串联质谱法在过氧化物酶体病筛查中的应用

王燕敏¹, 田国力¹, 纪伟¹, 王四美², 张潇分¹

1. 上海市儿童医院 上海交通大学附属儿童医院新生儿筛查中心, 上海 200040

2. 上海市儿童医院 上海交通大学附属儿童医院神经内科, 上海 200040

[摘要] **目的:**探讨串联质谱法检测极长链酰基肉碱(VLCAC)和溶血磷脂酰胆碱(LPC)在过氧化物酶体病筛查中的价值。**方法:**选取2017年1月至2021年3月以发育迟缓等神经系统异常就诊于上海市儿童医院,根据临床症状、磁共振成像和基因检测结果明确诊断为X-连锁肾上腺脑白质营养不良(X-ALD)患儿14例和脑肝肾综合征(ZS)患儿4例。另选取同年龄段体检儿童200名为健康对照组。使用含稳定同位素内标的溶剂萃取所有对象干血斑标本中的VLCAC和LPC,直接采用串联质谱法检测二十碳酰基肉碱(C20)、二十二碳酰基肉碱(C22)、二十四碳酰基肉碱(C24)、二十六碳酰基肉碱(C26)、二十碳溶血磷脂酰胆碱(C20:0-LPC)、二十二碳溶血磷脂酰胆碱(C22:0-LPC)、二十四碳溶血磷脂酰胆碱(C24:0-LPC)和二十六碳溶血磷脂酰胆碱(C26:0-LPC)水平,并计算C24/C20、C24/C22、C26/C20、C26/C22、C24:0-LPC/C20:0-LPC、C24:0-LPC/C22:0-LPC、C26:0-LPC/C20:0-LPC、C26:0-LPC/C22:0-LPC比值。采用Kruskal-Wallis *H*检验和Mann-Whitney *U*检验比较各组间VLCAC和LPC各指标检测值及比值,采用偏最小二乘法和变量投影重要度权重评分分析各指标对判断疾病的贡献度。**结果:**除C24:0-LPC/C20:0-LPC外,所有指标和比值在各组间差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);X-ALD组与健康对照组、ZS组与健康对照组间,各指标有不同程度的差异,但X-ALD组与ZS组间差异无统计学意义($P > 0.05$);偏最小二乘法分析显示X-ALD和ZS组与健康对照组能够完全分离,C26的变量投影重要度值最大。**结论:**串联质谱法检测VLCAC和LPC可作为过氧化物酶体病筛查的方法,其中C26或可作为诊断敏感指标。

[关键词] 过氧化物酶体病;筛查;串联质谱法;极长链酰基肉碱;溶血磷脂酰胆碱

[中图分类号] R596 **[文献标志码]** A

Very long chain acylcarnitines and lysophosphatidylcholines in screening of peroxisomal disease in children by tandem

收稿日期:2021-04-26 接受日期:2021-07-18

基金项目:上海市科学技术委员会科研计划(18441905100);上海市“重中之重”临床医学重点学科建设项目(2017ZZ02019);上海市卫生和计划生育委员会科研课题(2018ZHYL0233)

第一作者:王燕敏,主管技师,主要从事儿童遗传代谢病筛查工作;E-mail:wangym@shchildren.com.cn;https://orcid.org/0000-0003-1279-9422

通信作者:田国力,主任技师,主要从事儿童遗传代谢病筛查工作;E-mail:tiangl@shchildren.com.cn;https://orcid.org/0000-0001-5069-5128

mass spectrometry

WANG Yanmin¹, TIAN Guoli¹, JI Wei¹, WANG Simei², ZHANG Xiaofen¹ (1. Neonatal Screening Center, Shanghai Children's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200040, China; 2. Department of Neurology, Shanghai Children's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200040, China)

Corresponding author: TIAN Guoli, E-mail: tiangl@shchildren.com.cn, <https://orcid.org/0000-0001-5069-5128>

[**Abstract**] **Objective:** To investigate the value of very long chain acylcarnitine (VLCAC) and lysophosphatidylcholine (LPC) in screening of peroxisomal disease in children. **Methods:** Eighteen children with peroxisomal disease, including 14 cases of X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD group) and 4 cases of Zellweger syndrome (ZS group) diagnosed based on clinical symptoms, MRI and genetic tests were enrolled in the study; and 200 healthy children were selected as control group. Samples of dried blood spots were collected from all subjects, VLCAC and LPC in dried blood spots were extracted by solvent containing internal isotopic standards hexacosanoylcarnitine (²H₃-C26) and C26:0 lysophosphatidylcholine (²H₄-C26:0-LPC). The eicosanoylcarnitine (C20), docosanoylcarnitine (C22), tetracosanoylcarnitine (C24), hexacosanoylcarnitine (C26), C20:0 lysophosphatidylcholine (C20:0-LPC), C22:0 lysophosphatidylcholine (C22:0-LPC), C24:0 lysophosphatidylcholine (C24:0-LPC) and C26:0 lysophosphatidylcholine (C26:0-LPC) were detected by tandem mass spectrometry (MS/MS). The above 8 indicators and the ratios were compared among the groups using Kruskal-Wallis *H* test and Mann-Whitney *U* test; the contribution of each index to the disease were analyzed by partial least square method. **Results:** Except C24:0-LPC/C20:0-LPC, there were significant differences in all indicators and ratios among all groups (*P*<0.05 or *P*<0.01). There were differences in most indicators and ratios between X-ALD group and the control group, as well as between ZS group and the control group, but there was no difference between the X-ALD group and the ZS group. PLS-DA analysis showed that the peroxisome disease group (including X-ALD group and ZS group) and the control group were able to be completely separated, and C26 had the highest variable importance for the projection (VIP) value. **Conclusion:** MS/MS detection of VLCAC and LPC can be used as a screening method for peroxisomal disease, and C26 may be a sensitive indicator for diagnosis.

[**Key words**] Peroxisomal disease; Screening; Tandem mass spectrometry; Very long chain acylcarnitine; Lysophosphatidylcholine

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2021, 50(4): 481-486.]

[**缩略语**] 极长链脂肪酸(very long chain fatty acid, VLCFA); X-连锁肾上腺脑白质营养不良(X-linked adrenoleukodystrophy, X-ALD); 脑肝肾综合征(Zellweger syndrome, ZS); 极长链酰基肉碱(very long chain acylcarnitine, VLCAC); 溶血磷脂酰胆碱(lysophosphatidylcholine, LPC); 二十碳酰基肉碱(eicosanoylcarnitine, C20); 二十二碳酰基肉碱(docosanoylcarnitine, C22); 二十四碳酰基肉碱(tetracosanoylcarnitine, C24); 二十六碳酰基肉碱(hexacosanoylcarnitine, C26); 二十碳溶血磷脂酰胆碱(C20:0 lysophosphatidyl-

choline, C20:0-LPC);二十二碳溶血磷脂酰胆碱(C22:0 lysophosphatidylcholine, C22:0-LPC);二十四碳溶血磷脂酰胆碱(C24:0 lysophosphatidylcholine, C24:0-LPC);二十六碳溶血磷脂酰胆碱(C26:0 lysophosphatidylcholine, C26:0-LPC);磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI);变量投影重要度(variable importance for the projection, VIP)

过氧化物酶体是由一层单位膜包绕而成的圆形或卵圆形细胞器,内含50多种酶,是体内VLCFA β 氧化的唯一场所。膜上的转运蛋白发生障碍或内部单个酶缺陷可引起过氧化物酶体功能先天性缺陷疾病,即为过氧化物酶体病^[1]。X-ALD和ZS是过氧化物酶体病中较为常见的两种疾病。近年来,国外采用检测干血斑标本中的VLCAC和LPC进行新生儿X-ALD筛查,在确诊X-ALD的同时,也确诊多例ZS病例,通过早期干预,预防患儿的智力、精神和运动发育落后^[2-3],并为家庭再生育提供遗传咨询。本研究采用串联质谱法检测干血斑上4种VLCAC和4种LPC,包括C20、C22、C24、C26以及C20:0-LPC、C22:0-LPC、C24:0-LPC和C26:0-LPC,回顾分析了8项指标及对应的8个比值对X-ALD和ZS患儿诊断的意义,以期临床提供参考。

1 对象与方法

1.1 对象及标本制备

选取2017年1月至2021年3月以发育迟缓等神经系统异常就诊于上海市儿童医院,根据临床症状、MRI和基因检测结果明确诊断为X-ALD的患儿14例,ZS患儿4例。所有患儿均为男性,年龄1 d~11岁,年龄中位数5岁,其中表现为发育迟缓11例、听力视力下降7例、肌无力5例,头颅MRI检查提示双侧脑室旁白质区异常信号。另选取同年龄段体检儿童200名为健康对照组。本研究经上海市儿童医院伦理委员会审查批准(2019R038-E01)。

采集所有研究对象微量血滴于S&S903滤纸上,室温下自然晾干2 h后制成干血斑标本,-20℃冰箱保存待用。

1.2 仪器及试剂

Xevo TQD串联质谱仪、Acquity I Class BSM高效液相泵、Acquity I Class SM-FTN自动进样系统为美国Waters公司产品;TriNEST Incubator Shaker孵育振荡仪、非衍生化多种遗传代谢病筛查试剂盒(串联质谱法)为美国PerkinElmer公司产品。

1.3 串联质谱法检测VLCAC和LPC

使用含²H₃-C26和²H₄-C26:0-LPC稳定同位素

内标的溶剂萃取3 mm直径干血斑中的VLCAC和LPC,采用串联质谱法进行分析,无须使用色谱柱,直接上机检测。使用电喷雾阳离子扫描,多反应检测模式收集数据。通过测定每个待测物与其对应的同位素内标的离子峰强度,由已知水平的内标计算出样本中VLCAC和LPC各指标的水平,并进一步计算C24/C20、C24/C22、C26/C20、C26/C22、C24:0-LPC/C20:0-LPC、C24:0-LPC/C22:0-LPC、C26:0-LPC/C20:0-LPC、C26:0-LPC/C22:0-LPC比值^[4]。

1.4 统计学方法

采用SPSS21.0、R3.5.0软件进行统计分析。所有数据正态性检验采用K-S单样本正态分布检验。正态分布的计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示;非正态分布的计量资料采用中位数(上下四分位数)[$M(Q_1, Q_3)$]表示,两组间比较采用非参数的Mann-Whitney *U*检验,多组间比较采用Kruskal-Wallis *H*检验。偏最小二乘法判断各指标对疾病的贡献度。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 过氧化物酶体病患儿VLCAC和LPC检测结果

18例患儿均有VLCAC、LPC和相关比值异常(3~11项),每例患儿平均有7项异常指标。除C24:0-LPC/C20:0-LPC外,其他指标三组间差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。其中,X-ALD组与健康对照组除LPC的4个比值差异无统计学意义外,其他指标X-ALD组均高于健康对照组(均 $P < 0.05$);ZS组与健康对照组除C20:0-LPC、C22:0-LPC、C24/C20、C24:0-LPC/C20:0-LPC外,其他指标差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);X-ALD组与ZS组VLCAC、LPC及比值差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。见表1。结果提示,VLCAC和LPC可作为过氧化物酶体病检测指标,但无法进一步区分X-ALD患儿与ZS患儿。

2.2 VLCAC和LPC各检测指标对过氧化物酶体病筛查的贡献度

以8项指标及相应8项比值作为自变量,以组

表 1 X-ALD组、ZS组与健康对照组极长链酰基肉碱和溶血磷脂酰胆碱检测结果比较
Table 1 VLCAC and LPC levels in X-ALD group, ZS group and control group

$[M(Q_1, Q_3)]$

组 别	<i>n</i>	C20(μmol/L)	C22(μmol/L)	C24(μmol/L)	C26(μmol/L)	C20:0-LPC (μmol/L)	C22:0-LPC (μmol/L)
健康对照组	200	0.01(0.01,0.01)	0.01(0.01,0.01)	0.02(0.01,0.02)	0.01(0.01,0.01)	0.18(0.14,0.22)	0.15(0.12,0.17)
X-ALD组	14	0.02(0.015,0.02)*	0.01(0.01,0.02)*	0.10(0.08,0.11)*	0.11(0.09,0.12)*	0.39(0.27,0.60)*	0.27(0.25,0.37)*
ZS组	4	0.025(0.02,0.04)*	0.015(0.01,0.03)*	0.10(0.06,0.13)*	0.11(0.09,0.12)*	0.24(0.17,0.33)	0.16(0.12,0.21)
<i>H</i> 值	—	26.85	70.79	28.35	144.48	23.37	26.78
<i>P</i> 值	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

组 别	<i>n</i>	C24:0-LPC (μmol/L)	C26:0-LPC (μmol/L)	C24/C20	C24/C22	C26/C20	C26/C22
健康对照组	200	0.38(0.34,0.42)	0.19(0.17,0.23)	1.50(1.00,2.00)	2.00(1.00,2.00)	2.00(1.00,2.00)	1.00(1.00,1.00)
X-ALD组	14	0.78(0.58,0.95)*	0.54(0.35,0.78)*	5.00(4.58,6.50)*	8.00(7.00,10.00)*	6.00(5.25,8.25)*	9.00(7.75,11.56)*
ZS组	4	0.62(0.55,0.68)*	0.68(0.61,0.89)*	2.75(1.83,5.63)	4.67(2.25,8.25)*	4.00(2.64,7.25)*	7.25(3.83,11.00)*
<i>H</i> 值	—	42.13	41.21	45.80	49.61	59.47	109.91
<i>P</i> 值	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

组 别	<i>n</i>	C24:0-LPC/ C20:0-LPC	C24:0-LPC/ C22:0-LPC	C26:0-LPC/ C20:0-LPC	C26:0-LPC/ C22:0-LPC
健康对照组	200	1.00(0.82,1.25)	2.63(2.25,3.12)	0.52(0.39,0.67)	1.33(1.08,1.61)
X-ALD组	14	1.96(1.52,2.63)	2.32(2.2,3.22)	1.30(0.89,2.18)	1.77(1.00,2.50)
ZS组	4	2.42(2.12,2.95)	3.83(3.33,4.34)*	3.64(1.97,5.76)*	4.65(3.06,7.67)*
<i>H</i> 值	—	1.02	6.94	7.78	12.20
<i>P</i> 值	—	>0.05	<0.05	<0.05	<0.01

“—”：无相关数据。与健康对照组比较，*P<0.05。X-ALD：X-连锁肾上腺脑白质营养不良；ZS：脑肝肾综合征；C20：二十碳酰基肉碱；C22：二十二碳酰基肉碱；C24：二十四碳酰基肉碱；C26：二十六碳酰基肉碱；C20:0-LPC：二十碳溶血磷脂酰胆碱；C22:0-LPC：二十二碳溶血磷脂酰胆碱；C24:0-LPC：二十四碳溶血磷脂酰胆碱；C26:0-LPC：二十六碳溶血磷脂酰胆碱。

别为应变量进行偏最小二乘法分析,得到得分散点图和VIP权重评分图(图1、图2)。X-ALD和ZS

X-ALD: X-连锁肾上腺脑白质营养不良; ZS: 脑肝肾综合征.
图 1 极长链酰基肉碱和溶血磷脂酰胆碱各指标筛查过氧化物酶体病的偏最小二乘法分析得分散点图

Figure 1 Scatter plot of the partial least square analysis scores for VLCACs and LPCs in screening peroxisomal diseases

组与健康对照组样本能够完全分离,有7项指标的VIP值大于1,依次为C26、C26/C22、C26/C20、C24/C22、C24、C26:0-LPC、C24/C20,其他9项指标的VIP值均小于1。结果提示,VLCAC和LPC可用于过氧化物酶体病诊断,其中C26对过氧化物酶体病筛查最敏感。

3 讨 论

过氧化物酶体病的主要神经病理学特征为神经元迁移和分化缺陷^[1]。该病临床表现形式多样,绝大多数患者以中枢神经系统症状为主,表现为进行性智力减退、运动能力下降、听力及视力下降、进行性肌张力低下、癫痫发作及抽搐等^[5-6]。X-ALD和ZS是最常见的过氧化物酶体病。X-ALD是X-连锁隐性遗传病,因ABCD1基因发生致病性突变,导致过氧化物酶体上的跨膜转运蛋白功能障碍或单个酶体功能丧失,使VLCFA β氧化障碍,引起在血浆和组织中异常堆积,导致脑肝肾等多

C20:二十碳酰基肉碱;C22:二十二碳酰基肉碱;C24:二十四碳酰基肉碱;C26:二十六碳酰基肉碱;C20:0-LPC:二十碳溶血磷脂酰胆碱;C22:0-LPC:二十二碳溶血磷脂酰胆碱;C24:0-LPC:二十四碳溶血磷脂酰胆碱;C26:0-LPC:二十六碳溶血磷脂酰胆碱。

图2 极长链酰基肉碱和溶血磷脂酰胆碱各指标筛查过氧化物酶体病的变量投影重要度权重评分图

Figure 2 Weighted score chart of variable importance for the projection of VLCACs and LPCs in screening peroxisomal diseases

个器官障碍^[7-8]。美国明尼苏达州最新报道显示,新生儿X-ALD发病率约为1/4845^[9]。ZS呈常染色体隐性遗传,其PEX基因主要编码过氧化物酶体内与代谢相关的各种蛋白,当该蛋白发生功能障碍而无法正常运转入过氧化物酶体时,可导致代谢功能障碍,美国报道其发病率约为1/50 000^[10]。

目前,X-ALD和ZS的诊断主要依靠实验室检查、基因突变特征和影像学特征。MRI对疾病诊断具有提示作用^[11],而血清和培养成纤维细胞中的VLCFA是目前主要的实验室指标。目前,多个实验室采用同位素标记物作为内标的气相-质谱联用定量方法检测VLCFA^[12-13],也有报道采用衍生化标本前处理液相-质谱联用方法检测^[14],但均存在标本前处理及分析时间较长、通量低等缺点。且仅检测血清VLCFA会使约15%的女性携带者漏检,而标本溶血或生酮饮食等会引起假阳性结果^[15-16]。酰基肉碱作为人体能量代谢必需的物质,当参与代谢的过氧化物酶体酶缺陷引起代谢途径中上游产物堆积时,血液会出现VLCAC及其脂类水平升高。采用串联质谱法检测干血斑标本中的VLCAC和LPC,对所有新生儿进行过氧化物酶体病筛查,结合基因检测明确诊断,尽早治疗可预防疾病的不良后果。美国纽约州作为首个对所有新生儿开展X-ALD筛查的地区,在18个月内筛查365 000名新生儿,共确诊33例患儿,包括13例X-ALD男性患儿、13例X-ALD女性杂合子患儿和7例ZS患儿^[2]。2006年,Hubbard等^[17]发现,

LPC特别是C26:0-LPC可作为诊断X-ALD的生物标志物。Turgeon等^[18]采用串联质谱法检测130名健康新生儿和8例X-ALD患儿的干血斑标本,发现C24:0-LPC和C26:0-LPC能很好地区分X-ALD患儿和健康新生儿,而C20:0-LPC、C22:0-LPC在两者之间存在较大重叠。2016年,Huffnagel等^[19]提出VLCAC也可作为诊断X-ALD的生物标志物,但对疾病诊断敏感性低于LPC。

本研究采用串联质谱法检测干血斑标本中的VLCAC(C20、C22、C24、C26)和LPC(C20:0-LPC、C22:0-LPC、C24:0-LPC、C26:0-LPC),发现除C24:0-LPC/C20:0-LPC外,其他指标在X-ALD组、ZS组与健康对照组间差异均存在统计学意义。组间两两比较结果显示,X-ALD组和ZS组除了各有4项指标与健康对照组差异无统计学意义外,其他指标均高于健康对照组,而X-ALD组与ZS组间差异无统计学意义,提示VLCAC和LPC可作为过氧化物酶体病的筛查指标,但无法进一步区分X-ALD和ZS。进一步行偏最小二乘法分析结果显示,C26的VIP评分最高,表明C26比国际应用最多的C26:0-LPC对疾病的影响度更大。

本研究使用非衍生化方法处理样本,前处理操作简便,样本处理时间仅需45 min,检测时间为1.5 min,一次检测即可得到多项指标的结果。使用干血斑标本也具有便捷运输、方便保存和成分稳定的优势,适合开展高通量的检测。研究结果提示,串联质谱法检测VLCAC和LPC可作为过氧

化物酶体病筛查的方法,其中C26或可作为诊断的敏感指标,但要明确诊断须行基因检测。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] POWERS J M. Normal and defective neuronal membranes: structure and function: neuronal lesions in peroxisomal disorders[J]. *J Mol Neurosci*, 2001, 16(2-3): 285-287.
- [2] KEMPER A R, BROSCO J, COMEAU A M, et al. Newborn screening for X-linked adrenoleukodystrophy: evidence summary and advisory committee recommendation[J]. *Genet Med*, 2017, 19(1): 121-126.
- [3] PIERPONT E I, NASCENE D R, SHANLEY R, et al. Neurocognitive benchmarks following transplant for emerging cerebral adrenoleukodystrophy[J/OL]. *Neurology*, 2020, 95(5): e591-e600.
- [4] TIAN G L, XU F, JIANG K, et al. Evaluation of a panel of very long-chain lysophosphatidylcholines and acylcarnitines for screening of X-linked adrenoleukodystrophy in China[J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 503: 157-162.
- [5] TURK B R, THEDA C, FATEMI A, et al. X-linked adrenoleukodystrophy: pathology, pathophysiology, diagnostic testing, newborn screening and therapies[J]. *Int J Dev Neurosci*, 2020, 80(1): 52-72.
- [6] ENGELEN M, KEMP S, DE VISSER M, et al. X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD): clinical presentation and guidelines for diagnosis, follow-up and management[J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2012, 7(1): 51-65.
- [7] BERGER J, FORSS-PETTER S, EICHLER F S. Pathophysiology of X-linked adrenoleukodystrophy[J]. *Biochimie*, 2014, 98: 135-142.
- [8] BEZMAN L, MOSER A B, RAYMOND G V, et al. Adrenoleukodystrophy: incidence, new mutation rate, and results of extended family screening[J]. *Ann Neurol*, 2001, 49(4): 512-517.
- [9] WIENS K, BERRY S A, CHOI H, et al. A report on state-wide implementation of newborn screening for X-linked adrenoleukodystrophy[J]. *Am J Med Genet*, 2019, 179(7): 1205-1213.
- [10] 叶 畅, 程国强, 王来栓, 等. PEX1 基因变异致新生儿 Zellweger 综合征二例并文献复习[J]. *中华新生儿科杂志*, 2019, 34(3): 197-202.
YE Chang, CHENG Guoqiang, WANG Laishuan, et al. PEX1 gene related Zellweger syndrome: a report of 2 cases and literature review[J]. *Chinese Journal of Neonatology*, 2019, 34(3): 197-202. (in Chinese)
- [11] KIM J H, KIM H J. Childhood X-linked adrenoleukodystrophy: clinical-pathologic overview and MR imaging manifestations at initial evaluation and follow-up[J]. *RadioGraphics*, 2005, 25(3): 619-631.
- [12] VREKEN P, VAN LINT A E M, BOOTSMAN A H, et al. Rapid stable isotope dilution analysis of very-long-chain fatty acids, pristanic acid and phytanic acid using gas chromatography-electron impact mass spectrometry[J]. *J Chromatography B-BioMed Sci Appl*, 1998, 713(2): 281-287.
- [13] 蔡燕娜, 江敏妍, 彭敏芝, 等. X-连锁肾上腺脑白质营养不良患者极长链脂肪酸水平及 ABCD1 基因突变相关性分析[J]. *国际遗传学杂志*, 2018, 41(2): 102-107.
CAI Yanna, JIANG Minyan, PENG Minzhi, et al. Analysis of the relationship between the level of very long chain fatty acid and ABCD1 gene mutation in X-linked adrenoleukodystrophy patients[J]. *International Journal of Genetics*, 2018, 41(2): 102-107. (in Chinese)
- [14] 韩 莹, 倪君君, 相 婷, 等. 液相色谱-串联质谱方法检测血清中极长链脂肪酸含量[J]. *中华检验医学杂志*, 2011, 34(1): 30-35.
HAN Liu, NI Junjun, XIANG Ting, et al. Determination of the concentration of very long chain fatty acids in serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, 2011, 34(1): 30-35. (in Chinese)
- [15] MOSER A B, KREITER N, BEZMAN L, et al. Plasma very long chain fatty acids in 3000 peroxisome disease patients and 29000 controls[J]. *Ann Neurol*, 1999, 45(1): 100-110.
- [16] THEDA C, WOODY R C, NAIDU S, et al. Increased very long chain fatty acids in patients on a ketogenic diet: a cause of diagnostic confusion[J]. *J Pediatr*, 1993, 122(5): 724-726.
- [17] HUBBARD W C, MOSER A B, TORTORELLI S, et al. Combined liquid chromatography-tandem mass spectrometry as an analytical method for high throughput screening for X-linked adrenoleukodystrophy and other peroxisomal disorders: preliminary findings[J]. *Mol Genet Metab*, 2006, 89(1-2): 185-187.
- [18] TURGEON C T, MOSER A B, MØRKRID L, et al. Streamlined determination of lysophosphatidylcholines in dried blood spots for newborn screening of X-linked adrenoleukodystrophy[J]. *Mol Genet Metab*, 2015, 114(1): 46-50.
- [19] HUFFNAGEL I C, VAN DE BEEK M C, SHOWERS A L, et al. Comparison of C26:0-carnitine and C26:0-lysophosphatidylcholine as diagnostic markers in dried blood spots from newborns and patients with adrenoleukodystrophy[J]. *Mol Genet Metab*, 2017, 122(4): 209-215.

[本文编辑 沈 敏 余 方]