

·66263

内 科 讲 座

——内 分 泌 系 统 疾 病

(第 8 卷)

朱 宪 彝 主 编

马 泰	王恭宪	王维力	尹 潍
史秩繁	白 耀	邝安堃	卢倜章
田宗真	冯耀卿	朱宪彝	池芝盛
江德华	伍汉文	许曼音	严 棠
沙松林	吴阶平	何洁虹	李忠慧
陈玉驹	杨天恩	杨仁逵	杨德泰
林祥通	张 钧	张世荣	张家庆
张雪哲	郑白蒂	周元晏	钟学礼
赵宝初	高玉琪	郭世铎	郭连芳
章燕程	舒昌达	谢少文	薛社普

(以姓氏笔划序)

人 民 卫 生 出 版 社

**纪念中国内科学代谢疾病和内分泌
专业先驱、前中国医学科学院首都
医院内分泌学科主任刘士豪教授**

(1900.12~1974.6)

出版说明

内科讲座系我社将陆续出版的一套大型临床参考书，主要介绍内科领域的临床经验、科研成果、医学进展，供有一定临床经验的内科医师学习提高用。本书内容新颖、实用、广泛。全套暂定15卷，即：

第1卷 内科基本理论与实践

第2卷 呼吸系统疾病

第3卷 心血管系统疾病

第4卷 胃肠疾病

第5卷 肝胆胰疾病

第6卷 血液系统疾病

第7卷 泌尿系统疾病

第8卷 内分泌系统疾病

第9卷 神经系统疾病

第10卷 精神病

第11卷 传染病

第12卷 寄生虫病

第13卷 变态反应疾病

第14卷 老年病

第15卷 肌肉和关节疾病

前 言

受人民卫生出版社委托，天津医学院主编了这本《内科讲座——内分泌疾病》。

专题讲座有别于一般教科书，不强调全书内容的系统性、完整性。本书主要以专题形式介绍国内外内分泌学的一些重要进展，有些专题侧重于国际上在内分泌基础理论方面的最新进展，兼顾临床实践，有些专题则以总结部分国内临床经验为主。

近年来，随着细胞生物学和分子生物学的深入研究和广泛应用，内分泌学的进展也日新月异。它的研究领域已扩展到内科、外科、妇产科、儿科、神经科、精神科等几乎所有临床各科，其涉及基础理论研究课题的广泛程度，更自不待言。现在神经内分泌学的研究已经证明，内分泌系统协同神经系统调节整个机体的全部生理活动。有神经活动发生，就常有内分泌激素以及中枢神经递质分泌的变化。同样，内分泌激素对神经系统的发育和功能状态也有重大影响。因此，应用现代科学技术方法来测定体内某些激素的水平并分析其对代谢的影响，就能更深入更具体地揭示机体生理和病理过程的化学本质。可以预见，生物遗传工程学和医学工程学的飞速发展，也必将使内分泌疾病的防治研究出现奇迹般的变化。

这样，以本书有限的专题就难以反映现代内分泌学的全貌，而且，读者阅读本书时，原来的最新进展可能已显得陈旧，更新的进展已经出现。但是，本书如果能引起大家对内分泌学的重视，如果能帮助一般内科专业医师，特别是内科住院医师、内科研究生认识现代内分泌学的概况，了解内分泌学的研究方法，熟悉常见内分泌疾病的诊疗手段，从而提高医疗质量和科研水平，我们将感到宽慰。

在本书编写过程中，承蒙中国科学院动物研究所、中国医学科学院、上海第一医学院、上海第二医学院、中山医学院、湖南医学院、重庆医学院、第二军医大学等兄弟院校专家、教授积极供稿，给以大力援助，特此表示衷心感谢。

由于我们缺少经验，加之业务水平有限，书中缺点错误一定不少，统希读者不吝赐教。

编 者

1981. 5. 5

目 录

1. 激素的作用机理·····	1
2. 放射免疫测定的基本机理和方法·····	8
3. 肽类激素的化学及其不均一性·····	22
4. 激素分泌的周日节律·····	36
5. 无脊椎动物神经内分泌·····	41
6. 中枢神经递质·····	47
7. 神经活动与内分泌·····	67
8. 松果体·····	77
9. 内分泌病变的蝶鞍X线表现及空泡蝶鞍·····	90
10. 垂体瘤·····	97
11. 垂体腺瘤的放射治疗·····	108
12. 垂体前叶机能减退症·····	117
13. 生长激素与垂体侏儒·····	124
14. 肥胖病·····	136
√ 15. 尿崩症与抗利尿激素分泌异常症·····	161
16. 性分化异常·····	168
17. 甲状腺的分化与脑的发育·····	178
18. 甲状腺机能亢进症的病因·····	185
19. 地方性甲状腺肿的病因及发病机理·····	190
20. 地方性克汀病的病因与发病机理·····	199
21. 甲状旁腺机能亢进症的临床经验·····	207
22. 甲状旁腺功能低下·····	218
23. 代谢性骨病的理论与临床·····	229
24. 皮质醇增多症·····	253
25. 醛固酮增多症·····	262
26. 嗜铬细胞瘤·····	269
27. 肾上腺髓质增生问题·····	275
28. 糖尿病进展·····	279
29. 糖尿病微血管病变·····	286
30. 胰岛素分泌瘤·····	298
31. 多发性内分泌腺瘤·····	304
32. 胃肠胰系统激素与内分泌综合征·····	312
33. 高血压与内分泌腺·····	333
34. 内分泌与遗传·····	342
35. 内分泌与免疫·····	353

36. 癌瘤与激素分泌·····	360
37. 胚胎内分泌腺的发生与激素调节·····	368
38. 内分泌新病种·····	375
39. 内分泌疾病的现代化学治疗 ——几种药物的药理学·····	388
索引·····	409

激素的作用机理

张世荣

一、引言·····	1
二、激素的受体·····	2
(一) 受体的特性·····	2
(二) 激素的生理效应与受体的关系·····	2
三、甾体激素的作用机理·····	2
四、多肽激素的作用机理·····	4
(一) cAMP 作为激素的第二信使学说·····	4
(二) Ca^{2+} 作为多肽激素的第二信使学说·····	5
(三) cAMP 和环-磷酸鸟苷 (cGMP) 相互调控学说·····	6
(四) 进入细胞内直接作用·····	6

一、引言

多细胞有机体能生存和有效地行使机能，它组成的细胞必须以协调的方式进行活动。这种协调必须在有机体远隔的细胞之间进行信息传递。在高等动物中，细胞间的通讯，主要由两个系统来执行，一个是神经系统，一个是内分泌系统。内分泌系统是通过其特殊的细胞制造一种有机化合物——激素，释放到组织间液，然后进入血流，从而迅速到达细胞，对机体起调节作用。

激素作用于机体各种重要组织和细胞，它的作用性质多种多样：包括蛋白、糖及脂肪的中间代谢；组织和细胞的生长、发育和分化；生物膜的通透性；肌肉的收缩和松弛；神经冲动的传导等等。它们如何影响这些生理过程，目前的认识 and 了解还很不透彻。

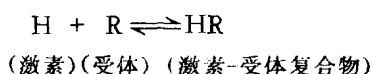
激素从化学成分方面可分为三大类，即多肽激素、甾体激素和一些芳香族氨基酸衍生物(如三碘酪氨酸和甲状腺素)。这些激素的作用机理目前一般认为有两种不同的方式。一种像甾体激素，它很容易通过细胞质膜进入细胞内，与细胞浆内的激素受体结合后进入胞核，调节基因的转录，从而控制代谢反应所必需的蛋白质或酶的合成；另一种像多肽激素，这些激素并不进入细胞，而是与细胞膜表面的受体结合，通过受体识别并传递信息引起细胞内(包括激发酶的反应和诱导酶的合成等)一系列生化过程，而最后导致激素的生理效应。至于某些不饱和脂肪酸如前列腺素和一些活性肽，其作用机理与多肽激素相似，本文不作论述。

甲乙甲乙甲乙甲乙甲乙

二、激素的受体

激素作用于靶细胞膜上或细胞内，都是先与专一性的部位结合。这种能识别激素的部位称为受体。激素与受体结合后可触发一系列连锁反应而产生激素的生理效应。到目前为止，差不多所有多肽激素和甾体激素的受体已被证实，而且这些激素的受体多已被分离、纯化或部分纯化，它们是一种蛋白质(糖蛋白或脂蛋白)。

(一) **受体的特性** 受体像抗原与抗体一样，它对激素有高度的专一性和亲和性。每一细胞中的每一类激素受体数目是一定的。因为激素与受体的结合可以达到饱和，它们之间的反应是快速而可逆的，它服从于质量作用定律。可用下式表示：



结合反应速度 $V = K[H][R]$ ，解离反应速度 $V' = K'[HR]$ ，达到平衡时 $V = V'$ ， $K[H][R] = K'[HR]$ ，或表示为：

$$K = \frac{K}{K'} = \frac{[HR]}{[H][R]}$$

K为激素与受体结合的平衡常数，一般为 10^9 数量级，说明激素与受体的结合有较高的亲合力。

(二) **激素的生理效应与受体的关系** 激素与受体结合成 $[HR]$ 后才能发挥作用，所以激素的生理效应 E 决定于 $[HR]$ 。 $[HR]$ 又称为受体的占有率。当 $[H]$ 达到使受体全部饱和浓度 $[H_m]$ 时， $[HR]$ 最大，E 也是最大。但是不同的激素产生最大 E 时所需形成 $[HR]$ 的量不同(如组织胺受体 1% 被占领，即可产生最大效应)。故常常当 $[H] < [H_m]$ 时，许多激素的 E 已达到最大。未被结合的受体称为备用受体，此备用受体在一定条件下仍可显出活性。激素的生理效应是 $[HR]$ 的函数，也是 K， $[H]$ ， $[R]$ 三者的函数。

$$E = f([HR]) = f(K[H][R]) = f(K, [H], [R])$$

也就是说，K， $[H]$ ， $[R]$ 三者之中有一个发生变化都会影响 E。 $[H]$ 是激素的浓度， $[H]$ 下降，E 也随之下落。K 表示激素与受体的亲和常数，它取决于激素与受体的亲和力，K 改变也会影响 E。 $[R]$ 是受体的浓度，受体减少，E 也就不足。目前已有很多证明，受体数目变化与一些生理或病理变化有关。

三、甾体激素的作用机理

甾体激素的作用机理，目前以雌二醇和孕酮对子宫或输卵管作用的研究比较详尽，能完整地说明激素的作用过程，而类似机理也适用于皮质醇、醛固酮以及甲状腺素等。

当雌激素分子穿过靶细胞膜进入细胞浆后，与一种特异性蛋白质(称为“胞液受体”，cytosol receptor)牢固地结合，其解离常数为 $K_d = 10^{-10}$ 。此受体蛋白沉降系数约 8s，由两个亚基组成。当它与两分子激素结合后，受体分子发生构象变化(其沉降系数变为 5s 型，产生一个有利于与染色质有高度亲和力的结构)，并向核移动，与核的染色质结合。有证据指出，雌二醇-受体复合物主要是受体的 B 亚基作用于染色质中的非组蛋白

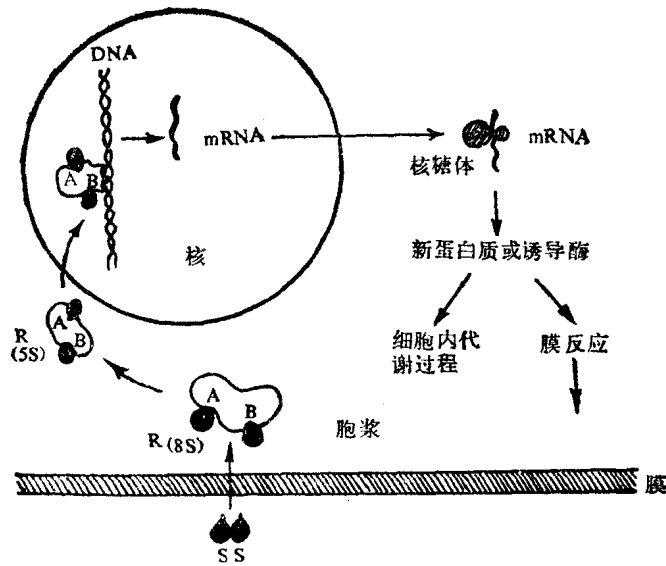


图 1-1 甾体激素作用示意图

S 甾体激素 (或类固醇激素) R 受体 (A 亚基, B 亚基)
DNA 脱氧核糖核酸 mRNA 信使核糖核酸

(也叫酸性蛋白)AP₃ 部分。此酸性蛋白的成分中丝氨酸的磷酸化程度较高, 它们带负电荷, 与带正电荷的碱性组蛋白相互作用, 而把覆盖在脱氧核糖核酸 (DNA) 分子上的抑制蛋白质去掉, 使 DNA 上某一基因活化。随后 A 亚基解离, 并与 DNA 相互作用, 使一分子 RNA (核糖核酸) 聚合酶在 DNA 上占有一个起始位点。于是这一段 DNA 便被转录, 产生一条单链的信息核糖核酸 (mRNA) 作为模板合成蛋白质 (图 1-1, 2)。

上述甾体激素作用机理的学说, 并不是绝对的。如最近有人报道, 雌二醇也可以不进入靶细胞而在细胞膜上与特异受体结合, 激活腺苷酸环化酶 (adenyl cyclase), 通过第二信使 cAMP 在胞浆内完成某些蛋白质中间代谢过程, 与多肽激素作用相似。还有一些报道指出, 甾体激素与胞浆的受体结合后, 复合物也不一定都进入胞核, 而是作用于核膜上的腺苷环化酶, 然后通过细胞内 cAMP 作用于 DNA, 完成 mRNA 的转录过程 (图 1-3)。

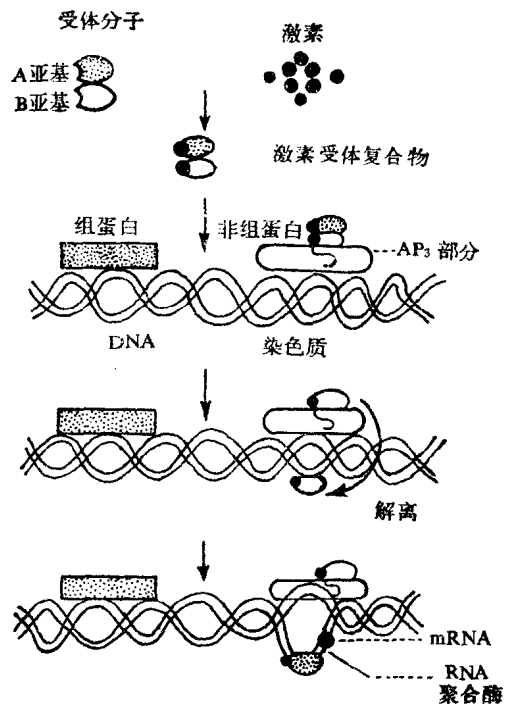


图 1-2 甾体激素激活基因的机理

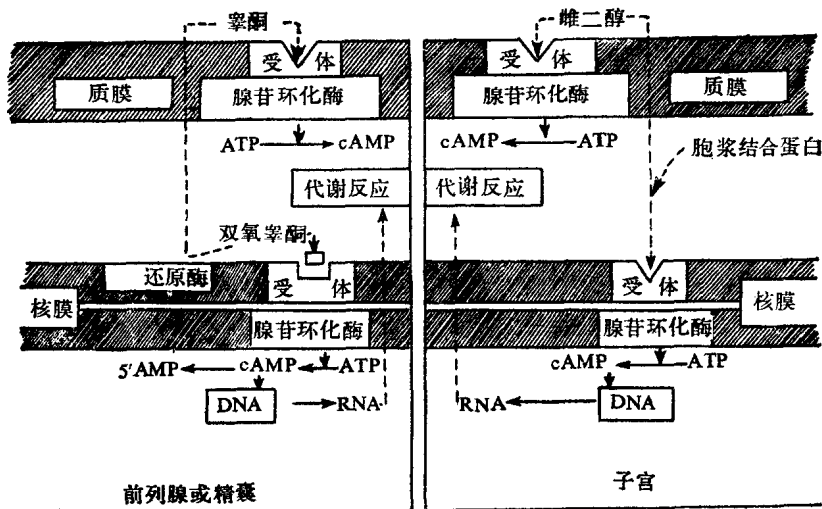


图 1-3 雄激素与雌激素作用机理示意图

四、多肽激素的作用机理

多肽激素对靶细胞的作用，首先与膜上的特异性受体结合，随后激素-受体复合物激活细胞内的特异反应，这已被许多工作证实。其反应链可概括如下（表 1-1）。

表 1-1 多肽激素的作用反应链

A 细胞膜上激素受体结合过程	
1. 识别（结合）	$\begin{array}{ccc} \text{H} & + & \text{R} \\ \text{(激素)} & & \text{(受体)} \end{array} \rightleftharpoons \text{HR}$ (激素受体复合物)
2. HR 激活细胞	
B 激素受体结合后细胞继发反应	
1. 细胞内的反应	如激活腺苷环化酶合成 cAMP, cAMP 与蛋白激酶结合
2. 分支反应	如导致葡萄糖氧化, 糖原合成, 氨基酸运输

关于多肽激素的作用机理，目前虽然还不太清楚，但从大量研究工作中得到很多新的认识，可提出如下几种假说。

（一）cAMP 作为激素的第二信使学说 这个学说是 E. Sutherland 等提出，后经不少学者加以充实和发展。此学说是以胰高血糖素和肾上腺素对肝细胞的作用为依据。它的作用过程如下：①激素首先与细胞膜表面的特异受体结合，通过信息传递，激活细胞膜内侧的腺苷环化酶。②此酶作用于三磷酸腺苷（ATP）合成 cAMP。③cAMP 与蛋白激酶的调节亚基结合，使催化亚基游离而出现活性。④蛋白激酶催化 ATP 放出高能的 P_i ，使磷酸化酶激酶磷酸化而达到活化。⑤磷酸化酶激酶催化 ATP，使磷酸化酶 6 磷酸化变为磷酸化酶 α ，此酶催化糖原分解为 1-磷酸葡萄糖。

上述的胰高血糖素是通过 cAMP 促进糖原分解的典型例子。通过 cAMP 传递信息的系统，除了这种激素外，还有促肾上腺皮质激素（ACTH）、促甲状腺激素（TSH）、促黄体生成素（LH）、促卵泡成熟素（FSH）、甲状旁腺素（PTH）、垂体后叶加压素等。

这些激素的临床效应是不相同的,但都通过 cAMP 而起作用。如何解释这个问题呢? 第一是在同一种细胞中,不同的激素由不同的受体加以识别。如脂肪组织对促肾上腺皮质激素、胰高血糖素及肾上腺素三种不同的激素都能通过 cAMP 增高而使脂肪分解,它是通过三种不同受体而起作用的。如 β 受体阻断剂仅仅能抑制肾上腺素的作用,而对其余两种激素不能抑制,证明它们的结合部位是不同的。第二是由于不同的激素一般都对其专一性的靶器官起作用,这是有机体一种分化的结果。如肾上腺的皮质细胞只有促肾上腺皮质激素的受体而缺乏胰高血糖素及肾上腺素的受体。

最后的激素效应则是根据细胞内原有不同的酶而产生反应。如 cAMP 可分别促使糖原分解(肝)、甾体类合成(性腺、肾上腺皮质)、脂肪分解(脂肪组织)或甲状腺素(T_4)的合成(甲状腺)(图 1-4)。

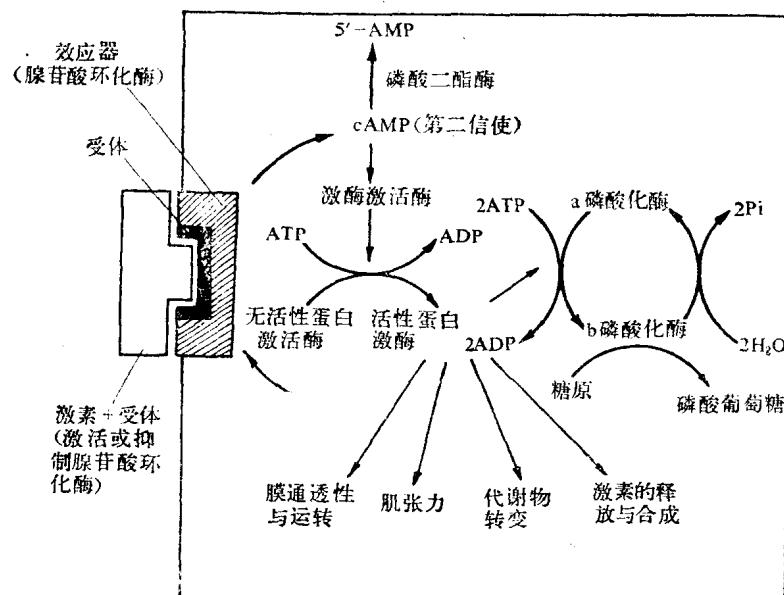


图 1-4 cAMP 作为第二信使多肽激素作用机理示意图

必须注意,虽然明确上述一些多肽激素的作用是以增高 cAMP 作为调节机理,但以 cAMP 作为第二信使,目前仍存在很多未能解决的问题。例如:肾上腺素使肠平滑肌松弛而乙酰胆碱则使其收缩,但两者都使肠平滑肌细胞的 cAMP 增加。其次,对于少数激素如胰岛素、生长激素(GH)等,它们的作用并不使 cAMP 升高,而使 Ca^{2+} 或 cGMP 发生明显的变化。于是有人提出 Ca^{2+} 或 cGMP 作为第二信使的假说。

(二) Ca^{2+} 作为多肽激素的第二信使学说

1. Ca^{2+} 和 cAMP 两个第二信使反馈调控学说 乙酰胆碱和肾上腺素均可刺激肠平滑肌的 cAMP 水平升高,但是前者使肠平滑肌收缩,后者则起松弛作用,它们都是通过细胞内 Ca^{2+} 和 cAMP 反馈调节的。当乙酰胆碱开始作用于肌细胞膜时,膜释放 Ca^{2+} ,细胞内 Ca^{2+} 增加,引起肌肉收缩和抑制 cAMP 的水解。当 cAMP 水平升高时,则又刺激膜对 Ca^{2+} 的吸收,而限制了肌肉的收缩。而肾上腺素作用时,则首先激活腺苷环化酶,结果使细胞内 cAMP 水平升高,细胞膜摄取 Ca^{2+} 增加,细胞内 Ca^{2+} 降低,从而引起肌肉的

松弛。但当细胞内 Ca^{2+} 下降时，又加速了 cAMP 的水解而导致细胞内 cAMP 水平下降，细胞膜摄取 Ca^{2+} 也减少，细胞内的 Ca^{2+} 上升到一定的水平，从而抑制了松弛。

2. Ca^{2+} 作为胰岛素作用的第二信使学说 与胰高血糖素的作用相反，胰岛素作用于靶细胞并不引起 cAMP 的变化，而首先使膜上结合的 Ca^{2+} 发生置换，改变膜的稳定性，促进葡萄糖等物质和离子运输到细胞内。胰岛素降低 Ca^{2+} 结合到膜的内表面和内质网，同时也抑制细胞的 Ca^{2+} 外流，导致细胞内 Ca^{2+} 浓度增加，明显地抑制蛋白激酶的活性。继而使一些促脂解和糖原分解的酶系统脱磷酸化作用而抑制其活性，同时使糖原合成酶磷酸化而被激活。这样，肝细胞或脂肪细胞就产生与胰高血糖素相反的效应，抑制脂肪和糖原的分解和增进脂肪和糖原的合成。

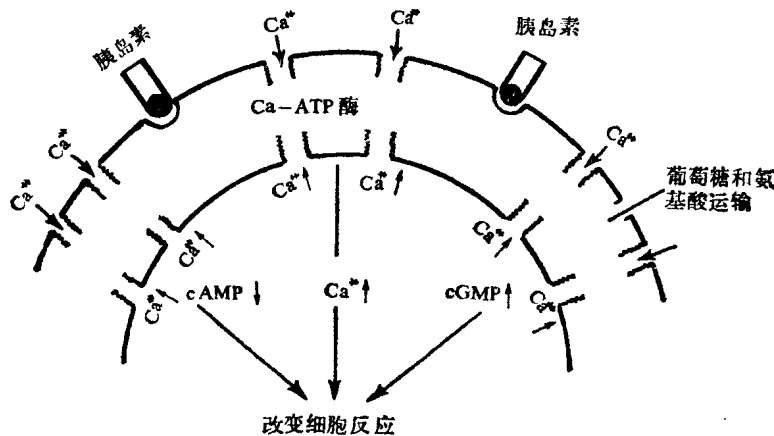


图 1-5 胰岛素作用机理， Ca^{2+} 第二信使学说示意图

cAMP 和 Ca^{2+} 作为两个第二信使，在不同的激素、不同的靶细胞可能各有所侧重。如胰岛素对肝细胞的糖原合成和对脂肪细胞的抑脂解作用，以及乙酰胆碱对肠平滑肌的收缩过程， Ca^{2+} 则起主要作用，而 cAMP 是次要的。相反，胰高血糖素刺激肝脏糖原异生和肾上腺素对肠平滑肌的松弛作用，主要调节者是 cAMP。

(三) cAMP 和环-磷酸鸟苷(cGMP)相互调控学说 George (1970) 首先发现了 cGMP，并观察到乙酰胆碱抑制大鼠心肌收缩，同时细胞内 cGMP 迅速升高。相反，肾上腺素促进心肌收缩时，细胞内的 cAMP 水平升高。继而有人又发现胰岛素促进脂肪细胞的合成时，引起细胞内 cGMP 的升高和 cAMP 下降。同时，Goldberg 和另一些人还观察到此二种环核苷酸与调节生长分化有关。当 cAMP 下降而 cGMP 上升时可促进细胞分裂。反之，当 cAMP 上升而 cGMP 下降时，则细胞停止分裂而进行分化。据此，1973 年 Goldberg 提出生物控制的二元论或称之为阴阳学说，认为在一些类型的细胞中，cGMP 与 cAMP 起相互制约的调节作用，并可根据 cGMP 与 cAMP 相对浓度比例而决定反应的类型。这种现象只发生在有相反功能的类型细胞中，如糖原分解与合成、脂肪分解与合成、收缩与松弛等产生的双向系统控制作用。

但是最近 Fain 和 Butcher(1976)提出胰岛素促进 cGMP 作用有赖于 Ca^{2+} 的存在。而且一些催化激素和离子也能引起 cGMP 的增加，但没有 Ca^{2+} 存在则同样无作用。因此认为 cGMP 作为胰岛素的第二信使的学说是可疑的。

(四) 进入细胞内直接作用 最后必须指出，虽然已确证靶细胞质膜上存在特异的

多肽激素结合部位——受体，但是还应注意到有一部分人的工作 (Terris 和 Steiner, Cohen 1976, Goldfine 1977)，他们使用光学显微镜和电子显微镜自动放射自显影术，证明一些多肽激素，诸如胰岛素、催乳激素 (PRL)、表皮生长因子、PTH 等能进入细胞内，并可能直接作用于核。胰岛素除细胞膜外，细胞核上也存在胰岛素的特殊结合部位。他们提出胰岛素对靶细胞的作用至少有两种作用途径：一是胰岛素与细胞表面上的受体相结合，可直接改变细胞膜的功能，如运输功能和酶活性；二是胰岛素尚能进入细胞内部与细胞核、内质网、高尔基体以及其他结构相结合。与细胞内结构相结合的直接后果，即胰岛素本身可参与多种细胞内的功能，从而导致 DNA、RNA 和蛋白质的合成。但是 Goldfine 也认为不能排除这些细胞内功能是由激素作用于膜上受体一元化传导过程的后反应。因此，这些多肽激素如何引起细胞内一些功能的作用方式，尚未完全了解，有待进一步的研究。

2

放射免疫测定的基本机理和方法

林 祥 通

一、概述·····	8
二、基本原理和方法·····	9
三、国外发展动向·····	17
(一) 放射免疫测定·····	17
(二) 放射性受体分析法·····	18
(三) 酶免疫测定法·····	19
(四) 分析自动化·····	20
(五) 试剂盒的生产和供应·····	21
(六) 其它·····	21

一、概 述

1960 年以前, 蛋白质激素活性或效价的测定, 主要靠生物测定。即选择相当数量的某种动物, 注射一定剂量的蛋白激素, 观察对动物靶器官的效应。比如要测定 FSH, 可用未成熟雌性大鼠的子宫或卵巢重量变化为指标, 同时再与普遍采用的一种 FSH 制剂作比较, 通过生物统计方法来计算其活力或效价。生物测定的缺点是: 需要一定数量的动物, 操作繁琐, 动物存在个体差异, 且由于血中激素浓度低, 生物测定的灵敏度常达不到要求。1960 年 Yalow 和 Berson 在研究胰岛素免疫特性的基础上, 利用胰岛素抗体和标记胰岛素为关键性试剂, 进行血中胰岛素的放射免疫测定 (RIA)。这种崭新的蛋白质激素测定方法是把放射性示踪的灵敏度和抗原-抗体免疫反应的特异性相结合, 具有专一性强、灵敏度高 (一般可测每毫升 $10^{-9} \sim 10^{-12}$ 克水平)、标本用量少等特点, 它为各种蛋白质激素的测定开辟了广阔的途径, 使激素测定由化学和生物测定转入了放射免疫测定的新时期。十多年来, 这一方法的发展十分迅速, 特别是近年来小分子半抗原物质放射免疫测定的成功, 其应用范围从仅限于内分泌学, 进一步扩大到许多基础和临床学科领域如药理学、生殖生理学、肿瘤学、生物化学、药理学、免疫学、血液学等。就内分泌学应用而言, 七十年代以来, 也从原有的肽类和蛋白激素的测定发展到非肽类激素如类固醇激素、甲状腺激素、前列腺素和维生素 D 的测定。估计目前可用此分析方法测定的有肽类激素、非肽类激素及非激素物质约 300 种。而且测定范围还在不断扩大, 有人推测, 凡是一切具有活性的物质, 都可能用这种方法测定。

由于反应过程中所采用特异性结合剂的不同以及这一技术发展的某些历史背景, 曾

有不同的名称。如1960年 Ekins 利用血浆中一种天然成分(甲状腺结合球蛋白)和 ^{125}I - T_4 为试剂, 来测定血中 T_4 的含量。和放射免疫测定 (RIA) 一样, 这种测定方法也属于蛋白结合分析或竞争性蛋白质结合分析 (CPBA), 但所用的特异性结合试剂是血浆中天然存在的蛋白质而不是抗体。Ekins 曾预见到以下不同类型的特异性结合试剂测定各种微量活性物质的可能性, 因而在1963年提出“饱和分析”(Saturation Analysis)一词, 作为这类同位素超微量分析方法的总称, 但未被各国学者普遍采纳。1965年叶酸还原酶被用作特异结合试剂, 开始了放射性酶学分析法, 1970年以来采用细胞浆内或细胞膜上的特异蛋白质(即受体)作为结合剂, 从而出现了放射性受体分析。其他如放射性微生物的分析法的原理与 RIA 相同, 它们的差别仅在于所用的特异性结合剂不同而已(表 2-1)。国内外学者分别沿用 RIA、放射体外测定 (radioassay)、放射竞争分析和饱和分析作为上述几种原理上相类似的分析方法的总称。

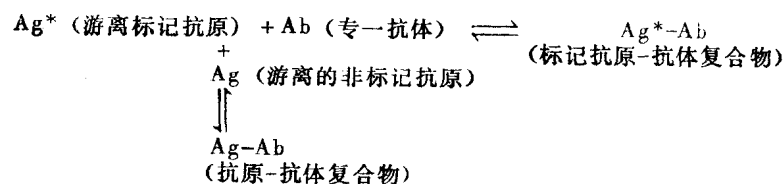
表 2-1 放射免疫分析的各种主要类型

名 称	特 异 性 结 合 剂
放射免疫分析	特异抗体
放射性受体分析	受体
竞争性蛋白结合分析	血清和组织中特异结合蛋白质或其他物质(内因子、乳等)
放射性酶学分析	特异酶
放射微生物分析	微生物

1968年 Miles 和 Hales 首先建立了免疫放射测定 (immunoradiometric assay), 这种方法与一般 RIA 的主要区别在于采用了标记的抗体, 而不是标记抗原, 且待测物质是与过量的标记抗体相结合而直接测量出来, 可以认为是 RIA 的变种, 现已用于多种激素的测定。

二、基本原理和方法

(一) 原理 放射免疫测定的基础是标记抗原 (Ag^*) 和非标记抗原 (Ag) 对专一抗体 (Ab) 的竞争抑制反应, 可用下式表示之:



在上述反应系统中, Ag^* 与 Ab 反应时产生 Ag^*-Ab , 反应物与产物保持可逆的动态平衡。如果反应系统中同时存在 Ag , 当 Ag^* 和 Ab 的量保持恒定, 则 Ag^*-Ab 复合物形成量与 Ag 的含量呈反比。如 Ag 含量高, 则 Ag 对 Ab 结合位置的竞争能力强, $\text{Ag}-\text{Ab}$ 形成量就多, 使 Ag^*-Ab 形成量相对减少。反之, Ag 含量低, 则 Ag 对专一 Ab 结合位置竞争能力弱, $\text{Ag}-\text{Ab}$ 量就减少, 使 Ag^*-Ab 相对增多。也就是说, Ag^*-Ab 复合物

形成量与 Ag 的含量呈一定的函数关系。因此，用各种已知浓度的标准物质与恒定量的 Ag* 及 Ab 作用，即可测得该物质在各种浓度下 Ag*-Ab 复合物的结合比率(或结合率)。绘成曲线，称为竞争性抑制曲线。只要将被测物质的结合比率(或结合率)与标准曲线比较，即可算出该物质的含量。为进一步阐明这种关系，再以图解说明(图 2-1, 2)。

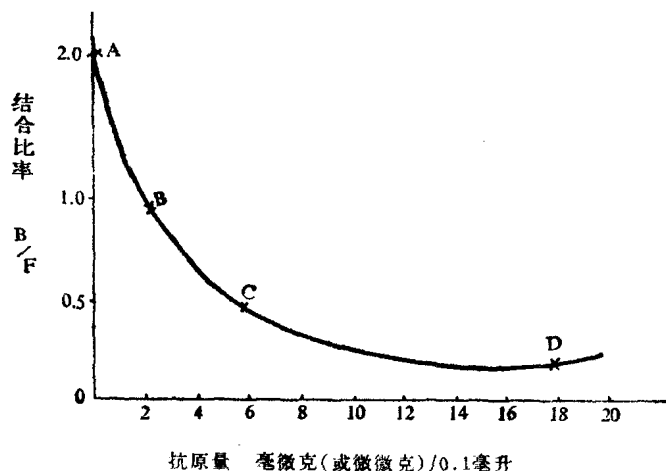


图 2-1 RIA 标准曲线(以结合与游离部分比值与被测物质的浓度作图)

抗原-抗体复合物的形成对放射免疫测定十分重要。但抗原-抗体反应是十分复杂的过程，为便于分析，可用一个简单的模式来表示。这个模式也适用于放射免疫测定的其他类型(如竞争性蛋白结合分析和放射性受体分析等)。假如抗原和抗体为均一的和单价的，则：



式中 P 代表抗原，Q 代表抗体，PQ 代表抗原抗体复合物，K 是结合速度常数， K_1 是解离速度常数。根据质量作用定律，如 K 等于平衡常数(或称亲和常数)，即 $K = \frac{K}{K_1}$ ，则：

$$K[P][Q] = PQ \quad (2)$$

在平衡时，结合在抗体上的抗原(B)对游离抗原(F)含量之比为：

$$B/F = [PQ]/[P] \quad (3)$$

由于只有一部分 P 和 Q 参与结合，所以：

$$[P] = [P_i - PQ] \quad (4)$$

$$[Q] = [Q_i - PQ] \quad (5)$$

在以上两式中 P_i 和 Q_i 分别代表抗原和抗体的初始浓度。因此，结合与游离抗原之比应为：

$$B/F = [PQ]/[P_i - PQ]$$

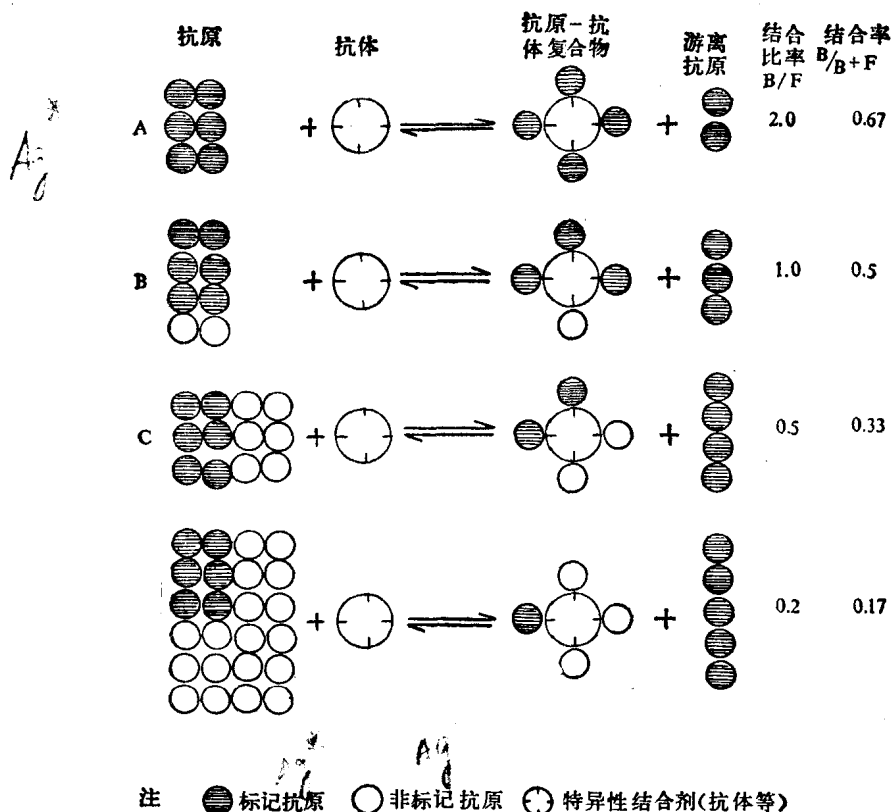


图 2-2 示 B/F 与非标记抗原量之间的关系

经移项后 $PQ = [Pi]B/F / (1 + B/F)$ (6)

合并方程式(2)、(4)、(5)和(6)，得出：

$$(B/F)^2 + B/F[1 + KPi - KQi] - KQi = 0$$

这就得出一个双曲线方程。所以放射免疫分析的剂量反应曲线并不是一条直线(图 2-1)。

(二) 测定方法 放射免疫测定应具备下列四个技术条件：

1. Ag 的制备 制备高纯度的 Ag 是 RIA 的重要条件，一般纯度不应低于 90%，生物提取的蛋白质或多肽类大分子物质(分子量 > 5,000)抗原性强，但不易提高纯度。此外，有些抗原的来源困难，或提取工作量很大，如 ACTH (N端 1-24) 及促甲状腺激素释放激素 (TRH) 等，近年已有用合成方法制备。甾体激素及小肽等低分子量半抗原 (Hapten) 物质，需与蛋白或聚合多肽等大分子共价结合后，才具有免疫原性。载体蛋白以牛血清白蛋白较为常用，其它尚有人血清白蛋白、γ 球蛋白、鸡蛋白蛋白、聚-赖氨酸、聚-谷氨酰胺、合成的聚合物、甲状腺球蛋白等。

2. Ag 的标记

(1) 抗原标记的理想条件：①比放射性要高，因为比放射性越高，需要参加竞争反应的标记抗原化学量就越小，因而可提高灵敏度。②标记后的抗原免疫活性(或参与竞争