

# 健康查体人群内因子抗体阳性率和血清维生素B<sub>12</sub>缺乏率调查

高学慧 崔雀玄 张强兴 程歆琦 鲁军 邱玲 韩冰

**【摘要】** 目的 观察健康查体人群血清内因子抗体(IFAb)阳性率、维生素B<sub>12</sub>缺乏率,并分析其与年龄、性别、HGB、RBC、平均红细胞体积(MCV)等的相关性。**方法** 以2015年5-6月北京协和医院健康查体人群共计1427人为研究对象,采用化学发光免疫学方法,使用Beckman DxI800全自动免疫分析仪及其配套试剂检测上述个体血清IFAb和维生素B<sub>12</sub>水平,比较查体人群中不同性别、不同年龄个体IFAb阳性(IFAb $\geq$ 1.2 Au/ml)率和维生素B<sub>12</sub>缺乏( $\leq$ 145 ng/L)率的差异与相关性。**结果** 1427例正常查体人群中,共检出IFAb阳性者66例(4.63%); $\geq$ 40岁人群IFAb阳性率显著高于<40岁人群(5.66%对1.48%, $\chi^2=7.46$ , $P=0.006$ )。≤40岁、40~59岁和≥60岁组维生素B<sub>12</sub>缺乏率分别为2.22%、2.51%和5.50%( $\chi^2=8.55$ , $P=0.014$ )。查体人群中男性和女性组IFAb阳性率(5.15%对4.04%, $\chi^2=0.99$ , $P=0.320$ )和维生素B<sub>12</sub>缺乏率(3.83%对2.69%, $\chi^2=1.44$ , $P=0.230$ )差异均无统计学意义。多元线性回归结果显示IFAb阳性者HGB比IFAb阴性者平均低3.05 g/L,但是IFAb对RBC和MCV均无影响。而维生素B<sub>12</sub>是否缺乏与查体人群的HGB、RBC和MCV均无明显相关性。**结论** 查体人群中IFAb阳性率和维生素B<sub>12</sub>缺乏率均随着年龄的增长而增加,但维生素B<sub>12</sub>缺乏的发生晚于IFAb阳性的出现。IFAb阳性与否对HGB有显著影响,可以一定程度上弥补维生素B<sub>12</sub>检测的局限性。在中、老年人群中开展IFAb和维生素B<sub>12</sub>水平筛查是必要的。

**【关键词】** 内因子抗体; 维生素B<sub>12</sub>; 健康查体人群

**基金项目:**中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2016-12M-3-004)

**The investigation of the positive rate of intrinsic factor antibody and deficiency rate of vitamin B<sub>12</sub> in normal physical examination population** Gao Xuehui, Cui Quexuan, Zhang Qiangxing, Cheng Xinqi, Lu Jun, Qiu Ling, Han Bing\*. *Department of Hematology, Peking Union Medical College Hospital, CAMS & PUMC, Beijing 100730, China*

*Corresponding author: Han Bing, Email: hanbing\_li@sina.com*

**【Abstract】 Objective** To explore the positive rate of intrinsic factor antibody (IFAb) and level of vitamin B<sub>12</sub> (VitB<sub>12</sub>) in normal physical examination population and the possible relation between IFAb, VitB<sub>12</sub> and sex, age, number of RBC, HGB and MCV. **Methods** A total of 1 427 people who came to Peking Union Medical College Hospital (PUMCH) for physical examination were enrolled. There were 758 males with average age of (52.5±14.5) years-old and 669 females with average age of (50.3±14.3) year-old. Beckman DxI800 automatic biochemical-immune analyzer and corollary reagents were used to analyze the level of serum IFAb and VitB<sub>12</sub>. The results in different sex, age were documented and their correlation with the value of whole blood cell count was tested later on. **Results** Among the 1 427 normal subjects, 66 (4.63%) were positive for IFAb. The positive rate for IFAb in the population $\geq$ 40 years-old was higher than those <40 years-old (5.66% vs 1.48%,  $\chi^2=7.46$ ,  $P=0.006$ ). The deficiency rate of VitB<sub>12</sub> in the population <40 years-old, 40-59 years-old and  $\geq$ 60 years-old was 2.22%, 2.51% and 5.50%, respectively ( $\chi^2=8.55$ ,  $P=0.014$ ). There were no difference between people with different sex in the positive rate of IFAb (5.15% for males and 4.04% for females,  $\chi^2=0.99$ ,  $P=0.320$ ) or in the deficiency rate of VitB<sub>12</sub> (3.83% for males and 2.69% for females,  $\chi^2=1.44$ ,  $P=0.230$ ). The results of multiple linear regression showed that HGB level of IFAb positive subjects was 3.05 g/L lower on average than those of IFAb

negative, but IFAb had no effect on both RBC and MCV. There was no correlation between VitB<sub>12</sub> deficiency and HGB, RBC and MCV. **Conclusion** The positive rate of IFAb and deficiency rate of VitB<sub>12</sub> increase as age increases. But the presence of VitB<sub>12</sub> deficiency is later than the positive findings of IFAb. IFAb showed some effects on the level of HGB, which may compensate the limitations of VitB<sub>12</sub> detection to some extent. It is necessary to check the IFAb and level of VitB<sub>12</sub> in people with middle or old ages.

**【Key words】** Intrinsic factor antibody; Vitamin B<sub>12</sub>; Physical examination population

**Fund program:** CAMS, Innovation Fund for Medical Science (CIFMS) (2016-12M-3-004)

内因子(IF)由胃壁细胞分泌,维生素B<sub>12</sub>需要与其结合形成复合物后,才能与肠黏膜上皮细胞表面的受体结合而被吸收,并与血液中运钴胺蛋白结合转运至细胞内,参与核苷酸的合成。内因子抗体(IFAb)是针对IF的一种自身抗体,在血液、胃液及唾液中均可检出,它的存在使胃液中IF水平下降,维生素B<sub>12</sub>不能通过小肠黏膜吸收,最终导致体内维生素B<sub>12</sub>的缺乏,进而发生巨幼细胞性贫血<sup>[1-3]</sup>。维生素B<sub>12</sub>通过一系列重要的酶促反应参与体内的能量代谢,包括同型半胱氨酸转变为蛋氨酸、甲基丙二酸转变为琥珀酰辅酶A、5甲基四氢叶酸转变为四氢叶酸,而四氢叶酸为DNA合成和造血所必需的<sup>[4-6]</sup>。

恶性贫血是巨幼细胞性贫血最常见的原因,是60岁以上老年人的一种常见疾病,其最常见的原因因为维生素B<sub>12</sub>缺乏<sup>[7]</sup>。50%~70%的恶性贫血患者可以检测到IFAb<sup>[1,8]</sup>。因此,IFAb是诊断恶性贫血的一个重要指标<sup>[9-10]</sup>。目前,中国人群IFAb阳性率和维生素B<sub>12</sub>缺乏率尚未见报道。我们调查了北京协和医院健康查体人群中IFAb阳性率和血清维生素B<sub>12</sub>缺乏率,探讨其在不同性别、不同年龄人群中的分布及其与HGB、RBC、平均红细胞体积(MCV)的相关性。

### 对象与方法

1. 研究对象:以2015年5月至2017年6月在我院健康医学中心进行健康查体者共1 427人为研究对象,其中男758例,中位年龄52(20~91)岁,女669例,中位年龄50(22~89)岁。<40岁者266例,40~59岁者715例,≥60岁者380例。

2. 仪器与试剂:IFAb试剂盒、校准品、质控品及维生素B<sub>12</sub>试剂盒、校准品由Beckman Coulter商贸(中国)有限公司惠赠,维生素B<sub>12</sub>质控品购自美国Bio-rad公司。IFAb、维生素B<sub>12</sub>的测定方法均为化学发光免疫学方法,使用配套的Beckman DxI800全自动化学发光免疫分析仪进行测定,于测定标本前后分别测定室内质控以保证结果准确。全血细胞

计数使用日本Sysmex XE5000全自动血液分析仪及其配套试剂、校准品和质控品。参照试剂说明书标准,以IFAb≥1.2 Au/ml为阳性,维生素B<sub>12</sub>≤145 ng/L为缺乏。

3. 统计学处理:采用SPSS 16.0软件对数据进行统计分析。查体人群不同组间IFAb阳性率和维生素B<sub>12</sub>缺乏率以百分数表示,率的比较采用 $\chi^2$ 检验或Fisher确切概率法,多组间两两比较进行Bonferroni校正。HGB、RBC和MCV与性别、年龄、IFAb和维生素B<sub>12</sub>的相关性采用多元线性回归进行分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 正常查体人群IFAb阳性率在不同性别、不同年龄组的比较:1 427例正常查体人群中,共检出IFAb阳性者66例(4.63%),其中男39例,女27例;<40岁者4例,40~59岁者42例,≥60岁者20例。男女之间IFAb阳性率差异无统计学意义(5.15%对4.04%, $\chi^2 = 0.99, P = 0.320$ )。不同年龄组间IFAb的阳性率的差异有统计学意义(1.48%对5.55%对5.00%, $\chi^2 = 7.64, P = 0.020$ ):<40岁组的阳性率明显低于40~59岁和≥60岁组( $\chi^2$ 分别为7.70、5.78, $P$ 值分别为0.006、0.016),但后两组间IFAb的阳性率差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.155, P = 0.694$ ),将后两组合并后进行比较,≥40岁人群IFAb阳性率显著高于<40岁人群(5.66%对1.48%, $\chi^2 = 7.46, P = 0.006$ )。

2. 正常查体人群维生素B<sub>12</sub>缺乏率在不同性别、不同年龄组的比较:正常查体人群中,男女之间维生素B<sub>12</sub>缺乏率差异无统计学意义(3.83%对2.69%, $\chi^2 = 1.44, P = 0.230$ )。不同年龄组间维生素B<sub>12</sub>缺乏率的差异有统计学意义(2.22%对2.51%对5.50%, $\chi^2 = 8.55, P = 0.014$ )。其中<40岁组和40~59岁组间差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.069, P = 0.792$ ),因此将两组合并后进行比较,≥60岁人群维生素B<sub>12</sub>缺乏率显著高于<60岁人群(5.5%对2.5%, $P = 0.004$ )。

3. 正常查体人群HGB、RBC和MCV的影响因

素:HGB、RBC和MCV与性别、年龄、IFAb和维生素B<sub>12</sub>是否缺乏的相关性见表1。女性同男性相比,HGB、RBC和MCV平均分别低20.13 g/L、0.48×10<sup>12</sup>/L和2.14 fl。年龄每增加1岁,HGB和RBC分别下降0.12 g/L和0.007×10<sup>12</sup>/L,但MCV却增加0.08 fl。IFAb阳性对HGB结果有影响,IFAb阳性个体的HGB比阴性个体平均低3.05 g/L,但是对RBC和MCV均无影响。而维生素B<sub>12</sub>是否缺乏与HGB、RBC和MCV均无明显相关性。

## 讨 论

IFAb是诊断恶性贫血的一个重要指标<sup>[9-10]</sup>。IFAb一般针对IF的两个抗原表位,一个是251-265氨基酸序列的维生素B<sub>12</sub>结合位点(IFAb I),另一个是针对与回肠的内因子受体结合的位点(IFAb II)<sup>[11]</sup>。IFAb I可以阻止维生素B<sub>12</sub>与内因子的结合,IFAb II可以阻止IF-维生素B<sub>12</sub>复合体在回肠的吸收。因此,这两种IFAb均可以引起维生素B<sub>12</sub>缺乏。IFAb检测方法主要包括放射免疫分析和化学发光免疫分析两种,放射免疫分析方法为手工操作,且存在放射性污染,使用者逐渐减少;而化学发光方法为全自动方法,具有灵敏度高、重复性好、检测速度快等优势,成为IFAb的主要检测方法。本研究中,我们采用化学发光法进行检测,发现在健康查体人群中IFAb的阳性率为4.63%,目前还没有关于健康人群中IFAb阳性率的报道。

我们的研究提示,IFAb阳性率和维生素B<sub>12</sub>缺乏率在男女之间均没有明显的差异。但随着年龄的增长,IFAb阳性率和维生素B<sub>12</sub>缺乏率逐渐增加,其中IFAb阳性率在40岁以后开始增加,而维生素B<sub>12</sub>缺乏率在60岁以后才开始增加,两者并不同步。由于例数少,我们仅进行了三组分类,可能存在一定偏差,有待于积累更多数据,进行更为细化的分组,以得出更精确的结论。这可能主要是因为虽然40岁以后出现IFAb的机会增加,但此时还

没有完全影响胃肠道内的IF水平,需要一定的时间积累,才能进一步影响机体对维生素B<sub>12</sub>的吸收。当年龄增长至一定程度,IFAb在体内持续存在一定时间后,才真正影响维生素B<sub>12</sub>的水平,出现维生素B<sub>12</sub>缺乏。通常认为恶性贫血是两种自身免疫过程导致维生素B<sub>12</sub>的吸收不良:第一个过程是制造IF的胃腔壁细胞的损耗,第二个过程发生在自身抗体封闭了吸收维生素B<sub>12</sub>所需的IF上的结合位点。此种疾病可以在成年早期就开始并一直持续下去,直到产生与巨幼细胞性贫血相关联的维生素B<sub>12</sub>缺乏病症。因此会出现IFAb阳性和维生素B<sub>12</sub>缺乏不同步。在临床工作中,我们也发现,随着年龄增长,由IFAb产生而发生维生素B<sub>12</sub>缺乏的发生率逐渐增加。因此,我们建议对40岁以上人群,增加IFAb的常规检测,并在60岁以上人群中增加维生素B<sub>12</sub>的常规检测,以便及时发现恶性贫血的出现。

本研究我们进一步探讨了性别、年龄、IFAb和维生素B<sub>12</sub>对HGB、RBC和MCV的影响。其中女性同男性相比,HGB、RBC和MCV平均分别低20.13 g/L、0.48×10<sup>12</sup>/L和2.14 fl。这同育龄期女性有月经,造成铁的隐性缺失相关,与正常人群中女性参考区间低于男性是一致的<sup>[12]</sup>。我们发现,年龄每增加1岁,HGB和RBC分别下降0.12 g/L和0.007×10<sup>12</sup>/L,但平均红细胞体积却增加0.08 fl。造血干细胞衰老、营养性贫血、骨髓增生异常综合征发病率随年龄增加而增加,可能是HGB逐年下降的部分原因。随着年龄增加,尤其是女性绝经后,缺铁性贫血的发病率显著下降,MCV逐渐增大<sup>[12]</sup>;同时,老年人会出现衰老相关的髓性转化,也导致MCV增大。

我们的研究还显示,IFAb对HGB有影响,其中IFAb阳性个体的HGB比阴性个体低3.05 g/L,而有意思的是,维生素B<sub>12</sub>是否缺乏并未显示与HGB、RBC和MCV存在明显相关性。IFAb可能在某种程度上,比维生素B<sub>12</sub>水平更敏感地反应了此种营养性贫血的可能,提示IFAb检测在一定程度上可以弥补

表1 1427名正常查体人群血红蛋白、红细胞计数、平均红细胞体积与性别、年龄、内因子抗体和维生素B<sub>12</sub>是否缺乏的相关性

因素	血红蛋白(g/L)			红细胞计数(×10 <sup>12</sup> /L)			平均红细胞体积(fl)		
	回归系数	95%CI	P值	回归系数	95%CI	P值	回归系数	95%CI	P值
常数	179.41			5.76			88.72		
性别(男/女)	-20.13	-21.26~-19.00	<0.001	-0.48	-0.52~-0.44	<0.001	-2.14	-2.62~-1.66	<0.001
年龄	-0.12	-0.16~-0.08	<0.001	-0.007	-0.008~-0.006	<0.001	0.08	0.07~0.10	<0.001
内因子抗体(阴性/阳性)	-3.05	-5.73~-0.36	0.026	-0.06	-0.15~0.02	0.149	-0.71	-1.85~0.44	0.225
维生素B <sub>12</sub> 缺乏(否/是)	0.99	-2.18~4.15	0.541	0.08	-0.02~0.19	0.112	-0.71	-2.06~0.64	0.301

维生素B<sub>12</sub>检测的不足。我们发现有时临床表现非常典型的维生素B<sub>12</sub>缺乏性巨幼细胞性贫血维生素B<sub>12</sub>检测值并未低于正常,这一结果与文献[3, 13-15]一致。这可能缘于维生素B<sub>12</sub>检测的具体方法可能的局限性。而IFAb阳性者,经过随访或根据临床表现核实,大多最终诊断为恶性贫血。因此,对于IFAb阳性者,应反复核实其维生素B<sub>12</sub>水平,必要时根据临床表现经验性补充维生素B<sub>12</sub>;对临床上高度怀疑维生素B<sub>12</sub>缺乏引起的巨幼细胞性贫血,可以通过检测IFAb来补充。值得注意的是,维生素B<sub>12</sub>检测也可能与IFAb检测互相干扰。当IFAb阳性时,可能干扰维生素B<sub>12</sub>测定,使维生素B<sub>12</sub>假性升高<sup>[16]</sup>。反之,当维生素B<sub>12</sub>升高时,也可能干扰竞争性免疫学方法,造成IFAb假阳性,因此在检查IFAb之前,应避免补充维生素B<sub>12</sub>治疗<sup>[17]</sup>。当维生素B<sub>12</sub> > 1 000 ng/L时,会使维生素B<sub>12</sub>结合蛋白饱和<sup>[18]</sup>,从而导致游离维生素B<sub>12</sub>升高,并干扰IFAb的测定。本研究中我们的检测对象为健康查体者,无使用维生素B<sub>12</sub>史,我们在检测时,对维生素B<sub>12</sub> > 1 000 ng/L患者出现IFAb阳性时,也进行了核实,避免出现相应误差。

总之,本研究我们调查了我院健康查体人群中IFAb阳性率和维生素B<sub>12</sub>缺乏率,发现IFAb阳性率和维生素B<sub>12</sub>缺乏率均随着年龄的增长而增加,但维生素B<sub>12</sub>缺乏的发生晚于IFAb阳性的出现;IFAb对血红蛋白浓度有显著影响,可以一定程度上弥补维生素B<sub>12</sub>检测的局限性。开展前瞻性研究,探索IFAb阳性者后期发生维生素B<sub>12</sub>缺乏的情况将进一步明确IFAb检测的阳性意义。此外,在中、老年人人群中开展IFAb和维生素B<sub>12</sub>筛查也是非常必要的。

#### 参考文献

- [1] Toh BH, van Driel IR, Gleeson PA. Pernicious anemia [J]. N Engl J Med, 1997, 337 (20):1441- 1448. DOI: 10.1056/NEJM199711133372007.
- [2] Annibale B, Lahner E, Negrini R, et al. Lack of specific association between gastric autoimmunity hallmarks and clinical presentations of atrophic body gastritis [J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(34):5351-5357.
- [3] Carmel R. Current concepts in cobalamin deficiency [J]. Annu Rev Med, 2000, 51:357- 375. DOI: 10.1146/annurev.med.51.1.357.
- [4] Snow CF. Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency: a guide for the primary care physician [J]. Arch Intern Med, 1999, 159(12):1289-1298.
- [5] Klee GG. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B (12) and folate [J]. Clin Chem, 2000, 46(8 Pt 2):1277-1283.
- [6] Stabler SP, Allen RH. Vitamin B12 deficiency as a worldwide problem [J]. Annu Rev Nutr, 2004, 24:299-326. DOI: 10.1146/annurev.nutr.24.012003.132440.
- [7] Carmel R. Prevalence of undiagnosed pernicious anemia in the elderly [J]. Arch Intern Med, 1996, 156(10):1097-1100.
- [8] Wun CJC, Yu LHS, Sang KBC, et al. Pernicious anemia in Chinese: a study of 181 patients in a Hong Kong hospital [J]. Medicine (Baltimore), 2006, 85 (3):129-138. DOI: 10.1097/01.md.0000224710.47263.70.
- [9] Bizzaro N, Antico A. Diagnosis and classification of pernicious anemia [J]. Autoimmun Rev, 2014, 13 (4- 5):565- 568. DOI: 10.1016/j.autrev.2014.01.042.
- [10] Lahner E, Annibale B. Pernicious anemia: new insights from a gastroenterological point of view [J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(41):5121-5128.
- [11] Whittingham S, Mackay IR. Autoimmune gastritis: historical antecedents, outstanding discoveries, and unresolved problems [J]. Int Rev Immunol, 2005, 24 (1- 2):1- 29. DOI: 10.1080/08830180590884413.
- [12] Lee JO, Lee JH, Ahn S, et al. Prevalence and risk factors for iron deficiency anemia in the Korean population: results of the fifth Korea National Health and Nutrition Examination Survey [J]. J Korean Med Sci, 2014, 29(2): 224-229.
- [13] Wainwright P, Narayanan S, Cook P. False-normal vitamin B12 results in a patient with pernicious anaemia [J]. Clin Biochem, 2015, 48 (18):1366- 1367. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2015.08.009.
- [14] Vlasveld LT, van't WJW, Meeuwissen P, et al. High measured cobalamin (vitamin B12) concentration attributable to an analytical problem in testing serum from a patient with pernicious anemia [J]. Clin Chem, 2006, 52 (1):157-158. DOI: 10.1373/clinchem.2005.059055.
- [15] Scarpa E, Candioto L, Sartori R, et al. Undetected vitamin B12 deficiency due to false normal assay results [J]. Blood Transfus, 2013, 11(4):627-629. DOI: 10.2450/2012.0183-12.
- [16] Yang DT, Cook RJ. Spurious elevations of vitamin B12 with pernicious anemia [J]. N Engl J Med, 2012, 366(18):1742-1743. DOI: 10.1056/NEJMc1201655.
- [17] Muckerheide MM, Wolfman JA, Rohde DA, et al. Studies on a radioassay for intrinsic factor antibody: comparison of methods and false positive results due to elevated serum B12 levels [J]. Am J Clin Pathol, 1984, 82(3):300-304.
- [18] Hom BL, Ahluwalia BK. The vitamin B12 binding capacity of transcobalamin I and II of normal human serum [J]. Scand J Haematol, 1968, 5(1):64-74.

(收稿日期:2018-05-30)

(本文编辑:刘爽)