

液相色谱串联质谱技术在罕见病诊断中的临床应用

禹松林，王丹晨，邹雨桐，马晓丽，邱 玲

中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院检验科 疑难重症及罕见病国家重点实验室，北京 100730

通信作者：邱玲 电话：010-69159712，E-mail：lingqiubj@163.com

【摘要】罕见病具有种类多、发病率低、诊治困难等特点，近年来备受国家重视。常规实验室检测项目往往不能满足罕见病的诊断需求，液相色谱串联质谱（liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS）技术以其特异度高、可同时区分/定量多种代谢物等特点而广泛受到临床关注，正逐渐从科研应用走向实践前沿。本文以我国第一批罕见病目录为主线，分析LC-MS/MS技术在罕见病诊断中的临床应用现状及前景。

【关键词】液相色谱串联质谱；罕见病；临床应用

【中图分类号】R446.1 **【文献标志码】**A **【文章编号】**1674-9081(2021)04-0450-06

DOI：10.12290/xhyxzz.2021-0324

The Clinical Application of Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry in the Diagnosis of Rare Diseases

YU Songlin, WANG Danchen, ZOU Yutong, MA Xiaoli, QIU Ling

Department of Clinical Laboratory, State Key Laboratory of Complex Severe and Rare Diseases, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

Corresponding author: QIU Ling Tel: 86-10-69159712, E-mail: lingqiubj@163.com

【Abstract】 Rare diseases, with the characteristics of abundant species, low prevalence, and difficulty in diagnosis and treatment, have drawn more and more attention from our country in recent years. Usually, conventional laboratory tests can not meet the requirements for the diagnosis of rare diseases. Due to its high specificity, the ability of simultaneously differentiating and quantifying various metabolites, and so on, liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) has attracted wide attention in clinical laboratories, and been gradually moving from scientific research to the forefront of clinical practice. Based on the first batch of rare diseases published in China, we summarized in this study the status and prospect of LC-MS/MS in the clinical application of diagnosing rare diseases.

【Key words】 liquid chromatography-tandem mass spectrometry; rare diseases; clinical application

Funding: Beijing Key Clinical Specialty for Laboratory Medicine-Excellent Project (ZK201000); Capital's Funds for Health Improvement and Research (2020-1-4014); Innovation-led Industrial Cluster Project of Zheng-Luo-Xin National Innovation Demonstration Area (201200211100)

Med J PUMCH, 2021, 12(4):450-455

基金项目：北京市临床重点专科医学检验科卓越项目（ZK201000）；首都卫生发展科研专项（2020-1-4014）；郑洛新国家自主创新示范区创新引领型产业集群专项（201200211100）

引用本文：禹松林，王丹晨，邹雨桐，等. 液相色谱串联质谱技术在罕见病诊断中的临床应用 [J]. 协和医学杂志, 2021, 12 (4): 450-455. doi: 10.12290/xhyxzz.2021-0324.

近年来，液相色谱串联质谱（liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS）技术在临床检验领域受到广泛关注。其因特异度高、可同时区分/定量多种代谢物等特点，正逐渐从科研应用走向临床实践前沿。一方面，在目前常规生化免疫学尚无成熟检测方法的情况下，LC-MS/MS 技术可作为临床亟需项目的重要补充；另一方面，作为鉴别检测干扰物的利器，LC-MS/MS 技术可标化不同分析系统检验结果的一致性，对同一待测物质不同结构亚组进行准确定量分析，从而在临床精准诊断中发挥越来越大的作用。罕见病患者仅占全球人口的 0.65‰~1‰，但病种多达 7000 多种，且临床表现差异大，诊断非常困难。为加强我国罕见病防治管理、提高罕见病诊疗水平，2018 年国家卫生健康委员会联合五部门制定了《第一批罕见病目录》，纳入了 121 种罕见病。目前罕见病体外诊断领域的关注点集中于基因突变检测方面，而对具有筛查、诊断及鉴别诊断作用的代谢物、激素等的定量检测则缺乏完整的解决方案。LC-MS/MS 技术具有同时准确定量分析多种物质的能力，可以对罕见病的早期诊断及治疗监测提供有力的实验室帮助。目前，LC-MS/MS 技术已在多种罕见病检测中发挥关键作用，本文参考我国《第一批罕见病目录》，同时纳入部分不在此目录但北京协和医院接诊较多且患病率低于 1/10 000 的疾病，分析 LC-MS/MS 技术在其诊断中的应用现状及前景。

1 激素相关罕见病

目前，睾酮、雌二醇等激素已有相对成熟的免疫学检测方法，但免疫学方法可检测的激素项目有限，且不同免疫平台的检测结果差异较大。遇到非特异性干扰时，检测结果可能给临床诊断带来困扰，甚至有学者指出，“采用免疫学方法检测睾酮还不如猜一个结果更加准确”^[1]。而 LC-MS/MS 方法特异度高，在激素检测中具有巨大优势。

1.1 类固醇激素相关罕见病

类固醇激素种类众多，代谢通路复杂，与多种肾上腺及性腺疾病相关。目前基于 LC-MS/MS 技术可同时检测几十种类固醇激素，在一系列类固醇激素相关罕见病如先天性肾上腺皮质增生性疾病及其亚型的诊断和鉴别诊断中发挥着重要作用。21-羟化酶缺乏导致的先天性肾上腺皮质增生（congenital adrenal hyperplasia, CAH）的临床实践指南明确指出，免疫学方法测定 17α-羟孕酮存在假阳性结果，推荐采用

LC-MS/MS 作为首选测定方法，以改进 CAH 的阳性预测结果^[2]。CAH 亚型种类较多，包括 11β-羟化酶缺陷症、17-羟化酶缺陷症、21-羟化酶缺陷症、3β-羟基类固醇脱氢酶缺陷症等。此外，其临床表现复杂多样，不同亚型激素的升高或降低不完全相同，例如，21-羟化酶缺陷症导致的 CAH 表现为 11-脱氧皮质醇和皮质酮等盐皮质激素降低，17α-羟孕酮、孕酮、睾酮增高；而 11β-羟化酶缺陷症表现为 11-脱氧皮质醇增高，皮质醇和皮质酮降低；3β-类固醇脱氢酶缺陷症则表现为 17α-羟孕烯醇酮和脱氢表雄酮增高，孕酮、17α-羟孕酮、雄烯二酮降低。CAH 亚型的临床诊断及鉴别诊断困难，往往需依赖多种类固醇激素的联合检测。目前，对于 11-脱氧皮质醇、17α-羟孕烯醇酮等激素的检测尚无成熟的生化免疫学方法，而 LC-MS/MS 技术为多种类固醇激素同时、准确检测提供了可能。近年来，国内外相继开发出可同时检测 10 种以上类固醇激素的 LC-MS/MS 方法，为 CAH 亚型的诊断及鉴别诊断提供了帮助^[3-4]。

北京协和医院检验科建立的同时测定 25 种类固醇激素的方法，在既往报道的 20 种类固醇激素^[4]的基础上，增加了 18-氧皮质醇、18-羟皮质醇、18-羟皮质酮等指标，与醛固酮的联合应用对于原发性醛固酮增多症及其亚型、醛固酮分泌瘤及双侧肾上腺增粗具有鉴别意义^[5]。然而，基于 LC-MS/MS 技术获得的众多类固醇激素的检测结果也为检验科及初级临床医生对于结果的准确判读提出了挑战。基于此，北京协和医院检验科根据 25 种类固醇激素的代谢途径，制定了以代谢通路为模板的检验报告（图 1）。

1.2 儿茶酚胺激素相关罕见病

儿茶酚胺（catecholamine, CA）包括多巴胺（dopamine, DA）、肾上腺素（epinephrine, E）和去甲肾上腺素（norepinephrine, NE），又可分别代谢为 3-甲氧基酪胺（3-methoxytyramine, 3-MT）、3-甲氧基肾上腺素（metanephrine, MN）、3-甲氧基去甲肾上腺素（normetanephrine, NMN）等。CA 及其代谢物的检测在嗜铬细胞瘤和副神经节瘤（pheochromocytomas and paragangliomas, PPGLs）的筛查、诊断及治疗监测中起着决定性作用。PPGLs 起源于肾上腺及肾上腺外的嗜铬细胞，发病率较低，约占高血压患者的 0.1%~0.6%。国内外多个关于 PPGLs 的诊疗指南^[6-7]均指出，PPGLs 诊断首选的生化指标为血游离或尿分馏 MN 和 NMN，NE、E 和 DA 可协助诊断，并推荐采用 LC-MS/MS 或液相色谱串联电化学检测器进行检测。多个研究数据显示，血游离 MN 和 NMN 的

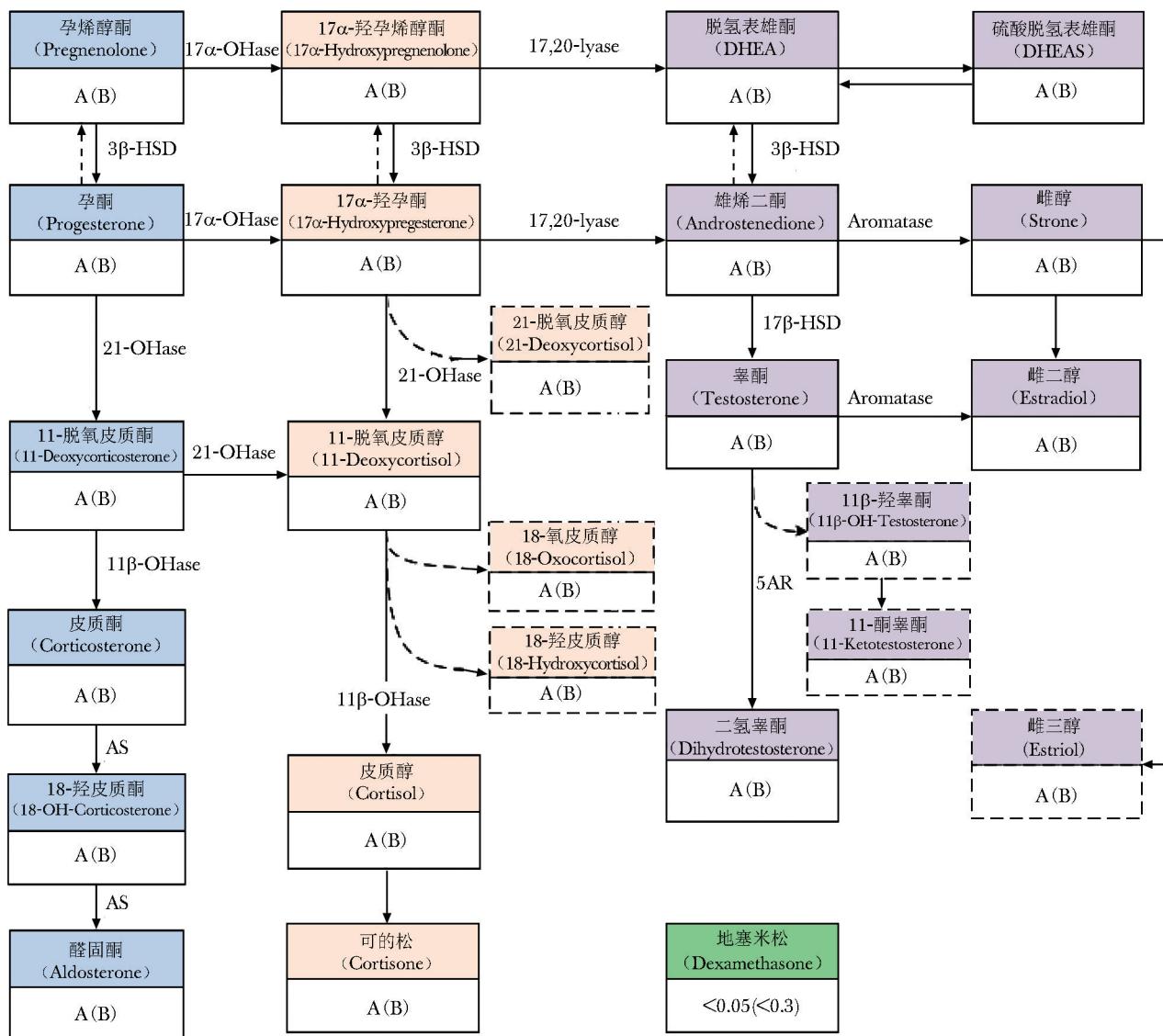


图 1 北京协和医院检验科类固醇激素检验报告模板

A 代表检测结果；B 代表参考范围；OHase：羟化酶；lyase：裂解酶；HSD：羟基类固醇脱氨酶；Aromatase：芳香化酶；5AR： 5α -还原酶；AS：醛固酮合酶

检测结果对 PPGLs 的诊断灵敏度及特异度均达 90% 以上，而尿 CA 的诊断灵敏度（69%~92%）和特异度（72%~96%）较代谢物 MN 和 NMN 稍低^[6-7]，且 CA 更易受患者情绪（应激/焦虑）、活动（运动）以及饮食（酒精/咖啡）等影响。尽管 LC-MS/MS 技术测定 CA 及其代谢物优势明显，但为保证结果的可靠性，需严格控制影响因素，如药物、样本采集后的放置条件等^[8-10]。

2 遗传性代谢障碍相关罕见病

新生儿遗传性代谢障碍多为罕见病，其患病率约为 16.25/10 000，主要包括氨基酸代谢病（如苯丙酮

尿症、高苯丙氨酸血症）、有机酸代谢病（如丙酸血症、戊二酸血症）和脂肪酸代谢病（如原发性肉碱缺乏症）等^[11]。串联质谱（tandem mass spectrometry, TMS）技术是其首选测定方法^[12]。基于 TMS 技术，通过几滴血、一次检测便可在几分钟内测定几十种氨基酸、肉碱和琥珀酰丙酮等化合物，满足对多种新生儿遗传性代谢障碍同时筛查的需求。欧美等发达国家已将其列为法定筛查项目，在我国部分大中城市也已相继开展^[13]。然而，TMS 技术不经过色谱分离，无法区分同分异构体，同时存在其他代谢物干扰的风险，因此在一些特殊情形下，对 TMS 技术检测阳性的样本采用 LC-MS/MS 或气相色谱串联质谱（gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS）

技术进行二次筛查具有重要意义。

甲基丙二酸血症 (methylmalonic aciduria, MMA) 作为一种严重异质性丙二酸甲酯和钴胺素 (维生素 B₁₂) 代谢性疾病，可造成多脏器 (肝脏、肾脏等) 损害，致死率较高且存活者预后不良^[14-15]。MMA 在中国较为常见，由于其临床异质性大，易造成漏诊或误诊^[16]。因此，早期诊断、治疗至关重要。基于 TMS 技术测定干血斑中肉碱水平是临床提示 MMA 的重要指标，然而该方法缺乏特异性，阳性预测值较低，很难实现与丙酸血症等的准确鉴别诊断。因此，推荐对新筛阳性样本进一步采用 LC-MS/MS 技术进行二次筛查^[17]。尽管采用免疫学方法可实现维生素 B₁₂ 的测定，但其易受内因子抗体干扰而出现测定结果假性正常或增高的现象^[18]。基于 LC-MS/MS 技术不仅可实现维生素 B₁₂、甲基丙二酸的准确测定，亦可与其代谢产物琥珀酸相区分，从而有效降低 MMA 筛查的假阳性率，且该方法无需衍生化步骤，相比 GC-MS/MS 技术操作更简单、快速^[15]。

基于 LC-MS/MS 技术可同时准确定量多种脂肪酸，对 X-连锁肾上腺脑白质营养不良 (X-linked adrenoleukodystrophy, X-ALD) 等罕见病的辅助诊断具有重要价值。X-ALD 由于 ABCD1 基因突变、过氧化物酶体代谢极长链脂肪酸障碍，导致极长链脂肪酸在肾上腺、脑白质等部位蓄积，进而影响肾上腺和脑白质功能，其在男性中的发病率约为 1/21 000。由于本病尚无有效的治疗手段，携带者的检出和产前诊断意义重大。常见的极长链脂肪酸包括 C22:0、C24:0 和 C26:0，研究显示基于 TMS 技术评估干血斑中极长链脂肪酸，特别是 C26:0 与 C22:0 的比值可快速、简便、可靠地筛查 X-ALD 及其他过氧化物酶体疾病^[19]，而基于 LC-MS/MS 技术准确定量血浆中的 C26:0 和 C24:0，可作为进一步诊断的方法，其鉴别 X-ALD 的特异度可达 100%^[20]，此外，基于 LC-MS/MS 技术可同时检测羊水和血液中 C22:0、C24:0、C26:0 等的水平，检测性能良好、无需衍生化^[21]。

基于 LC-MS/MS 技术可快速准确测定体液中氨基酸、脂肪酸、有机酸及肉碱等代谢物质的水平，辅助相关疾病筛查，降低 TMS 技术初筛的假阳性率。但值得注意的是，氨基酸、脂肪酸及有机酸等代谢相关的罕见病多为遗传性疾病，质谱方法大多仅可作为筛查、辅助诊断及治疗监测的手段，最终的确诊和鉴别诊断仍依赖于酶活性测定和/或基因检测。

3 维生素代谢相关罕见病

据文献报道，低磷性佝偻病这一罕见病患者表现为 25OHD₃ 正常或稍低，1,25(OH)₂D₃ 则由于 1α-羟化酶受到成纤维细胞生长因子抑制而明显降低^[22-23]。在 CYP24A1 突变导致的特发性高钙血症患者中，25OHD 失活途径受阻，导致无法代谢生成 24,25(OH)₂D，体内 24,25(OH)₂D 含量明显降低。2016 年 Ketha 等^[24]指出 25OHD 与 24,25(OH)₂D 的比值可作为筛查 CYP24A1 突变的常规临床检查指标，并建议对临床不明原因的高钙血症患者，采用 LC-MS/MS 检测 25OHD 与 24,25(OH)₂D 的比值以筛查 CYP24A1 突变^[24]。目前免疫学方法可测定 25OHD 以及 1,25(OH)₂D₃，但传统的免疫学检测方法易受非特异性交叉干扰，导致检测结果不准确^[25]，且免疫学方法存在无法区分维生素 D₂ 和 D₃ 亚型，测定范围较窄等问题。而 LC-MS/MS 具有特异度好的优势，可同时分析维生素 D 及其代谢物等多种亚组成分^[26-27]，因此其在需对维生素 D 及其代谢物进行区分的维生素 D 代谢相关罕见病中日渐受到临床认可。北京协和医院检验科亦于 2018 年率先在国内建立了 LC-MS/MS 同时测定 25OHD 和 24,25(OH)₂D 的方法^[25]，在 CYP24A1 突变导致的特发性高钙血症、低磷性佝偻病等的筛查及治疗监测中发挥了重要作用。

4 IgG4 相关性疾病

近年新命名的 IgG4 相关性疾病 (IgG4 related disease, IgG4-RD) 是一类原因不明的慢性、进行性炎症伴纤维化和硬化的疾病，主要特征为血清 IgG4 水平显著增高。研究显示，血清 IgG4 浓度诊断 IgG4-RD 的灵敏度和特异度分别为 87.2% 和 82.6%^[28]，但其采用不同方法测定具有不同的临界值，通常采用的定量方法是自动免疫比浊法。尽管免疫比浊法应用广泛，但存在校准差异^[29-31] 和抗原过量干扰（“钩”效应）^[32-33] 等局限性。采用 LC-MS/MS 可在一次进样中完成对 4 种 IgG 亚型及 IgG 总量共 5 个指标的同时测定，且 IgG 亚型的加和值和直接测得的 IgG 总量的相关性优于免疫比浊法^[34]。有研究分别采用免疫比浊法和 LC-MS/MS 对 75 例患者样本的 IgG 亚型进行测定，发现两种方法的结果并不一致，IgG2 抗体与 IgG4 抗体存在交叉干扰，导致免疫比浊法分开测定 4 种亚型 IgG 的加和值高于直接测得的 IgG 总值，而采

用 LC-MS/MS 测得的各亚型的加和值与总值接近 (70 例结果偏差在 20% 以内) [35]。

5 帕金森病

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 虽被界定为罕见病，但随着中国老龄化进程加速，PD 作为除阿尔茨海默病外最常见的神经退行性疾病，其发病率越来越高，目前仅可通过临床症状诊断，并无明确的生物学指标。有研究采用代谢组学手段，利用高分辨质谱技术准确定性的能力对可能的 PD 生物标志物进行了探索，并发现 N1, N8 -二乙酰亚胺可能是诊断 PD 的生物标志物 [36]。此外，有报道称嘌呤代谢物是 PD 恶化或改善的临床相关生物标志物，而基于LC-MS/MS技术可实现 6 种嘌呤分子的同时测定 [37]。未来，LC-MS/MS 技术有望在 PD 诊治中发挥重要作用。

6 前景与挑战

随着 LC-MS/MS 技术的不断进步，其临床应用越来越广泛，并在 CAH、PPGLs、MMA、X-ALD 等多种罕见病的筛查、诊断、鉴别诊断以及治疗监测中崭露头角。然而，LC-MS/MS 技术在推广应用过程中仍存在较大挑战：首先，LC-MS/MS 技术目前尚存在自动化程度低、仪器昂贵、配套试剂和质控品不成熟等问题，造成实验室人员工作量较大；其次，罕见病指标繁多，国内研究较少，缺乏基于 LC-MS/MS 检测方法的国内人群参考区间，特别是对于受到月经周期、年龄、性别等影响的指标，建立其人群参考区间面临巨大挑战；此外，某些临床有需求的项目尚未建立收费标准，致使工作进一步开展受到限制。然而，随着国家对罕见病关注度的提高以及国内外医疗器械生产厂商、医疗应用机构对 LC-MS/MS 技术的不断研发，目前存在的问题正在逐步被解决。总之，LC-MS/MS 技术在临床检测领域已展现出强大优势，不仅可与现有生化免疫技术实现互补，未来在发现及验证罕见病新的生物标志物方面亦将发挥不可估量的作用。

作者贡献：禹松林负责整理文献、撰写论文；王丹晨、邹雨桐、马晓丽负责文献查阅与收集；邱玲负责修订、审核论文。

利益冲突：无

参 考 文 献

- [1] Herold DA, Fitzgerald RL. Immunoassays for testosterone in women: better than a guess? [J]. Clin Chem, 2003, 49: 1250-1251.
- [2] Speiser PW, Arlt W, Auchus RJ, et al. Congenital Adrenal Hyperplasia Due to Steroid 21-Hydroxylase Deficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2018, 103: 4043-4088.
- [3] Hines JM, Bancos I, Bancos C, et al. High-Resolution, Accurate-Mass (HRAM) Mass Spectrometry Urine Steroid Profiling in the Diagnosis of Adrenal Disorders [J]. Clin Chem, 2017, 63: 1824-1835.
- [4] Wang Z, Wang H, Peng Y, et al. A liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) -based assay to profile 20 plasma steroids in endocrine disorders [J]. Clin Chem Lab Med, 2020, 58: 1477-1487.
- [5] Mulatero P, di Cellla SM, Monticone S, et al. 18-hydroxycorticosterone, 18-hydroxycortisol, and 18-oxocortisol in the diagnosis of primary aldosteronism and its subtypes [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2012, 97: 881-889.
- [6] Lenders JW, Duh QY, Eisenhofer G, et al. Pheochromocytoma and paraganglioma: an endocrine society clinical practice guideline [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2014, 99: 1915-1942.
- [7] 中华医学会内分泌学分会. 嗜铬细胞瘤和副神经节瘤诊断治疗专家共识 (2020 版) [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2020, 36: 737-750.
- [8] 刘庆香, 周伟燕, 张传宝. 儿茶酚胺及其代谢物的检测现状及标准化期望 [J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43: 322-327.
- [9] Liu QX, Zhou WY, Zhang CB. Detection and standardization of catecholamines and their metabolites [J]. Zhonghua Jianyan Yixue Zazhi, 2020, 43: 322-327.
- [10] Danese E, Montagnana M, Brentegani C, et al. Short-term stability of free metanephrenes in plasma and whole blood [J]. Clin Chem Lab Med, 2020, 58: 753-757.
- [11] Yu S, Wang D, Yu J, et al. Plasma or serum, which is the better choice for the measurement of metanephrenes? [J]. Scand J Clin Lab Invest, 2021, 81: 250-253.
- [12] 孙丽芳, 李杰. 串联质谱技术应用于新生儿遗传代谢病筛查, 以甘肃省为例 [J]. 基因组学与应用生物学, 2020, 39: 1955-1960.
- [13] 杨宇奇, 蒋曙红, 韩小亚, 等. 20027 例新生儿遗传代谢病串联质谱筛查的初步报告 [J]. 重庆医学, 2018, 47: 108-111.
- [14] 卫生部临床检验中心新生儿遗传代谢疾病筛查室间质量评价委员会. 新生儿疾病串联质谱筛查技术专家共识 [J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42: 89-97.

- [14] Zhou X, Cui Y, Han J. Methylmalonic acidemia: Current status and research priorities [J]. Intractable Rare Dis Res, 2018, 7: 73-78.
- [15] Baumgartner MR, Hörster F, Dionisi-Vici C, et al. Proposed guidelines for the diagnosis and management of methylmalonic and propionic acidemia [J]. Orphanet J Rare Dis, 2014, 9: 130.
- [16] Fraser JL, Venditti CP. Methylmalonic and propionic acidemias: clinical management update [J]. Curr Opin Pediatr, 2016, 28: 682-693.
- [17] 王彦云, 孙云, 蒋涛. 串联质谱和高效液相色谱-串联质谱二次筛查联合应用于新生儿 MMA 筛查 [J]. 临床检验杂志, 2018, 36: 350-354.
- Wang YY, Sun Y, Jiang T. Combined application of MS/MS and LC-MS/MS in the newborn screening of children with methylmalonic acidemia [J]. Linchuang Jianyan Zazhi, 2018, 36: 350-354.
- [18] Yang DT, Cook RJ. Spurious elevations of vitamin B₁₂ with pernicious anemia [J]. N Engl J Med, 2012, 366: 1742-1743.
- [19] Natarajan A, Christopher R, Netravathi M, et al. Flow injection ionization-tandem mass spectrometry-based estimation of a panel of lysophosphatidylcholines in dried blood spots for screening of X-linked adrenoleukodystrophy [J]. Clin Chim Acta, 2019, 495: 167-173.
- [20] Takashima S, Toyoshi K, Itoh T, et al. Detection of unusual very-long-chain fatty acid and ether lipid derivatives in the fibroblasts and plasma of patients with peroxisomal diseases using liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Mol Genet Metab, 2017, 120: 255-268.
- [21] Wang D, Yu S, Zhang Y, et al. Rapid liquid chromatography-tandem mass spectrometry to determine very-long-chain fatty acids in human and to establish reference intervals for the Chinese population [J]. Clin Chim Acta, 2019, 495: 185-190.
- [22] Raimann A, Mindler GT, Kocjan R, et al. Multidisciplinary patient care in X-linked hypophosphatemic rickets: one challenge, many perspectives [J]. Wien Med Wochenschr, 2020, 170: 116-123.
- [23] 王青青, 薛颖. 遗传性低磷血症性佝偻病简述 [J]. 发育医学电子杂志, 2020, 3: 277-281.
- [24] Ketha H, Kumar R, Singh RJ. LC-MS/MS for Identifying Patients with CYP24A1 Mutations [J]. Clin Chem, 2016, 62: 236-242.
- [25] Yu S, Zhou W, Wang D, et al. Rapid liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for determination of 24,25(OH)₂D and 25OHD with efficient separation of 3-epi analogs [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2019, 187: 146-151.
- [26] Jenkinson C, Taylor AE, Hassan-Smith ZK, et al. High throughput LC-MS/MS method for the simultaneous analysis of multiple vitamin D analytes in serum [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2016, 1014: 56-63.
- [27] Yu S, Cheng X, Fang H, et al. 25OHD analogues and vacuum blood collection tubes dramatically affect the accuracy of automated immunoassays [J]. Sci Rep, 2015, 5: 14636.
- [28] Xu WL, Ling YC, Wang ZK, et al. Diagnostic performance of serum IgG4 level for IgG4-related disease: a meta-analysis [J]. Sci Rep, 2016, 6: 32035.
- [29] Bossuyt X, Mariën G, Meyts I, et al. Determination of IgG subclasses: a need for standardization [J]. J Allergy Clin Immunol, 2005, 115: 872-874.
- [30] Wilson C, Ebeling R, Henig C, et al. Significant, quantifiable differences exist between IgG subclass standards WHO67/97 and ERM-DA470k and can result in different interpretation of results [J]. Clin Biochem, 2013, 46: 1751-1755.
- [31] Parker AR, Hughes RG, Mead GP, et al. Reply to “pediatric reference intervals for immunoglobulin G and its subclasses with Siemens immunonephelometric assays” [J]. Clin Biochem, 2011, 44: 745-746.
- [32] Khosroshahi A, Cheryk LA, Carruthers MN, et al. Brief Report: spuriously low serum IgG4 concentrations caused by the prozone phenomenon in patients with IgG4-related disease [J]. Arthritis Rheumatol, 2014, 66: 213-217.
- [33] Stone JH, Brito-Zerón P, Bosch X, et al. Diagnostic Approach to the Complexity of IgG4-Related Disease [J]. Mayo Clin Proc, 2015, 90: 927-939.
- [34] Ladwig PM, Barnidge DR, et al. Quantification of serum IgG subclasses by use of subclass-specific tryptic peptides and liquid chromatography--tandem mass spectrometry [J]. Clin Chem, 2014, 60: 1080-1088.
- [35] van der Gugten G, DeMarco ML, Chen LYC, et al. Resolution of Spurious Immunonephelometric IgG Subclass Measurement Discrepancies by LC-MS/MS [J]. Clin Chem, 2018, 64: 735-742.
- [36] Saiki S, Sasazawa Y, Fujimaki M, et al. A metabolic profile of polyamines in parkinson disease: A promising biomarker [J]. Ann Neurol, 2019, 86: 251-263.
- [37] Nybo SE, Lamberts JT. Integrated use of LC/MS/MS and LC/Q-TOF/MS targeted metabolomics with automated label-free microscopy for quantification of purine metabolites in cultured mammalian cells [J]. Purinergic Signal, 2019, 15: 17-25.

(收稿: 2021-04-12 录用: 2021-04-29 在线: 2021-06-28)

(本文编辑: 李 娜)