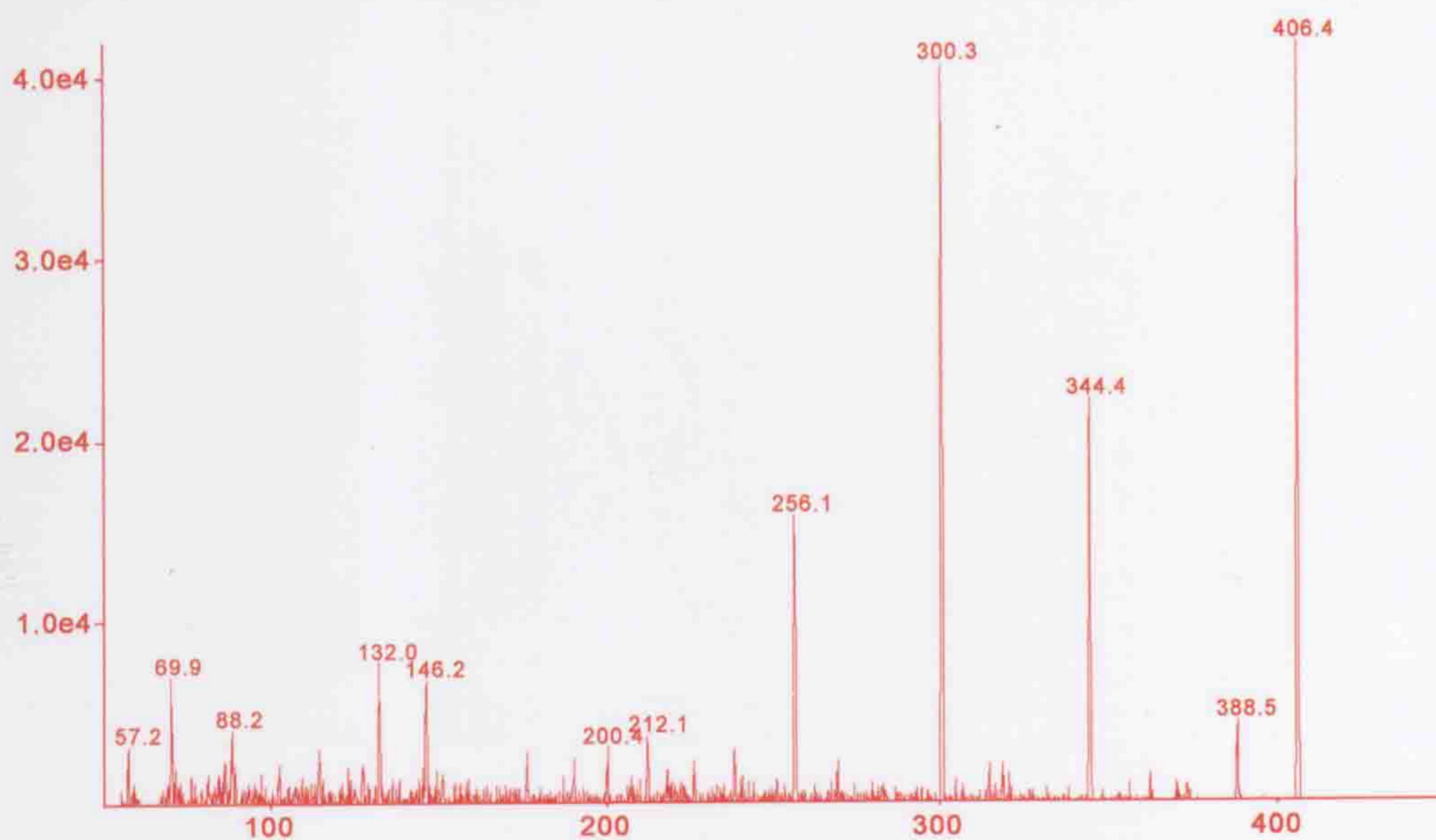


液相色谱-质谱联用技术 临床应用

主编 李水军 Sihe Wang

APPLICATION OF LIQUID CHROMATOGRAPHY-MASS
SPECTROMETRY IN CLINICAL LABORATORIES



上海科学技术出版社
Shanghai Scientific & Technical Publishers

液相色谱-质谱联用技术 临床应用

主 编 李水军 Sihe Wang

上海科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

液相色谱-质谱联用技术临床应用/李水军, Sihe Wang 主编.

—上海:上海科学技术出版社, 2014.10

ISBN 978-7-5478-2373-6

I. ①液… II. ①李…②S… III. ①液相色谱—色谱—
质谱—联用分析仪器—光学仪器—临床应用 IV. ①TH773②R4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 220861 号

液相色谱-质谱联用技术临床应用

主编 李水军, Sihe Wang

上海世纪出版股份有限公司
上海科学技术出版社 出版

(上海钦州南路 71 号 邮政编码 200235)

上海世纪出版股份有限公司发行中心发行

200001 上海福建中路 193 号 www.ewen.co

浙江新华印刷技术有限公司印刷

开本 787×1092 1/16 印张:29

字数:600 千字

2014 年 10 月第 1 版 2014 年 10 月第 1 次印刷

ISBN 978-7-5478-2373-6/R·798

定价:80.00 元

本书如有缺页、错装或坏损等严重质量问题,
请向工厂联系调换



谨献给上海市徐汇区中心医院
建院八十周年

内 容 简 介

本书主要介绍了液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)在临床诊断中的应用。全书内容分为 LC-MS/MS 的方法原理及 LC-MS/MS 的临床应用两大部分。LC-MS/MS 的原理与方法包括 LC-MS/MS 技术原理、临床诊断方法的开发、优化和验证要求。考虑到 LC-MS/MS 技术的先进性和可操作性,本书有大量质谱技术临床实际应用的案例,包括激素检测、新生儿筛查、维生素检测、治疗药物监测、蛋白质分析等一系列检测项目的临床意义、方法进展和实验室应用实例等内容。

本书可为 LC-MS/MS 技术在临床实验室(临床检验)提供实用性指导,也可作为实验人员的工作手册,为开发和验证临床质谱新方法提供参考,同时也可作为科研院校相应领域的学者、研究生等提供参考资料,对临床诊断和临床研究具有较好的使用价值。

编委会名单

主 编 李水军 Sihe Wang

副主编 余 琛 贾晶莹 刘罡一

编 委

Amina Abbadi	Cleveland Clinic
Bingfang Yue	University of Illinois College of Medicine at Chicago
Brian Erway	University of Rochester Medical Center
Chao Yuan	Cleveland Clinic
Courtney Heideloff	Cleveland Clinic
Derrell Johnson	Cerilliant Corporation
Drew Payto	Cleveland Clinic
Dustin R Bunch	Cleveland Clinic
Hong-Kee Lee	Dartmouth-Hitchcock Medical Center
Jessica Gabler	Thermo Fisher Scientific
Jing Xie	Cleveland Clinic
Joao Lopes	Cleveland Clinic
Joe M El-Khoury	Cleveland Clinic
Joshua Cooper	Cerilliant Corporation
Kerri M Smith	Waters Corporation
Meng Chen	The University of Texas MD Anderson Cancer Center
Ming Jin	University of Illinois College of Medicine at Chicago
Ping Wang	Houston Methodist Hospital
Qing H Meng	The University of Texas MD Anderson Cancer Center
Ravi Orugunty	Cerilliant Corporation
Sami Albeiroti	Cleveland Clinic
Sarah Aijaz	Cerilliant Corporation
Satya Nandana Narla	Medical University of South Carolina

Shannon Cahalan	Cleveland Clinic
Shuming Yang	Case Western Reserve University
Sihe Wang	Cleveland Clinic
Tao Hong	Hackensack University Medical Center
Uma Sreenivasan	Cerilliant Corporation
Weijia (William) Wu	Quest Diagnostics Nichols Institute
Xiaolei Xie	Caprion Proteomics US. , LLC
Xiaowei Fu	Children's Hospital Los Angeles
Yan Xu	Cleveland State University
Yan Zhang	University of Rochester Medical Center
Yusheng Zhu	Medical University of South Carolina
Zengliu Su	Ameritox Ltd
Zheng Cao	Houston Methodist Hospital
褚倩倩	中国科学院上海生命科学研究院
桂雨舟	中国科学院上海药物研究所
贾晶莹	中国科学院上海临床研究中心/上海市徐汇区中心医院
李水军	中国科学院上海临床研究中心/上海市徐汇区中心医院
郦俊生	中国科学院上海临床研究中心/上海市徐汇区中心医院
刘罡一	中国科学院上海临床研究中心/上海市徐汇区中心医院
陆川	中国科学院上海临床研究中心/上海市徐汇区中心医院
陆优丽	中国科学院上海临床研究中心/上海市徐汇区中心医院
缪怡	中国科学院上海临床研究中心/上海市徐汇区中心医院
欧美贤	中国科学院上海临床研究中心/上海市徐汇区中心医院
曲毅	中国科学院上海临床研究中心/上海市徐汇区中心医院
宋云霄	中国科学院上海临床研究中心/上海市徐汇区中心医院
田国力	上海交通大学附属儿童医院
尹慧勇	中国科学院上海生命科学研究院
余琛	中国科学院上海临床研究中心/上海市徐汇区中心医院
余成寅	中国科学院上海药物研究所
张梦琪	中国科学院上海临床研究中心/上海市徐汇区中心医院
郑宏超	中国科学院上海临床研究中心/上海市徐汇区中心医院
朱林	AB SCIEX 公司

序 一

液相色谱-串联质谱技术结合了液相色谱的良好分离性能和串联质谱的高灵敏度、高特异性检测的优势,已成为现代生物医药领域中最富有生命力的定量分析技术之一。在临床研究和应用服务方面,该技术已成为国际公认的体内药物定量分析首选技术,广泛用于临床药代动力学研究;在临床检验应用方面,除了已成为临床小分子化合物的主要质控参考方法外,在临床内分泌、遗传性代谢缺陷筛查、毒物和滥用药物筛查、治疗药物监测、新型生物标志物分析等领域应用越来越广泛。可以预见液相色谱-串联质谱技术将在临床研究和应用服务中进一步崭露头角。

医学发展离不开医学科技创新,医学科技创新不仅创造了大量先进、适宜医药卫生的技术,同时也促进了生命科学的发展,为人类健康提供了更加有效的技术保障。各类检测诊断新技术新方法的出现也为医学科技创新发展和转化提供了技术驱动力。

中国科学院上海临床研究中心/上海徐汇区中心医院中心实验室立足于I期临床研究、生物分析、临床检验和生物标志物的临床研究。早在2000年与中国科学院上海药物研究所合作引进了上海医院系统的首台液相色谱-串联质谱仪,主要用于药物临床研究中的体内药物分析。目前实验室的生物分析测试能力已获得了世界卫生组织的项目认可,是迄今国内唯一一家生物分析测试能力获得国际认可的医疗机构。经过近15年的建设和发展,现已拥有8台液相色谱-串联质谱仪,并在国内率先成功开展各种小分子生化物质的临床检验研究和应用,打破了一些国际临检巨头对某些临检项目的垄断。研究团队出色的生物分析能力已赢得了国内外同行的认可,利用质谱在生物小分子精确定量的独特优势,目前越来越广泛地将该技术应用于临床生化常规检验,质谱分析系统的运营已得以进入良性循环的轨道。

他山之石可以攻玉,医院和美国克利夫兰医学中心的长期合作有效促进了质谱技

术的临床应用和推广。实践经验表明,质谱技术临床开发应用与研究人员技术能力的积累发展密切相关,《液相色谱-质谱联用技术临床应用》结合了理论知识和实际案例,具有较强的实用价值,对于技术方法开发和临床检测应用有着很好的指导和参考价值。

希望本书的相关内容能为各位读者的实际工作提供借鉴参考;也相信在诸位的积极探索和努力实践中,能进一步发掘质谱技术在临床生化物质检测方面的应用潜力,为临床诊疗和转化医学研究提供科学、准确的检测手段,为国民健康提供优质服务。

中国科学院上海临床研究中心/上海市徐汇区中心医院

朱建民

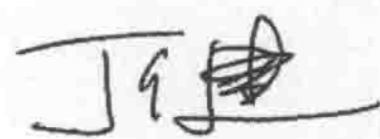
2014年7月于上海

序 二

液相色谱-质谱联用技术是近年来发展极为迅速的新兴技术,在医药、环境、食品、化工等行业的应用越来越广泛。由于在灵敏度和特异性上的突出优势,适合于复杂生物样本的分析检测,液相色谱-质谱联用技术在临床检验和诊断的发展势头尤为迅猛。目前国际上纷纷将该技术作为传统诊断技术的相互补充,可为疾病诊断提供准确可靠的临床依据,在临床诊断领域发挥愈来愈重要的作用。

《液相色谱-质谱联用技术临床应用》适应现代临床医学检验和诊断的需要,为读者展现了新颖且实用的液相色谱-质谱联用技术的主要原理和相关应用。编者为国内外临床质谱领域具有多年实践经验的专家学者,结合他们在临床实验室质谱研究和应用工作,详细介绍了编者实验室的临床质谱应用案例,具有较强的临床实用价值,不仅可提高临床质谱专业人员的技术能力,还可指导临床诊断和临床检验专业人员、科研人员、研究生应用液相色谱-质谱联用技术,具有很好的指导和参考价值。

中国科学院上海药物研究所



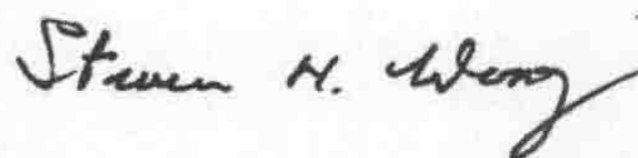
2014年7月于上海

序 三

Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) technology has been advancing quickly in recent years with diverse applications in medicine, environmental science, food, and chemistry. Due to its high sensitivity and specificity this technology is suitable for analysis of clinically relevant biomarkers in complex biological matrices and has been rapidly adopted in laboratory medicine. LC-MS/MS may provide more accurate clinical test results than the conventional methods and play an increasingly important role in clinical diagnostics.

The book *APPLICATION OF LIQUID CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY IN CLINICAL LABORATORIES* will provide timely information on the LC-MS/MS test principles and the relevant clinical applications which are much needed in modern laboratory medicine and clinical diagnostics. The authors are LC-MS/MS experts with great reputations and many years of combined experience in clinical applications of LC-MS/MS. They are from clinical laboratories worldwide and will provide practical protocols, many of which have been used in their own clinical laboratory facilities. With the combination of recent literature review and practical examples, the book will be an invaluable reference for the LC-MS/MS technical personnel, medical staff, clinical scientists, and graduate students who utilize LC-MS/MS in their work.

Therefore it is my great pleasure to recommend this book.



Steven H. Wong, PhD DABCC FACB
Professor of Clinical Pathology
Wake Forest University Medical Center
President, American Association for Clinical Chemistry
February, 2014 in Washington DC, USA

前 言

近年来,各种检验新理论和新技术不断涌现,极大地推动了临床检验的发展。液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)将色谱的高效分离能力和质谱的特异、灵敏、多组分检测能力有机结合,成为临床检验领域最富有生命力的新技术之一。现在 LC-MS/MS 技术在临床检验领域的应用日益广泛,如激素、氨基酸、卡尼汀、维生素、药物、新型生物标志物等分析检测,尤其是各种生物样品中小分子化合物的定量检测上应用越来越广泛。随着质谱仪灵敏度不断提高、样品处理技术持续改进、标准化方法和试剂的逐渐开发,可以预见 LC-MS/MS 将成为临床检验常规应用重要的组成部分。

编写本书其实出自两位主编的一个偶然想法,有感于 LC-MS/MS 在临床检验领域应用越来越多,研究人员为了开发建立适合临床实验室的 LC-MS/MS 方法,通常需要查阅、借鉴很多的文献与方法,费时又费力。如果有一本 LC-MS/MS 临床应用的专业书可以参考,或许可以省却一些麻烦,给有 LC-MS/MS 开发应用需求的研究人员提供些许帮助。

本书主要介绍了 LC-MS/MS 技术在临床诊断中的方法与应用。全书内容分为 LC-MS/MS 的方法原理及临床应用两大部分。LC-MS/MS 的原理与方法包括技术原理、临床诊断方法开发、方法优化和方法验证要求。考虑到 LC-MS/MS 技术的先进性和可操作性,本书有大量质谱技术临床实际应用的案例,包括激素检测、新生儿筛查、维生素检测、治疗药物监测、蛋白质分析等一系列检测项目的临床意义、方法进展和应用实例等内容。国内外临床质谱领域众多的一线专家学者欣然受邀参与本书相关章节的编写。目前国内尚未见临床质谱研究与应用的书籍出版,在国外此类质谱专著也比较稀缺,本书的突出特点在于结合了临床质谱的最新文献进展和临床实验室

已成功应用的实用方法于一体,具有较强的科学性和实用性。本书可为 LC-MS/MS 技术在临床实验室(临床检验)提供实用指导,也可作为实验人员的工作手册,为开发和验证临床质谱新方法提供参考,同时也可为科研院校相应领域的学者、研究生等提供参考资料,对临床诊断和临床研究具有较好的参考价值。

本书的编写出版得到了多方面的支持和帮助,是集体智慧、共同协作的结果。余琛是国内临床质谱应用领域的先驱,具有丰富的实验室管理和质谱临床应用经验,对本书的编写出版提供了不遗余力的指导和帮助。感谢上海市徐汇区中心医院中心实验室的贾晶莹、刘罡一、欧美贤、陆川、张梦琪、陆优丽、孙世轩、张美微、赵银霞、缪怡、胡朝英、忻亮以及中国科学院上海药物研究所桂雨舟、余成寅两位同学,他们参编本书部分章节之余,还承担了大量的核对、翻译、整理等文字工作。感谢 AB SCIEX 公司对本书出版的支持。

编写国内第一本液相色谱-质谱联用技术的临床应用专著对所有的编辑和作者而言是一个全新而巨大的挑战。由于时间紧张、任务艰巨、经验和能力有限,本书错漏及不足之处在所难免,恳请广大读者不吝赐教,提出宝贵意见和建议并及时反馈给我们,以便今后改正。

李水军, Sihe Wang

2014年8月

目 录

第一章 LC-MS/MS 技术临床应用简介	1
一、LC-MS/MS 技术简介	1
二、LC-MS/MS 临床应用的优缺点	2
三、LC-MS/MS 方法开发和验证	6
四、LC-MS/MS 的临床应用	9
五、展望	12
第二章 液相色谱-质谱联用技术	16
一、简介	16
二、质谱仪	16
三、色谱-质谱联用技术	17
四、质量分析器	24
五、液质联用技术在临床分析中的应用及优势	28
第三章 色谱条件优化和色谱柱选择	34
一、色谱基础理论介绍	34
二、色谱柱的选择	36
三、反相色谱柱的使用和维护	37
四、流动相的选择	37
五、基质效应考察	38
六、其他	39
第四章 内标选择	42
一、内标的定义和分类	42
二、内标的选择和优化	43
三、交叉干扰及内标	44
四、氘标的考量	48
五、氘标记内标的替代品	55
六、使用内标替代标准曲线	55
七、结论	55

第五章 生物样品制备	61
一、生物样品类型	61
二、生物样品制备方法选择	62
三、样品制备方法	63
第六章 组织样本制备	70
一、介绍	70
二、组织处理和均质	72
三、组织收集	72
四、样本均质	72
五、在规范化环境中分析组织样品	76
六、结论	77
第七章 方法验证	84
一、介绍	84
二、方法验证实验	84
三、问题排除	87
第八章 类固醇激素	90
一、临床意义	90
二、分析方法进展	91
三、检测实例	94
第九章 唾液皮质醇	101
一、临床意义	101
二、分析方法进展	101
三、检测实例	102
第十章 变肾上腺素和儿茶酚胺类	107
一、临床意义	107
二、分析方法进展	108
三、检测实例	111
第十一章 甲状腺激素	117
一、临床意义	117
二、分析方法进展	118
三、检测实例	119
第十二章 甲状旁腺激素	124
一、临床意义	124
二、分析方法进展	124
三、检测实例	126
第十三章 遗传性代谢缺陷	131
一、概述	131

二、应用串联质谱进行遗传性代谢缺陷筛查·····	133
三、非衍生化检测实例·····	143
四、衍生化检测实例·····	148
第十四章 氨基酸 ·····	154
一、简介·····	154
二、样品采集和前处理·····	154
三、衍生化方法·····	155
四、色谱分离技术·····	156
五、总结·····	158
六、检测实例·····	158
第十五章 肉碱和酰肉碱 ·····	168
一、临床意义·····	168
二、分析方法进展·····	169
三、检测实例·····	171
第十六章 胆汁酸 ·····	177
一、来源和分类·····	177
二、生理功能和临床意义·····	178
三、分析方法进展·····	179
四、检测实例·····	182
第十七章 同型半胱氨酸 ·····	189
一、临床意义·····	189
二、检测方法·····	190
第十八章 甲基丙二酸 ·····	197
一、临床意义·····	197
二、分析方法进展·····	197
三、检测实例·····	198
第十九章 维生素 D 代谢物 ·····	203
一、临床意义·····	203
二、分析方法进展·····	203
三、25-羟基维生素 D 检测实例·····	204
四、1,25OHD 检测实例·····	206
第二十章 维生素 A 和维生素 E ·····	211
一、简介·····	211
二、分析方法进展·····	214
三、检测实例·····	215
第二十一章 肌氨酸 ·····	218
一、临床意义·····	218

二、分析方法进展	219
三、检测实例	220
第二十二章 肌酐	223
一、简介	223
二、血肌酐	223
三、尿肌酐	223
四、检测实例	224
五、方法比较	226
六、小结	228
第二十三章 1,5-脱水葡萄糖醇	231
一、临床意义	231
二、分析方法进展	232
三、检测实例	232
第二十四章 碘他拉酸	237
一、临床意义	237
二、分析方法进展	238
三、检测实例	238
第二十五章 三聚氰胺及三聚氰酸	242
一、研究背景	242
二、生物学特性	242
三、体内过程	243
四、分析方法进展	243
五、检测实例	243
第二十六章 毛发克仑特罗	251
一、简介及意义	251
二、方法比较	251
三、毛发残留检测	254
四、方法应用一	254
五、方法应用二	258
六、毛发残留检出限量	259
七、人群调研	260
八、总结	263
第二十七章 尼古丁代谢物	266
一、临床意义	266
二、样本采集和预处理方法	267
三、色谱-质谱联用技术	268
四、检测实例	268