

多胺检测技术及其在生物样品分析中的应用

石闯, 刘森*

(湖北工业大学生物工程与食品学院, 教育部发酵工程重点实验室/细胞调控与
分子药物“111”引智基地, 武汉 430068)

摘要: 人体内常见的多胺(polyamines, PAs)主要包括腐胺(putrescine, Put)、亚精胺(spermidine, Spd)、精胺(spermine, Spm)和乙酰化多胺(acetylpolyamines, Ac-PAs)。多胺水平的失调与多种癌症的发生和发展紧密相关, 因此多胺被认为是多种癌症的潜在生物标志物, 同时多胺的合成、分解途径也成为癌症治疗的重要靶点。随着多种检测技术被应用于生物样品中多胺的分析, 进一步验证了多胺在癌症筛查和临床诊断中的应用价值。本文简要综述了多胺检测技术及其在生物样品分析中的应用, 主要包括气相色谱、气相色谱-质谱、液相色谱以及液相色谱-质谱等, 此外, 还简单介绍了新兴的多胺检测技术。同时, 本文指出了生物样品中多胺的检测分析过程中存在的问题并给出了解决策略, 并指明了多胺检测技术发展的方向, 以期多胺检测技术的研究和在癌症的早期筛查和临床诊断中的应用提供一定的参考。

关键词: 多胺; 多胺代谢物; 多胺检测

Technologies for polyamines detection and their applications in biological samples analysis

SHI Chuang, LIU Sen*

(Key Laboratory of Fermentation Engineering of Ministry of Education & National “111”
Center for Cellular Regulation and Molecular Pharmaceutics, School of Bioengineering and Food,
Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China)

Abstract: The ubiquitously existed polyamines (PAs) in human body mainly include putrescine, spermidine, spermine and acetylpolyamines. Dysregulations of polyamines levels are closely related to the occurrence and development of many human cancers. Therefore, not only polyamines were prevalently regarded as potential biomarkers for a variety of cancers, but also the synthesis and catabolism pathway of polyamines was considered as the important target for cancer treatment. With lots of techniques have been applied to the determination of polyamines, the application value of polyamines in cancer screening and clinical diagnosis was furtherly confirmed. This paper concisely reviewed the detection technologies of polyamines and their applications in biological samples analysis, which mainly include gas chromatography, gas chromatography-mass spectrometry, liquid chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry, and also briefly introduced the progresses of recently emerged polyamine detection technologies. Meanwhile, this work pointed out the limitations in the detection and analysis of polyamines in biological samples, and proposed

收稿日期: 2021-10-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(31971150); 湖北省杰出青年基金项目(2019CFA069)

第一作者: E-mail: 101900389@hbut.edu.cn

*通信作者: E-mail: senliu.ctgu@gmail.com

corresponding solutions that demonstrated the direction for the development of polyamine detection technologies. Finally, we hope to provide some references for the research of polyamine detection and their applications in the early screening and clinical diagnosis of cancers.

Key Words: polyamines; polyamines metabolites; polyamines detection

世界卫生组织(WHO)发布的《2020年世界癌症报告》指出,在未来的二十年中,全世界的癌症病例数可能会增加60%^[1]。在我国,随着罹患各种癌症的人口数量逐年攀升,癌症逐渐成为导致30~69岁人群死亡的首要原因。死亡病例数排名前五的癌症分别为肺癌、肝癌、胃癌、结直肠癌、乳腺癌^[2]。而对于这些癌症,目前还没有或很少有有效的筛查和诊断方法。因此,急需有效的筛查和诊断方法来减少癌症造成的影响。

多胺是哺乳动物体内广泛存在的一类含多个氨基和(或)亚氨基的烷基链阳离子,参与细胞增殖和凋亡、核酸和蛋白质的合成、细胞信号传导等多种生理过程并发挥重要的作用^[3]。研究发现,在完成从健康细胞到肿瘤细胞的转变后,肿瘤细胞增殖速度明显加快,多胺合成和积累显著增加^[4]。因此,细胞内多胺水平的上升通常被认为是肿瘤发生的标志^[5]。

将多胺作为一种癌症早期筛查和诊断的生物标志物已经有了广泛而深入的研究^[6-9]。Xu等^[10]发现,癌症患者血样中的腐胺、亚精胺和精胺水平均明显高于健康人,而且不同的癌症患者血样中多胺水平的变化趋势不同,表明不同的多胺可能是不同肿瘤的生物标志物。因此,开发出简单有效的检测方法来分析生物样品中的多胺对于癌症的早期筛查和诊断是很有意义的。本文简要综述了多胺检测技术的研究进展及其在生物样品分析中的应用,以期多胺应用于癌症的早期筛查和诊断提供一定的参考。

1 多胺

1.1 多胺的合成和分解代谢

多胺的生物合成起始于腐胺,通常以鸟氨酸(Ornithine, Orn)或精氨酸(Arginine, Arg)为底物合成腐胺^[11]。腐胺在亚精胺合成酶(spermidine synthase, SPDS)的作用下生成亚精胺,进一步在

精胺合成酶(spermine synthase, SPMS)的作用下生成精胺。脱羧S-腺苷甲硫氨酸(decarboxylated S-adenosylmethionine, dcAdoMet)也参与其中,为亚精胺和精胺的合成提供氨丙基(aminopropyl),而自身被还原为甲硫腺苷(methylthioadenosine, MTA)。在多胺的分解代谢过程中,亚精胺/精胺-乙酰基转移酶(spermidine/spermine-acetyltransferase, SSAT)可分别催化亚精胺和精胺转化为乙酰化亚精胺/精胺(acetyl-spermidine/spermine, Ac-Spd/Spm)和二乙酰化亚精胺/精胺(diacetyl-spermidine/spermine, DiAc-Spd/Spm),接下来在多胺氧化酶(polyamines oxidase, PAOX)催化下分别转化为腐胺和亚精胺。此外,腐胺还可在二胺氧化酶(diamines oxidase, DAO)的催化下生成 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid),精胺还可在PAOX催化下直接转化为亚精胺,并生成活性氧(H_2O_2)。多胺的合成和分解代谢过程如图1所示。

1.2 多胺与癌症

多胺水平失调与癌症的发生密切相关。肿瘤生长早期多胺合成酶活性增强,多胺水平明显升高。在乳腺癌、结直肠癌和肺癌等癌细胞中都发现由于生物合成增强而引起的多胺水平升高^[12]。多胺在癌细胞死亡和增殖中起重要作用。Igarashi等^[13]的研究表明,多胺通过影响结直肠癌细胞生长增殖、细胞凋亡过程和肿瘤相关基因的表达来发挥对结直肠癌细胞的调控作用。同时,多胺还可以增强肿瘤的恶性程度和癌细胞的转移、侵袭能力,降低免疫细胞的抗肿瘤免疫功能。多胺可能作为癌症早期筛查和诊断的指标:在多种癌症患者的体液、尿液、血液血浆中多胺水平均有不同程度的升高,表明多胺有可能作为癌症早期筛查和诊断的指标^[14,15]。

多胺合成及分解代谢与癌症的发生、发展密切相关。Du等^[16]发现,精氨酸分解代谢产物(鸟氨酸、多胺等)与结直肠癌的发生发展密切相关,一

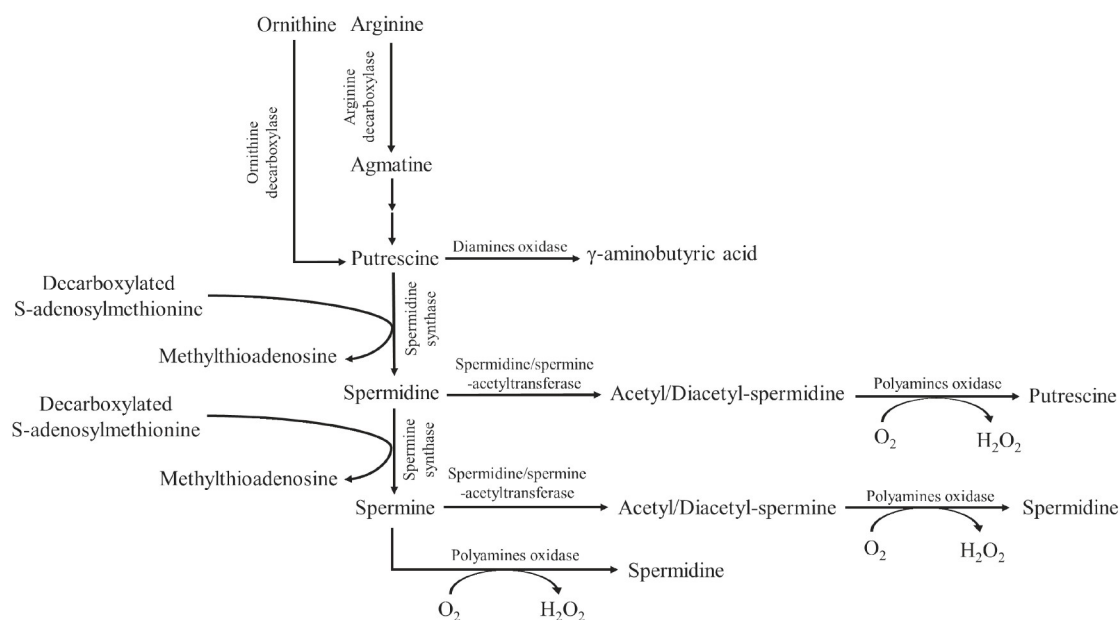


图1 多胺的合成和分解代谢通路图

旦精氨酸代谢失调,就极易引发结直肠癌。多胺合成和分解代谢可能是癌症治疗的靶点。当乳腺癌患者经过靶向多胺合成及分解代谢的化学药物治疗后,尿液中多胺水平明显下降或恢复正常,表明通过抑制多胺合成及分解代谢可以有效抑制肿瘤生长或达到治疗癌症的目的^[17]。有研究表明,多胺可以作为乳腺癌、肺癌、结直肠癌、前列腺癌等多种癌症发生和发展预测的有效指标^[18-21]。因此,多胺常被认为是癌症发生和发展的生物标志物。

2 多胺检测技术及在生物样品分析中的应用

多胺分子中没有发色基团,因而无紫外吸收和发射荧光。通常需要采用具有紫外吸收基团或强发射荧光的物质对多胺进行衍生化后再检测;也可以不经衍生化而直接检测多胺水平,但应用不多。如Häkkinen等^[22]建立了一种以氘标记的多胺作为内标而不需要衍生的液相色谱-质谱法来检测人尿液中的游离多胺。

2.1 预处理方法

生物样品的预处理方法主要有液-液萃取法(liquid-liquid extraction, LLE)^[23]、固相萃取法(solid-phase extraction, SPE)、固相微萃取法(solid-phase microextraction, SPME)^[24]、电膜萃取法

(electromembrane extraction, EME)^[25]、中空纤维液相微萃取(hollow fiber-liquid phase extraction, HF-LPME)、磁固相萃取法(magnetic solid phase extraction, MSPE)等,不同的预处理方法配合不同的检测方法从而实现对样品中多胺的灵敏、准确检测。

2.2 多胺检测方法

生物样品中的多胺常用的检测方法主要有以下几种:酶联免疫吸附测定法(enzymes linked immunosorbent assay, ELISA)、气相色谱法(gas chromatography, GC)、气相色谱-质谱联用法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、液相色谱-质谱法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)等。检测方式主要包括紫外吸收、发射荧光、化学发光、电化学和质谱等。

2.2.1 酶联免疫吸附法

酶联免疫吸附法是将酶标记的抗体或抗原结合于固相载体上,然后加入底物使酶显色,从而实现相应的抗体或抗原的检测。Matsuoka等^[26]利用抗DiAcSpd、DiAcSpm多克隆抗体检测了癌症患者尿液中的N₁,N₈-DiAcSpd和N₁,N₁₂-DiAcSpm。虽然此方法检测速度快,具有很好的特异性,但是由

于定量准确性较差以及对检测样品的纯度要求高等缺点,已很少被使用。

2.2.2 免疫层析法

免疫层析法利用抗原与抗体的特异性结合作用达到检测目的,具有操作简易、反应迅速和高特异性等特点,适用于临场检测。Moriya等^[27]研发了一种检测癌症患者尿液中DiAcSpm的免疫层析技术,尿液中游离的DiAcSpm与DiAcSpm抗体特异性结合而使DiAcSpm复合物显色强度下降,并由此计算DiAcSpm含量。检测结果发现,早期癌症患者尿液中的多胺水平明显升高,提示快速准确的检测多胺将有助于癌症的早期诊断和治疗。但由于对金纳米颗粒以及抗体的稳定性要求较高,定量准确性较差,此方法已被气相色谱、液相色谱等高精密的仪器分析方法取代。

2.2.3 气相色谱法

气相色谱法利用载气载送样品经过固定相,使各组分分离并对其进行检测。进入气相色谱的所有物质都必须以气态形式存在,因此适用于分析易于挥发、热稳定性好、中小相对分子质量的化合物。Hanff等^[28]应用气相色谱检测了尿液中的多胺水平,结果准确性与液相色谱法相当。由于检测条件的限制,气相色谱法在多胺检测中的应用远少于液相色谱法。

2.2.4 气相色谱-质谱法

气相色谱-质谱利用气相色谱对样品进行分离,通过质谱对样品中挥发性好、热稳定性好、极性小的组分进行快速准确的分析。Yu等^[29]优化了通过二维气相色谱-三重四极杆质谱仪(GC×GC-qMS)分析肿瘤细胞、组织提取物和肿瘤患者尿液中多胺(Put、Cad、Spd、Spm)的方法,不仅提高了分离效果,而且达到了飞摩尔(femtomolar)灵敏度,广泛应用于肿瘤相关样品中多胺的检测分析。Casas等^[30]采用氯甲酸乙酯对多胺进行水相衍生,通过气相色谱-质谱仪检测了癌症患者(肺癌、

肝癌)和健康个体尿液中的多胺(Put、Cad、Spd、Spm)水平。结果发现,癌症患者和健康个体尿液中的腐胺和亚精胺水平差异显著,提示了该方法有望应用于癌症患者的早期筛查和诊断。

2.2.5 高效液相色谱法

高效液相色谱利用流动相输送样品到色谱柱中进行分离,然后进入检测器检测,具有分析速度快、定量准确度高等特点。常用的检测器有紫外/可见光检测器(ultra violet/visible detector, UV/Vis)、荧光检测器(fluorescence detector, FLD)、化学发光检测器(chemiluminescence detector, CLD)等。当样品在色谱柱中进行分离之后,可采用不同的检测器,以适应不同生物样品的分析。

利用多胺与衍生化试剂反应能够产生紫外/可见光吸收,选择紫外/可见光检测器来检测,此方法具有适用范围广、灵敏度高等优点。常用的衍生化试剂有苯甲酰氯(benzoyl chloride, BZ-Cl)、对甲苯磺酰氯(p-Toluenesulfonyl chloride, TsCl)、二甲氨基苯基偶氮苯磺酰氯(Dabsyl chloride, DABS-Cl)等(表1)^[31]。

Balcerzak等^[32]利用支撑液膜技术(supporting liquid membrane, SLM)对TsCl衍生的多胺进行萃取,通过高效液相色谱-紫外/可见光检测器来检测甲状腺癌症患者和健康人血液和尿液中的多胺水平。实验发现,肿瘤患者血液及尿液中多胺水平明显高于健康人,肿瘤组织中多胺水平也明显高于健康组织,说明多胺水平失调与肿瘤发生密切相关。此方法具有提取程序简单、多胺富集程度高等优点,而且避免了传统的细针穿刺取样损伤,有望成为有效的临床诊断工具。

利用多胺与荧光衍生化试剂反应得到多胺的荧光衍生物,然后通过荧光检测器进行检测。相较于紫外-可见光检测法,荧光法具有更高的灵敏度,最小检测量可达1 013 g,因此,特别适合痕量分析。此外,荧光检测器具有高度的特异性,可

表1 不同的多胺紫外/可见光衍生化试剂比较

衍生化试剂	内标物	紫外/可见光检测波长	检测限
BZ-Cl	1,7-二胺基庚烷	238 nm	200 nmol
TsCl	1,10-二胺基癸烷	254 nm	NA
DABS-Cl	1,3-二胺基丙烷	436 nm	0.02 nmol

以有效避免不发荧光的物质或成分的干扰。多胺荧光法检测常用的衍生化试剂有丹磺酰氯(dansyl chloride, DNS-Cl)、邻苯二甲醛(o-phthalaldehyde, OPA)^[33]、9-芴甲基氯甲酸酯(9-fluorenylmethyl Chloroformate, FMOC-Cl)^[34]和荧光胺(fluorescamine, FA)等(表2)。

表2 不同的多胺荧光衍生化试剂比较

衍生化试剂	激发波长(nm)	发射波长(nm)	检测限
DNS-Cl	350~370 nm	490~540 nm	0.08 pmol
FMOC-Cl	260 nm	310 nm	0.03 pmol
OPA	340 nm	455 nm	0.40 pmol
FA	390 nm	475 nm	1.00 pmol

Provenzano等^[35]开发了一种以OPA($\lambda_{\text{ex}}=330$ nm, $\lambda_{\text{em}}=445$ nm)为衍生化试剂, 通过反相高效液相色谱-荧光检测器测定癌细胞及体液中多胺(Put、Cad、Spd、Spm)水平的方法。在两种黑色素瘤(human melanoma, HME)细胞系及体液多胺水平的检测中发现, 在HME细胞中检测不到Put和Cad, 而Spd和Spm水平明显高于正常细胞, 同时患者体液中的Spd和Spm水平有明显的升高。而多胺在HME细胞的增殖和分化过程中发挥着重要的作用, 说明多胺水平可能作为评估抑制肿瘤细胞增殖和分化的新药抗肿瘤活性指标。

2.2.6 液相色谱-质谱联用法

液相色谱-质谱联用法将色谱和质谱结合, 实现样品的高效分离和目标分析物高精度、高选择性的定性分析和定量检测, 有效提高了样品检测的准确性和可靠性。

Venäläinen等^[36]选择氘代多胺为内标物, 通过液相色谱-串联电喷雾质谱(LC-MS/MS)对结直肠癌患者(colorectal cancer, CRC)、炎症性肠病患者(inflammatory bowel disease, IBD)、腺瘤患者和对照组尿液中的多胺进行了定量分析。结果发现, 在CRC患者尿液中 $\text{N}_1, \text{N}_{12}$ -DiAcSpm的水平明显高于对照组、IBD患者和腺瘤患者, 说明 $\text{N}_1, \text{N}_{12}$ -DiAcSpm在CRC患者尿液中更具有特异性, 可能是CRC的一种潜在的生物标志物。同时, 这也预示着尿液中的多胺水平可能作为鉴别CRC患者的一种有效的指标, 对于实现CRC患者在早期癌症筛查和诊断中的最大参与率、降低CRC患者的死亡率有重大意义。

Tsutsui等^[37]通过超高效液相色谱-串联电喷雾质谱(UPLC-MS/MS)测定了初发、复发性乳腺癌患者和健康志愿者唾液中的多胺水平。结果发现, 初发性乳腺癌患者唾液中乙酰化多胺水平明显升高, 此外, 三种多胺(AcSpm、DiacSpd、DiacSpm)水平在复发患者中也显著升高。结果表明, 唾液中的多胺水平可能作为初发性乳腺癌有效的非侵入性诊断指标, 同时可以作为乳腺癌治疗效果和复发的评价指标。

Fahrman等^[38]采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)测定了不同亚型的乳腺癌患者和健康人血浆中的多胺水平。结果在三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)患者血浆中, DiAcSpm水平明显升高, 并且与肿瘤转移、侵袭风险增加呈正相关, 同时患者总体生存期也明显缩短。此外, 代谢组研究发现, 血浆中DiAcSpm是TNBC进展和转移的预测标记物, 提示DiAcSpm不仅可以预测TNBC进展和转移, 而且通过调控DiAcSpm水平可以有效地抑制乳腺癌的转移, 降低侵袭风险, 延长患者总体生存期。

Min等^[39]用4-(N, N-二甲氨基磺酰基)-7-氟-2,1,3-苯并噁[4-(N,N-dimethylaminosulfonyl)-7-fluoro-2,1,3-benzoxadiazole, DBD-F]对多胺进行衍生, 通过液相色谱-串联电喷雾质谱(LC-MS/MS)对肺癌患者和健康人指甲中的多胺进行了定量分析。结果发现, 肺癌患者指甲中的 N_1 -AcPut和Put含量分别是健康人的3.10倍和2.56倍。同时数据分析发现, 指甲中精胺的浓度与肺癌患病风险呈正相关, 说明指甲中的多胺有望成为非侵入性辅助肺癌诊断的有效指标。

Qin等^[40]选用N-羟基琥珀酰亚胺酯化的 C_{60} (N-hydroxysuccinimide ester functionalized C_{60} , NHS- C_{60})对多胺进行标记, 通过基质辅助激光解吸离子化质谱(matrix-assisted laser desorption ionization-mass spectrometry, MALDI-MS)测定了HeLa、293T、HL-7702和HepG2等人源肿瘤细胞裂解液中的多胺, 结果表现出良好的准确性和稳定性。这说明NHS- C_{60} 标记结合MALDI-MS策略可用于肿瘤细胞裂解液中多胺的检测, 可以有助于肿瘤中多胺生理功能的研究。

多胺可能是多种癌症、疾病早期筛查和诊断

的生物标志物。结合液相色谱和质谱等方法来快速、高效地检测不同生物样品中的多胺,可以有效地反映癌症等疾病的发生和进展情况,有效地避免侵入性诊断程序造成的损伤,助力癌症的早期筛查和诊断。

2.3 多胺检测方法的比较

依据不同的原理,配合不同的样品预处理及富集方式,不同的多胺检测方法都可以很好地运用在生物样品中多胺的检测分析中。不同的方法适用于不同的样品类型,也各有优缺点,而且不同方法所得的结果难以进行横向比较、分析。因此,需要对不同的检测方法进行综合比较,为多胺检测结果的横向比较和方法的体系化、统一化提供一定程度的参考,结果见表3。

3 新兴方法

近年来,研究人员越来越注意到多胺代谢异常在癌症发生、发展中的重要作用。多种利用新原理、新技术的方法被开发出来,为多胺的检测提供了更多的可能。

(1)抗体依赖性检测法。抗体依赖性检测技术已经被运用到生物样品多胺的检测中。Takahashi等^[42]利用抗DiAcSpm的单克隆抗体定量了非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者及健康人尿液中的DiAcSpm水平。他们的研究发现,NSCLC患者尿液中DiAcSpm水平显著高于健康人群。与此同时,尿液中的DiAcSpm水平与肿瘤大小、病理分级等呈正相关,还可以有效预测NSCLC患者肿瘤切除的预后不良。这预示,尿液中的DiAcSpm可以作为肿瘤早期诊断的有效生物标志物,并在肿瘤切除预后评估中发挥重要作用。

(2)磁共振波谱法(nuclear magnetic resonance, NMR)。NMR利用高强度磁场使原子核吸收能量发生能级跃迁,由此产生的共振波谱用于分子结构的分析,常被运用于解析和研究生物大分子的结构和功能。Patin等^[43]在利用NMR分析肌萎缩性侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)代谢组改变的过程中,发现ALS患者血液中精氨酸分解代谢异常,代谢产物多胺(Put、Spd和Spm)水平显著升高。这证明精氨酸分解代谢异常与ALS的发生密

切相关,精氨酸分解代谢途径可能成为新的ALS治疗靶点。

(3)比色和荧光检测法。除去传统的高效液相-荧光检测法之外,一些基于新原理的比色和荧光法也被开发了出来。Tian等^[44]开发了一种基于茈萘类荧光指示剂、 γ -环糊精(γ -cyclodextrin, γ -CD)和葫芦脲^[7](cucurbituril^[7], CB^[7])之间的多分子拮抗/协同作用的比色/荧光检测法来检测癌症患者和健康人群尿液中的多胺水平。实验发现,固体肿瘤(solid tumor, ST)和血液肿瘤(blood tumor, BT)中的亚精胺和精胺的水平明显上升。结果说明,基于准分子荧光强度的可见光/荧光法可以对生物样品中的多胺水平进行快速、有效的检测。

(4)纳米粒子聚集法。Kuo等^[45]建立了利用银-金/氯化银(Ag-Au/AgCl)纳米粒子检测精胺的方法。精胺抑制了Ag-Au/AgCl纳米粒子的拟酶活性,从而构建了尿液中精胺与纳米粒子拟酶活性的线性关系,用于方便、快速地检测尿液中的精胺水平。

(5)生物传感器法。Prylutskyi等^[46]利用纳米氧化锌制备了含亚精胺和精胺抗体的生物传感器(λ_{em} =380 nm),用于检测乳腺癌细胞系MCF-7细胞冻干样品中的亚精胺和精胺水平。由于纳米颗粒的发光强度较高,此方法可以检测的细胞数在100~100 000个/mL之间,并且在10.0~100.0 ng/mL范围内呈现良好的线性关系。这说明利用纳米氧化锌的生物传感器在细胞冻干样品多胺的水平检测中具有一定的应用价值。

此外,基于其他新原理的检测技术由于成熟性和稳定性不足等原因,还没有被运用于多胺的检测中。

4 总结与展望

多胺代谢途径异常与多种癌症的发生、发展密切相关。准确定量分析生物样品(包括头发、指甲、尿液、唾液、血液、血浆以及健康组织、肿瘤组织)中的多胺不仅有助于了解生物体的多胺代谢过程,而且对癌症的早期筛查和临床诊断具有指导意义,因此一直受到研究人员的高度关注。

随着研究的不断深入,各种基于新原理、技术的多胺分析检测技术也不断涌现,为更准确地

表3 不同的多胺检测方法比较

样品类型	预处理方式	分析方法	多胺种类	检测限	定量限	线性范围	参考文献
尿液	LLE	UHPLC-MS/MS	9种多胺及5种代谢物	NA	NA	NA	[10]
	氯甲酸丙酯、SPME	GC-QqQ-MS	7种多胺	NA	0.01 µg/mL	0.01~10.0 µg/mL	[24]
	EME	电容耦合非接触电导检测	4种多胺	1.4~7.0 ng/mL	4.7~23.3 ng/mL	0.20 µg/mL~0.10 mg/mL	[25]
	抗DiAcSpm多克隆抗体处理	ELISA	DiAcSpd、DiAcSpm	NA	NA	4.53~145.00 nmol/L	[26]
	氯甲酸乙酯、原位水相衍生	GC-MS	3种多胺和2种代谢物	NA	0.17~9.0 µg/L	0.17~40.0 µg/L	[30]
	DNS-Cl衍生、twostepLLE	LC-MS/MS	13种多胺和6种代谢物	0.01~22.14 nmol/L	0.03~73.81 nmol/L	68.8~3442.3 nmol/L	[31]
	SLME	HPLC	4种多胺	NA	NA	NA	[32]
唾液	同位素标记	UHPLC-ESI-MS/MS	7种多胺	55~55 000 pmol/L	100~100000 pmol/L	50~1000 nmol/L	[41]
	同位素标记、SME	MSI-CE-MS/MS	7种多胺	2.9~21.0 nmol/L	9.7~70.7 nmol/L	0.1~1 000.0 µmol/L	[13]
	DBD-F衍生、LLE	UPLC-MS/MS	8种多胺	NA	NA	0~18.0 nmol/L	[15]
	同位素标记、LLE	CE-LC-MS/MS	6种多胺	NA	NA	NA	[18]
	SPME	LC-MS/MS	14种多胺	NA	0.8~71.4 fmol	5.0~10000 nmol/L	[22]
血清	DBD-F衍生、LLE	UPLC-MS/MS	11种多胺	9.0~43.0 amol/L	NA	1.0~1 000.0 fmol/L	[37]
	DNS-Cl衍生、LLE	HPLC-FD	亚精胺、精胺	0.01 mg/L	NA	NA	[23]
	同位素标记、LLE	GC-MS	腐胺、亚精胺	NA	NA	NA	[28]
	DNS-Cl衍生、twostepLLE	LC-MS/MS	13种多胺和6种代谢物	0.01~22.14 nmol/L	0.03~73.81 nmol/L	68.8~3442.3 nmol/L	[31]
血液	同位素标记	UHPLC-ESI-MS/MS	7种多胺	55~55 000 pmol/L	100~100000 pmol/L	50~1 000 nmol/L	[41]
	SLME	HPLC	4种多胺	NA	NA	NA	[32]
血浆	氘标记、LLE	UHPLC/Orbitrap	7种多胺及5种代谢物	0.109~7.421 ng/mL	0.382~25 ng/mL	0.382~279.3 ng/mL	[9]
	LLE	UHPLC-MS/MS	9种多胺及5种代谢物	NA	NA	NA	[10]
细胞裂解液	LLE	MALDIMS	Put、Cad、Spd、Spm	0.21~0.45 pmol/L	0.68~1.48 pmol/L	3.5~150.0 mmol/L	[40]
手指甲	LLE	UPLC-ESI-MS/MS	DiAc-Spd、DiAc-Spm	5~10 pg/mL	NA	0.04~10 ng/mL	[39]
组织材料	同位素标记、LLE	2D-GCxGC-qMS	Put、Cad、Spd、nor-Spd、Spm	140~670 fmol/L	NA	NA	[29]
	同位素标记	UHPLC-ESI-MS/MS	7种多胺	55~55 000 pmol/L	100~100000 pmol/L	50~1 000 nmol/L	[41]

检测分析多胺提供了新的可能。但在生物样品中多胺的检测分析过程中仍存在很多的问题和制约因素：(1)多胺的衍生化处理可以显著提高检测的灵敏度，但是受到生物基质中干扰物的影响，会引起较大的定量误差；(2)不同的检测方法各有特点，不同方法所得的结果难以进行横向比较；(3)部分新颖的分析方法需要高级仪器、设备，并且技术操作复杂，其可靠性和准确性也难以进行验证，无法进行使用和推广。

基于当前生物样品中多胺检测技术的研究进展，可从以下方面进行改善：(1)根据不同生物样品选用合适的前处理方法以减少基质效应；(2)对不同的生物样品，寻找特异性更强的衍生化试剂；(3)进一步改进和发展新兴检测技术，如使用纳升色谱、二维色谱进样，为多胺的检测提供新的技术支持。

随着样品前处理方法的完善，新的特异性衍生化试剂的发现，生物样品中的多胺检测分析越来越有可能成为不同疾病的早期筛查和临床诊的高效方法，并应用于疾病的筛选和诊断过程中。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249
- [2] 邓大君. 《世界癌症报告》2020版问世—调整癌症预防对策适应癌症流行新趋势. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2020, 6(3): 27-32
- [3] Pegg AE. Functions of polyamines in mammals. *J Biol Chem*, 2016, 291(29): 14904-14912
- [4] Damiani E, Wallace HM. Polyamines and cancer. *Methods Mol Biol*, 2018, 1694: 469-488
- [5] McNamara KM, Gobert AP, Wilson KT. The role of polyamines in gastric cancer. *Oncogene*, 2021, 40(26): 4399-4412
- [6] Hu L, Gao Y, Cao Y, et al. Identification of arginine and its "downstream" molecules as potential markers of breast cancer. *IUBMB Life*, 2016, 68(10): 817-822
- [7] Ploskonos MV. Polyamines of biological fluids of the body and the diagnostic value of their determination in clinical and laboratory researches (review of literature). *Klin lab diagn*, 2021, 66(4): 197-204
- [8] Coradduzza D, Azara E, Medici S, et al. A preliminary study procedure for detection of polyamines in plasma samples as a potential diagnostic tool in prostate cancer. *J Chromatography B*, 2021, 1162: 122468
- [9] Saiki S, Sasazawa Y, Fujimaki M, et al. A metabolic profile of polyamines in parkinson disease: a promising biomarker. *Ann Neurol*, 2019, 86(2): 251-263
- [10] Xu H, Liu R, He B, et al. Polyamine metabolites profiling for characterization of lung and liver cancer using an LC-tandem MS method with multiple statistical data mining strategies: discovering potential cancer biomarkers in human plasma and urine. *Molecules*, 2016, 21(8): 1040-1050
- [11] Murray-Stewart TR, Woster PM, Casero Jr RA. Targeting polyamine metabolism for cancer therapy and prevention. *Biochem J*, 2016, 473(19): 2937-2953
- [12] Bax C, Lotesoriere BJ, Sironi S, et al. Review and comparison of cancer biomarker trends in urine as a basis for new diagnostic pathways. *Cancers*, 2019, 11(9): 1244-1285
- [13] Igarashi K, Ota S, Kaneko M, et al. High-throughput screening of salivary polyamine markers for discrimination of colorectal cancer by multisection injection capillary electrophoresis tandem mass spectrometry. *J Chromatography A*, 2021, 1652: 462355
- [14] Affronti HC, Rowsam AM, Pellerite AJ, et al. Pharmacological polyamine catabolism upregulation with methionine salvage pathway inhibition as an effective prostate cancer therapy. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 52-67
- [15] Takayama T, Tsutsui H, Shimizu I, et al. Diagnostic approach to breast cancer patients based on target metabolomics in saliva by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Clinica Chim Acta*, 2016, 452: 18-26
- [16] Du T, Han J. Arginine metabolism and its potential in treatment of colorectal cancer. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 658
- [17] Geck RC, Foley JR, Murray Stewart T, et al. Inhibition of the polyamine synthesis enzyme ornithine decarboxylase sensitizes triple-negative breast cancer cells to cytotoxic chemotherapy. *J Biol Chem*, 2020, 295(19): 6263-6277
- [18] Murata T, Yanagisawa T, Kurihara T, et al. Salivary metabolomics with alternative decision tree-based machine learning methods for breast cancer discrimination. *Breast Cancer Res Treat*, 2019, 177(3): 591-601
- [19] Cameron SJS, Lewis KE, Beckmann M, et al. The metabolomic detection of lung cancer biomarkers in sputum. *Lung Cancer*, 2016, 94: 88-95
- [20] Zhang T, Hu L, Tang JF, et al. Metformin inhibits the urea cycle and reduces putrescine generation in colorectal cancer cell lines. *Molecules*, 2021, 26(7): 1990-2009
- [21] Peng Q, Wong CYP, Cheuk IWY, et al. The emerging clinical role of spermine in prostate cancer. *Int J Mol Sci*,

- 2021, 22(9): 4382-4402
- [22] Häkkinen MR, Roine A, Auriola S, et al. Analysis of free, mono- and diacetylated polyamines from human urine by LC-MS/MS. *J Chromatography B*, 2013, 941: 81-89
- [23] 张伟健, 谢琪, 曾今诚, 等. 柱前衍生-高效液相色谱测定手足口病患者血清中多胺水平. *广东医科大学学报*, 2021, 39(1): 14-17
- [24] Naccarato A, Elliani R, Cavaliere B, et al. Development of a fast and simple gas chromatographic protocol based on the combined use of alkyl chloroformate and solid phase microextraction for the assay of polyamines in human urine. *J Chromatography A*, 2018, 1549: 1-13
- [25] Liu Y, Zhang X, Guo L, et al. Electromembrane extraction of salivary polyamines followed by capillary zone electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection. *Talanta*, 2014, 128: 386-392
- [26] Matsuoka A, Sakamoto T. Establishment of an ELISA system of N_1,N_{12} -diacetylspermine in human urine. *Rinsho Byori*, 2004, 52(4): 328-331
- [27] Moriya S, Hiramatsu K, Kimura E, et al. Construction of an immunochromatographic determination system for N^1 , N^{12} -diacetylspermine. *J Clin Lab Anal*, 2014, 28(6): 452-460
- [28] Hanff E, Bollenbach A, Beckmann B, et al. GC-MS measurement of spermidine and putrescine in serum of elderly subjects: intriguing association between spermidine and homoarginine. *Amino Acids*, 2020, 52(2): 225-234
- [29] Yu Z, Huang H, Zhang H, et al. Improved profiling of polyamines using two-dimensional gas chromatography mass spectrometry. *Talanta*, 2019, 199: 184-188
- [30] Casas Ferreira AM, Moreno Cordero B, Crisolino Pozas ÁP, et al. Use of microextraction by packed sorbents and gas chromatography-mass spectrometry for the determination of polyamines and related compounds in urine. *J Chromatography A*, 2016, 1444: 32-41
- [31] Samarra I, Ramos-Molina B, Queipo-Ortuño MI, et al. Gender-related differences on polyamine metabolome in liquid biopsies by a simple and sensitive two-step liquid-liquid extraction and LC-MS/MS. *Biomolecules*, 2019, 9 (12): 779-797
- [32] Balcerzak W, Pokajewicz K, Wiczorek PP. A useful procedure for detection of polyamines in biological samples as a potential diagnostic tool in cancer diagnosis. *Appl Cancer Res*, 2017, 37(1): 01-18
- [33] Lkhagva A, Shen CC, Leung YS, et al. Comparative study of five different amine-derivatization methods for metabolite analyses by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatography A*, 2020, 1610: 460536
- [34] Kaltenecker E, Prakashrao AS, Çiçek SS, et al. Development of an activity assay for characterizing deoxyhypusine synthase and its diverse reaction products. *FEBS Open Bio*, 2021, 11(1): 10-25
- [35] Provenzano B, Lentini A, Tatti R, et al. Evaluation of polyamines as marker of melanoma cell proliferation and differentiation by an improved high-performance liquid chromatographic method. *Amino Acids*, 2019, 51(10-12): 1623-1631
- [36] Venäläinen MK, Roine AN, Häkkinen MR, et al. Altered polyamine profiles in colorectal cancer. *Anticancer Res*, 2018, 38(6): 3601-3607
- [37] Tsutsui H, Mochizuki T, Inoue K, et al. High-throughput LC-MS/MS based simultaneous determination of polyamines including N-acetylated forms in human saliva and the diagnostic approach to breast cancer patients. *Anal Chem*, 2013, 85(24): 11835-11842
- [38] Fahrman JF, Vykoukal J, Fleury A, et al. Association between plasma diacetylspermine and tumor spermine synthase with outcome in triple-negative breast cancer. *JNCI-J Natl Cancer Institute*, 2020, 112(6): 607-616
- [39] Min JZ, Morota Y, Jiang YZ, et al. Rapid and sensitive determination of diacetylpolyamines in human fingernail by ultraperformance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Eur J Mass Spectrom (Chichester)*, 2014, 20(6): 477-486
- [40] Qin ZN, Yu QW, Zhou P, et al. C_{60} -based chemical labeling strategy for the determination of polyamines in biological samples using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Talanta*, 2021, 224: 121790
- [41] Su X, Li X, Wang H, et al. Simultaneous determination of methionine cycle metabolites, urea cycle intermediates and polyamines in serum, urine and intestinal tissue by using UHPLC-MS/MS. *Talanta*, 2021, 224: 121868
- [42] Takahashi Y, Horio H, Sakaguchi K, et al. Significant correlation between urinary N_1,N_{12} -diacetylspermine and tumor invasiveness in patients with clinical stage IA non-small cell lung cancer. *BMC Cancer*, 2015, 15(1): 65
- [43] Patin F, Corcia P, Vourc'h P, et al. Omics to explore amyotrophic lateral sclerosis evolution: the central role of arginine and proline metabolism. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(7): 5361-5374
- [44] Tian H, Yu X, Yao J, et al. Supramolecular spectral/visual detection of urinary polyamines through synergetic/competitive complexation with γ -CD and CB₇. *Chem Commun*, 2021, 57(14): 1806-1809
- [45] Kuo PC, Lien CW, Mao JY, et al. Detection of urinary spermine by using silver-gold/silver chloride nanozymes. *Anal Chim Acta*, 2018, 1009: 89-97
- [46] Prylutskyi MP, Starodub MF. Detection of polyamines using immunobiosensor based on zinc oxide nanoparticles. *Exp Oncol*, 2019, 41(4): 363