

# 类风湿关节炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 表达的意义\*

梅序桥<sup>1</sup>, 吴阿阳<sup>1</sup>, 郑燕苹<sup>1</sup>, 陈宏浦<sup>2</sup>, 郑源海<sup>1</sup>, 杨惠聪<sup>1</sup>, 张佳林<sup>2</sup> (福建医科大学附属漳州市医院:

1. 检验科; 2. 血液科, 福建漳州 363000)

**【摘要】 目的** 探讨类风湿关节炎(RA)患者外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 的表达变化对疾病进展的关系。**方法** 采用流式细胞术检测 94 例 RA 患者和 22 例健康对照者外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>。其中 94 例 RA 患者按 RA 疾病活动指数(DAS28)评分分为低值、中值、高值 3 组。**结果** 与健康对照组比较, RA 组外周血中 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的表达率明显升高( $P < 0.05$ ), 其中 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞在 DAS28 低值组为(41.03±9.53)%, DAS28 中值组为(42.16±7.08)%, DAS28 高值组为(43.72±9.63)%; CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞表达率明显降低( $P < 0.05$ ), 其中 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞在 DAS28 低值组为(21.33±6.67)%, DAS28 中值组为(21.39±7.36)%, DAS28 高值组为(21.28±6.60)%。**结论** CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值与 RA 患者疾病进程相关, 表明 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 失衡在 RA 的发病中发挥了重要作用。

**【关键词】** 类风湿关节炎; 流式细胞; T 淋巴细胞亚群

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.21.005 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)21-3144-03

## Expression and significance of peripheral blood T-lymphocytes subsets CD4/CD8 in patients with rheumatoid arthritis\*

MEI Xu-qiao<sup>1</sup>, WU A-yang<sup>1</sup>, ZHENG Yan-ping<sup>1</sup>, CHEN Hong-pu<sup>2</sup>, ZHENG Yuan-hai<sup>1</sup>, YANG Hui-cong<sup>1</sup>, ZHANG Jia-lin<sup>2</sup> (1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Hematology, Affiliated Zhangzhou Municipal Hospital, Fujian Medical University, Zhangzhou, Fujian 363000, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the correlation between the change of peripheral blood T-lymphocyte subsets CD4/CD8 with the disease progress in the patients with rheumatoid arthritis(RA). **Methods** The peripheral blood T-lymphocytes subsets CD4/CD8 in 94 patients with RA and 22 healthy controls were examined by flow cytometry. 94 cases of RA were divided into low value, median value and high value groups by RA disease activity index (DAS28) scores. **Results** Compared with the healthy controls, the expression rate of peripheral blood CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T cells in the RA group was increased significantly ( $P < 0.05$ ), in which CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T cells were (41.03±9.53)% in DAS28 low value group, (42.16±7.08)% in DAS28 median value group and (43.72±9.63)% in DAS28 high value group. The expression rate of CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T was significantly decreased ( $P < 0.05$ ), in which CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T cells were (21.33±6.67)% in DAS28 low value group, (21.39±7.36)% in DAS28 median value group and (21.28±6.60)% in DAS28 high value group. **Conclusion** CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio is associated with RA progression, indicating that the CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> imbalances plays an important role in the pathogenesis of RA.

**【Key words】** rheumatoid arthritis; flow cytometry; T-lymphocytes subsets

类风湿关节炎(RA)是一种常见的关节慢性炎症的自身免疫性疾病,病理显示 T 淋巴细胞在关节炎症中浸润和渗出<sup>[1]</sup>。CD3 被认为是所有 T 细胞均表达的共同标志抗原,参与 T 细胞的信号转导,CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞是 T 淋巴细胞中重要的亚群,激活后分化成特定的免疫辅助性 T 细胞,分泌白细胞介素(IL)-4、IL-17、干扰素(INF)- $\gamma$  等细胞因子,进一步促进免疫应答的产生。研究表明 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞在 RA 的发病机制中有重要作用<sup>[2]</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞识别自身抗原而活化,导致炎症因子分泌增加,使自身免疫应答机制失衡,从而造成 RA 关节的炎性反应<sup>[3]</sup>。尽管 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞是免疫系统主要的效应细胞,能够发挥细胞毒性效应,但其在自身免疫性疾病中的作用研究较少。T 淋巴细胞亚群中 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比例的失衡与多种自身免疫性疾病相关,本文采用流式细胞术检测 RA 患者及健康者外周血 CD3、CD4、CD8

阳性 T 淋巴细胞的表达情况,探讨其在 RA 疾病中的作用。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集福建医科大学附属漳州市医院 2013 年 6~12 月门诊及住院的 RA 患者 94 例(RA 组),其中男 24 例,女 70 例;年龄 16~81 岁,平均(50.32±11.70)岁;均符合美国风湿病协会(ACR) 2010 年修订的诊断标准<sup>[4]</sup>。健康对照组 22 例,其中男 4 例,女 18 例;年龄 23~72 岁,平均(44.77±15.22)岁;为同期本院健康志愿者,均排除自身免疫性疾病和慢性炎症性疾病。RA 病情活动度以 RA 疾病活动指数(DAS28)评分为标准<sup>[5]</sup>,将 RA 患者分为低度活动期(DAS28 < 3.2) 22 例,其中男 9 例、女 13 例,平均年龄(47.09±3.03)岁;中度活动期(DAS28 3.2~5.1) 40 例,其中男 9 例、女 31 例,平均年龄(53.31±1.85)岁;高度活动期(DAS28 > 5.1) 32 例,其中男 6 例、女 26 例,平均年龄(50.03±1.64)岁。3 组研

\* 基金项目:福建省卫生厅青年科研课题立项(2011-2-51)。

作者简介:梅序桥,男,主管技师,博士,主要从事血液学疾病的实验室诊断。

研究对象在年龄、性别构成方面差异无统计学意义( $P>0.05$ )。该研究获得医院伦理委员会通过,针对研究对象的采样均获得研究对象的知情同意。

**1.2 主要试剂及仪器** Anti-Human CD4-FITC / CD8-PE / CD3-PerCP 组合抗体(美国 BD 公司),红细胞裂解液(美国 Beckman 公司),BD FACSCanto™ II 流式细胞仪(美国 BD 公司)。

**1.3 方法** 经确诊的 RA 患者及健康对照者,均晨起空腹采集肘静脉血 2 mL,用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K<sub>2</sub>)抗凝。每份标本分别加入 50  $\mu$ L 抗凝全血。T 标记的试管中加入 20  $\mu$ L 的组合抗体 CD4-FITC/CD8-PE/CD3-PerCP,涡旋振荡混匀,室温,避光孵育 15 min。加入 400  $\mu$ L 红细胞裂解液,振荡混匀,室温避光 8~10 min。每管中加入 2 mL 磷酸缓冲盐溶液(PBS),振荡混匀,1 500 r/min,离心 5 min,弃上清液。再加入 1 mL PBS 重悬细胞,上机分析。

**1.4 统计学处理** 数据采用 SPSS17.0 进行统计分析,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  来描述,正态分布的方差齐性资料,各组间均数比较采用单因素方差分析(ANOVA 检验),非正态分布或方差不齐时采用 Kruskal-Wallis 检验;以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

RA 各组 CD3<sup>+</sup>T 淋巴细胞水平与对照组相比差异无统计学意义( $P>0.05$ );而 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞水平及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值均明显高于对照组( $P<0.05$ ),CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞明显低于对照组( $P<0.05$ ),然其在 RA 不同活动期组间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 1,图 1、2。

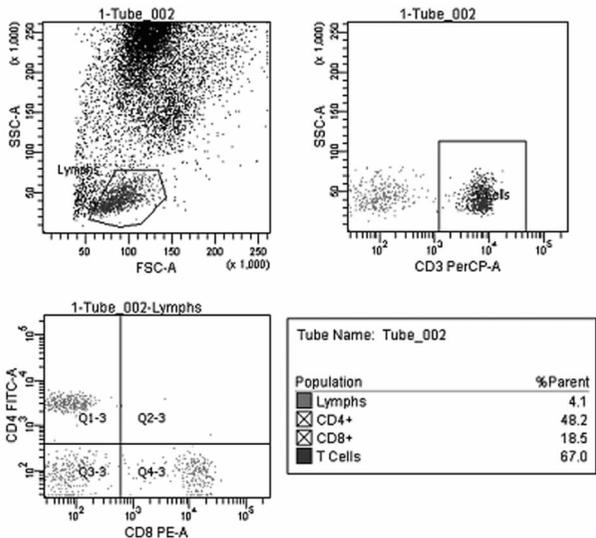
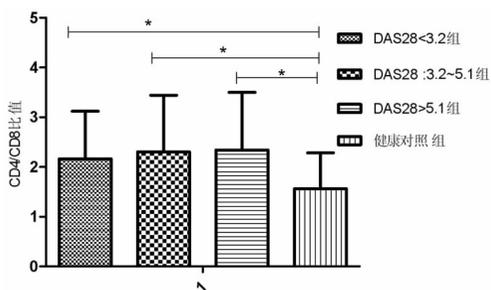


图 1 流式细胞仪 T 淋巴细胞亚群 CD4/CD8/CD3 检测示意图

表 1 RA 患者及健康者外周血淋巴细胞亚群检测结果( $\bar{x}\pm s, \%$ )

组别	n	CD3 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>
低度活动期	22	69.10 $\pm$ 8.47	41.03 $\pm$ 9.53*	21.33 $\pm$ 6.67*
中度活动期	40	70.10 $\pm$ 7.99	42.16 $\pm$ 7.08*	21.39 $\pm$ 7.36*
高度活动期	32	70.26 $\pm$ 9.81	43.72 $\pm$ 9.63*	21.28 $\pm$ 6.60*
对照组	22	71.59 $\pm$ 6.80	36.67 $\pm$ 6.29	26.24 $\pm$ 7.07

注:与对照组比较,\* $P<0.05$ 。



注:\*表示  $P<0.05$ 。

图 2 RA 患者与健康者外周血 CD4/CD8 比较

**3 讨 论**

RA 是临床常见的自身免疫性疾病,在中国的发病率约为 4%,它的发病机制涉及多种因素,主要由免疫机制引起,有多种免疫细胞和细胞因子的参与。研究表明 T 淋巴细胞亚群的失衡在 RA 疾病的进程中发挥重要作用,尤其是当 CD4/CD8 平衡被破坏时,患者便表现出关节慢性炎症等相关临床症状<sup>[6]</sup>。T 淋巴细胞按其表面抗原的表达,又分为 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>亚群和 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>亚群,CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞又称为辅助性 T 细胞,它可以分泌大量的细胞因子,诱导体液免疫细胞激活,同时通过信号传导,激活 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞。CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞通过多种机制发挥细胞毒性作用,杀伤靶细胞。研究表明 CD4<sup>+</sup>T/CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞的平衡与多种自身免疫性疾病相关<sup>[7]</sup>。

CD4 分子在 T 淋巴细胞发育及成熟过程中发挥重要作用,它可以促进 T 淋巴细胞的活化以及信号转导,是适应性免疫应答发生的重要效应分子。当机体内淋巴细胞的 CD4 分子异常表达时,即可能导致疾病的发生。Dejaco 等<sup>[8]</sup>研究发现在 AS 患者的外周血及关节腔滑液中可以检测到 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞的活化,并且分泌高水平的炎症因子 IFN- $\gamma$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  与 IL-2 等,促进 RA 发展<sup>[9]</sup>。也有研究报道 RA 患者 CD4<sup>+</sup>T 细胞高表达 CD40L,这可能延长和增强 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞的活化,加重疾病的程度。动物模型试验表明 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞可以导致自身免疫性的关节损伤<sup>[10]</sup>。此外静脉注射抗 CD4 mAb 的靶向治疗发现,初次治疗 C-反应蛋白的水平出现短暂降低,而循环中 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞的数量无明显改变,再次治疗后,IL-2 和 IFN- $\gamma$  mRNA 表达明显降低<sup>[11]</sup>;同时采用免疫组化发现滑膜组织中浸润炎症细胞数量减少及黏附分子的表达明显降低,RA 患者关节炎症状得到很大改善<sup>[12]</sup>。本研究发现,RA 的 DAS 28 各组 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞明显高于对照组,表明在 RA 中 CD4 分子处于一种异常表达状态,但 DAS 28 各组的 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞相互比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),这可能与本次病例选择的数量较少有关系。

CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞的表达减低或是缺失,能导致机体的免疫功能下降,引发自身免疫性疾病,这在几种自身免疫性疾病动物实验模型中得到证实<sup>[13-15]</sup>。但 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞在 RA 动物模型中的作用存在争议<sup>[16-17]</sup>。CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞缺乏的 SCW 的大鼠模型能诱导早期的 RA 发病和延长 RA 病程;而在 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞缺乏的 CIA 老鼠模型未出现对于 RA 的诱导,提示 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞在 RA 的病理机制中的作用并不显著。然而,敲除 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞的小鼠在经过初始免疫的刺激之后才对疾病的进程有影响,表明 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞并没有在 RA 发病的初始阶段发挥作用,而是在 RA 的效应阶段发挥重要的作用<sup>[18]</sup>。Masuko-Hongo 等<sup>[19]</sup>发现 RA 患者的滑液聚集的寡克隆 T 细胞主要是 CD8<sup>+</sup>细胞,它们的存在超过一

年,主要表达 CD25 或 CD45RO 分子,表明这些细胞是记忆细胞。说明了长期存在的 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞参与了 RA 慢性关节炎炎症进程。RA 易感性的基因是 HLA-DR8。Taneja 等<sup>[20]</sup>报道证实了 DQ8CD4<sup>-/-</sup>小鼠能抵抗胶原蛋白所诱发的关节炎(CIA),然而 DQ8CD8<sup>-/-</sup>小鼠相对于 DQ8 鼠增加 CIA 的发生率与疾病的严重度。这又说明了 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞启动 CIA,而 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞则起免疫调节/保护的作用。本研究发现,RA 的 DSA28 各组 CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞明显低于对照组,说明 CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞对 RA 疾病的进展还是有一定的影响,尽管 DSA28 各组的 CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞相互比较并没有显著性差异。故作者认为 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞在 RA 的病理机制还有待进一步的研究。

淋巴细胞亚群 CD4/CD8 比例的失衡可导致多种自身免疫性疾病。有研究发现 RA 患者外周血 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞比例升高,CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞无显著变化,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值明显升高,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比例的失衡与 RA 的发病密切相关<sup>[21]</sup>。本研究发现,RA 组 CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞水平及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值均明显高于对照组,CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞明显低于对照组,然其在 RA 不同活动期组间,CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值表现增高趋势,但差异无统计学意义;CD3<sup>+</sup> T 淋巴细胞无显著性变化。本结果所显示的 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞的减少与李忠等<sup>[22]</sup>的结果相一致,证明了 T 淋巴细胞,尤其是 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞参与 RA 发生、发展,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 失衡在 RA 的发病中发挥了重要作用且可能与疾病的严重程度相关。

综上所述,RA 患者 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值升高,且随着疾病程度加重,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值也有增高的趋势,表明 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 失衡在 RA 的发病中发挥了重要作用,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值可作为 RA 诊断及疾病进展程度判断的参考指标。

## 参考文献

- [1] Norton S, Bo F, Scott DL, et al. Health Assessment Questionnaire disability progression in early rheumatoid arthritis; Systematic review and analysis of two inception cohorts[J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2014, 44(2): 131-144.
- [2] Pawlowska J, Smolenska Z, Daca A, et al. Older age of rheumatoid arthritis onset is associated with higher activation status of peripheral blood CD4(+) T cells and disease activity [J]. *Clin Exp Immunol*, 2011, 163(2): 157-164.
- [3] Panayi GS, Lanchbury JS, Kingsley GH. The importance of the T cell in initiating and maintaining the chronic synovitis of rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 1992, 35(7): 729-735.
- [4] Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(9): 2569-2581.
- [5] Dougados M, Ripert M, Hilliquin P, et al. The influence of the definition of patient global assessment in assessment of disease activity according to the Disease Activity Score (DAS28) in rheumatoid arthritis[J]. *J Rheumatol*, 2011, 38(11): 2326-2328.
- [6] Wang B, Gonzalez A, Benoist C, et al. The role of CD8<sup>+</sup> T cells in the initiation of insulin-dependent diabetes mellitus[J]. *Eur J Immunol*, 1996, 26(8): 1762-1769.
- [7] Sun D, Whitaker JN, Huang Z, et al. Myelin antigen-specific CD8<sup>+</sup> T cells are encephalitogenic and produce severe disease in C57BL/6 mice[J]. *J Immunol*, 2001, 166(12): 7579-7587.
- [8] DeJaco C, Duftner C, Klauser A, et al. Altered T-cell subtypes in spondyloarthritis, rheumatoid arthritis and polymyalgia rheumatica[J]. *Rheumatol Int*, 2010, 30(3): 297-303.
- [9] Steiner G, Tohidast-Akrad M, Witzmann G, et al. Cytokine production by synovial T cells in rheumatoid arthritis [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 1999, 38(3): 202-213.
- [10] Banerjee S, Webber C, Poole AR. The induction of arthritis in mice by the cartilage proteoglycan aggrecan: roles of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells[J]. *Cell Immunol*, 1992, 144(2): 347-357.
- [11] Schulze-Koops H, Davis LS, Haverty TP, et al. Reduction of Th1 cell activity in the peripheral circulation of patients with rheumatoid arthritis after treatment with a non-depleting humanized monoclonal antibody to CD4 [J]. *J Rheumatol*, 1998, 25(11): 2065-2076.
- [12] Tak PP, Van der Lubbe PA, Gauli A, et al. Reduction of synovial inflammation after anti-cd4 monoclonal antibody treatment in early rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 1995, 38(10): 1457-1465.
- [13] Huseby ES, Liggitt D, Brabb T, et al. A pathogenic role for myelin-specific CD8(+) T cells in a model for multiple sclerosis [J]. *J Exp Med*, 2001, 194(5): 669-676.
- [14] Najafian N, Chitnis T, Salama AD, et al. Regulatory functions of CD8<sup>+</sup> CD28<sup>-</sup> T cells in an autoimmune disease model [J]. *J Clin Invest*, 2003, 112(7): 1037-1048.
- [15] Hanyecz A, Olasz K, Tarjanyi O, et al. Proteoglycan aggrecan conducting T cell activation and apoptosis in a murine model of rheumatoid arthritis [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 942148.
- [16] van den Broek MF, de Heer E, van Bruggen MC, et al. Immunomodulation of Streptococcal cell wall-induced arthritis. Identification of inflammatory cells and regulatory T cell subsets by mercuric chloride and in vivo CD8 depletion [J]. *Eur J Immunol*, 1992, 22(12): 3091-3095.
- [17] Ehinger M, Vestberg M, Johansson AC, et al. Influence of CD4 or CD8 deficiency on collagen-induced arthritis [J]. *Immunology*, 2001, 103(3): 291-300.
- [18] Williams RO, Whyte A, Waldmann H. Resistance to collagen induced arthritis in DBA/1 mice by intraperitoneal administration of soluble type II collagen involves both CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes [J]. *Autoimmunity*, 1989, 4(4): 237-245.
- [19] Masuko-Hongo K, Sekine T, Ueda S, et al. Long term persistent accumulation of CD8<sup>+</sup> T cells in synovial fluid of rheumatoid arthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 1997, 56(10): 613-620.
- [20] Taneja V, Taneja N, Paisansinsup T, (下转第 3149 页)

表 3 BNP 的携带污染率统计结果

项目	高值测定结果			低值测定结果			高值干扰	低值干扰
	H <sub>1</sub>	H <sub>2</sub>	H <sub>3</sub>	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>	L <sub>3</sub>	L <sub>1</sub> -L <sub>3</sub>	H <sub>3</sub> -L <sub>3</sub>
BNP	31 814	32 260	31 973	7.53	7.39	8.63	-1.24	31 964.37

根据携带污染率计算公式计算： $(L_1 - L_3) / (H_3 - L_3) \times 100\% = 1.24 / 31\,964.37 \times 100\% = 0.00\%$ 。

### 3 讨 论

Roche Cobas e411 分析仪是应用 ECLIA 的原理<sup>[7]</sup>进行肿瘤标志物、甲状腺功能、激素、心肌标志物等检测,其通过罗氏封闭检测系统来完成对各检测项目的检测,说明书中提供的所有参数都是厂家在国外的最佳条件下完成的,这与本科室的水质、电压的稳定性、实验室环境温湿度、实验室操作人员的素质等实际的外部条件存在差异,因此,对本科在 Cobas e411 上开展的 hs-cTnT、CK-MB mass、MYO、NT-proBNP 和 PCT 共 5 个项目进行了的方法学性能验证。

**3.1 精密度** 由表 1 可以看出,按照 NCCLS 的 EP5-A2 文件所有 5 个项目的批内及批间精密度都能满足厂家声明的性能,与苏维等<sup>[8]</sup>结论一致,但与杨苹等<sup>[9]</sup>的结论不一致,可能与检测项目不同,试剂盒性能也有差异有关。按照 EP15-A2 验证的精密度不能满足厂家声明的性能,与欧阳能良等<sup>[10]</sup>结论相似。因此,建议实验室按照 EP5-A2 文件验证。通过验证结果可以看出,在精密度验证上,CK-MB mass 验证结果偏差最大,可能与 CK-MB 属于酶类,易受很多因素影响而活性改变有关,而本试验验证过程使用的非同一样品,该试剂的瓶间差较其他 4 种试剂偏大。

**3.2 线性范围** 由表 2 可以看出,本研究验证的 5 个检测项目的线性范围与厂家声明的一致,与苏维等<sup>[8]</sup>结论一致。

**3.3 携带污染** Cobas e411 在加入标本和试剂前,会自动冲洗加样针,且标本检测时,一个标本一个吸头,一个项目一个杯子,携带污染率及抗干扰能力强,由表 3 可以看出,本次验证的 5 个检测项目与厂家声明的一致,检测结果准确、可靠。

**3.4 功能灵敏度** 根据临床实际应用需要,本研究只进行了 hs-cTnT 功能灵敏度的验证,结果与厂家声明的一致。Roche cobas e411 是全自动、随机的异相免疫分析系统。该系统采用最先进的电化学发光免疫分析技术,具有高灵敏度、高特异性、高亲和力、高准确度、线性范围宽、自动化程度高、无放射线污染、操作简便快速等特点。实验结果显示 Roche Cobas e411 全自动化学发光分析仪检测 hs-cTnT、CK-MB mass、MYO、NT-proBNP 和 PCT 的主要分析性能良好,与厂家声明一致,能够

满足临床检测的性能要求,适用于临床标本的检测。

### 参考文献

- [1] ISO 15189. Medical laboratories-Requirements for quality and competence [S]. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 2012.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 医疗机构临床实验室管理办法 [S]. 2006-02-27.
- [3] NCCLS. EP9-A2. Method comparison and bias estimation using patient samples. Approved Guideline-second edition [S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2002.
- [4] NCCLS. EP5-A2. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline-second edition[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2004.
- [5] CLSI. EP15-A2. User verification of performance for precision and trueness; approved guideline-second edition [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2005.
- [6] NCCLS. EP6-A2. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.
- [7] 董伟. 新型的电化学发光免疫分析及临床应用[M]. 标记免疫分析与临床, 2001, 8(1): 31-32.
- [8] 苏维, 李明, 王淑仙, 等. 罗氏 Cobas E601 检测糖原抗原的方法学性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(6): 716-718.
- [9] 杨苹, 周爱娥, 张莉萍, 等. 罗氏 MODULAR E170 全自动电化学发光免疫分析仪性能验证[J]. 重庆医学, 2013, 38(19): 2395-2397.
- [10] 欧阳能良, 王伟佳, 李飞, 等. 应用 CLSI EP15-A2 文件评价 BNP 和 NT-proBNP 的精密度性能[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(5): 538-540.

(收稿日期: 2015-03-13 修回日期: 2015-08-17)

(上接第 3146 页)

et al. CD4 and CD8 T Cells in Susceptibility/Protection to Collagen-Induced Arthritis in HLA-DQ8-Transgenic Mice; Implications for Rheumatoid Arthritis[J]. J Immunol, 2002, 168(11): 5867-5875.

[21] 仝岩, 任伟宏, 赵航, 等. 类风湿性关节炎患者外周血 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群的分析[J]. 细胞与分子免疫学杂志,

2013, 29(8): 854-858.

[22] 李忠, 谢东霞. 类风湿性关节炎患者 T 细胞亚群及 Th1/Th2 细胞因子的分析[J]. 中国中医药杂志, 2010, 8(23): 192-193.

(收稿日期: 2015-03-04 修回日期: 2015-07-08)