

首都医科大学优秀毕业生论文·论著

## 健康成年人血清中 22 种胆汁酸亚组分参考区间的建立\*

杜金龙<sup>1</sup>, 刘振东<sup>2#</sup>, 马 佳<sup>3</sup>, 刘淑梅<sup>1</sup>, 杜海燕<sup>1</sup>, 唐春燕<sup>1</sup>,董一红<sup>1</sup>, 李卓敏<sup>1</sup>, 田 野<sup>1</sup>, 谭延国<sup>1△</sup>

1. 首都医科大学附属复兴医院检验科, 北京 100038; 2. 北京梅斯质谱生物科技有限责任公司, 北京 102629;  
3. 首都医科大学医学检验系, 北京 100038

**摘要:**目的 建立健康成年人血清中 22 种胆汁酸亚组分参考区间。方法 收集在首都医科大学附属复兴医院健康管理中心体检的 250 例表观健康成年人作为研究对象, 依据美国临床和实验室标准协会(CLSI) C62-A 和《液相色谱-质谱临床应用建议》相关标准, 使用液相色谱-串联质谱法检测其血清 22 种胆汁酸亚组分[胆酸(CA)、脱氧胆酸(DCA)、鹅去氧胆酸(CDCA)、猪去氧胆酸(HDCA)、 $\gamma$ -鼠胆酸( $\gamma$ -MCA)、 $\beta$ -鼠胆酸( $\beta$ -MCA)、 $\alpha$ -鼠胆酸( $\alpha$ -MCA)、熊去氧胆酸(UDCA)、12-酮基石胆酸(12-ketoLCA)、3-脱氢胆酸-1(3-DHCA-1)、石胆酸(LCA)、23-脱甲胆酸(23-Norcholeic Acid)、异石胆酸(IsoLCA)、甘氨酸鹅脱氧胆酸钠盐(GCDCA)、甘氨酸脱氧胆酸钠盐(GDCA)、甘氨酸胆酸(GLCA)、甘氨酸熊脱氧胆酸(GUDCA)、牛磺胆酸(TCA)、牛磺猪脱氧胆酸钠盐(THDCA)、牛磺脱氧胆酸钠盐(TDCA-1)、牛磺猪胆酸钠盐(THCA-1)、牛磺熊脱氧胆酸二水合物(TDAD-1)]水平, 依据 CLSI C28-A3 建立健康成年人上述各项的参考区间。结果 不同性别健康成年人总胆汁酸及胆汁酸亚组分水平比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。中青年组与老年组血清 THDCA、GDCA、GLCA、 $\gamma$ -MCA、 $\beta$ -MCA、CDCA、HDCA、UDCA、12-ketoLCA、LCA 和 THCA-1 水平比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 故两年龄组可使用统一的参考区间, 分别为 0.00~65.26、0.59~677.13、0.52~40.21、0.33~81.39、0.00~13.83、5.02~1132.11、0.11~506.99、0.38~682.52、0.02~20.61、0.07~23.88、0.02~8.71 ng/mL。中青年组与老年组血清 TCA、TDCA-1、TDAD-1、GUDCA、GCDCA、 $\alpha$ -MCA、CA、3-DHCA-1、DCA、23-Norcholeic Acid 和 IsoLCA 水平比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 故两年龄组应建立各自的参考区间, 中青年组分别为 0.51~130.46、0.28~254.25、0.03~50.39、0.92~618.28、29.26~1140.82、0.00~9.55、4.28~538.21、0.02~13.64、0.17~337.80、0.21~25.00、0.03~18.20 ng/mL; 老年组分别为 0.34~381.20、0.47~658.95、0.02~100.63、1.00~796.97、29.73~1767.08、0.03~48.84、5.05~1226.32、0.07~24.58、0.06~313.06、0.51~125.90、0.08~22.07 ng/mL。结论 通过建立健康成年人胆汁酸亚组分的参考区间, 可为后续各种肝胆、胃肠、神经系统疾病的基础研究和临床应用提供参考。

**关键词:**液相色谱-串联质谱; 胆汁酸亚组分; 参考区间; 成年人

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.23.002

中图法分类号: R446.1

文章编号: 1673-4130(2022)23-2822-06

文献标志码: A

Establishment of reference intervals for 22 bile acid subfractions  
in serum of healthy adults\*

DU Jinlong<sup>1</sup>, LIU Zhendong<sup>2#</sup>, MA Jia<sup>3</sup>, LIU Shumei<sup>1</sup>, DU Haiyan<sup>1</sup>, TANG Chunyan<sup>1</sup>,  
DONG Yihong<sup>1</sup>, LI Zhuomin<sup>1</sup>, TIAN Ye<sup>1</sup>, TAN Yanguo<sup>1△</sup>

1. Department of Clinical Laboratory, Fuxing Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China; 2. Beijing Metz Mass Spectrometry Biotechnology, Beijing 102629, China;  
3. Department of Laboratory Medicine, Capital Medical University, Beijing 100038, China

**Abstract: Objective** To establish reference intervals for 22 bile acid subfractions in serum of healthy adults. **Methods** A total of 250 apparently healthy adults who underwent physical examination in the Health Management Center of Fuxing Hospital, Capital Medical University were collected as the research objects. According to America Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) C62-A and "Recommendations for Clinical Application of Liquid chromatography-Mass spectrometry", the serum levels of 22 bile acid subfrac-

\* 基金项目:北京市临床重点专科医学检验科培育项目(京卫医[2020]129号)。

作者简介:杜金龙,男,主管技师,主要从事临床微生物学检验研究。 # 共同第一作者简介:刘振东,男,研发总监,主要从事临床质谱检验研究。 △ 通信作者, E-mail: tanyanguo61@126.com。

tions [cholic acid (CA), deoxycholic acid (DCA), chenodeoxycholic acid (CDCA), hyodeoxycholic acid (HDCA),  $\gamma$ -Murine cholic acid ( $\gamma$ -MCA),  $\beta$ -Murine cholic acid ( $\beta$ -MCA),  $\alpha$ -Murine cholic acid ( $\alpha$ -MCA), ursodeoxycholic acid (UDCA), 12 keto cornerstone cholic acid (12 ketoLCA), 3-dehydrocholic acid-1 (3-DHCA-1), cholic acid (LCA), 23-Norcholic Acid, isocholic acid (IsoLCA), glycine deoxycholate sodium salt (GCDCA), glycine deoxycholate sodium salt (GDCA), glycine cholic acid (GLCA), glycine ursodeoxycholic acid (GUDCA), taurocholic acid (TCA), taurine hyodeoxycholic acid sodium salt (THDCA), taurodeoxycholate sodium salt (TDCA-1), sodium taurocholate (THCA-1), taurodeoxycholate dihydrate (TDAD-1)] were detected by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. The reference intervals for the above items in healthy adults were established according to CLSI C28-A3. **Results** There was no significant difference in total bile acid and bile acid subfractions between healthy adults of different genders ( $P > 0.05$ ). There was no significant difference in serum levels of THDCA, GDCA, GLCA,  $\gamma$ -MCA,  $\beta$ -MCA, CDCA, HDCA, UDCA, 12-ketoLCA, LCA and THCA-1 between the young and middle-aged group and the elderly group ( $P > 0.05$ ), therefore, a uniform reference interval could be used for both age groups, the values were 0.00–65.26, 0.59–677.13, 0.52–40.21, 0.33–81.39, 0.00–13.83, 5.02–1132.11, 0.11–506.99, 0.38–682.52, 0.02–20.61, 0.07–23.88, 0.02–8.71 ng/mL, respectively. The serum levels of TCA, TDCA-1, TDDAD-1, GUDCA, GCDCA,  $\alpha$ -MCA, CA, 3-DHCA-1, DCA, 23-Norcholic Acid and IsoLCA in the young and middle-aged group were significantly different from those in the elderly group ( $P < 0.05$ ), therefore, the two age groups should establish their own reference intervals, in the young and middle-aged group, the values were 0.51–130.46, 0.28–254.25, 0.03–50.39, 0.92–618.28, 29.26–1140.82, 0.00–9.55, 4.28–538.21, 0.02–13.64, 0.17–337.80, 0.21–25.00, 0.03–18.20 ng/mL, respectively, the elderly group were 0.34–381.20, 0.47–658.95, 0.02–100.63, 1.00–796.97, 29.73–1767.08, 0.03–48.84, 5.05–1226.32, 0.07–24.58, 0.06–313.06, 0.51–125.90, 0.08–22.07 ng/mL, respectively. **Conclusion** By establishing the reference intervals of bile acid subfractions in healthy adults population, it can provide reference for the subsequent basic research and clinical application of various hepatobiliary, gastrointestinal and nervous system diseases.

**Key words:** liquid chromatography-tandem mass spectrometry; bile acid subfractions; reference intervals; adults

胆汁酸是胆汁的主要成分,由胆固醇代谢产生,在肝脏合成初级胆汁酸,经肠道微生物分解为次级胆汁酸后由小肠重吸收,经门静脉入血回肝,再由肝细胞摄取,少量进入血液循环,形成肝肠循环<sup>[1-2]</sup>。胆汁酸是敏感的肝细胞损伤诊断指标,也是肠道、胆道病变的评估指标。总胆汁酸早已常规应用于肝胆疾病的诊断,但目前对于胆汁酸亚组分却少有研究。胆汁酸亚组分的水平与比例的改变与胆固醇代谢关系密切,其可影响胆固醇代谢<sup>[3-4]</sup>。有研究显示,脂肪性肝病、酒精性肝病、原发性肝癌等肝胆疾病患者血清胆汁酸亚组分谱与健康人群有所差异<sup>[5-7]</sup>。本研究对健康成年人胆汁酸亚组分的水平分布特征和参考区间进行了探讨,以期为肝胆疾病中胆汁酸亚组分变化情况的相关研究及临床应用提供参考依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集在首都医科大学附属复兴医院健康管理中心体检的 250 例表观健康成年人作为研究对象,其中男 155 例,女 95 例;年龄 27~96 岁,中位年龄 62 岁。依据美国临床和实验室标准协会(CLSI) C28-A3 文件中参考个体的选择要求,研究与年龄相关的参考区间范围应按年龄进行分组,本研究中 27~60 岁(共 124 例,其中男 88 例,女 36 例)为中青年组,

>60 岁(共 126 例,其中男 67 例,女 59 例)为老年组。依据 CLSI C28-A3 文件关于健康者的要求,具有下述任意一项者将被排除在参考人群之外:患有自身免疫性疾病者;吸烟、饮酒、药物滥用者;妊娠期、哺乳期女性;有家族遗传病史者;近期有手术史及因疾病住院治疗者;肝、肾、心、肺功能不全者;收集的血清标本量不足以完成检测或者出现严重溶血或脂血者。

**1.2 仪器与试剂** Waters ACQUITY UPLC I-Class 液相系统/Waters Xevo TQ-S 三重四级杆质谱仪[沃特世科技(上海)有限公司],LC-MS 级甲醇[赛默飞世尔科技(中国)有限公司],蒸馏水(北京屈臣氏蒸馏水有限公司),普通离心机(北京白洋离心机厂),高速离心机[艾本德(上海)国际贸易有限公司],7600-110 全自动生化分析仪[日立(中国)有限公司]。

## 1.3 方法

**1.3.1 标本采集** 采集研究对象空腹静脉血后静置 30 min,待血液凝固后以 3 000 r/min 离心,分离血清,于 -80 °C 冰箱保存备用。

**1.3.2 胆汁酸亚组分检测** 本研究检测的 22 种胆汁酸亚组分按结构主要分为游离型与结合型胆汁酸两大类,其中游离型胆汁酸包括胆酸(CA)、脱氧胆酸(DCA)、鹅去氧胆酸(CDCA)、猪去氧胆酸(HDCA)、

$\gamma$ -鼠胆酸( $\gamma$ -MCA)、 $\beta$ -鼠胆酸( $\beta$ -MCA)、 $\alpha$ -鼠胆酸( $\alpha$ -MCA)、熊去氧胆酸(UDCA)、12-酮基石胆酸(12-ketoLCA)、3-脱氢胆酸-1(3-DHCA-1)、石胆酸(LCA)、23-脱甲胆酸(23-Norcholic Acid)、异石胆酸(IsoLCA);甘氨酸结合型胆汁酸包括甘氨酸鹅脱氧胆酸钠盐(GCDCA)、甘氨酸脱氧胆酸钠盐(GDCA)、甘氨石胆酸(GLCA)、甘氨熊脱氧胆酸(GUDCA);牛磺酸结合型胆汁酸包括牛磺胆酸(TCA)、牛磺猪脱氧胆酸钠盐(THDCA)、牛磺脱氧胆酸钠盐(TDCA-1)、牛磺猪胆酸钠盐(THCA-1)、牛磺熊脱氧胆酸二水合物(TDAD-1)。经反复的条件优化,确定质谱仪测定参数设置如表 1 所示。具体操作如下:依次吸取 50  $\mu$ L 血清、20  $\mu$ L 内标液、150  $\mu$ L 甲醇沉淀剂于刻度离心管中,振荡混匀 10 min 后,19 852 $\times$ g 离心 15 min,取

上清液 100  $\mu$ L,加入 150  $\mu$ L 超纯水稀释,混匀后上机检测。工作曲线的溶液配制:吸取 10  $\mu$ L 标准品工作液(L1~L8)、40  $\mu$ L 空白基质加入离心管中涡旋混匀,后续操作同血清的处理过程。液相条件:色谱柱为 Shim-pack Velox SP-C18,2.7  $\mu$ m,2.1 mm $\times$ 100 mm,流动相 A 相为 0.01%甲酸水,B 相为乙腈,柱温 50  $^{\circ}$ C,流速 0.25 mL/min。质谱条件:电喷雾电离源,负离子电离模式;脱溶剂 500  $^{\circ}$ C,毛细管电压 3 000 V,锥孔气 150 L/H,脱溶剂气 1 000 L/H,采用多重反应监测(MRM)进行扫描。根据 CLSI C62-A 和《液相色谱-质谱临床应用建议》,本实验批间精密度、批内精密度、准确度、线性、携带污染率等均已通过性能验证标准。

表 1 质谱仪检测 22 种胆汁酸亚组分的参数设置

| 胆汁酸亚组分            | 离子对(m/z)        | 保留时间(s) | 驻留时间(s) | 去簇电压(V) | 碰撞能量(V) |
|-------------------|-----------------|---------|---------|---------|---------|
| IsoLCA            | 375.300/375.300 | 20.41   | 0.008   | 90      | 11      |
| 23-Norcholic Acid | 393.300/393.300 | 11.25   | 0.008   | 90      | 9       |
| THCA-1            | 514.300/79.900  | 6.57    | 0.008   | 90      | 56      |
| TCA               | 514.300/514.300 | 7.81    | 0.008   | 70      | 14      |
| LCA               | 375.300/375.300 | 20.59   | 0.008   | 70      | 19      |
| 12-ketoLCA        | 389.300/389.300 | 16.02   | 0.008   | 70      | 14      |
| DCA               | 391.300/391.302 | 17.38   | 0.008   | 70      | 10      |
| CDCA              | 391.300/391.304 | 17.14   | 0.008   | 70      | 12      |
| HDCA              | 391.300/391.305 | 14.89   | 0.008   | 70      | 14      |
| UDCA              | 391.300/391.301 | 14.60   | 0.008   | 70      | 12      |
| 3-DHCA-1          | 405.300/289.300 | 13.47   | 0.008   | 110     | 31      |
| CA                | 407.300/407.300 | 13.75   | 0.008   | 70      | 16      |
| $\alpha$ -MCA     | 407.301/407.301 | 11.17   | 0.008   | 70      | 12      |
| $\beta$ -MCA      | 407.302/407.302 | 11.86   | 0.008   | 70      | 14      |
| $\gamma$ -MCA     | 407.303/407.303 | 12.82   | 0.008   | 110     | 11      |
| GLCA              | 432.300/432.300 | 17.51   | 0.008   | 70      | 10      |
| GCDCA             | 448.300/448.301 | 14.43   | 0.008   | 70      | 12      |
| GUDCA             | 448.300/448.303 | 10.94   | 0.008   | 70      | 12      |
| GDCA              | 448.300/448.302 | 14.86   | 0.008   | 70      | 14      |
| TDCA-1            | 498.350/79.800  | 10.96   | 0.008   | 120     | 60      |
| THDCA             | 498.350/498.350 | 7.93    | 0.008   | 70      | 12      |
| TDAD-1            | 498.300/79.900  | 7.57    | 0.008   | 110     | 52      |

**1.3.3 总胆汁酸检测** 使用 7600-110 全自动生化分析仪检测血清总胆汁酸,方法为循环酶法。  
**1.4 统计学处理** 采用 SPSS26.0 软件进行数据分析。计量资料进行正态性检验,非正态分布以  $M(P_{25}, P_{75})$  表示,两组间比较采用 Mann-Whitney  $U$  检验;以  $P_{2.5} \sim P_{97.5}$  作为参考区间;计数资料以例数或率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;相关性分析采用 Spearman 相关。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。  
**2 结 果**  
**2.1 不同性别健康成年人总胆汁酸及胆汁酸亚组分**

水平比较 不同性别健康成年人总胆汁酸及胆汁酸亚组分水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 2。  
**2.2 中青年组与老年组胆汁酸亚组分构成比较** 中青年组、老年组胆汁酸亚组分构成均以甘氨酸结合型胆汁酸为主,分别占 49.47%和 46.65%,其次为游离型胆汁酸,分别占 43.32%和 45.74%,以牛磺酸结合型胆汁酸占比最低,分别占 7.21%和 7.61%,两组间甘氨酸结合型胆汁酸、游离型胆汁酸、牛磺酸结合型胆汁酸占比比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 2 不同性别健康成年人总胆汁酸及胆汁酸亚组分水平比较[ $M(P_{25}, P_{75})$ , ng/mL]

| 性别       | <i>n</i> | 总胆汁酸            | TCA              | THDCA           | TDCA-1            | TDAD-1          | GDCA                |
|----------|----------|-----------------|------------------|-----------------|-------------------|-----------------|---------------------|
| 男        | 155      | 2.97(1.87,5.43) | 4.77(2.03,14.35) | 0.01(0.00,0.59) | 11.55(3.54,36.25) | 0.25(0.00,1.34) | 52.76(16.89,123.38) |
| 女        | 95       | 2.58(1.95,4.39) | 4.80(1.76,11.75) | 0.01(0.00,1.04) | 12.92(4.23,45.96) | 0.40(0.00,1.50) | 41.92(10.04,100.19) |
| <i>P</i> |          | >0.05           | >0.05            | >0.05           | >0.05             | >0.05           | >0.05               |

| 性别       | <i>n</i> | GUDCA               | GCDCA                 | GLCA            | $\gamma$ -MCA   | $\beta$ -MCA    | $\alpha$ -MCA   |
|----------|----------|---------------------|-----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 男        | 155      | 34.00(14.01,98.35)  | 295.25(154.92,655.52) | 2.94(1.44,7.37) | 3.97(1.41,8.53) | 0.24(0.16,0.46) | 0.86(0.16,3.52) |
| 女        | 95       | 45.72(13.47,103.93) | 279.86(120.91,540.14) | 2.59(1.68,7.28) | 3.07(1.38,8.15) | 0.21(0.15,0.53) | 1.08(0.16,3.27) |
| <i>P</i> |          | >0.05               | >0.05                 | >0.05           | >0.05           | >0.05           | >0.05           |

| 性别       | <i>n</i> | CA                 | 3-DHCA-1        | CDCA                 | HDCA             | UDCA              | DCA                |
|----------|----------|--------------------|-----------------|----------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| 男        | 155      | 32.80(15.12,91.76) | 0.76(0.34,1.97) | 134.16(46.01,271.82) | 2.96(1.13,11.25) | 23.44(5.16,69.01) | 45.93(4.75,109.42) |
| 女        | 95       | 38.45(16.29,85.05) | 0.94(0.43,2.99) | 115.46(38.96,317.20) | 2.21(0.81,10.50) | 21.93(5.37,83.93) | 34.99(0.51,122.42) |
| <i>P</i> |          | >0.05              | >0.05           | >0.05                | >0.05            | >0.05             | >0.05              |

| 性别       | <i>n</i> | 12-ketoLCA      | LCA             | THCA-1          | 23-Norcholeic Acid | IsoLCA          |
|----------|----------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|
| 男        | 155      | 2.16(0.47,5.03) | 2.08(0.48,5.79) | 0.25(0.02,0.62) | 2.51(1.26,5.62)    | 3.21(1.14,6.84) |
| 女        | 95       | 2.19(0.44,5.48) | 1.41(0.00,4.49) | 0.18(0.00,0.61) | 3.47(1.60,8.75)    | 2.64(0.91,5.05) |
| <i>P</i> |          | >0.05           | >0.05           | >0.05           | >0.05              | >0.05           |

2.3 中青年组与老年组胆汁酸亚组分参考区间的建立 中青年组血清 THDCA、GDCA、GLCA、 $\gamma$ -MCA、 $\beta$ -MCA、CDCA、HDCA、UDCA、12-ketoLCA、LCA 和 THCA-1 水平分别为 0.00(0.00, 0.51)、54.50(16.14, 112.69)、2.57(1.16, 7.21)、3.08(1.39, 7.39)、0.21(0.07, 0.35)、114.88(36.92, 229.68)、2.56(1.25, 6.65)、21.61(5.41, 56.15)、2.35(0.47, 5.55)、2.56(0.69, 5.74)、0.32(0.15, 0.70) ng/mL; 老年组分别为 0.02(0.00, 1.18)、42.82(10.27, 90.55)、2.99(2.05, 7.38)、3.93(1.39, 10.66)、0.27(0.11, 0.74)、134.05(46.29, 359.79)、2.48(0.81, 18.83)、24.30(4.24, 97.41)、1.81(0.45, 4.63)、1.42(0.05, 4.72)、0.42(0.15, 0.89) ng/mL, 两组上述各

项比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ )。故两年龄组上述各项可使用统一的参考区间。中青年组与老年组血清 TCA、TDCA-1、TDAD-1、GUDCA、GCDCA、 $\alpha$ -MCA、CA、3-DHCA-1、DCA、23-Norcholeic Acid 和 IsoLCA 水平比较, 差异有统计学意义[TCA( $P=0.032$ )、TDCA-1( $P=0.001$ )、TDAD-1( $P=0.003$ )、GUDCA( $P=0.008$ )、GCDCA( $P=0.011$ )、 $\alpha$ -MCA( $P=0.034$ )、CA( $P=0.041$ )、3-DHCA-1( $P<0.001$ )、DCA( $P=0.044$ )、23-Norcholeic Acid( $P<0.001$ )和 IsoLCA( $P=0.003$ )], 故两年龄组上述各项应建立各自的参考区间。胆汁酸亚组分数据均为非正态分布, 参考区间见表 3~5。

表 3 部分胆汁酸亚组分参考区间(中青年组、老年组共用, ng/mL)

| 胆汁酸亚组分        | 最小值  | $P_{25}$ | $M$    | $P_{75}$ | 最大值      | 参考区间( $P_{2.5} \sim P_{97.5}$ ) |
|---------------|------|----------|--------|----------|----------|---------------------------------|
| THDCA         | 0.00 | 0.11     | 0.59   | 2.09     | 129.69   | 0.00~65.26                      |
| GDCA          | 0.09 | 14.71    | 47.56  | 107.82   | 1 298.14 | 0.59~677.13                     |
| GLCA          | 0.10 | 1.87     | 2.99   | 7.46     | 81.59    | 0.52~40.21                      |
| $\gamma$ -MCA | 0.15 | 1.46     | 3.51   | 8.47     | 210.00   | 0.33~81.39                      |
| $\beta$ -MCA  | 0.00 | 0.08     | 0.24   | 0.49     | 20.00    | 0.00~13.83                      |
| CDCA          | 0.68 | 41.79    | 130.92 | 301.67   | 2 112.11 | 5.02~1 132.11                   |
| HDCA          | 0.05 | 1.08     | 2.56   | 10.62    | 1 411.82 | 0.11~506.99                     |
| UDCA          | 0.02 | 5.32     | 23.24  | 73.96    | 2 022.76 | 0.38~682.52                     |
| 12-ketoLCA    | 0.00 | 0.47     | 2.16   | 5.12     | 72.12    | 0.02~20.61                      |
| LCA           | 0.04 | 1.00     | 2.69   | 5.94     | 66.65    | 0.07~23.88                      |
| THCA-1        | 0.00 | 0.15     | 0.37   | 0.78     | 252.00   | 0.02~8.71                       |

表 4 中青年组部分胆汁酸亚组分参考区间 (ng/mL)

| 胆汁酸亚组分             | 最小值  | $P_{25}$ | $M$    | $P_{75}$ | 最大值      | 参考区间( $P_{2.5} \sim P_{97.5}$ ) |
|--------------------|------|----------|--------|----------|----------|---------------------------------|
| TCA                | 0.26 | 2.00     | 3.89   | 7.41     | 2 306.05 | 0.51~130.46                     |
| TDCA-1             | 0.03 | 2.72     | 9.21   | 26.75    | 952.25   | 0.28~254.25                     |
| TDAD-1             | 0.03 | 0.24     | 0.57   | 1.43     | 70.61    | 0.03~50.39                      |
| GUDCA              | 0.08 | 11.50    | 27.55  | 78.85    | 1 016.60 | 0.92~618.28                     |
| GCDCA              | 6.30 | 135.53   | 261.28 | 413.81   | 1 290.35 | 29.26~1 140.82                  |
| $\alpha$ -MCA      | 0.00 | 0.10     | 0.62   | 2.52     | 10.00    | 0.00~9.55                       |
| CA                 | 3.56 | 13.20    | 32.36  | 66.75    | 1 969.00 | 4.28~538.21                     |
| 3-DHCA-1           | 0.01 | 0.29     | 0.61   | 1.33     | 30.11    | 0.02~13.64                      |
| DCA                | 0.03 | 19.96    | 70.61  | 126.66   | 490.26   | 0.17~337.80                     |
| 23-Norcholeic Acid | 0.09 | 1.03     | 1.90   | 3.69     | 67.82    | 0.21~25.00                      |
| IsoLCA             | 0.00 | 1.37     | 3.71   | 8.53     | 20.86    | 0.03~18.20                      |

表 5 老年组部分胆汁酸亚组分参考区间 (ng/mL)

| 胆汁酸亚组分             | 最小值  | $P_{25}$ | $M$    | $P_{75}$ | 最大值      | 参考区间( $P_{2.5} \sim P_{97.5}$ ) |
|--------------------|------|----------|--------|----------|----------|---------------------------------|
| TCA                | 0.21 | 2.01     | 5.99   | 18.87    | 1 540.21 | 0.34~381.20                     |
| TDCA-1             | 0.01 | 5.33     | 19.11  | 59.93    | 1 009.81 | 0.47~658.95                     |
| TDAD-1             | 0.00 | 0.37     | 1.33   | 4.54     | 298.00   | 0.02~100.63                     |
| GUDCA              | 0.40 | 19.19    | 50.37  | 122.29   | 1 079.17 | 1.00~796.97                     |
| GCDCA              | 4.22 | 151.30   | 340.13 | 812.77   | 2 860.87 | 29.73~1 767.08                  |
| $\alpha$ -MCA      | 0.02 | 0.22     | 1.09   | 4.96     | 53.31    | 0.03~48.84                      |
| CA                 | 2.30 | 17.32    | 38.79  | 120.47   | 2 012.69 | 5.05~1 226.32                   |
| 3-DHCA-1           | 0.01 | 0.53     | 1.25   | 3.46     | 32.89    | 0.07~24.58                      |
| DCA                | 0.03 | 5.50     | 40.45  | 126.27   | 507.16   | 0.06~313.06                     |
| 23-Norcholeic Acid | 0.04 | 2.41     | 4.58   | 11.07    | 168.41   | 0.51~125.90                     |
| IsoLCA             | 0.04 | 0.72     | 1.89   | 4.91     | 51.03    | 0.08~22.07                      |

**2.4 总胆汁酸与 22 种胆汁酸亚组分水平的相关性分析** 总胆汁酸与 22 种胆汁酸亚组分水平均无相关性( $P>0.05$ ); THDCA 与 TCA、TDCA-1、TDAD-1、THCA-1 水平呈正相关( $r=0.649, 0.619, 0.671, 0.691, P<0.001$ ), UDCA 与 TDAD-1、GUDCA、CDCA、HDCA 水平呈正相关( $r=0.656, 0.655, 0.605, 0.633, P<0.001$ ), CA 与 CDCA、HDCA 水平呈正相关( $r=0.603, 0.628, P<0.001$ ), LCA 与 GLCA、12-ketoLCA 水平呈正相关( $r=0.678, 0.636, P<0.001$ ), DCA 与 12-ketoLCA 水平呈正相关( $r=0.661, P<0.001$ )。

### 3 讨论

总胆汁酸及胆汁酸亚组分水平的细微变化在调节脂质代谢、葡萄糖代谢以及能量平衡中所起的重要作用已成为近年来研究的热点<sup>[8]</sup>。此外,肝胆、胃肠、神经系统疾病等也与患者体内胆汁酸亚组分水平与比例的变化有关<sup>[9-10]</sup>。胆汁酸膜受体 G 蛋白偶联受体 5(TGR5)与核受体法尼酯衍生物 X 受体(FXR)- $\alpha$  不仅是胆汁酸合成和运输的调节因子,也是胆汁酸调

节的转录因子和保护传感器,故肝脏的代谢变化可以体现在胆汁酸亚组分的水平或比例变化中<sup>[11]</sup>。有研究分析了 70 例慢性浅表性胃炎、肠化生和胃癌患者的胃液标本,发现 CA 和 DCA 的代谢变化与胃癌的进展有关<sup>[12]</sup>;还有研究发现,胆固醇稳态的破坏与肝性脑病发生风险的增加有关,且脑积累的胆固醇通过胆汁酸介导的 FXR 作用促进肝性脑病的进展,故以肠道微生物-胆汁酸-脑轴为靶点可能是治疗肝性脑病的新策略<sup>[13]</sup>。

近年来,科研和临床工作者已陆续使用酶法、免疫层析法、气相色谱法、气相色谱-质谱联用法等开展了对胆汁酸亚组分的研究。液相色谱-串联质谱法逐渐成为主流方法,因为其对血清胆汁酸亚组分的区分和定量能力较强,可迅速、准确地获得胆汁酸亚组分的代谢信息<sup>[12-13]</sup>。目前,胆汁酸亚组分与疾病关系的研究仍未被广泛开展,对胆汁酸亚组分谱的广泛研究有望为相关疾病的诊断、发病机制、预后、疗效观察研究等提供参考。

本研究发现,中青年组与老年组表观健康成年人

中,部分血清胆汁酸亚组分(TCA、TDCA-1、TDAD-1、GUDCA、GCDCA、 $\alpha$ -MCA、CA、3-DHCA-1、DCA、23-Norcholeic Acid 和 IsoLCA)水平差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。现有胆汁酸亚组分的研究主要集中于孕妇与新生儿,对中青年与老年人群的研究很少<sup>[14-16]</sup>,本研究发现的部分胆汁酸亚组分水平在中青年与老年人群间存在差异的原因尚不明确,有待进一步深入探讨。相比其他研究所得的孕妇的参考区间而言<sup>[17-18]</sup>,本研究所得的中青年、老年人群胆汁酸亚组分参考区间上限值更高,可能与孕妇年龄分布窄(多为 20~30 岁)以及其特殊的生理状态有关。本研究发现,血清总胆汁酸与胆汁酸亚组分水平间无相关性,故对于总胆汁酸水平大致正常者,胆汁酸亚组分水平可能存在偏离正常的情况,检测胆汁酸亚组分可能对某些疾病具有一定的诊断价值。本研究中,老年人群血清胆汁酸亚组分水平整体偏高,可能与其膳食纤维摄入减少及胆汁酸的代谢稳态改变有关<sup>[19-20]</sup>,但具体原因尚待进一步研究。

本研究尚存在不足之处,表观健康人群未纳入未成年人,因此参考区间的年龄适用范围仍需进一步优化。在后续研究中除了将表观健康人群作为参考标准外,也会前瞻性收集胆汁酸及其他肝胆功能指标异常的标本进行联合检测,这将有助于探索胆汁酸代谢在多种疾病早期诊断中的作用及与疾病发生的相关机制,有较高的临床研究价值。

## 参考文献

- [1] IBRAHIM C, NEMET I, LI L, et al. Quantification of bile acids: a mass spectrometry platform for studying gut microbe connection to metabolic diseases[J]. J Lipid Res, 2020, 61(2): 159-177.
- [2] KENDRA J K, CAIN K C, UTLEG A, et al. Bile acids and microbiome among individuals with irritable bowel syndrome and healthy volunteers [J]. Biol Res Nurs, 2021, 23(1): 65-74.
- [3] ZHANG X F, YANG Z Y, SHI Z Y, et al. Analysis of bile acid profile in plasma to differentiate cholangiocarcinoma from benign biliary diseases and healthy controls [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2021, 205: 105775.
- [4] 朱悦, 钱晓寒, 季国忠, 等. 血清胆汁酸谱在非酒精性脂肪性肝病患者中的表达及意义 [J]. 肝脏, 2021, 26(11): 1279-1282.
- [5] SHANALEE C J, KARL F, WAYNE Y, et al. Concentrations of fecal bile acids in participants with functional gut disorders and healthy controls [J]. Metabolites, 2021, 11(9): 612.
- [6] 刘倩, 黄兰蔚, 梅灿勇, 等. 代谢相关脂肪性肝病患者血清胆汁酸谱研究 [J]. 国际消化病杂志, 2022, 42(1): 64-68.
- [7] HORVATH T D, HAIDACHER S J, HOCH K M, et al. A high-throughput LC-MS/MS method for the measurement of the bile acid/salt content in microbiome-derived sample sets [J]. MethodsX, 2020, 7: 100951.
- [8] 段银环, 毕小云, 邵勇, 等. 胆石病患者胆汁酸代谢轮廓分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(2): 133-137.
- [9] JIA Y J, LIU X L, XU L, et al. Rapid determination of 20 bile acids in human serum by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Biomed Chromatogr, 2021, 35(5): e5063.
- [10] ZHENG Q H, SHEN L M, ZHAO D Q, et al. Metabolic characteristics of plasma bile acids in patients with intra-hepatic cholestasis of pregnancy-mass spectrometric study [J]. Metabolomics, 2021, 17(10): 93.
- [11] JIA W, XIE G, JIA W, et al. Bile acid-microbiota crosstalk in gastrointestinal inflammation and carcinogenesis [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2018, 15(2): 111-128.
- [12] LEE W, UM J, HWANG B, et al. Assessing the progression of gastric cancer via profiling of histamine, histidine, and bile acids in gastric juice using LC-MS/MS [J]. Steroid Biochem Mol Biol, 2020, 197: 105539.
- [13] GRANT S M, DEMORROW S. Bile acid signaling in neurodegenerative and neurological disorders [J]. Int Mol Sci, 2020, 21(17): 5982.
- [14] SALIHOVIC S, DICKENS A X, SCHOULTZ I, et al. Simultaneous determination of perfluoroalkyl substances and bile acids in human serum using ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Anal Bioanal Chem, 2020, 412(10): 2251-2259.
- [15] 葛坤, 王守丽, 达炜, 等. 超高效液相色谱-三重四级杆质谱定量人胃液胆汁酸 [J]. 分析科学学报, 2021, 37(6): 726-734.
- [16] TIAN Y, CAI J W, ALLMAN E L, et al. Quantitative with UHPLC-MS/MS [J]. Methods Mol Biol, 2021, 2194: 291-300.
- [17] 陈辰, 陈亚军, 蒋翠莲, 等. 串联质谱技术检测孕妇胆汁酸谱的性能评估及其参考区间建立 [J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(16): 1966-1970.
- [18] 黄雅青, 袁小芬, 赵珏, 等. 浙江地区健康孕妇中孕期和晚孕期胆汁酸谱特征及院内参考区间建立 [J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(12): 1176-1181.
- [19] DEWAELE D, ANNAERT P, HOEBEN E. LC-MS/MS analysis of bile acids in in vitro samples [J]. Methods Mol Biol, 2019, 1981: 15-23.
- [20] TORRES J, PALMELA C, BRITO H, et al. The gut microbiota, bile acids and their correlation in primary sclerosing cholangitis associated with inflammatory bowel disease [J]. United European Gastroenterol J, 2018, 6(1): 112-122.

(收稿日期: 2022-02-28 修回日期: 2022-07-28)