# 肾透析患者血清多肽的分离富集与质谱分析鉴定

张政端<sup>1</sup>,李朝阳<sup>2</sup>,牛丽丽<sup>2</sup>,李 娜<sup>2</sup>,丁 翔<sup>2</sup>,
 舒 莲<sup>2</sup>,董京平<sup>1</sup>,杨福全<sup>2</sup>
 (1.首都师范大学附属中学,北京 100048;
 2.中国科学院生物物理研究所蛋白质组学技术实验室,北京 100101)

摘要: 肾脏疾病已成为影响我国国民健康的重大疾病,发现新的生物诊断标志物对肾病患者的早诊早治具有重要意义。鉴于人血浆蛋白质组学研究和肽组学研究具有互补性,本研究基于本实验室此前发展的分离富集血清中多肽的顺序沉淀和脱脂(sequential precipitation and delipidation, SPD)法,结合基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)技术分析比较了健康对照、肾透析患者透析前后血清中肽段的指纹图谱,并利用液相色谱-质谱(LC-MS/MS)技术初步分析比较了肾透析患者和健康对照血清的肽组,分别鉴定到 8 个和 17 个特异肽段,以及 8 个差异表达肽段。本研究可为进一步大样本验证肾透析患者相关的潜在肽段生物标志物提供基础数据。

关键词:质谱;肾透析;血清;肽组学;顺序沉淀和脱脂(SPD)

中图分类号:O657.63 文献标志码:A 文章编号:1004-2997(2025)03-0380-09 DOI:10.7538/zpxb.2024.0160 CSTR:32365.14.zpxb.2024.0160

# Separation, Enrichment, Mass Spectrometry Analysis and Identification of Serum Peptides from Renal Dialysis Patients

ZHANG Zheng-duan<sup>1</sup>, LI Chao-yang<sup>2</sup>, NIU Li-li<sup>2</sup>, LI Na<sup>2</sup>, DING Xiang<sup>2</sup>, SHU Lian<sup>2</sup>, DONG Jing-ping<sup>1</sup>, YANG Fu-quan<sup>2</sup>

(1. Capital Normal University High School, Beijing 100048, China;

2. Laboratory of Proteomics, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: Kidney disease has high incidence, which has become a major disease affecting people health nationwide. The discovery of new biological diagnostic markers is of great significance for early diagnosis and treatment of kidney disease patients. Mass spectrometry (MS)-based proteomics and peptidomics have become essential techniques in life science and clinical medicine, and have been powerful tools for early diagnosis, molecular typing, drug efficacy prediction, and prognosis assessment of diseases. Given that human plasma proteomics and peptidomics are complementary, in this study, the sequential precipitation and delipidation (SPD) method developed in our laboratory was used for the separation and enrichment of peptides in serum. Matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS), which has fast, high sensitivity, and

国家重点研发计划(2018YFA0507801) 本文通信作者杨福全

high-throughput characteristics, was used for the analysis of the peptides from serum of renal dialysis patients before and after dialysis, and then compared with healthy controls. Liquid chromatographymass spectrometry (LC-MS/MS) was applied to analyze the peptidome of serum from renal dialysis patients and healthy controls. Eight and seven specific peptides are identified in the serum of renal dialysis patients and healthy controls, respectively. And compared with the serum of healthy controls, eight differentially expressed peptides in the serum of renal dialysis patients are also identified. The specific peptides in the serum of patients derive from fibrinogen chain  $\alpha$ , histone H2B-1,  $\alpha$ -HS-glycoprotein and coagulation factor XIII chain A, and the differentially expressed peptides mainly derive from fibrinogen chain  $\alpha$  and coagulation factor XIII chain A. This study provides basic data for further validation of potential peptide biomarkers related to renal dialysis patients.

**Key words:** mass spectrometry; renal dialysis; serum; peptidomics; sequential precipitation and delipidation (SPD)

当前,我国肾脏疾病防控面临严峻挑战。肾 脏疾病患病率高,已成为影响我国人民身体健康 的重大疾病<sup>[1]</sup>。肾病末期患者需要进行肾透析 治疗,即利用半透膜扩散和渗透原理将血液中有 害的代谢物和过量的电解质排出体外,达到净化 血液和纠正电解质及酸碱平衡紊乱的目的,模拟 健康肾脏完成新陈代谢功能。因此,分析肾透析 前后血浆中成分的变化,并与健康对照血浆进行 比较,发现和鉴定其中的关键分子,对肾病患者 的早诊早治具有重要意义<sup>[2-7]</sup>。

人血浆和血清是人体内各种循环蛋白质和 代谢产物的集中地,其富含 RNA、蛋白质、多肽 和代谢物,是最常见的临床样本,其组成变化与 多种疾病的发生发展密切相关。蛋白质是生物 体内生物学功能的执行者,其异常表达、修饰或 降解与多种疾病密切相关。基于质谱的蛋白质 组学技术已成为生命科学研究和临床医学研究 不可或缺的关键技术,能够用于疾病的早期诊 断、分子分型、药效预判和预后判定<sup>[8]</sup>。然而,在 正常的生理和病理条件下,人血浆/血清中的蛋 白质普遍存在酶促降解现象,会产生蛋白质降解 产物(如肽段等)。因此,仅开展疾病相关的蛋白 质组学研究存在一定的局限性。血浆/血清中的 多肽组包括生物体内源多肽、蛋白质降解产物 (多肽)和低分子质量蛋白质,富含蛋白质降解信 息。肽组学是蛋白质组学的重要补充,但目前关 于血浆与血清的肽组学研究相对滞后,且具有挑 战性, 深入开展疾病相关的血浆/血清中多肽的 分析鉴定和肽组学研究意义重大<sup>[9]</sup>。

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF MS)技术的原理是蛋白质与多肽 等分析物与芳香族有机酸等基质形成的共晶在 激光照射下,基质吸收激光能量而被加热、蒸发 和离子化,并通过气相质子转移使蛋白质与多肽 等分析物离子化;离子经加速电场加速后获得一 定的动能和速率,并进入且穿过飞行时间(TOF) 质量分析器到达检测器而被检测。MALDI-TOF MS技术具有快速、高通量及高灵敏度的特点, 适用于蛋白质与多肽等生物分子的快速鉴定,在 药物分析和疾病诊断等生物医学领域得到广泛 应用[10]。然而,该技术不具备色谱分离功能,在 分析复杂生物样品时,离子化过程存在不同分子 间的相互抑制,影响检测和鉴定。液相色谱-串 联质谱(LC-MS/MS)技术具有强大的分离和鉴定 能力,以及高通量的特点,已成为蛋白质组学、 修饰组学和代谢组学等组学研究的关键技术,广 泛应用于地中海贫血等相关疾病的血浆蛋白质 组学[11]和细胞外囊泡蛋白质组学等研究[12]。

本研究利用实验室此前提出的基于顺序沉 淀和脱脂(sequential precipitation and delipidation, SPD)分离富集血浆/血清中多肽的技术<sup>[13]</sup>,结合 MALDI-TOF MS 技术系统分析比较 4 例肾透析 患者透析前后血清中肽段指纹图谱的特征和差 异,并与 4 例健康对照的血清进行比较,然后利 用 LC-MS/MS 技术分析、鉴定和比较肾透析患 者和健康对照血清中的多肽,旨为进一步大样本 验证肾透析患者血清中的潜在多肽生物标志物 奠定基础。

## 1 实验部分

# 1.1 主要仪器与装置

Eppendorf 5424R高速冷冻离心机:德国 Eppendorf 公司产品; CV600冷冻离心浓缩仪:北 京吉艾姆科技有限公司产品;基质辅助激光解 吸电离飞行时间串联质谱仪:德国布鲁克公司产 品;纳升流速液相色谱-四极杆静电场轨道阱质 谱联用仪:美国 Thermo Fisher Scientific 公司产 品;反相 C18 毛细管液相色谱柱(20 cm×75 μm, 3 μm):实验室填制,填料为 Dr. Maisch GmbH 公 司产品;Welchrom C18固相萃取柱(SPE, C18, 50 g/L):月旭科技(上海)股份有限公司产品。

# 1.2 主要材料与试剂

健康对照(4例)和肾透析患者(4例)的血 清:由国家康复辅具研究中心附属医院提供,获 国家康复辅具研究中心附属康复医院伦理委员 会批准(伦理号: S20220203)和所有供试者的知 情同意。

甲基叔丁基醚(MTBE, 纯度≥99.0%, HPLC级, E127-4)、甲醇(纯度≥99.9%, HPLC级, A452-4)、乙腈(ACN, 纯度≥99.95%, HPLC级, A998-4): 美国 Fisher Chemical 公司产品; 甲酸(FA, 纯度≥ 98.0%):北京益利精细化学品有限公司产品; 三 氟乙酸(TFA, 纯度≥99%, T6508)、 $\alpha$ -氰基-4-羟 基肉桂酸(CHCA, 纯度≥98%, C2020):美国 Sigma-Aldrich公司产品; 纯净水: 杭州娃哈哈集 团有限公司产品。

# 1.3 实验条件

**1.3.1** 溶液配制 流动相 A:取 100 μL FA 加入 100 mL 水,配制成 0.1%FA 溶液;流动相 B:取 80 mL ACN 和 20 mL 水,混匀后加入 100 μL FA, 配制成 80%ACN-0.1%FA 溶液;基质溶液:称取 10 mg CHCA 粉末于 1.5 mL 微型离心管(EP)中,加入 600 μL ACN 和 400 μL 水,再加入 1 μL TFA, 混匀后配制成 10 g/L CHCA-60%ACN-0.1%TFA 溶液。

1.3.2 质谱条件 MALDI-TOF MS 反射正离子 模式:质量扫描范围 *m/z* 700~5 000,激光强度 95%,离子源 1 电压 20.00 kV,离子源 2 电压 17.75 kV,透镜电压 7.6 kV,检测器电压 2 127 V, 脉冲离子引出时间 180 ns;线性正离子模式:质 量扫描范围 *m/z* 700~15 000,激光强度 95%,离 子源 1 电压 20.00 kV, 离子源 2 电压 18.85 kV, 透 镜电压 5.62 kV, 检测器电压 2 924 V, 脉冲离子 引出时间 270 ns。

LC-MS/MS:反相 C18 毛细管液相色谱柱 (20 cm×75 µm, 3 µm),柱箱温度 55 ℃,电喷雾电 压 2.0 kV,毛细管温度 320 ℃,质量扫描范围 *m/z* 300~1 600,动态排除时间 40 s,数据采集模 式 1 拖 20(即 1 次完整的 MS<sup>1</sup>扫描后接 20 个最 高丰度离子的 MS<sup>2</sup>分析采集)。

#### 1.4 实验过程

1.4.1 SPD法分离富集血清多肽 将血清样本 从-80 ℃ 冰箱取出并置于 4 ℃ 保存, 融化后置于 冰上。取 50 µL 血清, 加入 50 µL 纯净水和 250 µL MTBE, 涡旋后加入 150 μL 甲醇, 再次涡旋振荡 均匀后快速离心 30 s。此时, 溶剂为甲基叔丁基 醚-甲醇-水(5:3:1, V/V/V), 溶液为单一相, 此过程 利用有机溶剂沉淀去除血清中的高丰度蛋白 和大分子蛋白。将样品溶液置于4℃静止沉淀 30 min, 于 4 ℃ 以 15 000 r/min 离心 30 min, 取上 清液于另一 EP 管中, 操作过程中避免吸入沉 淀。向上清液中加入 100 μL 纯净水和 500 μL MTBE, 使溶剂为甲基叔丁基醚-甲醇-水(5:1:1, V/V/V)。涡旋混匀后, 于4℃以3500 r/min 离心 10 min, 溶液分成上部含脂质的有机相和下部含 多肽的水相。取出有机相,另存,收集水相于 4℃离心浓缩仪中,真空浓缩至干,备用。

1.4.2 基于反相 C18 固相萃取柱脱盐 将上述 SPD 法获得的多肽样本重溶于 200 µL 0.1%FA 溶剂中,涡旋混匀。取 200 µL 流动相 B 清洗活 化柱,重复 2 次;取 100 µL 流动相 A 洗涤平衡 SPE 柱,重复 3 次;取 200 µL 0.1%FA 重溶 SPD 法富集得到的多肽样本,上样 SPE 柱;用 200 µL 0.1%FA 清洗 SPE 柱以脱盐,重复 3 次;然后用 200 µL 流动相 B 洗脱 3 次;收集合并多肽样品溶 液,并于 4 ℃ 离心浓缩仪中浓缩抽干,备用。

1.4.3 MALDI-TOF MS 分析检测 将 1.4.2 节获 得的多肽样品溶解于 20 μL 0.1%TFA 溶液中, 取 1.5 μL 多肽溶液和 1.5 μL 10 g/L CHCA 基质溶 液,按体积比 1:1 混合均匀后, 取 2 μL 溶液点在 靶板上,室温挥发至干,多肽和基质形成共晶。 将靶板置于 MALDI-TOF MS 后,在线性正离子 模式、反射正离子模式下分析测试样品,并采集

#### 质谱图。

**1.4.4** LC-MS/MS 分析 反相 C18 Trap 柱(100 μm× 2 cm, 5 μm)和反相 C18 分析柱(75 μm×20 cm, 3 μm); 流动相 A 为 0.1%FA 溶液, 流动相 B 为 0.1%FA-ACN 溶液; 流速 310 nL/min; 梯度洗脱程 序: 0~4 min(3%~9%B), 4~32 min(9%~16%B), 32~61 min (16%~24%B), 61~88 min (24%~ 33%B), 88~93 min (33%~80%B), 93~103 min (80%B)。

1.4.5 数据库检索 所采集的质谱数据使用 Sequest HT搜索引擎和 Proteome Discoverer v.1.4(PD1.4)软件进行检索,使用的人蛋白质组 数据库于2022年8月22日从Uniport网站下载 并更新。检索参数:蛋白水解酶为非酶切,母离 子质量误差10×10<sup>-6</sup>,子离子质量误差0.02 u,可 变修饰为甲硫氨酸氧化(+15.9949u),肽段水平 和蛋白水平均为高可信度,蛋白质和肽段的假阳 性率(false discovery rate, FDR)均设置为0.01(即 整体的 FDR<1%)。

#### 2 结果与讨论

# 2.1 血清多肽 MALDI-TOF MS 分析结果

在反射正离子模式下,健康对照人群和肾透 析患者人群透析前后血清多肽的 MALDI-TOF MS分析结果示于图 1。与肾透析患者相比,健 康人群血清中有 2个特征肽段,即 m/z 1 865、 2 021。与健康对照相比,肾透析患者血清中有 4 个特征肽段,即 m/z 1 015、1 260.5、1 465.7、 2 602。

在线性正离子模式下,健康对照人群和肾透 析患者人群透析前后血清多肽的 MALDI-TOF MS 分析结果示于图 2。与肾透析患者相比,健 康人群血清中有 3 个特征肽段,即 m/z 2 018、 3 273、4 282。

由于在 MALDI 源中肽段的离子化效率受肽 段分子之间的相互抑制,使 MALDI-TOF MS 技术在分析复杂肽组学样品时的检测深度明显 偏低,且不能给出肽段峰的氨基酸序列。MALDI-TOF MS 分析结果未能发现肾透析患者血清中 肽段在透析前后的明显变化。因此,下面将采 用 LC-MS/MS 分析健康对照和肾透析患者的血 清多肽。

#### 2.2 血清多肽 LC-MS/MS 分析结果

基于 MALDI-TOF MS 分析结果,进一步利 用 LC-MS/MS 鉴定肾透析患者和健康对照的血 清多肽,其代表性色谱图示于图 3。结果表明, 从肾透析患者和健康对照的血清多肽样品中累 计鉴定 468 个肽段,分别有 8 个和 17个特异肽段, 列于表 1。肾透析患者和健康对照血清中鉴定 到的 8 个差异表达肽段(通过色谱峰面积归一化 计算, p<0.05, 比值>2 及比值<0.5), 列于表 2。

进一步的生物信息学分析发现,在肾透析患 者血清中鉴定到的 8 个特异肽段分别来源于纤 维蛋白原  $\alpha$  链(1)、组蛋白 H2B 1-O 型(1)、组蛋 白 H2B 1-K 型(1)、 $\alpha$ -2-HS-糖蛋白(1)、斑联蛋白 (1)、凝血因子 XIII A 链(2)、补体 C3(Complement C3, C3)(1); 而在健康对照组血清中鉴定到的 17 个特异肽段主要来源于凝血因子 XIII A 链 (3)、补体 C3(5)、补体 C4A(4)、 $\alpha$ -胰蛋白酶抑 制因子重链 4(7)、载脂蛋白 A-I(1)。在肾透析 患者和健康对照组血清中鉴定到的 8 个差异肽 段中, 2 个低表达差异肽段均来源于补体 C3, 6 个高表达差异肽段分别来源于纤维蛋白原  $\alpha$  链(4)、纤维蛋白原 β 链(1)和凝血因子 XIII A 链(1)。

补体系统是一个蛋白质网络,通过识别致病 物质、激活促炎途径以及诱导已识别病原体的 调节作用来桥接先天免疫和适应性免疫,其活性 主要由替代途径驱动,该途径通过补体3的自发 水解不断激活[14]。补体替代途径的失调直接或 间接导致各种肾脏疾病,如C3肾小球病(C3 glomerulopathy, C3G)<sup>[15]</sup>、抗中性粒细胞胞浆抗体 (ANCA)相关肾血管炎、感染相关性肾小球肾炎 (IRGN)及由其引起的慢性肾脏病(CKD)等<sup>[16-17]</sup>。 2013年,C3G被肾病共识定义为一种肾小球疾 病,主要是由于过量的C3沉积于肾小球基底膜 (GBM)中,其含量比其他免疫复合物至少高 2倍,因缺乏针对该病的治疗方法,大约50%患 者在诊断后 10年内发生终末期肾病[18]。血清 C3 处于低水平, C3 作为肾小球沉积的主要补体 在 C3G 肾脏病理免疫荧光中的明显增加已成为 诊断该病的依据之一。本研究中来自C3的2条 肽段在肾透析患者透析前的血清样本中显著降 低,这与文献<sup>[16]</sup>报道结果一致。





Fig. 1 MALDI-TOF MS results of serum peptides from healthy control groups (a) and renal dialysis patients(b) before (501, 504, 506) and after (516, 524, 525) dialysis under reflection and positive ion mode



图 2 线性正离子模式下,健康对照组(a)和肾透析患者(b)在透析前(501、504、506)与后(516、524、525) 血清多肽的 MALDI-TOF MS 分析结果

Fig. 2 MALDI-TOF MS results of serum peptides from healthy control groups (a) and renal dialysis patients (b) before (501, 504, 506) and after (516, 524, 525) dialysis under linear and positive ion mode









肽段序列	前体蛋白质	肾透析患者	健康对照
Peptide sequence	Preprotein	Renal dialysis patient	Healthy control
DEAGSEADHEGTHSTKRGHAKSRPV	纤维蛋白原α链	+ + + +	
PDPAKSAPAPK	组蛋白H2B 1-O型 或1-H型	++++	
PEPAKSAPAPK	组蛋白H2B 1-K型	+ + + +	
SLGSPSGEVSHPRKT	α-2-HS-糖蛋白	+ + + +	
VNPFRPGDSEPPPAPGAQRAQ	斑联蛋白	+ + + +	
RAVPPNNSNAAEDDLPTVELQGVVPR	凝血因子XIII A链	+ + + +	
TAFGGRRAVPPNNSNAAEDDLPTVELQGVVPR		+ + + +	
DLPTVELQGVVPR			+ + + +
NNSNAAEDDLPTVELQGVVPR			+ + + +
PPNNSNAAEDDLPTVELQGVVPR			+ + + +
SEETKENEGFTVTAEGK	补体C3	+ + + +	
HRIHWESASLLR			+ + + +
ITHRIHWESASLLR			+ + + +
SKITHRIHWESASLLR			+ + + +
SSKITHRIHWESASLLR			+ + + +
THRIHWESASLLR			+ + + +
GLEEELQFSLGSK	补体C4A或C4B		+ + + +
mNFRPGVLSSRQLGLPGPPDVPDHAAYHPF	α-胰蛋白酶抑制因子		+ + + +
FRPGVLSSRQLGLPGPPDVPDHAAYHPF	重链4		+ + + +
MNFRPGVLSSRQLGLPGPPDVPDHAAYHPF			+ + + +
LGLPGPPDVPDH			+ + + +
LQGAKIPKPGLDHTEASFSPR			+ + + +
NVHSAGAAGSRMNFRPGVLSSRQLGLPGPPDVPD-HAAYHPF			+ + + +
NVHSGSTFFKYYLQGAKIPKPEASFSPR			+ + + +
QGLLPVLESFKVSFLSALEEYTKKLNTQ	载脂蛋白A-I		+ + + +

<b>-</b> -		
± 7	~ * * 또 포 * * * * * * * * * * * * * * * *	-
<b>T C</b>	김 중씨 모 수 중씨 비사자 분 것 만 여 비나 수 만 비사 들 프 것 사사 다	7
~~ #	- & - 1/1 // 2 //	

 Table 2
 Differential expression peptide segments identified in the serum of renal dialysis patients before dialysis and healthy control groups

	• •	•			
肽段序列	Uniprot蛋白序列号	蛋白描述	<i>p</i> 值	变化倍数	
 Peptide Sequence	Accession	Description	p Value	Fold change	
SSKITHRIHWESASLL	P01024	补体C3	0.0292	0.20	
THRIHWESASLLR			0.0014	0.17	
mADEAGSEADHEGTHSTKR-GHAKSRPV	P02671	纤维蛋白原α链	0.0329	7.97	
MADEAGSEADHEGTHSTKR-GHAKSRPV			0.0439	3.75	
ADSGEGDFLAEGGGVR			0.0355	2.69	
SGEGDFLAEGGGVR			0.0494	3.24	
GHRPLDKKREEAPSLRPAPPP-ISGGGY	P02675	纤维蛋白原β链	0.0265	4.15	
AVPPNNSNAAEDDLPTVELQ-GVVPR	Q9NQP5	凝血因子XIII A链	0.0499	2.59	

# 3 结论

本研究利用顺序沉淀和脱脂法分离富集健 康对照组和肾透析患者血清中的多肽,采用 MALDI-TOF MS技术初步分析了健康对照组和 肾透析患者在透析前后血清肽段指纹图谱的特 征与差异,然后使用LC-MS/MS技术分析鉴定肾 透析患者和健康对照血清的肽组,发现了来源 于C3、纤维蛋白原和凝血因子 XIII 等蛋白质降 解产生的特异多肽和差异表达多肽,为进一步开 展大样本验证具有临床诊断价值的肾病相关的 多肽生物标志物提供了基础数据。

# 参考文献:

- 陈香美. 中国肾脏病学发展的现状与未来[J]. 中华医学 信息导报, 2021, 36(5): 19.
   CHEN Xiangmei. Current situation and future of nephrology development in China[J]. Chinese Medical News, 2021, 36(5): 19(in Chinese).
- [2] CHEN T K, HOENIG M P, NITSCH D, GRAMS M E. Advances in the management of chronic kidney disease[J]. BMJ, 2023, 383: e074216.
- [3] WANG Z, SUN D. Adipose-derived mesenchymal stem cells: a new tool for the treatment of renal fibrosis[J].
   Stem Cells and Development, 2018, 27(20): 1 406-1 411.
- [4] CARTÓN-GARCÍA F, SAANDE C J, MERAVIGLIA-CRIVELLI D, ALDABE R, PASTOR F. Oligonucleotide-based therapies for renal diseases[J]. Biomedicines, 2021, 9(3): 303.
- [5] 上海市肾内科临床质量控制中心专家组. 慢性肾脏病 早期筛查、诊断及防治指南(2022 年版)[J]. 中华肾脏 病杂志, 2022, 38(5): 453-464. Expert Group on Kidney Clinical Quality Control Center

in Shanghai. Guidelines for early screening, diagnosis, prevention and treatment of chronic kidney disease (2022 Edition)[J]. Chinese Journal of Nephrology, 2022, 38(5): 453-464(in Chinese).

- [6] MIZDRAK M, KUMRIĆ M, KURIR T T, BOŽIĆ J. Emerging biomarkers for early detection of chronic kidney disease[J]. Journal of Personalized Medicine, 2022, 12(4): 548.
- [7] MICHELE P, SALVATORE R, PAOLO C, IDA G, ASHOUR M, ELVIRA A, SILVIO B, RAFFAELE S, DANIELA F, GIOVAMBATTISTA D S, MICHELE A. Contribution of predictive and prognostic biomarkers to clinical research on chronic kidney disease[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(16): 5 846.
- [8] 付莉霞, 程子倩, 王洪, 牛明明. 基于质谱的血液蛋白质 组学: 血液学研究的新焦点[J]. 中国细胞生物学学报, 2022, 44(1): 204-213.
  FU Lixia, CHENG Ziqian, WANG Hong, NIU Mingming. MS-based blood proteomics: emerging research focus in hematology[J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2022, 44(1): 204-213(in Chinese).
- [9] RACHEL E F, AMY L G, FRANK R, FIONA M G, RICHARD G K. Peptidomics: a review of clinical applications and methodologies[J]. Journal of Proteome Research, 2021, 20(8): 3 782-3 797.
- [10] LI J, XIE Z, SHI L, ZHAO Z, HOU J, CHEN X, CUI Z, XUE P, CAI T, WU P, GUO S, YANG F. Purification, identification and profiling of serum amyloid A proteins from sera of advanced-stage cancer patients[J]. Journal of Chromatography B, 2012(889/890): 3-9.
- [11] LI N, AN P, WANG J, ZHANG T, QING X, WU B, SUN L, DING X, NIU L, XIE Z, ZHANG M, GUO X,

CHEN X, CAI T, LUO J, WANG F, YANG F. Plasma proteome profiling combined with clinical and genetic features reveals the pathophysiological characteristics of  $\beta$ -thalassemia[J]. iScience, 2022, 25(4): 104 091.

- [12] LI N, WU B, WANG J, YAN Y, AN P, LI Y, LIU Y, HOU Y, QING X, NIU L, DING X, XIE Z, ZHANG M, GUO X, CHEN X, CAI T, LUO J, WANG F, YANG F. Differential proteomic patterns of plasma extracellular vesicles show potential to discriminate  $\beta$ -thalassemia subtypes[J]. iScience, 2023, 26(2): 106 048.
- [13] LI N, ZHOU Y, WANG J, NIU L, ZHANG Q, SUN L, DING X, GUO X, XIE Z, ZHU N, ZHANG M, CHEN X, CAI T, YANG F. Sequential precipitation and delipidation enables efficient enrichment of low-molecular weight proteins and peptides from human plasma[J]. Journal of Proteome Research, 2020, 19: 3 340-3 351.
- [14] SMITH R J H, APPEL G B, BLOM A M, COOK H T, D'AGATI V D, FREMEAUX-BACCHI V, JÓZSI M, KAVANAGH D, LAMBRIS J D, NORIS M, PICKER-ING M C, REMUZZI G, DE CÓRDOBA S R, SETHI S, van der VLAG J, ZIPFEL P F, NESTER C M. C3 glomerulopathy-understanding a rare complement-driven renal disease[J]. Nature Reviews Nephrology, 2019, 15(3): 129-143.
- [15] HAUER J J, ZHANG Y, GOODFELLOW R, TAYLOR

A, MEYER N C, ROBERTS S, SHAO D, FERGUS L, BORSA N G, HALL M, NESTER C M, SMITH R J. Defining nephritic factors as diverse drivers of systemic complement dysregulation in C3 glomerulopathy[J]. Kidney International Reports, 2023, 9(2): 464-477.

- [16] AUGUSTO J F, LANGS V, DEMISELLE J, LAVIGNE C, BRILLAND B, DUVEAU A, POLIC C, CHEVAILLER C, CROUE A, TOLLIS F, SAYEGH J, SUBRA J F. Low serum complement C3 levels at diagnosis of renal ANCA-associated vasculitis is associated with poor prognosis[J]. PLoS One, 2016, 11(7): e0158871.
- [17] WADA Y, KAMATA M, MIYASAKA R, ABE T, KAWAMURA S, TAKEUCHI K, AOYAMA T, ODA T, TAKEUCHI Y. Clinico-pathogenic similarities and differences between infection-related glomerulonephritis and C3 glomerulopathy[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(9): 8 432.
- [18] PURI P, WALTERS G D, FADIA M N, KONIA M, GIBSON K A, JIANG S H. The impact of reclassification of C3 predominant glomerulopathies on diagnostic accuracy, outcome and prognosis in patients with C3 glomerulonephritis[J]. BMC Nephrology, 2020, 21(1): 265.

(收稿日期: 2024-09-05;修回日期: 2024-11-04)