

## · 病例报告 ·

嗜异性抗体干扰 ACTH 检测结果的 4 例临床病例分析  
并文献复习

周帆<sup>1</sup> 曲玉清<sup>2</sup> 王先令<sup>2</sup> 王安平<sup>2</sup> 裴育<sup>2</sup> 杜锦<sup>2</sup> 闫文华<sup>2</sup> 巴建明<sup>2</sup> 吕朝晖<sup>2</sup>  
窦京涛<sup>2</sup> 母义明<sup>2</sup>

<sup>1</sup>广西钦州市第一人民医院内分泌科 535001; <sup>2</sup>中国人民解放军总医院内分泌科, 北京 100853

通信作者: 王先令, Email: wangxianling1972@sohu.com

**【摘要】** 4 例无特殊临床表现的肾上腺意外瘤患者入院后评估肾上腺功能均正常, 采用酶化学发光法检测血清促肾上腺皮质激素 (ACTH) 结果异常升高 (14.3 ~ 94.6 pmol/L, 正常范围 1.1 ~ 10.1 pmol/L), 改用电化学发光法检测同一血清标本, ACTH 的结果均在正常或接近正常 (0.80 ~ 5.72 pmol/L, 正常范围 1.6 ~ 13.9 pmol/L), 前者的血清 ACTH 浓度为后者的 5.5 ~ 68.3 倍, 考虑为嗜异性抗体 (HA) 干扰检测所致。因此, 当内分泌激素检测结果与临床表现显著不符时, 应警惕 HA 的存在, 需更换不同的检测方法进一步验证。

**【关键词】** 嗜异性抗体; 促肾上腺皮质激素; 免疫测定

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.02.017

**Four cases with heterophile antibodies interferences in the measurement of an adrenocorticotrophic hormone and literatures review** Zhou Fan<sup>1</sup>, Qu Yuqing<sup>2</sup>, Wang Xianling<sup>2</sup>, Wang Anping<sup>2</sup>, Pei Yu<sup>2</sup>, Du Jin<sup>2</sup>, Yan Wenhua<sup>2</sup>, Ba Jianming<sup>2</sup>, Lyu Zhaohui<sup>2</sup>, Dou Jingtao<sup>2</sup>, Mu Yiming<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Department of Endocrinology, Qinzhou First People Hospital, Qinzhou 535001, China; <sup>2</sup>Department of Endocrinology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China.

Corresponding author: Wang Xianling, Email: wangxianling1972@sohu.com

**【Abstract】** Four patients of adrenal incidentaloma without any clinical manifestations were admitted to evaluate adrenal function. All of the adrenal hormones were normal. But the serum adrenocorticotrophic hormones (ACTH) markedly elevated (14.3-94.6 pmol/L, normal range 1.1-10.2 pmol/L) with enzyme chemiluminescence. While nearly normal (0.80-5.72 pmol/L) with electrochemiluminescence (normal range 1.6-13.9 pmol/L). The level of serum ACTH of former was range from 5.5 to 68.3 as much as that of the latter. It is considered that the existence of heterophile antibodies (HA) accounts for such remarkable difference between these two methods. The results enlightened that the influence of HA should be thought of when patient's hormone levels do not fit their clinical manifestations.

**【Key words】** Heterophile antibodies; Adrenocorticotrophic hormone; Immunoassay

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.02.017

促肾上腺皮质激素 (ACTH) 目前多采用化学发光免疫测定技术进行测定, 该测定方法具有较高的灵敏性和特异性。但由于少数人存在内源性抗体, 如嗜异性抗体 (HA)、人抗动物抗体、自身抗体, 可能会干扰化学发光免疫检测结果, 导致检测结果出现与临床表现不符的假性升高或假性降低, 使患者被误诊并导致不必要的检查及治疗<sup>[1]</sup>。其中 HA 的存在是影响免疫测定的重要因素之一<sup>[2]</sup>, 这是一种少见的免疫检测干扰现象。本文报道了 2017 年 1 月

至 2017 年 6 月解放军总医院内分泌科收治的 4 例 HA 干扰 ACTH 检测结果的临床病例并进行文献复习, 旨在加强临床医生对 HA 干扰检测结果的认识。

### 1 病例介绍

自 2017 年 1 月至 2017 年 6 月, 4 例患者均因意外发现肾上腺占位就诊于解放军总医院内分泌科, 均为男性患者, 年龄 41 ~ 66 岁。4 例患者均无满月脸、水牛背、皮肤菲薄、皮肤紫纹、皮肤瘀斑、多血质外貌, 无四肢无力、夜尿增多, 无阵发性头痛、心悸、

冷汗、面色苍白等症状。其中 3 例患者既往有高血压病史,高血压病程 1.5~12 年,单药或二联药物降压治疗后血压控制良好,均无糖耐量异常、骨质疏松症、低钾血症。

入院后行垂体-肾上腺皮质轴及肾上腺髓质的内分泌功能评价,4 例患者立位血清醛固酮 4.9~36.3 ng/dl (3.0~35.3), 24 h 尿醛固酮 1.4~16.6  $\mu$ g (1.19~28.1), 立位醛固酮/直接肾素比值 0.2~2.6 (0~3.7), 24 h 尿去甲肾上腺素 56.6~109.8  $\mu$ g (22.1~75.3), 24 h 尿肾上腺素 4.7~26.8  $\mu$ g (1.5~34.5), 24 h 尿多巴胺 254.1~478.6  $\mu$ g (93.2~470.3)。4 例患者血清皮质醇浓度、24 h 尿游离皮质醇 (UFC) 均在正常范围,血清皮质醇浓度节律正常,但血清 ACTH 浓度异常升高至正常上限 1.4~9.4 倍 (表 1)。4 例患者均无低钠血症、低血压、低血糖症等 Addison 病表现,不考虑原发性肾上腺皮质功能不全。4 例患者进一步行午夜 1 mg 地塞米松抑制试验后,血清皮质醇浓度均被抑制至 50 nmol/L 以下,结合其临床表现,均除外库欣综合征。

该 4 例患者经酶化学发光法检测血清 ACTH 浓度,出现检测结果与临床表现不相符的异常升高,推测与 HA 干扰免疫测定有关,更换电化学发光法再次复查同一血清标本 ACTH 浓度,结果均正常 (表 1)。

4 例患者均进行了肾上腺 CT + 增强扫描,3 例患者为左侧肾上腺稍低密度或等密度结节影,直径约 2.1~2.7 cm,1 例患者 CT 显示为双侧肾上腺 1.1 cm 以下结节状低密度灶。最终病例 1~3 临床诊断为左肾上腺无功能瘤,病例 4 临床诊断为双侧肾上腺无功能结节。

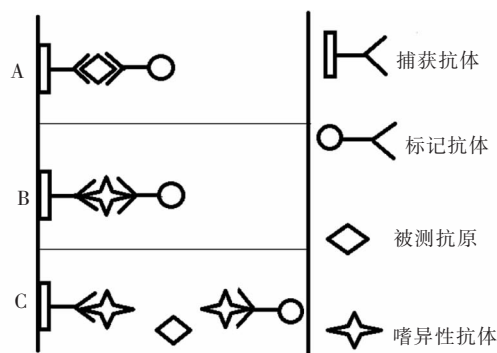
表 1 4 例患者入院后的检测结果

病例	时间	ACTH (pmol/L)			皮质醇 (nmol/L)	24 h UFC (nmol)	空腹血糖 (mmol/L)	血钠 (mmol/L)	血钾 (mmol/L)
		酶化学 发光法	电化学 发光法	酶化学发光法/ 电化学发光					
病例 1	0 AM	29.3	2.09	14.0	49.22				
	8 AM	31.5	2.37	13.3	362.12	485.2	4.33	145.5	3.76
	4 PM	30.4	3.09	9.8	128.8				
病例 2	0 AM	23.1	1.37	16.9	<25.7				
	8 AM	28.0	5.72	4.9	447.2	318.5	4.47	145.8	3.52
	4 PM	24.9	3.55	7.0	181.52				
病例 3	0 AM	14.3	0.89	16.0	89.77				
	8 AM	24.6	2.05	12.0	481.97	298.2	4.67	145.1	3.91
	4 PM	18.1	3.29	5.5	352.86				
病例 4	0 AM	54.6	0.80	68.3	38.83				
	8 AM	94.6	2.45	38.6	441.72	348.8	4.50	139.9	3.80
	4 PM	72.8	1.44	50.6	166.95				

注:ACTH:促肾上腺皮质激素;24 h UFC:24 h 尿游离皮质醇;酶化学发光法:SIEMENS IMMULITE 2000XPI 分析仪,单克隆鼠抗 ACTH 抗体,ACTH (8 AM) 正常范围 1.1~10.12 pmol/L;电化学发光法:罗氏电化学发光仪,生物素化的抗 ACTH 抗体,ACTH (8 AM) 正常范围 1.6~13.9 pmol/L;皮质醇正常范围:(0 AM) 0~165.7 nmol/L, (8 AM) 198.7~797.5 nmol/L, (4 PM) 85.3~459.6 nmol/L;24 h UFC 正常范围:98.0~500.1 nmol/24 h;空腹血糖正常范围:3.4~6.1 mmol/L;血钠正常范围:130~150 mmol/L;血钾正常范围:3.5~5.5 mmol/L

## 2 讨论

HA 是由已知或未知抗原物质刺激人体免疫系统分泌的,能与动物免疫球蛋白非特异性结合的一种内源性自身抗体<sup>[3]</sup>。密切接触动物、进食受污染的食品、接受来源于单克隆动物抗体治疗、感染、输血等可能为 HA 产生的原因<sup>[4]</sup>。目前临床常用的免疫检测试剂大多来源于实验动物的抗体,HA 可以非特异性结合许多动物免疫球蛋白的 Fc 和 Fab 段表位,通过结合捕获抗体或标记抗体干扰测定结果,使检测结果与临床表现不符,易导致误诊<sup>[5]</sup>。HA 干扰检测结果的机制为<sup>[1,4]</sup>:(1) HA 模拟被测抗原的活性,同时结合捕获抗体及标记抗体,导致检测结果假性升高,见图 1B。(2) HA 分别与捕获抗体或者标记抗体结合,不起桥接作用,抑制被测抗原被识别,导致检测结果假性降低,见图 1C。



注:A 为正常双抗体夹心检测机制,B、C 为 HA 存在时可能产生的反应机制;HA:嗜异性抗体

图 1 HA 干扰检测结果的模式

最早于 2000 年,12 名未怀孕的青年女性因检测出血清人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  亚单位 ( $\beta$ -hCG) 水平明显升高,被诊断为“绒毛膜癌”并进行了手术或

化学药物治疗等,随访发现治疗后 $\beta$ -hCG水平无明显下降,最后通过稀释血清、更换检测方法证实, $\beta$ -hCG水平异常升高为HA干扰所致,从而HA干扰现象开始被重视<sup>[6]</sup>。目前已报道了多种内分泌激素的免疫测定可受HA干扰,如无甲状腺功能亢进症表现的患者出现促甲状腺激素(TSH)、FT<sub>4</sub>、FT<sub>3</sub>水平假性升高<sup>[7]</sup>。Cavalier等<sup>[8]</sup>发现,在2 084份血清样本中有1.9%受HA影响导致甲状腺旁腺激素水平(PTH)假性升高。Brugts等<sup>[9]</sup>报道了1例乏力的患者由于HA干扰导致胰岛素样生长因子-1(IGF-1)假性降低。受HA干扰影响导致卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)检测结果假性升高或皮质醇假性降低均有报道<sup>[10-12]</sup>。而对于ACTH免疫测定受HA干扰的报道相对较少。Grasko等<sup>[13]</sup>报道了1例60岁的库欣综合征女性患者,通过酶化学发光法(SIEMENS IMMULITE 2000XPI分析仪)检测ACTH为4.48~6.00 pmol/L(正常范围2.0~10.0 pmol/L),被误诊为ACTH依赖性库欣综合征,进行岩下窦取血检查发现中枢与外周ACTH无明显梯度,PET/CT扫描未发现异位ACTH综合征病灶,最后改用罗氏电化学发光法(Roche ElecsysE170分析仪,钆络合物标记的夹心生物素化ACTH特异性单克隆抗体)多次复测ACTH结果均<0.22 pmol/L,证实ACTH异常升高为HA干扰引起,最后确诊为原发性双侧肾上腺大结节样增生。另有报道1例患者产后8周出现疲乏、多汗、体重下降,经检测发现TSH水平升高,FT<sub>4</sub>、FT<sub>3</sub>水平正常,应用左甲状腺素钠片治疗1年后TSH水平仍无明显下降,且发现ACTH、FSH、PTH、IGF-1、催乳素、 $\beta$ -hCG多种激素检测结果异常升高,而患者无相应的临床表现。最后通过更换检测方法、连续倍比稀释法、HA阻滞剂封闭抗体、聚乙二醇(PEG)6000沉淀4种方法证实为HA干扰导致多种激素异常升高<sup>[14]</sup>。

内分泌激素检测当出现以下情形时<sup>[15]</sup>,应警惕HA干扰:(1)检测结果与临床表现不一致。(2)血清与尿液中的生化结果不一致(因为HA为大分子免疫蛋白,很少排泄到尿液中)。(3)与既往检测结果有无法解释的显著变化时。(4)近期接受免疫疫苗接种、输血、单克隆抗体治疗。(5)经常与动物接触的人群。(6)通过不同的方法重复检测出现明显的差异。(7)连续倍比稀释后检测结果呈非线性下降或升高。(8)使用阻断抗体后检测结果出现明显差异。

目前最常见的鉴别或减少HA干扰的方法有以下几种<sup>[1,4]</sup>:(1)更换检测方法。不同的检测方法使用的检测抗体不同或其识别的抗原表位不同,使得

HA的干扰也不尽相同,所以使用另一个检测方法可能会获得较为准确的结果。(2)稀释法。连续倍比稀释后检测结果呈非线性关系时,提示存在HA干扰,但该方法仅有60%的成功率,即使稀释后检测结果呈线性也不能完全排除HA干扰<sup>[16]</sup>。(3)封闭法。使用HA阻滞剂能结合样本中的HA,可阻止HA与检测或捕获抗体结合,从而封闭其干扰作用;或高浓度的动物血清也可以减少异嗜性干扰。(4)物理化学技术。可通过消除Ig片段而减少HA的干扰,如PEG 6000沉淀、超速离心、凝胶过滤或色谱等,但这些技术较前几种方法更加繁琐。

本文报道的4例患者均无典型库欣综合征的临床表现,血清皮质醇浓度及节律均正常,24 h UFC在正常范围,午夜1 mg地塞米松抑制试验抑制后血清皮质醇浓度均被抑制至50 nmol/L以下。血清ACTH检测结果异常升高,与临床表现不一致,考虑HA干扰。原检测方法为酶化学发光法(SIEMENS IMMULITE 2000XPI分析仪),采用单克隆鼠抗ACTH抗体作为捕获抗体,而HA可与单克隆鼠抗ACTH抗体的Fc和Fab表位非特异性结合,模拟被测抗原的免疫活性,连接捕获抗体导致检测结果异常升高。后改用电化学发光法(罗氏电化学发光仪)进行检测。电化学发光法以生物素化的抗ACTH抗体作为捕获抗体可避免HA非特异性连接捕获抗体,改用该方法检测4例患者的ACTH均在正常范围,证实为HA干扰引起的血清ACTH浓度异常升高。

HA干扰检测结果的情况较为少见,但因其致使检测结果假性升高或降低,使患者易被误诊,接受更多昂贵的、侵入性的检查,甚至不必要的治疗。所以当患者出现与临床表现显著不符的内分泌激素检测结果时,临床医生应警惕HA的存在,及时更换检测方法进一步验证是否为HA干扰检测结果。

## 参 考 文 献

- [1] 黎锦,李一荣. 内源性抗体对临床免疫检测的干扰及对策[J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39(11): 811-813. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2016.11.003.
- [2] Bolstad N, Warren DJ, Nustad K. Heterophilic antibody interference in immunometric assays[J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2013, 27(5): 647-661. DOI: 10.1016/j.beem.2013.05.011.
- [3] Jahagirdar VR, Strouhal P, Holder G, et al. Thyrotoxicosis factitia masquerading as recurrent Graves' disease: endogenous antibody-immunoassay interference, a pitfall for the unwary[J]. Ann Clin Biochem, 2008, 45(Pt 3): 325-327. DOI: 10.1258/acb.2007.007163.

- [4] 韦维,戴盛明. 异嗜性抗体在免疫测定中干扰的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(9): 1123-1126. DOI: 10.3969/j. issn. 1673-4130. 2010. 10. 031.
- [5] 裘宇容,李欣,孙德华,等. 嗜异性抗体对检测结果干扰的两例临床病例分析[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(5): 470-471. DOI:10.3760/cma. j. issn. 1009-9158. 2013. 05. 024.
- [6] Rotmensch S, Cole LA. False diagnosis and needless therapy of presumed malignant disease in women with false-positive human chorionic gonadotropin concentrations [J]. Lancet, 2000, 355(9205): 712-715. DOI:10.1016/S0140-6736(00)01324-6.
- [7] Chin KP, Pin YC. Heterophile antibody interference with thyroid assay[J]. Intern Med, 2008, 47(23): 2033-2037.
- [8] Cavalier E, Carlisi A, Chapelle JP, et al. False positive PTH results: an easy strategy to test and detect analytical interferences in routine practice[J]. Clin Chim Acta, 2008, 387(1-2): 150-152. DOI:10.1016/j. cca. 2007. 08. 019.
- [9] Brugts MP, Luermans JG, Lentjes EG, et al. Heterophilic antibodies may be a cause of falsely low total IGF1 levels[J]. Eur J Endocrinol, 2009, 161(4): 561-565. DOI:10.1530/EJE-09-0316.
- [10] Webster R, Fahie-Wilson M, Barker P, et al. Immunoglobulin interference in serum follicle-stimulating hormone assays: autoimmune and heterophilic antibody interference [J]. Ann Clin Biochem, 2010, 47(Pt 4): 386-389. DOI: 10.1258/acb. 2010. 010044.
- [11] Segal DG, DiMeglio LA, Ryder KW, et al. Assay interference leading to misdiagnosis of central precocious puberty [J]. Endocrine, 2003, 20(3): 195-199. DOI:10.1385/ENDO:20:3:195.
- [12] Bolland MJ, Chiu WW, Davidson JS, et al. Heterophile antibodies may cause falsely lowered serum cortisol values[J]. J Endocrinol Invest, 2005, 28(7): 643-645.
- [13] Grasko J, Williams R, Beilin J, et al. A diagnostic conundrum: heterophilic antibody interference in an adrenocorticotrophic hormone immunoassay not detectable using a proprietary heterophile blocking reagent[J]. Ann Clin Biochem, 2013, 50(Pt 5): 433-437. DOI:10.1177/0004563213487514.
- [14] Gulbahar O, Konca Degertekin C, Akturk M, et al. A case with immunoassay interferences in the measurement of multiple hormones[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2015, 100(6): 2147-2153. DOI:10.1210/jc. 2014-4023.
- [15] Ismail Y, Ismail AA, Ismail AA. Erroneous laboratory results: what clinicians need to know[J]. Clin Med (Lond), 2007, 7(4): 357-361.
- [16] Ismail AA. Identifying and reducing potentially wrong immunoassay results even when plausible and "not-unreasonable" [J]. Adv Clin Chem, 2014, 66: 241-294.

(收稿日期:2018-07-16)

(本文编辑:刘欣)

## · 读者 · 作者 · 编者 ·

### 《国际内分泌代谢杂志》对运用统计学方法的有关要求

1. 统计学符号:按 GB/T 3558.1-2009《统计学词汇及符号》的有关规定,统计学符号一律采用斜体。

2. 研究设计:应告知研究设计的名称和主要方法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性还是横断面调查研究),实验设计(应告知具体的设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等),临床试验设计(应告知属于第几期临床试验,采用了何种盲法措施等);主要做法应围绕4个基本原则(重复、随机、对照、均衡)概要说明,尤其要告知如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

3. 资料的表达与描述:用 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料,用 $M(Q_R)$ 表达呈偏态分布的定量资料;用统计表时,要合理安排纵横标目,并将数据的含义表达清楚;用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上刻度值的标法符合数学原则;用相对数时,分母不宜小于20,要注意区分百分率与百分比。

4. 统计学分析方法的选择:对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选择合适的统计学分析方法,不应盲目套用 $t$ 检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件及分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用 $\chi^2$ 检验。对于回归分析,应结合专业知识和散布图,选用合适的回归类型,不应盲目套用简单直线回归分析;对具有重复实验数据检验回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。

5. 统计结果的解释和表达:应写明所用统计学方法的具体名称(如:成组设计资料的 $t$ 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 $q$ 检验等),统计量的具体值(如 $t = 3.45$ ,  $\chi^2 = 4.68$ ,  $F = 6.79$ 等);在用不等式表示 $P$ 值的情况下,一般情况下选用 $P > 0.05$ 、 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 三种表达方式,无须再细分为 $P < 0.001$ 或 $P < 0.0001$ 。当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,应再给出95%可信区间。