

放射免疫分析临床应用讲义

北京北免东雅生物技术研究
所技术推广合作部

前 言

北京北免东雅生物技术研究所是一家专门研制、开发放射免疫、发光免疫等免疫诊断技术的研究所。是由原解放军总医院东亚免疫技术研究所和北京生化免疫制剂中心合并组建而成的。拥有李振甲教授等一批国内标记免疫分析界的知名专家。李振甲教授编写的有关放射免疫分析的十部专著至今为止仍是国内放免工作者的案头必备工具书之一。他在国内第一个研制出二十多种放免试剂盒,这些试剂盒的广泛应用,为我国临床科研工作者提供了有利的工具,李振甲教授因此荣获国家科技进步奖和军队科技进步奖多项。

我所在国家科委和澳大利亚政府全力帮助下,于1999年建成了GMP研究生产实验室,中澳两国政府合作的结晶《中澳合作肝炎诊断参比实验室》也于1999年6月30日正式成立,作为中澳合作项目的一部分,许多业务骨干在澳大利亚相关实验室接受了培训。国外先进的仪器设备、严格的科研实验管理对科研工作起了极大的促进作用。

放射免疫分析技术是近代超微量定量分析技术的基础,它对此后的酶免疫分析技术、化学发光免疫分析等技术的发展起了不可替代的作用,其发明人 Yalow 和 Berson 因此荣获1977年度诺贝尔生物学奖。放免分析技术由于其灵敏、特异、精确、操作简便、成本低廉、可开展的项目多等诸多优点在我国得到了广泛应用,为甲状腺、糖尿病、肿瘤、心血管、肾病、生殖与优生优育、胃肠、骨代谢等疾病的诊断治疗提供了重要的帮助。

我所为在全国各地推广普及提高放免、化学发光等免疫分析技术,与全国各地一些*医院联合成立了放免中心或特检中心。这些特检中心的成立,极大地方便了该地区及周边地区的病人求医和临床诊断治疗的需要。

为使临床医生进一步了解中心开展的近百项检测项目的正常值、单位及其临床应用,我所以我国放免界的知名专家天津医科大学尹伯元教授在全国各地讲课培训的讲稿为蓝本,编写了这本小册子,可作为临床医生选择检测项目、准确判断分析结果的参考。

欢迎介绍联办特检中心,欢迎来所参观指导。

北京北免东雅生物技术研究所
技术推广合作部

“800”免费咨询电话:8008100375

电话:010-64904496 64903856

传真:010-64903210

地址:北京市安定门外大羊坊六号

邮编:100012

目 录

第一节	放射免疫分析的基本原理和发展	(1)
第二节	放射免疫分析(RIA)在甲状腺疾病中的应用	(1)
	一 TRH (促甲状腺激素释放激素)	(2)
	二 TSH (促甲状腺激素)	(2)
	三 甲状腺	(3)
	四 甲状腺功能测定的指标	(6)
第三节	放射免疫分析(RIA)在性腺疾病中的应用	(6)
	一 GnRH (促性腺激素释放激素)	(6)
	二 LH、FSH	(8)
	三 催乳素(PRL)	(10)
	四 胎盘催乳素(hPL)	(11)
	五 靶器官(睾丸、卵巢)激素的放免分析与临床意义	(12)
	六 临床送检项目组合与评价	(14)
第四节	放射免疫分析在糖尿病和胰岛功能检测方面的应用	(15)
	一 胰岛组织学与分泌激素	(15)
	二 胰岛素原、胰岛素、C-肽的结构和生物特征	(16)
	三 胰岛素原、胰岛素、C-肽的生物合成	(17)
	四 胰岛素分泌与调节	(18)
	五 胰岛素的运转和降解	(18)
	六 胰岛素的作用和机理	(18)
	七 胰岛旁邻内分泌调节	(19)
	八 基因与糖尿病	(20)
	九 胰岛素受体及其异常症	(21)
	十 胰高血糖素(Glucagon, CL)	(23)
	十一 生长抑素(Somatostatin, SS)	(24)
	十二 胰岛素原、胰岛素和 C 肽的测定	(25)

第五节	放免分析与肿瘤标志物	(26)
一	肿瘤标志物(Tumor markers)	(26)
二	肿瘤标志物的分类	(26)
三	甲胎蛋白(Alpha-fetoprotein, AFP)	(27)
四	CEA(癌胚抗原)	(28)
五	CA-50(糖类抗原)	(29)
六	糖类抗原 CA-125	(30)
七	糖类抗原 CA-19-9	(31)
八	CA15-3	(32)
九	CA72-4	(32)
十	CYFRA21-1	(32)
十一	β 2-MG(β 2-微球蛋白)	(34)
十二	SF(血清铁蛋白)	(34)
十三	前列腺特异抗原的临床意义	(35)
第六节	放免分析在心血管疾病中的应用	(37)
一	肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)	(37)
二	前列腺素(PG)	(38)
三	心钠素(Cardionatrin)	(39)
四	内皮素	(39)
五	降钙素基因相关肽	(40)
六	血清肌红蛋白(SMb)	(40)
七	加压素(Vasopressin, VP)	(42)
八	血管活性肠肽(VIP)	(42)
九	地高辛的临床意义(略)	(42)
十	血清肌凝蛋白(CM)	(42)
十一	脂肪代谢与心血管病(略)	(43)
十二	心脏肌钙蛋白 T	(43)

放射免疫分析在临床医学中的应用

第一节

放射免疫分析的基本原理和发展

1959 年 Valow 和 Berson 创建了放射免疫分析(Radioimmunoassay, RIA)简称“放免”。

1977 年 Valow 荣获诺贝尔生物医学奖。

放免的基本原理是,利用放射性同位素标记的灵敏性和免疫学抗原—抗体免疫反应的特异性,所建立起来一门超微量分析的新技术,其特点如下:

灵敏度高:可测定 10^{-9} — 10^{-15} 克的物质。

特异性强:RIA 是利用抗原(Ag)、抗体(Ab)的免疫反应。Ag + Ab Ag + Ab,所以特异性强。

精密度好:指重复性好。

准确度高:指所测值接近真值。

由于放免试剂盒商品化、仪器自动测量,而达到简便,快速和批量检测等优点,国际上于 70 年代中期推广应用形成高潮,纷纷成立“放免中心”为临床服务。我国从 75 年开始引进这项新技术,79 年召开全国第一届放免技术经验交流会,可以说到 80 年我国才开始推广,但由于当时体制、财力和技术人员等限制,使放免技术发展不起来。1986 年,结合我国国情,提出与医疗单位联办放免中心的模式,得到各地方政府和医院的支持,至今在全国已办了 60 多个放免中心,遍布全国 27 个省市。这一举措大大促进了我国放免事业的发展,也间接地提高了临床医学诊断及疗效观察的水平。

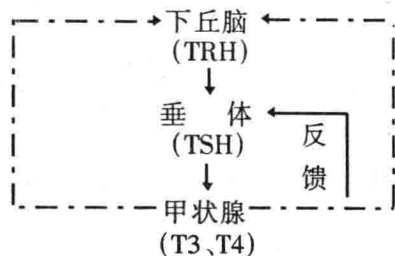
80 年代随着科技的不断进步,又出现了酶联免疫分析(EIA)和荧光免疫分析(FIA)。单克隆抗体的应用,RIA 发展为 IRMA(免疫放射量度分析),EIA 发展为 ELISA(酶联免疫吸附分析),FIA 又发展衍生出酶增强化学发光及电化学发光免疫等新技术。

放免、酶免与光免等新技术都是标记技术与免疫学原理相结合的分析方法,所以,统称为“标记免疫分析”。由于标记免疫分析的飞速发展,又进一步扩大了医学检验项目,使特种检验由几百项上升到千项,至 80 年中期,逐步形成“医学特种检验”,在国际上又纷纷成立“医学特种检验中心”。

第二节

放射免疫分析(RIA)在甲状腺疾病中的应用

甲状腺轴



大脑皮层



一、TRH(促甲状腺激素释放激素)

(一) TRH 的生化与生理

Guillemin 等(1969)从动物下丘脑分离出 TRH, 化学结构是焦谷—组—脯—NH₂ 三肽物质, 分子量 362.4。主要作用于腺垂体, 促使分泌 TSH 和 PRL。能否直接作用于甲状腺, 还不清楚。

(二) TRH 的临床意义

Bassiri 及 Utiger(1972)建立了 TRH-RIA。我国是由尹伯元等(1981)建立 TRH-RIA 和进行了临床观察。从临床上观察到由于下丘脑功能受损伤后, 会出现甲低症状。这是由于 TRH↓→使垂体分泌 TSH↓→导致甲状腺分泌 T₃、T₄↓之故。这种甲低称为“继发于下丘脑性甲低”。与另一种“继发于垂体性甲低”如何鉴别呢? 可应用 TRH-RIA 和 TRH 兴奋实验。

二、TSH(促甲状腺激素)

(一) TSH 的生化与生理

TSH 是一种糖蛋白, 由 211 个氨基酸组成, 分子量为 2.5-2.8 万, 由 α 亚基与 β 亚基组成, 与 LH、FSH、hCG 有免疫交叉反应。

	α 亚基	β 亚基	氨基酸总数	分子量
TSH	89	112	211	2.8 万
LH	89	115	204	3.4 万
FSH	89	115	204	3.1 万
hCG	92	145	237	3.9 万

由于 TSH 的 α 亚基与 LH、FSH 的 α 亚基从结构上很相似, 由此而产生交叉反应。所以, TSH-RIA 的灵敏度差, 只能测定 TSH 升高的疾病, 如原发性甲低。由于甲亢时 TSH 降低至接近于“0”, 所以应用一般 TSH-RIA 就不适合了。为了提高 TSH 的灵敏度和特异性, 近年来又出现了 TSH- β -RIA 和 IRMA 的 sTSH。因 TSH 的特异部分在 β 亚基, 从而研究和建立了由单抗的 TSH-IRMA, 使灵敏度达到 0.04 甚至 0.02 μ U/ml, 这样可以用此法来诊断甲亢, 与 FT₃、FT₄ 组成评价甲功的三项新指标。

TSH 的主要生理作用, 是刺激甲状腺分泌 T₃、T₄。经实验证明, TSH 是反映甲功最灵敏的指标。

(二) TSH 的临床意义

1. 对 TSH 测定的新认识

一般临床上以 T₃、T₄ 值作为判断甲状腺功能。后来又增加了 TSH 这个指标, 但由于 TSH-RIA 的交叉反应, 只能应用于甲低的诊断。近年来, 由于 sTSH 的应用, 发现它对区分甲状腺功能正常, 还是甲亢或甲低有着明显的区别, 即不重叠。在甲功少有变化时, s-TSH 就能显示, 所以对“亚临床甲亢”的提法有了较客观的指标。对甲亢的早期诊断也有着重要意义。

由于 FT₃、FT₄ 的测定, 对直接判断甲功情况更灵敏, 这样与 s-TSH 就构成了评价甲功的三大重要指标。

sTSH 在以下情况应用意义不大:

A. 垂体 TSH 瘤, 由于 TSH 分泌过高而继发甲亢者;

B. 抗甲状腺药物治疗时, 先是 FT3, FT4 开始恢复, 而后才是 TSH, 所以, TSH 不能作为疗效指标。

C. 继发于下丘脑甲低时, TSH 亦可增高的。一旦 TSH 增高再测 sTSH 就意义不大了。

D. 甲状腺激素不应症, 系遗传性疾病, 表现 I, 当 T3, T4 ↑ 时, 垂体对此不发生负反馈反应, 故 TSH 仍持续升高。是 TSH, T3, T4 均升高的高 TSH 甲亢。

II, 外周组织对甲状腺激素呈低或无反应, 血中 TSH, T3, T4 均增高, 但临床表现为甲低。

以上两种情况下检查 sTSH 则意义不大了。但由于这种遗传受体缺陷病很少见, 国际上自 1967-1972 年间报道了才 21 例, 所以主要是前三种情况查 sTSH 无意义。

2. TSH 的临床意义

(1) 甲低症

病 种	病变部位	TRH	TSH	T3	T4	TRH 兴奋试验
继发性甲低	下丘脑	↓	→ ↓	↓	↓	TSH ↑ 缓慢
	垂 体	→	↓	↓	↓	TSH 无反应
原发性甲低	甲状腺	→	↑ ↑	↓ ↓	↓ ↓	TSH 强反应

现在有的学者认为, 确诊甲低主要依据 sTSH 和 FT4, 如果 sTSH ↑ 而 FT4 ↓, 即是原发性甲低。如 sTSH ↑ 和 FT4, FT3 均 ↓ 为继发性甲低。下丘脑性甲低的 sTSH 有时可 ↑, 是由于垂体分泌生理活性低而免疫活性高的 TSH 所致, 但一般 TSH 是 ↓, 可利用 TRH 兴奋试验来鉴别。

(2) 甲亢

由于甲亢时 T3, T4 增高而负反馈抑制垂体分泌 TSH, 所以, 在甲亢时 TSH ↓ 至接近于“0”, 由此可确诊甲亢症。以上已提到 s-TSH, 则是诊断甲亢的指标。结合应用 FT3, FT4 将甲亢可分型:

sTSH ↓ ↓	FT3 ↑	FT4 ↑	甲亢
sTSH ↓ ↓	→	FT4 ↑	T4 毒症甲亢
sTSH ↓ ↓	FT3 ↑	↓	T3 毒症甲亢

(3) 甲肿

单纯性甲肿时, TSH 可 ↑, 当甲肿纠正后, TSH 可正常。

甲低性甲肿时, sTSH ↑, FT4 ↓, TG 抗体 ↑ (阳性)。与桥本氏甲状腺炎鉴别、主要依据是在急性期甲功影响不明显, 一旦出现 TG-Ab ↑, TM-Ab ↑、日后可能发展成甲低。

三、甲状腺

(一) T3、T4、rT3 (反 T3)

T3、T4 在甲状腺细胞内合成, 是碘化酪氨酸偶合而成, 储存于甲状腺滤泡腔内。在 TSH 刺激下, TG-T3、T4 由滤泡腔进入细胞内、经蛋白水解酶作用、使 T3、T4 从 TG 分子上游离下来、分泌入血浆中, 随血液循环参加代谢。

rT3 无生物活性, 并很快衰变, 起不到生理作用, 可能是 T4 脱碘成 rT3 为 T4 灭活过程的一种产物。例如, 在少儿、青少年时 rT3 低、而到老年时 rT3 高。

1. T₃、T₄、rT₃ 的临床意义

(1) 诊断甲亢、甲低

(2) 治疗甲亢时疗效评价的指标。在甲亢治疗过程中, T₃、T₄ 的下降早于临床症状的改善。

(3) 非甲状腺疾病中的应用

近 10 年来对非甲状腺疾病的甲功变化报道日益增多, 有人报道 70% 左右住院病人中均表现有甲功异常, 在抢救中心病人中可达 90% 以上。这些病人虽有甲功测定值改变, 但甲状腺功能处于正常状态。故称为“甲状腺功能正常病态综合征(Euthyroid Sick Syndrome)”。

A、低 T₃ 综合征(low T₃ Syndrome)

临床特点: 临床上无甲低表现, 甲状腺功能正常。血清 TT₃ ↓, TT₄ 偏低, FT₃ 和 FT₄ 正常、TSH 正常、rT₃ ↑。

病因: 周身疾病, 如糖尿病、肾衰、肝病、创伤、饥饿、心肌病、心衰、肺炎……等。还有药物和生理性等病因。

B、低 T₃、低 T₄ 综合征(low T₃, T₄ Syndrome)

临床特点: 仍无甲低表现, 血清 TT₃ ↓、TT₄ ↓、TSH 正常, rT₃ ↑, FT₃ 和 FT₄ 正常。本综合征是在上述低 T₃ 综合征中, 周身疾病的严重或临终前的表现。

C、高 T₄ 综合征(High T₄ Syndrome)

临床特点: 根据病因不同, 表现略有差异, 但血清测定 TT₄ 明显 ↑, TT₃ 偏高, FT₃, FT₄, rT₃, TSH 均正常。

病因: 由遗传性 TBG ↑、非甲状腺疾病如肿瘤、肝病和药物等病因。

2. 应用 TSH 辅助对新生儿先天性甲低的筛选。

3. 对甲功检查的评价

Calclwell 等(1985)提出甲功检查, 应包括: TT₃, TT₄, FT₃, FT₄, fT₄ 指数、T₃ 摄取率、TT₄/TBG、TSH 和 TRH 试验等。Homburger 等(1989)认为以下指标已经过时:

T₃ 摄取、fT₄ 指数、常规 TSH、TT₃、TBG、TRH 兴奋试验及吸碘率等。我们认为, 常规的 TSH、TT₃ 和鉴别诊断时应用 TRH 兴奋试验还是需要的。

该学者又认为可靠指标是: FT₃、FT₄、sTSH 的放免测定。

(二) FT₃、FT₄

T₄, T₃ 从甲状腺细胞分泌进入血液后, 绝大部分与血浆蛋白结合, 70% 的 T₄ 与球蛋白结合、29.66% 与白蛋白结合。仅有 0.04% 的 T₄ 自在游离状态。FT₃ 为 0.3%。

与蛋白结合的 T₄, T₃ ⇌ FT₄、FT₃ → 进入细胞与受体结合, 起到影响蛋白质的合成及调节代谢的作用。它还能在垂体部位反馈性的调节 TSH 的分泌。另一方面, T₄、T₃ 的分解, 也是由 FT₄、FT₃ 再脱碘分解排出。

FT₄、FT₃ 的临床意义

1. 血清 TT₄、TT₃ 受 TBG 生理性和病理性的影响, 如妊娠与肝硬化等。但 FT₄、FT₃ 不受其影响。

2. 对临床上疑甲亢、疑甲低的诊断

FT₄、FT₃ 能区别甲功亚临床状态的诊断、因 FT₄、FT₃ 在甲亢、甲低与正常值界限很少重叠。

3. 用于治疗甲亢或甲低的疗效观察, 以及判断用药量等。

4. 与 STSH 测定解决一些复杂的情况,见下表:

结 果 类 型			对 诊 断 的 考 虑	可 排 除 的 病 因
STSH	FT4	FT3		
↓ ↓ ↑ ↑			甲 亢	与甲状腺激素不应症、垂 TSH 不恰当地分泌过多、药物作用如安非他明的鉴别
↓ ↓ ↑ →			T4 毒 症	与服过量 T4、急性精神病、妊娠剧吐、使用肝素等鉴别
↓ ↓ ↓ ↑			T3 毒 症	与 服 用 T 3 鉴 别
→ → → 但 TT3 ↓			低 T3 综合征	临 床 无 甲 低 表 现
→ → → 但 TT4 ↑			高 T4 综合征	临 床 无 甲 亢 表 现

(三)TG、TG 抗体、TM 抗体

TG(甲状腺球蛋白)是在甲状腺滤泡柱状细胞内的一种糖蛋白,分子量为 6.6 万,含有 240 个氨基酸。一半是酪氨酸、是合成 T3、T4 时酪氨酸的来源。TG 只在甲状腺细胞内循环,一般不易漏到血液中的。所以,过去人们一直认为 TG 是一种隔绝抗原,不存在于周围血中,目前已知约 70-80% 正常人血清中亦可测到微量 TG。但在甲亢(占 60%)和慢性淋巴细胞性甲炎患者(80-90%)血中 TG 浓度很高。

正常值	7.5 ± 4.1ng/ml	(0.8-20ng/ml)
甲 亢	55.2 ± 56.3ng/ml	(5.0-300ng/ml)
甲 炎	152 ± 168ng/ml	(8.3-400ng/ml)
甲 癌	逐渐增高,滤泡性癌时为 20-60ng/ml,至晚期可达到 >150ng/ml 由此可区别甲炎与甲癌	

TG 抗体

由于 TG 因某种病理而溢漏到血液中后,将被体内免疫系统识别,而产生抗体、即 TG-Ab。这就引起自身免疫性疾病。

经测定发现:

甲炎(桥本氏)	TG-Ab 为 90% 强阳性
甲亢	TG-Ab 为 40% 阳性
甲肿	TG-Ab 为 25% 阳性
甲癌	随病情而出现阳性(23%)

由此,可将 TG、TG-Ab 来作为自身免疫性疾病、甲炎、Graves 病诊断的依据,也可作为诊断与治疗甲癌的指标。

TM 抗体

TM 抗原存在于甲状腺上皮细胞浆内,是一种脂蛋白,分子量为 13000。在某些甲状腺疾病中时,TM 由细胞内向外周血中溢漏,而刺激机体产生相应抗体。

甲炎	95% 为阳性
----	---------

甲亢 50%为阳性

甲肿 弱阳性

由此而区别自身免疫性甲炎和 Graves 病。

TSH 受体抗体(TSH receptor antibodies, TR - Ab)

近年来,应用 TRAb 来诊断 Graves 病,因为发现有 80 - 90% 的 Graves 患者可检出 TRAb,有人认为在甲亢病中如何来确定 Graves 呢,只要发现 TRAb,及 TSI(刺激甲状腺功能的刺激性抗体,也称甲状腺刺激免疫球蛋白)增高,就可诊断为 Graves 病。Graves 病是甲亢中由自身免疫性原因引起的,这种病人体内有长效甲状腺刺激素(称 LATS)、与 TRAb、TSI 等这类免疫球蛋白,可以与甲状腺滤泡细胞膜的 TSH 受体结合,可引起腺苷环化酶的活化,使 CAMP $\uparrow$, T3 与 T4 合成和分泌 $\uparrow$,其作用与 TSH 相似,但又不象 TSH 那样受到 T3、T4 的负反馈调节,而是使 T3、T4 持续性 $\uparrow$,引起甲亢。

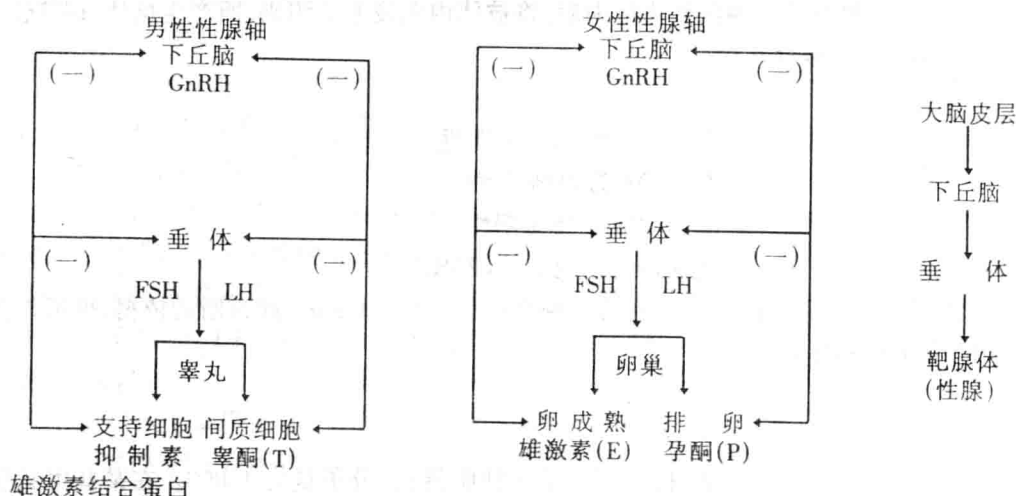
四、甲状腺功能测定的指标

TRH、TRH 兴奋试验、TSH、sTSH、TSH 受体、TSH 受体抗体(TRAb)、TT3、TT4、rT3、FT3、FT4、TG、TG - Ab 及 TM - Ab 等。其中 FT3、FT4、sTSH 在评价甲功中意义更大。在临床上开化验单时如何来组合以上项目呢,建议如下:

抗甲状腺抗体系列	TG - Ab + TM - Ab + TSAb + TRAb
甲功四项	T3 + T4 + rT3 + TSH
甲功六项	FT3 + FT4 + T3 + T4 + rT3 + TSH
甲功全项	FT3 + FT4 + T3 + T4 + rT3 + TSH + TG - Ab + TG + TM - Ab + TSH 受体抗体(TRAb) + TSI
甲功新三项	FT3 + FT4 + sTSH

第三节

放射免疫分析(RIA)在性腺疾病中的应用



一、GnRH(促性腺激素释放激素)

1. GnRH 的生化生理和临床意义

GnRH(gonadotropin releasing hormone, GnRH)是个十肽物质,分子量 1181,能刺激垂体释放 LH、FSH,因而统称为 GnRH。

GnRH 的生理作用:

1. 促腺垂体功能 GnRH 从正中隆起释放入垂体门脉血管,呈脉冲式释放,垂体 LH 和 FSH 也是脉冲式分泌。男性脉冲周期为 73.3 ± 6.5 分钟,女性为 70 ± 10 分钟/脉冲。

2. 抑制性腺的作用 大剂量外源性 GnRH,对生殖系统有抑制作用。

GnRH 的临床意义:

国外已建立了 LRH-RIA,但由于 LRH 半衰期极短,外周血中浓度很低,常在 RIA 可测范围之外,所以,必须建立高灵敏度的 IRMA 法,才能测定血中 GnRH 的含量。

GnRH-RIA 主要应用于生理意义方面的研究,如 LRH 的频率、幅度及药代动力学的研究。在临床上主要应用于性腺轴系功能试验。

性腺轴系功能试验:

应用药物功能试验来评估下丘脑—垂体—性腺轴每个水平的功能储备状态,以鉴别诊断。

(一) 克罗米酚试验

克罗米酚的作用机理,是与雌激素(E)竞争下丘脑/垂体细胞内 E 的受体,阻断 E 对下丘脑/垂体的负反馈作用,引起 GnRH 分泌增强,从而增加 GTH 的释放。用此原理来鉴别下丘脑功能和垂体储备功能。

方法:试验前一天和当天两次取血测 FSH、LH 和 T 的基础值,然后口服可罗米酚 200mg/日,共 10 天,第 9、10 天分别取血测 FSH、LH、T。

结果:正常反应: LH 较对照值 $\uparrow 72-245\%$

FSH $\uparrow 45-130\%$

T $\uparrow 40-220\%$

异常反应:

无反应:低促性激素型性功能低下(HH)

单纯性青春期延缓

无青春期发育患者

垂体肿瘤患者

意义:本试验对估价青春期发育有一定意义。可罗米酚对青春期前和青春早期儿童的 GTH 产生抑制作用,用成人量的 1%,即可使青春期前儿童的 GTH 降低,而青春晚期儿童下丘脑开始明显活动,对此药可产生阳性反应。以此提供下丘脑功能成熟的情况。

本试验已被 LRH 刺激试验所取代。

(二) GnRH 刺激试验

人工合成的 LRH(可代替 GnRH 的作用)能刺激垂体前叶释放 GTH、LH 和 FSH 的统称,用于检查垂体储备功能。

方法:有三种

1. 单次静脉推注法

静脉一次注入 $50-150\mu\text{g}$ LRH,注前后 15、30、45、60、90、120 分钟取血,测 LH、FSH。正常人 GTH 呈现单峰反应,注入 LRH 后 LH 迅速升高,15-30'达到高峰,FSH 反应较迟缓,

其幅度比 LH 明显低。

结果分析

无反应:各类型 HH(包括特发性、下丘脑病变)

青春延缓期

15%垂体瘤患者呈正常反应

本法虽简单,但不能区分 HH 与青春延缓,所以诊断价值不大。

2. 4 小时连续静脉滴注法

将 $240\mu\text{g}$ LRH 溶于 480ml 生理盐水,以 $1\mu\text{g}/\text{分}$ 的速度静滴 4 小时,滴前 20'、0',滴后 15'、30'、45'、60'、90'、120'、150'、180'、210'、240' 用三通管分别取血 3ml,测定 FSH、LH。此法麻烦,但优点是正常人可出现 GTH 的双相反应。即在 20' - 30' 出现第一个峰值,以后稍下降,90' 后 GTH 又逐渐上升,在 90' - 120' 内出现第二个峰值。

第一峰值反应 LH 储备状态。

第二峰值反映 LH 合成释放功能。

这种方法有利判断某些下丘脑和垂体轻微病变。但对 HH 和青春延缓期病人仍有重叠现象,还不能完全鉴别。

3. 脉冲式给药法

以 $20\mu\text{g}/\text{脉冲}/90$ 分钟的频率静脉给药,6 小时给 4 个脉冲共 $80\mu\text{g}$,每次脉冲前和后 0'、10'、40'、70' 取血测 LH 和 FSH。也有用单次和脉冲联合刺激试验。第一天早晨一次静脉推注 $60\mu\text{g}$ LRH,次日下午 6 时到第 4 天上午 6 时,用脉冲间断给药泵以 $5\mu\text{g}/\text{脉冲}/90'$ 的频率静滴,36 小时内共给 24 个脉冲,总量为 $120\mu\text{g}$ 。每次脉冲后 30' 取血测 FSH、LH。第 4 天取下给药泵后于上午 8 - 10 时再静脉推注一次。

此法复杂,需给药泵。但优点是模仿生理脉冲给药,可比较前后两次静脉推注法的反应结果,能更准确地判断垂体功能。可以清楚鉴别 HH 和青春期延缓,后者 LH 反应明显高于 HH 组,两组无交叉重叠之处。

(三) hCG 刺激实验

hCG 具有 LH 活性,能刺激睾丸间质细胞合成与分泌 T,用 HCG 刺激试验,可检查睾丸间质细胞的功能状态。

方法:每天注射 4000IU,共 4 天,第 3 和 4 天血清 T 至少上升一倍(50 - 200%)。有的学者提出一次注射法,注射 2 小时出现第一个峰。48 - 72 小时第二个峰。

结果分析:

无反应	无睾症、睾丸间质细胞不发育、睾酮合成酶缺陷者。
反应迟缓	隐睾者
反应差或不反应	HH 患者
不同程度反应	Klinefelter's 综合征男性真假两性畸形
接近正常反应	青春延缓者

二、LH、FSH

腺垂体分泌的促性腺激素(gonadotropin hormone, GTH)有促卵泡激素(FSH)及黄体生成素(LH)。

GTH 的生化:

FSH、LH 均为糖蛋白,FSH 有 204 个氨基酸组成,分子量为 3.2 万,LH 有 204 个氨基酸组成,分子量为 3.4 万。整个分子由 α 和 β 两个亚基组成。LH、FSH、hCG、TSH 的 α 单位相似,而 β 单位特异:

	α 单位	β 单位	总数	分子量
FSH	89	115	204	31000
LH	89	115	204	34000
hCG	92	145	237	39000
TSH	89	112	211	28000

特异活性

GTH 的生理作用:

FSH 及 LH 在男性生殖活动中的作用

	FSH	LH
作用部位	曲细精管 支持细胞	曲细精管间结缔 组织中间质细胞
作用	↓ 雄激素结合蛋白 抑制素	↓ 雄激素

FSH 有启动精原细胞的分化作用,所以,对男性青春期前的睾丸起着主导作用,而 LH 则是青春期后的主要激素。FSH 与 LH 之间总是协同作用的。

如果没有 GTH,就失去 FSH 对生精的启动作用,也失去 LH 对间质细胞的合成雄激素的作用,将造成精子发生只能进行到有丝分裂前期,百不能完成精子减数分裂。FSH 又对精子细胞变为成熟精子时发挥其最后作用。

在女性:FSH 促进卵泡的早期成熟,而最后成熟则需要与 LH 共同作用下。FSH 促进雌激素的生成。LH 在卵泡期与 FSH 一起促进卵泡成熟,雄激素的合成与分泌,但主要是促进排卵和排卵后的卵泡转变为黄体,以及合成和分泌孕激素。

个体发育阶段性激素变化

发育阶段	激素变化
胎 儿	80 天时,胎儿垂体开始分泌 FSH、LH、150 天以后,GnRH $\uparrow\uparrow$,性甾体激素 $\uparrow$,促使性分化。
婴儿、儿童	FSH、LH $\uparrow$,女性比男性更高,负反馈形成。
接近青春期	GnRH $\uparrow$,FSH、LH 持续 $\uparrow$,性激素 $\uparrow$ 。
青 春 期	LH 周期性分泌 $\uparrow$,促使第二性征发育,正反馈机制成熟,LH 峰形成,男子开始生精,女子开始排卵

LH、FSH 的临床意义:

(1) 闭经的原因分析

病变部位	GnRH	LH	FSH	E2	GnRH 兴奋试验
下丘脑性闭经	↓	↓	↓	↓	LH、FSH 迟缓 ↑
垂体性闭经	→	↓	↓	↓	LH、FSH 弱反应
卵巢功能衰竭	↓	↑↑	↑↑	↓↓	无或弱反应

低 LH < 5mu/ml 为 GTH 功能不足, 而高 FSH > 40mu/ml 卵巢滤泡已耗竭, 如 FSH 与 LH 均升高, 则绝经期。

(2) LH/FSH 比值 > 2 为多囊卵巢综合征

(3) PRL、FSH、LH、T、E2 与男性功能的评价

a) 均正常, 可排除生殖内分泌疾病;

b) PRL 升高, 可能是高 PRL 血症或垂体腺瘤;

c) FSH、LH、T 均低, 性功能下降, 睾丸功能低下;

d) FSH、LH 均升高, T 为下降, T/LH 低下为睾丸功能衰竭;

e) 青春期前儿童 LH、FSH 升高 T 升高而皮质醇正常为真性性早熟。LH、FSH 正常而 T 升高, 皮质醇升高为假性性早熟。

(4) GTH 瘤, 其 LH 和 FSH 水平与临床症状与垂体组织被破坏程度有关。随肿瘤增大, 出现性功能低下, 头痛、视力减退等症状, 但始终不出现性功能亢进。

(5) 更年期妇女的变化

a) E2 明显下降, 至 13-18pg/ml (正常 120pg/ml) E2 是肾上腺皮质和 T 转化而维持低水平。

b) E3 和 P 均也下降。

c) GTH 分泌过多, 则 LH、FSH 明显上升。

(6) LH、FSH、E2 可预测排卵期, 经后第八天取血, 连续测 LH、FSH、E2。有 LH 峰出现后 24-36 小时排卵, 就此进行人工授精。

三、催乳素(PRL)

(一) 生化

PRL 是一种蛋白质激素, 有 199 个氨基酸组成, 分子量为 2.2 万, 与 GH 结构相似, 曾怀疑 PRL 与 GH 是否同一物质, 因 GH 也有催乳作用。后发现缺乏 GH 的妇女仍有生乳功能。溢乳症妇女 PRL 升高而 GH 下降, 证明 PRL 与 GH 不是同一物质。

(二) 生理作用

1. 对乳腺与泌乳的作用

PRL 促进乳腺发育生长, 起动和维持泌乳。女孩青春期乳腺发育主要是 E。但妊娠期 PRL 促使乳腺增强发育, 至产后 PRL 大大上升到高峰, 增加泌乳。

2. 对卵巢的作用

在低等动物, PRL 对卵巢类固醇激素合成有一定作用。但对 PRL 是否对人卵巢有作用还持不同意见。

3. 对水、渗透压的影响

在胎儿,PRL除维持体液与渗透压平衡中起作用外,还可能与胎儿肺的发育有关。成年人,以上作用不存在。

4. 在应激反应中的作用

在应激情况下,如剧烈运动、外科手术、电休克等,PRL升高。发现心肌梗塞病人PRL与ACTH、GH同时升高,可能是应激反应。

5. 增强LH对睾丸间质细胞的作用,使合成T升高。

6. 其他作用,如对心血管的作用等。

(三) 临床意义

1. 在高催乳素血症中的应用

血清PRL基础值 $>30\text{ng/ml}$ 为高PRL血症。主要临床表现是生殖功能不良,女性闭经、不孕、溢乳、多毛症等。男性出现阳萎、性功能下降、乳房发育、要与PRL瘤鉴别。

2. 高PRL血症与乳癌关系

有学者认为,PRL升高是乳癌发生的重要因素,因为80%的乳癌病人有高PRL血症。乳腺良性病变仅4%病人有高PRL血症。动物实验也证实PRL能刺激乳癌的生长。也有持相反意见。如70名长期患者持续乳溢—闭经而无一例患乳癌,也有报导,高PRL血症病人的乳癌发生率不比一般人群多等等。

3. 高PRL血症与不孕症

近年研究证实,PRL可致不孕,其发生率为13—30%,PRL升高时,引起闭经与卵巢功能障碍。高PRL血症主要作用下丘脑水平,GnRH下降,抑制垂体促性腺激素的分泌。也作用于卵巢,使性激素合成障碍,表现E₂下降,孕酮下降。

临床对高PRL血症应用溴隐停治疗,对90%垂体一下丘脑性不孕(肿瘤性和非肿瘤性)病人能恢复月经并受孕。

4. 高PRL血症与男性性功能减退

PRL直接参与性成熟过程,并有多方面的作用,包括对雄激素的作用。男性高PRL血症并发性功能下降,其作用是对下丘脑—垂体功能的抑制,而阻碍了T的合成。在治疗上可应用溴隐停与促性腺激素的联合治疗,既改善了下丘脑—垂体功能,又促使合成的分泌睾酮,达到恢复正常性功能。

5. 高PRL血症与男子乳房发育

高PRL血症可引起男子乳房发育,这主要是PRL的作用,产生乳房发育。应用溴隐停治疗效果很好。

四、胎盘催乳素(hPL)

hPL是单链多肽激素,分子量22300,由191个氨基酸组成,其中有162个(85%)的氨基酸与人垂体分泌的GH相同,其氨基酸顺序与人PRL相似,由于三者结构相似,称为催乳素族,它们可能具有一个共同的基因祖先。所以,hPL表现出GH和PRL双重生物活性。hPL促进生长的作用只有GH的1/100,但由于分泌量很大,对孕妇会产生强的生理效应。hPL是个大分子,几乎不进入胎儿,但对人类妊娠作用机理还不清楚,有人认为可能通过拮抗胰岛素的作用而实现的。

临床意义:

自妊娠第五周开始,母血中可由RIA测出hPL,至第35周时达到高峰,以后一直维持此

水平到分娩,产后迅速下降,于产后七小时即测不到了。

1. hPL 水平与胎盘的大小关系

已证实,hPL 的水平与胎盘的大小有明显关系,胎盘大小又与胎儿大小有关。所以 hPL 可间接反映胎儿发育状态。

2. 在睾丸上皮癌、卵巢恶性肿瘤、肺大细胞癌等亦可产生 hPL 这与滋养叶性细胞有关。

3. 葡萄胎时,hPL 的水平低,而 HCG 的水平高,这种分离现象对诊断很有意义,又进一步研究。

葡萄胎—恶性葡萄胎—绒癌,随恶性度的增高,其 hPL 值反而下降,因此可以用 hPL 的变化作为绒癌的辅助诊断。

4. 先兆流产 早期妊娠伴阴道流血时胎儿结局不定,但出现母体 hPL 下降,常提示预后不良,如出现连续下降,则可能胎儿已流出。这里预测先兆流产比 HCG 更灵敏,特别对预后判断更有价值。

5. 先兆子痫与高血压 Spellacy 对高血压孕妇定出在孕 30 周后,hPL 值低于 $4\mu\text{g/ml}$ 为胎儿危险界限,提示 24% 胎儿死亡,Kelly 认为高血压患者妊娠 28 周后伴有 hPL 下降至平均值 2SD 以下时,75% 胎儿有危险。

在先兆子痫时,hPL 水平是下降,如 hPL 逐渐上升,胎儿预后尚可。如反而下降,则预后不良, $4\mu\text{g/ml}$ 以下数值亦为胎儿危险的界限。

6. 糖尿病 妊娠合并糖尿病时胎盘大,hPL 水平相应升高,这为正常现象,如胎儿出现异常,也表现 hPL 下降,临界水平 $5\mu\text{g/ml}$ 以下。

7. 死胎 hPL 水平在胎儿死亡前低。

8. 胎儿合并症 正常孕妇 hPL 值在妊娠 6 周内有三倍以上低于 $4\mu\text{g/ml}$,则 71% 胎儿有合并症危险。

总之,母血 hPL 水平的动态观察,可及时反映妊娠时胎盘的功能变化,对监护胎儿安全与高危妊娠等发展,预测妊娠结局,指导临床诊断和治疗处理都有价值。故在国外将 hPL 测定列为妊娠妇女的常规检查。

五、靶器官(睾丸、卵巢)激素的放免分析与临床意义

(一) 睾酮(T)

生理作用:

T 和 FSH 一起促进睾丸曲精细管的发育和精子的成熟。

合成部位:男:睾丸间质细胞、肾上腺皮质网状带

女:肾上腺皮质、卵巢门细胞

临床应用:

1. 运动员的检测和应用

雄烯二酮(雄甾二酮)→睾酮(T)→运动员骨骼肌肉的生长提高成绩,比赛时提高爆发力、耐力冲刺力……等。

2. 男性性功能的检测与 LH、FSH 的调节功能。

3. 女性 Cushing 综合症:T 升高、出现多毛症、男性化特征与肾皮亢进引起 T 分泌异常有关。

(二) 雌激素(E)

卵巢合成三类类固醇激素、雌激素、雄激素、孕激素。雌激素有：E₂、E₁、E₃。E₂ 量最多，活性也最强。E₂ 在肝内转化为 E₁ 和 E₃，因此测定 E₂ 能表示卵巢功能。

临床意义

1. 维持正常月经周期。
2. E₂ 在葡萄胎升高、妊娠毒血症下降、无脑儿下降。
3. E 与动脉硬化有关，有抗动脉硬化的作用。
4. E 与绝经后骨质疏松有关，E 下降引起 Ca 利用下降，绝经后降钙素下降，骨质减少，引起骨质疏松。

(三) 孕酮(P)

孕酮有少量来自卵巢，大部分由肾上腺皮质分泌的孕烯醇酮转化而成：胆固醇→ Δ^5 孕烯醇酮→孕酮→醛固酮

皮质醇

P 在卵泡期很低，随 LH 峰的出现 P 也升高，在排卵期后 5-10 天 P 与 E 出现峰值。

P 主要作用于子宫内膜和子宫肌，是孕卵着床的必需激素，维持妊娠期。由于子宫 P 受体的含量受 E 的调节，P 在 E 作用基础上发挥作用。因此测 P 的同时测 E₂。P 能促进乳腺发育，与醛固酮有拮抗作用，促进尿钠的排出，可升高基础体温，所以黄体期妇女的基础体温升高。还使消化道平滑肌的紧张性下降，而在妊娠时发生痔疮、便秘等。

正常值：卵泡期 $0.79 \pm 0.40 \text{ ng/ml}$

排卵期 $2.05 \pm 1.11 \text{ ng/ml}$

黄体期 $13.59 \pm 4.25 \text{ ng/ml}$

临床意义：

1. 正常妊娠中从第 11 周开始，血中 P 升高，至第 35 周达到高峰，在病理妊娠，如先兆流产时，出现 P 下降趋势，提示有流产的可能。

临床上测尿 17-KS 17-羟来反映皮质功能，但不能反映男性激素水平，因为 17-KS 是皮质激素的代谢产物从尿中排出，在男性 17-KS 2/3 来自肾上腺皮质，1/3 来自睾丸。所以，直接测定 T 量才有意义。

2. 葡萄胎时血中 P 水平比正常妊娠为高。而绒毛膜癌时血与尿中 P 水平均较低。
3. 轻度妊娠毒血症时，P 升高，而严重妊娠毒血症时 P 下降。

(四) 绒毛膜促性腺激素(hCG)

hCG 为糖蛋白，与 FSH、LH、TSH 一样，由 α 、 β 亚基构成四级结构，其生物学活性由 β 亚基决定。由 237 个氨基酸组成，分子量为 25700。FSH、LH、TSH 与 hCG 四种激素的 α 单位相似，只有 β 亚基各自特异，这可能是共同来自一个古老的单链蛋白祖先进化而来，其基因的复制也相似，又在各自基因与作用过程中发生变异，而在 β 单位上发生变化形成特异之处。

hCG 由胎盘绒毛滋养液细胞合成与分泌，主要维持黄体机能。也存在对胎儿的作用，在胎儿垂体分泌 LH 前，可促进胎儿睾丸分泌睾酮。

临床意义：

1. 对早孕的诊断

1967 年，Aono 首先将 hCG-RIA 应用于临床

1968 年 Goldstein 等先后证明 hCG-RIA 确比生物活性法(雄蟾蜍试验)、免疫抑制法及