点，已广泛应用于寻找肿瘤标志物的研究中。Wang 等[8]通过免疫组化与 LC-MS/MS 技术证实豆荚蛋白是卵巢癌诊断和预后的重要标志物。另外，生物 MS 技术在肝癌、乳腺癌、肺癌等肿瘤标志物检测中的应用也越来越广泛[9-11]。

1.3 微生物检测　MS 技术检测微生物主要是基于 MS 图谱中是否存在生物标志物，即微生物中含有的一些化学物质，其含量或结构具有种属特征，能够标志某一类或某种特定微生物的存在，主要包括脂肪酸、蛋白、核酸、糖类等生物分子。

GC-MS 技术主要用于分析微生物中的脂肪酸、糖类等小分子物质。而基质辅助激光解吸电离飞行时间 MS 技术主要通过微生物蛋白质表达谱中的特征谱峰鉴定细菌的属、种、株乃至亚型，主要对单个菌落进行分析。Oursel 等[12]利用 GC-MS 技术对大肠杆菌进行研究，结果表明其细胞膜由 6 种饱和脂肪酸(C12:0，C14:0，C15:0，C16:0，C17:0，C18:0)和 3 种不饱和脂肪酸(C16:1，C18:1 的两个异构体)组成，并认为环丙基脂肪酸 C17 和 C19 是鉴定大肠杆菌的重要脂肪酸标志物。Walker 等[13]采用该方法鉴定出耐甲氧西林金黄色葡萄球菌菌株 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)，并对其进行进一步分型。另外，据文献[14,15]报道，目前已成功鉴定 MRSA 和与其紧密相关的非致病菌，以及伯纳特立克次体的不同菌株等多种微生物。

1.4 代谢物组分析　所谓代谢物组是指细胞或组织中有机小分子代谢物的组合。诊断代谢物组学通过分析生物提取物中的代谢混合物，运用计量学方法对疾病组和正常组进行分类，利用有监督类型分析方法获取疾病诱导产生的特殊代谢产物，帮助了解病变过程中机体代谢的改变，辅助临床诊断和治疗[16]。随着代谢组学分析手段和数据处理技术的发展，代谢指纹分析已经成为快速、高通量的分析诊断方法。Yang 等[17]运用 GC-MS、LC-MS 等方法研究了肝炎、肝硬化及肝癌患者的血清代谢图谱，发现其假阳性率低至 7.40%，优于传统生物学指标。

1.5 治疗药物监测　治疗药物监测的目的是避免体内药物浓度过低所致治疗失败，或体内药物浓度过量导致毒性反应。传统药物监测主要利用免疫化学技术和高效液相色谱技术，但所测药物种类较少。LC-MS 技术可准确、快速地检测药物，几乎可用于所有药物的监测。Büchel 等[18]通过 LC-MS/MS 技术检测癌症患者血浆中尿嘧啶的含量来监测治疗药物 5-氟尿嘧啶浓度，并进行毒理分析。Ceglarek 等[19]运用 MS/MS 同时测定 147 个肾移植、67 个肝移植、15 个肾脏胰脏联合移植和 48 个骨髓移植患者共 1483 个血液样本，定量分析环孢霉素、他克莫司(FK506)和西罗莫司(雷帕霉素)的浓度，变异系数为 2.4%~9.3%，准确率超过 95%。

1.6 其他　生物 MS 技术在医用生物材料，如人工血中活性物质的纯度、浓度及结构等研究中也有较大的潜在用途。代谢物组、蛋白质组、基因组的分析间的相互作用将是今后几年我们面临的主要挑战，临床化学家可以运用 MS 等联用技术鉴别出与疾病有关系的代谢物组，然后通过对蛋白质和(或)DNA 的分析对鉴别进行验证，连同其他的临床信息和实验室数据，最后确定疾病的严重性并制定治疗策略。

2 生物 MS 技术与检验医学共同发展

随着生命科学的迅速发展，检验医学在检测物方面发生了巨大的变化，从以往的检测单个组分到多个组分联合检测再到蛋白组学、代谢轮廓等系统分析。生物 MS 技术的出现赋予了检验医学新的内容和发展空间。另外，很多国际组织或校准品制造商都采用 MS 法作为参考方法对一些测定项目的校准品进行定值，如葡萄糖、尿酸、甲状腺素、肌酐等。MS 技术的这一应用推动了检验医学溯源性技术的发展。

最近确认的人类基因谱表明，人类大约有 1 万个基因，以此估计人类至少有 7000~8000 种蛋白，而目前能检测的蛋白质不到 1000 种[20]，生物 MS 联用技术可以检测更多的蛋白，揭示其所携带的更多疾病信息，解决目前医学领域许多疾病难以早期诊断的问题。生物 MS 技术有望解决检验医学中存在的许多问题，发挥越来越大的作用。沿用传统检测方法的同时引进新技术进行临床检验诊断，才能保证检验医学稳定而持续的发展。

3 展望

生物 MS 技术在临床检验的应用中还存在一些制约因素，如质谱仪的价格昂贵，缺乏专门的技术人才，难以标准化和进行质量控制，数据分析复杂等，使得 MS 技术从科研到临床应用还有很长的路要走。由于生物 MS 技术顺应了检验医学的发展趋势，现在越来越受到学术界的重视。相信在不久的将来，MS 技术将会走进临床实验室，为人类健康和疾病提供全面的个体化诊疗信息。

4 参考文献

1 杨芃原，钱小红，主编. 生物质谱技术与方法. 北京：科学出版社，2003.

2 Aebersold R, Goodlett DR. Mass spectrometry in proteomics. Chem Rev, 2001, 101: 269-295.

3 Honda A, Hayashi S, Hifumi HM, et al. MPAI (mass probes aided ionization) method for total analysis of biomolecules by mass spectrometry. Anal Sci, 2007, 23: 11-15.

4 Serafini AN. From monoclonal antibodies to peptides and molecular recognition unites: a noverview. J Nucl Med, 1993, 34: 533-536.

5 Horimoto S, Mayumi T. Determination of taltirelin, a new stable thy-

万方数据

rotropin-releasing hormone analogue, in human plasma by high-performance liquid chromatography turbo-ionspray ionization tandem masss pctrometry. J Pharm Biomed Anal,2002,30:1361-1369.

6 Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns. Clin Chem,2003,49:1797-1817.

7 Liotta LA, Kohn EC. The microenvironment of the tumor-host interface. Nature,2001,411:375-379.

8 Wang L, Chen S, Zhang M, et al. Legumain: A biomarker for diagnosis and prognosis of human ovarian cancer. J Cell Biochem,2012,113:2679-2686.

9 Mizuno H, Honda M, Shirasaki T,et al. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 in association with hTERT is a potential biomarker for hepatocellular carcinoma. 2012,32:1146-1155.

10 蔡鑫泽,乔莹,陈洋,等.应用二维电泳和质谱技术鉴定乳腺癌相关蛋白.中国现代医学杂志,2011,21:23-27.

11 李学任,魏路清.蛋白质组学技术的研究进展及其在肺部疾病诊断中的应用.实用检验医师杂志,2011,3:174-177.

12 Oursel D, LoutelierBourhis C, Orange N, et al. Identification and relative quantification of fatty acids in Escherichia coli membranes by gas chromatography/mass spectrometry. Rapid Commun. Mass Spectrom, 2007,21:3229-3233.

13 Walker J, Fox AJ, Edwards-Jones V, et al. Intact cell mass spectrometry(ICMS) used to type methicillin-resistant Staphylococcus aureus: media effects and inter-laboratory reproducibility. Microbiol Methods,2002,48:117-126.

14 Bernardo K, Pakulat N, Macht M, et al. Identification and discrimination of Staphylococcus aureus strains using matrix-assisted laser desorption/ionization -time of flight mass spectrometry. Proteomics, 2002,2:747-753.

15 Pierce CY, Barr JR, Woolfitt AR, et al. Strain and phase identification of the U.S. category B agent Coxiella burnetii by matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and multivariate pattern recognition. Anal Chim Acta,2007,583:23-31.

16 Lindon JC, Holmes E, Bollard ME, et al. Metabonomics technologies and their applications in physiological monitoring drug safety assessment and disease diagnosis. Biomarkers,2004,9:1-31.

17 Yang J, Xu G, Zheng Y, et al. Strategy for metabonomics research based on high-performance liquid chromatography and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. Chromatography A, 2005,1084:214-221.

18 Büchel B, Rhyn P, Schürch S, et al. LC-MS/MS method for simultaneous analysis of uracil,5,6-dihydrouracil, 5-fluorouracil and 5-fluoro-5,6-dihydrouracil in human plasma for therapeutic drug monitoring and toxicity prediction in cancer patients. Biomed Chromatogr, 2012,27.

19 Ceglarek U, Lembcke J, Fiedler GM, et al. Rapid simultaneous quantification of immunosuppressants in transplant patients by turbulent flow chromatography combined with tandem mass spectrometry. Clin Chim Acta,2004,346:181-190.

20 沈霞.我国检验医学的发展及面临的挑战.中华检验医学杂志, 2004,27:1-4.

(收稿日期:2012-04-14)

(本文编辑:杨军)

消　息

2012 年临床有效输血关键新技术培训班会议通知

由中国人民解放军总医院输血科、中国人民解放军采供血中心和北京军区总医院输血科共同主办的“2012 年临床有效输血关键新技术培训班”将于 2012 年 8 月 2 日至 5 日在北京召开。培训的主要内容包括:临床输血评估体系构建、输血实验室质量控制与管理、红细胞量化输注、血小板抗体检测技术、临床输血数据库和临床输血案例分析等。会议竭诚邀请各地输血界同仁踊跃参加,参会代表将获得国家级Ⅰ类继续教育学分 8 分[2012-11-00-025(国)]。现将会议有关事项通知如下:

1　会议对象及费用

会议代表:从事临床输血及相关工作的同仁。

注册费:会议代表注册费 1000 元/人。代表食宿由会议统一安排,住宿费用自理。

2　会议时间及地点

会议时间:2012 年 8 月 2-5 日,2 日全天报到,3-5 日上午会议,5 日下午撤离。

会议地点:　解放军总医院国际会议中心第 11 会议室(内科大楼三层)。

3　联系方式

联 系 人:崔老师

手　　机:13910465826

会议日期:2012-08-02 至 2012-08-05

举办地点:北京众晶鑫酒店

E-mail:c4006668489@163.com

万方数据