

• 行业研究 •

重组人缪勒管抑制素/抗缪勒管激素国际参考试剂协作研究

于 婷, 孙 楠, 孙 晶, 杨 振[△], 黄 杰
中国食品药品检定研究院体外诊断试剂所, 北京 100050

摘 要:血清缪勒管抑制素/抗缪勒管激素(AMH)水平可用于评估卵巢储备功能,辅助诊治相关疾病。世界卫生组织(WHO)生物标准化专家委员会在 2018 年制备了编号为 16/190 的 AMH 国际标准品候选品,并开展了协作标定,中国食品药品检定研究院应邀参加。按照 WHO 研究方案,采用多种化学发光法、酶联免疫法、酶联免疫荧光法和免疫荧光层析法进行标定。全球 4 个国家 7 个实验室提交了数据。结果显示,AMH 国际候选标准品的免疫效价在 282~1 157 ng·安瓿⁻¹ 内,几何均值为 511 ng·安瓿⁻¹[95%CI:426~612 ng·安瓿⁻¹, $n=16$,均数变异系数(GCV)=42%],稳健均值为 489 ng·安瓿⁻¹,且稳定性满足要求。本实验室提交的免疫效价几何均值为 448 ng·安瓿⁻¹(95%CI:377~531 ng·安瓿⁻¹, $n=8$,GCV=23%),与 WHO 总结数据的相对偏差为-12.3%。因候选标准品与患者标本在多个方法中不具有互换性,且各种协作方法得到的结果存在较大差异,经 WHO 生物标准化专家委员会审核,确定 16/190 为人重组缪勒管抑制素/AMH 第 1 次国际参考试剂,每安瓿 489 ng。

关键词:缪勒管抑制素; 抗缪勒管激素; 国际参考试剂; 协作标定; 化学发光法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.06.021

中图法分类号:R-331

文章编号:1673-4130(2021)06-0729-05

文献标志码:A

International collaborative study of WHO international reference reagent for recombinant human mullerian inhibiting substance/anti-mullerian hormone

YU Ting, SUN Nan, SUN Jing, YANG Zhen[△], HUANG Jie

National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China

Abstract: The serum levels of Mullerian inhibin/anti Mullerian hormone (AMH) can be used to evaluate ovarian reserve function and assist in the diagnosis and treatment of related diseases. Expert Committee on Biological Standardization of World Health Organization has prepared AMH international standard candidate (No. 16/190) in 2018, and carried out collaborative calibration. National Institutes for food and drug control is invited to participate. According to the World Health Organization (WHO) study protocol, the assays were calibrated by several chemiluminescence immunoassays, enzyme linked immunosorbent assay, enzyme linked fluorescent assay and immunofluorescence chromatography. Seven laboratories in four countries submitted data. By these methods, estimates of the AMH content ranged from 282–1 157 ng/amp with a geometric mean estimate of 511 ng/amp (95% CI: 426–612 ng per ampoule, $n=16$, GCV=42%) and a robust mean of 489 ng/amp. The candidate is sufficiently stable to serve as an IS. The geometric means of content for the proposed international candidate standard for AMH, lot No. 16/190, was 448 ng per ampoule (95% CI: 377–531 ng per ampoule, $n=8$, GCV=23%) by our laboratory, relative standard deviation was -12.3 % with corresponding to those data provided in WHO report. As the candidate standard was not commutable with patient samples in a number of the current methods, and the results of different collaboration methods were quite different. It was reviewed by Expert Committee on Biological Standardization committee of WHO that the preparation in ampoules coded, 16/190 was established as the 1st WHO International reference reagent for mullerian inhibiting substance/AMH, human, recombinant with 489 ng per ampoule.

Key words: mullerian inhibiting substance; anti-mullerian hormone; international reference reagent; collaborative study; chemiluminescence immunoassay

缪勒管抑制素也称抗缪勒管激素(AMH),因其可引起雄性胎儿的苗勒管退化而得名,是一种由男性

作者简介:于婷,女,研究员,主要从事体外、诊断试剂质量控制与评价、标准化研究。[△] **通信作者,** E-mail: yangzhen@nifdc.org.cn.

本文引用格式:于婷,孙楠,孙晶,等.重组人缪勒管抑制素/抗缪勒管激素国际参考试剂协作研究[J].国际检验医学杂志,2021,42(6):729-

睾丸支持细胞和女性卵泡颗粒细胞分泌的二聚体糖蛋白,在胚胎的性别分化中参与早期性器官定向分化^[1-2]。AMH 可抑制女性卵泡细胞的生长,调节男性睾丸间质细胞的功能。血清中 AMH 水平可用于评估卵巢储备功能,辅助诊治相关疾病如卵巢功能早衰、性别发育异常等^[3-5],临床上主要用于辅助生殖技术等^[6-8]。

世界卫生组织(WHO)生物标准化专家委员会在 2015 年已认识到有必要制定 AMH 的国际标准(IS),用于校准人血清和血浆中 AMH 免疫分析测定。因此,英国生物制品检定所(NIBSC)采用捐赠的人重组 AMH,制备了编号为 16/190 的 AMH 国际标准品候选品。并在 2018 年开展了协作标定,目标是:(1)用各自方法校准的不同免疫分析方法测定 16/190 中 AMH 水平;(2)评价 16/190 用于 AMH 免疫分析校准的适用性;(3)评价 16/190 经热加速降解后的稳定性。中国食品药品检定研究院非传染病诊断试剂室代表中国实验室应邀参加了本次国际协作标定研究,全球共有 4 个国家 7 个实验室参加,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料来源 AMH 国际候选品:编号分别为 16/190、A、C、D~H,为编号不同的同一标本,0.5 mL 溶液冻干后残余物,内容物包括 1.2 mg 牛酪蛋白,2.5 mg 海藻糖和理论上 500 ng 重组人 AMH。编号为 16/190 的安瓿标本,为预实验用标本,目的是先确认各试剂对其的反应性,以便在正式实验前可以找到合适的线性范围。编号 A 和 C 的安瓿标本,为正常保存状态标本,互为复管,平行测定用。D~H 为热加速标本,分别保存于 4、45、37、20 和 -20 ℃ 条件下 21 个月 13 天。

AMH 国际候选品的比较标本:编号为 B,内容物约为候选品的 50%。

17 份人血清标本(编号为 AMH Serum 1~AMH-Serum 17):每份 0.6~0.8 mL,经酶联免疫吸附试验(ELISA)法确定 AMH 水平在 0.9~17.0 ng/mL 范围内。5 份编号为 AMH Plasma 18~AMH Plasma 22 人血浆标本,每份标本为 0.6~0.8 mL,经 ELISA 确定 AMH 水平在 <0.1~12.0 ng/mL 范围内。4 份标本浓度超过 10 ng/mL。这些标本编号分别为:5、9、16 和 22。因此,线性范围 ≤ 10 ng/mL 的试剂盒在检测前应采用标本稀释液进行 1:1 稀释。血清/血浆样品来自英国 First Link 公司、英国 TCS 生物科学公司或法国 CERBA 标本公司。一些标本为绝经后人血清稀释得到。来自英国 First Link 公司和美国 TCS 生物科学公司的血样已检测 HIV 1 和 2、HIV p24、HBsAg、抗-HCV 和梅毒螺旋体抗体,结果均为阴性。来自法国 CERBA 标本公司的标本为临床剩余标本,经 NIBSC 检测,HBsAg、HIV 抗体和 HCV RNA 均为阴性。

NIBSC 根据各实验室的分析能力和可提供的标本数量分配标本。本实验室得到的标本为:16/190 (A、B、C)、17 份血清标本和 5 份血浆标本。

1.2 仪器与试剂 本次国际协作标定用的试剂盒,包括 10 种化学发光法(含电化学发光、磁微粒化学发光等)、两种酶联免疫法(含酶联免疫荧光法)和 1 种免疫荧光层析法试剂盒,共计 13 种,分别是:抗缪勒氏管激素测定试剂盒(化学发光法)、抗缪勒氏管激素测定试剂盒(免疫荧光层析法)和抗缪勒氏管激素测定试剂盒(酶联免疫法),以上 3 种均由深圳市亚辉龙生物科技股份有限公司提供;AMH 检测试剂盒(磁微粒化学发光法),泰州泽成生物技术有限公司;AMH 测定试剂盒(化学发光免疫分析法),深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司;AMH 测定试剂盒(酶联免疫荧光法),梅里埃诊断产品(上海)有限公司;AMH 检测试剂盒(电化学发光法),罗氏诊断产品(上海)有限公司;AMH 测定试剂盒(化学发光法),贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司;AMH 检测试剂盒(磁微粒化学发光法),郑州安图生物工程股份有限公司;AMH 测定试剂盒(化学发光免疫分析法),广州市达瑞生物技术股份有限公司;AMH 测定试剂盒(化学发光免疫分析法),深圳市新产业生物医学工程股份有限公司;AMH 测定试剂盒(化学发光免疫分析法),上海透景生命科技股份有限公司;AMH 测定试剂盒(磁微粒化学发光法),北京利德曼生化股份有限公司。

1.3 WHO 研究方案 实验设计:(1)收样后,应放置于 -20 ℃ 或以下保存;(2)AMH 候选品各编号标本及 B 标本,使用前均应平衡至室温,以减少水分吸收;血清标本使用前应恢复至室温,等其内容物彻底融化,并应充分轻柔混匀;血浆标本使用前应在 37 ℃ 水浴中放置 6 min 融化,1 500 r/min (250 × g) 离心 10 min,取上清备用;(3)AMH 候选品各编号标本及 B 标本均采用 1.0 mL 去离子水充分溶解得到储备液,进一步的配制应选择适当的缓冲液进行。缓冲液应含有一定量的蛋白以防止表面吸附,通常为 0.1% (w/v) 牛血清清蛋白或 0.1% (w/v) 人血清清蛋白。如果在后续的分析中不能使用新鲜开封的 AMH 国际标准品或候选品,建议将储备液分装,并置于 -20 ℃ 及以下保存;(4)为更好地比较不同免疫学分析方法,需要所有参加实验室在各自试剂盒的线性范围内,且配制 AMH 候选品各编号标本及 B 标本的浓度应尽量保持一致(16.000、8.000、4.000、2.000、1.000、0.500、0.250 和 0.125 ng/mL),如线性范围不能满足要求,则应至少包含上述中的 5 种浓度,每种浓度标本至少 3 次重复(采用 96 孔板检测的试剂可仅重复两次);(5)每种方法至少进行两次独立分析,每次分析均应包含分配的所有样品、稀释液及试剂盒校准品。

1.4 方法 本次国际协作标定严格按照 WHO 的要

求进行。按照各试剂盒说明书进行检测分析。

预实验:仅分析 16/190,先确认各试剂对其的反应性,以便在正式实验前找到合适的线性范围。正式实验中检测 A、B、C、17 份血清标本和 5 份血浆标本。

标本复溶与系列溶液配制:16/190、A、B 和 C 均采用 1 mL 去离子水充分溶解,16/190、A 和 C 均得到 500 ng/mL 的储备液,B 得到约 250 ng/mL 的储备液。进一步稀释采用各试剂盒专用稀释液,在各试剂盒的线性范围内,按照要求进行配制。血清和血浆按照 WHO 方案进行处理。

剂量-反应曲线的建立:预实验中,仅包括 16/190 及试剂盒校准品 2 条剂量-反应曲线;正式实验中,包括 A、B、C 及试剂盒校准品各 1 条剂量-反应曲线。每条曲线含 7~8 种浓度,每种浓度及稀释液重复测定 2~3 次。

1.5 统计学处理 以参加实验室上报的 AMH 浓度进行分析。为确定是否具有可接受的稀释线性,每个独立实验中,如果 log₁₀(测定浓度)与 log₁₀(理论浓度)的拟合回归线性的斜率在 0.91~1.10 内,且 r²>0.975,实验有效。此外,只有当 2 个重复标本(A、C)测定值的比值在 0.91~1.10 范围内,独立实验结果有效。对所有有效结果采用稀释因子校正后,得到各实验室的未加权几何均值(GM),合并这些结果计算整体未加权 GM。实验室间变异采用 GM 均数变异系数(GCV)表示[GCV=(10^s-1)×100%,s 是 log₁₀

转换值的标准差]。由于可能出现离群值和异常结果,同时采用了 R 的 package“WRS2”计算稳健均值。

2 结 果

2.1 候选品结果 按照 WHO 方案中的数据处理原则,以各试剂盒校准品曲线计算得到的 16/190 浓度,结果见表 1。本实验室提交的 13 套数据中,按照 WHO 的数据处理原则,方法 1、4、10 和 11 不满足拟合回归线性斜率在 0.90~1.11 内,方法 3 不满足 A 与 C 的比值在 0.91~1.10 内,最终有效数据 8 套。将无效数据剔除后进行汇总分析,A 和 C 结果合并后得到,浓度 GM 为 448 ng·安甬⁻¹(95%CI:377~531 ng·安甬⁻¹,n=8,GCV=23%),WHO 的结果为 511 ng·安甬⁻¹(95%CI:426~612 ng·安甬⁻¹,n=16,GCV=42%),本实验室测定值与 WHO 测定值的相对偏差为-12%。B 的结果为浓度几何均值为 246 ng·安甬⁻¹(95%CI:196~310 ng·安甬⁻¹,n=8,GCV=32%),WHO 结果为 269 ng·安甬⁻¹(95%CI:221~328 ng·安甬⁻¹,n=16,GCV=45%),本实验室测定值与 WHO 测定值的相对偏差为-7.8%。B 的预期浓度约为 A 或 C 的一半,本实验室得到的比值为 0.55(95%CI:0.50~0.61,n=8,GCV=13%),实际结果与预期结果基本一致,表明在一种方法中,对 AMH 的识别是一致的。WHO 结果为 0.53(95%CI:0.50~0.56,n=16,GCV=12%),本实验室测定值与 WHO 测定值的相对偏差为 3.8%。

表 1 安甬 A、B、C 中 AMH 浓度、A 和 C 的 GM 及 B/(A 和 C 的 GM)

方法	标本 A(ng·安甬 ⁻¹)	标本 C(ng·安甬 ⁻¹)	A 和 C 的 GM(ng·安甬 ⁻¹)	标本 B(ng·安甬 ⁻¹)	B/(A 和 C 的 GM)
CI-1	735 *	747 *	741 *	447 *	0.60 *
CI-2	536 *	542 *	539 *	334 *	0.62 *
CI-3	499	507	503	326	0.65
CI-4	483	473	478	257	0.54
CI-5	454	475	464	268	0.58
CI-6	461	468	464	210	0.45
CI-7	841 *	892 *	866 *	537 *	0.62 *
CI-8	879 *	824 *	851 *	551 *	0.65 *
CI-9	380	439	409	211	0.52
CI-10	474	500	487	313	0.64
EF	278	288	283	144	0.51
EI	529 *	553 *	541 *	360 *	0.67 *
IC	550	562	556	303	0.54
GM	439	457	448	246	0.55
95%CI	368~525	387~539	377~531	196~310	0.50~0.61
GCV(%)	24	22	23	32	13

注:CI 代表化学发光免疫分析法,EF 代表酶联免疫荧光分析法,EI 代表酶联免疫分析法,IC 代表免疫层析法;* 代表不满足有效性规则的数据;汇总结果均为剔除无效数据后的结果。

2.2 血清及血浆标本结果 NIBSC 共提供 17 份血清标本及 5 份血浆标本,本实验室结果见表 2。本实

验室共提交 13 套数据,每套数据中两组平行测定结果。其中 1 套数据与其他结果差异较大,经统计分析后剔除。

从结果可以看出,除低值标本(AMHPlasma18)外,其他 21 份血清或血浆标本,各家测值差异整体来说比候选品的差异稍小,但均超过 10.0%,CV 在 12.3%~28.9%内,GCV 均值为 17.4%(95%CI:15.7%~19.2%)。因 18 号血浆标本浓度接近零值,22 号标本浓度超出多家检测试剂盒线性范围,WHO 总结数据中,剔除这两个标本的结果。本实验室测定值与 WHO 测定值的相对偏差在 -7.3%~11.5%内。

表 2 AMH 血清及血浆标本的 GM 及与 WHO 测定结果的比较

标本	GM (ng/mL)	95%CI (ng/mL)	GCV (%)	WHO GM (ng/mL)	相对偏差 (%)
AMHSerum1	4.80	4.54~5.07	14.0	4.59	4.5
AMHSerum2	4.95	4.62~5.30	17.6	4.73	4.6
AMHSerum3	3.51	3.27~3.76	17.9	3.22	9.0
AMHSerum4	3.29	3.04~3.56	20.4	3.06	7.5
AMHSerum5	5.76	5.39~6.16	17.1	5.94	-3.1
AMHSerum6	3.62	3.43~3.82	13.9	3.53	2.6
AMHSerum7	2.93	2.74~3.12	16.8	2.79	4.8
AMHSerum8	3.92	3.63~4.23	19.9	3.72	5.4
AMHSerum9	10.38	9.85~10.93	13.1	11.19	-7.3
AMHSerum10	2.96	2.78~3.14	15.3	2.92	1.2
AMHSerum11	7.49	6.98~8.03	18.0	7.60	-1.5
AMHSerum12	1.88	1.75~2.03	19.8	1.82	3.5
AMHSerum13	5.35	5.02~5.70	16.3	5.45	-1.8
AMHSerum14	1.01	0.91~1.12	28.7	0.95	6.0
AMHSerum15	0.93	0.84~1.02	24.8	0.83	11.5
AMHSerum16	12.00	11.41~12.63	12.9	12.1	-0.8
AMHSerum17	5.71	5.35~6.10	16.8	5.60	2.0
AMHPlasma18	0.02	0.01~0.05	245.2	—	—
AMHPlasma19	4.59	4.34~4.87	14.6	4.66	-1.4
AMHPlasma20	3.32	3.09~3.57	19.0	3.34	-0.6
AMHPlasma21	4.62	4.32~4.93	17.1	4.70	-1.8
AMHPlasma22	21.40	20.37~22.48	12.3	—	—

注:—表示无数据。

最终,4 个国家 7 个实验室共同完成了本次协作标定。本实验室提供了 13 套检测数据,占总提交数据(21 套)的 61.9%,其中 8 套数据被 WHO 采纳,占全部有效数据(16 套)的 50.0%。经 WHO 统计汇总分析,16/190 的浓度 GM 为 511 ng·安瓿⁻¹(95%CI:426~612 ng·安瓿⁻¹,n=16,GCV=42%),稳健均值为 489 ng·安瓿⁻¹,且稳定性均满足要求。但因 16/

190 与患者标本在多个方法中不具互换性,经 NIBSC 提议,WHO 生物标准专家委员会审核批准,16/190 为 AMH 第 1 次国际参考试剂,浓度为 489 ng·安瓿⁻¹。

3 讨 论

AMH 分子由两个通过二硫键连接的相同糖基化亚基组成,每个亚基都可裂解形成 N-端和 C-端二硫键合的二聚体,二聚体保持非共价结合。有报道称,可以从血清中分离出裂解和未裂解的 AMH^[9]。目前临床上使用的免疫分析中,所使用的抗体识别的多是总 AMH。

候选品原料来自美国马萨诸塞州总医院儿外科研究实验室捐赠给 NIBSC 的重组 AMH,从稳定 CHO 细胞株 LR-MIS 的培养基中纯化得到。该重组 AMH 表达来自人血清清蛋白(HSA)具有前导序列的人 AMH 序列,在氨基酸 423—428 的内部裂解位点有修饰,从 RAQR/S 转变成 RARR/S^[10],HSA 前导序列在成熟过程中被裂解。NIBSC 在 2016 年以该原料制备了编号为 16/190 的 AMH 国际候选标准品。目前的 AMH 免疫分析结果以质量单位(ng/mL)或摩尔单位(pmol)为单位,使用转换因子 1 ng/mL=7.14 pmol/L,这是基于聚丙烯酰胺凝胶电泳测定的糖基化二聚体的表观分子量^[11-12]。但 AMH 质量单位的可追溯性并不清楚,所以尚未建立 AMH 参考方法。

本次 AMH 国际协作标定共有 4 个国家 7 个实验室参加,采用了 21 种方法。本实验室采用了 13 种方法,10 家国产试剂和 3 家进口试剂,基本涵盖在我国开展 AMH 检测的所有原理的试剂盒,其中以化学发光法检测试剂盒为主,这是目前的主流方法,也是国际上的主流方法,以上结果表明本研究数据具有非常好的代表性,本实验室的结果为 WHO 评价 16/190 作为第 1 次 AMH 国际参考试剂提供了丰富、可靠的数据。

由于目前 AMH 检测无参考方法,亦无上一代国际标准品,所以 NIBSC 采用了各 AMH 试剂盒直接测定值进行联合定值,以全部结果的稳健均值作为最终结果。在剔除不满足要求的数据后,本实验室得到的结果为:448 ng·安瓿⁻¹(95%CI:377~531,n=8,GCV=23%),16/190 实测值的最低值仅为 283 ng·安瓿⁻¹,最高值达到 556 ng·安瓿⁻¹,最低值与最高值之间相对偏差达到 49%。而在 WHO 报告中,全部实验室 AMH 国际候选标准品的免疫效价汇总结果在 282~1 157 ng·安瓿⁻¹内,GCV 达到 42%。这些结果表明了目前各 AMH 检测试剂盒之间测定结果的一致化程度并不是很好。其原因可能因为重组 AMH 和天然 AMH 在分子构成、构型等方面存在差异,而且各家包被的抗体来源不一定相同,识别 AMH 抗原位点不一致,均可导致抗原抗体间反应性不一致;另

一方面,缓冲体系与真实标本血清基质存在差异,即基质效应也可造成测值结果不一致等;此外,还与各测定原理和技术的不同、数据处理的曲线拟合方式差异有关等。

除定值结果不理想外,WHO 提供的互换性实验结果显示,仅 6 种方法中的 16/190 和标本具有互换性,3 种方法具有部分互换性,7 种方法无互换性。以上结果表明,如果将 16/190 定为国际标准品,既无溯源依据支持,亦无实际数据支持,实际应用中必然存在一定争议。鉴于上述因素,NIBSC 不建议将 16/190 作为人重组 AMH 的国际标准品,但是为了进一步促进 AMH 校准和免疫学分析,他们向 WHO 推荐 16/190 作为参考试剂,并且在说明书中明确说明赋值采用的是当前的免疫分析法,笔者亦认为这种做法是合理的。在未来可尝试以人血清为基质建立 AMH 参考盘,或者采用提取的人源性 AMH 制备国际标准品,以协调 AMH 免疫分析方法之间的差异,促进 AMH 免疫分析的标准化。

参考文献

- [1] RZESZOWSKA M, LESZCZ A, PUTOWSKI L, et al. Anti-Müllerian hormone: structure, properties and application[J]. *Via Medica*, 2016, 87(9): 669-674.
- [2] 林丽淑, 龙韵洪, 徐丽惠, 等. 抗缪勒氏管激素的结构、功能、临床应用与检测技术[J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(24): 3061-3066.
- [3] 罗立梅. 抗缪勒氏管激素的临床应用[J]. *医学检验与临床*, 2019, 30(8): 34-36.
- [4] 洪艳, 李朋, 黄煜华, 等. 血清抗缪勒管激素检测在无精子

症临床诊治中的意义[J]. *东南大学学报(医学版)*, 2020, 39(1): 53-57.

- [5] 王思源, 王殊. 抗缪勒管激素用于戈舍瑞林在年轻乳腺癌患者化疗期间保护卵巢储备功能的评价[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2019, 51(3): 536-541.
- [6] 袁雪菲. 抗缪勒氏管激素与性激素水平在卵巢储备功能评估中的应用[J]. *中国保健营养*, 2019, 29(25): 310.
- [7] 吕云峰. 抗缪勒管激素与性激素预测卵巢反应性的临床研究[J/CD]. *国际感染病学(电子版)*, 2020, 9(2): 111.
- [8] JAMIL Z, FATIMA S S, AHMED K, et al. Anti-Müllerian hormone: above and beyond conventional ovarian reserve markers [J]. *Dis Markers*, 2016, 20(16): 5246217.
- [9] PANKHURST M W, MCLENNAN I S. Human blood contains both the uncleaved precursor of anti-Müllerian hormone and a complex of the NH₂- and COOH-terminal peptides[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2013, 305(10): 1241-1247.
- [10] PEPIN D, MIEN H, FOTINI N, et al. An albumin leader sequence coupled with a cleavage site modification enhances the yield of recombinant C-terminal Müllerian Inhibiting Substance[J]. *Technology*, 2013, 1(2): 63-71.
- [11] BUDZIK G P, POWELL S M, KAMAGATA S, et al. Müllerian inhibiting substance fractionation by dye affinity chromatography[J]. *Cell*, 1983, 34(6): 307-314.
- [12] CATE R L, MATTALIANO R J, HESSION C, et al. Isolation of the bovine and human genes for Müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells[J]. *Cell*, 1986, 45(8): 685-698.

(收稿日期: 2020-07-11 修回日期: 2020-11-27)

(上接第 728 页)

- 医院感染学杂志. 2020, 30(20): 3058-3061.
- [6] 张新弟, 李卫娟, 高娅妮, 等. 血清层粘连蛋白、透明质酸诊断肝纤维化的价值[J]. *中国医药导报*. 2017, 14(23): 1113-1121.
- [7] ELFATAH E D, ELKADER E R, ABDELHAK M T, et al. Laminin and chromogranin A as serum markers of liver fibrosis in hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Med Diagn*, 2016, 6(2): 21-31.
- [8] 黄伟雄, 郑智鑫, 陈创坤, 等. 血清层粘连蛋白检测在肝纤维化诊断中的临床意义[J]. *深圳中西医结合杂志*, 2019, 29(8): 91-92.
- [9] 李慧萍, 郑雪琴, 赵群, 等. III 型前胶原、IV 型胶原、层粘连蛋白和透明质酸酶在诊断肝纤维化程度中的应用[J]. *检验医学与临床*, 2019, 16(5): 666-668.
- [10] MAK K M, MEI R. Basement membrane type IV collagen and laminin: an overview of their biology and value as fibrosis biomarkers of liver disease[J]. *Anatom Record*, 2017, 300(6): 1371-1390.
- [11] TIANHUI L, XIAOMING W, MORTEN A, et al. Molec-

ular serum markers of liver fibrosis[J]. *Biom Insights*, 2012, 7(2): 105-117.

- [12] 史咏梅, 何晖, 冯子力, 等. 时间分辨荧光免疫分析技术在医学领域的应用[J]. *国际检验医学杂志*, 2015, 36(19): 2866-2869.
- [13] 杨耽, 王作欢, 蒋小武, 等. 基于量子点标记的赭曲霉毒素 A 快速、高灵敏荧光免疫层析检测方法的建立及应用[J]. *菌物学报*, 2019, 38(6): 1003-1004.
- [14] 王云龙, 李娜, 李玉林, 等. 热休克蛋白 90 σ 荧光免疫层析检测方法的建立[J]. *中国免疫学杂志*, 2017, 33(5): 712-716.
- [15] LINDA G L, NORDMAN E S, JOHNSON M D, et al. A low-cost, high-performance system for fluorescence lateral flow assays[J]. *Biosensor*, 2013, 3(2): 360-373.
- [16] HUI L, DU W, XIAOQIAN T, et al. Time-resolved fluorescence immunochromatography assay (TRFICA) for aflatoxin: aiming at increasing strip method sensitivity[J]. *Front Microbiol*, 2020, 11(4): 1-7.

(收稿日期: 2020-07-15 修回日期: 2020-12-10)