

中文題目：藉由基質輔助雷射脫附游離法偵測血紅素更精確地檢驗糞便潛血

英文題目：Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight

mass spectrometry for the detection of hemoglobins as

the protein biomarkers for fecal occult blood

作者：施翔耀<sup>1</sup> 林舒瑤<sup>2</sup> 羅麗華<sup>2</sup> 謝建台<sup>2,3</sup> 陳和瑟<sup>3,4</sup> 李易謙<sup>1,3</sup> 吳登強<sup>1,3,5</sup>

潘永生<sup>1\*</sup>

服務單位：高雄醫學大學附設中和紀念醫院 胃腸內科<sup>1</sup>

中山大學 化學系<sup>2</sup> 生醫所<sup>4</sup>

中山大學-高雄醫學大學跨校研究中心<sup>3</sup>

高雄醫學大學 健康科學院<sup>5</sup>

**前言：**藉由放射分析、物理、免疫化學或化學方法篩檢糞便潛血(fecal occult blood, 簡稱FOB)已經被認為是早期診斷大腸直腸癌最有效率的方法之一。在以上那些方法中，我們目前最常使用的是化學方法，尤其是癒瘡木基底檢驗(Guaiac-based test)，然而化學方法仍有耗費人力及可信度的問題。有些干擾會造成癒瘡木基底檢驗(Guaiac-based test)偽陽性的診斷，如含過氧化酶的藥物、含高濃度血基質/血紅素(heme/hemoglobin)的食物和含過氧化酶的蔬菜；而大劑量的維生素C可能會造成偽陰性結果。

目前所有的化學方法均是經由血紅素分子偽過氧化酶活性(Pseudo-peroxidase activity)間接偵測 FOB，而此方法可能會被存在過氧化酶活性的物質干擾。採用質譜儀(mass spectrometry)直接偵測糞便中的血紅素可避免此問題。我們採用的是基質輔助雷射脫附游離法(簡稱 MALDI-TOFMS)。本篇研究探討對傳統化學檢驗可能造成偽陽性或偽陰性的干擾，MALDI-TOFMS 是否有同樣的影響及在糞便檢體中可偵測到的最低血紅素濃度。

**材料及方法：**糞便和全血檢體來自十位沒有特殊食物限制的健康自願者，檢體被收集到後，立即保存在-80°C。100mg糞便檢體會和 1mL純水混合，離心後上清液會和MALDI基質(matrix)混合，之後經由脈衝氮雷射(pulsed nitrogen laser)脫附(desorption)和游離(ionization)。

所有用 MALDI-TOFMS 檢驗的糞便檢體也同時以二種傳統化學方法檢驗(pyridon 和 aminopyrine reagents (FOB))。

**結果：**為了分析人類糞便可偵測到離子的種類，我們研究了四位健康自願者的檢體(二位男性，二位女性)，之後用MALDI-TOFMS分析。由於糞便複雜的成份，我們預期質譜的結果應是複雜的，且我們沒有限制飲食，故檢體之間應會相當差異出現，但我們發現所有的質譜均是相當類似和簡單。

為了決定 MALDI-TOFMS 可偵測到的糞便中血紅素的最低值，我們用不同量的血液(10 to 100µL blood per 100mg of feces, or 10-0.01 weight%)來檢驗，用 10 和 1µL 的血液我們均可偵測到明顯的質譜尖峰；用 0.1µL 血液雖然沒有明顯的質譜尖峰，但 signal/noise(S/N) ratio 仍 $\geq 3$ 。

為了檢驗使用 MALDI-TOFMS 診斷糞便潛血的正確性，我們分析了四位已確診結腸直腸癌病人的糞便。用傳統化學方法，結果是三位陽性和一位陰性；用 MALDI-TOFMS 則是四位均為陽性。

**討論：**用 MALDI-TOFMS 分析是否有血紅素是另一種快速診斷糞便潛血的方法。過去用傳統化學方法可能會造成偽陽性和偽陰性的因素，並不會對質譜分析造成影響。用質譜分析糞便潛血的優點為 1) 高敏感性 2) 用做準備樣本的試劑沒有毒性 3) 收集檢體前不用限制食物 4) 高度自動化，可能可用來篩檢大量樣本。