

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2022.06.018

❖ 临床研究 ❖

血清 Titin-Ab 与 AChR-Ab 对重症肌无力患者的临床诊断价值

陆梦如¹, 钊岩², 李何鹏¹, 唐健¹, 梁津瑜¹

(1. 广西医科大学第二附属医院神经内科, 广西 南宁 530007; 2. 济南市第三人民医院, 山东 济南 250132)

【摘要】目的: 探讨血清连接素抗体 (Titin-Ab) 与乙酰胆碱受体抗体 (AChR-Ab) 检测对重症肌无力 (MG) 患者的诊断价值。**方法:** 前瞻性纳入 86 例 MG 患者 (MG 组) 作为研究对象, 根据改良 Osseman 临床分型将其分为眼肌型组 ($n = 51$) 和全身型组 ($n = 35$), 并择取 80 名同期健康体检对象作为对照组。检测所有研究对象血清 Titin-Ab 及 AChR-Ab, 分析各组间血清 Titin-Ab 及 AChR-Ab 阳性率差异及其对 MG 的诊断价值。**结果:** MG 组患者血清 Titin-Ab、AChR-Ab 阳性率均高于对照组 ($P < 0.05$); 全身型患者 AChR-Ab 阳性率高于眼肌型 ($P < 0.05$), 但两组间血清 Titin-Ab 阳性率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 全身型组患者中, II A 型 8 例, II B 型 20 例, III 型 + IV 型 7 例, 不同 Osseman 分型患者血清 Titin-Ab 和 AChR-Ab 阳性率比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 两指标联合诊断 MG 的灵敏度高于单独诊断 ($\chi^2 = 37.979, P < 0.05$)。**结论:** MG 患者血清 Titin-Ab 和 AChR-Ab 阳性率升高, 两指标联合检测, 对 MG 诊断具有较高的灵敏度及准确率。

【关键词】 重症肌无力; 血清连接素抗体; 乙酰胆碱受体抗体; 联合诊断

【中图分类号】 R746.1 **【文献标志码】** A

Clinical diagnostic value of serum Titin-Ab and AChR-Ab in patients with myasthenia gravis

LU Meng-ru¹, ZHAO Yan², LI He-peng¹, TANG Jian¹, LIANG Jin-yu¹

(1. Department of Neurology, the Second Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530007, Guangxi; 2. The Third Hospital of Ji'nan, Ji'nan 250132, Shandong, China)

【Abstract】Objective: To explore the clinical diagnostic value of serum connexin antibody (Titin-Ab) and acetylcholine receptor antibody (AChR-Ab) in patients with myasthenia gravis (MG). **Methods:** 86 patients with MG were prospectively included in the study (MG group). According to the clinical classification of modified Osseman, the patients were divided into eye muscle type group ($n = 51$) and whole body type group ($n = 35$), and 80 healthy subjects in the same period were selected as the control group. The serum Titin-Ab and AChR-Ab of all subjects were detected, and the differences in the positive rates of serum Titin-Ab and AChR-Ab between groups and their diagnostic value for MG were analyzed. **Results:** The positive rates of serum Titin-Ab and AChR-Ab in the MG group were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The positive rate of AChR-Ab in patients with whole body type was significantly higher than that in patients with eye muscle type ($P < 0.05$), there was no significant difference in the positive rate of serum Titin-Ab between the whole body type group and the eye muscle type group ($P > 0.05$). There were 8 cases of type IIA, 20 cases of type IIB and 7 cases of type III + IV in whole body type group, there was no significant difference in the positive rates of serum Titin-Ab and AChR-Ab between MG patients with different Osseman types ($P > 0.05$). The sensitivity of the combined diagnosis of myasthenia gravis was higher than that of AChR-Ab, Titin-Ab alone ($\chi^2 = 37.979, P < 0.05$). **Conclusion:** The positive rates of serum Titin-Ab and AChR-Ab in MG patients increased, and the combined detection of the two indexes has high sensitivity and accuracy in the diagnosis of MG.

【Key words】 Myasthenia gravis; Serum Titin-Ab; AChR-Ab; Joint diagnosis

重症肌无力 (myasthenia gravis, MG) 是一种自身免疫性疾病, 主要是由于血液中出现多种不同成分抗体, 此类抗体可对神经-肌肉接头 (neuromuscular junction, NMJ) 突触后膜乙酰胆碱受体 (acetyl-

choline receptor, AChR) 造成损害, 使得终板电位不足, 继而导致信号传递过程受阻, 引发肌无力^[1-2]。随着病情的不断恶化, 患者逐渐出现眼睑下垂、肢体无力、构音障碍、吞咽困难等临床表现, 对患者的生

活质量和身心健康造成严重损害^[3-5]。临床上约 80% 的 MG 患者血清中可检测到 AChR-Ab, 且不同分型 MG 患者血清中 AChR-Ab 滴度高低不等^[6-8]。MG 患者治疗后, 血清 AChR-Ab 抗体滴度降幅越大, 临床症状改善效果越佳, AChR-Ab 水平变化对诊断及判断 MG 患者病情严重程度具有重要的临床意义^[9]。MG 患者通常伴有胸腺瘤, AChR-Ab 和连接素抗体 (titin antibodies, Titin-Ab) 在神经疾病的发生机制中至关重要, MG 合并胸腺瘤的患者体内 AChR-Ab、Titin-Ab 通常高度表达^[10]。目前检测出多种特异性抗体与 MG 的发生发展密切相关^[11]。本研究拟探讨血清 AChR-Ab 与 Titin-Ab 对 MG 患者的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

前瞻性纳入 2019 年 6 月至 2021 年 6 月广西医科大学第二附属医院及济南市第三人民医院收治的 86 例 MG 患者作为研究对象 (MG 组), 并择取同期 80 名健康体检对象作为对照组。MG 组中, 男性 54 例, 女性 32 例; 年龄 20 ~ 70 岁, 平均 (43.92 ± 8.73) 岁; 病程 3 ~ 21 个月, 平均 (18.34 ± 6.28) 个月。根据改良 Osserman 临床分型分为眼肌型组 51 例, 全身型组 35 例 (II A 型 8 例, II B 型 20 例, III 型 2 例, IV 型 5 例)。纳入标准: (1) MG 组患者均符合《中国重症肌无力诊断和治疗指南 (2020 版)》^[12] 中的诊断标准, 伴有典型 MG 症, 低频重复神经电刺激波幅降幅 > 10% 及新斯的明试验阳性; (2) 无胆碱酯酶抑制剂或其他免疫抑制治疗史; (3) 临床资料完整; (4) 未合并恶性肿瘤。排除标准: (1) 由其他原因导致的眼肌麻痹患者; (2) Guillain-Baere 综合征患者; (3) 多发性肌炎、慢性脱髓鞘性多发神经病患者; (4) 临床资料不完整无法进行统计者; (5) 因甲状腺功能减退、亢进症及糖尿病等代谢性疾病导致眼肌麻痹和外周神经病变的患者; (6) 合并处于妊娠期、哺乳期的女性患者。对照组中, 男性 42 名, 女性 38 名; 年龄 22 ~ 79 岁, 平均 (45.07 ± 8.81) 岁。两组研究对象年龄、性别比例比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 方法

采集所有研究对象治疗前空腹肘静脉血 15 mL, 经离心处理后, 置于 -80 °C 环境中待检。采用酶联免疫吸附法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测血清 Titin-Ab、AChR-Ab 水平, 首先在由聚苯乙烯制成的 96 孔板上包被抗体, 而后通过抗体对待测抗原进行识别, 并使用辣根过氧化氢

(horseradish peroxidase, HRP)、荧光或放射性标记的抗体输出识别信号, 最后借助信号强度, 标准样品浓度梯度等信息计算待测目标抗原浓度。血清 Titin-Ab 和 AChR-Ab 检测试剂盒均购自美国 ThermoFier 公司, 所有操作均严格按照试剂盒说明书执行, 每个样品重复检测 3 次, 取平均值。结果判读: 血清 Titin-Ab 水平 > 15 U/mL 视为 Titin-Ab 阳性, AChR-Ab 水平 > 0.469 nmol/L 视为 AChR-Ab 阳性。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。计数资料以 [$n(\%)$] 表示, 组间比较采用 χ^2 检验比较; 正态分布的计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MG 组与对照组血清 Titin-Ab 与 AChR-Ab 阳性率对比

MG 组患者血清 Titin-Ab、AChR-Ab 阳性率高于对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 MG 组与对照组血清 Titin-Ab 与 AChR-Ab 阳性率比较 [$n(\%)$]

组别	Titin-Ab 阳性率	AChR-Ab 阳性率
MG 组 ($n = 86$)	55 (63.95)	59 (68.60)
对照组 ($n = 80$)	12 (15.00)	15 (18.75)
t 值	41.262	41.695
P 值	<0.001	<0.001

2.2 眼肌型组和全身型组患者血清 Titin-Ab、AChR-Ab 阳性率对比

全身型组患者血清 AChR-Ab 阳性率高于眼肌型组 ($P < 0.05$), 但两组间血清 Titin-Ab 阳性率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 眼肌型组和全身型组患者血清 Titin-Ab 与 AChR-Ab 阳性率比较 [$n(\%)$]

组别	Titin-Ab 阳性率	AChR-Ab 阳性率
眼肌型组 ($n = 51$)	33 (64.71)	25 (49.02)
全身型组 ($n = 35$)	21 (60.00)	25 (71.43)
t 值	0.197	4.283
P 值	0.657	0.039

2.3 全身型组中不同 Osserman 分型患者血清 Titin-Ab、AChR-Ab 阳性率对比

35 例 MG 全身型患者中, II A 型 8 例, II B 型 20 例, III 型 + IV 型 7 例, 不同 Osserman 分型 MG 患者血清 Titin-Ab 和 AChR-Ab 阳性率比较, 差异均无

统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 全身型组中不同 Osserman 分型患者血清 Titin-Ab、AChR-Ab 阳性率对比 [$n(\%)$]

组别	Titin-Ab 阳性率	AChR-Ab 阳性率
II A 型($n=8$)	5(62.50)	6(75.00)
II B 型($n=20$)	12(60.00)	16(80.00)
III 型 + IV 型($n=7$)	4(57.14)	5(71.43)
F 值	0.045	0.243
P 值	1.665	1.244

2.4 血清 Titin-Ab、AChR-Ab 检测对 MG 的诊断价值

两指标联合诊断 MG 的灵敏度高于 AChR-Ab、Titin-Ab 单独诊断,差异有统计学意义($\chi^2 = 37.979$, $P < 0.05$)。见表 4。

表 4 血清 Titin-Ab、AChR-Ab 对 MG 的诊断价值(%)

指标	敏感度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	准确率
Titin-Ab	63.95	85.00	82.09	68.69	74.10
AChR-Ab	68.60	81.25	79.73	70.65	74.70
联合诊断	88.37	66.25	73.79	84.13	77.71

3 讨论

MG 是一种由多种基因调控、多种免疫细胞、细胞因子、抗体及补体参与的获得性免疫性疾病,主要对 NMJ 突触后膜上的信号传导造成影响,其中大部分由 AChR-Ab 介导,具有细胞免疫依赖性。MG 的主要临床表现为部分或全身骨骼肌无力和易疲劳,活动后明显加重,经抗胆碱酯酶药物治疗后可减轻,临床上多表现为晨轻暮重^[13-14]。流行病学调查^[15-16]显示,目前全世界范围约有 70 万 MG 患者,我国 MG 发病率约为 0.68/10 万。MG 在各个年龄阶段均可发病,并具有显著的性别特征,女性发病率为 0.76/10 万,高于男性的 0.60/10 万。现阶段关于 MG 的致病因素尚未完全明确,可能与患者自身免疫异常、环境及感染等多种因素相关。目前大部分学者认同携带易感基因的个体极易在环境因素的影响下出现免疫异常,致使机体产生相关抗体攻击 NMJ,引发骨骼肌无力。MG 不仅因为肌无力会对患者的运动造成影响,甚至残疾,随着病情的进展还会对患者的心脏功能产生不良影响,严重者甚至导致死亡。

AChR-Ab 是目前临床上应用最广泛的诊断 MG 的实验室指标。人类肌肉中存在两种类型的 AChR,胎儿型的亚基组成与成人型的亚基组成存在

差异。大多数 AChR-Ab 的病理表型为 IgG1、IgG3 亚型,两种亚型的 AChR-Ab 均可通过与突触后膜上的 AChR 相结合来激活补体级联反应,使突触后膜受体数量减少,进而阻断骨骼肌间神经信号的传导。本研究结果显示,MG 组患者血清 AChR-Ab 阳性率高于对照组,且 MG 组中全身型组患者 AChR-Ab 阳性率高于眼肌型组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。既往研究^[17-18]显示,超过 85% 的全身型 MG 患者和 50% 的眼肌型 MG 患者体内 AChR-Ab 含量均升高,与本研究结果一致。但是,本研究显示全身型组内 II A 型,II B 型,III 型 + IV 型患者之间血清 AChR-Ab 阳性率比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),可能与各亚组之间患者血清 AChR-Ab 阳性率均已较高有关。

在 MG 的发病过程中,除 AChR-Ab 之外,遗传因素、细胞因子、细胞免疫、自身抗体作用、补体作用及胸腺异常等多种因素参与。MG 患者血清中还可能存在兰尼碱受体钙释放通道抗体(RyR)、低密度脂蛋白受体相关蛋白 4(LRP4)抗体和骨骼肌受体酪氨酸激酶特异性抗体(Musk)异常,血清中检测不到抗体的患者称为血清抗体阴性 MG。同为骨骼肌抗体的 Titin-Ab 在 MG 患者中表现出更高的阳性^[19-20]。Titin 是所有已知的蛋白中较大的蛋白,相对分子质量为 3 000 kD,在肌纤维中起到构建蛋白、维持肌丝张力和拉力弹性等作用。大多数 Titin-Ab 抗体识别 titin 蛋白的特定区域。Titin-Ab 对 MG 的特异性和敏感性较高,对 MG 疾病诊断、治疗及预后评估均具有较高的临床价值^[21-22]。本研究结果显示,MG 组患者血清 Titin-Ab 阳性率高于对照组,但是,全身型组和眼肌型组患者之间,以及全身型组内 II A 型,II B 型,III 型 + IV 型患者之间血清 Titin-Ab 阳性率比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。既往研究发现伴有 MG 的胸腺瘤组织中存在 Titin mRNA 片段的表达,能编码 MIR 及 I 带抗原。这些抗原能致敏 T 淋巴细胞,正常胸腺组织中,致敏的 T 细胞能被清除,然而胸腺病变的组织中则可能引起 B 淋巴细胞的激活并产生抗体。这就证实了胸腺瘤组织中微环境的改变能引起自身免疫翻译清除机制发生障碍,产生 Titin 抗体。血清 Titin-Ab 可用于临床辅助 MG 诊断,有望成为早期诊断 MG 和评估 MG 预后情况的新型免疫性指标。

本研究结果显示,两指标联合诊断 MG 的灵敏度高于 AChR-Ab、Titin-Ab 单独诊断,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明血清 Titin-Ab、AChR-Ab 对 MG 均具有一定的诊断价值,两者联合检测可显著提高灵敏度,有利于辅助临床评估 MG 患者疾病严

重程度, 尽早采取相应措施防止病情进一步恶化。本研究还存在较大局限性, 样本量较小, 有待进一步扩大化研究验证结论, 另一方面本研究仅应用 ELISA 法检测相关指标, 后续研究中可采用放射免疫法、免疫印迹法等对指标进行多技术检测以提高检测结果准确性, 并明确以上指标对不同 MG 亚型的诊断价值。

综上所述, MG 患者血清 Titin-Ab 和 AChR-Ab 阳性率升高, 两指标联合检测时, 对 MG 诊断具有较高的灵敏度及准确率。

参考文献

[1] Farmakidis C, Pasnoor M, Dimachkie MM, et al. Treatment of myasthenia gravis[J]. *Neurologic Clinics*, 2018, 36(2): 311-337.

[2] Mantegazza R, Bernasconi P, Cavalcante P. Myasthenia gravis: From autoantibodies to therapy[J]. *Current Opinion in Neurology*, 2018, 31(5): 517-525.

[3] Martinez TS, Gmez MI, Martinez GR. Puesta al día en la miastenia gravis: An update on myasthenia gravis[J]. *Semergen*, 2018, 44(5): 351-354.

[4] 王梦, 崔新征, 赵卫浩, 等. 不同胸腺病理类型重症肌无力的临床特点[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2021, 56(6): 750-754.

[5] Hehir MK, Silvestri NJ. Generalized myasthenia gravis: Classification, clinical presentation, natural history, and epidemiology[J]. *Neurologic Clinics*, 2018, 36(2): 253-260.

[6] Tsukada S, Shimizu S, Fushimi K. Rocuronium reversed with sugammadex for thymectomy in myasthenia gravis: A retrospective analysis of complications from Japan[J]. *European Journal of Anaesthesiology*, 2021, 38(8): 850-855.

[7] Ciafaloni E. Myasthenia gravis and congenital myasthenic syndromes[J]. *Continuum (Minneapolis)*, 2019, 25(6): 1767-1784.

[8] 毕抓劲, 操亚云, 刘晨辰, 等. 重症肌无力合并自身免疫性脑炎两例临床分析并文献复习[J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2021, 28(4): 293-296.

[9] Di SV, Lupica A, Rispoli MG, et al. Rituximab in AChR subtype of myasthenia gravis: Systematic review[J]. *Journal of Neurology*

Neurosurgery and Psychiatry, 2020, 91(4): 392-395.

[10] 冉娟娟. 重症肌无力患者 AChR-Ab、Titin-Ab 和 Foxp3 + CD4 + CD25 + 调节性 T 细胞的临床研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2009.

[11] 耿英才, 宋宇, 张真铭, 等. TNIP1 在胸腺瘤患者重症肌无力发病中的作用[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2016, 33(5): 615-618.

[12] 常婷. 中国重症肌无力诊断和治疗指南(2020 版)[J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2021, 28(1): 1-12.

[13] Lotan I, Benninger F, Hellmann MA, et al. Incidence of AChR Ab-positive myasthenia gravis in Israel: A population-based study[J]. *Acta Neurologica Scandinavica*, 2020, 142(1): 66-73.

[14] Cetin H, Webster R, Liu WW, et al. Myasthenia gravis AChR antibodies inhibit function of rapsyn-clustered AChRs[J]. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry*, 2020, 91(5): 526-532.

[15] 张跃其, 时宝林, 张君, 等. 老年重症肌无力的研究进展[J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(3): 757-761.

[16] 乔彬彬, 谢琰臣, 李尧. 重症肌无力的流行病学研究进展[J]. *中华医学杂志*, 2013, 3(39): 3157-3159.

[17] 黄攀, 徐敏, 何晓英. 重症肌无力患者外周血清中 microRNA-27a、microRNA-21 的表达及其与 AChR-Ab、IL-6 的相关性研究[J]. *免疫学杂志*, 2019, 35(5): 416-421.

[18] 黄攀, 徐敏, 何晓英. 重症肌无力患者血清铁水平与 AChR-Ab、IL-6 的关系[J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2018, 25(6): 417-419, 429.

[19] 严进华, 高彩红, 陈中波, 等. 伴 Titin-Ab, RyR-Ab 阳性的不典型眼肌型重症肌无力 1 例报告并文献复习[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2021, 38(4): 364-365.

[20] Zhou Z, Chen X, Liu G, et al. Presence of multiple autoimmune antibodies involved in concurrent myositis and myocarditis and myasthenia gravis without thymoma: A case report[J]. *Frontiers in Neurology*, 2019, 16(10): 770.

[21] Gregersen PK, Kosoy R, Lee AT, et al. Risk for myasthenia gravis maps to a (151) Pro→Ala change in TNIP1 and to human leukocyte antigen-B*08[J]. *Annals of Neurology*, 2012, 72(6): 927-935.

[22] 蒋焦, 陈大琴. TNF- α 诱导蛋白 3 基因单核苷酸变异与支原体肺炎易感性及严重程度相关性研究[J]. *中国国境卫生检疫杂志*, 2021, 44(3): 188-193.

(收稿日期: 2021-10-25

修回日期: 2021-11-27)