·综　述·

液相色谱质谱联用技术在临床检测和代谢研究中的应用进展*

王国才[1]综述，贺玖明[2△]审校

（1. 北京九昊医药科技有限公司，北京 100076；2. 中国医学科学院北京协和医学院药物研究所/天然药物活性物质与功能国家重点实验室，北京 100050）

摘　要：色谱-质谱联用技术［液相色谱-质谱联用（LC-MS）、气相色谱-质谱联用（GC-MS）等］因其灵敏度高、具有保留时间和质荷比双重分离的选择性和特异度、检测动态范围宽等优势，已成为临床代谢物指标检测和代谢组学研究中不可或缺的分析工具。其中液相色谱串联质谱（LC-MS/MS）可对目标代谢物进行准确定性定量分析，能够在单次分析中获得数千种代谢物的信息。该文结合文献报道，综述了液质联用技术在临床样品的代谢物检测和代谢组学研究的应用进展，介绍了多种代谢标志物与疾病相关性和相应的检测方法，讨论了现阶段液质联用技术在临床转化应用中面临的问题，并展望未来发展趋势。

关键词：液相色谱质谱联用；　代谢组学；　代谢检测；　疾病诊断；　生物标志物

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2018.22.008　　**中图法分类号：**R-1；R589

文章编号：1673-4130(2018)22-2750-06　　**文献标识码：**A

以基因组学、转录组学、蛋白组学和代谢组学为主体的系统生物学，分别从调控的不同层面（基因、mRNA、蛋白质和代谢物）对生物体中的物质及其功能，进行多维、系统地深入研究，以认识和掌握生命活动的本质及疾病的发生、发展规律[1-2]。代谢物是生命体内生物化学活动与功能最直接的信号或结构组成分子，是机体与外界环境共同作用的产物，在生命活动中既反映了基因及其作用的下游输出，又能表现环境因素的上游摄入；它们能够直接、准确地反映生物体系的状态，极易与生理活动或疾病表型相关联[3-5]。因此，对代谢物的深入研究和检测，可发现疾病与基因-环境的相互作用关系，为疾病的发生发展机制的阐述、新型可靠疾病标志物的发现和临床疾病诊断提供了全新的视角和有力的工具[6-7]。

最新报道显示，生物体内代谢物数量超过 41 000 个，而且不同代谢物种类理化性质差异大，含量悬殊跨越 9 个数量级[8]，这些因素都为代谢物的分析检测和疾病代谢标志物的发现带来巨大的挑战。现有的研究成果及其临床应用已经证明代谢标志物的对人体疾病的筛查、诊断具有极其重要的参考意义。如结合检测血清皮质醇、脱氢表雄酮、17-羟皮质类固醇等指标，可明确诊断肾上腺皮质疾病中最常见的皮质醇增多症[9-12]。血液中儿茶酚胺的检测结果可准确判断嗜铬细胞瘤[13-15]。针对特定的氨基酸或酰基肉碱的检测，可快速筛查新生儿先天代谢性疾病[16]。具有临床诊断意义的代谢物标志物还有兴奋性氨基酸/抑制性氨基酸（神经系统代谢紊乱疾病）、铁调素（铁吸收紊乱）、醛固酮/同型半胱氨酸（心血管疾病）、重组人甲状旁腺素（肾性骨病、心肌肥大、软组织钙化）、25-羟基维生素 D（骨质疏松）、维生素 A（夜盲症）等[17-21]。

1　临床检验中的代谢标志物检测进展

针对目标代谢物（疾病标志物）的特异分析，建立高灵敏度和高专属性的液相色谱串联质谱（LC-MS/MS）分析方法，可实现临床来源的复杂生物样本中疾病标志物的快速准确定量分析，为疾病的诊断和筛查提供准确的参考依据。当前临床检验中，代谢标志物的常规检测多为免疫方法，该技术存在相似代谢物干扰多、灵敏度和准确性差，一次只能检测单个项目或指标等不足。在 LC-MS/MS 分析过程中，临床生物样本经过一定的前处理（如蛋白沉淀、液液萃取、净化、衍生化或浓缩等），经液相色谱分离、洗脱进入质谱离子源实现离子化后，在第一个质量分析器（Q1）中按其母离子的质荷比（m/z）的差异进行分离选择，进入碰撞室发生碰撞诱导裂解，产生子离子，再经后一个质量分析器（Q3）按 m/z 分离或选择后检测，从而实现定性定量分析。因其上述原理上的优势，在临床检验针对代谢物的检测应用中具有以下特点：（1）多指标同时检测，如新生儿代谢性疾病筛查，一次分析可检测几十种氨基酸和酰基肉碱；（2）分析速度快，如一个样品测试几分钟内即可完成；（3）极高的灵敏度和特异度，如检测内源性激素，灵敏度可达 pg 级，即使是同分异构体，也能很好区分；（4）样品用量少，如

* **基金项目：**国家自然科学基金资助项目（81773678）。

作者简介：王国才，男，执业药师，主要从事药物代谢方向的研究。　△　**通信作者：**E-mail：hejiuming@imm.ac.cn。

本文引用格式：王国才，贺玖明. 液相色谱质谱联用技术在临床检测和代谢研究中的应用进展［J］. 国际检验医学杂志，2018，39(22)：2750-2755.

干血斑、从数微升到数百微升样品就可实现准确分析。LC-MS/MS 因其高通量、高灵敏度和高特异度、适用范围广、检测周期短、可同时检测多指标且准确性高的优势，被不断推广和扩大应用范围，逐渐替代传统免疫方法，已成为在临床检验应用中重要的新技术。

1.1　维生素类

1.1.1　25-羟基维生素 D　维生素 D 缺乏会导致少儿佝偻病和成年人的软骨病。维生素 D_2 和维生素 D_3 在肝脏中转化为 25-羟基维生素 D_2 和 25-羟基维生素 D_3。体内 25-羟基维生素 D 血浆浓度最少需要 20 ng/mL 来维持牙齿和骨骼的正常生长，一般情况下其血浆浓度为 30～40 ng/mL，当浓度＞80 ng/mL 时则会产生毒性。临床检测采用的传统免疫方法，不能区分维生素 D_2 和 D_3，仅能得到总的维生素 D 含量。与免疫方法不同的是，LC-MS/MS 在区分 2 种形式的维生素 D 同时，更能提高在微量样本中的检出度，成为国际公认的“金标准”。文献报道在此类检测方法中，血浆/血清用量约 150～200 μL，检测灵敏度可达 0.5～5.0 ng/mL，样本前处理多采用液液萃取浓缩后进样分析[22-24,45-49]。

1.1.2　维生素 A 和维生素 E　维生素 A 又名视黄醇，主要维持正常视觉功能。维生素 A 缺乏时，影响暗适应能力。维生素 E 包括生育酚和三烯生育酚两类共 8 种化合物，α-生育酚是自然界中分布最广泛、含量最丰富活性最高的维生素 E 形式。测定维生素 E 营养状况，有利于鉴别饮食引起的缺乏征和吸收不良引起的缺乏征。维生素 A 和维生素 E 在体内含量较高，血清浓度范围分别为 0.20～0.80 μg/mL 和5.0～20.0 μg/mL。LC-MS/MS 技术可同时检测上述 2 个化合物，通常采用液液萃取的前处理方法，血浆用量在 50～100 μL，检测灵敏度分别为维生素 A：20～100 ng/mL 和维生素 E：20～60 ng/mL[25-31,50]。

维生素 A 和维生素 E 稳定性较差，含量测定应采用同位素内标定量法。样品的前处理过程中需要在避光和加入抗氧化剂条件下进行[32]，维生素 E 更易受空气氧化和光照的影响。检测儿童样品时，应关注不同年龄段的儿童体内含量差异。

1.1.3　维生素 K　维生素 K 又称凝血纤维素，缺乏时血中几种有助于凝血的因子水平就会降低，使血液凝固发生障碍。轻者凝血时间延长，重者可出现紫癜、齿龈出血、鼻出血、创伤后流血不止等情况[51-53]。血浆维生素 K 水平较低，李岩等[33]报道 20～49 岁的健康成人血浆维生素 K_1 水平为 0.23～2.33 ng/mL。维生素 K_1 的血中水平与细胞色素 P450 酶 4F2 基因多态性是服用华法林患者个体化给药的影响因素，可为华法林的个体化给药提供参考依据。

1.2　儿茶酚胺　儿茶酚胺是一类含有儿茶酚和胺基的神经递质类物质，通常是指去甲肾上腺素（NE）、肾上腺素和多巴胺（DA）。NE 和肾上腺素既是肾上腺素髓质所分泌的激素，又是交感神经和中枢神经系统中去甲肾上腺素能纤维的神经介质。NE 在中枢神经系统内分布广泛，含量较多。DA 主要集中在锥体外系部位，也是一种神经递质。它们是重要的典型的肾上腺素受体激动剂。由于儿茶酚胺介入多重调控系统和代谢过程并发挥作用，因而在对一些神经内分泌和心血管疾病的临床诊断与治疗中被视为重要的生物指标物。

由于此类化合物体内含量极低且容易氧化，稳定性差，且生物样品中含有许多相同结构内源性化合物的干扰，故难以精确测定某一种儿茶酚胺类化合物的浓度。结构上儿茶酚胺类化合物含有多羟基和氨基结构，极性较大，常规液液萃取的前处理方法回收率低。有机硼酸类化合物可以与此类化合物结构中的 1,2-二羟基发生可逆性共价结合，形成环状酯，减弱化合物的极性的同时增加稳定性。再通过四辛基溴化铵（TOAB）萃取，调节 pH 值破坏环状酯，重新形成儿茶酚胺类结构。利用苯磺酰氯或丹磺酰氯与此类化合物上的仲胺或伯胺反应，生成衍生物，能够显著提高质谱响应强度。既往文献报道此类方法可将灵敏度提高到 2～10 pg/mL[13-15,34-35]。

1.3　内源性激素　甾体激素主要分为肾上腺皮质激素和性激素，其中性激素又分雌激素、雄激素和孕激素。人体内的内源性激素种类繁多，在体内通过酶相互转化，如孕酮可以转化为羟基孕酮；羟基孕酮通过不同路径转化为不同的激素，如脱氢表雄酮、雄烯二酮。激素转化是一个非常复杂的体系，任何一种激素浓度水平的变化都可以影响到其他激素，同时测量多种内源性激素在临床和相关生理研究中更具有价值[9,54-56]。因为甾体激素都有相同的衍生羰基官能团，生物样品经试剂提取后，在一定条件下加入衍生化试剂如羟胺或 2-肼基-4-（三氟甲基）嘧啶衍生处理即可[9-12]。样品处理及检测参数见表 1。

1.4　新生儿遗传代谢疾病筛查　遗传性代谢疾病是由于遗传性代谢途径的缺陷，引起异常代谢物的蓄积或重要生理活性物质的缺乏，而导致相应临床症状的疾病。它涉及氨基酸、有机酸、脂肪酸、尿素循环、碳水化合物、类固醇、金属、维生素等多种物质的代谢异常，可导致多个系统受损[16,36]。LC-MS/MS 技术可以用滤纸干血斑样品，在几分钟内一次分析近百种代谢物，检测 35 种遗传代谢病。目前，在我国每年几千万出生人口中，有 40 万至 50 万的儿童患有遗传代谢病，给患儿家庭和社会带来了巨大的危害和沉重的负担。对于遗传代谢病，若能及早发现，通过相应的治疗或饮食干预，可以避免后遗症的发生。

使用 LC-MS/MS 技术，氨基酸或酰基肉碱经丁

酯化衍生，氨基酸大多会产生中性丢失相对分子质量为 102 的特征，肉碱大多产生 m/z 85 的特征子离子，一次扫描可得多种氨基酸或肉碱的信息[37-38]。可筛查多种代谢疾病，如氨基酸类代谢病：苯酮尿症、高胱氨酸尿症、枫糖尿症、酪氨酸血症等；脂肪酸类代谢疾病：极长链脂肪酸代谢异常、长链脂肪酸代谢异常、中链脂肪酸代谢异常、短链脂肪酸代谢异常；肉碱结合酶缺乏症、肉碱吸收障碍；有机酸类代谢疾病：戊二酸血症、甲基丙二酸血症、异丁酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症等。

表 1　液相色谱质谱联用技术检测临床样本中的内源性激素

检测指标	临床检测意义	前处理方法	提取试剂	是否衍生化/衍生化试剂	检测离子对	参考文献
脱氢表雄酮硫酸酯(DHEA-S)	肾上腺肿瘤、多囊卵巢综合征	沉淀蛋白＋固相萃取＋衍生化	乙腈，2-硝基-4-三氟甲基苯肼	是/2-硝基-4-三氟甲基苯肼	DHEAS：490.0	[36]
脱氢表雄酮(DHEA)		固相萃取	—	否	DHEA：271.2/253.2	[11]
17-羟孕酮(17OHP)	增高：先天性肾上腺皮质增生(21β-羟化酶缺乏，11β-羟化酶缺乏)	固相萃取	—	否	17OHP：331.2/109.1	[11]
皮质醇(Cortisol)	增多可引起糖、蛋白质、脂肪、电解质代谢紊乱和多种脏器功能障碍。	固相萃取	—	否	Cortisol：363.2/345.1	[11]
雌酮(E1)	雌酮有助于了解卵巢的内分泌功能，判断育龄妇女有无排卵功能	固相萃取	—	是/2-氟-1 甲基吡咯	E1：362/238	[56]
孕酮(Pr)	黄体囊肿、肾上腺皮质功能亢进和肾上腺生殖器综合征病人可能会出现孕酮病理性增高	液液萃取＋固相萃取＋衍生化	甲基叔丁基醚＋盐酸羟胺	是/盐酸羟胺	Pr：332.2/86.0	[10]
睾酮(T)、双氢睾酮(DHT)	皮质醇增多症，睾丸细胞间质瘤等睾酮含量增高；双氢睾酮可促进外生殖器和前列腺的正常发育	液液萃取＋衍生化	正己烷：乙酸乙酯＝6：4	是/2-肼基-4-(三氟甲基)嘧啶	DHT：451/288 T：449/257	[12]
T		固相萃取	-	否	T：289.2/97.0	[11,55]

注：—表示无数据

2　临床样本代谢组学及代谢标志物研究进展

与基因组学的筛查突变基因预警疾病风险不同，代谢组学全面定量地分析血液、尿液中的成百上千代谢物的变化，有望最真实直接地反映人体的健康状态，可早期预警和反映疾病的程度。近年来，因 LC-MS/MS 技术的灵敏度高、专属性强和检测动态范围宽等特点，成为针对临床样本检测的代谢组定性定量分析最重要的分析手段，其重点发展主要在以下几个方面：一是基于 LC-MS/MS 分析技术的非靶向、靶向的整体代谢组同时定性与定量分析技术[39]，这些技术与方法不同程度地实现了多种类代谢物的高覆盖、高灵敏的同时定性或定量分析；二是基于同位素标记或衍生化试剂的 LC-MS/MS 定量代谢组学技术，实现了低丰度代谢物的高覆盖、高灵敏定性与定量分析[40]。

2.1　液质联用技术在临床代谢组学研究中的进展

液质联用技术是集液相色谱(LC)高分离效能与质谱(MS)强鉴定能力于一体，可直接对样本进行预处理、分离及富集，同时给出其结构信息。LC 可与飞行时间(TOF)、四极杆-飞行时间(Q-TOF)等高分辨 MS 串联，以进行非靶向代谢组学分析，也可以与三重四级杆(QQQ)或四极杆离子阱(Q-IT)等 MS 串联，利用多反应监测(MRM)检测模式进行靶向代谢组学分析。CHEN 等[41]采用数据非依赖的扫描方式获取生物样本中代谢物二级质谱信息，建立 LC-MRM 方法，同时实现血浆中涵盖了氨基酸代谢、核苷酸代谢、能量代谢等代谢通路中 1 460 个代谢物的检测，并对其中 1 015 个代谢物进行相对定量分析，充分体现了液质联用技术在临床生物样本中的代谢物高覆盖、高灵敏的分析的优势。

2.2　基于代谢组学技术发现标志物及其临床应用

2009 年，SREEKUMAR 等[42]通过研究前列腺癌发展过程中代谢组(包括 1 126 个代谢物)的变化，首次发现肌氨酸在前列腺癌细胞侵袭和转移中的重要代谢媒介作用。体内外模型中均证明了肌氨酸能提高前列腺癌的生长和侵袭性。2011 年，WANG 等[43]采用代谢组学方法，发现血浆中氧化三甲胺(TMAO)的增加可产生粥样硬化斑块；TMAO 是饮食中肉类和脂类中肉碱类物质，在肠道微生物作用下的下游代谢物；临床研究表明，高水平的 TMAO 与心肌坏死有很强的相关性，极有可能为引起动脉粥样硬化的生物标志物。2016 年，FAN 等[44]利用 LC-MS 代谢组学研

究平台,筛选出 12 组灵敏度高、专属性强的潜在生物标志物,可用于临床冠心病的快速诊断以及不同分型的区分诊断。安卓玲等[57]运用正、负离子检测模式的超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱(UPLC-MS/MS)技术结合多变量统计分析方法进行了药物性肝损伤患者血清的代谢组学研究,鉴定出肝损伤患者与健康人血清中存在显著性差异的潜在生物标志物苯丙氨酸和二甲基鸟苷,为药物性肝损伤的早期发现提供分子依据。

3　讨论与展望

鉴于临床检验的规范性高要求,LC-MS/MS 技术大规模进入临床检验应用尚需进一步加强推广应用和发展力度。国内的质谱仪器研发相对落后,高端的质谱仪器基本上依赖于进口,购置成本高昂;液质联用技术相对复杂,其仪器操作和样本分析的专门人才缺乏,培养需要过程和一定的周期;仪器和诊断试剂的临床检验资质要求严格,产品的报批周期长和成本高;当前,临检中能采用 LC-MS/MS 的检测指标不多,尚需进一步有针对性开发方法和诊断试剂盒;基于 LC-MS(或 MS/MS)技术的代谢组学的临床应用中,发现了大量与多种疾病相关的具有价值的小分子标志物,这为疾病早期诊断、预后及疗效评价等提供了重要的分子基础,但其临床转化到常规临检的疾病诊断等精准医学应用,尚需在大规模人群中开展验证,需要制定相关的判断依据和临床医生能够直接判读的指标。

人体的代谢网络是一个非常复杂但相对稳态的系统,单独的一个或几个代谢物对疾病的诊断特异度不一定足以支撑对某种疾病的准确诊断,存在多种疾病导致同一个代谢物的变化的情况。代谢组学在疾病研究领域与传统临床化学等研究方法相比,它是以一种“全局”的研究理念来系统全面地反映生物体的代谢特征。LC-MS(或 MS/MS)技术通过分析检测样本中的代谢组及其变化,将体内的生物化学信息转换成数字信息,可构建代谢组大数据,并发展此大数据的人工智能信息挖掘技术,有望应用于临床疾病诊断和筛查。但现阶段亟待发展超灵敏和高覆盖的代谢组定量 LC-MS(或 MS/MS)技术,加快推进信息全面的人体代谢组数据库的构建,解决基于人工智能的代谢组学研究数据标准化的等问题。

笔者相信,凭借 LC-MS/MS 技术强大的分析检测能力,结合代谢组大数据和模式识别、人工智能专家系统等方法,从整体上来探讨生命活动在代谢层面的特征和规律,使代谢物功能及水平变化与人体健康状态和疾病诊断建立直接关系,并与基因组学、转录组学、蛋白质组学相辅相成,实现从当前以先疾病,后医院、医生诊疗为主的健康模式过渡到以面向全民的健康保证、评估和干预为主的健康保障模式,从预防、疾病诊断等方面全面提升人类健康水平。

参考文献

[1] SCHMID A,BLANK L M. Systems biology:hypothesis-driven omics integration[J]. Nat Chem Biol,2010,6(7):485-487.

[2] NIELSEN J. Systems biology of metabolism[J]. Annu Rev Biochem,2017,86(1):245-275.

[3] GREEN D R,GALLUZZI L,KROEMER G. Metabolic control of cell death[J]. Science,2014,345(6203):1250256.

[4] NICHOLSON J K,LINDON J C. Systems biology:Metabonomics[J]. Nature,2008,455(7216):1054-1056.

[5] MAMAS M,DUNN W B,NEYSES L,et al. The role of metabolites and metabolomics in clinically applicable biomarkers of disease[J]. Arch Toxicol,2011,85(1):5-17.

[6] WISHART D S. Emerging applications of metabolomics in drug discovery and precision medicine[J]. Nat Rev Drug Discov,2016,15(7):473-484.

[7] BEGER R D,DUNN W,SCHMIDT M A,et al. Metabolomics enables precision medicine:"a white paper,community perspective"[J]. Metabolomics,2016,12(10):149.

[8] WISHART D S,MANDAL R,STANISLAUS A,et al. Cancer metabolomics and the human metabolome database[J]. Metabolites,2016,6(1):10.

[9] 陆烨. 基于液相色谱及液质联用技术测定内源性激素的方法研究[D]. 上海:复旦大学,2013.

[10] KUSHNIR M M,ROCKWOOD A L,ROBERTS W L,et al. Development and performance evaluation of a tandem mass spectrometry assay for 4 adrenal steroids [J]. Clin Chem,2006,52(8):1559-1567.

[11] KOAL T,SCHMIEDERER D,PHAM-TUAN H,et al. Standardized LC-MS/MS based steroid hormone profile-analysis[J]. J Steroid Biochem Mol Biol,2012,129(3/4/5):129-138.

[12] YAN W,FANG X,LI X,et al. Analysis of testosterone and dihydrotestosterone in mouse t-issues by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry[J]. Anal Biochem,2010,402(2):121-128.

[13] ZHANG G D,ZHANG Y Z,JI C J,et al. Ultra sensitive measurement of endogenous epinephrine and norepinephrine in human plasma by semi-automated SPE-LC-MS/MS[J]. J Chromatogr B,2012,895/896:186-190.

[14] DUNAND M,GUBIAN D,STAUFFER M,et al. High-throughput and sensitive quantitation of plasma catecholamines by ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry using a solid phase microwell extraction plate[J]. Anal Chem,2013,85(7):3539-3544.

[15] CHEUK M Y,LO Y C,POON W T. Determination of urine catecholamines and metanephrines by reversed-phase liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Se Pu,2017,35(10):1042-1047.

[17] XU J,CHEN Y,ZHANG R,et al. Global and targeted

metabolomics of esophageal squamous cell carcinoma discovers potential diagnostic and therapeutic biomarkers [J]. Mol Cell Proteomics, 2013, 12(5): 1306-1318.

[18] TIAN H, BAI J, AN Z, et al. Plasma metabolome analysis by integrated ionization rapid-resolution liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2013, 27(18): 2071-2080.

[19] CHEN Y, XU J, ZHANG R, et al. Assessment of data pre-processing methods for LC-MS/MS-based metabolomics of uterine cervix cancer[J]. The Analyst, 2013, 138(9): 2669-2677.

[20] SHEN G, CHEN Y , SUN J, et al. Time-course changes in potential biomarkers detected using a metabonomic approach in Walker 256 tumor-bearing rats[J]. J Proteom Res, 2011, 10(4): 1953-1961.

[21] CHEN Y, ZHANG R, SONG Y, et al. RRLC-MS/MS-based metabonomics combined with indepth analysis of metabolic correlation network: finding potential biomarkers for breast cancer[J]. The Analyst, 2009, 134(10): 2003-2011.

[22] 赵平，周蕙，张曼. HPLC-MS/MS 检测血清 25-羟维生素 D 方法的建立和基本性能评价[J]. 检验医学与临床，2017，14(2)：180-183.

[23] 张叶，郭少晨，朱慧，等. UPLC-MS/MS 法测定人血浆中 25 羟基维生素 D 的浓度及其应用[J]. 中国药房，2016，27(14)：1907-1910.

[24] 禹松林，方慧玲，张瑞苹，等. 改良超高效液相色谱串联质谱法测定 25-羟基维生素 D_2 和 25-羟基维生素 D_3[J]. 检验医学，2015，30(10)：1021-1026.

[25] BELL E C, JOHN M, HUGHES R J, et al. Ultra-performance liquid chromatographic determination of tocopherols and retinol in human plasma[J]. J Chromatogr Sci, 2014, 52(9): 1065-1070.

[26] LE J, YUAN T F, ZHANG Y, et al. New LC-MS/MS method with single-step pretreatment analyzes fat-soluble vitamins in plasma and amniotic fluid[J]. J Lipid Res, 2018, 59(8): 1313-1315.

[27] MITROWSKA K, VINCENT U, VON HOLST C. Separation and quantification of 15 carotenoids by reversed phase high performance liquid chromatography coupled to diode array detection with isosbestic wavelength approach [J]. J Chromatogr A, 2012, 1233: 44-53.

[28] STUETZ W, WEBER D, DOLLÉ M E, et al. Plasma carotenoids, tocopherols and retinol in the age-stratified (35-74 years) general population: a cross-sectional study in six european countries[J]. Nutrients, 2016, 8(10): 1-17.

[29] ANDREOLI R, MANINI P, POLI D, et al. Development of a simplified method for the simultaneous determination of retinol, alpha-tocopherol and beta-carotene in serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization[J]. Anal Bioanal Chem, 2004, 378(4): 987-994.

[30] KOPEC R E, SCHWEIGGERT R M, RIED K M, et al. Comparison of high-performance liq-uid chromatography/tandem mass spectrometry and high-performance liquid chromatograph-y/photo-diode array detection for the quantitation of carotenoids, retinyl esters, α-tocopherol and phylloquinone in chylomicron-rich fractions of human plasma[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2013, 27(12): 1393-1402.

[31] 贾妍，战思恩，翟燕红，等. 液相色谱串联质谱法测定血清维生素 A、E 含量[J]. 标记免疫分析与临床，2018，25(4)：574-579.

[32] ZHEN L, HYEON JOO L, FRANCESCA G, et al. Simultaneous measurement of three tocopherols, all-trans-retinol and eight carotenoids in human plasma by isocratic liquid chromatography[J]. Nanotechnology, 2011, 49(3): 221-227.

[33] 李岩，陈刚，袁雅文，等. 建立 HPLC-MS/MS 测定人血浆中维生素 K1 浓度的方法及其临床应用[J]. 中国临床药理学杂志，2017，33(1)：61-64.

[34] SONG P, MABROUK O S, HERSHEY N D, et al. In vivo neurochemical monitoring using benzoyl chloride derivatization and liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Anal Chem, 2012, 84(1): 412-419.

[35] LI X S, LI S, WYNVEEN P, et al. Development and validation of a specific and sensitive LC-MS/MS method for quantification of urinary catecholamines and application in biological variation studies[J]. Anal Bioanal Chem, 2014, 406(28): 7287-7297.

[36] 任进民，张雅兰，任非，等. LC-MS 法测定人血浆中脱氢表雄酮硫酸酯的浓度[J]. 中国药房，2009，20(32)：2511-2514.

[37] 方春雪，位鸿，何蕊，等. 液相色谱串联质谱临床应用进展[J]. 长春中医药大学学报，2016，32(2)：405-406.

[38] THIBOONBOON K, LEELAHAVARONG P, WATTANASIRICHAIGOON D, et al. An economic evaluation of neonatal screening for inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry in Thailand[J]. PLoS One, 2015, 10(8): 1-25.

[39] XU J, CHEN Y, ZHANG R, et al. Global and targeted metabolomics of esophageal squamous cell carcinoma discovers potential diagnostic and therapeutic biomarkers [J]. Mol. Cell. Proteomics, 2013, 12: 1306-1318.

[40] TIE C, HU T, JIA Z X, et al. Derivatization strategy for the comprehensive characterization of endogenous fatty aldehydes using hplc-multiple reaction monitoring[J]. Anal. Chem, 2016, 88(15): 7762-7768.

[41] CHEN Y, ZHOU Z, YANG W, et al. Development of a data-independent targeted metabolomics method for relative quantification using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry[J]. Anal Chem, 2017, 89(1): 6954-6962.

[42] SREEKUMAR A, POISSON L M, RAJENDIRAN T M, et al. Metabolomic profiles delineate potential role for sar-

cosine in prostate cancer progression[J]. Nature,2009,457(7231):910-914.

[43] WANG Z,KLIPFELL E,BENNETT B J,et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease[J]. Nature,2011,72(7341):57-63.

[44] FAN Y,LI Y,CHEN Y,et al. Comprehensive metabolomic characterization of coronary artery diseases[J]. J Am Coll Cardiol,2016,68(12):1281-1293.

[45] 于伟越,赵瑞,刘洪川,等. 高效液相色谱串联质谱法和电化学发光免疫分析法测定人血清中 25-羟基维生素 D 浓度的相关性研究[J]. 中国临床药理学杂志,2017,33(23):2424-2426.

[46] 李强,金玉娥,汪国权. 超高液相色谱-串联质谱法测定干血点中 25-羟基维生素 D[J]. 实验技术及其应用,2017,44(11):2050-2055.

[47] 方慧玲. 血清 1α,25-二羟维生素 D 液相色谱串联质谱检测方法的建立及其应用[D]. 北京:北京协和医院研究生院,2016.

[48] 韩吉春,王小臣,李广林,等. 液相色谱-串联质谱检测干血点样本中 25-羟基维生素 D_2 和 25-羟基维生素 D_3[J]. 分析化学,2015,45(3):448-454.

[49] 赵丽,王伟业. 用液相色谱串联质谱法检测脐带血血清 25-羟基维生素 D_2 和 25-羟基维生素 D_3 浓度[J]. 检验医学,2015,30(8):825-829.

[50] 苗静琨. HPLC-MS/MS 分析干血滤纸片维生素 A 及其前体的方法学研究[D]. 重庆:重庆医科大学,2014.

[51] MARTANO C,MUGONI V,DAL BELLO F,et al. Rapid high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry methodology for multiple prenol lipids analysis in zebrafish embryos[J]. J Chrom A,2015(1412):59-66.

[52] HU K,LI Y,DING R,et al. A simple,sensitive and high-throughput LC-APCI-MS/MS method for simultaneous determination of vitamin K1,vitamin K1 2,3-epoxide in human plasma and its application to a clinical pharmacodynamic study of warfarin[J]. J Pharm Biomed Anal,2018(159):82-91.

[53] 刘占利,朗亚琴,陈笑艳,等. 同位素稀释超高液相色谱-串联质谱法检测人血清中维生素 K1 含量[J]. 临床检验技术研究,2018,36(6):415-417.

[54] KUSHNIR M M,ROCKWOOD A L,ROBERTS W L,et al. Performance characteristics of a novel tandem mass spectrometry assay for serum testosterone[J]. Clin Chem,2006,52(1):120-128.

[55] RHEA J M,FRENCH D,MOLINARO R J. Direct total and free testosterone measurement by liquid chromatography tandem mass spectrometry across two different platforms[J]. Clin Biochem,2013,46(7/8):656-664.

[56] FAQEHI A M M,COBICE D F,NAREDO G,et al. Derivatization of estrogens enhances specificity and sensitivity of analysis of human plasma and serum by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Talanta,2016(151):148-156.

[57] 安卓玲,沈忱,赵瑞,等. 基于超高效液相色谱-质谱的药物性肝损伤患者血清代谢组学研究[J]. 分析化学,2015,43(9):1408-1414.

(收稿日期:2018-04-22　修回日期:2018-07-16)

(上接第 2749 页)

N A. Comparison of the MALDI biotyper system using sepsityper specimen processing to routine microbiological methods for identification of bacteria from positive blood culture bottles[J]. J Clin Microbiol,2012,50(2):346-352.

[11] MARTINEZ R M,BAUERLE E R,FANG F C,et al. Evaluation of three rapid diagnostic methods for direct identification of microorganisms in positive blood cultures[J]. J Clin Microbiol,2014,52(7):2521-2529.

[12] IDELEVICH E A,SCHÜLE I,GRÜNASTEL B,et al. Acceleration of antimicrobial susceptibility testing of positive blood cultures by inoculation of Vitek 2 cards with briefly incubated solid medium cultures[J]. J Clin Microbiol,2014,52(11):4058-4062.

[13] 吴文娟. 血流感染的快速诊断:从病原到宿主的整体策略[J]. 中华临床实验室管理电子杂志,2015,3(2):68-71.

[14] CLARK A E,KALETA E J,ARORA A,et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry:a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology[J]. Clin Microbiol Rev,2013,26(3):547-603.

[15] KOHLMANN R,HOFFMANN A,GEIS G,et al. MALDI-TOF mass spectrometry following short incubation on a solid medium is a valuable tool for rapid pathogen identification from positive blood cultures[J]. Int J Med Microbiol,2015,305(4/5):469-479.

[16] VERROKEN A,DEFOURNY L,LECHGAR L,et al. Reducing time to identification of positive blood cultures with MALDI-TOF MS analysis after a 5-h subculture[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis,2015,34(2):405-413.

(收稿日期:2018-04-25　修回日期:2018-07-18)