

## 新诊断 2 型糖尿病患者 GADA 和 ZnT8A 自身抗体检测意义研究\*

赵长胜<sup>1</sup>, 董倩<sup>1</sup>, 张海涛<sup>1</sup>, 杨锡琴<sup>2</sup>, 赵照<sup>3</sup>, 王国华<sup>2</sup>, 赵琰枫<sup>2</sup>, 张贺秋<sup>2</sup>, 冯晓燕<sup>2</sup>

(1. 唐山市丰南区钱营中心卫生院, 河北唐山 063301;

2. 军事医学科学院基础医学研究所, 北京 100850; 3. 首都师范大学数科院, 北京 100048)

**摘要:**目的 分析新诊断 2 型糖尿病患者中谷氨酸脱羧酶自身抗体(GADA)和锌转运子 8 自身抗体(ZnT8A)阳性情况。方法 通过 ELISA 法检测 2014 年 5 月~10 月收集的 101 例新诊断 2 型糖尿病患者血清样本 GADA 和 ZnT8A 水平。结果 GADA 阳性率为 21.78%, ZnT8A 阳性率为 17.82%, 两种自身抗体共同阳性率为 8.91%, 且 GADA 和 ZnT8A 阳性与否与患者的性别( $t=-0.724, -0.550; 0.903, 1.359, P$  值均 $>0.05$ )、年龄( $r=-0.185, -0.158; 0.367, 0.084, P$  值均 $>0.05$ )、血糖( $r=0.290, 0.110; -0.264, -0.047, P$  值均 $>0.05$ )、胆固醇( $r=-0.047, 0.004; 0.154, -0.138, P$  值均 $>0.05$ )、三酰甘油( $r=-0.092, -0.054; -0.217, -0.023, P$  值均 $>0.05$ )、以及低密度脂蛋白( $r=-0.045, -0.027; 0.202, -0.025, P$  值均 $>0.05$ )水平不存在明显相关性。结论 为了早期诊断成人迟发型自身免疫性糖尿病患者, 应该对新诊断的 2 型糖尿病患者及时进行自身抗体的筛查。

**关键词:**新诊断 2 型糖尿病; 成人迟发型自身免疫性糖尿病; 谷氨酸脱羧酶自身抗体; 锌转运子 8 自身抗体

中图分类号: R587.1; R392.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)03-050-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.03.014

## Role of Detecting GADA and ZnT8A in Newly Diagnosed Type 2 Diabetes Patients

ZHAO Chang-sheng<sup>1</sup>, DONG Qian<sup>1</sup>, ZHANG Hai-tao<sup>1</sup>, YANG Xi-qin<sup>2</sup>,

ZHAO Zhao<sup>3</sup>, WANG Guo-hua<sup>2</sup>, ZHAO Yan-feng<sup>2</sup>, ZHANG He-qiu<sup>2</sup>, FENG Xiao-yan<sup>2</sup>

(1. Fengnan District Qianying Center Hospital, Hebei Tangshan 063301, China;

2. Institute of Basic Medical Sciences, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China;

3. Capital Normal University Mathematical Sciences, Beijing 100048, China)

**Abstract:** **Objective** To analysis the positive rates of glutamic acid decarboxylase autoantibody (GADA) and zinc transporter 8 autoantibody (ZnT8A) in newly diagnosed type 2 diabetes patients. **Methods** GADA and ZnT8A were detected in 101 cases of newly diagnosed type 2 diabetes mellitus patients using ELISA. **Results** The positive rate of GADA was 21.78%, the positive rate of ZnT8A was 17.82%, and the common positive rate of GADA and ZnT8A was 8.91%. There were no correlations between GADA or ZnT8A autoantibodies and the patient's sex ( $t=-0.724, -0.550; 0.903, 1.359, P>0.05$ ), age ( $t=-0.724, -0.550; 0.903, 1.359, P>0.05$ ), blood glucose ( $r=0.290, 0.110; -0.264, -0.047, P>0.05$ ), cholesterol ( $r=-0.047, 0.004; 0.154, -0.138, P>0.05$ ), triglyceride ( $r=-0.092, -0.054; -0.217, -0.023, P>0.05$ ), and low density lipoprotein ( $r=-0.045, -0.027; 0.202, -0.025, P>0.05$ ). **Conclusion** It should be screened autoantibodies timely for newly diagnosed type 2 diabetic patients in order to diagnosis the Latent autoimmune diabetes in adults early.

**Keyword:** newly diagnosed type 2 diabetes; latent autoimmune diabetes in adults; glutamic acid decarboxylase autoantibody; zinc transporter 8 autoantibody

糖尿病已经成为继心脑血管、癌症以外危害人类健康的第三大疾病。成人隐匿性免疫性糖尿病(latent autoimmune diabetes in adult, LADA)是成人发病的缓慢进展的自身免疫性糖尿病,其起病特点与 2 型糖尿病(T2DM)相似,其介于 1 型糖尿病和 2 型糖尿病之间,属于免疫介导型 1 型糖尿病

的亚型,其患病率约占初诊 2 型糖尿病患者的 5.9%~9.2%(患病率是 1 型糖尿病的 2 倍),其中胰岛  $\beta$  细胞功能衰退速度是 2 型糖尿病患者的 3 倍<sup>[1]</sup>。如果一旦确诊为 LADA,则应该立刻用胰岛素治疗,目的在于阻止自身免疫胰岛  $\beta$  细胞的损伤,促进自身胰岛素修复和分泌。如果未能及时确

\* 基金项目:十二五国家高技术研究发展计划(863 计划)课题,编号 2011AA02A113。

作者简介:赵长胜(1969—),男,大专,主治医师,从事全科医学, Tel: 15933424770, E-mail: 531177954@qq.com。

通讯作者:冯晓燕(1973—),女,博士,副研究员,主要研究方向为疾病诊断标志物筛选与诊断试剂研制, Tel: 13011821686, E-mail: xyfeng2002@126.com。

诊,还只是服用一些促进胰岛素分泌的药物,则会使剩余的胰岛 $\beta$ 细胞遭到彻底破坏,造成更严重的并发症。因此,对初诊2型糖尿病患者及早进行自身抗体筛查具有非常重要的意义<sup>[2]</sup>。本研究利用在国家863重大项目课题的资助下自主研发建立了谷氨酸脱羧酶自身抗体(glutamic acid decarboxylase autoantibody, GADA)<sup>[3]</sup>和锌转运子8自身抗体(zinc transporter 8 autoantibody, ZnT8A)<sup>[4]</sup>的ELISA检测方法,对2型糖尿病患者的自身抗体情况进行筛查,分析2型糖尿病患者中GADA和ZnT8A抗体的阳性率,以期对LADA患者的早期鉴别判断提供一些参考。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 101例新诊断的2型糖尿病患者血清样本来自唐山市丰南区钱营中心卫生院于2014年5月~10月门诊筛查餐前血糖的患者,其中男性36例,女性65例,平均年龄( $60.5 \pm 9.3$ )岁。均符合WHO1999年2型糖尿病诊断标准。研究对象均知情同意。

1.2 试剂与仪器 包被酶联板所用GAD抗原和ZnT8为军事医学科学院基础医学研究所制备<sup>[3,4]</sup>,辣根过氧化物酶标记的抗人IgG购自Sigma公司,货号A0170。全自动酶标洗板机(ZM988B)和自动化酶免分析仪(SM-3)购自北京天石医疗用品制作所。

1.3 ELISA法检测血清标本中的GADA和

ZnT8A 血清样本中GADA和ZnT8A抗体ELISA检测方法参考文献[3,4],具体步骤如下:分别用碳酸盐缓冲液(pH9.6)溶解GAD65抗原和ZnT8为5  $\mu\text{g/ml}$ ,包被酶联板,4℃过夜,次日用1 g/dl BSA封闭,干燥备用。将待测血清20倍稀释后,37℃孵育30 min后洗板,加入辣根过氧化物酶标记的抗人IgG,37℃孵育20 min后洗板,显色剂显色10 min,读取 $A_{450\text{ nm}}$ 处吸光度值,Cutoff=0.2,测定值大于Cutoff值判定为阳性,测定值小于Cutoff值判定为阴性。

1.4 统计学分析 采用SPSS16.0软件进行统计学分析,计数资料用构成比表示,比较采用成组 $t$ 检验;计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,相关性分析采用Pearson检验或Fisher精确检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 新诊断2型糖尿病患者血清中GADA和ZnT8A阳性率 101例2型糖尿病患者血清样本GADA阳性为22例(Cutoff值 $> 0.2$ ),阳性率为21.78%;ZnT8A阳性为18例(Cutoff值 $> 0.2$ ),阳性率为17.82%;两种自身抗体共同阳性为9例,阳性率为8.91%,其中有5例为GADA自身抗体和/或ZnT8A自身抗体强阳性患者。

2.2 自身抗体阳性组和自身抗体阴性组其它指标的比较 见表1。

表1 自身抗体阳性组和自身抗体阴性组临床特征比较[ $\bar{x} \pm s$ ( $P$ 值)]

项 目	GADA		ZnT8A		共同阳性
	阳性	阴性	阳性	阴性	
性别(男/女)	7/15(0.477)	29/50(0.584)	6/12(0.379)	30/53(0.178)	3/6(1.000)
年龄(岁)	$60.68 \pm 8.66(0.409)$	$60.53 \pm 9.53(0.164)$	$60.72 \pm 8.44(0.111)$	$60.53 \pm 9.53(0.457)$	$60.11 \pm 8.19(0.789)$
血糖(mmol/L)	$10.34 \pm 1.47(0.191)$	$10.41 \pm 1.65(0.333)$	$10.66 \pm 1.46(0.260)$	$10.33 \pm 1.64(0.679)$	$11.06 \pm 1.75(0.189)$
胆固醇(mmol/L)	$5.31 \pm 1.37(0.835)$	$5.20 \pm 1.28(0.972)$	$5.51 \pm 1.30(0.517)$	$5.17 \pm 1.29(0.218)$	$5.29 \pm 1.28(0.884)$
三酰甘油(mmol/L)	$1.61 \pm 1.24(0.685)$	$1.80 \pm 1.44(0.638)$	$1.85 \pm 1.38(0.359)$	$1.74 \pm 1.41(0.839)$	$1.57 \pm 1.26(0.663)$
低密度脂蛋白(mmol/L)	$1.15 \pm 0.55(0.843)$	$1.40 \pm 1.16(0.810)$	$1.62 \pm 1.51(0.393)$	$1.29 \pm 0.94(0.821)$	$1.30 \pm 0.71(0.792)$

GADA单独阳性或者ZnT8A单独阳性,或者两种自身抗体同时阳性均与患者的性别、年龄、血糖、胆固醇、三酰甘油,以及低密度脂蛋白的水平不存在明显的相关性( $P > 0.05$ )。

3 讨论 成人隐匿性免疫性糖尿病(LADA)患者虽然也是成年人,但并不是“真正的”2型糖尿病,而是1型糖尿病的一种,是成人发病的缓慢进展的自身免疫性糖尿病。LADA的进展在临床上分为两个阶段:①非胰岛素依赖期:临床表现与2型糖尿病相似,但三多一少症状较典型2型糖尿病明显,发病6个月内无酮症,血浆C肽水平较低,血

糖短期内可用饮食和(或)口服降糖药控制。②胰岛素依赖期:自起病后半年至数年后,出现胰岛 $\beta$ 细胞功能进行性损伤,患者出现口服降糖药断发失效,最终依靠胰岛素治疗,并出现酮症倾向。

2005年国际糖尿病免疫学会对LADA定义作了如下规范:①糖尿病诊断年龄 $\geq 30$ 岁。②体内至少有一种胰岛自身抗体阳性。③糖尿病诊断半年内不依赖胰岛素治疗<sup>[5]</sup>。因此,胰岛自身抗体阳性是诊断LADA患者的重要参考标准。据文献报道,LADA患者自身抗体以GADA和ICA阳性为主,IAA,ZnT8A和IA-2A阳性率较低,多种抗

体同时阳性的比例更低;而在1型糖尿病患者中上述5种抗体的阳性率均较高,且常伴有多种抗体阳性<sup>[6,7]</sup>。

谷氨酸脱羧酶(GAD)是催化谷氨酸脱羧生成 $\gamma$ -氨基丁酸的酶,由分泌 $\gamma$ -氨基丁酸的神经细胞和非神经组织如胰腺的胰岛 $\beta$ 细胞合成的酶。哺乳类动物中GAD有两种异形体,即GAD65和GAD67,但是大多数1型糖尿病病人中的自身抗体反应局限于GAD65特异性表位<sup>[8]</sup>。LADA和1型糖尿病自身免疫性抗体所针对的抗原表位存在差异。LADA患者针对N-端表位的GADA比例明显高于1型糖尿病(20%和5%),而针对GAD中段或C端抗原表位的抗体比例低于1型糖尿病(65%和90%)<sup>[5]</sup>。锌转运子T8(zinc transporter 8, ZnT8)为膜蛋白,是胰岛 $\beta$ 细胞高度特异的,近年来被证实ZnT8A也是一个重要的1型糖尿病标记物,与其它几种自身抗体联合检测有助于提高检出率和确诊率<sup>[9]</sup>。

在本研究中,我们对101例新诊断2型糖尿病患者血清样本的GADA和ZnT8A水平进行了检测,结果显示21.78%的患者呈现GADA阳性,17.82%的患者呈现ZnT8A阳性,8.91%的患者呈现两种自身抗体同时阳性。GADA阳性率高于ZnT8A阳性率,双阳性患者所占比率较低,接近文献报道的LADA患病率约占初诊2型糖尿病患者约10%的比例<sup>[2,10]</sup>。而且,GADA阳性和/或ZnT8A阳性与否与患者的性别、年龄、血糖、胆固醇、三酰甘油,以及低密度脂蛋白的水平不存在明显的相关性,这也说明这种自身免疫性糖尿病的隐匿性。对于自身抗体阳性,尤其是双阳性的患者应密切观察,及时修改治疗方案<sup>[11]</sup>。

因此,对于体检筛查血糖高的人员,以及新诊断的2型糖尿病患者,应及时进行自身抗体的筛查,有助于LADA患者早期发现、早期诊断和早期治疗,避免胰岛细胞进一步破坏,改善患者治疗效果,提高患者生活质量。从长远发展来讲,可以节约医疗资源,具有重要经济意义。

#### 参考文献:

- [1] Zhou ZG, Xiang YF, Ji L, et al. Frequency, immunogenetics, and clinical characteristics of latent autoimmune diabetes in China (LADA China study): a nationwide, multicenter, clinic-based cross-sectional study[J]. *Diabetes*, 2013, 62(2): 543-550.
- [2] 鲁郡, 侯旭宏, 贾伟平. 成人迟发型自身免疫性糖尿病发病机制研究进展[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2014, 34(4): 546-550.  
Lu J, Hou XH, Jia WP. Advances of pathogenesis of latent autoimmune diabetes in adults[J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University (Medical Science)*, 2014, 34(4): 546-550.
- [3] 宋晓国, 张贺秋, 王国华, 等. 人重组谷氨酸脱羧酶65基因的克隆表达及其在1型糖尿病诊断中的初步应用[J]. *中华糖尿病杂志*, 2010, 2(1): 24-28.  
Song XG, Zhang HQ, Wang GH, et al. Cloning, expression and diagnostic application for type 1 diabetes mellitus of human glutamic acid decarboxylase 65 gene[J]. *Chinese Journal of Diabetes Mellitus*, 2010, 2(1): 24-28.
- [4] 冯晓燕, 宋晓国, 王国华, 等. 人ZnT8抗原在1型糖尿病诊断中的初步应用[J]. *中国实验诊断学*, 2011, 15(1): 102-106.  
Feng XY, Song XG, Wang GH, et al. The application for type 1 diabetes mellitus of human zinc transporter ZnT8 antigen[J]. *Chinese Journal of Laboratory Diagnosis*, 2011, 15(1): 102-106.
- [5] Palmer JP, Hampe CS, Chiu H, et al. Is latent autoimmune diabetes in adults distinct from type 1 diabetes or just type 1 diabetes at an older age? [J]. *Diabetes*, 2005, 54( Suppl 2): S62-S67.
- [6] Naik RG, Brooks-Worrell BM, Palmer JP. Latent autoimmune diabetes in adults [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009, 94(12): 4635-4644.
- [7] Huang G, Xiang YF, Pan LL, et al. Zinc transporter 8 autoantibody (ZnT8A) could help differentiate latent autoimmune diabetes in adults (LADA) from phenotypic type 2 diabetes mellitus [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2013, 29(5): 363-368.
- [8] Ujihara N, Daw K, Gianani R, et al. Identification of glutamic acid decarboxylase autoantibody heterogeneity and epitope regions in type I diabetes [J]. *Diabetes*, 1994, 43(8): 968-975.
- [9] Wenzlau JM, Juhl K, Yu LP, et al. The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(43): 17040-17045.
- [10] 吴敏, 杨宏山, 黄淑玉. 新诊断2型糖尿病患者谷氨酸脱羧酶抗体、胰岛细胞抗体和胰岛素自身抗体联合筛查成人隐匿性自身免疫性糖尿病的意义[J]. *中国糖尿病杂志*, 2013, 21(11): 1018-1020.  
Wu M, Yang HS, Huang SY. The role of combinedly detecting GADA, ICA and IAA in screening LADA in newly diagnosed type 2 diabetes patients [J]. *Chinese Journal of Diabetes*, 2013, 21(11): 1018-1020.
- [11] 曾东良, 姜焕好. 自身抗体检测作为体检项目的预警价值[J]. *检验医学与临床*, 2014, 11(9): 1262-1263, 1266.  
Zeng DL, Jiang HH. Autoantibodies as an early warning of the value of medical items [J]. *Laboratory Medicine and Clinic*, 2014, 11(9): 1262-1263, 1266.