

质谱技术在肝细胞肝癌诊断中的应用价值

刘树业

作者单位:300170 天津市,天津市第三中心医院检验科

【摘要】 肝细胞肝癌是一世界性难题,早期诊断对患者的治疗和预后具有重要意义。随着质谱技术的发展,其在肝细胞肝癌标志物中的研究也广泛展开。目前发现脂类、氨基酸和胆汁酸等物质具有一定诊断价值,但仅限于研究,尚不能广泛应用于临床。

【关键词】 质谱技术;筛查;肝细胞肝癌;代谢组学;蛋白质组学

doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2016.02.001

1 前言

肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是世界上最常见的恶性肿瘤之一,其发病率在恶性肿瘤中居第五位,致死率居癌症第二位^[1],5年生存率小于15%,严重威胁人类健康。早期诊断并采取有效的治疗措施是提高HCC患者生存率的有效方法,但目前广泛应用的HCC筛查指标甲胎蛋白的灵敏度和特异性不能完全满足临床需要,影像学方法受到肿瘤大小等因素的制约,新的诊断指标亟待发现。

代谢组学和蛋白质组学从整体上解析生物体系的功能状态,其重要研究手段是质谱技术。质谱技术利用电磁学原理检测气相离子的质荷比并记录这些离子的相对强度,进行定性和定量分析。软电离技术的发展实现了生物标本在较温和条件下的电离,使质谱技术在生命科学中的应用成为现实。质谱技术具有分析速度快、高灵敏度和高准确度等优点,为HCC的诊断打开了一扇新的窗户^[2]。

2 现状及分析

超高压液相色谱与质谱技术连用是现代代谢组学最常用的方法之一,经过分子式的确定再结合质谱数据库(如NIST),可确定代谢物的结构。液相色谱-质谱和气相色谱-质谱联用可以检测上千种代谢物,包括脂肪酸、氨基酸、糖类物质。准确高质量的质谱技术平台、数据库检索、标准品验证及其他实验结果相结合,对生物标记物的确定非常重要。

质谱技术对HCC研究的标本类型包括组织、血液、尿液等,最常用的是血清标本。检测结果往往是与肝功能变化、肿瘤性变化相关的诸多代谢物,涉及的主要代谢物质有:

脂代谢相关标志物:a.酮体水平升高^[3]。酮体是脂类在肝细胞线粒体中分解代谢的一种代谢产物,在机体葡萄糖供能不足情况下代替葡萄糖提供部分能量,这可能与肿瘤细胞生长需要大量能量供给有关。Rocha等^[4]和Erol^[5]的研究指出,

肿瘤患者血糖含量降低以及线粒体功能失调,与HCC患者血清酮体水平升高相符。b.磷脂,包括植物鞘氨醇^[3,6]、甘油磷脂^[7]和溶血磷脂^[3,6]等多种磷脂类物质。磷脂类物质在机体内参与能量代谢、细胞膜结构和级联信号传递系统,在肿瘤发生发展的不同阶段均有涉及,这可能也是各研究结果显示磷脂水平变化不一致的原因。溶血磷脂乙醇胺(16:0)、牛磺胆酸和溶血卵磷脂(22:5)合称为“标记代谢物”,不仅可用于区分HCC与慢性肝病,亦可辅助判断HCC进展的分期和HCC患者的代谢情况^[8]。

氨基酸类:连续监测致癌动物模型的氨基酸水平变化发现,在大鼠肝硬化的晚期才会出现丝氨酸家族、门冬氨酸和谷氨酸家族水平的升高,并在发展为HCC后持续升高^[9]。对入血清标本的检测证实,HCC患者丝氨酸、门冬氨酸、谷氨酸和甘氨酸苯丙氨酸水平均较肝硬化患者高,且以丝氨酸水平变化最为显著^[10]。

胆汁酸类:胆汁酸是肝损伤的标志物,在HCC I期患者中升高,而在II至IV期HCC患者中升高幅度减小^[11]。糖化鹅脱氧胆酸是HCC诊断和预后的重要标志物^[8]。

某些代谢物在多种肿瘤中均发生变化,例如与细胞分裂、黏附、转移相关的纤维蛋白连接素、激肽原和入血浆钙结合微丝蛋白^[12]。由于数据库的不完备,有些代谢物能够被检测到,却不能确定具体物质^[13]。质谱技术检测HCC患者与对照组标本的差异代谢物往往不是单一一种物质,多指标连用区分HCC和肝硬化的灵敏度和特异性分别是72%~100%和60%~96%,远高于单一一种物质的诊断灵敏度(52%~95%)和特异性(53%~87%)。

3 展望与不足

代谢组学等不断加深人类对HCC发生发展机制的认识,质谱技术将继续发挥重要作用。但是,部分鉴定出的代谢

物不能确定其结构,这需要质谱数据库的进一步完善。此外,后基因时代的各种技术应当与基因组学相结合,才能提供完整的生物学认知。这样的结合必定会产生巨大的数据库,对基于质谱技术的各种组学进行有效深入解析,不同技术与平台之间的数据整合也将是未来研究的重点方向之一。

随着质谱技术的不断发展,其在医学中的应用越来越广泛。就质谱技术在 HCC 诊断中的应用来看,虽然目前这一领域的研究越来越多,但结果受到基体效应和离子抑制的影响,各实验室之间的结果不一定有可比性,故而限制了质谱技术在临床上的大范围应用。但质谱技术具有高特异性、灵敏度和准确度,检出限低,临床应用的前景良好。此外,质谱技术的标准化也是将质谱技术应用于临床所面临的一个重要课题。临床实验室标准化研究所发布的临床质谱的使用指南(<http://www.clsi.org>)涉及质谱定量检测方法评估、准确度和精确度评估、线性关系及范围和方法比较、偏差评估等,对质谱技术在临床上的应用具有一定的指导意义。

4 参考文献

- Mittal S, El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma: consider the population. *J Clin Gastroenterol*, 2013, 47 Suppl: S2-S6.
- 黄潇,陈志威,聂秀利,等. 质谱在生命科学领域中的应用进展. 标记免疫分析与临床, 2010, 17: 196-198.
- Liu Y, Hong Z, Tan G, et al. NMR and LC/MS-based global metabolomics to identify serum biomarkers differentiating hepatocellular carcinoma from liver cirrhosis. *Int J Cancer*, 2014, 135: 658-668.
- Rocha CM, Carrola J, Barros AS, et al. Metabolic signatures of lung cancer in biofluids; NMR-based metabolomics of blood plasma. *J Proteome Res*, 2011, 10: 4314-4324.
- Erol A. Retrograde regulation due to mitochondrial dysfunction may be an important mechanism for carcinogenesis. *Med Hypotheses*, 2005, 65: 525-529.

- Ressom HW, Xiao JF, Tuli L, et al. Utilization of metabolomics to identify serum biomarkers for hepatocellular carcinoma in patients with liver cirrhosis. *Anal Chim Acta*, 2012, 743: 90-100.
- Passos-Castilho AM, Lo TE, Ferraz ML, et al. Plasma lipidomic fingerprinting to distinguish among hepatitis C-related hepatocellular carcinoma, liver cirrhosis, and chronic hepatitis C using MALDI-TOF mass spectrometry: a pilot study. *J Gastrointest Liver Dis*, 2015, 24: 43-49.
- Wang X, Zhang A, Sun H. Power of metabolomics in diagnosis and biomarker discovery of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2013, 57: 2072-2077.
- Zeng J, Huang X, Zhou L, et al. Metabolomics identifies biomarker pattern for early diagnosis of hepatocellular carcinoma: from diethyl-nitrosamine treated rats to patients. *Sci Rep*, 2015, 5: 16101.
- Fitian AI, Nelson DR, Liu C, et al. Integrated metabolomic profiling of hepatocellular carcinoma in hepatitis C cirrhosis through GC/MS and UPLC/MS-MS. *Liver Int*, 2014, 34: 1428-1444.
- Chen T, Xie G, Wang X, et al. Serum and urine metabolite profiling reveals potential biomarkers of human hepatocellular carcinoma. *Mol Cell Proteomics*, 2011, 10: 3060-3075.
- He X, Wang Y, Zhang W, et al. Screening differential expression of serum proteins in AFP-negative HBV-related hepatocellular carcinoma using iTRAQ-MALDI-MS/MS. *Neoplasma*, 2014, 61: 17-26.
- Passos-Castilho AM, Carvalho VM, Cardozo KH, et al. Serum lipidomic profiling as a useful tool for screening potential biomarkers of hepatitis B-related hepatocellular carcinoma by ultraperformance liquid chromatography-mass spectrometry. *Bmc Cancer*, 2015, 15: 985.

(收稿日期: 2016-03-29)

(本文编辑: 陈淑莲)

消 息

中国医师协会检验医师分会网站信息

中国医师协会检验医师分会于 2004 年底创建中国医师协会检验医师分会网站,至今已在互联网上推出 12 年了,欢迎广大医务工作者浏览网站。本网站目前属于非营利性网站,建立的宗旨是加强检验与临床之间的合作,为检验医师与临床医师提供一个交流的平台,推动检验医师国际间的交流,促进国内行业的发展,服务于广大医务工作者和患者。

本网站的中文实名为: 中国医师协会检验医师分会
英文域名为: www.cmdal.org; www.cmdal.com

