



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2022.06.014

<http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2022.06.014>

· 论著 ·

恶性肿瘤患者血清抗核抗体、抗双链 DNA 抗体的特点

王雯婧 武丽君

【摘要】 目的 探讨恶性实体肿瘤和血液系统恶性肿瘤患者血清抗核抗体(ANA)、抗双链 DNA(dsDNA)抗体的特点。**方法** 纳入 2016 年 7 月~2018 年 2 月我院收治的恶性实体肿瘤患者 316 例(恶性实体肿瘤组)、血液系统恶性肿瘤患者 297 例(血液系统恶性肿瘤组)和同期来院健康体检者 307 例(对照组),采用间接免疫荧光法(IIF)检测不同滴度 ANA 阳性率、在荧光显微镜下判断荧光模型、采用酶联免疫吸附试验(ELISA)定量检测抗 dsDNA 抗体阳性率和水平并进行组间比较。**结果** 恶性实体肿瘤组和血液系统恶性肿瘤组患者 ANA(1:320)阳性率均高于对照组($P<0.05$)。3 组患者 ANA(1:1000)阳性率比较差异有统计学意义($P<0.01$)。恶性实体肿瘤组患者的荧光模型以颗粒型最多,但 3 组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。血液系统恶性肿瘤组荧光模型以混合型最多,高于恶性实体肿瘤组($P<0.05$)。3 组患者抗 dsDNA 抗体阳性率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。血液系统恶性肿瘤组抗 dsDNA 抗体水平分别高于恶性实体肿瘤组和对照组($P<0.05$)。**结论** 恶性肿瘤患者血清中 ANA 滴度较正常人高,自身抗体阳性且无相应临床表现或治疗效果不佳的患者应进行肿瘤筛查,避免漏诊。恶性实体肿瘤患者以 ELISA 法检测血清抗 dsDNA 抗体的阳性率与正常人群比较无明显差异,该抗体阳性但无相应临床表现的患者在临床中应进行随访观察。

【关键词】 自身抗体; 实体肿瘤; 血液系统恶性肿瘤**【中图分类号】** R446.6 **【文献标识码】** A

恶性肿瘤是全球第二大死因^[1]。肿瘤细胞的抗原变化可被患者的免疫系统识别,刺激恶性转化相关因子的免疫反应,其表现在多个方面,其一为自身抗体的出现^[2]。自身免疫性疾病往往表达高滴度的抗核抗体(ANA)和(或)多种自身抗体。低滴度 ANA 可在无自身免疫性疾病的人群中检测到,恶性肿瘤患者比健康人群更易检测到低滴度的 ANA。抗双链 DNA(dsDNA)抗体在 50 多年前首次被描述,它是一个多样化的抗体,虽然其阳性被认为是一种与系统性红斑狼疮有关的自身免疫现象^[3],但同时也出现在其他疾病中并与多种症状有关^[4]。此外,研究表明恶性肿瘤能够刺激免疫反应诱导自身抗体的产生,其可在无症状期检测到^[5]。因此,了解恶性肿瘤患者自身抗体的特点,检测自身抗体可能有助于恶性肿瘤的早期诊断。本研究中我们将对比分析恶性实体肿瘤、血液系统恶性肿瘤患者血清自身抗体的特点,以期对肿瘤性疾病

早期诊断提供另一可能的参考指标。

对象与方法

1. 对象:纳入 2016 年 7 月~2018 年 2 月我院收治的恶性实体肿瘤患者 316 例(恶性实体肿瘤组),其中男 164 例,女 152 例,年龄 22~83 岁,平均年龄(58.62 ± 11.74)岁;其中妇科肿瘤 57 例(18.0%),呼吸系统肿瘤 68 例(21.5%),消化系统肿瘤 152 例(48.1%),泌尿系统肿瘤 21 例(6.6%),内分泌系统肿瘤 9 例(2.8%),其他实体肿瘤 9 例(2.8%)。纳入同期血液系统肿瘤患者 297 例(血液系统恶性肿瘤组),其中男 135 例,女 162 例,年龄 18~85 岁,平均年龄(54.92 ± 15.41)岁;其中白血病 140 例(47.1%),淋巴瘤 102 例(34.3%),骨髓瘤 55 例(18.5%)。再纳入同期于我院健康体检者 307 例(对照组),其中男 140 例,女 167 例,年龄 24~79 岁,平均年龄(54.43 ± 10.79)岁。排除标准:合并感染性疾病、结缔组织病、严重心脑血管疾病及后遗症。本研究经我院伦理委员会审核批准,所有受试者均知情同意。

2. 方法:采用间接免疫荧光法(IIF)检测 ANA,以人喉癌上皮细胞(Hep-2)为底物,以免疫球蛋白(Ig) G 标记的抗人(山羊)荧光素(欧蒙医学实验诊断股份公司,吕贝克,德国)为二抗。用试剂组中含有的缓冲液将样品稀释为 1:100、1:320、1:1 000、1:3 200,滴度 \geq 1:320为阳性,计算检测标本的阳性率。在荧光显微镜EUROStar III Plus 下判断荧光模型。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)定量检测抗 dsDNA 抗体的水平,抗 dsDNA >20 U/ml 为阳性,计算检测标本的阳性率。

3. 统计学处理:应用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;不符合正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。计数资料以例数和百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1.3 组患者不同滴度 ANA 阳性率比较:3 组患者 ANA(1:320)阳性率比较差异有统计学意义,其中恶性实体肿瘤组和血液系统恶性肿瘤组患者 ANA(1:320)阳性率均高于对照组($P < 0.05$)。恶性实体肿瘤组患者 ANA(1:1 000)阳性率为 4.11%(13/316),其中宫颈癌 2 例,乳腺癌 2 例,食管癌 1 例,卵巢癌 1 例,胃癌 3 例,小肠恶性肿瘤 1 例,乙状结肠癌 1 例,咽癌 1 例,胰腺癌 1 例。血液系统恶性肿瘤组患者 ANA(1:1 000)阳性率为 0.67%(2/297),2 例患者均为淋巴瘤。3 组患者 ANA(1:1 000)阳性率比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 3 组患者不同滴度 ANA 阳性率比较[例,(%)]

组别	例数	阴性	1:100	1:320	1:1 000
恶性实体肿瘤组	316	148(46.84)	129(40.82)	26(8.23) ^a	13(4.11)
血液系统恶性肿瘤组	297	135(45.45)	136(45.79)	24(8.08) ^a	2(0.67)
对照组	307	174(56.68)	118(38.44)	13(4.23)	2(0.65)
χ^2 值		9.157	5.571	7.314	12.353
P 值		0.010	0.062	0.026	0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$

2.3 组 ANA 阳性患者荧光模型分布情况比较:恶性实体肿瘤组患者荧光模型以颗粒型最多(48.72%),但 3 组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。血液系统恶性肿瘤组荧光模型以混合型最多(包括均质型 +

颗粒型、颗粒型 + 胞浆颗粒型,50.00%),高于恶性实体肿瘤组($\chi^2 = 15.257, P < 0.001$),但与对照组比较差异无统计学意义($\chi^2 = 1.281, P = 0.258$)。见表 2。

3.3 组患者抗 dsDNA 抗体阳性率及水平比较:恶性实体肿瘤组患者抗 dsDNA 抗体阳性率为 13.0%,血液系统恶性肿瘤组为 6.4%,对照组为 14.0%,3 组患者阳性率比较差异有统计学意义($\chi^2 = 11.236, P = 0.004$)。血液系统恶性肿瘤组抗 dsDNA 抗体水平[36.10(17.30,41.7) $\mu\text{mol/L}$]分别高于恶性实体肿瘤组[19.46(13.18,29.00) $\mu\text{mol/L}$]和对照组[20.40(13.20,26.80) $\mu\text{mol/L}$],差异均有统计学意义($P < 0.05$)。恶性实体肿瘤组抗 dsDNA 抗体水平与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

讨 论

根据我国国家癌症中心 2016 年报道的统计数据预测,我国每年恶性肿瘤的新增病例约为 430 万,死亡病例约为 280 万^[6]。如此高的死亡率可部分归因于缺乏早期检测方法。因此,探讨恶性肿瘤患者血清自身抗体的特点具有重要意义。

自身抗体主要是由免疫反应后的 B 细胞产生,它直接针对人体自身的一个或多个抗原^[7]。自身抗体被认为是免疫反应和自身免疫性疾病的重要特征。肿瘤自身抗体产生的机制已被提出,包括宿主对肿瘤相关抗原(TAA)的免疫反应、肿瘤细胞破坏引起的抗原刺激或肿瘤形成过程引起的免疫紊乱^[2-8]。自身抗体作为肿瘤免疫反应产物,可用于肿瘤早期筛查^[9-10]。自身抗体检测在肿瘤患者中具有许多优势。首先,它可用于肿瘤发生的早期筛查;其次,对于大规模和长期的样本检测,自身抗体在血清中比肽更稳定。因此,自身抗体检测对于肿瘤的诊断具有重要意义。

Solans-laquéé 等^[11]的一项研究表明,与健康人群相比,恶性肿瘤患者的血清中更易检测到 ANA。此外,恶性肿瘤患者自身抗体的荧光光谱比健康人群更为丰富。恶性肿瘤患者血清中可检测到多种自身抗体荧光模型,如均质型、核仁型和胞浆型^[12]。本研究结果显示,恶性实体肿瘤组及血液系统恶性肿瘤组 ANA(1:320)阳性率均高于对照组。与对照组相比,恶性实体肿瘤组更易检出低滴度 ANA(1:320)。此外,

表 2 3 组 ANA 阳性患者荧光模型分布情况比较[例,(%)]

组别	例数	均质型	颗粒型	核仁型	着丝点型	胞浆颗粒型	混合型
恶性实体肿瘤组	39	6(15.38)	19(48.72)	3(7.69)	3(7.69)	6(15.38)	2(5.13)
血液系统恶性肿瘤组	26	2(7.69)	8(30.77)	0(0.00)	2(7.69)	1(3.85)	13(50.00)
对照组	15	3(20.00)	4(26.67)	0(0.00)	0(0.00)	4(26.67)	4(26.67)

3 组患者的荧光模型分布情况也不同。恶性实体肿瘤组以颗粒型最多,血液系统恶性肿瘤组以混合型最多,其包括均质型+颗粒型和颗粒型+胞浆颗粒型。在临床上,恶性肿瘤患者可与风湿免疫性疾病患者表现出相同的 ANA 滴度及荧光模型,但治疗效果及预后截然不同。因此,为避免漏诊而进行的癌症筛查很有必要。

免疫系统是人体抵御病原体的第一道防线。因此,血清生物标记物在早期癌变中的表达具有较高的研究价值。在肿瘤发生的初始阶段,肿瘤细胞释放的蛋白质或肿瘤细胞表面的多肽可激发针对肿瘤细胞的免疫反应,被称为肿瘤相关抗原(TAA)^[13],TAA 的产生可能与蛋白突变、过度表达、翻译后修饰、错误折叠、异常断裂和定位有关^[14]。肿瘤相关抗原的半衰期为 7~30 天,取决于免疫球蛋白的亚型^[15]。识别 TAA 的自身抗体具有易分离的特点,且滴度随 TAA 生物信号的扩增而增加。由于自身抗体的检测比 TAA 更容易,意味着自身抗体的检测在疾病的诊断中比传统的生物标志物检测具有更大的潜力。

ELISA 法对低亲和力类型的抗 dsDNA 抗体检测灵敏度高,对系统性红斑狼疮诊断的特异度低,因此在非系统性红斑狼疮患者中可检测到抗 dsDNA 抗体单独阳性^[16]。本研究中,抗 dsDNA 抗体水平在恶性实体肿瘤组与对照组中比较差异无统计学意义,在血液系统恶性肿瘤组与对照组中比较差异有统计学意义。相关研究结果显示,肿瘤细胞诱导抗 dsDNA 抗体产生,后者在免疫保护中发挥主要作用,与抗肿瘤效应具有关联性^[17]。血液系统恶性肿瘤患者抗 dsDNA 抗体可能通过信号转导通路的激活和细胞凋亡介导细胞死亡,或进入细胞阻断蛋白质的合成,或切割 DNA,从而显示出对肿瘤细胞的毒性^[18]。抗 dsDNA 抗体的产生可以是暂时的,也可以是持续的,这种差异可能归因于对天然 DNA 的免疫反应不同^[19]。

自身抗体检测具有很高的敏感度,且并非结缔组织病所特有。与对照组相比,恶性实体肿瘤组的患者更易检出低滴度 ANA,血液系统肿瘤患者血清中抗 dsDNA 抗体水平与对照组相比更高。恶性实体肿瘤患者自身免疫反应导致自身抗体检测阳性,但其临床表现和常规治疗与风湿免疫性疾病不同,有必要进行肿瘤筛查以避免漏诊。恶性实体肿瘤患者以 ELISA 法检测血清抗 dsDNA 抗体的阳性率与对照组相比差异无统计学意义,提示该抗体阳性但无相应临床表现的恶性实体肿瘤患者在临床中应进行随访观察。本研究样本量较小,尚需扩大样本量并纳入更多类型肿瘤

性疾病的患者,自身抗体对肿瘤诊断的特异性仍需临床信息明确的大样本研究进行探讨。

参 考 文 献

- [1] Torre Lindsey A, Bray Freddie, Siegel Rebecca L, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] Zhang JY, Tan EM. Autoantibodies to tumor-associated Antigens as diagnostic biomarkers in hepatocellular carcinoma and other solid tumors [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2010, 10(3): 321-328.
- [3] Infantino M, Manfredi M, Merone M, et al. Analytical variability in the determination of anti-double-stranded DNA antibodies; the strong need of a better Definition of the old and new tests [J]. Immunol Res, 2018, 66(3): 340-347.
- [4] Compagno M, Rekvig OP, Bengtsson AA, et al. Clinical Phenotype associations with various types of anti-dsDNA antibodies in patients with recent onset of rheumatic symptoms. Results from a multicentre observational study [J]. Lupus Sci Med, 2014, 1(1): e000007.
- [5] Zhang H, Xia J, Wang K, et al. Serum autoantibodies in the early detection of esophageal cancer: a systematic review [J]. Tumour Biol, 2015, 36(1): 95-109.
- [6] Chen Wanqing, Zheng Rongshou, Baade Peter D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [7] Aggarwal A. Role of autoantibody testing [J]. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2014, 28(6): 907-920.
- [8] 张晓菊, 张劲农, 陶晓南, 等. 肺癌患者外周血 CD₄⁺CD₂₅⁺ 调节性 T 细胞的检测及其临床意义 [J]. 临床内科杂志, 2006, 23(12): 829-831.
- [9] 李波, 李伯安. 自身抗体检测在原发性肝癌诊断中的意义 [J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39(2): 76-78.
- [10] 王永福, 刘媛. 自身抗体在肿瘤及感染性疾病发生、发展中的作用 [J]. 北京大学学报, 2018, 50(6): 952-955.
- [11] Solans-Laqué R, Pérez-Bocanegra C, Salud-Salvia A, et al. Clinical significance of antinuclear antibodies in malignant diseases: association with rheumatic and connective tissue paraneoplastic syndromes [J]. Lupus, 2004, 13(3): 159-164.
- [12] Tan HT, Low J, Lim SG, et al. Serum autoantibodies as biomarkers for early cancer detection [J]. FEBS J, 2009, 276(23): 6880-6904.
- [13] Hong Y, Huang J. Autoantibodies against tumor-associated antigens for detection of hepatocellular carcinoma [J]. World J Hepatol, 2015, 7(11): 1581-1585.
- [14] Yadav S, Kashaninejad N, Masud MK, et al. Autoantibodies as diagnostic and prognostic cancer biomarker: Detection techniques and approaches [J]. Biosens Bioelectron, 2019, 15(139): 111315.
- [15] Lacombe J, Mangé A, Solassol J. Use of autoantibodies to detect the onset of breast cancer [J]. J Immunol Res, 2014, 2014: 574981.
- [16] Zigon P, Lakota K, Cucnik S, et al. Comparison and evaluation of different methodologies and tests for detection of anti-dsDNA antibodies on 889 Slovenian patients and blood donors sera [J]. Croat Med J, 2011, 52(6): 694-702.
- [17] 周非非, 林怡, 熊思东, 等. 灭活肿瘤细胞免疫小鼠诱生的自身抗体及其作用探讨 [J]. 复旦学报, 2006, 33(2): 236-239.
- [18] Kozyr AV, Sashchenko LP, Kolesnikov AV, et al. Anti-DNA autoantibodies reveal toxicity to tumor cell lines [J]. Immunol Lett, 2002, 80(1): 41-47.
- [19] Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies [J]. Ann Rheum Dis, 2014, 73(1): 17-23.

(收稿日期: 2020-07-25)

(本文编辑: 余晓曼)