

## ·论著·

## 人血清 TRAb 酶联免疫吸附试验检测在甲状腺疾病患者中的临床应用

白庆双 李宁 方佩华 吴彩兰 葛建萍 张伟

**【摘要】目的** 探讨促甲状腺激素受体抗体(TRAb)水平对健康人和不同甲状腺疾病患者的临床意义。**方法** 分别以重组人促甲状腺激素受体(TSHR)膜外区氨基(N)端蛋白和羧基(C)端蛋白作为抗原建立 N 法和 C 法,分别检测 89 名健康者(正常对照组)和 254 例各种甲状腺疾病患者的血清 TRAb 水平,组间血清 TRAb 水平比较采用方差分析,组间阳性率比较采用 $\chi^2$ 检验。**结果** 应用 N 法检测发现:89 名健康者 405 nm 处的光吸收值( $\bar{x} \pm s$ )为  $0.511 \pm 0.135$ ,阳性切限值( $\bar{x} + 2s$ )为 0.789,阳性率为 4.5%(4/89);初发 Graves 病(毒性弥漫性甲状腺肿)患者及 Hashimoto 甲状腺炎伴甲状腺功能减退症(简称甲减)患者 405 nm 处的光吸收值( $\bar{x} \pm s$ )分别为:  $0.95 \pm 0.30$ 、 $0.61 \pm 0.22$ ,高于健康者( $F=2.4851$  和  $2.0763$ ,  $P$  均  $<0.05$ );N 法对初发 Graves 病患者、治疗中的 Graves 病患者、Graves 病治疗恢复期患者、Hashimoto 甲状腺炎伴甲减患者检测的阳性率分别为 73.2%、55.9%、32.1%、45.0%,与正常对照组阳性率之间的差异均有统计学意义( $\chi^2=68.55$ 、56.45、20.71 和 25.51,  $P$  均  $<0.05$ );初发 Graves 病患者阳性检出率高于 Hashimoto 甲状腺炎伴甲减患者 ( $\chi^2=4.63$ ,  $P<0.05$ ),初发 Graves 病患者与 Graves 病治疗恢复期患者阳性率之间的差异有统计学意义 ( $\chi^2=15.94$ ,  $P<0.05$ )。应用 C 法检测发现:89 名健康者 405 nm 处的光吸收值 ( $\bar{x} \pm s$ ) 为  $0.507 \pm 0.142$ ,阳性切限值 ( $\bar{x} + 2s$ ) 为 0.791,阳性率为 3.4%(3/89);Hashimoto 甲状腺炎伴甲减患者及初发 Graves 病患者 405 nm 处的光吸收值( $\bar{x} \pm s$ )为  $1.18 \pm 0.25$ 、 $0.78 \pm 0.25$ ,明显高于健康者( $F=3.8164$  和  $2.4539$ ,  $P<0.05$ );C 法对 Hashimoto 甲状腺炎伴甲减患者、初发 Graves 病患者、治疗中的 Graves 病患者、Graves 病治疗恢复期患者检测的阳性率分别为:75.0%、46.3%、23.6%、16.1%,与正常对照组阳性率之间的差异均有统计学意义 ( $\chi^2=66.34$ 、36.87、15.79 和 7.30,  $P$  均  $<0.05$ );Hashimoto 甲状腺炎伴甲减患者阳性检出率明显高于其他患者( $\chi^2=4.48$ 、19.70 和 23.68,  $P$  均  $<0.05$ )。**结论** 应用 N 法和 C 法检测 Graves 病和 Hashimoto 患者血清 TRAb 水平均有重要意义,可用于临床 Graves 病和 Hashimoto 甲状腺炎伴甲减患者的诊断、治疗及疗效的评估。

**【关键词】** 受体,促甲状腺素释放激素;酶联免疫吸附测定;甲状腺疾病

**The clinical application of human serum level of the TRAb measured by enzyme-linked immunosorbent assay in patients with thyroid diseases** Bai Qingshuang\*, Li Ning, Fang Peihua, Wu Cailan, Ge Jianping, Zhang Wei. \*Department of Nuclear Medicine, the Fourth Central Hospital Clinical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300140, China

Corresponding author: Bai Qingshuang, Email: bqsh2006@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the level of the thyrotropin receptor antibody (TRAb) in healthy people and patients with different types of thyroid disease, and discuss its clinical significance. **Methods** Recombinant human thyroid stimulating hormone receptor (TSHR)-ecd N-terminal fragment was used in N method and C-terminal fragment was used in C method as antigens respectively. The serum level of TRAb was measured in 89 healthy people and 254 patients with different types of thyroid disease respectively. The serum levels of TRAb comparison and positive rates comparison between groups were tested by analysis of variance and chi-square test respectively. **Results** The result of N method: the 405 nm light absorption value ( $\bar{x} \pm s$ ) in healthy people was  $0.511 \pm 0.135$  with a cut-off value ( $\bar{x} + 2s$ ) of 0.789.

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2014.02.003

基金项目:天津市科技发展计划项目(05YFGDSF02700)

作者单位:300140,天津医科大学第四中心医院临床学院核医学科(白庆双,吴彩兰,葛建萍,张伟);300052,天津医科大学总医院核医学科(李宁,方佩华)

通信作者:白庆双(Email: bqsh2006@163.com)

The positive rate was 4.5% (4/89). The 405 nm light absorption value ( $\bar{x} \pm s$ ) in patients with incipient Graves (diffuse toxic goiter) and Hashimoto thyroiditis with hypothyroidism was  $0.95 \pm 0.30$ ,  $0.61 \pm 0.22$  respectively, which was higher than that in healthy people ( $F=2.4851$  and  $2.0763$ , both  $P<0.05$ ). The positive rate in incipient Graves disease, Graves disease with treatment, Graves disease patients in convalescence stage and Hashimoto thyroiditis with hypothyroidism was 73.2%, 55.9%, 32.1%, 45.0%, respectively. There were significant differences between the above groups and the normal control group ( $\chi^2=68.55$ , 56.45, 20.71 and 25.51, all  $P<0.05$ ). The positive rate was significantly higher in incipient Graves disease patients than Hashimoto thyroiditis with hypothyroidism patients ( $\chi^2=4.63$ ,  $P<0.05$ ). There was significant difference in the positive rate between incipient Graves disease and Graves disease patients in convalescence stage ( $\chi^2=15.94$ ,  $P<0.05$ ). The result of C method: the 405 nm light absorption value ( $\bar{x} \pm s$ ) in healthy people was  $0.507 \pm 0.142$  with a cut-off value ( $\bar{x} + 2s$ ) of 0.791. The positive rate was 3.4% (3/89). The 405 nm light absorption value ( $\bar{x} \pm s$ ) in Hashimoto thyroiditis with hypothyroidism patients and incipient Graves disease patients was  $1.18 \pm 0.25$ ,  $0.78 \pm 0.25$ , respectively, which was significantly higher than that in healthy people ( $F=3.8164$ ,  $2.4539$ ,  $P<0.05$ ). The positive rate in Hashimoto thyroiditis with hypothyroidism, incipient Graves disease, Graves disease with treatment, Graves disease patients in convalescence stage was 75.0%, 46.3%, 23.6%, 16.1%, respectively. There were significant differences among the above groups and the normal control group ( $\chi^2=66.34$ , 36.87, 15.79, 7.30, all  $P<0.05$ ). The positive rate was significantly higher in Hashimoto thyroiditis with hypothyroidism than other groups ( $\chi^2=4.48$ , 19.70, 23.68, all  $P<0.05$ ). **Conclusions** The N method and C method had important significance for detecting the serum level of TRAb in Graves disease and Hashimoto thyroiditis with hypothyroidism. It may be used in clinical diagnosis, treatment and curative effect evaluation for Graves disease and Hashimoto thyroiditis with hypothyroidism.

**【Key words】** Receptor, thyrotropin-releasing hormone; Enzyme-linked immunosorbent assay; Thyroid diseases

自身免疫性甲状腺疾病 (autoimmune thyroid disease, AITD) 是器官特异性自身免疫疾病中的一种, 其发病机制比较复杂。促甲状腺激素受体抗体 (thyrotropin receptor antibody, TRAb) 是一种甲状腺自身抗体, TRAb 中包括两种抗体, 即甲状腺刺激性抗体 (thyroid stimulating antibody, TSAb) 和甲状腺刺激阻断性抗体 (thyroid stimulation blocking antibody, TSBAb)。TSAb 和 TSBAb 的抗原决定簇分别位于 TSH 受体膜外区的氨基(N)端和羧基(C)端<sup>[1]</sup>。传统方法检测到的 TRAb 仅能反映有针对 TSH 受体的自身抗体存在, 不能反映这种抗体的功能。而本研究应用 N 法和 C 法检测 TRAb 的两种抗体, 对 AITD 的诊疗及预后评价有着显著意义。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

选取 2012 年 11 月至 2013 年 6 月在天津市第四中心医院行常规健康检查的 89 名健康者为正常对照组, 89 人均无肝肾功能异常, 无糖尿病、高血压、高血脂等疾病, 无甲状腺疾病史及家族史, 无其他自身免疫性疾病史, 年龄 26~77 岁, 其中,

男性 40 名、女性 49 名。另选取 254 例于 2012 年 11 月至 2013 年 6 月在天津市第四中心医院就诊的患者作为病例组, 其中 Hashimoto 甲状腺炎伴甲状腺功能减退症 (简称甲减) 患者 20 例、初发 Graves 病患者 41 例 [有典型高代谢症状, 甲状腺弥漫性肿大, 血清甲状腺激素水平 ( $T_3$ 、游离三碘甲状腺原氨酸、 $T_4$ 、游离甲状腺素) 升高, 高灵敏 TSH 降低]、治疗中的 Graves 病患者 93 例、Graves 病治疗恢复期患者 (甲状腺功能正常) 56 例、结节性甲状腺肿患者 40 例、亚急性甲状腺炎患者 4 例。所有血清样品均于清晨空腹抽取静脉血, 分离血清获得。

### 1.2 检测方法

检测方法源于天津医科大学总医院方佩华教授课题调研组, C 法以重组人 TSH 受体膜外区 C 端片段融合蛋白作为抗原, 主要检测人血清 TSBAb, N 法以重组人 TSH 受体膜外区 N 端片段融合蛋白作为抗原, 主要检测人血清 TSAb。以上述两种重组融合蛋白作为抗原, 包被 96 孔板, 与一抗血清 (TRAb)、碱性磷酸酶标记的羊抗人免疫球蛋白 G 二抗 (美国 Sigma 公司) 结合, 通过酶联免疫吸附实验技术检测血清 TRAb 的水平。测定 405 nm 处的

光吸收值来表示 TRAb 水平。

### 1.3 统计学分析

应用 SPSS13.0 统计学软件进行统计分析。检测结果以  $\bar{x} \pm s$  表示。数值变量资料为正态分布时,应用方差分析或  $t$  检验进行组间比较,各组间阳性率差异采用  $\chi^2$  检验进行比较。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 健康者检测结果

C 法检测结果: 405 nm 处的光吸收值( $\bar{x} \pm s$ )为  $0.507 \pm 0.142$ , 阳性切限值( $\bar{x} + 2s$ )为 0.791, 阳性率为 3.4%(3/89); N 法检测结果: 405 nm 处的光吸收值( $\bar{x} \pm s$ )为  $0.511 \pm 0.135$ , 阳性切限值( $\bar{x} + 2s$ )为 0.789, 阳性率为 4.5%(4/89)。

### 2.2 各种甲状腺疾病患者检测结果

C 法检测结果: 对 Hashimoto 甲状腺炎伴甲减患者、初发 Graves 病患者、治疗中的 Graves 病患者、Graves 病治疗恢复期患者、结节性甲状腺肿患者的检测阳性率分别为 75.0%(15/20)、46.3%(19/41)、23.6%(22/93)、16.1%(9/56)、5.0%(2/40); 对 4 例亚急性甲状腺炎患者的检测均为阴性(表 1)。其中, Hashimoto 甲状腺炎伴甲减患者及初发 Graves 病患者 405 nm 处的光吸收值( $\bar{x} \pm s$ )为  $1.18 \pm 0.25$ 、 $0.78 \pm 0.25$ , 明显高于健康者 ( $F = 3.8164$  和  $2.4539$ ,  $P$  均  $< 0.05$ )。Hashimoto 甲状腺炎伴甲减患者、初发 Graves 病患者、治疗中的 Graves 病患者、Graves 病治疗恢复期患者与正常对照组阳性率之间

的差异均有统计学意义( $\chi^2 = 66.34$ 、 $36.87$ 、 $15.79$  和  $7.30$ ,  $P$  均  $< 0.05$ )。Hashimoto 甲状腺炎伴甲减患者中的阳性检出率明显高于其他患者( $\chi^2 = 4.48$ 、 $19.70$  和  $23.68$ ,  $P$  均  $< 0.05$ )。

N 法检测结果: 对初发 Graves 病患者、治疗中 Graves 病患者、Graves 病治疗恢复期(甲功正常)患者、Hashimoto 甲状腺炎伴甲减患者、结节性甲状腺肿患者的检测阳性率分别为 73.2%(30/41)、55.9%(52/93)、32.1%(18/56)、45.0%(9/20)、7.5%(3/40); 对 4 例亚急性甲状腺炎患者的检测结果均为阴性(表 1)。其中, 初发 Graves 病患者及 Hashimoto 甲状腺炎伴甲减患者 405 nm 处的光吸收值( $\bar{x} \pm s$ )分别为:  $0.95 \pm 0.30$ 、 $0.61 \pm 0.22$ , 高于健康者 ( $F = 2.4851$  和  $2.0763$ ,  $P < 0.05$ )。初发 Graves 病患者、治疗中 Graves 病患者、Graves 病治疗恢复期患者、Hashimoto 甲状腺炎患者与正常对照组阳性率之间的差异均有统计学意义( $\chi^2 = 68.55$ 、 $56.45$ 、 $20.71$  和  $25.51$ ,  $P < 0.05$ )。N 法对初发 Graves 病患者的阳性检出率高于 Hashimoto 甲状腺炎伴甲减患者( $\chi^2 = 4.63$ ,  $P < 0.05$ ), 初发 Graves 病患者与 Graves 病治疗恢复期患者阳性检出率之间的差异有统计学意义( $\chi^2 = 15.94$ ,  $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

TRAb 也称为膜受体抗体, 是直接作用于甲状腺细胞膜上 TSH 受体的抗体, 属于免疫球蛋白 G。TRAb 为多克隆抗体, 根据其与 TSH 受体结合后的效应不同分为 TSAb 和 TSBAb。TSAb 又称甲状腺刺激免疫球蛋白, 由浸润

甲状腺的淋巴细胞和引流甲状腺淋巴组织产生, 与甲状腺滤泡膜上的 TSH 受体发生特异性结合的一种自身抗体, 通过激活腺苷酸环化酶, 刺激滤泡细胞增生肥大, 诱发甲状腺肿大, 增强其功能活性, 从而导致 Graves 病的发生。TSBAb 又称甲状腺刺激阻断性免疫球蛋白, 该抗体本身无生物活性, 但同 TSH 受体结合后可阻断 TSH 和 TSAb 的作用, 可抑制甲状腺

表 1 健康者和各种甲状腺疾病患者的血清 TRAb 检测结果比较

Table 1 The comparison of serum TRAb in health people and patients with different types of thyroid diseases

组别	例数	C 法		N 法	
		$A_{405}(\bar{x} \pm s)$	阳性率(%)	$A_{405}(\bar{x} \pm s)$	阳性率(%)
正常对照组	89	$0.51 \pm 0.14$	3.4	$0.51 \pm 0.14$	4.5
病例组					
Hashimoto 甲状腺炎伴甲减患者	20	$1.18 \pm 0.25$	75.0	$0.61 \pm 0.22$	45.0
初发 Graves 病患者	41	$0.78 \pm 0.25$	46.3	$0.95 \pm 0.30$	73.2
治疗中 Graves 病患者	93	$0.61 \pm 0.19$	23.6	$0.68 \pm 0.21$	55.9
Graves 病治疗恢复期患者	56	$0.58 \pm 0.16$	16.1	$0.53 \pm 0.17$	32.1
结节性甲状腺肿患者	40	$0.42 \pm 0.11$	5.0	$0.40 \pm 0.18$	7.5
亚急性甲状腺炎患者	4	$0.39 \pm 0.15$	0	$0.32 \pm 0.05$	0

注: 表中, 甲减: 甲状腺功能减退症; C 法: 以重组人 TSH 受体膜外区羧基端片段融合蛋白作为抗原, 主要检测人血清甲状腺抑制性抗体; N 法: 以重组人 TSH 受体膜外区氨基端片段融合蛋白作为抗原, 主要检测人血清甲状腺刺激性抗体;  $A_{405}$ : 405 nm 处的光吸收值。

功能,引起甲减。临床上,一般实验室水平测定的都是 TSAb,而对 TSBAbs 的研究报道较少,据研究报道,TSBAbs 与 Hashimoto 甲状腺炎伴甲减相关<sup>[2-3]</sup>。

本研究应用两种方法同时测定健康人和不同甲状腺疾病患者血清 TRAb 水平,从而可以判断在不同状态下体内 TSAb 和 TSBAbs 两种抗体的分布,对预测疾病的转归、预后和指导用药均有重要意义。在本研究中,N 法对 Graves 病诊断的阳性率最高,尤其是对初发 Graves 病患者,其阳性率高达 73.2%,这与其他报道相吻合<sup>[4-5]</sup>。随着病情缓解,Graves 病治疗中和恢复期患者血清中的 TSAb 活性逐渐降低,但与正常对照组相比仍有显著差异,说明 Graves 病作为一种自身免疫性疾病,其免疫功能的恢复需要较长一段时间。应用抗甲状腺药物治疗时,当血液中甲状腺激素水平正常后,若 TSAb 逐渐下降,以至转阴,则停药后复发的可能性小;若治疗后 TSAb 持续阳性,则说明治疗效果欠佳,停药后复发的可能性大。许多抗甲状腺药物均有免疫抑制作用,而这种作用是一个缓慢的、持续的过程。对 Graves 病缓解的患者要持续一段较长时间的用药,道理可能就在于此。张建媛和缪蔚冰<sup>[6]</sup>应用两种方法研究证实了 TSAb 检测对 Graves 病的重要意义。

应用 C 法检测 TSBAbs 时,虽然 TSBAbs 其本身无生物学活性,但同 TSH 受体结合后可阻断 TSH 和 TSAb 的作用,从而抑制了甲状腺功能,本研究中 C 法检测 Hashimoto 伴甲减患者的阳性率高达 75.0%,初发 Graves 病患者的检测阳性率为 46.3%,随着 Graves 病病情缓解,其阳性率逐渐下降。说明在同一患者体内这两种抗体是同时存在的,并且会有一种抗体的表达占据优势。

Hashimoto 病是一种 AITD,其病理变化主要是甲状腺组织的淋巴细胞浸润,其结果是甲状腺组织受到破坏,最终常导致甲减。但是,当慢性淋巴细胞性甲状腺炎病情发展到某一阶段时,由于免疫因素等导致甲状腺滤泡破坏,滤泡内贮存的甲状腺激素释放入血液,使血液循环中的甲状腺激素浓度增高,引起甲亢症状。这种甲亢往往是一过性的,当释放入血液中的甲状腺激素代谢(消耗)完以后,甲亢症状消失。治疗上只是采用对症治疗,一般不使用抗甲状腺药物治疗。一般禁用放射性碘治疗和手术治疗。还有少数患者也可由 Hashimoto 发展为黏液性水肿,然后转化为 Graves 病,因为 Hashimoto 病、Graves

病和黏液性水肿均为 AITD,三者的发病机理相似,临床上可互相转化,目前有人认为三者属同一疾病的不同临床类型。因此患者体内的两种抗体可同时存在。Hashimoto 患者可有 Hashimoto 伴甲亢、伴甲减及甲状腺功能正常 3 种情况,周静等<sup>[8]</sup>进行了监测 TSBAbs 水平与甲状腺功能状态的相关性研究,结果发现,在 Hashimoto 伴甲减患者血清中 TSBAbs 滴度和阳性率均较高。在 Hashimoto 伴甲减患者和 Graves 病患者中 TSAb 和 TSBAbs 均有表达,说明 N 端和 C 端片段均能与 Hashimoto 伴甲减患者和 Graves 病患者血清发生特异性结合,表明这 2 个片段均有与 TSAb 和 TSBAbs 结合的位点<sup>[9]</sup>。Cho<sup>[7]</sup>认为,在甲状腺疾病患者体内,TSAb 和 TSBAbs 的含量和其与 TSH 受体的亲和力决定了其最后的生物学效应。因此,同时检测这两种抗体的水平,可及时判断患者病因及病情,协助 AITD 的诊治。

## 参 考 文 献

- [1] Schwarz-Lauer L, Chazenbalk GD, McLachlan SM, et al. Evidence for a simplified view of autoantibody interactions with the thyrotropin receptor[J]. *Thyroid*, 2002, 12(2): 115-120.
- [2] Takasu N, Yoshimura Noh J. Hashimoto's thyroiditis: TGAbs, TPOAbs, TRAbs and recovery from hypothyroidism[J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2008, 4(2): 221-237.
- [3] Gonzalez C, Hernando M, Cava F, et al. Biological variability of thyroid autoantibodies(anti-TPO and anti-Tg) in clinically and biochemically stable patients with autoimmune thyroid disease[J]. *J Clin Lab Anal*, 2002, 16(1): 37-39.
- [4] 时华凤. 甲状腺自身抗体定量检测的在临床的应用价值[J]. *中国医药指南*, 2012, 10(11): 143-144.
- [5] Giovannella L, Ceriani L, Garancini S. Evaluation of the 2nd generation radio-receptional assay for anti-TSH receptor antibodies (TRAb) in autoimmune thyroid diseases. Comparison with 1st generation and anti-thyropoxidase antibodies (AbTPO)[J]. *Q J Nucl Med*, 2001, 45(1): 115-119.
- [6] 张建媛, 缪蔚冰. 电化学发光法与放射性受体分析法检测促甲状腺激素受体抗体的对比研究[J]. *国际放射医学核医学杂志*, 2012, 36(1): 20-23.
- [7] Cho BY. Clinical applications of TSH receptor antibodies in thyroid diseases[J]. *J Korean Med Sci*, 2002, 17(3): 293-301.
- [8] 周静, 李宁, 方佩华, 等. 1085 例各种甲状腺疾病患者及正常人的血清促甲状腺受体抗体含量分析[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2010, 26(11): 959-962.
- [9] 李宁, 方佩华, 张艳丽, 等. 重组人 TSHR 片段蛋白建立人 TRAb ELISA 及临床应用[J]. *中华核医学杂志*, 2009, 29(5): 348-351.

(收稿日期: 2013-10-18)