

表3 胰腺癌与慢性胰腺炎的灵敏度、特异性及正确率鉴别诊断

	CA19-9 (37U/ml)	CEA (15ng/ml)	Elastase-1 (400ng/100ml)
灵敏度 ¹⁾	82%	69%	65%
特异性 ²⁾	88%	76%	35%
正确率 ³⁾	84%	71%	57%

1)51例胰腺癌的阳性率。

2)17例慢性胰腺炎的阴性率。

3)68例中胰腺癌的阳性数与慢性胰腺炎的阴性数之和所占的百分比。

CA19-9为临床上非常有价值的胰腺癌肿瘤标志,但在51例中也有9例小胰腺癌在界线值以下,9例中4例肿瘤直径小于2cm。然而,也有1例肿瘤直径虽在6cm以上,但CA19-9值仅有6U/ml处于界线值之下的。

胰腺癌患者CA19-9值也有不增高的,故单用一种肿瘤标志诊断可能漏诊,为了提高诊断率,建议多种肿瘤标志综合分析检查。

尽管如此,CA19-9作为胰腺癌的肿瘤标志,目前比其他任何肿瘤标志都有价值,今后再结合病理组织的分型、对胰液、腹水的动态

观察,其应用价值将还会有进一步的提高。

参 考 文 献

1. Koprowski II et al: Somat Cell Genet 5:957, 1979.
2. Herlyn M et al: Proc Natl Acad Sci USA 76:1438, 1979.
3. Del Villano BC et al: Clin Chem 29:549, 1983.
4. 阪原晴海,他:核医学 21:273,1984.
5. 真坂美智子,他:核医学 22:85,1985.
6. Herlyn M et al: J Clin Immunol 2:135, 1982.
7. 石井胜: Radioisotopes 33:725, 1984.
8. 铃木敞,他:医学のあゆみ 127:8,1983.
9. 本间达二,他:诊断と治疗 72:64,1984.
10. 阪原晴海,他:核医学 22:115,1985.
11. 有吉宽,他:医学のあゆみ 125:918, 1983.
12. 登谷大修,他:内科 53:624,1984.
13. 古川信,他:日本消化系外科会志 16:936, 1983.
14. 服部信:诊断と治疗 72:49,1984.
15. 真坂美智子,他: Radioisotopes 32:633, 1983.

Graves'病患者血清TSH受体抗体的测定方法及其临床意义

上海医科大学核医学研究所 华山医院临床核医学研究室

路超综述 林祥通 张永令*审

Graves'病是临床上甲状腺功能亢进症中最常见的一种。近十多年的研究认为,Graves'病可能与免疫调节功能异常、机体内发生自身免疫反应有关。1956年,Adams和Purves在患者血清中发现一种比促甲状腺素(TSH)效应持续长,称之为长效甲状腺刺激物(LATS)的异常物质。现已知道,LATS及其类似物是一类多克隆自身TSH受体抗体,具有一般IgG的理化性质和本身特殊的生物活性,与相应抗原——甲状腺滤泡上皮细胞膜上TSH受体结

合后主要引起细胞的活化。

测定患者血清TSH受体抗体(TRAbs)的方法最初是应用McKenzie生物法^[1],以后又发展了放射受体分析法^[2]、细胞化学生物法^[3]以及测定cAMP含量变化^[4]等,种类繁多。由于各作者实验方法、观察项目的不同,他们引进了不同的名称代表所测的TRAbs,如LATS、LATS-保护物、TSAb、TSI、TBII等^[5~9]。本文暂以TRAbs为总称,初步讨论其测定方法及临床应用。

* 中国医科大学附一院

一、TSH受体抗体的测定方法

(一)LATS和LATS-P测定

1. LATS测定:多采用1958年建立的经典McKenzie生物法^[1],基本原理是先造成小鼠体内的低碘状态,再注射 Na^{131}I 及甲状腺素(T_4)。 T_4 用以封闭内源性TSH分泌,以后每天注射一次,数天后抽取血标本。抽血后立即从尾静脉注入待测样品,隔一定时间后再抽血,对比前后两次血标本中放射性碘的含量,计算反应指数。以正常人血清IgG作对照,判断患者血清IgG的活性。具有阳性反应的IgG称为LATS。

2. LATS-P测定:测定方法基本与LATS相同^[5],差别在于LATS-P测定时,待测样品注入小鼠体内前,先与人甲状腺膜一起温育。温育时加入标准LATS,观察待测样品对甲状腺膜中和LATS的抵抗力,判断有无LATS-P活性。

Graves'患者中,约50%呈LATS阳性^[10,11],80~90%呈LATS-P阳性;LATS阴性的患者中几乎都有LATS-P的阳性结果^[10]。

在LATS和LATS-P的研究过程中,有不少的改良方法,如用 T_3 代替 T_4 ^[12,13],将小鼠处死取出甲状腺组织与待测样品培养,测定放射性碘或甲状腺素的释放等。生物法体内测定TRAbs活性能较为准确地反映其生物活性,但由于操作复杂,临床常规应用有一定困难。

(二)利用cAMP含量变化测定活性

1. 细胞培养:kasagi等人^[8]用人甲状腺腺瘤细胞体外培养,2天后移入Hank氏液与甲状腺刺激物(TSH或TRAbs)一起温育,2小时后测定细胞内和培养液中的cAMP含量。用牛TSH当量(bTSH eq.)表示刺激活性。以正常血清IgG为对照判断待测IgG,阳性者称人甲状腺刺激物(HTS)。在未经治疗的Graves'患者中,约82%呈现HTS阳性结果。

2. 组织切片培养:这种方法是将手术得到的甲状腺周围正常组织部分切成2mm厚的切片^[12,13],在Krebs-Ringer-碳酸氢盐缓冲液

中培养,培养液中加入磷酸二酯酶抑制剂等与待测样品一起温育,2小时后提取并测量cAMP。阳性IgG称为甲状腺刺激免疫球蛋白(TSI)^[9]。

3. 细胞膜制剂培养:常用的Orgiazzi法是利用甲状腺细胞膜测定TRAb刺激腺苷酸环化酶的活性^[4]。将甲状腺的手术标本匀浆,离心制成膜粗制剂,与待测样品一起温育,终止反应后抽提及测定cAMP。以正常血清IgG作为对照,阳性IgG称为人甲状腺腺苷环化酶刺激物(HTACS)^[4,7,8]。

有人比较了用细胞培养和膜制剂所得到的阳性结果(即HTS与HTACS),发现二者测定结果具有良好的相关性,HTS比HTACS的检出率高^[8]。

(三)细胞化学生物法(CBA)

细胞化学生物法是由Bitensky等人创立的^[8],利用豚鼠甲状腺组织体外培养测定TSH含量和TRAbs刺激活性。其原理如下:TSH或TRAbs与甲状腺滤泡上皮细胞膜的TSH受体结合后,可引起细胞内溶酶体的膜通透性增加,此时如加入亮氨酸- β -萘酰氨酶的产色底物亮氨酸- β -萘酰氨,底物进入溶酶体内受酶作用而分解,一定时间后用显微光密度仪测定细胞内的光密度变化,判断刺激活性。CBA具有极高的灵敏度,是目前所有测定方法中最灵敏的一种。如测定TSH含量,灵敏度比用放免测定的还高,二者具有良好的相关性。通过反应时间的控制可将TSH与TRAbs的刺激作用区分开来。有人测一组(56人)甲状腺功能亢进症患者,100%的患者血清呈阳性结果^[14,15]。

虽然CBA灵敏度高,但由于操作复杂,有一定的设备要求,目前仅在个别实验室建立了此法,推广应用困难很大。

(四)放射受体分析法(RRA)

放射受体分析法测定TRAbs是根据这些抗体可以抑制TSH与其受体结合的原理设计的^[2],方法学的建立始于七十年代中期,在Smith等人工作的推动下,很快推广应用到临床。RRA是将手术得到的甲状腺组织制成细胞

膜粗制剂, 然后与待测IgG或标准 TSH、标记 TSH一起温育, 终止反应后测定标记 TSH 结合率。以正常血清IgG作对照, 观察患者血清IgG对标记TSH结合的抑制活性。

甲状腺组织来源除Graves'患者手术标本外, 亦可用尸检标本和甲状腺腺瘤周围正常组织, 作TRAbs测定时, 所得结果没有明显差别^[2, 16]。

RRA所测出的TRAbs具有抑制标记TSH与其受体结合活性的IgG, 但并不说明这些抗体一定具有刺激活性。因此, 有人建议用TSH结合抑制免疫球蛋白(TBII)命名所检出的异常IgG, 或用TSH结合抑制指数(TBI指数)、TSH置换活力(TDA)表示其生物活性^[7, 9, 16~19], 而不采用本法建立初期时所给予的名称, 即甲状腺刺激免疫球蛋白(TSI)^[2, 20]。在未经治疗的Graves'患者中, 70~95%可以显示阳性结果^[2, 18, 21], 亦有100%阳性率的报道^[20]。可见, RRA法也具有较高的灵敏度。

二、几种测定指标的比较

除以上四大类基本测定方法外, 检测TRAbs还有不少其它方法, 如免疫沉淀法、计数甲状腺组织切片细胞内胶质小滴的数目等^[6, 13, 22]。由于目前方法学仍在不断的研究和发展, 无法对检测出的TRAbs进行统一的命名, 本文暂以LATS、LATS-P代表McKenzie生物法, TSAb代表细胞化学生物法和cAMP含量变化, TBII代表RRA所测出的异常TRAbs, 用以比较各测定指标之间的差别及在甲亢治疗、预测病情中的应用。

LATS、LATS-P、TSAb及TBII之间的关系至今还不清楚。应用放射受体分析法测定结果有时在同一组病人中会出现与cAMP测定的刺激活性相分离的现象^[11], 原因虽然是多方面的, 但TRAbs本身的多形性可能是主要原因。在这些抗体中, 不同克隆抗体可能显示不同的结合——刺激剂量依赖关系^[13, 19]。对于TBII阳性、TSAb阴性的患者, 不能排除有封

闭型抗体的存在。封闭型抗体与TSH受体结合后, 不是活化腺苷环化酶系统, 而是封闭TSH受体, 使甲状腺细胞不能得到有效的刺激, 合成及分泌甲状腺素的能力下降。桥本氏甲状腺炎的甲状腺机能减退症可能与此类抗体的存在有关^[7, 22, 23]。虽然在TBII测定中, 正常IgG也可能出现一定的干扰^[17], 但这些封闭型抗体并非属于这种正常IgG的非特异性干扰, 而是直接封闭在TSH的受体上^[23]。对于TBII阴性、TSAb阳性的情况, 尚无满意的解释。有人^[26]用自身甲状腺测定TBII, 结果显示并非所有TBII对自身甲状腺都有较高的亲合力。用6例Graves'患者的血清IgG和甲状腺细胞作交叉结合试验, 4例患者IgG呈TBII自身阳性, 另外2例虽然对自身甲状腺无TSH结合抑制作用, 但可在他人甲状腺标本上显示TBII阳性。用编号6的腺体组织实验, 仅有一个强阳性TBII可以抑制标记TSH的结合, 其它5例(包括自身)的IgG均无抑制作用。所以, 对TBII测定阴性的患者, 并不能完全排除体内存在有TBII, 以及TBII对甲状腺的刺激或抑制活性。

虽然LATS阳性患者的IgG可以抑制TSH与其受体的结合^[20], 但LATS与TBII之间是否存在相关性的报道还不一致^[7, 11, 2]。(如比较二者均阳性的患者, 则LATS反应与TBII活性之间有显著相关^[19]。)由于LATS检出率较其它测定方法低, 起初人们将这种现象解释为TRAbs的种属特异性^[11], 即在人体内存在有种属特异性和非特异性两类受体抗体。有人用甲状腺切片作体外实验, 结果与LATS-P一致^[6], 而不与LATS有相关性^[13], 似乎支持种属特异性的说法。随着方法学的改进, 对TRAbs是否存在种属特异性仍有争论。用人和其它动物(豚鼠、牛、狗、猪、鼠)的甲状腺细胞膜作RRA测定TBII, 发现人和其它动物的膜制剂的TBII反应有显著的相关性^[19, 25]。另外, 应用细胞化学生物法、 T_3 释放和cAMP生成在动物甲状腺组织上实验, 均可获得较高的阳性率^[22]。

三、TSH受体抗体与甲状腺功能的关系

TRAbs存在于大多数Graves'患者的血清中,这些抗体与患者的临床表现、甲状腺功能等的关系自然成为人们的研究重点之一。不少实验结果显示TBII与体内血清 T_4 浓度无相关性^[7,16,20]与甲状腺早期放射性碘摄取率有明显相关^[16,20],TSAb和TBII均与24小时摄取率不相关^[11,25]。TBII与甲状腺早期^{99m}Tc摄取率、TSAb与 T_3 、 T_4 含量的关系,各家报道尚不一致。因此,在无条件进行TRAbs测定时,可考虑参考早期放射性碘摄取率大致估计患者体内TRAbs的水平。

TBII与其它自身抗体,如甲状腺球蛋白抗体和微粒体抗体之间尚未发现有相关性^[2,7,21],但与甲状腺滤泡上皮细胞的增生有一定的相关性^[7]。研究发现在Graves'患者血清中存在一种甲状腺刺激生长免疫球蛋白(TGI)^[26,27],它可使滤泡上皮细胞NADPH生成增多、DNA合成增加,后者与甲状腺肿大程度有一定相关性。TGI与TBII、TSAb之间的关系还不明确,可能是TRAbs中的不同克隆株。

四、TSH受体抗体测定在治疗中的应用

目前,Graves'病的治疗常用抗甲状腺药物、放射性碘和手术治疗。在患者治疗过程中,TRAbs的变化是非常明显的,所以检测TRAbs的变化可指导临床的治疗工作。

由于手术治疗患者往往经过术前准备,已控制甲亢症状,所以难以分析单纯手术切除甲状腺对TRAbs的影响。一般说来,术后患者TRAbs活性是逐渐下降的,大多数可恢复正常^[22]。

(一)抗甲状腺药物治疗

抗甲状腺药物体内吸收后在甲状腺局部聚集浓度较大,抑制甲状腺素的合成,缓解症状。在治疗过程中,TBII和TSAb活性都有明显下降,痊愈者大多都可降到正常水平^[21,25,28]。

对TRAbs的合成环节目前还不清楚。间接的证据表明可能主要在甲状腺的淋巴细胞^[29]。抗甲状腺药物,如甲亢平在局部通过巨噬细胞处理抗原的作用发挥免疫抑制效应^[22]。McGregor^[28]等人用甲亢平、心得安和安慰剂治疗Graves'患者。8周后,仅甲亢平治疗组TRAbs活性有明显下降;用淋巴细胞作体外培养,发现他巴唑可抑制淋巴细胞的抗体生成,心得安无此作用。从而推论抗甲状腺药物可在局部直接或间接地抑制TRAbs的合成。但对在治疗过程中,TRAbs活性无明显改变的还没有满意的解释。

(二)放射性碘(¹³¹I)治疗

甲状腺细胞摄取¹³¹I后,在射线作用下,滤泡上皮细胞死亡,产生甲状腺素细胞的数目减少,甲亢症状得到一定的控制。临床上¹³¹I治疗的早期多伴有TBII和TSAb的活性增高,以后逐渐下降,约在一年后恢复到正常水平。治疗的疗效与TRAbs的活性变化有一定的相关性,凡治疗前抗体阳性,或治疗中抗体活性升高的患者大多数可在三个月内控制甲亢症状,但继发甲状腺功能减退的发病率也较高^[30]。

¹³¹I治疗引起TRAbs活性增高的机理还不清楚。原因可能是多方面的,如甲状腺的放射损伤使过多的抗原释放,射线对淋巴细胞作用等而使TRAbs合成增加^[25]。这种增加约在3个月时达高峰,以后逐渐下降^[22,29]。

五、TSH受体抗体测定用于病情预测

TRAbs活性测定对于Graves'病治疗后病情发展的预测很有帮助。治疗后,如能达到痊愈,大多数患者血清中测不出TRAbs活性。

经抗甲状腺药物治疗控制症状后,如果TRAbs活性较高,停药后往往在短期内复发^[11];而对于TRAbs较低或测不出者,复发的可能性较小。疾病复发,多伴有TRAbs活性的回升。复发组与不复发组相比,停药时TRAbs水平有显著性差别。所以,测定TRAbs活性有助于鉴定甲亢是否痊愈及判断病情发展^[13,25,31]。

Graves'患者作甲状腺部分切除后,如果 TRAbs水平仍较高,多数有甲亢复发^[22]

总之, TRAbs的测定对于甲状腺功能亢进症的诊断、鉴别诊断、治疗、随访及病情预测等方面都具有非常重要的意义。如果配合 HLA的测定,预测病情复发与否可达95%以上的准确性^[31]。

参 考 文 献

1. McKenzie J M; Endocrinol 63 : 372, 1958.
2. Smith B R et al; Lancet II : 427, 1974.
3. Bitensky L et al; Clin Endocrinol 3 : 363, 1974.
4. Orgiazzi JDE et al; J Clin Endocrinol Metab 42 : 341, 1976.
5. Adams DD et al; ibid 27 : 173, 1967.
6. Shishiba Y et al; ibid 36 : 517, 1973.
7. Endo K et al; ibid 46 : 734, 1978.
8. Kasagi K et al; ibid 54 : 108, 1982.
9. 冷松、黄葆钧等; 中山医学院学报 4 : 1, 1983.
10. 赵武述、王世中; 国外医学 内分泌学分册 3 : 121, 1983.
11. Macchia E et al; Clin Endocrinol 15 : 175, 1982.
12. McKenzie JM et al; J Clin Endocrinol Metab 42 : 778, 1976.
13. Onaya T et al; ibid 36 : 859, 1973.
14. Petersen VB et al; ibid 41 : 199, 1975.
15. Smyth PPA et al; ibid 54 : 357, 1982.
16. 徐登仁、林祥通等; 上海医学 5 : 630, 1982.
17. Beall GN et al; J Clin Endocrinol Metab 47 : 967, 1978.
18. Borges M et al; ibid 54 : 552, 1982.
19. Shishiba Y et al; ibid 54 : 858, 1982.
20. Mukhtar ED et al; Lancet I : 713, 1975.
21. Gossage AAR et al; Clin Endocrinol 19 : 97, 1983.
22. Hall R et al; In " Proceedings of the International Symposium on Hormone Receptors and Receptor Diseases." Kyoto, Japan. P.71 Eds. Imura H & Kuzuya H, 1983.
23. Konishi J et al; ibid P.79, 1983.
24. Gossage AAR et al; Clin Endocrinol 14 : 301, 1981.
25. Bech K et al; ibid 13 : 417, 1980.
26. Drexhage HA et al; Lancet II : 287, 1980.
27. Drexhage HA et al; Clin Endocrinol 16 : 49, 1982.
28. McGregor AM et al; N Engl J Med 303 : 302, 1980.
29. Smith BR et al; In " Hormones in Normal and Abnormal Human Tissue II." Ed. Fotherby K. P.519 Berlin-New York, 1981.
30. McGregor AM et al; Clin Endocrinol 11 : 437, 1979.
31. McGregor AM et al; Lancet I : 1101, 1980.

使用放射性核素标记抗体诊断及治疗新生物

Deland FH et al; Semin Nucl Med 15(1): 2~11, 1985(英文)

Korngold和 Pressman 借助放射性核素标记抗体证明从实验动物制备的抗特异性动物肿瘤抗体含有肿瘤摄取的抗体。1957年, Pressman 等证明放射性碘标记抗体可供动物诊断应用,并且放射性核素显象可以定位摄取抗体之肿瘤。以后, Bale等证明肿瘤定位(tumor-localizing)抗体借助于自身的放射性可用作实验新生物的治疗剂。本文目的是复习放射

性标记抗肿瘤相关抗原或产物抗体在放射免疫探查(RAID)应用中的一些经验。

材 料 和 方 法

迄今,作者使用抗癌胚抗原(CEA)、结肠特异性抗原(CSAp)、甲胎蛋白(AFP)、绒毛膜促性腺激素(HCG)、前列腺酸性磷酸酶(PAP)抗体诊断各种肿瘤已超过500次。若已