

血清肝纤维化指标酶联免疫试验和放射免疫检测的比较

陈文思, 彭晓谋, 张宇峰

陈文思, 彭晓谋, 张宇峰, 中山大学附属第三医院传染病科
广东省广州市 510630
项目负责人: 陈文思, 510630, 广东省广州市, 中山大学附属第三医院传染病科.
收稿日期: 2004-06-30 接受日期: 2004-07-22

摘要

目的: 探讨酶联免疫吸附试验(ELISA)替代放射免疫分析(RIA)测定血清透明质酸、III型前胶原、IV型胶原和层粘蛋白含量的可行性.

方法: 分别用ELISA法和RIA法检测住院肝病患者87例的4项血清纤维化指标, 并比较二者的敏感性、特异性、定量能力和临床实用性.

结果: 两种方法的检测结果均能反映患者从急性肝炎到肝硬化的肝纤维化逐渐加重的趋势. 但与RIA法比较, ELISA法的敏感性较低, 以检测III型前胶原(76.5%)和层粘蛋白(65.1%)时更为明显, 主要表现漏检早期患者. 在特异性方面, ELISA法的特异性均在80%以上; 在定量能力方面, ELISA法的数值范围较窄, 数值偏小, 低估严重患者的病情.

结论: ELISA法敏感性较RIA法低, 但特异性较好.

陈文思, 彭晓谋, 张宇峰. 血清肝纤维化指标酶联免疫试验和放射免疫检测的比较. 世界华人消化杂志 2004;12(9):2249-2250
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2249.asp>

0 引言

肝纤维化是慢性肝病, 包括病毒性肝炎、酒精性肝病、原发性胆汁性肝硬化和血吸虫病等的重要病理过程^[1-2]. 目前患者肝纤维化程度, 进展情况和治疗效果等已成为临床医师关注的重点. 血清肝纤维化项指标如透明质酸(HA)、III型前胶原(PcIII)、IV型胶原(IV-c)和层粘蛋白(LN)等在一定程度上能反映肝内的纤维化状况^[3-4]. 一直以来, 放射免疫试验(RIA)因其灵敏度高、特异性高和适合定量等优点而广泛应用于血清肝纤维化指标的检测, 并获得临床医师的认可, 然而, RIA的缺点在于操作繁琐, 费时, 且有放射污染性, 不易于广泛开展. 随着生活水平和对身体健康要求的提高, RIA已特别不受试验操作人员欢迎, 有逐渐被ELISA法取代的趋势^[5-6]. 为此, 我们比较了RIA和ELISA法在测定血清肝纤维化指标时的特异性、敏感性和临床实用性如下.

1 材料和方法

1.1 材料 2003-06/2004-01月中山大学附属第三医院传

染病科住院患者87份血清样本, 男67例, 女20例. 根据2000年修订的病毒性肝炎防治方案的诊断标准^[7], 诊断为急性肝炎7例, 慢性肝炎轻度10例, 中度17例, 重度27例和肝硬化26例.

1.2 方法 ELISA法检测血清HA, PcIII, IV-c和LN含量. 试剂盒购自上海凌云生物制品有限公司, HA为竞争抑制法, 其余为双抗体夹心法, 标记物是辣根过氧化物酶. 以酶标仪测定吸光度A值制作标准品曲线, 然后得出样本中待测物的含量, 测定范围是0-1000 μg/L. 正常值: HA<120 μg/L, PcIII<12 μg/L, IV-c<130 μg/L, LN<140 μg/L. RIA法检测血清HA, PcIII, IV-c和LN含量. 试剂盒购自上海海军医学研究所生物技术中心, 系固相放射免疫分析技术, 标记核素为¹²⁵I. 以γ免疫计数器测定放射活性制作标准品曲线, 然后得出样本中待测物的含量, 测定含量范围为0-800 μg/L. 正常值: HA=57±27 μg/L, PcIII=<120 μg/L, IV-c=49.7±15.0 μg/L, LN=115.7±17.3 μg/L. 均数比较使用t检验, 率的比较采用χ²检验, 非参数检验中多个独立样本检验采用Kruskal-Wallis H方法进行相关分析. 统计分析采用SPSS10.0软件包进行.

2 结果

2.1 ELISA和RIA检测结果 急性肝炎和慢性肝炎轻度患者的ELISA法血清HA, PcIII, IV-c和LN, 以及慢性肝炎中度患者的血清PcIII, IV-c, LN含量的平均值均在正常值范围内; 而慢性肝炎中度患者的血清HA, 重度及肝硬化患者的四项指标高于正常值(表1).

表1 肝炎患者血清HA, PcIII, IV-c, LN的(mean±SD, μg/L)

方法	诊断	n	HA	PcIII	IV-c	LN
ELISA法	急性肝炎	7	66.7±11.0	4.0±0.0	24.0±6.9	28.3±14.4
	慢性肝炎 轻	10	104.0±59.0 ^a	4.4±0.5 ^a	31.4±9.1 ^a	43.8±19.6 ^a
	中	17	161.9±79.9 ^a	6.3±4.7 ^a	60.7±51.9 ^a	56.7±40.2 ^a
	重	27	429.6±170.1	14.9±6.3	175.4±100.6	107.9±85.6
RIA法	肝硬化	26	611.2±163.8 ^a	23.2±6.6 ^a	307.0±75.6 ^a	154.4±58.7
	急性肝炎	7	58.3±10.9	40.8±1.5	45.3±10.5	55.0±50.0
	慢性肝炎 轻	10	149.2±18.1 ^a	85.6±16.6 ^a	63.2±18.6 ^a	95.6±17.5 ^a
	中	17	285.9±63.6 ^a	197.5±37.7 ^a	189.5±43.9 ^a	135.3±48.1 ^a
	重	27	454.7±134.8	280.7±42.1	282.6±68.6	217.1±57.6
	肝硬化	26	682.1±123.9 ^a	367.1±76.3 ^a	375.4±52.2 ^a	272.0±61.9

^aP<0.05 vs 重度.

2.2 ELISA法和RIA法比较分析 急性肝炎患者ELISA和RIA法均无异常发现;轻度慢性肝炎患者两种方法均有异常发现(表2),采用 χ^2 检验进行率的比较,得出ELISA法和RIA法检测HA的异常率有显著差异($P=0.03357$);PcIII的异常率有显著差异($P=0.00858$);IV-c异常率无显著差异($P=0.1628$);LN异常率有显著差异($P=0.0229$).ELISA法检测4项血清纤维化指标时与RIA法的符合率分别为85.1%,82.8%,88.5%和80.5%,敏感性分别为85.7%,76.5%,87.3%和65.1%,特异性分别为80.0%,100.0%,90.9%和95.2%.

表2 ELISA法和RIA法检测血清纤维化指标的异常率(n)

诊断	n	HA		PcIII		IV-c		LN	
		ELISA	RIA	ELISA	RIA	ELISA	RIA	ELISA	RIA
急性肝炎	7	0	0	0	0	0	0	0	0
慢性肝炎 轻	10	4	8	0	3	0	3	0	1
	中	17	11	16	8	10	11	10	4
	重	27	27	27	18	25	22	24	11
肝硬化	26	26	26	23	26	24	26	15	20
合计	87	68	77	49	64	57	63	30	43

3 讨论

RIA是目前免疫检测方法中最敏感、最特异和最适合定量分析的技术之一,临床上,长期用于测定血清激素水平和药物浓度等^[8-9].RIA应用在检测血清纤维化指标的敏感性和特异性也受到广泛认可^[10-16].ELISA也是临床常用免疫分析技术,具有操作简单、快速、无污染和试剂稳定等优点,适用于各种层次的实验室,特别受到试验操作人员欢迎.然而,由于ELISA在敏感性、特异性和定量分析能力上的不足,因而,理论上讲ELISA法检测血清纤维化指标的敏感性和特异性会降低.本研究显示,在敏感性方面,ELISA法检测四项纤维化指标的敏感性均较RIA法低,以PcIII(76.5%)和LN(65.1%)更为明显,且主要表现针对慢性肝炎轻、中度患者的漏检,这极不利于肝纤维化的早期干预.在特异性方面,ELISA法检测四项纤维化指标的特异性均在80%以上,其中检测PcIII和LN的特异性最好.在定量能力方面,ELISA法的数值范围较窄,数值偏小,可能低估患者的病情.因而,ELISA法检测血清纤维化指标的主要问题是提高敏感性和扩大线性范围,采用敏感和线性范围较好的免疫荧光或发光技术可能解决这一问题^[16].

用RIA法检测肝纤四项水平基本与临床相符,表明这种方法有较高的灵敏度,能早期反映炎症及肝纤维化的程度^[2],也表明本研究病例收集合理.ELISA法同时检测四项纤维化指标的结果也基本上能反映患者从急性肝炎到肝硬化的肝纤维化逐渐加重的趋势.但对肝纤维化处于早期的患者容易漏诊,同时对于严重患者由于线性范围小而低估.因而,尽管ELISA法操作简单、快速、无污染和适用于各种层次的实验室,但本研究结果不支持广泛使用以A值为依据进行定量的ELISA法检测血清纤维化指标.然而,ELISA法的特异性较好,结合安全、敏感和线性范围较好的免疫荧光或发光技术之后,其前景较为乐观.

4 参考文献

- He YT, Liu DW, Ding LY, Li Q, Xiao YH. Therapeutic effects and molecular mechanisms of anti-fibrosis herbs and selenium on rats with hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol* 2004; 10:703-706
- Zheng M, Cai W, Weng H, Liu R. Determination of serum fibrosis indexes in patients with chronic hepatitis and its significance. *Chin Med J (Engl)* 2003;116:346-349
- Tao J, Peng HQ, Cai WM, Dong FQ, Weng HL, Liu RH. Influence factors of serum fibrosis markers in liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2003;9:2497-2500
- 蒋业贵, 李兆申. 肝星状细胞与肝纤维化的研究进展. *世界华人消化杂志* 2003;11:1443-1446
- 姚敏捷, 袁忠海, 朱辛为, 黄汉朝. 检测层粘连蛋白双mAb夹心ELISA的建立. *细胞与分子免疫学杂志* 2003;19:201-202
- 常立峻, 李振勇, 朱德华. ELISA定量检测IV型胶原方法的建立. *标记免疫分析与临床* 2003;10:102-103
- 2000年全国第二次肝病会议病毒性肝炎诊断标准(修订). *中华肝病杂志* 2000;8:324-329
- Schule C, Baghai T, Sauer N, Laakmann G. Endocrinological effects of high-dose Hypericum perforatum extract WS 5570 in healthy subjects. *Neuropsychobiology* 2004;49:58-63
- Ostrowska Z, Kos-Kudla B, Nowak M, Swietochowska E, Marek B, Gorski J, Kajdaniuk D, Wolkowska K. The relationship between bone metabolism, melatonin and other hormones in sham-operated and pinealectomized rats. *Endocr Regul* 2003;37:211-224
- 程凤凤, 吕品, 陆应麟, 刘玉和. 肝纤维化的无创性诊断. *世界华人消化杂志* 2003;11:1981-1984
- 蔡卫民, 张彬彬. 慢性乙型肝炎肝纤维化的诊断与治疗. *世界华人消化杂志* 2003;11:787-791
- 李兵顺, 王继, 甄彦君, 刘金星, 魏梅新, 孙树强, 王淑琴. 血清纤维化指标与肝组织病理和肝组织纤维定量关系的实验. *世界华人消化杂志* 1999;7:1031-1034
- 顾生旺, 章廉, 侯金林, 冯晓榕, 骆抗先, 翁介月, 王淑琴. 肝硬变及肝纤维化血清HA及HPcIII的临床价值. *世界华人消化杂志* 1999;7:1011-1012
- 阳学风, 蔡卫民, 翁红富, 刘荣华, 张明亮, 曾斌. 国产HPcIII试剂盒临床应用. *世界华人消化杂志* 1999;7:181-182
- 郭兰英, 王云龙, 谢毅, 万卷芳. 化学发光法定量测定IV型胶原蛋白(IV-C)方法的建立. *中国卫生检验杂志* 2003;13:267-268
- 范淑英, 赵素元, 杨忠礼. 肝纤维化血清学诊断指标的临床评价. *临床肝胆病杂志* 2004;20:31-32