

自身免疫性疾病抗体谱及其实验室检测进展

汪付兵 综述, 涂建成[△] 审校

(武汉大学中南医院检验科/基因诊断中心, 湖北武汉 430071)

关键词: 自身免疫性疾病; 实验室技术和方法; 抗体

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.07.005

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)07-0776-02

自身抗体是诊断自身免疫病的重要依据, 每种自身免疫疾病都伴有特征性的自身抗体谱^[1-2], 是早期诊断必不可少的生物学指标。患者血液中存在高效自身抗体是自身免疫性疾病的特点之一, 也是临床确诊自身免疫性疾病的重要依据。某些自身抗体因对疾病的诊断具有高度特异性, 已成为诊断相应疾病的金标准^[1,3]。

1 临床常见自身免疫性疾病自身抗体谱

1.1 自身免疫性肝病及其自身抗体谱^[4-8] 自身免疫性肝病是由自身免疫反应引起的、不明原因的肝脏疾病, 主要包括自身免疫性肝炎、原发性胆汁性肝硬化、原发硬化性胆管炎以及其重叠综合征。在这几类肝脏疾病中, 自身抗体的检测在临床诊断中起重要作用。抗核抗体是自身免疫性肝炎最常见的自身抗体, 主要出现在 I 型 AIH 中并且常与抗平滑肌抗体同时出现。ANA 对 AIH 不具有诊断的特异性, 可见于多种结缔组织疾病和其他自身免疫性疾病。若 ANA 和 ASMA 同时出现, 则高度提示 I 型 AIH。抗肝肾微粒体抗体和抗肝溶质抗原 I 型抗体为 II 型 AIH 的特异性标志。抗可溶性肝抗原/肝胰抗原抗体是 III 型自身免疫性肝炎最特异性的指标。高滴度的抗线粒体抗体 M2 是原发性胆汁性肝硬化的标志。原发性硬化性胆管炎最常见的自身抗体为核周型抗中性粒细胞胞质抗体。

1.2 血管炎及其自身抗体谱^[9-11] 抗中性粒细胞胞质抗体 (ANCA) 是一种以中性粒细胞和单核细胞胞浆成分为靶抗原的自身抗体, 对系统性血管炎、炎性肠病、结缔组织病等多种疾病的诊断与鉴别诊断具有重要意义。该项目以间接免疫荧光为检测方法, 可分出两种不同的荧光模型: (1) 抗中性粒细胞胞浆抗体其主要靶抗原为蛋白酶 3; (2) 抗中性粒细胞核周抗体其常见靶抗原为髓过氧化物酶。该检测方法可初步判断 ANCA 的靶抗原。

1.3 类风湿性关节炎 RA 及其自身抗体谱^[12-15] 类风湿因子 (RF)、抗角质蛋白抗体 (AKA)、抗 Sa 抗体、抗核周因子 (APF)、抗 RA33 抗体、抗 CCP 抗体、抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体 (anti-MCV)。抗 CCP 抗体的检测对类风湿性关节炎 (RA) 的诊断有较高的特异性, 并可用于 RA 的早期诊断。目前认为抗 CCP 抗体对 RA 诊断敏感性为 50%~78%, 特异性为 96%, 早期患者阳性率可达 80%。抗 CCP 抗体阳性 RA 患者较抗 CCP 抗体阴性 RA 患者通常出现更为严重的关节骨质损害^[7]。抗 CCP 抗体常与 RF (类风湿因子) 呈正相关。建议临床联合 RF、CCP 抗体进行检测, 以保证 RA 的正确诊断。

1.4 自身免疫性糖尿病及其自身抗体谱^[16-18] 抗胰岛细胞

抗体 (ICA), 胰岛素自身抗体 (IAA), 谷氨酸脱羧酶自身抗体 (GAD), 酪氨酸磷酸化酶抗体 (IA2)。血清中 ICA 阳性说明有针对胰岛细胞的自身免疫反应的存在, 其结果可以造成胰腺 β 细胞的自身免疫损害而诱发糖尿病, 而且多为胰岛素依赖型糖尿病 (IDDM), 能作糖尿病高危指标。测定血清中抗胰岛素抗体的含量, 用于监测糖尿病的疗效。抗 GAD 是 1 型糖尿病自然病程中 β 细胞功能损伤一个指标, 对确定糖尿病分型, 指导治疗具有一定意义。IA2-Ab 是 GAD-Ab 后发现的又一重要的胰岛细胞自身抗原, 是与胰岛结合分泌相关的抗体, 是胰岛免疫早期成分, 能反应重要的 β 细胞损坏而导致的早期发病, 作用比 GAD-Ab 更具有特异性。

1.5 胃肠疾病自身抗体谱^[19-21] 体外定性检测人血清中的麦胶蛋白抗体、抗组织型谷氨酰胺转移酶抗体、抗酿酒酵母抗体、抗壁细胞抗体、抗内因子抗体, 辅助诊断麸质过敏症 (乳糜泻)、炎性肠病、自身免疫性胃炎、恶性贫血等消化系统疾病。麦胶蛋白 IgA、IgG 抗体和抗组织转谷氨酰胺酶 IgA 抗体, 对乳糜泻有较高的确诊价值。血清阳性患者, 可避免小肠黏膜活检。对于患有选择性 IgA 缺乏症的乳糜泻患者, 须检测血清总 IgA 水平及 IgG 抗体。抗酿酒酵母抗体是 Crohn's 病和慢性炎症性肠功能紊乱的标志。在 Crohn's 病中具有高度特异性 (97%) 和高阳性预期值 (96%), 尤其是在与抗中性粒细胞抗体阴性结果联合评价时。抗壁细胞抗体和抗内因子抗体出现于 A 型慢性萎缩性胃炎、恶性贫血、维生素 B₁₂ 缺乏性贫血、桥本甲状腺炎、I 型糖尿病。

1.6 抗磷脂抗体综合征 (APS) 自身抗体谱^[22] APS 是由抗磷脂抗体 (aPL) 介导或与之密切相关的临床综合征, 临床主要表现为反复动静脉血栓、病态妊娠和血小板减少等症状。这些症状可单一出现或多个共同存在。实验室诊断 APS 的自身抗体: 抗心磷脂抗体, 抗 β_2 -糖蛋白 I (aB2GP1) IgG 和 IgM, 狼疮抗凝物 (LAC)。

2 自身抗体的实验室检测及进展

自身抗体实验室常规检测方法主要有间接免疫荧光法、膜条免疫印迹法及酶联免疫吸附法。间接免疫荧光法一直是最常用的自身抗体检测方法, ANA 筛选的经典试验, 也是鉴定新的自身抗体的基本方法。膜条免疫印迹法是目前测定 ENA 抗体的主要方法, 硝酸纤维素膜上平行包被多种纯化、鉴定的抗原, 临床操作简便。酶联免疫吸附法是较为灵敏和客观的检测自身抗体的方法, 可对自身抗体的水平进行定量测定。在现有的技术条件下, 实验室检测自身抗体的模式是间接免疫荧光法筛选, 膜条免疫印迹法和酶联免疫吸附法进行确认。

作者简介: 汪付兵, 男, 主管技师, 主要从事临床免疫检验技术研究。

[△] 通讯作者, E-mail: jian_1999@yahoo.com.

芯片技术分为微阵列和微流控两大类。以微阵列为基础的免疫芯片技术是种高通量、微型化和自动化的蛋白质分析方法,其原理类似于 ELISA 的实验模式,主要是基于抗原与抗体特异性结合反应来设计的。微流控芯片是采用微加工方法,在平方厘米级大小的芯片刻蚀出扁平的通道和其他功能单元,通过不同的网络通道、反应器、检测单元等的设计和布局,实现样品的进样、分离、反应、检测的微型实验装置。继免疫微阵列芯片之后,微流控芯片免疫检测的研究近年来备受关注,与前者相比,微流控免疫芯片更具有发展潜力。它可以通过微通道实现抗体或试剂的顺序引入,并可将样品的前处理和分离过程都集成到芯片上来完成,特别适用于血液及其他复杂样品中痕量物质的检测。基于纳米材料的新型标记成像技术及新的生物传感技术有着广泛的应用前景。随着微流体技术、纳米技术的发展,自身抗体检测系统的微型化已成为发展的趋势,将进一步推动自身免疫性疾病自身抗体谱实验诊断技术发展^[23-24]。

3 自身免疫性疾病实验室检测新进展

研究抗原特异性 T 淋巴细胞,是阐明发病机制和进行有效诊疗的关键。四聚体技术使抗原特异性 T 淋巴细胞的检测技术有了新的发展^[25]。荧光标记为基础的四聚体分析技术是基于 MHC/抗原肽复合物与 T 细胞表面受体(TCR)相互作用的原理而设计的。MHC-抗原肽四聚体是借助亲和素-生物素结合的原理,在体外将 MHC 分子及其所提呈的抗原肽组装成的 MHC/抗原肽四聚复合物,作为 TCR 结合的配体,用于检测和分离特异性 T 细胞。虽然 MHC-肽四聚体与 TCR 的结合与细胞的激活状态无关,但可用来检测自身反应性 T 细胞的真实比例,判断自身反应性 T 细胞在何时何处与抗原相遇。这有助于阐明自身免疫性疾病的发病机制,为实验室诊断自身免疫性疾病开拓了新的思路^[1-2]。

参考文献

- [1] 仲人前,耿红莲. 自身免疫性疾病实验室诊断进展[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(8): 867-869.
- [2] Malaguarnera M, Cristaldi E, Romano G, et al. Autoimmunity in the elderly; Implications for cancer[J]. J Cancer Res Ther, 2012, 8(4): 520-527.
- [3] 仲人前. 自身免疫性疾病研究中的挑战和机遇[J]. 中华检验医学杂志, 2004, 27(6): 337-339.
- [4] 闫惠平. 自身免疫性肝病的自身抗体检测及报告规范[J]. 临床肝胆病杂志, 2011, 27(6): 595-597.
- [5] Selmi C, Cocchi CA, Zuin M, et al. The chemical pathway to primary biliary cirrhosis[J]. Clin Rev Allerg Immunol, 2009, 36(1): 23-29.
- [6] 闫惠平, 庄辉, 刘燕敏, 等. 原发性胆汁性肝硬化患者的免疫学特点分析[J]. 中华肝病杂志, 2005, 13(1): 12-16.
- [7] Manns MP, Czaja A J, Gorham JD, et al. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis[J]. Hepatology, 2010, 51(6): 2193-2213.
- [8] Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, et al. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis[J]. Hepatology, 2010, 51(6): 2193-2213.
- [9] Kallenberg CG. Pathogenesis of ANCA-associated vasculitis, an update[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2011, 41(2): 224-231.
- [10] Ciavatta DJ, Yang J, Preston GA, et al. Epigenetic basis for aberrant upregulation of autoantigen genes in humans with ANCA vasculitis[J]. J Clin Invest, 2010, 120(9): 3209-3219.
- [11] Falk RJ, Gross WL, Guillevin L, et al. Granulomatosis with polyangiitis (Wegener's): an alternative name for Wegener's granulomatosis[J]. Arthritis Rheum, 2011, 63(4): 863-864.
- [12] Keystone EC, Smolen J. Developing an effective treatment algorithm for rheumatoid arthritis[J]. Rheumatology (Oxford), 2012, 51(Suppl 5): v48-54.
- [13] Cader MZ, Filer AD, Buckley CD, et al. The relationship between the presence of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and clinical phenotype in very early rheumatoid arthritis[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2010, 11(1): 187.
- [14] Gilliam BE, Moore TL. The role of anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) antibodies in early detection of rheumatoid arthritis: an overview of the INOVA Diagnostics, Inc. QUANTA Lite CCP assays[J]. Expert Opin Med Diagn, 2012, 6(4): 359-369.
- [15] Jayasundara KS, Keystone EC, Parker JL. Risk of failure of a clinical drug trial in patients with moderate to severe rheumatoid arthritis[J]. J Rheumatol, 2012, 39(11): 2066-2070.
- [16] Pal A, Beh BM, Andrew J, et al. Evaluation of serum 1,5-anhydroglucitol levels as a clinical test to differentiate subtypes of diabetes[J]. Diabetes Care, 2010, 33(2): 252-257.
- [17] Lundgren VM, Isomaa B, Lyssenko V, et al. GADA antibody positivity predicts type 2 diabetes in an adult population[J]. Diabetes, 2010, 59(2): 416-422.
- [18] Murao S, Kondo S, Ohashi J, et al. Anti-thyroid peroxidase antibody, IA-2 antibody, and fasting C-peptide levels predict beta cell failure in patients with latent autoimmune diabetes in adults (LADA)—a 5-year follow-up of the Ehime study[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2008, 80(1): 114-121.
- [19] 王为, 周国华. 血清学标志物在炎症性肠病中的研究进展[J]. 临床消化病杂志, 2011, 23(5): 314.
- [20] Schoepfer AM, Trummler M, Seeholzer P, et al. Discriminating IBD from IBS; comparison of the test performance of fecal markers, blood leukocytes, CRP, and IBD antibodies[J]. Inflamm Bowel Dis, 2008, 14(1): 32-39.
- [21] Sutton CL, Yang H, Li Z, et al. Familial expression of anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies in affected and unaffected relatives of patients with Crohn's disease[J]. Gut, 2000, 46(1): 58-63.
- [22] Fishman P, Falach-Vaknine E, Zigelman R, et al. Prevention of fetal loss in experimental antiphospholipid syndrome by in vivo administration of recombinant interleukin-3[J]. J Clin Invest, 1993, 91(4): 1834-1837.
- [23] 李海芳, 张倩云, 林金明. 近期微流控芯片疾病诊断技术的研究进展[J]. 色谱, 2011, 29(4): 284-292.
- [24] 王英泽, 黄奔, 吕娟, 等. 纳米技术在生物医学领域的研究现状[J]. 生物物理学报, 2009, 25(3): 168-173.
- [25] Aslam A, Chan H, Warrell DA, et al. Tracking Antigen-Specific T-Cells during Clinical Tolerance Induction in Humans[J]. PLoS ONE, 2010, 5(6): e11028.