

## · 标准研究 ·

# 人重组胰岛素样生长因子-I (IGF-I) 第1次免疫测定用国家标准品的建立

于婷, 黄杰, 曲守方\* (中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

**摘要** 目的: 研制并建立了人重组胰岛素样生长因子-I (IGF-I) 第1次免疫测定用国家标准品。方法: 取人重组IGF-I原料, 用含赋形剂的0.01 M PBS缓冲液配制成7000 ng·mL<sup>-1</sup>溶液, 经无菌过滤处理后, 分装、冻干制成候选品。以IGF-I国际标准品(02/254)为对照品, 选择3家实验室进行协作标定。并对IGF-I候选品进行瓶间精密度和稳定性分析。结果: 候选品IGF-I效价为7446 ng·支<sup>-1</sup>, 瓶间精密度为1.9%, 37℃放置3个月稳定。结论: 候选品瓶间精密度和稳定性符合要求, 每安瓿效价定为7400 ng。本标准品的建立将为IGF-I免疫测定的标准化提供定量依据。

**关键词:** 胰岛素样生长因子-I; 国家标准品; 定量标记免疫分析

中图分类号: R587 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2018)06-0764-06

doi:10.16153/j.1002-7777.2018.06.012

## Establishment of the First National Standard for the Immunoassay of Human Recombinant Insulin-like Growth Factor-I

Yu Ting, Huang Jie, Qu Shoufang\* (National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

**Abstract Objective:** To do research on and establish the first national standard for the immunoassay of human recombinant Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I) in China. **Methods:** Raw materials of human recombinant IGF-I were used to prepare solution of 7000 ng·mL<sup>-1</sup> in 0.01 M PBS buffer containing excipient. The solution was sterilized by filtration, packaged and lyophilized to make the national standard candidate. By using the IGF-I International Standard (02/254) as a reference, three laboratories were selected for collaborative calibration. Furthermore, the precision between bottles and stability of the candidate were also analyzed. **Results:** The titer of candidate was 7446 ng/ampoule. The precision between bottles was 1.9%. The titer of candidate was stable at 37℃ for 12 weeks. **Conclusion:** The precision between bottles and stability of the candidate are in line with the requirements, and the titer of each ampoule is set at 7400 ng. The establishment of the national standard of IGF-I will lay a quantitative basis for the standardization of the immunoassay of IGF-I.

**Keywords:** Insulin-like Growth Factor-I; national standard; quantitative labeling immunoassay

胰岛素样生长因子-I (IGF-I) 是一种单链多肽, 由70个氨基酸残基组成<sup>[1]</sup>。IGF-I能介导生长激素的大部分作用, 促进生长和合成代谢<sup>[2-5]</sup>, 且有降低血糖、调节免疫、调节骨细胞功能和代谢的作用<sup>[6-9]</sup>。在体内, 生长激素(GH)和营养物的摄入对胰岛素样生长因子-I的合成起刺激作用。血清IGF-I的浓度和血清生长激素水平在24小时内大致平行。因此, 血清IGF-I测定值可更好地反映个体GH分泌状态。另外, IGF-I也是巨人症和肢端肥大症治疗是否有效的重要指标之一<sup>[10-12]</sup>。为规范胰岛素样生长因子-I定量分析, 促进各实验室间测值具有可比较性, 本实验室开展了人重组胰岛素样生长因子-I (IGF-I) 第1次免疫测定用国家标准品的研制。

## 1 材料和方法

### 1.1 仪器和试剂

#### 1.1.1 仪器

Hamilton-MICROLAB<sup>®</sup>540B配液仪, 瑞士Hamilton公司生产, 分装用; 全自动化学发光检测仪, 型号: AutoLumo A2000, 由郑州安图生物工程股份有限公司提供; 全自动化学发光测定仪, 型号: Maglumi 2000 Plus, 由深圳市新产业生物医学工程股份有限公司提供; 化学发光免疫分析仪, 型号: IMMULITE 2000XPi, 由西门子医学诊断产品(上海)有限公司提供。

#### 1.1.2 试剂盒

本次协作标定选择了3家IGF-I定量标记免疫分析系统, 包含国产与进口试剂盒, 检测原理均为夹心法标记免疫分析。

胰岛素样生长因子-I定量检测试剂盒(磁微粒化学发光法): 郑州安图生物工程股份有限公司生产, 线性范围为15~1000 ng·mL<sup>-1</sup>; 胰岛素样生长因子-I测定试剂盒(化学发光法): 深圳新产业生物医学工程股份有限公司, 线性范围为50~1000 ng·mL<sup>-1</sup>; IMMULITE 2000胰岛素样生长因子-I测定试剂盒(化学发光法): 西门子有限公司, 线性范围为15~1000 ng·mL<sup>-1</sup>。

#### 1.1.3 IGF-I国际标准品

NIBSC批号: 02/254, 冻干品, 8.5 μg·支<sup>-1</sup>,

由中国食品药品检定研究院提供。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 候选品制备

根据目前市场多家IGF-I测定试剂盒校准品浓度, 按7000 ng·支<sup>-1</sup>水平制备候选品。取IGF-I原料(BBI公司), 采用以下缓冲体系: 0.01 M PBS溶液(pH=7.2~7.4)、10%甘露醇(w/v)、5%海藻糖(w/v)、1%叔丁醇(v/v)、0.5% BSA(w/v)、0.1% EDTA-2K(w/v), 进行配制, 最终得到理论浓度为7857 ng·mL<sup>-1</sup>的IGF-I标准品溶液。按每支安瓿0.5 mL分装后冻干, 即为IGF-I国家标准品候选品。

#### 1.2.2 瓶间精密度分析

按中华人民共和国国家一级标准物质技术规范(JJG 1006-94)相关要求, 随机抽取15支候选品, 在安图生物公司试剂盒上, 平行进行分析测定。此15支候选品数据同时作为标定数据。候选品检测采用同一批号试剂盒、同一台测试仪器、同一天内完成测试。

#### 1.2.3 稳定性分析

每次随机选取2支候选品于37℃放置1、2、4、6、8、10、12W后, 在安图生物公司试剂盒上, 以-20℃保存的IGF-I国家标准品候选品(记为0周)为对照, 对稳定性候选品样本平行进行分析测定。候选品采用不同时间点放入, 最终时间点取出, 统一检测; 采用同一批号试剂盒、同一台测试仪器、同一天内完成测试。

#### 1.2.4 协作标定

在各厂家试剂线性范围内, 以IGF-I国际标准品为对照, 对候选品进行协作标定。按各试剂说明书进行试验, 采用Log-Log双对数的数学模型进行数据处理分析, 并对每一次独立分析中的国际标准品曲线和候选品曲线的斜率进行t检验。根据量反应平行线原理, 对各厂家试剂盒的标定结果进行统计分析和汇总。

## 2 结果

### 2.1 IGF-I候选品的瓶间精密度结果

IGF-I候选品的瓶间精密度为1.9%, 数据详见表1, 该数据同时为安图的标定结果。

表1 IGF-I 候选品瓶间精密度结果

样品	截距	斜率	相关系数 ( $r$ )	$t_{0.05}$	$t$	效价比
国际标准品	4.1135	1.3789	0.9973	-	-	-
候选品 1	4.6506	1.2359	0.9913	2.262	1.6166	1.0408
候选品 2	4.7037	1.2179	0.9912	2.262	1.8339	1.0646
候选品 3	4.6311	1.2459	0.9913	2.262	1.5006	1.0449
候选品 4	4.6658	1.2385	0.9898	2.262	1.5076	1.0794
候选品 5	4.5980	1.2574	0.9900	2.262	1.3017	1.0332
候选品 6	4.6478	1.2386	0.9927	2.262	1.6741	1.0444
候选品 7	4.7586	1.2053	0.9911	2.262	1.9841	1.1143
候选品 8	4.7306	1.2096	0.9910	2.262	1.9209	1.0801
候选品 9	4.6453	1.2393	0.9928	2.262	1.6712	1.0427
候选品 10	4.6540	1.2395	0.9906	2.262	1.5369	1.0613
候选品 11	4.6604	1.2367	0.9914	2.262	1.6144	1.0606
候选品 12	4.6384	1.2452	0.9904	2.262	1.4590	1.0560
候选品 13	4.6704	1.2341	0.9916	2.262	1.6595	1.0682
候选品 14	4.6574	1.2371	0.9912	2.262	1.5974	1.0574
候选品 15	4.6213	1.2546	0.9917	2.262	1.4183	1.0609
效价比均值						1.0606
SD						0.02
CV/%						1.9
理论效价 / (ng · 支 <sup>-1</sup> )						7000
实际效价 / (ng · 支 <sup>-1</sup> )						7424

## 2.2 稳定性试验结果

候选品在37℃放置1、2、4、6、8、10、12 W后, 与-20℃保存的候选品(作为0周)的效价比

在0.98~1.02之间, 即效价基本无变化, 表明候选品非常稳定, 详见表2。

表2 IGF- I 候选品热稳定性试验结果

样品	截距	斜率	相关系数 ( <i>r</i> )	<i>t</i> <sub>0.05</sub>	<i>t</i>	效价比
0周	4.5708	1.2603	0.9981	-	-	-
1周-1	4.6155	1.2368	0.9978	2.447	0.3599	0.99
1周-2	4.5530	1.2660	0.9965	2.447	0.0757	0.99
2周-1	4.5695	1.2652	0.9977	2.447	0.0742	1.02
2周-2	4.6050	1.2440	0.9973	2.447	0.2368	1.00
4周-1	4.5950	1.2511	0.9978	2.447	0.1407	1.01
4周-2	4.6155	1.2368	0.9978	2.447	0.3599	0.99
6周-1	4.5530	1.2660	0.9965	2.447	0.0757	0.99
6周-2	4.5695	1.2652	0.9977	2.447	0.0742	1.02
8周-1	4.6050	1.2440	0.9973	2.447	0.2368	1.00
8周-2	4.5950	1.2511	0.9978	2.447	0.1407	1.01
10周-1	4.5380	1.2739	0.9986	2.447	0.2305	0.99
10周-2	4.5732	1.2523	0.9973	2.447	0.1152	0.98
12周-1	4.6044	1.2480	0.9976	2.447	0.1823	1.02
12周-2	4.5817	1.2529	0.9982	2.447	0.1187	0.99

2.3 候选品的协作标定

以IGF- I 第1次国际标准品为对照品, 在各检测系统上测定候选品, 两条剂量-反应曲线均不显著偏离平行 (*t*检验), 表明候选品与IGF- I 国际标准品同质, 根据标定结果 (详见表1、表3和表4),

每支候选品效价均值为7446 ng · 支<sup>-1</sup>, 这与理论效价 (7857 ng · 支<sup>-1</sup>) 仅有5%左右的损失, 表明该候选品冻干前后的状态稳定。最终确定效价为7400 ng · 支<sup>-1</sup>。

表3 各家标定IGF- I 候选品的结果

厂家	样品	截距	斜率	相关系数 ( <i>r</i> )	<i>t</i> <sub>0.05</sub>	<i>t</i>	效价比
新产业	国际标准品	3.4428	0.8879	0.9994	-	-	-
	候选品 1	3.5331	0.8659	0.9996	2.306	1.094	1.1231
	候选品 2	3.5422	0.8557	0.9994	2.306	1.475	1.0887
	候选品 3	3.5154	0.8768	0.9997	2.306	0.573	1.1373
西门子	国际标准品	2.1712	1.4381	0.9996			
	候选品 1	2.1212	1.4612	0.9989	2.228	0.667	1.0054
	候选品 2	2.2187	1.4222	0.9996	2.262	0.599	1.0226

表4 IGF-I 国家标准品候选品标定结果汇总

厂家(简称)	效价比均值	标定效价 / (ng · 支 <sup>-1</sup> )
安图	1.0606	7424
新产业	1.1164	7814
西门子	1.0140	7098
均值	1.0637	7446
SD		358.74
CV/%		4.8

### 3 讨论

IGF-I 是细胞生长和分化的主要调节因子之一。多种因素如年龄、性别、营养状态和生长激素的释放等都影响血清IGF-I 浓度。尽管肢端肥大症的临床特征和血清IGF-I 浓度并非紧密相关,但测定血清IGF-I 在诊断GH不足和肢端肥大症仍是有用的。营养状态影响IGF-I 浓度,它是循环和组织IGFs系统的重要调节因子。在其他状态,如严重创伤和败血症时有GH抵抗,血清IGF-I 浓度也降低。糖尿病状态下GH/IGF-I 轴异常, GH增高、IGF-I 减低。此外IGF-I 是调节骨细胞功能和代谢的重要因子,并可能介导甲状旁腺激素的作用。并且有报道称,胰岛素样生长因子与肿瘤的发生、发展及转移关系密切,近年来引起了国内外广泛的关注。IGF-I 和胰岛素对癌症的发生、发展的作用,已在一些动物和人体的研究中被证实。IGF和胰岛素可能是癌症的重要危险因素,同时也可以作为癌症治疗的新分子靶点<sup>[13-15]</sup>。

人重组胰岛素样生长因子-I 第1次免疫测定用国际标准品(NIBSC批号:02/254)建立于2008年,主要用于全世界范围内免疫测定人血清和血浆中IGF-I 方法的校准,是各种IGF-I 免疫分析试剂盒校准品溯源时使用的上一级标准品。但我国暂无该标准品,因此制备IGF-I 国家标准品有助于IGF-I 量值传递,促进各实验室间同项目数据具有可比较性,具有重要的市场价值。

目前我国上市销售且均有注册证的国产或进口IGF-I 定量免疫分析试剂盒并不多,仅5家,且主要为化学发光法试剂。本次协作标定选择的3家试剂为我国市场流通的主要产品,包括国产

和进口,因此试验结果具有一定的代表性。本实验室以现行IGF-I 国际标准品为对照品,对每组试验中IGF-I 国际标准品与IGF-I 国家候选品的标准曲线斜率进行显著性检验(*t*检验),所有试验证实二者均平行,表明候选品与国际标准品同质。经标定,IGF-I 候选品效价均值为7446 ng · 支<sup>-1</sup>,为方便试验操作及标准品的稀释,最终确定本候选品IGF-I 效价为7400 ng · 支<sup>-1</sup>。通过瓶间精密度、热稳定性检测,此批IGF-I 候选品满足作为国家标准品的要求,可用于IGF-I 免疫分析及相应试剂盒的性能评价,并规范IGF-I 定量免疫的测定。

### 参考文献:

- [1] 李江,董作亮. 胰岛素样生长因子-1的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(7): 848-851.
- [2] Bortvedt S F, Lund P K. Insulin-like Growth Factor 1: Common Mediator of Multiple Enterotrophic Hormones and Growth Factors[J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2012, 28(2): 89-98.
- [3] 王新利,葛美茹,武文燕. 1-24月婴幼儿胰岛素样生长因子-1水平及与生长发育的关系[J]. 中国当代儿科杂志, 2010, 12(6): 459-461.
- [4] 张琼,张知新. 胰岛素样生长因子系统对生长迟缓的影响机制[J]. 中国医学科学院学报, 2011, 33(1): 18-21.
- [5] 谭志团,任翼,石霖. 血清胰岛素样生长因子在机体生长发育中的作用研究进展[J]. 中国医药导报, 2013, 10(29): 28-31.
- [6] 李建英. 胰岛素样生长因子-1与老年2型糖尿病患者胰

- 胰岛素抵抗相关性研究[J]. 广西医学, 2009, 31(7): 936-939.
- [7] Simpson H L, Jackson N C, Moradie F S, et al. Insulin-like Growth Factor 1 Has a Direct Effect on Glucose and Protein Metabolism, but no Effect on Lipid Metabolism in Type 1 Diabetes[J]. J Clin Endocr Metab, 2004, 89(1): 425-432.
- [8] 刘瑾春, 刘霞. 胰岛素样生长因子和胰岛素样生长因子结合蛋白在软骨细胞生长和发育过程中的调控作用研究进展[J]. 组织工程与重建外科杂志, 2011, 7(1): 41-44.
- [9] 赵广, 荆吉峰, 张治宇. 胰岛素样生长因子1促进创伤性关节炎软骨细胞的体外增殖[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(2): 183-186.
- [10] 吴淑会, 刘臣. 胰岛素样生长因子 I (IGF-I) 与各疾病的相关性研究进展[J]. 中国实验诊断学, 2014, 18(7): 1214-1216.
- [11] 沈浩, 胡玲, 王倩, 等. 2型糖尿病合并骨质疏松症的相关因素分析[J]. 实用临床医学, 2013, 14(1): 4-5, 9.
- [12] 刘红燕, 王丽芬, 劳英兰. 胰岛素样生长因子-I 和生长激素与2型糖尿病肾病的关系[J]. 临床荟萃, 2001, 16(17): 395-396.
- [13] 樊晓静. 老年胃癌根治术后胰岛素样生长因子-I 及其受体、胰岛素样生长因子-II 水平变化及与预后的关系[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(11): 2724-2726.
- [14] 王悦超, 元文骞, 赵平. 胰岛素样生长因子1受体在胰腺癌治疗中的机制及进展[J]. 临床肝胆病杂志, 2017, 33(4): 790-794.
- [15] 王杰, 陈大兴, 郭宁, 等. 肺癌患者中血清胰岛素样生长因子1受体和 S100A2 的表达及其临床意义 [J]. 实用癌症杂志, 2016, 31(12): 1922-1925.

(修回日期 2018年2月23日 编辑 邹宇玲)