

第二十章

自身免疫性疾病与实验诊断

自身免疫(autoimmunity)泛指机体免疫系统受某些内因、外因或遗传等因素作用产生针对自身正常或变性的组织、器官、细胞、蛋白质或酶类等自身抗原发生的免疫应答反应,出现自身抗体或自身致敏淋巴细胞的现象。因自身免疫导致组织器官损伤或功能障碍所致疾病称自身免疫性疾病。自身免疫性疾病按累及的系统和器官可分为非器官特异性自身免疫病和器官特异性自身免疫病两大类(表 20-1)。自身免疫性疾病患者体内有针对自身组织器官、细胞及细胞成分的自身抗体是疾病诊断的重要标志,通过检测自身抗体可协助临床对自身免疫性疾病进行诊断、鉴别诊断与预后判断。检测炎性标志物可协助评价患者免疫炎性损害的程度与疾病的活动状态。

表 20-1 按器官特异和非特异性区分自身免疫性疾病

疾病种类	疾病名称
器官非特异性	系统性红斑狼疮
	干燥综合征
	类风湿性关节炎
	多发性肌炎
	硬皮病
器官特异性	慢性甲状腺炎
	原发性黏液水肿
	毒性甲状腺肿
	恶性贫血
	原发性肾上腺皮质萎缩
	青少年糖尿病
	重症肌无力
	肺 - 肾综合征
	类天疱疮
	交感性眼病
	原发性胆汁性胆管炎
	溃疡性结肠炎

第一节 自身抗体检测

自身抗体是机体针对自身组织器官、细胞及细胞内成分的抗体。自身抗体分为生理性自身抗体和病理性自身抗体,前者是指针对衰老或死亡的自身细胞产生少量的抗体,生理性自身抗体有助于单核细胞及巨噬细胞吞噬衰老或死亡细胞,以维持机体生理环境的稳定。而后者是指由于机体免疫系统紊乱,出现自身免疫应答,产生与自身组织抗原发生反应的抗体,造成机体组织器官的损伤,引起自身免疫性疾病。多数自身免疫性疾病都伴有特征性的自身抗体谱,因此,自身抗体检测是诊断自身免疫性疾病的重要手段之一。

一、实验室分析路径

实验室分析路径见图 20-1。

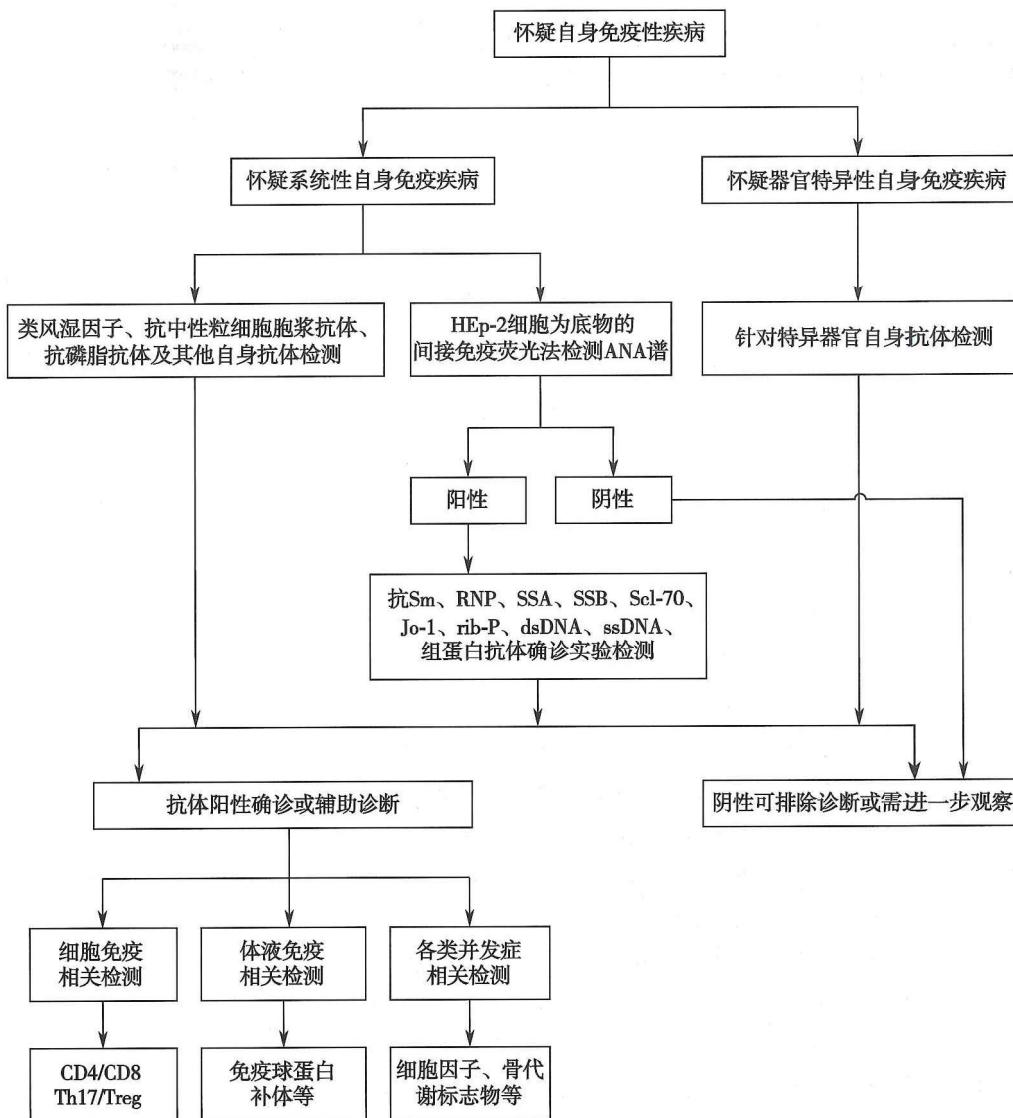


图 20-1 自身抗体检测实验室分析路径图

二、相关实验

自身抗体检测对于自身免疫性疾病的诊断具有重要意义,通常在疾病初期即可查及,并可伴随整个疾

病过程,目前常规应用于临床检测的自身抗体主要分为四类,即抗核抗体谱(antinuclear antibody spectrum, ANAs)、类风湿因子(rheumatoid factor, RF)、抗中性粒细胞胞浆抗体(anti-neutrophil cytoplasmic antibody, ANCA)、抗磷脂抗体(antiphospholipid antibodies)。

1. 抗核抗体谱(ANAs) ANAs 是一组对细胞核内的 DNA、RNA、蛋白或这些物质的分子复合物的多种自身抗体的总称,临幊上通常称为抗核抗体(antinuclear antibody, ANA),ANA 与 ANAs 是相同的概念。目前 ANA 所包括的范围有所扩大,广义的 ANA 除了包括针对细胞核抗原的抗体外,还包括针对细胞胞浆成分的抗体。目前通常采用以 HEp-2 细胞为底物的间接免疫荧光法(indirect immunofluorescent assay, IFA)进行检测。正常人 ANA 检测结果为阴性,若 ANA 结果阴性,可基本排除自身免疫性疾病。若 ANA 结果阳性,提示存在自身抗体,在荧光显微镜下可见特异的荧光模型,阳性标本需进一步做类型分析并进行滴度测定,以确定自身抗体类型与含量。有些自身抗体与疾病的诊断密切相关。抗核抗体可与 HEp-2 细胞很多基质发生反应,对应不同的细胞器抗原,细胞显示不同的特异性荧光,主要荧光模型见表 20-2。

表 20-2 各种荧光模型对应的靶抗原

荧光模型	靶抗原
核均质型	ssDNA、dsDNA、H1、H2A、H2B、H3、H4、H2A-H2B 复合物 RNA
部分核均质型	U1-RNP
核粗斑点型、核仁阴性	SSA、SSB
核粗斑点型、部分核仁阴性	U3-RNP/ 原纤维蛋白、RNA 多聚糖 I
核仁颗粒型	PM-Scl(PM-1)、7-2-RNP、4-6-S-RNA
核仁均质型	着丝点蛋白
着丝点型	Scl-70
核均质型、核仁阳性	增殖性细胞核抗原(PCNA)
核斑点型、50% 细胞荧光增强 10 倍	核点
核点型	核层素
周边型	

ANAs 作为筛选性实验包括的自身抗体主要有以下 10 种。

(1) 抗双链 DNA(double strain DNA, dsDNA) 抗体: 脱氧核糖核酸(DNA) 作为抗原可以是 dsDNA 或单链 DNA(single strain DNA, ssDNA)。1957 年首次报道,SLE 患者血清中存在与 DNA 反应的成分。DNA 作为自身抗原有若干决定簇,但目前研究认为只有抗 dsDNA 抗体对 SLE 具有重要诊断价值。目前推荐采用以绿蝇短膜虫为底物的 IFA 法检测抗 dsDNA 抗体,抗体阳性时绿蝇短膜虫动基体显示荧光,阴性时动基体不显示荧光。正常人检测结果为阴性。

(2) 抗组蛋白抗体(anti-histone antibody, AHA): AHA 是针对组蛋白的一类复杂的自身抗体。组蛋白是一种与 DNA 结合的富含赖氨酸与精氨酸的碱性蛋白,由 H1、H2A、H2B、H3、H4 五种亚单位构成。组蛋白是染色质基本结构核小体的重要组成部分。H1 在双螺旋之外,H2A、H2B、H3、H4 被双螺旋包绕。抗组蛋白抗体可以使用 ELISA 法进行检测,正常人检测结果为阴性。

(3) 抗 RNP 抗体(antiribonucleoprotein, anti-RNP): 抗 RNP 抗体的靶抗原位于小核糖核酸蛋白颗粒(snRNPs) 上。临幊上通常检测的抗 RNP 抗体主要为识别 U1 类 snRNPs,又称为抗 U1-RNP 抗体。抗 RNP 抗体通常采用 Westernblot 或纯化抗原的免疫印迹法进行检测。采用纯化或重组抗原检测抗 RNP 抗体可以获得更加准确的检测结果,正常人检测结果为阴性。

(4) 抗 Sm 抗体: Sm 为患者 Smith 的简称。抗 Sm 的靶抗原与抗 RNP 抗体的靶抗原一样均为小核糖核酸蛋白颗粒,由于抗 Sm 和抗 RNP 抗体的靶抗原具有交叉成分,因此在临床检测过程中可能出现交叉反应而影响结果判断。抗 Sm 抗体具有 SLE 特异性,尽管抗 Sm 抗体阳性均伴有抗 RNP 抗体阳性,但抗 RNP 抗体则可以单独存在。临床常采用纯化或重组抗原的免疫印迹法进行检测,正常人检测结果为阴性。

(5) 抗 SSA 抗体: 抗 SSA 抗体是在干燥综合征(Sjögren's syndrome, SS)中发现的第一个抗原,故命名为 SSA,即 SS 综合征的 Antigen。已证明 SSA 抗原与 Ro 抗原是同一种物质。故命名为 SSA/Ro 抗原,抗 SSA 抗体又称为抗 Ro 抗体。抗 SSA 抗体针对的抗原表位位于细胞内与小核糖核酸形成复合物的两种蛋白质(60kD 和 52kD)上。患者血清中的自身抗体可能针对其中一种或者同时针对两种蛋白复合物,后者更为常见,两种自身抗体间无相关关系。临床常采用纯化或重组抗原的免疫印迹法进行检测,正常人检测结果为阴性。

(6) 抗 SSB 抗体: 抗 SSB 抗体是与干燥综合征相关的另一重要自身抗体,由于该抗体首先在患者 La 血清中检测获得,因此又称为抗 La 抗体。抗 SSB 抗体的靶抗原是 RNA 多聚酶转录中的小 RNA 磷酸蛋白质。其分子量有 48kD、47kD、45kD 三种,其中针对 48kD 的抗 SSB 抗体特异性更强。由于 SSB 靶抗原中的核糖核酸蛋白颗粒与 SSA 靶抗原的成分部分相同,故抗 SSB 抗体阳性几乎总伴有抗 SSA 抗体阳性。临床常采用纯化或重组抗原的免疫印迹法进行检测,正常人检测结果为阴性。

(7) 抗 Scl-70 抗体: Scl-70 靶抗原为 DNA 拓扑异构酶 I, ANA 荧光模型表现为核仁型。抗体可与鼠肝中分离的分子量为 70kD 的抗原成分反应,该抗体也因此而得名。临床常采用纯化或重组抗原的免疫印迹法进行检测,抗 Scl-70 抗体主要见于硬皮病(scleroderma),正常人检测结果为阴性。

(8) 抗 Jo-1 抗体: 其靶抗原是一种氨酰 tRNA 合成酶,其在胞浆中以小分子核糖核蛋白(scRNPs)形式出现,分子量为 50kD。临床常采用纯化或重组抗原的免疫印迹法进行检测,抗 Jo-1 抗体主要见于多发性肌炎或皮肌炎,正常人检测结果为阴性。

(9) 抗 rib-P 抗体(anti-ribosome ribonucleoprotein antibody, anti-rib-P): 其靶抗原是胞浆中核糖体大亚基上的 3 条分子量为 38kD、16.5kD 和 15kD 的磷酸化蛋白,抗 rib-P 抗体可在天然原位与 P 蛋白结合。有研究表明,抗 rib-P 抗体可渗入活细胞中导致蛋白合成受阻,提示这些抗体可能与致病机制有关。临床常采用纯化或重组抗原的免疫印迹法进行检测,正常人检测结果为阴性。

(10) 抗着丝点抗体(anti-centromere antibody, ACA): 其靶抗原是位于染色体着丝粒区域的三种蛋白质,分别为 CENP-A、CENP-B 和 CENP-C。大多数 ACA 阳性血清至少与其中两种抗原发生反应,并且总是与 CENP-B 反应。临幊上可采用以 HEp-2 细胞为底物的 IFA 法进行检测,阳性在间期细胞上出现大小均一的(46~92 个)荧光颗粒。也可采用纯化三种抗原蛋白的 ELISA 法或免疫印迹法进行检测,正常人检测结果为阴性。

2. 类风湿因子(rheumatoid factor, RF): 通常讲的 RF 主要是针对变性 IgG 为抗原的 IgM 抗体。RF 除 IgM 型,还有 IgG 型、IgA 型和 IgE 型。由于 IgM 型 RF 具有高凝集、易于沉淀的特点,临幊上主要测定 IgM 型 RF,测定方法常采用乳胶凝集法或速率散射比浊法,正常人检测结果为阴性(乳胶凝集法)或<20IU/mL(速率散射比浊法)。

3. 抗中性粒细胞胞浆抗体(anti-neutrophil cytoplasmic antibody, ANCA) ANCA 是一组以中性粒细胞及单核细胞胞浆成分为靶抗原的自身抗体,目前已知的 ANCA 的靶抗原主要包括蛋白酶 3(proteinase 3, PR3)、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)、乳铁蛋白(lactoferrin, LF)、人白细胞弹性蛋白酶(human leukocyte elastase, HLE)、组织蛋白酶 G(cathepsin G, Cath G)、杀菌/通透性增高蛋白(bactericidal/permeability-increasing protein, BPI)、溶酶体(lysozyme, LYS)等。临幊上可采用以乙醇和甲醛固定的人中性粒细胞为标准试验基质的间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence assay, IFA)进行检测,阳性根据荧光模型表现不同可分为胞浆型 ANCA(cytoplasm ANCA, cANCA)、核周型 ANCA(peripheral ANCA, pANCA)和不典型 ANCA(不典型 cANCA 和不典型 pANCA)。针对靶抗原的特异性自身抗体(如抗 PR3 抗体等)可采用 ELISA、发光等方法进行检测。正常人检测结果为阴性。

4. 抗磷脂抗体 抗磷脂抗体包括多种特异性不同的自身抗体。靶抗原为带负电荷的阴离子磷脂。抗磷脂抗体在自身免疫性疾病患者血清中的反应需辅助因子 β_2 -糖蛋白1的参与,因此,抗 β_2 -糖蛋白抗体也是抗磷脂抗体的一种。抗磷脂抗体可引起狼疮抗凝现象,导致APTT延长。临床常采用ELISA法检测不同种类的抗磷脂抗体,正常人检测结果为阴性。

三、结果判断与分析

IFA法检测ANA可提供荧光模型信息,其对于相应的特异性抗体具有提示作用,但由于HEp-2细胞抗原成分复杂,不同的自身抗体可以呈现相同或相似的荧光模型,仅凭荧光模型就判定特异性抗体种类可导致错误结果,因此采用纯化抗原检测自身抗体进行确诊试验,可为临床医师提供确切的自身抗体报告。

(一) 筛选试验

抗核抗体谱(ANAs)检测 抗核抗体谱筛选试验通常采用以HEp-2细胞为底物的IFA法进行检测。ANAs可在许多自身免疫性疾病患者的血清中检出,也可以在健康老年人、感染性疾病、慢性肝病、原发性肺纤维化、肿瘤等患者中出现,甚至在服用某些药物如普鲁卡因胺、肼屈嗪、苯妥英钠、异烟肼等的患者中也可出现ANA阳性。约99%的活动期SLE患者ANA阳性,在非狼疮性结缔组织病中,ANA阳性率达50%,即使在健康献血者中,偶尔也可检出ANA,所以ANA阳性本身不能确诊任何疾病,但ANA阳性且伴有特征性狼疮症状则支持狼疮诊断。一般认为ANA在狼疮活动期阳性率和滴度均增高,在缓解期阳性率和滴度均减低。ANA阴性几乎可排除SLE的诊断。ANA对多种自身免疫性疾病具有诊断价值(表20-3)。

表20-3 ANA在多种自身免疫性疾病的阳性检出率

自身免疫性疾病	阳性率(%)
系统性红斑狼疮(SLE)	80~100
药物诱导的红斑狼疮(DIL)	100
混合性结缔组织病(MCTD)	100
类风湿性关节炎(RA)	20~40
进行性系统性硬化症(PSS)	85~95
多发性肌炎和皮肌炎(PM/DM)	30~50
干燥综合征(SS)	70~80
慢性活动型肝炎	30~40
溃疡性结肠炎	26

(二) 确诊实验

1. 抗dsDNA抗体 抗dsDNA抗体作为美国风湿病学会SLE的11项诊断标准之一,可区分SLE与其他风湿性疾病,其诊断特异性可达85%,但抗dsDNA抗体阴性不能排除SLE。抗体阳性率和滴度取决于疾病活动性,缓解期阳性率可下降到40%或以下。高滴度、高亲和力的抗dsDNA抗体主要见于SLE活动期或累及肾脏患者,抗dsDNA抗体免疫复合物的形成和沉积可引起肾脏组织损伤,其与狼疮性肾炎的相关关系已十分明确。

2. 抗组蛋白抗体 抗组蛋白抗体可在多种自身免疫性疾病中出现,如:药物性狼疮(drug-induced lupus,DIL)、SLE、RA、系统性硬化症(systemic sclerosis,SSc)等,不具疾病诊断特异性。SLE阳性率为50%,DIL阳性率达95%。AHA阳性并不能区分SLE和DIL,但筛查阴性者基本可排除DIL。研究表明,AHA水平和疾病活动性之间没有明确的关系。

3. 抗RNP抗体 抗RNP抗体阳性的患者通常抗dsDNA抗体阴性,肾脏受累较少。1972年已将其

作为诊断混合性结缔组织病(mixed connective tissue disease,MCTD)的重要血清学依据。抗 RNP 抗体在 MCTD 患者中均为阳性,且滴度很高。该抗体也可低滴度水平在多种自身免疫性疾病中出现,其不具疾病诊断的特异性,但有助于鉴别结缔组织病和非结缔组织病。近 32% 的 SLE 患者抗 RNP 抗体可为阳性,如该抗体与抗 Sm 抗体同时存在,则疑诊为 SLE 的可能性较大。

4. 抗 Sm 抗体 抗 Sm 抗体在 SLE 中阳性率为 30.2%。虽然敏感性较低,但特异性较高。有研究表明,在全部抗 Sm 阳性的病例中,92.2% 患者确诊为 SLE。因此抗 Sm 抗体可认为是 SLE 的标记性抗体。有研究显示 SLE 患者由活动期转为缓解期后,ANA、抗 dsDNA 抗体滴度均可降低,但抗 Sm 抗体可长期存在。抗 Sm 抗体对早期、不典型的 SLE 或经治疗缓解后的 SLE 患者进行回顾性诊断具有重要意义。

5. 抗 SSA 抗体 原发性 SS 患者体内抗 SSA 阳性率可达到 70%~100%,而在 SLE 中为 24%~60%。抗 SSA 阳性的 SLE 患者常伴有 SS 或光敏感性疾病,尤其当抗体为高滴度时。SS 患者通常伴抗 SSB 抗体阳性,抗 SSA 和抗 SSB 抗体均阳性的原发性 SS 患者通常表现出更多的腺体外症状,如脉管炎、淋巴结病等。此外,抗 SSA 抗体与亚急性皮肤性红斑狼疮关系密切。

抗 SSA 抗体阳性在新生儿红斑狼疮发生率几乎为 100%,该抗体通过胎盘传递给胎儿可引起炎症反应,并可引起先天性新生儿心脏传导阻滞。因此,抗 SSA 抗体可作为预防先天性心脏病或狼疮性新生儿的产前监测指标。

6. 抗 SSB 抗体 抗 SSB 阳性几乎总伴随抗 SSA 抗体阳性出现,对 SS 的诊断,抗 SSB 抗体较抗 SSA 抗体更特异,是 SS 的血清标志抗体。原发性 SS 阳性率达 40%,其他自身免疫性疾病中如有抗 SSB 抗体,常伴有继发性 SS。临床检测发现与抗 SSA 阳性和抗 SSB 阴性患者相比,抗 SSA 和抗 SSB 均为阳性的 SLE 患者较少累及肾脏损伤,抗 dsDNA 抗体也较少阳性,这种抗体模式常在迟发性 SLE 患者中出现。

7. 抗 Scl-70 抗体 抗 Scl-70 抗体主要见于硬皮病,仅 20% 的 SSc 患者可出现阳性,但有较高特异性。抗 Scl-70 抗体阳性患者皮肤病变往往弥散广泛,且易发生肺间质纤维化。进行性系统性硬化症(PSS)患者抗 Scl-70 抗体阳性率高达 75%。雷诺症患者存在抗 Scl-70 抗体,提示可能发展为 PSS。有文献报道,抗 Scl-70 抗体与恶性肿瘤特别是肺癌具有明显关系。

8. 抗 Jo-1 抗体 抗 Jo-1 抗体是目前公认的多发性肌炎和皮肌炎(PM/DM)的血清标志抗体。在 PM/DM 中阳性率达 25% 左右。在合并肺间质病变的 PM/DM 患者,阳性率可高达 60%。

9. 抗 rib-P 抗体 抗 rib-P 抗体滴度升高主要见于 SLE 患者,在其他自身免疫病如:系统性硬化症、SS、皮肌炎、RA、未分化结缔组织病和原发性抗磷脂综合征等患者中很少出现(<5%)。有研究显示,抗 rib-P 抗体滴度升高出现在 SLE 发病前 6 年,提示该抗体对 SLE 的发生有预测价值。另有证据显示该抗体与 SLE 相关的精神疾病有关。抗 rib-P 抗体与抗 dsDNA 抗体的消长相平行,但与抗 dsDNA 抗体不同的是,抗 rib-P 抗体不会随病情好转很快消失,可持续 1~2 年后才转阴。

10. 抗着丝点抗体 抗着丝点抗体是硬皮病的另一血清特异性抗体。其在硬皮病中的良性变异型CREST 综合征阳性率可达 80%。抗着丝点抗体在不同疾病中的阳性率分别为:CREST 为 17%~96%,弥散型硬皮病为 8%~12%,雷诺症为 20%~29%,MCTD 为 7%,SLE 为 <5%。抗着丝点抗体的临床意义可概括为下列几点:①在 CREST 综合征中检出率高;②有着丝点抗体的患者,肾、心、肺及胃肠受累较少(<5%);③有该抗体且有雷诺症的患者可能是 CREST 的早期变异型或顿挫型,因为其中有些患者在数年后发展为完全的 CREST 综合征;④抗着丝点抗体与抗 Scl-70 是互相排斥的,两者同时出现者少见。由于 HEp-2 细胞核和胞质中包括多种自身抗体的靶抗原,因此,以 HEp-2 细胞为底物的 IFA 法检测 ANA 可作为检测上述自身抗体的筛选实验,若 ANA 检测结果为阴性,可基本上排除上述自身抗体阳性的可能性,从而节约检测时间和医疗成本。若为阳性则需进行抗体确证性实验,根据确诊抗体类型结合临床表现进行诊断。通常采用纯化或重组抗原进行抗可提取性核抗原(extractable nuclear antigen,ENA)抗体谱的免疫印迹法进行抗体确证实验。

11. 类风湿因子(RF) RF 是抗人 IgG 分子 Fc 片段上抗原决定簇的特异抗体。可分为 IgM-RF、IgG-RF 和 IgA-RF 等。如同时存在两种类型 RF,一般仅见于 RA。高滴度的 IgA-RF 常与关节外表现有

关。凡是存在变性 IgG，并能产生抗变性 IgG 自身抗体的人，在其血清或病变中均能测出 RF，提示 RF 并不是 RA 的特异性自身抗体。虽然 RF 的测定对诊断 RA 具有一定的价值，但并没有特异性。

12. 抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA) 采用 IFA 检测 ANCA 时，依据荧光模型表现不同主要分为三种：cANCA、pANCA、不典型 ANCA(包括不典型 cANCA 和不典型 pANCA)，cANCA 荧光模型主要表现为乙醇固定的人中性粒细胞胞浆呈现弥散的粗细不一的颗粒荧光，胞浆荧光清晰勾勒出细胞及细胞核的形态，分叶核间荧光呈现重染；甲醛固定的中性粒细胞呈现上述一致的荧光染色。cANCA 主要见于肉芽肿性多血管炎(granulomatosis with polyangiitis, GPA)，阳性率约 80%，且与病程、严重性和活动性有关，也可见于少数显微镜下多血管炎(microscopic polyangiitis, MPA)、嗜酸性肉芽肿性多血管炎(EGPA，也称为 Churg-Strauss 综合征)、结节性多动脉炎(polyarteritis nodosa, PAN)、少数巨细胞动脉炎、过敏性紫癜、白细胞破碎性皮肤性血管炎和白塞病。pANCA 荧光模型主要表现为乙醇固定的中性粒细胞呈现典型的核周浆带状荧光染色增强，荧光阳性染色主要集中在分叶核周围，形成环状或不规则的块状，带状荧光向细胞核内浸润或不浸润；甲醛固定的中性粒细胞胞浆呈现弥散、粗细不一的颗粒状荧光，胞浆中的荧光可清晰勾勒出细胞及细胞核的形态，分叶核间荧光呈现重染。pANCA 主要见于坏死性新月体性肾小球肾炎(necrotizing crescentic glomerulonephritis, NCGN)、MPA，也可见于 EGPA、PAN、SLE、RA、SS、SSc。不典型 ANCA 主要见于炎症性肠病、其他自身免疫性疾病、感染等。

针对靶抗原的 ANCA 特异性自身抗体中，抗 PR3 抗体与 GPA 密切相关。cANCA 诊断 GPA 具有较高的特异性，联合抗 PR3 抗体可进一步提高特异性，活动期 GPA 抗 PR3 抗体约 90% 阳性。抗 MPO 抗体阳性主要与 MPA、NCGN、过敏性肉芽肿性血管炎相关。抗 HLE 抗体阳性可见于 SLE、IBD、PBC 等。抗 LF 抗体阳性可见于慢性炎症性肠病(CIBD)、原发性硬化性胆管炎、SLE 等。抗 Cath G 抗体阳性可见于 SLE、IBD、PBC 等。抗 BPI 抗体阳性主要见于肺部炎症性疾病，并与长期慢性铜绿假单胞菌感染有一定关系。

13. 抗磷脂抗体 抗磷脂抗体在 SLE 中的阳性率可达 15%~70%，该抗体阳性的 SLE 患者，与动脉及静脉血栓、习惯性流产、血小板减少、Coombs 阳性的溶血性贫血和某些罕见症状相关。若患者出现血栓、习惯性流产、血小板减少，溶血性贫血、网状青斑、各种神经症状以及抗磷脂抗体阳性，且不符合 SLE 或其他疾病的诊断标准，则可诊断为原发性抗磷脂综合征(APS)，其中小部分患者可转归为 SLE。须指出的是，抗磷脂抗体并不是 SLE 或 APS 的特异性抗体，其也可在多种结缔组织疾病和非结缔组织疾病患者中出现。此外，约有 5% 健康人也可出现抗磷脂抗体阳性，且随年龄增高阳性率逐渐上升。

(陈捷 武永康 王兰兰)

第二节 类风湿性关节炎与自身抗体检测

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一类以关节滑膜病为主要靶组织的慢性系统性自身免疫性疾病。除了显著的关节症状外，3/4 的患者合并关节外损害；关节外损害包括皮下结节、眼部炎症、心包炎、淋巴结肿大、脾大、皮肤溃疡以及胸膜和肺脏的损害等。患者在发病第二年即有可能出现不可逆的骨关节破坏。类风湿性关节炎的系统并发症主要发生于类风湿因子阳性的患者和有严重关节疾病的患者，间质性肺病是 RA 最常见的肺部表现，因 RA-ILD 而死亡的占 RA 死因的 7%，并发 ILD 的 RA 患者死亡风险比无 ILD 的 RA 患者高 3 倍。

对 RA 的诊断标准主要依靠临床表现、X 线以及自身抗体检测。类风湿性关节炎自身抗体检测包括 RF(类风湿因子)、AKA(抗角蛋白抗体)、APF(抗核周因子抗体)、抗 CCP 抗体(抗环瓜氨酸多肽抗体)等。这些血清标志物可使人们对 RA 的早期诊断和早期治疗与预后评估提供帮助。

一、实验室分析路径

实验室分析路径见图 20-2。

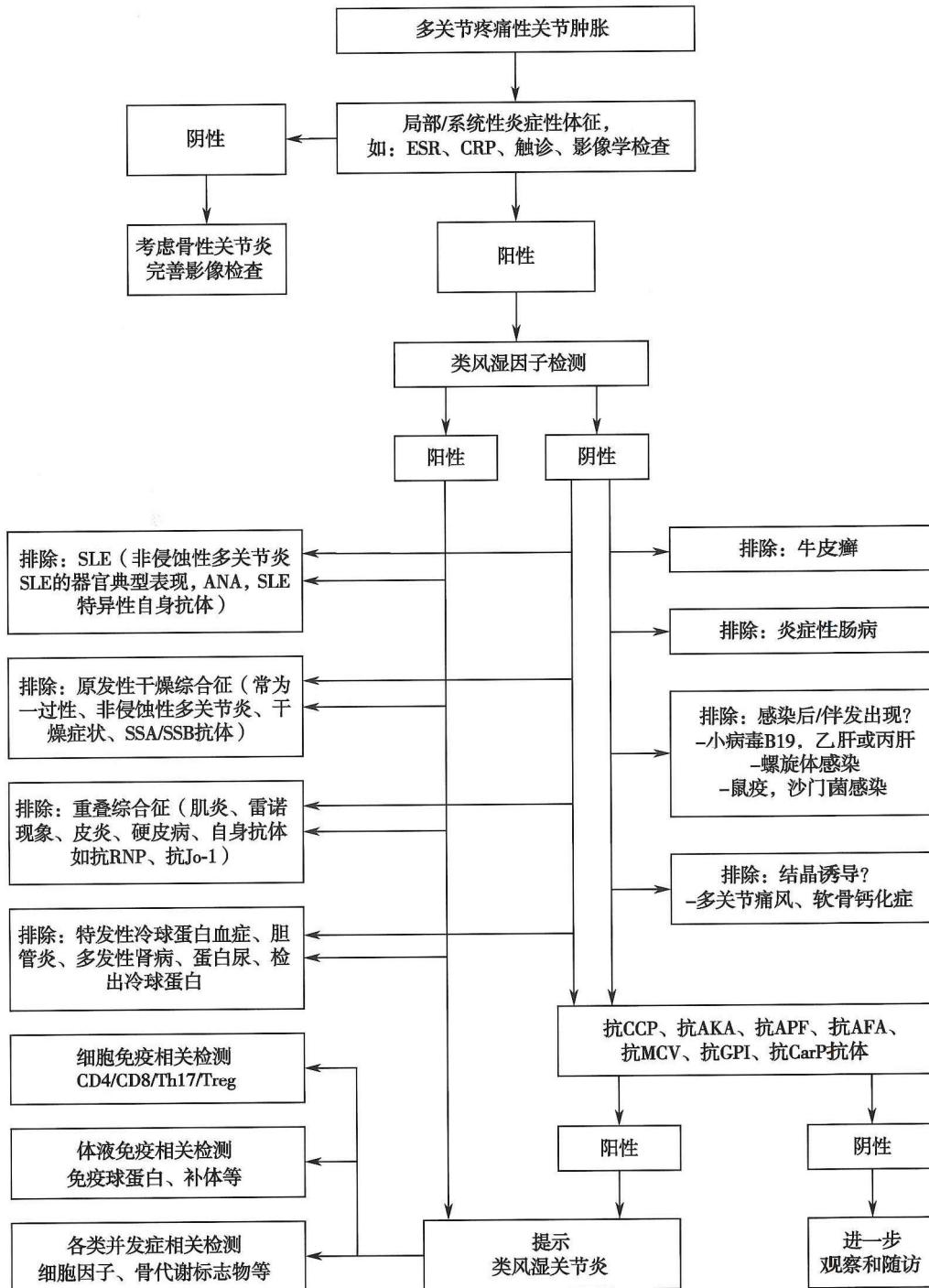


图 20-2 类风湿性关节炎实验室分析路径图

二、相关实验

经典的 RF 检测是最常用的诊断 RA 的实验室辅助指标, 但其特异性与敏感性均不高。抗 CCP 抗体、抗角蛋白抗体、抗核周因子 (antiperinuclear factor, APF) 和抗角蛋白丝聚集素 (原) 抗体 (anti-filaggrin antibody, AFA) 等与 RA 相关自身抗体检测的出现, 提高了 RA 早期诊断的特异性与敏感性。

1. 类风湿因子 (RF) RF 检测作为 RA 的诊断标准之一, 是 RA 患者的重要检测指标。RF 在 RA 中的阳性率是 80% 左右, 但有 5% 的健康老年人也可出现阳性, 75 岁以上老年人 RF 阳性率为 2%~25%。临床最常采用免疫散射分析检测血清 / 血浆 RF 水平, 已较少使用乳胶凝集实验。

参考范围: 免疫速率散射分析 <20IU/mL, 乳胶凝集实验 <1:20。

2. 抗 CCP 抗体 抗 CCP 抗体主要为 IgG 类抗体, 在 RA 的早期阶段即可出现阳性。人工合成的以瓜氨酸代替精氨酸的 20 个左右氨基酸残基的肽链是 RA 特异的抗中间丝相关蛋白 (filaggrin) 抗体识别表位的必需组成部分。试验显示瓜氨酸是 RA 患者血清中抗角蛋白丝聚集素 (原) 相关抗体识别的主要组成性抗原决定簇成分。抗 CCP 抗体在诊断 RA 的特异度达 95%, 高水平抗 CCP-2 滴度是 RA 肺部疾病的独立危险因素。

参考范围: ELISA < 5RU/mL, 电化学发光法 < 17U/mL。

3. 抗角蛋白抗体 (anti-keratin antibody, AKA) AKA 是一种能与大鼠角质层成分起反应的抗体, 故称之为抗角蛋白抗体。AKA 主要为 IgG 型抗体, RA 患者血清中 AKA 的阳性率和特异性均较高, 但在 SLE、SS、PSS 及丙型肝炎 (HCV) 患者中也可查到这种抗体。目前有许多实验室采用以大鼠食管角蛋白作为底物的 IFA 法检测 AKA, 其对 RA 的诊断特异性较高, 但敏感性低, 故多数实验室建议与其他 RA 相关抗体联合应用, 以提高检测敏感度和特异性。正常人检测结果为阴性。

4. 抗核周因子 (antiperinuclear factor, APF) 抗核周因子是将颊黏膜细胞作为底物检测 ANA 时, 偶然发现细胞核周围有均质型的 4~7 μm 荧光颗粒, 称之为抗核周因子 (APF)。抗核周因子的靶抗原存在于颊黏膜上皮细胞核周胞质内, 是上皮细胞的中等纤维或其前体的一种不溶性蛋白质。临幊上通常用 ELISA 法检测该抗体。正常人检测结果阴性。

5. 抗角蛋白丝聚集素 (原) 抗体 (anti-filaggrin antibody, AFA) AFA 是指能够识别人表皮角质蛋白聚集素 (原) 和各种上皮组织的其他角质蛋白丝相关蛋白的一类抗体的总称, 该类抗体为 RA 较特异的标记抗体。目前已可提取和纯化丝聚集素, 临幊上多采用 ELISA 法进行检测, 正常人检测结果为阴性。

三、结果判断与分析

随着自动化检测的普及, RA 的实验室诊断通常采用对 RF、抗 CCP 抗体和 AKA 的联合检测。多个自身抗体的联合检测可提高实验室检测诊断的敏感性与特异性。提高早期诊断 RA 的准确率, 对协助临幊诊断、鉴别诊断与预后判断、治疗效果评估等提供了很好的帮助。联合检测 RF、抗 CCP 抗体和抗角蛋白抗体对 RA 的早期诊断和提高阳性检出率具有重要的临幊价值。

(一) 首选实验

1. 类风湿因子 RF 在 RA 患者中常呈现阳性, 随着 RF 滴度的增高, 其对 RA 的诊断特异性增强, 但滴度高低与疾病严重程度并不呈比例关系。少数 RA 患者检测 RF 可呈阴性结果, RF 阴性不能排除 RA, 结合其他自身抗体检测可提高阳性检出率。RA-ILD 患者的血清和支气管肺泡灌洗液中有显著增高的 IgGRF, 高水平的 RF 和 RA-ILD 的进展之间的相关性尚未知。由于 RF 不是 RA 的特异性抗体, 在一些自身免疫性疾病与其他疾病中也可出现低滴度的 RF 阳性, 正常人群也可出现低阳性率, 且随年龄增大阳性率逐渐增加。RF 阳性可见于: SLE (30%)、SS (70%~90%)、SSc (20%~30%)、PM/DM (5%~10%)、MCTD (50%~60%)、IgA 肾病 (25%~40%)。感染性疾病, 如细菌性心内膜炎、结核、麻风、传染性肝炎、血吸虫病等, 非感染性疾病, 如弥漫性肺间质纤维化、肝硬化、慢性活动性肝炎、结节病、巨球蛋白血症等都可以出现 RF 的阳性。

2. 抗 CCP 抗体 抗 CCP 抗体是与 RA 发生相关的高特异性自身抗体 (约 96%)。在已确诊的 RA 患者中, 抗 CCP 抗体阳性者较阴性者更易发展为多关节损伤, 抗 CCP 抗体的含量与 RA 病情严重程度及发展相关, RA 患者抗 CCP 抗体长期呈高水平阳性, 提示患者的关节损伤将更重。抗 CCP 抗体的特异性明显高于 RF, 敏感性略低于 RF, 抗 CCP 抗体阳性通常早于 RF 出现, 甚至在亚临床阶段即可呈阳性, 随着自动化检测的普及, 抗 CCP 抗体检测在 RA 的早期诊断、早期治疗和预后判断中具有重要的临幊意义。

3. 抗角蛋白抗体 (AKA) AKA 对于诊断 RA 的特异性高 (90% 左右) 但敏感性低 (25% 左右), 研究发现 AKA 与 RA 的病情严重程度相关, 在 RA 发病早期和出现临床症状前都可检出 AKA 阳性, AKA 阳性的无症状者, 几乎最终确诊为 RA 患者。提示 AKA 可作为 RA 早期诊断的实验室指标。

(二) 次选实验

1. 抗核周因子 (APF) APF 主要出现在 RA 患者血清中, 而少见于 SLE 等非类风湿性关节炎的风

湿性疾病患者。APF 是一种以 IgG 型为主的 RA 特异性的免疫球蛋白。APF 对 RA 诊断的特异性高达 90% 以上,是早期诊断 RA 的有效指标之一。APF 对 RA 的诊断特异性随血清滴度的增加而增加。APF 在 RA 的阳性率为 41.3%,特异性为 97.8%。APF 可出现在 RA 早期,甚至在发病之前。在早期 RF 阴性的 RA 患者中有 53.3% 的患者 APF 呈阳性,且这种 RA 患者往往预后较差,这不仅有助于早期诊断,也有助于判断预后。APF 与 RA 的多关节痛、晨僵及 X 线骨破坏之间呈明显相关性,而与发病年龄、病程长短、性别和疾病亚型无关。APF 在幼年类风湿患者中的阳性率显著高于 SLE 和正常人,故对幼年 RA 有一定的诊断价值。APF 与 RF 无相关性,因而可弥补检测 RF 的不足,特别是对 RF 阴性 RA 具有补充诊断意义。

2. 抗角蛋白丝聚集素(原)抗体(AFA) IgG 型 AFA 是目前发现的针对 RA 的最具特异的血清学标记,该抗体可出现在疾病的早期甚至出现在临床症状之前,它们的存在和滴度与疾病的活动性和严重性相关。RA 患者滑膜组织移植培养后可检测到高浓度的 AFA,由此证明分泌 AFA 的浆细胞存在于 RA 患者滑膜组织中,对 RA 发病机制有很大意义。

(三) 类风湿性关节炎的其他自身抗体

1. 抗突变型瓜氨酸波形蛋白(anti-mutated citrullinated vimentin, anti-MCV)抗体 抗 MCV 与抗 CCP 抗体是抗瓜氨酸蛋白抗体(anti-citrullinated protein/peptide autoantibodies ACPAs)家族两种抗体。部分疑诊人群 RF 和 CCP 抗体均为阴性,抗 MCV 抗体的检测可以补充血清学诊断实验的不足,故在 RA 疾病诊断中具有一定的应用价值。

抗 MCV 抗体的敏感性高于抗 CCP 抗体,但特异度不及抗 CCP 抗体。但是,抗 MCV 抗体在其他风湿病及骨关节病患者中的阳性率也很高,故几种自身抗体在疾病的诊断中各有优劣。有研究发现抗 MCV 抗体与 DAS28 评分成正相关,抗 MCV 抗体阳性的 RA 患者比抗 CCP 抗体阳性患者更容易发生影像学进展;抗 MCV 抗体、抗 CCP 抗体和 RF 在病情处于进展期的患者中阳性率和检测值更高,与关节破坏程度和关节外器官受累存在相关性。

2. 抗葡萄糖 6 磷酸异构酶(Glucose-6-phosphateisomerase, GPI)抗体 GPI 是一种多功能蛋白,相对分子质量 6000,存在于细胞浆和细胞外液,由 T 淋巴细胞分泌,是糖酵解和糖异生的重要酶类。GPI 作为一种自身抗原,可以诱导 B 淋巴细胞产生抗 GPI 自身抗体,并能诱导其他免疫细胞产生细胞因子,引起关节炎症,同时可以作为一种自身抗原与抗 GPI 自身抗体结合,形成免疫复合物,沉淀在滑膜动脉和毛细血管内皮细胞壁,通过 Fc 受体介导补体替代激活途径,介导炎性细胞向关节局部迁移,引起关节炎症的进一步加重。在 RA 患者的血清和关节液中发现高浓度 GPI 及其免疫复合物,并认为 GPI 是通过内皮细胞或滑膜液中的可溶性蛋白递呈给免疫系统,在 RA 病理过程中起重要作用。GPI 与关节活动状态具有相关性,对 RA 早期诊断及活动性的判断有较大的临床应用价值。

3. 抗氨基甲酰化蛋白抗体(anti-carbamylated protein antibody,抗 CarP) 新近报道与 RA 密切相关的自身抗体,在慢性炎症反应时,中性粒细胞释放大量的髓过氧化物酶,该酶可介导硫氰酸盐转化为氰酸盐,改变了机体氰酸盐和硫氰酸盐的平衡,造成氰酸盐合成增加,从而引发蛋白质的广泛氨基甲酰化。抗 CarP 抗体作为一个全新的自身抗体,已被证实对 RA 有早期辅助诊断和预测的价值。抗 CarP 抗体可以存在于无任何关节炎症状的关节痛患者,且与关节痛患者发展至类风湿性关节炎显著相关。抗 CarP 抗体与关节损伤评分呈正相关,血清抗 CarP 抗体阳性的 RA 患者,出现关节病损和畸形的比率显著增高,同时抗 CarP 抗体对 RA 患者骨质侵蚀具有良好的预后价值。

4. 人Ⅱ型肺泡细胞表面抗原(Krebs von den lungen-6, KL-6) KL-6 是日本学者 1988 年发现的与肺部腺癌相关的高分子量的糖蛋白抗原,属于黏液素家族,在正常肺组织的Ⅱ型肺泡细胞、支气管腺浆液细胞、呼吸性细支气管上皮细胞中均有表达。在特发性间质性肺炎、药物性肺炎、肺结节病、放射性肺炎、过敏性肺炎等均出现高表达。国外已将 KL-6 作为间质性肺炎、慢性阻塞性肺疾病的检测项目。RA-ILD 患者高表达 KL-6,是非 RA-ILD 患者的两倍以上,是健康人群的 4~5 倍。很多研究也证实,多种结缔组织病包括 RA、干燥综合征、SLE、炎性疾病并发的间质性肺炎其血清 KL-6 水平明显增高。

5. 肺表面活性物质相关蛋白质 D(surfactant-associated protein D, SP-D) 主要由Ⅱ型肺泡细

胞、Clara 细胞和黏膜下细胞合成与分泌，在传导性气道上皮细胞中有少量表达。SP-D 是 C 型凝集素超家族中的成员，属于亲水性蛋白，通过多种机制参与肺内免疫。SP-D 针对病原体和沉积在肺部的异物颗粒发挥调理素作用，然后与肺泡巨噬细胞通过特定受体相互作用，引起下游的免疫反应。SP-D 可覆盖在多种病原菌表面，通过聚集、细胞凋亡及调理作用等抑制病原体生长并中和病原体。SP-D 参与多种肺部疾病的发生与发展过程。研究证实，多种结缔组织病包括 RA、干燥综合征、SLE、炎性疾病并发的间质性肺炎其血清 SP-D 水平明显增高，可作为外周血的生物学标志物用于对 RA-ILD 的辅助诊断。

(陈捷 武永康 王兰兰)

第三节 系统性红斑狼疮与自身抗体检测

系统性红斑狼疮(SLE)是一种由自身抗体和免疫复合物介导，引起组织、器官损伤的自身免疫性疾病。该病易发于育龄期女性，究其原因可能是激素水平、X 染色体上的基因(如 TREX1)及表观遗传的性别差异等因素导致。经抗原刺激后，女性往往比男性有更高的抗体反应。患者血清中通常可检测到以 ANA 为代表的多种自身抗体，且同一患者体内常可检测到多种自身抗体，截至目前，SLE 患者体内发现的自身抗体近 200 种，这些自身抗体与相应抗原结合形成的免疫复合物可沉积在结缔组织、肾小球基底膜、浆膜和多种脏器小血管壁上并激活补体，吸引中性粒细胞和淋巴细胞迁移浸润，造成局部组织乃至多个系统的慢性炎症损伤。SLE 的诊断主要根据临床特征和自身抗体。SLE 的实验室检测指标主要包括：ANA、免疫学指标、血液系统和肾脏功能的实验室检测等。其中 98% 以上的患者在病程中会出现 ANA 阳性，高滴度抗 dsDNA 抗体阳性和抗 Sm 抗体阳性对 SLE 的诊断具有特异性。如果始终缺乏临床表现证据，尽管有多项自身抗体阳性，临幊上还是不能诊断为 SLE，提示患者有很高的患病风险，应密切随访以便尽早做出诊断并及早治疗。

一、实验室分析路径

实验室分析路径见图 20-3。

二、相关实验

自身抗体检测对 SLE 的诊断和治疗效果监测具有重要意义，ANA 作为 SLE 最重要的实验室诊断指标，大约 95% 的 SLE 患者 ANA 阳性，虽然极少数 SLE 患者 ANA 阴性，但其多数为经治疗转阴或临床表现很轻的患者，因此，在一定程度上讲，ANA 阴性可基本排除 SLE。但 ANA 阳性未必都是 SLE 患者，很多其他自身免疫性疾病、病毒性肝炎、甚至部分健康老年人也会出现低滴度的 ANA 阳性。由于 ANA 对于诊断 SLE 敏感性很高但特异性较差，通常情况下，当 ANA 阳性时，还需进一步进行确诊实验以明确具体自身抗体的种类，这样才能对疾病做出正确的诊断。

1. ANA 是诊断 SLE 的筛选性实验，ANA 作为 SLE 的分类诊断标准之一。对于疑诊 SLE 的患者，ANA 是实验室检测的首选指标。通常采用以 HEp-2 细胞为底物的间接免疫荧光法(IIF)进行血清或血浆检测，如为阳性，还需做抗体滴度检测，正常人参考值为阴性。

2. 抗 dsDNA 抗体 抗 dsDNA 抗体也是 SLE 的诊断标准之一，且与疾病活动度相关，其在评估病情活动及肾脏损害方面有较高的应用价值。通常采用以绿蝇短膜虫或马尾锥虫为底物的 IIF 法进行血清或血浆检测，如为阳性需做抗体滴度检测，正常人参考值为阴性。也可采用纯化抗原包被的 ELISA 法进行检测，但这一方法检测敏感度较高，疾病诊断特异性降低，临幊上应结合检测方法对检测结果进行合理解释和应用。

3. 抗 Sm 抗体 抗 Sm 抗体是 SLE 的标记性抗体之一，特异性高达 99%，但灵敏度仅为 30% 左右，阴性并不能排除 SLE 的可能性。通常采用纯化抗原的免疫印迹法或 ELISA 法或化学发光法进行血清或血浆检测，如为阳性提示患者体内有抗 Sm 抗体存在，正常人参考值为阴性。

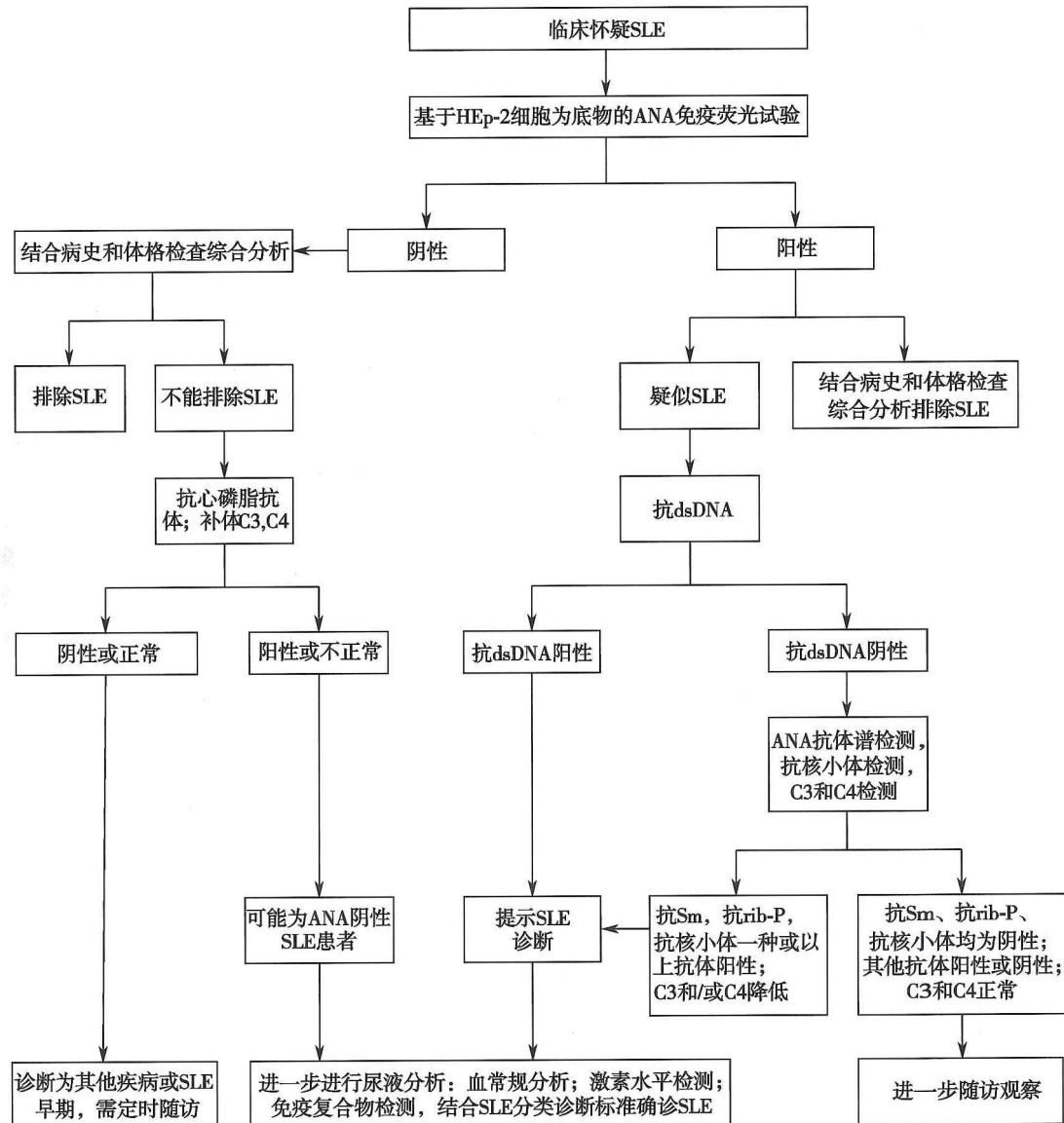


图 20-3 系统性红斑狼疮实验室分析路径图

4. 抗组蛋白抗体(AHA) AHA 在 SLE 及药物性狼疮(DIL)患者中均可出现阳性,但 DIL 患者抗 dsDNA 抗体和抗 Sm 抗体通常均为阴性,因此多种抗体结合试验可作为 SLE 及 DIL 的鉴别实验。

5. 抗 rib-P 蛋白抗体 抗 rib-P 蛋白抗体为近年发现的另一 SLE 标记性抗体,在其他自身免疫性疾病患者中较少见。通常采用纯化抗原的免疫印迹法或 ELISA 法或化学发光法进行血清或血浆检测,如为阳性提示患者体内有抗 rib-P 蛋白抗体存在,正常人参考值为阴性。

6. 抗核小体抗体(anti-nucleosome antibodies, AnuA) 抗核小体抗体是诊断 SLE 较好的另一个实验诊断指标。临床通常使用纯化抗原的 ELISA 法或免疫印迹法或化学发光法进行血清或血浆检测,正常人检测结果为阴性。

7. 抗磷脂抗体 抗磷脂抗体包括抗心磷脂抗体、抗 β_2 -糖原体 1 抗体及狼疮抗凝物检测。临床常用纯化抗原的 ELISA 法或化学发光法进行血清或血浆检测,还可分别检测出血清中 IgG、IgA、IgM 型抗磷脂抗体,正常人检测结果为阴性。

三、结果判断与分析

IIF 法进行 ANA 检测是 SLE 临床诊断与鉴别诊断最为重要的筛选试验, 使用 IIF 检测 ANA 比

ELISA 实验和 / 或磁珠分离法可靠,特异性高。ANA 阳性者需进一步检测各亚类 ANA 抗体,ANA 抗体谱的检测对于明确疾病诊断、临床分型、病情观测、预后及治疗评价都具有重要意义。

(一) 筛选实验

ANA 是诊断 SLE 的首选筛选性实验,95% 左右未经治疗的 SLE 患者均可检出 ANA,但 ANA 不是 SLE 的特异性自身抗体,ANA 也可见于 DIL、MCTD、RA 和 SSc 等其他风湿性疾病,在感染、肿瘤及少数正常人中也可出现低滴度的 ANA。ANA 阳性需进一步做确诊试验,以确定自身抗体的种类及含量,通常低滴度水平的自身抗体不具有临床意义。另有约 5% 的 SLE 患者 ANA 可为阴性,临床诊断时应结合其他诊断指标和临床症状进行综合分析。

(二) 确诊实验

1. 抗 dsDNA 抗体、抗 Sm 抗体、抗 rip-P 抗体 这三种自身抗体均为 SLE 的特异性标记抗体,临床怀疑是 SLE 的患者,ANA 筛选结果为阳性,需进一步检测抗 dsDNA 抗体、抗 Sm 抗体、抗 rip-P 抗体,三种自身抗体中的一种或一种以上阳性时,则对诊断 SLE 具有重要价值。抗体阳性种类越多,其诊断预示价值越大。但如果有较典型的临床症状,而这三种自身抗体检测阴性也不能排除 SLE 的诊断。抗 dsDNA 抗体与 SLE 疾病的活动程度相平行,抗 dsDNA 抗体的滴度可随时间改变。某些患者抗 dsDNA 抗体滴度的升高,尤其是伴有补体 C3 和 C4 水平降低时提示疾病活动,特别是肾炎和血管炎的急性复发。当临床采用免疫冲击治疗时,抗 dsDNA 抗体的滴度会显著降低,甚至转为阴性。抗 Sm 抗体同样是 SLE 的特异性抗体,对诊断有辅助作用,但抗 Sm 抗体水平不与 SLE 疾病的活动度与临床表现相关。抗 rib-P 抗体与精神症状的中枢神经损伤型 SLE 有关。

2. 抗 PCNA 抗体 抗 PCNA 抗体即为抗增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)的抗体对 SLE 有很高的特异性,为 SLE 另一标志性抗体,该抗体很少见于其他疾病,但其检测灵敏度仅为 3%~6%。有研究表明,抗 PCNA 抗体可能与 SLE 患者发生弥漫性增殖性肾小球肾炎有关。

3. AnuA AnuA 检测用于 SLE 诊断的特异性为 98% 左右,在 SLE 中的阳性率为 70%~90%。在非活动期的检出率为 62%,其阳性率均高于抗 dsDNA 抗体,尤其对于非活动期的患者,且该抗体的出现比抗 dsDNA 抗体早,因此,不但有助于提高 SLE 的诊断率,还有助于早期诊断。此外,该抗体还是 SLE 病情恶化的早期标志,定期检测有助于病情观察。

4. 抗心磷脂抗体 抗心磷脂抗体阳性的 SLE 患者发生血管炎、溶血性贫血、心脏及中枢神经系统损害的概率明显高于抗心磷脂抗体(anticardiolipin antibody, ACA)阴性者。抗 β_2 -糖原体 1 抗体是针对心磷脂的辅助因子 β_2 -糖原体 1 的抗体。狼疮抗凝物质(lupus anticoagulant, LAC)是一种磷脂依赖性的病理性循环抗凝物质,为免疫球蛋白 IgG、IgM 或两者混合型的抗磷脂抗体,主要存在于 SLE 等自身免疫性疾病、肿瘤,也可见于动、静脉血栓形成及习惯性流产患者,抗磷脂抗体是 SLE 实验室诊断的指标之一,其阳性对于 SLE 的诊断与病程发展具有重要提示价值。

(三) 鉴别实验

1. 抗组蛋白抗体(AHA) SLE 患者中 AHA 的阳性率为 30%~80%,由于 SLE 患者的异质性较大,试剂盒检测结果差异也较大,因此 AHA 对于 SLE 的预示价值跨度较大,但约 30% 的 SLE 确诊患者会伴有抗 dsDNA 抗体阳性,在 SLE 患者中 AHA 主要以抗 H2A、抗 H2A-2B 和抗 H1 的 IgG 型抗体为主。95% 以上的 DIL 可出现 AHA,不同的药物可诱导出针对不同组蛋白的抗体,其中最主要的是针对靶抗原 H2A-2B 的抗体。AHA 主要用于区分 DIL 与 SLE,DIL 患者抗组蛋白抗体阳性,抗 dsDNA 抗体通常为阴性,而 SLE 抗组蛋白抗体为阳性,抗 dsDNA 抗体可为阳性或阴性,部分患者可通过该实验进行鉴别诊断。

2. 梅毒血清假阳性实验 SLE 患者由于血清存在抗磷脂抗体,抗磷脂抗体与梅毒血清反应易造成假阳性而导致梅毒实验假阳性反应,这是因磷脂抗原与梅毒抗原有抗原交叉成分造成,在某种情况下,还应注意区分 SLE 患者患梅毒的可能性,此时有必要进行分子诊断学进行螺旋体 DNA 序列检测。梅毒血清假阳性实验属于 SLE 分类诊断标准之一,主要用于对患者抗磷脂抗体的鉴别检测。但在临床实践中,梅毒假阳性血清反应在 SLE 中的阳性率明显低于抗磷脂抗体的阳性检出率。

(胡 静 武永康 王兰兰)

第四节 混合型结缔组织病与自身抗体检测

混合型结缔组织病(MCTD)是指临幊上有类似系统性红斑狼疮(SLE)、系统性硬化症(SSc)、多发性肌炎(PM)、皮肌炎(DM)和类风湿性关节炎(RA)的混合表现,而不能确定其为哪一种疾病,并伴血清中有高滴度的颗粒型抗核抗体(ANA)和抗U1RNP抗体的自身免疫性疾病,肾脏受累少,对皮质激素效果好,预后佳。该病病因及发病机制尚不明确。MCTD的发病与遗传素质,尤其是HLA-DR4、DR5有关。氯乙烯和二氧化硅是目前认为与MCTD有关的环境因素。关于MCTD是否为一独立疾病,学术界尚存在不同见解。近年来主要采用Sharp于1986年提出的诊断标准,因此,MCTD又称为Sharp综合征。在其分类诊断标准中高滴度的抗U1RNP抗体是实验室诊断的一项最重要指标。

一、实验室分析路径

实验室分析路径见图20-4。

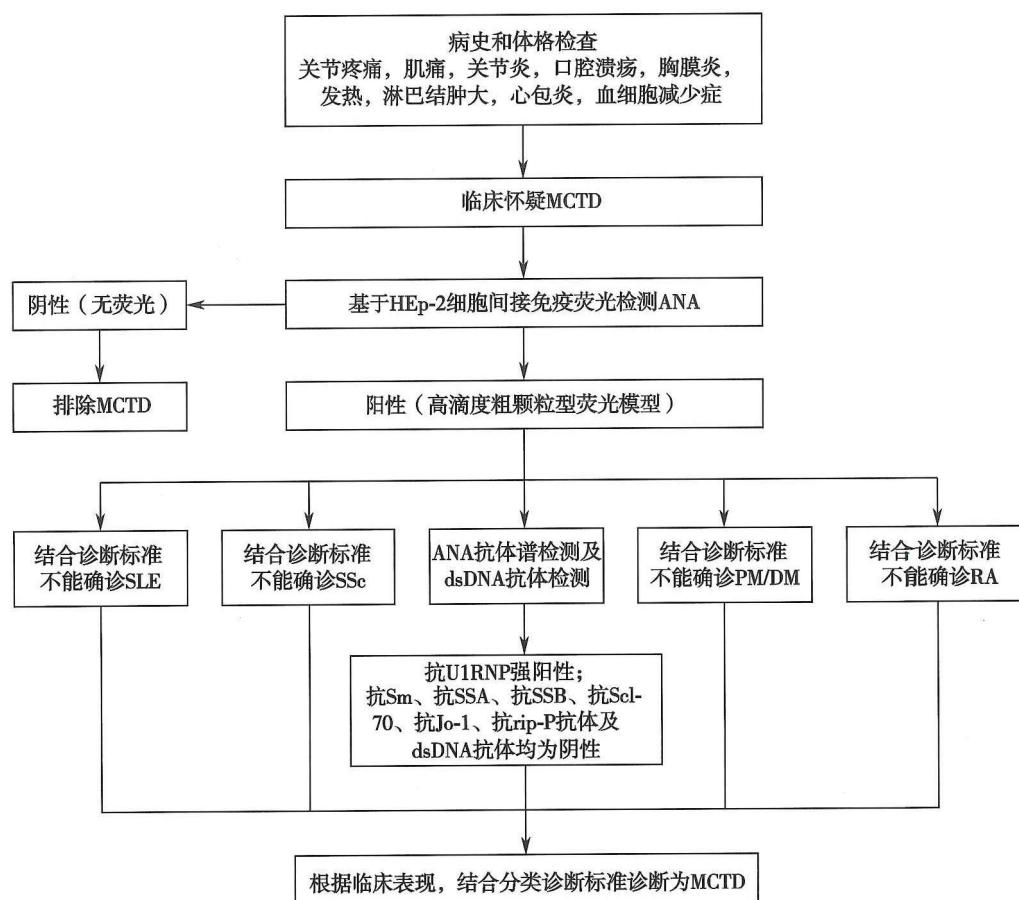


图 20-4 混合型结缔组织病实验室分析路径图

二、相关实验

MCTD是一种以高滴度ANA和抗U1RNP抗体为典型血清学特征的自身免疫性疾病,但由于本病诊断需排除SLE、PSS、PM、DM及RA。临幊上常需进行MCTD的筛选实验和鉴别实验以明确诊断。

1. ANA 由于抗U1RNP抗体是ANA的一种,依据MCTD的诊断标准,所有的MCTD患者抗U1RNP抗体均为强阳性,因此所有MCTD患者ANA均应为阳性,ANA荧光模型为抗U1RNP抗体所对应的颗粒型。

2. 抗 U1RNP 抗体 鉴于抗 U1RNP 抗体阳性是 MCTD 的诊断标准之一,因此该自身抗体检测是疑诊 MCTD 的必查项目。

3. 抗 Sm 抗体、抗 dsDNA 抗体 是诊断 SLE 较为特异的自身抗体,由于 MCTD 患者易与 SLE 混淆,检测抗 Sm 抗体、抗 dsDNA 抗体可对 MCTD 进行鉴别诊断。

4. 类风湿因子、抗 CCP 抗体、AKA 是诊断 RA 的临床常规检测指标,为了鉴别 MCTD 与 RA 患者,检测上述抗体以排除 RA 患者,协助确诊 MCTD。

5. 抗 Scl-70 抗体和抗 Jo-1 抗体 分别是诊断 SSc 和 PM/DM 较为特异的自身抗体。由于 MCTD 患者须与 SSc 和 PM/DM 进行鉴别,检测抗 Scl-70 抗体和抗 Jo-1 抗体有助于对 MCTD 进行鉴别诊断。

三、结果判断与分析

(一) 筛选实验

ANA 作为抗 U1RNP 抗体的筛选性实验,HEp-2 细胞中已含有 U1RNP(70KD)抗原,抗 U1RNP 抗体阳性时 ANA 荧光检测结果表现为高滴度的粗颗粒型荧光模型,但除抗 U1RNP 抗体外,还会有多种自身抗体如抗 Sm,抗 SSA 抗体等均会出现类似的荧光模型,因此,当采用 IIF 法检测 ANA 时,出现粗颗粒型荧光模型还须进一步进行确诊实验,以确定自身抗体具体种类。而 ANA 阴性可排除抗 U1RNP 阳性可能性,因此 ANA 阴性可排除 MCTD 的诊断。

(二) 确诊实验

抗 U1RNP 抗体是 MCTD 的实验室诊断标准,因此,抗 U1RNP 抗体被认为是 MCTD 的必备诊断标志,阴性可排除 MCTD 的诊断。但该抗体并不特异,其他自身免疫性疾病如 SLE 等也会出现阳性结果,阳性时也应结合其他诊断指标综合分析。抗 U1RNP 抗体可以在患者体内持续多年,其滴度可根据疾病活动程度的变动而变化,但在长期缓解的患者,该抗体水平可显著下降或转阴。

(三) 鉴别实验

1. 抗 Sm 抗体 抗 Sm 抗体几乎仅见于 SLE 患者体内,MCTD 患者无抗 Sm 抗体,而有高滴度的抗 U1RNP 抗体,因此在 MCTD 诊断过程中,需同时检测抗 U1RNP 抗体和抗 Sm 抗体,若抗 Sm 抗体阳性可排除 MCTD,而倾向于诊断 SLE。

2. 抗 dsDNA 抗体 抗 dsDNA 抗体也与抗 Sm 抗体一样是 SLE 的标志性抗体,其与抗 U1RNP 抗体同时检测对 MCTD 和其他自身免疫性疾病的鉴别诊断具有重要意义。

3. RF 75%MCTD 患者有炎症性关节炎,RF 常增高,但 RF 过高在 RA 诊断特异性增高,因此,诊断 MCTD 应排除 RA 的可能。

4. AKA 和抗 CCP 抗体:由于 AKA 和抗 CCP 抗体对于 RA 的诊断具有较高的诊断特异性,其阳性对排除 MCTD 具有重要的提示价值。

5. 抗 Scl-70 抗体和抗 Jo-1 抗体:鉴于 MCTD 需排除与其易混淆的 SSc 和 PM/DM,因此检测针对上述两类疾病较特异的抗 Scl-70 抗体和抗 Jo-1 抗体有助于对 MCTD 进行诊断和鉴别诊断。

(武永康 王兰兰)

第五节 强直性脊柱炎与自身抗体检测

强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis,AS)是以骶髂关节炎和中轴关节及其附属组织慢性炎症性病变为主要特征的一类自身免疫性疾病,随病情发展可累及内脏和其他组织,并发前葡萄膜炎、弥漫性间质性肺纤维化和虹膜睫状体炎等。AS 多发于青壮年,男性多于女性。目前 AS 的确切病因尚不明确,现有研究表明 AS 的发病原因涉及遗传因素、环境因素、免疫功能紊乱、微生物感染等多个方面。AS 的诊断主要依赖于详细的病史、细致的体格检查和影像学检查,目前尚未发现 AS 的特异性生物标志物。人类白细胞抗原-B27(human leucocyte antigen-B27,HLA-B27)与 AS 的发病有着极为密切关系,是参与 AS 发生发展的重要分子。HLA-B27 检测在辅助 AS 患者诊断中发挥重要作用。

一、实验室分析路径

实验室分析路径见图 20-5。

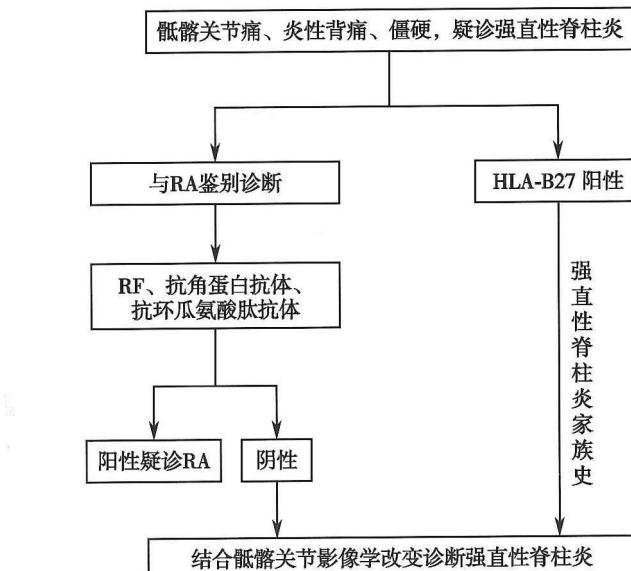


图 20-5 强直性脊柱炎实验室分析路径图

二、相关实验

HLA-B27 检测主要分为抗原检测和基因检测，检测方法主要包括：补体依赖性微量细胞毒试验 (microlymphocytotoxicity, MLCT)、酶联免疫吸附试验 (ELISA)、流式细胞术 (FCM) 和序列特异引物聚合酶链反应 (PCR) 法等。微量淋巴细胞毒试验是最早建立的 HLA-B27 检测方法，但由于实验条件难以控制、HLA 高度多态性等因素，容易出现误判和错判，目前已不再用于临床检测。ELISA 法使用单克隆抗体包被微孔板，检测样本中的 HLA-B27 抗原，具有操作简便、无需特殊仪器等优点，适合基层医院开展；但是 ELISA 方法灵敏度有限、比较容易出现交叉反应，且其检测的是脱落于血液样本中的 HLA-B27 分子不能反映细胞表面 HLA-B27 分子的表达情况，在 HLA-B27 的检测中也逐渐被淘汰。目前临床检测 HLA-B27 最常用的方法是 FCM 法和 PCR 法。

1. 流式细胞术检测细胞表面 HLA-B27 分子 基于流式细胞术 (FCM) 的 HLA-B27 的检测是用荧光标记的单克隆抗体同时标记 CD3⁺T 细胞及其表面的 HLA-B27 分子，检测淋巴细胞亚群中表达 HLA-B27 分子的 CD3⁺T 细胞所占比例，依据所设定的临界值判断 HLA-B27 分子的阴阳性。FCM 法只测定淋巴细胞上 HLA-B27 表达，排除了其他细胞的干扰，样本处理时间短、操作简便、上机检测速度快、灵敏度高、重复性好、自动化程度高、人为影响较小，是目前临幊上应用最广、接受度最高的 HLA-B27 检测方法。

2. 序列特异引物聚合酶链反应检测 HLA-B27 等位基因 序列特异引物聚合酶链反应 (PCR) 技术从基因层面对 HLA-B27 等位基因进行定性判断。根据 HLA-B27 等位基因的碱基差异设计引物，特异性扩增相应的等位基因，根据有无 PCR 扩增产物而鉴定相应等位基因。荧光实时定量 PCR (RT-PCR) 检测 HLA-B27 基因已经形成成熟的检测方法，具有较高的灵敏度和特异性，逐步得到医务工作者的认可。荧光实时定量 PCR 法 HLA-B27 基因检测，可以较好地避免血清学方法的大多数缺点和不足，并且可以进一步区分 HLA-B27 的多种亚型，为 AS 临幊诊治提供更多的信息。PCR 技术具有极高的灵敏度，会对检测错误进行无限的放大，容易造成假阳性或者假阴性的结果，所以检测过程应进行严格的质量控制、对于结果的报告要谨慎。

三、结果判断与分析

AS 的诊断主要依据临床症状、体征、影像学检查(X 线、CT、MRI)和实验室检查。AS 患者多以“慢性炎性腰背疼痛不适”为主诉就诊,此时患者多处于疾病中、晚期,患者的临床表现典型并出现明显的影像学改变,根据临床资料一般可以做出明确的诊断。在 AS 发病早期、无明显的影像学变化(缺乏足够的骶髂关节炎影像学证据)时,诊断较困难。HLA-B27 检测在 AS 患者的早期诊断和鉴别诊断中发挥较为重要的作用。

HLA-B27 位于人体第 6 号染色体短臂上,由 8 个外显子和 7 个内含子组成。其表达产物是 HLA-B27 分子,属于主要组织相容性复合体 I 类分子。目前鉴定出的 HLA-B27 亚型已有 150 多种,其中常见 AS 相关亚型有 B*2705、B*2704、B*2703、B*2702、B*2701 等。其中白种人 B*2705 亚型占 96%;非洲黑人以 B*2703 为主,占 61%;中国汉族人群以 HLA-B*2705(40.68%) 和 HLA-B*2704(50.85%) 为主。总体而言,B*2704 与 AS 的关联性最强,其次是 B*2705、B*2702 和 B*2707。正常人群 HLA-B27 阳性率因种族和地区不同差别很大,欧洲白种人为 4%~13%,我国为 2%~7%。

流行病学调查显示,我国 AS 患者 HLA-B27 阳性率高达 90% 以上,表明 HLA-B27 与 AS 具有明显相关性,可作为 AS 诊断的重要参考指标。但是 HLA-B27 对 AS 无诊断特异性,HLA-B27 阳性者大约 80% 并不发生 AS,同时大约 10% 的 AS 患者 HLA-B27 为阴性,HLA-B27 也可能在其他相关疾病(如银屑病性关节炎、反应性关节炎和肠性关节炎)中出现阳性。因此,不能单独依靠 HLA-B27 来诊断 AS。HLA-B27 阳性不能确诊 AS,但提示患 AS 的概率较高;HLA-B27 阴性患者如果临床表现和影像学检查符合诊断标准也不能排除 AS。对于无明显的影像学变化但疑似 AS 的患者,HLA-B27 检测有助于早期诊断。HLA-B27 阳性的 AS 患者更易出现关节外表现(如:急性前葡萄膜炎)。

不同方法检测 HLA-B27 的检测结果有一定差异。在流式细胞术(FCM)检测过程中,由于分子结构相似,HLA-B27 与其他分子(如 HLA-B7)间可能出现交叉反应,对于接近临界值的标本要注意交叉反应的影响,可通过进行跟踪监测或者采用其他方法进行验证。对抗原弱表达的 HLA-B27 基因携带者,荧光实时定量 PCR 检测可以从基因层面对 HLA-B27 做出定性判断,更有利于疾病的早期、准确诊断。在条件允许的情况下建议采取 FCM 法和荧光实时定量 PCR 法同时检测,以提高检测的准确性。

由于强直性脊柱炎(AS)、类风湿性关节炎(RA)、骨关节炎(OA)临床症状有重叠,应注意鉴别诊断。骨关节炎(OA)为非自身免疫性疾病,常见于老年人,特征为骨骼和软骨变性、肥厚,滑膜增厚,受损关节以负重的脊柱和膝关节较常见,累及脊椎者常以慢性腰背痛为主要症状,与 AS 易混淆。但本病不发生关节强直及肌肉萎缩,无全身症状,X 线表现为骨赘生成和椎间隙变窄。RA 和 AS 同为自身免疫性疾病。RA 以女性多见,通常先侵犯手足小关节,且呈双侧对称性,骶髂关节一般不受累,如侵犯脊柱,多只侵犯颈椎,且无椎旁韧带钙化,有类风湿皮下结节。除临床症状和影像学差异外,可通过检测 HLA-B27 及对 RA 较为特异的类风湿因子(RF)、抗角蛋白抗体(AKA)、抗环瓜氨酸多肽(CCP)抗体等实验室指标帮助鉴别诊断。OA 患者上述四项指标均为阴性;RA 患者 RF、AKA 和抗 CCP 抗体三项指标多出现一项或多项阳性,HLA-B27 常为阴性;AS 患者 RF、AKA 和抗 CCP 抗体三项检测指标常为阴性。临床症状、影像学改变支持 AS 诊断或和 HLA-B27 为阳性,RF、AKA 和抗 CCP 抗体中的一项或多项出现阳性时,应考虑 AS 和 RA 重叠症。

(白杨娟 武永康 王兰兰)

第六节 多发性肌炎 / 皮肌炎与自身抗体检测

特发性炎性肌病(idiopathic inflammatory myopathy,IIM)是一种以侵害骨骼肌为主的全身性系统性自身免疫性疾病,临床特点为骨骼肌无力、皮肤病变、系统性器官损害以及有特异性自身抗体的产生。多发性肌炎(polymyositis,PM)和皮肌炎(dermatomyositis,DM)是最常见的 2 种类型。仅出现肌肉受累而无皮疹者称为多发性肌炎。本病可发生在任何年龄,女性比男性多一倍。约 20% 的 PM/DM 患者合并系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、干燥综合征、风湿热和硬皮病等,约 25% 的患者可并发恶性肿瘤等。除横纹肌和皮肤

外,疾病还可累及心、肺、肾、消化道、关节等全身多个脏器和系统,尤其是PM/DM相关间质性肺炎(PM/DM-ILD)是导致患者死亡的重要原因。该病发病与病毒感染、免疫异常、遗传及肿瘤等因素有关。PM/DM以对称性四肢近端肌无力和骨骼肌特发性炎症为特征性临床表现,肌电图(EMG)示活动性肌病改变,肌病理活检以横纹肌纤维变性和间质炎症为特点,血清学表现可见骨骼肌源性的肌酶和肌红蛋白增高、相关自身抗体阳性等。相关自身抗体的检测在PM/DM的诊断、分型、预后评估等方面均发挥重要作用。

一、实验室分析路径

实验室分析路径见图20-6。

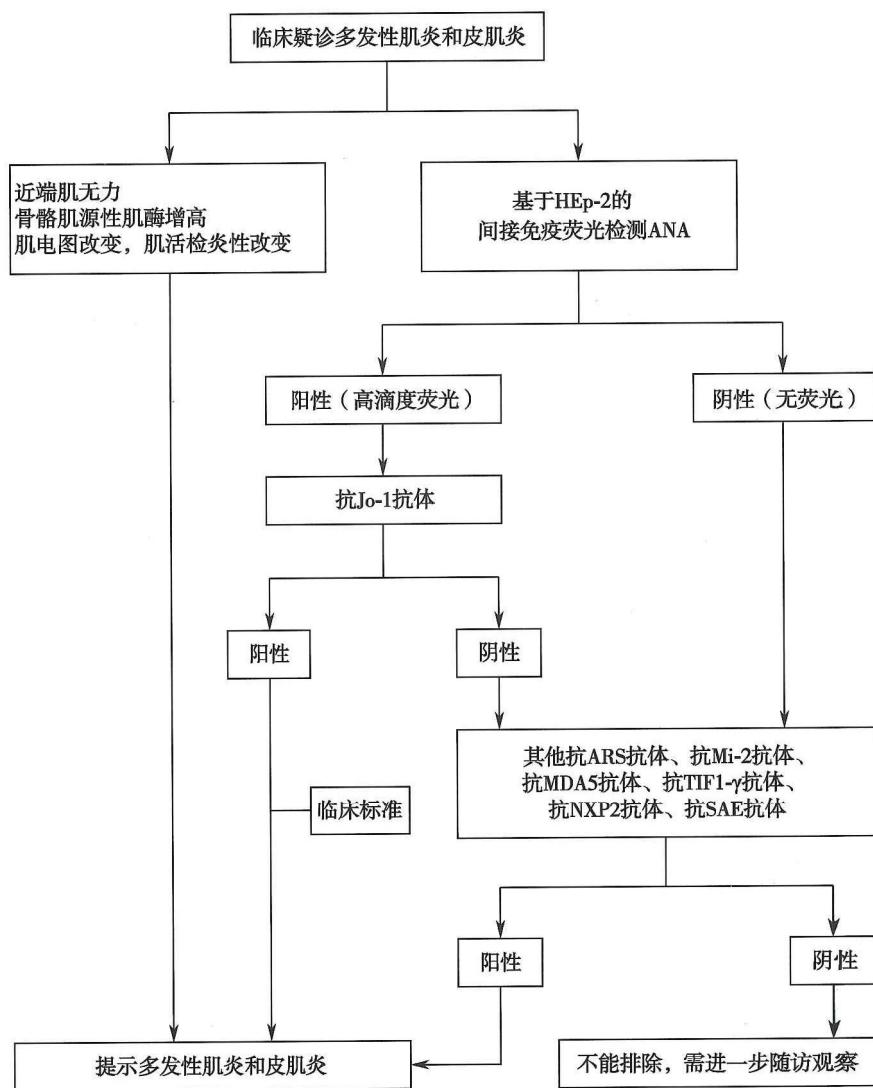


图 20-6 多发性肌炎皮肌炎实验室分析路径图

二、相关实验

1. 血清激酶检测 见相关章节。
2. 血清肌红蛋白检测 见第七章相关内容。

3. 抗核抗体(ANA) 目前ANA包括抗HEp-2细胞核和细胞浆成分的自身抗体,而针对PM/DM较特异性的抗Jo-1抗体和抗Mi-2抗体的靶抗原分别存在于细胞浆和细胞核中,因此以HEp-2细胞为底物的IFA法检测ANA是检测抗Jo-1抗体和抗Mi-2抗体的筛选性实验,抗Jo-1抗体ANA荧光模型为胞

浆型,抗 Mi-2 抗体 ANA 荧光模型为核质细颗粒型。

4. 自身抗体 自身抗体检测是 PM/DM 实验室诊断的重要组成部分,这些自身抗体可以利用组织基质、纯化抗原或重组抗原,使用免疫沉淀法、免疫印记法或 ELISA 法进行测定。正常人检测结果为阴性。

(1) 抗氨基酸-tRNA 合成酶抗体 (ARS 抗体): ARS 抗体是一组以氨基酸-tRNA 合成酶为靶抗原的自身抗体,目前已发现 8 种抗 ARS 抗体:抗组氨酰 tRNA 合成酶 (Jo-1) 抗体、抗苏氨酸酰 tRNA 合成酶 (PL-7) 抗体、抗丙氨酸酰 tRNA 合成酶 (PL-12) 抗体、抗甘氨酸酰 tRNA 合成酶 (EJ) 抗体、抗异亮氨酸酰 tRNA 合成酶 (OJ) 抗体和、抗天冬氨酸酰 tRNA 合成酶 (KS) 抗体、抗苯丙氨酸酰 tRNA 合成酶抗体和抗酪氨酸酰 tRNA 合成酶抗体。抗 ARS 抗体是特发性肌炎最常见的自身抗体。Jo-1 抗体是 ARS 抗体中阳性率组最高的抗体,也是目前常规检测的针对 PM/DM 的自身抗体。

(2) 抗 Mi-2 抗体:抗 Mi-2 抗体的靶抗原是分子量为 218×10^3 的核内蛋白质,具有锌指和解链酶的功能。抗 Mi-2 抗体最早通过是使用小牛胸腺提取物作为抗原进行定义的,是第一个被报道的皮肌炎特异性自身抗体。

(3) 抗 MDA5 抗体:抗黑色素瘤分化相关基因 5 抗体 (melanoma differentiation associated gene 5, MDA5) 最早于 2005 年在一组无肌病皮肌炎 (ADM) 患者中检测出,因其靶抗原相对分子质量为 140ku,故将之命名为抗 ADM-140 抗体,后来其靶抗原被确定为 MDA5 蛋白,故将其改名为抗 MDA5 抗体。

(4) 抗 TIF1- γ 抗体:抗转录中介因子 1 (transcription intermediary factor 1- γ , TIF1- γ) 抗体的靶抗原为转录中介因子 1- γ (TIF1- γ)。TIF1- γ 广泛存在于各种真核生物的细胞中,并且与 RNA 聚合酶一起构成 RNA 聚合酶 II 全酶,在基因转录过程中发挥着桥梁的作用,可以抑制或激活转录。TIF1- γ 在与肿瘤发生相关多个途径发挥关键作用。TIF1- γ 结构变化可能是激活机体免疫系统产生抗 TIF1- γ 抗体的原因。

(5) 抗 NXP2 抗体:抗核基质蛋白 2 (nuclear matrix protein, NXP2) 抗体的靶抗原是一种分子量为 140kD 的核蛋白——NXP2 (又称: MROC3)。NXP2 在 RNA 代谢和核结构维持等方面起重要作用。

(6) 抗 SAE 抗体:抗小泛素样修饰物激活酶 (small ubiquitin-like modifier activating enzyme, SAE) 抗体的靶抗原是分子量分别为 40kD 和 90kD 异源二聚体蛋白,即小泛素样修饰物激活酶 A 亚基 (SAE1) 和 SUMO-1 激活酶 B 亚基 (SAE2)。这些酶参与特定蛋白质的翻译后修饰 (类泛素化)。

三、结果判断与分析

PM/DM 临床诊断主要依据病理活检,但这种有创检查手段患者较难接受。血清肌酶是 PM/DM 患者常用血清学指标。肌炎特异性抗体和肌炎相关性抗体等自身抗体检测对 PM/DM 的诊断和预后判断等具有重要意义。

1. 血清肌酶 绝大多数患者可出现肌酶活性增高,是 PM/DM 的重要诊断、疗效监测及预后评价指标。血清肌酶包括肌酸激酶 (CK)、乳酸脱氢酶 (LDH)、醛缩酶 (ALD)、门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、碳酸酐酶 III 等,它们均可在 PM/DM 患者出现升高,其中 CK 最为敏感,可高达正常上限的 5~50 倍,甚至更高。PM/DM 患者主要以 CK-MM 改变为主。CK 改变常先于肌力变化,急性期可出现血沉加快和 CRP 升高。CK 变化可部分反映患者的治疗效果及是否复发,但 CK 的增高程度并不完全与肌无力程度平行。在一些慢性肌炎和广泛肌肉萎缩的患者,即使处于活动期其肌酶水平也可正常。血清肌酶增高并不特异,各种肌病 (如进行性肌营养不良发作期、病毒性心肌炎、挤压综合征等严重肌肉损伤) 及心肌梗死均可引起肌酶升高。

2. 肌红蛋白 多数肌炎患者会出现血清中肌红蛋白升高,且与病情呈平行关系,有时其升高可先于血清肌酶升高。但该指标缺乏特异性,心肌、横纹肌出现损伤、炎症或剧烈运动均可引起肌红蛋白升高。

3. 自身抗体 PM/DM 涉及的自身抗体包括肌炎特异性自身抗体 (myositis-specific autoantibody, MSA) 和肌炎相关性自身抗体 (myositis-associated autoantibody, MAA) 两大类。肌炎相关性自身抗体 (MAA),如抗 SSA,抗 U1RNP,抗 Ku 和抗 PM-Scl,常提示可能合并的其他的结缔组织疾病 (如系统性硬化症、红斑狼疮、干燥综合征等),其中抗 Ku 抗体阳性的患者易合并间质性肺病 (ILD)。MSA 抗体包括抗 ARS 抗体、抗 Mi-2 抗体、抗 MDA5 抗体、抗 TIF1- γ 抗体、抗 SRP 抗体、抗 SAE 抗体、抗 NXP-2 抗体等。一般而言,每例患者仅能检出一种 MSA,每例患者检测到 2 种以上 MSA 非常罕见。MSA 与特定的临床

亚型相关,MSA 检测有助于 PM/DM 的诊断、鉴别诊断、并发症预测和预后判断,同时可以帮助临床医师为患者选择更为合适的个体化治疗方案。

(1) 抗氨基酰合成酶(aminoacyl-tRNA-synthetase,ARS)抗体:抗 ARS 抗体是特发性肌炎患者中最常见的一类特异性自身抗体。抗 ARS 抗体在成人 PM/DM 中更常见,在青少年 PM/DM 中较少见(阳性率<5%)。抗 ARS 抗体阳性者常伴有抗合成酶抗体综合征(antisyn-thetase-syndrome,ASS),包括:肌炎、肺间质改变、关节炎、发热、雷诺现象和“技工手”等。ASS 患者有很多共同特征,但不同抗体所对应的临床表现仍存在一定的异质性。

间质性肺病(interstitial lung disease,ILD)是肌炎最常见的并发症之一,是肌炎患者死亡的主要原因之一,对其早期识别和积极治疗非常重要。抗 ARS 抗体是 ILD 最敏感的预测指标。抗 ARS 与 ILD 的发生密切相关,抗 ARS 阳性的 ASS 患者,ILD 患病率可达到 90% 以上。

抗 Jo-1 抗体在抗 ARS 抗体中阳性率最高,占 60%~80%。抗 Jo-1 抗体在 PM/DM 中阳性率约 25%,其产生可先于症状的出现。在 PM/DM-ILD 中,抗 Jo-1 抗体阳性患者通常经历慢性病程,对激素治疗有反应、预后尚可。

(2) 抗 Mi-2 抗体:在特发性肌炎患者中,抗 Mi-2 抗体阳性主要见于皮肌炎患者,在成年型皮肌炎中的阳性率为 11%~59%,在青少年肌炎中的阳性率为 4%~10%。抗 Mi-2 抗体与 Gottron 丘疹、向阳疹、“披肩”征、“V”型征、皮肤过度角化及光过敏等皮肌炎的特征性皮肤病变密切相关。抗 Mi-2 抗体阳性患者的组织病理表现为束周肌纤维缺血性损害,伴束周毛细血管缺失和以肌束衣为中心的炎性细胞浸润。目前认为,抗 Mi-2 抗体阳性 PM/DM 患者比阴性者预后更好、肌炎症状更轻且较少合并间质性肺炎(ILD)。Mi-2 蛋白在肿瘤细胞的形成中发挥重要作用,有报道指出抗 Mi-2 抗体阳性的患者发生肿瘤的风险增高,但二者确切关系仍需进一步研究。在治疗方面,抗 Mi-2 抗体阳性的患者对糖皮质激素、免疫抑制剂和利妥昔单抗的治疗反应较好。

(3) 抗 MDA5 抗体:无肌病性皮肌炎(CADM)是皮肌炎的一种特殊亚型,抗 MDA5 抗体与 CADM 密切相关。不同国家皮肌炎患者抗 MDA5 抗体阳性率存在差异,我国约 36%,日本约 15%,美国约 13%、欧洲约 12%。抗 MDA5 抗体阳性患者常表现为皮肤溃疡、可触痛的手掌丘疹、脱发、脂膜炎、关节炎,皮肤溃疡的发生率高于其他类型 DM 患者,在整个疾病过程中通常没有或极少出现肌肉受累。抗 MDA5 抗体阳性的 CADM 患者容易出现快速进展型间质性肺炎(RPILD),预后较差,死亡率较高。出现间质性肺炎快速进展前,部分抗 MDA5 抗体阳性的 CADM 患者可能出现高铁蛋白血症,且铁蛋白水平与疾病活动程度呈正相关。因此,关注抗 MDA5 抗体阳性的患者的肺部表现及血清铁蛋白水平,可以帮助尽早识别快速进展型间质性肺炎,降低相关病死率。治疗上建议给予大剂量的皮质激素、利妥昔单抗、钙调磷酸酶抑制剂、血浆置换等治疗。

(4) 抗 TIF1- γ 抗体:抗 TIF1- γ 抗体在青少年型和成年型皮肌炎患者中均可出现(阳性率分别为 32% 和 20%~40%),该抗体阳性的患者临床主要表现为四肢近端无力和广泛的皮肤损害,一些患者会出现银屑病样病变、手掌角化过度性丘疹、色素减退和毛细血管扩张所致的红白斑块。抗 TIF1- γ 抗体阳性的皮肌炎患者肌肉组织病理检查中可见典型的束周萎缩、MHC-I 染色阳性并向中心束区域呈典型的梯度改变和膜攻击复合物在毛细血管处沉积。

在青少年型皮肌炎患者中,抗 TIF1- γ 抗体阳性者常出现更严重的皮肤损害,而关节痛/关节炎和间质性肺炎(ILD)的发病率相对较低,病程晚期可出现一些较严重的并发症(如:脂肪代谢障碍)。在 40 岁以上成年皮肌炎患者中,抗 TIF1- γ 抗体阳性恶性肿瘤的发生率更高,然而在 40 岁以下成年及青少年型皮肌炎患者中,抗 TIF1- γ 抗体阳性与恶性肿瘤没有明显相关性。当成年 DM 患者出现抗 TIF1- γ 抗体阳性时应注意加强肿瘤的筛查,以便早发现早治疗。

(5) 抗 NXP2 抗体:抗 NXP2 抗体主要出现在儿童皮肌炎患者血清中,阳性率约 20%~25%;在成人皮肌炎患者血清中,抗 NXP2 抗体阳性率为 1%~20%。抗 NXP2 抗体阳性患者常伴有吞咽困难和肢体水肿,抗 NXP2 抗体阳性的儿童皮肌炎患者主要表现为严重的肌肉病变和皮肤钙沉积,成年男性抗 NXP2 抗体阳性肌炎患者有较高的肿瘤风险,应注意肿瘤筛查。抗 NXP2 抗体阳性患者,对糖皮质激素敏感,治疗效果较好。

(6) 抗 SAE 抗体: 抗 SAE 抗体是一种新型肌炎特异性抗体。DM 患者中, 抗 SAE 抗体阳性率为 3%~8.4%。抗 SAE 抗体阳性的皮肌炎患者皮损广泛, 与同样以皮损为主要表现的抗 Mi-2 抗体阳性患者相比, 抗 SAE 抗体阳性患者甲周毛细血管扩张显著, 大多数抗 SAE 抗体阳性患者出现皮肤病变并发展为肌炎, 并伴有吞咽困难等全身特征, SAE 抗体的血清水平与肌炎疾病活动度相关。抗 SAE 抗体阳性的患者对常规临床治疗方案的反应较好。

(白杨娟 武永康 王兰兰)

第七节 系统性硬化症与自身抗体检测

系统性硬化症 (systemic sclerosis, SSc) 又称硬皮病, 是一种病因未明确的不常见的自身免疫性全身性结缔组织病, 其特点是多系统受累, 临床表现多样, 慢性病程, 常进展至严重残疾和死亡。临幊上按病变受累范围可分为局限于皮肤的局限型硬皮病 (lcSSc) 和弥漫性系统性硬化 (dcSSc), SSc 临幊表现多样, 包括雷诺现象、皮肤增厚、皮肤硬化、指尖病变、毛细血管扩张、甲皱毛细血管异常、肺动脉高压 (PAH) 和间质性肺病 (ILD)、胃肠道并发症、肾脏并发症及心血管并发症等。根据皮肤受累的程度, 临幊上常将 SSc 主要分为: 局限型 SSc (lcSSc) 和弥散型 SSc (dcSSc)。局限型 SSc 皮肤增厚局限于手肘或膝盖的远端雷诺现象病史长, 并发症多发生于疾病晚期, 常见严重并发症为 PAH 及肠道疾病, 弥散型 SSc 除累及面部和四肢远端外, 还累及四肢近端及躯干, 雷诺现象病史短, 肾危象和心脏受累的风险增加, 常发生重度肺纤维化。硬皮病可与多种结缔组织病重叠发生, 最常见的是系统性红斑狼疮和皮肌炎。肺部病变在 SSc 患者中很常见, 是首要的死亡原因。局限型系统性硬化症 (lcSSc) 患者容易发生肺动脉高压 (PAH), 而弥漫型系统性硬化症 (dcSSc) 患者更容易发生 ILD。lcSSc 患者的内脏受累常呈隐匿性进展, APH、ILD、甲状腺功能减退和原发性胆汁性肝硬化等并发症可在疾病晚期出现。系统性硬化症患者常见发生食管受累, 胃食管反流是 ILD 发生和发展的危险因素。HRCT 扫描肺纤维化的程度与胃食管反流发生率一致, 支持反流与纤维化的相关性。

自身抗体是诊断早期 SSc 的重要生物标志物, 抗着丝点抗体 (ACA)、抗拓扑异构酶 I 抗体 (抗 Scl-70) 和抗 RNA 聚合酶 III 抗体是 2013 年 ACR/EULAR 系统性硬化症分类标准中提出的诊断性抗体。这些特异性自身抗体的检测是有助于 SSc 不同分型患者的诊断、评估病情及判断预后的有用工具。

一、实验室分析路径

实验室分析路径见图 20-7。

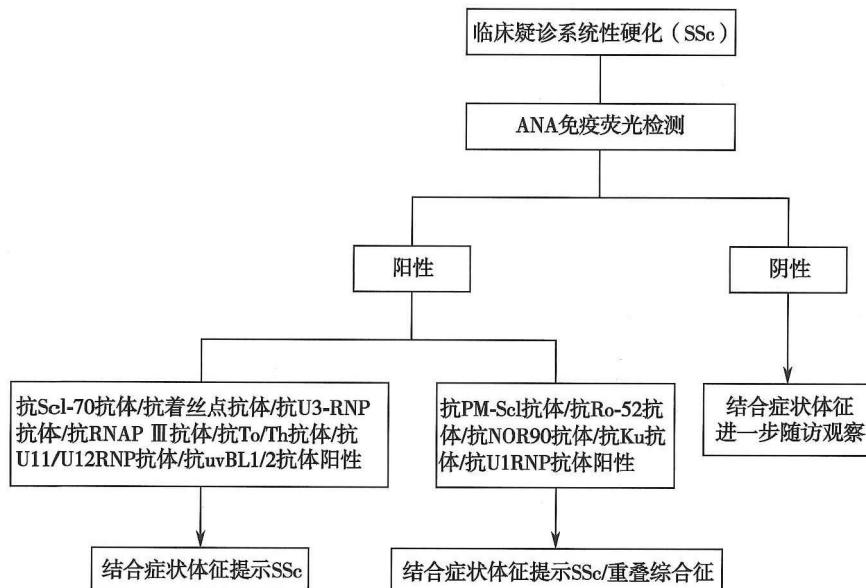


图 20-7 系统性硬化实验室分析路径图

二、相关实验

系统性硬化症患者可检测出多种自身抗体,这些自身抗体对于系统性硬化症的临床诊治具有重要价值。相关自身抗体可以利用组织基质、纯化抗原或重组抗原,使用间接免疫荧光法、免疫沉淀法、免疫印记法或 ELISA 法进行测定。正常人检测结果为阴性。

1. 抗核抗体(ANA) 见本章第一节相关内容。
2. 抗 DNA 拓扑异构酶 I 抗体(抗 Scl-70 抗体) 抗 Scl-70 抗体因能与鼠肝中分离的一种分子量为 70×10^3 的抗原反应而得名,该抗原就是 DNA 拓扑异构酶 I。对怀疑为硬皮病的患者或 ANA 荧光模式为核质细颗粒着染且染色体阳性的患者,可检测血清中的抗 Scl-70 抗体,以帮助明确诊断和判断预后。可使用免疫双扩散、反相免疫电泳法,以胸腺提取物为抗原检测抗 Scl-70 抗体;也可使用免疫印迹法检测,抗原通常为人培养细胞提取物;还可使用纯化或重组抗原构建 ELISA 法检测抗 Scl-70 抗体。ANA 抗体谱检测可作为抗 Scl-70 抗体检测的筛选性实验,抗 Scl-70 抗体阳性患者血清 ANA 荧光模式表现为核质细颗粒着染且核仁着染。正常人检测结果为阴性。
3. 抗着丝点抗体(ACA) ACA 的靶抗原是位于染色体着丝点区域的三种蛋白质,其分子量分别为 17×10^3 (CENP-A)、 80×10^3 (CENP-B) 和 140×10^3 (CENP-C)。大多数 ACA 阳性血清至少与其中两种抗原发生反应,并且总会与 CENP-B 反应。
4. 抗原纤维蛋白抗体(抗 U3-RNP 抗体) 原纤维蛋白是定位于核仁纤维蛋白的一种分子量为 34×10^3 的碱性蛋白。ANA 抗体谱检测也可作为该抗体的筛选性实验,抗原纤维蛋白抗体阳性时 ANA 荧光模式为核仁块状着染。可从培养细胞提取核仁蛋白或用重组抗原建立免疫印迹法检测抗原纤维蛋白抗体。
5. 抗 RNA 多聚酶抗体 细胞核内含有 3 种 RNA 多聚酶复合体(RNA 多聚酶 I, II 和 III),均各自存在相应的自身抗体,这些抗体常在同一患者血清中一起出现。怀疑为系统性硬化症或 Hep-2 细胞荧光模式为核仁或胞质荧光着染的患者可以检测血清中的抗 RNA 多聚酶抗体以帮助明确诊断。
6. 抗 To/Th 抗体 抗 To 抗体和抗 Th 抗体分别由不同的实验室发现,后来被证明其抗原决定簇都位于具有 RNAs1 活性的小核糖核酸蛋白颗粒上。怀疑为系统性硬化或 ANA 荧光模式为核仁着染的患者可检测血清中的抗 To/Th 抗体以帮助诊断。
7. 抗 U11/U12RNP 抗体 抗 U11/U12RNP 抗体的抗原是含有 U11 和 U12RNP 的核小核糖核蛋白颗粒的复合物,是在真核细胞剪接体的组分,可催化 pre-mRNA 内含子的前信使 RNA 剪接。
8. 抗 RuvBL1/2 抗体 抗 RuvBL1/2 抗体是一种新发现的 SSc 相关自身抗体,其靶抗原是由 RuvBL1 和 RuvBL2 组成的复合物,该复合物参与转录和 DNA 修复等重要的细胞过程。
9. 抗 PM-Scl 抗体 抗 PM-Scl 抗体又称为抗多发性肌炎 / 硬皮病抗体,靶抗原为由 11~16 个多肽组成的核仁复合物(包括 PM-75、PM-100 和 PM-1α)。抗 PM-Scl 抗体阳性时 ANA 荧光模式表现为核仁均匀着染。ANA 检测可作为该抗体的筛选性实验。
10. 抗 Ro-52 抗体 抗 Ro-52 抗体的靶抗原是一种分子量为 52×10^3 的蛋白质,是 E3 泛素连接酶和三联基序(TRIM)家族成员,又被称为 TRIM21。
11. 抗 NOR-90 抗体 抗 NOR-90 抗体的靶抗原为染色体核仁组织区分子量为 90×10^3 的蛋白质。ANA 荧光模式为核仁着染的患者可进一步检测血清中的抗 NOR-90 抗体以帮助诊断。
12. 抗 Ku 抗体 Ku 抗原是由 70×10^3 和 80×10^3 的两个多肽组成的异二聚体,与双链 DNA 的特定结构特征性结合,介导 DNA 依赖的蛋白激酶的酶促反应,在 DNA 修复、DNA 复制和基因转录等多种细胞核内反应中发挥重要作用。ANA 抗体谱检测可作为该抗体的筛选性实验,抗 Ku 抗体阳性 ANA 荧光模式表现为核质细颗粒着染。
13. 抗 U1RNP 抗体 抗 U1RNP 抗体与小核糖核蛋白(snRNP)结合,后者是一种核糖核酸酶敏感的大分子复合物,参与将不同核 RNA 拼接成 mRNA。

三、结果判断与分析

系统性硬化(SSc)的临床特征和预后差异较大。SSc涉及的自身抗体包括SSc特异性自身抗体和SSc非特异性自身抗体。SSc标志性自身抗体阳性的患者病程比自身抗体阴性的患者进展更快。这些自身抗体与SSc临床表现、并发症、诊断及预后有不同程度的关联，自身抗体出现早有助于预估无任何硬皮病皮肤变化的雷诺现象患者发展为SSc的风险。SSc自身抗体谱检测已经成为临床医生诊治SSc患者的有用工具。抗ACA/CENP-B抗体与抗Scl-70抗体在诊断SSc相关并发症中具有重要价值。

(一) 筛选实验

ANA检测是实验室诊断硬皮病的筛选实验，几乎所有SSc患者均有ANA阳性，在疾病初期即可检测。85%~95%的硬皮病患者在疾病早期就可以出现ANA阳性，多呈现均质型、斑点型或核仁型免疫荧光染色。ANA阴性不能排除硬皮病。ANA检测是其他相关自身抗体检测的筛选性实验。ANA阳性需进一步明确抗体种类，以明确诊断。

(二) 确诊实验

1. SSc特异性抗体

(1) 抗Scl-70抗体：该抗体对硬皮病临床特异性较高。疾病早期抗Scl-70抗体即可出现，因此可以用于早期诊断。抗Scl-70抗体被认为与弥漫型SSc呈高度相关性，与弥漫型SSc患者中皮肤纤维化程度和内脏器官受累程度相关，可作为疾病活动的生物标志。局限型SSc患者中也有阳性表达。大多数抗Scl-70抗体阳性的硬皮病患者病情较重，涉及广泛的皮肤和内脏器官严重迅速的损伤，预后不良，约>30%的弥漫型皮肤疾病早期就可伴有ILD，肺间质纤维化发生。与死亡率增加、肌肉骨骼和心脏受累，出现硬皮病肾危象。

(2) 抗着丝点抗体(ACA)：抗着丝点抗体是局限型SSc的标志性抗体。SSc患者ACA总阳性率为13.4%~45.1%，其中局限型SSc患者ACA阳性率高达82%~96%。而在弥漫型SSc患者中其阳性率低于10%。ACA阳性患者并发肺动脉高压(PAH)的风险明显增高，约70%~80%的局限型皮肤病变伴有PAH，手指缺血性溃疡，皮肤钙质沉着。但患间质性肺病(ILD)的风险降低，ACA阳性患者并发症相对较少，整体预后较好。

(3) 抗原纤维蛋白抗体(抗U3-RNP)：弥漫型SSc患者抗U3-RNP抗体的阳性率为3%~6%，该抗体对弥漫性硬皮病的特异性较高，但也可在其他系统性自身免疫性疾病(如：SLE)中查及，而且抗体阳性的大部分患者仅有很弱的弥漫性SSc相关症状。抗原纤维蛋白抗体阳性的系统性硬化症患者，常与肺动脉高压(PAH)、扩散性皮肤损伤、毛细血管扩张症、关节炎相关。

(4) 抗RNA多聚酶Ⅲ抗体：为SSc的特异性抗体，阳性率为5%~20%，该抗体阳性的SSc患者常有快速进展的皮肤受累，关节挛缩，伴有严重的内脏损害，主要为肺脏与肾脏，肾危象、肿瘤发生风险更高。对抗RNAPⅢ抗体阳性的SSc患者，应进行密切随访。

(5) 抗To/Th抗体：约2%~5%SSc患者抗To/Th抗体阳性，多见于局限型SSc患者，在其他自身免疫病患者中很少发现抗To/Th抗体，因此抗To/Th抗体被认为是SSc特异性抗体。抗Th/To抗体阳性患者较少发生反流性食管炎和关节挛缩。与抗着丝点抗体(ACA)阳性患者相比，抗Th/To阳性的局限型SSc患者发生肺动脉高压、间质性肺病和肾危象的频率更高，存活率降低、预后较差。

(6) 抗U11/U12RNP抗体：SSc患者抗U11/U12RNP抗体阳性率约3%，局限型SSc和弥漫型SSc患者的阳性率相近。抗U11/U12RNP抗体对SSc诊断具有高度特异性。抗U11/U12RNP抗体阳性的SSc患者大都出现雷诺现象且肺纤维化和肠道受累发生率高，死亡风险较高。有研究提示，U3/U11/U12RNP与ILD相关，U11/U12RNP与ILD严重程度相关；U1和U3与PAH相关。

(7) 抗RuvBL1/2抗体：抗RuvBL1/2抗体对SSc具有高特异性，几乎仅见于SSc患者，阳性率为1%~2%。抗RuvBL1/2抗体阳性的SSc患者一半以上存在重叠综合征(主要与肌炎重叠)。与其他SSc/肌炎重叠征相关的自身抗体(抗PM-Scl抗体和抗Ku抗体)相比，抗RuvBL1/2抗体阳性患者发病年龄较大、

男性所占比例较高、弥漫性皮肤受累率较高。

2. SSc 非特异性抗体

(1) 抗 PM-Scl 抗体: 抗 PM-Scl 抗体主要见于局限型 SSc 患者, 在弥漫型 SSc 患者中的阳性率较低。抗 PM-Scl 抗体阳性可能还与关节炎、伴破裂的手部湿疹和角化病相关。抗 PM-Scl 抗体阳性与肺纤维化和指端溃疡风险增加有关, 对肺动脉高压 (PAH) 和下消化道症状有保护意义。

(2) 抗 Ro-52 抗体: 抗 Ro-52 抗体在 SSc 患者中阳性率较高 (20%~30%), 但对 SSc 不具有特异性, 在系统性红斑狼疮 (SLE)、干燥综合征 (SS)、类风湿性关节炎 (RA) 等其他自身免疫疾病患者中抗 Ro-52 抗体也可呈阳性。抗 Ro-52 抗体被认为与 SSc 患者的肺部受累有关。

(3) 抗 NOR90 抗体: SSc 患者抗 NOR90 抗体的阳性率约为 2%, 目前认为多与局限型 SSc 相关。多数抗 NOR90 抗体阳性的 SSc 患者内脏器官受累较轻微、预后良好。抗 NOR90 抗体对 SSc 不特异, 系统性红斑狼疮 (SLE)、干燥综合征 (SS)、类风湿性关节炎 (RA) 等其他自身免疫疾病以及恶性肿瘤患者中抗 NOR90 抗体也可出现阳性。

(4) 抗 Ku 抗体: 抗 Ku 抗体在 SLE 中最为常见, 常伴随抗 U3-RNP 抗体出现。抗 Ku 抗体在 SSc 患者中的阳性率为 1.1%~5%, 与局限型 SSc 和重叠综合征相关。该抗体阳性的患者肌炎发生率增加, 较少发生毛细血管扩张。另外, 抗 Ku 抗体也与原发性干燥综合征及原发性肺动脉高压有较高相关性。

(5) 抗 U1RNP 抗体: 抗 U1RNP 抗体在 SSc 患者中的阳性率为 2.5%~18%, 在局限型 SSc 与弥散型 SSc 中阳性率没有明显差异。目前认为, 抗 U1RNP 抗体阳性与肺动脉高压 (PAH) 和重叠综合征相关。抗 U1RNP 抗体广泛存在于患有自身免疫性结缔组织病的患者中, 系统性红斑狼疮 (SLE)、SSc/SLE 重叠综合征和混合性结缔组织病均可见抗 U1RNP 抗体表达。

除了以上提及的自身抗体外, 还有一些自身抗体也可在 SSc 患者中表达, 如: 抗 B23 抗体、抗 eIF2B 抗体、抗 PDGFR 抗体、抗成纤维细胞抗体、抗内皮细胞抗体 (AECA) 等。这些自身抗体与 SSc 致病过程、临床特征、并发症、预后有着不同程度的相关性, 随着研究深入将为 SSc 的临床诊治提供更多的帮助。

(白杨娟 武永康 王兰兰)

第八节 干燥综合征与自身抗体检测

干燥综合征 (Sjögren's syndrome, SS) 是一种主要累及泪腺和唾液腺等外分泌腺、具有高度淋巴细胞浸润为特征的慢性弥漫性结缔组织病。干燥综合征最常见的症状是口、眼干燥, 临幊上常伴有内脏损害而出现多种临床表现。大部分患者无呼吸道症状。轻度受累者出现干咳, 重者出现气短。肺部的主要病理为间质性病变, 部分出现弥漫性间质性纤维化, 少数人可因此导致呼吸功能衰竭而死亡。

该病可分为原发性干燥综合征和继发性干燥综合征, 后者是除了口眼干燥症外还伴有其他自身免疫性疾病。以下内容主要诊断原发性干燥综合征。我国干燥综合征患病率为 0.3%~0.7%, 随年龄增高患病率可高达 3%~4%。本病女性多见 (男女比例 1:9~1:20), 发病年龄多在 40~50 岁, 也见于儿童。

一、实验室分析路径

实验室分析路径见图 20-8。

二、相关实验

干燥综合征患者血清中可以检测到多种自身抗体, 其中以抗 SSA 和 SSB 的抗体出现阳性率最高, 前者敏感性高, 但特异性差, 而后者特异性相对较高, 但敏感性有限, 两者同时阳性对 SS 的诊断起重要提示作用。

1. 抗核抗体 (ANA) 见本章第一节相关内容。

2. 抗 SSA(Ro)抗体 疑似原发性或继发性干燥综合征、SLE、亚急性皮肤性 LE、先天性心脏病或新生儿狼疮的患者可检测血清中抗 SSA 抗体以帮助诊断。目前最常用的检测抗 SSA 抗体的方法为酶免疫斑点法。正常人结果为阴性。

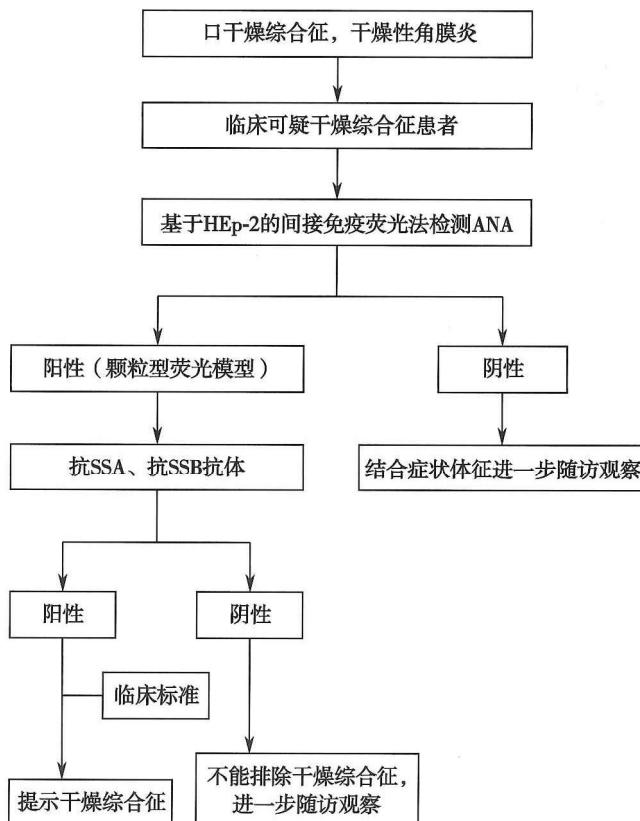


图 20-8 干燥综合征实验室分析路径图

3. 抗 SSB(La)抗体 抗 SSB 抗体对原发性干燥综合征具有较高的诊断特异性, 疑似 SS 患者可检测血清中抗 SSB 抗体以帮助诊断。目前最常用的检测抗 SSB 抗体的方法为酶免疫斑点法。正常人结果为阴性。

三、结果判断与分析

(一) 筛选实验

ANA 检测是实验室诊断干燥综合征的筛选实验。原发性干燥综合征患者 ANA 阳性率为 70%~80%, ANA 荧光模型多为颗粒型。原发性干燥综合征患者 ANA 以抗 SSA 和抗 SSB 抗体为主, ANA 阴性可基本排除抗 SSA 和抗 SSB 抗体阳性可能性, ANA 阳性需进行确诊实验确定特异性抗体种类以明确诊断。

(二) 确诊实验

干燥综合征诊断除了依据临床症状和病理学检查外, 抗 SSA 或抗 SSB 抗体阳性是重要的实验室诊断标准之一。抗 SSA 是干燥综合征患者最常见的自身抗体(阳性率约 70%), 抗 SSB 抗体被认为是干燥综合征的标记抗体(阳性率约 40%), 两个抗体同时检测可提高干燥综合征的诊断率, 但阴性不能排除干燥综合征。2012 年美国风湿学会(American College of Rheumatology, ACR) 干燥综合征诊断标准提出, 除了抗 SSA 和 / 或抗 SSB, RF 阳性且 ANA 高滴度($\geq 1:320$)也可以作为替代标准。

除经典的抗 SSA、抗 SSB 抗体外, 近年来抗 M3 受体(乙酰胆碱受体, anti-M3 muscarinic acetylcholine receptor, 抗 M3R) 抗体和抗 α -胞磷蛋白抗体(anti- α -fodrin antibody, AFA) 逐渐运用于干燥综合征的临床

诊断。抗 M3R 抗体被认为是引起唾液腺分泌功能丧失的重要因素同时也参与了腺外系统损伤。血清中的抗 M3R 抗体检出率较低,采用唾液样本可提高抗 M3R 抗体的检出率且特异性也有所提高。AFA 被认为是干燥综合征的早期诊断标志物,通常 AFA 的出现早于抗 SSA 或抗 SSB 抗体,不同研究对 AFA 抗体在干燥综合征诊断中的准确性报道相差较大。在抗 SSA/SSB 抗体阴性的干燥综合征患者中,AFA 与 RF 和 / 或 ANA 联合可以提高干燥综合征诊断的敏感性。

(白杨娟 武永康 王兰兰)

第九节 IgG4 相关性疾病与实验诊断

IgG4 相关疾病 (IgG4-related disease, IgG4-RD) 是一种免疫介导以倾向于形成瘤块样损害为特征的慢性纤维化炎症性疾病,几乎可以累及全身各个器官系统,常见于胆道系统、胰腺、唾液腺、眶周组织、肾、肺、淋巴结及腹膜后组织,亦可累及脑膜、主动脉、前列腺、甲状腺、心包和皮肤等。该病极少累及脑实质、关节、骨髓和肠黏膜。过去认为 IgG4-RD 是一系列被视为独立的器官特异性疾病,2003 年,日本研究者 KAMISAWA 等首次引入 IgG4 相关性疾病概念。2010 年,TAKAHASHI 等在 *Autoimmun Rev* 杂志 “The birthday of a new syndrome: IgG4-related diseases constitute a clinical entity” 一文中正式宣布了这一病种。IgG4-RD 国际研讨会于 2011 年在美国波士顿召开,研讨会委员会由 35 名专家组成,包括风湿、胃肠、过敏、免疫、肺科、肿瘤、眼科、外科、病理和放射等各领域的临床医生及基础科学家。经讨论,“IgG4 相关性疾病”一词被组委会成员接受。

IgG4-RD 常见临床表现类型包括:①1 型自身免疫性胰腺炎 (autoimmune pancreatitis, AIP);②IgG4 相关性硬化性胆管炎,通常与 1 型 AIP 同时发生;③大唾液腺肿大或硬化性涎腺炎,泪腺、腮腺和下颌下腺肿大同时存在时,即 Mikulicz 病;④眼眶疾病,常伴有眼球突出;⑤腹膜后纤维化,常伴有慢性主动脉周围炎,通常会累及输尿管,导致肾积水和肾损伤。IgG4-RD 通常亚急性起病,大多数患者没有严重的全身症状,发热与 C- 反应蛋白大幅升高并不常见。临幊上当特定器官病变引起患者重视就医时,往往疾病已进展多时甚至多年。一些患者病变局限于单个器官,另一些患者则在出现主要临床表现的同时伴有典型或非典型的器官损害。IgG4-RD 常引起严重的并发症,并且可导致器官衰竭,但一般呈亚急性进程。IgG4-RD 患者常为中老年男性,这与经典自身免疫性疾病形成明显对比,后者往往常为年轻女性居多。日本的一项研究结果显示,AIP 的发病率为 0.8/10 万,患病男女比为 3:1。有报道发现,IgG4-RD 间质性肾炎和 IgG4 相关腹膜后纤维化也是以男性居多。目前缺乏针对 IgG4-RD 的流行病学数据,部分原因是对该病的识别还在不断深入。由于本病临床表现多样,可以不同器官受累为首发表现,患者常首诊可以于不同的科室。

IgG4-RD 的标志性特征是受累组织中以 IgG4⁺ 浆细胞为主的致密淋巴浆细胞浸润,常伴有一定的纤维化、闭塞性静脉炎和嗜酸性粒细胞增多。约 2/3 的患者血清 IgG4 水平升高(定义为 >135mg/dL),虽然 IgG4-RD 的临床特征变化多样,但所有受累器官的病理学表现颇为一致,包括高比例 IgG4⁺ 的淋巴浆细胞浸润、特征性的“涡纹状”纤维化(典型表现为成纤维细胞和炎症细胞排列成车轮状外观)、闭塞性静脉炎、以及轻中度的嗜酸性粒细胞组织浸润。糖皮质激素初始治疗效果良好是一个特征性表现。

IgG4-RD 的实验室诊断目前主要依靠病理学检查和血清学检测。血清 IgG4 >135mg/dL 是提示 IgG4-RD 的重要指标。

一、实验室分析路径

实验室分析路径见图 20-9,相关纳入标准、排除标准和评分标准具体见表 20-4。满足纳入标准,且不满足排除标准,总得分 ≥ 20,则符合 IgG4-RD 诊断。

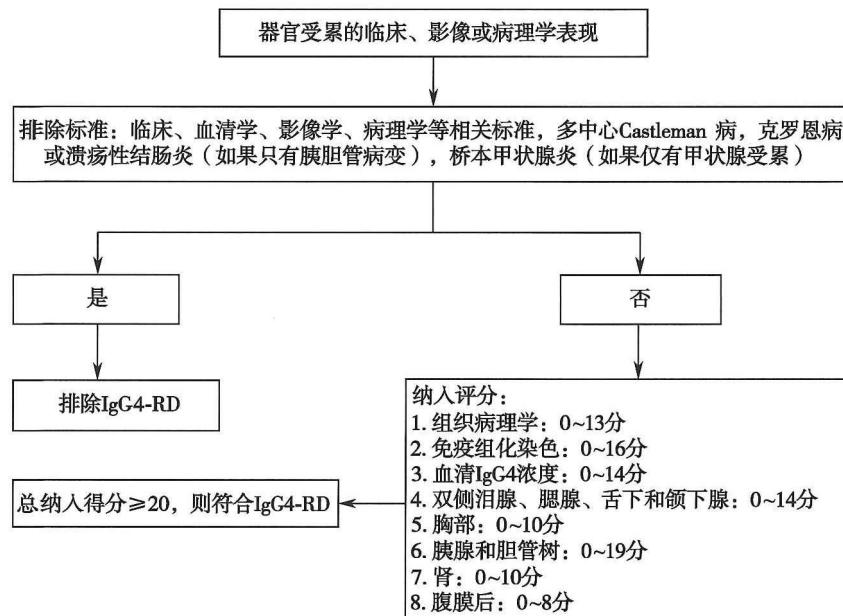


图 20-9 IgG4 相关性疾病实验室分析路径图

表 20-4 临床常用 IgG4-RD 分类标准

纳入标准	1. 典型器官(如胰腺、唾液腺、胆管、眼眶、肾、肺、主动脉、腹膜后、硬脑膜或甲状腺)出现特征性的临床或影像学表现 *
	2. 上述器官之一出现炎症伴有关不明病因的淋巴浆细胞浸润的病理证据
临床	<ol style="list-style-type: none"> 发热或明显感染 对糖皮质激素治疗无应答 原因不明的淋巴细胞减少或血小板减少 外周嗜酸性粒细胞增多或明显感染导致的 CRP 升高或中性粒细胞升高 抗中性粒细胞胞浆抗体(特别是抗蛋白酶 3 或髓过氧化物酶抗体)阳性
血清学	<ol style="list-style-type: none"> 抗 SSA/Ro 或 SSB/La 抗体阳性 抗双链 DNA、RNP 或 Sm 抗体阳性 出现其他疾病特异性自身抗体 冷球蛋白血症
排除标准 #	<ol style="list-style-type: none"> 疑似恶性肿瘤或感染病变的影像学检查结果,未充分探查 快速的影像学表现进展 符合 Erdheim-Chester 病表现的长骨异常 脾大
影像学	<ol style="list-style-type: none"> 提示恶性肿瘤的细胞浸润,未充分评估 与炎性肌纤维母细胞瘤一致的标志物
病理学	<ol style="list-style-type: none"> 明显的中性粒细胞性炎症 坏死性血管炎 明显的坏死

续表

病理学 排除标准 # 以下情况的已知 诊断	6. 以肉芽肿性炎症为主
	7. 巨噬细胞 / 组织细胞疾病的病理学特征
1. 多中心 Castleman 病或干燥综合征	
2. 克罗恩病或溃疡性结肠炎 (如果只有胰胆管病变) 或原发性硬化性胆管炎	
3. 桥本甲状腺炎 (如果仅有甲状腺受累) 或嗜酸性肉芽肿伴多血管炎	
得分	判断标准
组织病理学	0 活检未提供有效信息 +4 致密淋巴细胞浸润 +6 致密淋巴细胞浸润和闭塞性静脉炎 +13 致密淋巴细胞浸润和贮积样纤维化, 伴或不伴闭塞性静脉炎
免疫组化	IgG4+ : IgG+ 比值 IgG4+ 细胞 /HPF (高倍视野) 0 0~40% 或不确定 ** 0~9 7 0~40% 或不确定 ≥ 10 或不确定 7 ≥ 41% 0~9 或不确定 14 41%~70% ≥ 10 14 ≥ 71% 10~50 16 ≥ 71% ≥ 51
血清 IgG4 浓度	0 正常或未检测 +4 高于正常值但低于 $2 \times \text{ULN}$ +6 $2 \sim 5 \times \text{ULN}$ +14 $> 5 \times \text{ULN}$
评分标准 & 双侧泪腺、腮腺、 舌下和颌下腺	0 没有哪组腺体受累 +6 一组腺体受累 +14 两组或更多组腺体受累
胸部	0 未检测或所列情况均无 +4 支气管周围血管和间隔增厚 +10 胸部椎旁带样软组织
胰腺和胆管树	0 未检测或所列情况均无 +8 弥漫性胰腺增大 (小叶消失) +11 弥漫性胰腺增大, 囊状边缘增强减少 +19 胰腺 (上述任何一种表现) 和胆管树受累
肾	0 未检测或所列情况均无 +6 低补体血症 +8 肾盂增厚 / 软组织 +10 双侧肾皮质低密度区

续表

评分标准 & 腹膜后	0	未检测或所列情况均无
	+4	腹主动脉壁弥漫性增厚
	+8	腹主动脉或髂动脉周围的环周或前外侧软组织

注: **: “不确定”是指病理学家无法清晰地量化浸润的阳性染色细胞的数量,但仍可确定细胞数量至少为 10 个 /HPF。由于许多原因(最常与免疫染色的质量相关),病理学家有时无法精确地计数 IgG4⁺ 浆细胞的数量,但仍能肯定地将病例归到合适的免疫染色结果组。ULN: 正常检测上限。

* 指受累器官增大或出现肿瘤样肿块,不包括:①胆管,倾向于发生狭窄;②主动脉,典型表现是动脉壁增厚或动脉瘤扩张;③肺,支气管血管束增厚多见。如果不符合入选标准,则不能考虑为 IgG4-RD。

应根据患者的临床情况对其进行排除标准个体化评估。如果符合排除标准任何一项,则不能考虑为 IgG4-RD。

& 项仅计最高分。来自淋巴结、胃肠道黏膜表面和皮肤的活检标本不适合进行免疫染色评分

二、相关实验

1. 血清 IgG4 浓度检测 在“高于正常上限”的诊断临界值时,血清 IgG4 检测的诊断灵敏度为 83%~97%,特异性为 60%~85%。国际共识提出将血清 IgG4 水平升高至参考区间上限的 2 倍或 1~2 倍作为诊断 I 型 AIP 的临界值,日本标准是将血清 IgG4 水平 1 350mg/L 作为诊断 I 型 AIP 的临界值。目前我国大多数开展 IgG4 检测的实验室采用的 1.35g/L 作为 IgG4-RD 的生物标志物临界值(对于不同厂家的商业试剂盒可能也有不同)。血清 IgG4 水平是目前诊断 IgG4-RD 的重要实验室指标,血清 IgG4 (>5g/L) 对 IgG4-RD 的诊断特异性可达 90%。常用检测血清 IgG4 的方法为散射比浊法,也有报道采用酶联吸附免疫分析、质谱分析等用于血清 IgG4 的检测。

2. 流式细胞术外周血浆母细胞检测 来自 B 细胞谱系并且特征为 CD19^{low}CD20-CD38+CD27+ 的浆母细胞,由活化的 B 细胞和浆细胞之间的阶段中间体组成。健康个体的外周血中通常很少有浆母细胞,但在感染或接种疫苗的过程中会短暂地观察到升高。自身免疫性疾病患者外周血中可以检测到长时间循环的浆母细胞。未治疗的 IgG4-RD 患者其循环浆母细胞计数显著升高。多器官受累的 IgG4-RD 患者比仅累及一个或两个器官的患者外周血浆母细胞的计数更高。外周血浆母细胞计数可以反映疾病程度,有助于辅助临床确定再次治疗的时机。外周血浆母细胞检测一般采用流式细胞术,检测灵敏度为 95%,特异性为 82%,诊断临界值为 900 个 /mL。由于受仪器与分析技术的限制,用流式细胞术检测外周血浆母细胞在临床应用还不普及。

3. 其他相关实验室检查 IgG4-RD 患者的血清可出现 γ 球蛋白、IgG、IgE 和嗜酸性粒细胞升高,C- 反应蛋白、红细胞沉降率轻度升高以及低补体血症。在 2020 年 1 月发表于 *Arthritis and Rheumatology* 杂志的 IgG4 相关性疾病的分类标准中对 IgG4-RD 诊断的排除标准包括了总计 32 项临床、血清学、影像学和病理学指标。患者只要符合上述标准中的任意一条,都不考虑做进一步的 IgG4-RD 的诊断。其中的血清学排除标准包括:①原因不明的淋巴细胞减少或血小板减少;②外周嗜酸性粒细胞增多(大于 $3 \times 10^9/L$);③抗中性粒细胞浆抗体(特别是抗蛋白酶 3 或髓过氧化物酶)阳性;④SSA/Ro 或 SSB/La 抗体阳性;⑤双链 DNA、RNP 或 Sm 抗体阳性;⑥出现其他疾病特异性自身抗体;⑦冷球蛋白血症。因此,对于 IgG4-RD 的诊断必须结合要评估血清 IgG4 水平之外的相关实验室检查结果,有利于相关疾病的鉴别。

三、结果判断与分析

人免疫球蛋白 G 有 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 四个亚型。IgG 亚类之间结构上的差异与各自在抗原识别、补体激活以及细胞表面受体结合的生物学功能特点有关。IgG 亚类占总 IgG 含量的相对比例各不相同,IgG1 占 60%~75%、IgG2 占 15%~25%、IgG3 和 IgG4 各占不到 10%。不同亚类的缺陷或异常增加都会与一些疾病相关。IgG1 亚类缺陷或浓度降低的患者常出现上或下呼吸道的反复感染; IgG2 亚类浓度

降低与呼吸道感染和自身免疫疾病有关。IgG 亚类浓度的多克隆增殖可发生于抗原的持续刺激,但只起次要的诊断作用。IgG4 分子在免疫球蛋白亚群中十分独特,IgG4 分子间可以互相交换 Fab 片段,与互不相似的另一半 IgG4 分子重组,是唯一有此属性的 IgG 亚类。IgG4 抗体与抗原结合的松散特性与其 Fab 片段的互换特点有关。IgG4 分子与 Fc 受体和 C1q 的低亲和力削弱了 IgG4 抗体诱导吞噬细胞活化、抗体依赖形细胞毒性作用和补体介导损伤的能力。

IgG4 相关性疾病是累及多器官或组织的慢性进行性自身免疫性疾病,早期临床表现无特征性,故诊断困难,不易与肿瘤鉴别,国际上尚无统一的诊断标准,其复发率高达 20%~40%,但该病对糖皮质激素治疗反应良好,早期正确诊治可以避免一些不必要的有创治疗。多数 IgG4-RD 患者血清 IgG4 水平升高,升高范围的变化较大,血清 IgG4 水平可高达正常上限的 30 或 40 倍,这种现象通常见于同时多器官受累患者。血清 IgG4 水平与 IgG4-RD 疾病活动性以及治疗需要的关联并不密切。尽管组织病理学和免疫组化表现典型,但还是有约 30% 的患者血清 IgG4 水平正常,这类患者往往器官受累较少。IgG4 相关腹膜后纤维化患者血清 IgG4 检测呈现 IgG4 水平正常的现象,通常提示与患者病情已进展至纤维化阶段才确诊有关。IgG4-RD 患者治疗后临床症状可以缓解,部分患者血清 IgG4 水平可迅速下降,但通常不能完全恢复正常,也有少数患者血清 IgG4 仍保持较高水平。当血清 IgG4 水平迅速升高很可能提示病情又反复,因此,监测患者血清 IgG4 变化,可在部分患者中发现疾病的早期复发。提醒注意的是,有部分患者血清 IgG4 持续正常,仍然会出现临床复发。除方法学差异外,IgG4-RD 中血清 IgG4 水平可因为种族和器官受累程度而有很大差异。有研究显示,亚洲人的血清 IgG4 高于非亚洲人,血清 IgG4 升高的灵敏度在亚洲人群为 96%,而非亚洲人群为 67%。血清 IgG4 水平升高也可见于一些肿瘤性疾病如胰腺癌、胆管癌等,以及在过敏性疾病、原发性硬化性胆管炎和自身免疫性疾病中也可见升高。由于组织活检取材困难,血清学检测成本低、简便且经济有效。

2020 年 1 月发表于 *Arthritis and Rheumatology* 杂志的 IgG4 相关性疾病的分类标准中提出,在应用 8 项加权纳入标准分别评估临床、血清学、放射学和病理学结果进行评分时,血清 IgG4 是唯一的血清学评分指标,其标准为:血清 IgG4 浓度正常或未检测为 0 分;高于正常值但低于 2 倍正常值上限(ULN)为 4 分;高于 2 倍正常值上限(ULN)但低于 5 倍正常值上限(ULN)为 16 分;高于 5 倍正常值上限(ULN)为 14 分。如果满足入选标准,不满足除外标准,且总纳入得分 ≥ 20 ,则符合 IgG4-RD 分类。可以看出,对于血清 IgG4,使用倍数正常值比 IgG4 水平的绝对值更合适。IgG4-RD 患者血清 IgG4/IgG 比值通常 > 0.2 ,该比例不会增加采用单独血清 IgG4 的诊断特异性。有研究显示,当 IgG4/ 总 IgG 比值 $> 8\%$ 时,提示 IgG4-RD; 当 IgG4/ 总 IgG 比值 $> 40\%$ 时,更利于支持在有大量纤维化的组织中进行诊断。因此,升高的血清 IgG4 不能作为 IgG4-RD 发病的主要病因,也不能作为该病唯一的诊断标准。IgG4-RD 的具体发病机制及 IgG4 是否能导致病理性结局亟须进一步研究。

IgG4 血清学检测对于 IgG4 相关性疾病的诊断非常重要,IgG4 越高,患者发生其他器官受累的可能性越高,和 IgG4 相关疾病相关性越高。用药初期患者 IgG4 水平会急剧下降,相应的临床症状好转。部分患者使用维持药物剂量 IgG4 会出现高于临界上限值的现象。定期对血清 IgG4 水平进行检测对于确定早期的复发患者是非常必要的。但由于 IgG4 相关性疾病不是常见病,应先排除其他疾病后再考虑。血清 IgG4 浓度检测通常采用的方法为散射比浊法,检测中要注意可能出现的前带效应(prozone effect)导致的 IgG4 浓度的虚假低值,当患者临床特征与血清 IgG4 检测结果明显不符时,应考虑前带效应的影响,可以通过稀释血清样品来进行校正。

(魏彬 蔡蓓 石运莹 王兰兰)

第十节 自身免疫性肝病与自身抗体检测

自身免疫性肝病(autoimmune liver disease,AILD)是一组主要以肝脏炎性损伤为特点的自身免疫性疾病,好发于女性。自身免疫性肝病的临床表现多样,常累及肝胆、皮肤、关节和神经系统等。根据免疫学和病理学特点,AILD 主要包括:自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis,AIH)、原发性胆汁性胆管炎

(primary biliary cholangitis, PBC)、原发性硬化性胆管炎 (primary sclerosing cholangitis, PSC) 以及这 3 种疾病中任何两者或两者以上同时发生的重叠综合征 (overlap syndrome, OS), 以 AIH-PBC 最多见。AIH 是 AILD 最常见的类型, 以出现循环自身抗体、高浓度血清球蛋白以及肝脏组织学检查特征性异常 (淋巴 - 浆细胞浸润、界面性肝炎) 为特征, 主要分为三个亚型, AIH-1 型 (或经典型) 以循环中 ANA 和 / 或抗平滑肌抗体 (anti-smooth muscle antibodies, 抗 SMA 抗体) 阳性为特征, 常见于成年人; AIH-2 型为抗肝 / 肾微粒体抗体 (anti-liver/kidney microsome, 抗 LKM 抗体) 阳性和 / 或抗肝细胞溶质抗原 1 型抗体 (anti-liver cytolol antigen type 1, 抗 LC-1 抗体) 阳性, 常见于儿童和青少年; AIH-3 型以抗可溶性肝抗原 / 肝胰抗原抗体 (anti-soluble liver antigen/liver-pancreas antigen, 抗 SLA/LP 抗体) 为特征, 通常抗 Ro52 抗体也呈阳性。

PBC 是一种慢性胆汁淤积性自身免疫性肝病, 以肝内中小胆管损伤为主。好发于中老年女性, 男女比例约为 1:9, 40 岁以上女性发病率可达千分之一。病理特征是 T 淋巴细胞介导攻击肝小叶内小胆管, 导致肝内胆管逐渐丢失, 表现为黄疸、胆汁淤积性肝酶异常以及肝硬化。PBC 与遗传有关, 具有一定的家族性, PBC 患者的一级亲属患病率在 5%~6%, 最常出现于患者的姐妹。有些 PBC 患者会伴有自身免疫性肝炎或复发性硬化性胆管炎 (PSC), 呈现重叠综合征。有些 PBC 患者还会伴有干燥综合征和自身免疫性甲状腺疾病。有研究分析发现, PBC 是发生肝癌的一个重要因素, PBC 患者发生肝癌的风险比一般人群增加近 8 倍。PBC 患者血清中通常会检测到抗线粒体抗体 (anti-mitochondrial antibody, AMA), 是特异性血清学诊断指标物。

PSC 的主要特征是肝内和 / 或肝外胆道系统内中型和大型胆管发生炎症、纤维化及狭窄, 形成胆汁淤积。PSC 的诊断除了依据临床症状外, 关键的辅助诊断依据为胆道影像学信息, PSC 至今尚未发现疾病相关特异性自身抗体。

由于自身免疫性肝病免疫异常与病理损伤的特征不同, 不同的自身免疫性肝病其相关的自身免疫抗体具有明显差异, 因此, 自身免疫肝病抗体检测对不同类型自身免疫性肝病的诊断和分型具有重要意义。

一、实验室分析路径

实验室分析路径见图 20-10。

二、相关实验

不同 AILD 的诊断标准随着对疾病的认识增加而不断更新, 但基本原则通常包括临床症状和体征、影像学检查、肝活检、实验室常规检测与特殊检测等。最重要的实验室常规检测包括肝功能生化检测和特异性自身抗体检测, 不同 AILD 自身抗体表达具有明显差异, 因此自身免疫性肝病抗体对不同类型肝病的诊断和分型具有重要意义。AILD 常见的临床生化与免疫检测异常指标包括 ALT、AST、ALP、IgG、IgM 等。AILD 常见的自身抗体有 ANA、ASMA、抗 -actin 抗体、抗 LKM-1 抗体、抗 LC-1 抗体、抗 SLA 抗体、AMA、抗 Sp100 抗体、抗 gp210 抗体、ANCA 等。目前最常用的自身抗体检测技术主要包括间接免疫荧光 (IIF) 法、ELISA、免疫印迹法、微珠流式荧光法、化学发光法等。

1. 抗核抗体 (ANA) ANA 是 AILD 最常见的自身抗体, 具有较高异质性, AIH 患者的 ANA 可表现为均质型、颗粒型、核仁型或混合核型, 提示其靶抗原可能为染色质、双链 DNA、核糖体蛋白。70% 左右的 PBC 患者也能检测到 ANA 阳性, 常见荧光模型包括颗粒型、核多点型、核膜型和抗着丝点型, 核多点型和核膜型被认为是 PBC 特异性的荧光模型。核多点型 ANA 的靶抗原主要包括 Sp100、早幼粒细胞性白血病 (PML) 蛋白等, 核膜型 ANA 的靶抗原主要包括 gp210 和 p62 等。通常采用以 HEp-2 细胞为底物的间接免疫荧光法 (IFA) 检测 ANA。

2. 抗平滑肌抗体 (ASMA) ASMA 与 ANA 均为 AIH-1 型的主要诊断标志物。ASMA 可与多种细胞骨架呈结合反应, 其在荧光显微镜下显示不同的染色模式: 血管 / 肾小球和血管 / 肾小球 / 肾小管模式被认为是对 AIH 诊断具有特异性的。指南推荐采用 IIF 方法检测 ASMA, 也可用 ELISA、化学发光法等方法进行检测。

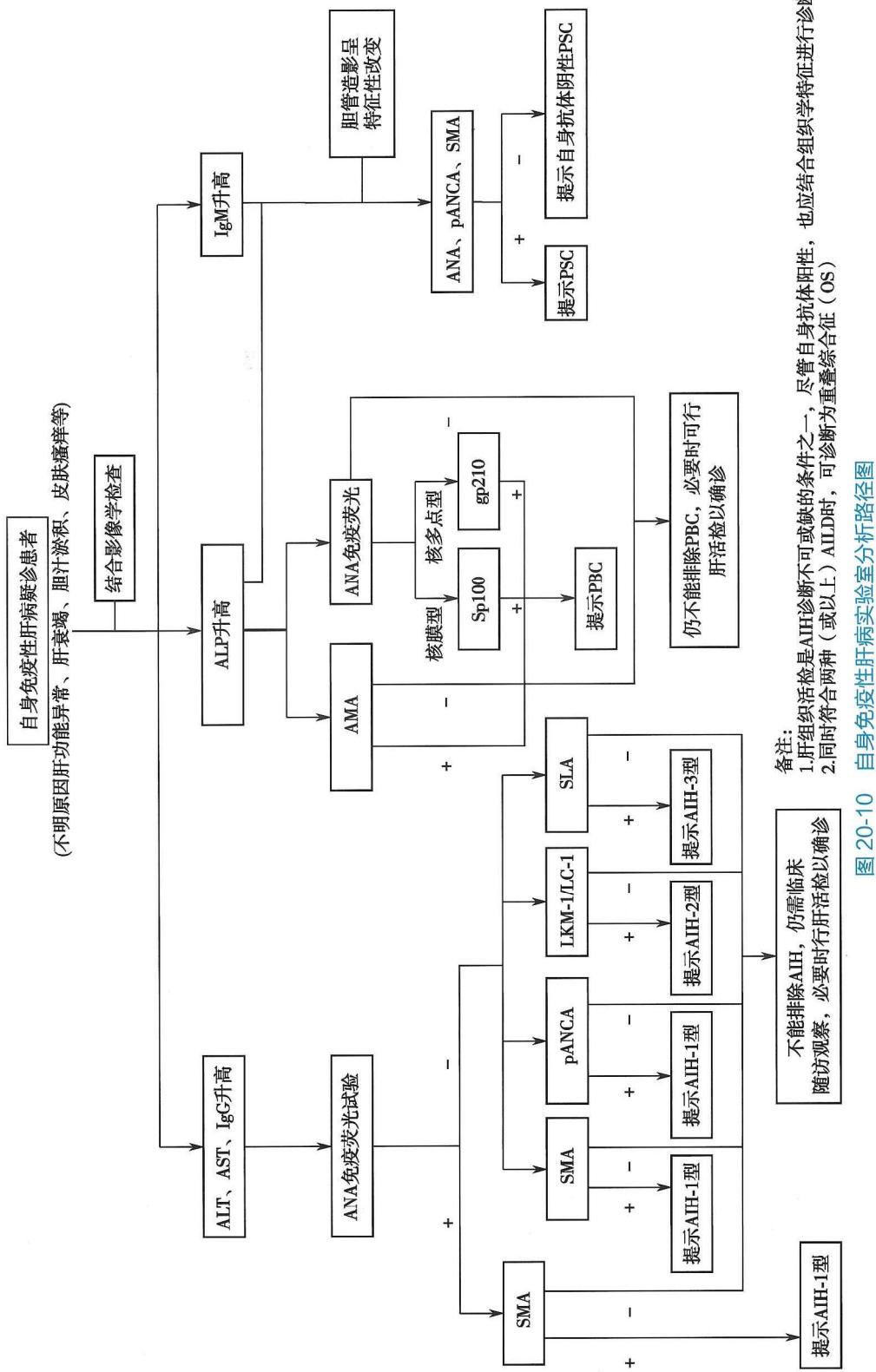


图 20-10 自身免疫性肝病实验室分析路径图

3. 抗肌动蛋白抗体(抗 -actin 抗体) 抗 SMA 的靶抗原是细胞骨架成分,包括微丝、微管和中间丝,而微丝中主要是肌动蛋白,后者又可分为 G- 肌动蛋白和 F- 肌动蛋白。其与 ASMA 同时检测有助于提高 AIH 的诊断率。

4. 抗肝 / 肾微粒体抗体(抗 LKM 抗体) 抗 LKM 抗体分为 3 个亚型,其中抗 LKM-1 抗体最常见,其靶抗原为细胞色素 P4502D6(CYP2D6),该抗原与 HCV 基因序列有部分同源性,因而抗 LKM-1 抗体也会出现在 5%~10% 的慢性丙型肝炎患者血清中。该抗体是 AIH-2 型的特异性抗体,通常以 IIF 法检测抗 LKM 总抗体,用免疫印迹法、ELISA 及其他免疫学方法检测抗 LKM-1 抗体。

5. 抗肝细胞溶质抗原抗体 -1(抗 LC-1 抗体) 抗 LC-1 抗体所识别的靶抗原是亚氨基转移酶 - 环化脱氨酶。抗 LC-1 抗体只显示于门静脉周围的肝细胞胞浆中,表明不是所有肝细胞均含有此抗体的靶抗原。该抗体是 AIH-2 型的另一种特异性抗体,抗 LC-1 抗体目前通常采用 ELISA 或免疫印迹法进行检测。

6. 抗可溶性肝抗原 / 肝胰抗原抗体(抗 SLA/LP) 抗 SLA/LP 抗体是一种可溶性胞质蛋白酶,研究证明该抗原为 O- 磷酸丝氨酸 -tRNA: 硒 -tRNA- 合成酶,位于肝细胞浆内,相对分子质量为 50 000。近年来发现抗 SLA 与肝胰抗原(LP) 系同一种靶抗原,故将其相应抗体统称为抗 SLA/LP 抗体,近年来已将抗 SLA/LP 抗体简化为抗 SLA 抗体。抗 SLA 抗体是 AIH-3 型的特异性抗体。目前抗 SLA 抗体常采用 ELISA、免疫印迹法或免疫斑点法等方法检测。

7. 抗线粒体抗体(AMA) AMA 是 PBC 特异性血清学诊断指标物,根据靶抗原不同,AMA 可分为 9 个亚类,即 M1~M9,其中 AMA-M2 亚类诊断 PBC 的特异性最高,为 90%~95%,其主要作用于丙酮酸脱氢酶复合体 E2 亚单位(PDC-E2),95% 以上的 PBC 患者体内可以检测出抗 PDC-E2 的自身抗体。一项研究表明,AMA-M2 抗体阴性的 PBC 患者的肝脏,PDC-E2 也有表达,因此体内可能存在针对与 PDC-E2 有 T 细胞交叉反应性的酮酸脱氢酶复合物家族其他亚单位的自身抗体,这些抗体的发现将有赖于进一步的研究。

8. 抗核多点抗体(抗 Sp100 抗体) 抗 Sp100 抗体的靶抗原为可溶性酸性磷酸化核蛋白 Sp100,其相对分子质量 100 000,是 PBC 高度特异性抗核抗体,其在 ANA 阳性患者中的荧光模型为核多点型。目前常采用 ELISA、免疫印迹及化学发光等方法进行检测。

9. 抗核包膜蛋白(抗 gp210) 抗 gp210 的靶抗原是核膜型特异性相关的核孔复合体糖蛋白 210,其相对分子质量 210 000,也是 PBC 高度特异性抗核抗体,其在 ANA 阳性患者中的荧光模型为核膜型。目前常采用 ELISA、免疫印迹及化学发光等方法进行检测。

10. 抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA) 根据染色核型的不同,可分为胞浆型(c-ANCA) 和核周型(p-ANCA) 两种类型。ANCA 作为小血管炎的生物学标志物,主要存在于 ANCA 相关血管炎中,如显微镜下多血管炎及嗜酸性肉芽肿性多血管炎等,但也可见于 AIH 和 PSC 等其他疾病中。

11. 抗去唾液酸糖蛋白受体抗体(抗 -ASGPR 抗体) 抗 -ASGPR 抗体是肝脏特异性的自身抗体,在 AIH-1 型患者中有 80% 的阳性率。但它不是 AIH 特异性抗体,在病毒性肝炎等肝病患者中有一定阳性率,目前市场尚缺乏稳定可靠的商品化试剂,限制了其临床应用。

12. 其他实验室指标 氨基转移酶(ALT、AST): ALT 和 AST 大量存在于肝细胞中,血清 ALT 和 AST 活性升高,通常表示肝脏受损,大量的细胞内酶释放入血,AILD 患者尤其是 AIH 患者肝细胞损伤时常可见 ALT 和 AST 的升高。碱性磷酸酶(ALP)是一种含锌的糖蛋白,存在于各种组织中,其含量以肝脏最多,ALP 在病毒性肝炎中可轻度增高,但在各种原因所致的胆汁淤积中常常可升高达 5~20 倍,且升高的程度常与阻塞程度成正比,ALP 在 PBC 或 PSC 患者中呈明显升高。AILD 患者常可出现血清免疫球蛋白升高,AIH 患者主要以 IgG 水平升高为主,PSC 患者主要以 IgM 水平升高为主。

三、结果判断与分析

(一) 诊断试验

1. 抗核抗体(ANA) ANA 检测是实验室筛查 AIH 的首选实验。AIH 患者血清中可检测到多种自身抗体。在我国 70%~80% 的 AIH 患者呈 ANA 阳性,是 AIH-1 型的诊断标志之一。AIH 患者 ANA 滴度

中位数为 1:320(1:40~1:16 384),4% 患者的 ANA 滴度大于 1:40,高滴度支持 AIH-1 型诊断。一般认为,核多点型 ANA 和核膜型 ANA 具有 PBC 疾病相关性。ANA 也可存在于 PSC、HBV、HCV、酒精性肝炎等患者血清中,但滴度一般较低。由于 ANA 可在多种自身免疫性疾病中出现,因此需结合多种自身抗体辅助 AILD 的确诊和分型。

2. 抗平滑肌抗体(ASMA) ASMA 与 ANA 都是国内外相关指南推荐的 AIH-1 型的主要诊断标志物,约半数 ANA 阳性的病例与 ASMA 有关。国内报道仅有 20%~30% 的 AIH 患者呈 ASMA 单独阳性,而 ANA 和 / 或 ASMA 阳性者可达 80%~90%。但 ASMA 也可在 PSC(6%)、慢性丙型肝炎(6%)等患者中出现。

3. 抗肌动蛋白抗体(抗 -actin) 高滴度 F- 肌动蛋白抗体对诊断 AIH-1 的特异性较高。研究表明抗 SMA(大于 1:80) 和抗肌动蛋白抗体(大于 1:40) 与 AIH-1 型患者的血清生化和组织学疾病活动度有关,并预示治疗失败概率较高。

4. 抗肝 / 肾微粒体抗体(抗 LKM 抗体) 抗 LKM 抗体(包括抗 LKM-1 抗体) 和抗 LC-1 抗体是 AIH-2 型的诊断标志物,通常在 ANA 和 ASMA 阴性的情况下被检测到。该抗体具有较高的 AIH 诊断特异性。

5. 抗肝细胞溶质抗原抗体 -1(抗 LC-1 抗体) 在 10% 的 AIH-2 型患者中抗 LC-1 抗体是唯一可检测到的自身抗体,该抗体常与抗 LKM-1 抗体同时出现,也可单独出现。抗 LC-1 抗体具有较高的 AIH 诊断特异性,但在临床中较为罕见。抗 LC-1 抗体被证明与疾病活动关系密切,其滴度在疾病缓解阶段会大量下降(>50%) 或消失。

6. 抗可溶性肝抗原 / 肝胰抗原抗体(抗 SLA/LP 抗体) 在 AIH-3 型患者中,抗 SLA 抗体呈现的突出特点是高特异性(接近 100%) 和低检出率(我国为 6%)。它是目前国内外公认唯一对 AIH 具有诊断特异性的自身抗体。该抗体阳性被证实与炎症较重、进展较快、易复发等特性相关,提示预后不良。

7. 抗线粒体抗体(AMA) AMA 是 PBC 的标志性自身抗体,是国内外指南推荐的 PBC 诊断标准之一。AMA-M2 亚型阳性对 PBC 的诊断具有高度敏感性和特异性,其阳性率达 90%~95%。AMA 阴性也不能完全排除 PBC 的患病可能,5%~10% 的患者中 AMA 阴性,但其临床表现与 AMA 阳性患者相同。此外,研究表明 AMA 与疾病的进展不相关。

8. 抗核多点抗体(抗 Sp100 抗体) 抗 Sp100 抗体是 PBC 高度特异性抗体,在 PBC 患者中阳性率为 30%,其诊断特异性 97%,可与抗 gp210 抗体和 / 或 AMA 同时出现,也可存在于阴性患者中,与抗 gp210 抗体联合诊断可将 PBC 的阳性率提高到 94%。抗 Sp100 抗体在 AMA-M2 阴性的 PBC 患者中阳性率为 60%。美国和欧洲肝病学会的 PBC 诊治指南中均推荐其作为 AMA 阴性 PBC 患者的诊断指标。抗 Sp100 抗体可能与 PBC 肝组织病变的进展程度有关,提示患者易进展为肝衰竭或有较严重的胆汁淤积和肝功能损害,预后不佳。

9. 抗核包膜蛋白(抗 gp210 抗体) 抗 gp210 抗体也是 PBC 高度特异性抗体,其特异性接近 100%,但灵敏性仅为 25%,可与抗 Sp100 抗体和 / 或 AMA 同时出现,也可存在于阴性患者中。抗 gp210 抗体在 AMA-M2 阴性的 PBC 患者中阳性率为 40%~60%。美国和欧洲肝病学会的指南中均推荐其作为 AMA 阴性的 PBC 患者的诊断指标。抗 gp210 抗体阳性提示疾病处于活动期,是疾病快速进展乃至发展为肝功能衰竭的危险因素。

10. 抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA) AIH-1 型中的 p-ANCA 阳性率为 50%~90%,对那些常规抗体阴性但仍然疑诊的患者可检测 p-ANCA。30%~80% 的 PSC 患者也可见到非典型 p-ANCA。在其他肝病如 AIH-2 型、PBC 患者中 ANCA 滴度较低,在与其他肝病的鉴别诊断中具有一定价值。

11. 其他实验室指标 氨基转移酶(ALT、AST) 和 IgG 在 AIH 患者中常可见水平升高,目前公认的指南中建议将 ALT>5 倍参考范围上限(ULN) 和 / 或 IgG>1.1 倍 ULN 作为 AIH 的诊断标准之一; ALP 在 PBC 或 PSC 患者中呈明显升高,提示胆汁淤积,一般认为 ALP 大于 2 倍 ULN 是 PBC 的诊断标准之一; 40%~50% 的 PSC 患者可见血清 IgM 水平升高,30% PSC 患者可出现 γ -球蛋白血症,但免疫球蛋白的异常对预后并无明确提示意义。

(二) 鉴别试验

免疫球蛋白 G4(IgG4) IgG4 相关性疾病患者可能存在一种糖皮质激素治疗有效的硬化性胆管炎, 其临床和影像学特征与 PSC 相似, 研究显示有 9%~36% 的 PSC 患者 IgG4 水平会升高。IgG4 相关性胆管炎是 1 型自身免疫性胰腺炎(IgG4 相关性胰腺炎)最常见的胰腺外表现, 超过 70% 的此类患者有 IgG4 相关性胆管炎。IgG4 相关性胆管炎、自身免疫性胰腺炎和 PSC 是独立的疾病, 还是一种疾病的不同表现, 目前尚不清楚。所有新诊断的 PSC 患者都应检测血清 IgG4, 因为 IgG4 相关性胆管炎 / 自身免疫性胰腺炎的治疗包括糖皮质激素。

(高雪丹 杨滨 石运莹 王兰兰)

第十一节 ANCA 相关性血管炎与自身抗体检测

抗中性粒细胞胞浆抗体(antineutrophil cytoplasmic antibody, ANCA)是一组以中性粒细胞及单核细胞胞浆成分为靶抗原的自身抗体。这些自身抗体在病情活动的肉芽肿性多血管炎(granulomatosis with polyangiitis, GPA, 也称为 Wegener 肉芽肿)和显微镜下多血管炎(microscopic polyangiitis, MPA)患者中存在的比例很高, 而在嗜酸性肉芽肿性多血管炎(eosinophilic granulomatosis with polyangiitis, EGPA, 也称为 Churg-Strauss 综合征)患者中存在比例较低。由于这些疾病的共同特征是 ANCA 的存在和小血管炎, 学者们将他们统称为 ANCA 相关性血管炎(ANCA-associated vasculitis, AAV)。血管炎是一种以血管的炎症和损伤为特征的临床病理过程, 通常血管腔受累, 由于任何形态、任何大小、任何部位的血管均可受累, 血管炎性损伤可以仅局限于一个器官, 也可以同时累及多个脏器和系统, 表现为广泛而又有异质性的临床综合征。AAV 是属于血管炎综合征中的一类与自身抗体相关的坏死性血管炎, 无明显免疫复合物沉积, 主要累及小血管。AAV 主要包括三类疾病, 分别具有独特的临床表型。

肉芽肿性多血管炎(GPA)不是一种很常见的疾病, 可见于任何年龄, 发病的平均年龄为 40 岁, 男女患病比为 1:1, 黑人发病罕见, 是一种有特殊临床病理表现的疾病。临床特点是上呼吸道、下呼吸道的肉芽肿性血管炎和合并存在的肾小球肾炎。组织病理学标志是小动脉和小静脉的坏死性血管炎伴肉芽肿形成, 肉芽肿可发生在血管内和血管外。95% 的 GPA 患者都有上呼吸道受累, 患者常有严重的上呼吸道病变, 例如鼻窦疼痛、渗液、脓血涕, 伴有或不伴有鼻腔黏膜溃疡。严重者可出现鼻中隔穿孔, 从而导致鼻鞍畸形。由于咽鼓管阻塞, 可能发生分泌性中耳炎。85%~90% 的患者可能出现咳嗽、咯血、呼吸困难和胸部不适的肺部受累表现; 约 77% 的 GPA 患者肾脏病变是其主要的临床表现, 一旦发现临床可见的肾脏功能损害, 往往会发展为快速进展的肾衰竭, 成为导致该病死亡的重要原因。GPA 患者还可以发生皮肤病变、心脏受累、神经系统受累等多种表现。该病的疾病活动时, 大部分患者具有非特异性症状与体征, 初期症状为全身不适、乏力、关节痛、厌食和体重下降。出现发热通常提示疾病活动, 但多数情况下提示存在继发感染, 通常为上呼吸道感染。患者特征性的实验室检测结果包括红细胞沉降率(ESR)显著升高、轻度贫血和白细胞增多、轻度的高免疫球蛋白血症(尤其是 IgA 类), 轻度 RF 增高。急性期反应时可有血小板增多。约 90% 的活动期肉芽肿性多血管炎患者抗 PR3 抗体为阳性, 疾病稳定期时, 该抗体的敏感性可降至 60% 左右, 部分患者可存在抗 MPO 抗体阳性, 约有 20% 患者 ANCA 可能为阴性。

显微镜下多血管炎(MPA)的平均发病年龄约 57 岁, 男性发病率略高于女性。是一类无免疫复合物的、影响小血管(毛细血管、小静脉或小动脉)的坏死性血管炎。肾小球肾炎在 MPA 中很常见, 肺毛细血管炎也常有发生。MPA 没有肉芽肿反应, 由此可将其与 GPA 鉴别。由于该病主要累及小血管, MPA 和 GPA 有着相似的临床表现。该病多以逐渐起病, 初期症状为发热、体重下降和骨骼肌肉痛, 至少有 79% 患者发生肾小球肾炎, 部分患者可发展为快速进展型, 迅速导致肾脏衰竭。而 MPA 还包括肾局限性血管炎(renal-limited vasculitis, RLV)。患者实验室检测常可出现炎症反应特征, 包括红细胞沉降率(ESR)升高、贫血、白细胞和血小板增加, 约 75% 的 MPAANCA 可能为阳性, 抗 MPO 抗体是与该病相关的主要 ANCA 特异性自身抗体。

嗜酸性肉芽肿性多血管炎(EGPA)是比较少见的疾病, 估计的年发病率为百万分之(1~3), 该病可发生于任何年龄段, 平均发病年龄为 48 岁, 男女比例为 1:1.2。EGPA 疾病的特征有哮喘、外周血嗜酸性粒细

胞增加和组织中嗜酸性粒细胞的浸润,血管外肉芽肿形成,以及多器官系统性血管炎。肺部的累及是该病最突出的特征,皮肤、心血管系统、肾脏、周围神经系统和胃肠道也是常见受累部位。EGPA患者常有的临床表现为全身不适、乏力、关节痛、厌食和体重下降等。肺部出现嗜酸性肉芽肿性多血管炎是最突出的临床表现,包括严重的哮喘发作和肺部浸润影像。患者的特征性实验室检测常是明显的嗜酸性粒细胞增多,80%以上患者其细胞数可以超过 $1\,000/\mu\text{L}$,大多数患者出现红细胞沉降率(ESR)升高、以及纤维蛋白或 α_2 -巨球蛋白增加的炎症性反应证据。约48%的EGPA患者有抗MPO抗体阳性。

AAV的常规实验室检查一般无特异性,主要涉及红细胞沉降率(ESR)、RF检测、血常规、生化常规的肾脏功能检测和免疫球蛋白定量分析,有条件的实验室可进行免疫复合物与炎性因子的检测。特殊检测为自身抗体ANCA的检测。ANCA检测有助于AAV的筛查,针对ANCA的特异性抗原进一步做相关自身抗体检测,对于不同的AAV疾病具有更加重要的价值。本章主要涉及检验内容为ANCA相关的自身抗体检测及其应用。

一、实验室分析路径

实验室分析路径见图20-11。

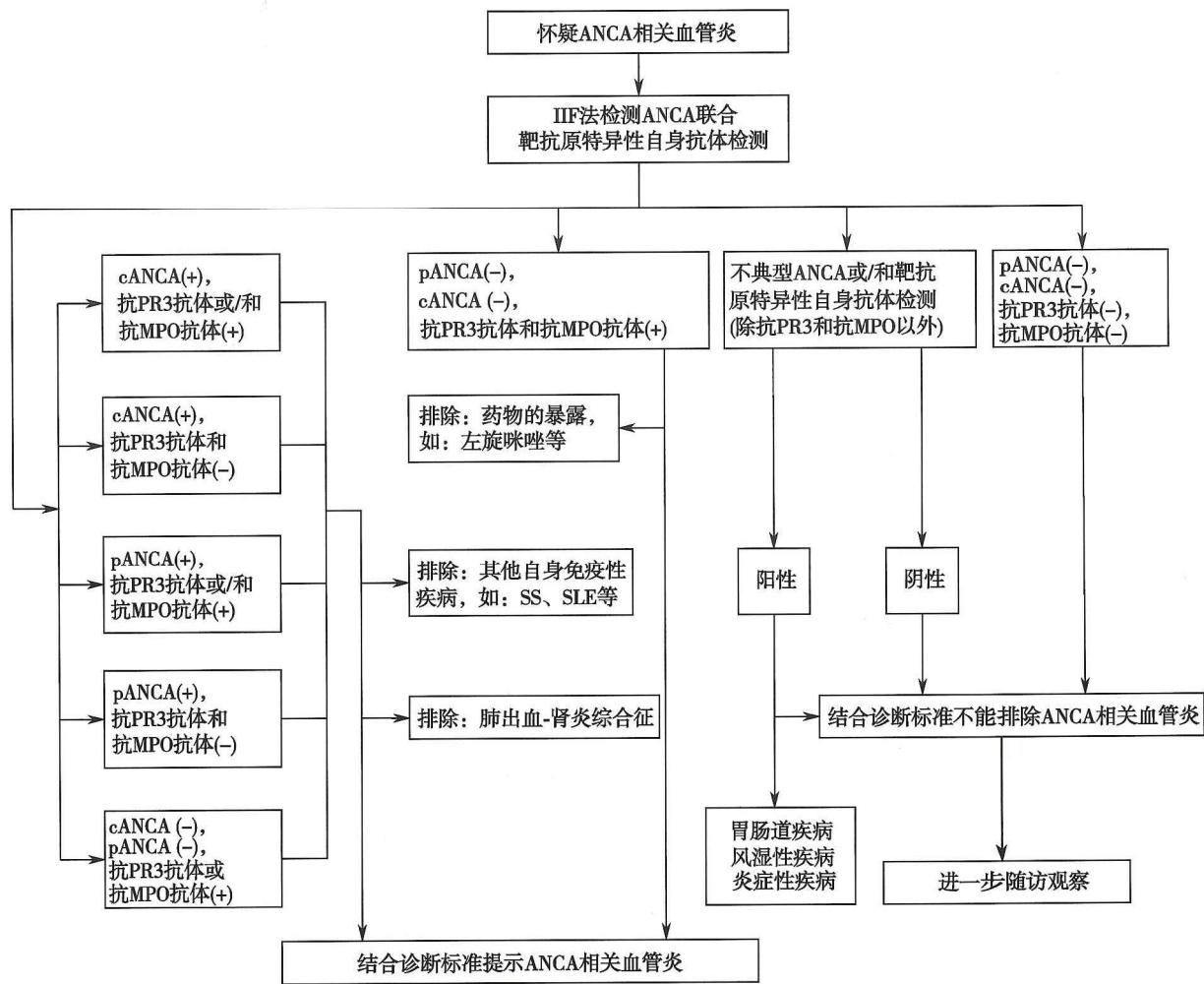


图 20-11 ANCA 相关性血管炎实验室分析路径图

二、相关实验

1. 抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)检测 ANCA是以中性粒细胞及单核细胞胞浆成分为靶抗原的自身抗体。ANCA的检测方法包括间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence assay, IFA)和针对特异

性自身抗体检测的免疫学方法,如 ELISA 法等。

IFA 检测 ANCA 以乙醇和甲醛固定的人中性粒细胞为标准试验基质,为便于更好地进行荧光结果判读,建议同时结合 HEp-2 细胞等实验基质排除抗核抗体(antinuclear antibody,ANA)的干扰。IFA-ANCA 根据在乙醇和甲醛固定的人中性粒细胞上呈现的荧光染色形态不同,分为胞浆型 ANCA(称为 cANCA)、核周型 ANCA(称为 pANCA)及不典型 ANCA(不典型 cANCA 和不典型 pANCA)。

2. ANCA 特异性自身抗体检测 ANCA 的靶抗原包括髓过氧化物酶(myeloperoxidase,MPO)、蛋白酶 3(proteinase 3,PR3)、人白细胞弹性蛋白酶(human leukocyte elastase,HLE)、乳铁蛋白(lactoferrin,LF)、溶酶体(lysozyme,LYS)、组织蛋白酶 G(cathepsin G,Cath G)、杀菌/通透性增高蛋白(bactericidal/permeability increasing protein,BPI)等,以 MPO、PR3 最常见。抗 MPO 抗体和抗 PR3 抗体对 AAV 的分型、临床表现、治疗效果评价及预后判断等都具有重要的临床意义。针对靶抗原特异性自身抗体检测主要采用免疫学方法,包括 ELISA、线性免疫印迹法、高通量流式免疫法、化学发光法、荧光酶免疫法等。

三、结果判断与分析

(一) 诊断实验

1. 抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)检测

胞浆型 ANCA(cANCA): 该型荧光模型表现为乙醇固定的人中性粒细胞胞浆呈现弥散的粗细不一的颗粒荧光,胞浆荧光清晰勾勒出细胞及细胞核的形态,分叶核间荧光呈现重染;甲醛固定的中性粒细胞呈现上述一致的荧光染色。蛋白酶 3(PR3)是 cANCA 主要的靶抗原,它是一种分子量为 29kD 的中心丝氨酸蛋白酶,存在于中性粒细胞嗜天青颗粒里。90% 以上典型活动的肉芽肿性多血管炎患者检测抗 PR3 抗体呈阳性,特别是在伴有活动期肾小球肾炎的情况下。cANCA 阳性,抗 PR3 抗体或/和抗 MPO 抗体阳性,可以见于活动性 ANCA 相关血管炎患者中;cANCA 阳性,抗 PR3 抗体和抗 MPO 抗体阴性,可以见于经治疗后的 ANCA 相关血管炎患者中。值得注意的是,ANCA 阳性对 ANCA 相关血管炎诊断仅有辅助意义,除了极其罕见的情况,自身抗体检测不能代替组织活检。

核周型 ANCA(pANCA): 针对中性粒细胞内嗜天青颗粒蛋白的自身抗体即可出现 pANCA 的特征,该型荧光模型表现为乙醇固定的中性粒细胞呈现典型的核周胞浆带状荧光染色增强,荧光阳性染色主要集中在分叶核周围,形成环状或不规则的块状,带状荧光向细胞核内浸润或不浸润;甲醛固定的中性粒细胞胞浆呈现弥散、粗细不一的颗粒状荧光,胞浆中的荧光可清晰勾勒出细胞及细胞核的形态,分叶核间荧光呈现重染。髓过氧化物酶(MPO)是 pANCA 主要的靶抗原,其他能够产生 pANCA 荧光模型的靶抗原包括弹性蛋白酶(HLE)、乳铁蛋白(LF)、溶酶体(LYS)、组织蛋白酶 G(Cath G)、杀菌/通透性增高蛋白(BPI)等。然而,目前认为抗 MPO 抗体阳性对诊断 MPA 最具有临床价值。pANCA 阳性,抗 MPO 抗体和/或抗 PR3 抗体阳性,可以见于活动性 AAV 患者中;pANCA 阳性,抗 MPO 抗体和抗 PR3 抗体阴性,可以见于经治疗后的 AAV 患者中。由于 pANCA 阳性还可出现在一系列炎症性疾病中,因此,单独 pANCA 阳性对诊断血管炎的特异性较低,结合进一步检测特异性抗原的自身抗体对诊断的帮助更大。

不典型的 pANCA 阳性,抗 HLE 抗体阳性,可见于原发性硬化性胆管炎(PSC)、SLE、PBC 等患者中;不典型的 pANCA 阳性,抗 LF 抗体阳性,可见于慢性炎症性肠病(CIBD)、PSC、SLE、RA 等患者中;不典型的 pANCA 阳性,抗 Cath G 抗体阳性,可见于 SLE、IBD、PBC 等患者中;不典型的 pANCA 或不典型的 cANCA 阳性,抗 BPI 抗体阳性,可见于肺部炎症性疾病,主要是囊性纤维化患者。

cANCA 或 pANCA 阳性,抗 PR3 抗体、抗 MPO 抗体以外的其他抗体阳性,偶见于 ANCA 相关血管炎患者中;cANCA 阴性,pANCA 阴性,抗 PR3 抗体或抗 MPO 抗体阳性,可出现在部分 AAV 患者中。抗 PR3 抗体、抗 MPO 抗体同时阳性时,要注意排除药物的影响,其中最常见的一种情况是左旋咪唑暴露,左旋咪唑可引起与坏疽性皮肤损害相关的独特的血管病变。

不典型 cANCA 或不典型 pANCA 阳性,抗 PR3 抗体、抗 MPO 抗体以外的其他抗体阳性,可见于胃肠道疾病、风湿性疾病、炎症性疾病等患者中。ANCA 阴性不能排除 AAV。ANCA 阳性的 AAV 患者和 ANCA 阴性的 AAV 患者之间在临床特征等方面都具有差异。

总体来讲,对于AAV的诊断,cANCA的特异性强于pANCA。实际上,检测ANCA特异性自身抗体如:抗PR3抗体、抗MPO抗体在诊断AAV中的特异性和阳性预测值更高。

2. 外周血嗜酸性粒细胞 外周血嗜酸性粒细胞增多(通常为5 000~9 000/ μL)是EGPA最典型的表
现,血常规检测发现嗜酸性粒细胞>1 500/ μL (或>总白细胞计数的10%)时就应怀疑EGPA。

(二) 鉴别试验

1. 抗核抗体(antinuclear antibody,ANA) 抗核抗体检查阳性可能支持存在系统性红斑狼疮等基
础系统性风湿性疾病。

2. 抗肾小球基底膜抗体(anti-glomerular basement membrane antibody,anti-GBM) anti-GBM见于抗GBM病患者,这些患者中有10%~40%在诊断时可见ANCA阳性,抗MPO抗体阳性多于抗PR3抗体阳性。anti-GBM的检测有助于这部分患者的鉴别诊断。

(黄卓春 胡静 石运莹 王兰兰)

第十二节 抗磷脂综合征与自身抗体检测

抗磷脂综合征(antiphospholipid syndrome,APS)是由自身抗磷脂抗体(antiphospholipid antibody,aPL)介导的以反复动脉或静脉血栓和/或病态妊娠(妊娠早期流产和中晚期死胎)为特征的获得性易栓性疾病。最早发现该类疾病患者血清中可检出一组抗狼疮抗凝物(lupus anticoagulant,LA)的抗体。现已明确患者血清中检测到的主要自身抗体是针对的磷脂-血浆蛋白复合物[主要是43kD血浆载脂蛋白——称为 β_2 -糖蛋白1(β_2 -GPI)和凝血素]。

APS可分为原发性APS和继发性APS,继发性APS多见于系统性红斑狼疮(SLE)或类风湿性关节炎(RA)等自身免疫病。多见于年轻人。男女发病比率为1:9,女性发病的中位年龄为30岁。抗磷脂综合征的主要临床表现为动脉或静脉血栓和/或病态妊娠引起的直接或间接表现。静脉血栓相关的临床表现是表浅静脉和深静脉血栓、脑静脉血栓、颅内高压的症状和体征、视网膜静脉血栓、肺栓塞、肺动脉高压和巴德-基亚里综合征。动脉血栓的表现为偏头痛、认知功能障碍、短暂的脑缺血发作、卒中、心肌梗死、上下肢动脉血栓、缺血性肢体溃疡、肢端坏疽、缺血性骨坏死、视网膜动脉闭塞导致的无痛性短暂性视力丧失、肾动脉狭窄、肾小球病变,以及脾、胰腺和肾上腺栓塞等。因肾小球毛细血管急性血栓性微血管病变和纤维内膜增生的慢性损害可导致肾小球病变,这些病变的特征为小动脉纤维化和/或纤维细胞性闭塞以及皮质局灶萎缩,临床表现为高血压、轻度血肌酐升高、蛋白尿和轻度血尿。早期动脉粥样硬化是APS罕见的临床特点。aPL阳性的自身免疫性疾病和感染患者复发性流产的发生率较高,约为28%,胎龄小于10周的胎儿丢失率约为35%、胎龄大于10周的胎儿丢失率约为17%。导致该类复发性流产或习惯性流产的主要机制是aPL对胎盘滋养细胞具有细胞毒性,通过诱导局部炎症反应和活化补体系统导致病态妊娠。皮肤的网状青斑主要由斑驳网状血管组成,临幊上出现皮肤的同彣边状、紫色网状变化,这些临幊表现与毛细管的血栓导致小静脉水肿和病变血管发生的部位有关。

APS患者可分为两类,I类为有1种以上aPL阳性的患者,II类为仅有任意1种aPL阳性的患者。其中II类APS患者依据不同aCL阳性的种类,可分为IIa、IIb、IIc三类。IIa为狼疮抗凝物(LA)阳性,IIb为抗心磷脂抗体(aCL)阳性,IIc为抗 β_2 -糖蛋白1(β_2 -GPI)抗体阳性。

一、实验室分析路径

实验室分析路径见图20-12。

二、相关实验

原发性APS的诊断主要依靠临幊表现和实验室检查,还必须排除其他自身免疫病和感染、肿瘤等疾病引起的血栓。根据ISTH2006年修订的APS分类标准,至少满足1条临幊标准和1条实验室标准方可诊断APS。实验室标准主要包括狼疮抗凝物(LA)、抗心磷脂抗体(aCL)和抗 β_2 -糖蛋白1(β_2 -GPI)抗体。

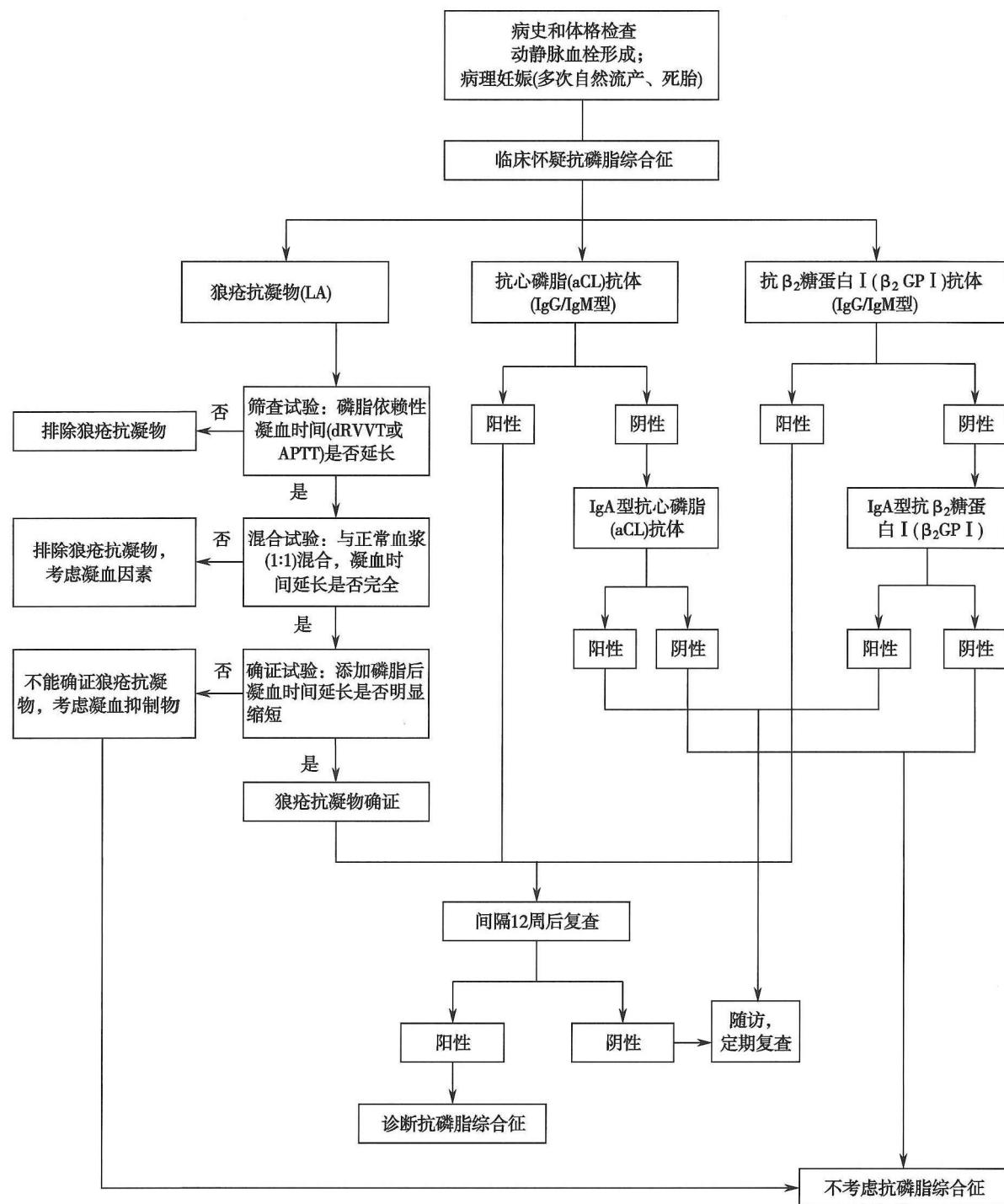


图 20-12 抗磷脂综合征的实验室分析路径图

(一) 首选实验

1. 狼疮抗凝物(LA) LA是一组能与负电荷磷脂和磷脂蛋白质复合物相结合的 IgG/IgM 型免疫球蛋白。作用于凝血酶原复合物(Xa、V a、Ca²⁺ 及磷脂)以及 Tenase 复合体(因子 IXa、VIIa、Ca²⁺ 及磷脂), 在体外能延长磷脂依赖的凝血试验的时间。因此检测 LA 是一种功能试验, 有凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶(APTT)、白陶土凝集时间(KCT)和蛇毒试验, 其中以 KCT 和蛇毒试验较敏感。

2. 抗心磷脂抗体(aCL) 以心磷脂为抗原进行检测, 国际上对 IgG 和 IgM 型 aCL 检测结果的表述单位采用为 GPL(1μg/mL 纯化的 IgG 型 aCL 的结合抗原活性)和 MPL(1μg/mL 纯化的 IgM 型 aCL 的结合抗原活性)。常用酶联免疫吸附法(ELISA)进行检测, 目前临幊上已有自动化程度高, 重复性好, 敏感度

和特异度均较高的化学发光法用于对 aCL 的 IgG、IgA 和 IgM 类抗体进行定量检测。

3. 抗 β_2 -糖蛋白 1 (β_2 -GPI) 抗体 用纯化的 β_2 -GPI 为抗原检测抗 β_2 -GPI 抗体,与 aCL 相比,该抗体与血栓的相关性更强,假阳性低,对诊断原发性 APS 的敏感性与 aCL 相近。目前常用 ELISA 法进行检测。也可使用化学发光法对 β_2 -GPI 的 IgG、IgA 和 IgM 类抗体进行定量检测。

(二) 其他实验

1. Coombs 试验 抗球蛋白试验(antiglobulin test, AGT)又称 Coombs 试验,也称为抗人球蛋白试验,用于检测患者红细胞膜上或血清中有无红细胞抗体。部分 APS 患者会出现自身免疫性溶血性贫血, Coombs 试验阳性是相关的实验室特征。

2. 血小板计数 约有 30% 的 APS 患者会出现血栓性血小板减少,常规检测时关注血小板数量是辅助诊断 APS 的实验室证据。

3. 抗核抗体、抗可溶性核抗原(ENA)抗体和其他自身抗体的相关检测以排除其他结缔组织病。

4. 尿常规,尿微量蛋白、肾功能等常规检查可协助了解肾脏受损状况。

三、结果判断与分析

抗磷脂抗体(aPL)与磷脂综合征密切相关,但不是其特异性抗体。在一般人群中 aPL 的阳性率是 1%~5%,阳性率随年龄的增加而增加。aPL 阳性亦可出现在 SLE(约有三分之一的 SLE 患者 aPL 呈阳性)、RA、系统性硬化、干燥综合征等自身免疫疾病患者中。另外,恶性肿瘤(如淋巴瘤、白血病、肺癌等)、感染性疾病(如梅毒、结核、传染性单核细胞增多症等)、某些药物(如普鲁卡因胺、氯丙嗪、避孕药等)使用后及部分健康人群中也可以出现 aPL 阳性。1/3 的抗磷脂抗体阳性的患者会有血栓事件或不良孕产史。

1. 狼疮抗凝物(LA) LA 的检测方法包括:

(1) 筛查试验:包括稀释的蝰蛇毒磷脂时间法(dRVVT)、活化部分凝血活酶时间法(APTT)、硅凝固时间法(SCT)、大斑蛇凝血时间法(TSVT)及蛇静脉酶时间法(ET)等。目前,ISTH、临床实验室标准化协会(CLSI)等国际指南推荐,对 LA 采用 2 种不同凝血途径的方法进行检测,其中 dRVVT 和 APTT 是国际上最常用的检测方法,通常 dRVVT 作为首选方法,敏感性较好的 APTT(低磷脂或二氧化硅作为活化剂)作为次选方法。

(2) 确证试验:采用改变磷脂的浓度或组分来确证 LA 的存在。

(3) 混合试验:将患者血浆与正常血浆(1:1)进行混合,以证实凝血时间延长并不是由于凝血因子缺乏导致。

临床实验室标准化协会(CLSI)发布的指南中对 LA 的检测程序为筛查试验-确证试验-混合试验,当筛查试验和确证试验检测结果难以解释时再进行混合试验。在血浆中测得狼疮抗凝物至少 2 次,每次间隔至少 12 周。接受华法林、肝素及新型口服抗凝剂治疗的患者可能出现 LA 假阳性,因此对接受抗凝剂治疗患者的 LA 检测结果,应谨慎解读。

要引起注意的是,由于 APS 患者常具有可以识别苍白密螺旋体 PL/ 胆固醇复合物的抗体,可出现梅毒血清学检测假阳性(BFP-STS)和梅毒快速试验(VDRL)假阳性,这类患者的结果解读要注意区分。

2. 抗心磷脂抗体(aCL) 检测血清中抗心磷脂抗体(aCL): IgG/IgM 型中高滴度阳性(aCL-IgG 抗体>40GPL; aCL-IgM 抗体>40MPL; 或滴度大于 99 百分位数)。抗心磷脂抗体(aCL)包括 IgG、IgM、IgA 等亚型。由于与抗磷脂综合征诊断相关的国际、国内标准或指南中,仅提出检测患者抗心磷脂抗体中的亚型(aCL-IgG 抗体和 aCL-IgM 抗体)以及抗 β_2 -GPI 抗体中的亚型(抗 β_2 GP I-IgG 抗体和抗 β_2 GP I-IgM 抗体)为阳性,可以作为抗磷脂综合征诊断的实验室依据。而 aCL-IgA 抗体和抗 β_2 GP I-IgA 抗体未纳入指南(且临幊上单独抗 aCL-IgA 抗体和抗 β_2 GP I-IgA 抗体呈高滴度阳性较少出现),因此建议临幊首先检测 aCL-IgG 抗体和 aCL-IgM 抗体,若 aCL 抗体的 IgG 和 IgM 型阴性,但临幊高度怀疑是 APS 时,建议再检测 aCL-IgA 抗体。低滴度抗心磷脂抗体(aCL)亦可能有临床意义(特别是病理妊娠),需密切结合临幊表现加以判断。目前常规临幊检测时,为缩短等待时间,方便快捷,通常将 IgG、IgM、IgA 三个抗体同步检测。首次检测与再次检测最好间隔 12 周以上,至少 2 次或 2 次以上阳性,结合临幊表现协助诊断。

由于在 SLE 等自身免疫病、恶性肿瘤(如淋巴瘤、白血病、肺癌等)、感染性疾病(如梅毒、结核、传染性单核细胞增多症等)、某些药物(如普鲁卡因胺、氯丙嗪、避孕药等)使用后及部分健康人群中亦可出现抗心磷脂抗体(aCL)阳性。需密切结合临床表现加以判断与鉴别,必要时重复检测。

3. 抗 β_2 -糖蛋白 1(β_2 -GPI)抗体 检测血清或血浆中抗 β_2 -糖蛋白 1(β_2 -GP I)抗体: IgG/IgM 型阳性(滴度大于 99 百分位数)。抗 β_2 -糖蛋白 1(β_2 -GPI)抗体包括 IgG、IgM、IgA 等亚型。同抗心磷脂抗体(aCL)的应用一样,国际、国内标准或指南中,仅提出检测患者抗心磷脂抗体中的亚型(aCL-IgG 抗体和 aCL-IgM 抗体)以及抗 β_2 -GPI 抗体中的亚型(抗 β_2 GP I-IgG 抗体和抗 β_2 GP I-IgM 抗体)为阳性,可以作为抗磷脂综合征诊断的实验室依据。因此,在做 β_2 -GPI 检测时,仍然建议首先检测抗 β_2 GP I-IgG 抗体和抗 β_2 GP I-IgM 抗体,若抗 β_2 GP I 抗体的 IgG 和 IgM 型阴性,但临床高度疑似 APS 时,建议检测抗 β_2 GP I-IgA 抗体。同抗心磷脂抗体(aCL)的检测一样,目前常规临床检测时,为缩短等待时间,方便快捷,通常将 IgG、IgM、IgA 三个抗体同步检测。首次检测与再次检测最好间隔 12 周以上,至少 2 次或 2 次以上阳性,结合临床表现协助诊断。

4. 与病态妊娠相关的 aPL 病态妊娠是指一次或多次发生于妊娠 10 周或 10 周以上的不能解释的形态学正常的死胎、或一次或多次发生于妊娠 34 周之前因严重的先兆子痫、子痫或者明确的胎盘功能所致的形态学正常的新生早产儿、或者是大于或等于 3 次发生与妊娠 10 周内的无法解释的自发性流产,LA 阳性与病理妊娠等临床事件有更强的相关性。实验室检测指标包括,LA、aCL 和 / 或抗 β_2 -GP I 等抗磷脂抗体的检测,如果 LA、aCL 抗体、抗 β_2 -GP I 抗体同时阳性(即 3 种抗体阳性),特别呈现中高滴度阳性,与病理妊娠的相关性更高。

(张蕾 杨滨 石运莹 王兰兰)

第十三节 病例分析

病例 1

一般资料:

患者,女性,15岁,主诉“乏力,发热3⁺个月,伴颧部红斑1⁺个月”。患者3⁺个月前无明显诱因出现乏力,发热,体温37~38℃,1⁺个月前出现颧部红斑,日光照射后出现皮疹。患病以来,精神饮食差,体重下降5kg。

体格检查:

体温37.8℃,脉搏100次/min,呼吸频率20次/min,血压120/90mmHg,面部蝶形红斑,口腔溃疡,余无特殊。

实验室检查:

血清 IgG 25.3g/L, IgA 3 380mg/L, IgM 2 960mg/L, C3 0.53g/L, C4 0.08g/L, RF<20IU/mL, ANA 1:3 200 均质型颗粒型, Anti dsDNA +1:10, Anti Sm (+++), Anti RNP (++++)。

分析:

该患者最可能的诊断是活动期 SLE,因为血清免疫学检查显示高免疫球蛋白,低补体,并且抗核抗体和双链 DNA 抗体阳性,支持活动期 SLE 诊断。进一步检查尿微量蛋白了解肾脏情况,尿 MA 18mg/L, TRF<2mg/L, IgG<20mg/L, α_1 M 10.0mg/L, 尿微量蛋白处于正常范围内。

最后诊断:

活动期 SLE,尚未有肾脏损害。

病例 2

一般资料:

患者,女性,29岁,主诉“发热,乏力5⁺个月”。患者5⁺个月前无明显诱因出现发热体温在

37~38℃。四肢无力,下蹲、起立、举臂、翻身、吞咽出现困难,并伴有关节痛。患病以来,精神饮食差,体重明显减轻。

体格检查:

体温 37.3℃,脉搏 98 次/min,呼吸 21 次/min,血压 105/75mmHg。头颈部无特殊,四肢肌肉压痛,余无明显异常。

实验室检查:

肌酶谱升高,肌电图示肌原性损害,肌活检异常。免疫学检查: IgG 27.5g/L, IgA 935mg/L, IgM 870mg/L, C3 0.915g/L, C4 0.173g/L, CIC 0.17OD, RF<20IU/mL, ANA+1:320 胞质型, Anti dsDNA-, Anti Sm-, Anti RNP-, Anti SSA-, Anti SSB-, Anti Scl-70-, Anti Jo-1++, Anti rib-。

分析:

该患者最可能的诊断是多发性肌炎,因为血清免疫学检查结果支持该诊断,尤其是抗 Jo-1 抗体阳性结果进一步明确诊断。

最后诊断: 多发性肌炎。

病例 3

一般资料:

患者,女性,23岁,主诉“晨僵 3⁺个月,伴腕掌关节痛 2⁺个月”。患者 3⁺个月前无明显诱因出现晨僵,每次持续时间在 2 小时左右,后自行缓解。2⁺个月前出现腕、掌指关节痛。

体格检查:

腕关节,近端指关节压痛,双侧指关节对称性关节肿,右手掌指关节处见皮下结节,余无特殊。

实验室检查:

血清 IgG 15.3g/L, IgA 4 470mg/L, IgM 3 640mg/L, C3 0.98g/L, C4 0.24g/L, RF360IU/mL, ANA-, Anti dsDNA-, ENA-, AKA+, 抗 CCP 抗体 110RU/mL, CRP 116mg/L。

分析:

该患者最可能的诊断是活动期 RA,因为血清免疫学检查显示高免疫球蛋白,低补体,并且 RF、AKA、CCP 这三个与 RA 相关的抗体均阳性,炎性指标均显著升高,支持活动期 RA 诊断。

最后诊断:

活动期 RA。

病例 4

一般资料:

患者,女性,46岁,主诉“晨僵,双侧手指关节痛 2⁺个月”。患者 2⁺个月前无明显诱因出现晨僵,每次持续约 1 小时,后自行缓解。同时伴双侧手指关节痛,未做特殊处理,无明显缓解。

体格检查:

生命体征平稳,头颈部无异常,双侧手指关节压痛,未见关节肿及皮下结节,余无特殊。

实验室检查:

IgG 33.10g/L, IgA 2 850mg/L, IgM 1 430mg/L, C3 0.993 0g/L, C4 0.198 0g/L, CIC 0.18OD, RF 105IU/mL, ANA+1:320 斑点型, Anti dsDNA-, ENA-, AKA+, 抗 CCP 抗体 102RU/mL。

分析:

该患者最可能的诊断是 RA,因为血清免疫学检查结果支持诊断,尤其是 RF、AKA、CCP 抗体阳性结果进一步明确诊断,另有必要检测 CRP 及 SAA 等炎性标志物,以判断其疾病活动程度。

最后诊断:

RA。

病例 5**一般资料：**

患者女性,28岁,主诉“发热,面部红斑2⁺个月,口腔溃疡2⁺周”。患者2⁺个月前无明显诱因出现发热。自服“感冒药”无缓解。无特殊既往病史和服药史。

体格检查：

体温37.8℃,脉搏102次/min,呼吸22次/min,血压110/80mmHg。颧部蝶形红斑,口腔见多个溃疡及脓点,余无特殊。

实验室检查：

IgG 38.4g/L,IgA 2 970mg/L,IgM 1 420mg/L,IgE 228.4IU/mL,C3 0.6 610g/L,C4 0.125 0g/L,CIC 0.14OD,RF 41.10IU/mL,ANA++1:1 000 均质斑点型,Anti dsDNA +1:10,Anti Sm++++。

分析：

因患者具有面部红斑和口腔溃疡表现,免疫学指标检查 ANA++1:1 000 均质斑点型,该患者最可能的诊断为 SLE,结合 Anti dsDNA 和 Anti Sm 阳性检测结果进一步确诊。

最后诊断：

SLE,同时应监测肾脏功能如尿微量蛋白检测,以便监测其累及肾脏情况。

病例 6**一般资料：**

患者,女性,25岁,主诉“肌痛,手指肿胀1⁺个月”。患者3⁺个月前无明显诱因出现胸闷,脱发,患病以来,精神饮食差,体重下降5kg。

体格检查：

体温37.8℃,脉搏100次/min,呼吸20次/min,血压120/90mmHg,关节压痛,余无特殊。

实验室检查：

血细胞分析: 血红蛋白83g/L,红细胞 $2.1 \times 10^{12}/L$,Hct 0.24,MCV 109fL,红细胞大小不等。白细胞 $3.3 \times 10^9/L$,中性分叶细胞0.69、淋巴细胞0.27、单核细胞0.02、嗜酸性粒细胞0.02,血小板 $125 \times 10^9/L$ 。IgG 25.3g/L,IgA 3 380mg/L,IgM 2 960mg/L,C3 0.73g/L,C4 0.18g/L,RF<20IU/mL,ANA 1:3 200 斑点型,Anti RNP (++++)。

分析：

该患者最可能的诊断自身免疫性疾病,结合患者临床表现其可能为 SLE、SSc、PM、DM 和 RA,但上述疾病尚不能确诊,结合 Anti RNP 检验结果可进一步明确诊断。

最后诊断：

MCTD。

病例 7**一般资料：**

患者,男性,25岁。主诉“腰痛5⁺个月,背痛1⁺个月”。患者5⁺个月前无明显诱因出现腰痛,牵涉至臀部,为持续钝痛,无明显缓解。1⁺个月前出现背痛,静止后加重,活动后减轻。

体格检查：

生命体征平稳,头颈部无特殊,腰部前弯、后仰、侧弯三向活动受限。右侧膝关节肿胀,有压痛。

实验室检查：

IgG 18.3g/L,IgA 970mg/L,IgM 1 540mg/L,C3 1.25g/L,C4 0.27g/L,CIC 0.13OD,RF<20IU/mL,ANA (-),Anti dsDNA (-),ENA (-),HLA-B27 97.3% (+)。

分析：

根据患者主诉的临床症状和查体分析,该患者为年轻男性,出现腰背部疼痛,并为活动后减轻,同时腰部活动受限,提示患者可能为强直性脊柱炎(AS),选择相关的实验室检查指标显示,患者免疫球蛋白 IgG 略高,且具有 AS 诊断较高特异性的指标 HLA-B27 阳性,提示该患者可诊断为强直性脊柱炎(AS),CRP 异常升高,结合患者临床症状,提示患者处于炎症活跃期。如能结合影像学检查,可进一步帮助确诊。

诊断意见:

AS,如能结合影像学检查,可进一步帮助确诊。

病例 8**一般资料:**

患者,女性,29岁。主诉“发热,乏力 5^+ 个月”。患者 5^+ 个月前无明显诱因出现发热体温在 $37\sim38^\circ\text{C}$ 。四肢无力,下蹲、起立、举臂、翻身、吞咽出现困难,并伴有关节痛。患病以来,精神饮食差,体重明显减轻。

体格检查:

体温 37.3°C ,脉搏98次/min,呼吸21次/min,血压 $105/75\text{mmHg}$ 。头颈部无特殊,四肢肌肉压痛,余无明显异常。

实验室检查:

IgG 27.5g/L, IgA 935mg/L, IgM 870mg/L, C3 0.915g/L, C4 0.173g/L, CIC 0.17OD, RF<20IU/mL, ANA (+) 1:320 斑点型胞质型, Anti dsDNA (-), Anti Sm (-), Anti RNP (-), Anti SSA (-), Anti SSB (-), Anti Scl-70 (-), Anti Jo-1 (+++), Anti rib (-)。肌酶谱升高。

其他辅助检查:

肌电图示肌原性损害,肌活检异常。

分析:

根据患者主诉的临床症状和查体分析,该患者为育龄女性,出现肌肉疼痛,四肢无力等症状,怀疑患者可能患有免疫系统疾病,选择相关的实验室检查指标显示,血清 IgG、CIC 异常升高,符合自身免疫性疾病高γ血症的指征,ANA 阳性,对诊断多发性肌炎有高度特异性的 Anti Jo-1 强阳性,提示患者为多发性肌炎,另外肌电图示肌原性损害,肌活检异常,肌酶谱升高,所有临床体征及检查指标均提示患者为多发性肌炎。

最后诊断:

PM。

病例 9**一般资料:**

患者,女性,35岁。主诉“手指僵硬 3^+ 个月,面部皮肤色素沉着 1^+ 个月”。患者 3^+ 个月前无明显诱因出现手指僵硬,皮肤变硬,未做特殊处理。 1^+ 个月前出现面部、肢体的广泛硬皮,色素沉着间以脱色白斑。

体格检查:

生命体征平稳,面部皮肤受损,面纹消失,面容刻板,张口困难。肢体及躯干部见广泛皮肤受损,色素沉着及脱色白斑。余无特殊。

实验室检查:

IgG 28.5g/L, IgA 3 050mg/L, IgM 1 980mg/L, C3 0.9g/L, C4 0.195g/L, CIC 0.132OD, RF 215IU/mL, ANA (++) 1:1 000 均质核仁型, Anti dsDNA (-), Anti Sm (-), Anti RNP (-), Anti SSA (-), Anti SSB (-), Anti Scl-70 (+++), Anti Jo-1 (-), Anti rib (-)。

分析:

根据患者主诉的临床症状和查体分析,该患者为育龄女性,出现面部、肢体皮肤广泛变硬,怀疑患者为硬化症,选择相关的实验室检查指标显示,IgG 及 IgA 异常增高,符合自身免疫性疾病高γ血症的指征,

ANA 阳性,对诊断弥漫型系统性硬化症有高度特异性的 Anti Scl-70 强阳性,提示患者为弥漫型系统性硬化症,如能结合病理学检查结果可进一步确诊。

诊断意见:

PSS,如能结合病理学检查结果可进一步确诊。

病例 10

一般资料:

患者,女性,28岁。主诉“进食困难伴皮疹3⁺个月”。患者3⁺个月前无明显诱因出现进食困难,唇舌干燥,大量饮水,无缓解。肢体及躯干出现皮疹,为红色,局部瘙痒。

体格检查:

生命体征平稳,头颈部无特殊,见四肢及躯干散在红色皮疹,余无明显异常。

实验室检查:

IgG 78.5g/L, IgA 3 980mg/L, IgM 3 590mg/L, IgE 187.3IU/mL, C3 1.56g/L, C4 0.263g/L, CIC 0.45OD, RF 200IU/mL, ANA(++)1:1 000 斑点型, Anti dsDNA(-), Anti SSA(++) ,Anti SSB(++) ,余(-); CD3: 54.5%, CD4: 17.7%, CD8: 32.1%, CD4/CD8: 0.6。

分析:

根据患者主诉的临床症状和查体分析,该患者为育龄女性,出现唇舌干燥,伴有皮肤异常,患者可能患有免疫系统疾病,选择相关的实验室检测显示,患者免疫球蛋白异常增加,符合自身免疫性疾病高γ血症的指征,CIC 异常升高,ANA 呈阳性、且与诊断干燥综合征有高度相关性的 Anti-SSA 和 Anti-SSB 均阳性,实验室结果提示该患者与患干燥综合征密切相关,如能进行腺体活检可进一步帮助确诊。

诊断意见:

SS,如能进行腺体活检可进一步帮助确诊。

病例 11

一般资料:

患者,男性,47岁,主诉“反复腰背部不适1⁺年,发现双肾增大1⁺月”,1⁺月前,双侧肾脏长大(左侧14.6cm×5.8cm,右侧13.8cm×4.9cm),伴总蛋白升高、白蛋白降低,尿蛋白定性阴性,无小便量减少、双下肢及颜面部水肿。外院实验室检查:总蛋白106.6g/L,白蛋白27.4g/L,肌酐106.6μmol/L,免疫球蛋白κ轻链>8.76g/L,免疫球蛋白λ轻链>4.88g/L。TSH 6.84μIU/mL。影像学检查:甲状腺专科彩超显示甲状腺左侧叶混合回声结节。胸部CT显示双肺,双侧腋窝及纵隔多发淋巴结,部分肿大。上腹部MRI:腹膜后、肝门区多发淋巴结;胰头体积稍增大,钩突区可疑信号;胆总管下段及胰管轻度扩张;双侧肾脏体积增大伴异常信号,以左肾为主。

体格检查:

体温36.8℃,脉搏80次/min,呼吸20次/min,血压153/97mmHg。查体发现双侧耳后、颌下、颈前、双侧腋窝、腹股沟可扪及多个淋巴结,最大者约2cm×3cm。余无特殊。

既往史:

1⁺年前患胰腺炎,1⁺年前,行“腹腔镜下胆囊切除术”。否认肝炎、结核或其他传染病史,否认过敏史。

实验室检查:

血清 IgG 56.60g/L, IgA 613.00mg/L, IgM 680.00mg/L, IgE 279.00IU/mL, KAP 轻链 48.80g/L, LAM 轻链 29.50g/L, 尿 KAP 轻链 1.37g/L, 尿 LAM 轻链 0.31g/L, ALT 247IU/L, AST 318IU/L, ALP 414IU/L, GGT 277IU/L, 嗜酸性粒细胞比例 12.6%, ANA 可疑(±), 血清 IgG4 浓度为 70.1g/L, 凝血功能、输血前全套、ENA、ANCA 未见明显异常。骨髓穿刺活检病理诊断:造血细胞增生低下。免疫表型检测示散在及小灶性分布的淋巴细胞 CD20(+,p)、CD3(+,p)、CD5(+,p)、Cyclin D1(-)、CD5(-)。另见少数 CD138(+)、IgK(+) 或 Igλ(+) 之浆细胞散在分布,约占有核细胞 5%。肾穿刺活检病理诊断:肾小球病变轻微伴个别球性

硬化,以小管间质性肾炎病变为 主。免疫组化染色:间质浸润浆细胞呈 Kappa(部分细胞+),Lambda(部分细胞+)。免疫组化 IgG4 染色显示阳性细胞最多处约 30 个 /HPF。腹股沟淋巴结活检病理诊断: 淋巴结正常结构存在,淋巴组织增生伴淋巴滤泡形成,髓索较多浆细胞浸润。免疫表型检测示淋巴细胞 CD20(+,p)、CD3(+,p)、CD5(+,p)、CD30(+,少数转化细胞)。浆细胞 CD138(+),IgK(+,p),Igλ(+,p); IgG4(+,局灶区均 60~70 个 /HPF)。EBER1/2-ISH(-),流式细胞学检测未检出 T、B 及 NK 细胞异常表达细胞群。

分析:

本次病例中的患者具有较典型的 IgG4 相关疾病的临床表现及特征,患者表现为受累器官肿大,全身弥漫性淋巴结肿大,肾脏穿刺免疫组化 IgG4 染色显示阳性细胞最多处约 30 个 /HPF,淋巴结穿刺活检免疫组化 IgG4 染色显示局灶区均 60~70 个 /HPF,血清 IgG4 浓度为 70.1g/L。符合 IgG4 相关性疾病的诊断标准。

最后诊断:

IgG4 相关性肾病。

病例 12

一般资料:

患者,女性,51岁,因“淋巴结肿大 1⁺年”入院。1⁺年前患者无明显诱因出现双侧腹股沟多个淋巴结肿大,大小不等,最大约 3cm×3cm,后逐渐出现双侧腋窝及耳后淋巴结肿大,大小不等,腋窝处最大约 5cm×5cm,耳后最大约蚕豆大小。活动度好,压痛不明显,伴头痛、为双侧颞部、枕部持续性跳痛,风吹及摇头时加重,服用止痛药好转。于我院查: 血清 IgG 48.50g/L, IgA 5 800.00mg/L, IgM 3 510.00mg/L, KAP 轻链 40.10g/L, LAM 轻链 19.20g/L, ENA 阴性, ANA 阴性。蛋白电泳未见 M 蛋白。淋巴结活检示:<左侧腹股沟>淋巴结,良性淋巴增生,滤泡间区见较多浆细胞浸润,免疫组化染色呈 CD138(+),IgG(+),IgG4(少数+),Igκ(+),Igλ(+); 滤泡间区淋巴细胞呈 CD3ε(+). 骨穿结果示: 骨髓增生活跃,粒系占 55.5%,红系占 34.5%,查见簇状分布浆细胞。骨髓病理诊断示: 有核细胞增生明显活跃取代部分脂肪组织,粒红比为 6~8:1,各分化阶段粒细胞均可见到,幼稚粒细胞数量略多,巨核细胞 6~8 个 /HPF,网状纤维布增加。流式细胞分析示: 未见明显异常表型细胞群。

1⁺月前患者头痛加重,为双侧颞部、枕部持续性跳痛,服用止痛药无好转,伴视物旋转、视物成双(上下平行影像)、站立不稳、双耳耳鸣、心慌、盗汗、呕吐 3 次,呕吐物为胃内容物,呕吐后头痛无缓解,无吞咽困难、饮水呛咳、手脚麻木乏力。入我院神经内科,查: 血常规: 血红蛋白 74g/L, 血小板计数 495×10⁹/L。血沉 63.0mm/h。IgG 68.60g/L, IgA 7 360.00mg/L, IgM 2 230.00mg/L, RF 39.20IU/mL。腹股沟淋巴结彩超: 双侧腹股沟区多发长大淋巴结伴回声及血流改变。腹部及妇科彩超: 右肾囊肿,脾脏长大。胸部 CT: 双侧腋窝、锁骨上窝、纵隔及肺门淋巴结增多、增大。扫及肝脏、脾脏增大,肝胃韧带区淋巴结增大可能。骨髓涂片示: 目前骨髓淋巴细胞不高占 21%,但浆细胞多见占 10.5%。骨髓活检: 目前之骨髓造血细胞增生明显活跃,三系均增生。右侧腹股沟淋巴结穿刺涂片及细胞块: 倾向反应性增生。腰穿检查脑脊液常规: 有核细胞 50×10⁶/L, 单个核细胞 90.0%。脑脊液生化、涂片、培养未见明显异常。

体格检查:

体温 36.7℃,脉搏 78 次 /min,呼吸 20 次 /min,血压 111/53mmHg。胸背部皮肤多处斑块样色素沉着,左侧耳后、腋下、腹股沟淋巴结肿大明显。

实验室检查:

血常规: Ret 0.102 5×10¹²/L, Hb 96g/L, PLT 511×10⁹/L, WBC 16.75×10⁹/L, N 75.1%, 肝肾功: ALT 76IU/L, ALB 26.1g/L, GLB 89.1g/L, ALP 574IU/L, GGT 146IU/L, 血淀粉酶、脂肪酶正常; 血清 IgG4 检测 3.690g/L; ACA 及自身免疫性肝病抗体阴性,贫血相关指标: 铁 5.20μmol/L, 转铁蛋白 1.54g/L, 可溶性转铁蛋白受体测定 1.90mg/L; 尿常规示:(尿沉渣镜检) 红细胞 28/μL, 胸部及全腹部增强 CT: 颈根部、双肺门、纵隔及双侧腋窝淋巴结明显增多、增大。扫及甲状腺左叶结节,性质? 肝脏增大,脾脏增大,右肾囊肿,

胆总管稍扩张,腹盆腔内、腹膜后及双侧腹股沟区多发肿大淋巴结,考虑自身免疫性疾病可能。肾穿刺免疫组化染色:浆细胞呈 IgG(+)、IgG4(最多处 1 个高倍视野见 8 个阳性细胞)。

分析:

患者全身多发淋巴结长大,血清 IgG4 检测 3.690g/L,淋巴结活检提示 IgG4(少数 +),肾穿刺免疫组化染色:浆细胞呈 IgG(+)、IgG4(最多处 1 个高倍视野见 8 个阳性细胞)。采用激素治疗后复查 IgG4 亚型 2.710g/L,病情好转,虽然未累及肾脏,仍符合 IgG4 相关性疾病的诊断。

诊断意见:IgG4 相关性疾病。

病例 13

一般资料:

患者,女性,40 岁,因“发现突眼 10⁺ 年,皮肤干燥 4⁺ 年,复发加重 3⁺ 个月”入院。10⁺ 年前患者无明显诱因出现双眼突出,伴畏光、流泪,无明显胀痛,自觉视力较前稍有下降,至我院门诊就诊,考虑“甲状腺功能减退”,予以优甲乐对症治疗,未见明显好转。4⁺ 年患者因上述症状至我院眼科就诊,予以泼尼松、滴眼液等对症治疗,于 2011 年 3 月行“左、右眼眶占位切除术”,病理检查示“双眼眶淋巴增生性病变”,此后症状反复,性质同前。4⁺ 年前患者自觉皮肤干燥明显,偶感瘙痒,自觉泪少,腮腺肿大偶伴疼痛,唾液减少,口干明显,多次至我科门诊就诊,检查“IgG 52.20g/L, C3 0.733 0g/L, C4 0.106 0g/L, ANA 可疑(±), ENA 抗体谱阴性; KAP 轻链 31.10g/L, LAM 轻链 23.00g/L, 血 KAP/LAM 比值 1.35”,考虑“干燥综合征? IgG4 相关性疾病?”,予以醋酸泼尼松(2013 年 4 月起始剂量 50mg,逐渐减量至 5mg,至 2014 年 1 月停药),环磷酰胺 0.05g 每日一次(2013 年 4 月至 2013 年 11 月)、帕夫林 600mg 每日 2 次、赛能 200mg 每日 2 次、氨甲蝶呤 7.5mg 每周一次(2014 年 7 月至今)治疗,症状反复缓解不明显。

体格检查:

体温 36.6℃,脉搏 80 次 /min,呼吸 18 次 /min,血压 113/73mmHg。浅表淋巴结未扪及,腮腺无肿大,全身皮肤干燥,双下肢为甚。双手掌尺侧散在淤斑。双眼突出,右眼鼻上扪及一 1mm × 0.8mm 大小包块,质韧,活动度差,轻度压痛。

既往史:

2011 年 3 月行左、右眼眶占位切除术,10⁺ 年前行右侧卵巢囊肿手术。

实验室检查:

眼科检查示双眼角膜染色阳性,诊断干眼症。眼眶 CT: 双侧眼球突出,右眼眶内上方见一软组织结节,约 1.1cm 大小,双侧眼外肌有增粗,双侧翼腭窝增宽,双侧眶下神经增粗。右侧上颌窦内大片软组织密度影,右侧上颌窦炎。胸部 CT: 双肺多处支气管壁增厚,以右肺上叶明显。纵隔、双肺门淋巴结增多。腹部 CT: 大网膜、肠系膜、肝胃间隙、腹膜后淋巴结增多,部分增大。腹部彩超: 胆囊结石; 胆囊壁增厚。甲状腺彩超: 甲状腺左侧叶结节; 结节性甲状腺肿? 免疫结果示: IgG 19.60g/L, IgA 1 560.00mg/L, IgM 557.00mg/L, IgE 177.53IU/mL, C3 0.567 0g/L, C4 0.107 0g/L, 血清 IgG4 20.00g/L, ANA、抗双链 DNA 抗体、ENA 抗体谱均为阴性。直接抗人球蛋白试验阳性。并联系病理科对患者 3+ 年前眼眶病理标本再次读片,结果显示: 镜下见 >100 个浆细胞 /1 个高倍视野,可符合 IgG4 相关性病变,请结合临床综合考虑。补做免疫组化: 浆细胞 IgG4(+)、CD138(+)、PC(+)、IgG(±)。

分析:

该患者以眼部症状为首发症状,肺部和腹部淋巴结增多,由于患者首次就诊时我院并未开展血清 IgG4 浓度检测,所以并未发现患者为 IgG4 相关疾病,再次就诊查血清 IgG4 浓度为 20.00g/L,眼部组织病理组织再次送检结果显示镜下见 >100 个 IgG4(+) 浆细胞 /1 个高倍视野,符合 IgG4 相关疾病诊断。进一步说明了 IgG4 血清学检测对于发现 IgG4 相关疾病的重要性。

最后诊断:

IgG4 相关性疾病。

(武永康 陈捷 白杨娟 王兰兰)