

• 临床检验研究论著 •

川东北地区健康人群抗突变型瓜氨酸波形蛋白参考范围调查

邓仁兵¹, 刘昌奎², 王 强¹, 王东生¹, 蔡艳娟¹, 卢小岚¹, 杜 娟¹, 张国元^{1△}

(1. 川北医学院附属医院检验科, 四川南充 637000; 2. 重庆市垫江县计划生育生殖健康服务中心, 重庆 408300)

摘 要:目的 川东北地区健康人群抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体(anti-MCV)的参考范围的建立。方法 收集健康人群血清 141 份, 采用 Alegria 酶联免疫分析仪及仪器配套的 anti-MCV 检测试剂盒检测血清 anti-MCV 浓度。结果 anti-MCV 检测系统的批内和日间精密度以及功能灵敏度均符合实验室要求。健康人群女性组血清 anti-MCV 浓度为 12.10(6.70~41.30)U/mL, 与男性组 anti-MCV 浓度为 11.10(6.00~18.30)U/mL 比较, 差异无统计学意义($Z=-0.991, P=0.322$); <50 岁年龄组和大于或等于 50 岁年龄组血清 anti-MCV 检测结果比较差异无统计学意义($Z=-0.588, P=0.558$)。血清 anti-MCV 参考范围为 0.00~18.14 U/mL。结论 anti-MCV 参考范围与性别和年龄均无关系, 建立适合该地区健康人群的 anti-MCV 参考范围具有重要的临床应用价值。

关键词: 抗突变型瓜氨酸波形蛋白; 参考范围; 健康人群
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.15.014 文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2014)15-2000-02

Investigation on reference range of anti-mutated citrullinated vimentin antibody among healthy individuals in Northeast area of Sichuan

Deng Renbing¹, Liu Changkui², Wang Qiang¹, Wang Dongsheng¹, Cai Yanjuan¹, Lu Xiaolan¹, Du Juan¹, Zhang Guoyuan^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital, North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China; 2. Dianjiang County Family Planning Reproductive Health Service Center, Chongqing 408300, China)

Abstract: **Objective** To establish the reference range of anti-mutated citrullinated vimentin antibody (anti-MCV) among healthy individuals in Northeast area of Sichuan. **Methods** The Alegria enzyme-linked immunosorbent assay system and the matched anti-MCH reagent test kit were adopted to detect the serum anti-MCV concentration in 141 serum samples collected from healthy individuals. **Results** The intra-batch and inter-batch precisions and the functional sensitivity of the Alegria enzyme-linked immunosorbent assay system all met the laboratory requirements. The concentration of serum anti-MCV was 12.10(6.70—41.30) U/mL in the healthy female group and 11.10(6.00—18.30)U/mL in the healthy male group, there was no statistical difference between these two groups ($Z=-0.991, P=0.322$); the detection results of serum anti-MCV in the age groups of <50 years old and ≥50 years old had no statistical differences ($Z=-0.588, P=0.558$). The reference range of anti-MCV in the investigated healthy individuals was 0.00—18.14 U/mL. **Conclusion** The reference range of anti-MCV has no correlation with gender and age. Establishing the reference range of anti-MCV suitable for the healthy population in the local area has very important clinical application value.

Key words: anti-mutated citrullinated vimentin antibody; reference range; healthy individuals

类风湿关节炎(RA)是一种以慢性侵蚀性关节炎为特征的全身性自身免疫病^[1-2]。据统计, RA 全球患病率约为 0.3%~1.0%, 部分 RA 患者在发病 2 年即可出现不可逆转的骨关节破坏而致关节畸形, 进而丧失运动能力^[3-4]。早期诊断以及尽早采取适宜的治疗, 对于预防关节的损伤十分重要。在 RA 的诊断方面, anti-MCV 具有与抗环瓜氨酸肽抗体相近的特异性, 却有更高的敏感性^[5], 因此, anti-MCV 被认为是目前诊断早期关节炎最有价值的实验室指标^[6]。为了解本地区 anti-MCV 参考范围, 研究者对 141 例健康人群进行血清 anti-MCV 检测。现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 参加本院健康体检者, 经相关的体格和实验室检查, 均未发现明显的心血管、肝脏、肾脏方面疾病, 无自身免疫性疾病病史的表面健康人群共 141 例, 年龄 23~80 岁, 平

均年龄 51 岁; 其中男性 62 例, 女性 79 例。

1.2 标本采集 符合上述条件的人员空腹采集静脉血约 3 mL 于无菌真空采血管中, 37 ℃ 孵育 30 min, 待血液完全凝固后以 3 800 r/min 的离心速度离心 5 min, 分离收集血清。

1.3 仪器与试剂 Alegria 酶联免疫分析仪由德国 Orgentec 公司提供, 所有配套 anti-MCV 检测试剂盒均购自德国 Orgentec 公司。间接免疫荧光基质片购自德国欧盟公司。

1.4 方法

1.4.1 间接免疫荧光检测 使用 PBS(含 2‰吐温 20)对样本进行 1:100 稀释, 运用间接免疫荧光法对稀释后样本进行自身抗体的检测。

1.4.2 血清 anti-MCV 检测 参照仪器 SOP 对待测样本上机检测。各项检测参数均符合检测系统要求。

1.4.3 批内不精密度实验 选择高中低浓度血清样本分别在

1 d 内连续测定 20 次,评价 Alegria 酶联免疫分析系统检测 anti-MCV 的批内不精密度,用变异系数(CV)表示。

1.4.4 日间不精密度实验 选择 5 份不同浓度血清样本,将其各分为 20 份后,置于 -80°C 低温冰箱。每天各取 1 份不同浓度样本置于室温中,待其完全溶解后上机检测,连续检测 20 d,评价 Alegria 酶联免疫分析系统检测 anti-MCV 的日间不精密度,用 CV 表示。

1.4.5 功能灵敏度 根据日间不精密度结果,估计检测系统的日间不精密度 CV=10%时 anti-MCV 的浓度,该估计浓度即为检测系统的功能灵敏度。

1.5 统计学处理 运用 SPSS17.0 软件包对实验数据进行分析比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义,采用百分位数法建立健康人群的参考范围。

2 结果

2.1 间接免疫荧光 141 例标本采用间接免疫荧光法对其自身抗体进行筛查,其荧光强度均为 1:100 阴性。

2.2 不精密度实验

2.2.1 批内不精密度 anti-MCV 高浓度(96.30 U/mL)、中浓度(34.20 U/mL)和低浓度(11.50 U/mL)的批内不精密度 CV 分别为 3.98%、4.87%和 7.62%。

2.2.2 日间不精密度 anti-MCV 浓度分别为 6.30、16.10、33.50、66.50 和 94.70 U/mL 时,日间不精密度 CV 分别为 12.57%、8.13%、5.49%、4.57%和 4.12%,见图 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。由图 1 可见,当天间不精密度的 CV 为 10%时,Alegria 酶联免疫分析仪在本实验室检测 anti-MCV 的功能灵敏度约为 10.80 U/mL。

2.3 健康人群参考范围调查

2.3.1 不同性别人群 anti-MCV 检测结果比较 经正态性检验,不同性别组血清 anti-MCV 检测结果均呈偏态分布,故数据采用中位数(范围)描述。健康人群女性组血清 anti-MCV 浓度为 12.10(6.70~41.30)U/mL,与男性组的 11.10(6.00~18.30)U/mL 比较,差异无统计学意义($Z=-0.991$, $P=0.322$)。

2.3.2 不同年龄组 anti-MCV 检测结果比较 经正态性检验, <50 岁和大于或等于 50 岁年龄组血清 anti-MCV 检测结果均呈偏态分布,故数据采用中位数(范围)描述。小于 50 岁年龄组血清 anti-MCV 浓度为 11.65(6.70~19.10)U/mL,与大于或等于 50 岁年龄组的 11.70(6.00~41.30)U/mL 比较,差异无统计学意义($Z=-0.588$, $P=0.558$)。

2.3.3 参考范围的建立 实验结果表明,健康人群血清 anti-MCV 水平与性别和年龄均无关。95%健康人群血清 anti-MCV 的参考范围为 0.00~18.14 U/mL。

3 讨论

波形蛋白与微管、微丝在细胞内形成了一个完整的细胞支撑网络体系。在凋亡细胞内,波形蛋白经由肽酰精氨酸亚氨酶(PAD)的瓜氨酸化,精氨酸被修饰为瓜氨酸,使波形蛋白结构变成突变型波形蛋白(MCV)。MCV 在凋亡细胞内得不到及时清除时,就会导致 anti-MCV 的产生^[7]。目前,MCV 被认为是诊断早期关节炎最灵敏的指标。Bang 等^[8]在对 1 151 例 RA 患者跟踪研究结果表明,anti-MCV 结果与疾病活动评分

(DAS28)有很大的相关性,使得该指标可成为监控、诊断尤其是早期诊断 RA 的一个重要参数。

在本次实验中,对样本进行 1:100 稀释后采用间接免疫荧光对自身抗体进行检测,主要是为了排除纳入的实验个体可能存在早期自身免疫性疾病,从而对实验结果造成干扰,保证了实验对象和结果的可靠性。本次实验检测结果提示,血清 anti-MCV 水平与性别和年龄无关,故本实验室只需统一建立针对本地区健康人群的血清 anti-MCV 参考范围。对于疾病的诊断,血清 anti-MCV 水平升高才具有临床意义,同时数据呈偏态分布,因此在进行参考范围的建立时,采用第 95 百分位数作为 95%健康人群的参考范围上限。对 Alegria 检测系统进行批内和日间不精密度实验,结果表明,该检测系统检测血清 anti-MCV 具有较好的精密度,当天间不精密度的 CV 为 10%时,Alegria 酶联免疫分析仪在本实验室检测 anti-MCV 的功能灵敏度约为 10.80 U/mL,该结果低于 95%健康人群参考范围上限,表明该检测系统在检测血清 anti-MCV 水平时,具有较高的灵敏度,符合临床应用要求。

综上所述,anti-MCV 对于 RA 具有很高的诊断价值,进行血清 anti-MCV 检测也有利于 RA 的早期发现和干预。因此对体检人群进行该项目检测具有较高的临床应用价值。另外,由于不同实验室所选择的实验方法和实验条件,以及不同地区人群生活习惯和生活环境均可能存在较大差异,因此将有必要建立适合本实验室本地区健康人群的参考范围。

参考文献

- [1] Wasserman BR, Moskovich R, Razi AE. Rheumatoid arthritis of the cervical spine clinical considerations[J]. Bull NYU Hosp Jt Dis, 2011, 69(2): 136-148.
- [2] Karampatakis V, Konidaris V, Michailidou M, et al. Peripheral corneal ulceration associated with rheumatoid arthritis[J]. Am J Case Rep, 2013, 14(1): 318-321.
- [3] Jing XX, Liu J, Yang BA, et al. EGFP gene transfection into the synovial joint tissues of rats with rheumatoid arthritis by ultrasound-mediated microbubble destruction[J]. Exp Ther Med, 2014, 7(5): 1396-1402.
- [4] Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis[J]. Lancet, 2010, 376(9746): 1094-1108.
- [5] Sghiri R, Bouajina E, Bargaoui D, et al. Value of anti-mutated citrullinated vimentin antibodies in diagnosing rheumatoid arthritis[J]. Rheumatol Int, 2008, 29(1): 59-62.
- [6] Poulosom H, Charles PJ. Antibodies to citrullinated vimentin are a specific and sensitive marker for the diagnosis of rheumatoid arthritis[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2008, 34(1): 4-10.
- [7] Vossenaar ER, Despres N, Lapointe E, et al. Rheumatoid arthritis specific anti-sa antibodies target citrullinated vimentin[J]. Arthritis Res Ther, 2004, 20(6): 142-150.
- [8] Bang H, Egerer K, Gauliard A, et al. Mutation and citrullination modifies vimentin to a novel autoantigen of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2007, 56(8): 2503-2511.