

甲状腺激素的免疫学检测方法研究进展

夏青

解放军总医院京中医疗区医技保障科,北京 100120

【摘 要】临床检测甲状腺激素时,放射免疫分析法是典型方法,不过由于放射性污染的存在,临床基本已经将此方法淘汰。随着不断地发展生物技术及免疫学检测方法,电化学发光免疫法、酶联免疫分析法等新兴检测方法被引入到临床检验工作中,而检测方法不同时,特异度及敏感性也存在明显差异。本文即对甲状腺激素的免疫学检测方法研究进展做出综述,供临床参考。

【关键词】甲状腺激素;免疫学检测;检测方法

【中图分类号】R446

【文献标识码】A

【文章编号】1008-0430(2022)04-0290-03

临床上,多采用免疫标记法测定甲状腺激素,可将其含量直接测定出来。自建立放射免疫分析法后,实现了精确定量分析极微量的物质,使生命科学得到极大的发展。随着不断发展免疫学测定技术,更多的免疫分析法被提出,其比传统的放射免疫分析法更快、更准确、更敏感,且放射性核素污染并不存在,还能批量测定,在药物检测、激素检测、特种蛋白检测中已经广泛的应用。现本文就对临床上常用的甲状腺激素免疫学检测方法做出综述。

1 甲状腺激素的作用与表现

甲状腺激素属于酪氨酸碘化物,合成由甲状腺滤泡上皮细胞进行,生理功能包含调节体温、促进生长发育等,作用极其重要,但当甲状腺激素的分泌量过多,会使一系列临床表现出现,如兴奋、烦躁、暴饮暴食、营养不良,如果分泌过少,则症状多表现为皮肤干燥及粗糙、嗜睡、体重增加、反应慢等。

2 甲状腺激素的免疫学检测方法

2.1 放射性免疫分析法

建立于 1959 年,建立者为 Yallow 等,属于定量分析方法,此方法的建立具有划时代的意义,明显提高微量生物样品的最低检出量,达到皮克级水平,将新的手段提供给相关研究及临床实践,贡献举世瞩目。抗原或抗体利用放射性核素标记后,可分别特异

性地结合二者,形成检测复合物。目前,部分实验室仍采用放射性免疫分析法检测促甲状腺素、游离甲状腺素、游离三碘甲状腺原氨酸。放射性免疫分析试剂盒具有较强的特异性、较高的灵敏度和精密度,能定量检测抗原或抗体,在多种激素检测、药物检测等检测中较为适用,基层医院目前检测超微量物质时,该方法仍未主要手段^[1]。同时,放射性免疫分析法设备简单,且仅有较低的成本,广泛的应用在一些中小型医院中,作为某些激素检测的金标准。现代生物医学中,检测新生物活性物质也将放射性免疫分析法作为首选方法。不过,此种检测方法存在放射性核素污染,且较难储存试剂盒、自动化实现难度较高,使其临床应用受到一定的限制。

2.2 酶联免疫分析法

1966 年,建立酶联免疫分析法,是指将抗原抗体的特异性免疫反应结合酶的高效催化作用,抗原或抗体利用特定的酶来标记,让免疫复合物具备示踪活性,根据底物的显色程度,定性或定量测定待测物。与放射性免疫分析法相比,酶联免疫分析法克服了放射性核素污染的缺点,且操作更加安全、简单。不过,由于比色法或偏振光技术存在较多的不足,如酶不稳定、定量难以实现、假阳性容易发生,一定的限制了其在临床中的应用^[2]。1971 年,核素标记被酶标记代替,酶联免疫吸附法创立,其将酶高效催化底物的作用与抗原抗体的特异性反应相结合,目前已用于定量检测大

小分子抗原,该方法具备特异性及灵敏度高、稳定、快速、易于自动化等优势。研究发现,利用酶联免疫吸附法检测血清抗甲状腺过氧化物酶抗体时,能够实现定量检测,且特异性、灵敏度均比较高,有望应用到基层实验室的常规检验中。另有研究指出,与化学发光免疫分析法相比,在促甲状腺素受体抗体检测结果方面,酶联免疫吸附法与其并无统计学差异($P<0.05$),不过化学发光免疫分析法具有更加简便的操作、较好的重复性、较高的自动化程度等优势,当临床需检测大批量样本时,较为适合采用此方面。学者检测血清游离三碘甲状腺原氨酸、游离甲状腺素、促甲状腺激素时,对比了酶联免疫分析法与电化学发光免疫测定法,发现二者的可比性良好,临床检测要求均能达到,但酶联免疫分析法相对来说有着较多的不足,如设备简单、操作繁琐、自动化程度不高等,这也一定程度地限制了其在临床的应用。

2.3 化学发光免疫分析法

1977年,化学发光免疫分析法诞生,其以放射性免疫分析法的基本原理为依据,将化学发光结合免疫反应,用于微量抗原或抗体的检测,属于非放射性免疫分析技术。化学发光免疫分析法建立早期时,特异性类似于放射性免疫分析法,但由于仅有较短的光信号持续时间,灵敏度要比放射性免疫分析法低,导致临床检测需求无法满足。90年代初期,Luminal发光反应由辣根过氧化物酶催化时,发光稳定剂采用对碘酚,微量加入后发光信号持续时间延长到20~30min,之后,相应的试剂盒被研制出来,临床也正式开始应用化学发光免疫法。1990年,电化学发光反应系统建立,这是放射免疫测定、酶免疫测定、荧光免疫测定、化学发光免疫测定之后研制出的新一代标记免疫测定技术。学者检测血清促甲状腺激素水平,分别采用化学发光免疫分析法和酶联免疫吸附法,发放其精密度、准确度、线性范围均要比酶联免疫吸附法更优^[3]。研究发现,血清甲状腺激素利用化学发光免疫分析法与放射性免疫分析法检测时,二者结果具有较好的相关性,精密度、准确性均较高,但化学发光免疫分析法要更高,同时此方法具备智能化操作程序,有着较高的自动化程度,可实现随到随检,利于工作

效率的提高。学者进行血浆球蛋白含量检测时,分别采用了放射免疫分析法和化学发光免疫分析法,结果显示,对于患甲状腺疾病的患者,与放射免疫分析法相比,化学发光免疫分析法明显具有更高的患病符合率以及更佳的灵敏度、特异度,因此认为化学发光免疫分析法的检测效果优于放射免疫分析法。此外,有学者以妊娠期甲状腺疾病患者为研究对象,检测血清甲状腺激素水平时采用了化学发光免疫分析法,发现与非妊娠期者相比,妊娠期甲状腺疾病患者的甲状腺激素水平与之存在明显差异,说明该方法可将重要的依据提供给妊娠期甲状腺功能检测,利于早期诊断妊娠期甲状腺疾病,进而及时干预,改善母婴预后。利于化学发光免疫分析法检测孕妇的血清游离三碘甲状腺原氨酸、游离甲状腺素、促甲状腺激素等指标后,发现孕期不同时,检测结果也存在统计学差异,提示血清甲状腺激素指标可作为孕期甲状腺疾病的筛查指标。众多研究表明,甲状腺激素检测中,化学发光免疫分析法具有较高的灵敏度、较宽的线性范围,且使用较为简单的仪器设备,临床应用前景广泛。

2.4 化学发光酶联免疫分析法

该方法属于酶免疫分析,以发光剂作为酶反应的底物,操作步骤完全相同于酶联免疫分析法,免疫反应中,抗原或看抗体用酶标记,接着发光底物在复合物上酶作用下发出光,发光强度的测定结果即为检测结果。基于该体系,Amersham公司设计出了发光酶免疫分析系统。萤火虫等荧光素加入到发光系统后,发光信号得以增强,且稳定时间比较长,促进检测灵敏度和准确性条。化学发光酶联免疫分析法相当于同位素标记技术,甚至其灵敏度与特异度更高,在临床实验室中,放射性免疫分析法正在逐步地被该方法替代。学者以甲状腺功能亢进症患者为研究对象,促甲状腺激素、游离甲状腺素、游离三碘甲状腺原氨酸利用化学发光酶联免疫分析法检测,发现此种方法具有良好的检测效果,可用于判断病情^[4]。研究认为,甲状腺激素应用化学发光酶联免疫分析法检测时,可将极具价值的信息提供给甲状腺功能减退症、甲状腺功能亢进症的诊断。血清三碘甲状腺原氨酸利用化学发光酶联免疫分析法检测过程中,其灵敏度为

0.19mmol/L,线性范围处于0.52~10.28mol/L,且有着较高的精密度,日间及批内变异系数均未超过5%,因此认为该方法的优点包含较高灵敏度、较宽线性范围,并有着使用简便的设备。研究发现,甲状腺相关疾病患者利用化学发光酶联免疫分析法测定甲状腺激素指标时,发现甲亢患者显著升高游离甲状腺素、游离三碘甲状腺原氨酸水平,降低高敏促甲状腺激素水平,而甲减患者的结果恰好相反;此外,在正常者、甲亢者、甲减者中,高敏促甲状腺激素的诊断符合率分别为95.8%、91.6%、98.4%,可见甲亢、甲减诊断中,高敏促甲状腺激素的灵敏度更高。因此,与测定甲状腺激素相比,血清促甲状腺激素的敏感性更高,可更为准确的鉴别原发性甲减与继发性甲减。甲状腺激素检测中,高敏促甲状腺激素作为一线指标,可联合检测游离三碘甲状腺原氨酸、游离甲状腺素,使疾病诊断准确率升高。

2.5 时间分辨荧光免疫测定法

时间分辨荧光免疫测定法是一种特殊分析技术,其发展基础为荧光免疫分析,借助荧光波长、荧光波长激发波长之间存在的差异性,将普通紫外一可见分光分析中存在的杂光问题有效避免,同时,荧光免疫分析中,接受器直线并不相同于激发光直线,光电接受器并不能直接接受激发光,以此来促进光学分析灵敏度的提高,在现有微量检测技术中,其灵敏度是最高的,可达到 $10\sim 19^{-12}$ g/mL,与放射免疫分析法相比,数量级高出2~3个。因时间分辨荧光免疫测定法具有较高的灵敏度,广泛应用于临床上,放射免疫分析法逐渐被其代替。研究发现,促甲状腺激素、游离三碘甲状腺原氨酸、游离甲状腺素检测时,放射免疫分析法完全能够被时间分辨荧光免疫测定法代替,不仅能提高检测结果的灵敏度与精密度,且此方法具有较强的抗干扰能力、较宽的线性范围,更有利于提高检测结果的准确性。

2.6 电化学发光免疫法

此方法是新一代的免疫标记技术,集中了免疫分析技术、磁微粒技术、生物素一亲和素技术、电化学发光技术,其标志物为电化学发光剂,通过抗原抗体的

特异性反应,检测抗体或抗原。该方法将抗原抗体反应结合电化学发光,促进检测的灵敏度及特异性提高,且具有易标记、无放射性、操作简单的优势。研究发现,在精密度和回收率方面,电化学发光免疫法要优于酶联免疫吸附法,且更加的快速稳定,在现代医院中较为适合,可满足患者的高要求,临床应用价值较高。甲状腺激素指标检测中,学者发现电化学发光免疫法具有较宽的线性范围、较高的精密度,且能重复检测,不存在放射性污染,是未来发展及普及的方向。学者检测血清甲状腺激素指标时,对比了电化学发光免疫法和放射性免疫分析法,发现与放射性免疫分析法相比,电化学发光免疫法具有更低的变异系数、更高的回收率,这说明,电化学发光免疫法具有明显优于放射性免疫分析法的准确度和精密度。

综上,甲状腺激素检测中,放射性免疫分析法因存在放射性污染,正在逐渐地被其他更优的方法替代。酶联免疫吸附法、电化学发光免疫法等新建的方法均避免了放射性污染的不足,但却存在自动化程度不高的劣势。与酶联免疫吸附法相比,化学免疫发光分析法具有更高的精密度和回收率。电化学发光免疫法检测结果准确可靠,且有着较高的精密度和灵敏度、较好的重复性。随着临床越来越广泛的应用自动化分析仪,甲状腺激素检测的发展趋势及方向为化学免疫发光分析法和电化学发光免疫法。

参考文献

- [1] 魏林方.体检老年人群血清促甲状腺激素(TSH)、血糖和血脂水平的研究[J].临床研究,2021,29(01):197-198.
- [2] 黄泽智,姚辉,何跃华.危重症患者血清甲状腺激素水平变化的临床分析[J].邵阳学院学报(自然科学版),2020,17(05):81-86.
- [3] 谢翠华.化学发光免疫法在甲状腺激素抗体检测中的应用价值[J].医疗装备,2020,33(18):46-48.
- [4] 刘一鸣.分析化学发光免疫法检测甲状腺激素及其抗体的应用价值[J].中国卫生标准管理,2020,11(18):112-115.