

胆固醇酶试剂测定血清 HDL-C 的探讨

钟海云 张佩华 刘丽娜 汪 彤

(航天部中心医院检验科, 北京 100039)

关键词 胆固醇试剂, 高密度脂蛋白 (HDL), 回收试验, 重复性试验

血清低密度脂蛋白 (LDL) 是引起动脉粥样硬化的主要致病物质, 血清 HDL 的作用则恰恰相反, 是从动脉壁上清除 LDL 的物质基础, 可被视为防御和保护动脉血管壁的重要物质。

许多研究证明冠心病患者即使血清总胆固醇正常, 而 HDL 亦可降低。有人认为血清 HDL 的降低是临床冠心病的先兆, 因此, 测定血清 HDL 更为必要。

血清 HDL 测定最早是用超离心分离法, 该法因受多种条件的限制, 不能在临床上推广应用。近年来有人用磷钨酸钠-镁作为沉淀剂, 以三氯化铁冰醋酸溶液作为显色剂, 测定血清 HDL, 取得很好的结果, 我们参考有关文献, 用胆固醇酶试剂测定血清 HDL, 获得满意结果, 现介绍如下:

材 料 和 方 法

1. 材料

(1) 沉淀剂和胆固醇酶试剂由北京中生公司提供。

(2) 胆固醇参考标准由北京中生公司提供。

2. 方法

血清 200 μ l 加沉淀剂 200 μ l 混合, 置室温 10min, 3000r/min 离心 15min, 取上清液作胆固醇测定。

结 果 与 讨 论

1. 对方法学的检验

(1) 圆盘电泳 离心后的上清液和沉淀物与原血清同时用 Sndon Black B 乙醇饱和液预染, 以聚丙烯酰胺凝胶作电泳柱, 作圆盘电泳, 结果上清液只含 α -脂蛋白带, 沉淀物可现 β -脂蛋白和前 β -脂蛋白带。

(2) 确定方法的精密度 取日常生化室剩余的无黄疸、无溶血的血清若干份混合, 作批内和批间, 结果见表 1。

由表 1 可见, 血清 HDL 批内、批间 CV% 分别为 5.57% 和 5.58%, 血清总胆固醇的 CV% 分别为 2.37% 和 2.1%, 说明本法的重复性很好。

(3) 回收试验(即准确度) 取一支沉淀管, 加入已知 HDL-C 浓度的血清 0.2ml, 加沉淀剂 0.2ml, 置室温 10min, 3000r/min 离心 15min。另取三支小试管, 分别加入上述离心之上清液 10 μ l, 每管再分别加入 50mg/dL 胆固醇标准液 3 μ l (相当于 15mg/dL), 6 μ l。

表 1 血清 HDL-C 和 Tch 的重复性测定

血 清	n	HDL-C mg/dL (mmol/L)		Tch mg/dL (mmol/L)	
		$\bar{x} \pm SD$	CV%	$\bar{x} \pm SD$	CV%
批 内	25	50.3 $\pm$ 2.8 (1.308 $\pm$ 0.073)	5.57	198.4 $\pm$ 4.7 (5.158 $\pm$ 0.122)	2.37
批 间	25	48.4 $\pm$ 2.7 (1.258 $\pm$ 0.07)	5.58	194.4 $\pm$ 4.1 (5.054 $\pm$ 0.107)	2.1

表 2 血清 HDL-C 的回收试验

试管号	胆固醇加入量 mg/dL (mmol/L)	理论值 mg/dL (mmol/L)	实测值 mg/dL (mmol/L)	回收率%
原血清	—	49.5 (1.287)	49.5 (1.287)	—
1	15 (0.39)	64.5 (1.677)	63.4 (1.648)	98.3
2	30 (0.78)	79.5 (2.067)	81.3 (2.114)	102.3
3	40 (1.04)	89.5 (2.327)	92.5 (2.405)	103.4

(下转第 474 页)

癌基因起作用,可能涉及两种或多种癌基因的共同操纵与协同作用。本实验仅观察到有4例对一种癌基因表达增强,有4例 c-myc 与 Ki-ras 基因表达同时增强,有6例对三种癌基表达同时增强,有3例(HLC4, HLC15, HLC21)其 c-myc、L-myc、Ki-ras 及 c-fos 基因表达同时增强。这一结果提示, Ki-ras 与 c-myc 基因的协同作用,在肺癌的病理发生中有重要作用,在肺癌癌变中,不止一种癌基因发挥作用,可能是两种或多种癌基因共同作用。本实验还观察到有两例(HLC4 及 HLC16,均为鳞癌)分别对 c-myc 和 c-fos 基因有过强表达。癌基因过强表达是否与其病理学特征有关尚待进一步研究,另外,本实验还对1例肺甲状腺转移癌(HLC6)进行了研究,结果发现癌基因有较高水平的表达,这一现象提示癌基因与甲状腺癌有密切关系。

已经有许多事实表明^[10-12],癌基因发挥作用最终是通过其蛋白表达产物实现的。目前的研究认为, myc 相关蛋白 p62 在细胞分裂过程中起重要作用。 ras 基因表达产物 p21 在传递细胞生长刺激的信号中起中枢作用。因此本实验的研究结果提示,应用抗 p62^{myc} 及抗 p21^{ras} 单克隆抗体进一步研究肺癌免疫组化特性,并用这些抗体检查癌组织及患者体液(血液、胸水等)中 p62^{myc} 及 p21^{ras} 蛋白的存在,具有重要

的临床意义和广阔的应用前景。

参 考 文 献

1 Takashi T, Yuichi O, Yoshitaka S *et al. Cancer Res*, 1989; 49: 2683
2 Bos J L. *Cancer Res*, 1989; 49: 4682
3 侯云德等. 病毒基因工程原理与方法. 北京: 人民卫生出版社, 1985: 89
4 Rigby P W J, Dieckmann M, Rhodes C *et al. J Mol Biol*, 1977; 113: 237
5 Chomczynski P, Sacchi N. *Analytical Biochemistry*, 1987; 162: 158
6 孙宁, 孙芝琳. 生物化学杂志, 1990; 6(3): 238
7 White B A, Bancroft F C. *J Biol Chem*. 1982; 257: 8569
8 Nau M M, Little C D, Carney D N *et al. Nature* 1983; 306: 194
9 Weinberg R A. *Cancer Res*, 1989; 49: 3717
10 Doolittle R F, Hunkapiller M W, Devaer S G *et al. Science*, 1983; 221: 275
11 Downward J, Yarden Y, Mayes E *et al. Nature*, 1984; 307: 521
12 Sherr C J, Rettenmier C W, Sacca R *et al. Cell*, 1985; 41: 665

[本文于1990年9月25日收到, 1991年3月25日修回]

(上接第 478 页)

表 3 296 健康体检人的血清 HDL-C/Tch 比值

			HDL-C mg/dL (mmol/L)	HDL-C/Tch
性别	年龄组	例数	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
男性	25—30	21	50.8±14.6 (1.321±0.426)	0.30±0.065
	31—40	21	49.4±10.1 (1.284±0.263)	0.31±0.09
	41—50	43	49.8±13.1 (1.295±0.341)	0.29±0.11
	51—60	58	49.8±13.1 (1.295±0.341)	0.31±0.08
女性	25—30	21	54.3±11.8 (1.412±0.307)	0.295±0.07
	31—40	27	48.4±11.6 (1.258±0.302)	0.31±0.07
	41—50	67	54.7±12.9 (1.422±0.335)	0.30±0.07
	51—60	28	53.2±11.3 (1.383±0.294)	0.29±0.08

相当于 30mg/dL); 8μl (相当于 40mg/dL), 并使其与标准管同体积, 再加入胆固醇试剂 500μl, 37℃ 水浴 15min 后, 比色、计算, 其结果见表 2。

HDL-C 的平均回收率为 101.3%, 说明本法的准确度很高。

(4) 实际应用价值 为了确定本法的实际应用价值, 我们用本法对 296 名 25 岁至 60 岁的健康人作了调查, 测定对象是机关干部、研究所工程技术人员及工厂工人, 其中男性 153 人, 女性 143 人, 空腹抽血, 当日检查, 其结果见表 3。

在我们测定的结果中, 男子组的 HDL-C 值略低

于女子组, 经过统计学处理后均无显著性差异 ($P > 0.05$), 男女各年龄组之间均无显著性差异, 与国内有关文献的报道基本一致。

2. 讨论 用中生生化试剂技术开发公司研制的胆固醇酶试剂及沉淀剂和测定血清 HDL-C 方法, 并对方法学进行了验证, 其精密度和准确度均较满意, 本法快速简便, 特异性强, 适合常规检验。

参 考 文 献

1 李健斋. 中华内科杂志, 1958; 1(1): 13
2 杨昌国. 中华医学检验杂志, 1979; 2(2): 85