

doi:10.3969/j.issn.1673-5013.2020.11.010

抗磷脂综合征的检测与诊断现状

于秀丽² 王晓玲^{1△} 李忠信² 丁亚辉² 孙萌² 张亚平²

1 (郑州大学第一附属医院 PICU, 河南郑州 450052)

2 (郑州安图生物工程股份有限公司, 河南郑州 450016)

[摘要]: 抗磷脂综合征 (Antiphospholipid syndrome, APS) 是一种由抗磷脂抗体 (Antiphospholipid antibody, APL) 介导的非炎症性、多系统受累的自身免疫病。APS 的诊断需要结合临床症状和实验室阳性指标, 临床上以动脉、静脉血栓形成、病态妊娠 (妊娠早期流产和中晚期死胎)、血小板减少和神经精神症状等为主要表现, 实验室检测主要有狼疮抗凝物、抗心磷脂抗体、抗 $\beta 2$ -糖蛋白 1 三个指标。特异性抗体-抗心磷脂抗体、抗 $\beta 2$ -糖蛋白 1 抗体的准确检测对于抗磷脂综合征的诊断至关重要。本文就抗磷脂综合征的致病机制、临床症状和主要抗体的检测情况展开综述。

[关键词] 抗磷脂综合征; 抗磷脂抗体; 抗心磷脂抗体; 抗 $\beta 2$ -糖蛋白 1 抗体

1 抗磷脂综合征的概述

抗磷脂综合征 (APS) 是一种由抗磷脂抗体 (APL) 介导的非炎症性、多系统受累的自身免疫病^[1], 临床上以动脉、静脉血栓形成、病态妊娠 (妊娠早期流产和中晚期死胎)^[2]、血小板减少和神经精神症状等为主要表现, 并伴有中、高滴度 APLs 阳性。APS 可分为原发性 APS、继发性 APS 和恶性 APS, 其中继发性 APS 常伴随系统性红斑狼疮 (Systemic lupus erythematosus, SLE)、干燥综合征等自身免疫性疾病, 也可伴随感染性疾病、肿瘤。恶性 APS 通常会在一周内广泛形成血栓, 累及心、肺、肾脏等 3 个及以上的脏器, 造成多器官功能障碍、衰竭, 发病迅速, 诊疗困难, 死亡率极高^[3]。

抗磷脂抗体 (APL) 是一组以磷脂或磷脂结合蛋白为靶抗原的自身抗体, 是一组异质性抗体群, 主要有狼疮抗凝物 (Lupus anticoagulant, LA)、抗心磷脂抗体 (Anticardiolipin antibody, ACL)、抗 $\beta 2$ -糖蛋白 1 抗体 (Anti- $\beta 2$ -glycoprotein 1 antibody, a $\beta 2$ -GP1)、抗磷脂酸抗体、抗磷脂酰肌醇、抗凝血

酶原 / 磷脂酰丝氨酸复合物抗体、抗膜联蛋白 A5 抗体和抗磷脂酰胆碱等^[4]。其中, 狼疮抗凝物 (LA)、抗心磷脂抗体 (ACL)、抗 $\beta 2$ -糖蛋白 1 抗体 (a $\beta 2$ -GP1) 是目前实验室临床主要检测的抗体。APS 的发病起因广泛, 引发机制尚不明确, 但有研究表明细菌和病毒感染可以诱发抗磷脂抗体的产生。

2 抗磷脂综合征诊断的标准与共识

1999 年 APS 有了初步的分类标准, 即札幌标准, 该标准在 2006 年进行了国际修订后沿用至今。依据该标准, 诊断 APS 需要至少 1 项的临床症状和至少一项的实验室阳性指标^[5]。

2.1 临床症状

① 血栓形成: 任何器官、组织发生一次以上动脉、静脉或小血管血栓;

② 妊娠丢失: 至少一次 10 周以上的不明原因、形态正常的胎儿死亡, 或三次以上不明原因的早期自发性流产 (<10 周), 或 ≤ 34 周, 子痫、先兆子痫或胎盘功能不全致胎儿早产一次;

[△]通讯作者: 王晓玲, 郑州大学第一附属医院 PICU。

2.2 实验室阳性指标

① 血浆狼疮抗凝物 LA 阳性;

② 中、高滴度 IgG/M 类 ACL (IgG 型 a-CL>40GPL; IgM 型 aCL>40MPL; 或滴度 >99 的百分位数);

③ IgG/M 类抗 β 2-糖蛋白 1 抗体阳性 (滴度 >99 的百分位数);

备注: 至少检测到 2 次阳性, 且每次间隔 12 周以上;

第 13 届国际抗磷脂抗体大会的共识中[5], 检测 ACL 和抗 β 2-糖蛋白 1 抗体, 推荐先测抗体的 IgG 和 IgM 亚型, 当两者都为阴性, 但仍然怀疑是 APS 患者, 推荐测抗体 IgA 亚型。ACL 的检测试剂推荐使用心磷脂和 β 2-糖蛋白 1 (β 2-glycoprotein 1, β 2-GPI) 两种抗原, 抗 β 2-GPI 试剂推荐使用人源 β 2-GPI 抗原, 包被板推荐使用高结合力或经 γ 射线照射后的负电荷板, 该共识为建立两种抗体的检测方法提供了参考依据。

3 抗磷脂抗体综合症的致病机制和临床表现^[7]

3.1 致病机制

血液中循环的 β 2-GPI 与细胞膜负电荷磷脂结合后, 在电荷作用下 β 2-GPI 构象发生改变, 暴露了表面的结合位点, 与抗磷脂抗体结合形成复合物, 单核细胞、内皮细胞、血小板等不同类型的细胞被激活, 内皮细胞激活后, 可释放炎症因子, 白细胞粘附增强, 引发炎症; 活化的血小板和单核细胞, 释放血栓素和组织因子, 引起凝血反应, 导致血栓形成; 妊娠主要干扰的滋养细胞和蜕膜细胞, 补体活性升高, 人体绒毛膜促性腺激素降低, 导致滋养细胞凋亡。

3.2.1 血栓形成

APS 最主要的临床症状是血栓的形成, 血栓可出现在身体的任何部位, 常见于外周血管、脑血管和心、肺、肾等脏器血管。静脉血栓的形成常发于浅表静脉和下肢深静脉, 表现为血栓性静脉炎; 动脉血栓常发于中枢神经系统, 如脑动脉; 心脏为二尖瓣和主动脉瓣, 常见有心瓣膜病变, 急、慢性心肌病, 冠心病; 肺部的主要表现为肺栓塞、肺高压和肺梗死; 肾脏多表现为肾小血管血栓, 初期表现为蛋白尿, 长期可发展为肾功能不全; 皮肤多表现为网状青斑, 也可表现为皮肤溃疡、红斑、紫癜等; 此外, APS 形成的血栓也可对眼部、肝脏和胰脏造成损害。

3.2.2 病态妊娠

APS 在产科的表现是病态妊娠, 国外流行病学研究显示, 大约 17.1%~35.4% 的 APS 妊娠患者会出现早期流产, 死胎率 6.7%~16.9%, 先兆子痫 / 严重子痫或胎功能不全者约占 10%~25%, 此外还有可能发生胎儿生长发育迟缓、胎儿窘迫和早产^[8]。研究表明, 多个抗磷脂抗体阳性时, 病态妊娠的发生概率越高, 单抗体阳性妊娠情况会相对较好^[9]; 抗体滴度 3 倍及以上是病态妊娠的危险指标之一^[10]。ACL 对 APS 的诊断具有较高的特异性, 但单纯的 ACL 抗体阳性预测病态妊娠的准确度相对较差, 且目前尚未发现 ACL 在病态妊娠中的作用^[11]; 抗 β 2-GPI 抗体阳性对病态妊娠的预测更具价值, 其原因是胎盘滋养细胞生成 β 2-GPI, 会增加 APL 的产生^[8]; 狼疮抗凝物阳性往往具有较高的妊娠期血栓发生风险^[12]。

3.2.3 血小板减少

APS 另一种重要表现是血小板减少。

4 抗磷脂综合征的主要抗体及其检测

4.1 狼疮抗凝物 LA

狼疮抗凝物 (LA) 是抗磷脂抗体谱 (狼疮抗凝物、抗心磷脂抗体、抗 β 2 糖蛋白 I 抗体) 中的抗体之一, 针对带负电荷磷脂-蛋白质复合物的免疫球蛋白, 有 IgG 和 IgM 两中亚型。最早检测于系统性红斑狼疮患者, 在体外试验中表现为凝血时间延长, 因而被称为狼疮抗凝物。LA 作用于凝血酶原复合物 (Xa、Va、Ca²⁺、磷脂) 复合物、Tenase 复合物, 抑制磷脂表面发生的凝血反应, 干扰磷脂依赖性凝血过程的发生, 导致凝血时间的延长。因而 LA 阳性患者大多提示 ACL 和抗 β 2-GPI 抗体的存在。

4.2 心磷脂与抗心磷脂抗体

心磷脂又称双磷脂酰甘油, 是在甘油的骨架上结合了一个磷酸二酯基团, 是细胞膜脂质的主要成分。抗心磷脂抗体 (ACL) 是以带负电荷的心磷脂为靶抗原的自身抗体, 主要作用于血小板和内皮细胞, 是最早发现的抗磷脂抗体之一。根据 ACL 是否出现在自身免疫性疾病中, 可以分为 β 2-GPI 依赖性抗心磷脂抗体和非 β 2-GPI 依赖性抗心磷脂抗体, 前者主要和 APS 等自身免疫性疾病相关, 后者和梅毒、艾滋病等感染性疾病相关。 β 2-GPI 依赖性抗心磷脂抗体借助 β 2-GPI 的辅助识别心磷脂, 进而干扰凝血平衡, 形成血栓。因而, 在诊断 APS 检测 ACL 抗体, 目标抗体是 β 2-GPI 依赖性抗心磷脂抗体, 因

而 ACL 试剂盒通常需要在包被 $\beta 2$ -GP1 和心磷脂两种抗原,有些商业化试剂盒还在缓冲液中添加 $\beta 2$ -GP1,以提高检测的敏感度和特异性。

4.3 $\beta 2$ -GP1 与抗 $\beta 2$ -GP1 抗体

$\beta 2$ -糖蛋白 1 ($\beta 2$ -GP1),又称载脂蛋白 H (apolipoprotein H),是一种能结合阴离子磷脂、脂蛋白的载脂蛋白,具有抗凝作用。抗 $\beta 2$ -糖蛋白 1 抗体是针对 $\beta 2$ -糖蛋白 1 的自身抗体。 $\beta 2$ -糖蛋白 1 的相对分子质量约为 50000,血浆浓度约为 200 mg/L,自其 1961 年被 Schultze 发现后,一直被认为与脂代谢有关,直到 20 世纪 90 年代才认识到 $\beta 2$ -糖蛋白 1 是 APLs 与其对应抗原结合所必需的辅助因子。它由 326 个氨基酸组成,由 5 个功能区串联;V 区外侧 (Cys281-Lys-Asn-LysGlu-Lys-Lys287) 富含正电荷,第 311 位丝氨酸 (Ser) -317 位赖氨酸 (Lys) 7 个氨基酸形成的疏水区域,疏水区域使得 $\beta 2$ -糖蛋白 1 分子能够与带负电的磷脂相互作用。 $\beta 2$ -糖蛋白 1 存在两种不同构象,正常状态下是闭环结构,功能域 I 与功能域 V 相互作用,表面结合位点处于隐藏状态;病理状态下,功能域 V 和磷脂结合,导致变构为开放构象,暴露功能域 I 的第 40~43 位氨基酸的关键表面结合位点^[13],结合相关抗体,激活内皮细胞、单核细胞、血小板,参与止血平衡,介导自身免疫性疾病^[14]。构象的转变是抗 $\beta 2$ -糖蛋白 1 抗体致病的关键因素,因而 $\beta 2$ -糖蛋白 1 抗原的构象是否打开对抗体的检测非常重要^[15],经试验验证,高盐高 PH 环境下 $\beta 2$ -糖蛋白 1 抗原构象由闭合构象转变为打开构象^[16],暴露功能域 I 上抗 $\beta 2$ -糖蛋白 1 抗体的结合位点,该研究对试剂盒的研发具有重要的指导意义。

近年有研究认为,无论是抗心磷脂抗体 (ACL) 还是狼疮抗凝物 (LA),与带负电荷的磷脂结合时,都需要一种辅助因子 $\beta 2$ -GP1,并认为 $\beta 2$ -GP1 是抗磷脂抗体的主要抗原,是导致血栓主要介质,在先天免疫系统中有重要功能。多数患者的抗 $\beta 2$ -GP1 抗体水平与抗心磷脂抗体的水平显著相关,即在多数 APS 患者体内,同时存在可以识别心磷脂- $\beta 2$ -GP1 复合物的抗体和 $\beta 2$ -GP1 的抗体,但也存在相当数量 ACL 阳性患者抗 $\beta 2$ -GP1 抗体阴性,使得 ACL 和抗 $\beta 2$ -GP1 抗体的检测对 APS 的诊断都是必要的,且实验室会根据临床诊断的需要选择检测 IgG、IgM 和 IgA 三种亚型抗体。有研究表明, IgG 类 ACL 和抗 $\beta 2$ -GP1 抗体和血栓形成相关性更大, IgM 类抗 $\beta 2$ -GP1 抗体与自发流产密切相关,有关 IgA

的临床意义尚不明确。

LA 相比 ACL、抗 $\beta 2$ -GP1 抗体的检测与临床症状的相关性更高,但使用华法林、肝素或直接口服抗凝剂治疗的患者可能出现 LA 假阳性结果,对于此类患者不应要求进行 LA 检测或对检测结果有更为严谨的解释,应与有经验的实验室专家或临床专家进行讨论。目前,商业化的抗 $\beta 2$ -GP1 和 ACL 抗体的试剂盒采用的方法主要有荧光免疫分析法、酶联免疫吸附法、和化学发光法,以酶联免疫吸附法和化学发光法为主。据文献调研,现有试剂盒 ACL 和 $\beta 2$ -GP1 因缺乏标准物质,各厂家溯源标准不一,手工操作等因素,酶联免疫吸附试剂盒的室内室间变异普遍偏大^[17-20],化学发光定量检测试剂盒凭借敏感性、重复性好,逐渐成为发展趋势所在^[21-22],但整体试剂盒的灵敏度都不高,分布在 15%~70%。更高准确度的抗磷脂抗体试剂盒还有待开发。联合检测 LA、ACL 与抗 $\beta 2$ -GP1 抗体等指标,有利于提高 APS 的诊断率,并对患者血栓形成的早期预测、早期治疗及预后判断的作用。

参考文献

- [1] 吴竞生.抗磷脂抗体综合征与血栓形成[J].诊断学理论与实践,2001,7(5):477-480.
- [2] 刘平,樊尚荣.产科抗磷脂综合征的诊断和治疗[J].中华产科急救电子杂志,2019,8(2):87-92.
- [3] 别志欣,曾学军.灾难性抗磷脂抗体综合征的诊断与治疗[J].中华临床免疫和变态反应杂志:2008,2(1):45-49.
- [4] M.Limper,et al.Diagnosing and treating antiphospholipid syndrome:a consensus paper[J].The Netherlands Journal of Medicine,2019,4(77):98-108.
- [5] Gabriella Lakos,et al.International Consensus Guidelines on Anticardiolipin and Anti- $\beta 2$ -Glycoprotein I Testing[J].ARTHRITIS & RHEUMATISM,2012,1(6):1-10.
- [6] 巩惠芸.抗磷脂酰丝氨酸/凝血酶原复合物抗体对血清学阴性抗磷脂综合征的诊断价值研究[J].上海交通大学学报(医学版):2018,38(12):1467-1472.
- [7] Maria Laura Bertolaccini,et al.Diagnosis of antiphospholipid syndrome[J].NATURE CLINICAL PRACTICE RHEUMATOLOGY,2005,11(1):40-46.
- [8] Galarza-Maldonado C,Kourilovitch MR,Perez-Fernandez OM,et al.Obstetric antiphospholipid syndrome[J].Autoimmun Rev,2012,11:288-295.

- [9] Saccone G, et al. Antiphospholipid antibody profile based obstetric outcomes of primary antiphospholipid syndrome: the PREGNANTS study [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2017 May, 216(5):525.e1–525.e12
- [10] 郑晓娟, 邓晓莉, 刘湘源. 54例抗磷脂综合征患者的妊娠结局 [J]. *北京大学学报(医学版)*, 2014, 46(02): 323–328.
- [11] 吴琪, 陈丹青. 抗心磷脂抗体与不良妊娠结局的关系研究进展 [J]. *国际妇产科学杂志*, 2017, 44(06): 618–621.
- [12] 宋红宝, 徐建华, 刘霞. 狼疮样抗凝物质对正常妊娠妇女凝血功能的影响 [J]. *中国卫生标准管理* 2017, 8(10): 113–114.
- [13] Bas de Laat, et al. IgG antibodies that recognize epitope Gly40–Arg43 in domain I of $\beta 2$ -glycoprotein I cause LAC, and their presence correlates strongly with thrombosis [J]. *BLOOD*, 2005(105): 1540–1545.
- [14] 孙娜, 刘彦虹. 抗 $\beta 2$ GP1 抗体与血栓形成的研究. 第九届全国免疫学学术大会: 334.
- [15] Leonie Pelkmans et al. Variability in Exposure of Epitope G40–R43 of Domain I in Commercial Anti-Beta2–Glycoprotein I IgG ELISAs [J]. *PLOS ONE*, 2013(8): e71402
- [16] Cetin Agar, et al. $\beta 2$ -Glycoprotein I: a novel component of innate immunity [J]. *BLOOD*, 2011(117): 6939–6947.
- [17] Marie A.P., et al. Comparison of different kits in the detection of autoantibodies to cardiolipin and beta2glycoprotein 1 [J]. *Rheumatology* 2004; 43: 181–185.
- [18] Angela Tincani, et al. Minimal requirements for antiphospholipid antibodies ELISAs proposed by the European Forum on antiphospholipid antibodies [J]. *Thrombosis Research* 2004(114), 553–558.
- [19] Guido Reber, et al. Inter-laboratory Variability of Anti- $\beta 2$ -glycoprotein I Measurement [J]. *Thromb Haemost* 2002(88): 66–73.
- [20] William H. Kutteh, et al. Assessing the variation in antiphospholipid antibody (APA) assays: Comparison of results from 10 centers [J]. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2004(191), 440–8.
- [21] Luigi Cinquanta, et al. Chemiluminescent immunoassay technology: what does it change in autoantibody detection [J]. *Autoimmun Highlights* 2017(8): 9.
- [22] Shulan Zhang, et al. Evaluation of the Clinical Performance of a Novel Chemiluminescent Immunoassay for Detection of Anticardiolipin and Anti-Beta2–Glycoprotein 1 Antibodies in the Diagnosis of Antiphospholipid Syndrome [J]. *Medicine* 2015(94): 1–7.

(上接第 27 页)

- [15] 李蓉, 吴秀慧, 李志波, 等. 重症肺炎合并心力衰竭患儿血清 NT-proBNP、cTnI 和 H-FABP 的表达水平及其与心功能的关系 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2019, 17(10): 1510–1512.
- [16] 郑玉强, 齐娜, 王晶, 等. 心型脂肪酸结合蛋白和肌钙蛋白 I 联合检测在慢阻肺急性加重期早期心肌损伤中的应用价值 [J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(23): 3933–3936.
- [17] Parikh VN, Chang AC, Grunwald Z, et al. Apelin and APJ orchestrate complex tissue-specific control of cardiomyocyte hypertrophy and contractility in the hypertrophy–heart failure transition [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2018; 315(2): H348–H356.
- [18] Bergmark BA, Udell JA, Morrow DA, Cannon CP, et al. Association of Fibroblast Growth Factor 23 With Recurrent Cardiovascular Events in Patients After an Acute Coronary Syndrome: A Secondary Analysis of a Randomized Clinical Trial [J]. *JAMA Cardiol*. 2018; 3(6): 473–480.