

参考文献

- [1] 邓荣界. 中小型医院检验科队伍建设的探讨[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(5): 441-442.
- [2] 陈素洁. 检验标本不规范采集的原因及处理方法[J]. 内蒙古中医药, 2014, 32(10): 81-82.
- [3] 雷雪明, 姜素芬. 检验标本分析前的护理质量控制[J]. 中国伤残医学, 2014, 22(8): 28-29.
- [4] 常喜冬. 血液标本临床检验分析前质量控制[J]. 中国医药指南, 2013, 11(17): 370-371.
- [5] 孙国强, 由丽亭, 陈思, 等. 互联网+医疗模式的初步探索[J]. 中国数字医学, 2015, 10(6): 15-18.
- [6] 王春雨, 付继刚, 王立准, 等. 三甲评审过程中的医疗质量管理信息化实践[J]. 中国数字医学, 2015, 10(12): 83-84.
- [7] 吕峰, 杨莉, 董如福, 等. 智能化医院管理信息系统建设分析[J]. 医学信息学杂志, 2015, 36(12): 19-21.
- [8] 刘鸿燕, 郭珉江, 胡红濮, 等. 互联网+背景下中医药信息化需求与惠民模式研究[J]. 医学信息学杂志, 2015, 36(12): 2-7.
- [9] 许树强, 鲁长滨, 陈校云, 等. 美国数字化医院评价体系对我国数字化医院建设的启示[J]. 中国医院, 2014, 18(5): 43-45.
- [10] 张莲萍, 陈琦. 基于动态网络安全模型的中国数字化医院信息安全体系建设[J]. 中国科技论坛, 2015, 30(3): 48-53.
- [11] 黄余清. 室前因素对检验结果的影响[J]. 国际检验医学

杂志, 2014, 35(17): 2421-2422.

- [12] 樊鹏威. 加强分析前质量控制保证检验质量[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(5): 650-652.
- [13] 蔡长争, 陈爱平, 舒少为, 等. 1 644 例不合格检验标本的原因分析及对策[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(2): 251-252.
- [14] 贾继芳. 检验科不合格血液标本类型及其原因分析[J]. 医学理论与实践, 2014, 27(12): 1651-1652.
- [15] 王炳龙, 陈守涛, 马跃飞, 等. 时间节点监控在检验标本流程管理中的应用[J]. 临床检验杂志, 2014, 32(4): 302-305.
- [16] 王秀明, 李志武, 孙冀兵, 等. 凝血四项检测分析前标本采集处理及影响因素[J]. 河北医药, 2013, 35(14): 2187-2190.
- [17] 刘辉姐, 刘佳妮. 产科送检的 74 份不合格标本的原因分析和解决措施[J]. 中国医药导报, 2013, 10(4): 166-168.
- [18] 蒋颜, 张超, 陈剑兰, 等. 住院患者血标本分析前质量控制与不合格标本原因分析[J/CD]. 中华临床实验室管理电子杂志, 2014, 2(1): 26-31.
- [19] 王艳玲, 方妍, 曹萌华, 等. 危急值报告制度在患者安全目标管理中的应用体会[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(3): 452-454.
- [20] 陈金有. 确立检验科危急值及危急值报告制度对临床的重要性[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(8): 1047-1048.

(收稿日期: 2016-07-15 修回日期: 2016-12-02)

• 综 述 •

HCV 相关自身免疫性甲状腺疾病自身抗体研究进展*

王 晗¹, 杨 宁¹, 于长明²综述, 李伯安^{1△}审校

(1. 中国人民解放军三〇二医院临床检验医学中心/全军感染病临床实验诊断中心, 北京 100039;

2. 军事医学科学院生物工程研究所疫苗与抗体工程研究室, 北京 100071)

关键词: 自身免疫性甲状腺疾病; 丙型肝炎病毒; 甲状腺自身抗体; 甲状腺过氧化物酶抗体

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.05.060 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2017)05-0742-04

目前丙型肝炎病毒(HCV)全球感染率约为 2.8%, 在我国约为 0.43%, 感染人口约 1 000 万^[1]。自身免疫性甲状腺疾病(AITD)是丙型肝炎患者主要的肝外自身免疫现象, 是抗 HCV 治疗的相对禁忌证, 严重影响丙型肝炎患者的抗病毒治疗效果及预后^[1-2]。HCV 是诱发 AITD 的重要原因, 治疗期间新出现甲状腺抗体阳性率为 4.5%~25.0%, AITD 整体发生率可达 5.0%~20.6%^[3-4]。

甲状腺自身抗体是 HCV 相关 AITD 治疗的重要血清学标志物, 丙型肝炎患者在治疗前应进行甲状腺自身抗体检测^[5-6]。笔者对 HCV 相关 AITD 患者临床特点及影响因素研究显示, 甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb)是 AITD 发生的独立风险因素($OR=3.6, 95\%CI: 1.91\sim 7.33; P<0.05$), 而与

HCV RNA 和分型等指标无关^[7]。甲状腺自身抗体主要包括 TPOAb、甲状腺激素受体抗体和抗甲状腺球蛋白抗体(TGAb)3 种。然而有 50% 的 HCV 相关 AITD 患者无法检测到现有的甲状腺自身抗体^[8-10]。作为 AITD 的主要血清学标志物, 甲状腺自身抗体研究存在种类较少, 临床诊断特异性较低, 自身抗体抗原表位和致病机制不清, 以及研究的受试对象源于国外人群等问题。

1 自身抗体流行率差异

HCV 相关 AITD 患者自身抗体流行率存在差异。在意大利丙型肝炎患者甲状腺自身免疫抗体的阳性率为 25%, 法国患者的阳性率为 14%, 而在英国阳性率仅为 4.5%。在 TPOAb 方面比较, 我国丙型肝炎患者的阳性率为 30.8%, 西班牙

* 基金项目: 北京市自然科学基金资助项目(7154239)。

△ 通信作者, E-mail: lba@263.net。

患者的阳性率为 20%,挪威阳性率仅为 3.5%(表 1)^[4]。这种甲状腺自身免疫抗体阳性率差异,与不同地理、种族、年龄和性别的研究对象有关,甲状腺自身免疫抗体在女性和高龄者中的阳性率更高^[4]。自身抗体阳性率也与不同实验室检测方法和

阳性临界值(cut-off 值)有关。如 TPOAb 在意大利和西班牙 cut-off 值为 150 U/mL,而在德国仅为 18 U/mL^[11]。此外,环境因素如碘和其他传染性病原体也可能影响 AITD 的发生和自身抗体阳性率^[4]。

表 1 丙型肝炎患者甲状腺自身抗体流行率比较

抗体种类	构成比(%)	比例(n/n)	阳性值(U/mL)	国家或地区	年度(年)
甲状腺自身抗体	25.0	132/630	>150	意大利	2004
	14.0	9/66	>50/100	法国	1992
	12.5	9/76	—	法国	1993
	9.4	42/449	≥100	中国台湾	2012
	9.7	7/72	—	意大利	2002
	7.0	5/71	≥60	希腊	2011
	6.7	14/207	—	西班牙	1996
	5.6	4/71	≥100	意大利	2006
	4.5	5/111	≥100	英国	1997
	3.5	9/254	>60	挪威	2002
TPOAb	30.8	60/195	≥50	中国	2011
	21.0	132/630	>150	意大利	2004
	20.0	26/134	>150	西班牙	1998
	16.3	51/312	>35	中国	2013
	15.0	30/200	>18	希腊	1997
	14.0	9/66	>50/100	法国	1992
	10.0	3/32	>100	意大利	1996
	7.4	4/54	—	巴西	2013
	6.7	13/192	>100	西班牙	1995
	6.5	29/449	≥100	中国台湾	2012
	5.4	9/168	—	法国	2005
	3.5	9/254	>60	挪威	2002

注:摘自参考文献[4];—表示无数据。

2 HCV 感染诱发 AITD 及自身抗体

感染是诱发 AITD 的重要机制,包括感染引起的分子模拟机制,以及由旁路激活途径引起的炎性反应和细胞毒活性两种主要机制^[12]。

多种病原体感染与 AITD 的发病有关,如 HCV、小肠结肠炎耶尔森菌,柯萨奇病毒、反转录病毒,幽门螺杆菌等^[13-14]。Martocchia 等^[15]对 HCV 与促甲状腺激素(TSH)、抗甲状腺球蛋白、甲状腺过氧化物酶(TPO)、钠/碘转运体、Pendrin 蛋白这 5 种甲状腺组织序列比较发现,在 8~11 个氨基酸的短肽间同源度可以达到 62.5%~100.0%,而另一项对 20 个氨基酸长度肽段比对显示两者间同源度为 41.7%~75.0%^[16]。通常诱发免疫反应的最短氨基酸序列长度为 5~6 个,而 HCV 与甲状腺组织的这些同源序列可以启动自身免疫反应,并诱发多种自身抗体。另外,有学者在甲状腺细胞中培养出 HCV^[14]。HCV 可以直接损伤甲状腺组织,它借助人甲状腺细胞 HCV 受体白细胞分化抗原 81(CD81)和 HCV 包膜蛋白 2(HCV-E2)相互作用、攻击和进入甲状腺细胞。对 AITD 患者甲状腺细胞 CD81 的表达和功能研究发现,CD81 的信使 RNA 和蛋白水平显著升高。人甲状腺细胞与 HCV-E2 糖蛋白结合还导致

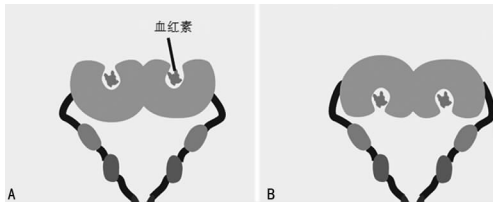
甲状腺细胞活化的白细胞介素-8 分泌,激活旁路途经诱发甲状腺自身免疫反应^[10]。此外,HCV 具有典型的淋巴性。淋巴组织持续的感染和慢性刺激,使克隆 B 淋巴细胞扩增和辅助性 T 细胞 2 反应,诱发自身抗体出现^[10,13]。

3 TPOAb 和促甲状腺激素受体抗体 (TRAb) 的自身表位研究

3.1 TPOAb 自身表位研究 TPO 是催化甲状腺激素的重要酶,由含 933 个氨基酸的同源二聚体组成。TPOAb 通过抑制 TPO 的活性而抑制甲状腺合成。TPO 的免疫优势区(IDR)存在于 TPO 分子的胞外区,主要包括 3 个结构域:髓过氧化物酶(MPO)样结构域(氨基酸 142~738),补体控制蛋白(CCP)样结构域(氨基酸 738~795)和表皮生长因子(EGF)样结构域(氨基酸 796~846)^[17]。研究显示,TPO 的 IDR 区呈现不连续性,包括两个区域:IDR-A 和 IDR-B 区,它们可能具有相同的序列肽段区,即肽段 599~617,不同的是 IDR-A 主要依靠个别氨基酸点与 TPOAb 结合,IDR-B 则主要依赖立体结构面与 TPOAb 结合^[18]。目前已经明确多株 TPOAb 参与单克隆抗体(mAb)的自身表位。IDR/A 区肽段 604~609 在 mAb P14 与 TPO 结合中发挥关键作用。Graves 病患者特异自身抗体

研究中 IDR/A 区肽段 597~604 和 611~618 同样发挥关键作用^[19]。对 IDR/B 区, Bresson 等^[19]通过构建 TPO 突变体和与抗体结合力分析, 认为 TPO 713~717 肽段是与 mAb 47 结合的重要区域。还有研究显示, mAb TR1.9 自身表位关键氨基酸为 715 位脯氨酸(Pro715)和 717 位天冬氨酸, 而 mAb T13 则分别依靠 713 位赖氨酸、714 位苯丙氨酸、Pro715 和 716 位谷氨酸与 TPO 结合^[20]。有研究认为, MPO 区 766~775 肽段, IDR-A 区 599~617 肽段, 以及 IDR-B 区肽段 210~225、353~363、549~563、713~720 和 766~775 是最重要的 IDR 区氨基酸肽段^[18]。然而非 IDR 区也可产生抗原结合片段(Fab)^[21]。Jastrzebska-Bohaterewicz 等^[22]认为非 IDR 区表位刺激免疫系统生成 TPOAb 占 20.92%, 显示 TPO 非免疫优势区在 AITD 中也具有重要的作用。

TPOAb 受 TPO 结构影响存在明显的多样性特点。甲状腺细胞 TPO 表面存在二硫键使 TPO 形成二聚体结构, 这种二聚体结构可以形成顺式和反式两种空间构象(图 1), 掩盖部分 TPO 天然表位并形成新的自身表位^[17]。灵活的 CCP 区使得 TPO 的空间结构更加多变, 有学者认为该区域可能同样存在免疫优势表位, 并隐藏在 MPO 的立体结构内, 增加了 TPO 表位的不连续性^[18]。AITD 的硫代酰胺药物治疗可以一定程度上影响 TPO 蛋白的三级和四级结构, 其与青霉素诱导的自身免疫性溶血性贫血相似^[23]。此外, TPO 的 N 端剪切也增加了表位的多样性^[24]。



注: A 为顺式结构; B 为反式结构。

图 1 TPO 同源二聚体结构

3.2 TRAb 自身表位研究 促甲状腺激素受体(TSHR)自身抗体结合区域位于胞外区, 共含 418 个氨基酸, 包括富亮氨酸重复序列(LRD, 氨基酸 22~260), 切割域(由六半胱氨酸组成, 氨基酸 261~410)和七螺旋跨膜结构域(氨基酸 410~764)^[25]。

研究 3 株鼠源单抗及患者血清认为 TSHR C 段和中段是自身抗体结合区域^[26]。Sanders 等^[27]通过点突变对 LRD 区研究发现 R255 以及多数 N 段氨基酸对于自身抗体的产生具有重要作用。有研究还合成了 LRD 晶体结构(氨基酸 1~260), 发现该区域是产生自身抗体的主要自身表位区域^[28]。但对氨基酸 1~412 的全 TSHR 胞外区片段研究显示, 263~293 位氨基酸片段同样可以产生自身抗体^[29]。Jeffreys 等^[30]研究显示, TSHR246~260、277~296 和 381~385 是 TSH 结合的主要结合域。

TRAb 分为激活型和抑制型, 在体内与 TSHR 结合激活或者抑制甲状腺激素的释放, 发挥重要调节作用。研究显示, 激活型和抑制型 TRAb 自身表位存在差异。K1-70 是一种 TSHR 阻断型抗体, M22 是一种甲状腺激活型自身抗体。研究发现, 分别有 24、25 和 21 个氨基酸残基参与 TSHR LRD 区(TSHR260)与 K1-70、M22 和 TSH 的结合。K1-70 和 M22 有

16 个相同参与 TSHR260 结合作用氨基酸, K1-70 和 TSH 有 12 个相同参与结合作用氨基酸, M22 和 TSH 有 13 个相同作用氨基酸。其中 38 位精氨酸、58 位赖氨酸、80 位精氨酸、105 位组氨酸、109 位精氨酸、110 位天门冬氨酸、130 位苯丙氨酸、153 位苯丙氨酸、155 位异亮氨酸和 157 位谷氨酸等 10 个氨基酸是 K1-70、M22 和 TSH 与 TSHR260 共有的结合关键氨基酸^[26]。

K1-70 和 M22 抗体除了结合氨基酸位点外, 与 LRD 区结合的空间位置也存在差异。两株抗体的结合面相差反向 155°。K1-70 比 M22 抗体结合位置更接近于 TSHR 凹面的 N 端^[28]。不同自身抗体与 TSHR 结合存在的氨基酸位点和立体空间位置差异与激活型、抑制型的不同功能有关。自身抗体、TSH 与 TSHR 结合氨基酸位点差异可能预示自身抗体的致病机制, 其研究也将有助于 AITD 治疗药物的研发。

4 展 望

甲状腺自身抗体是丙型肝炎患者并发甲状腺功能异常的重要血清学标志物。受不同遗传背景、环境因素等影响, 甲状腺自身抗体流行率存在差异。HCV 感染可以诱发甲状腺自身抗体。TPO 氨基酸存在“点”和“面”结合的两个重叠 IDR 区, 而二硫键和灵活的铰链区增加了 TPOAb 的多样性。因此, 将 TPO 与一个稳定的构象分子冻结(如抗体)是研究其三维结构和自身免疫反应的有效途径。不同类型的 TRAb 可以刺激或阻断甲状腺激素的释放, 与 TSH 和 TSHR 的结合相比, 在氨基酸结合位点和结合空间位置上均存在明显差异, 这有利于甲状腺激素释放腺苷环化系统的研究。目前 HCV 相关 AITD 的临床诊断主要依赖自身抗体 TPOAb 和 TRAb 等, 一些与 HCV 感染相关更多新自身抗体还有待于更广泛的研究。

参考文献

- [1] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病分会. 丙型肝炎防治指南(2015 更新版)[J]. 中华肝脏病杂志, 2015, 23(12):906-923.
- [2] 戚中田. 丙型肝炎的致病机制及药物治疗[J]. 传染病信息, 2010, 23(4):196-199.
- [3] Nair Kesavachandran C, Haamann F, Nienhaus A. Frequency of thyroid dysfunctions during interferon alpha treatment of single and combination therapy in hepatitis C virus-infected patients; a systematic review based analysis[J]. PLoS One, 2013, 8(2):e55364.
- [4] Narciso-Schiavon JL, Schiavon Lde L. Autoantibodies in chronic hepatitis C: A clinical perspective[J]. World J Hepatol, 2015, 7(8):1074-1085.
- [5] European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines; management of hepatitis C virus infection[J]. J Hepatol, 2011, 55(2):245-264.
- [6] Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, et al. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C; an update[J]. Hepatology, 2009, 49(4):1335-1374.
- [7] Wang HX, Xu J, Zhao J, et al. Clinical characteristics of thyroid dysfunction in patients with chronic hepatitis C receiving IFN- α based treatment[J]. Acad J Chin PLA

- Med Sch, 2015, 35(11):15-17.
- [8] Andrade LJ, Atta AM, D'almeida Junior A, et al. Thyroid dysfunction in hepatitis C individuals treated with interferon-alpha and ribavirin; a review[J]. Braz J Infect Dis, 2008, 12(2):144-148.
- [9] Korean Association for the Study of the Liver. KASL clinical practice guidelines; management of hepatitis C [J]. Clin Mol Hepatol, 2016, 22(1):76-139.
- [10] Pastore F, Martocchia A, Stefanelli M, et al. Hepatitis C virus infection and thyroid autoimmune disorders; a model of interactions between the host and the environment[J]. World J Hepatol, 2016, 8(2):83-91.
- [11] Marcellin P, Pouteau M, Benhamou JP. Hepatitis C virus infection, alpha interferon therapy and thyroid dysfunction[J]. J Hepatol, 1995, 22(3):364-369.
- [12] Rebuffat SA, Morin M, Nguyen B, et al. Human recombinant anti-thyroperoxidase autoantibodies; in vitro cytotoxic activity on papillary thyroid cancer expressing TPO [J]. Br J Cancer, 2010, 102(5):852-861.
- [13] Watanabe M, Nakamura Y, Matsuzuka F, et al. Decrease of intrathyroidal CD161 + Valpha24 + Vbeta11 + NKT cells in Graves' disease[J]. Endocr J, 2008, 55(1):199-203.
- [14] Blackard JT, Kong L, Huber AK, et al. Hepatitis C Virus Infection of a Thyroid Cell Line; implications for pathogenesis of hepatitis c virus and thyroiditis[J]. Thyroid, 2013, 23(7):863-870.
- [15] Martocchia A, Falaschi P. Amino acid sequence homologies between HCV polyprotein and thyroid antigens[J]. Intern Emerg Med, 2007, 2(1):65-67.
- [16] Oppenheim Y, Ban Y, Tomer Y. Interferon induced Autoimmune Thyroid Disease (AITD); a model for human autoimmunity[J]. Autoimmun Rev, 2004, 3(5):388-393.
- [17] Le SN, Porebski BT, McCoey J, et al. Modelling of thyroid peroxidase reveals insights into its enzyme function and autoantigenicity[J]. PLoS One, 2015, 10(12):e0142615.
- [18] Bresson D, Rebuffat SA, Peraldi-Roux S. Localization of the immunodominant region on human thyroid peroxidase in autoimmune thyroid diseases; an update[J]. J Autoimmune Dis, 2005, 2(1):2-7.
- [19] Bresson D, Rebuffat SA, Nguyen B, et al. New insights into the conformational dominant epitopes on thyroid peroxidase recognized by human autoantibodies[J]. Endocrinology, 2005, 146(6):2834-2844.
- [20] Bresson D, Pugnière M, Roquet F, et al. Directed mutagenesis in region 713-720 of human thyroperoxidase assigns 713KFPED717 residues as being involved in the B domain of the discontinuous immunodominant region recognized by human autoantibodies[J]. J Biol Chem, 2004, 279(27):39058-39067.
- [21] Godlewska M, Czarnocka B, Gora M. Localization of key amino acid residues in the dominant conformational epitopes on thyroid peroxidase recognized by mouse monoclonal antibodies[J]. Autoimmunity, 2012, 45(6):476-484.
- [22] Jastrzebska-Bohaterewicz E, Gardas A. Proportion of antibodies to the A and B immunodominant regions of thyroid peroxidase in Graves and Hashimoto disease[J]. Autoimmunity, 2004, 37(3):211-216.
- [23] Antonelli A, Ferri C, Fallahi P, et al. Thyroid disorders in chronic hepatitis C virus infection[J]. Thyroid, 2006, 16(6):563-572.
- [24] Godlewska M, Góra M, Buckle AM, et al. A redundant role of human thyroid peroxidase propeptide for cellular, enzymatic, and immunological activity[J]. Thyroid, 2014, 24(2):371-382.
- [25] Hamidi S, Chen CR, Murali R, et al. Probing structural variability at the n terminus of the tsh receptor with a murine monoclonal antibody that distinguishes between two receptor conformational forms [J]. Endocrinology, 2013, 15(1):562-571.
- [26] Furmaniak J, Sanders J, Rees Smith B. Blocking type TSH receptor antibodies[J]. Auto Immun Highlights, 2013, 4(1):11-26.
- [27] Sanders J, Bolton J, Sanders P, et al. Effects of TSH receptor mutations on binding and biological activity of monoclonal antibodies and TSH [J]. Thyroid, 2006, 16(12):1195-1206.
- [28] Sanders P, Young S, Sanders J, et al. Crystal structure of the TSH receptor (TSHR) bound to a blocking-type TSHR autoantibody[J]. J Mol Endocrinol, 2011, 46(2):81-99.
- [29] Latif RT, Teixeira A, Michalek K, et al. Antibody protection reveals extended epitopes on the human TSH receptor[J]. PLoS One, 2012, 7(9):e44669.
- [30] Jeffreys J, Depraetere H, Sanders J, et al. Characterization of the thyrotropin binding pocket [J]. Thyroid, 2002, 12(12):1051-1061.

(收稿日期:2016-10-25 修回日期:2016-12-22)