

自身抗体诊断应用研究进展*

王 健 综述, 李 山[△] 审校(广西医科大学第一附属医院检验科, 南宁 530021)

【关键词】 自身抗体; 临床诊断; 自身免疫性疾病

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.05.049 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)05-0684-03

自身抗体是一类针对自身组织、器官、细胞及细胞成分的抗体,通过参与机体免疫系统对自身组织或成分免疫应答反应从而导致机体损伤,诱发疾病。近年来,自身抗体诊断技术持续发展,一方面在自身免疫性疾病(AID)及其并发症的诊断、预后评估方面逐渐体现出重要的价值;另一方面还可作为 AID 风险预测指标,对健康人群或者有遗传家族史的高危人群进行预测评估。然而自身抗体检测在临床应用发展面临瓶颈,包括检测方法学、评价研究标准化、诊断策略及质量管理、检测结果解释等方面。本文就当前自身抗体诊断的应用现状及研究进展进行逐一综述。

1 自身抗体检测的临床应用

1.1 AID 的诊断及预后评估 自身抗体的产生与其相应的 AID 或疾病特征(病程、临床表现、疗效等)密切关联,在临床诊疗中常作为某些疾病特征性血清学标记,特别是 AID 早期及症状不典型自身免疫病。Manivelavan 等^[1]研究指出,抗环瓜氨酸肽抗体用于类风湿性关节炎早期诊断效果较类风湿因子更好。Townes 等^[2]发现抗 GAD65 抗体对潜伏期自身免疫性糖尿病的诊断非常有帮助。Sui 等^[3]提出联合应用抗双链 DNA 抗体、抗核小体抗体及抗组蛋白抗体可以辅助判断狼疮性肾病的发生。因此,在自身免疫病的早期常可检出相关的自身抗体,这对临床早期诊断与治疗非常有利。Porter 等^[4]研究表明,类风湿关节炎患者越早应用抗风湿药物治疗,疗效越显著。此外,某些自身抗体还可以预示器官危象发生,帮助早期识别某些严重并发症。Grader-Beck 等^[5]发现,系统性硬化症患者血清中的抗糖类抗体表达水平与肺动脉高压的发生有显著关联。而应用内皮素受体阻滞剂治疗早期肺动脉高压非常有效,因此对于这类患者应用自身抗体检测联合其他危险因素评估对及时制订治疗决策非常有帮助,有效的早期治疗能延迟、减轻甚至预防严重并发症的发生。大多数系统性自身免疫性疾病早期临床表现不典型,单凭症状、体征难以在疾病早期进行分类诊断^[6]。因此,高诊断特异性及高预测价值自身抗体的检测显得尤为重要。

1.2 AID 的风险预测指标 对于有遗传家族史的易感高危人群甚至一般健康人群,某些与疾病相关的特异性自身抗体可以预测疾病的发生、发展。通过回顾性研究或定期随访观察,大多数 AID 发病的数月甚至数年前就能检测出血清中相应的自身抗体,Arbuckle 等^[7]发现系统性红斑狼疮患者最早在发病 10 年前就可有血清抗核抗体表达。Nielen 等^[8]在回顾性研究中指出类风湿关节炎患者平均发病前 7.5 年就能检出血清抗环瓜氨酸抗体和类风湿因子等。对特定自身抗体阳性个体及早实施免疫干预治疗及靶向治疗,可使患者得到较好的治疗效果甚至预防疾病的发生,因此,自身免疫病的预测筛检也逐渐

体现应用价值。

1.3 原发性疾病的诊断与鉴别诊断 新型自身抗体的发现及其靶抗原的确定不仅可以提高现有 AID 的血清学诊断,还可把现存某些病因未明的原发性疾病归入自身免疫的范畴。Roggenbuck 等^[9]研究发现,克罗恩(Crohn's)病患者血清中存在抗胰腺抗体,其靶抗原主要为酶原颗粒膜糖蛋白 2(GP2)。对抗 GP2 自身抗体的检测可以显著提高这类炎性肠病的血清学诊断。近来发现的几种针对受体及膜通道蛋白的自身抗体,也使自身免疫性神经系统疾病的血清学诊断取得实质性进展。Roemer 等^[10]通过检测血清中的水通道蛋白(AQP)-4,可在早期对视神经脊髓炎和多发性硬化症作出鉴别诊断。另外有报道一些新发现的与自身免疫性脑炎相关的自身抗体,如抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体抗体等^[11]。因此,自身抗体在某些原发性疾病的诊断与鉴别诊断中逐渐发挥重要作用。

1.4 与肿瘤发生相关的自身抗体 机体出现细胞异变行为而导致肿瘤发生时,免疫系统能针对肿瘤相关抗原产生自身抗体。Imai 等^[12]发现在肝硬化转化为肝癌的过程中,能检测到一类新型的自身抗体。近年研究明确该抗体的靶抗原实为一种 64×10^3 的核蛋白,属于一类可变的剪切因子家族,其主要功能是抑制癌蛋白 v-Rel 的转化^[13]。值得注意的是,并不是所有肿瘤患者发现的自身抗体都与其癌变的发生有关。最低限度的判断准则应该包括两方面,一方面其靶抗原与肿瘤发生机制相关;另一方面与正常对照组相比,特异性自身抗体在该类肿瘤患者血清中的表达水平应有显著增高^[14]。

2 自身抗体诊断面临的问题

2.1 自身抗体检测方法学的局限性 近年来在自身抗体检测方面已出现许多新技术,如多通道免疫测定技术、蛋白质组学技术等,但由于其检测范围较小以及成本过高等原因,未能在临床实验室推广应用^[15]。目前较常用的检测技术仍为间接免疫荧光技术(IIF)、酶免疫分析技术(EIA)、免疫印迹技术等,其国内又以 IIF 为最主要的筛查技术。然而当前以 HEp-2 细胞为基质的 IIF 技术的自动化程度低,判读结果的人为主观性较强。有学者新提出的数字成像系统能稍降低这方面的缺陷^[16],但全面推广仍有待考证。IIF 作为自身免疫病筛查手段的另一个重要缺陷是其诊断特异性^[17],有研究表明大约有 20% 健康人群的血清用 IIF 筛查 AID 会得出抗核抗体致密细颗粒型荧光模型的假阳性结果,其中大部分与血清中的抗 DFS70 抗体有关^[18-19]。实际上在多种非自身免疫病甚至健康人群血清中都存在抗 DFS70 抗体,而 AID 如系统性红斑狼疮、类风湿关节炎等血清中却较少出现该抗体^[19-21]。此外, Mahler 等^[22]用 IIF 技术检测 345 例抗核糖体 P 蛋白抗体阳性血清时,仅得到不足 30% 的阳性率,提示 IIF 技术用于检测某些特定自

* 基金项目:广西壮族自治区卫生厅项目(桂卫 Z2013022)。

[△] 通讯作者, E-mail: ewangsir@aliyun.com。

身抗体的敏感性较差。以上研究表明目前的自身抗体检测技术迫切需要改进及更新,诸如芯片诊断或微珠阵列等多参数分析技术应用于自身抗体检测逐渐成为研究的热点方向。

2.2 自身抗体诊断评价研究标准化 诊断性能主要通过敏感性、特异性、阳性与阴性预测值、阳性与阴性似然比等诊断变量来决定,目前对于自身抗体的诊断性能仍缺乏统一的标准化的评价研究体系^[23],由此导致不同的评价研究得到的结果可能会有所不同。例如,在一个前瞻性研究设计中,如果对照组存在诊断未明的患者甚至可能会包括非常早期的类风湿关节炎患者,结果会导致检测抗环瓜氨酸肽抗体用于诊断类风湿关节炎的特异性降低^[24]。因此,研究设计必须标准化以使结果有可比性,包括研究类型(前瞻性或回顾性),疾病组的例数及组成(种族、年龄、性别、疾病的分级与分期、病程、治疗措施等),对照组的例数及组成(健康对照者、高危人群等),这是比较不同方法学有效性的一个先决条件。有学者认为,建立自身免疫病的联合生物库及数据库是一个好办法,还可用于收集罕见 AID 患者血清标本^[25]。

2.3 诊断策略、质量管理及自身抗体诊断的标准化 目前大多数 AID 的诊断方法仍然是一个循序渐进的过程,主要步骤基于 IIF、EIA、免疫印迹等方法。有研究表明,新型的自动化诊断策略需要把这些需求和技术集成到统一平台上,并且还应包括质量控制体系和标准化解决方案^[26],而诊断策略的最后一步应当获得相应自身抗体的概述,以便得到相关诊断信息^[24]。通过以上改进措施,自身免疫病的诊断策略实施得以标准化,疾病的早期诊断率及确诊率可以得到提高。

2.4 自身抗体检测结果的正确解释 新的自身抗体标记物的出现、自身抗体疾病相关性分析及方法学因素使得对自身抗体检测结果作出正确的解释越来越困难。Tonutti 等^[27]研究认为,除了报告有显著疾病相关性的阳性结果外,在下述几种情况时应在报告结果上加入说明性备注:(1)检测到非该疾病相关性的,但却有较高临床意义或预测价值的自身抗体,如抗线粒体抗体。(2)不同方法学间结果不一致,如抗双链 DNA 抗体用 EIA 检测为阳性而 IIF 检测却为阴性时。(3)有必要进一步检查时,如抗核抗体 IIF 结果显示为高滴度核均质型时,应检测抗双链 DNA 抗体。另一方面,方法学因素所致的检测特异性的缺陷也会误导临床医生的判断,引起患者不必要的担忧及焦虑,甚至导致不当的临床治疗措施^[28]。因此,如何正确的对自身抗体检测结果进行合理的解释,是将来临床检验工作中的重点和难点。

3 结 论

自身抗体检测不仅对 AID 的诊断尤其是早期诊断具有重要的意义,还可用于预测自身免疫病的发生、监控病程、评估疗效、判断预后及研究某些原发性疾病及肿瘤的发生、发展等方面。目前自身抗体实验室检测技术与临床实践应用的要求逐渐显现差距,其原因主要有:(1)大多数自身抗体检测目前尚未有合适的“金标准”;(2)自身免疫诊断缺乏标准化流程;(3)检测结果解释缺乏合理化与标准化;(4)缺乏标准化评价研究系统及质量管理等。因此自身抗体检测在自动化、质量评价、标准化等方面仍有一定的缺陷。为了提高自身抗体诊断性能,必须进一步改进检测手段,提高自动化及质量控制标准化程度,研发敏感性和特异性均能满足临床需求的检测方法,并建立标准化的评价体系,包括针对相应疾病设计的多参数分析诊断流程,同时还需制订合理的自身抗体检测结果解读标准等。自身抗体检测的优化有望进一步提高其在自身免疫性疾病中的诊

断价值,推广其在临床的实践应用。

参考文献

- [1] Manivelavan D, C K V. Anti-cyclic citrullinated Peptide antibody; an early diagnostic and prognostic biomarker of rheumatoid arthritis[J]. J Clin Diagn Res, 2012, 6(8): 1393-1396.
- [2] Towns R, Pietropaolo M. GAD65 autoantibodies and its role as biomarker of Type 1 diabetes and Latent Autoimmune Diabetes in Adults (LADA) [J]. Drugs Future, 2011, 36(11): 847-851.
- [3] Sui M, Sui M, Lin Q, et al. Simultaneous positivity for anti-DNA, anti-nucleosome and anti-histone antibodies is a marker for more severe lupus nephritis[J]. J Clin Immunol, 2013, 33(2): 378-387.
- [4] Porter D. Intensive management of early rheumatoid arthritis; the TICORA and TEAR studies [J]. Clin Exp Rheumatol, 2012, 30(4): S32-S36.
- [5] Grader-Beck T, Boin F, von Gunten S, et al. Antibodies recognising sulfated carbohydrates are prevalent in systemic sclerosis and associated with pulmonary vascular disease[J]. Ann Rheum Dis, 2011, 70(12): 2218-2224.
- [6] Gj T, Pers JO, Cañas CA, et al. Are autoimmune diseases predictable[J]. Autoimmun Rev, 2012, 11(4): 259-266.
- [7] Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, et al. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus [J]. N Engl J Med, 2003, 349(16): 1526-1533.
- [8] Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis; a study of serial measurements in blood donors [J]. Arthritis Rheum, 2004, 50(2): 380-386.
- [9] Roggenbuck D, Hausdorf G, Martinez-Gamboa L, et al. Identification of GP2, the major zymogen granule membrane glycoprotein, as the autoantigen of pancreatic antibodies in Crohn's disease [J]. Gut, 2009, 58(12): 1620-1628.
- [10] Roemer SF, Parisi JE, Lennon VA, et al. Pattern-specific loss of aquaporin-4 immunoreactivity distinguishes neuromyelitis optica from multiple sclerosis [J]. Brain, 2007, 130(5): 1194-1205.
- [11] Plebani M, Pittoni M, Celadin M, et al. Recent advances in diagnostic technologies for autoimmune diseases [J]. Autoimmun Rev, 2009, 8(3): 238-243.
- [12] Imai H, Chan EK, Kiyosawa K, et al. Novel nuclear autoantigen with splicing factor motifs identified with antibody from hepatocellular carcinoma [J]. J Clin Invest, 1993, 92(5): 2419-2426.
- [13] Dutta J, Fan G, Gélinas C. CAPERalpha is a novel Rel-TAD-interacting factor that inhibits lymphocyte transformation by the potent Rel/NF-kappaB oncoprotein v-Rel [J]. J Virol, 2008, 82(21): 10792-10802.
- [14] Tan EM, Zhang J. Autoantibodies to tumor-associated antigens: reporters from the immune system [J]. Immunol

Rev, 2008, 222(222): 328-340.

[15] Fritzler MJ, Fritzler ML. The emergence of mul-tiplexed technologies as diagnostic platforms in systemic autoim-mune diseases[J]. Current Medicinal Chemistry, 2006, 13(21): 2503-2512.

[16] Kivity S, Gilburd B, Agmon-Levin N. A novel automated indirect immunofluorescence autoantibody eval-uation[J]. Clinical Rheumatology, 2012, 31(3): 503-509.

[17] Fritzler MJ. The antinuclear antibody test: last or lasting gasp[J]. Arthritis& Rheumatism, 2011, 63(1): 19-22.

[18] Watanabe A, Kodera M, Sugiura K. Anti-DFS70 antibod-ies in 597 healthy hospital workers[J]. Arthritis Rheuma-tism, 2004, 50(3): 892-900.

[19] Mahler M, Parker T, Peebles CL, et al. Anti-DFS70/LEDGF antibodies are more prevalent in healthy individuals com-pared to patients with systemic autoimmune rheumatic diseases[J]. J Rheumatol, 2012, 39(11): 2104-2110.

[20] Ganapathy V, Casiano CA. Autoimmunity to the nuclear autoantigen DFS70 (LEDGF); what exactly are the au-toantibodies trying to tell us[J]. Arthritis Rheum, 2004, 50(3): 684-688.

[21] Daniels T, Zhang J, Gutierrez I, et al. Antinuclear au-toantibodies in prostate Cancer; immunity to LEDGF/p75, a survival protein highly expressed in prostate tumors and cleaved during apoptosis[J]. Prostate, 2005, 62(1): 14-26.

[22] Mahler M, Jennifer TN, Schulte-Pelkum J, et al. Limited

reliability of the indirectimmunofluorescence technique for the detection of anti-Rib-P antibodies [J]. Arthritis Research& Therapy, 2008, 10(6): 131-138.

[23] Self SE. Autoantibody testing for autoimmune disease[J]. Clin Chest Med, 2010, 31(3): 415-422.

[24] Conrad K, Roggenbuck D, Reinhold D, et al. Profiling of rheumatoid arthritis associated autoantibodies[J]. Auto-immun Rev, 2010, 9(6): 431-435.

[25] Dewitt EM, Lin L, Glick HA, et al. Pattern and predictors of the initiation of biologic agents for the treatment of rheumatoid arthritis in the United States; an analysis u-sing a large observational data bank[J]. Clin Ther, 2009, 31(8): 1871-1880.

[26] Grossmann K, Roggenbuck D, Schröder C, et al. Multi-plex assessment of non-organ-specific autoantibodies with a novel microbead-based immunoassay[J]. Cytometry A, 2011, 79(2): 118-125.

[27] Tonutti E, Visentini D, Bizzaro N. Interpretative comments on autoantibody tests[J]. Autoimmun Rev, 2007, 6(6): 341-346.

[28] Narain S, Richards HB, Satoh M. Diagnostic accuracy for lupus and other systemic autoimmune diseases in the community setting [J]. Archives of Internal Medicine, 2004, 164(22): 2435-2441.

(收稿日期: 2013-08-16 修回日期: 2013-10-25)

(上接第 683 页)

[13] Marques AR, Espadinha C, Catarino AL, et al. Expression of PAX8-PPAR gamma 1 rearrangements in both follicu-lar thyroid carcinomas and adenomas[J]. J Clin Endocri-nol Metab, 2002, 87(8): 3947-3952.

[14] Cho YS, Lee HK, Ahn IM, et al. Sonographically guided ethanol sclerotherapy for benign thyroid cysts; results in 22 patients[J]. AJR Am J Roentgenol, 2000, 174(1): 213-216.

[15] Dassing H, Bennedbaek FN, Hegedüs L. Effect of ultra-sound-guided interstitial laser photocoagulation on benign solitary solid cold thyroid nodules; one versus three treat-ments[J]. Thyroid, 2006, 16(8): 763-768.

[16] 郭文斌, 孔辉, 高伟, 等. 超声引导下射频消融治疗甲状腺良性结节[J]. 中国普通外科杂志, 2012, 21(5): 634-636.

[17] Lim HK, Lee JH, Ha EJ, et al. Radiofrequency ablation of benign non-functioning thyroid nodules: 4-year follow-up results for 111 patients[J]. Eur Radiol, 2013, 23(4): 1044-1049.

[18] Kim YS, Rhim H, Tae K, et al. Radiofrequency ablation of benign cold thyroid nodules; initial clinical experience[J]. Thyroid, 2006, 16(4): 361-367.

[19] Feng B, Liang P, Cheng Z, et al. Ultrasound-guided percu-taneous microwave ablation of benign thyroid nodules; ex-perimental and clinical studies [J]. Eur J Endocrinol, 2012, 166(6): 1031-1037.

[20] Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, et al. Management guideLines for patients withthyroid nodules and differen-tiated thyroid Cancer[J]. Thyroid, 2006, 16(2): 109-142.

[21] 施秉银. 甲状腺结节与肿瘤的规范化诊断与治疗[J]. 国国际内分泌代谢杂志, 2008, 28(4): 217-219.

(收稿日期: 2013-08-29 修回日期: 2013-10-29)

本刊启事

因作者本人失误, 本刊 2014 年 2 月出版的第 11 卷第 4 期 522 页刊发的论文《外周循环 CK18 及 A-FABP 联合诊断 NAFLD 的研究现状》第一作者姓名误为夏谨, 应更正为夏瑾, 特此说明。

《检验医学与临床》编辑部