

## 血清孕酮测定方法的回顾与进展

张天娇<sup>1</sup>, 陈文祥<sup>1</sup>, 徐锐锋<sup>2</sup>, 戴新华<sup>2</sup>

(1. 卫生部临床检验中心, 北京 100730; 2. 中国计量科学研究院, 北京 100013)

### The Progress of Serum Progesterone Analysis and Standardization

ZHANG Tian-jiao<sup>1</sup>, CHEN Wen-xiang<sup>1</sup>, XU Rui-feng<sup>2</sup>, DAI Xin-hua<sup>2</sup>

(1. National Center for Clinical Laboratory, Beijing 100730, China;

2. National Research Center for CRMs, Beijing 100013, China)

**Abstract:** Progesterone is one of the most important gonadal hormone in human beings because it is very meaningful to maintain female physiological characteristics and normal physiologic function. Serum progesterone assays are ordinary analysis in clinical laboratory which is required high accuracy. Since the concentration of serum progesterone is in a very low level, immunoassays are routinely used to measure progesterone in clinical practice. The results of these methods are not intrinsically reliable which can in part be explained by cross-reactivity, reagent and so on. To solve these problems, we should establish a reference system of serum progesterone analysis. Two reference measurements procedure had been developed which based on isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry. To develop our country's serum progesterone reference system is an important task for us.

**Key words:** progesterone; serum analysis; IDMS

中图分类号: O657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997(2006)增刊-136-02

孕酮(Progesterone, P)是体内一种重要的性激素,在维持女性生理特征、机体正常代谢功能等方面均起着明显的作用,因此血清孕酮的测定广泛用于相关疾病的临床诊断和基础医学研究中,要求测定结果准确。本文就对血清孕酮测定的临床意义、测定方法与标准化等几个方面作一综述。

### 1 血清孕酮测定的临床意义

孕酮属甾体激素,具有 $\Delta^4$ -3-酮基的 21 碳甾体结构,主要由女性的卵巢及妊娠时的胎盘分泌,是多种重要的激素如睾酮、雌二醇的前体物质,它的水平随生理周期的不同而有所变化。孕期血清孕酮水平是先兆流产、异位妊娠的有力诊断依据。McCord 等对 3 674 名异位妊娠患者调查后证明,孕酮水平大于 55.7 nmol/L 是宫外孕发生的危险信号。Hahlin 等的研究发现 83% 的

自然流产患者的孕酮水平低于 30 nmol/L。

## 2 血清孕酮的免疫测定法

血清孕酮极低的体内水平决定了其测定方法的特殊性,首先要求方法应具有较高的灵敏度和特异性,目前几乎所有的临床实验室都把各种免疫法作为血清孕酮的常规测定方法。虽然这些方法使用的仪器、试剂各不相同,特点各异,但基本原理都是一致的:于特异的抗体(或抗原)加上放射性核素、酶、化学发光染料等标记物,经免疫反应和适当的处理后用相应的仪器测定。放射免疫分析(Radioimmunoassay, RIA)曾在相当长的一段时期内占据临床孕酮测定的主导地位。由于存在放射性污染、试剂保存期限等问题,非放射性免疫分析方法陆续用于血清孕酮测定,应用较为广泛的就是酶免疫分析法(Enzyme Immunoassay, EIA),有多种商品化的试剂盒供使用。但是这些试剂盒还存在一些问题,比较突出的是参考范围不统一,每种测定系统都有其各自的参考值,结果互认很难实现。其后出现的化学发光免疫分析(Chemiluminescence immunoassay, CLIA)因其自动化程度高,检测速度快,可以满足大批量工作的要求,近年来在临床实验室的使用有逐年上升的趋势。免疫分析法测定血清孕酮的灵敏度高,操作方便,但影响测定因素比较多,结果的准确性和精密度还不尽理想。

## 3 血清孕酮的质谱分析法

同位素稀释-气相色谱-质谱法(ID/GC/MS)是公认的能够准确测定血清内小分子化合物的分析方法,也是目前研究得较多的一种孕酮的色谱分析法。该法使用同位素内标和质谱选择离子监测(select ion monitor, SIM)模式使其具有很高的特异性和精密度,但因要求昂贵的仪器和试剂,样品处理较烦琐,故一般只用作决定性方法或参考方法,不适于常规测定。

血清孕酮 ID/GC/MS 法测定的过程包括粗提、净化、衍生和测定四个步骤。由于血清中存在多种脂类甾体,为防止这些中性化合物不被提取出来,通常在提取步骤前加入少量氢氧化钠碱

化血清。初提的过程与免疫测定法的基本一致,主要是用如正己烷、石油醚等有机溶剂进行提取。亲和层析利用抗原抗体的特异性反应,被认为是净化效率较高的一种方法。Gaskell 等不经过液液提取而直接使用亲和层析法处理血清,他们制备了抗孕酮纤维素偶联抗体,所测结果在 13~43 nmol/L 浓度范围内精密度可达 1.5%~5.4%。固相萃取(Solid phase extraction, SPE)商品小柱如硅藻土柱和一些填充柱如 Lipidex5000 也用于孕酮的分离净化。它们的操作比亲和层析法简便,仅使用普通溶剂,提取效率大于 90%,可去除血清中的多种杂质,缺点是样品处理条件不够稳定,使用不同生产批次的材料,其操作条件需相应调整才可达到比较一致的净化效果。Theinpont 受药物制剂工艺中包和物的启发,研究了多种环糊精类化合物,认为浓度为 150 mmol/L 取代度 0.6 的羟丙基环糊精是合适的净化载体,它具有合适的空腔体积,可将孕酮包被其中,而排除其他杂质。该法材料要求简单,不需要特殊的设备,测定的准确度、精密度与固相萃取法相似。

## 4 血清孕酮测定的标准化

血清孕酮检查是常用的激素项目之一,在实际使用中,由于测定方法、仪器、试剂盒不同,使各实验室孕酮的参考值范围往往有明显的不同。要解决上述问题,就要实现血清孕酮测定的标准化,而实现标准化的最重要的条件之一就是建立其测定的参考方法。欧洲各国从 70 年代起就开展了孕酮的室间质评计划,并应其室间质评计划的要求,进行了血清孕酮测定参考系统的研究工作,目前已有德国临床化学学会(DGKC)建立的决定性方法、比利时 Ghent 大学建立的参考方法以及 IRMM 的标准物质 BCR347,两种方法都是基于同位素稀释质谱法原理测定。我国目前的现状是在血清孕酮测定标准化方面还有很大空白,既没有测定的参考方法,也没有标准物质。因此尽快建立其我国自己的参考系统,实现血清孕酮测定的标准化,是我们需要面对的一个重要课题。