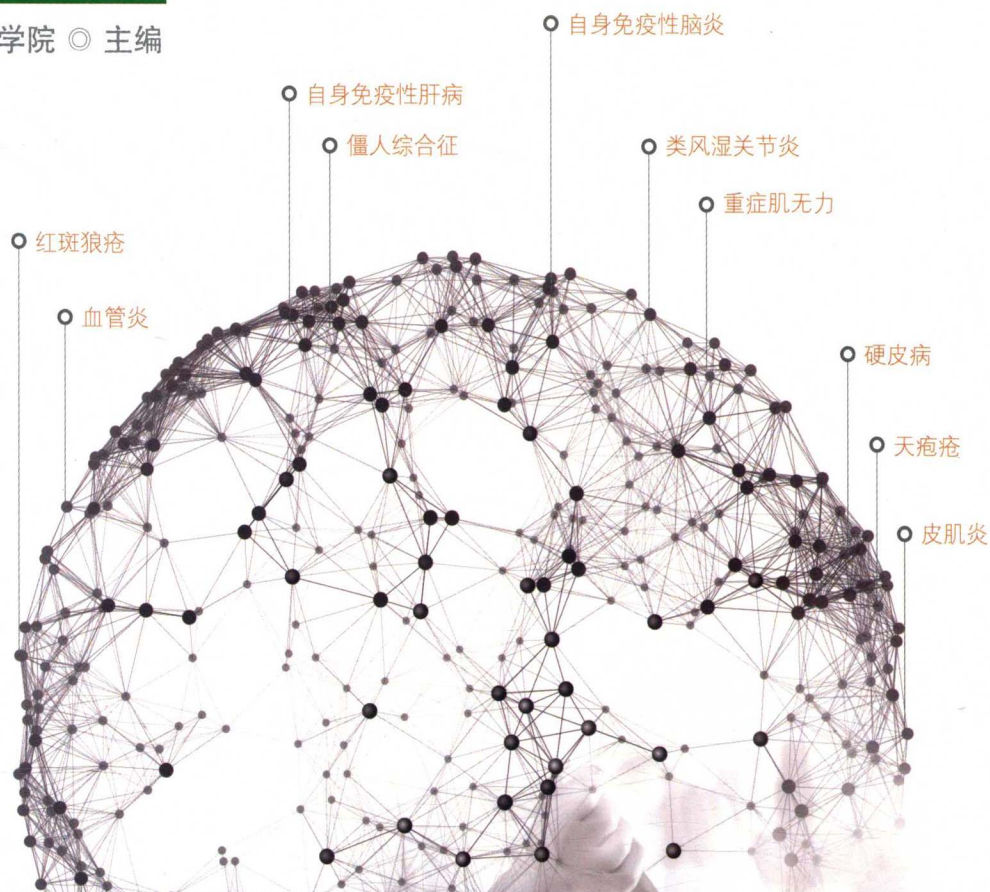


临床与检验
之桥梁丛书

欧蒙学院 ◎ 主编



自身免疫性疾病
及其实验室诊断

免疫荧光分册



北京科学技术出版社

临床与检验之桥梁丛书

自身免疫性疾病
及其实验室诊断

免疫荧光分册

欧蒙学院 © 主编



北京科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

自身免疫性疾病及其实验室诊断——免疫荧光分册 / 欧蒙学院主编. — 北京: 北京科学技术出版社, 2016.9

ISBN 978-7-5304-8214-8

I. ①自… II. ①欧… III. ①自身免疫病—实验室诊断 ②自身抗体—免疫荧光
IV. ① R593.204

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 034466 号

自身免疫性疾病及其实验室诊断——免疫荧光分册

主 编: 欧蒙学院

策划编辑: 尤玉琢

责任编辑: 刘瑞敏

责任印制: 李 茗

封面设计: 申 彪

出 版 人: 曾庆宇

出版发行: 北京科学技术出版社

社 址: 北京西直门南大街 16 号

邮政编码: 100035

电话传真: 0086-10-66135495 (总编室)

0086-10-66113227 (发行部)

0086-10-66161952 (发行部传真)

电子信箱: bjkj@bjkjpress.com

网 址: www.bkydw.cn

经 销: 新华书店

印 刷: 北京捷迅佳彩印刷有限公司

开 本: 787mm×1092mm 1/16

字 数: 350 千字

印 张: 14

版 次: 2016 年 9 月第 1 版

印 次: 2016 年 9 月第 1 次印刷

ISBN 978-7-5304-8214-8/R • 2030

定 价: 150.00 元



京科版图书, 版权所有, 侵权必究。
京科版图书, 印装差错, 负责退换。

编者名单

主 编：欧蒙学院

执 行 主 编：Winfried Stöcker

执行副主编：王 晶

特 邀 编 委：鲍春德 崔丽英 赵明辉 仲人前 张 瑞

编 者：（按姓氏拼音排序）

白 旭 刁智娟 李文涵 刘 英 刘卫群

卢 洁 沈 聪 沈伟琴 沈燕琴 辛静静

徐 娅 杨 慧 詹 柯

序 一

近十几年来，自身免疫性疾病的发病机制及临床诊治的研究均有不少发展，并出现了多种新的免疫实验技术和方法。《临床与检验之桥梁》系列丛书第一分册《自身免疫性疾病及其实验室诊断——免疫荧光分册》的出版对国内自身抗体测定的规范和推广有重要意义。最近，受欧蒙医学诊断高层的委托为该书写序，深感荣幸，同时，也是责任。

随着现代免疫学的发展，迄今至少已有 100 多种疾病被列为自身免疫性疾病。而且，新的病种也不断被发现。虽然其发病机制尚在不断探索中，但可以肯定的是，自身免疫性疾病的发生与自身抗体密切相关。自身抗体的发现和研究已经有 100 多年的历史。大量证据表明，从自身免疫性疾病的预测、诊断、活动性监测到预后判断，自身抗体在各环节均有重要作用。

目前，国内关于自身抗体检测的书籍尚少，尤其对于基层实验室来说，学习资料有限，而且对于自身抗体测定方法和判读标准也不尽统一。同时，由于近年来自身抗体检测方法的发展迅速，编写一本能够反映自身抗体检测进展的专著，对于提高自身免疫性疾病的临床诊断和鉴别诊断水平将大有裨益。

多年来，欧蒙医学诊断一直致力于自身免疫性疾病体外诊断方法的研究和推广，并取得了卓越的成绩，其自身抗体间接免疫荧光检测产品已在国内得到广泛的应用。与此同时，欧蒙已积累了丰富的技术经验和临床应用实例。因此，出版一本自身抗体荧光检测专著十分必要，并必将由此进一步推动该领域的发展。

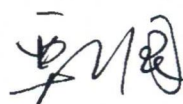
该书系统介绍了自身抗体的相关知识，以及在不同自身免疫性疾病中出现的自身抗体种类、相应的抗原、检测方法、免疫荧光模式及其临床意义。除了细致描述各类荧光模型外，对自身抗体与疾病关系以及细胞结构和组织学的介绍，将

有助于理解不同自身抗体荧光模式各异的原因，对加强实验人员对各类荧光模式的判读能力具有实际指导意义。

我相信该书对于一线的实验免疫技术人员和临床医师均为不可多得的专业著作，同时，我也期待着该书的不断完善和更新。

最后，诚挚地感谢该书作者及编辑人员辛勤而卓有成效的工作！

中国免疫学会临床免疫分会主任委员



2016年9月

序 二

神经系统自身免疫性疾病的研究在近几年取得了重要进展，其中之一就是各种新型抗神经元抗体的发现。自2007年Dalmau发现抗NMDAR抗体以来，一系列抗神经元表面蛋白和突触受体的自身抗体被发现，包括抗LGI1抗体、抗GABABR抗体、抗CASPR2抗体和抗AMPA抗体等。这些抗体都与特定的自身免疫性脑炎类型或者神经综合征相对应。对于这些疾病，自身抗体检测已经成为最重要的诊断方法。

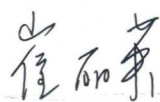
目前，在神经科临床中常用的自身抗体检测包括以下几大类。①副肿瘤性神经系统综合征相关抗体：包括抗Hu、Yo、Ri、CV2、Ma2以及amphiphysin抗体等，主要针对神经元细胞内抗原或者核抗原，这其中抗Hu抗体是最经典的副肿瘤性神经系统综合征相关抗体，由Graus等于1985年发现，该抗体与感觉性神经元神经病、小脑变性和边缘性脑炎副肿瘤综合征有关，主要见于小细胞肺癌等；抗Hu抗体也是检出频率最高的副肿瘤性神经系统综合征相关抗体。②自身免疫性脑炎相关抗体：包括抗NMDAR抗体、抗LGI1抗体、抗GABABR抗体、抗CASPR2抗体和抗AMPA抗体等，如前所述，此类抗体的靶抗原是表面蛋白和突触受体。③视神经脊髓炎（NMO）相关抗体：主要抗原是水通道蛋白4（AQP-4），抗AQP-4抗体作为NMO的致病性抗体被发现，标志着NMO作为一种独立的疾病被确认。④自身免疫性周围神经病相关抗体：抗神经节苷脂抗体是吉兰-巴雷综合征及其变异型（如急性轴突性运动神经病、密勒费雪综合征、多灶性运动神经病）的重要诊断标志物。抗MAG抗体（IgM型）在IgM型的单克隆丙种球蛋白血症和浆细胞病中，是介导周围神经脱髓鞘的致病性抗体。⑤相关抗体：30%~50%的单纯眼肌型重症肌无力（MG）患者可检测到抗AChR抗体，而多数全身型MG患

者也可检测到抗AChR抗体。在抗AChR抗体阴性的患者中，可能检测到肌肉特异性酪氨酸激酶(MuSK)抗体或低密度脂蛋白受体相关蛋白-4(Lrp-4)抗体。⑥僵人综合征相关抗体(SPS)：包括抗GAD65抗体与抗amphiphysin抗体，以前者更常见。

以上自身抗体的检测对神经系统自身免疫性疾病的诊断具有重要意义，多数已经成为成熟临床实验诊断项目。与此同时，新的自身抗体还在不断被发现与报道，如抗DPPX抗体、抗IgLON5抗体等。自身抗体谱系仍在不断扩展，推动着神经免疫学基础与临床研究的进步。

本书介绍了神经系统疾病自身抗体检测技术，对抗体的临床意义、检测方法和结果判断等予以系统的阐述，图文并茂，制作精良，可作为实验检测和结果判断标准的重要参考。

中华医学会神经病学分会主任委员



2016年4月

前言

随着对现代免疫疾病研究的深入，越来越多的免疫学诊断指标在疾病诊疗过程得到重视及广泛应用。鉴于当前临床免疫检验项目的不断增加和日趋复杂，而可供检验和临床医师共同参考的书籍相对匮乏，欧蒙学院启动了《临床与检验之桥梁》系列丛书的编纂，旨在提供一套对临床和检验工作均具有指导作用的实用性书籍，不但帮助广大医学检验人员和临床医师能够全面了解各项免疫学指标在疾病诊疗中的重要作用及相应的检测手段，而且为临床和检验的深入沟通与交流提供学术基础。

目前，越来越多的疑难杂症被诊断为自身免疫性疾病，而自身抗体检测不但是自身免疫性疾病诊断最重要的指标，而且在病情判断、监测和预后等方面也同样具有重要作用，同时自身抗体在疾病发生发展中的作用也逐步阐明。因此，我国多数“三甲”医院的临床实验室都将自身抗体检测作为常规检测项目。作为自身免疫实验室诊断领域的领军者，欧蒙学院对相关疾病实验室诊断的专业培训、继续教育与广泛传播有着义不容辞的责任，首先推出的系列丛书中的第一本《自身免疫性疾病及其实验室诊断——免疫荧光分册》，即是对自身抗体间接免疫荧光检测的系统梳理。

在自身抗体检测中，间接免疫荧光检测技术具有独特的优势，长期以来为临床诊疗提供了强大的支持。该技术保留了各类基质抗原谱的完整性，如经典的HEp-2细胞包含100~150种自身抗原。因无须各种生化提取，所以抗原天然结构的完整性也得以保留，因而保证了自身抗体检测的准确性。美国风湿病学会（ACR）也已将间接免疫荧光检测推荐为检测抗核抗体（ANA）的“金标准”。同时间接免疫荧光技术也是探索未知自身抗体的经典方法，在新抗体的发现中占据

不可或缺的地位。随着一系列自动化技术和仪器的开发，间接免疫荧光技术不断完善，更为临床检测所广泛运用。

《自身免疫性疾病及其实验室诊断——免疫荧光分册》共分五个章节。第一章系统地介绍了自身免疫性疾病及其相应的自身抗体，第二章介绍了自身抗体的实验室检测技术并重点介绍了自身抗体的间接免疫荧光法检测。接下来的三个章节是全书的重中之重，全面、详尽、图文并茂地阐述了各类自身抗体的间接免疫荧光检测。

本书编写的初衷，是为检验和临床医师提供一本自身抗体间接免疫荧光检测的实用工具书。在编写过程中力求逻辑清晰、内容实用，尽量涵盖迄今已鉴别的非器官/组织特异性及器官/组织特异性自身抗体。除了力求尽可能全地收录自身免疫性疾病检测指标之外，也期望用深入浅出的论述，通过章节各组织、细胞的介绍，使得广大读者朋友们对于荧光模式的理解更加清晰准确。书中所用的荧光图其荧光模式典型，皆来源于实际检测，具有高实践性、高应用性。另外，本书还对每种自身抗体进行了其临床意义的概述，更加深了临床实验室对该类抗体的认识。

最后，感谢栗占国教授和崔丽英教授亲自为本书作序，感谢仲人前教授、鲍春德教授、崔丽英教授、赵明辉教授、张瑞博士对此书进行的专业指导，感谢参与本书撰写的所有编者以及金海峰、郑燕玲、李倩、张文娟、杜静和郭桂杰的辛勤付出。希望本书的出版不但为实验室一线技术人员提供实用参考工具，也可为临床医师在诊疗中合理应用自身抗体检测及开展临床研究提供有力借鉴。

欧蒙学院

2015年11月

目 录

第 1 章 自身免疫性疾病与自身抗体 / 1

- 一、概述 / 2
- 二、系统性自身免疫性疾病 / 4

第 2 章 自身抗体检测 / 26

- 一、自身抗体检测方法概述 / 27
- 二、自身抗体的间接免疫荧光法检测 / 33

第 3 章 非器官 / 组织特异性自身抗体 / 49

- 一、抗细胞核成分抗体 / 50
- 二、细胞周期相关抗体 / 68
- 三、抗细胞胞质成分抗体 / 74
- 四、绿蝇短膜虫检测 dsDNA / 88

第 4 章 器官 / 组织特异性自身抗体 / 90

- 一、血管炎相关自身抗体 / 91
- 二、类风湿关节炎相关自身抗体 / 98
- 三、自身免疫性神经系统疾病相关自身抗体 / 101
- 四、自身免疫性肝脏疾病相关自身抗体 / 124
- 五、自身免疫性胃肠道疾病相关自身抗体 / 134
- 六、自身免疫性内分泌疾病相关自身抗体 / 142
- 七、自身免疫性肾脏疾病相关自身抗体 / 148

- 八、自身免疫性皮肤病相关自身抗体 / 151
- 九、自身免疫性生殖系统疾病（不孕不育）相关自身抗体 / 156
- 十、其他自身抗体 / 160

第 5 章 自身抗体实验室检测常见的其他荧光模式 / 164

附录 I 自身免疫性疾病索引 / 170

附录 II 自身免疫性疾病诊断相关的自身抗体 / 174

附录 III 细胞生物学和组织学 / 180

- 一、细胞生物学 / 181
- 二、组织学 / 183

附录 IV 中英文名词对照 / 195

参考文献 / 203

第 1 章

自身免疫性疾病与 自身抗体

一、概述

(一) 自身免疫

自身免疫 (autoimmunity) 是指机体免疫系统针对自身成分发生免疫应答, 从而产生针对自身成分的抗体和 (或) 自身反应性淋巴细胞。自身免疫应答大多是由外界异物 (病原体、化学品等) 结合自身成分引起, 或是由自身抗原的暴露或者改变引起, 或是由与自身抗原结构相同或部分相似的异物抗原引起。自身免疫包括生理性自身免疫和病理性自身免疫。在正常生理活动中, 自身免疫协助机体及时清除衰老或死亡的自体细胞, 维持机体内环境的生理稳定。但是过高的自身免疫应答, 可能引起自身免疫性疾病 (autoimmune diseases, AID), 即为病理性自身免疫。

(二) 自身免疫性疾病

机体的自身免疫应答或免疫耐受功能在内因与外因的共同作用下失控, 对自身抗原成分的免疫应答反应过度, 从而直接或间接破坏自身组织, 最终导致自身组织器官损伤或功能障碍的疾病称为自身免疫性疾病。内因包括遗传因素、免疫耐受性减低或丧失、免疫调节失常、衰老体弱等; 外因主要是可以引起自身抗原出现或改变的因素, 包括感染、外伤、物理、化学等因素。

自身免疫性疾病种类很多, 病理性自身免疫应答可以累及机体任何组织器官, 其共同特点如下。

- (1) 多数自身免疫性疾病是自发或特发性的, 感染、药物等外因可能有一定的影响。
- (2) 多数患者血清中有高水平的丙种球蛋白。
- (3) 患者血清中可检测到高滴度的自身抗体或与自身抗原反应的自身反应性淋巴细胞。
- (4) 自身抗体和 (或) 自身反应性淋巴细胞作用于靶抗原所在细胞、组织, 造成相应组织器官的病理性损伤和功能障碍。
- (5) 病程一般较长, 发作与缓解交替出现, 仅有少数为自限性。
- (6) 有遗传倾向, 研究发现某些特定基因与自身免疫性疾病的发病关系密切。
- (7) 多数自身免疫性疾病易发于女性, 且患者中老年人比例高于青少年。
- (8) 患者常同时罹患两种或两种以上自身免疫性疾病。
- (9) 应用肾上腺皮质激素等免疫抑制剂治疗具有一定疗效。
- (10) 在某些实验动物中经免疫相关抗原、输注自身抗体或者输注自身免疫性 T 细胞可复

制出相似的疾病动物模型。

自身免疫性疾病大多伴有特征性的自身抗体谱。自身免疫性疾病的患者，其血清或其他体液中通常可检测到一种或多种高滴度的自身抗体，为自身免疫性疾病的诊断提供非常有价值的依据。

（三）自身抗体

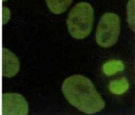
1. 自身抗体及其分类

机体自身免疫应答中，由B淋巴细胞产生的针对自身成分的抗体，称为自身抗体（autoantibodies）。自身抗体分为生理性自身抗体和病理性自身抗体。生理性自身抗体的存在非常普遍，能对机体提供早期的先天免疫保护，清除体内死亡或凋亡的细胞碎片而去除可能的自身抗原。通常这种自然产生的生理性自身抗体，多为低滴度、低亲和力的IgM型自身抗体；病理性自身免疫应答中产生的自身抗体，会以各种方式介导或者参与对自身组织的损伤，引发自身免疫性疾病。

自身抗体有多种分类方法。例如，按照自身抗原在体内的分布不同，可分为器官/组织特异性自身抗体和非器官/组织特异性自身抗体；根据自身免疫性疾病累及的组织和器官的不同，可分为抗核抗体谱（结缔组织病）、抗中性粒细胞胞质抗体谱（ANCA相关性血管炎）、抗磷脂抗体谱（抗磷脂综合征）、自身免疫性肝病抗体谱（自身免疫性肝病）、神经系统疾病抗体谱（自身免疫性脑病）及自身免疫性肾脏病抗体谱等；按照检测自身抗体所用检测基质的不同，可分为细胞抗体（以细胞为检测基质，如用HEp-2细胞所检测的抗核抗体）及组织抗体[以动物组织切片为检测基质，如用心肌所检测的抗心肌抗体（AHA）]，细胞抗体还可分为细胞非特异性自身抗体（如抗核抗体等）和细胞特异性自身抗体（如抗中性粒细胞胞质抗体、抗红细胞抗体及抗淋巴细胞抗体等）。另外，还有抗血清成分自身抗体，如类风湿因子等。

2. 自身抗体检测的临床意义

自身抗体是自身免疫性疾病的重要标志。患者血清或其他体液中检测到高滴度的自身抗体，是临床诊断自身免疫性疾病的重要依据。自身抗体的检测不仅有助于自身免疫性疾病的诊断和鉴别诊断，而且对于判断疾病活动程度、观察治疗效果、指导临床用药和判断疾病预后都具有重要的临床意义。自身抗体检测技术的发展极大地促进了对自身免疫性疾病的科学研究，包括对免疫病理机制的研究、流行病学规律的研究和治疗方案的探索。随着人们对自身免疫性疾病认识的深入，很多自身抗体的检测已被逐步纳入自身免疫性疾病的诊断标准中，如抗双链DNA（dsDNA）抗体主要针对系统性红斑狼疮（systemic lupus erythematosus, SLE）、抗环瓜氨酸肽（CCP）抗体主要针对类风湿关节炎（rheumatoid arthritis, RA）等。另外，有些自身抗体在疾病症状出现前几年就已经出现甚至升高，对疾病诊断具有重要的预测价值。



二、系统性自身免疫性疾病

目前自身免疫性疾病尚无统一的分类标准，常见的是按疾病累及的组织/系统分类，或者按病变组织涉及的范围分类。

按疾病累及的组织/系统分类，自身免疫性疾病的分类及疾病举例见表1-1。

表 1-1 自身免疫性疾病的分类及疾病举例

受累组织/系统	自身免疫性疾病举例
结缔组织	系统性红斑狼疮、类风湿关节炎、干燥综合征等
消化系统	自身免疫性肝炎、麸质敏感性肠病、慢性炎症性肠病等
内分泌系统	1型糖尿病、弥漫性毒性甲状腺肿（格雷夫斯病）、自身免疫性多内分泌腺综合征等
神经肌肉	副肿瘤性神经系统综合征、自身免疫性脑炎、重症肌无力等
肾脏	肺出血-肾炎综合征、原发性膜性肾小球肾炎等
皮肤	寻常型天疱疮、落叶型天疱疮、大疱性类天疱疮等
血液系统	自身免疫性溶血性贫血、特发性血小板减少性紫癜、特发性白细胞减少症等
心血管系统	风湿性心脏病、心肌炎等
眼	自身免疫性眼病等
生殖系统	自身免疫性不孕不育等

按病变组织涉及的范围分类，可分为器官特异性自身免疫性疾病和非器官特异性自身免疫性疾病。

（1）器官特异性自身免疫性疾病。病变局限于某一特定组织或器官，可检出针对该组织的自身抗体或自身反应性淋巴细胞，包括1型糖尿病、自身免疫性肝炎等。

（2）非器官特异性自身免疫性疾病。又称全身性或系统性自身免疫性疾病，病变多涉及多种器官及结缔组织，故这类疾病以前也被称为结缔组织病或胶原病，如SLE、RA等。

自身免疫性疾病因其累及的组织和器官不同、损伤程度和功能障碍的程度不同，临床表现复杂多样，其临床诊断的要求很高。自身抗体作为其重要的血清学指标，对辅助诊断和鉴别诊断、判断病情和预后都有重要的价值。

(一) 风湿病

风湿病（rheumatism）是一组以侵犯关节、骨骼、肌肉、血管及有关软组织或结缔组织为主的疾病，其中多数为自身免疫性疾病。发病多较隐蔽而缓慢，病程较长，且大多具有遗传倾向。自身抗体检测在自身免疫性风湿病中有着非常重要的应用价值。

1. 系统性红斑狼疮

依据系统性红斑狼疮国际协作组（SLICC）在最近的美国风湿病学会（ACR）大会上公布的ACR-SLE分类标准的修订版，SLE的临床表现主要包括急性或亚急性皮肤型狼疮，慢性皮肤型狼疮，口腔或鼻咽部溃疡，非瘢痕形成引起的脱发，炎性滑膜炎（两个或两个以上肿胀关节或者伴有晨僵的压痛关节），浆膜炎，肾脏病变（尿蛋白/肌酐异常，或24小时尿蛋白量超过500mg，或红细胞管型），神经系统病变（癫痫发作、精神异常、多发性单神经炎、脊髓炎、外周或脑神经病、脑炎），溶血性贫血，白细胞减少或淋巴细胞减少，血小板减少。

SLE的免疫学标准包括抗核抗体高于实验室正常参考值范围，尤其是抗dsDNA抗体高于实验室参考范围，还有抗Sm抗体、抗磷脂抗体、低补体（包括低C3、低C4、低CH50）和直接Coombs试验阳性（非溶血性贫血状态）。SLE常见的自身抗体及其阳性率见表1-2。

表 1-2 系统性红斑狼疮常见的自身抗体及其阳性率

靶抗原	阳性率
双链 DNA	60% ~ 90%
单链 DNA	70% ~ 95%
RNA	50%
核小体	40% ~ 70%
组蛋白	30% ~ 70%
U ₁ RNP	30% ~ 40%
Sm	5% ~ 40%
SSA（Ro-60）	20% ~ 60%
SSB（La）	10% ~ 20%
增殖性细胞核抗原（PCNA）	3%
Ku	10%
核糖体核糖核蛋白（rRNP）	10%
热休克蛋白 90（Hsp90）	50%
心磷脂	40% ~ 60%