

ELISA 定量测定 sCD30 的方法学评价与临床应用

ELISA in quantitative assay of sCD30: methodological evaluation and clinical application

曾章新¹, 邓章彬¹, 王 栋¹, 王庆华¹, 谭建明¹, 王水良², 朱忠勇²

(1. 南京军区福州总医院泌尿外科, 解放军器官移植中心, 福州 350025; 2. 检验科, 解放军检验医学研究所)

[摘要] **目的:** 用 ELISA 方法评价 Bender MedSystems 公司的“研究用”human sCD30 ELISA 定量测定试剂盒的方法学及其在临床应用。**方法:** 收集到 458 例尿毒症等待肾移植、淋巴瘤病和一些恶性肿瘤患者及健康成人的血清、尿液、腔积液, 采用 ELISA 定量检测 sCD30 浓度, 并进行比较; 另对该方法的精密性、准确性及曲线的线性与测定范围作了观察。**结果:** 249 例肾移植术前患者的 sCD30 浓度为 $(178.1 \pm 80.3) \text{U/ml}$, 11 例非霍奇金淋巴瘤患者为 $(233.3 \pm 61.2) \text{U/ml}$, 比 58 名健康成人 $(45.5 \pm 16.8) \text{U/ml}$ 显著增高 ($P < 0.01$); 而肾移植术前及术后均增高患者在术后 1 周内发生急性排斥率为 38.5%; 8 例霍奇金病患者和 9 例恶性肿瘤患者的 sCD30 分别为 (86.1 ± 46.0) 和 $(92.1 \pm 40.6) \text{U/ml}$, 也明显高于健康成人 ($P < 0.01$)。ELISA 定量测定 sCD30 的批内 CV 3.9%, 批间 CV 6.3%, 回收率为 $(101.2 \pm 2.9)\%$, 线性相关性系数 $r = 0.9992$ 。**结论:** ELISA 定量测定 sCD30 方法简便, 重复性好, 结果可靠, 适用于各种体液标本的检测。在以免疫应答为主流的疾病中, 血清中 sCD30 浓度增高常与疾病的活动性加重有关。而从目前接受肾移植的患者血清中的初步结果可以看出其浓度与急性排斥反应相关, 有望成为预测排斥风险的有用标志物。

[关键词] 人可溶性 CD30; 免疫活性标志物; ELISA

[中图分类号] R 392-33

[文献标识码] B

[文章编号] 0258-879X(2007)09-1017-02

可溶性 CD30 (sCD30) 是 Th2 淋巴细胞表达的蛋白, 为肿瘤坏死因子受体家族的成员之一^[1-2], 普遍存在于体液中。其量的多少能直接反映免疫的激活状态, 成为一些疾病诊断和预后判定的重要标志物, 在临床上已引起学者们对其检测的极大兴趣^[3-5]。目前, 国外一种 ELISA 定量测定 sCD30 的商品试剂盒正推出应用^[5]。我们引进了 Bender MedSystems 生产的“研究用”human sCD30 ELISA 定量测定试剂盒。现对该试剂盒使用后的方法学评价与临床应用情况报告如下。

1 材料和方法

1.1 试剂和仪器 sCD30 ELISA 定量测定试剂盒购于 Bender MedSystems 公司; 宝特 ELX-800 型酶标仪 (美国生产)。

1.2 标本 血清标本分别来自本院住院的患者 331 例, 其中等待肾移植的尿毒症患者 249 例, 肾移植后 3~5 d 的患者 56 例, 霍奇金病 (HD) 患者 8 例, 非霍奇金淋巴瘤 (NHD) 患者 13 例, 系统性红斑狼疮 (SLE) 患者 5 例; 其性别为: 男 218 例, 女 103 例; 中位年龄 39 岁 (范围 22~57 岁); 门诊体检的新入伍士兵血清 36 例, 体检女工血清 22 例, 中位年龄 25 岁 (范围 18~31 岁)。另外收集其他体液标本 69 例, 其中健康成人早晨尿液 10 例, 肾移植患者移植前后的早晨尿液各 22 例, 病毒性脑炎患者脑脊液 6 例, 恶性肿瘤患者胸腹腔水 9 例。

1.3 方法

1.3.1 sCD30 ELISA 定量测定 完全按照试剂盒说明书操作, 测定结果引用 KC4 软件, 自行设计有关参数, 自动计算获得。

1.3.2 精密度测定 批内精密度是在当天于同一测定板上用同一血清标本分别加样 10 次测定的结果计算获得, 批间精密度由同一份于 -20°C 保存的血清标本在不同时间不同测定板上分别测定 10 次的结果计算获得。

1.3.3 回收试验 将批内精密度测定 10 次所获平均值 169.8U/ml 的一份血清标本加入含 100U/ml 的标准品进行回收试验测定 2 次, 计算平均回收率。

1.3.4 适用标本 分别收集血清 (血浆)、尿液、脑脊液、腔积液进行测定, 了解可检测标本的适用性范围。

1.3.5 标准曲线的线性与测定范围 用试剂盒的标准原液以倍比稀释 5 个稀释度后分别测定, 观察其线性与测定范围。

1.4 统计学处理 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 11.0 统计软件进行数据分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同标本的 sCD30 浓度比较 健康成人血清 sCD30 浓度为 $(45.5 \pm 16.8) \text{U/ml}$, 肾移植术前和非霍奇金淋巴瘤病患者血清中 sCD30 浓度与其比较显著增高 ($P < 0.01$), 肾移植术后和霍奇金病患者的血清及恶性肿瘤患者胸腹腔水中 sCD30 浓度比健康成人血清浓度增高 ($P < 0.05$)。而肾移植患者术前与术后尿液和病毒性脑炎患者脑脊液的 sCD30 含量与正常对照比较无显著差异 (表 1)。56 例肾移植患者术前与术后的血清同时测定的 sCD30 浓度比较, 发现含量 $> 100 \text{U/ml}$ 的 13 例患者术后的急性排斥率 (5/13,

[作者简介] 曾章新, 教授、主任医师。

E-mail: zzx9833@yahoo.com.cn

38.5%)远高于含量<100 U/ml的43例患者的急排率(1/43,2.3%);其中3例术前浓度>253 U/ml与术后浓度>149 U/ml的患者都发生急性排斥,而且尿液sCD30均高于健康成人。

表1 458份血清及其他体液标本的sCD30测定结果
($\bar{x}_B/U \cdot ml^{-1}$)

来源	标本	例数	sCD30
健康成人	血清	58	45.5±16.8
	尿液	10	47.6±18.3
肾移植患者	血清		
	移植前	249	178.1±80.3**
	移植后	56	83.9±46.6
	尿液		
	移植前	22	34.1±23.8*
	移植后	22	30.4±29.5
霍奇金淋巴瘤患者	血清	8	86.1±46.0*
非霍奇金淋巴瘤患者	血清	13	233.3±61.2**
系统性红斑狼疮患者	血清	5	68.9±37.7*
病毒脑患者	脑脊液	6	48.3±29.5
恶性肿瘤患者	胸腹水	9	92.1±40.6*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 与健康成人相应标本sCD30比较,其中脑脊液、胸腹腔水P值是与健康成人血清sCD30比较的计算值

2.2 方法学评价 同一份标本进行ELISA定量测定sCD30的批内CV 3.9%,批间CV 6.3%。两次的回收率分别为98.9%和103.5%,平均回收率101.2%。经5次制备的标准曲线计算了其直线性线性关系系数,平均 $r = 0.9992$; 测定范围为6.8~418.3 U/ml(含稀释倍数)。

3 讨论

我们采用Bender MedSystems生产的“研究用”human sCD30 ELISA定量测定试剂盒对58名参加体检的健康成人和321例住院患者的血清和部分尿液的sCD30含量进行检测,初步探讨了其浓度变化的临床意义。国外文献报道sCD30的正常参考值为<100 U/ml^[3-4],本研究中58名健康成人的sCD30浓度为(45.5±16.8) U/ml。免疫系统活跃与致敏的患者与健康人比较,血清sCD30浓度呈明显增高状态,尤其是非霍奇金淋巴瘤病患者和部分等待肾移植的尿毒症患者血清sCD30浓度显著增高,可能为这些疾病诊断和预后判定提供有价值的参考意义。

有文献报道检测肾移植受者血清中sCD30的含量,可以了解受者免疫应答状态,预测移植后排斥反应发生的概率^[3-5]。在本研究中,对56例行肾移植术患者的术前及术后血清sCD30浓度均进行了检测,其中有13例的sCD30的含

量>100 U/ml,在这13例高sCD30浓度患者中术后1周内发生急性排斥反应的有5例,其急排率在38.5%,与文献报道的相似^[3],其中3例术前血清sCD30含量>253 U/ml,术后血清sCD30含量>149 U/ml且尿中的sCD30浓度也处于较高状态的患者均发生急排,这表明sCD30可能是肾脏移植术后结局的一个重要的预测指标,并初步显示了其预测急性排斥反应的作用。尿中sCD30水平与移植肾功能的关系尚未见文献报道。本研究对22例肾移植患者在移植术前后的尿液sCD30浓度进行了监测,虽然总体的结果显示患者移植前后的sCD30浓度与健康成人比较无显著差异,但其中术后发生急排的3例患者移植前的sCD30浓度远高于正常对照值,表明尿中sCD30的增高对急性排斥的预测有一定的意义,值得探讨。另外,从霍奇金病和非霍奇金淋巴瘤病患者所测的sCD30浓度比较而言,两者差异十分明显,是否能作为它们之间用于鉴别诊断的标志物有待进一步观察。

Bender MedSystems生产的human sCD30 ELISA定量测定试剂盒对sCD30进行定量分析,方法简便、快速;实验数据表明其稳定性能好,精确度和准确度符合实验要求;标准曲线的直线性线性关系系数高,测定范围也宽;除血清标本外,还适用于其他体腔液标本的检测。

[参考文献]

- [1] Schneider C, Hubinger G. Pleiotropic signal transduction mediated by human CD30: a member of the tumor necrosis factor receptor (TNFR) family[J]. Leuk Lymphoma, 2002, 43: 1355-1366.
- [2] 曾章新, 王 栋, 谭建明. 预测肾移植后患者发生排斥反应的一种新标志物sCD30[J]. 中华器官移植杂志, 2006, 27: 188-189.
- [3] Pelzl S, Opelz G, Daniel V, et al. Evaluation of posttransplantation soluble CD30 for diagnosis of acute renal allograft rejection [J]. Transplantation, 2003, 75: 421-423.
- [4] Susal C, Pelzl S, Dohler B, et al. Identification of highly responsive kidney transplant recipients using pretransplant soluble CD30[J]. J Am Soc Nephrol, 2002, 13: 1650-1656.
- [5] Susal C, Pelzl S, Simon T, et al. Advances in pre- and posttransplant immunologic testing in kidney transplantation [J]. Transplant Proc, 2004, 36: 29-34.
- [6] Chan K W, Hopke C D, Krams S M, et al. CD30 expression identifies the predominant proliferating T lymphocyte population in human alloimmune responses [J]. J Immunol, 2002, 169: 1784-1791.

[收稿日期] 2007-03-19

[修回日期] 2007-07-12

[本文编辑] 孙 岩