

• 经验交流 •

93 例强直性脊柱炎患者抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体的检测

范见佩¹, 汤文辉², 钟运华³, 杨自华^{4△}

(1. 吴川市妇幼保健院, 广东吴川 524500; 2. 吴川市人民医院, 广东吴川 524500;
3. 广州中医药大学, 广东广州 510405; 4. 深圳市人民医院, 广东深圳 518000)

摘要:目的 探讨抗突变型瓜氨酸波形蛋白(MCV)抗体在强直性脊柱炎(AS)诊断中的意义。方法 采用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测 93 例 AS 患者(AS 组), 40 例 RA 患者(RA 组)及 40 例健康体检者(对照组)血清抗 MCV 抗体、抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体。分别采用魏氏法、电化学发光免疫法检测其红细胞沉降率(ESR)及 C 反应蛋白(CRP)。采用聚合酶链反应-序列特异性引物(PCR-SSP)技术检测人类白细胞抗原 B27(HLA-B27)基因型。结果 AS、RA 患者的抗 MCV 抗体浓度分别为 8.2~76.7 U/mL[(21.3±13.8) U/mL]、10.5~176.2 U/mL[(65.7±48.5) U/mL], 明显高于对照组[<20 U/mL(10.7±4.2) U/mL]($P<0.05$)。AS 组、RA 组和对照组患者抗 MCV 抗体的阳性率分别为 32.2%(30/93)、72.5%(29/40)和 0.0%(0/40)。仅 3%(3/93)的 AS 患者呈抗 CCP 抗体阳性, 且滴度不高[(4.5±1.4) RU/mL], 对照组无阳性。67.5%(27/40)RA 患者可检测出抗 CCP 抗体, 滴度较高[(67.6±53) RU/mL]。AS 患者中, 抗 MCV 抗体阳性率与 ESR 相关($r=0.447$; $P=0.03$), 而与性别、年龄、CRP 水平及 HLA-B27 不相关($P>0.05$)。结论 抗 MCV 抗体可作为 AS 的血清标志物。

关键词:强直性脊柱炎; 抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体; 抗环瓜氨酸肽抗体; 人类白细胞抗原
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.10.055 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2014)10-1352-02

强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)是一类主要累及骶髂关节和脊柱关节的慢性炎症性疾病, 目前发病机制尚不明确, 被认为是一类与人类白细胞抗原 B27(human leukocyte antigen B27, HLA-B27)基因高度相关的遗传性疾病。尽早诊断可有效预防病情恶化, 早期诊断以脊柱和骶髂关节核磁共振成像为主, 但核磁共振成像具有放射性危害, 因此, 需要寻找一种血清学检测的标志物。抗突变型瓜氨酸波形蛋白(mutated citrullinated vimentin, MCV)抗体是抗瓜氨酸化蛋白抗体系列的一种, 对类风湿关节炎有着很高的特异性和敏感性, 同时它与 HLA-DRB1 相关。AS 患者中, 某些 HLA-B27 的等位基因变异, 特别是 HLA-B*2705 和 HLA-B*2709, 可能被环瓜氨酸化^[1]。最近的研究发现, 高达 14% 的 AS 患者呈抗 MCV 抗体阳性^[2]。因此, 本研究检测 AS 患者的抗 MCV 抗体、抗环瓜氨酸肽(cyclic citrullinated peptide, CCP)抗体、红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)及 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)等, 探讨 AS 与抗 MCV 抗体、抗 CCP 抗体、ESR 及 CRP 的关系, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集深圳市人民医院 2011 年 5 月至 2013 年 3 月住院患者血清, AS 患者 93 例(AS 组), 其中, 男 63 例, 女 30 例; 年龄 21~78 岁, 平均(44.0±15.0)岁; HLA-B27 阳性 78 例。RA 患者 40 例(RA 组), 其中, 男 11 例, 女 29 例; 年龄 25~79 岁, 平均(46.0±10.0)岁; RA 的诊断符合美国风湿病学会(American College of Rheumatology, ACR)1987 年修订标准。另选择健康体检者 40 例(对照组), 排除病毒感染和自身免疫性疾病, 年龄 22~60 岁, 平均(24.0±66.0)岁。

1.2 检测方法 采用酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)进行检测。抗 MCV 抗体检测试剂盒由德国 Orgentec 公司提供, 临界值为 20 U/mL。抗 CCP 抗体检测试剂盒由德国欧蒙公司提供, 临界值为 20 RU/mL。采用魏氏法检测 ESR, 正常参考范围: <50 岁, 男性 0~15 mm/h,

女性 0~20 mm/h; ≥50 岁, 男性 0~20 mm/h, 女性 0~30mm/h。采用 Roche Cobas E601 型全自动电化学发光免疫分析系统(瑞士 Roche 公司)检测 CRP。采用聚合酶链反应-序列特异性引物(polymerase chain reaction-sequence specific primer, PCR-SSP)技术检测 HLA-B27 基因型。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 不同组间的非参数资料使用 Mann-Whitney U 检验, 计数资料用率表示, 率的比较采用 χ^2 检验, $n<40$ 时, 使用 Fisher 精确概率法。相关性分析采用 Spearman 秩相关系数检验, 以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 抗 MCV 抗体检测 AS、RA 患者的抗 MCV 抗体浓度范围分别为 8.2~76.7 U/mL[(21.3±13.8) U/mL]、10.5~176.2 U/mL[(65.7±48.5) U/mL], 明显高于对照组[<20 U/mL(10.7±4.2) U/mL]($P<0.05$)。AS 组、RA 组患者和对照组健康者抗 MCV 抗体的阳性率分别为 32.2%(30/93)、72.5%(29/40)和 0.0%(0/40), 见表 1。

2.2 抗 CCP 抗体检测 仅 3%(3/93)的 AS 患者呈抗 CCP 抗体阳性, 且滴度不高[(4.5±1.4) RU/mL], 对照组无阳性。67.5%(27/40)RA 患者可检测出抗 CCP 抗体, 滴度较高[(67.6±53.0) RU/mL], 见表 1。

表 1 AS 组、RA 组患者和对照组健康者抗 MCV 抗体、抗 CCP 抗体水平的比较

组别	<i>n</i>	抗 MCV 抗体(U/mL)	抗 MCV 抗体(RU/mL)
AS 组	93	21.3±13.8*	4.5±1.4#
RA 组	40	65.7±48.5*	67.6±53.0*
对照组	40	10.7±4.2	4.2±1.5

* : $P<0.05$; # : $P>0.05$, 与对照组比较。

△ 通讯作者, E-mail: sz-yzh@163.com。

2.3 抗 MCV 抗体与其他参数的关系 AS 患者中,抗 MCV 抗体阳性率与 ESR 相关($r=0.447$; $P=0.03$),而与性别、年龄、CRP 水平及 HLA-B27 不相关($P>0.05$)。

3 讨论

抗瓜氨酸化蛋白/肽抗体(antibodies against citrullinated proteins/peptides, ACPA)被认为是诊断 RA 的高特异性和敏感性的血清标志物。这类抗体在其他自身免疫性炎症疾病的发病和预后方面都有很重要的指示作用,但这类抗体与 AS 的相关报道较少。AS 患者的抗 MCV 抗体阳性率为 5%~14%^[3-4],本研究的阳性率为 32.2%,与 Bodnár 等^[5]报道的结果相近,高于国内报道的数据,样本的选取是造成差异的主要原因,不同厂商的检测试剂也是一大影响因素,另外,报道中的 AS 样本通常只作为非 RA 对照组,用于评价抗 MCV 抗体或抗 CCP 抗体对 RA 的敏感性和特异性,且选取的样本例数不多。

抗 MCV 抗体对 AS 敏感性虽不及对 RA,但 AS 组患者抗 MCV 抗体水平明显高于对照组,且抗 MCV 抗体阳性的 AS 患者与 ESR 的变化相关,表明抗 MCV 抗体对 AS 有一定的指示作用。

AS 患者的抗 MCV 抗体阳性率远高于抗 CCP 抗体,这 2 种抗体同样是 ACPA 中的一员,对 RA 诊断的敏感性超过 65%,抗 MCV 抗体比抗 CCP 抗体略高,但对 AS 却达不到相同的效果,且两者的敏感性相差甚大,可能是因为 AS 患者中,某些 HLA-B27 的等位基因变异,特别是 HLA-B*2705 和 B*2709,可能被环瓜氨酸化,使其抗原递呈能力发生改变^[1]。

HLA-B27 是最早被认为与 AS 发病相关的基因,随着基

因研究的深入及技术的提高,其他与 AS 发病相关的基因被人们提出,包括主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)类基因及非 MHC 基因。本研究发现,AS 的抗 MCV 抗体的阳性率与 HLA-B27 的状态不相关。

综上所述,抗 MCV 抗体可能成为 AS 的重要血清标志物,后期需扩大检测样本量,并采用多种不同的检测技术进行重复验证。

参考文献

- [1] Beltrami A, Rossmann M, Fiorillo MT, et al. Citrullination-dependent differential presentation of a self-peptide by HLA-B27 subtypes[J]. J Biol Chem, 2008, 283(40): 27189-27199.
- [2] Damjanovska L, Thabet MM, Levarth EW, et al. Diagnostic value of anti-MCV antibodies in differentiating early inflammatory arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2010, 69(4): 730-732.
- [3] 冯蕊,李永哲,赵冠飞,等.抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体在类风湿关节炎诊断中的意义[J]. 中华风湿病学杂志, 2006, 10(11): 686-689.
- [4] 程鹏,钟丽民,沈杰,等.抗突变型瓜氨酸波形蛋白检测在类风湿关节炎中的意义[J]. 中国免疫学杂志, 2008, 24(11): 1028-1032.
- [5] Bodnár N, Szekanecz Z, Prohászka Z, et al. Anti-mutated citrullinated vimentin (anti-MCV) and anti-65 kDa heat shock protein (anti-hsp65): new biomarkers in ankylosing spondylitis[J]. Joint Bone Spine, 2012, 79(1): 63-66.

(收稿日期:2014-01-21)

高浓度肝素抗凝对肌钙蛋白 I 结果的影响

徐志康,陈望,朱兆钧,汪奇云,朱惠君,刘和录,梁巧玲
(广州医学院附属深圳沙井医院检验科,广东深圳 518104)

摘要:目的 探讨高浓度肝素抗凝对心肌肌钙蛋白 I(cTnI)检测结果的影响。方法 用肝素抗凝和普通真空采血管各抽取 15 份急性心肌梗死(AMI)患者血标本进行对比,用 UniCel DxI 800 全自动化学发光免疫分析仪进行检测;同时用高于抗凝管 10 倍浓度的肝素抗凝剂对 5 个浓度组的 cTnI 样本进行干扰试验。结果 肝素抗凝管和普通真空采血管两组数据的差异无统计学意义($P<0.05$);高浓度肝素抗凝剂对 4 个浓度组的 cTnI 干扰值均小于干扰试验对照组 1.96s。结论 肝素抗凝和普通真空采血管对 cTnI 检测结果无明显影响,可用肝素抗凝血样进行检测以加快结果报告时间,为临床早诊断、早治疗争取时间。

关键词:肝素; 化学发光测定法; 肌钙蛋白 I; 抗凝

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.10.056

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)10-1353-02

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)是由于冠状动脉病变导致心肌供血不足而引起的严重心肌缺血和坏死,起病急,病死率高。早发现、早诊断、早治疗有助于改善患者预后和提高患者生活质量,减低病死率^[1]。心肌肌钙蛋白 I(cardiac troponin I, cTnI)作为临床诊断 AMI 及心肌损伤的高敏感性、特异性血清标志物之一,已被广泛应用于临床。肝素抗凝剂对化学发光法测定 cTnI 是否有影响还未见报导,笔者对此进行了研究,认为高浓度肝素抗凝剂对 cTnI 检测结果无明显影响,可用肝素抗凝标本进行测定,减少标本前处理时间,加快结果报告时间,现将研究报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 选择确诊的 AMI 住院患者 15 例,其中,男 11 例,女 4 例;平均年龄(56.6 ± 6.7)岁,住院时间大于 5 d。

采集其静脉血标本进行检测。

1.2 主要仪器与试剂 主要仪器为 UniCel DxI 800 全自动化学发光免疫分析仪(美国 Beckman Coulter 公司)、肝素抗凝采血管(肝素钠浓度约为 15 IU/mL)和普通真空采血管(美国 BD 公司)。主要试剂:UniCel DxI 800 全自动化学发光免疫分析仪配套的 cTnI 检测试剂和定标液(美国 Beckman Coulter 公司)、肝素钠注射液(6 250 IU/mL,批号 1102205,江苏万邦生化医药股份有限公司)。

1.3 检测方法 采用普通真空采血管和肝素抗凝真空采血管分别抽取 2 份患者静脉血标本,各 3 mL,普通真空采血管于 37℃水浴 30 min,待血液完全凝固后,3 000 r/min 离心 8 min 分离血清;肝素抗凝真空采血管采血后,轻轻颠倒混匀 5 次,离心分离血浆。所有实验操作严格按试剂和仪器说明书进行。