

# 微量血清的快速质谱分析及其在肝硬化诊断中的初步应用

鄢飞燕<sup>1</sup> 王姜<sup>1</sup> 贾滨<sup>1</sup> 陈焕文<sup>1</sup> 魏益平<sup>2</sup> 徐建中<sup>\*2</sup> 丁健桦<sup>\*1</sup>

(<sup>1</sup> 东华理工大学 / 江西省质谱科学与仪器重点实验室 江西南昌 330013;

<sup>2</sup> 南昌大学第二附属医院心胸外科 江西南昌 330006)

**摘要** 采用自制的纳升级微量取样器, 在无需样品预处理下, 对纳升级的血清进行了快速表面解吸常压化学电离质谱分析, 并耦合多元统计主成分分析方法, 进行数据处理。实验结果表明, 该方法能快速的检测微量的血清样品, 通过主成分方法, 能很好的将肝硬化患者和正常人区分开, 为肝硬化的早期诊断提供了新思路和新方法。

**关键词** 表面解吸常压化学电离质谱; 微量取样; 主成分分析; 肝硬化

中图分类号 O657.63

## Rapid Differentiation of Trace Serum Samples for Diagnosis of Liver Cirrhosis Using Surface Desorption Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry

Yan Feiyan<sup>1</sup>, Wang Jiang<sup>1</sup>, Jia Bin<sup>1</sup>, Chen Huanwen<sup>1</sup>, Wei Yiping<sup>2</sup>, Xu Jianzhong<sup>2</sup>, Ding Jianhua<sup>\*1</sup>

(<sup>1</sup>Jiangxi. Key Laboratory for Mass Spectrometry and Instrumentation, East China Institute of Technology, Nanchang, P.R. China;

<sup>2</sup>The Second Affiliated Hospital to Nanchang University, Nanchang, 330006)

**Abstract** A method based on a nanoliter level sampling technique and desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry (SDAPCI-MS) was developed for the rapid analysis of trace serum without any sample pretreatment. Principal component analysis (PCA) was performed for the data-processing. The results showed that pattern recognitions at the metabolites fingerprinting level for diagnostic analysis of liver cirrhosis serum samples are achieved successfully, a novel idea- SDAPCI-MS method is provided for early liver cirrhosis diagnosis.

**Key words** Surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry; Nanoliter level sampling; Principal component analysis (PCA); Liver cirrhosis

肝硬化是我国常见的疾病之一, 由肝硬化发展的肝癌病死率在恶性肿瘤中居第三位, 严重威胁人们的健康<sup>[1]</sup>。肝硬化、肝癌的早期诊断较为困难, 目前对于早期代偿期肝硬化患者, 只有靠肝活组织检查才能诊断<sup>[2]</sup>, 由于该检查是一项有创性操作, 患者依从性差, 因此, 很难作为早期肝硬化的普适性排查方法。本文采用自制的微量取样器, 耦合表面解吸常压化学电离质谱<sup>[4-9]</sup>, 建立了无需样品预处理、需样量少的快速检测血清的质谱方法。

### 1 实验部分

#### 1.1 主要仪器与试剂

**主要仪器:** LTQ-XL 增强型线性离子阱质谱仪 (美国 Finnigan 公司), 配有 Xcalibur 数据系统; 自制的微量进样器<sup>[3]</sup>; SDAPCI 离子源: 实验室自制<sup>[4-9]</sup>

**血清样品:** 某医院提供, 所有患者知情同意。

#### 1.2 分析条件

**质谱条件:** 设置 SDAPCI 离子源为正离子模式, 质量范围 50-1000Da, 电离电压 4.0 kV, 离子传输管温度为 100 °C。离子源放电针与水平面夹角  $\alpha$  为 35°, 放电针针尖与质谱进样口水平; 取样器针尖垂直放置, 并仔细调节其高度到合适位置。其它条件系统自动优化。

### 2 结果与讨论

#### 2.1 肝硬化及正常人指纹质谱

在无需样品预处理的情况下, 取 8 例血清样品 (健康对照组 3 例, 肝硬化患者 5 例), 解冻后, 直接用取样器取样, 取样量可达到纳升级<sup>[3]</sup>。选取正离子模式, 采用 SDAPCI-MS (图 1), 对样品进行快速分析, 获取样品的一级质谱指纹谱图, 如图 2 所示。在小分子区间内, SDAPCI-MS 能获取血清中较丰富

收稿日期: 2011-09-16

作者简介: 鄢飞燕 (1987-), 女, 汉, 江西, 硕士

通讯作者: 丁健桦 (1968-), 女, 汉, 江西, 博士

的信息,主要是由于SDAPCI-MS有利于物体表面的解吸<sup>[10]</sup>。对比肝硬化组及对照组的指纹谱图表明,两类血清样品所含化学信息基本相同,但也存在一定的差异。例如m/z80、94、180、212、450等分子离子峰丰度具有较明显差异,为进一步的多元统计主成分分析(PCA)提供了可靠数据。

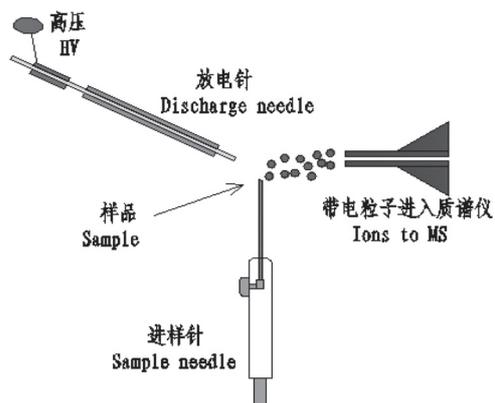


图1 表面解吸常压化学电离质谱检测纳升级血浆样品示意图  
Fig.1 Schematic illustration of SDAPCI-MS for rapid analysis of nanoliter of serum samples

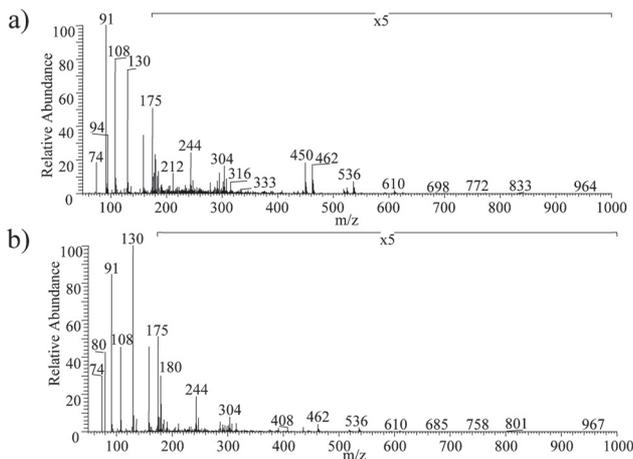


图2 SDAPCI-MS 检测血清样品的一级质谱指纹谱图  
(a) 肝硬化的一级质谱指纹谱图  
(b) 健康者的一级质谱指纹谱图

Fig.2 Fingerprint spectrum of serum samples using SDAP-MS

- (a) Fingerprint spectrum of serum sample of liver cirrhosis
- (b) Fingerprint spectrum of serum sample of healthy

## 2.2 血清样品质谱指纹主成分分析

将SDAPCI-MS所记录的血清样品的血清质谱指纹谱图的绝对丰度数据导出,并将数据整理为每行代表1个样本,每列代表1个质荷比(m/z)值的矩阵X。

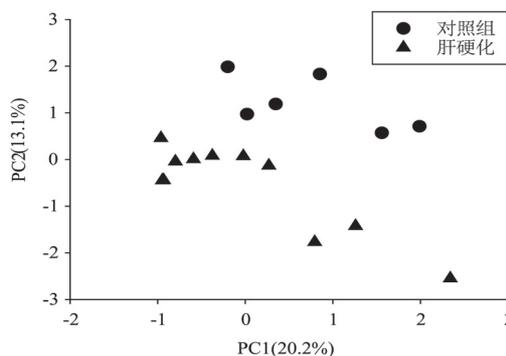


图3 SDAPCI-MS 检测血清样品的二维得分图

Fig.3 2D plots of PCA score results for ten serum samples detected by SDAPCI-MS

用Matlab Toolbox软件中的Princomp函数对矩阵X进行处理,得到PCA分析结果。如图3所示,肝硬化组和对照组分别落在不同的区域,得到有效的区分,说明肝硬化与正常人之间代谢存在特定差异,使两组样品中的一些蛋白及其代谢产物等的含量不同。但起主要区分的PCA得分值均不高( $\leq 21\%$ ),可能是由于人体代谢的组成基本一致,所检测到的化学信息基本相同,差异很小。

## 3 结论

本研究结果表明,SDAPCI-MS技术血清分析是一种直接(无需样品预处理)、快速、灵敏度高的检测方法,耦合微量进样器,需样量低至纳升级,并期望耦合PCA方法,建立肝硬化预测数学模型,最终成为肝硬化早期诊断普查的辅助手段。

## 参考文献

- [1] 刘池波,潘春琴,孙灵芬,梁勇. 中华检验医学杂志. 2006, 29(6):529-530
- [2] Don C. Rockey, Stephen H. Caldwell, Zachary D. Goodman, Rendon C. Nelson, et al. Hepatology. 2009, 49(3):1017-1044
- [3] Wang J, Yang S, Yan F, Liu Y, et al. Chin. J. Anal. Chem., 2010, 38(4): 453-457
- [4] Chen H, Zheng J, Zhang X, Luo M, et al. J. Mass Spectrom., 2007, 42(8): 1045-1056
- [5] Yang S, Ding J, Zheng J, Hu B, et al. Anal. Chem., 2009, 81(7): 2426-2436
- [6] Wu Z, Chen H, Wang W, Jia B, et al. J. Agric. Food Chem., 2009, 57(20): 9356-9364
- [7] Chen H, Lai J, Zhou Y, Li J, et al. Chin. J. Anal. Chem., 2007, 35(8):1233-1235
- [8] Yang S, Chen H, Yang Y, Hu B, et al. Chin. J. Anal. Chem., 2009, 37(3): 315-318
- [9] Yang S, Hu B, Li J, Han J, et al. Chin. J. Anal. Chem., 2009, 37(5): 691-694
- [10] Chen H, Lai J, Zhou Y, Huan Y, et al. Chin. J. Anal. Chem., 2007, 35(8): 1233-1240