

• 论 著 •

线性和非线性定量在同位素稀释质谱法中应用的比较*

马妍慧, 皇甫昱婵, 周韵斓, 沈立松[△]

上海交通大学医学院附属新华医院检验科, 上海 200092

摘要:目的 比较同位素稀释质谱法时, 采用线性和非线性响应函数制作校准和(或)标准曲线对结果的影响。**方法** 实验室建立的同位素稀释质谱法检测伊立替康及其 3 种主要代谢产物, 使用 C18 反相柱梯度洗脱, 以 ABSciex API 3200 检测。按《液相色谱-质谱临床应用建议》完成方法学验证。**结果** 伊立替康(CPT-11)、SN-38G 和 APC 在 4.6~4.7 min 出现洗脱峰, SN-38 约在 5.2 min 出现洗脱峰。检测 4 种分析物的 3 种浓度质量控制(QC)样本, 分别以线性函数、二次函数、三次函数和新的线性最小二乘法 Padé[1,1]近似拟合分析, 比较 4 种拟合方法计算得出的结果偏差。**结论** 结果适合线性标准曲线时, 优先应用线性; 非线性校准曲线时, 三参数有理函数一定程度上可以消除同位素稀释分析中不必要的误差源。

关键词: 同位素稀释质谱法; 校准曲线; 线性函数; 非线性函数

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.05.003

中图法分类号: O657.63

文章编号: 1673-4130(2022)05-0523-06

文献标志码: A

Comparison of a linear or nonlinear quantitative calibration for isotope dilution mass spectrometry method*

MA Yanhui, HUANG Fuyuchan, ZHOU Yunlan, SHEN Lisong[△]

Department of Clinical Laboratory, Xinhua Hospital Affiliated to Medical College of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200092, China

Abstract: **Objective** To determine the impact on the results of linear or nonlinear theoretical response functions calculated from isotope dilution mass spectrometry. **Methods** Irinotecan and its three main metabolites were detected by isotope dilution mass spectrometry established in the laboratory, which was eluted by C18 reverse phase column gradient and detected by ABSciex API 3200. The methodology validation was completed according to *The recommendations for clinical application of liquid chromatography-mass spectrometry*. **Results** CPT-11, SN-38G and APC showed elution peaks in 4.6–4.7 min, and the elution peak of SN-38 appeared in about 5.2 min. QC samples of three concentrations of four analytes were detected and approximate fitting analyzed by linear function, quadratic function, cubic function and new linear least squares Padé[1,1], respectively. The deviation of the results calculated by the four fitting methods was compared. **Conclusion** When the results are suitable for the linear standard curve, the linear standard curve is preferred. In the non-linear calibration curve, the three parameter rational function can eliminate the unnecessary error source in isotope dilution analysis to a certain extent.

Key words: isotope dilution mass spectrometry; calibration curve; linear equation; nonlinear equation

质谱(MS)定量通常使用稳定同位素标记(SIL)的分析物作内标(IS), 并通过分析物和 IS 峰面积比值进行定量。IS 用于校正样品制备、进样、电离和仪器性能的变化, 加入 IS 的定量方法能够提高方法的准

确度和精度。

稳定同位素标记的内标在 MS 准确定量定性方面具有很大的实用性。然而, 在某些情况下, 分析物天然存在的同位素或者内参标准品中存在没有被标

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31970860); 上海医苑新星临床医技人才(临床检验专业)培养资助计划(沪医卫基[2021]99号)。

作者简介: 马妍慧, 女, 副主任技师, 主要从事肿瘤分子诊断方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: lisongshen@hotmail.com。

本文引用格式: 马妍慧, 皇甫昱婵, 周韵斓, 等. 线性和非线性定量在同位素稀释质谱法中应用的比较[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(5):

记的目标分析物,均对二者信号存在一定“串扰”。对于富含同位素的化合物,例如含有硫、氯或溴的化合物,或是相对分子质量更大的化合物,以及分析物或内标浓度比高的化合物,这种现象变得更加明显^[1-2]。这可能会导致非线性响应的情况出现,影响定量结果^[3]。在这些情况下,如果使用非线性回归,通过实验确定每个分析物或内标组合的可调校准参数(如确定一个或两个常数),数据拟合可能会更准确。因存在分析物中稳定同位素的信号,非线性拟合在基于 MS 测定中提供更准确的定量^[2]。相反,它亦可校正同位素内标中分析物作为杂质的存在情况。本文利用已获得的同位素稀释质谱法检测伊立替康(CPT-11)及其代谢产物的数据^[4],分析了线性和非线性拟合^[5]的比较与实际应用。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 仪器:高效液相色谱(HPLC)仪 Agilent 1260(美国 Agilent 公司)、三重串联四级杆质谱 API 3200 及电喷雾离子源。试剂:CPT-11(纯度≥97%)、SN-38(纯度≥98%)、SN-38G(纯度≥97%)均购自美国 Sigma-Aldrich 公司;APC(纯度≥97%)和 IS CPT-11 D10、SN-38 D3、SN-38G D3 和 APC D3 购自 Toronto Research Chemicals, Inc(图 1);乙腈和醋酸(HPLC 级),二甲基亚砜(DMSO)购自德国 Merck 公司,去离子水制备自美国 Milli-Q Plus 纯水系统。从上海交通大学医学院附属新华医院检验科实验室的 7 例健康志愿者那里收集空白 EDTA 血浆,混合后制备标准品和质量控制(QC)样品。

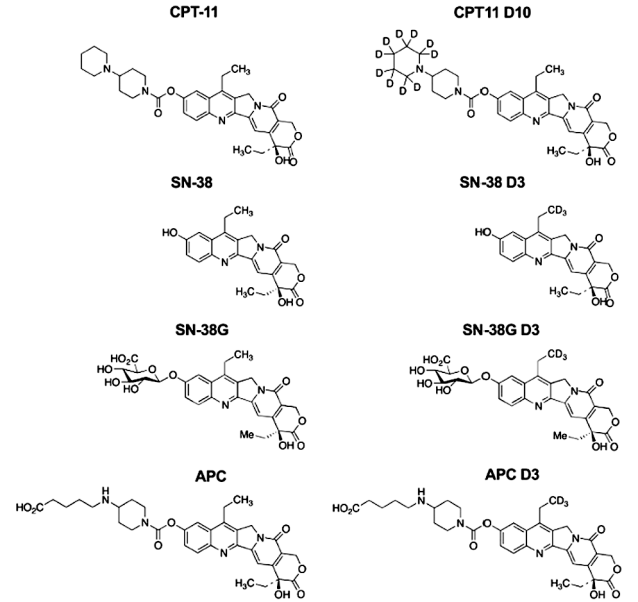


图 1 标准品及相应同位素内标结构式

1.2 液相色谱条件 色谱柱菲罗门反相 C18 色谱柱(4.6 mm×50 mm, 2.6 μm),柱温 30℃;流动相 A 为

水(含 0.1%醋酸, V/V), B 为乙腈(含 0.1%醋酸, V/V),流速 300 μL/min,进样量为 15 μL。采用梯度洗脱,前 1 min 为 95%流动相 A, >1~7 min 为 95%流动相 A 至 5%流动相 A, >7.0~7.5 min 为 5%流动相 A, >7.5~8.0 min 为 5%流动相 A 至 95%流动相 A,并持续此梯度至 9 min,总时间为 9 min。质谱条件:电喷雾离子源,正离子扫描模式,毛细管电压 4 500 V,干燥气为氮气(N₂),温度 180℃,流速 4 L/min,雾化气压力 0.4 bar;碰撞气为 N₂,碰撞能量为 8 eV;扫描质量范围为质荷比(m/z) 50~1 000。采用多离子反应监测模式,定量离子通道选择 m/z CPT-11 m/z 587. 216>124. 3, SN-38 m/z 393. 3>349. 2, SN-38G m/z 569. 2>393. 3, APC m/z 619. 2>393. 3, CPT-11 D10 m/z 597. 3>133. 3, SN-38 D3 m/z 396. 2>352. 3, SN-38G D3 m/z 572. 1>396. 2, APC D3 m/z 622. 3>396. 2。

1.3 试剂、校准曲线和 QC 样本制备 所购买试剂均为 1 mg, CPT-11、CPT-11 D10 和 SN-38、SN-38 D3 溶于 DMSO 获得终质量浓度分为 5 000、1 000、100、1 000 μg/mL 储存液, SN-38G、SN-38G D3 和 APC、APC D3 溶于 DMSO: 甲醇(50:50)获得终浓度分为 100、1 000、5 000、1 000 μg/mL 储存液。储备液均分装于 2 mL 离心管中, -80℃冰箱保存备用。在混合人血浆中准确加入 4 种标准品和内参储备液, -80℃冰箱保存备用。制作校准曲线时,溶解后漩涡混匀, 2 倍稀释后得到 CPT-11 和 APC 浓度为 2 500、1 250、625、312. 5、156. 3、78. 1、39. 1、19. 5、9. 8、4. 9 μg/mL, SN-38 和 SN-38G 浓度为 1 000、500、250、125、62. 5、31. 3、15. 6、7. 8、3. 9、2. 0、1. 0 ng/mL 的混合标准溶液。制备 200×混合内参储存液,工作液终浓度分别为 CPT-11 100 ng/mL、APC 100 ng/mL、SN-38 50 ng/mL、SN-38G 100 ng/mL。制备高、中、低 3 种浓度 QC 血浆样本, CPT-11 为 80、400、1 000 ng/mL; SN-38 和 SN-38G 为 15、100、400 ng/mL; APC 为 40、200、400 ng/mL,所有 QC 样本制备后分装, -80℃冰箱保存备用。

1.4 样本前处理 准确吸取 200 μL EDTA-K₂ 抗凝血浆样本,加入 5 μL 混合内标工作液(200×),加入 795 μL 乙腈蛋白沉淀,振荡混匀后 4℃ 16 000 g 高速离心 10 min,吸取 900 μL 上清,置于 35℃ N₂ 吹干,再以 100 μL 0.1% 醋酸水和乙腈(50:50)溶液复溶, 15 μL 进样分析。样本重复检测 5 次,取均值。

1.5 标准曲线分析 以 Excel 中 LINEST 拟合分析功能分析线性回归、曲线回归(二次函数和三次函数)和有理多项式逼近函数 Padé[1, 1]近似, y = (a₀ +

$a_1x)/(1-a_2x)$ 。

表 1LINEST 常用分析

类型	曲线方程	LINEST 分析
线性	$y=a_0+a_1x$	=LINEST(y,x,TRUE,TRUE)
二次函数	$y=a_0+a_1x+a_2x^2$	=LINEST(y,x^{0,1,2},FALSE,TRUE)
三次函数	$y=a_0+a_1x+a_2x^2+a_3x^3$	=LINEST(y,x^{0,1,2,3},FALSE,TRUE)
Padé[1,1]	$y=(a_0+a_1x)/(1-a_2x)$	=LINEST(y,x^{0,1,0}* -y^{0,0,1}* x^{0,0,1},FALSE,TRUE)

2 结 果

2.1 同位素稀释质谱法分析 CPT-11 及其代谢产物和内参色谱结果 在本实验条件下,4 种物质(1 μg/mL)的混合标准溶液,采用正离子模式电喷雾离子化后,根据保留时间依次出峰时间分别为 SN-38G(4.61 min)、APC(4.65 min) CPT-11(4.72 min)和 SN-38(5.16 min),与各相应同位素内参保留时间

一致,见图 2A。标准品单独分析时,SN-38 和 SN-38 D3 洗脱峰在 5.16~5.21 min,其他时间没有峰出现(图 2A 和 2B)。但混合标准品和内参后,在 SN-38G D3(50 ng/mL)色谱结果中提取到 SN-38 碎片离子峰(图 2C),CPT-11 D10 中亦可提取 SN-38 离子峰。考虑 SN-38 主要结构均存在于 CPT-11、SN-38G 和 APC 分子结构中,发生源内裂解时可能存在部分交叉。

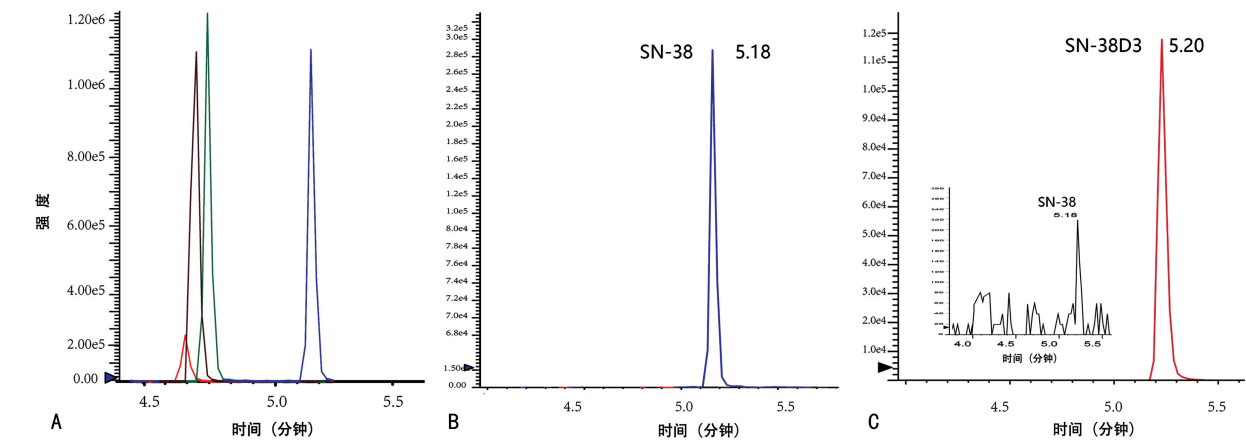


图 2CPT-11 及其代谢产物色谱图和 SN-38、SN-38 D3 提取 m/z 393.3>349.2 离子色谱图

2.2 数据分析 实验室对 CPT-11 的校准范围是 4.9~2 500.0 ng/mL,方法线性定量范围 9.8~1 250.0 ng/mL。应用 LINEST 分析 4 种标准曲线,外推校准曲线见图 3。4 种计算公式分别为:线性函数 $y=91.51x-48.59$;二次函数 $y=0.167x^2+83.02x-19.40$;三次函数 $y=-0.0093x^3+0.88x^2+71.10x-0.55$;Padé[1,1] $y=(-19.60+83.32x)/(1-0.0018x)$, R^2 均>0.999。二次函数、三次函数曲线回归和 Padé[1,1]近似 3 种浓度 QC 计算结果偏差 10% 以内(表 2)。

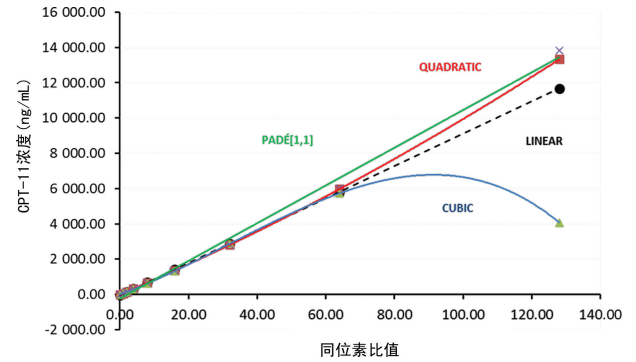
续表 2 基于同位素稀释质谱法的 4 种标准曲线计算 CPT-11 QC 样本偏差

表 2 基于同位素稀释质谱法的 4 种标准曲线计算 CPT-11 QC 样本偏差				
项目	理论值 (ng/mL)	平均值 (ng/mL)	标准差 (ng/mL)	偏差(%)
线性	80	56.81	4.87	-28.99
二次函数	80	77.04	4.44	-3.70

项目	理论值 (ng/mL)	平均值 (ng/mL)	标准差 (ng/mL)	偏差(%)
三次函数	80	83.39	3.92	4.24
Padé[1,1]	80	77.10	4.45	-3.62
线性	400	423.07	17.24	5.77
二次函数	400	412.92	15.96	3.23
三次函数	400	388.13	14.96	-2.97
Padé[1,1]	400	413.66	15.98	3.42
线性	1 000	1 005.65	23.69	0.56
二次函数	1 000	959.08	22.48	-4.09
三次函数	1 000	921.62	22.73	-7.84
Padé[1,1]	1 000	960.14	22.48	-3.99

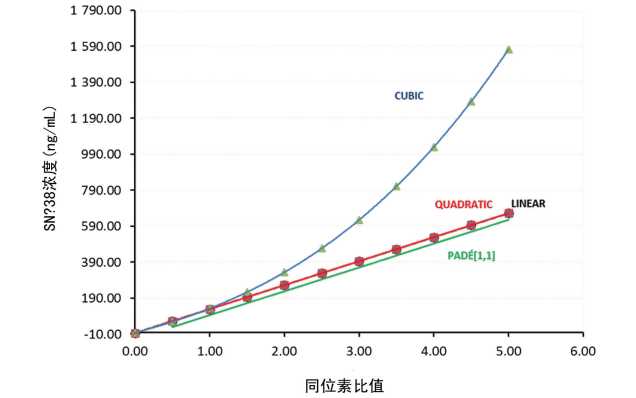
对 SN-38 的校准范围是 1.0~1 000.0 ng/mL,方法线性定量范围 2.0~500.0 ng/mL。应用 LIN-

EST 分析 4 种标准曲线,外推校准曲线,见图 4。SN-38 4 种计算公式分别为:线性函数 $y = 133.3x - 4.22$;二次函数 $y = 0.018x^2 + 133.24x - 4.2$;三次函数 $y = -3.99x^3 + 21.16x^2 + 109.44x - 1.5$;Padé[1,1] $Y = (-4.13 + 132.93x)/(1 - 0.0008x)$, R^2 均 > 0.999 。线性回归、二次函数曲线回归和 Padé[1,1]近似 3 种浓度 QC 计算结果偏差 10% 以内(表 3)。



注:黑色虚线为线性方程,正方形表示曲线为二次函数,三角形表示曲线为三次函数,十字曲线为 Padé[1,1]近似。

图 3 CPT-11 4 种回归模型校准曲线外推的预测能力



注:黑色虚线为线性方程,正方形表示曲线为二次函数,三角形表示曲线为三次函数,十字曲线为 Padé[1,1]近似。

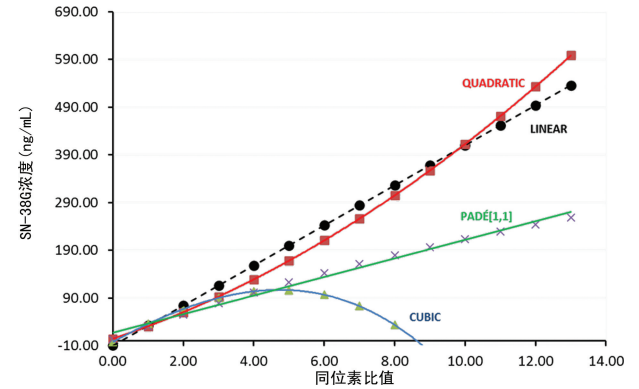
图 4 SN-38 4 种回归模型校准曲线外推的预测能力

表 3 基于同位素稀释质谱法的 4 种标准曲线计算
SN-38 QC 样本偏差

项目	理论值 (ng/mL)	平均值 (ng/mL)	标准差 (ng/mL)	偏差(%)
线性	15	15.48	3.22	3.19
二次函数	15	15.48	3.22	3.22
三次函数	15	15.05	2.79	0.31
Padé[1,1]	15	15.51	3.22	3.42
线性	100	109.14	3.60	9.14
二次函数	100	109.11	3.60	9.11
三次函数	100	109.35	4.14	9.35
Padé[1,1]	100	108.85	3.59	8.85
线性	400	406.88	8.92	1.72
二次函数	400	406.86	8.93	1.72
三次函数	400	654.64	23.99	63.66
Padé[1,1]	400	404.88	8.86	1.22

对 SN-38G 的校准范围是 1.0~1 000 ng/mL,方法线性定量范围 2.0~500.0 ng/mL。应用 LINEST 分析 4 种标准曲线,外推校准曲线,见图 5。SN-38G 4 种计算公式分别为:线性函数 $y = 41.91x - 9.15$;二次函数 $y = 1.62x^2 + 24.62x + 4.64$;三次函数 $y = 0.25x^3 - 2.53x^2 + 40.57x - 2.04$;Padé[1,1] $y = (3.3 + 27.7x)/(1 - 0.0314x)$, R^2 均 > 0.999 。二次函数和三次函数曲线回归,Padé[1,1]近似 3 种浓度 QC 计算结果偏差 15% 以内(表 4)。

对 APC 的校准范围是 4.9~2 500.0 ng/mL,方法线性定量范围 9.8~625.0 ng/mL。应用 LINEST 分析 4 种标准曲线,外推校准曲线见图 6。4 种计算公式分别为:线性 $y = 123.85x - 211.96$, $R^2 = 0.989$;二次函数 $y = 2.65x^2 + 32.45x + 40.96$;三次函数 $y = 0.0715x^3 - 1.204x^2 + 80.81x - 27.67$;Padé[1,1] $y = (-2.71 + 60.54x)/(1 - 0.0147x)$, R^2 均 > 0.999 。只有 Padé[1,1]近似 3 种浓度 QC 计算结果偏差 10% 以内(表 5)。



注:黑色虚线为线性方程,正方形表示曲线为二次函数,三角形表示曲线为三次函数,十字曲线为 Padé[1,1]近似。

图 5 SN-38G 4 种回归模型校准曲线外推的预测能力

表 4 基于同位素稀释质谱法的 4 种标准曲线计算
SN-38G QC 样本偏差

项目	理论值 (ng/mL)	平均值 (ng/mL)	标准差 (ng/mL)	偏差(%)
线性	15	9.57	1.90	-36.22
二次函数	15	15.58	1.18	3.86
三次函数	15	15.33	1.75	2.19
Padé[1,1]	15	15.54	1.30	3.60
线性	100	107.95	6.03	8.0
二次函数	100	86.09	4.84	-13.9
三次函数	100	97.00	4.64	-3.0
Padé[1,1]	100	88.49	4.81	-11.5
线性	400	400.34	53.04	0.1
二次函数	400	401.74	70.90	0.4
三次函数	400	390.73	78.73	-2.3
Padé[1,1]	400	398.56	73.09	-0.4

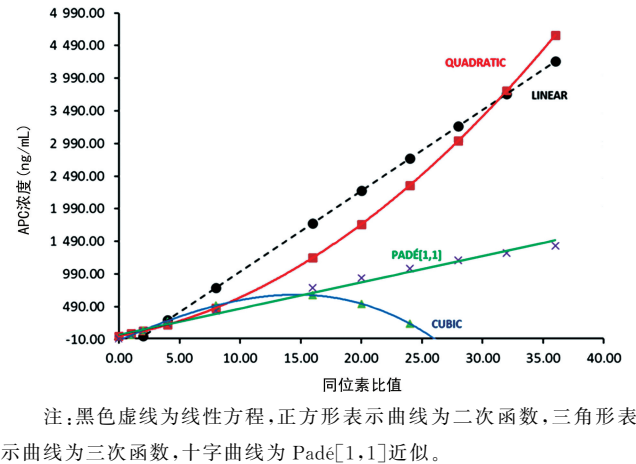


图 6 APC 4 种回归模型校准曲线外推的预测能力

表 5 基于同位素稀释质谱法的 4 种标准曲线计算 APC QC 样本偏差

项目	QC 理论值 (ng/mL)	平均值 (ng/mL)	标准差 (ng/mL)	偏差(%)
线性	40	-131.82	10.35	-429.55
二次函数	40	63.12	3.02	57.79
三次函数	40	24.12	6.62	-39.70
Padé[1,1]	40	36.81	5.16	-7.96
线性	200	160.29	14.35	-19.86
二次函数	200	162.65	5.63	-18.68
三次函数	200	206.25	8.75	3.13
Padé[1,1]	200	187.54	7.68	-6.23
线性	400	569.30	14.06	42.33
二次函数	400	351.62	7.51	-12.10
三次函数	400	452.09	8.42	13.02
Padé[1,1]	400	417.93	8.35	4.48

3 讨 论

复杂物质组分含量的定量分析是当前医学检验研究中的重要问题之一，而质谱分析技术在生物医学领域的迅速应用无疑提供了强有力的分析手段。校准曲线的准确度也决定了样本定量的准确度。在生物分析和临床化学领域中，通常以线性拟合用于校准曲线，非线性的校准并不常用^[6-8]。但同位素稀释质谱法常常存在非线性响应，当实验者观察到非线性响应时，通常会采用经验多项式（一般以二次函数曲线拟合为主）来表示观察到的曲率，而忽略非线性的物理基础。尽管所有二次函数都是非线性的，但并非所有非线性方程都是二次的，且对于重要的校准数据，某些非二次非线性方程可以适当地用作校准函数。为探讨此问题，本实验采用同位素稀释质谱法对伊立替康及其 3 种主要代谢产物进行检测，进行线性和非线性拟合，以及一种非二次非线性拟合方程对数据进

行分析。

本文对每种化合物均使用了 IS，用以更好地完成校准曲线和（或）校正基质效应等影响因素。同时，本文发现 CPT-11 D10 中存在相对少量的 SN-38（SN-38 D3 中的程度较小）会导致 SN-38 的校准曲线出现问题，推测 SN-38 检测下限（LLMI）应该不低于 2.0 ng/mL，代谢产物 APC 亦存在类似情况。本文初步实验中没有发现该方法存在其他重要问题，无残留效应，批内和批间精密度 CV<10%^[9]，QC 样品的加标回收率准确性，以及基质效应和样本回收率均根据 MATUSZEWSKI 等^[10] 确定的比例都在 80%~120%，多数在 85%~115%。

实验中所有的拟合分析是利用 Excel 中 LINEST 函数公式完成，线性拟合未采用加权最小二乘法分析，因此可见 CPT-11、SN-38G 和 APC 3 种分析物低浓度时偏差>15%，但如果采用 1/x² 加权系数，可能意味着高浓度 QC 样本结果出现偏差>15%。SN-38 是 CPT-11 的活性代谢产物，APC 和 SN-38G 是其无活性代谢产物，4 种分析物共享主要结构（SN-38），而且现有商品化标准品种纯度不可能达到 100%。从 4 种分析物的 4 种校准曲线拟合分析结果看，不同的分析物对线性函数、二次函数、三次函数和 Padé[1,1] 近似 4 种方程的偏向性存在不同。总体而言，在不采用加权系数分析时，Padé[1,1] 近似获得的校准曲线中，高中低 3 种 QC 偏差相对更小且稳定。

对于分析物定量分析而言，尤其是采用稳定同位素作为内参时，并非所有的分析方法都符合线性响应函数。因此，不同的实验室为避免基于同位素的定量分析中的非线性校正亦采用不同的分析方法，包括：忽略非线性部分的数据，使用反比建立线性函数^[11]；应用偏最小二乘回归统计加权方案来抵消非线性的影响^[11]或将坐标变换对数值。但在同位素稀释质谱方法中，尤其对于多种结构相似分析物及其同位素内标物的混合物，这两种物质的同位素比和质量比之间的一般关系既不是线性也不是多项式。相反，它是两个线性函数的比率^[5]。本文建议实验中优先以线性拟合校准曲线，但同位素稀释校准曲线拟合时，线性或曲线可能会引入不必要的误差，此时可应用有理 Padé[1,1] 近似方程和线性最小二乘拟合来避免这些误差。

参考文献

[1] LIU Q,JIANG F,ZHU J,et al. Development, validation, and application of a new method to correct the nonlinearity problem in LC-MS/MS quantification using stable isotope-labeled internal standards[J]. Anal Chem, 2019, 91 (15):9616-9622. (下转第 533 页)

- [5] QU X, ALSAGER S, ZHUO Y, et al. HOX transcript antisense RNA (HOTAIR) in cancer [J]. *Cancer Lett*, 2019, 454: 90-97.
- [6] 周青, 张瑞金, 刘帅妹, 等. 宫颈癌发生相关 LncRNA 的研究进展[J]. *中国医药导报*, 2018, 15(19): 42-45.
- [7] HAMASHIMA C. Current issues and future perspectives of gastric cancer screening [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(38): 13767-13774.
- [8] SUN W, YANG Y, XU C, et al. Roles of long noncoding RNAs in gastric cancer and their clinical applications [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2016, 142(11): 2231-2237.
- [9] 唐锦莉, 严枫, 王小明, 等. 血浆 miR-199a-5p 与 miR-200c-3p 在胃癌瘤中的临床应用 [J]. *中华检验医学杂志*, 2015, 38(6): 402-406.
- [10] 卢美红, 施维, 丛辉, 等. 乳腺癌患者血浆中 miR-127-3p 表达的临床价值 [J]. *中华检验医学杂志*, 2015, 38(10): 682-685.
- [11] TONG Y S, WANG X W, ZHOU X L, et al. Identification of the long non-coding RNA POU3F3 in plasma as a novel biomarker for diagnosis of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 3.
- [12] ZHOU X, YIN C, DANG Y, et al. Identification of the long non-coding RNA H19 in plasma as a novel biomarker for diagnosis of gastric cancer [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 11516.
- [13] WANG T H, LIN Y S, CHEN Y, et al. Long non-coding RNA AOC4P suppresses hepatocellular carcinoma metastasis by enhancing vimentin degradation and inhibiting epithelial-mesenchymal transition [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(27): 23342-23357.
- [14] TANIUE K, KURIMOTO A, SUGIMASA H, et al. Long noncoding RNA UPAT promotes colon tumorigenesis by inhibiting degradation of UHRF1 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(5): 1273-1278.
- [15] SCHMITZ S U, GROTE P, HERRMANN B G. Mechanisms of long noncoding RNA function in development and disease [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(13): 2491-509.
- [16] CHEN C, LUO Y, HE W, et al. Exosomal long noncoding RNA LNMAT2 promotes lymphatic metastasis in bladder cancer [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(1): 404-421.
- [17] BECKER A, THAKUR B K, WEISS J M, et al. Extracellular vesicles in cancer: cell-to-cell mediators of metastasis [J]. *Cancer Cell*, 2016, 30(6): 836-848.
- [18] CHEN G, SUN W, HUA X, et al. Long non-coding RNA FOXD2-AS1 aggravates nasopharyngeal carcinoma carcinogenesis by modulating miR-363-5p/S100A1 pathway [J]. *Gene*, 2018, 645: 76-84.
- [19] CHANG Y, ZHANG J, ZHOU C, et al. Long non-coding RNA FOXD2-AS1 plays an oncogenic role in hepatocellular carcinoma by targeting miR 206 [J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(6): 3625-3634.
- [20] XU T P, WANG W Y, MA P, et al. Upregulation of the long noncoding RNA FOXD2-AS1 promotes carcinogenesis by epigenetically silencing EphB3 through EZH2 and LSD1, and predicts poor prognosis in gastric cancer [J]. *Oncogene*, 2018, 37(36): 5020-5036.
- [21] SU F, HE W, CHEN C, et al. The long non-coding RNA FOXD2-AS1 promotes bladder cancer progression and recurrence through a positive feedback loop with Akt and E2F1 [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 233.

(收稿日期: 2021-04-06 修回日期: 2021-11-08)

(上接第 527 页)

- [2] RULE G S, CLARK Z D, YUE B, et al. Correction for isotopic interferences between analyte and internal standard in quantitative mass spectrometry by a nonlinear calibration function [J]. *Anal Chem*, 2013, 85(8): 3879-3885.
- [3] MEIJA J, PAGLIANO E, MESTER Z. Coordinate swapping in standard addition graphs for analytical chemistry: a simplified path for uncertainty calculation in linear and nonlinear plots [J]. *Anal Chem*, 2014, 86(17): 8563-8567.
- [4] DE MAN F M, GOEY AKL, VAN S R, et al. Individualization of irinotecan treatment: a review of pharmacokinetics, pharmacodynamics, and pharmacogenetics [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2018, 57(10): 1229-1254.
- [5] PAGLIANO E, MESTER Z, MEIJA J. Calibration graphs in isotope dilution mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2015, 896: 63-67.
- [6] 中国药理学会治疗药物监测研究专业委员会. 治疗药物监测工作规范专家共识(2019 版) [J]. *中国医院用药评价与分析*, 2019, 19(8): 897-898.
- [7] 中国医师协会检验医师分会临床质谱检验医学专业委员会. 液相色谱串联质谱临床检测方法的开发与验证 [J]. *检验医学*, 2019, 34(3): 189-196.
- [8] SAVOIE N, BOOTH B P, BRADLEY T, et al. The 2nd Calibration and Validation Group workshop on recent issues in good laboratory practice bioanalysis [J]. *Bioanalysis*, 2009, 1(1): 19-30.
- [9] 中华医学会检验医学分会, 卫生计生委临床检验中心. 液相色谱-质谱临床应用建议 [J]. *中华检验医学杂志*, 2017, 40(10): 770-779.
- [10] MATUSZEWSKI B K, CONSTANZER M L, CHAVEZ-ENG C M. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS [J]. *Anal Chem*, 2003, 75(13): 3019-3030.
- [11] SCHOELLER D A. A review of the statistical considerations involved in the treatment of isotope dilution calibration data [J]. *Mass Spectrom*, 1976, 3: 265e271.

(收稿日期: 2021-08-17 修回日期: 2021-11-23)