

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.13.047

胰岛自身抗体在糖尿病中的应用及研究进展

康欢欢,刘建华,吴丽娜 综述,秦晓松[△]审校

(中国医科大学附属盛京医院检验科,辽宁沈阳 110004)

关键词:糖尿病; 谷氨酸脱羧酶抗体; 胰岛细胞抗体; 胰岛素抗体; 蛋白质酪氨酸磷酸酶抗体; 锌转运蛋白 8 抗体

中图法分类号:R587.1;R446.6**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2018)13-2015-06

糖尿病是由于胰岛素分泌和(或)作用缺陷引起的,以慢性高血糖为特征的一种比较常见的内分泌代谢性疾病。目前,临床上根据病因对糖尿病进行分类,主要有 1 型糖尿病(T1DM)、2 型糖尿病(T2DM)、妊娠糖尿病和特殊类型糖尿病 4 种类型,其中 T1DM 与胰岛自身免疫联系甚密。T1DM 主要见于儿童和青少年,是儿童期最常见的内分泌代谢性疾病之一^[1]。它的典型特征是呈现出多饮、多食、多尿及消瘦“三多一少”的症状,起病通常较急剧,在发病初就可伴有酮症酸中毒,血糖水平可持续升高,且波动剧烈,病情发展迅速难以控制,如果发现不及时,会引起神经病变、心脏病变、眼部病变、糖尿病足、糖尿病肾病等诸多并发症,甚至危及生命。近年来,世界范围内 T1DM 的发病率不断上升,2011 年国际糖尿病联盟(IDF)统计了全球范围内 0~15 岁儿童的糖尿病发病情况,结果显示 T1DM 患者高达 490 100 例,且每年将增加近 77 800 例,发病率逐年攀升^[1-3]。由于环境、种族、生活水平等方面的差异,世界各国 T1DM 的发病率有所差异。我国一项调查显示,1995—2010 年北京 15 岁以内 T1DM 患者的发病率为每年 0.935/10 万~3.26/10 万,T1DM 发病年均增长率为 4.36%^[2]。当前的研究表明,由 T1DM 所导致的儿童和青少年的病死率在世界范围内普遍较高^[4]。T1DM 不断增加的发病率和致死率迫切要求提高对 T1DM 的预测、诊断及治疗能力。

T1DM 根据病因学可分为自身免疫性 T1DM (1A 型)和特发性 T1DM (1B 型),临床上多数见到的是 1A 型,它根据发病的急缓分为急发型和缓发型(成人自身免疫性糖尿病),二者的不同之处在于发病年龄的差异。自身免疫性 T1DM 是一种与多种复杂因素相关的自身免疫性疾病,它与特异性细胞免疫、自然杀伤细胞、遗传因素、病毒感染、生活环境等有关,这些因素联合作用导致胰岛 β 细胞损伤,致使其胰岛素分泌量绝对不足,影响了机体的代谢运转^[5]。其标志性特征是机体自身免疫参与了疾病进程,表现为血液循环中出现针对胰岛自身抗原的多种自身抗体^[1]。

临床上大多数 T1DM 患者可被检测到胰岛自身抗体,这些抗体是 T1DM 诊断的重要标志物,是机体出现自身免疫性损伤的有力证据。特发性 T1DM 见于某些人种的特殊类型,目前认为其在黑种人中的患病率较白种人高,病因尚不明确,无自身免疫反应的证据,胰岛自身抗体为阴性,也称非典型糖尿病,根据其临床特征和病理改变的不同,存在暴发型和非暴发型,暴发型无胰岛炎表现而起病时伴有胰酶增高的病理改变,非暴发型既无胰岛炎也不存在胰腺外分泌腺的淋巴细胞浸润,暴发型多为成人起病,发病急,高血糖症状出现几天便可发生酮症酸中毒,且有血清淀粉酶及弹性蛋白酶-1 水平升高,而血清各种胰岛自身抗体均为阴性,目前特发性 T1DM 的病因及发病特点仍有待进一步研究。

近年来研究的胰岛自身抗体主要包括谷氨酸脱羧酶抗体(GADA)、胰岛细胞抗体(ICA)、胰岛素抗体(IAA)、蛋白质酪氨酸磷酸酶抗体(IA2A)和锌转运蛋白 8 抗体(ZnT8A)。此外,还有部分胰岛自身抗体也参与了 T1DM 的发病过程,包括羧基肽酶 H(CPH),它对于 LADA 有一定的诊断价值;性别决定区 Y 相关蛋白抗体(SOX13-Ab),它通常出现于疾病后期,对于 T1DM 的诊断效能较低;抗体 Glima 38 可出现于 T1DM 的早期阶段,但阳性检出率较低,灵敏度和特异度有待提高;其次还有热休克蛋白 10(HSP10)抗体、淀粉酶 α -2A 自身抗体、氨基酰 tRNA 合成酶(aaRS)、抗泛素偶联酶 2L3 自身抗体(UBE2L3-Aab)^[6]、膜联蛋白 V(AncV)抗体、HSP65 等,这部分抗体的报道量较少,需要进行深入的研究才能应用于临床。

目前来说,GADA、IAA、ICA、ZnT-8A、IA2A 这 5 种胰岛自身抗体是 T1DM 检测应用最广泛、最受认可、相关性最强的自身免疫标志物,在国内外作为糖尿病诊断及筛查的重要标志物,具有重要的临床应用价值和较好的研究前景^[7-8]。

1 胰岛自身抗体

1.1 GADA 谷氨酸脱羧酶(GAD)是位于脑和胰腺

[△] 通信作者,E-mail:qinxiaosongsy@126.com。

中的酶,可以由具有分泌 γ -氨基丁酸(GABA)功能的胰腺组织的胰岛 β 细胞来合成,GAD 由同工酶 GAD65 和 GAD67 组成,GAD65 是 GABA 合成过程中的限速酶,主要功能是催化谷氨酸脱羧进一步生成 GABA,将氨基酸的兴奋性谷氨酸递质转换成抑制性神经递质 GABA,GAD65 作为破坏胰岛细胞的关键抗原,其抗体 GADA 是胰岛自身免疫的标志物,是 T1DM 患者血清中最先出现的自身抗体,也是 T1DM 检测使用最广泛的标志物^[9]。GADA 的水平与胰岛 β 细胞的受损程度非常相关,在普通人群和 T2DM 患者体内检测到 GADA 的概率很低^[10],且 GADA 的敏感性很高,其出现通常与糖尿病的疾病进展密切相关^[9]。GADA 与其他抗体相比,稳定性好、特异性佳、在患者体内持续存在,且随着病程发展波动幅度小,是诊断与预测 T1DM 及区分 T1DM 和 T2DM 的重要指标之一,并且能够有效地将成人自身免疫性糖尿病(LADA)从 T2DM 人群中分离出来。

1.2 ICA ICA 作为最早用于 T1DM 预测的免疫球蛋白,在包括 T1DM 的自身免疫性内分泌缺陷疾病患者体内首次被发现,它通过针对多种胰岛细胞分子产生了数种异质抗体,是一种和全部胰岛细胞发生反应的多克隆自身抗体的统称,属于胰岛 β 细胞的胞质抗体,主要通过特异性与胰岛细胞胞质成分反应而产生细胞的毒效应,通过抗原抗体结合反应进一步激活补体系统引起一系列破坏导致糖代谢障碍^[11]。ICA 是一种特异性抗体,根据目前的研究情况,ICA 在初诊 T1DM 患者体内出现阳性率的概率很大,随着病程不断延长,其阳性率随之逐渐降低,提示 ICA 通常存在于疾病的早期阶段。

1.3 IAA IAA 是可与胰岛细胞内数种抗原相结合的、与糖尿病诊断相关的混合抗体。PALMER 等第一次提出了 IAA 在 T1DM 自身免疫机制介导的发病过程中所起的作用,它通过与胰岛素结合后形成复合物,进而使得胰岛素失去活性。IAA 是评价胰岛细胞自身免疫功能的敏感性指标,但 IAA 却并非糖尿病的特异性抗体,不能单独作为 T1DM 的诊断指标,因为在胰岛素综合征和甲状腺疾病患者的体内也可以检测到 IAA。在糖尿病相关抗体中,IAA 是诊断敏感性受年龄影响最大的一个,IAA 在年龄较小的患者中检出率较高,随着年龄增大,其检出率可降低,成人体内的 IAA 抗体滴度很低,提示 IAA 与 T1DM 诊断时的年龄密切相关,且 IAA 的滴度越高病情进展越快^[12]。与 GADA 和 ICA 相比,IAA 的检出率偏低,IAA 对成人 T1DM 的诊断意义不大,对于新发儿童患者的诊断价值较大。

对于临床上使用胰岛素治疗的患者,由于受到外来胰岛素的干扰,其体内 IAA 水平将受到影响,导致

对糖尿病的诊断效能大大减低,通过 IAA 检测可以为糖尿病的诊断和治疗提供重要依据,它也是判断胰岛素治疗效果的一项重要指标,但它仅是一种与糖尿病相关的重要的自身抗体,不能用于糖尿病的预测。

1.4 IA2A 酪氨酸磷酸酶样蛋白质分子(IA-2)是 PTPase 家族的一个由 979 个氨基酸构成的 1 型跨膜糖蛋白,它是 T1DM 的主要自身抗原。IA-2 的膜内结构由 601~979 个氨基酸残基组成,研究显示,IA-2 的抗体主要通过针对膜内结构反应而产生,其比例达 90%~97%,因此,当某些因素影响到膜内结构时,会使膜内结构被暴露可能会启动机体免疫机制触发自身免疫应答,IA2A 的存在应证了在糖尿病的发病过程中有胰岛 β 细胞的特异性自身免疫应答。

虽然 T1DM 多发于青少年,但是老年人群中也可能出现 T1DM,IA2A 测试可用于诊断老年 T1DM^[13]。一般情况下,T1DM 患者的 IA2A 和 ICA 的阳性检出率差异无统计学意义($P>0.05$),但是 IA2A 对于 LADA 的诊断效能却远低于 GADA。

1.5 ZnT8A 锌转运蛋白 8(ZnT8)又称胰岛 β 细胞特异性锌转运体,是含有 6 个跨膜结构域的多通道蛋白,属于锌转运体蛋白家族的一员,作为胰岛素成熟及储存过程中锌的供者,主要掌管细胞内锌离子的转运,将锌离子转运到细胞外基质或囊泡,如果锌离子水平及转运过程受到干扰,可能会对胰岛素的合成、储存及分泌过程造成影响,甚至影响到胰岛细胞的旁分泌,它参与机体对胰高血糖素和胰岛素旁分泌的调控^[14]。ZnT8A 是 2007 年发现的与 T1DM 关联性较好的一种重要的自身抗体,对于 T1DM 的诊断非常重要,有较好的敏感性和特异性。芬兰的一项 T1DM 研究发现,ZnT8A 在儿童和青少年 T1DM 患者中的阳性率达到 73%,且阳性结果更易在年龄较大的患儿中出现,与 ZnT8A 阴性的患儿相比,阳性个体的血液 pH 值更低,患酮症酸中毒的风险更大^[15]。

2 胰岛自身抗体的检测方法

目前胰岛自身抗体的检测方法主要有免疫印迹法(WB)、间接免疫荧光法(IFA)、酶联免疫吸附试验(ELISA)、放射配体法(RLA)及新出现的化学发光法。由于各种方法检测原理不同,其阳性检出率、敏感性、特异性、适用性也有所差异,检测方法的选择对自身抗体的检出率有非常重要的影响。

2.1 WB WB 也称酶联免疫电转移印斑法,是一种将高分辨率凝胶电泳和免疫组织化学分析技术相结合的生物免疫杂交技术,能够同时进行多种胰岛自身抗体检测,具有敏感性好、特异性强、操作较简单、污染程度小等优点。WB 通过凝胶电泳法来达到分离抗原的目的,进一步把抗原转移到硝酸纤维素膜,再和待测抗体与显色剂进行显色、反应,利用抗原抗体反应

来达到检测的目的。WB 可以同时联合应用多种自身抗体,操作简便,可以为临床提供重要的依据,是临床常用的一项检测技术。

WB 由于操作简单而占据一定的国内医院市场,但是这种方法的检测结果易受到主观影响而使检测效能降低,且单抗体应用时灵敏度较低,因此多提倡同时应用多种抗体联合检测^[16]。

2.2 IFA IFA 是根据抗原抗体反应的原理,将人胰腺用作抗原底物,通过与特异性抗体发生反应后形成抗原抗体复合物,再用荧光素标记第二抗体,让荧光素标记过的二抗进一步去结合抗原-抗体复合物,最后利用荧光显微镜观察待测抗体^[17]。IFA 多应用于抗体 ICA 的检测,T1DM 中 ICA 的阳性率在 22.2%~61.0%,虽然 IFA 操作较简单、可重复率高、速度快,但是易受干扰,其敏感性和特异性有待进一步提高。

2.3 ELISA ELISA 原理为双抗体夹心法,将抗原或抗体包被固定至固相载体上,用酶对抗原或抗体进行标记,使抗原与抗体充分反应后,通过显色反应来鉴别待测抗原或抗体。

传统的 ELISA 采用的是间接法检测抗体,故可能在抗原包被过程中遮蔽一部分抗原表位,使抗原决定簇的空间构象不能很好地暴露,抗原抗体不能进行充分反应,从而影响检测结果的准确。新一代的 ELISA 通过应用生物素-亲和素而产生放大效应,使得检测敏感性显著提高。在 2005 年进行的糖尿病自身抗体检测标准化评估(DASP 2005)通过应用 ELISA 检测 T1DM 患者的自身抗体,结果显示:IA2A 灵敏度为 65%,特异度为 99%;GADA 的灵敏度为 89%,特异度为 98%;ICA 的灵敏度为 96%,特异度为 98%,ELISA 的检测水平已接近放射配体结合法(RBA)的水平,但它对 IAA 检测的灵敏度和特异度均较低。总体来说,ELISA 的特异度和灵敏度较好,操作较方便,与放射法相比污染性极低且对实验设施和技术人员的要求较低,却可以达到放射法的检测效果,因此被广泛应用于临床糖尿病患者的自身抗体检测,有较好的应用前景^[16]。

2.4 RLA RLA 主要通过胰岛自身抗原标记,有利于其空间构象和生物活性的保存,经过缓慢均匀振荡和长达 24 h 的孵育使得抗原与抗体更好地接触、反应,故特异性和敏感性较高,RLA 是目前糖尿病抗体检测方法中敏感性和特异性最高的检测方法,被视为金标准。经过标准化的 RLA 检测效能进一步提高,敏感性和特异性达到最佳。目前来说,RLA 被认为是国际上较为通用的方法。

RLA 作为我国现阶段胰岛自身抗体中心化检测的推荐方法^[18]。但由于其操作起来复杂、技术要求高、影响因素过多,需要对其检测条件进行优化,对其

检测质量严格控制,且存在放射性废物产生污染和危害等问题,导致其应用受到限制,目前我国尚无法得到推广应用,而逐渐被其他方法所替代。

2.5 化学发光法 化学发光法是近几年应用于糖尿病自身抗体检测的一种新的检测方法,化学发光法定量检测相比 WB 等定性检测方法来说,对临床治疗的指导具有重要意义。它是通过化学发光剂标记抗原,利用化学发光技术与磁性微粒子分离技术同标本结合,然后利用磁珠捕捉形成的反应物,通过使发光物质产生发光反应,检测发光强度来计算待测物质的量。化学发光反应在液相状态下进行,增加了接触面积,使反应更充分,利用光量子数判断反应结果,准确度更高,且操作简单,特异性和敏感性较高,无污染,因此受到越来越多的关注。据国家代谢性疾病临床医学研究中心进行的一项胰岛自身抗体检测标准化计划报告显示,通过调查我国 20 家核心成员单位的糖尿病抗体检测方法的开展情况,发现化学发光法占到 20%^[18],未来还可能进一步推广,具有良好的发展前景。

除了以上几种常见的检测方法外,近年来经过人们的不懈努力,又有新的方法相继出现以便于更好地进行胰岛自身抗体的检测,这些新方法包括荧光素酶免疫法、等离子体纳米金芯片法等。这些新的胰岛自身抗体检测方法对于糖尿病的明确诊断意义重大,但若推广应用仍需要进行大量的临床研究。

3 胰岛自身抗体对于糖尿病的诊断价值

3.1 胰岛自身抗体指导糖尿病分型及对 T1DM 的诊断价值 T1DM 主要包括特发性 T1DM 和自身免疫性 T1DM 两种类型,自身免疫性糖尿病多于儿童和青少年阶段发病,也可以出现在成年及老年人群中,即 LADA,自身免疫性糖尿病的典型特点之一就是血清中可出现各种胰岛自身抗体。研究表明,T1DM 患者处于无症状期和疾病发作后的一定时期内可以检测到特定损伤胰岛组织细胞的几种抗体,主要包括 IAA、GADA、ZnT-8A、ICA、IA2A,且胰岛自身抗体在新发 T1DM 患者中的阳性检出率较高,确诊价值更大^[19]。通过胰岛自身抗体检测可以帮助在早期对糖尿病进行分型和诊断,临床上几乎所有的患者在诊断 T1DM 时都出现了单个或多种糖尿病相关抗体阳性,并且出现两种或两种以上糖尿病相关自身抗体阳性的儿童几乎最终都进展至临床 T1DM,因此如果能够临床症状出现之前就确定这些血清学标志物的存在,就可以通过及早预防,避免出现糖尿病酮症酸中毒及更加严重的并发症造成更为严重的后果,甚至危及生命。故通过应用胰岛自身抗体检测能够指导糖尿病分型,明确 T1DM 的诊断,这对于糖尿病后续的正确治疗和并发症的预防至关重要。

LADA 是 T1DM 的一种特殊类型,多于 35 岁后发病,起病隐匿、迟发,发病初期口服降糖药治疗有效,这与 T2DM 的发病特点相似,其胰腺 β 细胞衰竭的速度通常较缓慢,可在疾病的反复多次发作的过程中不伴有酮症酸中毒现象,这与 T2DM 的表现较相似,而这种临床异质性的存在,为临床糖尿病的分型诊断带来了巨大难题。LADA 由于其特殊的临床表现极易被误诊为 T2DM,仅通过依靠患者的临床表现及其胰岛素水平来诊断 LADA 显然不够准确,所以制定最有效的筛选策略具有非常重要的意义。

研究发现临床上部分患者在发病初期被诊断为 T2DM,但经长期观察发现这部分患者并非 T2DM,虽然其早期临床表现与 T2DM 较相似,但实质上却与 T1DM 的发病机制相符,是通过自身免疫机制导致 β 细胞损伤所引起的 LADA,这些患者体内多有一种或多种胰岛自身抗体呈现阳性。美国糖尿病协会(ADA)指出这类患者约占 T2DM 的 10%~15%,这类患者的胰岛 β 细胞功能以较快的速度衰减,达到 T2DM 患者胰岛细胞衰竭速度的 3 倍^[20]。因此如果能够在早期发现并得到明确诊断,将使这类患者取得较好的治疗效果,而临床上这部分患者多数因为口服降糖药效果不明显而反复发病而引起重视,进一步明确诊断后被确定为 LADA,因此如果能够在疾病的早期阶段对这部分人群进行胰岛自身抗体的筛查,就能在疾病的早期明确诊断,及早进行治疗,尽可能的保护残存胰岛 β 细胞,使患者获得较好的治疗效果,胰岛自身抗体对于识别 T2DM 中的 LADA 患者至关重要,是诊断 LADA 最可靠和最有价值的指标。

3.2 胰岛自身抗体对于 T2DM 的诊断价值 T2DM 主要见于中老年人群,表现为不同程度的胰岛素抵抗与相对性胰岛素缺乏并存。T2DM 的发病率普遍较高,胰岛自身抗体对于 T2DM 的诊断意义不大,其主要应用目的是鉴别 T1DM 与 T2DM,并从 T2DM 患者中分离筛选出 LADA。但是希望随着未来社会的向前发展,新的抗体和检测方法不断出现,有一天能够发现像 T1DM 的自身抗体一样有特异性的抗体应用于 T2DM 的诊断和治疗。

3.3 抗体联合检测的意义 ICA、IAA、GADA、ZnT8A 和 IA2A 这 5 种抗体在 T1DM 患者体内普遍存在,且在发病前期便可出现,它们的发现和应用对 T1DM 有了进一步新的认识。目前的研究已经证实通过联合抗体检测能够显著提高自身免疫性糖尿病的检出率^[17,21]。

WENZLAU 等进行了一项研究,通过对 223 例新发 T1DM 患者观察研究,发现通过 3 项或 4 项抗体联合检测可将 T1DM 的检出率提高至 90%以上。我国近年来进行的多项研究也显示了通过联合 3 项或 3

项以上抗体联合检测可将 T1DM 的阳性检出率提高至 80%以上^[22-23]。由此可见,通过应用多项抗体联合检测可取得最佳的敏感性和特异性,胰岛自身抗体在 T1DM 的临床诊断上有着非常重要的意义。

由于实际应用中存在多种复杂因素的干扰,通过应用单个自身抗体检测诊断 T1DM 的效能较差,目前国内外应用较为广泛的是同时联合多项自身抗体进行检测,联合检测可以使各抗体互补,能够显著提高 T1DM 的检出率。总之,通过联合多种抗体检测为 T1DM 和 T2DM 的正确分型和诊断提供了重要价值,且抗体联合检测可以最大程度地提高 T1DM 阳性检出率和诊断符合率,防止漏诊,值得推广普及。

4 胰岛自身抗体对 T1DM 的预测意义

胰岛自身抗体检测是目前有效提升 T1DM 预报诊断的重要方法^[19]。T1DM 的无症状临床前期持续时间变化多端,对于婴幼儿,可能机体在第一种糖尿病相关自身抗体出现后的几个月内出现明显的疾病发病症状,而对于其他人群,尤其是老年人,其临床前期可以持续很长时间甚至可以持续超过 20 年。目前来说,当糖尿病近亲属或者普通人群体内出现多种糖尿病相关自身抗体时,这些人群有极大的可能性发展成为 T1DM,抗体的预测价值是非常准确、可靠的。

胰岛自身抗体作为预测 T1DM 的一种重要工具^[11]。据以往的研究估计,有 2 种或 2 种以上自身抗体阳性的一般人群中约有 27%~40%在之后的 10 年内发展为糖尿病^[24]。通过联合 IAA、GADA 和 IA2A 可以鉴定出近 80%或更多有疾病发作倾向及有疾病发生风险的个体。通过在糖尿病亲属和普通人群进行胰岛自身抗体的筛查能够预测这些人群患 T1DM 的风险,能够在临床前期就识别出那些发病风险较高的人群,自身抗体也可以作为初始预防 T1DM 干预试验中临床疾病的替代标记物。胰岛自身抗体作为机体损伤过程的标志物,仍将是 T1DM 未来发展中最好的预测标志物^[11]。进行胰岛自身抗体筛查切实可行,具有非常重要的意义。

由于自身免疫机制介导的胰岛 β 细胞损伤与糖尿病的发生及发展联系密切, β 细胞自身免疫的标记物增加会提高 T1DM 的发病风险。通常认为,胰岛自身抗体一般作为损伤性过程的标志物而不直接参与 β 细胞损伤,反映 β 细胞破坏的严重程度^[11]。

临床研究显示当患者体内出现多种自身抗体时,其 C 肽水平下降速度更快,胰岛 β 细胞衰竭的速度更快,胰岛自身抗体是预测糖尿病患者胰岛功能衰退率的重要指标,可用来预测患者的胰岛功能是否损伤及损伤的程度。从而便于临床对胰岛细胞破坏进程进行干预,减缓或阻止胰岛损伤发生,从最大程度上保护胰岛 β 细胞。胰岛自身抗体检测对于糖尿病患者

早期准确的预报诊断和进一步临床干预治疗具有非常重要的价值。

5 高危人群中进行 T1DM 筛查

T1DM 患者的一级亲属属于高危发病人群,当这些人群体内出现糖尿病相关自身抗体时,其糖尿病发病概率将显著提高。美国的一项 T1DM 预防试验研究通过将 T1DM 患者的非糖尿病亲属组成 71 148 例的受试者群体,并进行糖尿病相关抗体筛查,发现将 ICA512 与 GADA 进行组合筛查,可将检测的灵敏度提高至 97%,且在随访过程中发现部分开始只有一种抗体阳性的受试者后期可以同时呈现出多种抗体阳性,抗体出现率越高,筛查的价值越大。通过对 T1DM 孕妇的脐血进行自身抗体检测能够反映胎儿的 β 细胞是否存在自身免疫,有助于预测婴儿发生糖尿病的风险^[25]。总之,通过筛查糖尿病相关抗体,有利于从高危人群将那些有较大可能性快速发展为糖尿病的个体分离出来,能够在早期对这部分人群进行干预,减少这些人群的发病率,避免并发症及不良后果的出现,提高生存率和治愈率。

6 胰岛自身抗体指导 T1DM 治疗

T1DM 患者体内的胰岛自身抗体通常出现较早,常可先于临床症状的发生,因此能够为疾病的早期治疗提供重要的预测信息。JUUSOLA 等^[15]在芬兰进行的一项 T1DM 研究,结果显示抗体阳性的患者与阴性患者相比有更低的 C-肽浓度需要更高的胰岛素剂量治疗,患者的抗体阳性率越高,其胰岛功能损伤程度越重,将需要加大胰岛素量以达到治疗效果。

某项研究通过对 33 例 T1DM 患者胰岛移植前后体内 IA-2A 和 GADA 抗体滴度变化的观察,结果显示有些患者在胰岛移植之后其抗体的水平升高,且移植前抗体为阴性的个体移植后可出现阳性,这预示着通过胰岛移植使自身抗原 2 次暴露于自身免疫系统从而引起自身免疫应答,出现了抗体水平的变化。在胰岛移植后抗体水平显著升高且持续时间久的患者治疗时对胰岛素依赖的可能性大,而在移植前后其抗体水平都为阴性的患者通过移植取得成功的概率较大,且对胰岛素治疗时依赖性小的可能性大。因此,如果能及早发现并阻断自身免疫反应,可有效提高移植的成功率。通过抗体检测来预测治疗效果,对于糖尿病的临床干预具有极其重要的意义^[26]。

7 展 望

经过数十年的研究,对糖尿病有了更加深入的认识,目前证实了 T1DM 的发病与自身免疫性胰岛 β 细胞损伤有关,且发现了这一致病过程中出现的一系列胰岛自身抗体,通过自身抗体检测可以为临床糖尿病的诊断、治疗和预测提供重要依据,胰岛自身抗体将是现在和未来用于 T1DM 检测的重要标志物。虽然

胰岛自身抗体对糖尿病的应用价值很大,然而还是存在很多问题需要去克服。由于临床疾病的复杂性,各种检测方法的局限性,加上实验室条件及操作人员的水平差异,抗体的检出率和诊断符合率仍未达到理想水平,这就要求我们继续探索去发现更好的血清标志物,不断改进检测方法,提高检测技术水平,完善胰岛自身抗体谱,使胰岛自身抗体更好地发挥其临床应用价值。

参考文献

[1] KATSAROU A, GUDBJORNSDOTTIR S, RAWSHANI A, et al. Type 1 diabetes mellitus[J]. Nat Rev Dis Primers, 2017, 3: 17016-17021.

[2] GONG C, MENG X, JIANG Y, et al. Trends in childhood type 1 diabetes mellitus incidence in Beijing from 1995 to 2010; a retrospective multicenter study based on hospitalization data[J]. Diabetes Technol Ther, 2015, 17(3): 159-165.

[3] KIM J H, LEE C G, LEE Y A, et al. Increasing incidence of type 1 diabetes among Korean children and adolescents: analysis of data from a nationwide registry in Korea [J]. Pediatr Diabetes, 2016, 17(7): 519-524.

[4] MORGAN E, CARDWELL C R, BLACK C J, et al. Excess mortality in type 1 diabetes diagnosed in childhood and adolescence: a systematic review of population-based cohorts[J]. Acta Diabetol, 2015, 52(4): 801-807.

[5] 陶桂香, 徐洋. 1 型糖尿病发病机制及治疗研究[J]. 中国免疫学杂志, 2015, 10(31): 1297-1303.

[6] KOO B K, CHAE S, KIM K M, et al. Identification of novel autoantibodies in type 1 diabetic patients using a high-density protein microarray [J]. Diabetes, 2014, 63(9): 3022-3032.

[7] XIANG Y, HUANG G, SHAN Z, et al. Glutamic acid decarboxylase autoantibodies are dominant but insufficient to identify most Chinese with adult-onset non-insulin requiring autoimmune diabetes: LADA China study 5 [J]. Acta Diabetol, 2015, 52(6): 1121-1127.

[8] KRISCHER J P, LYNCH K F, SCHATZ D A, et al. The 6 year incidence of diabetes-associated autoantibodies in genetically at-risk children: the TEDDY study [J]. Diabetologia, 2015, 58(5): 980-987.

[9] WILLIAMS A J, LAMPASONA V, SCHLOSSER M, et al. Detection of antibodies directed to the N-terminal region of GAD is dependent on assay format and contributes to differences in the specificity of GAD autoantibody assays for type 1 diabetes [J]. Diabetes, 2015, 64(9): 3239-3246.

[10] SIMON N G, VUCIC S, JOFFE R, et al. Cortical dysfunction in cerebellar ataxia with antibodies to glutamic acid decarboxylase [J]. J Neurol, 2014, 261(1): 238-239.

[11] KNIP M, SILJANDER H, ILONEN J, et al. Role of hu-

moral beta-cell autoimmunity in type 1 diabetes[J]. Pediatr Diabetes, 2016, 17(Suppl 22):17-24.

[12] MORRAN M P, VONBERG A, KHADRA A, et al. Immunogenetics of type 1 diabetes mellitus[J]. Mol Aspects Med, 2015, 42:42-60.

[13] SANKODA A, TAKAHASHI K, MATSUOKA T. Clinical characteristics of patients aged 65 and older with newly developed type 1 diabetes: An analysis of elderly patients at our hospital[J]. Nihon Ronen Igakkai Zasshi, 2016, 53(2):143-151.

[14] 周厚清, 吴行贵. 糖尿病患者 GAD-Ab、IA2-Ab 和 ICA 联合检测的临床意义[J]. 检验医学, 2015, 30(5):465-467.

[15] JUUSOLA M, PARKKOLA A, HARKONEN T, et al. Positivity for zinc transporter 8 autoantibodies at diagnosis is subsequently associated with reduced beta-cell function and higher exogenous insulin requirement in children and adolescents with type 1 diabetes[J]. Diabetes Care, 2016, 39(1):118-121.

[16] 王睿智, 陈志江, 周晖, 等. 酶联免疫吸附法与免疫印迹法检测谷氨酸脱羧酶抗体的比较[J]. 中国糖尿病杂志, 2016, 11(24):983-985.

[17] 王睿智, 裴剑浩. 胰岛自身抗体检测与 1 型糖尿病[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(9):1543-1545.

[18] 黄干, 杨涛, 刘煜, 等. 中国胰岛自身抗体检测标准化计划报告:检测方法调查及准确性评估[J]. 中华糖尿病杂志, 2016, 12(8):723-728.

[19] BONIFACIO E. Predicting type 1 diabetes using biomarkers[J]. Diabetes care, 2015, 38(6):989-996.

[20] American Diabetes A. Diagnosis and classification of diabetes mellitus[J]. Diabetes care, 2011, 34(Suppl 1):S62-S69.

[21] 范志广, 朱俊英, 邢忠. 糖尿病自身抗体联合检测与 1 型糖尿病分型诊断[J]. 糖尿病新世界, 2016, 19(22):123-124.

[22] 张玉杰. 免疫印迹试验检测血清胰岛自身抗体的应用价值[J]. 中国民康医学, 2016, 28(6):60-62.

[23] 乔献伟. 联合检测 GADA、ZnT8A 和 IA-2A 对 1 型糖尿病的诊断价值[J]. 中国医药指南, 2015, 13(35):62-63.

[24] VELLUZZI F, SECCI G, SEPE V, et al. Prediction of type 1 diabetes in Sardinian schoolchildren using islet cell autoantibodies: 10-year follow-up of the Sardinian schoolchildren type 1 diabetes prediction study[J]. Acta diabetol, 2016, 53(1):73-79.

[25] LUNDGREN M, LYNCH K, LARSSON C, et al. Cord blood insulinoma-associated protein 2 autoantibodies are associated with increased risk of type 1 diabetes in the population-based Diabetes Prediction in Skane study[J]. Diabetologia, 2015, 58(1):75-78.

[26] PIEMONTE L, EVERLY M J, MAFFI P, et al. Alloantibody and autoantibody monitoring predicts islet transplantation outcome in human type 1 diabetes[J]. Diabetes, 2013, 62(5):1656-1664.

(收稿日期:2018-02-16 修回日期:2018-05-09)

• 综 述 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2018. 13. 048

新生儿外周血有核红细胞检测与精准医疗的研究

韦桂兰 综述, 蒋文钦 审校

(广西壮族自治区桂林市人民医院检验科 541002)

关键词:有核红细胞; 精准医疗; 新生儿; 外周血

中图分类号:R446.1 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2018)13-2020-03

新生儿外周血有核红细胞(NRBC)检测是临床检验项目, NRBC 在新生儿中的临床意义还不清楚, 对新生儿外周血 NRBC 检出率最高的是出生后的第 1 天, 然后其数量随着日龄增加而减少。目前, 多种血液分析仪可对 NRBC 进行报警提示, 具有筛查功能, 很多医院还没有对 NRBC 进行常规检测和常规报告, 复检 NRBC 仅限于校正白细胞使用。结合新生儿的生理病理特点, 参照血液分析仪异常报警信息, 笔者所在科室建立了适合本院的新生儿外周血 NRBC 复检规则, 经过评估和验证, 证明它是适合于新生儿 NRBC 的复检规则, 通过仪器法与手工显微镜检查联合检测, 实现精准检验。胎儿 NRBC 被学者们认为是无创性产前诊断的最佳细胞来源, 对新生儿有核红细胞检测与相关疾病的研究也引起了越来越多的临床

医生关注^[1-2]。

1 新生儿外周血 NRBC 检测方法

1.1 镜检法(以镜检法为金标准) 在 SP-1000i 自动或手动模式推片染色, 用油镜在血膜体尾交界处分类 400 个白细胞时所见到的有核红细胞, 同时计数所见到的 NRBC 数^[3-4]。

1.2 血液分析仪法 Sysmex XN-1000 全自动分析仪检测 NRBC XN-1000 有两个通道即 WBC/BASO 和 NRBC 通道(也叫 WNR 通道), 为了进行白细胞精准检测增加了对 NRBC 的修正功能。在 WNR 通道中可对白细胞进行计数和分类, 也可对 NRBC 和嗜碱性粒细胞进行计数。Lysercell WNR 试剂中的表面活性剂可使红细胞溶血的同时也能透过白细胞的细胞膜。根据白细胞外形和内部结构的特征不同, 利用