

集会给试验造成一定困扰。伽利略采用微孔板(捕获法),检测速度较快,检测不规则抗体凝集强度较强,但对于 IgM 型抗体检出率不高,可能与国外仪器设计理念有关,只检出有意义的抗体,其抗体类型多为(IgG 型);对于血型鉴定凝集强度较弱的样本,相较于其他两种仪器缺少微柱细胞筛的介质可能凝集强度会弱一些。3 种全自动血型分析系统在检测不规则抗体时,检出率由多个因素决定,主要是抗原种类和性质(试剂)、抗体种类和性质及抗体含量(样本)、仪器的特性等因素。

3 种全自动血型分析系统给研究者的工作带来诸多便利和高效的同时,必须了解每种仪器的特点,趋利避害。更好的服务临床、服务患者,确保临床输血安全,保障医疗质量和医疗安全,最终赢在患者身上<sup>[8]</sup>。

参考文献

[1] PRICE T, NUNES E. Standards for blood banks and transfusion services[M]. 25thed. Bethesda, MD: AABB, 2008:451-452.  
 [2] 甘玮玮,张添新,原敏,等. Erytra 全自动血型分析仪的应用评价[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(22):3112-3113.  
 [3] 陈显,刘洲君,朱绍汶,等. 全自动血型仪在血型检测中的应用[J]. 临床输血与检验杂志,2014,16(3):250-252.  
 [4] 宋建,彭涛,李翠莹,等. 全自动血型及配血分析系统的应用[J]. 中国输血杂志,2011,24(1):60-61.  
 [5] 于洋,冯倩,林子林,等. 全自动微柱凝胶技术在 ABO、

RhD 血型鉴定中的应用研究[J]. 北京医学,2008,30(3):165-167.  
 [6] NEASHAM D, SIFI A, NIELSEN K R, et al. Occupation and risk of lymphoma: a multicentre prospective cohort study (EPIC)[J]. Occup Environ Med, 2011, 68(1): 77-81.  
 [7] 梅方超,黄飞,吴丽娜,等. HSI 全自动微柱凝胶免疫检测分析仪在血型鉴定中的应用评价[J]. 临床血液学杂志, 2015,28(4):320-321.  
 [8] 陈伟,文军,田洪燕,等. 基于六级电子病历构建安全的临床用血闭环信息管理系统[J]. 新疆医学,2017,47(6):677-680.  
 [9] 胡松林,刘行超,陶丽娜,等. 全自动血型分析系统在血型检测中的应用[J]. 医疗卫生装备,2016,37(6):136-138.  
 [10] SCHOENFELD H, PRETZEL K, VON HEYMAN C, et al. Validation of a hospital-laboratory workstation for immunohematologic methods [J]. Transfusion, 2010, 50(1):26-31.  
 [11] 林国跃,杜小璐,单金晶,等. 中国新疆维吾尔族人群 MNS, Duffy 和 Kell 等稀有血型的基因分子遗传分析[J]. 中国组织工程研究,2016,20(1):123-127.  
 [12] WEI C, JUN W, FEI L, et al. Frequencies of RhCE and Kell phenotypes in Xinjiang using across-minorities transfusion simulation model[J]. Asia J Blood Types, 2017, 1(3):39-42.  
 [13] DANIELS G. Human blood groups[M]. 3nded. Oxford: Blackwell Publishing Ltd,2013:336-353.

(收稿日期:2018-06-20 修回日期:2018-09-28)

• 短篇论著 •

## CTLA-4<sup>+</sup> 细胞在急性加重慢性阻塞性肺疾病患者外周血中的表达

常 芬

(武汉市普仁医院呼吸内科,湖北武汉 430081)

**摘要:**目的 探讨细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4(CTLA-4)<sup>+</sup> 细胞增多在急性加重慢性阻塞性肺疾病(AECOPD)患者肺部细菌性感染中的作用。**方法** 采集 2013 年 1 月至 2017 年 1 月于该院收治的 40 例 AECOPD 且无肺部细菌性感染的患者及 40 例平稳期慢性阻塞性肺疾病(sCOPD)患者的外周血液样本,并采用免疫组织化学及流式细胞术测量细胞内及细胞表面 CTLA-4<sup>+</sup> 的细胞比例。然后对两组患者外周血单核细胞进行培养,并采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法测得培养物中  $\gamma$  干扰素(IFN- $\gamma$ )及肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )的水平。**结果** AECOPD 患者调节性 T 细胞(Tregs)及 CD4<sup>+</sup> 细胞中胞内 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞的比例与 sCOPD 患者 Tregs 及 CD4<sup>+</sup> 细胞中胞内 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞的比例大致相同,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );而 AECOPD 患者 Tregs 及 CD4<sup>+</sup> 细胞中表面 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞的比例与 sCOPD 患者 Tregs 及 CD4<sup>+</sup> 细胞中表面 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞的比例,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),AECOPD 组显著高于 sCOPD 组。**结论** CTLA-4 阻断剂的加入可以恢复 1 型辅助性 T 细胞的免疫功能,降低 AECOPD 患者肺部细菌性感染的风险。

**关键词:**细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4; 慢性阻塞性肺疾病; 肺部细菌性感染

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2019.06.027

**中图法分类号:**R563;R446.6

**文章编号:**1673-4130(2019)06-0741-05

**文献标识码:**B

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种以持续性气流受限为特征的呼吸系统疾病<sup>[1]</sup>。作为一种不完全可

逆的气流受限而进行性发展的慢性病,吸烟、遗传及个体易感等多种因素通常被认为与 COPD 的发生、发

展相关,而且随着现代社会的发展及环境污染的日益严重,影响 COPD 发生、发展的因素也变得多样<sup>[2]</sup>。从病理及免疫学的角度出发,呼吸道狭窄阻塞的过程通常与一系列复杂的由吸入颗粒物及有害气体所引起的慢性炎症反应密切相关,黏膜下多种炎症细胞浸润及细胞、体液免疫不同程度的改变使气流阻塞成进行性发展<sup>[3]</sup>。而且 COPD 的发生、发展过程中会合并严重的并发症,如肺癌、心脑血管疾病、糖尿病等,因此,COPD 已成为威胁人民身体健康及生活质量的重要疾病<sup>[4-5]</sup>,成为受社会广泛关注的健康问题。

曾有相关研究指出,COPD 患者 1 型辅助性 T 细胞(Th1)的免疫应答在 COPD 患者中受限,Th1 细胞主要通过释放  $\gamma$  干扰素(IFN- $\gamma$ ) 活化巨噬细胞,增强其杀伤已被吞噬的病原体的能力。细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4(CTLA-4)又名 CD152,是一种白细胞分化抗原,是 T 细胞上的一种跨膜受体,与 CD28 共同享有 B7 分子配体,而 CTLA-4 与 B7 分子结合后诱导 T 细胞无反应性,参与免疫反应的负调节。调节性 T 细胞(Tregs)可以持续表达 CTLA-4 并以此影响效应 T 细胞。有研究表明,COPD 患者的 CTLA-4<sup>+</sup> T 细胞及 CTLA-4<sup>+</sup> Treg 细胞显著高于健康人<sup>[6]</sup>,因此,本次研究假设 CTLA-4<sup>+</sup> 表达过度是 Th1 细胞免疫功能障碍的关键环节,并最终导致 COPD 患者肺部受到细菌性感染,并找到 COPD 患者 Th1 细胞功能障碍的关键免疫调节环节,进一步寻找改善患者 Th1 细胞功能的方法。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2013 年 1 月至 2017 年 1 月于本院收治的 40 例急性加重慢性阻塞性肺疾病(AECOPD)且无肺部细菌性感染的患者作为病例组,同时选取 40 例平稳期慢性阻塞性肺疾病(sCOPD)患者作为对照组。入选标准:(1)所有受试者均依照中华医学会《慢性阻塞性肺疾病诊治指南》确诊<sup>[7]</sup>;(2)稳定期的判断均按照中华医学会呼吸病学分会及原卫生部医政司相关指南及诊疗规范要求<sup>[7]</sup>;(3)AECOPD 患者除需满足前文所述纳入标准外,需经痰培养确认未合并肺部细菌性感染。排除标准:(1)合并肝脏、心脏、肾脏及血液系统疾病;(2)本研究前 2 周使用过免疫抑制剂的患者;(3)本研究前 2 周使用过全身激素的患者。被纳入本次研究的所有研究对象均为汉族,其中 AECOPD 组男性患者 24 例,女性患者 16 例;sCOPD 组男性患者 22 例,女性患者 18 例。纳入的研究对象人口学特征在组间分布均衡可比。本研究经本院伦理委员会讨论通过,所有患者均知情且自愿参加,并签署了知情同意书。

### 1.2 方法

**1.2.1 血浆分离制备** 对所有研究对象取新鲜外周血,并 3 000 r/min 离心 10 min,上层血清用移液枪吸入 EP 管中置于超低温冰箱 -80 °C 保存待统一酶联免疫吸附试验(ELISA)检测。将需检测血清从冰箱

中取出常温下自然化冻后使用检测试剂检测血清样本中目标成分的水平,使用多功能酶标仪检测。分离后的血浆单核细胞(PBMC)置于 10% 的胎牛血清中。

**1.2.2 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞比例测定** 取 sCOPD 组及 AECOPD 组等量 PBMC 及加入胎牛血清后在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的条件下倾斜静置 24 h,再过 2 h 加入布雷菲德菌素(1  $\mu$ g/mL)或莫能菌素(2  $\mu$ mol/L)加上 CTLA-4 别藻蓝蛋白抗体,以便检测细胞内及细胞外 CTLA-4。清洗细胞后用 Fixable Viability Stain 450、CD3-APC-H7、CD4-V500、CD8-Peridinin chlorophyll protein-Cy5.5 及 CD45RAphycoerythrin-Cy7 进行细胞表面着色;同时应用 Human Foxp3 buffer sets、Foxp3-phycoerythrin 及 CTLA-4-APC 抗体进行细胞内染色,后用流式细胞仪进行分析。

**1.2.3 抗 CTLA-4 抗体阻断** 取等量 sCOPD 组及 AECOPD 组 PBMC 各一份加入抗 CD3 抗体,再取等量 AECOPD 组 PBMC 一份加入抗 CD3 抗体及抗 CTLA-4 抗体,将 3 份 PBMC 样本置于 96 孔平板培养 24 h,上层培养物转移并储存在 -80 °C 冰箱中存储,取出培养物后经自然化冻并应用 ELISA 法检测其中 IFN- $\gamma$  及肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平。

**1.2.4 仪器与试剂** 本次研究所使用的离心机为迈达 TDM3-120m;检测血清生物标志物所使用的多功能酶标仪为安图斯-PHOMO;流式细胞仪为赛默飞生产的 Attune NxT;布雷菲德菌素及莫能菌素来源于 BD 公司生产的 GolgiPlug 产品;CTLA-4-APC 及 Foxp3-phycoerythrin 均为 BD 公司生产;进行细胞内 CTLA-4 染色使用的 Fixable Viability Stain 450 为 BD 公司生产的 Horizon 产品;Human Foxp3 buffer sets 为 BD 公司生产的 Pharmingen 产品;用于细胞培养的抗 CD3 抗体为 Mabtech 公司生产;TNF- $\alpha$  的 ELISA 检测试剂由 BD 公司生产(557966);IFN- $\gamma$  的 ELISA 检测试剂由 Cusabio 公司生产(E04577h)。在整个研究过程中,所有操作均按照说明书严格执行,并且所有操作均符合实验室的质量控制标准。

**1.3 统计学处理** 所有数据均采用 SPSS19.0 进行统计分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,正态分布资料,非正态分布资料能转换成正态分布资料,采用两独立样本 *t* 检验,多组比较采用方差分析,进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验;计数资料以率表示,采用  $\chi^2$  检验或者 Wilcoxon 秩和检验,检验水准  $\alpha = 0.05$ ,以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两组患者人口学特征及基础状况分析** 对 sCOPD 组与 AECOPD 组的人口学特征及基线情况分析发现,两组患者性别、年龄及吸烟比例等人口学特征组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。而标志着系统炎症的血清高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)及血清可溶性肿瘤坏死因子受体 1(sTNFR1)水平在两组间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),AECOPD 患者的血清

hs-CRP 值及血清 sTNFR1 值均高于 sCOPD 患者。见表 1。

表 1 两组患者人口学特征及基础状况分析

项目	sCOPD 组 (n=40)	AECOPD 组 (n=40)	$\chi^2/t$	P
性别[n(%)]				
男	24(60.00)	22(55.00)	0.204 6	0.651 0
女	16(40.00)	18(45.00)		
年龄( $\bar{x}\pm s$ , 岁)				
	73.81±2.63	76.19±2.83	0.547 3	0.748 2
95%CI	69.53~76.48	72.75~80.32		
Min~Max	69.00~78.00	68.00~82.00		
吸烟(n)				
是	26	23	0.474 0	0.491 2
否	14	17		
血清 hs-CRP(mg/L, $\bar{x}\pm s$ ) <sup>*</sup>				
	8.59±2.85	33.14±5.59	42.487 5	0.004 7
95%CI	4.47~14.14	22.47~40.61		
Min~Max	6.15~28.78	20.16~43.57		
血清 sTNFR1(ng/mL, $\bar{x}\pm s$ )				
	1.46±0.38	2.41±0.12	14.283 4	0.034 1
95%CI	0.57~2.13	2.20~2.61		
Min~Max	0.76~2.35	1.14~5.44		

注: \* 表示对数转换后服从正态分布

**2.2 两组患者 CTTLA-4<sup>+</sup> 细胞比例分析** 对两组患者外周血细胞的分析可以看出, sCOPD 患者 Treg 细胞在所有 CD4<sup>+</sup> 细胞中的比例为 4.35%; AECOPD 患者 Treg 细胞在所有 CD4<sup>+</sup> 细胞中的比例为 5.12%, 两组间差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。sCOPD 患者细胞内 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞在 Treg 细胞及 CD4<sup>+</sup> 细胞的比例分别为 54.47% 和 8.13%; AECOPD 患者细胞内 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞在 Treg 细胞及 CD4<sup>+</sup> 细胞的比例分别为 50.14% 和 7.61%, 两组间差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。sCOPD 患者表面 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞在 Treg 细胞及 CD4<sup>+</sup> 细胞的比例分别为 8.69% 和 1.08%; AECOPD 患者表面 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞在 Treg 细胞及 CD4<sup>+</sup> 细胞的比例分别为 20.74% 和 2.31%, 两组间差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。AECOPD 患者表面 CTLA-4<sup>+</sup> 在 Treg 细胞及 CD4<sup>+</sup> 细胞中所占比例均高于 sCOPD 患者。见表 2。

**2.3 两组患者 PBMC 经不同方式培养后血清中 IFN- $\gamma$  及 TNF- $\alpha$  水平分析** 对两组患者 PBMC 分别

加入抗 CD3 抗体, 另取等量 AECOPD 患者血清加入抗 CD3 抗体+抗 CTLA-4 抗体分别培养后测定培养物中 IFN- $\gamma$  及 TNF- $\alpha$  水平, 发现 3 组培养物的 IFN- $\gamma$  水平不全相同 ( $P<0.05$ )。进一步用 SNK-q 法进行两两比较发现, AECOPD 患者 PBMC 中仅加入抗 CD3 抗体后获得的培养物中 IFN- $\gamma$  水平显著低于 sCOPD 患者 PBMC 中仅加入抗 CD3 抗体及 AECOPD 患者 PBMC 中加入抗 CD3 抗体+抗 CTLA-4 抗体所获得的培养物中 IFN- $\gamma$  水平, 而 AECOPD 患者 PBMC 中加入抗 CD3 抗体+抗 CTLA-4 抗体所获得的培养物中 IFN- $\gamma$  水平与 sCOPD 患者 PBMC 中仅加入抗 CD3 抗体所获得的培养物中 IFN- $\gamma$  水平间差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。同时, 通过比较发现 3 组培养物的 TNF- $\alpha$  水平不全相同 ( $P<0.05$ )。进一步两两比较发现, AECOPD 患者 PBMC 中仅加入抗 CD3 抗体后获得的培养物中 TNF- $\alpha$  水平显著低于 sCOPD 患者 PBMC 中仅加入抗 CD3 抗体及 AECOPD 患者 PBMC 中加入抗 CD3 抗体+抗 CTLA-4 抗体所获得的培养物中 TNF- $\alpha$  水平, 而 AECOPD 患者 PBMC 中加入抗 CD3 抗体+抗 CTLA-4 抗体所获得的培养物中 TNF- $\alpha$  水平与 sCOPD 患者 PBMC 中仅加入抗 CD3 抗体所获得的培养物中 TNF- $\alpha$  水平间差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。见表 3。

表 2 两组患者 CTTLA-4<sup>+</sup> 细胞比例分析

项目	n	比例 (%)	P <sup>*</sup>
Treg 细胞在 CD4 <sup>+</sup> 细胞中所占比例			
sCOPD 组	40	4.35	0.481 4
AECOPD 组	40	5.12	
细胞内 CTLA-4 <sup>+</sup> 在 Treg 细胞中所占比例			
sCOPD 组	40	54.47	0.334 5
AECOPD 组	40	50.14	
表面 CTLA-4 <sup>+</sup> 在 Treg 细胞中所占比例			
sCOPD 组	40	8.69	0.002 1
AECOPD 组	40	20.74	
细胞内 CTLA-4 <sup>+</sup> 在 CD4 <sup>+</sup> 细胞中所占比例			
sCOPD 组	40	8.13	0.671 8
AECOPD 组	40	7.61	
表面 CTLA-4 <sup>+</sup> 在 CD4 <sup>+</sup> 细胞中所占比例			
sCOPD 组	40	1.08	0.042 1
AECOPD 组	40	2.31	

注: \* 表示 Wilcoxon 秩和检验

表 3 两组患者 PBMC 经不同方式培养后血清中 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  水平分析

项目	组别	n	$\bar{x}$	95%CI	Min~Max	F	P	SNK 分组
IFN- $\gamma$ <sup>*</sup>	sCOPD 组(CD3 抗体)	40	1126.23	1054.62~1269.34	469.54~4504.32	6.321 4	<0.05	A
	AECOPD 组(CD3 抗体)	40	912.91	801.64~1096.83	234.61~2292.21			
	AECOPD 组(CD3 抗体+CTLA-4 抗体)	40	1084.21	906.64~1197.32	381.65~3451.97			

续表 3 两组患者 PBMC 经不同方式培养后血清中 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  水平分析

项目	组别	n	$\bar{x}$	95%CI	Min~Max	F	P	SNK 分组	
TNF- $\alpha$ *	sCOPD 组(CD3 抗体)	40	1 195.81	1 065.77~1 382.62	527.61~3308.38	7.215 4	<0.05	A	
	AECOPD 组(CD3 抗体)	40	983.62	849.52~118.62	486.53~2263.49				B
	AECOPD 组(CD3 抗体+CTLA-4 抗体)	40	1 162.38	904.82~1 312.32	706.32~2716.52				A

注：\* 表示对数转化后服从正态分布

### 3 讨 论

有研究显示, AECOPD 的患者合并有细菌感染的比例高达 50%, 这常常导致病情复杂化并使患者治疗难度增加, 对患者病情的控制十分不利<sup>[8-9]</sup>。病原分离的结果提示, 未分型流感嗜血杆菌、肺炎链球菌和莫拉克斯菌属是造成 AECOPD 患者肺部感染的主要病原体<sup>[10-11]</sup>。值得注意的是, 有研究报道口服未分型流感嗜血杆菌疫苗无法阻止 AECOPD 患者肺部受到未分型流感嗜血杆菌的感染; 同时, AECOPD 患者气道浸润的大量活化 T 细胞同样对 AECOPD 患者的肺部感染无能为力; 而且经痰培养确诊的肺部合并不可分型流感嗜血杆菌(NTHI)感染的 AECOPD 患者对 NTHI P6 蛋白的淋巴增殖反应低于不合并 NTHI 感染的 COPD 患者<sup>[12]</sup>。以上事实均说明 AECOPD 患者的呼吸道免疫功能受到限制。虽有研究证实该现象与 COPD 患者急性加重期的 Th1 细胞功能障碍有关<sup>[13-14]</sup>, 但是关于其中的机制性研究还比较匮乏。通过本次研究, 可以说明表面 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞有限制 AECOPD 患者 Th1 细胞功能的作用。如果进一步阻断表面 CTLA-4<sup>+</sup> 的表达, Th1 细胞功能将有所恢复并且血清中 IFN- $\gamma$  与 TNF- $\alpha$  的水平均有显著提高。

从 sCOPD 患者及 AECOPD 患者外周血 PBMC 中 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞比例分析结果可知, sCOPD 患者细胞内 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞在 Treg 细胞及 CD4<sup>+</sup> 细胞的比例与 AECOPD 患者细胞内 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞在 Treg 细胞及 CD4<sup>+</sup> 细胞的比例十分接近; 而表面 CTLA-4<sup>+</sup> 则不然, sCOPD 患者表面 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞在 Treg 细胞及 CD4<sup>+</sup> 细胞的比例分别为 8.69% 和 1.08%; AECOPD 患者表面 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞在 Treg 细胞及 CD4<sup>+</sup> 细胞的比例分别为 20.74% 和 2.31%, 两组间差异均有统计学意义(P<0.05)。因此, COPD 患者急性加重期的 Th1 细胞功能障碍主要与表面 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞相关, 而非细胞内 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞, 这与其他相关研究所得结论一致<sup>[6, 15]</sup>。而且高比例的表面 CTLA-4<sup>+</sup> 也会造成 AECOPD 患者血清 sTNFR1 水平高于 sCOPD 患者。而细胞内 CTLA-4<sup>+</sup> 通常与 COPD 患者呼吸道的长期慢性炎症相关, 因此, 在两组间未见显著差别。

从基因的角度来看, CTLA-4 基因的剪切变异体可以使 CTLA-4 的跨膜异构体及不能跨膜转移的可溶性异构体表达增加<sup>[16]</sup>。两种异构体均可由活性 CD4<sup>+</sup> 细胞诱导并抑制免疫反应。由于本次研究所使用的抗 CTLA-4 抗体可以阻断跨膜性及可溶性两种

异构体的免疫活性。因此, 尚需进一步使用针对两种异构体的特异性阻断抗体进行试验以获得进一步的结论。这也是下一步研究的重点。

本次研究结果显示, IFN- $\gamma$  的水平与 CTLA-4<sup>+</sup> 细胞比例呈反比例关系, 在加入抗 CTLA-4 抗体的 AECOPD 组中 IFN- $\gamma$  的水平有显著升高, 提示抗 CTLA-4 抗体的加入可以恢复 Th1 细胞的免疫功能。因此, 可以降低 AECOPD 患者肺部细菌性感染的风险, 这一结论可以为 COPD 急性加重时患者的治疗产生有益的提示。

### 参考文献

- [1] 陈炜, 张念志, 张一萌, 等. 益气活血化痰法对慢性阻塞性肺疾病大鼠 HIF-1 $\alpha$ 、IL-17A 表达影响研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19(3): 25-27.
- [2] 赵丽, 冯平敏. 无创正压呼吸在急诊心力衰竭中的治疗价值[J]. 空军医学杂志, 2017, 33(6): 401-404.
- [3] 常春玲, 孙鸿, 林林, 等. 不同分娩方式足月儿急性呼吸窘迫综合征的发生率及其影响因素分析[J]. 现代医学, 2017, 45(2): 268-271.
- [4] 黎辉. 呼吸机治疗急性呼吸窘迫综合征患者的疗效分析[J]. 河南医学研究, 2015, 24(3): 104-105.
- [5] 陈晓雪, 宋德刚, 孙立娟. Tei 指数评价双水平正压通气治疗 COPD 并发呼吸衰竭患者的右心功能[J]. 河北医科大学学报, 2017, 38(4): 450-453.
- [6] 张子洲, 陈华芳, 钱璞, 等. 呼吸训练配合四肢运动改善 COPD 患者运动功能及生活质量效果分析[J]. 现代医学, 2017, 45(4): 525-529.
- [7] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版)[J/CD]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2014, 6(2): 67-80.
- [8] 杨洋. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者血清 hs-CRP、PCT 水平分析[J]. 河南医学研究, 2018, 27(8): 1433-1434.
- [9] 曹娟. 嗜酸性粒细胞在慢性阻塞性肺疾病急性加重期住院治疗中的作用[J]. 临床肺科杂志, 2018, 23(6): 1115-1117.
- [10] 袁泉, 李斌, 陈果. 无创正压通气对 AECOPD 并发呼吸衰竭患者血清 KL-6、CC16 及和肽素水平的影响[J]. 标记免疫分析与临床, 2017, 24(9): 1028-1032.
- [11] SETHI S, EVANS N, GRANT B J, et al. New strains of bacteria and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease[J]. N Engl J Med, 2002, 347(7): 465-471
- [12] ABE Y, MURPHY T F, SETHI S, et al. Lymphocyte proliferative response to P6 of haemophilus influenzae is associated with relative protection from exacerbations of

chronic obstructive pulmonary disease[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2002, 165(7): 967-971.

[13] STAPLES K J, POUNCE Z, WALLINGTON J C, et al. Impaired phagocytosis of nontypeable Haemophilus influenzae by human alveolar macrophages in chronic obstructive pulmonary disease[J]. J Infect Dis, 2006, 194(10): 1375-1384.

[14] 梁倩, 贺鹏, 余卫中, 等. 慢性阻塞性肺疾病合并慢性呼吸衰竭患者血乳酸联合 BNP 检测对患者预后影响研究

• 短篇论著 •

[J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(3): 372-374.

[15] 邹奇, 陈杰, 李春生, 等. ERCP 治疗时机的选择对 AOSC 患者呼吸爆发及炎性因子水平的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(24): 3374-3376.

[16] 陈娟, 马小安, 魏丹. 血必净联合胸腺肽  $\alpha 1$  对重症肺炎合并脓毒症患者血清 PCT、hs-CRP 的影响及疗效分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(1): 90-93.

(收稿日期: 2018-09-30 修回日期: 2018-12-14)

## 基于火焰原子发射光谱法血清钠离子候选参考方法的建立\*

刘春龙, 胡月, 薛利宁, 任轶昆, 孙茜

(生化诊断试剂检验技术北京市重点实验室, 北京 100176)

**摘要:**目的 建立基于火焰原子发射光谱法的血清钠离子候选参考方法并评估其基本性能。方法 使用钠离子国家标准物质配制标准曲线校准血清钠离子候选参考方法, 用国际标准物质 909C 评估方法的正确度, 用利德曼公司两浓度工作校准品评估方法的精密度, 通过参加 2016 年国际参考实验室外部质量评估计划 (Rela) 进一步验证方法的性能。结果 钠离子标准曲线线性方程为  $Y=0.0012407X+0.0066857$ ,  $r^2=0.9992$ ; 正确度评估结果为偏移  $-0.53\%$ ; 利德曼公司高低两浓度工作校准品的总不精密度分别为  $0.57\%$  和  $1.23\%$ , 两者均小于  $1.50\%$ ; Rela 结果在等效限范围内。结论 基于火焰原子发射光谱法的血清钠离子候选参考方法建立成功, 为血清钠离子试剂盒的量值溯源提供了保障。

**关键词:**血清钠离子; 火焰原子发射光谱法; 候选参考方法; 性能评估

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2019.06.028

**中图法分类号:**R155.5

**文章编号:**1673-4130(2019)06-0745-03

**文献标识码:**B

钠离子是细胞外液如血液中最多的阳离子, 对保持细胞外液容量、调节酸碱平衡、维持正常渗透压和细胞生理功能具有重要意义, 并参与维持神经-肌肉的正常应激性。细胞外液钠浓度的改变可由水、钠任一含量的变化而引起, 所以钠平衡紊乱常伴有水平衡紊乱。水与钠的正常代谢及平衡是维持人体内环境稳定的重要因素。因此, 血清钠的测定具有重要的临床意义, 尤其有助于电解质紊乱的治疗。然而, 由于临床常规检验血清钠离子的方法学较多, 且不同方法学之间存在一定的差异, 导致其测量结果的标准化工作困难重重。近年以临床检验标准化为目的的量值溯源受到重视<sup>[1]</sup>。建立稳定有效的参考方法对于促进钠离子检验标准化具有重要价值是行业内共识。临床检验参考方法的主要作用是建立和评价常规方法的准确性<sup>[2]</sup>。本研究基于火焰原子发射光谱法, 尝试建立一种稳定性好, 准确度高(正确度和精密度良好)的血清钠离子候选参考方法, 为体外诊断厂家钠离子常规测量系统向参考系统溯源提供新的途径。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

**1.1.1 原料** 氯化钠 GBW(E)060024C 国家标准物质(纯度 99.97%)、浓硝酸(浓度 15.4 mol/L)、氯化钾(钠含量  $\leq 0.02\%$ ), 均购自 Sigma 公司。

**1.1.2 仪器** 岛津 AA-7000 原子吸收分光光度计、哈密尔顿 Microlab-500 型稀释配液仪、赛多利斯 CP225D 型电子天平、Eppendorf 移液器。

#### 1.2 试剂配制

**1.2.1 总原则** 所有与试剂、水或样本接触的的玻璃或者塑料器皿均按下面的序列清洗: 放在 0.77 mol/L HNO<sub>3</sub> 中浸泡 60 min, 然后用去离子水冲洗(至少 6 次), 最后在无尘环境中倒置自然干燥。

**1.2.2 配制步骤** (1)氯化钾(KCl)稀释液(KCl 4.5 mmol/L): 称取 0.336 g KCl, 在转移到 1 000 mL 容量瓶中, 用去离子水定容, 颠倒 20 次混匀。氯化钾溶液作为钠标准贮备液的稀释液和空白贮备液使用。保存条件: 2~8 °C。(2)钠标准贮备液: 准确称取

\* 基金项目: G20 工程龙头企业培育-生化诊断试剂质量性能评价研究及标准品体系建立(Z161100001816043); 医疗器械(体外诊断试剂)检测与参考品评价服务平台(Z141102007414001)。

本文引用格式: 刘春龙, 胡月, 薛利宁, 等. 基于火焰原子发射光谱法血清钠离子候选参考方法的建立[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(6): 745-747.