

(4):365-383.

- [25] ISHIKAWA S, SHIMIZU M, INOUE N, et al. Interleukin-33 as a marker of disease activity in rheumatoid factor positive polyarticular juvenile idiopathic arthritis[J]. Mod Rheumatol, 2017, 27(4):609-613.
- [26] BOUTET M A, NERVIANI A, LLISO-RIBERA G, et al. Interleukin-36 family dysregulation drives joint inflammation and therapy response in psoriatic arthritis [J]. Rheumatology (Oxford), 2020, 59(4):828-838.
- [27] WANG X, YI P, LIANG Y. The role of IL-36 in infectious diseases: potential target for COVID-19? [J]. Front Immunol, 2021, 12:662266.
- [28] MA H, XU M, SONG Y, et al. Interferon- $\gamma$  facilitated adjuvant-induced arthritis at early stage[J]. Scand J Immunol, 2019, 89(5):e12757.
- [29] CHENG L, WANG Y, WU R, et al. New insights from single-cell sequencing data: synovial fibroblasts and synovial macrophages in rheumatoid arthritis[J]. Front Im-

munol, 2021, 12:709178.

- [30] PANDOLFI F, FRANZA L, CARUSI V, et al. Interleukin-6 in rheumatoid arthritis[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(15):5238.
- [31] DU H, ZHANG X, ZENG Y, et al. A novel phytochemical, DIM, inhibits proliferation, migration, invasion and TNF- $\alpha$  induced inflammatory cytokine production of synovial fibroblasts from rheumatoid arthritis patients by targeting MAPK and AKT/mTOR signal pathway[J]. Front Immunol, 2019, 10:1620.
- [32] YANG G, CHANG C C, YANG Y, et al. Resveratrol alleviates rheumatoid arthritis via reducing ROS and inflammation, inhibiting MAPK signaling pathways, and suppressing angiogenesis[J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(49):12953-12960.

(收稿日期:2022-05-31 修回日期:2023-01-06)

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.06.029

## 液相色谱串联质谱法分析激素代谢谱在肾上腺疾病诊断中的应用进展\*

陈璐璐<sup>1,2</sup> 综述, 刘传鑫<sup>1</sup>, 段佳佳<sup>2</sup>, 江涛<sup>2</sup>, 姜宏卫<sup>1△</sup> 审校

1. 河南科技大学第一附属医院内分泌代谢中心内分泌代谢科/河南省遗传罕见病医学重点实验室/国家代谢性疾病临床医学研究中心洛阳分中心, 河南洛阳 471000; 2. 河南科技大学第一附属医院检验科, 河南洛阳 471000

**关键词:**液相色谱串联质谱; 类固醇激素; 儿茶酚胺; 库欣综合征; 原发性醛固酮增多症; 嗜铬细胞瘤

中图分类号:R586;R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2023)06-0834-05

大气压离子化技术在 20 世纪 80 年代被科学家首次发明, 它的出现进一步推动了液相色谱和质谱联用技术的迅速发展<sup>[1]</sup>。近年来随着液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)技术的不断进步, 其被应用于食品、医药、化工、环境等各行各业, 特别是在临床检验诊断方面, 其发展的速度尤为迅猛<sup>[2]</sup>, 已逐渐由科研应用转变为用于临床检测和辅助诊断, 为精准医疗服务。

自 2010 年以来, 在内分泌领域涉及 LC-MS/MS 技术的临床研究文献每年增加超过 100 篇, 研究内容主要涵盖了新生儿遗传代谢病、罕见病、激素代谢紊乱疾病等领域<sup>[3]</sup>。据报道, 目前 LC-MS/MS 技术可同时筛查有机酸、氨基酸代谢及脂质代谢紊乱等多种代谢性指标<sup>[4]</sup>, 在内分泌检验领域的应用有了飞速进展, 为库欣综合征(CS)、原发性醛固酮增多症(PA)等

疑难病例的诊断及鉴别提供了更准确的检测技术和新的特异性诊断标志物<sup>[5]</sup>。目前临床实验室采用传统免疫学方法测定激素也暴露出诸多缺点: 对激素代谢物的结构类似性不能进行特异性鉴别检测; 抗体交叉反应干扰; 动态线性范围狭窄, 不能满足检测波动较大的激素水平的需求; 对水平过低的激素检测灵敏度较低等等。这些缺点一定程度上导致传统免疫学方法已经不能满足内分泌疾病领域全面精准诊断疾病的需求, 而 LC-MS/MS 技术作为内分泌疾病诊疗领域新兴的检验技术, 因其灵敏度高、特异度高、一个标本多种检测等优点, 可为疾病诊断提供更精准、全面的诊疗信息<sup>[6]</sup>。本文通过对 LC-MS/MS 技术检测类固醇代谢谱在肾上腺疾病诊疗领域中的应用进行深入阐述, 以期能够进一步提升其在内分泌疾病筛查诊断中的应用价值。

\* 基金项目:2020 年洛阳市医疗卫生科研专项(2001027A)。

△ 通信作者, E-mail:jianghw@haust.edu.cn。

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail//50.1167.r.20230203.1128.001.html\(2023-02-03\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail//50.1167.r.20230203.1128.001.html(2023-02-03))

## 1 LC-MS/MS 分析激素代谢谱

**1.1 激素代谢谱** 人体内的激素是一种弱极性的小分子物质,主要产生于肾上腺、胎盘和生殖腺等器官,临床上所测定的激素主要指包括糖皮质激素、盐皮质激素、孕激素和性激素在内的类固醇激素,以及由肾上腺髓质分泌的儿茶酚胺(CA)类激素,这些激素的中间代谢产物包括 11-脱氧皮质醇、皮质酮等 20 多种化学物质。类固醇激素是由胆固醇经过各种酶的催化反应,最终相互转化为相应的激素来调节内分泌代谢<sup>[7]</sup>;CA 类激素是一类应激拟交感激素,其产生部位主要在肾上腺髓质,对于人体最重要的 CA 类激素主要包括肾上腺素(E)、去甲肾上腺素(NE)和多巴胺(DA)。

**1.2 LC-MS/MS 技术优势** 激素代谢谱检测是目前临床化学领域最具挑战性的实验室项目,因为许多激素代谢物具有相似的化学结构,对方法的特异度要求高,并且许多激素中间代谢物的水平很低,又存在结合、游离形式和性别、年龄之分,对方法的灵敏度要求也很高,即使大多数免疫学方法可测到 10 pg/mL,但其准确度、特异度较差。LC-MS/MS 技术适用范围远超过放射性免疫检测和化学检测范围,它的物质水平检测下限是其他常规免疫化学方法所无法相比的,最低检测限可 $<4$  pg/mL<sup>[8]</sup>,并且可同时检测 20 多种激素代谢物水平,所以近年来 LC-MS/MS 的应用得到了广泛的关注和发展。复旦大学中山医院医学检验科对 LC-MS/MS 检测 20 种类固醇代谢物血浆样品进行性能和方法学验证,并采用 LC-MS/MS 技术检测多囊卵巢综合征(PCOS)患者和亚临床库欣综合征(SCS)患者血浆中 20 种类固醇激素,证实 LC-MS/MS 方法检测类固醇代谢物可以很好地鉴别这两种疾病患者与健康人群,进一步验证了该方法的高特异度和灵敏度<sup>[9]</sup>。近年来国内外多数内分泌学家逐渐意识到 LC-MS/MS 检测方法的高特异度和多种物质共分析等优势,选择其作为检测类固醇激素优选方法,将 LC-MS/MS 应用于激素代谢谱检测,以辅助筛查和诊断相关内分泌疾病。在检测标本的选择方面,LC-MS/MS 技术不仅可以检测血清标本中的激素水平,还可以检测唾液、尿液、精液、卵泡液等体液标本,标本的可选择范围十分广泛<sup>[10-11]</sup>。目前已有用 LC-MS/MS 测定血浆、唾液或者尿液中糖皮质激素的相关标本处理方法,特别是尿液游离皮质醇或者唾液皮质醇和可的松,以及微量的激素中间代谢物,相比免疫分析有很大的优势<sup>[10]</sup>。采用 LC-MS/MS 测定血浆或者尿液中盐皮质激素醛固酮,其灵敏度比免疫学方法高 10 倍<sup>[12]</sup>,并且一些性激素的检测项目包括睾酮、雌二醇、孕酮等相关代谢产物,这些激素因性别、年龄和生理状态不同水平差别很大,只有采用灵敏度高、线性范围广的 LC-MS/MS 技术才能覆盖不同情况下的激素水平的差异性。

## 2 LC-MS/MS 技术在肾上腺疾病诊断的临床应用

**2.1 先天性肾上腺皮质增生症(CAH)的筛查** CAH 是一种常染色体隐性遗传性疾病,由于基因突变引起体内类固醇激素合成过程中相关酶缺乏,导致肾上腺皮质激素合成障碍同时引起肾上腺皮质增生和激素代谢紊乱<sup>[13]</sup>。临床上筛查 CAH 的常用方法为采集出生 3 d 的新生儿足跟血滴于特制的滤纸片上,采用时间分辨荧光免疫分析法或酶联免疫分析法测定干滤纸血片中 17-羟孕酮水平是否升高,然而由于免疫方法的交叉反应干扰,新生儿初筛的结果可能会出现假阳性,且假阳性率高<sup>[14]</sup>,而采用 LC-MS/MS 分析方法,对新生儿初筛阳性结果进行二级筛查,通过同位素内标法定量对类固醇激素代谢谱进行检测,可尽可能避免基质和交叉反应的干扰。LC-MS/MS 技术不仅可以检测 17-羟孕酮,还可检测包括 21-脱氧皮质醇、雄烯二酮、11-脱氧皮质醇等多种类固醇代谢物,并且计算代谢产物与前体的水平比值,例如(17-羟孕酮+雄烯二酮)/皮质醇或(17-羟孕酮+21-脱氧皮质醇)/皮质醇的比值,根据比值的大小可以判断代谢途径中酶的活性大小<sup>[15]</sup>。LC-MS/MS 技术不仅可以有效降低假阳性率,提高准确度,还可以对 21-羟化酶的经典和非经典进行诊断和分型。虽然通过 CYP21A2 基因分型检测杂合子和无症状患者对遗传咨询很有价值,但成本高、检测步骤复杂且结果较难获得。通过 LC-MS/MS 技术同时测量促肾上腺皮质激素刺激的血清 17-羟孕酮和 21-脱氧皮质醇水平,可有效区分 21-羟化酶缺乏的表型,COSTA-BARBOSA 等<sup>[16]</sup>运用此方法成功筛选出 92.3% 的非经典 CAH 患者和无症状患者,为 CAH 的诊断分型提供了更全面的参考信息。

**2.2 PA 的筛查与分型** PA 是由于肾上腺皮质病变导致自主性醛固酮分泌过多引起水钠潴留并进一步抑制肾素血管紧张素系统所致,其主要临床表现为高血压伴低钾血症<sup>[17]</sup>。PA 患者的治疗方案根据肾上腺分泌醛固酮的情况而定,单侧肾上腺分泌醛固酮过多可通过肾上腺手术治愈,双侧肾上腺均过多分泌醛固酮则需要终生接受盐皮质激素拮抗剂的治疗<sup>[18]</sup>,在临床上鉴别单侧肾上腺腺瘤(APAs)还是双侧肾上腺增生(BAH)引起的 PA 需要通过肾上腺静脉采血(AVS)并测量双侧肾上腺静脉血内的醛固酮和皮质醇水平是否存在显著差异来判断。EISENHOFER 等<sup>[19]</sup>评估了 LC-MS/MS 技术检测类固醇代谢谱对 PA 患者进行分型的效用,证实该方法优于传统的醛固酮和皮质醇免疫分析方法,并扩展了 18-羟皮质醇等作为鉴别 PA 不同亚型的额外生物标志物,同时提供数据说明 BAH 和 APAs 患者肾上腺激素生成模式的差异可以转化为外周静脉血类固醇谱的差异,通过对外周静脉血激素类固醇代谢谱的差异性分析也可用于对 PA 亚型的分类。临床上高血压患者常规筛查

PA 主要是通过测定醛固酮与肾素活性比值(ARR)进行,需要抽血检测并且有采血时间及采血体位要求,运用常规免疫分析方法进行检测,标本前处理复杂,检测成本较高。马文君等<sup>[20]</sup>研究的采用 LC-MS/MS 技术检测 24 h 尿醛固酮水平,能够有效地避免测定血液醛固酮和肾素时受到激素脉冲式分泌的影响,较单次测定血液醛固酮水平更能反映醛固酮的整体分泌情况,并且在高血压患者进行 PA 筛查时测定 24 h 尿醛固酮的特异度和灵敏度较高,具有更好的临床应用价值,并且尿液相对于血液留取更方便,通过应用 LC-MS/MS 技术测定可将尿皮质醇、尿甲氧基肾上腺素类物质等其他内分泌性高血压相关的激素进行同步检测,实现了一次检测筛查多种疾病。在国家卫生健康委员会临床检验中心 2019 年实行的《全国内分泌正确度验证计划》显示,常规采用免疫学方法检测的醛固酮水平结果普遍较实际靶值偏高,而采用 LC-MS/MS 技术检测的结果更接近于实际靶值,进一步说明了 LC-MS/MS 技术在临床检验领域具有很广阔的应用前景<sup>[21]</sup>。

**2.3 CS 的筛查与诊断** CS 是由于肾上腺皮质分泌过多皮质醇导致以满月脸、向心性肥胖等多种内分泌代谢紊乱伴随精神心理异常的一组综合征。除了典型的 CS 患者之外,还有部分皮质醇分泌异常而缺乏典型高皮质醇血症临床表现的患者,称为 SCS<sup>[22]</sup>,还有部分患者是在进行常规 CT 扫描检查中偶然发现存在肾上腺无功能性意外瘤,在健康人群和这 3 种疾病患者之间,血液、尿液皮质醇水平的差异性呈现“连续性”升高,即从正常分泌到明显升高间的皮质醇水平界限并不明确,各种类型之间存在激素水平重叠,这种分界不明确现象造成 CS 鉴别诊断十分困难,因此迫切需要寻找一种灵敏度和特异度高,能够区分患者、亚临床患者和非患者的检测方法来对 CS 进行筛查和诊断,而 LC-MS/MS 技术凭借其高灵敏度和特异度被作为筛查和诊断 CS 的首选方法。

对于 CS 的初始筛查,内分泌学会指南推荐以下试验之一:1 mg 地塞米松抑制试验(DST)或深夜唾液皮质醇(LNSC)或 24 h 尿游离皮质醇(UFC)测量。CECCATO 等<sup>[23]</sup>在一系列患者中检查了上述几种测试的诊断性能,证实疑似皮质醇增多症的患者中,通过 LC-MS/MS 测量 UFC 在诊断 CS 方面实现了最优准确度,建议用 LC-MS/MS 测量 UFC 作为诊断 CS 的一线筛选方法,用 1 mg DST 或 LNSC 试验测定来进一步确诊高皮质醇血症。由于皮质醇在唾液中的水平极低,因此对分析方法的灵敏度要求较高,2013 年有研究报道采用 LC-MS/MS 测定唾液皮质醇<sup>[24]</sup>,通过采用 LC-MS/MS 对皮质醇化合物结构进行特异性分析,避免了免疫法检测中出现可的松等内源性激素化合物和强的松龙等外源性激素类药物的交叉反应所造成的干扰,使检测的特异性更高,并且

LC-MS/MS 检测皮质醇下限可达到 0.07~0.11 nmol/L<sup>[25]</sup>,除了超高灵敏度外,LC-MS/MS 在评估唾液标本中是否存在潜在污染或外用合成类固醇激素干扰方面非常有效。临床上如果出现免疫法检测唾液皮质醇值大于参考值上限的 20 倍,但患者临床症状却并不典型,怀疑是否为外源性药物干扰引起的结果偏高,这种情况可采用 LC-MS/MS 技术根据唾液游离皮质醇和可的松的化合物检测谱峰的差异进行区分来判断干扰物来源。

由于目前各个国家研究所选取的 CS 患者和对照组的对象不尽相同,导致研究所得的诊断切点值也各不相同,通常临床上将 LC-MS/MS 检测 24 h UFC 诊断 CS 的切点值定义为 170 nmol/24 h<sup>[26]</sup>,与 2014 年所发表文献中提到的诊断 CS 的 UFC 切点为 166~170 nmol/24 h<sup>[27]</sup>的结果是相近的,但该切点值对于一些亚临床、轻微患者的诊断仍然缺乏敏感性。目前国际上对于 LNSC 的检测还没有较一致的诊断 CS 的切点值,需要同时采用 LC-MS/MS 和免疫法检测 24 h UFC,但随着 LC-MS/MS 技术的普及,采用 LC-MS/MS 同时检测 LNSC 和 24 h UFC 将成为提高诊断 CS 的灵敏度和特异度的有效方法。目前国内外研究热点中不仅是采用 LC-MS/MS 测定皮质醇,而且进行皮质醇及其代谢产物或糖皮质激素代谢指纹谱的分析,这将为临床精准诊疗提供更好的支持。

**2.4 嗜铬细胞瘤(PPGL)的筛查和诊断** PPGL 是起源于神经外胚层嗜铬组织的肿瘤,主要分泌 CA,PPGL 患者可因长期高血压导致严重的心、脑、肾损害或者因突发严重高血压而导致高血压危象,危及生命<sup>[28]</sup>。CA 可代谢为 3-甲氧基酪胺(3-MT)、3-甲氧基肾上腺素(MN)、3-甲氧基去甲肾上腺素(NMN)。PPGL 以往常规筛查生化指标包括血液、尿液中的 CA 和尿香草扁桃酸等,缺乏诊断特异性,最新的研究结果显示 MN 和 NMN 相较于常规筛查的生化指标对 PPGL 的辅助诊断具有更高的临床价值,特别是血浆中的游离 MN 和 NMN 水平,其代谢的半衰期较 CA 长,因此诊断性能较 CA 更加稳定,可更直观地反映肿瘤细胞的分泌状态<sup>[29]</sup>。国内外关于 PPGL 的诊疗指南<sup>[30-31]</sup>中提到,诊断 PPGL 首选的生化指标为 CA, MN, NMN, NE, E 和 DA 可协助诊断,并推荐采用 LC-MS/MS 进行激素检测。黄斐等<sup>[32]</sup>建立了 LC-MS/MS 平台检测 MN 和 NMN 的方法,参考范围设定为 MN<64.97 pg/mL 和 NMN<185.83 pg/mL,当患者 MN 和 NMN 结果均低于参考范围上限时,可基本上排除患有 PPGL 的可能,若患者 MN 或 NMN 任意一项超过参考范围上限,即可初步诊断为 PPGL,通过运用 ROC 曲线分析所得出的特异性诊断切点为参考范围上限的 2.04 倍和 1.99 倍,若患者 MN 和 NMN 均高于参考上限但未达到特异性诊断切点时,则推荐进一步检测血 MN 和尿分馏 MN,以排除假阳



性升高的情况。SMY 等<sup>[33]</sup>考虑到由于血浆里非常低的内源性 3-MT 水平 ( $<0.1 \text{ nmol/L}$ ) 导致常规免疫方法难以检测,因此开发了一种简单的 3-MT 测量方法:使用固相微萃取进行样品制备,将洗脱液直接注入 LC-MS/MS 进行分析并以多反应监测模式采集数据,这种方法可以准确测定患者标本中的 3-MT,为临床医生诊断或监测 PPGL 提供有价值的信息,并且在标本中 MN 和 NMN 水平正常的患者如果存在高水平的 3-MT 可提醒临床医生该患者可能患有分泌激素的肿瘤。由于 CA 及其代谢物的化学性质不稳定,存在众多干扰物,并且在血液和尿液中的水平较低,因此准确测定其水平是当前临床检测难题,LC-MS/MS 技术能够进行大量的血液和尿液样品的快速筛查,激素代谢物检测下限更低,亟待广泛应用,但由于实验室间所选用的检测仪器和厂家不完全相同,尚未建立 CA 及其代谢物的统一参考方法和参考区间,导致实验室室间质评无法有效进行,是当前临床检验亟待解决的问题<sup>[34]</sup>。

### 3 LC-MS/MS 技术临床应用局限性

LC-MS/MS 技术与现有的临床实验室中广泛使用的生化免疫技术相比,具有灵敏度高、特异性好、检测下限低和高通量检测等诸多优势,特别是对于临床检测小分子激素及代谢产物有重要意义,但在国内临床实验室的使用率却不高。分析其原因包括几个方面:首先,由于质谱检测原理与临床生化免疫检测不同,导致检测结果之间存在一定差异,同一激素水平参考区间的设立由于检测方法间的区别往往不完全一致,这就给临床医生诊疗疾病带来困惑;其次,LC-MS/MS 技术目前的临床实验室检测方法大多数是由仪器厂家和实验室联合开发的自建方法,主要服务于本实验室内部的相关检测项目,在市场上缺乏相应的可以通用的检测试剂盒以及质控品,导致各实验室的检测结果难以溯源其公认的参考方法或参考物质,并且不同实验室所选用的仪器、标准品、试剂也存在差异,不同仪器类型所建立的方法学也存在差异,导致 LC-MS/MS 技术的实验室标准化面临很大困难,加上色谱质谱仪的运行维护成本普遍较高,且自动化程度不高,与目前临床实验室已经普及的全自动生化仪、化学发光仪等检测仪器相比,LC-MS/MS 技术较低的自动化程度限制了其在临床实验室的普及<sup>[35]</sup>;最后一方面也是最为重要的一点,目前在临床检验领域中应用 LC-MS/MS 技术的行业政策、标准指南等一系列指南规范性文件出台较少,对于各地区普及 LC-MS/MS 技术缺乏一个全面指导和建议,并且 LC-MS/MS 检测设备目前还处于一个快速发展的阶段,但有临床应用相关证书的设备往往却并不是最新研发的检测设备,导致设备更新换代也滞后,在医疗市场应用方面,LC-MS/MS 检验项目针对医疗机构的收费定价、准入等方面也缺乏相关的规定和政策<sup>[36]</sup>。以上这些

原因均制约了 LC-MS/MS 技术在临床实验室的推广和应用。

### 4 小 结

虽然 LC-MS/MS 技术在推广应用过程中仍存在较大的挑战,但是随着国家对质谱技术临床应用的关注度提高以及国内外医疗器械生产厂商、医疗机构对 LC-MS/MS 技术的不断研发和提升,随着各种指南和政策文件的相继出台,目前存在的困难正在被逐步解决。总之,LC-MS/MS 技术在内分泌激素检测领域已展现出强大应用优势,不仅可与现有常规生化免疫自动化检测技术互补,在发现及验证肾上腺疾病新的潜在生物标志物方面亦将发挥重要作用。

### 参考文献

- [1] 罗国安. 药物与毒物分析技术[M]. 北京:化学工业出版社,2007:91-94.
- [2] KEEVIL B G. LC-MS/MS analysis of steroids in the clinical laboratory[J]. Clin Biochem, 2016, 49(13/14): 989-997.
- [3] DESMONS A, THIOULOUSE E, HAUTEM J Y, et al. Direct liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis of amino acids in human plasma[J]. J Chromatogr A, 2020, 1622:461135.
- [4] KUSHNIR M M, ROCKWOOD A L, BERGQUIST J. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry applications in endocrinology[J]. Mass Spectrom Rev, 2010, 29(3):480-502.
- [5] HOLMES D T. A brief update on mass spectrometry applications to routine clinical endocrinology[J]. Clin Mass Spectrom, 2019, 13: 18-20.
- [6] D' AURIZIO F, CANTÙ M. Clinical endocrinology and hormones quantitation; the increasing role of mass spectrometry[J]. Minerva Endocrinol, 2018, 43(3):261-284.
- [7] RAY J A, KUSHNIR M M, YOST R A, et al. Performance enhancement in the measurement of 5 endogenous steroids by LC-MS/MS combined with differential ion mobility spectrometry [J]. Clin Chim Acta, 2015, 438: 330-336.
- [8] WANG Y, GAY G D, BOTELHO J C, et al. Total testosterone quantitative measurement in serum by LC-MS/MS [J]. Clin Chim Acta, 2014, 436:263-267.
- [9] 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(9):1477-1487.
- [10] CECCATO F, ANTONELLI G, FRIGO A C, et al. First-line screening tests for Cushing's syndrome in patients with adrenal incidentaloma; the role of urinary free cortisol measured by LC-MS/MS[J]. J Endocrinol Invest, 2017, 40(7):753-760.
- [11] SIMON T, LAETITIA M, CLAIRE B, et al. Multiplexed steroid profiling of gluco-and mineralocorticoids pathways

- using a liquid chromatography tandem mass spectrometry method[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2017, 165(Pt B): 202-211.
- [12] PEITZSCH M, DEKKERS T, HAASE M, et al. An LC-MS/MS method for steroid profiling during adrenal venous sampling for investigation of primary aldosteronism [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2015, 145: 75-84.
- [13] 顾学范. 临床遗传代谢病[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [14] GIDLÖF S, WEDELL A, GUTHENBERG C, et al. Nationwide neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia in sweden: a 26-year longitudinal prospective population-based study[J]. *JAMA Pediatr*, 2014, 168(6): 567-574.
- [15] JANZEN N, PETER M, SANDER S, et al. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia: additional steroid profile using liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(7): 2581-2589.
- [16] COSTA-BARBOSA F A, CARVALHO V M, OLIVEIRA K C. Reassessment of predictive values of ACTH-stimulated serum 21-deoxycortisol and 17-hydroxyprogesterone to identify CYP21A2 heterozygote carriers and nonclassic subjects[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2021, 95(4): 677-685.
- [17] KÄYSER S C, DEKKERS T, GROENEWOUD H J, et al. Study heterogeneity and estimation of prevalence of primary aldosteronism: a systematic review and Meta-regression analysis[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101(7): 2826-2835.
- [18] CAMENZIND A G, VAN DER GUGTEN J G, POPP R, et al. Development and evaluation of an immuno-MALDI (iMALDI) assay for angiotensin I and the diagnosis of secondary hypertension[J]. *Clin Proteom*, 2013, 10: 20-28.
- [19] EISENHOFER G, DEKKERS T, PEITZSCH M, et al. Mass spectrometry-based adrenal and peripheral venous steroid profiling for subtyping primary aldosteronism. [J]. *Clin Chem*, 2016, 62(3): 514-524.
- [20] 马文君, 卞瑾, 娄莹, 等. 串联质谱法检测 24 h 尿醛固酮在原发性醛固酮增多症筛查中的临床应用价值[J]. *中华检验医学杂志*, 2020, 43(3): 261-266.
- [21] 国家卫生健康委员会临床检验中心. 2019 年内分泌正确度验证计划质谱法(调查)能力验证报告[R]. 北京: 国家卫生健康委员会临床检验中心, 2019: 10.
- [22] 李乐乐, 窦京涛. 如何从肾上腺意外瘤中甄选出亚临床库欣综合征[J]. *中国实用内科杂志*, 2017, 37(10): 867-870.
- [23] CECCATO F, BARBOT M, ZILIO M, et al. Screening tests for cushing's syndrome: urinary free cortisol role measured by LC-MS/MS[J]. *Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100(10): 3856-3861.
- [24] TURPEINEN U, HÄMÄLÄINEN E. Determination of cortisol in serum, saliva and urine[J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2013, 27(6): 795-801.
- [25] EL-FARHAN N, REES DA, EVANS C. Measuring cortisol in serum, urine and saliva -are our assays good enough? [J]. *Ann Clin Biochem*, 2017, 54(3): 308-322.
- [26] FAVERO V, CREMASCHI A, FALCHETTI A, et al. Management and medical therapy of mild hypercortisolism[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21): 11521.
- [27] ELIAS P C, MARTINEZ E Z, BARONE B F, et al. Late-night salivary cortisol has a better performance than urinary free cortisol in the diagnosis of Cushing's syndrome [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(6): 2045-2051.
- [28] FARRUGIA F A, MARTIKOS G, TZANETIS P, et al. Pheochromocytoma, diagnosis and treatment: review of the literature[J]. *Endocr Regul*, 2017, 51(3): 168-181.
- [29] LENDERS J W, DUH Q Y, EISENHOFER G, et al. Pheochromocytoma and paraganglioma: an endocrine society clinical practice guideline [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(6): 1915-1942.
- [30] 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(9): 737-750.
- [31] LENDERS J W, DUH Q Y, EISENHOFER G, et al. Pheochromocytoma and paraganglioma: an endocrine society clinical practice guideline [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(6): 1915-1942.
- [32] 黄斐, 陈方俊, 彭颖斐, 等. 建立液相色谱-串联质谱检测血浆游离变肾上腺素和去甲变肾上腺素诊断嗜铬细胞瘤的临床策略[J]. *中华实验外科杂志*, 2017, 34(11): 1982-1984.
- [33] SMY L, KUSHNIR M M, FRANK E L. A high sensitivity LC-MS/MS method for measurement of 3-methoxytyramine in plasma and associations between 3-methoxytyramine, metanephrines, and dopamine[J]. *J Mass Spectrom Adv Clin Lab*, 2021, 21: 19-26.
- [34] VOGESER M, SEGER C. Quality management in clinical application of mass spectrometry measurement systems [J]. *Clin Biochem*, 2016, 49(13/14): 947-954.
- [35] VAN DER VEEN A, VAN FAASSEN M, DE JONG W H A, et al. Development and validation of a LC-MS/MS method for the establishment of reference intervals and biological variation for five plasma steroid hormones[J]. *Clin Biochem*, 2019, 68: 15-23.
- [36] 李明珠, 张雪珂. 临床医学质谱检验技术质量管理研究[J]. *现代仪器与医疗*, 2022, 28(1): 25-28.