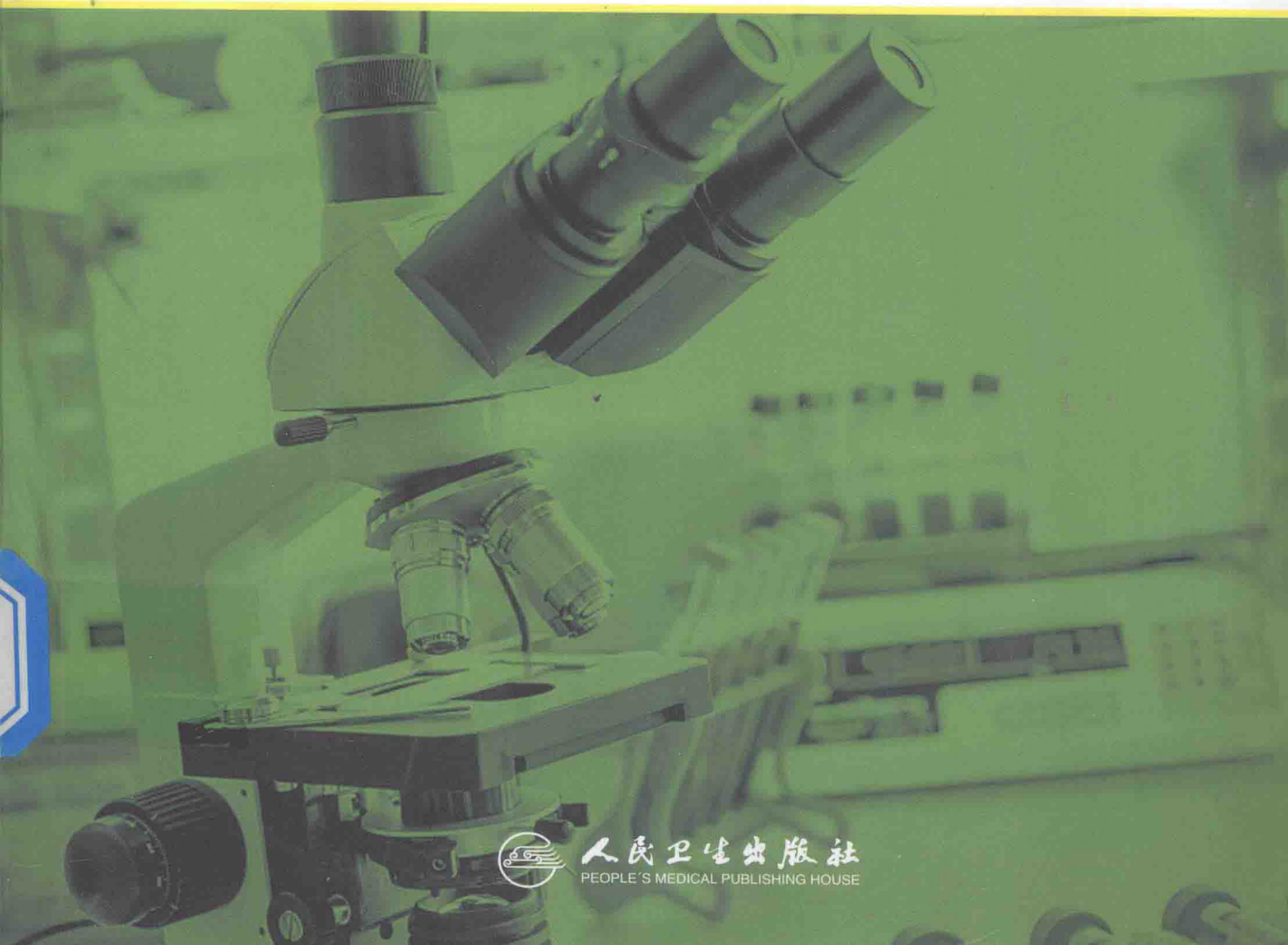


ZHI PU JI SHU
ZAI LIN CHUANG YI XUE ZHONG DE YING YONG

质谱技术

在临床医学中的应用

吴立军 王晓波◎主编



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

质谱技术 在临床医学中的应用

主 编 吴立军 王晓波

编 者 (以姓氏笔画为序)

王立波 (哈尔滨医科大学药学院)

王晓波 (中国人民解放军第 210 医院)

张治然 (中国人民解放军第 210 医院)

吴立军 (哈尔滨医科大学药学院)

李 玮 (北京和合医学诊断技术股份有限公司)

李 倩 (哈尔滨医科大学药学院)

陈丽

杨春

倪君

(股份有限公司)

唐景玲 (哈尔滨医科大学药学院)

袭荣刚 (中国人民解放军第 210 医院)

秘 书 安 然 (哈尔滨医科大学药学院)

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

质谱技术在临床医学中的应用 / 吴立军, 王晓波主编.
—北京: 人民卫生出版社, 2016
ISBN 978-7-117-22790-2

I. ①质… II. ①吴…②王… III. ①质谱法 - 应用 -
临床医学 IV. ①R4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 138189 号

人卫智网	www.ipmph.com	医学教育、学术、考试、健康, 购书智慧智能综合服务平台
人卫官网	www.pmph.com	人卫官方资讯发布平台

版权所有, 侵权必究!

质谱技术在临床医学中的应用

主 编: 吴立军 王晓波
出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)
地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号
邮 编: 100021
E - mail: pmph@pmph.com
购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830
印 刷: 三河市博文印刷有限公司
经 销: 新华书店
开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 26
字 数: 633 千字
版 次: 2016 年 8 月第 1 版 2016 年 8 月第 1 版第 1 次印刷
标准书号: ISBN 978-7-117-22790-2/R · 22791
定 价: 62.00 元
打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com
(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

质谱技术是一种鉴定技术,最早应用于计量和化学领域,是药物分析、药物代谢等方面研究中必不可少的工具。在临床研究和应用中,质谱联用技术已成为体内药物定量分析的首选技术,广泛应用于临床药物代谢动力学研究。最近几年,质谱技术的应用已推广到临床疾病的诊断和临床药物监测等领域。寻找并研究体内生物标志物并将其应用于疾病的诊断、早期预测以及治疗具有非常重要的意义。质谱联用技术具有高通量、高灵敏度、高专一性,所需样品量少,样品前处理简单,分析速度快,能够多组分同时分析的特点,非常适合对复杂的生物样品进行定量分析。近年来,越来越多的人开始尝试将质谱联用技术应用于临床的疾病诊断、筛查及治疗药物监测,使其临床应用范围越来越广。目前质谱技术已成为专家和学者关注的重点,并且随着质谱技术的发展,其在临床医学领域中将发挥越来越重要的作用。

《质谱技术在临床医学中的应用》以临床医学检验和诊断为核心,向读者系统的概述了质谱技术在疾病诊断与药物监测中的应用。本书的编者具有天然药物化学、药剂学、药物分析学、临床药学等教学以及科研经历,能够立足于国家聚焦的科研领域,以医学、药学理论知识为基础,结合自身的实践经验以及最前沿的研究热点,将质谱技术在临床医学中的应用进行总结并以案例的形式进行阐述。《质谱技术在临床医学中的应用》对临床医学、临床药学、临床检验的学者及工作人员均有很好的指导作用和参考价值。

哈尔滨医科大学
中国工程院院士



2016年5月于哈尔滨

前言

质谱技术最先应用于计量和分析化学领域,因其具有灵敏度高、分析速度快、样品用量少、分离和鉴定同时进行等优点,而在其他领域如医学、环境、生命科学、材料科学等都有应用。在全世界都关注人类健康的今天,医学等相关科学技术的发展已成为科学研究中的热点,对疾病诊断、药物监测的精准度和速度有着更高的要求。质谱在临床医学中的应用时间虽然较短,但是由于其具有其他医学技术不可替代的技术优势,使得质谱技术在临床疾病诊断和药物监测的应用中占有越来越大的比重,经查阅近十多年的文献发现,其在常见疾病诊断和药物的监测方面有大量的研究。

本书将质谱技术在临床中的应用进行了全面的整合。主要介绍了质谱技术在临床疾病诊断方面的应用,包括有机酸血症、内分泌疾病、新生儿氨基酸代谢病、中枢神经系统疾病、恶性肿瘤以及糖尿病等疾病的诊断;在药物的监测方面,本书对质谱技术在强心苷类、免疫抑制剂、抗凝血药、抗精神病类药物、雌激素类药物、镇静催眠药、镇痛药以及抗恶性肿瘤等药物监测中的应用进行了总结;除此之外,本书还介绍了质谱技术在蛋白质组学和药物代谢物鉴别方面的应用,同时还介绍了质谱成像技术在有机体内药物分布中的应用。

本书的主要特色包括在临床疾病的诊断和药物监测方面进行了细致全面的总结,这是目前已出版的质谱类书籍所没有涵盖的内容;对质谱在临床医学中的疾病诊断与临床药物监测方面的应用进行了较全面的介绍,具有前瞻性和可操作性;注重理论与实践相结合,使内容更具有逻辑性、层次性、实用性。对质谱技术在常见肿瘤诊断中的应用、在药物监测中的应用以及在质谱成像技术等方面进行了详细的介绍,这是其他质谱类书籍没有涉及的内容。

本书的编者具有天然药物化学、药剂学、药物分析学、临床药学等教学及科研经历,结合自身的实践经验以及最前沿的研究热点,将质谱技术应用总结并编纂成书,相信对临床医学、临床药学、临床检验专业的学生及工作人员均有较高的参考和实用价值。

由于编写水平有限,各位编者教学与科研工作繁忙,书中难免存在疏漏与错误之处,衷心希望读者给予批评指正。

编者

2016年2月

第一章 质谱技术在临床中的应用简介	1
一、质谱技术在生物大分子分析中的应用	1
二、质谱技术在小分子分析中的应用	2
三、质谱技术在临床疾病诊断中的应用	3
四、质谱技术在治疗药物监测中的应用	4
五、质谱成像技术在临床上的应用	5
第二章 质谱技术在有机酸血症诊断中的应用	7
第一节 概述	7
一、有机酸血症简介	7
二、目前临床诊断有机酸血症的方法	7
三、质谱技术在有机酸血症诊断中的应用	7
第二节 质谱技术在甲基丙二酸血症诊断中的应用	10
一、甲基丙二酸血症简介	10
二、目前临床诊断甲基丙二酸血症的方法	10
三、质谱技术在甲基丙二酸血症诊断中的应用	11
第三节 质谱技术在丙酸血症诊断中的应用	13
一、丙酸血症简介	13
二、目前临床诊断丙酸血症的方法	14
三、质谱技术在丙酸血症诊断中的应用	14
第四节 质谱技术在异戊酸血症诊断中的应用	15
一、异戊酸血症简介	15
二、目前临床诊断异戊酸血症的方法	16
三、质谱技术在异戊酸血症诊断中的应用	16
第五节 质谱技术在生物素酶缺乏症诊断中的应用	18
一、生物素酶缺乏症简介	18
二、目前临床诊断生物素酶缺乏症的方法	19
三、质谱技术在生物素酶缺乏症诊断中的应用	19
第六节 质谱技术在多种羧化酶缺乏症诊断中的应用	21
一、多种羧化酶缺乏症简介	21
二、目前临床诊断多种羧化酶缺乏症的方法	21

三、质谱技术在多种羧化酶缺乏症诊断中的应用	22
第三章 质谱技术在临床诊断神经内分泌瘤中的应用	27
第一节 概述	27
一、神经内分泌瘤简介	27
二、质谱技术在诊断神经内分泌瘤疾病中的应用	27
第二节 质谱技术在嗜铬细胞瘤诊断中的应用	27
一、嗜铬细胞瘤简介	27
二、目前临床诊断嗜铬细胞瘤的方法	28
三、质谱技术在嗜铬细胞瘤诊断中的应用	28
第三节 质谱技术在胃肠胰腺神经内分泌肿瘤诊断中的应用	31
一、胃肠道神经内分泌肿瘤	31
二、胰腺神经内分泌肿瘤	32
三、副神经节瘤	34
四、质谱技术在内分泌疾病中的应用	35
第四章 质谱技术在新生儿氨基酸代谢病筛查中的应用	39
第一节 概述	39
一、氨基酸代谢病简介	39
二、质谱技术在氨基酸代谢病诊断中的应用	39
第二节 质谱技术在苯丙酮尿症诊断中的应用	41
一、苯丙酮尿症简介	41
二、目前临床诊断苯丙酮尿症的方法	42
三、质谱技术在苯丙酮尿症诊断中的应用	42
第三节 质谱技术在先天性肾上腺皮质增生症诊断中的应用	45
一、先天性肾上腺皮质增生症简介	45
二、目前临床诊断先天性肾上腺皮质增生症的方法	45
三、质谱技术在先天性肾上腺皮质增生症诊断中的应用	46
第四节 质谱技术在高同型半胱氨酸血症诊断中的应用	49
一、高同型半胱氨酸血症简介	49
二、目前临床诊断高同型半胱氨酸血症的方法	49
三、质谱技术在高同型半胱氨酸血症诊断中的应用	50
第五节 质谱技术在枫糖尿症诊断中的应用	52
一、枫糖尿症简介	52
二、目前临床诊断枫糖尿症的方法	52
三、质谱技术在枫糖尿症诊断中的应用	53
第六节 质谱技术在氨基酸代谢病诊断中的应用	55
一、酪氨酸血症	55
二、瓜氨酸血症	55

三、精氨酸血症	56
四、质谱技术在氨基酸代谢疾病诊断中的应用	56
第五章 质谱技术在中枢神经系统疾病诊断中的应用	63
第一节 概述	63
一、中枢神经系统疾病简介	63
二、目前临床诊断中枢神经系统疾病的方法	63
第二节 质谱技术在胶质瘤诊断中的应用	64
一、胶质瘤简介	64
二、目前临床诊断胶质瘤的方法	64
三、质谱技术在胶质瘤疾病诊断中的应用	65
第三节 质谱技术在神经退行性疾病诊断中的应用	68
一、神经退行性疾病简介	68
二、目前临床诊断神经退行性疾病的方法	69
三、质谱技术在神经退行性疾病诊断中的应用	69
第四节 质谱技术在唐氏综合征诊断中的应用	72
一、唐氏综合征简介	72
二、目前临床诊断唐氏综合征的方法	72
三、质谱技术在唐氏综合征诊断中的应用	72
第五节 质谱技术在脑膜炎诊断中的应用	75
一、脑膜炎简介	75
二、目前临床诊断脑膜炎的方法	75
三、质谱技术在脑膜炎疾病诊断中的应用	75
第六章 质谱技术在恶性肿瘤诊断中的应用	79
第一节 概述	79
一、生物标志物在肿瘤疾病诊断中的意义	79
二、质谱技术在肿瘤标志物检测中的应用现状	80
第二节 质谱技术在乳腺癌诊断中的应用	80
一、乳腺癌简介	80
二、目前临床诊断乳腺癌的方法	80
三、质谱技术在乳腺癌诊断中的应用	81
第三节 质谱技术在大肠癌诊断中的应用	97
一、大肠癌简介	97
二、目前临床诊断大肠癌的方法	97
三、质谱技术在大肠癌诊断中的应用	97
第四节 质谱技术在肺癌诊断中的应用	103
一、肺癌简介	103
二、目前临床诊断肺癌的方法	103

三、质谱技术在肺癌诊断中的应用	103
第五节 质谱技术在肝癌诊断中的应用	129
一、肝癌简介	129
二、目前临床诊断肝癌的方法	129
三、质谱技术在肝癌诊断中的应用	130
第六节 质谱技术在白血病诊断中的应用	136
一、白血病简介	136
二、目前临床诊断白血病的方法	136
三、质谱技术在白血病诊断中的应用	137
第七节 质谱技术在卵巢癌诊断中的应用	143
一、卵巢癌简介	143
二、目前临床诊断卵巢癌的方法	143
三、质谱技术在卵巢癌诊断中的应用	143
第八节 质谱技术在胰腺癌诊断中的应用	152
一、胰腺癌简介	152
二、目前临床诊断胰腺癌的方法	152
三、质谱技术在胰腺癌诊断中的应用	153
第九节 质谱技术在前列腺癌诊断中的应用	158
一、前列腺癌简介	158
二、目前临床诊断前列腺癌的方法	158
三、质谱技术在前列腺癌诊断中的应用	159
第十节 质谱技术在肾癌诊断中的应用	164
一、肾癌简介	164
二、目前临床诊断肾癌的方法	165
三、质谱技术在肾癌诊断中的应用	165
第十一节 质谱技术在胃癌诊断中的应用	171
一、胃癌简介	171
二、目前临床诊断胃癌的方法	171
三、质谱技术在胃癌诊断中的应用	172
第十二节 质谱技术在膀胱癌诊断中的应用	187
一、膀胱癌简介	187
二、目前临床诊断膀胱癌的方法	188
三、质谱技术在膀胱癌诊断中的应用	188
第七章 质谱技术在糖尿病诊断中的应用	199
第一节 概述	199
一、糖尿病简介	199
二、目前临床诊断糖尿病的方法	199
三、质谱技术在糖尿病诊断中的应用	200

第二节 质谱技术在 1 型糖尿病诊断中的应用	200
基于 LC-MS 的 1 型糖尿病患者尿液的蛋白质组学研究	200
第三节 质谱技术在 2 型糖尿病诊断中的应用	202
一、基于 LC-MS 的 2 型糖尿病血清小分子物质的代谢组学研究	202
二、基于 LC-MS/MS 技术的 2 型糖尿病血清脂质组学研究	206
三、基于 LC-MS/MS 技术的 2 型糖尿病多肽类生物标志物的检测	223
第四节 质谱技术在糖尿病肾病诊断中的应用	226
一、糖尿病肾病简介	226
二、目前临床诊断糖尿病肾病的方法	227
三、质谱技术在糖尿病肾病诊断中的应用	227
第八章 质谱技术在常用强心苷类药物临床监测中的应用	231
第一节 概述	231
一、强心苷类药物简介	231
二、洋地黄毒苷和羟基洋地黄毒苷的制剂	233
三、洋地黄强心苷药物的临床用药特点	233
第二节 质谱技术在强心苷类药物临床监测中的应用	234
一、洋地黄强心苷类药物的血药浓度监控方法	234
二、常用洋地黄强心苷类药物的质谱裂解规律	234
三、质谱技术在强心苷类药物临床监测中的应用	236
第九章 质谱技术在免疫抑制剂临床监测中的应用	242
第一节 概述	242
一、免疫抑制剂的分类	242
二、免疫抑制剂的定量监测方法	243
第二节 质谱技术在免疫抑制剂临床监测中的应用	243
一、超高效液相色谱-串联质谱技术在免疫抑制剂治疗药物监测中的应用	243
二、气相色谱-串联质谱技术测定生物样本中霉酚酸的含量	246
第十章 质谱技术在临床上常用抗凝血药物监测中的应用	251
第一节 概述	251
一、抗凝血药物的分类	251
二、华法林用药简介	252
第二节 质谱技术在抗凝血药物华法林监测中的应用	253
第十一章 质谱技术在抗精神病类药物监测中的应用	258
第一节 概述	258
一、常用抗精神失常类药物的分类	258
二、常用的检测抗精神病类药物的方法	259

第二节 抗精神失常类药物的检测	260
一、质谱技术在精神分裂类药物监测中的应用	260
二、质谱技术在抗抑郁症药物监测中的应用	263
第十二章 质谱技术在雌激素类药物监测中的应用	270
第一节 概述	270
一、雌激素药物的分类	270
二、常用的检测雌激素类药物的方法	271
三、质谱技术在雌激素类药物监测中的应用现状	272
第二节 质谱技术在雌激素类药物监测中的应用	272
第十三章 质谱技术在临床上镇静催眠药物监测中的应用	287
第一节 概述	287
一、常用镇静催眠类药物的分类	287
二、常用镇静催眠药的检测方法	288
三、质谱技术在镇静催眠类药物监测中的应用现状	288
第二节 镇静催眠类药物的检测	288
一、质谱技术在苯二氮革类药物监测中的应用	288
二、质谱技术在巴比妥类药物监测中的应用	293
三、质谱技术在其他类型镇静催眠药物监测中的应用	294
第十四章 质谱技术在麻醉性镇痛药监测中的应用	301
第一节 概述	301
一、阿片类药物的分类及结构特点	301
二、目前阿片类药物的检测方法	302
第二节 质谱技术在阿片类药物临床监测中的应用	303
一、质谱技术在盐酸吗啡和可待因药物监测中的应用	303
二、质谱技术在哌替啶和美沙酮药物监测中的应用	306
第十五章 质谱技术在抗恶性肿瘤药物监测中的应用	310
第一节 概述	310
一、抗肿瘤药物的分类	310
二、目前临床检测抗肿瘤药物的常用方法	311
第二节 质谱技术在抗恶性肿瘤药物监测中的应用	311
一、质谱技术在检测核苷酸还原酶抑制剂类药物中的应用	311
二、质谱技术在检测烷化剂类药物中的应用	314
三、质谱技术对非细胞毒性抗肿瘤药物的检测	317

第十六章 基于质谱的定向蛋白质组学在 ADME 研究中的应用	320
第一节 概述	320
第二节 运用液相色谱 - 串联质谱进行蛋白质定量	321
第三节 运用液相色谱 - 串联质谱对肠道膜转运蛋白进行定量	323
一、质谱技术定向定量测定肠道转运蛋白的方法	324
二、质谱技术定向定量测定肠道转运蛋白的应用	325
第四节 基于质谱的定向蛋白质组学在血脑屏障转运蛋白中的应用	328
第五节 基于质谱的定向蛋白质组学在血红蛋白中的应用	332
第十七章 质谱成像在药物分布中的应用	337
第一节 概述	337
第二节 质谱成像技术的应用	338
一、样本的处理	338
二、质谱成像在动物组织切片中的应用	340
三、质谱成像技术面临的问题和挑战	348
第十八章 质谱技术在药物代谢物鉴别中的应用	350
第一节 概述	350
第二节 质谱技术在体外 ADME 分析中的应用	351
一、质谱技术在药物吸收分析中的应用	351
二、质谱技术在药物分布分析中的应用	352
三、质谱技术在药物清除分析中的应用	353
四、质谱技术在药物代谢分析中的应用	353
第三节 质谱技术在药物代谢物鉴别中的临床应用	359
一、质谱技术在维生素 D 代谢物检测中的应用	360
二、质谱技术在 4- 溴 -2,5- 二甲氧基苯乙胺精神药物代谢物检测中的应用	363
三、质谱技术在唑吡坦和佐匹克隆代谢物临床检测中的应用	370
四、质谱技术在去氢睾酮及其代谢物检测中的应用	374
五、质谱技术在青霉素及其代谢物检测中的应用	380
六、质谱技术在乙醇代谢物临床检测中的应用	388
七、质谱技术在丙泊酚及其代谢物临床检测中的应用	394

第一章 质谱技术在临床中的应用简介

质谱(mass spectrum, MS)是样品分子或原子在外部能量作用下电离或电离后进一步分解而生成碎片离子,这些离子在质量分析器(通常是电场或磁场)作用下按照带电粒子的质量对所带电荷之比值的不同而分离排列的图谱,并在此基础上进行各种有机物、无机物的定性和定量分析。质谱的形成过程是气态样品通过导入系统进入离子源,被电离成分子离子和碎片离子,由质谱分析器将其分离并按照质荷比大小依次进入检测器,信号经放大、记录得到质谱图。质谱仪包括进样器、离子化源、质量分析器、控制系统和数据分析系统。质谱仪的核心是离子源和质量分析器。离子源的种类很多,在真空状态下工作的离子源有电子轰击源(electron impact ion source, EI)、化学电离源(chemical ionization, CI)、激光表面解析源(laser desorption, LD)、场解析(软电离)源(field desorption, FD)、快原子(快离子)轰击源(fast atom bombardment, FAB)等;在低压下工作的离子源有电(离子)喷雾(electron/ion spray, E/IS)、电感耦合(inductively coupled plasma, ICP)等离子源。质量分析器的主要类型有磁偏转质谱、四级杆质谱(quad)、离子阱质谱(IT)、飞行时间质谱(TOF)、傅里叶变换离子回旋共振质谱(FT-ICR)等。不同的分析器与离子源之间有多种组合,构成不同的质谱仪。质谱是强有力的结构解析工具,能为结构定性提供较多的信息,作为理想的色谱检测器,不仅特异性强,而且具有极高的检测灵敏度。自1983年McLafferty等开发串联质谱技术(MS/MS)以来,串联质谱已成为一种成熟的技术,在许多领域特别是在医药临床研究领域发挥着巨大作用。串联质谱法是指质量分离的质谱检测技术,在单极质谱给出化合物相对分子量的信息后,对准分子离子进行多级裂解,进而获得丰富的化合物碎片信息,确认目标化合物,对目标化合物进行定性、定量。串联质谱有分离、结构解析同步完成的特点,能直接分析混合物组分,有高度的选择性和可靠性,其检测水平甚至可以达到皮克(pg)级,因此用串联质谱可解决医药领域中的许多问题。色谱-质谱联用技术结合了分离能力强、应用范围广的色谱和灵敏度高、准确性好的质谱优点,同时具有对检测样本处理要求不高、灵敏度高、线性范围宽等优点。根据前端色谱仪的不同,色谱-质谱联用技术包括气相色谱-质谱联用(GC-MS)、液相色谱-质谱联用(LC-MS)和毛细管电泳-质谱联用(CE-MS)等。根据后端质谱仪的不同可分为四级杆串联质谱(QQQ/MS)、离子阱质谱(IT/MS)、飞行时间质谱(TOF/MS)、傅里叶变换质谱(FT/MS)等。色谱与质谱部分可以根据需要进行不同的组合,构成不同类型的质谱联用仪,如气相色谱-四级杆质谱联用仪(GC-QQQ/MS)、液相色谱-四极杆飞行时间质谱联用仪(LC-QTOF/MS)等。

一、质谱技术在生物大分子分析中的应用

由于生物大分子如蛋白质、酶、核酸和多糖等具有非挥发性、热不稳定且相对分子质量大等特性,使传统的电离子轰击、化学离子源等电离技术的应用受到极大限制。20世纪80

年代出现的软电离技术为质谱在生物大分子的研究领域中开辟了广阔前景。软电离技术的出现,使生物大分子转变成气相离子成为可能,大大提高了质谱的测定范围,改善了测量的灵敏度,并在一定程度上解决了溶剂分子干扰等问题,使质谱更适合于分析生物大分子聚合物,如蛋白质、核酸和糖类,开创了质谱分析研究生物大分子的新领域。软电离质谱主要包括电喷雾电离质谱(electrospray ionization mass spectrometry,ESI-MS)、基质辅助激光解析电离质谱(matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry,MALDI-MS)、快离子轰击质谱(fast atom bombardment mass spectrometry,FAB-MS)、离子喷雾电离质谱(ion spray ionization mass spectrometry,ISI-MS)、大气压电离质谱(atmospheric pressure ionization mass spectrometry,API-MS)。以上软电离质谱技术中,ESI-MS 和 MALDI-MS 研究最多,应用也最广泛。其可以提供快速的、易解的多组分的分析方法,且灵敏度高、选择性强、准确性好,尤其是在蛋白质组学中的应用越来越广泛。蛋白质组学(proteomics)是从整体水平上研究细胞内蛋白质的组成、活动规律及蛋白质与蛋白质的相互作用,是功能基因组学领域中的新学科。基于质谱发展起来的平台有利于研究细胞内蛋白质组分数量的变化,目前质谱越来越多地被用于蛋白质或肽的相对或绝对定量的研究中。质谱可以用来研究蛋白质化学修饰的关键技术,可以定位修饰位点、定量化学修饰蛋白及检测新型结构。定向蛋白质组学是基于质谱技术快速检测目标蛋白的技术,基于质谱的鸟枪蛋白质组学研究是将蛋白质酶解、片段化成肽片段进行质谱分析。质谱在功能蛋白质组学中也有应用。质谱蛋白质组学方法可在鉴定细胞、亚细胞或有机体蛋白质中发挥重要作用,并可提供细胞生物过程和信号传导途径中的重要信息。质谱在核酸和蛋白质的序列分析、结构分析、分子量测定和各组分的含量测定中也有应用,还可用于非共价键结合体如抗原-抗体结合的测定。

二、质谱技术在小分子分析中的应用

在小分子生物标志物的临床检测方面,质谱分析的项目主要包括氨基酸、脂肪酸、有机酸及其衍生物、单糖类、前列腺素、甲状腺素、胆汁酸、胆固醇和类固醇、生物胺、脂类、碳水化合物、维生素、微量元素及某些微生物的鉴别等。

GC-MS、GC-TOF/MS 不仅能够检测到氨基酸、核苷酸、有机酸、胺类、糖类等极性大的代谢物,而且还能够检测到脂肪酸等极性小的代谢物。也就是说,生物体内的三羧酸循环、糖酵解、磷酸戊糖代谢、尿素循环、脂肪酸代谢、多种氨基酸代谢等多条主要代谢路径的相应成分均能得到检测。因此 GC-MS 在代谢组学研究中得到了迅速发展,同位素稀释 GC-MS 也已经成为定量和定性分析小分子的强有力的临床工具,为众多生物小分子的检测提供参考方法。该方法的特点是先利用气相色谱对样品进行分离,使绝大部分的样品基质和干扰物质与被测组分相分离,被测组分在载气的带动下经接口进入质谱,从而避免了复杂的样品基质对测定的干扰,保证了质谱定性的可靠性,极大地提高了定量测定的准确性。液相色谱主要有高效液相色谱(HPLC)、反相高效液相色谱(RP-HPLC)和超高效液相色谱(UPLC)等形式。其中超高效液相色谱-飞行时间质谱联用(UPLC-QTOF/MS)与传统的 HPLC 相比,具有分析速度更快、分离效率更高的优点,近年来逐渐成为代谢组学研究的常用方法。毛细管电泳-串联质谱法(CE-MS)兼有高压电泳及高效液相色谱等优点,基本原理是根据在电场作用下离子迁移速度不同而对组分进行分离和分析。CE-MS 可检测多种生物样品,如血清、血浆、尿样、脑脊液、红细胞、体液、组织及实验动物活体等。与 LC-MS 和 GC-MS 相比,CE-MS

的分辨率更高、分析速度更快、所需检测的样品和底液量更少。

三、质谱技术在临床疾病诊断中的应用

生物体是体液、细胞和组织中的代谢物处于动态平衡的完整体系,当机体产生疾病时,病理状态下的机体会引起一些内源性代谢物的种类及浓度发生改变,应用代谢组学技术对其进行全面分析,可为临床诊疗提供依据。

代谢组学 (metabonomics) 是继基因组学、蛋白质组学、转录组学后出现的以定量描述生物体内的代谢物多参数变化为目标的新兴“组学”,是系统生物学的重要组成部分。其关注的是代谢路径中相对分子质量在 1000 以下的小分子代谢物的变化,反映受外界刺激或遗传修饰下细胞或组织的代谢应答变化。色谱-质谱联用技术对于样本中浓度相差大的代谢化合物可达到很好的检测效果,已成为代谢组学研究技术平台中愈加重要的方法。首先,质谱联用技术在肿瘤代谢组学的研究中得到了广泛应用。由于遗传学和表观遗传学的基因突变,从而导致肿瘤细胞的代谢表型发生改变,其异常代谢所产生的中间产物和终产物均可作为肿瘤发生和发展的标志物,因此运用代谢组学技术从机体的代谢途径中寻找肿瘤特异性代谢产物已成为国内外学者研究的热点。应用生物质谱技术检测肿瘤标志物是临床诊断肿瘤的重要检验方法。由于恶性肿瘤是威胁人类健康的主要疾病,所以人们一直在研究其早期诊断方法,肿瘤标志物的检测就是其中的一个主要方法。通过 LC-MS 法对健康女性和患有卵巢上皮细胞癌的患者血清进行代谢组学分析,发现 27-nor-5 β -cholestane-3,7,12,24,25-pentolglucuronide (CPG) 可以作为潜在的肿瘤标志物的代谢产物,与 CA125 相互补充,有利于卵巢上皮细胞癌的早期诊断。采用 GC-MS 法对肺癌患者及其他肺部疾病患者的血清及尿液进行代谢组学分析,发现血清中有 13 种差异代谢标志物、尿液中有 7 种差异代谢标志物。利用 GC-TOF/MS 法对肾细胞癌患者进行代谢组学分析显示,与正常组织相比,原位肿瘤组织存在 α -生育酚、马尿酸、肌醇、1-磷酸果糖等代谢异常;远端转移肿瘤组织存在花生四烯酸、游离脂肪酸、脯氨酸等代谢异常。检测尿液中的 α -生育酚有可能成为肾细胞癌肿瘤组织与非肿瘤组织的鉴别方法,得到 18 种尿液代谢标志物,其中包括辛二酸、庚二酸、乙二酸、甘氨酸、木糖醇、尿素、磷酸盐、丙酸、嘧啶、苏氨酸、丁二酸、丁酸、三羟基戊酸、次黄嘌呤、酪氨酸、阿拉伯呋喃糖、羟基脯氨酸二肽和木糖酸。结合血清传统标志物甲胎蛋白的检测结果建立诊断模型,大大提高了临床诊断的准确性。

其次,质谱联用技术在肝肾疾病代谢组学研究中也有应用。通过 UPLC-QTOF/MS 技术和多变量数据分析证实,纤溶酶 LPCs 是区别酒精性肝损伤和肝癌的生物标志物。采用 UPLC-TOF/MS 研究暴露于不同浓度的全氟辛酸 (PFOA) 72 小时的正常人 L-02 肝细胞内代谢谱的变化,筛选出 18 种与全氟辛酸毒性密切相关的生物标志物,包括肉碱和酰基肉碱、核苷及其同源物、氨基酸及其同源物等。Oresic M 等应用 UPLC-MS 与 GC-TOF/MS 技术,分别对精神分裂症患者血浆内的脂质和小分子极性代谢物进行分析表明,患者体内的糖代谢和脯氨酸代谢异常可能是与该病有关的两条代谢途径。采用 UPLC-QTOF/MS 技术对孤独症儿童的血清进行代谢组学分析,共鉴定出 14 个潜在生物标志物,其中鞘脂类和溶血磷脂类物质在孤独症儿童组明显增多,而不饱和脂肪酸和脂酰肉毒碱明显减少。用 UPLC-QTOF/MS 技术分析高尿酸血症患者的血浆代谢物图谱,发现有 6 种质荷比较小的代谢物是区分高尿酸血症患者与健康人群的潜在标记物,主要包括脂肪酸和短肽等。

质谱联用技术在中医证候代谢组学中也有较好的应用。从整体观念来看,证候是由外源性刺激(外邪)或基因变异(内因)所致的病理变化过程,该过程使生物代谢网络和细胞产生的内源性物质的种类、浓度、相对比例发生扰动,体现在小分子代谢产物集合轮廓的改变。而代谢组学正是通过考察这种改变来揭示病理状态变化规律,非常符合中医整体观念和辨证论治特点的需要。通过 GC-MS 及模式识别为主的代谢组学方法对慢性心力衰竭(CHF)肾阳虚证患者的代谢模式进行了研究。通过 PCA 模式识别,慢性心力衰竭肾阳虚证组、非肾阳虚证组与正常组的主成分积分(枸橼酸、丙氨酸、3-甲基戊烯二酸、丙胺、组胺)在空间分布上明显分开,证实慢性心力衰竭肾阳虚证患者、非肾阳虚证患者和正常人具有不同的代谢模式。用 LC-TOF/MS 对高血压肝阳上亢证患者进行主成分分析,通过 Metlin 数据库鉴定相关代谢物及代谢通路,结果 PCA 得分图中健康志愿者的数据离散度较大,而阴阳两虚证组和肝阳上亢证组的数据则呈聚集,两证候组的数据在空间上分离良好,组间存在较大差异,共鉴定出 6 种代谢物:雌二醇、白三烯、葡萄糖神经酰胺、神经酰胺、甘油三酯及甘油二酯,或能成为两种高血压证候的鉴别点。采用 GC-MS 对冠心病(CHD)心血瘀阻证组、CHD 非心血瘀阻证组、健康对照组进行血浆代谢产物 PCA 分析。通过 PCA 积分三个实验组分别聚于椭圆形散点图的三个区域,花生四烯酸、硬脂酸、乳酸、尿素、枸橼酸、 β -羟基丁酸、油酸、葡萄糖、丙氨酸为 CHD 心血瘀阻证患者血浆中的重要指标性代谢产物。

遗传性代谢疾病(inherited metabolic diseases,IMD)又称为先天性代谢缺陷疾病(inborn errors of metabolism,IEM),是指由于基因突变引起酶缺陷、细胞膜功能异常或受体缺陷而导致机体生化代谢紊乱,造成中间或旁路代谢产物蓄积,或终末代谢产物缺乏引起一系列临床症状的一组疾病。新生儿疾病筛查(newborn screening)是指在新生儿期对某些危害严重的先天遗传代谢性疾病进行群体筛检,使患儿得到早期诊断和治疗,避免智能残疾的发生,提高人口质量。此类疾病在新生儿期甚至在小婴儿期常缺乏特异性症状,一旦出现症状患儿已发生中枢神经系统的不可逆性损伤,失去了最佳治疗时机。而患儿在新生儿期血液内的生化、代谢等指标已有变化,因此可利用实验室检测方法作出早期诊断。新生儿疾病筛查是现代预防医学的重要内容,对优生优育、提高人口素质具有深远而积极的意义,也是从根本上降低出生缺陷、提高人口质量的重要措施之一。从苯丙氨酸的细菌抑制法至荧光定量检测,干血斑促甲状腺激素(TSH)检测法中的放免法、酶联免疫吸附法(ELISA)、时间分辨荧光免疫法(DELFA)的演进,到干血斑的 MS/MS 分析技术,新生儿疾病检测技术不断改进,可检测的病种逐渐增多,检测效率和准确度也大大提高。串联质谱技术可通过一次进样检测多种疾病,极大地拓展了 IMD 筛查的种类。目前已可以用此技术检测的 IMD 包括氨基酸代谢紊乱、有机酸尿症、尿素循环障碍及脂肪酸氧化缺陷(酰基肉毒碱缺乏)等。

四、质谱技术在治疗药物监测中的应用

治疗药物监测(therapeutic drug monitoring,TDM)是指通过各种现代测试手段,测定血液或其他体液中的药物及其代谢物的浓度,探讨患者体内的血药浓度与疗效及毒性反应的关系,从而确定有效及毒性血药浓度范围。应用药动学原理调整给药方案,包括最适合的剂量、给药间隔及给药途径,提高疗效和减少不良反应,达到安全、有效的个性化治疗的目的,以避免体内药物浓度过低所致的治疗失败或体内药物浓度过量导致毒性反应。需要进

行临床监测的药物主要包括以下几类：第一类为治疗指数低、毒性大的药物，如地高辛、氨茶碱、环孢素、氨基糖苷类抗生素、锂盐等。第二类为药物动力学呈非线性特征的药物，这类药物随剂量增大血药浓度可不成比例地猛增，并伴以半衰期明显延长，如苯妥英钠、普萘洛尔、阿司匹林等。第三类为需长期使用的药物，易出现慢性中毒或达不到血药浓度，常不易觉察，如抗癫痫药等。第四类为需要优化个体化给药方案的药物，如患有肝、肾、心脏和胃肠道等脏器疾病的患者使用的药物，这类药物在体内的药物动力学参数可发生显著改变。如胃肠道疾病可影响口服药物的吸收；心力衰竭患者由于肝、肾血流量减少而影响药物的代谢；肝功能不良者可使药物的代谢速率降低，并减少与血浆蛋白的结合；肾功能不良可影响药物的排泄。因此，这些患者应进行血药浓度监测，随时调整给药方案。第五类为过量后中毒症状与原疾病本身的症状类似的药物，如苯妥英钠中毒引起的抽搐与癫痫发作症状相似，不易区别，这类药物需要进行药物监测。第六类为合并用药时常需要进行药物监测。由于药物的相互作用而引起药物的吸收、分布或代谢的改变，通过血药浓度监测，可以有效地作出校正。

原有药物监测主要使用免疫化学技术和高效液相色谱技术。临床上多采用免疫化学技术，该技术简单易行，但是所测定的药物种类比较少；高效液相色谱技术测定的药物种类较多，但是定性的可靠性差，专属性比较低。色谱-质谱联用技术监测药物准确、快速、灵敏度高，几乎可以用于所有药物的监测，如强心苷、抗心律失常药、抗癌药、免疫抑制剂、抗生素等，所以色谱-质谱联用技术在治疗药物监测中将具有广泛的应用前景。

五、质谱成像技术在临床上的应用

质谱成像(mass spectrometry imaging, MSI)是一种新型的分子成像技术，它将质谱的离子扫描过程与专业的图像处理软件相结合，对样本表面分子或离子的化学组成、相对丰度及空间分布情况进行全面、快速的分析，应用这一技术，可以直接从生物组织切片表面获得多种蛋白质或小分子代谢物的空间分布信息。这种原位分析技术的原理是利用激光或离子束使组织切片表面的分子离子化，然后通过质谱测定这些离子化分子的质荷比(m/z)，再由软件重构出分析物在组织中分布的图谱。该技术最早于1997年被应用于研究生物组织中蛋白质的分布。目前MSI技术已广泛用于蛋白质识别、生物标志物发现、医学诊断等研究。MSI技术在疾病机制的研究中也有广泛的应用，例如对阿尔茨海默病患者的脑组织进行质谱成像分析发现两个具有特征分布的多肽，多肽 m/z 4330.9主要集中分布于颅顶骨、枕骨的皮质突出部，多肽 m/z 4515.1主要集中于海马区。进一步鉴定这两个组分，发现它们均为淀粉多肽。阿尔茨海默病的病理特征是在老年斑和血管壁上会出现淀粉多肽的沉积物，因此，研究者推测这些多肽的分布与阿尔茨海默病的发病机制有关。该技术可在无标记的条件下研究蛋白质或代谢物在组织中的分布，有助于了解疾病产生、转移和预后的机制。MALDI-MSI技术还可用来划分肿瘤组织与周围正常组织的界限，可作为染色得到的组织学信息的补充。通过研究小叶状乳腺癌、胃肠道的环状体癌、胆管癌等生物组织中的癌细胞位置，当在显微镜下见不到明显可辨别的病理区域时，可使用质谱成像技术找出癌细胞侵袭区域，指导手术切除。

总之，自从质谱技术应用到临床以来，便以高灵敏度、低检测限、样本用量少、高通量、检测速度快、样本前处理简单的优势显示出巨大的生命力，尤其和气相、高效液相色谱仪的联