

串联质谱用于库欣综合征及肾上腺皮质功能减退症筛查诊断研究

LCMSMS-857

摘要：使用超高效液相色谱三重四极杆质谱仪联用系统，建立了血清中皮质醇含量测定方法。使用标准品及质控品进行了方法的线性、准确度及精密度的考察。结果显示该方法线性良好，标准曲线相关系数大于 0.999；连续测定 6 次质控品回收率在 95.3%~104.7% 之间，RSD 在 2.1%~3.5% 之间，满足临床测定需求。该方法前处理简便，样本用量少，分析速度快，灵敏度高，专属性强，对库欣综合征及肾上腺皮质功能减退症的筛查诊断具有重要参考意义。

关键词：类固醇激素 库欣综合征 肾上腺皮质功能减退症 筛查诊断

技术特点：

- ❖ 蛋白沉淀法前处理，简单便捷。
- ❖ 仅需 6 min 即可完成一针测定，分析速度快。

库欣综合征（CS），是由各种病因导致的高皮质醇血症，作用于靶器官，引起的以向心性肥胖、高血压、糖代谢异常、低钾血症和骨质疏松为典型表现的一种综合征。肾上腺皮质功能减退症（ACI）是多种原因造成的肾上腺皮质激素分泌不足疾病，多伴有糖皮质激素（皮质醇）含量降低，患者一般出现精神不振、乏力、低血压等症状。

2016 年发表的《中国库欣病诊治专家共识》推荐检测血清皮质醇含量准确诊断库欣综合征，CS 患者血清午夜血皮质醇低谷会消失，睡眠状态下诊断 CS 的午夜血清皮质醇值 $\geq 18 \mu\text{g/L}$ ，敏感性达 100%，

清醒状态下血清皮质醇值 $\geq 75 \mu\text{g/L}$ ，诊断的敏感性达 96%。2022 年发表的《肾上腺皮质功能减退症患者围手术期糖皮质激素管理专家共识》推荐检测血清皮质醇含量准确诊断肾上腺皮质功能减退症，清晨 8 时空腹非应激情况下，血清皮质醇浓度 $< 30 \mu\text{g/L}$ ，应高度怀疑 ACI。

本文使用超高效液相色谱三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 CL，建立了血清中皮质醇含量测定方法，该方法前处理简便，分析速度快，样品用量少，灵敏度高，专属性强，可用于库欣综合征及肾上腺皮质功能减退症筛查诊断。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验使用超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 CL 联用系统。具体配置为：

输液泵：	LC-40D XR CL×2	在线脱气机：	DGU-405 CL
自动进样器：	SIL-40C XR CL	柱温箱：	CTO-40C CL
系统控制器：	CBM-40 CL		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIST 50 mm×2.1 mm I.D., 2 μm ；P/N: 227-30001-02；岛津（上海）实验器材有限公司

流动相：A: 0.05 mM 氟化铵水 B: 甲醇

流 速 : 0.5 mL/min
 进 样 量 : 10 μ L
 柱 温 : 40°C
 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 27%, 洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.50	泵	B.Conc	57
4.50	泵	B.Conc	100
4.70	泵	T.Flow	0.5
4.75	泵	T.Flow	0.8
5.35	泵	B.Conc	100
5.36	泵	B.Conc	27
5.65	泵	T.Flow	0.8
5.66	泵	T.Flow	0.5
6.00	控制器	Stop	

质谱条件

分 析 仪 器 : LCMS-8045 CL	DL 温 度 : 150°C
离 子 源 : ESI (+)	加 热 模 块 温 度 : 400°C
雾 化 气 流 速 : 3.0 L/min	离 子 源 温 度 : 300°C
干 燥 气 流 速 : 8.0 L/min	扫 描 模 式 : 多 反 应 监 测 (MRM)
加 热 气 流 速 : 12.0 L/min	MRM 参 数 : 见 表 2

表 2 MRM 参数

编号	名称	英文名	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
1	皮质醇	F	363.20	121.15	-14	-25	-23
			363.20	327.20	-14	-16	-23
2	皮质醇内标	F-IS	367.20	121.20	-14	-25	-23

1.3 试剂盒组成

校准品: 6 浓度校准品冻干粉 L1~L6

质控品: 3 浓度质控品冻干粉 LQC, MQC, HQC

内标储备液: 1 份

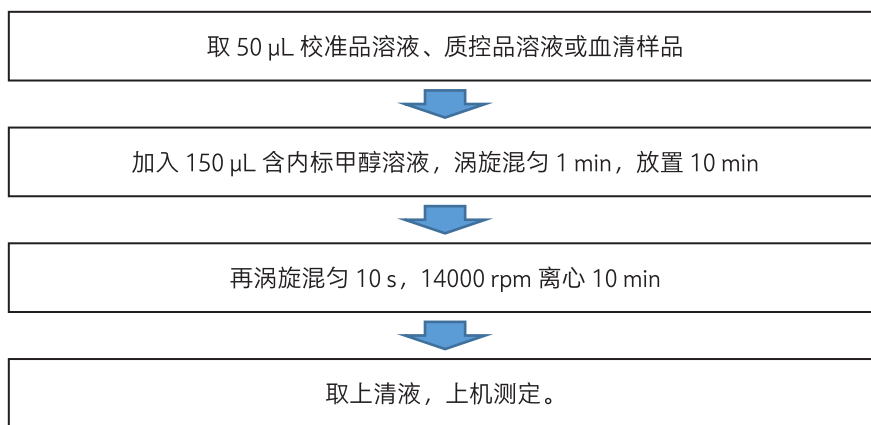
校准品及质控品溶液制备: 向校准品及质控品冻干粉中加入 2 mL 超纯水, 混匀, 校准品溶液及质控品溶液浓度见表 3。

内标溶液制备: 取内标储备液 1 mL, 加入甲醇 2 mL, 混匀。

表 3 校准品溶液及质控品溶液浓度 (μ g/L)

编号	L1	L2	L3	L4	L5	L6	LQC	MQC	HQC
浓度 ng/mL	2.63	10.10	20.20	40.60	161.0	310.0	4.88	14.10	78.60

1.4 样品前处理



■ 结果讨论

2.1 MRM 色谱图

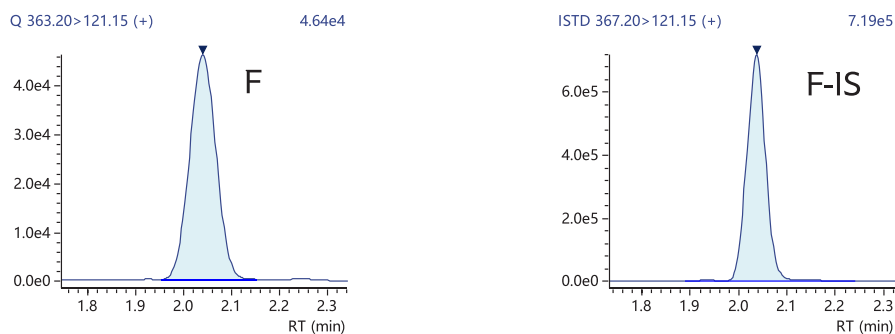


图 1 标准曲线最低点谱图

2.2 线性测定结果

对校准品溶液按 1.2 中的分析条件进行分析，内标法制作标准曲线。皮质醇在 2.63~310.0 μg/L 浓度范围内线性相关系数大于 0.999，准确度在 98.9%~102.7% 之间，满足测定需求。

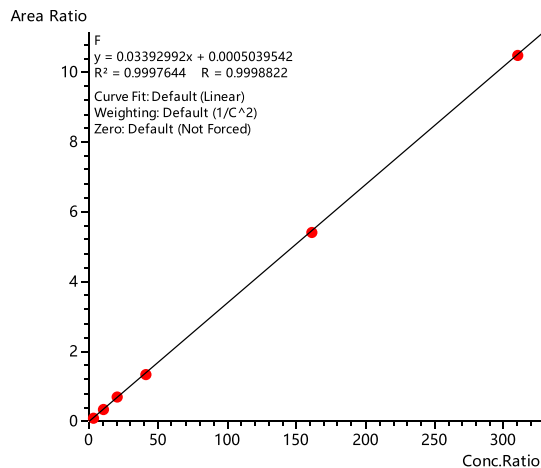


图 2 皮质醇校准曲线

2.3 准确度及精密度测定结果

按 1.3 所述方法制备低中高浓度质控品，按 1.4 中的前处理方法对质控品进行前处理，按 1.2 中的分析条件对质控品进行分析，质控品的准确度结果如表 4 所示，结果显示皮质醇回收率在 95.3%~104.7% 之间，RSD 在 2.1%~3.5% 之间，满足临床测定需求。

表 4 质控准确度考察结果 (n=6, $\mu\text{g/L}$)

质控	项目	F
LQC	理论浓度	4.88
	测定浓度	5.11
	回收率 %	104.7
	RSD%	3.5
MQC	理论浓度	14.10
	测定浓度	13.76
	回收率 %	97.6
	RSD%	3.1
HQC	理论浓度	78.6
	测定浓度	74.9
	回收率 %	95.3
	RSD%	2.1

2.4 临床样品测定结果

取 3 批次血清样品，按 1.4 中的前处理方法及 1.2 中的分析条件进行测定，结果见图 3 和表 5，该方法灵敏度及分离度可满足临床检验需求。

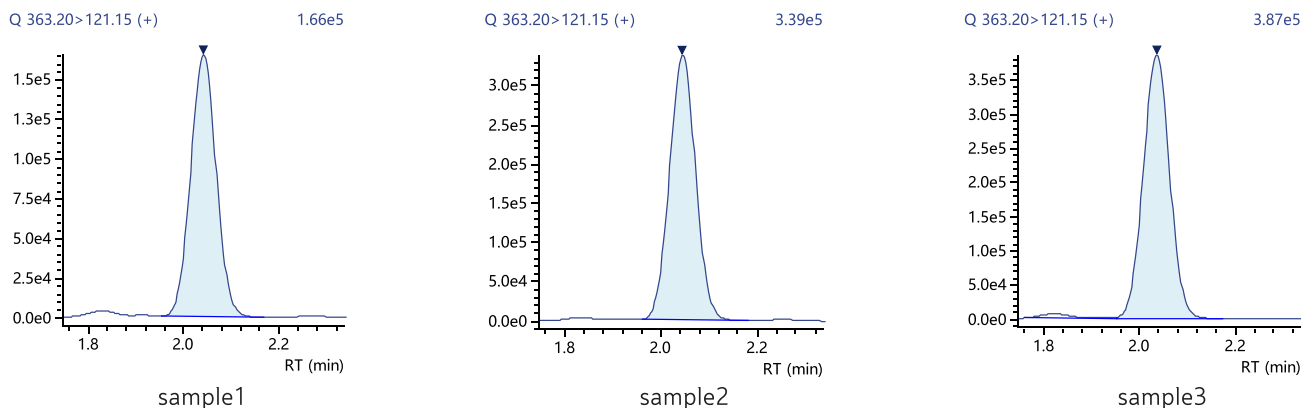


图 3 样品色谱图

表 5 临床样品测定结果 ($\mu\text{g/L}$)

Name	sample1	sample2	sample3
F	33.5	80.6	101.3

■ 结论

使用超高效液相色谱三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 CL 联用系统，建立了血清中皮质醇含量测定方法。使用标准品及质控品进行了方法的线性、准确度及精密度的考察。结果显示该方法线性良好，标准曲线相关系数大于 0.999，皮质醇质控品回收率在 95.3%~104.7% 之间，RSD 在 2.1%~3.5% 之间，满足临床测定需求。该方法前处理简便，样本用量少，分析速度快，灵敏度高，专属性强，对库欣综合征及肾上腺皮质功能减退症的筛查诊断具有重要参考意义。

岛津应用云

