

BIAOJIMIANYI

FENXIJINZHAN

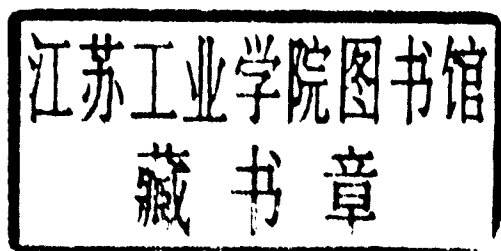
标记免疫分析进展

陈光连 尹石华 姜全心 主编

石油大学出版社

标记免疫分析进展

陈光连 尹石华 姜全心 主编



石油大学出版社

主 编 陈光连 尹石华 姜全心

副主编 李安娜 赵亚琴 王 云

主 审 李振甲 王衍真

编 委(以姓氏笔划为序)

马振霞	王 云	王衍真	尹石华	史 健
李 云	李克林	李安娜	李振甲	李 敏
刘子英	刘振中	邢桂云	陈光连	陈良玺
杨永青	苏慧泉	战建伟	姜全心	赵亚琴
高明祥	董继俊	韩来新	管庆兰	孟令强

标记免疫分析进展

陈光连 尹石华 姜全心 主编

*

石油大学出版社出版

(山东省东营市)

新华书店发行

山东省肥城市印刷厂印刷

*

开本 850×1168 1/32 12.125 印张 313 千字

1996 年 4 月第 1 版 1996 年 4 月第 1 次印刷

印数 1—3000 册

ISBN 7-5636-0755-2/R·10

定价:19.60 元

序

随着近代医学科学的飞速发展,标记免疫分析技术的进步,一些新理论、新观点、新方法、新成果不断涌现,多种新实验为临床诊断提供了有力佐证,甚至起到了决定性作用。

石油系统医学检验界的几位有识之士,邀请国内部分专家学者,倡导编写了这部反映当今标记免疫分析技术先进水平的特色书籍。书中有国内著名专家集多年潜心研究取得的科研成就,有基层医务人员的实践经验,内容丰富、实用。编者对文章进行了认真的修改,付出了艰辛的劳动,并得到省内外部分医学院校、胜利油田医学会的专家、领导、朋友大力支持,出版了这部《标记免疫分析进展》一书。希望通过此书,推动我国医学事业的发展,加强医疗与医技人员的沟通,携手并肩,共同繁荣我国的卫生事业。

王浩丹

1996年1月于济南

前 言

近几年,随着医学科学的发展,标记免疫分析技术——放射免疫分析、酶免疫分析、荧光免疫分析有了长足的进步,它以特异性强、灵敏度高、准确性好、简便、快速等优点,深受广大临床工作者欢迎。从事标记免疫分析技术的专家学者勇于探索、不断创新,积累了许多宝贵的经验,取得了丰硕的科研成果,为使这些成果早日与读者见面,便于全面推广,我们邀请国内部分专家学者及从事标记免疫分析技术的具有丰富实践经验的基层医务人员编写了《标记免疫分析进展》一书。

本书分为三部分,第一部分主要为标记免疫分析技术的新进展;第二部分主要是标记免疫分析技术在临床医学中的应用;第三部分主要为方法学探讨。特点突出了“新颖、实用”,有新理论、新观点、新技术、新方法,有科研成果,有临床应用。我们想通过此书,有助于促进我国标记免疫分析技术的发展,推动标记免疫分析技术在临床的广泛应用。本书对从事标记免疫分析技术的实验室人员和临床医师将是一本有用的参考书。

本书在编写过程中,得到国内著名核医学专家李振甲、王衍真、杨永青、王浩丹、陈素娟教授的热情关心和支持,他们在百忙中对大部分稿件进行了认真的审校修正,在此表示衷心的感谢。在出版过程中得到了石油大学出版社的同志们和胜利石油管理局胜利医院检验科、核医学科的同事们大力支持,在此一并感谢。

由于我们专业水平有限,经验不足,时间仓促,在编写过程中错误是难免的,对一些文章的删改也有不尽合理之处,由于篇幅所限,参考文献多被删去,恳请读者谅解,希望多提宝贵意见。

编 者

1996年1月

目 录

一、进展与展望

放射免疫分析技术进展.....	王衍真(1)
时间分辨荧光免疫分析进展	徐永源(16)
时间分辨荧光免疫分析技术及其进展	陈素娟 李振甲(28)
受体的放射配体结合分析	王浩丹(35)
高灵敏度共荧光增强液及其在时间分辨荧光免疫分析中的应用	徐永源(54)
标记免疫分析在临床医学中的价值及其进展	杨永青(62)
用快速 EGF RIA 法测定不同年龄段 CIAE ⁺ 人尿中 ECF 水平.....	周 棱 王衍真(89)
标记免疫分析应用的新标记物 ...	张 楷 王 娜 鄢 利(93)
BSA 系统免疫细胞化学法在检测人外周血淋巴细胞表面标志中的应用	朱晴晖 章谷生(98)
肺结核患者外周血 T 淋巴细胞亚群及 IL-2 含量的研究.....	姜全心 陈光连 尹石华 孟令强(102)
肿瘤患者血清 HA、LN 的 RIA 检测及临床意义	尹石华 陈光连 姜全心 孟令强(105)

二、临床研究

甲亢患者食用海带前后血清 TT ₃ 、TT ₄ 、rT ₃ 放免测定的临床意义.....	王建金 张芬莲(109)
S-TSH-IRMA、FT ₃ 、FT ₄ RIA 测定对甲状腺疾病诊断的临床评价.....	袁卫红(111)

酶免联合测定 T_3 、 T_4 、TSH 的 194 例分析

..... 李全如 黄慕贤 邱满喜(114)

T_3 、 T_4 放免测定值极低的病例分析

..... 高惠民 孙新民 何艳杰(117)

肝病时血清维生素 B_{12} 测定的临床意义 ... 郭普贵 郭海(119)

血清 T_3 、 T_4 、TSH、FT₄I 联合检测在临床上的应用

..... 鲍秀生 何桂芳(121)

新生儿脐血甲状腺激素放射免疫分析的探讨

..... 庞普娟 丘云 叶清华(126)

T_3 、 T_4 、TSH RIA 在甲亢治疗中的临床意义

..... 姜洪敏 王维智(129)

TGAb、TMAb 的 RIA 对诊断桥本甲亢腺炎的临床价值

..... 朱致品 李秀珍(132)

非甲状腺疾病血清 T_3 、 T_4 测定结果分析

..... 郝玉花 张抗美 王荣艳 李伯虎 刘丽(135)

肿瘤患者血清 T_3 、 T_4 、 rT_3 、TSH 的 RIA 及临床意义

..... 赵亚琴 杨桂华(138)

T_3 、 T_4 等甲状腺激素测定在非甲状腺疾病诊断中的应用

..... 邹纪鹰 张希芹(140)

C-P、INS RIA 在胰岛细胞移植中的应用

..... 刘克美 常宝仁 戴慧敏(147)

孕妇及脐血清胰岛素、皮质醇非基础状态生活水平 RIA

..... 李鲁生 吴锡文 杨希秀

迟流莹 康晓慧 毛红宇(150)

胃癌病人血清睾酮测定临床价值的探讨

..... 李广宙 单智 张磊(153)

婚检男性雄激素、精液、染色体测定分析

..... 张勇 郭拓江(156)

用碘标记半量 RIA 测定唾液性甾体激素的水平

- 李文琦 周激素 李 欣
杨建民 骆 毅 汤国民(158)
- 健康老年人及老年慢性支气管炎患者血清皮质醇
含量的观察..... 李 燕 宋立新(162)
- 胶芪回春散对早衰患者性激素水平的影响
..... 尹石华 陈光连 姜全心 孟令强 商玉花(164)
- 血清 β -HCG 亚单位测定的临床意义 夏爱姝 万祖根(168)
- HCG、HCG- β 测定对宫外孕诊治的意义
..... 张 黎 陈 舫(171)
- RIA 法测定垂体-肾上腺轴激素对 Graves 病和特发性
甲减发病机理的研究
..... 王世华 任长征 王德全 董 艳(173)
- 慢性肾功能不全患者血透前后血浆的钠素血清
 β_2 -MG 的变化 张继和 丁 萍 卢景奎
冯志刚 舒华嵩(176)
- 小儿心力衰竭的内分泌改变与心功能关系的研究
..... 孔祥辉 郭川流 梁荣祥
吴志兴 刘春雨 李绍芝(179)
- 肝硬化患者血浆 TXB_2 、6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ 含量的变化
与肝肾功能的关系..... 盛春永(185)
- 绝经后骨质疏松患者口服尼尔雌醇治疗前后血清骨
钙素含量变化..... 郭 海 韩玉维 赵丙英(188)
- 正常孕妇不同孕期与妊高症血清钙调节的研究
..... 饶小雪 赵树玲 迟国珠 铁丽萍(190)
- 中晚期妊娠和妊高症孕妇血清骨钙素含量变化
..... 肖占森 马书敏 潘桂花 张荣辉 韩玉维(193)
- 糖尿病所致代谢紊乱发生机理的初步探讨
..... 肖占森 张兰英 侯书琴
潘桂花 郭 海 高 微(196)

慢性肾功能衰竭病人血浆内皮素测定

..... 王剑华 颜纪贤 严 炎(199)

正常人及老年常见病患者血清胃泌素测定

..... 曾 伶 朱咸中(201)

血清 FT₃、FT₄、T₃、rT₄、rT₃ RIA 在甲亢诊断与疗效

中的应用..... 阳兆群(204)

人血清胃泌素放射免疫测定的临床意义

..... 王锦容 付迎辉 阮 翹 王书韵(206)

产妇乳汁胃动素测定的初步临床应用

..... 高玉琴 肖占森 牛玉霞 李志铃 郭 海(209)

乙肝患者血清空腹胃泌素放射免疫分析及临床意义

..... 何浩明 苏彩女 田小平

徐凤英 李小敏 庄惠琴(212)

脑胶质瘤病人脑脊液 IL-6、PDGF 水平的检测及临床意义

..... 张国安 郑 英 刘小鹏 陈紫榕 康德智(214)

甲亢患者血清白细胞介素 2 测定

..... 刘子英 陈光连 姜全心(218)

肺结核、肺癌患者血清肿瘤坏死因子水平的临床观察

..... 叶一秀 王 巍 王 颖 王安生

李晓明 陈红兵 李世平(220)

肿瘤标志物在消化道肿瘤诊断中的应用

..... 卢艳馨 储燕君(223)

糖类抗原 19-9 研究新进展

刘奉亭(228)

产妇血和脐血配对检测 TF、SF 相关性分析

..... 吕天河 陈 虹 王晓莉(231)

CEA、SF、 β_2 -MG、AFP 联合测定对恶性肿瘤的诊断价值

..... 王明良 范金芬 王玉水(235)

肝癌、肝硬化患者血清透明质酸变化及临床意义

..... 蒋乐堂 章传海 赵华山(239)

甘胆酸测定用于酒精性肝损害·····	邢桂云(242)
肝癌标记物检测在胃癌诊断中的应用·····	李 敏(244)
肝硬化四种标志物检测结果分析·····	陈光连(247)
血清铁蛋白和铁测定在急慢性肝病转归中的监测作用 ·····	段永强(250)
血清铁蛋白测定在流行性出血热中的诊断意义·····	方剑荣(253)
酸性铁蛋白与恶性肿瘤临床关系的研究 ·····	楼 岑 李德均(256)
脑脊液四种指标检测对 CNS 疾病诊断价值的探讨 ·····	戴庆福 杨兆华 邱暖芬 梁秀圆(260)
β_2 -微球蛋白 RIA 在部分肿瘤诊断中的应用 ·····	陈江林(264)
佝偻病患儿尿 β_2 -M、CG 含量变化初探 ··· 郭普贵 郭 海(267)	
Tamm-Horsfall 蛋白检测在泌尿系疾病中的应用 ·····	李安娜 姜全心 尹石华(269)
22 例慢性肾功能衰竭尿 Tamm-Horsfall 蛋白测定及其临床意义·····	涂光顺(272)
前列腺疾病患者血清前列腺特异性抗原的检测及临床意义 ·····	程 岗 徐宇梅(274)
慢性肝病患者血清 α_1 型胶原放射免疫测定的临床意义 ·····	郝孝君 张奇亮 王天民(277)
男性不育患者精浆透明质酸含量观察·····	姜全心 刘子英(280)
肝病患者血清 CG、HA、 β_2 -M、SF 联合测定的临床意义 ·····	尹石华 宋世云 姜全心 陈光连(283)
放射免疫检测血清 β_2 -微球蛋白在肝病中的临床价值·····	
·····	李月亮 程庆儒(286)
肝病患者血清透明质酸测定及其意义的研究 ·····	江冬梅 张新林 刘云莉 满昌军 司瑞芹 黄爱田(289)
固相放射免疫夹心法测定病毒肝炎 PHSA 受体的分析	

.....	刘淑兰(292)
拉萨地区 5238 名中小學生 HBsAg 携带情况调查分析	
.....	黄红樱 廖德全(294)
化工职工 HBV 标志物检测探讨	程明清(298)
大庆地区丙型肝炎检测报告及评价	
.....	张丽娜 刘建平 邢启献(300)
原发性肝癌患者乙肝、丙肝感染调查	苏慧泉(303)
2776 例 HBV 标志物模式分析	温姝丽(305)
丙型肝炎的诊断方法及临床意义	战建伟 温晓霞(308)
沙眼衣原体的检测及流行情况调查	
.....	许福亮 纪恩美 李公宝 马传香(310)
高血压病患者 α_1 -M RIA 的临床意义	
.....	孟令强 尹石华 卞晴芳(312)
尿三蛋白测定在监测糖尿病肾功能及糖尿病肾病早期诊断中的应用	时光 陆天真(314)
老年性白内障 SOD 和 LPO 的研究	
.....	张俊华 过贵元 张国安(316)
尿甘胆酸 RIA 测定在肝病中的意义	肖占森(319)
肺心病患者血尿 β_2 -M、IgG、Alb、THP 变化初探 ...	郭海(322)
肝病患者血清 sIgA、RIA 的临床观察	马伦(325)
老年心脏病患者血清地高辛浓度放免测定	王云(329)

三、方法学研究

急性淋巴细胞白血病免疫分型及方法学探讨

.....	纪恩美 郭宝强 马传香
.....	许福亮 吕爱敏 李公宝(331)
自然杀伤细胞活性检测的方法学研究	
.....	王小众 郑祥雄 唐南洪(335)
ELISA 法测定血清甲胎蛋白与放免法的比较	何中秋(338)

酶联免疫技术的研究进展.....	乔 刚 于 萍 马起贤	(341)
关于用 ¹²⁵ I 标记的环磷酸腺苷和环磷酸鸟苷放射免疫测定方法的改进.....	赵亚琴 杨桂华 李晓鹏	(344)
阳性界值点替代 CA-50IRMA 标准曲线初探	冯大钧	(347)
血清透明质酸在肝硬化诊断中及 B 超、CT 的对比研究	周旭初 朱美伦	(349)
放免法测定 T ₃ 、T ₄ 及 FT ₃ 、FT ₄ 的结果比较	田 辉	(352)
用耳血代替静脉血测定 HBsAg、抗-HBs	田 宏	(354)
固相放大分析抗 HAV-IgM 自动洗珠器的效果观察	廖贤根	(356)
应用酶免与放免测定血清 AFP 的结果比较	周克勤	(359)
肝病患者血清 HA 与肝脏 B 超检查关系的探讨	龚守军 黄祝青 孙永年	(362)
平行双样法在放射免疫分析质评中的应用	黄海龙 汪亚萍	(364)
鹭鹭咯口服液对小鼠巨噬细胞活化作用的研究	柯 岩 刘振龙 陈哲生	(368)

放射免疫分析技术进展

中国原子能科学研究院同位素所 王衍真

1959年美国的 Berson 和 Yalow 创建了放射碘标记胰岛素的放射免疫分析方法(RIA),又称放射配基分析。因其具有灵敏度高和特异性强两个独特的优点,又因操作简便、精密度高、测量方便、样品用量少和应用广泛等特点,问世以来发展迅速,渗透到基础医学理论研究和临床各学科领域中,发展为当代分析技术的新学科。

我国从60年代初就开展这一技术的研究。为了交流此技术和应用研究的成果,先后召开了四次全国放射免疫分析学术会议。第一次会议是1975年在北京召开,第二次会议是1979年在无锡召开,第三次会议是1985年在天津召开,第四次会议是1991年在西安召开。国际原子能机构(IAEA)和世界卫生组织(WHO)自1969年以来召开了六次国际性研讨会,促进这一技术在全球范围内的普及和发展。

我国放射免疫分析技术的发展已遍及各学科和各基层医院。目前已有近30个生产厂家,商品化试剂盒有近百个品种,有200多种试剂盒。全国已有2000多个单位开展了放射免疫分析工作,但普及面远远不够,仅占全国县以上医院的17%。放射免疫分析技术的发展和广泛的应用促进免疫学技术的不断发展。1971年建立了酶免分析技术(ELISA),1981年建立荧光免疫分析技术(FIA),1982年建立时间分辨荧光免疫分析技术(TR-FIA),见表1。

但是这些技术目前就其稳定性、精密度及准确性尚难以与RIA相比美,仍然处在发展中。从70年代开始由于单克隆抗体制备成功,以及应用DNA重组技术,人们已成功的制备了特异和高

强度的抗原和抗体,使免疫分析技术有了长足的发展。特别近十年,放射免疫分析技术向纵深方面发展,新材料、新工艺、新品种不断推出。我国放射免疫试剂盒的生产逐步实现了自动化和标准化。国家管理部门加强了技术监督和标准化管理,促进产品质量提高。

表 1 免疫分析发展史

学者	年代	免疫分析技术
Yalow 和 Berson	1959 年	创建胰岛素放射免疫分析(RIA)
Hunter 和 Grenn Wood	1963 年	碘标记氯胺 T 法
Miles 和 Hales	1968 年	建立免疫放射分析技术(IRMA)
Engvall	1971 年	建立酶联免疫吸附分析(ELISA)
Milstein 和 Kohler	1975 年	建立杂交瘤技术,制备单克隆抗体
Ngot	1981 年	建立荧光免疫分析技术(FIA)
Pannaghi	1981 年	建立化学发光免疫分析技术(CIA)
Meurman	1982 年	建立时间分辨荧光免疫分析技术(TR-FIA)
Octell	1986 年	亲和素和生物素系统(ABS)用于 IRMA 技术中

一、RIA 的新进展

RIA 的灵敏度、特异性、准确性及操作简便主要由四种试剂决定的。这四种试剂是抗血清、标记抗原、标准品和分离剂。近年来研究较多的是分离剂,希望找到一种简便快速的方法。其中固相分离技术研究是最热门的。下面介绍四种试剂的发展现状。

1. ^{125}I -标记抗原

RIA 中的标记物如果是蛋白质、多肽或联接酪氨酸的小分子化合物都可以用氯胺 T 法直接标记,这种方法标记率比较高,能得到高比活度的标记物,如 T_3 、 T_4 、 rT_3 、HCG、INS 等碘标记多采用此种方法。其缺点是对标记抗原的免疫活性损伤较大,要控制氯胺 T 的用量和反应时间等条件。近来常用温和的氧化剂,如 Iodogen,其氧化碘化标记的多肽和蛋白质类的性能优于氯胺 T 法,特别是用于标记易失活的多肽类,对免疫活性的损伤较小。已

广泛被采用。

标记化合物的分离纯化近年也发展较快,由原来的葡聚糖凝胶柱逐渐被高压液相色谱(HPLC)分离取代,HPLC 技术分离纯化标记物不仅快速、重复性好,而且纯度高,放射化纯度 $>95\%$,无论是放射化纯度和免疫活性都优于现有的任何方法。

2. 抗体

当前 RIA 中应用的抗体仍然以多克隆抗体为主,它是用大分子蛋白质抗原或联接的半抗原免疫健康的雄性动物(兔、豚鼠、羊、马)获得的动物血清。通常用的抗体是动物的原血清,经稀释成合适的滴度为工作液。但抗血清的特异性和亲和性需要严格的选择。特别是抗体的特异性关系到 RIA 的准确度。抗体的亲和性是关系到 RIA 的反应速度,用 K 值表示,K 越大表明抗体的品质越好,RIA 的反应时间越快,灵敏度也高,K 值可用 Scatchard 法和饱和分析法计算。

3. 标准品

RIA 中的标准品应该用国际标准或国家标准品校对,并经常比对,保持放免试剂盒标准品的连续性和可比性,为临床提供准确测定结果。卫生部药品生物制品检定所提供了一些国家级标准品或参考血清,有利于提高各生产厂家放免试剂盒的质量。

在放射免疫分析中,标准品就相当一把尺子,它决定分析结果的准确性。配制标准品的基质一般要用正常人血清,也有一些用来测定尿液、唾液、脑脊液及组织液等样品的放射免疫分析中,采用含有一定蛋白质和特殊试剂的缓冲液配制标准品。这需要十分谨慎,在充分的实验基础上确定基质中各种试剂的比例关系。保证在试剂盒的有效期内标准品是稳定的。

4. 分离剂

RIA 的基本原理是抗原和抗体的结合。抗原包括标记抗原和非标记抗原(标准品)。当它们与抗体结合后形成复合物(通称抗原-抗体复合物),不结合的抗原为游离部分,采用适当的方法把结合

的抗原(B)和游离的抗原(F)完全分开。

分离技术包括两大类:固相和液相。近来固相技术发展很快。分离剂也分为两类:液相和固相。液相即均相,采用液体分离剂,常用 PEG、二抗、二抗加 PEG(PR 试剂)。其次电泳、层析、吸附、盐析等。在液相分离方面近年用的最广泛是 PR 法,它比较简便,非特异结合低,在国内试剂盒中应用最多,可以通用,给实验室带来方便。

固相分离技术根据固相载体的材料及技术的不同各异。塑料类以试管、珠、星体、小棒、小片和杯不同形状的载体通过化学或物理吸附等方法连接上抗体。磁性类以磁粒为主,将抗体通过偶联方法接到磁颗粒上。固相技术最大的优点是简化操作步骤,不需加分离剂,不需要离心。近几年我国开展固相技术的研究,磁性技术已成功用于 TSH IRMA、FT₃、FT₄、T₃、T₄ 试剂盒。固相微球用于 T₃ 和 T₄。塑料小球用于乙肝系列试剂盒。

80 年代由于单克隆技术应用于放射免疫分析,大大推进固相技术的发展。国际上从 80 年代初固相分离技术只占 40%,到 80 年代末发展到 70% 的趋势看,大力发展固相分离技术是十分重要。这也是实现规模化生产及 RIA 的标准化和自动化提供先决条件。

目前广为临床欢迎的 TSH IRMA 双位点夹心法是采用磁颗粒或包被试管两种固相材料,这种试剂盒具有灵敏度高(比 TSH RIA 灵敏度高 10 倍以上)、操作简便、质量稳定的优点,已被公认为当前鉴别甲亢和正常人的首选试剂盒。

5. 质量控制

在放射免疫分析中进行质量控制(Quality Control,简称 QC)目的是保证分析结果的正确性、可靠性和可比性。QC 是各个实验室应该实施的管理制度。当然还需要提供质量稳定的试剂盒以及质量监督部门协同努力才能作好此项工作。

随着我国放免技术的普及和提高,QC 工作应该被重视。在全