# 超高效液相色谱-串联质谱检测外周血单个核细胞霉酚酸及代谢产物浓度方法建立及在肾移植受者感染中的临床应用评价

陈小梅

四川大学华西医院输血科

摘要：

背景：器官移植受者免疫抑制剂霉酚酸（Mycophenolic acid, MPA）的临床治疗药物浓度监测指标和方案目前尚未达成共识。本研究拟基于超高效液相色谱串联质谱（UPLC-MS/MS）技术建立外周血单个核细胞（PBMC）中MPA及其代谢产物霉酚酸羧基丁醇醚（mycophenolic acid carboxybutoxyether, MPAG）、霉酚酸酰基葡糖苷（acyl glucuronide of mycophenolic acid, AcMPAG）浓度的定量测定方法，评估PBMC中MPA、MPAG和AcMPAG浓度检测在肾移植受者术后感染中的临床应用价值。

方法：1.UPLC-MS/MS法检测PBMC中MPA、MPAG和AcMPAG浓度方法建立和评价：采用Ficoll-Paque溶液分离PBMC，测定细胞数量；乙腈处理蛋白质沉淀提取目标化合物；使用 Waters ACQUITY UPLC BEH C18色谱柱1.7μm（2.1mm\*50mm）和ACQUITY-Xevo TQ-S UPLC-MS/MS系统进行检测。流动相A为2mmol/L NH4Ac·H2O+0.1%甲酸；流动相B为2mmol/L NH4Ac·CH3OH+0.1%甲酸，流速0.3ml/min，经梯度洗脱后，样品经电喷雾正离子源（ESI）正离子化后，通过三重四级杆串联质谱仪，在多反应监测（MRM）模式下进行定量分析。根据相关指南要求，通过一系列验证实验对所建立的方法进行性能评价。

2. 肾移植受者PBMC-MPA及代谢物浓度测定：纳入在2022年8月至2022年11月于四川大学华西医院就诊的基本情况稳定的肾移植受者7例和出现感染的肾移植受者8例。采集肾移植受者外周血样本，使用上述方法检测PBMC中MPA、MPAG、AcMPAG浓度并评价其在肾移植受者感染预测和监测中的临床应用价值。

结果：经过方法学验证，本研究建立的UPLC-MS/MS测定PBMC中MPA、MPAG和AcMPAG浓度的方法在0.0625-50ng/ml、0.5-50ng/ml和0.1-20ng/ml定量范围内线性良好，选择性、特异性、基质效应、携带污染、重复性、精密度、准确度均符合要求。PBMC中AcMPAG稳定性欠佳，-80℃储存24h、冻融3个循环后出现明显降解。肾移植受者PBMCs中MPA及MPAG浓度存在较大的变异，且与血浆MPA浓度相关性差(rs=0.206,p=0.117)。感染组肾移植受者服药后2h和4h时PBMCs中MPA的浓度显著高于稳定组肾移植受者（p<0.05）。肾移植受者PBMCAcMPAG浓度极低，几乎无法检出。

结论：本研究建立并验证了基于超高效液相色谱-串联质谱法（UPLC-MS/MS）同时检测PBMC中MPA、MPAG和AcMPAG浓度的方法，该方法操作简便、稳定性好，为临床PBMC-MPA、MPAG和AcMPAG浓度检测提供了可靠的分析方法。肾移植受者PBMC中MPA、MPAG浓度存在较大变异，且与肾移植术后感染的发生密切相关。监测PBMCs中MPA、MPAG可能成为肾移植受者霉酚酸治疗药物浓度监测的有用指标。