

· 技术与方法 ·

两种方法检测促甲状腺激素受体抗体的定量对比研究

陈逗逗¹, 李田田¹, 刘坤钰¹, 付煜², 郑旭琴¹, 王知笑^{1*}

¹南京医科大学第一附属医院内分泌科, ²核医学科, 江苏 南京 210029

[摘要] 目的:评价电化学发光法和放射受体分析法测量促甲状腺激素受体抗体(thyrotropin receptor antibody, TRAb)的一致性和相关性,并进行定量比较。方法:选取2018年9—11月122份血清样本,分别用全自动电化学发光法和放射受体分析法测定TRAb,进行Kappa、Passing-Bablok和Bland-Altman分析。结果:全自动电化学发光和放射受体分析测量的TRAb结果Kappa值为0.841,一致性好;Spearman相关系数为0.902,高度相关。Passing-Bablok回归方程为电化学发光测量值=-0.9+1.8×放射测量值。Bland-Altman分析提示两种方法测定之间的绝对差值在测定范围内随TRAb测量值的增加而增加。结论:全自动电化学发光法和放射受体分析法测定的TRAb水平高度相关,一致性好,但在定量比较中,放射受体分析法和全自动电化学发光法测量值之间存在比例差异,不建议在甲状腺功能亢进的诊治随访过程中交换使用测量来评估病情缓解情况。

[关键词] 促甲状腺激素受体抗体;放射受体分析法;全自动电化学发光法

[中图分类号] R446

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2022)01-125-04

doi:10.7655/NYDXBNS20220124

促甲状腺激素受体抗体(thyrotropin receptor antibody, TRAb)在毒性弥漫性甲状腺肿(Graves' disease, GD)发病中起关键作用,对确诊GD、提示病情缓解情况、预后有重要意义^[1-2]。近几十年来,实验室不断改进实验方法以开发高效、安全,同时具有更高的灵敏度、特异度的TRAb检测方法。目前临床上可通过放射受体分析法(radioreceptor assay, RRA)和全自动电化学发光法(automated electrochemiluminescence immunoassay, ECLIA)测定TRAb,其中放射受体分析法在临床上应用最广泛。TRAb的测量值有益于临床医生调整患者抗甲状腺药物剂量和确定停药的时间点^[3],但病程中关注抗体变化时发现,患者时常提供不同医院测得的TRAb值,也有同一医院不同科室采用不同的方法检测TRAb值,目前没有数据表明,两种诊断方法在甲状腺功能亢进患者病程中可以互换使用。本研究旨在评估RRA和ECLIA分析法测定TRAb的一致性和相关性,并进行定量比较,计算两种检测方法得出的TRAb测量值是否存在相关关系,为临床诊治过程

提供参考。

1 对象和方法

1.1 对象

2018年9—11月之间南京医科大学第一附属医院内分泌科门诊就诊检测TRAb的患者122例,男25例,女97例,平均年龄40.6岁,年龄范围11~63岁。

1.2 方法

将获取的空腹血清样本一分为二,分别采用RRA和ECLIA法对样本进行TRAb检测。ECLIA法采用罗氏全自动电化学发光免疫分析系统cobas e602及配套试剂盒;RRA法采用法国促甲状腺激素(TSH)受体自身抗体放免分析药盒(北京北方生物技术研究所有限公司)。两种检测方法均由经验丰富的专业人员严格按照产品说明书进行。所有TRAb的含量均以U/L表示。按本院免疫实验室和核医学实验室提供的截断值TRAb >1.5 U/L判断为阳性。

1.3 统计学方法

使用SPSS 24.0和MedCalc软件进行统计学分析。ECLIA和RRA的阳性临界值为1.5 U/L,定性结果通过Kappa检验对两种方法进行一致性评估,如数据呈偏态分布,采用Spearman相关性分析进行直线相关性分析。使用Passing-Bablok量化两种检测方

[基金项目] 江苏省临床医学研究中心支撑体系建设(BL2014084)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: amao_wzhixiao@sina.com

法测量结果之间的关系,使用Bland-Altman评估两种TRAb方法测量的差异在整个测量范围上的分布情况。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种检测方法的一致性和相关性比较分析

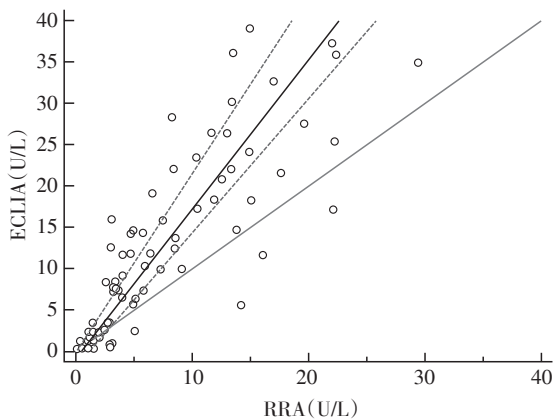
对122例门诊患者TRAb检测结果进行阴性、阳性结果分类(表1),两种检测方法均为阳性73例,均为阴性40例,RRA法阳性78例,阳性率63.9%,阴性44例;ECLIA法阳性77例,阳性率63.0%,阴性45例,RRA法阳性率和ECLIA法无明显差异,一致性分类Kappa值为0.841,对85份检测极限范围内(0.3~40.0 U/L)的TRAb测量值进行Spearman相关性分析,所得相关系数 $r=0.902$ ($P < 0.01$),提示ECLIA法测定的TRAb和RRA法之间存在很强的线性关系。

表1 两种方法测量TRAb的结果 (n)

RRA法	ECLIA法		合计
	阳性	阴性	
阳性	73	5	78
阴性	4	40	44
合计	77	45	122

2.2 两种检测方法的定量比较分析

为了量化RRA法和ECLIA法在TRAb测量值之间的绝对差异和比例差异,对两种方法所测TRAb水平进行Passing-Bablok回归分析(图1),所得方程式 $y=-0.9+1.8x$ (截距的95%CI:-1.90~-0.05,斜率的95%CI:1.6~2.2),两种方法之间存在固定偏差和比例偏差。



黑色实线表示所有数据点之间的回归线,灰色实线表示Passing-Bablok回归分析的回归线,灰色虚线表示斜率的95%CI。

图1 RRA和ECLIA测量TRAb结果的Passing-Bablok回归分析

2.3 两种检测方法测量值的绝对差异分析

ECLIA和RRA测定TRAb含量的差异,通过Bland-Altman进行了描述(图2),两种测量结果的平均差为4.4 U/L,总体平均差的95%CI为3.0~5.7 U/L,不包含0($P < 0.001$)。两种测定方法之间的绝对差值在测定范围内随TRAb测量值的增加而增加,两种方法测量结果不等价。

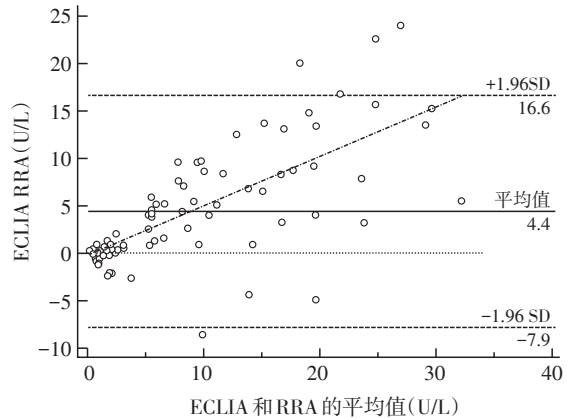


图2 RRA和ECLIA测量TRAb的Bland-Altman图

3 讨论

GD是一种以甲状腺毒症为特征的自身抗体介导的自身免疫性疾病,TRAb与TSH受体富含亮氨酸的结构域特异结合,刺激TSHR导致信号级联反应,促使甲状腺细胞合成和分泌甲状腺激素^[4]。TSH和TRAb在同一TSH受体区域结合,是使用竞争方法定量测量TRAb的前提,也是迄今为止开发所有TRAb分析方法的基础。第一代TRAb使用猪TSH液相放射受体分析法测定TRAb含量,特异度较高但灵敏度低,随后TRAb的检测方法在近几十年中不断改进发展。第二代通过固相放射受体分析法检测¹²⁵I标记的TSH与受体结合的抑制活性来测定血清中免疫球蛋白与TSH受体的结合^[5-6]。第三代使用刺激性抗TSH受体人单克隆抗体的抗原结合片段(M22),血清TRAb抑制M22与TSH受体的结合,TRAb通过抑制M22结合的能力进行检测^[7-8]。TRAb对GD的诊断具有高度特异度,可用于鉴别其他甲状腺疾病。既往有多篇文献比较了第二代和第三代检测TRAb的方法在GD诊断中的准确性和灵敏度。第二代放射受体分析法检测TRAb对GD诊断的灵敏度和特异度可分别达97.4%和97.1%,第三代全自动电化学发光灵敏度和特异度均可达99%^[9-10]。两种检测方法区分GD和其他甲

甲状腺疾病的能力无明显差异,均可作为诊断GD的指标^[9,11],但很少有研究报告两代检测方法测量绝对值之间是否存在差异关系。本研究发现在ECLIA和RRA两种TRAb检测方法定性比较中,Kappa值为0.84,提示两种检测方法存在较好的一致性。但在定量分析比较中,ECLIA和RRA的TRAb测量值之间存在比例差异,Passing-Bablok回归公式为: $ECLIA = -0.9 + 1.8 \times RRA$,在高TRAb滴度时,ECLIA的测量值高于RRA。在两种方法测量的平均水平下,ECLIA和RRA检测到的TRAb含量差异在Bland-Altman中进行了描述,两种方法测定值之间的绝对差异均随TRAb水平的升高而增加,具有较高TRAb浓度的样本在ECLIA分析中具有较高估计值。

TRAb的测量值会影响临床医生治疗的选择^[12]。我国临床医生一般首选药物治疗GD,药物控制期间TRAb未见明显下降或反而持续升高,医师会建议患者行放射性碘治疗或者甲状腺切除。TRAb滴度在治疗过程中逐渐下降^[3],最终70%~80%患者12~18个月后TRAb恢复正常。选择药物治疗患者停药后约50%出现甲状腺功能亢进复发,放射性碘治疗者约15%,甲状腺切除术后约10%,TRAb可随甲状腺功能亢进的复发再次升高^[13-14]。长期服用抗甲状腺药物的甲状腺功能亢进患者,病程中如果交替使用两种不同的测定方法检测TRAb会干扰临床医师对患者病情的评估从而影响治疗方案。若患者既往TRAb值是通过RRA测定,复诊时更换为ECLIA法测定,此时TRAb值会高于RRA法,尤其是在高滴度TRAb时,这种结果会促使临床医师增加抗甲状腺药物剂量或维持时间,而高剂量的抗甲状腺药物发生肝损、粒细胞减少和过敏的风险升高;这种结果甚至可能导致患者接受放射性碘或手术治疗,造成永久性甲状腺功能减退。反之,患者既往通过ECLIA法测定TRAb值,在复诊时若更换为RRA法测定,此时TRAb值低于RRA法所测结果,这种结果可能加快药物减量速度,最终导致GD复发风险增高。因此,不建议临床医师在甲状腺功能亢进患者病程中互换使用两种测定方法检测TRAb,发生互换时,需评估两种方法的差异值并结合患者症状、甲状腺功能共同判断病情。此外,RRA是非自动化的,耗时长且有核污染,而ECLIA测定速度快、成本低又易于操作,适合广泛用于甲状腺功能亢进患者的筛查和病程中病情的评估。本研究定量分

析了TRAb两种诊断方法之间的关系,由于研究规模较小,所得差异结果是否可推广至不同中心的实验室还仍需更多数据来验证。

[参考文献]

- [1] BARBESINO G, TOMER Y. Clinical review: clinical utility of TSH receptor antibodies [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98(6): 2247-2255
- [2] KAMIJO K, MURAYAMA H, UZU T, et al. A novel bioreporter assay for thyrotropin receptor antibodies using a chimeric thyrotropin receptor (Mc4) is more useful in differentiation of Graves' disease from painless thyroiditis than conventional thyrotropin-stimulating antibody assay using porcine thyroid cells [J]. *Thyroid*, 2010, 20(8): 851-856
- [3] NALLA P, YOUNG S, SANDERS J, et al. Thyrotrophin receptor antibody concentration and activity, several years after treatment for Graves' disease [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2019, 90(2): 369-374
- [4] LATIF R, MEZEI M, MORSHED S A, et al. A modifying autoantigen in Graves' disease [J]. *Endocrinology*, 2019, 160(5): 1008-1020
- [5] SANDERS J, ODA Y, ROBERTS S, et al. The interaction of TSH receptor autoantibodies with ¹²⁵I-labelled TSH receptor [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84(10): 3797-3802
- [6] VILLALTA D, ORUNESU E, TOZZOLI R, et al. Analytical and diagnostic accuracy of "second generation" assays for thyrotrophin receptor antibodies with radioactive and chemiluminescent tracers [J]. *J Clin Pathol*, 2004, 57(4): 378-382
- [7] GASSNER D, STOCK W, GOLLA R, et al. First automated assay for thyrotropin receptor autoantibodies [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2009, 47(9): 1091-1095
- [8] HERMSEN D, BROECKER-PREUSS M, CASATI M, et al. Technical evaluation of the first fully automated assay for the detection of TSH receptor autoantibodies [J]. *Clin Chim Acta*, 2009, 401(1/2): 84-89
- [9] TOZZOLI R, BAGNASCO M, GIAVARINA D, et al. TSH receptor autoantibody immunoassay in patients with Graves' disease: improvement of diagnostic accuracy over different generations of methods. Systematic review and meta-analysis [J]. *Autoimmun Rev*, 2012, 12(2): 107-113
- [10] SCHOTT M, HERMSEN D, BROECKER-PREUSS M, et al. Clinical value of the first automated TSH receptor autoantibody assay for the diagnosis of Graves' disease (GD): an international multicentre trial [J]. *Clin Endocrinol*

(Oxf), 2009, 71(4): 566-573

[11] CHIAPPORI A, VILLALTA D, BOSSERT I, et al. Thyrotropin receptor autoantibody measurement following radio-metabolic treatment of hyperthyroidism: comparison between different methods[J]. J Endocrinol Investig, 2010, 33(3): 197-201

[12] HESARGHATTA SHYAMASUNDER A, ABRAHAM P. Measuring TSH receptor antibody to influence treatment choices in Graves' disease[J]. Clin Endocrinol, 2017, 86(5): 652-657

[13] BOBANGA I D, MCHENRY C R. Treatment of patients with Graves' disease and the appropriate extent of thyroidectomy [J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2019, 33(4): 101319

[14] SUNDARESH V, BRITO J P, WANG Z, et al. Comparative effectiveness of therapies for Graves' hyperthyroidism: a systematic review and network meta-analysis [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2013, 98(9): 3671-3677

[收稿日期] 2020-10-31
(本文编辑: 蒋 莉)

(上接第95页)

Open, 2018, 8(12): e023374

[8] CONRARDY P A, GOODMAN L R, LAINGE F, et al. Alteration of endotracheal tube position. Flexion and extension of the neck[J]. Crit Care Med, 1976, 4(1): 8-12

[9] AKHGAR A, BAHRAMI S, MOHAMMADINEJAD P, et al. A new formula for confirmation of proper endotracheal tube placement with ultrasonography [J]. Adv J Emerg Med, 2019, 3(3): e25

[10] DONG F, ZHU C, XU H, et al. Measuring endotracheal tube depth by bedside ultrasound in adult patients in an intensive care unit: a pilot study [J]. Ultrasound Med Biol, 2017, 43(6): 1163-1170

[11] 王冬青. 临床应用 GlideScope 视频喉镜行气管插管 132 例体会 [J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2007, 27(8): 886-887

[收稿日期] 2021-07-10
(本文编辑: 陈汐敏)

