

(5%)可以合并 Graves 病^[9]或其他自身免疫性甲状腺疾病。本文 16例甲状腺癌患者中有 14例同时出现 RSR 和 Roche TRAb结果阴性, 2例同时阳性。一方面表现了这两种检测方法彼此符合; 另一方面, 低阳性率符合上述发病情况 (只是在诊断方面尚缺乏有力佐证)。

本文重点研究了某国产 TRAb试剂的临床诊断效能, 发现诸多问题: ①从反应原理来看, 该试剂将荧光素标记 TSH受体、异鲁米诺标记 TSH受体、含 TRAb的标准品或待测血清混合温育, 采用“一步法”形成“双受体(抗原)夹抗体”结构, 最后根据异鲁米诺发光强度进行定量。此种反应模式尚未见报道, 且看似难以成立。因为, 目前的研究证明, 自身免疫性 TRAb系 IgG类型^[2, 10], 有两个抗原结合位点。问题的关键在于, 只有这两个位点分别与捕捉抗原(受体)和探测抗原(受体)结合的情况下, 才能构成有效“夹心”而被探测。实际上, 这两个位点有可能同时结合捕捉抗原(受体)致无法发光而漏检, 也可能同时结合探测抗原(受体)造成不能捕捉而漏检。②对 Graves 病的敏感性太低, 不但表现在本文检测的病例, 15例只有 2例阳性; 也表现在本文历史资料回顾病例中, 31例只有 5例阳性; ③与两种进口试剂比较, 阴、阳性符合率低 (<60%)、分类不具有一致性 ($Kappa < 0.2$, $P > 0.1$)、检测浓度无相关性 ($r < 0.2$, $P > 0.1$)。

总之, 本文分析的两种进口试剂, Roche和 RSR TRAb对 Graves 病具有较高的敏感性, 在非 Graves 病患者的阳性率符合相关文献报道, 并且具有一致性。被考察的国产试剂与进口试剂不相符合, 对 Graves 病缺乏诊断价值。

(作者声明: 该论文纯属学术研究, 不排除因病例选择偏倚和试验分析误差造成的结果偏差和错误。)

参考文献

- [1] Villalta D, Orunesu E, Tozzoli R, et al. Analytical and diagnostic accuracy of “second generation” assays for thyrotrophin receptor antibodies with radioactive and chemiluminescent tracers [J]. J Clin Pathol 2004, 57: 378-382.
- [2] Morgenthaler NG, Minich WB, Willnich M, et al. Affinity purification and diagnostic use of TSH receptor autoantibodies from human serum [J]. Mol Cell Endocrinol 2003, 212: 73-79.
- [3] Laurberg P, Pedersen JB. Measurements of TSH receptor antibodies in differential diagnosis [J]. Immunoanalyse et Biologie Spécialisée 2006, 21: 234-238.
- [4] Morgenthaler NG. New assay systems for thyrotrophin receptor antibodies [J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes 1999, 6: 251-260.
- [5] Smith BR, Bolton J, Young S, et al. A new assay for thyrotrophin receptor autoantibodies [J]. Thyroid 2004, 14: 830-835.
- [6] Mankai A, Toumi D, Chadli Chaieb M, et al. Anti-thyroid-stimulating hormone receptor antibodies determined by second-generation assay [J]. Clin Chem Lab Med 2007, 45: 26-29.
- [7] Massart G, Sapin R, Gibassier J, et al. Intermethod variability in TSH receptor antibody measurement: implication for the diagnosis of Graves' disease and for the follow-up of Graves' ophthalmopathy [J]. Clin Chem 2009, 55: 183-186.
- [8] 叶静, 张鹏, 陆凤仙, 等. 糖尿病患者甲状腺自身免疫抗体的观察 [J]. 天津医科大学学报, 2001, 7: 494-496.
- [9] 连小兰, 白耀, 唐伟松, 等. 甲状腺功能亢进症合并甲状腺癌的临床分析 [J]. 中国医学科学院学报, 2000, 22: 273-275.
- [10] Jensen E, Petersen PH, Blaabjerg O, et al. Biological variation of thyroid autoantibodies and thyroglobulin [J]. Clin Chem Lab Med 2007, 45: 1058-1064. (2009-03-17收稿)

128例免疫性不孕及反复自然流产患者血清抗体检测

蚌埠医学院第一附属医院核医学科 (233004) 李卫鹏 孙伟莉 陶健 袁媛

据报道, 在我国已婚夫妇中约有 10%~15%的人因各种原因导致不孕不育, 其中 30%~40%与免疫性抗体有关。免疫性不孕已愈来愈受到人们的关注。本文通过对 128例女性不孕不育患者血清中的抗精子抗体 (ASAb)、抗子宫内膜抗体 (EMAb)、抗心磷脂抗体 (ACAb) 和抗卵巢抗体 (AOAb) 进行检测分析, 探讨其与女性不孕不育的关系, 为免疫性不孕不育的诊断治疗提供依据。

1 资料和方法

1.1 临床资料 2008年 1月~2009年 2月于本院不孕不育门诊就诊的女性不孕不育以及反复自然流产患者 128例, 年龄 (22~45)岁。经妇产科检查, 排除生殖器官畸形及其他病变, 且男方精液检查及性功能正常。同时选择孕期 (24~30)周, 年龄 (23~35)岁的健康孕妇 30例作为对照组。

1.2 方法

1.2.1 抽患者静脉血 (3~5)ml 不抗凝, 离心后分离出血清, 立即测定或置 -20℃ 保存, 测定时血清经解冻平衡至室温。

1.2.2 抗体的检测方法 血清 ASAb, EMAb, ACAb 和 AOAb 采用斑点金免疫渗滤试验检测。试剂由山东潍坊康华生物

技术有限公司提供。检测方法: 在圆孔膜上滴加洗液 1滴 (约 50 μ l), 待渗入; 滴加未稀释血清标本 150 μ l 渗入完全后加金标羊抗人 IgG (或 IgM) 150 μ l 待渗入, 洗液 3滴 (约 150 μ l), 待完全渗入后 3min 内观察结果; 试验侧出现红色斑点者为阳性, 不显色者为阴性。质控侧呈红色。

1.3 统计学处理 测定结果采用 χ^2 检验法, 以 $P < 0.05$ 作为有统计学意义的标准。

2 结果

结果见表 1。

表 1 免疫性不孕抗体分布情况

项目	ASAb阳性率 (%)		EMAb阳性率 (%)		ACAb阳性率 (%)		AOAb阳性率 (%)	
	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
不孕不育组	37.2*	9.7*	34.2*	6.3 Δ	36.7*	1.6 Δ	28.1*	16.4*
对照组	3.3	3.3	3.3	3.3	6.7	0	3.3	3.3

注: * $P < 0.05$; Δ $P > 0.05$ (与对照组比较)。不孕不育组的抗子宫内膜 IgM 抗体阳性率 (%) 为 6.3, 对照组为 3.3, 经 χ^2 检验, $P > 0.05$; 另外, 不孕不育组的抗心磷脂抗体阳性率 (%) 为 1.6, 对照组为 0, 两组相比, $P > 0.05$ 。以上结果表明, 两组间均无显著性差异。

3 讨论

反复自然流产是女性妊娠期常见的一种并发症,其病因除与遗传、解剖、内分泌因素、感染等有关外,尚有65%~70%与免疫因素有关^[1]。

约有10%~30%不孕女性的血清中,可检出ASAb。人类精子具有抗原性,在正常情况下,女性生殖道具有酶系统,能降解进入的精子抗原,使其不能到达免疫系统。但此种酶系统的缺陷可使精子抗原保持完整而刺激抗精子抗体产生。ASAb产生的主要原因是因感染、外伤或男方精浆中免疫抑制因子减少。产生的ASAb可活化巨噬细胞,破坏配子胚胎而导致不孕或早期流产。因此,ASAb导致的免疫性不孕在临床上受到广泛关注。目前认为,ASAb是免疫性不孕不育的重要因素,特别是在精子免疫机制上产生重要影响,对精子的畸形、活力、精卵结合上都有直接的致病作用,ASAb已被列入人类不孕不育的确定指标之一。ASAb主要作用于精子头部,封闭顶体位点,阻碍顶体中的酶系释放,抑制顶体反应,从而使精子不能穿越卵子外包裹的各层“屏障”。产生的ASAb可活化巨噬细胞,破坏配子胚胎而引起不孕及早期流产^[2]。ASAb可影响精子获能,抑制与卵细胞透明带结合及顶体反应;干扰精子对宫颈黏液的穿透;加速女性生殖道内精子的清除率,从而使精子的数量迅速减少,以致影响受精;干扰精子与卵细胞的识别过程和受精;精卵结合而形成受精卵,其表面仍出现抗精子抗体,从而干扰受精卵的正常代谢和发育,最后导致流产。本文结果表明,128例不孕不育及反复自然流产患者血清中ASAb-IgG阳性率为37.2%,显著高于正常人($P < 0.05$)。

EMAb往往与子宫内膜异位症并存。在子宫内膜异位症患者血清中,EMAb的检出率高达30%~70%,而且患者体内往往因此产生多种自身抗体,从而干扰了神经-内分泌-免疫调节网络,引起体液免疫水平异常升高。产生原因与异位子宫内膜的刺激及机体免疫内环境失衡有关。EMAb对子宫内膜产生免疫病理损害,干扰孕卵着床及胚囊发育,导致不孕及早期流产^[3]。EMAb是一种自身抗体,所针对的抗原为子宫内膜腺上细胞中的一种孕激素依赖蛋白,正常位置的子宫内膜对机体无抗原性,但异位的子宫内膜可作为抗原刺激机体免疫系统,产生特异的EMAb。EMAb不仅和异位子宫内膜发生抗原抗体反应,同时也可与正常位置的子宫内膜细胞中的抗原位点相结合,激活补体系统,局部产生免疫病理变化,直接影响子宫内膜腺体的功能,从而导致孕卵着床失败和(或)发育不良,引起不孕或流产。本文结果表明,128例不孕不育及反复自然流产患者血清EMAb-IgG阳性率为34.2%,而正常育龄妇女血清中EMAb-IgG阳性率为3.3%。两组之间的EMAb-IgG阳性率有显著性差异($P < 0.05$)。

ACAb是一种酸性磷脂的异质性自身抗体,其主要通过争夺胎盘血管的磷脂受体,导致胎盘血管的痉挛缺血、血栓形成、胎盘栓塞、蜕膜血管血栓形成,最终造成流产^[4]。正常情况下,带有负电荷的心磷脂(心肌、子宫居多)位于细胞膜脂质双层的内层,不被免疫系统识别,一旦暴露,心磷脂抗原刺激机体产生一种自身免疫性抗体即ACAb。它是强烈的凝血活性物质及可直接造成血管内皮细胞损伤。目前认为此抗体是通过作用于胎盘血管内皮细胞的膜磷脂,使前列环素(PG₂)合成释放减少,干扰血栓溶解素及纤维蛋白溶酶原激活剂的释放,影响蛋白质C系统的活化等多种病理机制,导

致血栓形成和滋养层细胞功能改变,形成胎盘梗死、胎死宫内,进而导致流产的发生。磷脂抗体并不直接与磷脂成分结合,磷脂成分必须首先与血清中的 β_2 糖蛋白I型结合后才能暴露出与磷脂抗体作用的抗原位点^[5]。ACAb还可通过干扰细胞滋养层向合体滋养层细胞的转化,干扰细胞间信息的传播等作用而导致流产。近期研究还发现,ACAb可能直接与滋养细胞结合,抑制滋养细胞功能,影响胚胎着床过程。病理也证实ACAb阳性者其胎盘的滋养细胞胞浆和绒毛血管壁出现免疫复合物沉积。本文结果表明,ACAb与反复自然流产有明显关系,显示ACAb是造成反复自然流产的重要原因。本文结果表明,不孕不育及反复自然流产患者血清中ACAb-IgG阳性率为36.7%,而正常育龄妇女血清中ACAb-IgG阳性率为6.7%,出现显著性差异($P < 0.05$)。

AOAb是一种位于卵巢颗粒细胞、卵母细胞、黄体细胞和间质细胞内的自身抗体。卵巢组织中抗原成分复杂,多种成分均可因炎症、手术等原因使其抗原异常表达,进而刺激机体免疫系统产生AOAb。AOAb与卵巢的有关成分结合,激活补体发生免疫反应导致卵巢功能异常,致使卵子的排出、精子的穿入、胚胎的着床、雌激素的产生均受影响从而引起不孕。抗卵巢抗体还可以通过阻碍卵母细胞成熟,使卵母细胞数量减少,影响胚胎细胞分裂;颗粒细胞变性坏死,内卵泡膜细胞和黄体细胞内固醇类物质代谢障碍,影响雌孕激素的产生,降低卵巢的生殖内分泌功能,造成孕卵种植和着床失败。本文结果表明,不孕不育及反复自然流产患者血清AOAb-IgG阳性率为28.1%,AOAb-IgM阳性率为16.4%;而正常育龄妇女血清AOAb-IgG阳性率为3.3%,AOAb-IgM阳性率为3.3%。两组之间的AOAb-IgG阳性率和AOAb-IgM阳性率均有显著性差异($P < 0.05$)。

综上所述,本文充分说明了不孕及反复自然流产患者血清中ASAb、EMAb、ACAb和AOAb含量明显升高,这可能是导致不孕及反复自然流产的主要免疫因素。这些自身抗体表达异常与不孕及反复自然流产关系密切,对进一步明确不孕及反复自然流产的病因、正确治疗及指导妊娠,具有重要的临床意义。尽管引起不孕和流产的因素是多方面的,但从本文资料表明,对不孕妇女进行血清抗体检测是不可忽视的。

参考文献

- [1] Vinatier D, Dufour P, Cosson M, et al. Antiphospholipid syndrome and recurrent miscarriages[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001, 96(1): 37-50.
- [2] Ulova-Gallova Z, Gruberova J, Vrzalova J, et al. Sperm antibodies, intra-acrosomal sperm proteins and cytokines in semen in men from infertile couples[J]. *Am J Reprod Immunol* 2009, 61(3): 236-245.
- [3] Ma AI, Wang SJ, Nie H. Effect of MHC I expression on eutopic and ectopic endometrial cells and activities of $\gamma\delta$ T cell and NK cell treated by peritoneal fluid of patients with endometriosis[J]. *J Cell Mol Immunol* 2000, 16(5): 436-437.
- [4] Gharavi AE, Pierangeli SS, Harris EN. Viral origin of antiphospholipid antibodies: endothelial cell activation and thrombus enhancement by CMV peptide-induced APL antibodies[J]. *Immunobiology* 2003, 207(1): 37-42.
- [5] Ogasawara M, Aoki K, Katano K, et al. Prevalence of autoantibodies in patients with recurrent miscarriages[J]. *Am J Reprod Immunol* 1999, 41(1): 86-90.