

·临床研究·

# 尿醛固酮浓度在原发性醛固酮增多症中的筛查价值及质谱法和化学发光法检测的比较

樊 静, 张小云, 冯绮玲, 唐菊英, 张少玲, 黎 锋, 郭 颖, 严 励

(中山大学孙逸仙纪念医院内分泌科, 广东 广州 510120)

**摘 要:**【目的】了解尿醛固酮浓度(UAC)对于原发性醛固酮增多症(原醛)的诊断价值;对比研究液相色谱串联质谱法(LC-MS/MS)和化学发光法(CLIA)检测UAC结果的一致性并建立各自的诊断切点。【方法】纳入2018年10月至2019年8月就诊的高血压查因患者133例,其中原醛患者55例(醛固酮瘤30例,特发性醛固酮增生25例),原发性高血压(EH)患者78例。采用CLIA法及LC-MS/MS法平行检测UAC并比较两种方法的相关性、一致性。构建UAC、尿醛固酮/肾素活性比值(UARR)诊断原醛的受试者工作特征(ROC)曲线。以尿钠 $\geq 130$  mmol/24 h为界建立相对高尿钠组( $n=51$ ),比较不同钠盐摄入情况对于诊断价值的影响。【结果】①CLIA法与LC-MS/MS法检测的UAC结果呈正相关( $r=0.69, P<0.01$ ), Bland-Altman法分析提示两种方法所测UAC一致性欠佳。②UAC<sub>CLIA</sub>及UAC<sub>LC-MS/MS</sub>诊断原醛的价值均不及ARR。而UAC<sub>CLIA</sub>及UAC<sub>LC-MS/MS</sub>的诊断价值无统计学差异。UAC<sub>CLIA</sub>的ROC曲线下面积(AUC)为0.739,切点为5.1  $\mu\text{g}/24\text{ h}$ 。UAC<sub>LC-MS/MS</sub>的AUC为0.659,切点为11.6  $\mu\text{g}/24\text{ h}$ 。ARR的AUC为0.943,最佳切点为23.2  $\text{ng}\cdot\text{dL}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ 。③UARR对于原醛的诊断价值较高,与ARR相当。UARR<sub>CLIA</sub>的AUC为0.924,诊断切点为1.75  $\mu\text{g}\cdot 24\text{ h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ 。UARR<sub>LC-MS/MS</sub>的AUC为0.906,诊断切点为4.63  $\mu\text{g}\cdot 24\text{ h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ 。④相对高尿钠亚组UAC<sub>LC-MS/MS</sub>的AUC为0.708,切点为14.9  $\mu\text{g}/24\text{ h}$ 。诊断价值较分组前并不能进一步提高。【结论】单一指标UAC诊断原醛的价值较低,但UARR诊断原醛的诊断价值显著提高,与ARR相当。UAC<sub>LC-MS/MS</sub>、UAC<sub>CLIA</sub>诊断切点分别为11.6  $\mu\text{g}/24\text{ h}$ 、5.1  $\mu\text{g}/24\text{ h}$ , UARR<sub>LC-MS/MS</sub>、UARR<sub>CLIA</sub>的诊断切点分别为4.63  $\mu\text{g}\cdot 24\text{ h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ 、1.75  $\mu\text{g}\cdot 24\text{ h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ 。另LC-MS/MS法与CLIA法检测UAC一致性欠佳,提示临床上使用不同检测方法需要采用不同参考值范围。

**关键词:**尿醛固酮浓度;原发性醛固酮增多症;化学发光法;液相色谱串联质谱法

中图分类号:R586.9

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2020)04-0563-09

## Urinary Aldosterone Concentration: Its Value in Primary Aldosteronism Screening and Comparison of a LC-MS/MS Assay and a CLIA Assay for Its Determination

FAN Jing, ZHANG Xiao-yun, FENG Qi-ling, TANG Ju-ying, ZHANG Shao-ling, LI Feng, GUO Ying, YAN Li

(Department of Endocrinology and Metabolism, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Correspondence to: ZHANG Shao-ling; E-mail: zhshaol@mail.sysu.edu.cn

**Abstract:**【Objective】To explore the clinical value of urinary aldosterone concentration (UAC) in primary aldosteronism (PA) screening and to evaluate the consistency of the two methods, liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and chemiluminescence immunosorbent assay (CLIA), for determining UAC.【Methods】Among the 133

收稿日期:2020-02-03

基金项目:国家自然科学基金(81970683,81600606);广东省自然科学基金(2018A030313596, 2020A151501658)

作者简介:樊静,硕士研究生,E-mail:fanj7@mail2.sysu.edu.cn;张小云,共同第一作者;张少玲,通信作者,教授,主任医师,博士生导师,E-mail:zhshaol@mail.sysu.edu.cn

patients with suspected PA enrolled from October 2018 to August 2019, 55 were diagnosed with PA (30 with aldosterone-producing adenoma and 25 with bilateral idiopathic hyperplasia) and 78 with essential hypertension (EH). Parallel determination of UAC was done with LC-MS/MS and CLIA assays on all subjects, then we compared the two methods and evaluated their correlation and consistency. Receiver operating characteristic (ROC) analysis was applied to assess the diagnostic accuracies, area under the curve (AUC) and cutoff values of UAC, plasma aldosterone concentration (PAC), random aldosterone to renin ratio (ARR) and urine aldosterone to renin ratio (UARR). Furthermore, ROC analysis of high urine sodium subgroup (urine sodium  $\geq 130$  mmol/24h) was performed to evaluate the impact of sodium intake on PA screening.

**[Results]** ①  $UAC_{CLIA}$  and  $UAC_{LC-MS/MS}$  were positively correlated ( $r=0.69$ ,  $P < 0.001$ ). Bland-Altman analysis showed poor consistency between CLIA and LC-MS/MS. ② The diagnostic efficiency of UAC and PAC in PA screening was equivalent ( $P > 0.05$ ), while ARR was more efficient than UAC and PAC ( $P < 0.0001$ ). AUC of  $UAC_{CLIA}$ ,  $UAC_{LC-MS/MS}$ , PAC and ARR was 0.739, 0.659, 0.723, 0.943, respectively. The cutoff values for them were 5.1  $\mu\text{g}/24\text{ h}$ , 11.6  $\mu\text{g}/24\text{ h}$ , 27.6 ng/dL and 23.2  $\text{ng}\cdot\text{dL}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ , respectively. ③ Both  $UARR_{CLIA}$  and  $UARR_{LC-MS/MS}$  performed as well as ARR in PA screening. AUC of  $UARR_{CLIA}$  was 0.924 at the cutoff value of 1.75  $\mu\text{g}\cdot 24\text{h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ . While AUC of  $UARR_{LC-MS/MS}$  was 0.906 at the cutoff value of 4.63  $\mu\text{g}\cdot 24\text{h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ . AUC of  $UAC_{LC-MS/MS}$  in high urine sodium subgroup was 0.708 at the cutoff of 14.9  $\mu\text{g}/24\text{ h}$ . ④ The diagnostic efficiency of UAC made no difference after sodium intake increased to 130 mmol/24 h or higher.

**[Conclusion]** UAC alone is of little clinical value compared to ARR in PA screening and can serve as a supplementary indicator currently. But UARR, a combination of UAC and plasma renin activity (PRA), is as valuable as ARR for screening PA. The optimal cutoff values of  $UAC_{LC-MS/MS}$  and  $UAC_{CLIA}$  are 11.6  $\mu\text{g}/24\text{ h}$ , 5.1  $\mu\text{g}/24\text{ h}$ , respectively. The optimal cutoff values of  $UARR_{LC-MS/MS}$  and  $UARR_{CLIA}$  are 4.63  $\mu\text{g}\cdot 24\text{h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$  and 1.75  $\mu\text{g}\cdot 24\text{h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ , respectively. Besides, significant bias of UAC observed in CLIA and LC-MS/MS results indicates that appropriate definition of cutoff value and reference range for each method are mandatory.

**Key words:** urinary aldosterone concentration (UAC); primary aldosteronism (PA); liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS); chemiluminescence immunosorbent assay (CLIA)

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2020, 41(4): 563-571]

原发性醛固酮增多症(原醛)是最常见的内分泌性高血压病因,它是以上腺皮质病变引起醛固酮分泌增多,导致储钠排钾、体液容量扩增、肾素-血管紧张素系统受抑制,表现为高血压、低血钾、高醛固酮、低肾素活性等的临床综合征。近年来研究表明,原醛在高血压患者中的患病率可达到5%,甚至10%左右<sup>[1-3]</sup>。多个研究表明,与年龄、性别、血压升高水平匹配的原发性高血压患者相比,原醛患者的心脑肾等靶器官损害风险更高<sup>[4-5]</sup>。2016年美国内分泌协会相关指南指出,原醛已经成为一个主要的公共健康问题<sup>[3]</sup>。因此,原醛的早期筛查和诊治尤为重要。目前最常用于原醛筛查的指标为血浆醛固酮与肾素活性比值(aldosterone to renin ratio, ARR)。尽管临床上ARR作为原醛的筛查指标已经应用广泛,但由于影响因素众多,ARR仍存在一定的局限性。如血浆醛固酮浓度(plasma aldosterone concentration, PAC)的测定受到昼夜节律及体位的影响<sup>[6]</sup>,对检测技术要求高,不同实验室ARR的切点值变异较大。而24 h尿醛固酮浓度

(urinary aldosterone concentration, UAC)理论上可以反映24 h内机体产生的醛固酮总量,受体位及昼夜节律的影响较小,较PAC更能反映醛固酮的整体分泌情况<sup>[7]</sup>,因此UAC对于原醛的初筛价值是否优于常用的ARR指标呢?有文献指出,UAC对于原醛的诊断价值较好<sup>[8-11]</sup>。且UAC对于原醛的亚型预测,即鉴别单双侧有一定价值<sup>[12]</sup>。在2016年美国内分泌协会原醛指南中,推荐将口服盐负荷试验(oral sodium loading test, OSLT)作为原醛确诊实验之一,以盐负荷下(尿钠 $\geq 200$  mmol/24 h)的UAC  $> 12\ \mu\text{g}/24\text{ h}$ 为确诊标准<sup>[1]</sup>。但目前尚缺乏较为公认的中国人24 h UAC的诊断界值及切点,因此建立本地区不同检测方法的UAC诊断切点具有临床指导意义。目前临床实验室常用的UAC检测方法有放射免疫法(radioimmunoassay, RIA)、化学发光免疫法(chemiluminescence immunosorbent assay, CLIA)及液相色谱串联质谱法(Liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)。RIA法由于其放射性污染已逐渐被淘汰。CLIA法目前

应用普遍,提高了精密度,增宽了测量分析范围。但由于在免疫法中,抗体和其他类固醇激素或代谢物易发生交叉反应,因此容易出现假阳性,干扰检测结果。而LC-MS/MS法在测定的灵敏度、重复性及准确度方面有显著的优势,是公认的金标准<sup>[13]</sup>。但目前多数方法采用液液萃取的处理方式,色谱分析时间较长,并且通常通过增加样本量来克服灵敏度的缺陷,对实验室条件及人员要求高,成本高,尚未在临床广泛开展<sup>[14]</sup>。目前,我国常使用国产放射免疫法及化学发光分析试剂盒测定UAC,并仅有少数实验室建立了UAC诊断原醛的切点<sup>[9-11,15]</sup>,随着质谱技术的推广,亟需了解免疫法与质谱法结果是否存在差异。本研究旨在探讨UAC对于原醛的诊断价值,并比较LC-MS/MS法和CLIA方法,比较它们的检测性能,找出它们的最佳切点,以提高原醛症的诊断水平。

## 1 材料与方 法

### 1.1 研究对象

本研究纳入2018年10月至2019年8月于中山大学孙逸仙纪念医院内分泌科病房住院的高血压查因患者133例。

纳入标准:参考2016年国内原醛诊治专家共识及2018年国内高血压防治指南<sup>[16-17]</sup>。①持续性血压 $>160/100$  mmHg( $1$  mmHg= $0.133$  kPa)、难治性高血压(联合使用3种降压药物,其中包括利尿剂,血压 $>140/90$  mmHg;联合使用4种及以上降压药物,血压 $<140/90$  mmHg)。②高血压合并自发性或利尿剂所致的低钾血症。③高血压合并肾上腺意外瘤。④早发性高血压家族史或早发( $<40$ 岁)脑血管意外家族史的高血压患者。⑤原醛症患者中存在高血压的一级亲属。⑥高血压合并阻塞性呼吸睡眠暂停。

排除标准:严重慢性肾功能不全患者, $eGFR < 30$  mL $\cdot$ min $^{-1}$  $\cdot$ ( $1.73$  m $^2$ ) $^{-1}$ ;肝硬化失代偿期;其他原因的内分泌性高血压(库欣综合征、嗜铬细胞瘤、甲状腺功能亢进);肾动脉狭窄;正在服用糖皮质激素及口服避孕药等。共57例。

本研究符合伦理要求,已获得医院伦理委员会批准。所有研究对象均知情同意并自愿参加本研究。

### 1.2 研究方法

疑诊原醛患者:所有患者均完成病史采集、基线资料收集(年龄、血压、体质量指数等)、常规生化指标检测(血电解质、肝肾功能、血电解质、PAC、血浆肾素活性)等;计算ARR比值,其中 $ARR > 25$  ng $\cdot$ dL $^{-1}$ / $(\mu$ g $\cdot$ L $^{-1}$  $\cdot$ h $^{-1})$ 者为筛查实验阳性,进一步行卡托普利实验(captopril challenge test, CCT)和(或)静脉盐水负荷实验(saline infusion test, SIT)。所有患者均行皮质醇节律、隔夜地塞米松抑制试验及血儿茶酚胺代谢产物检测以排除皮质醇增多症及嗜铬细胞瘤。确诊原醛者经知情同意后行卧立位实验和(或)肾上腺静脉采血(adrenal venous sampling, AVS)以分型。

采样前准备:所有疑诊原醛患者在试验前停用盐皮质激素受体拮抗剂至少6周;停用利尿剂至少4周,停用 $\beta$ 受体阻滞剂、血管紧张素转换酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitors, ACEI)、血管紧张素II受体拮抗剂(angiotensin Receptor Blocker, ARB)至少1周;糖皮质激素、性激素、甘草至少停用1周。不能耐受停药的患者换成非吡啶类钙离子通道阻滞剂(calcium channel blocker, CCB)和/或 $\alpha$ 受体阻滞剂控制血压。合并低血钾的患者通过积极补钾、将血钾调整至 $3.50$  mmol/L以上之后检测。所有患者均为普通饮食。

标本采集过程:在试验前1d要求患者准确留取24h尿,留取过程中尿液于 $4$   $^{\circ}$ C条件下保存。留取标本后充分混匀尿液,准确测量尿量,留取15 mL标本检测尿醛固酮及尿钾、尿钠。为保证实验结果准确性,每位受试者分别留取了2~3次不同日24h尿液,重复进行测定,最终结果取平均值。试验当天要求患者保持坐位15 min后测量血压,随后保持立位2h,期间保持安静。立位2h后采血测定PAC、PRA、血钾和血钠。采血在上午10时前完成。

确诊原醛需同时满足以下标准:①筛查实验阳性。 $ARR > 25$  ng $\cdot$ dL $^{-1}$ / $(\mu$ g $\cdot$ L $^{-1}$  $\cdot$ h $^{-1})$ 为筛查实验阳性。其中 $ARR = PAC/PRA$ , PAC单位采用ng/dL, PRA单位采用 $\mu$ g $\cdot$ L $^{-1}$  $\cdot$ h $^{-1}$ 。②至少一个确诊实验阳性。CCT诊断PA的标准:服药后保持坐位2h后,采血测定PAC抑制率小于30%,或ARR大于 $8.1$  ng $\cdot$ dL $^{-1}$ / $(\mu$ g $\cdot$ L $^{-1}$  $\cdot$ h $^{-1})$ 。SIT诊断PA的标准为SIT后 $PAC > 10$  ng/dL<sup>[1,17-18]</sup>。③影像学提示肾上腺CT或MRI提示单侧或双侧结节,或腺体增粗。④接受手术治疗者术后病理提示肾上腺单侧或双侧肾上腺

皮质腺瘤。未接受手术者服用盐皮质激素受体拮抗剂后治疗有效。

本研究中排除严重肝肾功能不全、其他原因的内分泌性高血压(库欣综合征、嗜铬细胞瘤、Liddle综合征等)、肾性高血压如肾动脉狭窄等患者共57例。最后入组的133例中,确诊为原发性高血压(essential hypertension, EH)患者78例,确诊为原醛患者55例(其中醛固酮瘤30例,特发性醛固酮增多症25例)。

### 1.3 检测方法

LC-MS/MS法检测UAC送广州金域医学检验中心有限公司检测;其余检测均在中山大学孙逸仙纪念医院内分泌实验室完成。LC-MS/MS法采用AB Triple Quad 5500 Mass Spectrometry三重四极杆质谱仪。在0.18~36  $\mu\text{g/L}$ 范围内,尿液醛固酮的峰面积与质量浓度的线性关系良好( $R^2 \geq 0.998$ )。方法定量限为0.18  $\mu\text{g/L}$ 。对低、高两个浓度水平的方法的加标回收率在89.0%~111.5%之间。批内变异系数(CV) $\leq 3.2\%$ ,批间变异系数(CV) $\leq 4.4\%$ 。CLIA法UAC检测的采用深圳市新产业公司(Snibe, MAGLUMI800)试剂盒,试剂批号0591900201。回收率在90%~110%范围内。批内变异系数(CV) $\leq 5\%$ ,批间变异系数(CV) $\leq 10\%$ 。本试剂的空白限为小于5.0  $\text{pg/mL}$ 。检测范围为5~1 000  $\text{pg/mL}$ 。在20~1 000  $\text{pg/mL}$ 浓度范围内,线性相关性系数( $r$ )绝对值大于0.9900。厂家参考值范围1.0~8.0  $\mu\text{g}/24\text{h}$ 。PAC、PRA的检测均采用CLIA法(深圳市新产业公司,Snibe, MAGLUMI800)。血、尿电解质测定采用离子选择电极法进行检测。

### 1.4 数据分析

分析采用Medcalc 19.1.3软件。使用Shapiro-Wilk  $W$ 正态性检验方法。正态分布的计量资料采用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )描述,非正态分布者则采用中位数(四分位数间距) $M(P_{25} \sim P_{75})$ 描述。两组独立定量资料比较时,当正态分布样本满足方差齐性时采用独立样本 $t$ 检验,正态分布样本不满足方差齐性时则采用校正的 $t$ 检验(Welch检验),非正态分布的定量资料采用Mann-Whitney检验。两组独立的二分类资料比较采用 $\chi^2$ 检验。两种测量方法的相关性分析采用Spearman等级相关分析,一致性评价采用Bland-Altman图。通过构建受试者工作特征(receiver operator characteristic, ROC)曲线对相关诊断试验指标的敏感性、特异性及诊断价值

进行分析,应用Youden's指数确定诊断指标的最佳切点值。所有的统计检验均为双侧概率检验,以 $P < 0.05$ 时认为差异有统计学意义。

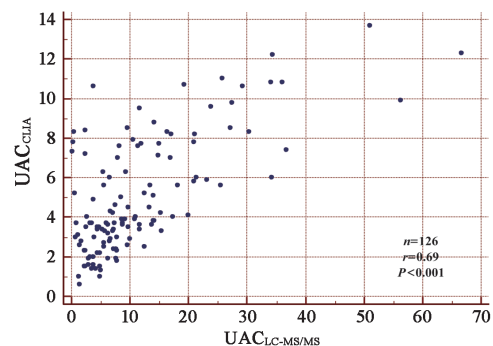
## 2 结果

### 2.1 原醛组与EH组基线数据比较

原醛组和EH组的一般资料及生化指标见表1。两组间性别、收缩压、舒张压、体质量指数、随机血糖、谷草转氨酶、血清肌酐、尿钠差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与EH组相比,原醛组血钾及基础立位PRA低,而年龄、血钠、尿钾、基础立位PAC、基础立位ARR、 $\text{UAC}_{\text{CLIA}}$ 及 $\text{UAC}_{\text{LC-MS/MS}}$ 均高于EH组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 2.2 两种方法测UAC结果的相关性分析和一致性

对CLIA法和LC-MS/MS法测得的UAC进行Spearman相关性分析,结果显示,两者呈正相关( $r = 0.69, P < 0.001$ ;图1)。Bland-Altman法分析(图2)提示有4.8%(6/126)的点位于95%一致性界限外;在一致性界限范围内(-25.07, 12.11),CLIA法与LC-MS/MS法测得的UAC值相比,差值的平均值为-6.48  $\mu\text{g}/24\text{h}$ ,差值的绝对值最大为23.3  $\mu\text{g}/24\text{h}$ 。由于两种方法测量结果最多相差23.3  $\mu\text{g}/24\text{h}$ ,两种方法测量结果平均值为8.14  $\mu\text{g}/24\text{h}$ ,界限内的最大差值与均值之比为286.24%(23.3/8.14),在实际应用中误差范围过大。因此两种方法测量的结果一致性欠佳,在临床上不可互相替代使用。



Scatter plot showed a good relationship between  $\text{UAC}_{\text{CLIA}}$  and  $\text{UAC}_{\text{LC-MS/MS}}$  with a Spearman correlation coefficient of 0.69 ( $P < 0.001$ ). UAC: urinary aldosterone concentration; CLIA: chemiluminescence immunosorbent assay; LC-MS/MS: liquid chromatography tandem mass spectrometry

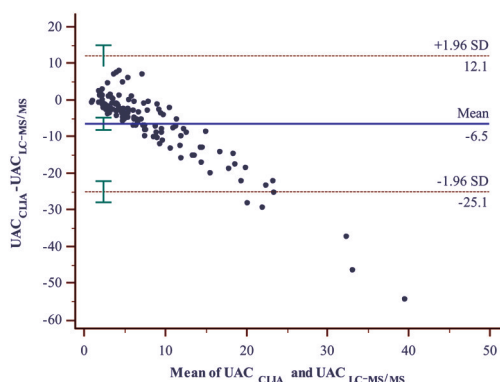
图1 CLIA法与LC-MS/MS法检测尿醛固酮浓度相关性散点图

Fig. 1 Scatter plot between  $\text{UAC}_{\text{CLIA}}$  and  $\text{UAC}_{\text{LC-MS/MS}}$

表1 原醛组与EH组患者的基本临床特征  
Table 1 General characteristics of subjects

Groups	PA	EH	$t/z/\chi^2$	$P$
$N$ (Male/Female)	55(26/29)	78(45/33)	1.397	0.237
Age	48.56±12.70	42.98±12.35	-2.534	0.012 <sup>1)</sup>
Systolic blood pressure/mmHg	149.72±19.03	142.35±21.23	-1.423	0.125
Diastolic blood pressure/mmHg	89.1±11.50	87.91±12.46	-0.944	0.371
Body mass index/(kg/m <sup>2</sup> )	23.6±3.7	23.8±3.0	1.012	0.378
Glucose/(mmol/L)	4.80(4.43~5.28)	4.70(4.40~5.30)	1.131	0.258
ALT/(U/L)	18(14~29)	22(15~36)	1.304	0.192
Cr/(μmol/L)	75.0(63.3~87.0)	78.0(67.0~90.0)	-0.617	0.537
Serum Na <sup>+</sup> /(mmol/L)	141.33±2.34	140.24±2.22	-2.703	0.008 <sup>1)</sup>
Serum K <sup>+</sup> /(mmol/L)	3.57±0.47	4.02±0.37	6.182	<0.0001 <sup>1)</sup>
Urinary K <sup>+</sup> /(mmol/24 h)	43.22(28.98~ 68.67)	29.35(23.40~39.12)	4.323	<0.0001 <sup>1)</sup>
Urinary Na <sup>+</sup> /(mmol/24 h)	122.00(87.53~160.23)	116.35(88.35~166.75)	0.100	0.920
Upright PAC/(ng/dL)	29.60(19.38~40.23)	19.00(12.89~28.50)	4.368	0.002 <sup>1)</sup>
Upright PRA/(μg·L <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )	0.23(0.06~ 1.10)	4.71(2.08~ 13.79)	-8.131	<0.0001 <sup>1)</sup>
Upright ARR/ng·dL <sup>-1</sup> /(μg·L <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )	105.0(21.43~ 737.50)	3.94(2.23~ 8.42)	8.692	<0.0001 <sup>1)</sup>
UAC <sub>CLIA</sub> /(μg/24 h)	5.90(3.63~ 8.48)	3.40(2.30~ 4.58)	4.583	<0.0001 <sup>1)</sup>
UAC <sub>LC-MS/MS</sub> /(μg/24 h)	11.70(4.98~ 21.05)	6.70(3.80~10.60)	3.121	0.002 <sup>1)</sup>

Clinical characteristics of subjects. Data were expressed as mean±SD, or median ( $P_{25}$ ~ $P_{75}$ ).  $P$ : Compare between PA group and EH group; PA: Primary aldosteronism; EH: Essential hypertension; PAC: Plasma aldosterone concentration; PRA: Plasma renin activity; ARR: Aldosterone to renin ratio; UAC: Urinary aldosterone concentration; CLIA: Chemiluminescence immunosorbent assay; LC-MS/MS: Liquid chromatography tandem mass spectrometry. <sup>1)</sup> $P$ <0.05



Bland-Altman analysis showed poor consistency between CLIA and LC-MS/MS methods, exhibited a bias (average percentage difference) of 286.24% higher for LC-MS/MS, with 95% limits of agreement from -25.07 to 12.11 μg/24 h (two dotted line). No outliers were excluded ( $n=126$ ). UAC: urinary aldosterone concentration; CLIA: chemiluminescence immunosorbent assay; LC-MS/MS: liquid chromatography tandem mass spectrometry

图2 CLIA法与LC-MS/MS法测定的UAC Bland-Altman分析

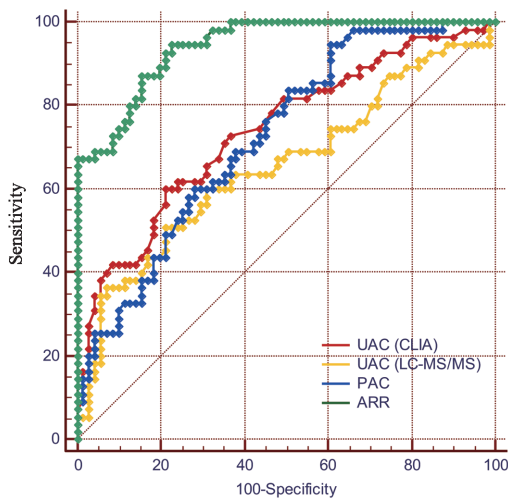
Fig.2 Bland-Altman analysis of UAC<sub>CLIA</sub> versus UAC<sub>LC-MS/MS</sub>

### 2.3 两种检测方法检测的UAC及PAC、ARR对原醛的诊断价值比较

构建UAC<sub>CLIA</sub>、UAC<sub>LC-MS/MS</sub>、PAC、ARR诊断原醛的ROC曲线,如图3及表2所示。UAC<sub>CLIA</sub>的AUC为0.739(0.653, 0.813),  $P$  < 0.05,最佳切点为5.1 μg/24 h,敏感性60.0%,特异性78.9%。UAC<sub>LC-MS/MS</sub>法AUC为0.659(0.572, 0.739),  $P$  < 0.05,最佳切点为11.6 μg/24 h,敏感性50.9%,特异性80.8%。PAC所得AUC为0.723(0.639, 0.797),  $P$  < 0.05,最佳切点为27.6 ng/dL,敏感性60.0%,特异性73.0%。ARR所得AUC为0.943(0.890, 0.976),  $P$  < 0.05,切点选取23.2 ng·dL<sup>-1</sup>/(μg·L<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>),敏感性72.7%,特异性91.0%。通过两两比较,UAC<sub>CLIA</sub>、UAC<sub>LC-MS/MS</sub>及PAC两两之间AUC差异无统计学意义( $P$ 值均大于0.05),而3种方法与ARR之间的AUC差异均有统计学意义( $P$ 值均小于0.0001)。

### 2.4 两种检测方法检测的UARR与ARR对原醛的诊断性能比较

进一步通过构建UARR对于诊断原醛的ROC



UAC: urinary aldosterone concentration; CLIA: chemiluminescence immunosorbent assay; LC-MS/MS: liquid chromatography tandem mass spectrometry; PAC: plasma aldosterone concentration; ARR: aldosterone to renin ratio

图3  $UAC_{CLIA}$ 、 $UAC_{LC-MS/MS}$ 、PAC和ARR诊断原醛的ROC曲线

Fig.3 ROC curve of  $UAC_{CLIA}$ ,  $UAC_{LC-MS/MS}$ , PAC and ARR to diagnose PA

曲线,并与ARR比较。如图4 &表2所示,两种方法所测UARR对于原醛的诊断价值相当且较高( $P=0.1525$ )。其中 $UARR_{CLIA}$ 诊断价值不亚于随机ARR( $P=0.1252$ ), $UARR_{LC-MS/MS}$ 诊断价值略低于随机ARR( $P=0.0113$ )。 $UARR_{CLIA}$ 的AUC为0.924(0.864,0.964), $P < 0.001$ ,诊断切点为 $1.75 \mu\text{g}\cdot 24\text{h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot \text{L}^{-1}\cdot \text{h}^{-1})$ ,敏感性92.7%,特异性78.9%。 $UARR_{LC-MS/MS}$ 的AUC为0.906(0.843,0.949), $P < 0.0001$ ,诊断切点为 $4.63 \mu\text{g}\cdot 24\text{h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot \text{L}^{-1}\cdot \text{h}^{-1})$ ,敏感性85.5%,特异性82.1%。

### 2.5 钠盐摄入差异对于诊断价值的影响

本研究纳入的133例患者中,尿钠的平均值为 $(133.4\pm 6.0)$  mmol/24 h,95%CI为(121.5,145.2) mmol/24 h。取130 mmol/24 h为界,将所有病人分为相对高尿钠组( $n=51$ )与相对低尿钠两组( $n=82$ )。对两亚组做ROC曲线分析,结果如图5所示,相对高尿钠组 $UAC_{LC-MS/MS}$ 所得AUC为0.708(0.564,0.827), $P < 0.05$ ,切点采用 $14.9 \mu\text{g}/24\text{h}$ ,此时敏感性和特异性分别为47.8%和92.9%。而相对高尿钠组与相对低尿钠组AUC差异无统计学意义( $P=0.4322$ )。且相对高尿钠组与分组前 $UAC_{LC-MS/MS}$ 的AUC差异无统计学意义( $P=0.322$ )。



UARR: urinary aldosterone to renin ratio; CLIA: chemiluminescence immunosorbent assay; LC-MS/MS: liquid chromatography tandem mass spectrometry; ARR: aldosterone to renin ratio.

图4  $UARR_{CLIA}$ 、 $UARR_{LC-MS/MS}$ 和ARR诊断原醛的ROC曲线

Fig.4 ROC curve of  $UARR_{CLIA}$ ,  $UARR_{LC-MS/MS}$ , ARR to diagnose PA

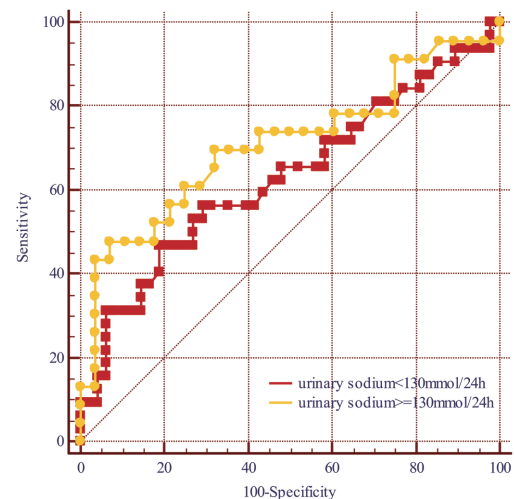


图5 相对高尿钠组及相对低尿钠组 $UAC_{LC-MS/MS}$ 对于原醛诊断的ROC曲线

Fig.5 ROC curve of  $UAC_{LC-MS/MS}$  to diagnose PA in sub-group divided by urinary sodium concentration

## 3 讨论

有文献<sup>[8-11]</sup>指出,UAC对于原醛的诊断价值较好,仅使用单一指标UAC筛查原醛时,AUC可以达到0.8~0.9;而联合PRA后的UAC,即UARR,对于

表2 UAC<sub>CLIA</sub>、UAC<sub>LC-MS/MS</sub>、UARR<sub>CLIA</sub>、UARR<sub>LC-MS/MS</sub>、PAC、ARR对于原醛诊断的切点比较  
Table 2 Comparison of cutoff of UAC<sub>CLIA</sub>、UAC<sub>LC-MS/MS</sub>、UARR<sub>CLIA</sub>、UARR<sub>LC-MS/MS</sub>、PAC、ARR to diagnose PA

	N	Cutoff	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Youden's index	AUC	95%CI	Z	P
UAC <sub>CLIA</sub> /( $\mu\text{g}/24\text{ h}$ )	126	5.1	60.0	78.9	0.389	0.739	(0.653, 0.813)	5.308	<0.001 <sup>1)</sup>
UAC <sub>LC-MS/MS</sub> /( $\mu\text{g}/24\text{ h}$ )	133	11.6	50.9	80.8	0.317	0.659	(0.572, 0.739)	3.179	<0.0015 <sup>1)</sup>
UARR <sub>CLIA</sub> / $\mu\text{g}\cdot 24\text{ h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$	126	1.75	92.7	78.9	0.716	0.924	(0.864, 0.964)	18.492	<0.001 <sup>1)</sup>
UARR <sub>LC-MS/MS</sub> / $\mu\text{g}\cdot 24\text{ h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$	133	4.63	85.5	82.1	0.678	0.904	(0.839, 0.949)	15.958	<0.0001 <sup>1)</sup>
PAC/(ng/dL)	133	27.6	60.0	73.1	0.331	0.723	(0.639, 0.797)	5.129	<0.0001 <sup>1)</sup>
ARR/ng $\cdot\text{dL}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$	133	23.2	72.7	91.0	0.637	0.943	(0.890, 0.976)	25.472	<0.0001 <sup>1)</sup>

UAC: urinary aldosterone concentration; CLIA: chemiluminescence immunosorbent assay; LC-MS/MS: liquid chromatography tandem mass spectrometry; UARR: urinary aldosterone to renin ratio; PAC: plasma aldosterone concentration; ARR: aldosterone to renin ratio; AUC: area under curve. <sup>1)</sup>P<0.05.

原醛的诊断价值与传统指标ARR相当。且UAC对于原醛的亚型预测,即鉴别单双侧有一定价值。研究表明单侧原醛(unilateral hyperaldosteronism, UHA)患者的UAC较双侧原醛(bilateral hyperaldosteronism, BHA)患者更高<sup>[9,12]</sup>。本研究以LC-MS/MS法为标准,比较CLIA法及LC-MS/MS两种检测方法所测UAC的相关性、一致性及其对于原醛的诊断价值。

研究结果表明两种方法测量的UAC对于原醛的诊断价值差异无统计学意义,且均不如传统诊断指标ARR。我们推测UAC对于原醛的诊断价值较低主要与未纳入被抑制的肾素这一指标有关。因为单一指标UAC只能反映人体的醛固酮水平是否增高,而不能鉴别为原发性还是继发性。为验证推测,进一步采用UAC与PRA比值,即UARR作为筛查标准,与ARR进行对比。结果表明两种方法测得的UARR诊断效率均较UAC明显上升,且CLIA法UARR诊断效率与随机ARR相当。进一步证实了在原醛诊断中肾素的重要性。本研究中测得的UARR<sub>LC-MS/MS</sub>、UARR<sub>CLIA</sub>诊断切点分别为 $1.75\mu\text{g}\cdot 24\text{ h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ ,  $4.63\mu\text{g}\cdot 24\text{ h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ 。国内亦有类似的研究报道,采用RIA法所检测的UARR作为筛查标准与ARR进行对比,结果表明两者在最佳切点时诊断效率相当,与本研究结果一致。国内报道的RIA法UARR切点波动在 $5.1\sim 7.95\mu\text{g}\cdot 24\text{ h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ <sup>[10,19-20]</sup>。国外报道的RIA法UARR切点为 $60\mu\text{g}\cdot 24\text{ h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ <sup>[21]</sup>。表明不同方法、不同中心均应建立自己的切点。

此外,UAC对于原醛的诊断价值较低可能与钠盐摄入量不足有关。由于钠摄入水平会显著影响肾素-血管紧张素-醛固酮系统(renin-angiotensin-aldosterone, RAAS)从而影响UAC水平,梅奥医学中心官网(<https://endocrinology.testcatalog.org/show/ALDU>)、2016原醛指南<sup>[1]</sup>及相关文献<sup>[22]</sup>均推荐以尿钠 $\geq 200\text{ mmol}/24\text{ h}$ 为诊断原醛的适宜条件。然而本试验中以相对高尿钠组患者建立的ROC曲线,其诊断价值较未分组前并没有明显差异。其中的原因可能是,全组的尿钠水平为 $121.5\sim 145.2\text{ mmol}/24\text{ h}$ ,在我国处于低中钠摄入的水平,强行分出高于 $130\text{ mmol}/24\text{ h}$ 一组的高钠组,仍然达不到国际推荐的 $200\text{ mmol}/24\text{ h}$ ,另外由于纳入样本例数较少,因此结果仅供临床参考。

从本次试验结果对比来看,LC-MS/MS法与CLIA法测定UAC虽有较好相关性,但一致性较差。以LC-MS/MS法为标准,CLIA法测定的UAC降低58.1%。提示不同检测方法测定的UAC存在较大差异。本研究中建立的LC-MS/MS法测UAC的切点,与国内外标准接近,一致性好,具有可比性。查阅文献得知,梅奥医学实验室建立的LC-MS/MS法测UAC诊断的切点为 $12\mu\text{g}/24\text{ h}$ (<https://endocrinology.testcatalog.org/show/ALDU>)。2018年北京协和医院建立的LC-MS/MS法测UAC在表观健康人群中分布为 $0.74\sim 17.09\mu\text{g}/24\text{ h}$ <sup>[23]</sup>。本中心曾在2012年建立RIA法UAC诊断PA的切点为 $11.6\mu\text{g}/24\text{ h}$ ,AUC为 $0.824(0.773,0.867)$ , $P<0.01$ <sup>[11]</sup>。本研究中LC-MS/MS法所测UAC的切点及参考值与国

内不同中心的研究结果接近,略低于梅奥,可能与入种及人群的摄盐量相关。然而关于CLIA法测UAC的切点及浓度范围,相关研究较少,本试验中所测CLIA法切点,显著低于作为“金标准”的质谱法(梅奥、协和)相应标准,也低于本中心既往采用RIA法得到的切点<sup>[11]</sup>。而Tuhan等研究得出CLIA法醛固酮检测值应高于LC-MS/MS法<sup>[24]</sup>,与本研究结果不一致。这些均提示不同的检测方法或检测试剂应建立各自的参考范围和诊断切点。

本研究存在一些不足之处:一方面,本研究未纳入健康志愿者作为阴性对照组。因本实验需采集随机立位2h后的血PAC、PRA及2~3次不同日24h尿液,对于无原醛筛查指征的人群,难以在门诊随访完成。而仅纳入原发性高血压人群作为阴性对照组可能在一定程度上影响了实验结果。另

一方面,本研究纳入的人群采用普通饮食而非高钠饮食,由于饮食习惯及入种的影响,尿钠较低,未达到指南推荐的高钠状态,因此不能明确进一步提高钠摄入量,使得尿钠 $\geq 200$  mmol/24 h情况下,能否提高UAC的诊断价值。

综上,当未严格控制尿钠高于200 mmol/24 h情况下,仅使用单一指标UAC筛查原醛时,其诊断价值较低,不如传统指标ARR。但是当UAC联合PRA,即UARR,对于原醛的诊断价值较高,与ARR相当。UAC<sub>LC-MS/MS</sub>、UAC<sub>CLIA</sub>诊断切点分别为11.6  $\mu\text{g}/24\text{ h}$ 、5.1  $\mu\text{g}/24\text{ h}$ ,而UARR<sub>LC-MS/MS</sub>、UARR<sub>CLIA</sub>的诊断切点分别为4.63  $\mu\text{g}\cdot 24\text{ h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ 、1.75  $\mu\text{g}\cdot 24\text{ h}^{-1}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ 。同时,本研究发现LC-MS/MS法与CLIA法检测UAC的一致性较差,提示临床上使用不同检测方法需要采用不同参考值范围及切点。

#### 参考文献

- [1] Funder JW, Carey RM, Mantero F, et al. The management of primary aldosteronism: case detection, diagnosis, and treatment: an endocrine society clinical practice guideline [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101(5): 1889-1916.
- [2] Vaidya A, Mulatero P, Baudrand R, et al. The expanding spectrum of primary aldosteronism: implications for diagnosis, pathogenesis, and treatment [J]. *Endocr Rev*, 2018, 39(6): 1057-1088.
- [3] Young WF Jr. Diagnosis and treatment of primary aldosteronism: practical clinical perspectives [J]. *J Intern Med*, 2019, 285(2): 126-148.
- [4] Monticone S, D'ascenzo F, Moretti C, et al. Cardiovascular events and target organ damage in primary aldosteronism compared with essential hypertension: a systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2018, 6(1): 41-50.
- [5] Hundemer GL, Curhan GC, Yozamp N, et al. Cardiometabolic outcomes and mortality in medically treated primary aldosteronism: a retrospective cohort study [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2018, 6(1): 51-59.
- [6] Tanabe A, Naruse M, Takagi S, et al. Variability in the renin/aldosterone profile under random and standardized sampling conditions in primary aldosteronism [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(6): 2489-2494.
- [7] Gardner SY, Atkins CE, Rausch WP, et al. Estimation of 24-h aldosterone secretion in the dog using the urine aldosterone: creatinine ratio [J]. *J Vet Cardiol*, 2007, 9(1): 1-7.
- [8] Ceral J, Malirova E, Ballon M, et al. The role of urinary aldosterone for the diagnosis of primary aldosteronism [J]. *Horm Metab Res*, 2014, 46(9): 663-667.
- [9] Wu CH, Yang YW, Hu YH, et al. Comparison of 24-h urinary aldosterone level and random urinary aldosterone-to-creatinine ratio in the diagnosis of primary aldosteronism [J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e67417.
- [10] 曾伟芳, 沈玉婧, 李华, 等. 尿醛固酮及尿醛固酮与血浆肾素活性比在原发性醛固酮增多症诊断中的价值 [J]. *中华高血压杂志*, 2014, 22(1): 63-68.
- [11] Zeng WF, Shen YJ, Li H, et al. Urine aldosterone and urine aldosterone-to-active-renin ratio in the diagnosis of primary aldosteronism [J]. *Chin J Hypertens*, 2014, 22(1): 63-68.
- [11] 鄞国书, 张少玲, 严励, 等. 尿醛固酮在原发性醛固酮增多症筛查中的价值及钠摄入对其筛查效率

- 的影响[J]. 中华高血压杂志, 2012, 20(5): 464-469.
- Yin GS, Zhang SL, Yan L, et al. The role of urinary aldosterone in primary aldosteronism screening and the effect of sodium intake on the screening efficiency [J]. *Chin J Hypertens*, 2012, 20(5): 464-469.
- [12] Kobayashi H, Haketa A, Ueno T, et al. Subtype prediction in primary aldosteronism: measurement of circadian variation of adrenocortical hormones and 24-h urinary aldosterone [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2016, 84(6): 814-821.
- [13] Wu AH, French D. Implementation of liquid chromatography/mass spectrometry into the clinical laboratory [J]. *Clin Chim Acta*, 2013, 420: 4-10. doi: 10.1016/j.cca.2012.10.026
- [14] Taylor PJ, Cooper DP, Gordon RD, et al. Measurement of aldosterone in human plasma by semiautomated HPLC-tandem mass spectrometry [J]. *Clin Chem*, 2009, 55(6): 1155-1162.
- [15] 施绍瑞, 吴斯玮, 张玫, 等. 24h尿醛固酮在原发性醛固酮增多症中的应用[J]. 四川大学学报(医学版), 2010, 41(2): 354-355;361.
- Shi SR, Wu SW, Zhang M, et al. The value of urinary aldosterone concentration in screening for primary aldosteronism [J]. *J Sichuan Univ (Med Sci)*, 2010, 41(2): 354-355; 361.
- [16] 中国高血压防治指南修订委员会等. 中国高血压防治指南(2018年修订版)[J]. 中国心血管杂志, 2019, 24(1): 24-56.
- Chinese Society of Hypertension. 2018 Chinese guidelines for the management of hypertension [J]. *Chin J Cardiovasc Med*, 2019, 24(1): 24-56.
- [17] 中华医学会内分泌学分会肾上腺学组. 原发性醛固酮增多症诊断治疗的专家共识[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2016, 32(3): 188-195.
- Chinese Society of Endocrinology. Expert consensus on primary aldosteronism [J]. *Chin J Endocrinol Metab*, 2016, 32(3): 188-195.
- [18] 江敏纯, 马杜娟, 唐菊英, 等. 原发性醛固酮增多症中不同筛查和确诊试验的应用及评价[J]. 中华高血压杂志, 2018, 26(2): 138-143.
- Jiang MC, Ma DJ, Tang JY, et al. Application and evaluation of screening and confirmatory tests for the diagnosis of primary aldosteronism [J]. *Chin J Hypertens*, 2018, 26(2): 138-143.
- [19] 朱杰, 赵玲, 王琳, 等. 尿醛固酮与不同体位血浆肾素活性比值对原发性醛固酮增多症的筛查价值[J]. 解放军医学杂志, 2018, 43(7): 569-573.
- Zhu J, Zhao L, Wang L, et al. Evaluating the significance of urinary aldosterone-to-active renin ratio for primary aldosteronism screening [J]. *Med J Chin PLA*, 2018, 43(7): 569-573.
- [20] 李宁, 高政南, 李欣宇, 等. 尿醛固酮与血浆肾素活性比值对原发性醛固酮增多症的筛查价值研究[J]. 中国现代医生, 2019, 57(18): 5-8.
- Li N, Gao ZN, Li XN, et al. Study on the screening value of urinary aldosterone and plasma renin activity ratio in primary aldosteronism [J]. *Chin Modern Doctor*, 2019, 57(18): 5-8.
- [21] Bernini G, Moretti A, Orlandini C, et al. Plasma and urine aldosterone to plasma renin activity ratio in the diagnosis of primary aldosteronism [J]. *J Hypertens*, 2008, 26(5): 981-988.
- [22] Baudrand R, Guarda FJ, Torrey J, et al. Dietary sodium restriction increases the risk of misinterpreting mild cases of primary aldosteronism [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101(11): 3989-3996.
- [23] 尹逸丛, 禹松林, 王丹晨, 等. 液相色谱串联质谱检测尿醛固酮方法的建立[J]. 中华检验医学杂志, 2018, 41(6): 481-486.
- Yin YC, Yu SL, Wang DC, et al. Quantification of human urine aldosterone by LC-MS/MS [J]. *Chin J Lab Med*, 2018, 41(6): 481-486.
- [24] Tuhan HU, Catli G, Anik A, et al. Cross-reactivity of adrenal steroids with aldosterone may prevent the accurate diagnosis of congenital adrenal hyperplasia [J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2015, 28(5-6): 701-704.

(编辑 孙慧兰)