

# 标记免疫分析和特种检验的临床应用

(讲义)

北京北免东雅生物技术研究所以

# 前 言

本讲义是根据尹伯元教授的讲稿编写的。内容包括：标记免疫分析方法学的发展、医学特种检验与实验室诊断、内分泌系统特种检验与临床意义、糖尿病特种检验与临床意义、心血管系统特种检验与临床意义、肿瘤标志物特种检验与临床意义等共六章。其目的是使临床医生们能掌握特种检验的主要项目、如何开化验单、化验结果又如何分析与开展临床医学研究等知识，促使临床医学向分子水平诊断技术方向发展。

由于本讲义版面和字数所限，只能将特种检验主要内容作摘要介绍，难免有不完善之处，请谅解。

编 者

2002 年 8 月

中心服务质量免费投诉电话：**8008100375**

# 目 录

|                                           |    |
|-------------------------------------------|----|
| 第一章 标记免疫分析方法学的发展                          | 1  |
| 第一节 放射免疫分析 (RIA)                          | 1  |
| 第二节 酶标记免疫分析 (EIA)                         | 2  |
| 第三节 发光免疫分析 (FIA)                          | 3  |
| 一、化学发光免疫分析 (CLIA)                         | 3  |
| 二、化学发光酶免疫分析 (CLEIA)                       | 4  |
| 三、荧光免疫分析 (FIA)                            | 4  |
| 四、时间分辨荧光免疫分析 (Tr-FIA)                     | 5  |
| 五、电化学发光免疫分析 (ECLIA)                       | 6  |
| 第二章 医学特种检验与实验室诊断                          | 8  |
| 第一节 医学特种检验的基本概念                           | 8  |
| 一、医学特种检验的形成与发展                            | 8  |
| 二、医学特种检验的内容                               | 8  |
| 第二节 实验室诊断的基本概念                            | 9  |
| 一、实验室诊断                                   | 9  |
| 二、实验室诊断在临床应用中的重要性                         | 10 |
| 第三章 内分泌系统特种检验与临床意义                        | 11 |
| 第一节 甲状腺                                   | 11 |
| 一、甲状腺功能检查项目                               | 11 |
| 二、检测指标的评论                                 | 11 |
| 三、抗甲状腺受体抗体测定的临床意义                         | 11 |
| 四、诊断程序                                    | 13 |
| 五、对 TSH 测定的新认识及临床应用研究                     | 14 |
| 六、TSH 临床应用的重要性                            | 15 |
| 七、非甲状腺疾病时甲状腺功能变化研究                        | 15 |
| 八、FT <sub>3</sub> 、FT <sub>4</sub> 临床意义研究 | 16 |
| 九、对甲状腺免疫性疾病的研究                            | 16 |
| 十、对甲状腺功能指标的评价研究                           | 17 |
| 第二节 性腺                                    | 17 |
| 一、性腺功能检验项目与临床意义                           | 17 |
| 二、性腺疾病的实验室诊断                              | 26 |
| 三、CA <sub>125</sub> 卵巢癌的筛查                | 29 |
| 第三节 甲状旁腺                                  | 30 |
| 一、甲状旁腺功能检测项目与临床意义                         | 30 |
| 二、甲状旁腺疾病的实验室诊断                            | 33 |
| 第四节 肾上腺                                   | 35 |
| 一、肾上腺功能检测项目与临床意义                          | 35 |
| 二、肾上腺疾病的实验室诊断                             | 37 |
| 第五节 垂体                                    | 38 |
| 一、垂体功能检测与临床意义                             | 38 |
| 二、垂体疾病的实验室诊断                              | 42 |
| 第四章 糖尿病特种检验与临床意义                          | 47 |
| 第一节 糖尿病检验项目与临床意义                          | 47 |
| 一、检测项目分类                                  | 47 |



|                                                |    |
|------------------------------------------------|----|
| 二、临床意义·····                                    | 47 |
| 第二节 糖尿病实验室诊断·····                              | 52 |
| 一、糖尿病的诊断·····                                  | 52 |
| 二、糖尿病的分型及胰岛功能判断·····                           | 53 |
| 三、糖尿病并发症的诊断·····                               | 55 |
| 第五章 心血管系统特种检验与临床意义·····                        | 57 |
| 第一节 心血管系统特种检验项目和临床意义·····                      | 57 |
| 一、肾素—血管紧张素—醛固酮系统(RAAS)·····                    | 57 |
| 二、前列腺素(PG)·····                                | 58 |
| 三、心钠素·····                                     | 61 |
| 四、内皮素·····                                     | 61 |
| 五、降钙素基因相关肽·····                                | 63 |
| 六、血清肌红蛋白·····                                  | 63 |
| 七、加压素·····                                     | 65 |
| 八、血管活性肠肽·····                                  | 65 |
| 九、内源性洋地黄物质检测的临床意义·····                         | 65 |
| 十、血清肌凝蛋白·····                                  | 66 |
| 十一、心肌肌钙蛋白T·····                                | 66 |
| 十二、心肌肌钙蛋白I·····                                | 68 |
| 十三、降钙素基因相关肽(CGRP)检测的实验室诊断·····                 | 70 |
| 十四、肌酸激酶同功酶检测的实验室诊断·····                        | 71 |
| 十五、一氧化氮检测的实验室诊断·····                           | 71 |
| 第六章 肿瘤标志物特种检验与临床意义·····                        | 73 |
| 第一节 常用的肿瘤标志物·····                              | 73 |
| 一、甲胎蛋白(AFP)·····                               | 73 |
| 二、癌胚抗原(CEA)·····                               | 74 |
| 三、糖类抗原 50(CA <sub>50</sub> )·····              | 74 |
| 四、糖类抗原 125(CA <sub>125</sub> )·····            | 75 |
| 五、糖类抗原 15-3(CA <sub>15-3</sub> )·····          | 75 |
| 六、糖类抗原 19-9(CA <sub>19-9</sub> )·····          | 75 |
| 七、糖类抗原 242(CA <sub>242</sub> )·····            | 76 |
| 八、糖类抗原 72-4(CA <sub>72-4</sub> )·····          | 76 |
| 九、 $\beta_2$ -微球蛋白( $\beta_2$ -MG)·····        | 77 |
| 十、铁蛋白(Ft)·····                                 | 77 |
| 十一、细胞角质素片段抗原 21-1(CYFRA <sub>21-1</sub> )····· | 77 |
| 十二、神经元原特异性烯醇化酶(NSE)·····                       | 78 |
| 十三、鳞状上皮癌相关抗原(SCC-Ag)·····                      | 78 |
| 十四、前列腺特异抗原(PSA)·····                           | 79 |
| 十五、前列腺酸性磷酸酶(PAP)·····                          | 79 |
| 第二节 常见恶性肿瘤的实验室诊断·····                          | 80 |
| 一、胃癌的实验室诊断·····                                | 80 |
| 二、肠癌的实验室诊断·····                                | 81 |
| 三、肝癌的实验室诊断·····                                | 81 |
| 四、肺癌的实验室诊断·····                                | 82 |
| 五、卵巢癌的实验室诊断·····                               | 83 |
| 六、甲状腺癌的实验室诊断·····                              | 84 |
| 七、乳腺癌的实验室诊断·····                               | 85 |
| 八、其他肿瘤的实验室诊断·····                              | 85 |

# 第一章 标记免疫分析方法学的发展

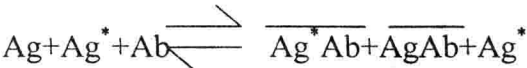
自从 1959 年 Yalow 和 Berson 创建放射免疫分析以来，至今已有 40 多年的历史了，在这 40 多年的发展过程中已由放射免疫分析（简称放免）衍生出多种非放射性同位素标记的免疫分析技术，第一种是以酶标记的免疫分析技术称为酶标免疫分析（简称酶免），第二种是从发光物质标记的免疫分析称发光免疫分析（简称光免），第三种是受体分析技术，第四种是核酸分析技术等，这些以不同物质标记配体的方法，国外统称为配体分析法。在国内我们提出以标记免疫分析这名称更为确切，由此被国内学者们所采用。

表 1. 标记免疫分析大事记

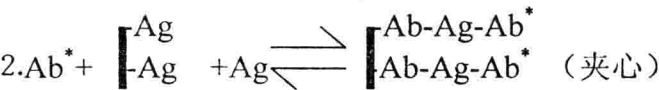
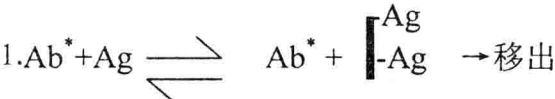
| 人 物            | 年代   | 大 事 记            |
|----------------|------|------------------|
| Yalow, Berson  | 1959 | 创建 RIA           |
| Ekins          | 1960 | 建立 CPBA          |
| Miles, Hales   | 1968 | 建立 IRMA          |
| Korenman       | 1968 | 建立 RRA           |
| Addisson,Halas | 1971 | 建立双位点夹心 IRMA     |
| Engvall        | 1971 | 建立 ELISA         |
| Rubenstein     | 1972 | 建立酶倍增免疫分析（EMIIA） |
| Halman         | 1977 | 建立发光免疫分析（LIA）    |
| Harris         | 1979 | 建立酶放射免疫分析（ERIA）  |
| Shalev         | 1980 | 建立高灵敏 ELISA      |
| Ngot           | 1981 | 建立 FIA           |
| Schall         | 1981 | 建立化学发光酶免疫分析      |
| Neurman        | 1982 | 建立 Tr-FIA        |
| Johannsson 等   | 1986 | 建立酶循环免疫分析（ECIA）  |
| Mccapra 等      | 1989 | 提出增强发光酶免疫分析      |
| Hubl 等         | 1990 | 建立醛固酮增强发光酶免疫分析   |
| Blackburn      | 1991 | 建立电化学发光免疫分析（ECL） |

## 第一节 放射免疫分析（RIA）

(一)竞争性 RIA，又称传统 RIA



(二)非竞争性 RIA，又称免疫放射量度分析（IRMA）

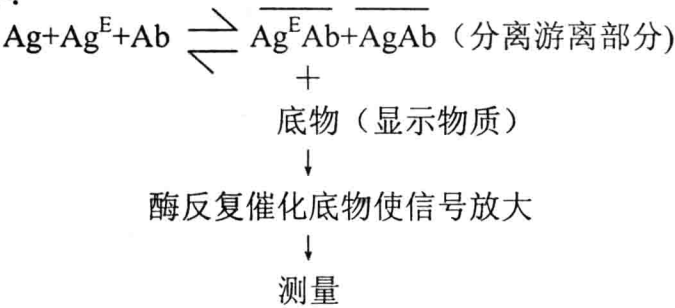


RIA 与 IRMA 之间区别

| RIA                  | IRMA                 |
|----------------------|----------------------|
| 1.竞争性结合分析            | 1.非竞争性结合分析           |
| 2.三种主要反应试剂           | 2.应用单抗和固相为主要组分       |
| 3.标记的是抗原             | 3.标记的是抗体             |
| 4.结合的标记抗原与待测抗原浓度呈负相关 | 4.结合的标记抗体与待测抗原浓度呈正相关 |
| 5.反应达到平衡时间长          | 5.反应达到平衡较快           |
| 6.NSB 影响标准线高剂量       | 6.NSB 影响标准线低剂量       |
| 7.标准线的剂量浓度范围较窄       | 7.标准线的剂量浓度范围较宽       |

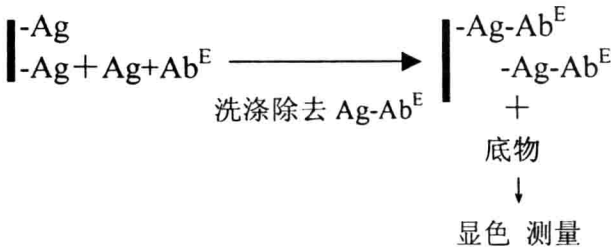
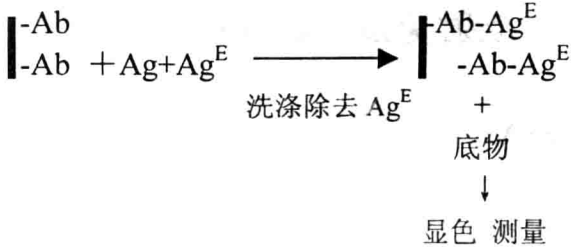
第二节 酶标记免疫分析（EIA）

酶标免疫分析是 70 年代发展起来的一种以测定酶活性来确定被测物质量的免疫分析方法。最早仅是用酶标记来代替放射性同位素标记抗原，所以，基本原理与 RIA 一样：



因上述反应中需彻底除去游离酶部分，就必须应用分离试剂，但在 RIA 中所有 B/F 分离试剂都不适应用于 EIA，所以，包被材料和技术,即固相分离方法由此而产生了,为此 EIA 中应用固相配体是必不可少的。由于 EIA 方法中分离和不分离游离物而分为非均相 EIA 和均相 EIA，但前者的灵敏度高，测量浓度范围宽而被广泛应用。非均相 EIA 分竞争法和非竞争法两种：

(-)竞争法





抗原或抗体上，或酶作用于发光底物。

化学发光免疫分析法以标记方法的不同而分为两种，即化学发光标记免疫分析法和酶标记、以化学发光底物作信号试剂的化学发光酶免疫分析法

化学发光标记免疫分析又称化学发光免疫分析（CLIA）是用化学发光剂直接标记抗原或抗体的免疫分析方法。常用于标记的化学发光物质有吖啶酯类化合物（AE），是有效的发光标记物，其通过起动发光试剂（ $\text{NaOH-H}_2\text{O}_2$ ）作用而发光，强烈的直接发光在一秒钟内完成，为快速的闪烁发光。吖啶酯作为标记物用于免疫分析，其化学反应简单、快速、无须催化剂；检测小分子抗原采用竞争法，大分子抗原则采用夹心法，非特异性结合少，本底低；与大分子的结合不会减小所产生的光量，从而增加灵敏度。

美国拜耳公司最新诊断产品——ACS: 180 系统全自动化学发光免疫分析系统即以吖啶酯作为标记，量度 AE 标记物化学反应所产生的光量为基础，灵敏度可达  $10^{-15}\text{g/ml}$ 。该系统采用顺磁性微粒作固相载体，反应物形成类均相悬浮溶液，有效增大反应面积，加速免疫反应，便于自动洗涤、快速分离，方法中不用酶和催化试剂，避免了许多影响因素，只需改变 pH 即可发生发光反应，AE 试剂稳定，有效期长达一年。

## 二、化学发光酶免疫分析（CLEIA）

从标记免疫分析角度，化学发光酶免疫分析（CLEIA），应属酶免疫分析，只是酶反应的底物是发光剂，操作步骤与酶免分析完全相同：以酶标记生物活性物质（如酶标记的抗原或抗体）进行免疫反应，免疫反应复合物上的酶再作用于发光底物，在信号试剂作用下发光，用发光信号测定仪进行发光测定。目前常用的标记酶为辣根过氧化物酶（HRP）和碱性磷酸酶（ALP），它们有各自的发光底物。

常用的底物为鲁米诺（3-氨基邻苯二甲酰肼，luminol），或其衍生物如异鲁米诺（4-氨基邻苯二甲酰肼），是一类重要的发光试剂。其结构如图所示。鲁米诺的氧化反应在碱性缓冲液中进行，在过氧化物酶及活性氧存在下，生成激发态中间体，当其回到基态时发光，其波长为 425nm。

早期用鲁米诺直接标记抗原（或抗体），但标记后发光强度降低而使灵敏度受到影响。近来用过氧化物酶标记抗体，进行免疫反应后利用鲁米诺作为发光底物，在过氧化物酶和起动发光试剂（ $\text{NaOH-H}_2\text{O}_2$ ）作用下，鲁米诺发光，发光强度依赖于酶免疫反应中酶的浓度。

## 三、荧光免疫分析（FIA）

免疫分析方法学的研究，始终在灵敏度和特异性两关键问题上深入革新和研究的。酶免和放免一样，其灵敏度也决定于抗体的特异性和亲和力（亲和常数），体现在可测的最小值上。酶免反应是以底物显色作为测量信号，但比色测定其灵敏度较差，所以，有很多学者在底物及发信号物质方面进行研究，设法能找到一个更灵敏、信号强而稳定、不易受干扰的物质，这样就衍生出来了化学发光物、荧光发光物等免疫分析方法，现将以下三种方法的优缺点作一比较。见表：

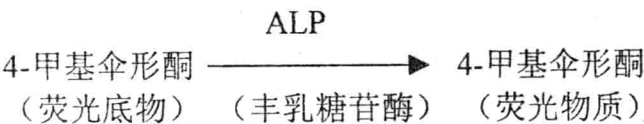


表 EIA、CLIA 与 FIA 三种方法优缺点比较

| 方法   | 优 点                   | 缺 点                                 |
|------|-----------------------|-------------------------------------|
| EIA  | 酶可连续催化反应，有放大信号的作用     | 比色测定不稳定，不灵敏                         |
| CLIA | 发光底物与触发剂立即反应，发出光子其信号强 | 无放大作用，发光自身的稳定性不一                    |
| FIA  | 荧光物可反复激发持续时间长，信号强     | 既有放大效应，又可重复测量，不易受干扰，灵敏度可达到 10~17mol |

荧光免疫分析其底物在酶的作用下发出荧光，所以又称荧光酶免疫分析,例如：

磷酸酯（盐）

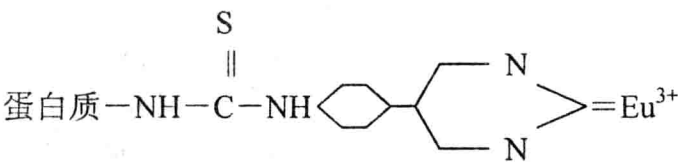


4-甲基伞形酮在 350nm 波长激发下发出 450nm 波长光子。

近年来，一些比较成熟的荧光酶免疫分析应用的荧光底物匹配较好，使灵敏度能达到  $10^{-19}$ mol,加上反应时间短、稳定性好，比显色底物有明显优越性。

四、时间分辨荧光免疫分析（Tr-FIA）

时间分辨荧光免疫分析是 80 年代初问世的一种荧光免疫分析方法，其主要特点是以稀土元素铕（Eu）为示踪剂，标记抗体，再使用时间分辨荧光测量法排除非特异性荧光的干扰，提高灵敏度至  $10^{-17}$ mol/L，稀土元素铕的络合物：



在 340nm 波长紫外线激发下发射波长 613nm 的光子退激后分子不破坏，可反复激发，故既可有放大效应，又可保留样品供重复测量。一般干扰性荧光物质（白蛋白、血红蛋白、细胞色素 C 等），所产生的荧光寿命都很短约几个 ns，而 Eu 络合物寿命很长，约 103~106ns。需专门设计一种间歇性测量的仪器，在每次用紫外线激发后段时间内不测量，待干扰荧光的信号基本消失后再测量，每一周约 100 μs，亦即每秒重复 1000 次，从而使每一标记抗体抗原复合分子的信号被重复使用，得到充分放大，灵敏度由此提高，测量时间可缩短至 1~2 秒/样品。

Eu 荧光分析主要缺点是配套试剂的制备困难，需要一个十分洁净的环境才能生产，因自然界广泛存在着微量稀土元素，不稳定因素影响质量。在实际测 EU 的荧光时，还需用一种增强剂，形成一个新的络合物，在紫外线激发下发光。由此，Eu 荧光分析所用仪器价格昂贵，试剂配套复杂成本高。目前有的厂家正在开拓成本低的全自动仪器和专用试剂，这才能达到普及和推广应用。

## 五、电化学发光免疫分析 (ECLIA)

1990 年 Leland 等首先应用三丙胺(TPA)与发光化合物三联吡啶钌( $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ )组合,作为化学发光物质建立电化学发光免疫分析(Electrochemiluminescence immunoassay,ECLIA),这是电化学发光(ECL)与免疫反应相结合的一种技术,从 ECL 反应系统来看,是属氧化—还原类原理,但标记物的发光与一般化学发光有所不同,它是在电极表面由化学引发的特异性化学发光反应,实际上包括了电化学和化学发光两个过程。所以,ECL 与化学发光(CL)之区别是 ECL 由电启动发光反应,而 CL 是通过与化合物之间混合反应发出光子的发光反应,CL 易受各种因素的影响,而 ECL 反应容易精确控制,这样 ECLIA 具有免疫学反应的特异性、发光作用的灵敏性、精密和准确度好等优点。近年来由于专用试剂盒和全自动仪器的出现,使 ECLIA 更易推广应用。

### (一)反应原理

发光剂  $(\text{Ru}(\text{bpy})_3)^{2+}$  和电子供体 TPA,在阳电极表面可同时各失去一个电子发生氧化反应。二价的  $(\text{Ru}(\text{bpy})_3)^{2+}$  被氧化成三价,后者是一种强氧化剂,TPA 被氧化成阳离子自由基  $\text{TPA}^{+\cdot}$ ,后者很不稳定,可自发地失去一个质子( $\text{H}^+$ ),形成自由基  $\text{TPA}^{\cdot}$ ,这是一种非常强的还原剂,可将一个电子给三价的  $(\text{Ru}(\text{bpy})_3)^{3+}$ ,使其形成激发态的  $(\text{Ru}(\text{bpy})_3)^{2+\cdot}$ ,能量来源于  $(\text{Ru}(\text{bpy})_3)^{3+}$  和  $\text{TPA}^{\cdot}$  之间存在的高电子化学电位差。TPA 自身被氧化成氧化产物二丙胺和丙醛,激发态的  $(\text{Ru}(\text{bpy})_3)^{2+\cdot}$  通过荧光机制衰减,发射一个波长 620nm 的光子,重新生成基态的  $(\text{Ru}(\text{bpy})_3)^{2+}$ 。这一过程在电极表面可周而复始地进行,产生许多光子,使光信号得以增强。

### (二)方法的建立

$(\text{Ru}(\text{bpy})_3)^{2+}$  是 ECLIA 的标记分子。该化合物给电化学激发可发射光子。但只有与抗体或抗原结合成复合物以后,这种发光反应才具有特异性,在标记抗体或抗原之前, $(\text{Ru}(\text{bpy})_3)^{2+}$  需简化化学修饰形成活化的  $(\text{Ru}(\text{bpy})_3)^{2+}$  衍生物。有多种活性基因可与  $(\text{Ru}(\text{bpy})_3)^{2+}$  分子中的任一吡啶基反应。目前所使用的活化衍生物是  $(\text{Ru}(\text{bpy})_3)^{2+}$ +N 羟基琥珀酰胺酯(NHS)。该衍生物具有溶性,可与抗体、半抗原、激素、核酸等各种生物分子结合成稳定的标记物。而且  $(\text{Ru}(\text{bpy})_3)^{2+}$  衍生物分子量很小,与免疫球蛋白结合的分子比超过 20,仍不会影响抗体的可溶性和免疫活性。

ECLIA 的另一个重要试剂是 TPA。它如同酶免疫分析方法中的底物,配入缓冲液中,是 ECL 反应系统中的电子供体。其氧化后生成的中间产物是形成激发态  $(\text{Ru}(\text{bpy})_3)^{2+\cdot}$  的化学能来源。

### (三)测量仪器

ECL 信号的测量仪器,其重要部分是电化学流动室,ECL 反应就在此进行。流动室包括工作电极和副电极,用以启动 ECL 反应。电极下面有磁铁,用来捕获带磁性的微球。另外还有  $\text{HgI}$ ,  $\text{HgCl}$  参比电极。具体工作时蠕动泵将液体从反应管抽到流动室。电极加电压启动 ECL 反应。所加的电压可以有多种形式,常用的是三角波形电压,即电压以 750mv/s 的速率从 56mmv 上升至 2800mv,然后以同样的速率降至 1000mv。当电压达 1100mv 左右时,流动室中产生的电压主要来自 TPA 和  $(\text{Ru}(\text{bpy})_3)^{2+}$  的氧化,同时产生光信号。光的强度与所加的电压成比例。光信号由安装在流动室上方的光信号检测器(荧光倍增管 PMT)

接受，经逐级放大而转化为电信号显示。检测完毕后，蠕动泵将高 PH 清洗液吸进流动室进行电化学清洗步骤。最后吸入条件缓冲液，加电压使电极表面恢复，准备下一次检测。

随着标记免疫分析方法学的进步，必然会形成方法间的比较，以及正常参考值的校正等问题，由于目前正在推广应用，还很难肯定那种仪器、那种方法最好，只有通过实践和不断评价，才能选出最优的方法和仪器。

## 第二章 医学特种检验与实验室诊断

### 第一节 医学特种检验的基本概念

#### 一、医学特种检验的形成与发展

由于放免分析的问世,使医学临床检验跨入分子水平的超微量分析阶段,对很多疾病可以应用分析某种物质质量的变化来进行诊断和疗效观察,这无疑是医学史上的一次革新。在这样的革新中,检验方法的进步起到了关键的作用,由此,有很多学者对超微量的分析方法,并结合临床诊断疾病的需要,进行了大量的研究,由此,出现了酶联免疫分析、发光免疫分析、核酸分析与特种生化等新的检验手段。经过临床 20 来年的应用和不断发展,这些新的检验方法又不同于临床常规化验,而逐步形成了一类特殊的检验,至 80 年代末,国外就出现了医学特种检验的名称,我认为由此而形成了医学临床检验中的特种检验,即所谓“医学特种检验”。

医学特种检验的形成不是偶然的,它代表了科技的进步,同样也包含着各方面的物质基础,例如:化学、生化和生物技术的进步,才能保障各种生物活性物质的纯化和单克隆抗体的制备,这是医学特种检验的试剂保障。在另一方面,由于电子技术的飞速发展,可设计和制造出由电脑程序控制的全自动分析仪,这就像给虎添翼一样,使医学特种检验从试剂、仪器和应用方面都步入一个新世纪。随着以上的发展,又出现了“医学特种检验中心”“医学特种参比实验室”“医学检验中心”等新的组织形式,这无疑又推动了医学特种检验技术向深度和广度方向发展。至今国际上如法国已建立了欧洲最大的医学检验中心,在美国是一个城市或地区建立几个“医学检验或特检中心”,与影像中心相呼应,配合临床进行诊断,使医学水平提高到早期发现、早期诊断与早期治疗的预防医学。

#### 二、医学特种检验的内容

医学特种检验的含义,要用一个定义来概括它,看来还有一定的困难,但从检验内容上来区分,似乎更易。在临床常规化验中,有血、尿、便、细胞和普通生化化验等项目,这大概应称之为临床常规检验。而一些超微量物质的检验,如激素类、肽类、酶类、特殊蛋白类、生物因子类、信使物质类,以及药物和毒物分析等是否可归属于医学特种检验呢,还有待于科技进步来完善,但从整体内容来理解,无非这些都应归属医学特种检验范畴。

目前医学检验的项目多达 1500 种以上,分析方法和仪器类别都十分繁多,如以分析方法分类:

1. 标记免疫分析,包括放免、酶免和各种发光免疫分析法。
2. 特种生化分析,如蛋白质、氨基酸、糖、脂肪、酶、毒物和药物等。
3. 生物因子分析,如各种免疫因子和抗体等。

4.核酸分析，如各种细菌、病毒、支原体和基因检测等。

5.其它如生物检测、物理检测与镜下检测等方法。

根据以上所列类别，其使用的仪器就更多了，如色谱仪、质谱仪、分光光度仪、原子吸收仪、电泳仪、免疫分析仪、流式细胞仪、蛋白质分析仪、氨基酸系列分析仪、毒物分析仪、药物分析仪等约上百种。但随着科技的飞速发展，医学检验技术无论从方法学或仪器设备方面，还将有一个大的发展，特别是基因分析，必将又为医学检验增添一个广阔的天地。

## 第二节 实验室诊断的基本概念

医学检验学 (Medical Laboratory Science) 是当今生物学和医学中变化最快的专业之一。与医学有关的生物化学、生理学、免疫学、遗传学等科学知识的不断发展，以及在临床检验应用中的深入和疾病诊断间的密切关系，医学检验学无论从医学检验专业的教育和毕业后继续教育都进行了大量的改革。世界卫生组织 (WHO) 将临床检验技术人员分为 A、B、C、D 四个等级：A 级为高级技术专家 (Senior Technologist)；B 级为技术专家 (Technologist)；C 级为助理技术专家 (Assistant Technologist)；D 级为技术员 (Technician)。在美国与医学有关的实验室，常用专业人员称呼术语，临床检验科学家 (Clinical laboratory Scientist CLS)，临床检验技术人员 (Clinical Laboratory Technician CLT)，医学技术专家 (Medical Lechnoligist MT)，医学实验室技术人员 (Medical Laboratory Technician MLT)。

### 一、实验室诊断

自 70 年代，国外就提出内分泌功能的实验室诊断。Roberto F (1971) 专著“内分泌功能的检验诊断”，提出了垂体、甲状腺、甲状旁腺、胰岛功能与糖尿病、肾上腺、性腺等检验项目，以及实验室诊断指标，对内分泌疾病的实验室诊断进行了论述，这也许就是临床检验走向实验室诊断的初型。20 多年来，科技的全面进步，电子技术的飞速发展，临床检验项目由于新方法、新技术的应用，使检验项目迅速扩展到 1500 多项，能满足绝大部分疾病的诊断，检验学也得到不断的革新，新的观念逐步产生，实验室诊断越来越被临床医生们接受、应用，也得已深入发展。美国、法国与一些先进国家纷纷成立检验中心、特种检验中心、参比检验中心等，与影像中心对应，建立了两大体系的诊断技术，为临床对疾病的早期诊断、早期治疗创造了条件，并向现代预防医学发展。

实验室诊断必须具备以下条件：

1.仪器设备齐全 90 年代，是检验仪器进入电脑程序控制的全自动分析检验的时代，专用试剂和仪器使检验数据的准确度达到 99.7%，免疫分析的特异性和灵敏度，均可满足临床对疾病分子水平的诊断，前后对比的重复性，对疾病疗效观察也是非常可靠。由此，全自动仪器和配套试剂是达到实验室诊断的理想条件。

2.检验项目繁多 国外医学检验中心，其检验项目在 1500 项之多，可满足临床上绝大多数病种的检验，并且往往成系列化，可从多种角度来证实某种疾病的存在，由此，打破了常规化验只出数据，不给提示或诊断的简单检验方式。有了多种检验项目，可对某种疾病进行分析判断，而进一步达到提示或诊断。



3.技术性强 以往检验大多是临床常规化验或一般生化、细菌等化验，所以，相对技术性不是很高，而发展到现代检验，仪器设备繁多、分析检验方法先进多样、电脑程序控制和自动化程度高、临床应用广泛等，必须要有高知识人才来掌握，所以在检验界需要本科生、研究生，甚至博士生是科技进步的需要，也是检验技术向高新技术发展的需要。

4.与临床结合更加紧密 原来临床检验仅仅是检验的结果，让临床医生们应用，这可以说是应用技术。但如今的检验，应包含科学性、高技术和临床应用知识三位一体的概念，也就是说，检验要紧紧围绕临床诊断疾病，使临床医生们能按检验报告的提示来进行诊断。而不是像过去，检验报告仅仅是作为参考，甚至无足轻重。

5.电脑联网系列检验发报告 由于医学检验是一项目录多、操作步骤不一样、方法不同、仪器设备的先进性和技术人员水平等差异，均会给实验结果带来各种误差，为了控制实验误差，就要实行质量控制。应用电脑质量控制软件，使检验结果更加准确，主要包括批内误差分析、批间误差分析、试剂盒质量分析、操作人员熟练程度分析和测量仪器品质因素与测量误差分析等内容。在检测质量控制监督下发报告，使其数据可靠与临床诊断符合率高。所以检验质控软件的研制已势在必行。1992年我国由尹伯元首先研制放免质控软件，于1995年开始推广应用，已在放免中心试用成功。有了质控软件各实验室间联网，进行内质控和室间质控就很容易了，这将是提高检验质量必不可少的一步。所以，加快实现电脑联网，检验水平才能上档次，检验技术才能进一步发展，否则难与国际接轨。

系列检验是对靶器官、靶腺体或某系统进行全面检测，反映功能全貌的系列项目，进行分析和发报告的全过程，即当医生拿到检验报告后，可根据化验结果进行临床分析，甚至确诊疾病与疗效分析等。所以，系列检测既为临床诊断或疗效观察服务，也可作为预防疾病，达到早期发现、早期诊断目的的一种重要手段。系列检验是达到实验室诊断的重要组成部分，也是实现检验诊断的必经阶段。

## 二、实验室诊断在临床应用中的重要性

在临床诊断疾病的过程中，往往首先进行各种化验或照像（如X线、CT、核磁、ECT、PET和超声成像等），医生根据以上两方面的检查结果，与临床症状结合，然后诊断疾病。随着科技的进步，医学影像技术发展较快，而检验技术因受到仪器设备、技术水平等条件的限制，在很长一个时期中，发展较慢。但近10多年来，全自动化仪器的出现和多种试剂盒的商品化，为检验医学的发展注入了强劲的推动力。现在有的疾病可根据检验报告，直接诊断疾病，这样大大加速了实验室诊断的可能性。检验诊断报告与影像诊断报告就成为临床诊断的两大支柱。要实现检验诊断还需要两个条件：一是仪器设备先进、检验方法多、检验项目齐全、检验人员技术水平高与电脑程序控制和联网等各种硬件能适应实验室诊断的需要；二是临床医生们会应用，即能知道什么样的疾病，应检查哪些项目，能开出化验单，并会分析化验结果，这样检验与临床相结合，才能由实验室诊断过渡到检验诊断。所以，从我国目前状况来看，既有实验室装备和技术人才问题，更有临床医生水平问题，要将这两方面的差距都补上，还需一个相当长的时期。但从现在开始，已具备能对部分疾病进行实验室诊断者，应及时在临床上推广应用，逐步扩大和积累经验，定会加速与国际接轨，最终实现检验诊断。在我们推广放免技术的过程中，深深体会到临床医生们能掌握和熟练地应用放免分析是关键所在。所以，要实现检验诊断，临床医生水平的提高尤为重要。

## 第三章 内分泌系统特种检验与临床意义

### 第一节 甲状腺

#### 一、甲状腺功能检查项目

总甲状腺素 ( $TT_4$ )  
总三碘甲状腺原氨酸 ( $TT_3$ )  
游离甲状腺素 ( $FT_4$ )  
游离三碘甲状腺原氨酸 ( $FT_3$ )  
血清反  $T_3$  测定 ( $rT_3$ )  
甲状腺素结合球蛋白 (TBG)  
甲状腺球蛋白 (TG)  
促甲状腺激素释放激素 (TRH)  
促甲状腺激素 (TSH)  
TRH 兴奋试验  
抗甲状腺球蛋白抗体 (TGAb)  
抗甲状腺微粒体抗体 (TMAb)  
抗甲状腺过氧化物酶抗体 (TPO-Ab)  
抗甲状腺第二胶质抗原 (CA2) 抗体  
甲状腺刺激素抗体 (TSAb) 或称甲状腺刺激免疫球蛋白 (TSI)  
促甲状腺激素受体抗体 (TRAb)  
抗核抗体

#### 二、检测指标的评论

1. Caldwell 等 (1985) 就提出判断甲功的三大指标: sTSH、 $FT_3$ 、 $FT_4$
2. Hamburger 等 (1989) 提出甲功指标的用处分三种:
  - (1) 过时的指标  $T_3RU$  ( $T_3$  树脂摄取)、 $FT_4I$  (游离  $T_4$  指数)、 $FT_4$  (RIA 一步法) 等。
  - (2) 用处有限的指标 TBG (RIA)、TRH 兴奋实验、 $^{131}I$  摄取实验等。
  - (3) 有用的指标 sTSH、 $FT_4$ 、 $FT_3$ 、 $TT_3$ 、 $TT_4$ , 应增加 TG、TGAb、TMAb 和 TRAb 等有关抗体测定

#### 三、抗甲状腺受体抗体测定的临床意义

##### 1. TRAb

抗膜受体抗体与受体相关结构的抗体, 统称为 TSH 受体抗体 (TRAb), 它可分为兴奋性抗体及抑制性抗体两类:

(1) TSAb (甲状腺刺激抗体), 又称甲状腺刺激免疫球蛋白 (TSI), 可使甲状腺激素的合成与分泌增加, 有类似 TSH 刺激甲状腺合成  $T_3$ 、 $T_4$  的作用, 引起甲亢。Graves 病与此有关, 用于诊断 Graves 病。

(2) TFIAb (促甲状腺激素结合抑制抗体), 又称促甲状腺激素结合抑制免疫球蛋白 (TBIAG), 这类抗体使 TSH 受体得不到外源性刺激, 从而使细胞分泌  $T_3$ 、 $T_4$  功能下降。

## 2. 抗甲状腺细胞内各种组织成分的抗体

TGAb、TMAb、C2-Ab (抗胶质抗体), 这主要用于诊断甲炎。

## 3. TRAb、TSI、TGAb、TMAb 临床应用

### (1) TRAb、TSI 的应用

①用于诊断 Graves 病。约 80%—100% 患者可检出 TRAb 及 TSI, 如 TRAb 及 TSH 增高, 即使其他化验正常, 仍应考虑此病。对 Graves 病, 如血 TSI 升高, 常表明有复发; 下降则表明痊愈。对  $^{131}\text{I}$  治疗甲亢疗效的判断, TSI 升高多表明疗效较好, 但有人认为与此无关。

②用于孕妇及新生儿甲亢的判断。孕妇中若 TSI 升高, 预示婴儿可能罹患甲亢。新生儿若 TSI 升高, 则患甲亢机会更多。

### (2) TGAb、TMAb 的应用

正常人血清内 TGAb 升高者占 2%, TMAb 升高者占 10% 左右, 但临床发展为甲亢者仅 1%—2%, 若血清 TSH 同时处于边缘性高值者, 则有 3%—5% 的正常人在日后可发展成为临床甲低。

①抗体滴度低度增高。TGAb、TMAb 低度增高, 可发生在亚急性甲状腺炎, 表明患者可能有抗体的遗传倾向。以上情况亦可发生在甲状腺癌患者, 但对鉴别良性或恶性结节并无价值。若孕妇在产后发生上述情况, 应该警惕发生产后甲状腺炎。若在非毒性结节甲状腺患者中出现低滴度 TGAb 及 TMAb 的增高, 并不表明患者有甲亢或甲低出现。另一种值得注意的疾病是, 我们称为多腺体衰竭综合征 (PFS) 或称为多内分泌腺低下症 (MED)。

②抗体滴度有中等或高度增高。在 95% 桥本氏甲状腺炎患者可见到, 表明患者有甲状腺功能衰竭。在 50%—70% Graves 患者亦可见到, 但患者表现为甲亢, 这是由于患者同时有 TSI 明显升高所致。值得指出的是, 这类 TGAb 及 TMAb 同时增高的患者, 在治疗后容易出现甲低。另外, 混合型的自家免疫性甲状腺疾病, 又称桥本氏毒症 (Hashimoto's disease) 亦经常见到。1972 年 Graves 及 Thompson 报告 14 例典型自免甲状腺炎中有 13 例转变为甲亢, 1974 年 Lamberg 亦有报告, 以上抗体均可阳性。

四、诊断程序

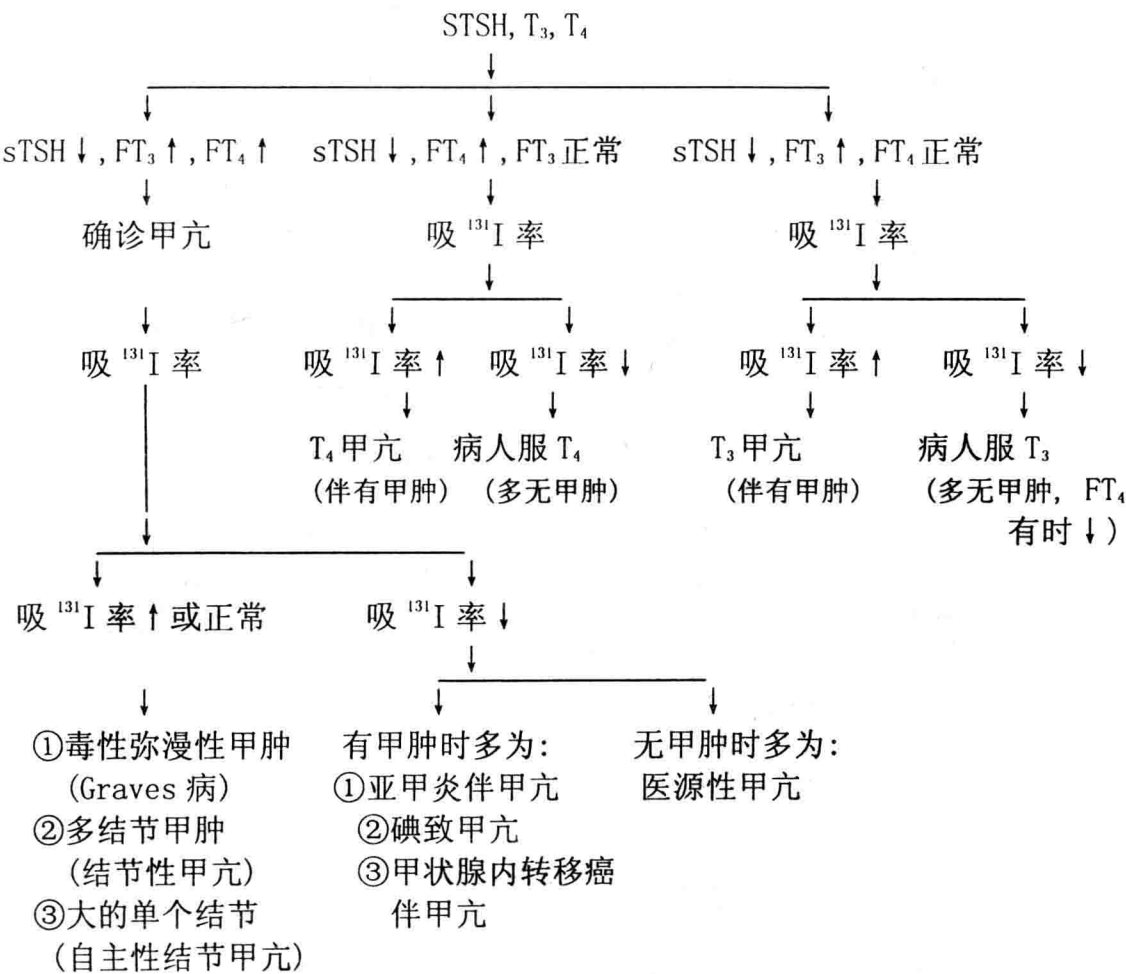


图 1 临床确诊为甲亢的步骤