胰岛素放射免疫测定中之标准曲线*

涂其栵　刘小瑚　　刘时中　赖慕贤　张冠群　陈一玲
(华南工学院自动化系，广州)　　(广东医药学院，广州)

提　　要

本文提出一种新型的胰岛素标准曲线(亦称校正曲线)，其表示式为：

$$I = a - b\ln\left(\frac{B}{T} - r\right) + c\ln^2\left(\frac{B}{T} - r\right) + d\ln^3\left(\frac{B}{T} - r\right)$$

将胰岛素放射免疫测定盒所测得的 6 个不同浓度胰岛素的 T(cpm) 及 B(cpm)，或 $B(k)/T(k)(\%)$ $(k = 1, \cdots, 6)$ 输入微机，运行事先编好的程序，即可定出参数 a, b, c, d 和 r。如果使用同一测定盒测出了某些血清样品的百分率 $B/T(\%)$，或直接将其 B 值和 T 值由微机键盘输入后，微机屏幕即回答出血清胰岛素浓度值 $I(\mu U/ml)$。所得结果比常用的 Logit 曲线要精确得多。

通常血清胰岛素浓度 $I(\mu U/ml)$ 是采用双抗体放射免疫测定法测定的。这种方法本身并不能直接测出血清胰岛素浓度，只能测出标记胰岛素中放射性同位素 ^{125}I 的每分钟计数值 T(cpm)，以及沉淀物中已结合的放射性同位素 ^{125}I 的每分钟计数值 B(cpm)。由这两个计数值求出百分率 $B/T(\%)$，再按这百分率 $B/T(\%)$ 在标准曲线上查出血清胰岛素浓度 $I(\mu U/ml)$。因此，标准曲线是否准确直接影响血清胰岛素浓度的测定精度。目前普遍采用的 Logit 标准曲线，误差较大，尤其在高值胰岛素浓度时更为显著。本文提出一种新型的胰岛素标准曲线，精度可大为提高，其表示式为：

$$I = a - b\ln\left(\frac{B}{T} - r\right) + c\ln^2\left(\frac{B}{T} - r\right) + d\ln^3\left(\frac{B}{T} - r\right) \quad (1)$$

其中参数 a, b, c, d 和 r 由下述方法确定。

方　　法

采用上海生物制品研究所提供的测定盒，按规定的步骤，将 6 个不同浓度的胰岛素：

$$I(1) = 0, I(2) = 10, I(3) = 20, I(4) = 40, I(5) = 80, I(6) = 160(\mu U/ml)$$

分别在六支试管中进行试验，使用西安 262 厂生产的同位素计数器测出相应的 6 对数值 B(k)(cpm)，$T(k)$(cpm) $(k = 1, \cdots, 6)$，如表 1 第二，三行所列。根据 $B(k)$ 与 $T(k)$ 的数值，计算出百分率 $B(k)/T(k)(\%)$，如表 1 第四行所列。把这 6 个百分数输入微机，运行事先编好的程序，计算机将对下式进行最小化，从

表 1　一个胰岛素放射免疫测定盒的实验数据

试管号码 k	1	2	3
$I(k)(\mu U/ml)$	0.	10.	20.
$B(k)$(cpm)	4583.0	3674.0	2956.5
$T(k)$(cpm)	6165.5	6265.5	6173.0
$B(k)/T(k)(\%)$	74.333	58.639	47.897
试管号码 k	4	5	6
$I(k)(\mu U/ml)$	40.	80.	160.
$B(k)$(cpm)	2047.0	1425.4	1245.5
$T(k)$(cpm)	6267.0	6554.0	7608.5
$B(k)/T(k)(\%)$	32.663	21.735	16.370

* 国家自然科学基金资助项目。

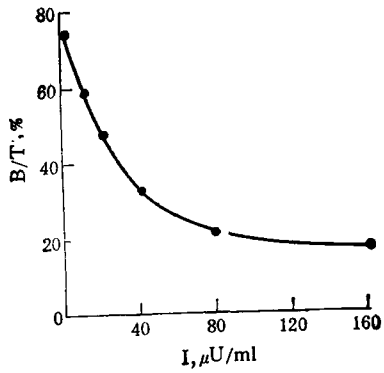

图 1　No.4 测定盒之标准曲线

$a = 357.445$　$b = 214.511$　$c = 50.028$
$d = -4.602$　$r = 12.943$

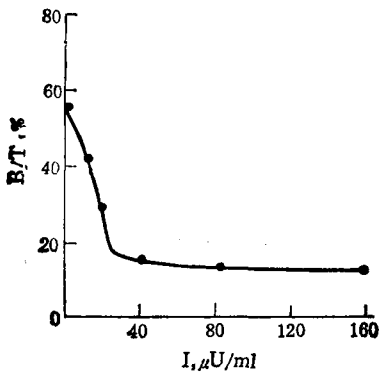

图 2　NO.8 测定盒标准曲线

$a = 128.751$　$b = 123.954$　$c = 49.152$
$d = -6.714$　$r = 11.73$

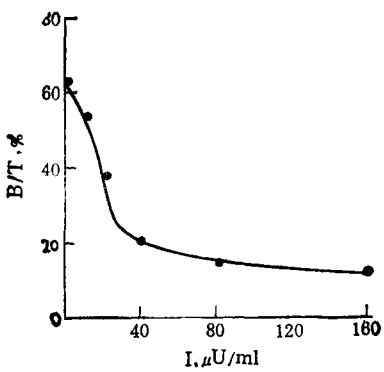

图 3　No.10 测定盒标准曲线

$a = 835.456$　$b = 767.382$　$c = 244.586$
$d = -26.305$　$r = 9.628$

而定出参数 a,b,c 和 d:

$$S(a,b,c,d) = \sum_{k=1}^{6}\Big[I(k) - a$$

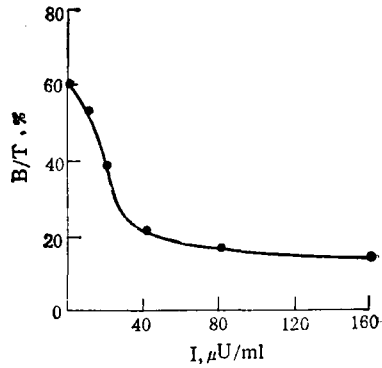

图 4　No.7测定盒标准曲线

$a = 1743.479$　$b = 1489.022$　$c = 433.045$
$d = -42.376$　$r = 4.241$

$$+ b\ln\left(\frac{B(k)}{T(k)} - r\right) - c\ln^2\left(\frac{B(k)}{T(k)} - r\right)$$

$$- d\ln^3\left(\frac{B(k)}{T(k)} - r\right)\Big]^2 \qquad (2)$$

此外，计算机又采用优化技术中的模式搜索法求出参数 r，从而确定(1)式的标准曲线，并把曲线图形在屏幕上显示出来如图 1 那样。

图 2，图 3 和图 4 是另外三个测定盒的标准曲线。

表 2　新型标准曲线算出的胰岛素值、真值及其偏差

试管号码 k	1	2	3
$B(k)/T(k)$(%)	74.333	58.839	47.894
$I(k)$(μU/ml)	−0.130	10·444	19.580
真值 $I(k)$(μU/ml)	0.0	10.0	20.0
偏差 (μU/ml)	−0.130	0.444	−0.420
试管号码 k	**4**	**5**	**6**
$B(k)/T(k)$(%)	32.663	21.735	16.370
$I(k)$(μU/ml)	40.123	79.980	160.00
真值 $I(k)$(μU/ml)	40.0	80.0	160.0
偏差(μU/ml)	0.123	−0.020	0.001

有了某一测定盒的标准曲线，就可根据血清样品测得的 B(cpm) 和 T(cpm)，或得出的百分率 B/T(%)（使用同一药盒中试剂得出的)，确定出血清胰岛素浓度 I(μU/ml)。具体讲，在图中纵坐标上定出已知的百分率 B/T(%) 之位置，对应的曲线横坐标便为所求血清胰岛素浓度。但实际上并无必要真的这样查对曲线，仅需把 B(cpm) 及 T(cpm) 或 B/T(%) 值在计算机键盘上输入，屏幕将立即给出答案。

为了校验此曲线之精度，我们将表 1 第 4 行的六个百分率 $B(k)/T(k)(\%)(k=1,\cdots,6)$ 输入计算机，得出相应的 6 个胰岛素浓度列于表 2 的第 2 行。表 2 的第 3 行是胰岛素浓度之真值，第 4 行为两者的偏差。所有偏差的平方和为 0.406，称为拟合残差平方和，是衡量标准曲线精度的指标，数值小表示精度高，反之则精度低。

胰岛素浓度之真值用小圆点标出在图 1 中，他们几乎全都落在标准曲线上，因此即使不看表 2 的偏差数值，光从曲线图也可一目了然看到其精度了。图 2，图 3 和图 4 中的小圆点与曲线密合的程度也很好，表明这些曲线之精度也很高。我们做过 20 多个测定盒之标准曲线，结果均极为良好，无一例外。

我们采用 BASIC 及 FORTRAN 语言编写程序，可在 IBM-PC 或 APPLE-II 微机上使用。

讨　　论

我们提出(1)式表示标准曲线，其理论根据如下：在试验过程中标记胰岛素与非标记胰岛素(即血清胰岛素)，竞相与试验中加入的胰岛素抗体结合。当非标记胰岛素浓度增高时，标记胰岛素与胰岛素抗体结合的可能性将减少，导致沉淀物中放射性同位素的计数值 B(cpm) 降低。初步设想，其相对降低率与非标记胰岛素浓度 I 成正比（考虑到坐标轴作必要的平移），即

$$-\frac{d\left(\frac{B}{T}-r\right)}{\left(\frac{B}{T}-r\right)}=\frac{1}{b}(I-a),$$

$$\ln\left(\frac{B}{T}-r\right)=0,\ 当\ I=a \tag{3}$$

上列微分方程的解为

$$\ln\left(\frac{B}{T}-r\right)=-\frac{1}{b}(I-a) \tag{4}$$

解出 I

$$I=a-b\ln\left(\frac{B}{T}-r\right) \tag{5}$$

这说明 I 与 $\ln\left(\frac{B}{T}-r\right)$ 成线性关系。再进一步考虑到非线性时，我们在(5)式添上一些高次项得出：

$$I=a-b\ln\left(\frac{B}{T}-r\right)+c\ln^2\left(\frac{B}{T}-r\right)+d\ln^3\left(\frac{B}{T}-r\right)$$

即为前面的(1)式。

以下来回忆常用的 Logit 标准曲线，以便与我们提出的标准曲线比较优劣。Logit 标准曲线的表示式为

$$\ln\frac{B/B(1)}{1-B/B(1)}=a+b\log I \tag{6}$$

式中 $B(1)$ 是表 1 中对应于 $k=1$ 的 $B(k)$ (cpm)（见表 1）。(6)式中参数 a 和 b 是对下式求最小化确定的：

$$S(a,b)=\sum_{k=2}^{6}\left[\ln\frac{B(k)/B(1)}{1-B(k)/B(1)}\right.$$

表 3　LOGIT 法算出的胰岛素值、真值及其偏差

试管号码 k	1	2	3
$B(k)/B(1)$	1.0	0.802	0.645
$I(k)$(μU/ml)		8.303	20.402
真值 $I(k)$(μU/ml)	0.0	10.0	20.0
偏差 (μU/ml)		−1.679	0.402
试管号码 k	4	5	6
$B(k)/B(1)$	0.447	0.311	0.272
$I(k)$(μU/ml)	50.854	97.887	121.135
真值 $I(k)$(μU/ml)	40.0	80.0	160.0
偏差(μU/ml)	10.857	17.88	−38.865

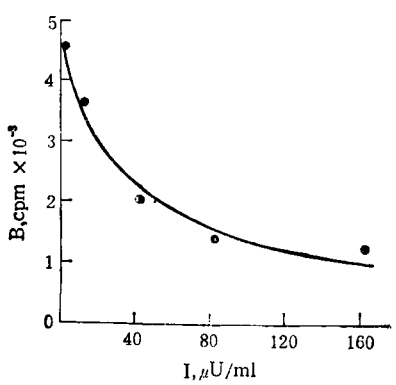

图 5　Logit 标准曲线

$a=3.278$　$b=-2.047$

(下转第 466 页)

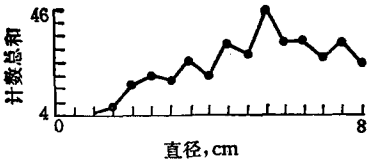

图 4 不同直径的同心圆引起的放电反应

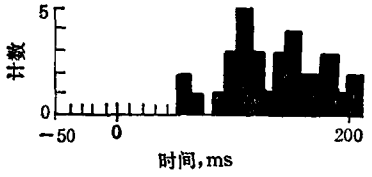

图 5 对给定直径为 5.5cm 的刺激图形作放电反应的直方图

讨　　论

经实际使用证明,该系统能方便、快速、灵活、正确地产生刺激图形,效果优于过去用光、机械和电子学等方法产生的图形刺激。利用计算机产生的图形刺激动物,同时又用计算机对受刺激动物产生的电反应进行分析处理并进行"逆"显示。这是视觉神经电生理学研究中极其有效的方法。这种实时处理方法还可以应用于临床诊断,对提高临床诊断的准确性具有重大意义。

本系统是在 IBMPC/XT 微机上实现也可在其它微机(如 Apple 机等)上实现。

本工作得到罗弗荪教授的大力帮助,谨致谢意。

参 考 文 献

[1] Hubel, DH. et al.: *Nature*, 1977, **269**, 328.
[2] Rodieck, R. W. and Stone, J.: *Journal of Nurophysiology*, 1965, **28**, 833.
[3] L, CY, Nathdurf HC.: *Scientia Sinica* (SeriesB) 1986, **29**(12), 44.
[4] Sussman, D.M. and Vickery, C.C.: *Lablinc BASIC* 1985, 010.

[本文于 1987 年 11 月 23 日收到]

(上接第456页)

$$-a-b\log I(k)\Big]^2 \qquad (7)$$

利用表 1 的数据,求出 $a=3.278, b=-2.047$。代入(6)式再求出反函数

$$I=\exp\left[1.125\left(3.278-\ln\frac{B/B(1)}{1-B/B(1)}\right.\right] \qquad (8)$$

即为 Logit 曲线。为了校验其精度,从表 1 中计算出 $B(k)/B(1)(k=2,\cdots,6)$ 代入(8)式,得出相应的 $I(k)(\mu U/ml)(k=1,\cdots,6)$ 列出在表 3 的第二行。在表 3 中的第三行列出的是胰岛素浓度的真值,第四行是两者的偏差。所有偏差的平方和为 1951.256,比之前面的 0.406 要大得多,说明 Logit 标准曲线精度大大低于我们提出的标准曲线。图 5 绘出了这个 Logit 标准曲线,图中小圆点表示胰岛素浓度的真值,他们都与曲线有相当大的偏离,特别是在高值胰岛素浓度下这偏差更为显著。例如在表 3 中当 $B(6)/B(1)=0.272$ 时,胰岛素浓度真值为 160 (μU/ml),而 Logit 标准曲线只给出 121.135,偏差为 −38.865。这种现象是由于(7)式中对胰岛素浓度是取对数的结果。众所周知,两个大数分别取对数之后再比较,其差别要比原来的小得多,因而(7)式对高值胰岛素浓度的变化不敏感,从而使 Logit 标准曲线对高值胰岛素浓度不能准确判定。

参 考 文 献

[1] Abraham, G.E.: *Handbook of Radioimmunoassay*, Marcel Dekker, Inc., New York, 1977. 286—287.
[2] 尹伯元:《放射免疫测定基础》,天津科学技术出版社,1985,115—119, 320—330。
[3] Nisonoff, A.: *Introduction to Molecular Immunology*, Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts, 1982, 151—152.

[本文于 1987 年 9 月 28 日收到]