

# 自身抗体检测进入定量检测时代

仲人前 杨再兴

**【摘要】** 自身抗体是用于辅助诊断自身免疫性疾病(AID)的重要实验室指标,其检测方法已不同程度实现了定量或半定量。随着检测技术的发展,高通量定量检测技术已成为自身抗体检测的重要手段和发展趋势。与定性检测相比,定量检测某些自身抗体不仅可以更好地辅助诊断 AID,而且可以更有效地反映病情、预测疾病的发生和预后、监测治疗效果。因此,尽管自身抗体定量检测仍存在诸多挑战,但毫无疑问自身抗体已进入定量检测时代。(中华检验医学杂志,2014,37: 561-563)

**【关键词】** 自身抗体; 自身免疫疾病

**New era in autoantibodies detection: quantitation** Zhong Renqian, Yang Zaixing. Department of Laboratory Diagnostics, Changhai Hospital of Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200003, China

Corresponding author: Zhong Renqian, Email: 13901628473@163.com

**【Abstracts】** Autoantibodies are useful laboratory parameters for diagnosis of autoimmune diseases (AID). Methods for the detection of autoantibodies have achieved quantitative or semi-quantitative to some extent. Furthermore, with the development of detection technology, high-throughout and quantitative technology has been the trend in autoantibody measurement. Compared with qualitative results, the quantitative ones may provide more values for diagnosis, prediction, prognosis and therapeutic monitoring for AID. Therefore, although quantitative technology of autoantibodies is still faced a number of challenges, the detection for autoantibodies has come into the era of quantitation. (Chin J Lab Med, 2014, 37: 561-563)

**【Key words】** Autoantibodies; Autoimmune diseases

自身抗体是机体 B 淋巴细胞成熟分化为浆细胞后产生的针对自身成分的抗体总称,高效价自身抗体的产生是绝大多数自身免疫性疾病(autoimmune diseases, AID)的特征之一。自身抗体对于 AID 的诊断、病情判断、疗效观察具有重要作用,多种自身抗体已被纳入 AID 诊断指南中,如抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体和类风湿因子(RF)已纳入类风湿关节炎(RA)诊断指南<sup>[1]</sup>;抗双链 DNA(dsDNA)抗体、抗 Smith 抗体和抗核抗体(ANA)已纳入系统性红斑狼疮(SLE)诊断指南<sup>[2]</sup>;抗线粒体抗体(AMA)已纳入原发性胆汁性肝硬化(PBC)诊断指南<sup>[3]</sup>;抗 SSA、SSB 抗体已纳入干燥综合征(SS)诊断指南<sup>[4]</sup>;抗着丝点抗体和抗 SCL-70 抗体已纳入硬皮病(SSc)诊断指南<sup>[5]</sup>等。

自身抗体检测方法很多,包括间接免疫荧光法(IIF)、速率散射比浊法、放免法、免疫印迹、酶联免疫吸附试验(ELISA)、电化学发光法等。随着自身抗体的应用越来越广泛,对于其检测速度和质量控制的要求也越来越严格,鉴于方法学的显著优势,自动化取代手工,定量检测取代定性检测已成为自身抗体临床检测趋势和未来发展的必然。

## 一、自身抗体的临床检测已逐渐从定性转为定量

自 1948 年 Sherer 等<sup>[6]</sup>发现狼疮细胞以来,自身抗体研究取得了飞速发展,大量与 AID 密切相关的自身抗体被陆续发现,多种免疫学技术也应运而生,并不断改进和发展。20 世纪 50 年代,发明了 IIF,最初的检测基质采用组织切片,后逐渐发展为脱落细胞、鸡红细胞和 Hela 细胞。至 20 世纪 70 年代,引入了人喉癌上皮细胞(Hep-2)作为检测基质,与大鼠肝片联合应用,大大提高了检测灵敏度。目前,这种方法已由最初定性检测发展为可进行滴度测定的半定量检测,但仍无法实现特异性抗体鉴定。随着自身抗体靶抗原鉴定、提

取和重组表达技术的飞速发展,大量特异性自身抗体检测方法得以建立和发展,如免疫印迹法、ELISA、免疫比浊法、电化学发光法等。目前,国外自身抗体检测绝大多数已实现定量检测,如抗磷脂抗体、抗线粒体 M2 抗体、抗 dsDNA 抗体、RF、抗 CCP 抗体、抗糖尿病相关抗体、抗 ENA 抗体等主要采用 ELSIA 法进行检测,通常以国际单位(IU)/毫升(ml)或升(L)作为检测单位;抗甲状腺球蛋白(TG)抗体、抗甲状腺过氧化物酶(TPO)抗体和抗促甲状腺激素释放激素受体抗体(TRAb)等主要采用电化学发光法进行检测,其检测单位也是 IU/L 或 IU/ml,该方法敏感性高,线性范围宽,耗时短,操作简单,已成为自身抗体定量检测的一种趋势。但是,由于收费偏低等经济原因,国内实验室检测自身抗体大部分应用定性方法,如免疫斑点法、免疫印迹法和金标法等,这些方法存在准确性差,易出现假阳性和假阴性结果,不能准确反映自身抗体量值等问题。随着与国际的接轨,这些定性检测正逐步或即将被定量检测所取代。自动化和高通量检测技术的发展和日益成熟给自身抗体定量检测带来了新的契机,国外已建立和评价了多种能够自动化、高通量、定量检测自身抗体的最新技术,如自身抗原微阵列技术、激光微磁珠阵列技术、微流控芯片技术、纳米条码颗粒技术等<sup>[7-10]</sup>。当然,这些新技术或多或少存在稳定性不强、准确性不高、重复性不好等问题,离临床应用还有一段距离,需要不断改进和提高。

## 二、自身抗体定量检测的重要意义

与定性检测相比,定量检测自身抗体更准确,更易自动化,而且更加反映与疾病的相关性,更有效地监测病情和疗效,预测疾病的发生和预后。应用自身抗体诊断 AID 时,不能简单通过定性结果来做出诊断,因为健康人群也会产生自身抗体<sup>[11]</sup>,如果不进行细分,只是笼统地判断为阳性或阴性,势必造成假阳性或假阴性的错误诊断。定量检测,制定最佳临界值(cut-off),或者半定量检测,制定最佳稀释度,则会较好解决这类问题,提高自身抗体对 AID 的诊断准确性。一个由国际专家组提出的最新自身抗体检测和应用评价推荐中指出,以 HEp-2(或 2 000 个)细胞为基质,应用 IIF 检测 ANA 时,一般成人以 1:160 为正常范围上限,但不同国家应建立当地的参考范围,正常范围上限应该包括 95% 健康人群的参考区间,同时,在临床检测中应该报出最高稀释度<sup>[12]</sup>。可见,定量(至少半定量)的自身抗体检测结果已成为临床所需和发展趋势。一些自身抗体(如抗 dsDNA 抗体、抗核小体抗体等<sup>[13-15]</sup>)浓度的变化可以反映病情和组织损伤的变化或药物疗效情况,而对这些自身抗体浓度变化的监测只能依靠定量检测,定性检测则无法实现。

## 三、自身抗体定量检测存在的挑战及临床应用前景

自身抗体定量检测也存在一些问题,亟待解决。其中最主要的问题可能是以下两个:

1. 自身抗体定量检测质量有待提高:在各种检验项目中,自身抗体是在推进标准化过程中相对落后的一大类检验项目,难以实现标准化又是影响自身抗体定量检测的一个重要原因。限制自身抗体检测标准化因素很多,包括手工操作、人为判读、检验结果无法溯源、缺乏合适质控品、检验方法间可比性差等。国内自身抗体检测仍以手工操作为主,结果靠人工判读,操作者的熟练程度,工作习惯和经验对结果影响较大,各实验室间的结果比对尚难以令人满意。目前,国际上仅有部分核型的 ANA、抗 dsDNA 抗体、RF、抗 TG 抗体、抗心磷脂抗体、抗胰岛细胞抗体、抗谷氨酸脱羧酶抗体、抗酪氨酸磷酸酶抗体、抗 ENA 抗体等 20 种左右自身抗体具有可供溯源的国际标准物质,大多数尚无法溯源,而且,由于价格等种种原因,国内很少有实验室购置自身抗体国际标准物质。这种情况下,最新 ISO15189 认可准则建议各实验室自行建立适合自身的 ANA 弱阳性质控品,以保证每个实验室的纵向稳定性,但这种方式只能算作权宜之计。质控品的研制、实现自身抗体检测结果可溯源性,是摆在自身抗体检测和相关研究人员面前的一个重要任务。很多自身抗体可以采用多种方法检测,不同方法间可比性较差,会造成检验结果使临床产生困惑,无所适从的现象<sup>[16]</sup>。解决不同试剂不同方法间的结果可比性问题,同样需要可供溯源的国际标准物质。在没有采用统一 IU 时,各实验室可以对所使用的试剂盒,针对自身人群建立其参考区间并定期验证。当然,彻底解决上述问题难度大,短期内无法完全实现,需要长期不懈的努力。

2. 自身抗体定量检测结果的参考范围有待中国化:目前,国内检验项目已达数百种,但每种项目的正常参考范围基本都是直接或间接参照国外标准,几乎没有以我国人群为基础的正常参考范围。国内检验工作者已经开始关注并着手解决这一问题,近来有文献报道了一项大规模、多中心研究,比较准确地建立了部分检验项目(包括胆红素、碱性磷酸酶、白蛋白、总蛋白、丙氨酸转氨酶、 $\gamma$  谷氨酰转肽酶等)的国内标准<sup>[17]</sup>,但

绝大多数的国内标准尚未建立,仍需检验人员共同努力。自身抗体的产生受年龄、性别和种族遗传的影响很大,在不同年龄、性别和种族人群之间,其含量和阳性率会有明显不同。就 IIF 法检测 ANA 而言,其阳性率随着年龄的增加而明显增高,女性明显高于男性,黑人明显高于白人<sup>[18]</sup>。因此,定量检测的自身抗体正常参考范围应该建立在国人基础上,而且最好分年龄段和性别。当然,这样的研究难度高,需要有精密的组织,耗费大量的人财物,目前还很难进行。随着经济的发展,随着临床科研的更加集约化、合作化和规模化,不久的将来,这种问题应该能够解决。

#### 四、呼吁与展望

综上所述,自身抗体定量检测时代正在到来,绝大多数自身抗体的检测已逐步进行定量或半定量。在自身抗体从定性向定量检测过度的过程中,定量检测应与定性检测方法作比对。通过设置高、中、低、阴性等不同滴度的 4 组进行比对以充分了解定量检测方法的性能。目前,在国内完全实现自动化、高通量、高准确性的定量检测项目仍较少,如何将最新检测技术应用于自身抗体的定量检测成为推动我国自身抗体检测技术革新的一个重要研究方向。随着检验技术的发展以及临床对自身抗体的要求和依赖性越来越高,自身抗体高通量、自动化、定量检测的技术必将成为未来的发展趋势。

#### 参 考 文 献

- [1] Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria; an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62:2569-2581.
- [2] Yu C, Gershwin ME, Chang C. Diagnostic criteria for systemic lupus erythematosus; a critical review[J]. *J Autoimmun*, 2014, 48-49:10-13.
- [3] Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, et al. Primary biliary cirrhosis[J]. *Hepatology*, 2009, 50:291-308.
- [4] Goules AV, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM. Classification criteria of Sjögren's syndrome[J]. *J Autoimmun*, 2014, 48-49:42-45.
- [5] Hudson M, Fritzler MJ. Diagnostic criteria of systemic sclerosis[J]. *J Autoimmun*, 2014, 48-49:38-41.
- [6] Sherer Y, Gorstein A, Fritzler MJ, et al. Autoantibody explosion in systemic lupus erythematosus; more than 100 different antibodies found in SLE patients[J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2004, 34:501-537.
- [7] Willitzki A, Hiemann R, Peters V, et al. New platform technology for comprehensive serological diagnostics of autoimmune diseases[J]. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012:284740.
- [8] Fritzler MJ, Fritzler ML. The emergence of multiplexed technologies as diagnostic platforms in systemic autoimmune diseases[J]. *Curr Med Chem*, 2006, 13:2503-2512.
- [9] Yeste A, Quintana FJ. Antigen microarrays for the study of autoimmune diseases[J]. *Clin Chem*, 2013, 59:1036-1044.
- [10] Fritzler MJ, Fritzler ML. Microbead-based technologies in diagnostic autoantibody detection[J]. *Expert Opin Med Diagn*, 2009, 3:81-89.
- [11] Olsen NJ, Karp DR. Autoantibodies and SLE—the threshold for disease[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2014, 10:181-186.
- [12] Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies[J]. *Ann Rheum Dis*, 2014, 73:17-23.
- [13] Ng KP, Manson JJ, Rahman A, et al. Association of antinucleosome antibodies with disease flare in serologically active clinically quiescent patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 55:900-904.
- [14] Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus[J]. *N Engl J Med*, 2008, 358:929-939.
- [15] Manson JJ, Ma A, Rogers P, et al. Relationship between anti-dsDNA, anti-nucleosome and anti-alpha-actinin antibodies and markers of renal disease in patients with lupus nephritis: a prospective longitudinal study[J]. *Arthritis Res Ther*, 2009, 11:R154.
- [16] Chiaro TR, Davis KW, Wilson A, et al. Significant differences in the analytic concordance between anti-dsDNA IgG antibody assays for the diagnosis of systemic lupus erythematosus—implications for inter-laboratory testing[J]. *Clin Chim Acta*, 2011, 412:1076-1080.
- [17] Mu R, Chen W, Pan B, et al. First definition of reference intervals of liver function tests in china; a large-population-based multi-center study about healthy adults[J]. *PLoS One*, 2013, 8: e72916.
- [18] Satoh M, Chan EK, Ho LA, et al. Prevalence and sociodemographic correlates of antinuclear antibodies in the United States[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64:2319-2327.

(收稿日期:2014-05-29)

(本文编辑:唐栋)



知网查重限时 7折 最高可优惠 120元

本科定稿，硕博定稿，查重结果与学校一致

立即检测

免费论文查重：<http://www.paperyy.com>

3亿免费文献下载：<http://www.ixueshu.com>

超值论文自动降重：[http://www.paperyy.com/reduce\\_repetition](http://www.paperyy.com/reduce_repetition)

PPT免费模版下载：<http://ppt.ixueshu.com>

## 阅读此文的还阅读了：

- [1. 混合有温自身抗体和抗-Jk~a的标本检测与讨论](#)
- [2. 500例自身抗体检测结果分析](#)
- [3. 丙型肝炎患者血清自身抗体的检测与意义](#)
- [4. 浅谈糖尿病胰岛自身抗体的检测及临床意义](#)
- [5. 自身抗体的检测在自身免疫疾病中的临床诊断及意义](#)
- [6. 多种自身免疫抗体联合检测对SLE和RA的诊断价值](#)
- [7. 乳腺癌血清中MMP-7自身抗体的检测](#)
- [8. 自身抗体检测在PBC和AIH诊断中的临床价值](#)
- [9. 自身免疫性肝病的自身抗体检测技术](#)
- [10. 自身免疫性肝病的自身抗体检测技术探讨](#)
- [11. 胰岛素自身抗体检测研究进展](#)
- [12. SLE和PSS患者的自身免疫抗体检测及临床价值](#)
- [13. 自身抗体检测进入定量检测时代](#)
- [14. 三种方法检测自身抗体结果分析](#)
- [15. 800例自身抗体核型检测结果分析](#)
- [16. 自身免疫性肝病自身抗体的检测及分析](#)
- [17. 甲状腺自身抗体定量检测的在临床的应用价值](#)
- [18. 检测自身免疫抗体有了快速助手](#)
- [19. 胰岛自身抗体检测及标准化研究进展](#)
- [20. 脉管炎自身抗体的检测及临床意义](#)
- [21. 自身抗体的检测在自身免疫性肝炎诊断中的应用](#)
- [22. 自身免疫性肝炎自身抗体联合检测的临床意义](#)
- [23. SLE患者多种自身抗体的检测](#)
- [24. 胰岛自身抗体检测及标准化研究进展](#)
- [25. 胰岛自身抗体检测及标准化研究进展](#)

- [26. 自身免疫病中多种自身抗体联合检测及分析研究](#)
- [27. 自身抗体检测对自身免疫性肝病的诊断价值](#)
- [28. 自身抗体检测在临床诊断中的应用特点](#)
- [29. 类风湿关节炎患者自身抗体的检测](#)
- [30. 自身抗体检测作为体检项目的预警价值](#)
- [31. SLE患者自身抗体联合检测的诊断价值](#)
- [32. 自身抗体检测在临床中的应用](#)
- [33. 自身抗体检测在自身免疫性肝炎诊断的临床价值](#)
- [34. 检测慢性丙肝患者血清中自身抗体的临床价值](#)
- [35. 问:肿瘤自身抗体与肿瘤发生发展有何关系?检测肿瘤自身抗体有何临床意义?](#)
- [36. LADA患者自身抗体检测的临床意义](#)
- [37. 检测肝组织自身抗体诊断自身免疫性肝炎](#)
- [38. 自身免疫肝病自身抗体检测的临床意义](#)
- [39. 妊高征血清自身抗体的检测](#)
- [40. 自身抗体的检测在SLE患者中的诊断价值](#)
- [41. CRP与3种自身抗体联合检测对诊断RA的评价](#)
- [42. ENA多肽抗体谱试剂检测自身抗体](#)
- [43. 检测体系将进入新时代](#)
- [44. 自身抗体的检测在SLE中的应用](#)
- [45. 自身抗体检测358例分析](#)
- [46. 自身抗体的检测在SLE中的应用](#)
- [47. 抗精子抗体定量检测及其临床意义](#)
- [48. 多种自身抗体在自身免疫病中的检测应用分析](#)
- [49. 狼疮肾炎中多种自身抗体的检测及应用进展](#)
- [50. 自身免疫性肝炎患者自身抗体检测的临床意义](#)