

- [11] 孙尔维. 应加强自身抗体检测的临床应用与研究[J]. 中华风湿病学杂志, 2014, 18(4): 217-219.
- [12] 吴海婷, 叶葳, 文煜冰, 等. 干燥综合征合并 ANCA 相关性血管炎肾损害及文献荟[J]. 中华肾脏病学杂志, 2018, 38(1): 1-6.
- 短篇论著 •

34(3):161-166.

(收稿日期: 2019-09-21 修回日期: 2019-12-16)

成都地区健康成人血清游离睾酮和生物可利用睾酮水平调查

蒙立业, 刘 稚, 杨家良, 何 詠, 张 玫[△]

(四川大学华西医院实验医学科, 四川成都 610041)

摘要:目的 调查成都地区健康成人血清总睾酮、游离睾酮和生物可利用睾酮的水平, 为建立本地区血清睾酮的参考范围提供依据。方法 共纳入 499 例体检健康人群, 使用电化学发光免疫分析技术, 检测其血清总睾酮和性激素结合蛋白(SHBG)水平, 计算血清游离睾酮、生物可利用睾酮水平, 分析其与年龄的相关性, 计算其 95% 参考范围。结果 男性总睾酮、游离睾酮、生物可利用睾酮与年龄呈均负相关($P < 0.05$), 男性总睾酮随年龄增长下降趋势较缓($r = -0.171$), 而游离睾酮、生物可利用睾酮随年龄增长呈现明显下降趋势($r = -0.510$ 、 -0.571); 女性总睾酮、游离睾酮、生物可利用睾酮与年龄均呈负相关($P < 0.05$), 且三者下降趋势一致; 男性总睾酮、游离睾酮、生物可利用睾酮的 95% 参考范围分别为: 2.55~9.00 ng/mL、41.27~133.42 pg/mL、1.04~3.59 ng/mL; 女性总睾酮、游离睾酮、生物可利用睾酮的 95% 参考范围分别为: 25.00~496.25 pg/mL、0.22~6.44 pg/mL、5.68~156.80 pg/mL。结论 男性和女性游离睾酮和生物可利用睾酮均与年龄呈负相关性, 临床使用中应充分考虑年龄因素, 男性游离睾酮和生物可利用睾酮较总睾酮更敏感。

关键词: 睾酮; 游离型; 参考范围

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.04.029

文章编号: 1673-4130(2020)04-0493-04

中图法分类号: R446.1

文献标识码: B

睾酮是雄激素的主要成分, 男性睾酮几乎全部来自睾丸, 女性主要由卵巢分泌。总睾酮是实验室最常用的雄激素检测指标, 但不能准确反映出机体组织真正能够利用的雄激素水平。睾酮主要与性激素结合蛋白(SHBG)和清蛋白结合, 在外周血循环中, 只有小部分(1%~2%)未与蛋白质结合, 称为游离睾酮, 只有游离部分才能进入细胞并发挥雄激素活性^[1]。与清蛋白结合的睾酮, 其与清蛋白亲和力低于与 SHBG 的亲和力, 在组织毛细血管中容易解离生成游离睾酮。因此游离睾酮与清蛋白结合睾酮的总和称为生物可利用睾酮^[2]。已有研究表明, 睾酮的测定, 特别是游离睾酮, 对于许多疾病的诊断特别是对于男性的雄激素缺乏症以及女性雄激素过多症有指导意义^[3-4], 但在常规的临床实践中基于技术上的困难, 临床游离睾酮很少被直接测量, 相应游离睾酮参考范围的研究也很少。本研究调查了成都地区健康成人血清总睾酮、游离睾酮和生物可利用睾酮水平, 以期为该地区成人血清睾酮参考范围的建立提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入 2017 年 12 月到 2018 年 7 月四川大学华西医院体检中心健康人群。纳入标准^[5]: 年龄 20~90 岁, 女性月经期规律, 排卵正常。排除标准^[5]: (1) 有严重或(和)慢性病史(特别是内分泌疾

病), 如垂体疾病、糖尿病; (2) 目前正在使用处方药或者在抽血前 1 个月做过任何影响性激素水平的治疗; (3) 过去 1 年内曾接受过激素治疗。共纳入健康观察人群 499 例, 其中男性 246 例, 女性 253 例。

1.2 仪器与试剂 使用罗氏全自动分析仪(购自瑞士罗氏公司, 型号 E601)与其配套试剂盒及校准品检测总睾酮(电化学发光免疫分析法)、SHBG(电化学发光免疫分析法)。选用第三方质控品(购自美国 Bio-Rad 公司), 所有试剂均在有效期内使用。总睾酮可报告范围为 0.025~15.0 ng/mL, 变异系数(CV)为 4.4%(0.696 ng/mL)、3.3%(8.79 ng/mL)、2.5%(13.1 ng/mL); SHBG 可报告范围为 0.25~2 000 nmol/mL, CV 为 1.1%(14.9 nmol/mL)、1.3%(45.7 nmol/mL)、1.7%(219 nmol/mL)。

1.3 方法

1.3.1 标本处理 收集符合上述标准人群空腹血清 1.5~2.0 mL, 存储于-20℃。统一完成血清总睾酮和 SHBG 检测, 采用 Vermeulen A 等的在线计算公式计算血清游离睾酮与生物可利用睾酮^[6]。

1.3.2 离群值检测^[7] D 是指一个极端观测值(大的或小的值)和紧接着的极端观测值(第二大或第二小的值)之间的绝对差值, 而 R 是指所有观测值的全距, 即最大极值和最小极值的差值。采用 D/R 比率

[△] 通信作者, E-mail: meizi5337@163.com.

方法进行群值检测,当 D/R 比率 $\geq 1/3$,剔除该极端观测值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行统计描述和分析,以 $\bar{x} \pm 1.96s$ 表示正态分布资料计算的参考区间,以 $P_{2.5} \sim P_{97.5}$ 作为偏态分布资料的计算参考区。与年龄的相关性采用 Person 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 总睾酮、游离睾酮和生物可利用睾酮与年龄的相关性 结果显示:在男性中,总睾酮水平随年龄变化,呈现平缓下降($r = -0.171$),游离睾酮、生物可利用睾酮随年龄变化呈现明显下降趋势($r = -0.510$ 、 -0.571 , $P < 0.05$)。在女性健康个体中,总睾酮、游离睾酮、生物可利用睾酮与年龄呈负相关($r = -0.569$ 、 -0.491 、 -0.501 , $P < 0.05$)。见图 1、2。

2.2 不同性别总睾酮、游离睾酮、生物可利用睾酮参考区间调查 本研究对分别采用参数统计和非参数统计的方法对总睾酮、游离睾酮、生物可利用睾酮参考范围进行统计,结果表明:在男性中,总睾酮、游离

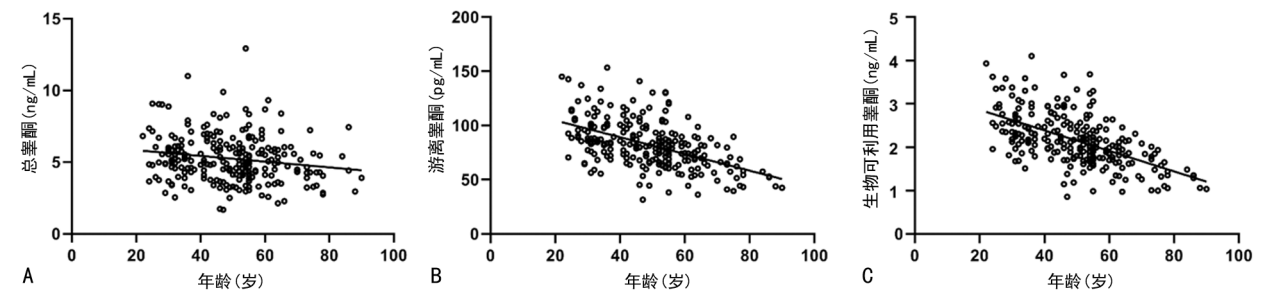
睾酮与生物可利用睾酮的两种统计方法结果相对接近;在女性中,总睾酮、游离睾酮与生物可利用睾酮的两种统计方法结果存在一定的差异。结果见表 1。因参考试剂说明书年龄分组,本文计算不同年龄段的参考范围,结果如表 2。

表 1 睾酮统计方法比较

项目	参数统计		非参数统计	
	参考区间 ($\bar{x} \pm 1.96s$)	均值 ($\bar{x}$)	参考区间 ($P_{2.5} \sim P_{97.5}$)	中位数 (P_{50})
男性				
总睾酮(ng/mL)	2.11~8.39	5.22	2.55~9.00	5.07
游离睾酮(pg/mL)	37.79~125.26	81.77	41.27~133.42	80.97
生物可利用睾酮(ng/mL)	0.97~3.37	2.17	1.04~3.59	2.12
女性				
总睾酮(pg/mL)	27.94~713.37	141.18	25.00~496.25	170.00
游离睾酮(pg/mL)	0.05~5.48	1.64	0.22~6.44	1.55
生物可利用睾酮(pg/mL)	6.17~208.51	35.87	5.68~156.80	40.55

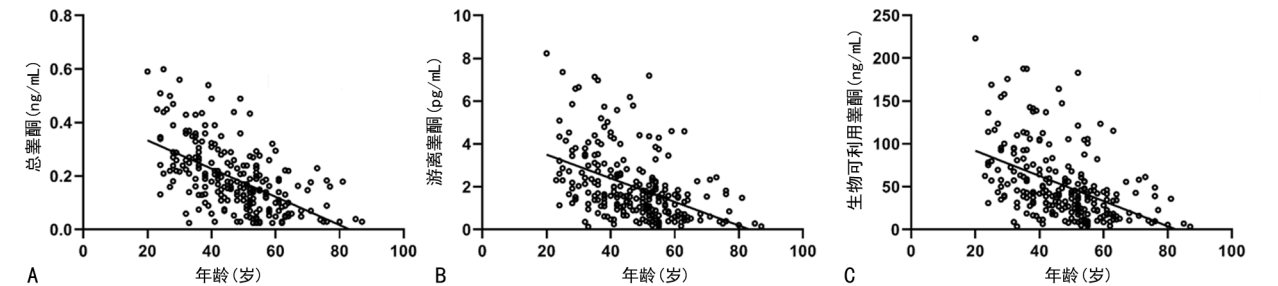
表 2 本研究与试剂说明书比较($P_5 \sim P_{95}$)

项目	< 50 岁		≥ 50 岁	
	本实验的区间	说明书的区间	本实验的区间	说明书的区间
男性				
总睾酮(ng/mL)	2.50~9.08	2.49~8.36	2.60~8.63	1.93~7.40
游离睾酮(pg/mL)	45.40~142.66	57.02~178.27	38.54~128.52	46.94~136.22
生物可利用睾酮(ng/mL)	1.19~3.70	1.26~4.12	1.00~3.28	1.14~3.17
女性				
总睾酮(pg/mL)	30.00~553.00	84.00~481.00	25.00~292.25	29.00~408.00
游离睾酮(pg/mL)	0.27~7.08	0.84~9.50	0.17~4.36	0.29~5.76
生物可利用睾酮(pg/mL)	8.33~173.48	17.00~217.73	4.48~114.87	8.64~123.84



注: A 表示总睾酮与年龄的相关性; B 表示游离睾酮与年龄的相关性; C 表示生物可利用睾酮与年龄的相关性。

图 1 男性总睾酮、游离睾酮、生物可利用睾酮与年龄的相关性



注: A 表示总睾酮与年龄的相关性; B 表示游离睾酮与年龄的相关性; C 表示生物可利用睾酮与年龄的相关性。

图 2 女性总睾酮、游离睾酮、生物可利用睾酮与年龄的相关性

3 讨 论

睾酮作为一种雄性激素在个体的生长、发育和维持内分泌的稳定中起着重要作用。评估男性的雄激素缺乏症与女性雄激素过多症必须基于临床症状和血清睾酮水平,诊断该类疾病需依靠准确的检测结果和参考范围。美国内分泌学会发表了关于性腺功能减退症患者睾酮治疗的临床实践指南,文章中提出用睾酮水平作为初始诊断雄性激素缺乏;当总睾酮接近正常下限或者怀疑 SHBG 结果异常时,通过测量游离或生物可利用的睾酮水平进行验证^[8]。国际男科学会和国际老年男性研究协会建议确定是否存在性腺功能减退症状,通过测量总睾酮和游离睾酮,或是测量总睾酮和 SHBG,计算游离睾酮水平^[9]。以上国际协会皆提出了测量游离睾酮的意义,但基于实际检测技术问题,游离睾酮难于直接测量,因此,本研究通过计算成都市健康人群血清游离睾酮水平,为建立本地区实验室参考范围提供依据。

本研究调查了成都地区健康成人总睾酮、游离睾酮与生物可利用睾酮的水平,以性别、年龄分组进行了统计与相关性分析。结果显示:总睾酮、游离睾酮、生物可利用睾酮在男性与女性中均与年龄呈负相关($P < 0.05$),但男性总睾酮的水平与年龄之间的相关性较弱($r = -0.171, P < 0.05$),游离睾酮与生物可利用睾酮与年龄呈较好的相关性。而真正具有生物活性的游离睾酮与生物可利用睾酮在总睾酮未出现较为明显的变化时,其已经出现下降。因此,通过本研究调查结果表明,游离睾酮与生物可利用睾酮可能较总睾酮较早反映体内雄性激素水平。在女性组中,总睾酮、游离睾酮、生物可利用睾酮均与年龄呈现较强的相关性,通过检测同睾酮的水平,可以间接反映游离睾酮与生物可利用睾酮的水平。已有文献报道,使用不同的测定方法检测男性总睾酮,参考范围在 2.07~3.48 ng/mL^[5]。当男性容易发生雄性激素缺乏症状时,总睾酮水平为 3.00 ng/mL^[8,10]。在本实验中,男性总睾酮参考下限为 2.50 ng/mL,低于该阈值,而略高于中国多中心研究结果(2.10 ng/mL)^[11]。这种差异可能是由于检测方法与健康人群年龄、地域构成不一。目前,在女性总睾酮中缺乏普遍接受的阈值,但是当临床怀疑有雄性激素分泌过多时,仍然会进行睾酮检测^[12],体现出睾酮检测具有重要意义。在本实验中男性总睾酮参考上限是 9.08 ng/mL,与 NEALE 等^[13]使用质谱仪建立英国地区健康人群参考上限(9.19 ng/mL)较为接近,而低于德国地区西门子全自动发光免疫分析建立健康人群参考上限(9.45 ng/mL)^[5]。以上这些差异表明需要建立本地区的参考范围,符合美国临床实验室标准化协会参考范围建立推荐意见^[7]。本研究未以体质量指数进行分组研究,有报道指出,体质量指数在一定程度上会影响游离睾酮与生物可利用睾酮水平^[14]。

试剂说明书仍采用 1987 年国际临床化学联合会

出版刊物中推荐建立 90% 的参考范围^[15]。应用以前的参考范围,存在一定的缺陷,不利于为临床提供参考,不能反映本地区健康成人游离睾酮与生物可利用睾酮水平。而目前普遍接受的标准以临床实验室标准化协会推荐指南建议以 95% 建立参考范围,因此,需要调查本地区血清游离睾酮、生物可利用睾酮水平。本研究发现,本地区参考值上限低于说明书参考范围上限,由于纳入人群为本院体检人群,可能存在一定的选择偏倚,为解决此问题,尚需进一步多中心的调查研究。为比较正偏态资料对结果的影响,本文比较了参数统计与非参数统计的结果,结果显示,总睾酮、游离睾酮与生物可利用睾酮参考范围,在两种统计方法中,存在一定的误差。总体而言,统计结果较为相符。

综上所述,本研究以电化学发光免疫分析技术,检测其血清总睾酮和 SHBG 水平,计算血清游离睾酮、生物可利用睾酮水平,调查了成都地区血清游离睾酮、生物可利用睾酮水平。男性和女性游离睾酮和生物可利用睾酮均与年龄呈负相关性,临床使用中应充分考虑年龄因素,男性游离睾酮和生物可利用睾酮较总睾酮更敏感。

参考文献

- [1] ANTONIO L, PAUWELS S, LAURENT M R, et al. Free testosterone reflects metabolic as well as ovarian disturbances in subfertile oligomenorrheic women[J]. Int J Endocrinol, 2018, 10: 1-8.
- [2] HAMMOND G L. Plasma steroid-binding proteins: Primary gatekeepers of steroid hormone action[J]. J Endocrinol, 2016, 230(1): 13-25.
- [3] EL M A, MOTAWI A, EL S M A. Systematic review of hormone replacement therapy in the infertile man[J]. Arab J Urol, 2018, 16(1): 140-147.
- [4] SURAMPUDI P, SWERDLOFF R S, WANG C. An update on male hypogonadism therapy[J]. Expert Opin Pharm, 2014, 15(9): 1247-1264.
- [5] DEUTSCHBEIN T, MANN K, PETERSENN S. Total testosterone and calculated estimates for free and bio-available testosterone; influence of age and body mass index and establishment of sex-specific reference ranges[J]. Horm Metab Res, 2015, 47(11): 846-854.
- [6] VERMEULEN A, VERDONCK L, KAUFMAN J M. A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1999, 84(10): 3666-3672.
- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory: C28-A3[S]. Wayne, PA: CLSI, 2010.
- [8] BHASIN S, CUNNINGHAM G R, HAYES F J, et al. Testosterone therapy in men with androgen deficiency syndromes; an endocrine society clinical practice guideline[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2010, 95(6): 2536-2559.
- [9] YEAP B B, WU F C W. Clinical practice update on testos-

terone therapy for male hypogonadism; Contrasting perspectives to optimize care[J]. *Cli Endocrinol*, 2019, 90(1):56-65.

[10] STOIAN D, MOZOS I, CRAINA M, et al. Hypogonadism in male sexual dysfunction[J]. *Sexual Dysfunction*, 2017; 33.

[11] YU S, QIU L, LIU M, et al. Establishing reference intervals for sex hormones and SHBG in apparently healthy Chinese adult men based on a multicenter study[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2018, 56(7):1152-1160.

[12] 韩玉清, 王一娜, 陆强, 等. 血清睾酮、硫酸脱氢表雄酮联合检测在多囊卵巢综合征诊断中价值的探讨[J]. *标记免疫分析与临床*, 2015, 22(3):181-182.

[13] NEALE S M, HOCKING R, BISWAS M, et al. Adult testosterone and calculated free testosterone reference ranges by tandem mass spectrometry[J]. *Ann Clin Biochem*, 2013, 50(2):159-161.

[14] KUSHNIR M M, BLAMIRE S T, ROCKWOOD A L, et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for androstenedione, dehydroepiandrosterone, and testosterone with pediatric and adult reference intervals[J]. *Clin Chem*, 2010, 56(7):1138-1147.

[15] DYBKAER R, SOLBERG H E. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values[J]. *J Clin Chem Clin Biochem*, 1987, 25(9):657-662.

(收稿日期:2019-07-18 修回日期:2019-11-25)

• 短篇论著 •

肾细胞癌患者 miR-99a 和 IGF-1R 表达及临床特征

黄四爽¹, 熊 勤^{2△}

(湖北省汉川市人民医院:1. 检验科;2. 输血科, 湖北孝感 431600)

摘要:目的 研究胰岛素样生长因子 1 受体(IGF-1R)和 microRNA-99a(miR-99a)在肾细胞癌(RCC)癌组织中的表达情况,分析二者表达与临床病理特征的关系。方法 选取该院 2014 年 9 月至 2016 年 12 月收治的肾细胞癌患者 80 例,应用免疫组化法检测 43 例肾细胞癌、26 例癌旁组织及 11 例健侧肾组织的 miR-99a 和 IGF-1R 的表达,并对二者与组织学分级、淋巴转移和临床分期等临床资料的关系进行分析。结果 RCC 患者腹膜转移、FIGO 分期、病理分化对患者癌组织中 IGF-1R 阳性表达率和 miR-99a 水平的影响均有统计学意义($P<0.05$);RCC 患者不同组织治疗后临床结局对 IGF-1R 阳性表达率和 miR-99a 水平的影响均有统计学意义($P<0.05$);RCC 患者治疗后阴性患者和阳性患者血清视黄醇结合蛋白(RBP)、分泌型卷曲相关蛋白 5(SFRP5)、同型半胱氨酸(Hcy)、脑钠肽(BNP)、尿清蛋白排泄率(UAER)指标的差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 miR-99a、IGF-1R 在肾细胞癌的发展中有着至关重要的作用,二者可能成为肾细胞癌诊断、治疗与预后的标志物。

关键词:胰岛素样生长因子 1 受体; 肾细胞癌; 免疫组化法; 临床病理学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.04.030 **中图法分类号:**R737.11

文章编号:1673-4130(2020)04-0496-04 **文献标识码:**B

肾细胞癌(RCC)是临床泌尿系统肿瘤最常见的一类肿瘤,它源于肾小管上皮细胞^[1],成人发病率仅次于膀胱癌,位居第 2 位,且逐年上升^[2]。肾细胞癌的发病机制尚不明确,相关病理机制较为复杂。胰岛素样生长因子 1 受体(IGF-1R)作为络氨酸激酶跨膜的直接受体,参与到了细胞有丝分裂、细胞转化等过程^[3-4],同时和肿瘤发生和发展有一定关联。microRNA-99a(miR-99a)位于 21q21,与一些疾病密切相关,在多种常见肿瘤中均呈现出异常表达^[5]。还有学者提出,miR-99a 在子宫内膜癌、口腔癌、RCC、肝细胞癌和食管鳞状细胞癌中表达下调^[6-7]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院泌尿科 2014 年 9 月至

2016 年 12 月收治的肾细胞癌患者 80 例,患者年龄 41~68 岁,平均(53.68±4.51)岁;男性 49 例,女性 31 例。根据患者病理学分类,将患者分为肾透明细胞癌(59 例),乳头状肾细胞癌(15 例),嫌色细胞性肾细胞癌(6 例)。诊断标准:肾细胞癌诊断治疗指南(2018 版本)。纳入标准:(1)首发原发性肾癌,无肿瘤转移;(2)术前均未接受规范的放疗(或化疗)。排除标准:(1)长期使用皮质激素或其他免疫抑制剂的患者;(2)合并其他原发和转移肿瘤及严重感染性疾病者;(3)对依维莫司过敏者;患有重度疾病,如心力衰竭、心肌梗死、心律失常、糖尿病等控制不佳的疾病者。所有入组患者均签署研究同意书,本研究获得医院医学伦理委员会批准(编号 20140706)。

△ 通信作者, E-mail: xmgxml@outlook.com.
本文引用格式:黄四爽,熊勤. 肾细胞癌患者 miR-99a 和 IGF-1R 表达及临床特征[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(4):496-499.