

• 论 著 •

不同化学发光法系统测定血清人生长激素水平的现状分析*

谭延国¹, 刘楠², 田野¹, 李佩¹, 郑芳芳¹, 聂秋燕¹, 刘晴¹, 王晓宁¹, 古媛¹, 张岩¹

(1. 首都医科大学附属复兴医院检验科, 北京 100038; 2. 首都医科大学医学

检验系 2012 级本科毕业生 100050)

摘要:目的 探讨不同化学发光检测系统测定人生长激素(hGH)水平的可比性。方法 对 15 例做人生长激素(hGH)激发试验的患儿采集 75 份静脉血标本(基础水平、激发试验后 30、60、90、120 min),使用 3 种化学发光系统:化学发光酶免疫分析系统(CLEIA)、电化学发光免疫分析系统(ECLIA)和微粒子化学发光免疫分析系统(CMIA),同时测定血清 hGH 水平,并计算各时间点 hGH 与其基础水平的比值(hGH-R),进一步使用 Bland-Altman 法对方法学间的一致性进行分析。结果 (1)CLEIA-ECLIA 间只有基础水平、ECLIA-CMIA 间于激发试验后 120 min hGH 水平具有较好一致性。其余任意 2 个检测系统间、于任何时间点 hGH 水平均不一致。(2)引入 hGH-R 后,只在 ECLIA-CMIA 间、于激发试验后 30 min 具有较好的一致性,其余各时间点、任意 2 个检测系统间均不一致。结论 血清 hGH 水平仅偶尔在特定检测系统间、于激发试验特定时间点具有一致性;hGH-R 的引入,对提高 hGH 在各检测系统间的可比性帮助不大。

关键词:人生长激素; 生长激素激发试验; 化学发光免疫分析系统

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.02.004 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)02-0161-04

Analysis of serum human growth hormone levels by different chemiluminescent immunoassay systems*

TAN Yanguo¹, LIU Nan², TIAN Ye¹, LI Pei¹, ZHENG Fangfang¹,
NIE Qiuyan¹, LIU Qing¹, WANG Xiaoning¹, GU Yuan¹, ZHANG Yan¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Fuxing Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China;

2. Grade 2012, Department of Medical Laboratory, Capital Medical University, Beijing 100050, China)

Abstract: **Objective** To investigate the comparability of human growth hormone (hGH) levels by different chemiluminescence detection system. **Methods** Totally 75 venous blood samples (including samples at baseline, 30, 60, 90, 120 mins after the GHTT) were collected from 15 children with the growth hormone stimulation test. Serum hGH levels were measured by three chemiluminescence systems (CLEIA, ECLIA and CMIA), hGH-R at each time point was calculated, and Bland-Altman method was used to analyze the consistency between the two methods. **Results** (1) CLEIA-ECLIA was only basal level, 120 mins after CLEIA-CMIA stimulation, hGH level had a good consistency. Between the other two detection systems, hGH levels were not consistent at any time point. (2) After hGH-R was introduced, ECLIA-CMIA, 30 mins after stimulation, had a good consistency. The remaining time points, any two detection systems were not consistent. **Conclusion** Serum hGH levels are only occasionally consistent at specific detection system, in the excitation test specific time point. The introduction of hGH-R does not help to improve the comparability of hGH among the detection systems.

Key words: human growth hormone; growth hormone provocation test; chemiluminescent immunoassay systems

近年来随着社会的进步,以及医疗水平的提升,儿童身材矮小逐渐被各方面所重视。生长激素缺乏症、巨人症和肢端肥大症等均为生长激素分泌异常所致,所以准确地测定人生长激素(hGH)水平对正确诊断上述疾病十分必要,并为采取必要的干预措施提供依据^[1-2]。随着血清 hGH 测定在临床实验室的逐步开展,现已成为常规检测项目之一。

不同的 hGH 检测系统,由于所使用的抗体针对抗原位点的异质性、校准所使用标准品的不同,来自不同检测系统的 hGH 结果可能存在较大的差异^[3]。以往对 hGH 水平的测定常用放射免疫分析法^[4]。随着近年来化学发光法的普及,使用化学发光法测定血清 hGH 已成为主流方法,但仍缺乏不同检测系统间可比性的相关信息。本文就 3 种化学发光检测系统测定 hGH 结果的可比性进行初步探讨。

1 材料与方 法

1.1 标本来源和采集 所有静脉血标本均来自首都医科大学

附属复兴医院儿科病房、疑似 hGH 分泌异常的 15 例患儿。由于随机血清标本 hGH 水平很低,无法捕捉到释放的峰值,而且只检测基础值也无法反映 hGH 分泌是否正常,故采用 hGH 激发试验来评价 hGH 的分泌状况^[4-5]。

1.2 方法 嘱受试者于激发试验前一晚开始禁止食物和水的摄入、清晨静卧以及实验全过程禁食。静脉注射胰岛素 0.1 μ/kg(静脉注射的优点是药物直接进入血,减少消化吸收因素的影响,使药物能迅速起效)前和激发试验 30、60、90、120 min 分别采集 3 mL 静脉血,共计 75 份。在激发试验过程中监测血糖水平,防止出现低血糖反应。标本采集后及时离心并分离血清,置于 -80 ℃ 冰箱冻存,并于同一时间复溶后完成所有测定。

1.3 仪器和试剂 3 种 hGH 检测系统分别为化学发光酶免疫分析系统(CLEIA)、电化学发光免疫分析系统(ECLIA)和微粒子化学发光免疫分析系统(CMIA),分别由各自的化学发光

* 基金项目:卫生部医药卫生科技发展研究中心专项课题资助项目(28-5-5);首都临床特色应用研究(吴阶平)(Z1411020060000)。

作者简介:谭延国,男,主任技师,主要从事临床检验诊断学的研究。

分析仪:北京科美生物技术公司的 CHEMCLIN 600、罗氏诊断公司的 Cobas e601、西门子公司 immulite 2000 及各自的配套试剂构成。定标液和质控品均为各检测系统的配套产品。实验操作均严格按说明书规定的标准流程进行,室内质控品的测定随标本同时进行。3 种检测系统所测定的 hGH 水平单位均为 ng/mL。

1.4 统计学处理 使用 SPSS19.0 软件进行统计学处理。以 hGH 的基础水平和激发试验后各时间点 hGH 水平的绝对值、以及激发试验各时间点 hGH 水平分别与各患儿基础水平的比值(hGH-R)为观察指标。hGH 水平和 hGH-R 分别按激发试验各时间点,于各检测系统间进行可比性分析。正态分布的数据采用 $\bar{x} \pm s$ 描述。非正态性分布的数据,由于标本例数关系,使用 $M(\min, \max)$ 表示。不同检测系统间一致性分析,采用 Bland-Altman Analysis 进行。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同检测系统测定血清 hGH 水平的现状分析。

2.1.1 不同系统检测血清 hGH 水平统计学描述 由于各种检测系统于各时间点所测定的血清 hGH 水平均符合正态分

布,血清 hGH 水平采用 $\bar{x} \pm s$ 描述,见表 1。

2.1.2 不同检测系统间血清 hGH 水平一致性分析(分时段)

采用 Bland-Altman Analysis 分析不同系统间 hGH 水平的可比性。即计算来自同一标本、2 个不同系统所测得的 hGH 水平之差值(DIFF),再用单样本 t 检验比较 DIFF 值是否接近零。当单样本 t 检验的 $P > 0.05$ 时,DIFF 水平不随 2 个系统 hGH 水平的均数有系统性变化(线性回归时 $P > 0.05$),以及超出 $DIFF \pm 1.96s$ 的标本例数较少时,认为这 2 个系统具有可比性。结果显示,CLEIA-ECLIA 间只有基础水平、ECLIA-CMIA 间于激发试验后 120 min 符合上述 3 个条件,结果具有较好一致性。其余任意 2 个检测系统间、于任何时间点血清 hGH 水平均未见具有一致性。见表 2。

2.2 不同系统测定 hGH-R 的现状分析 由于激发试验后 30、60、90 min,不同检测系统间 hGH 水平分别存在明显差异,本研究将某位患儿激发试验后血清 hGH 水平除以其基础水平,得到不同的 hGH-R,进一步分析 hGH-R 是否能够对具有显著差异的 hGH 水平起到校正作用。

表 1 3 种不同检测系统不同时间点血清 hGH 水平统计描述 ($\bar{x} \pm s, \text{ng/mL}$)

| 检测系统 | n | 基础水平 | 30 min | 60 min | 90 min | 120 min |
|-------|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| CLEIA | 15 | 0.96 ± 1.29 | 8.58 ± 9.46 | 6.11 ± 5.21 | 2.76 ± 2.81 | 4.36 ± 4.50 |
| ECLIA | 15 | 0.81 ± 1.07 | 7.13 ± 7.77 | 5.45 ± 4.14 | 2.85 ± 2.00 | 3.74 ± 3.66 |
| CMIA | 15 | 1.60 ± 3.34 | 6.67 ± 6.41 | 4.54 ± 3.36 | 2.12 ± 1.57 | 3.96 ± 4.49 |

表 2 不同检测系统间 hGH 水平一致性分析(分时段)

| 时间点 | 统计类型 | 统计参数 | CLEIA-ECLIA | CLEIA-CMIA | ECLIA-CMIA |
|---------------|------------|----------|-------------|------------|------------|
| 基础水平 | 单样本 t 检验 | t | 0.981 | -0.707 | -0.910 |
| | | P | 0.343 | 0.491 | 0.378 |
| | | Ratio(%) | 6.67 | 0.00 | 0.00 |
| | 线性回归 | R^2 | 0.137 | 0.548 | 0.665 |
| | | P | 0.174 | 0.002 | 0.000 |
| | | | | | |
| 激发试验后 30 min | 单样本 t 检验 | t | 2.541 | 2.181 | 1.055 |
| | | P | 0.024 | 0.047 | 0.309 |
| | | Ratio(%) | 6.67 | 6.67 | 6.67 |
| | 线性回归 | R^2 | 0.592 | 0.810 | 0.628 |
| | | P | 0.001 | 0.000 | 0.000 |
| | | | | | |
| 激发试验后 60 min | 单样本 t 检验 | t | 1.695 | 2.773 | 2.804 |
| | | P | 0.112 | 0.015 | 0.014 |
| | | Ratio(%) | 6.67 | 6.67 | 0.00 |
| | 线性回归 | R^2 | 0.501 | 0.771 | 0.398 |
| | | P | 0.003 | 0.000 | 0.012 |
| | | | | | |
| 激发试验后 90 min | 单样本 t 检验 | t | -0.262 | 1.594 | 3.715 |
| | | P | 0.797 | 0.133 | 0.002 |
| | | Ratio(%) | 6.67 | 6.67 | 0.00 |
| | 线性回归 | R^2 | 0.416 | 0.646 | 0.321 |
| | | P | 0.009 | 0.000 | 0.028 |
| | | | | | |
| 激发试验后 120 min | 单样本 t 检验 | t | 1.553 | 1.141 | -0.507 |
| | | P | 0.143 | 0.273 | 0.620 |
| | | Ratio(%) | 6.67 | 6.67 | 6.67 |
| | 线性回归 | R^2 | 0.308 | 0.000 | 0.246 |
| | | P | 0.032 | 0.961 | 0.060 |
| | | | | | |

注:Ratio 为 DIFF 处于其 $\bar{x} \pm 1.96s$ 之外的标本例数占总标本例数的百分比;线性回归为 2 个系统 hGH 水平的差值与 2 个系统 hGH 水平平均数间,所进行的线性回归分析。

2.2.1 不同系统检测血清 hGH-R 水平的统计学描述 由于不同系统间、不同时间点血清 hGH-R 均不符合正态分布,各检测系统血清 hGH-R 采用 $M(\min, \max)$ 形式描述。见表 3。

2.2.2 不同检测系统间 hGH-R 的一致性分析(分时段) 采用 Bland-Altman 法,进一步分析了不同系统间 hGH-R 的可比性。结果显示,任何 2 个检测系统间,基础水平和激发试验后任何时间点,虽然 hGH-R 差值使用单样本 t 检验得到的 P 值,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),但相比 hGH 绝对水平,超出

差值的 $\bar{x} \pm 1.96s$ 范围的标本比例明显增多。而且除了 ECLIA-CMIA 间于激发试验后 30 min, hGH-R 差值与 hGH-R 均数间的线性回归分析未显示二者有系统性的波动趋势外 ($P = 0.073$),其他任意 2 个检测系统间、于任何各时间点, hGH-R 差值与 hGH-R 均数间均具有非常显著的线性相关关系 ($P < 0.05$)。说明只有 ECLIA-CMIA 间于激发试验后 30 min, hGH-R 具有较好的一致性,其余各时间点、任意 2 个检测系统间均不一致。见表 4。

表 3 3 种不同检测系统不同时间点血清 hGH-R 的统计学描述 [$M(\min, \max)$]

| 检测系统 | n | 30 min | 60 min | 90 min | 120 min |
|-------|-----|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| CLEIA | 15 | 22.62(0.46, 7 545.00) | 12.99(0.69, 5 052.00) | 7.54(0.32, 3 475.00) | 8.44(0.03, 5 335.00) |
| ECLIA | 15 | 14.82(0.55, 384.00) | 11.37(1.24, 124.30) | 5.72(0.54, 129.40) | 6.36(0.19, 210.00) |
| CMIA | 15 | 4.09(0.37, 168.00) | 15.11(0.07, 144.70) | 6.85(0.03, 174.70) | 8.38(0.01, 288.00) |

表 4 不同检测系统间 hGH-R 一致性分析(分时段)

| 时间点 | 统计学方法 | 统计参数 | CLEIA-ECLIA | CLEIA-CMIA | ECLIA-CMIA |
|---------------|------------|----------|-------------|------------|------------|
| 激发试验后 30 min | 单样本 t 检验 | t | 2.049 | 2.067 | 0.426 |
| | | P | 0.060 | 0.058 | 0.677 |
| | | Ratio(%) | 13.30 | 13.30 | 6.67 |
| | 线性回归 | R^2 | 0.996 | 0.999 | 0.226 |
| | | P | 0.000 | 0.000 | 0.073 |
| | | | | | |
| 激发试验后 60 min | 单样本 t 检验 | t | 1.953 | 1.953 | -2.025 |
| | | P | 0.071 | 0.071 | 0.062 |
| | | Ratio(%) | 6.67 | 6.67 | 13.30 |
| | 线性回归 | R^2 | 0.999 | 0.999 | 0.612 |
| | | P | 0.000 | 0.000 | 0.001 |
| | | | | | |
| 激发试验后 90 min | 单样本 t 检验 | t | 1.553 | 1.141 | -0.507 |
| | | P | 0.112 | 0.111 | 0.284 |
| | | Ratio(%) | 20.00 | 6.67 | 6.67 |
| | 线性回归 | R^2 | 1.000 | 0.999 | 0.942 |
| | | P | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| | | | | | |
| 激发试验后 120 min | 单样本 t 检验 | t | 1.553 | 1.141 | -0.507 |
| | | P | 0.112 | 0.111 | 0.284 |
| | | Ratio(%) | 6.67 | 6.67 | 13.30 |
| | 线性回归 | R^2 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| | | P | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| | | | | | |

注:Ratio 为 DIFF 处于其 $\bar{x} \pm 1.96s$ 之外的标本例数占总标本例数的百分比;线性回归为 2 个系统 hGH-R 水平的差值与 2 个系统 hGH-R 水平均数间,所进行的线性回归分析。

3 讨 论

目前,化学发光法已成为临床实验室检测 hGH 的主流方法。但仅有较少研究对各种检测系统间的可比性进行了探讨^[6-9]。本文就目前被广泛使用的 3 种血清 hGH 检测系统,评估了它们间的可比性,并对可能提高可比性的参数即 hGH-R 进行了初步探讨。

本文显示,只有 CLEIA-ECLIA 间的基础 hGH 水平、CLEIA-CMIA 间于激发试验后 90 min、ECLIA-CMIA 间于激发试验后 120 min 的 hGH 水平具有较好一致性。其余任意 2 个检测系统间、于任何时间点血清 hGH 水平均未见具有一致性。以上说明,在多数情况下不同检测系统间 hGH 水平是不能通用的,但 2 个具体的检测系统间、于激发试验后不同时间点,偶尔则可以通用。之所以出现激发试验后不同时间点 hGH 水平可比性不同的现象,其原因可能为激发试验后的不同时间点, hGH 释放的水平不同,而不同检测系统对处于不同

水平 hGH 的检测效能又有较大差异的缘故。

针对多数情况下,不同检测系统间 hGH 水平不一致的问题,如何提高其可比性便成为关注的焦点。根据先前对胰岛素水平的研究经验,将患儿激发试验后各时间点 hGH 水平除以其空腹水平,得到一系列 hGH-R,并进一步评估了 hGH-R 对提高可比性的价值^[10-11]。结果显示,引入 hGH-R 后,仅 ECLIA-CMIA 间于激发试验后 30 min,较之前直接使用 hGH 时可比性得以改善,而其余各时间点、任意 2 个检测系统间均无改善效果,多数情况下反而降低了可比性。说明 hGH-R 的引入,对 hGH 可比性的提高基本没有价值。究其原因,很可能是某个检测系统内部,对低水平和高水平 hGH 的检测能力差异较大所致,亦或不同系统对基础 hGH 水平的检出能力差别较大,导致在计算比值以后,反而将这种差异进一步放大了。

本文也发现,引入 hGH-R 后,2 个检测系统 hGH-R 的差值与 hGH-R 均数间的相关程度明显较 hGH(下转第 166 页)

中枢神经系统有着完整的免疫应答系统,正常时脑脊液中免疫球蛋白水平很低,由血液通过弥散进入中枢神经系统,其中主要是 IgG。研究表明在中枢神经系统疾病中不论是正常情况下的血脑屏障,还是血脑屏障受到破坏,均发现中枢神经系统有免疫球蛋白合成。病理状态下,若仅仅检测到脑脊液中 IgG 增高,则无法判断脑脊液中 IgG 的来源。目前认为 IgG 指数是反映鞘内异常体液免疫反应的重要指标,可用作鞘内免疫球蛋白合成的定量检测^[10]。通过计算 IgG 指数可以摒除血清 IgG 对脑脊液 IgG 水平的影响,计算 24 h IgG 合成率可以去除血清及血脑屏障因素,能够真正反映内源性 IgG 的合成。因此,脑脊液 IgG 指数和 24 h IgG 合成率的测定,可推测是否存在有中枢神经系统的体液免疫应答,进而评价其免疫功能状态。

本研究中 MS 和 NID 组患者 IgG 指数明显高于 NIND 组,其中 MS 患者 IgG 指数最高;MS、GBS 和 NID 组患者 24 h IgG 合成率升高例数明显多于 NIND 组,说明在 MS、GBS 和 NID 患者中容易出现鞘内免疫球蛋白的合成。另外,NID 组 QAlb、IgG 指数、24 h IgG 合成率 3 个指标都明显高于 NIND 组,说明既存在血脑屏障的损伤,又有 Ig 鞘内合成。所以对 NID 组患者应该更加细致地区分每一种疾病的指标,并且需要增加样本量来研究。在 GBS 组 QAlb、24 h IgG 合成率也明显增加,其中 QAlb 异常率明显高于其他各组,说明 GBS 患者血脑屏障损伤率高于其他各组,并且存在鞘内免疫球蛋白合成。在 MS 组中,IgG 指数、24 h IgG 合成率明显高于 NIND 组,说明仅有鞘内免疫球蛋白的合成,没有明显的血脑屏障损伤。

综上所述,通过对脑脊液中 QAlb、IgG 指数、24 h IgG 合成率等免疫指标的检测可以了解中枢神经系统疾病的免疫情况,对于中枢神经系统疾病的诊断、鉴别诊断有重要的临床意义。

参考文献

[1] Tourtellotte WW. On cerebrospinal fluid IgG quotients in

(上接第 163 页)

增强,表现为 R^2 的大幅度增高。说明随着 hGH 水平的增高,2 个检测系统间 hGH 水平的差异是成比例递增的,这对 hGH-R 而言表现得尤为明显。

参考文献

[1] Schwarz HP, Walczak M, Birkholz-Walerzak D, et al. Two-Year Data from a Long-Term Phase IV Study of Recombinant Human Growth Hormone in Short Children Born Small for Gestational Age[J]. Adv Ther, 2016, 33 (3): 423-434.
 [2] Singh NK, Nguyen QV, Kim BS, et al. Nanostructure controlled sustained delivery of human growth hormone using injectable, biodegradable, pH/temperature responsive nanobiohybrid hydrogel[J]. Nanoscale, 2015, 21(7): 3043-3054.
 [3] Carrozza C, Lapolla R, Canu G, et al. Human growth hormone (GH) immunoassay: standardization and clinical implications[J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 49(5): 851-853.
 [4] 王慧燕,陶洪群,王玲莉,等.矮小症儿童生长激素激发试验及 25-(OH)D 水平的调查分析[J]. 医学研究杂志, 2016, 45(1): 132-134.

multiple sclerosis and other diseases [J]. J Neurol Sci, 1970, 10: 279-304.
 [2] 徐雁,张遥,刘彩燕,等.等电聚焦电泳联合免疫印迹法检测寡克隆区带诊断神经系统炎性脱髓鞘疾病[J]. 中华神经科杂志, 2011, 44(7): 456-459.
 [3] Tibbling G, Link H. Principles of albumin and IgG analysis in neurological disorders of reference values[J]. Scand J Lab Invest, 1997, 37(5): 385-390.
 [4] 沈霞. 中枢神经系统疾病的免疫学检验[J]. 检验医学, 2006, 21(6): 434-436.
 [5] 唐忠,袁贤瑞.血脑屏障基础与临床的某些进展[J]. 国外医学神经病神经外科学分册, 2004, 31(2): 193-195.
 [6] 朱伟,赵合庆,程庆璋,等.血脑屏障完整性及鞘内免疫球蛋白合成在中枢神经系统疾病中的意义[J]. 卒中与神经疾病, 2010, 17(4): 220-224.
 [7] Sinddic C, Van Antwerpen MP, Goffelle S. The intrathecal humoral immune response: laboratory analysis and clinical relevance[J]. Clin Chem Lab Med, 2001, 39(5): 33-28.
 [8] Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs[J]. Neurol Sci, 2001, 184(2): 101-122.
 [9] Andersson M, Alvarez-Cermeno J, Bernardi G, et al. Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report [J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1994, 57: 897-902.
 [10] Deisenhammer F, Bartos A, Egg R, et al. Guidelines on routine cerebrospinal fluid analysis report from an EFNS task force[J]. Eur J Neurol, 2006, 13(2): 913-922.

(收稿日期:2016-08-15 修回日期:2016-10-21)

[5] 黄丽云,梁立阳,周雪贞,等.生长激素激发试验的方法及护理[J]. 岭南急诊医学杂志, 2006, 11(5): 396-397.
 [6] 吴影,张友华.放射免疫法与化学发光酶免疫法检测生长激素的比较分析[J]. 福建医药杂志, 2012, 34(4): 94-95.
 [7] 吕迎霞,黄庆华,张敏,等.人生长激素磁微粒化学发光免疫分析法的建立[J]. 临床医药文献电子杂志, 2015, 2 (24): 4960.
 [8] 杨方华,邓芳梅,孙丽芳.两台化学发光仪检测人生长激素的比对分析及偏倚评估[J]. 检验医学与临床, 2013, 10 (21): 2807-2808.
 [9] 陈红兵,谢国锦,石星.贝克曼化学发光法与放射免疫法检测人生长激素的相关性分析[J]. 江苏医药, 2012, 38 (20): 2400-2402.
 [10] 张然星,刘建彬,谭延国.几种化学发光检测系统测定血清胰岛素和 C-肽临床效果的评估[J]. 中国实验诊断学, 2010, 14(10): 1608-1611.
 [11] 张国军,谭延国,张然星,等.化学发光法检测血清胰岛素的现状分析[J]. 首都医科大学学报, 2013, 34(4): 545-549.

(收稿日期:2016-08-19 修回日期:2016-10-25)