

基于质谱的临床体液糖蛋白质组学研究进展

蔡飞, 令颖颖, 李玲, 申靖, 张勇

(四川大学华西医院疾病系统遗传研究院, 四川 成都 610041)

摘要: 糖基化修饰是生物体内最常见的蛋白质翻译后修饰之一, 通过影响蛋白质的折叠、运输和定位, 调控多种生物功能。异常的糖基化模式与多种疾病的发生发展密切相关, 包括癌症、炎症、自身免疫性疾病等。糖蛋白质组学作为研究蛋白质糖基化修饰的重要领域, 其在疾病生物标志物的发现及机制研究中展现出越来越重要的价值。人体体液是反映疾病信息的重要“窗口”, 其糖蛋白质组蕴含着丰富的病理生理信息, 而质谱(MS)是解析体液糖蛋白质组的强大工具。本文总结了糖基化修饰的类型及生物学过程, 介绍了基于 MS 的糖蛋白质组学工作流程, 主要聚焦于各类人体体液(如血液、尿液、脑脊液、泪液、精浆、乳汁、唾液)的糖蛋白质组学研究进展, 重点分析了当前体液糖蛋白和聚糖的种类、数量以及结构特征的研究现状。此外, 还讨论了疾病状态下体液糖质密码的变化规律及已发现的潜在糖蛋白标志物或治疗靶点, 旨在为理解体液糖蛋白质组在疾病中的作用及推动其临床转化提供全面的视角和参考。

关键词: 糖蛋白质组学; 体液; 糖基化; 生物标志物; 临床应用

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2026)03-0274-29

DOI: 10.7538/zpxb.2025.0155

CSTR: 32365.14.zpxb.2025.0155

Recent Advances in Mass Spectrometry-Based Glycoproteomics of Body Fluids

CAI Fei, LING Ying-ying, LI Ling, SHEN Jing, ZHANG Yong

(Institutes for Systems Genetics, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: Glycosylation is one of the most common protein post-translational modifications (PTMs) and plays a critical role in regulating various biological functions by influencing protein folding, trafficking, and subcellular localization. Aberrant glycosylation patterns are closely associated with the onset and progression of numerous health conditions, including cancer, inflammation, autoimmune disorders, and other diseases. Glycoproteomics, as a key field dedicated to studying protein glycosylation, has demonstrated increasingly significant value in the discovery of disease biomarkers and the investigation of underlying pathogenic mechanisms. Human body fluids serve as a crucial “window” into disease information, with their glycoproteomes harboring rich pathophysiological insights. Mass spectrometry (MS) is a powerful tool for deciphering the glycoproteome of body fluids. In this review, a concise overview of the types and biological processes of glycosylation was provided, followed by an introduction to MS-based glycoproteomic workflows. Recent advances in MS-based glycoproteomic studies involving various human body fluids, such as

blood, urine, cerebrospinal fluid, tears, seminal plasma, milk, and saliva, were summarized with emphasis on current research regarding the types, abundance, and structural features of glycoproteins and glycans identified in these fluids. Furthermore, trends in glycosylation alterations under disease conditions and potential glycoprotein-or glycan-based biomarkers and therapeutic targets that have been discovered were highlighted. This review aims to offer a comprehensive perspective and reference for understanding the role of fluid-based glycoproteomics in disease and facilitating its clinical translation.

Key words: glycoproteomics; body fluid; glycosylation; biomarker; clinical application

糖基化修饰作为最普遍且最复杂的蛋白质翻译后修饰(PTMs)之一,在生命活动中扮演着至关重要的角色。它不仅影响蛋白质的正确折叠、三维构象稳定、亚细胞定位与运输,更是细胞信号转导、免疫识别、细胞通讯、细胞黏附以及宿主-病原体相互作用等关键生理过程的分子基础^[1-3]。根据连接的氨基酸不同(主要通过N-或O-糖苷键与肽链上的天冬酰胺或丝氨酸/苏氨酸残基连接),糖基化修饰主要分为N-糖基化修饰和O-糖基化修饰,其中N-糖基化是最为普遍的形式,在哺乳动物中约2/3的蛋白质可能发生N-糖基化修饰^[4]。此外,糖基化还参与调节细胞的生长、分化和凋亡等生物过程,因此对其机制的深入研究具有重要的临床意义。研究表明,糖基化修饰的异常与人类绝大多数重大疾病的发生、发展及预后紧密相关^[5-6]。异常的糖基化模式不仅是疾病的伴随现象,更是驱动其恶性进程的关键因素。在癌症中,特定糖型(如高岩藻糖基化、 β 1,6-分支增多、唾液酸化改变)可促进肿瘤细胞增殖、侵袭、转移及免疫逃逸^[5,7-8];在神经退行性疾病中,蛋白质的错误糖基化修饰(如异常糖化或O-GlcNAc修饰失衡)可直接影响A β 、Tau或 α -突触核蛋白的聚集与毒性^[6,9-10];而在自身免疫病与慢性炎症性疾病中,免疫球蛋白等效应蛋白的糖型改变可直接调控炎症反应的强度与持续时间^[11]。这些疾病特异性的“糖质密码”变化,通常稳定存在于分泌或脱落到体液的糖蛋白中,为发现高特异性、高灵敏度的液体活检生物标志物和新型治疗靶点提供了极具前景的研究资源^[12-13]。

然而,糖基化修饰本身具有的结构多样性与复杂性为其系统性研究带来了巨大挑战。传统蛋白质组学方法难以对其进行全面解析。在过去的20年间,以基质辅助激光解吸电离质谱

(MALDI-MS)和电喷雾质谱(ESI-MS)为代表的生物质谱技术,凭借其高灵敏度、高分辨率和强大的结构解析能力,已成为糖蛋白质组学和糖组学分析的重要工具。各类糖组学策略已被用于鉴定与表征来自生物和临床样本的整体聚糖^[14-15]。近年来,随着样品富集策略、质谱碎裂技术与生物信息学工具的持续革新,糖蛋白质组学方法日趋成熟,实现了对复杂生物样本中糖蛋白表达、糖基化位点、占据率及位点特异性聚糖结构的系统分析,极大地推动了对糖基化在疾病中作用机制的理解^[16-18]。

在此背景下,因人体体液(如血液、尿液、脑脊液等)获取简便、创伤小,并能综合反映机体整体健康状况及局部病理生理状态,已成为糖蛋白质组学研究的理想样本。体液中糖蛋白质组的变化被视为潜在的“液态活检”指标,尤其在癌症、神经退行性疾病、心血管疾病和代谢性疾病的早期诊断与预后评估中展现出巨大的应用潜力^[12,19]。因此,本文旨在系统梳理基于质谱的糖蛋白质组学在各类人体体液中的最新研究进展。首先,概述糖基化修饰的主要类型、生物合成途径以及关键技术研究策略;随后,围绕不同体液(包括血液、尿液、脑脊液、精液、泪液、唾液、乳汁等)的糖蛋白质组学研究,总结在癌症、神经退行性疾病、生殖健康、炎症等多种疾病背景下发现的特异性糖基化修饰变化规律、潜在生物标志物及功能影响,探讨它们在疾病诊断、分型及预后评估中的潜在价值;最后,讨论该领域当前面临的挑战并展望其未来临床转化的方向,以期对相关领域的研究者与临床工作者提供全面的参考。

1 糖基化修饰概述

PTMs是一种在蛋白质合成过程中或合成后

发生的共价改变,通常通过添加或移除功能基团实现,深刻影响蛋白质功能。目前已鉴定出300多种不同的PTMs,包括磷酸化、糖基化、甲基化、乙酰化和泛素化等。其中,糖基化修饰是最丰富且多样化的PTMs之一,依据氨基酸与糖链连接方式的不同,主要分为N-糖基化、O-糖基化、糖基磷脂酰肌醇锚定和C-糖基化等类型,示于图1^[20]。糖基化的生物合成是一个高度有序的酶促过程,主要在内质网和高尔基体中进行,由一系列特异的糖基转移酶和糖苷酶协同催化完成,其精确调控对蛋白质功能发挥至关重要。

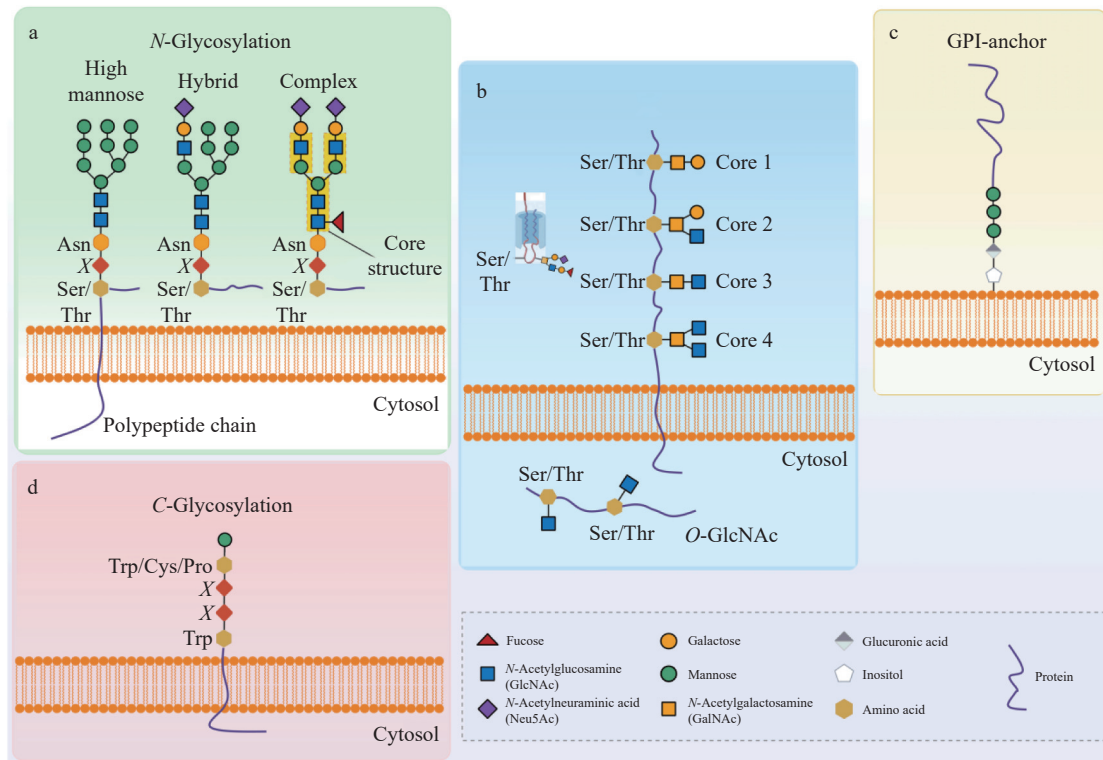
1.1 N-糖基化

N-糖基化修饰是真核生物中研究最为广泛且进化上高度保守的翻译后修饰^[21]。该过程始于内质网,由N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)通过 β -1,4-糖苷键与天冬酰胺(Asn)侧链的氮原子形成共价连接,需要内质网-高尔基体系统中多种酶(如 α -甘露糖苷酶和N-乙酰葡萄糖胺基转移酶)协同作用才能完成^[4]。这一反应通常发生在特定的保守序列,即Asn-X-Ser/Thr模体(其中X为除脯氨酸外的任何氨基酸)中的天冬酰胺残基上。N-聚

糖的合成是一个高度有序的多步过程:首先,在内质网中完成核心寡糖链N-聚糖的生物合成,始于内质网核心糖链(包含3个甘露糖(Man)残基和2个GlcNAc残基)的组装;随后,新生糖蛋白转运至高尔基体,经历一系列精细加工,包括由糖苷酶对甘露糖残基进行修剪,以及由多种糖基转移酶依次添加新的单糖(如半乳糖、岩藻糖、唾液酸等),最终形成结构多样的成熟N-聚糖^[7,22]。根据末端糖组成和分支模式,N-聚糖主要分为高甘露糖型、复杂型和混合型3种亚型^[23-24],示于图1a。N-糖基化在维持蛋白质正确三维结构与稳定性、调控细胞内折叠效率与质量控制,以及介导细胞识别与免疫应答等生物学过程中发挥着核心作用^[25]。异常的N-糖基化已被证实与癌症、心血管疾病、代谢紊乱及肾脏疾病等多种人类重大疾病的发生与发展密切相关^[8,11,26-27]。

1.2 O-糖基化

O-糖基化是一种重要的翻译后修饰过程,指聚糖通过O-糖苷键共价连接至丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)或酪氨酸(Tyr)残基的羟基上,该过程主要发生在细胞核与细胞质中^[21,28]。相较于



注: a. N-糖基化; b. O-GalNAc 和 O-GlcNAc 糖基化; c. 糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚定; d. C-糖基化

图1 蛋白质糖基化修饰的主要类型

Fig. 1 Main types of protein glycosylation modifications

N-糖基化, *O*-糖基化具有更高的结构复杂性与多样性, 其起始单糖可直接连接至蛋白质, 包括 *N*-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)、岩藻糖(Fuc)、甘露糖(Man)、葡萄糖(Glc)、半乳糖(Gal)和木糖(Xyl)等^[20]。根据核心单糖的不同, *O*-糖基化主要分为 *O*-*N*-乙酰半乳糖胺(*O*-GalNAc)糖基化和 *O*-*N*-乙酰葡萄糖胺(*O*-GlcNAc)糖基化两大类, 示于图 1b, 其生物学功能与特定修饰亚型密切相关^[29-30]。*O*-GalNAc 糖基化由高尔基体中多肽 *N*-乙酰半乳糖胺转移酶(GALNTs)家族催化发起, 将 GalNAc 通过 *O*-糖苷键连接至蛋白质的 Ser 或 Thr 残基, 形成核心 GalNAc-O-Ser/Thr 结构^[31-32]。随后, 该结构通过 β -1,3-半乳糖基转移酶(C1GALT1)等酶催化延伸, 形成核心 1(Gal β 1-3GalNAc)或核心 3(GlcNAc β 1-3GalNAc), 这些核心结构可进一步分支为核心 2(Glc β 1-6GalNAc)和核心 4(GlcNAc β 1-6GlcNAc β 1-3GalNAc), 最终形成结构多样的黏蛋白型 *O*-糖链, 在细胞黏附、润滑及信号转导等过程中发挥关键作用^[33]。而 *O*-GlcNAc 糖基化过程主要由 *O*-GlcNAc 转移酶(OGT)和 *O*-GlcNAc 酶(OGA)2 种酶动态调控, 该过程依赖于己糖胺生物合成途径(HBP), 代谢后的葡萄糖被分解, 与氨基酸、脂肪酸和核苷酸结合, 生成尿苷二磷酸 *N*-乙酰氨基葡萄糖(UDP-GlcNAc), 作为细胞内 GlcNAc 修饰的供体底物^[34]。OGT 利用 UDP-GlcNAc 将 GlcNAc 共价连接至靶蛋白, 进而调控其构象、稳定性及相互作用。作为一种重要的营养与应激感受器, *O*-GlcNAc 修饰广泛参与转录调控、细胞应激反应、代谢稳态及信号转导等关键生物学过程^[35-37]。

1.3 GPI 锚定与 C-糖基化

GPI 锚定是一种将蛋白质通过其 C 末端共价连接到糖基磷脂酰肌醇锚上, 从而将其锚定在细胞膜外侧的修饰方式, 示于图 1c, 其合成发生在内质网, 核心结构包含磷脂酰肌醇、1 个保守的聚糖核心以及 1 个磷酸乙醇胺桥, 该修饰是可逆的, 可被特定的磷脂酶切割^[38]。GPI 锚定对于许多细胞表面蛋白的正确定位和功能发挥至关重要。C-糖基化则是一种较为罕见的修饰, 其中甘露糖分子通过稳定的 C-C 键直接连接到色氨酸吡啶环的 C2 原子上^[39-40], 示于图 1d, 这种修饰对维持某些分泌蛋白和细胞外基质蛋白的稳定性具有重要作用。

2 体液糖蛋白质组研究策略

基于质谱的糖蛋白质组学研究遵循一套标准化的技术流程, 其核心在于通过对复杂生物样本中低丰度糖蛋白的高效富集与精准鉴定, 实现位点特异性糖型的鉴定与定量分析。整个工作流程始于以临床问题为导向的实验设计, 随后进入样本前处理阶段, 包括体液样本的收集、蛋白质提取、酶解、糖肽富集、糖链释放、质谱数据采集、生物信息学分析等环节, 示于图 2。

在样本前处理阶段, 由于体液样本(如血浆、尿液)具有成分复杂、存在高浓度盐分/离子干扰、蛋白质动态范围宽($>10^{10}$)的特点, 且糖肽在酶解后的肽段混合物中丰度低、电离效率差, 因此需进行标准化样本采集、高效蛋白质提取及均一酶解(常用胰蛋白酶), 旨在获得具有代表性且适于质谱分析的肽段基础。关键的糖肽富集步骤可解决糖肽信号易被掩盖的核心问题。目前主流策略包括基于糖肽强亲水性的亲水相互作用色谱(HILIC), 该方法通用性广、无糖型选择性偏见, 且操作简便、与质谱兼容性好, 是目前应用最广泛的富集技术^[41]; 凝集素亲和色谱(LAC)则基于凝集素与特定糖链结构的特异性识别结合能力实现靶向富集^[42]; 以及近年来迅速发展新型功能材料(如共价有机骨架、金属有机框架、磁性纳米颗粒等), 其通过表面修饰可增强与糖肽的特异性结合, 兼具高比表面积、大吸附容量与温和洗脱条件, 适用于从复杂基质中捕获低丰度糖肽^[41,43-44]。这些方法均能显著提升目标糖肽的相对丰度与检测灵敏度, 是成功鉴定糖肽的前提。

在质谱数据采集方面, 核心挑战在于如何从单个糖肽中同时获取完整的肽段序列信息(用于定位糖基化位点)和聚糖结构信息。为此, 多种基于 MS 的解离方法得以开发并应用于完整糖肽的研究, 如碰撞诱导解离(CID)、高能碰撞解离(HCD)和电子捕获/转移解离(ECD/ETD), 这些技术提升了对完整糖肽进行深度、精准检测与分析的能力, 是实现位点特异性糖型精确解析的关键^[45-46]。在采集策略上, 数据非依赖性采集(DIA), 尤其是窄窗口 DIA, 因其无偏性、系统性以及卓越的定量重现性, 正成为大规模临床队列研究的首选; 而平行反应监测则适用于对候选标志物进行高通量靶向验证。

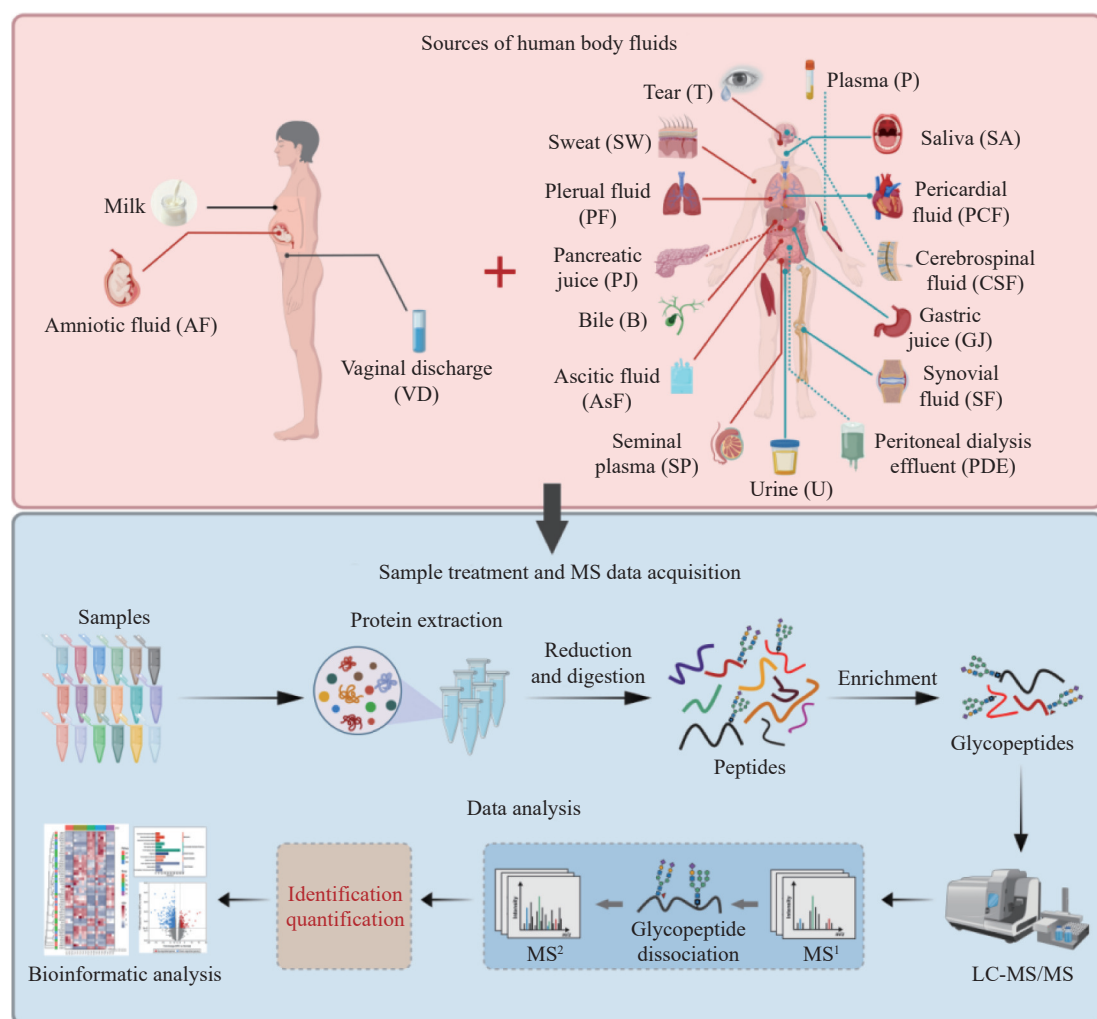


图 2 基于质谱的体液糖蛋白质组学工作流程

Fig. 2 Workflow of body fluid glycoproteomics based on mass spectrometry

随着质谱仪器性能的持续优化与新型数据采集方法的相继问世,糖蛋白质组学在检测覆盖深度与分析效率方面实现了一系列突破性进展。例如,为解决位点特异性聚糖分析中因谱图解析率偏低及数据依赖性采集固有随机性所导致的数据缺失问题,新开发的 GlyPep-Quant 等专用定量工具显著改善了数据的完整性与可靠性^[47]。近年来,Orbitrap Astral 等高分辨率质谱平台结合 nGlycoDIA 等窄窗口 DIA 方法,仅需简单的棉线亲水色谱富集与极短液相梯度(最短 10 min),即可实现对血浆糖蛋白质组的深度覆盖,凸显出极高的分析能力与临床转化潜力^[48]。在数据分析方面,功能强大的生物信息学工具更是解码复杂糖肽谱图的核心。pGlyco、Byonic、StrucGP 及 MSFragger-Glyco 等软件的迭代更新,实现了从糖肽自动鉴定、聚糖精细结构解析到相对定量

的全流程自动化分析,大幅提高了糖肽鉴定的准确性和可靠性^[49-51]。最终,通过将筛选出的差异糖蛋白或特异性糖型与临床表型进行关联分析,并结合机器学习等算法构建诊断或预后模型,能够建立一条从临床问题提出、原始样本分析,到生物学机制阐释乃至临床转化应用的闭环式研究路径。

3 体液的糖蛋白质组特征与疾病标志物

大量研究证据表明,在癌症、神经退行性疾病、生殖系统疾病等多种疾病状态下,体液中特定糖蛋白的糖基化修饰状态(如岩藻糖基化、唾液酸化等)会发生特异性且显著的改变。这些异常修饰不仅深度参与疾病的发生发展,更因其较高的稳定性和检测便捷性,展现出作为新型诊断标志物或治疗靶标的巨大潜力。下面将系统综

述各类体液中糖蛋白质组的研究进展,重点阐述在不同疾病背景下发现的特异性糖基化修饰变化、关键糖型特征及其生物学功能与临床转化价值。

3.1 血液

血液(blood)是获取机体生理与病理信息最为直接的生物样本来源之一。经体外分离处理后,主要可获得血浆和血清两类液体样本,二者因制备方式不同而各具特点,共同构成了糖蛋白质组学研究中至关重要的生物材料基础。血浆(plasma)是通过在采血管中添加抗凝剂获得的,保留了纤维蛋白原等所有可溶性蛋白成分,是临床诊疗中最常用且最重要的检测样本类型之一,其成分能够动态、全面地反映机体的生理状态与病理改变,是疾病研究不可或缺的生物样本资源。基于此,血浆糖蛋白质组学已发展成为疾病精准诊断、机制解析及治疗靶点发现的前沿研究领域,不仅能够揭示传统蛋白质组学手段难以捕捉的糖基化修饰调控规律,更在多种疾病中展现出独特的生物标志物开发潜力,持续推动着转化医学的创新发展。

在肿瘤领域,糖蛋白的异常表达与修饰为癌症的早期筛查、疗效监测提供了重要线索。例如,肺癌患者血浆中糖蛋白乙酰化水平与患病风险呈正相关,这可能有助于选择高风险人群进行肺癌筛查^[52]。在肝胆胰癌中,高岩藻糖基化 α 1-酸性糖蛋白(fAGP)在血浆中的表达水平显著升高,其诊断灵敏度优于传统肿瘤标志物,可有效降低传统肿瘤标志物的假阴性结果^[53]。在肝癌中,一项基于139例血浆样本(包括57例肝病对照、50例早期肝癌患者和32例晚期肝癌患者)的分析^[54]表明,触珠蛋白(Hp)的N-糖基化修饰随疾病进展发生显著演变:从肝硬化到早期乃至晚期肝癌,Hp糖链的岩藻糖基化、分支化及唾液酸化水平逐步升高,同时高甘露糖型糖链的表达也显著增加。其中,单一糖肽对早期肝癌的诊断效能优异,曲线下面积(AUC)达93%;而3种糖肽组合的AUC也超过80%,其诊断表现均优于传统标志物甲胎蛋白(AFP)。这些发现为早期肝癌的精准诊断提供了具有潜力的新型糖肽生物标志物。Mao等^[55]对前列腺癌患者的血浆样本进行N-糖蛋白质组分析,通过系统筛查肿瘤相关的糖基化修饰发现,高甘露糖型(Man5、

Man6)与核心岩藻糖基化糖链(GlcNAc-Fuc)在前列腺癌(PCa)患者血浆中的表达水平显著上调,这些糖型通过调控肿瘤细胞黏附、侵袭及免疫逃逸参与疾病进展,为低丰度肿瘤糖基化生物标志物的筛选提供了新思路。

在非肿瘤疾病中,血浆糖蛋白糖基化异常同样具有诊断价值。在IgA肾病中,一项纳入62例原发性IgA肾病患者、30例非IgA肾病患者及30例健康对照的血浆糖蛋白质组学分析显示,IgA1铰链区的O-糖基化修饰存在显著差异^[56]。IgA肾病患者铰链区的N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)和半乳糖数量显著低于对照组,两者联合临床指标构建的诊断面板AUC超过0.9,可有效区分IgA肾病与其他肾小球疾病及健康人群^[56]。在一项大型糖尿病认知障碍患者队列的血浆研究中, α 2-巨球蛋白、触珠蛋白等的唾液酸化三/四天线N-糖肽丰度降低,而转铁蛋白的3-唾液酸化三天线N-糖肽升高,这类唾液酸化多天线糖型构成特征性信号,其可作为该并发症的潜在生物标志物^[57]。Wessels等^[58]针对13种影响N-糖基化通路的遗传性疾病开展了大样本比较研究,纳入74例患者与40例健康对照,从34种血浆糖蛋白的58条独特肽段中鉴定出191种独特糖型,覆盖3个数量级的丰度范围。研究发现,不同类型先天性糖基化障碍(CDG)患者呈现特征性糖基化异常,甘露糖苷转移酶缺陷患者中高甘露糖型糖链(Man5、Man6、Man9)在转铁蛋白、 α 1-抗胰蛋白酶上异常积累;而糖链加工酶(岩藻糖转移酶、半乳糖转移酶)缺陷患者则出现核心岩藻糖基化糖链(GlcNAc-Fuc)、半乳糖基化糖链(Gal-GlcNAc)的显著缺失。这些位点特异性糖型变化的诊断特异性及样本分层能力均优于传统检测方法,为CDG的精准分型及发病机制解析提供了直接依据^[58]。总之,血浆糖蛋白质组学在疾病机制解析、生物标志物开发及治疗靶点探索中展现出多层面的应用价值,为精准医学提供了重要支持。

血清(serum)是血液凝固后析出的液体(不含纤维蛋白原和大部分凝血因子),因其制备流程简单,适用于大型队列的长期储存,已成为流行病学及转化医学研究中广泛应用的重要样本。血清中约75%的蛋白质存在糖基化修饰,基于高通量质谱技术建立的血清糖蛋白质组学技

术已在多种疾病研究中鉴定出大量具有临床诊断价值的特异性糖基化标志物。在肿瘤领域,血清糖蛋白质组学显示出重要的应用价值。Saraswat 等^[59]对 14 例口腔鳞状细胞癌(OSCC)患者及 12 例健康对照的血清样本进行无标记定量 *N*-糖组学分析,共定量了 5 212 个 *N*-糖肽,其中 4 094 个在两组间的表达水平存在差异。同时,该研究鉴定出 IgG1、IgG4、触珠蛋白和转铁蛋白等特异性糖型,可有效区分 OSCC 患者与健康人群。Silsirivanit 团队^[60]采用纳米液相色谱-四极杆飞行时间质谱(nano-LC-QTOF)技术对 19 例胶质母细胞瘤(GBM)、34 例脑膜瘤(MG)、3 例垂体瘤(PT)患者及 20 例健康对照组的血清进行分析,发现 GBM 和 MG 患者血清中唾液酸化 *N*-聚糖增加、岩藻糖基化 *N*-聚糖减少的特征性改变。此外,血清糖蛋白质组研究还揭示了乳腺癌^[61]、非小细胞肺癌(NSCLC)^[62-63]、多发性骨髓瘤(MM)^[64]等多种癌症的特异性 *N*-糖基化谱。在自身免疫与炎症性疾病中,血清免疫球蛋白的糖基化修饰改变是重要的病理特征。例如,IgG4 相关疾病(IgG4-RD)是一种慢性免疫介导的纤维炎症性疾病,其特征为多器官淋巴浆浸润和纤维化,常伴有血清 IgG4 水平异常升高。Hu 等^[65]采用基质辅助激光解吸电离-飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)及基于凝集素的酶联免疫吸附试验(ELISA),对 29 例健康对照与 26 例 IgG4-RD 患者的血清 *N*-糖组进行分析,发现 IgG4-RD 患者的血清 *N*-糖组呈现半乳糖基化水平降低及唾液酸化水平升高,且这些变化与疾病活动度及治疗反应密切相关。阿尔茨海默病(AD)是一种以进行性认知功能下降为特征的神经退行性疾病,目前已在全球范围内影响数百万人的健康^[66]。该病的早期诊断与干预至关重要且极具挑战性,尤其在区分常先于 AD 出现的轻度认知障碍(MCI)亚型方面。Onigbinde 等^[67]采用液相色谱-质谱(LC-MS/MS)联用技术对 28 例认知正常(CTRL)、10 例非遗忘性 MCI(naMCI)、14 例遗忘性 MCI(aMCI)及 12 例 AD 患者的血清样本进行 *N*-聚糖分析,共鉴定出 99 种 *N*-聚糖,其中 AD 患者唾液酸化显著上调、岩藻糖基化明显下调,提示糖基化修饰改变参与 AD 的疾病进程。此外,血清糖基化分析在妇科疾病^[68]、CDG^[69]等其他研究领域也展现出重要的应用潜力。近年

来,针对特定靶标糖蛋白(如触珠蛋白)的深度糖蛋白质组学分析平台得到进一步发展,成功实现了对胃癌^[70]、肝癌^[71]等疾病的高特异性糖基化标志物的精准筛选与鉴定。

综上所述,血浆与血清共同构成了血液糖蛋白质组学研究的主体。血浆样本更贴近体内的生理状态,而血清样本则在大规模、标准化临床研究中具有独特优势。两者相辅相成,有力推动了基于糖基化修饰的疾病生物标志物发现与精准医疗的发展。

3.2 尿液

尿液(urine)蕴含丰富的蛋白质组信息和翻译后修饰信息。迄今已在尿液中鉴定出超过 2 600 种糖蛋白,其糖基化变化与多种疾病状态密切相关^[72]。尿液样本易于获取,包含多种源自肾脏与远端器官的蛋白质、糖蛋白、肽及游离聚糖,这些分子主要来源于肾小球滤过、细胞脱屑、蛋白水解以及上皮细胞分泌的外泌体等多种途径^[73-74]。由于能够连续、非侵入性地收集,且能直观反映肾脏滤过功能,尿液已成为疾病诊断、动态监测和预后评估的理想样本^[75]。与血液样本相比,尿液不受稳态机制的严格调控,蛋白质动态范围较小,因此在捕捉早期、细微的分子变化方面具有独特优势,为生物标志物发现提供了良好的基础。目前,临床上常用的尿液检测指标包括蛋白尿和特定蛋白(如白蛋白),其表达异常常伴随疾病相关的糖基化修饰改变,提示糖基化修饰在疾病发生发展中具有重要调控作用。

在泌尿系统肿瘤研究中,尿液糖蛋白质组学已展现出重要的应用价值。例如,Guo 等^[76]比较了 8 例膀胱癌(BCa)患者术前和术后 3 个月的尿液样本,发现术前患者尿液中尿纤连蛋白的 GnT-III 介导的平分型 GlcNAc 修饰水平显著升高。对于前列腺癌,虽然传统诊断需依赖前列腺按摩后尿液,限制了其广泛应用,但多项研究已通过定量糖蛋白质组学技术,成功在前列腺按摩后尿液中鉴定出前列腺酸性磷酸酶、前列腺特异性抗原和簇蛋白等特异性标志物^[77-79]。尤其值得注意的是,一项深度尿液定量研究纳入 6 例 PCa 患者和 6 例良性前列腺增生(BPH)患者的尿液样本,从中准确定量出 729 种 *N*-糖蛋白,涵盖 1 310 个独特的 *N*-糖基化位点,在这两种患者人群中分别鉴定出 954、965 条独特的完整

N-糖肽和 *O*-糖肽, 并构建了 1 个由 56 个完整 *N*-糖肽组成的生物标志物组合, 该组合在区分 PCa 与 BPH 时表现出卓越的诊断性能 ($AUC=1$)^[80]。尿液细胞外囊泡 (EVs) 同样被视为肿瘤生物标志物的重要来源。Brown 等^[81]从尿液中富集外泌体并进行糖蛋白质组学分析, 共鉴定出 3 144 个独特的糖基化事件, 涉及 378 种糖蛋白及 604 个独特的糖基化位点; 进一步分析显示, 每个糖基化位点平均含有 5.9 个糖链, 且不同蛋白质上的糖链家族丰度存在差异, 这为肿瘤分子特征的精准分析提供了额外维度。Cai 等^[82]开发了一种化学糖蛋白质组学策略 EVscope, 将其应用于 368 例前列腺相关疾病患者的尿液样本后, 成功鉴定出 1 121 种 EVs 表面蛋白, 建立了迄今规模最大的尿源性 EVs 表面组数据集, 并筛选出组织蛋白酶 L、整合素 $\alpha 3$ 、纤维蛋白原 β 链和四跨膜蛋白-1, 将其作为潜在的 PCa 无创生物标志物。

除泌尿系统肿瘤外, 尿液糖蛋白质组学在神经退行性疾病领域同样展现出良好的应用前景。在 AD 疾病早期即可检测到 Tau 蛋白的糖基化修饰异常, 可能促进其过度磷酸化^[83]。尽管脑脊液能够为中枢神经系统疾病提供最直接的生化信息, 其被应用于帕金森病 (PD) 的诊断、鉴别和进展监测, 但因存在采集方式侵入性、样本获取量有限、生物标志物变异性大及诊断特异性不足等问题, 限制了其在常规临床诊疗中的推广应用^[84-85]。因此, 血清、尿液和唾液等外周生物体液越来越多地被应用于 PD 生物标志物的筛选^[86]。一项纳入了 30 例健康对照组和 40 例 PD 患者的研究发现, PD 患者尿液中 *N*-糖基化修饰的整体丰度下降, 其中 10 种双天线半乳糖化 *N*-糖链丰度显著减弱, 并在 AMBP、UMOD 和 RNase1 等蛋白质上发现了 PD 特异性的糖基化修饰位点^[87]。为克服单一液体分析的局限性, Zhao 等^[88]创新性地对 40 例 PD 患者和 30 例健康对照组的血清、尿液和唾液进行整合糖蛋白质组学分析, 发现血清中的 ATP11B 和簇蛋白 (CLU) 表达水平显著上调, 而尿液中的 ATP11B 表达水平下调、髓过氧化物酶 (MPO) 表达水平上调。值得注意的是, 锌- α -2-糖蛋白 (AZGP1) 在 3 种体液中均被检出, 且在不同体液中呈现相反的糖基化修饰调控模式, 这一发现为理解 PD 的系统性分子改变提供了新视角。此外, 尿

液糖蛋白质组学在糖尿病肾病、IgA 肾病等肾脏疾病, 以及肝癌、肺癌和胃癌等非泌尿系统肿瘤中同样表现出良好的应用潜力^[79,89-91]。

目前, 尽管已有部分尿液糖蛋白/糖型标志物的相关研究展现出良好的临床应用前景, 如尿调节素 (uromodulin) 的糖型改变及特定尿外泌体糖蛋白的研究等, 但此类标志物在临床常规诊疗中的应用较为有限, 亟需开展更大规模的验证研究加以佐证^[89]。尿液糖蛋白质组学研究仍面临诸多技术挑战, 主要源于样本中蛋白质浓度低、盐离子浓度高以及存在干扰物质等因素。为解决这些问题, 研究者们开发了多种优化的富集和质谱分析策略。例如, 利用 LC-MS/MS 技术进行完整糖肽分析, 可有效鉴定尿液中的糖蛋白及其糖基化位点。这些技术的进步使得尿液糖蛋白的无创检测成为现实, 为深入理解疾病状态及发现潜在生物标志物提供了重要手段^[92]。

3.3 脑脊液

脑脊液 (cerebrospinal fluid, CSF) 成分可直接反映大脑的生理与病理状态, 目前已广泛应用于神经炎症、感染性疾病、神经退行性疾病及肿瘤的诊断中^[93-94], 重要的临床指标包括总蛋白含量、葡萄糖浓度、细胞计数以及特定蛋白 (如 A β 和 Tau)。然而, CSF 通常需通过腰椎穿刺获取, 这在一定程度上限制了临床上的广泛应用。CSF 中的糖蛋白作为参与神经元功能调控的关键分子, 其异常糖基化修饰与多种中枢神经系统 (CNS) 疾病的发生发展密切相关, 是疾病早期诊断、亚型鉴别及预后评估的重要研究靶点^[93,95]。CSF 糖蛋白组的一个核心特征在于其独特的脑特异性糖基化模式。例如, α -突触核蛋白 (α -Syn) 的 *O*-GlcNAc 糖基化修饰不仅能够调节其异常聚集过程和神经毒性, 还可抑制 α -Syn 淀粉样蛋白菌株的活性, 从而减少其在细胞间的“播种”扩散及相关的病理表现^[10,96]。神经元表面受体的糖基化缺陷则会损害突触传递并破坏关键的神经功能, 包括细胞信号传导、轴突转运和突触可塑性^[97-98]。此外, 研究发现, 脑源性糖蛋白 (如前列腺素 H2-D 异构酶) 通常富含平分型 GlcNAc、近端岩藻糖及截短天线结构, 而血浆来源的糖蛋白则主要表现为完全唾液酸化的复杂型 *N*-糖链^[99]。这一差异为区分 CNS 局部病变与全身性影响提供了分子依据。例如, 转铁蛋白的脑型异构体与

血清型异构体的比值在 AD 和脑白质消融病等疾病中呈现异常,可作为有效的诊断指标;在先天性糖基化障碍(ALG6-CDG)患者中,观察到脑源性糖蛋白存在糖基化缺失,这一发现弥补了传统血浆标志物难以反映脑内病理改变的不足^[99]。在 AD 的相关研究中,CSF 糖蛋白展现出多维度的糖基化异常特征。例如,Chen 等^[93]通过对 16 名健康对照者和 16 名 AD 患者的 CSF 样本进行分析,共鉴定出 2 893 个完整的 *N*-糖肽,分别来自 511 个 *N*-糖基和 285 个 *N*-糖蛋白。其中, α 1-抗糜蛋白酶唾液酸化糖链异常增加、类表皮生长因子受体 A3 的糖基化缺失、以及整体唾液酸化水平下降、平分型 GlcNAc 富集等特征,不仅能有效区分 AD 患者与健康人群,更与疾病进程高度相关;而非转移性黑色素瘤蛋白 B(GPNMB)的糖基化改变则显示出良好的预后评估潜力^[100]。

在 PD 中, α -突触核蛋白的 *O*-GlcNAc 糖基化修饰水平降低,这一特征有助于将其与其他脑部疾病进行鉴别。而在亨廷顿病中,核心岩藻糖基化 *N*-糖链的异常增加可作为监测疾病进展的潜在生物标志物^[101]。联合糖组学与糖蛋白质组学研究还鉴定到转铁蛋白、 β -痕迹蛋白等脑型糖基化特征,可作为 CNS 疾病的通用筛查指标,有效解决了临床初步分诊的难题^[102];此外,稳定同位素标记技术的应用也为糖肽标志物的标准化定量提供了技术支撑^[103]。综上,CSF 糖蛋白的糖基化特征已在 CNS 疾病诊断中展现出独特价值,其应用场景覆盖通用筛查、疾病特异性诊断及预后评估等多个维度。未来经多中心临床验证与检测技术标准化,有望推动其临床转化,为 CNS 疾病的精准医疗提供新的诊断工具。

3.4 精液

精液(semen)由精子和精浆组成,其中精浆糖蛋白质组对维持精子功能、调控生殖免疫微环境及保障受精成功至关重要,糖基化修饰贯穿精子发生、成熟、获能乃至受精的全过程,其修饰异常是导致男性不育的重要病因^[104-105]。近年来,随着糖蛋白质组学技术的快速发展,尤其是基于 MS 的高通量分析平台的构建,研究者已能够对精液中的聚糖和糖蛋白进行大规模解析,为系统绘制精浆糖基化图谱奠定了基础。研究人员还开发了多种集成化分析策略,如基于互补

碎裂模式的 GlycoTCFM 技术^[106]、可同步解析 *N*-与 *O*-糖肽的 GlycoIP 平台^[107]、集合多功能的 EV *N*-糖蛋白组分析平台(EVGpro)^[108]以及结合 StrucGP 软件实现高精度结构解析的位点特异性糖蛋白质组学方法^[109],成功实现了对精浆及其胞外囊泡中完整 *N*-与 *O*-糖肽的大规模、位点特异性解析。上述研究已分别鉴定出 1 833 条 *N*-糖肽和 720 条 *O*-糖肽的精确信息^[107],并揭示了超过 9 000 条糖肽的复杂构成^[109],同时还量化了 5 807 条 EV *N*-糖肽,验证了 PRELP、DPP4、MUC6、BGN 和 MSLN 等 5 个具有高诊断价值的糖蛋白,首次依据分子特征将弱精症划分为 AZS-C1 和 AZS-C2 两种分子亚型^[108]。

在此基础上,针对男性不育的精浆糖蛋白质组学研究进一步阐明了其特异性的糖基化改变模式。例如,Xin 等^[110]对比了 9 例健康者和 9 例弱精症患者的精浆糖蛋白质组,通过对精浆中 5 018 个完整 *N*-糖肽的分析,从 34 种差异糖蛋白中鉴定出 92 个完整 *N*-糖肽,发现弱精症患者精浆中岩藻糖基化修饰呈普遍上调趋势,其中包含 Lewis X、Lewis Y 及核心岩藻糖等结构的聚糖在多种糖蛋白上富集。凝集素相关研究进一步证实,不育男性精浆糖蛋白的岩藻糖修饰密度显著高于正常生育男性^[111]。此外,Palenikova 团队^[112]通过质谱比较了 43 例正常、弱精症及少弱畸精子症患者的精浆唾液酸蛋白,鉴定出精液凝胶蛋白、催乳素诱导蛋白、乳铁蛋白等精浆唾液酸化蛋白,这些蛋白参与调控免疫反应和精子凋亡,其唾液酸化程度与精子及生殖器官潜在的病理状态密切相关,提示其可作为精液质量的潜在指标。近期研究还发现,体外受精失败患者的精子中 α GalNAc(Tn 抗原)等糖谱表达下调,而另外泌体中 T 抗原及唾液酸化 T 抗原表达上调^[113]。这些特定的糖基化修饰直接参与调控精子相关的关键生物学功能。例如,精浆中丰富的 Lewis X/Y 表位被证实可调节母体免疫耐受^[114],而外泌体来源的特定聚糖(如 DBA 识别的糖结构)甚至能以剂量依赖的方式提升精子活力,为优化辅助生殖策略提供了新方向^[113]。针对精子自身糖蛋白质组的研究也揭示了其独特的糖基化特征,与精浆相比,精子蛋白的唾液酸化水平更低、低甘露糖化比例更高,且不同糖型在顶体、细胞膜等区室呈现精准的功能化分布^[115]。

综上所述,精液糖蛋白质组学研究已从结构鉴定阶段迈入功能探索与临床转化的新阶段。岩藻糖基化与唾液酸化等特定糖基化模式的异常改变,不仅是极具潜力的男性不育诊断生物标志物,其本身也深度参与并调控男性不育的病理过程^[110,112,116]。未来,通过整合多组学数据并聚焦外泌体等功能载体,有望为男性不育的病因解析与新型诊疗策略的开发提供新的突破口。

3.5 泪液

泪液(tear)是可通过非侵入方式获取的生物样本,为眼部及全身性疾病的生物标志物发现提供了宝贵来源。泪液蛋白质组学已被广泛应用于多种疾病的诊断与预后生物标志物研究,其中糖基化作为调节眼表稳态的关键因素,其异常表达与气候性角膜炎、糖尿病视网膜病变、特应性角结膜炎(AKC)/春季角结膜炎(VKC)等多种眼病密切相关^[117-119]。因此,解析泪液糖基化谱对于疾病生物标志物的筛选及疾病诊断具有高度的特异性与灵敏度。有研究表明,炎症应激可导致眼部自身免疫性疾病中的N-聚糖加工缺陷^[120]。例如, Messina等^[119]针对严重的过敏性眼病(VKC/AKC),收集了11例健康者、23例VKC患者及7例AKC患者的泪液进行N-糖组学分析,共鉴定出150余种N-糖链,发现健康者泪液以高度岩藻糖基化聚糖为主,而AKC患者的非岩藻糖基化糖型呈显著增加,且该变化与炎症严重程度呈正相关。类似地, Vieira团队^[121]利用MS对51名受试者的泪液(28例健康者、23例眼部玫瑰痤疮患者)进行糖组学分析,鉴定出50种N-聚糖和70种O-聚糖,发现玫瑰痤疮患者泪液的N-聚糖岩藻糖基化水平降低,同时硫酸化O-糖链数量大幅增加,提示N-聚糖岩藻糖基化程度下降可能是该疾病的潜在生物标志物。另有研究采集了健康对照者、无视网膜病变糖尿病患者及糖尿病合并视网膜病变(DR)患者的少量基底泪液(5 μ L),对N-连接与O-连接泪液蛋白的糖组进行系统表征^[122]。结果显示,在检出的50种N-连接聚糖中,高丰度结构在3组间未发生改变,仅5种低丰度N-连接聚糖和1种低丰度O-连接聚糖随糖尿病(DM)及DR的发生发展产生改变,表明个体间基底泪液蛋白的聚糖类型具有保守性,提示DM及DR发展过程中泪液蛋白的聚糖表达仅发生微小改变。

在干眼症等相关眼病研究中,基于凝集素亲和的富集策略有效解析了泪液糖蛋白组的特异性位点。有研究通过该方法富集泪液中糖蛋白后,采用高分辨质谱鉴定出11个糖蛋白上的26个N-糖基化位点,其中乳转铁蛋白、IgA重链等蛋白的特异性糖基化是研究干眼症分子机制的潜在生物标志物^[123]。随着分析技术的不断进步,相关研究正从糖链组成分析逐步向精准糖蛋白结构解析与功能探究深化。近期一项研究利用MS首次对泪液开展O-糖蛋白质组学分析,系统绘制了关键泪液蛋白乳铁蛋白(lacritin)的糖基化图谱,鉴定出19个存在多种聚糖结构的O-糖基化位点,同时创新性地结合AlphaFold 3.0与GlycoShape模型可视化分析了这些糖链对其结构的影响,揭示了O-糖基化在维持蛋白质刚性伸展构象中的关键作用^[124]。该研究不仅深化了对糖基化调控蛋白功能机制的认知,也标志着泪液糖蛋白质组学研究迈向了结构化解析和功能探索的新阶段。

3.6 唾液

唾液(saliva)作为可无创获取的生物体液,主要由唾液腺分泌,可通过刺激或非刺激方法获取。近年来,唾液中的糖蛋白在疾病诊断与监测方面的价值备受关注,其理化特性及病理状态下的变化逐渐成为研究热点。唾液糖蛋白构成的三维网络与其流变学行为密切相关,例如,唾液的剪切稀化特性即归因于其中多孔性糖蛋白网络结构。尽管该结构可能导致分析物分布不均,但并未显著影响唾液葡萄糖的均一性。研究表明,89%空腹唾液样本与92%餐后唾液样本在分装后的变异系数低于10%,且空腹唾液葡萄糖具有良好的稳定性,这为其作为血糖监测的无创标志物提供了依据^[125]。在肺癌中, Liu等^[126]基于10例NSCLC患者与10例健康对照的唾液样本进行N-糖蛋白质组学分析,共表征约400种N-糖蛋白,鉴定出600余个N-糖基化位点及2000个位点特异性完整N-糖肽。研究发现,触珠蛋白、黏蛋白-5B等糖蛋白的N-糖基化位点特异性糖型显著失调,共筛选出154个差异N-糖基化位点和259种差异糖型,为肺癌非侵入性检测提供了潜在标志物。另有研究聚焦于肺癌潜在标志物锌- α -2-糖蛋白(AZGP1),在10例肺癌与20例健康对照的唾液中鉴定出300多种N-糖蛋

白,并对AZGP1的糖型进行深度解析,共鉴定出15种聚糖组成及22种潜在聚糖结构,其中5种为肺癌特异性糖链,包括Asn128位点的核心岩藻糖基化糖型,为提升肺癌检测的特异性提供了关键依据^[127]。Plomp等^[128]通过对比分析19例健康人血浆与唾液中免疫球蛋白的糖基化谱,揭示了口腔特异性抗体糖型的形成机制。结果表明,唾液来源的IgG其半乳糖基化与唾液酸化水平略低于血浆IgG;而唾液IgA(包括IgA1、IgA2及其连接链JC)则呈现更高的二分率,且半乳糖基化与唾液酸化程度显著低于血浆来源对应蛋白质。尤为重要的是,在唾液分泌型IgA的分泌组分上,所有鉴定到的N-糖基化位点均修饰有高度岩藻糖基化且完全半乳糖基化的双天线N-聚糖。此外,多种唾液糖蛋白在炎症性疾病与神经退行性疾病中呈现特征性改变。乳铁蛋白作为一种铁结合糖蛋白,在牙周炎患者唾液中表达水平显著升高,且与牙龈卟啉单胞菌丰度、牙周袋深度及临床附着丧失等疾病严重程度指标呈正相关^[129]。与之相反,AD患者唾液中的乳铁蛋白水平降低,并与早期认知功能(如记忆与视觉空间能力)下降有关,提示其或可作为AD早期筛查的潜在标志物^[130]。嗜铬粒蛋白A(CgA)作为反映交感-肾上腺髓质系统活化的糖蛋白,在重度(III期)牙周炎患者唾液中显著升高,这一变化可能反映了与疾病严重程度相关的系统性应激反应^[131]。综上,唾液蛋白质的糖基化修饰在肺癌、PD、AD及牙周炎等多种疾病中均发生显著改变,这些发现不仅揭示了唾液糖蛋白在疾病发生发展机制中的重要作用,也为其作为无创诊断与动态监测的工具提供了实验依据^[126,132-133]。

3.7 乳汁

人乳(milk)蛋白质具有高度糖基化特征,约70%人乳蛋白存在糖基化修饰^[134],这些糖基化修饰对蛋白质的折叠、稳定性及功能至关重要,在婴儿的免疫保护、肠道菌群定殖及器官发育中发挥关键作用。人乳糖蛋白主要来源于乳清蛋白、酪蛋白以及乳脂肪球膜(MFGM)蛋白。其中,乳铁蛋白、分泌型免疫球蛋白A(sIgA)等乳清糖蛋白是黏膜免疫的核心效应分子;而MFGM蛋白的糖基化修饰则广泛参与细胞识别与信号转导过程。目前,人乳蛋白质组研究已较为系统

深入,但针对其糖蛋白组,特别是位点特异性糖基化研究仍处于发展阶段,现工作主要集中于解析N-糖蛋白的修饰特征^[135-136]。例如,有研究通过亲水作用液相色谱(HILIC)联用质谱技术,从单一供体的人乳样品中鉴定出32种蛋白质上的63个N-糖基化位点^[137];另有研究采用多重反应监测(MRM)技术,对3份乳样中7种乳蛋白及其位点特异性N-糖基化进行定量分析^[138]。为系统揭示哺乳过程中的糖基化动态变化规律,Cao等^[139]通过定量糖蛋白学技术比较了不同哺乳阶段乳蛋白的位点特异性糖基化特征,发现初乳与成熟乳中存在38个差异表达糖蛋白,涉及补体与凝血级联等通路。该团队进一步比较了初乳和成熟乳之间母乳脂球膜(MFGM)蛋白的N-糖基化修饰特征,鉴定出220种N-糖蛋白和304个N-糖基化位点,且两者间存在显著的差异表达^[140]。此外,人乳和牛奶,以及哺乳期足月奶和早产奶中糖蛋白和聚糖表达已被证明会发生改变,提示其生物学功能具有物种与生理状态特异性^[141-144]。

在众多乳清糖蛋白中,乳铁蛋白(lactoferrin)和sIgA的糖基化研究最为深入。乳铁蛋白的糖基化存在显著的物种差异与动态演变。人与牛、山羊等动物乳中乳铁蛋白的糖型结构及复杂度差异显著,且随着哺乳期的推进,牛乳中高甘露糖型聚糖的比例上升,而人乳中唾液酸化修饰呈逐渐增加的趋势^[145]。Jia等^[146]发现,牛乳乳铁蛋白的N-聚糖种类从初乳的32种下降至成熟乳的20种,且高甘露糖N-聚糖的相对含量随哺乳期延长显著增加。与之相反,Lu等^[147]则在人初乳、过渡乳和成熟乳的乳铁蛋白中分别检测到27、37和33种N-聚糖,其唾液酸化N-聚糖的相对含量会随哺乳期延长呈上升趋势。这种物种特异性的糖基化动态变化模式,提示其可能是为了适应不同物种新生儿的特定生理需求。与乳铁蛋白类似,sIgA也表现出高度的糖基化复杂性。例如,Huang等^[148]通过对3例人初乳样本中sIgA的深入分析,发现其分泌组分、J链与重链上分布多个N-与O-糖基化位点,这是构成其功能多样性的结构基础。

乳脂肪球膜(milk fat globule membrane, MFGM)蛋白是人乳中复杂度最高的糖蛋白组分之一,其研究历程清晰体现了从组分鉴定到位点特异性

定量分析的技术发展脉络。早期研究主要聚焦于4种主要MFGM糖蛋白的N-聚糖图谱。随着糖蛋白质组学和糖组学技术的发展,相关研究逐渐拓展至牛、山羊等不同物种MFGM糖基化的比较分析,以及哺乳期内糖基化表达的动态变化。Yang等^[149]较系统地揭示了人与其他哺乳动物乳汁中乳清与MFGM组分的N-糖蛋白组差异。对MFGM蛋白N-糖基化的分析显示,其在哺乳期间呈现大规模动态变化。有研究在人初乳和成熟乳中鉴定出506种糖蛋白上的912个N-糖基化位点,其中304个位点存在显著差异。这些差异糖蛋白功能广泛,且显著富集于吞噬体、细胞黏附分子等关键信号通路,为深入解析MFGM糖蛋白在婴儿发育中的复杂生物学功能提供了宝贵的分子基础^[140]。Cao等^[150]利用去糖基化蛋白质组学技术,从人MFGM中鉴定出912个独特N-糖基化位点和506种N-糖蛋白,发现此类N-糖蛋白主要具有修饰氨基酸结合、抗原结合、受体活性及酶调节活性等分子功能。为明确位点特异性糖型信息,Guan等^[151]收集了45例健康人乳样本,对348种MFGM糖蛋白上的3599个位点特异性N-聚糖进行系统表征与定量分析,揭示了部分聚糖结构具有显著的位点特异性。然而,上述研究均仅针对N-糖基化,人MFGM蛋白的O-糖基化等其他翻译后修饰研究有待进一步深入。

随着分析技术进步,基于HILIC的自动化平台实现了仅用150 μg 母乳蛋白即可对约1700条完整N-糖肽进行高通量监测,使得在全球范围内定量追踪哺乳期内岩藻糖基化(尤其是末端岩藻糖基化)水平上升等宏观趋势成为可能^[152]。在精准绘制糖基化图谱的基础上,研究者开始探索乳汁蛋白糖基化修饰与婴儿健康发育的具体关联,其中乳汁糖基化的差异特征可能与特定疾病的发生风险相关。一项早期研究对比了过敏与非过敏母亲母乳的蛋白质组,发现有19种蛋白质的表达水平在两组间存在显著差异,提示此类蛋白质可能与儿童过敏和哮喘有关^[153]。为探究“农场效应”背后的分子机制,Holm团队^[154]利用定量糖蛋白质组学技术,分析传统农耕社区与城市地区共54例母亲母乳的N-糖蛋白谱,结果发现,2个群体间有38种糖肽的丰度存在显著差异,其中6种N-糖肽可预防儿童特应性疾病,

16种可预防母亲特应性疾病。这表明,母乳蛋白质的差异性糖基化可能是环境因素编程新生儿免疫系统,进而影响其过敏易感性的关键介质,也为通过母乳成分干预实现过敏疾病的早期预防开辟了新的研究方向。

3.8 滑液

滑液(synovial fluid, SF)是关节腔内的核心体液,其成分直接反映关节组织的生理与病理状态^[155]。糖蛋白作为滑液中参与关节润滑、保护软骨及免疫调节的关键分子,其表达水平与糖基化修饰异常已成为骨关节炎(OA)、类风湿性关节炎(RA)、人工关节松动相关疾病的重要生物标志物来源^[156]。在OA中,润滑素(PRG-4)的O-糖基化异常是核心特征之一。Svala等^[157]采集18例马的关节滑液样本(含正常关节、结构性骨关节炎病变关节,及伴/不伴软骨碎片的病变关节)分析润滑素糖基化谱发现:正常关节SF中润滑素的核心1型O-糖链以二唾液酸化为主;而OA关节及含软骨碎片的关节中,单唾液酸化核心1型O-糖链占比显著升高、二唾液酸化水平下降,这种唾液酸化修饰减少或削弱关节表面润滑功能已成为OA进展的早期事件。另一项研究基于质谱技术分析5例OA患者的滑液,结果表明,OA患者SF中 α 2,6-相关唾液酸减少,共定位到润滑素的199个O-糖基化位点,其O-糖链呈广谱分布,且仅存在最长剪接异构体,与血浆中唾液酸化结构存在差异,为微创筛查工具的开发提供了依据^[158]。犬前交叉韧带断裂模型显示,滑液中润滑素浓度较健康对照组升高近16倍,提示其可作为关节损伤早期诊断的潜在标志物^[159]。除润滑素外,OA患者血清及滑液中血小板反应蛋白-1(TSP-1)水平显著降低,与关节损伤程度呈负相关;卵泡抑素样蛋白1(FSTL1)浓度升高,且与疾病分级、关节间隙狭窄程度密切相关,二者均可作为评估病情严重程度的辅助指标^[156]。

在炎症性关节疾病中,糖蛋白标志物在亚型鉴别与病情监测方面表现出重要应用价值。RA患者SF中基质金属蛋白酶-3(MMP-3)的O-糖链 α -2,6唾液酸化水平存在异常,其ACG/Jacalin比值与疾病活动度高度相关,且治疗后该比值随病情缓解而发生相应改变,特异性优于传统检测指标^[160]。植入物松动是全关节置换后的严重并

发症,针对化脓性与无菌病例的鉴别诊断, Sowislok 等^[155]对 8 例接受化脓性植入物修复术患者和 13 例无菌植入物失败患者的滑液进行蛋白质组分析,发现感染组 SF 中富含亮氨酸 α -2-糖蛋白 1 (LRG1),其表达水平升高了 9.07 倍,该指标联合传统检测指标可进一步提升鉴别诊断的准确性。有研究^[161]采用转录组学结合滑液蛋白质定量分析,发现无菌性松动患者滑液中糖蛋白 GPNMB 水平显著升高,为早期无创诊断提供了新的候选标志物。青少年特发性关节炎(JIA)不同亚型也呈现出特异性的滑液糖蛋白表达特征,例如寡关节型中 LRG1 特异性上调,为该疾病的亚型分型提供了分子依据^[162]。此外,前交叉韧带断裂后,滑液中 MMP-1、MMP-3 等糖蛋白类软骨降解酶的表达水平随时间推移逐步升高,反映了创伤后关节的持续性炎症与软骨退变进程^[163]。综上所述,滑液糖蛋白凭借其在关节环境中的功能特异性与修饰敏感性,已在骨关节疾病的早期诊断、亚型鉴别、病情监测及预后评估中展现出多方面的应用价值。

3.9 汗液

汗液(sweat)是人体皮肤的天然分泌液,其所含的抗菌肽、盐分以及糖蛋白等组分共同构成皮肤保护屏障^[164]。汗液成分具有高度动态性,会随病理状态发生显著改变,还可反映个体饮食、代谢乃至药物使用情况,已有研究通过分析汗液评估机体代谢特征,证实其在无创监测中的应用潜力^[165-168]。此外,汗液蛋白质分析不仅可辅助活动性结核病的诊断,还能用于肺癌筛查,进一步凸显其在精准医学中的应用前景^[167-169]。与唾液、泪液等体液类似,汗液中的分泌型糖蛋白可作为分子诱饵,通过自身糖链结构与皮肤微生物发生相互作用,在维持皮肤微生态稳态中发挥关键作用^[170]。然而,细菌与汗液糖蛋白糖链间的具体相互作用机制尚未完全阐明。一项研究对汗液进行了系统的蛋白质组与糖组学分析,通过质谱检测汗液样本中的 *N*-聚糖,发现汗液 *N*-聚糖以高甘露糖型、杂合型及复杂型为主,其中复杂型 *N*-聚糖多为唾液酸双天线结构,部分还伴有岩藻糖修饰。唾液酸化双天线结构与岩藻糖化双天线结构通常是所有检测样本中丰度最高的聚糖种类。功能实验证实,这类糖链是表皮葡萄球菌粘附的关键靶点,其中唾液酸与岩藻

糖是重要的识别表位。竞争抑制实验进一步证明,当岩藻糖以 Type 2 链结构(如 Lewis Y 抗原)存在时,对细菌黏附的抑制效果最显著^[171]。

除微生物的相互作用外,特定糖蛋白的表达与定位也为解析汗腺生物学特征提供了重要线索。为明确癌胚抗原(CEA)与上皮膜抗原(EMA)在汗腺中的超微结构定位,有研究采用免疫金技术对正常皮肤、汗腺肿瘤及内脏癌皮肤转移灶进行染色分析,首次精准描绘了这 2 种糖蛋白在汗腺内的生物合成与运输路径:从内质网完成合成到运输囊泡的处理,最终作为膜整合成分定位于微绒毛腔面^[172]。尤为重要的是,这种细胞极性在良性汗腺肿瘤中得以保持,而在恶性病变中则发生显著丧失。这一发现不仅揭示了 CEA 与 EMA 在汗腺上皮分化及分泌中的调控作用,也为汗腺肿瘤的良恶性鉴别提供了超微结构层面的重要依据。

3.10 胆汁

胆汁(bile)来源于肝胆系统,其蛋白质及糖蛋白组成可直接反映胆道的生理与病理状态。目前,基于高通量质谱的胆汁蛋白质组学研究已取得诸多进展,在疾病分型、机制解析及生物标志物发现等方面成果显著。例如,在原发性硬化性胆管炎(PSC)患者的胆汁中,研究人员鉴定出超过 300 个特异性上调的蛋白质,其中膜联蛋白 A1(ANXA1)展现出卓越的诊断潜力($AUC=0.914$),并提示中性粒细胞免疫应答在疾病的发生中发挥核心作用^[173]。在对坏疽性胆囊炎与慢性胆囊炎开展的比较蛋白质组学研究中,共鉴定出 575 个差异表达蛋白,系统勾勒出以细胞死亡、坏死通路激活及代谢抑制为特征的失代偿分子图谱^[174]。此外,在肝脏移植领域,对常温机械灌注(NMP)过程中胆汁的纵向蛋白质组学分析表明,其蛋白质谱可动态反映供肝从损伤到修复的全过程,其中与“细胞增殖”相关的再生蛋白质特征为无创评估供肝质量提供了全新标准^[175]。然而,由于糖基化分析的复杂性,针对胆汁的糖蛋白质组学研究仍相对匮乏,当前研究主要聚焦于胆管癌,且高度依赖凝集素富集策略。一项开创性研究利用紫藤凝集素(WFA)辅助的糖蛋白质组学方法,从胆管癌组织中成功筛选出 L1 细胞粘附分子(L1CAM)作为高特异性标志物,其在胆汁和血清中的 WFA 阳性糖型可有效区分良

恶性病变($AUC=0.82$), 且与 WFA 识别的唾液酸黏蛋白 1(MUC1)联用时, 诊断效能可大幅提升至 0.93^[176-177]。除特定糖蛋白外, 一项基于凝集素印迹的研究进一步从糖链结构层面为胆管癌相关的糖基化改变提供了实验证据。该研究对比了 31 例胆管癌患者与 13 例良性胆道疾病患者的胆汁样本, 发现胆管癌胆汁糖蛋白的 *N*-糖链普遍存在核心岩藻糖基化、唾液酸化及天线数增加等特征^[178]。鉴于糖基化在细胞识别、免疫应答及肿瘤发生发展中的关键作用, 系统解析胆汁糖蛋白组的改变, 对于揭示肝胆疾病的发病机制、发现高特异性诊断标志物以及开发新的治疗靶点具有重要的研究价值与临床意义。

3.11 腹水

在临床诊疗中, 疾病进展伴随产生的恶性腹水(ascitic fluid)常被作为医疗废弃物处理, 而这类体液实际上为寻找预测治疗反应的新型生物标志物提供了独特机会。作为可直接反映腹腔内病理状态的液体, 腹水在卵巢癌等恶性肿瘤的诊断与机制研究中展现出独特价值。目前相关研究多聚焦于腹水的蛋白质组学分析, 且已初步证实其作为生物标志物来源的潜力。例如, 研究显示, 载脂蛋白 A1(ApoA1)在腹水中的表达模式可辅助区分原发性与转移性卵巢癌, 可溶性 Apo-2L(sApo-2L)的表达水平则与卵巢癌、子宫内膜癌引起的恶性腹水显著相关^[179-180]。Almeida-Nunes 等^[181]对比了 13 例卵巢癌患者诊断时与化疗期间的腹水样本, 共鉴定出 1 161 种蛋白质, 该研究不仅筛选出潜在生物标志物, 更从功能层面揭示了恶性腹水作为复杂的促肿瘤微环境, 富集了调控癌细胞增殖(如胆固醇代谢重编程)与介导免疫抑制(如 IL-4/IL-13 信号上调)的关键蛋白。

尽管这些蛋白质组学研究成果为解析腹水的生物学功能奠定了基础, 同时也反映出当前研究的局限性: 一方面, 多数研究的样本量有限, 整体仍处于探索阶段; 另一方面, 现有研究多停留在蛋白质丰度变化的分析层面, 尚未深入探索与癌症发生发展密切相关的蛋白质糖基化修饰这一重要领域。

3.12 腹膜透析液

腹膜透析液(peritoneal dialysis effluent, PDE)的糖蛋白质组学研究为解析腹膜透析(PD)相关

病理机制、开发临床标志物提供了重要支撑。研究表明, PDE 中糖蛋白的表达与修饰变化可灵敏反映腹膜的结构与功能改变。在糖尿病相关腹膜损伤研究中, Yang 等^[182]对比了 12 例糖尿病与 12 例慢性肾小球肾炎患者的 PDE 样本, 鉴定出载脂蛋白 A-IV(APOA4)、锌- α 2-糖蛋白(AZGP1)、真核翻译起始因子 4A 亚型 1(EIF4G1)等 10 种差异表达蛋白, 提示这些蛋白可作为预测腹膜炎风险的潜在生物标志物。在 PD 相关并发症中, 糖基化异常表现出明确的诊断价值。例如, Ferrantelli 团队^[183]在纳入 94 例 PD 患者的前瞻性队列中, 通过 MALDI-TOF MS 分析腹膜炎患者的 PDE *N*-糖组谱, 发现 α 2,6-唾液酸化修饰(尤以三触角 *N*-聚糖中富集)与患者关键临床结果显著相关。同时, 免疫球蛋白 G(IgG)相关聚糖相对丰度升高、二触角聚糖的半乳糖化水平降低, 这些局部糖基化特征可特异性反映腹膜炎状态, 为鉴别感染性与非感染性炎症提供了分子依据。此外, 有研究报道, 包裹性腹膜硬化(EPS)患者发病前 3~5 年, 其 PDE 中 α 1-酸性糖蛋白及 α 2-HS-糖蛋白链 B 的表达已出现异常, 这为 EPS 的早期筛查与干预提供了潜在靶点^[184]。

在临床应用方面, PDE 糖蛋白标志物兼具无创性与高特异性的优势。二触角聚糖半乳糖化水平与腹膜细胞标志物 CA125 呈正相关, 可作为评估腹膜结构与功能状态的参考指标^[185]。同时, PDE 来源的 EVs 中糖蛋白 96(GP96)在高腹膜溶质转运速率(PSTR)的 PD 患者中表达上调, 且与 PSTR 和腹腔内 IL-6 水平呈正相关。体外实验进一步证实, EVs 中 GP96 或可通过激活巨噬细胞、促进炎症细胞因子释放启动炎症反应, 表明其有望成为评估 PD 患者腹膜炎与 PSTR 状态的无创指标^[186]。综上所述, PDE 糖蛋白质组学研究已初步阐明糖蛋白及其糖基化特征与腹膜功能状态、PD 并发症发生发展的密切关联, 相关标志物在 PD 患者风险分层、并发症早期预警及治疗响应评估等方面展现出多维度的临床应用潜力。

3.13 羊水

羊水(amniotic fluid)成分源于胎盘和胎儿, 作为胎儿在宫内直接接触的液态环境, 其蛋白质组成动态且精确地反映了母体和胎儿的健康状态, 常被用作潜在的生物标志物^[187-188]。基于质

谱的蛋白质组学技术已广泛应用于羊水分析,在多种妊娠并发症的生物标志物发掘与机制研究中展现出巨大潜力。在早产预测方面,不仅成功鉴定出 Serpin A1、Renin、IGFBP4、载脂蛋白 A-IV 等潜在标志物^[189-190],还发现维生素 K 依赖性蛋白 Z(PROZ)在早产孕妇羊水中显著上调,并通过促进羊膜成纤维细胞的迁移与增殖、抑制胶原分泌参与早产进程^[191]。值得关注的是, Li 等^[192]收集了 22 例早产孕妇和 22 例足月分娩孕妇的羊水样本,采用 DIA 技术,经 LASSO 与随机森林分析,筛选出 IL1RL1、APOE 和 NECTIN4 三个关键蛋白质组成的生物标志物组合,对早产的早期诊断展现出卓越的预测性能($AUC=0.913$)。在胎儿染色体异常筛查中,羊水蛋白质组揭示了 18-三体 和 21-三体的特异性表达谱^[193];而针对宫内感染^[194]、紧急宫颈环扎术预后评估及羊水过多等病理妊娠的研究中^[195-196],也分别识别出钙卫蛋白 B、髓过氧化物酶/乳铁蛋白、FSTL3 等关键蛋白^[197]。这些发现共同构建了羊水蛋白质组在产前诊断领域的应用框架,并通过生物网络分析将其与炎症免疫、代谢重编程及细胞骨架调节等核心生物学过程相关联。

然而,当前研究存在局限,即所有分析均停留在蛋白质丰度变化层面,未能触及与蛋白质功能密切相关的糖基化修饰。尤为关键的是,已被反复验证的多个候选蛋白(如乳铁蛋白、 α -1-抗胰蛋白酶、转铁蛋白等)及新发现的 PROZ^[191]和 NECTIN4^[191]本身就是重要的糖蛋白,其功能高度依赖糖链结构。以 NECTIN4 为例,作为细胞黏附分子,其糖基化状态直接影响蛋白质的稳定性、细胞膜定位及生物学活性,而相关研究中并未对其糖基化特征展开探究。鉴于糖基化在细胞识别、免疫应答和信号转导中的核心调控作用,未来研究的突破点在于从传统蛋白质组学向糖蛋白质组学的跨越。利用先进的糖蛋白富集与解析技术,系统绘制位点特异性的羊水中糖蛋白组图谱,不仅有望发掘出更具特异性的糖基化生物标志物,还将从分子修饰层面深入揭示妊娠相关疾病的病理机制,最终为改善母婴预后提供全新的精准医疗策略。

3.14 胸腔积液

胸腔积液(pleural effusion, PF)是以胸膜腔内病理性液体积聚为特征的常见临床症状,其中恶

性胸腔积液含有肿瘤细胞、基质细胞及免疫细胞分泌的可溶性分子,是发掘疾病诊断与预后生物标志物、筛选治疗靶点的重要资源^[198-199]。近年来,蛋白质组学技术的应用显著推动了该领域的发展,进一步凸显了 PF 作为疾病“分子信息库”的临床价值。在病因鉴别诊断方面,靶向蛋白质组学表现出优越性能。例如,Robak 等^[200]采用 MRM 分析了 209 例明确病因的肺栓塞患者 PF 样本,鉴定出可区分结核性与其他感染性胸腔积液的炎症标志物面板(ADA2、WARS、CXCL10、S100A9、VIM、APCS、LGALS1、CRP、MMP9 和 LDHA),以及区分癌性胸腔积液的相关蛋白标志物(如 CDH1、MUC1、MSLN 等),为临床分型诊断提供了可靠工具。此外,Dong 等^[201]基于 4D-数据非依赖性采集(4D-DIA)技术,对 20 例肺腺癌相关恶性胸腔积液和 30 例良性胸腔积液样本进行高通量分析,共筛选出 50 个差异表达蛋白,经 ELISA 验证发现, BPIFB1、DPP4、HRRT1 和 ABI3BP 在恶性胸腔积液中具有诊断潜力。

针对恶性胸膜间皮瘤(MPM)的诊断难题, Palström 团队^[202]在纳入了 84 例疑似 MPM 患者的前瞻性队列中对 PF 进行了蛋白质组学分析,构建了由半乳糖凝集素-3 结合蛋白、睾丸素-2、蛋白 AMBP 等 5 种蛋白质组成的诊断分类模型,该模型表现出极高的诊断准确性($AUC=0.99$, 敏感度=1.00, 特异性=0.98)。此外,通过对胸腔积液免疫微环境的深度解析发现, PF 中的可溶性 HLA-肽复合物是肿瘤抗原的富集来源,其呈递的抗原肽可激活 T 细胞,为免疫治疗提供了新靶点^[203]。针对胸膜感染的相关研究, Kanellakis 等^[204]前瞻性地采集了 80 例社区获得性胸膜感染患者的无细胞胸膜液样本进行无标记质谱分析,共鉴定出 892 种蛋白质,通过差异表达蛋白分析,不仅揭示了与不同病原菌相关的分子内型,还发现胸膜感染患者胸腔中性粒细胞活性水平存在差异,且该水平与细菌原因、中性粒细胞代谢活性、HIF-1 α 激活以及 LXR-RXR 激活通路密切相关。

上述研究系统揭示了 PF 在疾病诊断与分型中的应用潜力,奠定了其作为生物标志物来源的基础。值得注意的是, PF 中的糖蛋白可能携带更具特异性的生物标志物,有助于提升诊断与分

型的准确性。然而,目前关于糖基化在胸腔积液蛋白质功能调控中的作用及特定糖型的诊断价值研究仍处于空白阶段。鉴于糖基化在细胞通讯、免疫调节及肿瘤进展中的关键作用,系统开展PF的糖蛋白质组学研究,将是深入揭示相关疾病机制、发掘高特异性生物标志物的重要方向。

3.15 胰液

胰液(pancreatic juice, PJ)富含多种蛋白质,是发现胰腺疾病相关生物标志物的重要来源,其组成变化对疾病诊断与预后评估具有重要价值。例如,一项基于质谱技术的蛋白质组学研究从3例正常胰液中鉴定出285种蛋白质,同时指出,尽管促胰液素的给药会改变胰液中蛋白质浓度,但不会改变其蛋白质谱^[205]。在胰腺导管腺癌(PDAC)中,胰液蛋白质组呈现特征性改变。一项比较了9例PDAC患者与9例健康对照的研究发现,癌性胰液中基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、致癌基因DJ1(DJ-1)和 α -1B-糖蛋白前体(AIBG)表达上调,提示它们具有作为PDAC诊断生物标志物的潜力^[206]。此外,胰液的蛋白质组成特征与患者预后密切相关。Chen等^[207]通过分析27例不同胰腺疾病患者的胰液发现,若胰液中S100A8或S100A9水平升高、胰腺消化酶表达显著减少,并伴有多种黏蛋白(如MUC1、MUC5AC、MUC13等)高表达,则患者临床预后通常较差。这些结果表明,胰液蛋白质组分析不仅是识别胰腺癌诊断标志物的有效途径,也为预后评估提供了极具前景的工具。值得注意的是,上述研究均聚焦于蛋白质表达丰度的变化,尚未深入考察其糖基化修饰状态。事实上,已鉴定的多个潜在标志物(如AIBG、MUC家族蛋白等)均为典型糖蛋白,其生物学功能、稳定性及免疫识别特性均高度依赖于糖链结构。因此,当前在胰液中开展的糖蛋白质组学研究仍相对缺乏,而系统解析胰液糖蛋白的位点特异性糖型,有望揭示比蛋白质丰度变化更具疾病特异性的分子特征,为胰腺疾病提供更精准的诊断与预后标志物。

3.16 其他体液

在当前关于体液糖蛋白质组学的研究中,与血浆、尿液、脑脊液及泪液等已得到深入系统探讨的体液相比,针对胃液、心包积液、阴道分泌液、前列腺液及淋巴液等体液的研究仍相对有

限。胃液作为直接反映胃黏膜生理与病理状态的特征性体液,已有研究发现其中存在多种与胃癌相关的潜在糖蛋白标志物,例如, α -1抗胰蛋白酶(AAT)片段被认为是目前较具代表性的候选分子^[208]。心包积液作为反映心脏及全身疾病的重要窗口,其糖蛋白成分可参与炎症反应、肿瘤侵袭及组织纤维化等多种病理过程^[209]。然而,目前仅有少量研究报道了其蛋白质组^[210-211],现有研究主要集中于良恶性心包积液的鉴别及特定病因相关糖蛋白的功能探索,其中癌胚抗原(CEA)、糖类抗原(CA125、CA19-9)等已被证实对恶性心包积液具有较高诊断价值,联合检测可显著提升鉴别准确性^[212]。此外,阴道分泌液、前列腺液等体液在特定生理或病理状态下的糖蛋白质组学研究仍处于起步阶段,相关报道较少,系统性糖基化图谱尚未建立,亟待完善。总之,对这些体液的糖蛋白质组学研究多借鉴血液和尿液的分析策略,但仍需充分考虑样本来源的特殊性及其在局部微环境中的生物学功能和临床意义,未来需开展更深入的系统性探索与临床验证。

4 总结与展望

糖基化修饰作为关键的翻译后修饰之一,可直接调控蛋白质的折叠、稳定性、免疫识别及细胞间通讯,是连接基因型与复杂表型的重要桥梁^[13]。人体体液能够直接反映机体生理与病理状态,其糖蛋白组蕴含着动态且丰富的分子信息^[93,106,213]。传统蛋白质组学难以解析糖基化的微观异质性,而糖蛋白质组学技术的革新,尤其是基于质谱的位点特异性糖型分析策略的突破性进展,使系统解码体液中糖蛋白的精确结构、丰度与功能成为现实,为发现比蛋白质丰度变化更具特异性的新型诊断标志物提供了坚实基础。

目前,以质谱为核心的糖蛋白质组学技术,已在血浆、尿液、脑脊液、精液及乳汁等多种体液中实现了大规模N-与O-糖基化图谱的绘制^[92,99,106,152,214]。这些研究共同构建了从“分子结构解析”到“疾病标志物筛选”,再到“生物学功能阐释”的完整研究模式。例如,在血浆与尿液中发现的特定岩藻糖基化或唾液酸化模式,为肿瘤与神经退行性疾病的诊断提供了高潜力的无创标志物;而对乳汁与精液糖蛋白组的精细解

析, 则从分子层面揭示了其在免疫保护与生殖健康中的核心调控作用。体液糖蛋白质组学正推动生命科学研究从对蛋白质“是否存在”的定性描述, 向对糖基化“如何修饰、如何功能”的精准机制认知实现跨越式发展。

尽管已取得显著成果, 但体液糖蛋白质组学迈向临床转化仍面临多重挑战。在技术方面, 对低丰度糖蛋白(尤其是位点特异性 *O*-糖肽)的深度覆盖分析, 仍严重依赖复杂的样本预分级与长色谱梯度流程, 限制了大规模临床研究的可行性。此外, 不同体液的基质差异较大, 其糖蛋白富集与制备策略各异, 缺乏统一、标准化的操作流程, 导致跨研究、跨平台的数据可比性与可重复性欠佳。在数据分析方面, 糖肽谱图解析与糖型结构推定的复杂度远超常规蛋白质组学, 高度依赖人工校验, 迫切需要开发更智能、自动化的生物信息学工具以提升分析效率与准确性。更重要的是, 当前多数发现仍停留于相关性分析层面, 特定糖型变化如何精确调控母蛋白功能并驱动疾病进程, 仍需通过系统的功能实验进行深入探索。

展望未来, 本领域的发展将在多个维度寻求突破: 1) 开发更高灵敏度、更高通量的富集与检测方法(如集成化芯片平台), 以实现微量样本的快速、全面解析; 开发更高效的碎裂模式与采集策略, 提升完整糖肽的鉴定深度与定量准确性; 2) 深度融合人工智能与机器学习, 构建可自动注释糖型、解析结构并整合多组学数据的下一代生物信息学工具, 降低分析门槛并提高结果的可信度; 3) 推动大规模、多中心的前瞻性临床队列研究, 以验证糖基化生物标志物的可靠性、特异性与临床效用, 同时建立样本处理、数据采集与分析的全流程标准化指南, 促进数据的共享与整合。此外, 将体液糖蛋白质组学与空间组学、单细胞技术相结合, 有望在组织乃至单细胞水平阐述糖基化的功能异质性, 最终为理解生命精密调控、实现疾病精准诊疗开辟新途径。

综上所述, 人体体液是一座远未被充分挖掘的生物标志物宝藏。未来的研究亟需依托先进的糖蛋白质组学技术, 对大规模队列的体液样本进行深度分析, 以填补这一关键的知识空白, 为疾病的早期诊断、精准分型及微环境调控机制的研究开辟新途径。

参考文献:

- [1] REILY C, STEWART T J, RENFROW M B, NOVAK J. Glycosylation in health and disease[J]. *Nature Reviews Nephrology*, 2019, 15(6): 346-366.
- [2] VARKI A. Biological roles of glycans[J]. *Glycobiology*, 2017, 27(1): 3-49.
- [3] ZHAO Y, SATO Y, ISAJI T, FUKUDA T, MATSUMOTO A, MIYOSHI E, GU J, TANIGUCHI N. Branched *N*-glycans regulate the biological functions of integrins and cadherins[J]. *The FEBS Journal*, 2008, 275(9): 1 939-1 948.
- [4] EICHLER J. Protein glycosylation[J]. *Current Biology*, 2019, 29(7): R229-R231.
- [5] TANG G, TAN L, YUAN H, YIN W. Glycosylation modification patterns reveal distinct tumor metabolism and immune microenvironment landscape in lower-grade gliomas[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2022, 10: 886 989.
- [6] FENG Y, SUN L, DANG X, LIU D, LIAO Z, YAO J, ZHANG Y, DENG Z, LI J, ZHAO M, LIU F. Aberrant glycosylation in schizophrenia: insights into pathophysiological mechanisms and therapeutic potentials[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2024, 15: 1 457 811.
- [7] WANG Y, CHEN H. Protein glycosylation alterations in hepatocellular carcinoma: function and clinical implications[J]. *Oncogene*, 2023, 42(24): 1 970-1 979.
- [8] LIN Y, LUBMAN D M. The role of *N*-glycosylation in cancer[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2024, 14(3): 1 098-1 110.
- [9] MIRANDA H V, OUTEIRO T F. The sour side of neurodegenerative disorders: the effects of protein glycation[J]. *The Journal of Pathology*, 2010, 221(1): 13-25.
- [10] BALANA A T, MAHUL-MELLIER A L, NGUYEN B A, HORVATH M, JAVED A, HARD E R, JASIQI Y, SINGH P, AFRIN S, PEDRETTI R, SINGH V, LEE V M Y, LUK K C, SAELICES L, LASHUEL H A, PRATT M R. *O*-GlcNAc forces an α -synuclein amyloid strain with notably diminished seeding and pathology[J]. *Nature Chemical Biology*, 2024, 20(5): 646-655.
- [11] TRZOS S, LINK-LENCZOWSKI P, POCHÉC É. The role of *N*-glycosylation in B-cell biology and IgG activity. The aspects of autoimmunity and anti-inflammatory therapy[J]. *Frontiers in Immunology*, 2023, 14: 1 188 838.
- [12] JANISZEWSKA E, KMIĘCIAK A, KACPERCZYK M, WITKOWSKA A, KRATZ E M. The influence of clusterin glycosylation variability on selected patho-

- physiological processes in the human body[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 2022: 7 657 876.
- [13] HE M, ZHOU X, WANG X. Glycosylation: mechanisms, biological functions and clinical implications[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2024, 9(1): 194.
- [14] PELINGTON R, PEGG C L, ZACCHI L F, PHUNG T K, HOWARD C B, XU P, HARDY M P, OWCZAREK C M, SCHULZ B L. Glycoproteomic measurement of site-specific polysialylation[J]. *Analytical Biochemistry*, 2020, 596: 113 625.
- [15] CAO W, LIU M, KONG S, WU M, HUANG Z, YANG P. Novel methods in glycomics: a 2019 update[J]. *Expert Review of Proteomics*, 2020, 17(1): 11-25.
- [16] JI T, LI X, LI J, WANG G. *N*-Glycosylation modification of Fzd4 is essential for the Fzd4-wnt- β -catenin signalling axis[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2025, 29(7): e70539.
- [17] CHANG Y, ZHU D, DUAN W, DENG X, ZHANG J, YE X, YAN Y. Plasma membrane *N*-glycoproteome analysis of wheat seedling leaves under drought stress[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 193: 1 541-1 550.
- [18] DELAFIELD D G, LI L. Recent advances in analytical approaches for glycan and glycopeptide quantitation[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2021, 20: 100 054.
- [19] FENG T, ZHANG J, CHEN Z, PAN W, CHEN Z, YAN Y, DAI J. Glycosylation of viral proteins: implication in virus-host interaction and virulence[J]. *Virulence*, 2022, 13(1): 670-683.
- [20] SCHJOLDAGER K T, NARIMATSU Y, JOSHI H J, CLAUSEN H. Global view of human protein glycosylation pathways and functions[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2020, 21(12): 729-749.
- [21] NARIMATSU Y, JOSHI H J, NASON R, van COILLIE J, KARLSSON R, SUN L, YE Z, CHEN Y H, SCHJOLDAGER K T, STEENTOFT C, FURUKAWA S, BENSING B A, SULLAM P M, THOMPSON A J, PAULSON J C, BÜLL C, ADEMA G J, MANDEL U, HANSEN L, BENNETT E P, VARKI A, VAKHRUSHEV S Y, YANG Z, CLAUSEN H. An atlas of human glycosylation pathways enables display of the human glycome by gene engineered cells[J]. *Molecular Cell*, 2019, 75(2): 394-407. e5.
- [22] XU X, PENG Q, JIANG X, TAN S, YANG W, HAN Y, OYANG L, LIN J, SHEN M, WANG J, LI H, XIA L, PENG M, WU N, TANG Y, WANG H, LIAO Q, ZHOU Y. Altered glycosylation in cancer: molecular functions and therapeutic potential[J]. *Cancer Communications*, 2024, 44(11): 1 316-1 336.
- [23] MOREMEN K W, TIEMEYER M, NAIRN A V. Vertebrate protein glycosylation: diversity, synthesis and function[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2012, 13(7): 448-462.
- [24] SCHWARZ F, AEBI M. Mechanisms and principles of *N*-linked protein glycosylation[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2011, 21(5): 576-582.
- [25] ESMAIL S, MANOLSON M F. Advances in understanding *N*-glycosylation structure, function, and regulation in health and disease[J]. *European Journal of Cell Biology*, 2021, 100(7/8): 151 186.
- [26] PASALA C, SHARMA S, ROYCHOWDHURY T, MORONI E, COLOMBO G, CHIOSIS G. *N*-Glycosylation as a modulator of protein conformation and assembly in disease[J]. *Biomolecules*, 2024, 14(3): 282.
- [27] KRUG J, RODRIAN G, PETTER K, YANG H, KHOZAINOVA S, GUO W, BÉNARD A, MERKEL S, GELLERT S, MASCHAUER S, SPERMANN M, WALDNER M, BAILEY P, PILARSKY C, LIEBL A, TRIPAL P, CHRISTOPH J, NASCHBERGER E, CRONER R, SCHELLERER V S, BECKER C, HARTMANN A, TÜTING T, PRANTE O, GRÜTZMANN R, GRIVENNIKOV S I, STÜRZL M, BRITZEN-LAURENT N. *N*-Glycosylation regulates intrinsic IFN- γ resistance in colorectal cancer: implications for immunotherapy[J]. *Gastroenterology*, 2023, 164(3): 392-406. e5.
- [28] STEENTOFT C, VAKHRUSHEV S Y, VESTERCHRISTENSEN M B, SCHJOLDAGER K T G, KONG Y, BENNETT E P, MANDEL U, WANDALL H, LEVERY S B, CLAUSEN H. Mining the *O*-glycoproteome using zinc-finger nuclease-glycoengineered simple cell lines[J]. *Nature Methods*, 2011, 8(11): 977-982.
- [29] PARKER M P, PETERSON K R, SLAWSON C, PARKER M P, PETERSON K R, SLAWSON C. *O*-GlcNAcylation and *O*-GlcNAc cycling regulate gene transcription: emerging roles in cancer[J]. *Cancers*, 2021, 13(7): 1 666.
- [30] CHATHAM J C, ZHANG J, WENDE A R. Role of *O*-linked *N*-acetylglucosamine protein modification in cellular (patho) physiology[J]. *Physiological Reviews*, 2021, 101(2): 427-493.
- [31] TEN HAGEN K G. All in the family: the UDP-

- GalNAc: polypeptide *N*-acetylgalactosaminyltransferases[J]. *Glycobiology*, 2002, 13(1): 1R-16.
- [32] BENNETT E P, MANDEL U, CLAUSEN H, GERKEN T A, FRITZ T A, TABAK L A. Control of mucin-type *O*-glycosylation: a classification of the polypeptide GalNAc-transferase gene family[J]. *Glycobiology*, 2012, 22(6): 736-756.
- [33] BROCKHAUSEN I. Biosynthesis and functions of *O*-glycans and regulation of mucin antigen expression in cancer[J]. *Biochemical Society Transactions*, 1997, 25(3): 871-874.
- [34] AKELLA N M, CIRAKU L, REGINATO M J. Fueling the fire: emerging role of the hexosamine biosynthetic pathway in cancer[J]. *BMC Biology*, 2019, 17(1): 52.
- [35] HE X, HU X, WEN G, WANG Z, LIN W. *O*-GlcNAcylation in cancer development and immunotherapy[J]. *Cancer Letters*, 2023, 566: 216-258.
- [36] ZHAO Q, ZHOU S, LOU W, QIAN H, XU Z. Crosstalk between *O*-glcNAcylation and phosphorylation in metabolism: regulation and mechanism[J]. *Cell Death & Differentiation*, 2025, 32(7): 1 181-1 199.
- [37] COSTA T J, WILSON E W, FONTES M T, PERNOMIAN L, TOSTES R C, WENCESLAU C F, McCARTHY C G. The *O*-GlcNAc dichotomy: when does adaptation become pathological [J]. *Clinical Science*, 2023, 137(22): 1 683-1 697.
- [38] JING W, PILATO J L, KAY C, FENG S, TUIPULOTU D E, MATHUR A, SHEN C, NGO C, ZHAO A, MIOSGE L A, ALI S A, GARDINER E E, AWAD M M, LYRAS D, ROBERTSON A A B, KAAKOUSH N O, MAN S M. *Clostridium septicum*-toxin activates the NLRP3 inflammasome by engaging GPI-anchored proteins[J]. *Science Immunology*, 2022, 7(71): eabm1803.
- [39] LI J, RICHARDS J C. Functional glycomics and glyco-biology: an overview[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2010, 600: 1-8.
- [40] VLIEGENTHART J F, CASSET F. Novel forms of protein glycosylation[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 1998, 8(5): 565-571.
- [41] NAKATANI A I, MOHLER C E, HUGHES S. Chain conformation of polymers adsorbed to clay particles: effects of charge and concentration[J]. *Soft Matter*, 2021, 17(28): 6 848-6 862.
- [42] ZHU F, CLEMMER D E, TRINIDAD J C. Characterization of lectin binding affinities *via* direct LC-MS profiling: implications for glycopeptide enrichment and separation strategies[J]. *Analyst*, 2017, 142(1): 65-74.
- [43] SHEN Y, XIAO K, TIAN Z. Site- and structure-specific characterization of the human urinary *N*-glycoproteome with site-determining and structure-diagnostic product ions[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2021, 35(1): e8952.
- [44] CHEN S Y, DONG M, YANG G, ZHOU Y, CLARK D J, LIH T M, SCHNAUBELT M, LIU Z, ZHANG H. Glycans, glycosite, and intact glycopeptide analysis of *N*-linked glycoproteins using liquid handling systems [J]. *Analytical Chemistry*, 2020, 92(2): 1 680-1 686.
- [45] PARKER B L, THAYSEN-ANDERSEN M, SOLIS N, SCOTT N E, LARSEN M R, GRAHAM M E, PACKER N H, CORDWELL S J. Site-specific glycan-peptide analysis for determination of *N*-glycoproteome heterogeneity[J]. *Journal of Proteome Research*, 2013, 12(12): 5 791-5 800.
- [46] 刘璐瑶, 秦洪强, 叶明亮. 完整糖基化肽段的富集与质谱解析新技术研究进展[J]. *色谱*, 2021, 39(10): 1 045-1 054.
- LIU Luyao, QIN Hongqiang, YE Mingliang. Recent advances in glycopeptide enrichment and mass spectrometry data interpretation approaches for glycoproteomics analyses[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2021, 39(10): 1 045-1 054(in Chinese).
- [47] ZHU H, FANG Z, LIU L, WANG Y, QIN H, NIE Y, DONG M, YE M. Library-based virtual match-between-runs quantification in GlyPep-Quant improves site-specific glycan identification[J]. *Nature Communications*, 2025, 16: 6 483.
- [48] JAGER S, ZELLER M, PASHKOVA A, SCHULTE D, DAMOC E, REIDING K R, MAKAROV A A, HECK A J R. In-depth plasma *N*-glycoproteome profiling using narrow-window data-independent acquisition on the Orbitrap Astral mass spectrometer[J]. *Nature Communications*, 2025, 16: 2 497.
- [49] LIU M, ZENG W, FANG P, CAO W, LIU C, YAN G, ZHANG Y, PENG C, WU J, ZHANG X, TU H, CHI H, SUN R, CAO Y, DONG M, JIANG B, HUANG J, SHEN H, WONG C, HE S, YANG P. pGlyco 2.0 enables precision *N*-glycoproteomics with comprehensive quality control and one-step mass spectrometry for intact glycopeptide identification[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 438.
- [50] SHEN J, JIA L, DANG L, SU Y, ZHANG J, XU Y, ZHU B, CHEN Z, WU J, LAN R, HAO Z, MA C, ZHAO T, GAO N, BAI J, ZHI Y, LI J, ZHANG J, SUN

- S. StrucGP: *de novo* structural sequencing of site-specific *N*-glycan on glycoproteins using a modularization strategy[J]. *Nature Methods*, 2021, 18(8): 921-929.
- [51] POLASKY D A, YU F, TEO G C, NESVIZHSKII A I. Fast and comprehensive *N*- and *O*-glycoproteomics analysis with MSFragger-glyco[J]. *Nature Methods*, 2020, 17(11): 1 125-1 132.
- [52] WU L, YANG J, CHEN Y, LIN J, HUANG W, LI M. Association of circulating metabolic biomarkers with risk of lung cancer: a population-based prospective cohort study[J]. *BMC Medicine*, 2025, 23(1): 176.
- [53] ENDO M, YAZAWA S, SANO R, YOKOBORI T, SHIRABE K, SAEKI H. α 1-Acid glycoprotein with highly fucosylated glycans as a potential diagnostic marker for early detection of hepatobiliary and pancreatic cancers[J]. *Diagnostics*, 2025, 15(1): 40.
- [54] KOHANSAL-NODEHI M, SWIATEK-DE LANGE M, KROENIGER K, ROLNY V, TABARÉS G, PIRATVISUTH T, TANWANDEE T, THONGSAWAT S, SUKEEPAISARNJAROEN W, ESTEBAN J I, BES M, KÖHLER B, CHAN H L, BUSSKAMP H. Discovery of a haptoglobin glycopeptides biomarker panel for early diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Frontiers in Oncology*, 2023, 13: 1 213 898.
- [55] MAO Y, SU T, LIN T, YANG H, ZHAO Y, ZHANG Y, DAI X. Comprehensive plasma *N*-glycoproteome profiling based on EThcD-sceHCD-MS/MS[J]. *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10: 920 009.
- [56] ZHANG S, SUN H, ZHANG Z, LI M, GUO Z, YE W, CAI G, SUN W, LI M. Diagnostic potential of plasma IgA1 *O*-glycans in discriminating IgA nephropathy from other glomerular diseases and healthy participants[J]. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2022, 9: 871 615.
- [57] MIURA Y, TSUMOTO H, MASUI Y, INAGAKI H, OGAWA M, IDENO Y, KAWAKAMI K, UMEZAWA K, KABAYAMA M, AKAGI Y, AKASAKA H, YAMAMOTO K, RAKUGI H, ISHIZAKI T, ARAI Y, IKEBE K, KAMIDE K, GONDO Y, ENDO T. A characteristic *N*-glycopeptide signature associated with diabetic cognitive impairment identified in a longitudinal cohort study[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2023, 1 867(4): 130 316.
- [58] WESSELS H J C T, KULKARNI P, van DAEL M, SUPPERS A, WILLEMS E, ZIJLSTRA F, KRAGT E, GLOERICH J, SCHMIT P O, PENGELLE S, MARX K, van GOOL A J, LEFEBER D J. Plasma glycoproteomics delivers high-specificity disease biomarkers by detecting site-specific glycosylation abnormalities[J]. *Journal of Advanced Research*, 2024, 61: 179-192.
- [59] SARASWAT M, MÄKITIE A, TOHMOLA T, DICKINSON A, SARASWAT S, JOENVÄÄRÄ S, RENKONEN S. Tongue cancer patients can be distinguished from healthy controls by specific *N*-glycopeptides found in serum[J]. *Proteomics-Clinical Applications*, 2018, 12(6): 1 800 061.
- [60] SILSIRIVANIT A, ALVAREZ M R S, GRIJALDO-ALVAREZ S J, GOGTE R, KITKHUANDEE A, PIYAWATTANAMETHA N, SEUBWAI W, LUANG S, PANAWAN O, MAHALAPBUTR P, VAETEEWOOTTACHARN K, SAWANYAWISUTH K, LETITTHIPORN W, SAENGBONMEE C, DUANGTHONGPHON P, JINGJIT K, PANKONGSAP A, WARAASAWAPATI S, APHIVATANASIRI C, LEBRILLA C B. Serum *N*-glycomics with nano-LC-QToF LC-MS/MS reveals *N*-glycan biomarkers for glioblastoma, meningioma, and high-grade meningioma[J]. *Journal of Proteome Research*, 2025, 24(3): 1 402-1 413.
- [61] YANG Y, ZHAO D, LUO J, LIN L, LIN Y, SHAN B, CHEN H, QIAO L. Quantitative site-specific glycoproteomics reveals glyco-signatures for breast cancer diagnosis[J]. *Analytical Chemistry*, 2025, 97(1): 114-121.
- [62] WANG Y, LIU S, LI J, YIN T, LIU Y, WANG Q, LIU X, CHENG L. Comprehensive serum *N*-glycan profiling identifies a biomarker panel for early diagnosis of non-small-cell lung cancer[J]. *Proteomics*, 2023, 23(20): 2 300 140.
- [63] WANG Y, FENG Y, LI J, YIN T, LIU Y, WANG Q, XIAO X, REN H, LIU S, LIU X, CHENG L. Immunoglobulin G *N*-glycan signatures as potential diagnostic and predictive biomarkers for non-small-cell lung cancer[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2025, 320: 146 089.
- [64] LI H, LU W, JIN Q, SUN J, GAO L, HU J, LING Y, ZHAO W, ZHANG Y, XIE X. Deciphering *N*-glycosylation dynamics of serum monoclonal immunoglobulins in multiple myeloma *via* EThcD-sceHCD-MS/MS[J]. *Journal of Proteome Research*, 2025, 24(5): 2 553-2 563.
- [65] HU Z, CAI S, TU C, LIU S, LIU X, DONG L. Serum *N*-glycan signatures as potential biomarkers for the detection and monitoring of IgG4-related disease[J]. *Journal of Proteome Research*, 2025, 24(9): 4 643-

- 4 652.
- [66] THERRIAULT J, SCHINDLER S E, SALVADÓ G, PASCOAL T A, BENEDET A L, ASHTON N J, KARIKARI T K, APOSTOLOVA L, MURRAY M E, VERBERK I, VOGEL J W, La JOIE R, GAUTHIER S, TEUNISSEN C, RABINOVICI G D, ZETTERBERG H, BATEMAN R J, SCHELTENS P, BLENNOW K, SPERLING R, HANSSON O, JACK C R, ROSANETO P. Biomarker-based staging of Alzheimer disease: rationale and clinical applications[J]. *Nature Reviews Neurology*, 2024, 20(4): 232-244.
- [67] ONIGBINDE S, SOLOMON J, GUTIERREZ-REYES C D, DARAMOLA O, FOWOWE M, ADENIYI M, DuBOIS K N, BAKULSKI K M, KANAAN N M, LUBMAN D M, MECHREF Y. Serum *N*-glycan profiling identifies candidate glycan biomarkers for early detection and prediction of Alzheimer's disease[J]. *Journal of Proteome Research*, 2025, 24(9): 4 417-4 436.
- [68] PÁSZTOR R, VISKOLCZ B, OLÁH C, VÁRADI C. Comparative analysis of serum *N*-glycosylation in endometriosis and gynecologic cancers[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2025, 26(9): 4 105.
- [69] STURIALE L, BIANCA S, GAROZZO D, TERRACIANO A, AGOLINI E, MESSINA A, PALMIGIANO A, ESPOSITO F, BARONE C, NOVELLI A, FIUMARA A, JAEKEN J, BARONE R. ALG12-CDG: novel glyco-phenotype insights endorse the molecular defect[J]. *Glycoconjugate Journal*, 2019, 36(6): 461-472.
- [70] JEONG S, KIM U, OH M, NAM J, PARK S, CHOI Y, LEE D, KIM J, AN H. Detection of aberrant glycosylation of serum haptoglobin for gastric cancer diagnosis using a middle-up-down glycoproteome platform[J]. *Journal of Personalized Medicine*, 2021, 11(6): 575.
- [71] LIU D, LI J, XUE Y, ZHAO T, JIN Z, DAN W, CHEN Z, HU L, SUN S. Site-specific *N*-glycan alterations on haptoglobin as potential biomarkers for distinguishing intrahepatic cholangiocarcinoma from hepatocellular carcinoma[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 280: 135 563.
- [72] SUN S, HU Y, AO M, SHAH P, CHEN J, YANG W, JIA X, TIAN Y, THOMAS S, ZHANG H. *N*-GlycositeAtlas: a database resource for mass spectrometry-based human *N*-linked glycoprotein and glycosylation site mapping[J]. *Clinical Proteomics*, 2019, 16(1): 35.
- [73] PISITKUN T, JOHNSTONE R, KNEPPER M A. Discovery of urinary biomarkers[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2006, 5(10): 1 760-1 771.
- [74] ZHANG H, CAO J, LI L, LIU Y, ZHAO H, LI N, LI B, ZHANG A, HUANG H, CHEN S, DONG M, YU L, ZHANG J, CHEN L. Identification of urine protein biomarkers with the potential for early detection of lung cancer[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5(1): 11 805.
- [75] THOMAS C E, SEXTON W, BENSON K, SUTPHEN R, KOOMEN J. Urine collection and processing for protein biomarker discovery and quantification[J]. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 2010, 19(4): 953-959.
- [76] GUO J, ZHANG X, CHEN H, WANG G, ZHANG Y. Structural alterations of sugar chains in urine fibronectin from bladder cancer patients and its enzymatic mechanism[J]. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 2001, 127(8): 512-519.
- [77] DONG M, LIH T M, CHEN S Y, CHO K C, EGUEZ R V, HÖTI N, ZHOU Y, YANG W, MANGOLD L, CHAN D W, ZHANG Z, SOKOLL L J, PARTIN A, ZHANG H. Urinary glycoproteins associated with aggressive prostate cancer[J]. *Theranostics*, 2020, 10(26): 11 892-11 907.
- [78] LIH T M, DONG M, MANGOLD L, PARTIN A, ZHANG H. Urinary marker panels for aggressive prostate cancer detection[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12: 14 837.
- [79] WANG Y, LIH T M, HÖTI N, SOKOLL L J, CHESNUT G, PETROVICS G, KOHAAR I, ZHANG H. Differentially expressed glycoproteins in pre- and post-digital rectal examination urine samples for detecting aggressive prostate cancer[J]. *Proteomics*, 2023, 23(7/8): 2 200 023.
- [80] KAWAHARA R, ORTEGA F, ROSA-FERNANDES L, GUIMARÃES V, QUINA D, NAHAS W, SCHWÄMMLE V, SROUGI M, LEITE K R M, THAYSEN-ANDERSEN M, LARSEN M R, PALMISANO G. Distinct urinary glycoprotein signatures in prostate cancer patients[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(69): 33 077-33 097.
- [81] BROWN C J, GAUNITZ S, WANG Z, STRINDELIUS L, JACOBSON S C, CLEMMER D E, TRINIDAD J C, NOVOTNY M V. Glycoproteomic analysis of human urinary exosomes[J]. *Analytical Chemistry*, 2020, 92(21): 14 357-14 365.
- [82] CAI Y, BU A, HAN S, DING Y, ZHANG H, SUN J, DENG Y, MA J, WANG S, GU Y, CHANG W, GU Z,

- XIE Z, HU L, ZHANG Y. A chemical glycoproteomic approach decrypts urinary extracellular vesicle surfaceome for prostate cancer diagnosis and grading[J]. *Angewandte Chemie (International Ed in English)*, 2025, 64(46): e202509399.
- [83] LIU F, ZAIDI T, IQBAL K, GRUNDKE-IQBAL I, MERKLE R K, GONG C X. Role of glycosylation in hyperphosphorylation of tau in Alzheimer's disease[J]. *FEBS Letters*, 2002, 512(1/2/3): 101-106.
- [84] KARAYEL O, VIRREIRA WINTER S, PADMANABHAN S, KURAS Y I, VU D T, TUNCALI I, MERCHANT K, WILLS A M, SCHERZER C R, MANN M. Proteome profiling of cerebrospinal fluid reveals biomarker candidates for Parkinson's disease[J]. *Cell Reports Medicine*, 2022, 3(6): 100 661.
- [85] PARNETTI L, GAETANI L, EUSEBI P, PACIOTTI S, HANSSON O, EL-AGNAF O, MOLLENHAUER B, BLENNOW K, CALABRESI P. CSF and blood biomarkers for Parkinson's disease[J]. *The Lancet Neurology*, 2019, 18(6): 573-586.
- [86] MAGALHÃES P, LASHUEL H A. Opportunities and challenges of alpha-synuclein as a potential biomarker for Parkinson's disease and other synucleinopathies[J]. *npj Parkinson's Disease*, 2022, 8(1): 93.
- [87] XU M, JIN H, GE W, ZHAO L, LIU Z, GUO Z, WU Z, CHEN J, MAO C, ZHANG X, LIU C, YANG S. Mass spectrometric analysis of urinary *N*-glycosylation changes in patients with Parkinson's disease[J]. *ACS Chemical Neuroscience*, 2023, 14(18): 3 507-3 517.
- [88] ZHAO L, HOU C, GAO Y, JIN H, LIU C F, LI S, MA J, YANG S. Mass spectrometry-based comparative analysis of *N*-glycosylation alterations in three human body fluids in Parkinson's disease[J]. *ACS Chemical Neuroscience*, 2025, 16(22): 4 364-4 376.
- [89] WANG Z, FANG Z, WANG Z, QIN H, GUO Z, LIANG X, LIU S, DONG M, YE M. Microparticle-assisted protein capture method facilitates proteomic and glycoproteomic analysis of urine samples[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2025, 1 335: 343 448.
- [90] HANZAWA K, TANAKA-OKAMOTO M, MURAKAMI H, MUKAI M, TAKAHASHI H, OMORI T, IKEZAWA K, OHKAWA K, OHUE M, MIYAMOTO Y. Investigation of acidic free-glycans in urine and their alteration in cancer[J]. *Glycobiology*, 2021, 31(4): 391-409.
- [91] BHARGAVA R, LEHOUS S, MAEDA K, TSOKOS M G, KRISHFIELD S, ELLEZIAN L, POLLAK M, STILLMAN I E, CUMMINGS R D, TSOKOS G C. Aberrantly glycosylated IgG elicits pathogenic signaling in podocytes and signifies lupus nephritis[J]. *JCI Insight*, 2021, 6(9): e147789.
- [92] GARCIA-MARQUES F, FULLER K, BERMUDEZ A, SHAMSHER N, ZHAO H, BROOKS J D, FLORY M R, PITTERI S J. Identification and characterization of intact glycopeptides in human urine[J]. *Scientific Reports*, 2024, 14: 3 716.
- [93] CHEN Z, YU Q, YU Q, JOHNSON J, SHIPMAN R, ZHONG X, HUANG J, ASTHANA S, CARLSSON C, OKONKWO O, LI L. In-depth site-specific analysis of *N*-glycoproteome in human cerebrospinal fluid and glycosylation landscape changes in Alzheimer's disease[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2021, 20: 100 081.
- [94] CHAU T H, CHERNYKH A, UGONOTTI J, PARKER B L, KAWAHARA R, THAYSEN-ANDERSEN M. Glycomics-assisted glycoproteomics enables deep and unbiased *N*-glycoproteome profiling of complex biological specimens[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2023, 2 628: 235-263.
- [95] NEGI D, GRANAK S, SHORTER S, O'LEARY V B, REKTOR I, OVSEPIAN S V. Molecular biomarkers of neuronal injury in epilepsy shared with neurodegenerative diseases[J]. *Neurotherapeutics*, 2023, 20(3): 767-778.
- [96] VICENTE MIRANDA H, SZEGŐ É M, OLIVEIRA L M A, BREDÁ C, DARENDELIOGLU E, de OLIVEIRA R M, FERREIRA D G, GOMES M A, ROTT R, OLIVEIRA M, MUNARI F, ENGUITA F J, SIMÕES T, RODRIGUES E F, HEINRICH M, MARTINS I C, ZAMOLO I, RIESS O, CORDEIRO C, PONCES-FREIRE A, LASHUEL H A, SANTOS N C, LOPES L V, XIANG W, JOVIN T M, PENQUE D, ENGELENDER S, ZWECKSTETTER M, KLUCKEN J, GIORGINI F, QUINTAS A, OUTEIRO T F. Glycation potentiates α -synuclein-associated neurodegeneration in synucleinopathies[J]. *Brain*, 2017, 140(5): 1 399-1 419.
- [97] REBELO A L, CHEVALIER M T, RUSSO L, PANDIT A. Role and therapeutic implications of protein glycosylation in neuroinflammation[J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2022, 28(4): 270-289.
- [98] SCOTT H, PANIN V M. *N*-Glycosylation in regulation of the nervous system[J]. *Advances in Neurobiology*, 2014, 9: 367-394.
- [99] BAERENFAENGER M, POST M A, LANGER-

- HORST P, HUIJBEN K, ZIJLSTRA F, JACOBS J F M, VERBEEK M M, WESSELS H J C T, LEFEBER D J. Glycoproteomics in cerebrospinal fluid reveals brain-specific glycosylation changes[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(3): 1 937.
- [100] SCHADZEK P, DERKSEN A, BEHRENS W, KOSANKE M, DITTRICH-BREIHOLZ O, HAMM A, ELGER K, ROGER Y, YANG I, STIESCH M, NOLL Y, HAERTLÉ M, TUECKING L R, STUKENBORG-COLSMAN C, WINDHAGEN H, TRAN D D H, MELK A, HOFFMANN A. Glycoprotein non-metastatic melanoma protein B is a potential biomarker for arthroplasty aseptic loosening[J]. *Scientific Reports*, 2025, 15(1): 32 419.
- [101] XU M, ZHOU M, LI S, ZHEN X, YANG S. Glycoproteins as diagnostic and prognostic biomarkers for neurodegenerative diseases: a glycoproteomic approach[J]. *Journal of Neuroscience Research*, 2021, 99(5): 1 308-1 324.
- [102] GOYALLON A, CHOLET S, CHAPELLE M, JUNOT C, FENAILLE F. Evaluation of a combined glycomics and glycoproteomics approach for studying the major glycoproteins present in biofluids: application to cerebrospinal fluid[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2015, 29(6): 461-473.
- [103] NILSSON J, BRINKMALM G, RAMADAN S, GILBORNE L, NOBORN F, BLENNOW K, WALLIN A, SVENSSON J, ABO-RIYA M A, HUANG X, LARSON G. Synthetic standard aided quantification and structural characterization of amyloid-beta glycopeptides enriched from cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 5 522.
- [104] LAN R, XIN M, HAO Z, YOU S, XU Y, WU J, DANG L, ZHANG X, SUN S. Biological functions and large-scale profiling of protein glycosylation in human semen[J]. *Journal of Proteome Research*, 2020, 19(10): 3 877-3 889.
- [105] TECLE E, GAGNEUX P. Sugar-coated sperm: unraveling the functions of the mammalian sperm glycocalyx[J]. *Molecular Reproduction and Development*, 2015, 82(9): 635-650.
- [106] LUO M, SU T, CHENG Q, ZHANG X, CAI F, YIN Z, LI F, YANG H, LIU F, ZHANG Y. GlycoTCFM: glycoproteomics based on two complementary fragmentation methods reveals distinctive O-glycosylation in human sperm and seminal plasma[J]. *Journal of Proteome Research*, 2023, 22(12): 3 833-3 842.
- [107] YAN G, CAI F, WU K, CHENG Q, ZHANG Y, FAN L. GlycoIP: an integrated platform for simultaneous and site-specific N/O-glycosylation analysis of human semen[J]. *Frontiers in Chemistry*, 2025, 13: 1 569 561.
- [108] LI M, SONG X, TU H, SUN J, DENG Y, WANG B, CAI Y, WANG Y, LI B, WANG Y, ZHANG X, WEI D, YANG X, GUO Y, LI X, GU J, NI J, ZHOU Y, GU Z, XIE Z, LI Y, GUO X. A functionally tunable magnetic nanochains platform for N-glycoproteomic analysis of extracellular vesicles from ultratrace biofluids[J]. *Nature Communications*, 2025, 16: 7 646.
- [109] XIN M, XU Y, YOU S, LI C, ZHU B, SHEN J, CHEN Z, SHI W, XUE X, SHI J, SUN S. Precision structural interpretation of site-specific N-glycans in seminal plasma[J]. *Journal of Proteome Research*, 2022, 21(7): 1 664-1 674.
- [110] XIN M, LI C, YOU S, ZHU B, SHEN J, DONG W, XUE X, SHI W, XIONG Y, SHI J, SUN S. Site-specific N-glycoproteomic analysis reveals up-regulated fucosylation in seminal plasma of asthenozoospermia[J]. *Glycobiology*, 2024, 34(9): cwae054.
- [111] OLEJNIK B, KRATZ E M, ZIMMER M, FERENS-SIECZKOWSKA M. Glycoprotein fucosylation is increased in seminal plasma of subfertile men[J]. *Asian Journal of Andrology*, 2015, 17(2): 274-280.
- [112] PALENIKOVA V, PAVLOVA H, KRAUS D, KRATKA Z, KOMRSKOVA K, POSTLEROVA P. The correlation between human seminal plasma sialoproteins and ejaculate parameters[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 266(Pt2): 131 341.
- [113] RAMZAN M A, YANG Z, CAO L, ZHANG J, WU F, XIN M, GUO B, WANG L, ZHAO L, QIN Y, LIU C. Glycopattern comparison of sperm and exosomes from conventional *in vitro* fertilization and rescue intracytoplasmic sperm injection: enhancing sperm motility through exosome-mediated glycan modulation[J]. *View*, 2025, 6(3): 20 240 121.
- [114] SARASWAT M, JOENVÄÄRÄ S, TOMAR A K, SINGH S, YADAV S, RENKONEN R. N-glycoproteomics of human seminal plasma glycoproteins[J]. *Journal of Proteome Research*, 2016, 15(3): 991-1 001.
- [115] JI R, CHIOZZI R Z, van den TOORN H, LEUNG M, ZEEV-BEN-MORDEHAI T, BURKE N D, BROMFIELD E G, REIDING K R, HECK A J R. Spatial organization of the sperm cell glycoproteome[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2025, 24(1): 100 893.

- [116] KRATZ E M, KALUŽA A, ZIMMER M, FERENS-SIECZKOWSKA M. The analysis of sialylation, *N*-glycan branching, and expression of *O*-glycans in seminal plasma of infertile men[J]. *Disease Markers*, 2015, 2015(1): 941-871.
- [117] RODRIGUEZ BENAVENTE M C, ARGÜESO P. Glycosylation pathways at the ocular surface[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2018, 46(2): 343-350.
- [118] LEI Z, BEUERMAN R W, CHEW A P, KOH S K, CAFARO T A, URRETS-ZAVALIA E A, URRETS-ZAVALIA J A, LI S F Y, SERRA H M. Quantitative analysis of *N*-linked glycoproteins in tear fluid of climatic droplet keratopathy by glycopeptide capture and iTRAQ[J]. *Journal of Proteome Research*, 2009, 8(4): 1 992-2 003.
- [119] MESSINA A, PALMIGIANO A, TOSTO C, ROMEO D A, STURIALE L, GAROZZO D, LEONARDI A. Tear *N*-glycomics in vernal and atopic keratoconjunctivitis[J]. *Allergy*, 2021, 76(8): 2 500-2 509.
- [120] WOODWARD A M, LEHOUX S, MANTELLI F, Di ZAZZO A, BROCKHAUSEN I, BONINI S, ARGÜESO P. Inflammatory stress causes *N*-glycan processing deficiency in ocular autoimmune disease[J]. *The American Journal of Pathology*, 2019, 189(2): 283-294.
- [121] VIEIRA A C, AN H J, OZCAN S, KIM J H, LEBRILLA C B, MANNIS M J. Glycomic analysis of tear and saliva in ocular rosacea patients: the search for a biomarker[J]. *The Ocular Surface*, 2012, 10(3): 184-192.
- [122] NGUYEN-KHUONG T, EVEREST-DASS A V, KAUTTO L, ZHAO Z, WILLCOX M D P, PACKER N H. Glycomic characterization of basal tears and changes with diabetes and diabetic retinopathy[J]. *Glycobiology*, 2015, 25(3): 269-283.
- [123] SCHMELTER C, BRUECK A, PERUMAL N, QU S, PFEIFFER N, GRUS F H. Lectin-based affinity enrichment and characterization of *N*-glycoproteins from human tear film by mass spectrometry[J]. *Molecules*, 2023, 28(2): 648.
- [124] CHANG V, MAHONEY K E, LIAN I, CHEN R, CHUNG N, UTHEIM T P, KARLSSON N G, MALAKER S A. In-depth analysis of the tear fluid glycoproteome reveals diverse lacritin glycosylation and spliceoforms[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2025, 301(9): 110 580.
- [125] CHEN K, WANG S, ZHONG P, PENG Y, LU J, LIU L, HE J, LIU W. Uniformity and stability of saliva composition based on glucose concentration analysis[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2025, 573: 120-283.
- [126] LIU S, WANG H, JIANG X, JI Y, WANG Z, ZHANG Y, WANG P, XIAO H. Integrated *N*-glycoproteomics analysis of human saliva for lung cancer[J]. *Journal of Proteome Research*, 2022, 21(7): 1 589-1 602.
- [127] LIU S, JIANG X, SHANG Z, JI Y, WANG H, WANG Z, WANG P, ZHANG Y, XIAO H. *N*-Glycan structures of target cancer biomarker characterized by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2020, 1 123: 18-27.
- [128] PLOMP R, de HAAN N, BONDT A, MURLI J, DOTZ V, WUHRER M. Comparative glycomics of immunoglobulin A and G from saliva and plasma reveals biomarker potential[J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 2 436.
- [129] ANTEQUERA D, BUETAS E, GARCÍA-ESTEBAN S, ROMUALDI D, CARRERO L, MUNICIO C, MIRA A, CARRO E. Association of salivary lactoferrin, porphyromonas gingivalis and stress hormone levels in patients with periodontitis: a pilot study[J]. *Frontiers in Immunology*, 2025, 16: 1 681 095.
- [130] HAMMERSCHLAG B L, BUTTS B, LIKOS K D, VERBLE D D, NIMMAGADDA N, WHARTON W. Pilot: salivary lactoferrin as a potential preclinical Alzheimer's disease biomarker[J]. *Journal of Alzheimer's Disease Reports*, 2025. DOI: [10.1177/25424823251409391](https://doi.org/10.1177/25424823251409391).
- [131] SOYSAL F, ISLER S C, GUNAY Z, AKCA G, UNSAL B. Salivary chromogranin a levels in periodontal health status: a cross-sectional study evaluating clinical and psychological associations[J]. *BMC Oral Health*, 2025, 25(1): 1 536.
- [132] GAO Z, CHEN S, DU J, WU Z, GE W, GAO S, ZHOU Z, YANG X, XING Y, SHI M, HU Y, TANG W, XIA J, ZHANG X, JIANG J, YANG S. Quantitative analysis of fucosylated glycoproteins by immobilized lectin-affinity fluorescent labeling[J]. *RSC Advances*, 2023, 13(10): 6 676-6 687.
- [133] JI Y, LI H, DONG J, LIN J, LIN Z. Super-hydrophilic sulfonate-modified covalent organic framework nanosheets for efficient separation and enrichment of glycopeptides[J]. *Journal of Chromatography A*, 2023, 1 699: 464 020.
- [134] ZHU J, DINGESS K A, ZHU J, DINGESS K A. The

- functional power of the human milk proteome[J]. *Nutrients*, 2019, 11(8): 1 834.
- [135] LONNERDAL B, LIAO Y, ALVARADO R, PHINNEY B. Proteomic characterization of human milk whey proteins during a twelve-month lactation period[J]. *The FASEB Journal*, 2011, 25(S1): 104.6.
- [136] MANGÉ A, BELLET V, TUAILLON E, van de PERRE P, SOLASSOL J. Comprehensive proteomic analysis of the human milk proteome: contribution of protein fractionation[J]. *Journal of Chromatography B*, 2008, 876(2): 252-256.
- [137] PICARIELLO G, FERRANTI P, MAMONE G, ROEPSTORFF P, ADDEO F. Identification of *N*-linked glycoproteins in human milk by hydrophilic interaction liquid chromatography and mass spectrometry[J]. *Proteomics*, 2008, 8(18): 3 833-3 847.
- [138] HUANG J, KAILEMIA M J, GOONATILLEKE E, PARKER E A, HONG Q, SABIA R, SMILOWITZ J T, GERMAN J B, LEBRILLA C B. Quantitation of human milk proteins and their glycoforms using multiple reaction monitoring (MRM)[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2017, 409(2): 589-606.
- [139] CAO X, SONG D, YANG M, YANG N, YE Q, TAO D, LIU B, WU R, YUE X. Comparative analysis of whey *N*-glycoproteins in human colostrum and mature milk using quantitative glycoproteomics[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(47): 10 360-10 367.
- [140] CAO X, KANG S, YANG M, LI W, WU S, HAN H, MENG L, WU R, YUE X. Quantitative *N*-glycoproteomics of milk fat globule membrane in human colostrum and mature milk reveals changes in protein glycosylation during lactation[J]. *Food & Function*, 2018, 9(2): 1 163-1 172.
- [141] FROELICH J W, DODDS E D, BARBOZA M, McJIMPSEY E L, SEIPERT R R, FRANCIS J, AN H J, FREEMAN S, GERMAN J B, LEBRILLA C B. Glycoprotein expression in human milk during lactation[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(10): 6 440-6 448.
- [142] MOLINARI C E, CASADIO Y S, HARTMANN B T, ARTHUR P G, HARTMANN P E. Longitudinal analysis of protein glycosylation and β -casein phosphorylation in term and preterm human milk during the first 2 months of lactation[J]. *The British Journal of Nutrition*, 2013, 110(1): 105-115.
- [143] de HAAN N, REIDING K R, DRIESSEN G, van der BURG M, WUHRER M. Changes in healthy human IgG fc-glycosylation after birth and during early childhood[J]. *Journal of Proteome Research*, 2016, 15(6): 1 853-1 861.
- [144] ROSS S A, GERLACH J Q, GILL S K, LANE J A, KILCOYNE M, HICKEY R M, JOSHI L. Temporal alterations in the bovine buttermilk glycome from parturition to milk maturation[J]. *Food Chemistry*, 2016, 211: 329-338.
- [145] ZHANG Y, ZHANG L, XIA S, HOU Y, WU T, ZHOU P. Site-specific glycoproteomic analysis of purified lactoferrin from human and animal milk[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 254: 127 766.
- [146] JIA Y, LU Y, WANG X, YANG Y, ZOU M, LIU J, JIN W, WANG X, PANG G, HUANG L, WANG Z. Mass spectrometry based quantitative and qualitative analyses reveal *N*-glycan changes of bovine lactoferrin at different stages of lactation[J]. *LWT*, 2021, 147: 111 626.
- [147] LU Y, LIU J, JIA Y, YANG Y, CHEN Q, SUN L, SONG S, HUANG L, WANG Z. Mass spectrometry analysis of changes in human milk *N/O*-glycopatterns at different lactation stages[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(38): 10 702-10 712.
- [148] HUANG J, GUERRERO A, PARKER E, STRUM J S, SMILOWITZ J T, GERMAN J B, LEBRILLA C B. Site-specific glycosylation of secretory immunoglobulin a from human colostrum[J]. *Journal of Proteome Research*, 2015, 14(3): 1 335-1 349.
- [149] YANG Y, ZHENG N, ZHAO X, ZHANG Y, HAN R, ZHAO S, YANG J, LI S, GUO T, ZANG C, WANG J. *N*-Glycosylation proteomic characterization and cross-species comparison of milk whey proteins from dairy animals[J]. *Proteomics*, 2017, DOI: [10.1002/pmic.201600434](https://doi.org/10.1002/pmic.201600434).
- [150] CAO X, ZHENG Y, WU S, YANG N, WU J, LIU B, YE W, YANG M, YUE X. Characterization and comparison of milk fat globule membrane *N*-glycoproteomes from human and bovine colostrum and mature milk[J]. *Food & Function*, 2019, 10(8): 5 046-5 058.
- [151] GUAN B, ZHANG Z, LIU X, ZHAO S, BAI X, LUO X, FENG D, YANG L, CAO X, YUE X. Quantitative label-free site-specific glycoproteomic analysis of the milk fat globule membrane protein in human colostrum and mature milk[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2023, 306: 120 588.
- [152] ZHU J, LIN Y H, DINGESS K A, MANK M, STAHL

- B, HECK A J R. Quantitative longitudinal inventory of the *N*-glycoproteome of human milk from a single donor reveals the highly variable repertoire and dynamic site-specific changes[J]. *Journal of Proteome Research*, 2020, 19(5): 1 941-1 952.
- [153] HETTINGA K A, REINA F M, BOEREN S, ZHANG L, KOPPELMAN G H, POSTMA D S, VERVOORT J J M, WIJGA A H. Difference in the breast milk proteome between allergic and non-allergic mothers[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0122234.
- [154] HOLM M, SARASWAT M, JOENVÄÄRÄ S, SEPPO A, LOONEY R J, TOHMOLA T, RENKONEN J, RENKONEN R, JÄRVINEN K M. Quantitative glycoproteomics of human milk and association with atopic disease[J]. *PLoS One*, 2022, 17(5): e0267967.
- [155] SOWISLOK A, BUSCH A, KASCHANI F, KAISER M, JÄGER M. Differences in the synovial fluid proteome of septic and aseptic implant failure[J]. *Antibiotics*, 2024, 13(4): 346.
- [156] CHE X, ZHANG C, ZHUO Y, LI H, DING X, WU G, CAO F, ZHANG G, YIN Y, GUO L, LI P, LI L, WEI X. Serum TSP-1 is a useful biomarker in severity assessment and the diagnosis of osteoarthritis[J]. *Journal of Translational Medicine*, 2025, 23(1): 987.
- [157] SVALA E, JIN C, RÜETSCHI U, EKMAN S, LINDAHL A, KARLSSON N G, SKIÖLDEBRAND E. Characterisation of lubricin in synovial fluid from horses with osteoarthritis[J]. *Equine Veterinary Journal*, 2017, 49(1): 116-123.
- [158] AFSHARI A R, CHANG V, THOMSSON K A, HÖGLUND J, BROWNE E N, KARADZHOV G, MAHONEY K E, LUCAS T M, RANGEL-ANGARITA V, RYBERG H, GIDWANI K, PETERSSON K, ROLFSON O, BJÖRKMAN L I, EISLER T, SCHMIDT T A, JAY G D, MALAKER S A, KARLSSON N G. Glycoproteoforms of osteoarthritis-associated lubricin in plasma and synovial fluid[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2025, 24(3): 100 923.
- [159] WANG Y, GLUDISH D W, HAYASHI K, TODHUNTER R J, KROTSCHKECK U, JOHNSON P J, CUMMINGS B P, SU J, REESINK H L. Synovial fluid lubricin increases in spontaneous canine cruciate ligament rupture[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 16 725.
- [160] TAKESHITA M, KUNO A, SUZUKI K, MATSUDA A, SHIMAZAKI H, NAKAGAWA T, OTOMO Y, KABE Y, SUEMATSU M, NARIMATSU H, TAKEUCHI T. Alteration of matrix metalloproteinase-3 *O*-glycan structure as a biomarker for disease activity of rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2016, 18(1): 112.
- [161] SCHADZEK P, DERKSEN A, BEHRENS W, KOSANKE M, DITTRICH-BREIHOLZ O, HAMM A, ELGER K, ROGER Y, YANG I, STIESCH M, NOLLY, HAERTLÉ M, TUECKING L R, STUKENBORG-COLSMAN C, WINDHAGEN H, TRAN D D H, MELK A, HOFFMANN A. Glycoprotein non-metastatic melanoma protein B is a potential biomarker for arthroplasty aseptic loosening[J]. *Scientific Reports*, 2025, 15: 32 419.
- [162] BAGRI N K, SRIVASTAVA S, SINGH Y, NEELAMEGAN R, UPADHYAY A, KUMAR V S, KARMAKAR S, CHEW C, RAMANAN A V, VELPANDIAN T. Synovial fluid proteomic signatures in different subtypes of juvenile idiopathic arthritis[J]. *Scandinavian Journal of Immunology*, 2025, 102(3): e70051.
- [163] KING J D, ROWLAND G, VILLASANTE TEZANOS A G, WARWICK J, KRAUS V B, LATTERMANN C, JACOBS C A. Joint fluid proteome after anterior cruciate ligament rupture reflects an acute posttraumatic inflammatory and chondrodegenerative state[J]. *Cartilage*, 2020, 11(3): 329-337.
- [164] PARK J H, PARK G T, CHO I H, SIM S M, YANG J M, LEE D Y. An antimicrobial protein, lactoferrin exists in the sweat: proteomic analysis of sweat[J]. *Experimental Dermatology*, 2011, 20(4): 369-371.
- [165] BRUNMAIR J, GOTSMY M, NIEDERSTAETTER L, NEUDITSCHKO B, BILECK A, SLANY A, FEUERSTEIN M L, LANGBAUER C, JANKER L, ZANGHELLINI J, MEIER-MENCHES S M, GERNER C. Finger sweat analysis enables short interval metabolic biomonitoring in humans[J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 5 993.
- [166] SERAG A, SHAKKOUR Z, HALBOUP A M, KOBEISSY F, FARAG M A. Sweat metabolome and proteome: recent trends in analytical advances and potential biological functions[J]. *Journal of Proteomics*, 2021, 246: 104 310.
- [167] CALDERÓN-SANTIAGO M, PRIEGO-CAPOTE F, TURCK N, ROBIN X, JURADO-GÁMEZ B, SANCHEZ J C, LUQUE de CASTRO M D. Human sweat metabolomics for lung cancer screening[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2015, 407(18): 5 381-5 392.
- [168] SOLER-JIMÉNEZ L C, PENICHE-PAVÍA H A,

- VÁZQUEZ-MARTÍNEZ J, HERNÁNDEZ-NUÑEZ E, HERNÁNDEZ-MENA D, MANCILLA-TAPIA J M, GRANJA-PÉREZ P, VIDAL-MARTÍNEZ V M. Solid-phase microextraction of sweat components of patients positive for Sars-Cov-2 for identification of possible biomarkers[J]. *Scientific Reports*, 2025, 15: 35 680.
- [169] ADEWOLE O O, ERHABOR G E, ADEWOLE T O, OJO A O, OSHOKOYA H, WOLFE L M, PRENNI J E. Proteomic profiling of eccrine sweat reveals its potential as a diagnostic biofluid for active tuberculosis[J]. *Proteomics Clinical Applications*, 2016, 10(5): 547-553.
- [170] PETERSON R A, GUENICHE A, ADAM de BEAUMAIS S, BRETON L, DALKO-CSIBA M, PACKER N H. Sweating the small stuff: glycoproteins in human sweat and their unexplored potential for microbial adhesion[J]. *Glycobiology*, 2016, 26(3): 218-229.
- [171] LIN C H, PETERSON R A, GUENICHE A, de BEAUMAIS S A, HOURBLIN V, BRETON L, DALKO M, PACKER N H. Differential involvement of glycans in the binding of *Staphylococcus epidermidis* and *Corynebacterium* spp. to human sweat[J]. *Microbiological Research*, 2019, 220: 53-60.
- [172] METZE D, LUGER T A. Ultrastructural localization of carcinoembryonic antigen (CEA) glycoproteins and epithelial membrane antigen (EMA) in normal and neoplastic sweat glands[J]. *Journal of Cutaneous Pathology*, 1996, 23(6): 518-529.
- [173] KAN M, CHIBA T, KONNO R, KOUCHI Y, MISHIMA T, KAWASHIMA Y, KISHIMOTO T, OHTSUKA M, OHARA O, KATO N. Bile proteome analysis by high-precision mass spectrometry to examine novel biomarkers of primary sclerosing cholangitis[J]. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences*, 2023, 30(7): 914-923.
- [174] WANG L, SUN W, CHANG Y, YI Z. Differential proteomics analysis of bile between gangrenous cholecystitis and chronic cholecystitis[J]. *Medical Hypotheses*, 2018, 121: 131-136.
- [175] THORNE A M, WOLTERS J C, LASCARIS B, BODEWES S B, LANTINGA V A, van LEEUWEN O B, de JONG I E M, USTYANTSEV K, BEREZIKOV E, LISMAN T, KUIPERS F, PORTE R J, de MEIJER V E. Bile proteome reveals biliary regeneration during normothermic preservation of human donor livers[J]. *Nature Communications*, 2023, 14: 7 880.
- [176] MATSUDA A, KUNO A, MATSUZAKI H, KAWAMOTO T, SHIKANAI T, NAKANUMA Y, YAMAMOTO M, OHKOHCHI N, IKEHARA Y, SHODA J, HIRABAYASHI J, NARIMATSU H. Glycoproteomics-based cancer marker discovery adopting dual enrichment with *Wisteria floribunda* agglutinin for high specific glyco-diagnosis of cholangiocarcinoma[J]. *Journal of Proteomics*, 2013, 85: 1-11.
- [177] SHODA J, MATSUDA A, SHIDA T, YAMAMOTO M, NAGINO M, TSUYUGUCHI T, YASAKA T, TAZUMA S, UCHIYAMA K, UNNO M, OHKOHCHI N, NAKANUMA Y, KUNO A, NARIMATSU H. *Wisteria floribunda* agglutinin-sialylated mucin core polypeptide 1 is a sensitive biomarker for biliary tract carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma: a multicenter study[J]. *Journal of Gastroenterology*, 2017, 52(2): 218-228.
- [178] 金晓凌, 王炳生, 陈惠黎, 童赛雄. 凝集素点印迹法分析胆汁糖蛋白糖链结构诊断胆管癌[J]. *实用癌症杂志*, 2001, 16(2): 178-180.
- JIN Xiaoling, WANG Bingsheng, CHEN Huili, TONG Saixiong. The diagnosis of bile duct carcinoma by analysis of sugar chain of glycoprotein in bile with lectin dot-blotting[J]. *The Practical Journal of Cancer*, 2001, 16(2): 178-180(in Chinese).
- [179] HARIPRASAD G, HARIPRASAD R, KUMAR L, SRINIVASAN A, KOLA S, KAUSHIK A. Apolipoprotein A1 as a potential biomarker in the ascitic fluid for the differentiation of advanced ovarian cancers[J]. *Biomarkers*, 2013, 18(6): 532-541.
- [180] CELIK B, DIDEM YALCIN A, ESRA GENÇ G, GUMUSLU S. Proteomics pattern of peritoneal sApo-2L but not CD200 (OX-2) as a possible screening biomarker for metastatic ovarian, endometrial and breast carcinoma[J]. *Journal of B U ON*, 2015, 20(1): 280-286.
- [181] ALMEIDA-NUNES D L, NUNES M, OSÓRIO H, FERREIRA V, LOBO C, MONTEIRO P, ABREU M H, BARTOSCH C, SILVESTRE R, DINIS-OLIVEIRA R J, RICARDO S. Ovarian cancer ascites proteomic profile reflects metabolic changes during disease progression[J]. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 2024, 39: 101 755.
- [182] YANG M H, WANG H Y, LU C Y, TSAI W C, LIN P C, SU S B, TYAN Y C. Proteomic profiling for peritoneal dialysate: differential protein expression in diabetes mellitus[J]. *BioMed Research International*, 2013, 2013(1): 642 964.

- [183] FERRANTELLI E, FARHAT K, EDERVEEN A L H, REIDING K R, BEELEN R H J, van ITTERSUM F J, WUHRER M, DOTZ V. Effluent and serum protein N-glycosylation is associated with inflammation and peritoneal membrane transport characteristics in peritoneal dialysis patients[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 979.
- [184] ZAVVOS V, BUXTON A T, EVANS C, LAMBIE M, DAVIES S J, TOPLEY N, WILKIE M, SUMMERS A, BRENCHELY P, GOUMENOS D S, JOHNSON T S. A prospective, proteomics study identified potential biomarkers of encapsulating peritoneal sclerosis in peritoneal effluent[J]. *Kidney International*, 2017, 92(4): 988-1 002.
- [185] VYCHYTL A, HERZOG R, PROBST P, RIBITSCH W, LHOTTA K, MACHOLD-FABRIZII V, WIESHOLZER M, KAUFMANN M, SALMHOFER H, WINDPESSL M, ROSENKRANZ A R, OBERBAUER R, KÖNIG F, KRATOCHWILL K, AUFRICHT C. A randomized controlled trial of alanyl-glutamine supplementation in peritoneal dialysis fluid to assess impact on biomarkers of peritoneal health[J]. *Kidney International*, 2018, 94(6): 1 227-1 237.
- [186] FANG J, TONG Y, OUYANG J, WEI S, CHEN Z, SONG A, LI P, ZHANG Y, ZHANG H, RUAN H, DING F, LIU Y. Glycoprotein 96 in peritoneal dialysis effluent-derived extracellular vesicles: a tool for evaluating peritoneal transport properties and inflammatory status[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 824 278.
- [187] RILEY S C, BALFOUR C, WATHEN N C, CHARD T, EVANS L W, GROOME N P, WALLACE E M. Follistatin and activin A in extra-embryonic coelomic and amniotic fluids and maternal serum in early pregnancy [J]. *Human Reproduction*, 1998, 13(9): 2 624-2 628.
- [188] HALL N J, DREWETT M, BURGE D. Nutritional role of amniotic fluid: clues from infants with congenital obstruction of the digestive tract[J]. *Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition*, 2019, 104(2): F199-F201.
- [189] LI A, ZHANG L, LIU Q, FANG Z, SUN Y, LI S, PENG Y, ZHANG M, WANG X. Proteomic analysis of amniotic fluid to identify potential targets predicting preterm delivery[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 2023, 1 871(2): 140 879.
- [190] HSU T Y, TSAI K W, LAN K C, HUNG H N, LAI Y J, CHENG H H, TSAI C C, LI S C. Identifying the potential protein biomarkers of preterm birth in amniotic fluid[J]. *Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2020, 59(3): 366-371.
- [191] CHEN S, WANG W, YAN G, LIU M, LI M, CHEN P, MA Q, ZHANG J, TANG Y, ZHOU L, YOU D. Amniotic fluid proteomics analysis and *in vitro* validation to identify potential biomarkers of preterm birth[J]. *Reproductive Sciences*, 2024, 31(7): 2 032-2 042.
- [192] LI M, LIU M, CHEN P, DUAN S, LI Y, MA Q, YAN G, LI H, ZHANG J, YOU D. Amniotic fluid proteomic analysis identifies IL1RL1, APOE, and NECTIN4 as new biomarkers for preterm birth[J]. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 2024, 24(1): 530.
- [193] WANG T, CHAO A, CHEN J, CHAO A, CHANG Y, CHENG P, CHANG S, WANG H. Network analyses of differentially expressed proteins in amniotic fluid supernatant associated with abnormal human karyotypes[J]. *Fertility and Sterility*, 2009, 92(1): 96-107.
- [194] GRAVETT M G, NOVY M J, ROSENFELD R G, REDDY A P, JACOB T, TURNER M, McCORMACK A, LAPIDUS J A, HITTI J, ESCHENBACH D A, ROBERTS C T, NAGALLA S R. Diagnosis of intra-amniotic infection by proteomic profiling and identification of novel biomarkers[J]. *The Journal of the American Medical Association*, 2004, 292(4): 462-469.
- [195] NAVAKAUSKIENĖ R, BARONAITĖ S, MATUZEVIČIUS D, KRASOVSKAJA N, TREIGYTĖ G, ARLAUSKIENĖ A, NAVAKAUSKAS D. Comparative proteomic assessment of normal vs. polyhydramnios amniotic fluid based on computational analysis[J]. *Biomedicine*, 2022, 10(8): 1 821.
- [196] LEE J, LEE J E, CHOI J W, HAN M H, SEONG S Y, PARK K H, PARK J W. Proteomic analysis of amniotic fluid proteins for predicting the outcome of emergency cerclage in women with cervical insufficiency[J]. *Reproductive Sciences*, 2020, 27(6): 1 318-1 329.
- [197] CEN J, LV L, WEI Y, DENG L, HUANG L, DENG X, QIN Q, SUN Y, PANG L. Comparative proteome analysis of amniotic fluids and placentas from patients with idiopathic polyhydramnios[J]. *Placenta*, 2020, 89: 67-77.
- [198] WALKER S, MERCER R, MASKELL N, RAHMAN N M. Malignant pleural effusion management: keeping the flood gates shut[J]. *The Lancet Respiratory Medicine*, 2020, 8(6): 609-618.
- [199] PSALLIDAS I, KANELAKIS N I, GERRY S, THÉZÉNAS M L, CHARLES P D, SAMSONOVA A, SCHILLER H B, FISCHER R, ASCIAK R, HALLIFAX R J, MERCER R, DOBSON M, DONG T, PAVORD I D, COLLINS G S, KESSLER B M, PASS

- HI, MASKELL N, STATHOPOULOS G T, RAHMAN N M. Development and validation of response markers to predict survival and pleurodesis success in patients with malignant pleural effusion (PROMISE): a multicohort analysis[J]. *The Lancet Oncology*, 2018, 19(7): 930-939.
- [200] ROBAK A, KISTOWSKI M, WOJTAS G, PERZANOWSKA A, TARGOWSKI T, MICHALAK A, KRASOWSKI G, DADLEZ M, DOMAŃSKI D. Diagnosing pleural effusions using mass spectrometry-based multiplexed targeted proteomics quantitating mid-to high-abundance markers of cancer, infection/inflammation and tuberculosis[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12: 3 054.
- [201] DONG T, LIANG Y, CHEN H, LI Y, LI Z, GAO X. Quantitative proteomics revealed protein biomarkers to distinguish malignant pleural effusion from benign pleural effusion[J]. *Journal of Proteomics*, 2024, 302: 105 201.
- [202] PALSTRØM N B, OVERGAARD M, LICHT P, BECK H C, PALSTRØM N B, OVERGAARD M, LICHT P, BECK H C. Identification of highly sensitive pleural effusion protein biomarkers for malignant pleural mesothelioma by affinity-based quantitative proteomics[J]. *Cancers*, 2023, 15(3): 641.
- [203] KHAZAN-KOST S, CAFRI G, MELAMED KADOSH D, MOOSHAYEF N, CHATTERJI S, DOMINISSINI D, MANOR S, ZISSER B, BRODAY L, TALALAI E, SHEMER A, ZADOK O, OFEK E, ONN A, ADMON A, PELED M. Soluble HLA peptidome of pleural effusions is a valuable source for tumor antigens[J]. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 2022, 10(5): e003733.
- [204] KANELLAKIS N I, ANTOUN E, CANO-GAMEZ K, CHU J, MANOHARAN N, BERRIDGE G, VENDRELL I, ZHANG Z, CORCORAN J P, ELSHEIKH A, DONG T, FISCHER R, WHALLEY J P, KNIGHT J C, RAHMAN N M. Pleural fluid proteomics from patients with pleural infection shows signatures of diverse neutrophilic responses: the Oxford pleural infection endotyping study (TORPIDS-2)[J]. *The European Respiratory Journal*, 2025, 66(1): 2 500 010.
- [205] DOYLE C J, YANCEY K, PITT H A, WANG M, BEMIS K, YIP-SCHNEIDER M T, SHERMAN S T, LILLEMØE K D, GOGGINS M D, SCHMIDT C M. The proteome of normal pancreatic juice[J]. *Pancreas*, 2012, 41(2): 186-194.
- [206] TIAN M, CUI Y, SONG G, ZONG M, ZHOU X, CHEN Y, HAN J. Proteomic analysis identifies MMP-9, DJ-1 and A1BG as overexpressed proteins in pancreatic juice from pancreatic ductal adenocarcinoma patients[J]. *BMC Cancer*, 2008, 8: 241.
- [207] CHEN K T, KIM P D, JONES K A, DEVARAJAN K, PATEL B B, HOFFMAN J P, EHYA H, HUANG M, WATSON J C, TOKAR J L, YEUNG A T. Potential prognostic biomarkers of pancreatic cancer[J]. *Pancreas*, 2014, 43(1): 22-27.
- [208] WU W, JUAN W C, LIANG C R M Y, YEOH K G, SO J, CHUNG M C M. S100A9, GIF and AAT as potential combinatorial biomarkers in gastric cancer diagnosis and prognosis[J]. *Proteomics-Clinical Applications*, 2012, 6(3/4): 152-162.
- [209] XIANG F, GUO X, CHEN W, WANG J, ZHOU T, HUANG F, CAO C, CHEN X. Proteomics analysis of human pericardial fluid[J]. *Proteomics*, 2013, 13(17): 2 692-2 695.
- [210] CAMPBELL A J, CAKAR S, PALSTRØM N B, RIBER L P, RASMUSSEN L M, BECK H C. A carrier-based quantitative proteomics method applied to biomarker discovery in pericardial fluid[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2024, 23(8): 100 812.
- [211] TRINDADE F, BASTOS P, LEITE-MOREIRA A, MANADAS B, FERREIRA R, SOARES S F, DANIEL-DA-SILVA A L, FALCÃO-PIRES I, VITORINO R. A fractionation approach applying chelating magnetic nanoparticles to characterize pericardial fluid's proteome[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2017, 634: 1-10.
- [212] SEVINC A, BUYUKBERBER S, SARI R, KIROGLU Y, TURK H M, ATES M. Elevated serum CA-125 levels in hemodialysis patients with peritoneal, pleural, or pericardial fluids[J]. *Gynecologic Oncology*, 2000, 77(2): 254-257.
- [213] XU M, JIN H, WU Z, HAN Y, CHEN J, MAO C, HAO P, ZHANG X, LIU C, YANG S. Mass spectrometry-based analysis of serum N-glycosylation changes in patients with Parkinson's disease[J]. *ACS Chemical Neuroscience*, 2022, 13(12): 1 719-1 726.
- [214] WHITE M E H, SINN L R, JONES D M, de FOLTER J, AULAKH S K, WANG Z, FLYNN H R, KRÜGER L, TOBER-LAU P, DEMICHEV V, KURTH F, MÜLLEDER M, BLANCHARD V, MESSNER C B, RALSER M. Oxonium ion scanning mass spectrometry for large-scale plasma glycoproteomics[J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2024, 8(3): 233-247.

(收稿日期: 2025-11-21; 修回日期: 2026-01-27)