

• 调查报告 •

健康人群胰岛素测定稳定性及参考范围调查

刘 峰,张 铁,左 媛

(内蒙古医学院第二附属医院检验科,内蒙古呼和浩特 010030)

摘要:目的 建立本实验室人血清胰岛素(Ins)参考范围并分析测定稳定性。方法 对 Architect I2000 化学发光免疫分析系统进行方法学评价;对 413 例健康成年人进行血清 Ins 检测,分析生理和实验室指标对 Ins 的影响,建立 Ins 参考范围;对 Ins 在不同温度下的稳定性进行探讨。结果 Ins 检测批内和天间不精密度分别为 1.67% 和 2.60%。各年龄组 Ins 水平无统计学差异($P>0.05$)。女性 Ins 水平(中位数 5.7 mU/L)高于男性(中位数 5.0 mU/L)($z=3.696, P<0.05$)。以第 97.5% 位数为参考值上限,第 2.5% 位数为参考值下限,女性 Ins 参考范围为 2.6~11.8 mU/L,男性为 2.3~11.6 mU/L。胰岛素与体质量指数、三酰甘油呈正相关,与高密度脂蛋白呈负相关。Ins 水平在 25、4、-20 ℃ 至少可稳定 4 h、24 h、7 d。结论 性别是影响人血清 Ins 水平的重要因素,应建立不同性别 Ins 参考范围;胰岛素水平在各种温度条件下并非很稳定。

关键词:胰岛素; 参考值; 免疫测定**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2012.19.024**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2012)19-2352-02

Stability of insulin determination and investigation of insulin reference range

Liu Feng, Zhang Tie, Zuo Yuan

(Clinical Laboratory, Second Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical College, Hohhot, Neimenggu 010030, China)

Abstract: Objective To establish reference range of the human serum insulin(Ins) and to investigate the determination stability. **Methods** Architect I2000 chemiluminescence immunoassay system was evaluated and used to detect serum Ins level in 413 healthy subjects. Influence of physiological and laboratory indicators on insulin level were investigated. The stability of insulin at different temperatures was explored. **Results** Intra- and inter-day imprecision were 1.67% and 2.60%. There was no statistical difference of Ins level between different age groups($P>0.05$). Female insulin level(median 5.7 mU/L) was significantly higher than male(median 5.0 mU/L, $P<0.05$). The 97.5% and 2.5% median was utilized to establish reference range. Female insulin reference range was 2.6~11.8 mU/L, and that of male was 2.3~11.6 mU/L. Insulin was positively correlated with body mass index and triglycerides, and negatively correlated with high-density lipoprotein. Insulin level could be stable for 4 h, 24 h and 7 d at 25, 4 and -20 ℃. **Conclusion** Gender could be an important physiological factor influencing human serum Ins level. Ins reference range should be established according to different gender. Insulin level might not be very stable at all temperatures.

Key words:insulin; reference value; immunoassay

血清胰岛素(Ins)检测对判断胰岛 β 细胞生理功能,及糖尿病、胰岛素瘤和胰岛素抵抗综合征等疾病的早期诊断、疗效观察、发病机制等研究非常重要^[1]。Ins 检测方法包括放射免疫法(RIA)和酶联免疫吸附法(ELISA)。随着免疫分析技术的发展,化学发光免疫分析法(CLIA)和电化学发光免疫分析法(ECLIA)在 Ins 测定中的应用明显提高了检测灵敏度和特异性。不同检测方法存在方法学性能差异,导致其参考范围有所不同。笔者对美国 Abbott 公司 Architect I2000 全自动 CLIA 分析系统进行了初步性能评价,并建立了本实验室 Ins 参考范围,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 从 2009 年 8~12 月于本院进行体检的成年人中选择参考个体,入组标准如下:体重质量指数(BMI)<24 kg/m²,收缩压(SBP)<140 mmHg,舒张压小于(DBP)<90 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa),低密度脂蛋白(LDL)<1.5 mmol/L,总胆固醇(TC)<5.0 mmol/L,三酰甘油(TG)<3.5 mmol/L,高密度脂蛋白(HDL)>1.0 mmol/L,心电图检查正常,无糖尿病家族史,空腹血糖(FBG)<5.6 mmol/L^[2],丙氨酸氨基转移酶(ALT)<40 U/L,总胆红素(TBil)<20 mol/L,尿素氮(BUN)<7.1 mmol/L,肌酐(Cr)<103 mol/L,尿酸(UA)<420 mol/L,无现病史及近期手术史,排除产妇和孕妇。最终纳入参考个体 425 例,男 155 例、女 270 例,年龄 20~70

岁,平均(34.9 ± 8.4)岁。另选取 5 例高血压、冠心病或糖尿病患者。

1.2 仪器与试剂 Architect I2000 自动 CLIA 分析系统及配套 Ins 检测试剂、定标液、质控品(美国雅培)。胰岛素单位采用 mU/L(1 pmol/L=7.175 mU/L)。

1.3 方法 (1)标本检测:以干燥真空采血管采集参考个体晨起空腹静脉血 3 mL,2 h 内离心分离血清标本(无黄疸、乳糜及溶血),-20 ℃ 保存不超过 7 d。保存标本平衡至室温并充分混匀进行 Ins 检测,以第 97.5%、2.5% 位数为参考上、下限,建立不同性别参考范围;其余临床指标数据收集自体检资料,分析其与 Ins 的相关性。(2)不精密度试验:选择高浓度混合血清和低浓度混合血清各 1 份,分别连续测定 20 次,计算批内变异系数(CV);选择高浓度混合血清和低浓度混合血清各 1 份,每天上、下午各检测 2 次,连续 5 d,共 20 次,计算天间 CV。(3)温度稳定性试验:采集 5 例患者晨起空腹静脉血 5 mL,2 h 内离心分离血清标本后分装至 EP 管,25 ℃ 保存 2、4、8、24 h,4 ℃ 保存 4、8、24、72 h 和 -20 ℃ 保存 3、5、7、9 d 后进行 Ins 检测。计算不同温度保存不同时间后标本 Ins 水平相对于抽血后立刻检测结果的变化幅度,幅度不超过 $\pm 10\%$ 时判为 Ins 稳定。

1.4 统计学处理 使用 SPSS10.0 软件进行统计分析。Ins 数值呈偏态分布,故以各组中位数作统计学处理;组间比较采

用独立样本非参数检验,性别组间各指标比较采用独立样本检验,各指标对 Ins 的影响采用相关分析和偏相关分析;显著性检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 不精密度试验 Ins 浓度分别为 102.30、5.23 mU/L 时,批内检测标准差(s)为 1.09、0.22 mU/L, CV 为 1.07%、1.67%;Ins 浓度分别为 105.97、5.49 mU/L 时,天间检测 s 为 1.70、0.35 mU/L, CV 分别为 1.60%、2.60%。

2.2 温度稳定性试验 25 ℃保存 2、4、8、24 h 后,Ins 水平变化幅度分别为 5%、7%、13% 和 24%;4 ℃保存 4、8、24、72 h 后,Ins 水平变化幅度分别为 4%、8%、9% 和 41%;-20 ℃保存 3、5、7、9 d 后,Ins 水平变化幅度分别为 3%、6%、8% 和 28%。

2.3 参考范围调查 男、女性 Ins 水平分别为(5.2±2.0)、(6.1±2.5)mU/L, 中位数为 5.0、5.7 mU/L, 女性高于男性($z=3.696, P<0.05$), 女性参考范围为 2.6~11.8 mU/L, 男性为 2.3~11.6 mU/L。不同年龄段参考个体 Ins 水平差异无统计学意义($\chi^2=1.929, P>0.05$), 见表 1。

2.4 生理和实验室指标对 Ins 的影响 直线相关分析显示,Ins 与年龄、SBP、DBP、FBG、TC、LDL 无相关性,与 HDL 呈负相关($r=-0.179, P=0.000$)。偏相关分析表明:在校正年龄后,Ins 与 BMI 和 TG 呈正相关(r 值分别为 0.139、0.161, P 值分别为 0.005、0.001),与 HDL 呈负相关($r=-0.171, P=0.000$)。

表 1 各年龄段 Ins 水平比较(mU/L)

年龄(岁)	n	$\bar{x} \pm s$	中位数
20~<31	154	5.8±2.3	5.6
31~<41	126	5.5±1.8	5.2
41~<51	89	6.0±3.1	5.3
≥51	56	5.9±2.3	5.7

3 讨 论

RIA 是 Ins 检测传统方法,但特异性差,不能区分胰岛素原(PI)和真胰岛素(TI),反映的是 PI 和 TI 等免疫反应性胰岛素(IRI)总水平,并非 Ins 真实浓度,因而测定值偏高^[3-5],灵敏度则受有限量抗体竞争性原理的限制,只能达到 2~8 mU/L^[4],因而不能确切反映 β 细胞的功能^[6]。ELISA、CLIA 和 ECLIA 则有效提高了 Ins 检测灵敏度和特异度。不同检测方法的方法学性能存在差异,导致 Ins 参考范围有所不同(RIA 检测空腹 Ins 参考范围为 5~20 mU/L, CLIA 检测参考范围为 4.0~15.6 mU/L, 不同品牌试剂检测参考范围也存在差异,因此各实验室应建立自己的参考范围)。

(上接第 2349 页)

- kit gene required for interstitial cells of Cajal and for intestinal pacemaker activity[J]. Nature, 1995, 373(6512): 347-349.
- [5] 侯英勇,朱雄增.CD117 在胃肠道间质瘤和其他肿瘤中的表达[J].中华病理学杂志,2006,12(35):747-749.
- [6] Dirnhofer S,Zimpfer A,Went P,et al.The diagnostic and predictive role of kit(CD117)[J]. Ther Umsch,2006,63(4):273-278.
- [7] Went P,Dirnhofer S,Bundi M,et al.Prevalance of KIT expression in human tumors[J]. J Clin Oncol,2004,22(22):4514-4522.
- [8] 朱甲明,房学东,肖钟迪,等.胃肠道间质细胞瘤 CD117、Nestin 和 Ki-67 表达及其临床意义[J].中国实验诊断学,2008,12(5):647-

不精密度试验表明,Architect i2000 全自动 CLIA 分析系统检测 Ins 高浓度标本批内、天间 CV 分别为 1.07% 和 1.60%,检测低浓度标本批内、天间 CV 分别为 1.67% 和 2.60%,与厂商提供数据基本一致,符合临床使用要求。厂商说明书提到 Ins 不很稳定,要求尽可能及时检测,但无更为详细的说明。因此,本研究对 Ins 检测温度稳定性进行了分析。结果表明,随着标本放置时间延长,Ins 检测结果与抽血后即刻检测结果的变化幅度逐渐升高。总体而言,标本 25、4、-20 ℃保存不超过 4 h、24 h 及 7 d 对 Ins 检测结果无明显影响,说明 Ins 在各种温度条件下并非很稳定,标本采集后应尽快检测,必要时可对血清标本进行冷藏或冷冻保存。

人群 Ins 水平呈偏态分布,为避免极大值和极小值的影响,本研究选择以中位数水平进行统计学分析,并以百分位数建立参考范围。各年龄组间 Ins 水平无统计学差异($P>0.05$),故不必建立不同年龄的参考范围。以第 97.5% 位数为参考值上限、第 2.5% 位数为参考值下限,女性 Ins 参考范围为 2.6~11.8 mU/L, 男性为 2.3~11.6 mU/L。

本研究以相关分析和偏相关分析探讨了生理及实验室指标对 Ins 的影响,结果显示 Ins 水平与年龄、SBP、DBP、FBG、TC、LDL 无相关性,与 BMI 和 TG 呈正相关,与 HDL 呈负相关,可见 BMI、TG 和 HDL 是影响 Ins 水平的重要因素。

由于本研究中参考个体入选标准比较高,40 岁以上人群例数相对有限,对于这部分人群的 Ins 分布情况还需增加例数作进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Temple R,Clark PM,Hales CN.Measurement of insulin secretion in type 2 diabetes: problems and pitfalls[J]. Diabet Med,1992,9(4):503-512.
- [2] 国外医学内分泌学分册编辑部.糖尿病诊疗标准(一)—美国糖尿病学会(ADA)2005 年公布[J].国外医学内分泌学分册,2005,25(6):436-437.
- [3] Temple R,Clark PM,Nagi DK,et al.Radio immunoassay may overestimate insulin in non-insulin-dependent diabetes[J]. Clin Endocrinol,1990,92(7):689-693.
- [4] Clark PM,Hales CN.How to measure plasma insulin[J]. Diabetes Metab Rev,1994,10(1):79-90.
- [5] Haffner SM,Bowsher RR,Mykkanen L,et al.Protein insulin and specific insulin concentration in high and low-risk populations for NIDDM[J]. Diabetes,1994,43(12):1490-1493.
- [6] 邓尚平,李双庆,熊中云.血中胰岛 β 细胞激素测定的进展[J].中国糖尿病杂志,1995,3(1):54-56.

(收稿日期:2012-04-23)

649.

- [9] 张婉媛,吴正升,吴强,等.胃肠道间质瘤组织中 ESM-1 和 CD117 的表达及意义[J].临床与实验病理学杂志,2009,25(3):287-290.
- [10] 时昊,朱峰,张红,等.急性非淋巴细胞白血病中 CD117 表达与化疗疗效的关系[J].中国癌症杂志,2006,16(3):165-168.
- [11] 项一宁,高冬霞,王玉萍,等.胃肠道间质瘤诊断中 CD117 表达检测的标准化及其免疫组织化学技术[J].中华病理学杂志,2005,1(34):50-52.

(收稿日期:2012-03-26)