

# 基于 MC-ICP-MS 的稳定铜同位素分析在环境健康研究中的应用进展

王伟超<sup>1,2</sup>, 张璐瑶<sup>2</sup>, 令伟博<sup>2</sup>, 陈子谷<sup>2</sup>, 陆达伟<sup>2</sup>,  
杨学志<sup>1</sup>, 傅建捷<sup>1,2</sup>, 刘倩<sup>2</sup>, 江桂斌<sup>1,2</sup>

(1. 国科大杭州高等研究院环境学院, 浙江 杭州 310024;

2. 中国科学院生态环境研究中心, 环境化学与生态毒理学国家重点实验室, 北京 100085)

**摘要:**铜(Cu)是人体内重要的微量金属元素之一,在许多生命过程中扮演着重要角色;同时,铜在人体内受到严格调控,其稳态与人体生理状态密切相关,许多疾病的发生往往伴随着铜代谢失衡的现象。通过监测铜稳态的细微变化,可以更精准地发现导致人体生理异常变化的因素,特别是环境因素对疾病发生及发展的影响。因此,稳定铜同位素分析在环境健康研究中具有广泛的应用前景。多接收器电感耦合等离子体质谱(MC-ICP-MS)是一种强大的同位素分析质谱方法,具有适用范围广、分析精度高等优点,有效促进了铜同位素分析的发展。本文综述了非传统稳定同位素分馏机理及基于 MC-ICP-MS 的铜同位素分析方法,总结了铜同位素分析在环境健康研究中的主要应用,并对其前景进行展望。

**关键词:**铜;稳定同位素;质谱分析;环境健康;多接收器电感耦合等离子体质谱(MC-ICP-MS)

中图分类号:O657.63

文献标志码:A

文章编号:1004-2997(2024)02-0183-10

doi:10.7538/zpxb.2023.0143

## Advances in the Application of Stable Copper Isotopic Analysis Based on MC-ICP-MS in Environmental Health Research

WANG Wei-chao<sup>1,2</sup>, ZHANG Lu-yao<sup>2</sup>, LING Wei-bo<sup>2</sup>, CHEN Zi-gu<sup>2</sup>, LU Da-wei<sup>2</sup>,  
YANG Xue-zhi<sup>1</sup>, FU Jian-jie<sup>1,2</sup>, LIU Qian<sup>2</sup>, JIANG Gui-bin<sup>1,2</sup>

(1. School of Environment, Hangzhou Institute for Advanced Study, UCAS, Hangzhou 310024, China;

2. State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

**Abstract:** Copper (Cu) is a crucial trace metal element in human body, which plays an important role in many life processes. Meanwhile, copper is strictly regulated in the human body and its homeostasis is closely related to the physiological state. The occurrences of many diseases are often accompanied by the copper imbalance. By monitoring the subtle variation in copper homeostasis, it can more accurately identify the factors that lead to abnormal changes in human physiology, especially the impact of environmental factors on the occurrence and development of diseases. In the past two decades,

with the development of analytical instruments and improvement of analytical methods, non-traditional stable isotopic analysis has been widely applied in geochemistry and archaeology. Owing to its strong traceability, non-traditional stable isotopic analysis can also provide a new perspective to reveal the mechanisms of element homeostasis imbalance. Especially, stable copper isotopic analysis has a wide application prospect in environmental health research. Because of the virtues of wide application range and high analytical accuracy, multi-collector inductively coupled plasma mass spectrometry (MC-ICP-MS) has effectively promoted the process of copper isotopic analysis. In this paper, we reviewed the mechanisms of non-traditional stable isotope fractionation and analysis methods of Cu isotopes based on MC-ICP-MS, and the basic conception of mass dependent fractionation (MDF) and non-mass dependent fractionation (MIF) as well as the instrumental configuration of MC-ICP-MS. We also introduced the methods of copper isotopic analysis, and then summarized the main applications of copper isotopic analysis in environmental health research. We focused on two aspects, i. e., Cu isotopic analysis of population characteristics and research on disease indicators. In summarizing the relevant researches of Cu isotopic analysis of population characteristics, we reviewed the influence factors, such as age, gender, dietary habits, and other factors. Afterwards, the studies of copper isotopic analysis on some diseases, such as cancers, nervous diseases, disorders of copper transporters, and other diseases were summarized. Finally, we discussed the application prospects of copper isotopic analysis in environmental health research. Until now, the application of stable copper isotopic analysis in environmental health is still in the initial stage, and there still exist many difficulties and challenges. We primarily list four main difficulties and challenges in future studies, including high-throughput sample analysis, background population investigation, combination of other clinical indicators, and combination of multiple omics techniques.

**Key words:** copper; stable isotope; mass spectrometry; environmental health; multi-collector inductively coupled plasma mass spectrometry (MC-ICP-MS)

同位素是指拥有相同质子数的一组原子, 由于所含的中子数不同, 这些原子的质量存在微小差异, 导致不同的同位素理化性质呈现细微差异, 进而影响其在自然界中的分布组成<sup>[1-3]</sup>。同位素可以分为稳定同位素和放射性同位素, 其中, 稳定同位素不易发生放射性衰变, 在自然界中能够稳定存在<sup>[4]</sup>。近 20 年来, 随着分析技术的发展以及分析方法的改进, 非传统稳定同位素分析(一般是指除碳、氮、氧、硫和氢 5 种传统稳定同位素外的元素)已广泛应用于地球化学、考古学等领域, 如矿床成因研究以及地质作用研究等<sup>[5-7]</sup>。依托其强大的溯源能力, 非传统稳定同位素技术可以提供新的视角来揭示元素稳态失衡机制, 在环境健康领域展现了较好的应用前景<sup>[8]</sup>。

非传统稳定同位素分析主要是通过多接收器电感耦合等离子体质谱仪 (MC-ICP-MS) 实现的。与其他同位素质谱仪(如稳定同位素质谱仪、热表面电离同位素质谱仪等)相比, MC-ICP-MS 具有离子化效率高、分析时间短、质量分辨率高及灵敏度高等优势, 是进行非传统稳定同位素高精度分析的首选仪器。目前, 非传统稳定同位素分析在环境健康研究中已经得到初步应用, 越来越多的研究报道了与多种人类疾病有关的同位素分馏现象, 探究其作为疾病诊断工具的潜在可能(如遗传性血色素沉着症中的铁同位素分馏现象<sup>[9]</sup>、骨质疏松中的钙同位素分馏现象<sup>[10]</sup>以及肿瘤疾病中的锌同位素分馏现象<sup>[11]</sup>等)。这些研究揭示了 MC-ICP-MS 在环境健康研究方面具有

较大的应用潜力。

铜(Cu)是生命体内一种重要的金属元素,主要以结合态的形式存在于组织和体液中<sup>[12]</sup>,在生命体内的许多生化过程中都扮演着重要角色,如细胞代谢及信号转导等<sup>[13-16]</sup>。人体中的Cu总含量在50~150 mg之间,受到人体的严格调控<sup>[17]</sup>。Cu稳态与人体生理状态密切相关,许多疾病的发生往往伴随着Cu代谢失衡。因此,通过监测Cu稳态的细微变化,可以更精准地发现疾病导致的人体生理异常变化。例如,癌症(如肝癌、膀胱癌、乳腺癌、结直肠癌、卵巢癌、恶性血液病和口腔鳞状细胞癌等)会导致患者体内的Cu稳态失衡<sup>[18-25]</sup>,从而导致Cu产生特定的同位素分馏效应。因此,通过研究疾病诱导的Cu同位素分馏效应,能够辨析导致Cu元素指标异常的原因、关键的生理过程和分子机制。

目前,运用稳定Cu同位素分析在环境健康层面上的研究还处于探索阶段<sup>[8]</sup>,主要聚焦于人群特征Cu同位素指纹,以及其作为疾病指示物的潜在可能,但相关的生理过程和分子机制仍有待进一步阐明。本文主要聚焦于人体层面上的Cu同位素组成变化,将从非传统稳定同位素分馏机理和分析方法,以及稳定Cu同位素分析在环境健康研究中的主要应用进行总结,并展望稳定Cu同位素分析在环境健康研究中的应用前景。

## 1 非传统稳定同位素分馏机理及分析方法

### 1.1 同位素分馏机理

由于质量数的不同,不同的同位素之间存在着细微的物理化学性质差异<sup>[1-2]</sup>。因此,在反应过程中,不同的同位素在不同的物质或物相中以不同的比例存在,被称为同位素分馏现象<sup>[2]</sup>。在自然界中,非传统稳定同位素分馏包括质量相关分馏(MDF)和非质量相关分馏(MIF)<sup>[26]</sup>。

**1.1.1 质量相关分馏** 质量相关分馏是指同位素在分馏过程中受到质量影响,还可以被细分为动力学分馏和热力学分馏。一般在反应未达到平衡之前,轻、重同位素由于反应速率不同而产生的分馏现象被称为动力学分馏<sup>[27]</sup>。如,

轻同位素由于反应速率比重同位素快,因此能够更快地从反应底物转移到反应产物中,从而导致反应产物中的同位素比值偏小。因热力学原因导致轻、重同位素发生重新分配,造成各化合物或物相中同位素组成的差异,被称为热力学分馏<sup>[28]</sup>,一般发生在已经达到平衡的反应体系中,此时两相之间的正逆反应速率相同。如,相比于轻同位素,重同位素更倾向于在更强的成键环境中富集(如更高的氧化态、更低的配位数以及更短的键长等)。

**1.1.2 非质量相关分馏** 在自然界中,大多数分馏过程都属于质量相关分馏,但仍存在一部分非质量相关分馏。非质量相关分馏是指分馏效应与质量差异无关,而与磁效应、核体积效应等因素有关的现象<sup>[26]</sup>。其中,核体积效应通常与较重的元素有关,由于不同的同位素体积与质量呈近似线性的关系,因此,部分核体积效应产生的非质量同位素分馏与质量仍存在一定的线性关系;而磁效应与同位素质量完全无关,只影响具有核自旋和磁矩的奇质量同位素。

由于同位素分馏效应的存在,不同来源的同位素特征指纹以及反应过程的特定同位素分馏信息能够被保留在同位素组分中,使基于非传统稳定同位素技术的溯源分析及过程示踪等工作得以开展。

### 1.2 非传统稳定同位素分析方法

非传统稳定同位素分析主要通过MC-ICP-MS来实现,示于图1。由于MC-ICP-MS具有分析时间短、离子化效率高、灵敏度高及质量分辨率高等优势,有效促进了非传统稳定同位素(如Cu等难电离的元素)分析技术的飞速发展<sup>[29]</sup>。

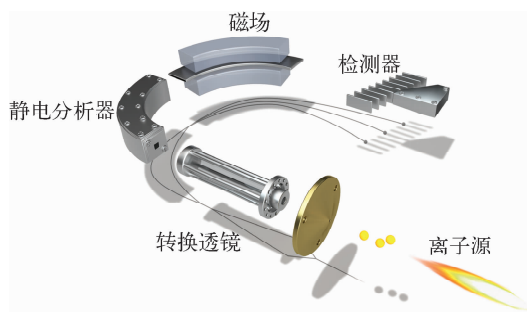


图1 MC-ICP-MS 仪器结构图<sup>[30]</sup>

Fig. 1 Structure diagram of MC-ICP-MS<sup>[30]</sup>

MC-ICP-MS主要包括:1)原子离子化。样品由进样系统进入离子源,通过电感耦合等离子体技术实现离子化;2)离子透镜聚焦。样品离子化后经过加速电压处理,通过离子透镜实现离子聚焦;3)静电分析器聚焦(electrostatic analyser, ESA)及磁场分离。离子进一步穿过狭缝并在ESA中再次聚焦,然后在磁场中完成不同同位素粒子的分离;4)法拉第杯检测。不同的同位素粒子经磁场分离后进入不同的法拉第杯离子检测器中进行检测。

在同位素分析中,一般采用 $\delta$ 值法表示同位素比值,即样品的同位素比值相对于标准品的同位素比值的千分偏差,计算公式如下(以Cu元素为例):

$$\delta^{65}\text{Cu} = \left( \frac{(^{65}\text{Cu}/^{63}\text{Cu})_{\text{sample}}}{(^{65}\text{Cu}/^{63}\text{Cu})_{\text{standard}}} - 1 \right) \times 1000\text{‰} \quad (1)$$

通常,标准品选择国际或国内统一规定的标准参考物质。目前,国际上公认的Cu同位素标准参考物质是NIST SRM976,不同实验室报道的Cu同位素比值基本都是通过与其进行对比获得的。但由于NIST SRM976已经停产,其他Cu元素标准参考物质被考虑作为替代标准品,如ERM-AE633和ERM-AE647。MC-ICP-MS在测试过程中容易产生质量歧视效应,需要进行质量歧视校正,常用的方法有标准-样品-标准交叉(SSB)法和内标法<sup>[29,31-32]</sup>。

## 2 稳定铜同位素分析在环境健康研究中的主要应用

由于人体样本(包括血液及组织样本)的获取相对受限,目前对人体样品中Cu同位素组成变化的研究相对较少。本文将从人群特征Cu同位素指纹,以及其作为疾病指示物的潜在可能2个角度展开讨论,阐述稳定Cu同位素分析在环境健康研究中的应用进展。

### 2.1 人群特征Cu同位素指纹研究

由于年龄、性别、居住地及饮食习惯等因素的影响,不同人群体内的Cu同位素指纹会存在一些细微的差异,探究这些因素对Cu同位素比值的影响有助于理解Cu在人体内的代谢转化。

随着年龄的增长,人体的各项身体机能和

新陈代谢会发生改变。例如,Cu元素会在人体内积累而导致血液中的Cu浓度升高<sup>[33]</sup>。Balter等<sup>[34]</sup>发现血液中的Cu同位素比值存在随年龄增加而下降的趋势;Heghe等<sup>[35]</sup>却持有另外的观点,认为年龄对Cu同位素比值的变化影响不大。需要注意的是,Heghe等的样品数量较少,结果有待进一步验证。

男性和女性的身体构造存在天然差异,其生理代谢水平也同样存在差异。如,经期可能会影响女性的Cu代谢,导致女性血液中的Cu同位素比值比男性的低。绝经女性和男性的铜同位素比值之间没有显著差异,这一现象印证了月经对Cu同位素比值变化的影响<sup>[36]</sup>。

不同地区的人可能存在较大的生活环境差异及饮食习惯差异<sup>[34]</sup>。人体内的Cu都是外源摄入的,饮食习惯的不同可能会影响人体内Cu的赋存状态,从而导致Cu同位素比值出现差异。Balter等<sup>[34]</sup>发现雅库特人和法国人血液中的Cu同位素比值存在差异,这可能与他们的饮食习惯差异有关(如雅库特人食用的肉类食品较多);此外,雅库特人生活在北极,严寒的环境使其体内的新陈代谢较快,从而导致Cu同位素比值发生变化。

### 2.2 疾病指示物相关研究

Cu稳态与人体生理状态密切相关,许多疾病的发生往往伴随着Cu代谢失衡的现象。因此,通过监测Cu稳态的细微变化,可以更精准地发现疾病导致的人体生理异常变化。目前,稳定Cu同位素分析应用在疾病指示物上的研究主要集中在癌症(如肝癌、膀胱癌等)、神经系统疾病、铜转运蛋白障碍疾病以及早产等疾病。

**2.2.1 癌症指示物** 癌症生物标志物在癌症诊断以及治疗干预等方面都非常重要。目前,癌症生物标志物的发现和建立基本都是基于特定化合物浓度来实现的<sup>[37]</sup>,容易受到非肿瘤因素的干扰,从而导致灵敏度低、特异性差、假阳性或假阴性结果<sup>[38]</sup>。因此,寻找能够提供独立于浓度信息维度的癌症生物标志物是非常必要的。

早在几十年前,Cu与癌症的关系就已经被广泛研究<sup>[39]</sup>。癌症的发生通常会导致血液中Cu浓度升高,这可能与癌症对Cu的需求增高

有关,如,肿瘤需要更多的 Cu 元素来促进血管生成、肿瘤生长和迁移侵袭。虽然关于癌症导致 Cu 代谢异常的研究很多,但主要集中在浓度层面,能够提供的机制信息有限。

稳定同位素分析能够提供新的研究视角来揭示疾病诱导的元素稳态失衡机制,因此,稳定 Cu 同位素分析逐渐被应用于癌症研究中。Balter 等<sup>[18]</sup>发现肝细胞癌(HCC)患者比正常人群血清和血细胞中的 Cu 同位素均较轻,并且相比于健康组织,HCC 患者肿瘤组织中的 Cu 同位素比值更高,推测 HCC 患者血液中的 Cu 代谢异常可能是由于体内 Cu 再分配导致的,富含半胱氨酸的蛋白质(如金属硫蛋白(MT))可能是其主要来源。该研究为检测和量化癌症 Cu 代谢变化提供了新手段,发挥了 Cu 同位素独特的溯源优势,为理解癌症中 Cu 代谢变化机制提供了新视角。类似的 Cu 同位素比值变化在膀胱癌、乳腺癌、结直肠癌、卵巢癌、恶性血液病、口腔鳞状细胞癌等癌症中发现,但是癌症患者与健康人群的 Cu 同位素比值区分度不高,仍然存在较大的重叠区域,这意味着依靠 Cu 同位素技术识别癌症的能力需要进一步提高。

Liu 等<sup>[19]</sup>通过构建机器学习模型,结合 Cu 指纹信息进一步提高了疾病识别能力。在对膀

胱癌研究中,发现血液中二维 Cu 指纹为膀胱癌诊断提供了潜在的工具,其中基于随机森林模型的机器学习方法在膀胱癌诊断中发挥了关键作用;此外,他们还针对膀胱癌相关的 Cu 失衡机制进行了探究,发现铜转运蛋白等相关因素可能是导致 Cu 失衡的关键因素,示于图 2。该研究将机器学习与同位素技术相结合,有望推动稳定同位素分析技术在临床诊断和环境健康中的应用。

**2.2.2 神经系统疾病指示物** 体内游离的重金属(如 Cu、Fe 等)具有较强的氧化还原活性,能够促进活性氧(ROS)的产生,因此可能与神经系统疾病的进展相关。人们很早就发现了神经系统疾病的发病过程中存在金属失调现象,但受限于技术原因,对这一现象的研究还不够深入,主要停留在对金属浓度变化的分析上。随着同位素技术的发展,稳定 Cu 同位素分析逐渐被应用于神经系统疾病研究中,如肌萎缩侧索硬化症(ALS)、阿尔兹海默病(AD)以及自闭症谱系障碍(ASD)。

Balter 等<sup>[40]</sup>针对 ALS 和 AD 患者的脑脊液(CSF)开展研究,发现与对照人群相比,ALS 或 AD 患者的元素浓度并没有显著变化,但是 ALS 患者的脑脊液中表现出倾向富集重 Cu 同位素的趋势。该结果表明,Cu 同位素比 Cu 浓

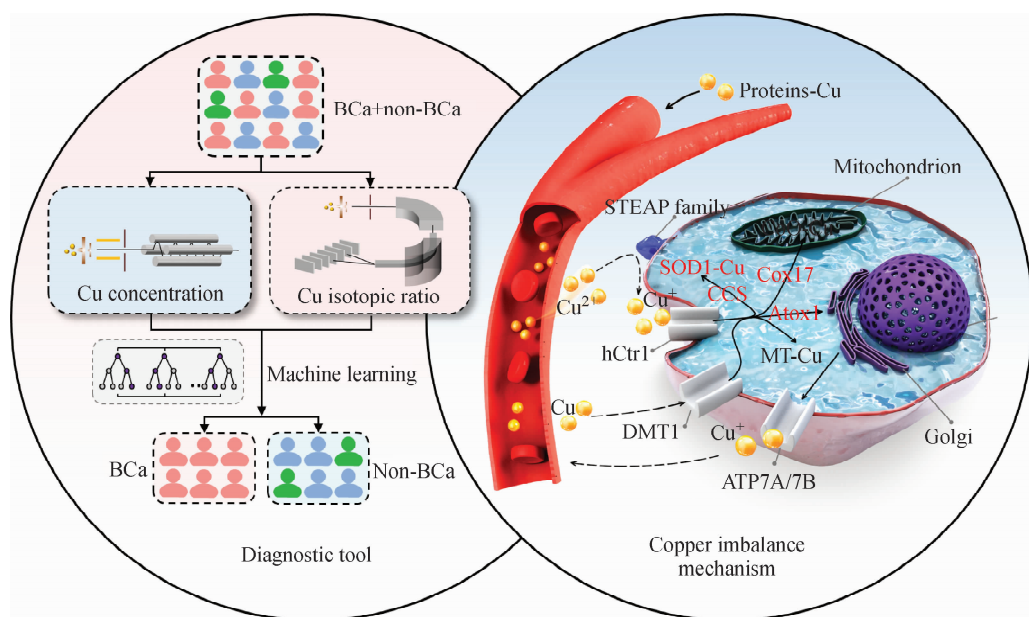


图 2 基于血液二维 Cu 指纹和机器学习的膀胱癌标志物的发现<sup>[19]</sup>

Fig. 2 Discovery of bladder cancer markers based on blood 2D Cu fingerprints and machine learning<sup>[19]</sup>

度更灵敏,具有更强的 ALS 诊断能力,进一步分析 Cu 同位素比值信息,推测这可能与可溶性超氧化物歧化酶 1(SOD1)有关。虽然 Balter 等在脑脊液样品中并没有发现 AD 患者与对照人群存在显著的 Cu 同位素比值差异,但 Moynier 等<sup>[41]</sup>在针对人脑额叶皮层样本进行分析时发现 AD 患者倾向于富集轻 Cu 同位素。ASD 是一种儿童神经发育障碍,虽然有研究表明,接触有毒重金属(例如铅、砷以及汞等)或过量的营养元素(如铜、锌以及锰等)可能会增加神经发育障碍的风险,但将这些金属元素作为 ASD 的早期生物标志物存在许多挑战。Miller 等<sup>[42]</sup>针对北美儿童队列开展相关研究,并没有发现 ASD 儿童与对照组儿童存在显著的 Cu 和 Zn 同位素差异,但由于该研究的样品队列太小,可能并不具有代表性。Liu 等<sup>[43]</sup>针对 ASD 疾病引起的 Cu 同位素比值变化开展研究,通过结合机器学习方法,实现了 ASD 的快速预测和诊断。

**2.2.3 铜转运蛋白障碍疾病指示物** Cu 转运蛋白主要包括吸收型转运蛋白和外排型转运蛋白,其中, hCtr1 是人体内一种主要的 Cu 吸收型转运蛋白,拥有 3 个与 Cu<sup>+</sup> 跨膜转运过程密切相关的转运跨膜结构域,包括 1 个 N 端、1 个 C 端以及 1 个 MX3M 基序<sup>[44-45]</sup>。Cu 的外排型转运蛋白主要是 ATP7A/B, 其中, ATP7B 主要在肝脏中表达,而 ATP7A 则是在全身组织细胞中均有表达。由于门克斯综合征(Menkes disease)及威尔逊病(Wilson's disease)的发生与 ATP7A/B 密切相关,因此 Cu 元素有望成为这

2 类疾病的指示物。

目前,威尔逊病的诊断通常是通过结合临床症状和生化指标来实现的,其中,肝组织的 Cu 浓度检测被认为是威尔逊病诊断的金标准。但是,该方法需要进行肝活检,侵入性较强,因此亟需开发其他非侵入性的 Cu 检测方法。目前,已经有许多研究尝试将尿液和血液中 Cu 浓度作为威尔逊病的指示物,但是结果存在阴性或区分度不够的缺陷。Vanhaecke 等<sup>[46]</sup>尝试应用 Cu 同位素技术对威尔逊病患者人群和对照人群进行区分,发现威尔逊病患者血液中 Cu 同位素比值显著低于对照人群,通过进一步将 Cu 浓度纳入参考后,能够完全区分威尔逊病患者人群与对照人群,显示了 Cu 同位素技术在威尔逊病诊断中的潜在优势。此外, Lamboux 等<sup>[47]</sup>研究发现,威尔逊病患者血液中的 Cu 同位素指纹特征受疾病进程的影响,进一步说明了 Cu 同位素比值具有成为威尔逊病指示物的潜在可能。当样品量较少时, Garcia-Poyo 等<sup>[48]</sup>尝试使用飞秒激光剥蚀多接收器电感耦合等离子体质谱仪(fsLA-MC-ICP-MS)对威尔逊病患者血液进行 Cu 同位素分析,实现了对单滴血清样品的高精度 Cu 同位素分析(仅需 1  $\mu$ L 血清),发挥出其微创性的优势。

**2.2.4 早产等其他疾病指示物** Liu 等<sup>[30]</sup>首次报道了妊娠相关同位素分馏现象,发现在妊娠早期(即孕周不超过 27 周),自发性早产(SPB)孕妇的血清 Cu 同位素比值显著高于对照组孕妇,因此,血清 Cu 同位素比值具有作为 SPB 风险预警新指标的潜在可能,示于图 3。此外,该

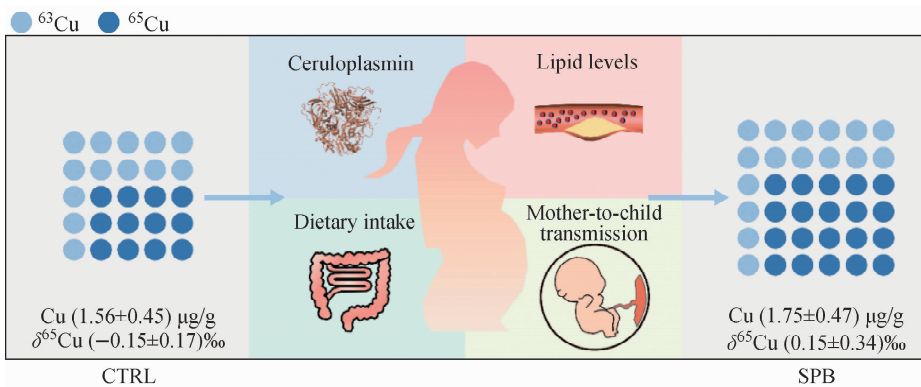


图 3 血清 Cu 同位素指纹分析在自发性早产风险早期预警中的应用<sup>[30]</sup>

Fig. 3 Application of serum Cu isotope fingerprint in early warning of spontaneous preterm birth<sup>[30]</sup>

团队还揭示了 SPB 相关 Cu 失衡的可能机制,认为饮食摄入和血液 Cu 蛋白是早孕孕妇体内铜失衡较重要的潜在来源。Campenhout 等<sup>[49]</sup>在探究非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 时发现,患者血清中的 Cu 同位素比值偏低,这表明血清 Cu 同位素组成具有成为 NAFLD 早期诊断标志物的潜在可能,但该方法无法对 NAFLD 的病情程度进行区分,未来可能需要对其进行优化改进,以达到更好的 NAFLD 诊断效果。终末期肝病 (ESLD) 严重危及生命,肝移植技术 (LTx) 是治疗 ESLD 的有效方法,但仍存在复发风险。由于 Cu 稳态与肝功能密切相关, Vanhaecke 等<sup>[50]</sup>尝试运用 Cu 同位素技术探究 ESLD 的复发风险,发现 ESLD 患者血清中的 Cu 同位素比值偏低,而经过 LTx 治疗后, Cu 同位素比值的升高与肝功能 (包括肝脏生物合成能力、肝脏代谢等) 的恢复密切相关,表明 Cu 同位素分析可以作为肝移植患者随访和确定肝衰竭复发的潜在工具。

### 3 铜同位素技术在环境健康研究中的应用前景

近年来, MC-ICP-MS 仪器的升级优化以及生物样品分析方法的改进,极大地促进了生物样品中高精度 Cu 同位素分析技术的发展,拓展了其在环境健康研究中的应用。得益于其独特的溯源能力,稳定 Cu 同位素分析可以为疾病研究提供新视角,成为揭示疾病诱导的 Cu 稳态失衡机制的有力工具。但是,目前运用稳定 Cu 同位素分析在环境健康层面上的研究还处于起步阶段,仍面临着许多困难和挑战。

1) 高通量的样品分析。受限于同位素分析较复杂的前处理流程和 MC-ICP-MS 仪器较长的分析时间及较高的实验成本,目前相关研究报道的样品量普遍较少。样品量的不足会影响实验结果的准确性,从而影响 Cu 同位素比值作为生物标志物的特异性效果。因此,未来需要开发和优化 Cu 同位素高通量分析方法,提高样品分析通量。

2) 背景人群的调查。由于生活环境和饮食习惯的差异,不同地区的背景人群体内 Cu 同位素比值可能存在较大差异,从而影响 Cu

同位素比值作为疾病生物标志物的普适性。因此,若想推广 Cu 同位素技术在疾病生物标志物研究中的应用 (如 Cu 同位素比值参考标准), 应增加对背景人群体内 Cu 同位素比值分布的调查研究。

3) 与其他临床指标的结合。Cu 元素在生命体内的许多生化过程中都扮演着重要角色,许多疾病过程都可能影响 Cu 同位素比值的变化。仅凭单一 Cu 同位素比值信息难以对疾病进行准确诊断,也难以区分不同的疾病,对疾病响应的特异性较差。因此,需要将更多的临床指标纳入研究,从而获得对疾病进程更全面的诊断分析结果。此外,在这一过程中,人工智能技术能够发挥更多的作用,例如基于二维 Cu 指纹的机器学习模型的构建能够显著提高对膀胱癌的诊断能力。

4) 多组学技术的结合。目前,关于稳定 Cu 同位素分析在环境健康研究中的应用主要局限于疾病生物标志物的发现上,对 Cu 同位素分馏机制探究不足,相关机制的推测缺乏实验验证。未来需要结合多组学手段 (如暴露组学、蛋白质组学以及代谢组学等) 对环境因素诱导的 Cu 同位素分馏机理进行多维度的实验研究。

#### 参考文献:

- [1] SODDY F. The origins of the conception of isotopes[J]. *Nature*, 1923, 112(2 806): 208-213.
- [2] HOEFS J. *Stable isotope geochemistry*[M]. Springer, 2009.
- [3] SCHAUBLE E A. Applying stable isotope fractionation theory to new systems[M]. *Geochemistry of Non-Traditional Stable Isotopes*, 2004: 65-112.
- [4] DAWSON T E, BROOKS P D. *Fundamentals of stable isotope chemistry and measurement*[M]// UNKOVICH M, PATE J, MCNEILL A, GIBBS D J. *Stable isotope techniques in the study of biological processes and functioning of ecosystems*. Dordrecht: Springer, 2001: 1-18.
- [5] WILKINSON J J, WEISS D J, MASON T F D, COLES B J. Zinc isotope variation in hydrothermal systems: preliminary evidence from the Irish Midlands ore field[J]. *Economic Geology*, 2005, 100(3): 583-590.

- [6] BROWN S T, BASU A, CHRISTENSEN J N, REIMUS P, HEIKOOP J, SIMMONS A, WOLDEGABRIEL G, MAHER K, WEAVER K, CLAY J, DePAOLO D J. Isotopic evidence for reductive immobilization of uranium across a roll-front mineral deposit[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(12): 6 189-6 198.
- [7] OULHOTE Y, Le BOT B, POUPON J, LUCAS J P, MANDIN C, ETCHEVERS A, ZMIROU-NAVIER D, GLORENNEC P. Identification of sources of lead exposure in French children by lead isotope analysis: a cross-sectional study[J]. *Environmental Health*, 2011, 10(1): 75.
- [8] LIU Q, HINTELMANN H, JIANG G. Natural stable isotopes: new tracers in environmental health studies[J]. *National Science Review*, 2016, 3(4): 410.
- [9] KRAYENBUEHL P A, WALCZYK T, SCHOENBERG R, von BLANCKENBURG F, SCHULTHESS G. Hereditary hemochromatosis is reflected in the iron isotope composition of blood[J]. *Blood*, 2005, 105(10): 3 812-3 816.
- [10] MORGAN J L L, SKULAN J L, GORDON G W, ROMANIELLO S J, SMITH S M, ANBAR A D. Rapidly assessing changes in bone mineral balance using natural stable calcium isotopes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(25): 9 989-9 994.
- [11] LARNER F, WOODLEY L N, SHOUSA S, MOYES A, HUMPHREYS-WILLIAMS E, STREKOPYTOV S, HALLIDAY A N, REH-KAEMPER M, COOMBES R C. Zinc isotopic compositions of breast cancer tissue[J]. *Metallomics*, 2015, 7(1): 107-112.
- [12] GUPTA A, MUMPER R J. Elevated copper and oxidative stress in cancer cells as a target for cancer treatment[J]. *Cancer Treatment Reviews*, 2009, 35(1): 32-46.
- [13] KIM B E, NEVITT T, THIELE D J. Mechanisms for copper acquisition, distribution and regulation[J]. *Nature Chemical Biology*, 2008, 4: 176-185.
- [14] CARTWRIGHT G E, WINTROBE M M. Copper metabolism in normal subjects[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1964, 14: 224-232.
- [15] TURSKI M L, THIELE D J. New roles for copper metabolism in cell proliferation, signaling, and disease[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(2): 717-721.
- [16] XU M, NIU Z, LIU C, YAN J, PENG B, YANG Y. Oxidative potential of metal-containing nanoparticles in coal fly ash generated from coal-fired power plants in China[J]. *Environment & Health*, 2023, 1(3): 180-190.
- [17] GROPPER S, SMITH J L, GROFF J. Advanced nutrition and human metabolism[M]. 2013.
- [18] BALTER V, Da COSTA A N, BONDANESE V P, JAOUEN K, LAMBOUX A, SANGRAJRANG S, VINCENT N, FOUREL F, TÉLOUK P, GIGOU M, LÉCUYER C, SRIVATANAKUL P, BRÉCHOT C, ALBARÉDE F, HAINAUT P. Natural variations of copper and sulfur stable isotopes in blood of hepatocellular carcinoma patients[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(4): 982-985.
- [19] WANG W, LIU X, ZHANG C, SHENG F, SONG S, LI P, DAI S, WANG B, LU D, ZHANG L, YANG X, ZHANG Z, LIU S, ZHANG A, LIU Q, JIANG G. Identification of two-dimensional copper signatures in human blood for bladder cancer with machine learning [J]. *Chemical Science*, 2022, 13(6): 1 648-1 656.
- [20] COSTAS-RODRÍGUEZ M, DELANGHE J, VANHAECKE F. High-precision isotopic analysis of essential mineral elements in biomedicine: natural isotope ratio variations as potential diagnostic and/or prognostic markers[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2016, 76: 182-193.
- [21] TÉLOUK P, PUISIEUX A, FUJII T, BALTER V, BONDANESE V P, MOREL A P, CLAPISON G, LAMBOUX A, ALBAREDE F. Copper isotope effect in serum of cancer patients. A pilot study[J]. *Metallomics: Integrated Biometal Science*, 2015, 7(2): 299-308.
- [22] TOUBHANS B, GOURLAN A T, TELOUK P, LUTCHMAN-SINGH K, FRANCIS L W, CONLAN R S, MARGARIT L, GONZALEZ D, CHARLET L. Cu isotope ratios are meaning-



- ful in ovarian cancer diagnosis[J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2020, 62: 126-131.
- [23] HASTUTI A A M B, COSTAS-RODRÍGUEZ M, MATSUNAGA A, ICHINOSE T, HAGIWARA S, SHIMURA M, VANHAECKE F. Cu and Zn isotope ratio variations in plasma for survival prediction in hematological malignancy cases[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 16389.
- [24] GORDON G W, MONGE J, CHANNON M B, WU Q, SKULAN J L, ANBAR A D, FONSECA R. Predicting multiple myeloma disease activity by analyzing natural calcium isotopic composition [J]. *Leukemia*, 2014, 28(10): 2112-2115.
- [25] LOBO L, COSTAS-RODRÍGUEZ M, de VICENTE J C, PEREIRO R, VANHAECKE F, SANZ-MEDEL A. Elemental and isotopic analysis of oral squamous cell carcinoma tissues using sector-field and multi-collector ICP-mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2017, 165: 92-97.
- [26] WIEDERHOLD J G. Metal stable isotope signatures as tracers in environmental geochemistry [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(5): 2606-2624.
- [27] WATKINS J M, DePAOLO D J, WATSON E B. 4 Kinetic fractionation of non-traditional stable isotopes by diffusion and crystal growth reactions[M]//TENG F Z, WATKINS J, DAUPHAS N. *Non-traditional stable isotopes*, 2017: 85-126.
- [28] BLANCHARD M, SCHAUBLE E A. 2 Equilibrium fractionation of non-traditional isotopes: a molecular modeling perspective[M]//TENG F Z, WATKINS J, DAUPHAS N. *Non-traditional stable isotopes*, 2017: 27-64.
- [29] YANG L, TONG S, ZHOU L, HU Z, MESTER Z, MEIJA J. A critical review on isotopic fractionation correction methods for accurate isotope amount ratio measurements by MC-ICP-MS[J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2018, 33(11): 1849-1861.
- [30] WANG W, LI Z, LU Q, ZHANG L, LU D, YANG H, YANG X, ZHANG L, ZHANG Y, LIU Q, WANG B, GUO Y, REN A, JIANG G. Natural copper isotopic abnormality in maternal serum at early pregnancy associated to risk of spontaneous preterm birth[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 849: 157872.
- [31] ALBARÈDE F, TELOUK P, BLICHERT-TOFT J, BOYET M, AGRANIER A, NELSON B. Precise and accurate isotopic measurements using multiple-collector ICP-MS[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2004, 68(12): 2725-2744.
- [32] YUAN H, YUAN W, BAO Z, CHEN K, HUANG F, LIU S. Development of two new copper isotope standard solutions and their copper isotopic compositions[J]. *Geostandards and Geoanalytical Research*, 2017, 41(1): 77-84.
- [33] MADARIĆ A, GINTER E, KADRABOVÁ J. Serum copper, zinc and copper/zinc ratio in males: influence of aging[J]. *Physiological Research*, 1994, 43(2): 107-111.
- [34] JAOUEN K, GIBERT M, LAMBOUX A, TELOUK P, FOUREL F, ALBARÈDE F, ALEKSEEV A N, CRUBÉZY E, BALTER V. Is aging recorded in blood Cu and Zn isotope compositions? [J]. *Metallomics: Integrated Biomaterial Science*, 2013, 5(8): 1016-1024.
- [35] van HEGHE L, ENGSTRÖM E, RODUSHKIN I, CLOQUET C, VANHAECKE F. Isotopic analysis of the metabolically relevant transition metals Cu, Fe and Zn in human blood from vegetarians and omnivores using multi-collector ICP-mass spectrometry[J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2012, 27(8): 1327-1334.
- [36] van HEGHE L, DELTOMBE O, DELANGHE J, DEYPERE H, VANHAECKE F. The influence of menstrual blood loss and age on the isotopic composition of Cu, Fe and Zn in human whole blood[J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2014, 29(3): 478-482.
- [37] GUTMAN S, KESSLER L G. The US Food and Drug Administration perspective on cancer biomarker development[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2006, 6: 565-571.
- [38] LUDWIG J A, WEINSTEIN J N. Biomarkers in cancer staging, prognosis and treatment selection [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2005, 5: 845-856.
- [39] SCHWARTZ M K. Role of trace elements in cancer[J]. *Cancer Research*, 1975, 35(11): 3481-3487.
- [40] SAUZÉAT L, BERNARD E, PERRET-LIAUDET A, QUADRIO I, VIGHETTO A, KRO-

- LAK-SALMON P, BROUSSOLLE E, LEBLANC P, BALTER V. Isotopic evidence for disrupted copper metabolism in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *iScience*, 2018, 6: 264-271.
- [41] MOYNIER F, BORGNE M L, LAHOUD E, MAHAN B, MOUTON-LIGER F, HUGON J, PAQUET C. Copper and zinc isotopic excursions in the human brain affected by Alzheimer's disease[J]. *Alzheimer's & Dementia*, 2020, 12(1): e12112.
- [42] MILLER K, DAY P L, BEHL S, STROMBACK L, DELGADO A, JANNETTO P J, WIESER M E, MEHTA S Q, PANDEY M K. Isotopic composition of serum zinc and copper in healthy children and children with autism spectrum disorder in North America[J]. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2023, 16: 1 133 218.
- [43] LING W, ZHAO G, WANG W, WANG C, ZHANG L, ZHANG H, LU D, RUAN S, ZHANG A, LIU Q, JIANG J, JIANG G. Metallomic profiling and natural copper isotopic signatures of childhood autism in serum and red blood cells[J]. *Chemosphere*, 2023, 330: 138 700.
- [44] de FEO C J, ALLER S G, SILUVAI G S, BLACKBURN N J, UNGER V M. Three-dimensional structure of the human copper transporter hCTR1[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(11): 4 237-4 242.
- [45] EISSES J F, KAPLAN J H. Molecular characterization of hCTR1, the human copper uptake protein[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(32): 29 162-29 171.
- [46] ARAMENDÍA M, RELLO L, RESANO M, VANHAECKE F. Isotopic analysis of Cu in serum samples for diagnosis of Wilson's disease: a pilot study[J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2013, 28(5): 675-681.
- [47] LAMBOUX A, COUCHONNAL-BEDOYA E, GUILLAUD O, LAURENCIN C, LION-FRANÇOIS L, BELMALIH A, MINTZ E, BRUN V, BOST M, LACHAUX A, BALTER V. The blood copper isotopic composition is a prognostic indicator of the hepatic injury in Wilson disease[J]. *Metallomics: Integrated Biometal Science*, 2020, 12(11): 1 781-1 790.
- [48] GARCÍA-POYO M C, BÉRAIL S, RONZANI A L, RELLO L, GARCÍA-GONZÁLEZ E, LELIÈVRE B, CALES P, NAKADI F V, ARAMENDÍA M, RESANO M, PÉCHEYRAN C. Laser ablation of microdroplets for copper isotopic analysis via MC-ICP-MS. Analysis of serum microsamples for the diagnosis and follow-up treatment of Wilson's disease[J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2021, 36(5): 968-980.
- [49] van CAMPENHOUT S, HASTUTI A A M B, LEFERE S, van VLIERBERGHE H, VANHAECKE F, COSTAS-RODRÍGUEZ M, DEVISSCHER L. Lighter serum copper isotopic composition in patients with early non-alcoholic fatty liver disease[J]. *BMC Research Notes*, 2020, 13(1): 225.
- [50] LAUWENS S, COSTAS-RODRÍGUEZ M, van VLIERBERGHE H, VANHAECKE F. Cu isotopic signature in blood serum of liver transplant patients: a follow-up study[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 30 683.

(收稿日期:2023-12-18;修回日期:2023-12-31)