DOI:10.16016/j.2097-0927.202208201

抗水通道蛋白抗体 1 和 5 在原发性干燥综合征的诊断价值

王小宇[1],吴 红[2],王 勇[1],张利改[2],钟 兵[1] 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院:风湿免疫科[1],检验科[2]

[**摘要**] **目的** 探索抗水通道蛋白抗体 1(anti-AQP1)及 5(anti-AQP5)在原发性干燥综合征(primary Sjögren's syndrome,pSS)中的诊断价值及与临床的相关性,寻找新的有助于诊断的潜在生物标记物。**方法** 采用横断面研究设计方案,收集 2021 年 9 月至 2022 年 3 月就诊于陆军军医大学第一附属医院风湿免疫科的 pSS 患者 70 例作为观察组,其他结缔组织疾病患者 67 例及来自体检中心的健康人 39 例作对照组,采取酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清中 anti-AQP1 和 anti-AQP5 的水平;同时收集患者的干燥综合征疾病活动指数(EULAR Sjögren's syndrome disease activity index,ESSDAI)评分、抗核抗体、抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体、抗 Ro52 抗体、ds-DNA、类风湿因子、胞衬蛋白抗体的临床检测数据,应用 χ^2 检验分析二者相关性。**结果** 血清 anti-AQP1 水平在 pSS 组及对照组间无统计学差异($P>0.05$)。pSS 组 anti-AQP5 水平[26.41(24.05, 28.08)ng/mL]明显高于对照组[7.63(5.49, 10.29)ng/mL,$P<0.05$]。ROC 曲线显示 anti-AQP1 曲线下面积为 0.523($P>0.05$),灵敏度为 0.371,特异度为 0.726。Anti-AQP5 曲线下面积为 0.915($P<0.05$),灵敏度为 0.957,特异度为 0.821。anti-AQP5 与抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体、抗 Ro52 抗体、抗核抗体、类风湿因子之间存在正相关性($P<0.05$)。anti-AQP5 水平与 pSS 患者的 ESSDAI 疾病活动度评分之间无相关性($P>0.05$)。**结论** 血清 anti-AQP5 水平在 pSS 中明显增加,灵敏度为 95.7%,特异度为 82.1%,与临床具有一定相关性,具有较高潜在诊断价值。

[**关键词**] 原发性干燥综合征;抗水通道蛋白抗体;灵敏度;特异度;诊断价值
[**中图法分类号**] R442.8;R446.12;R593.2 [**文献标志码**] A

Diagnostic value of aquaporin 1 and 5 antibodies in primary Sjögren's syndrome

WANG Xiaoyu[1], WU Hong[2], WANG Yong[1], ZHANG Ligai[2], ZHONG Bing[1] [1]Department of Rheumatology and Immunology, [2]Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the diagnostic value and clinical relevance of antibodies against aquaporin-1 (anti-AQP1) and aquaporin-5 (anti-AQP5) in primary Sjögren's syndrome (pSS), and investigate new potential biomarkers that can contribute to the diagnosis. **Methods** A prospective cohort trial was conducted on 70 patients with pSS (pSS group), 67 patients with other connective tissue diseases and 39 healthy individuals admitted to Department of Rheumatology and Immunology of our hospital from September 2021 to March 2022. The patients with other connective tissue diseases and healthy individuals were assigned into the control group. The contents of anti-AQP1 and anti-AQP5 were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Meanwhile, EULAR Sjögren's syndrome disease activity index (ESSDAI) score, and levels of anti-nuclear antibody, anti-SSA antibody, anti-SSB antibody, anti-Ro52 antibody, ds-DNA, rheumatoid factor and fodrin were collected and analyzed with *Chi*-square test for correlation. **Results** No

[**基金项目**] 重庆市科卫联合中医药重点项目(ZY201801010)
[**通信作者**] 王 勇,E-mail:wangyongjhy@126.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

statistical difference was observed in the level of anti-AQP1 between the pSS group and control group ($P>0.05$), but the level of anti-AQP5 was significantly higher in the pSS group than the control group [26.41 (24.05, 28.08) *vs* 7.63 (5.49, 10.29) ng/mL, $P<0.05$]. ROC curve analysis showed that the area under the curve of anti-AQP1 was 0.523 ($P>0.05$), with a sensitivity of 0.371 and a specificity of 0.726. While, the area under the curve of anti-AQP5 was 0.915 ($P<0.05$), with a sensitivity of 0.957 and a specificity of 0.821. The anti-AQP5 level was positively correlated with the levels of anti-SSA antibody, anti-SSB antibody, anti-Ro52 antibody, anti-nuclear antibody and rheumatoid factor ($P<0.05$), but had no correlation with ESSDAI score in the pSS patients ($P>0.05$). **Conclusion** The serum level of anti-AQP5 is significantly increased in pSS patients, with a sensitivity of 95.7% and a specificity of 82.1%, and is associated with clinical practice and of high potential diagnostic value.

[**Key words**] primary Sjögren's syndrome; anti-aquaporin antibody; sensitivity; specificity; diagnostic value

Supported by the Key Joint Project for Traditional Chinese Medicine of Chongqing Science and Health Commission and Chongqing Health Commission (ZY201801010). Corresponding author: WANG Yong, E-mail: wangyongjhy@126.com.

原发性干燥综合征(primary Sjögren's syndrome, pSS)是一种以外分泌腺淋巴细胞增殖浸润导致腺体功能障碍为特征的慢性、系统性自身免疫性疾病。临床上主要表现为干燥性角结膜炎和口腔干燥症,并可导致多系统重要脏器损害[1]。该病在我国的患病率为0.33%~0.77%[2],其中女性多见,是仅次于类风湿关节炎的危害人类健康的第二大自身免疫性疾病。pSS的发病机制目前尚未明确,有确切证据证实外周血T细胞减少、B细胞过度增殖是pSS病人免疫异常的最突出特点,异常增殖的B细胞分化为浆细胞,产生大量免疫球蛋白及自身抗体。随着诊断标准的演进,2016美国风湿病学会(ACR)/欧洲抗风湿病联盟(EULAR)标准中被纳入诊断的自身抗体只有抗SSA抗体[3],但抗SSA抗体仅在50%~70%的SS患者中出现[4],有部分患者仍表现为血清阴性,这往往容易导致漏诊,因此寻找新的自身抗体作为诊断标记物以协助临床提高诊断率尤为重要。水通道蛋白(aquaporins, AQP)广泛表达于外分泌腺中,迄今为止,在哺乳动物细胞膜上已发现13种水通道蛋白,并且已证实AQP5在唾液分泌中起着关键作用[5]。在自身免疫性疾病视神经脊髓炎患者的血清中发现了抗AQP4抗体,并且抗AQP4抗体的致病作用已得到证实[6]。因此我们推测抗AQP抗体与pSS发病也有一定关系,目前国内尚无关于抗AQP抗体与pSS的文献报道,为了寻找新的有助于诊断的潜在生物标记物,本研究首次在国内探索了抗水通道蛋白抗体1和5在pSS中的诊断价值及临床相关性。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究采用横断面研究设计方案,所有研究对象来自2021年9月至2022年3月就诊于陆军军医大学第一附属医院风湿免疫科患者及体检中心健康成人。其中试验组为诊断明确的pSS患者,均符合2016年ACR/EULAR原发性干燥综合征分类诊断标准[3],且除外合并其他结缔组织疾病、急慢性感染、严重免疫缺陷病及恶性肿瘤患者;试验对照组为其他结缔组织病患者和健康人,除外合并干燥综合征、急慢性感染、免疫缺陷病及恶性肿瘤者。最终共纳入研究对象176例,其中pSS患者70例、其他结缔组织病患者67例和健康人39例。本研究经陆军军医大学第一附属医院伦理委员会批准[(A)KY2021075],所有研究对象自愿参加并签署书面知情同意书。

1.2 人anti-AQP1、anti-AQP5血清水平ELISA的检测

收集研究对象外周血,分离血清分装冻存。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测研究对象血清中anti-AQP1、anti-AQP5含量(ELISA试剂盒均购自江苏晶美生物科技有限公司,批号为JM-5179H1、JM-5176H1)。操作步骤如下:设置标准品孔和样本孔,标准品孔各加不同浓度的标准品50 mL。分别设空白孔、待测样品孔,在酶标包被板上待测样品孔中先加样品稀释液40 μL,再加待测样品10 μL。除空白孔外每孔加入酶标试剂100 μL。用封板膜封板后置37 ℃温育60 min。配液:将20倍浓缩洗涤液用蒸馏水20倍稀释后备用。揭掉封板膜,弃去液体,甩干,每孔加满洗涤液,静置

30 s 后弃去,重复 5 次,拍干。每孔先加入显色剂 A 50 μL,再加入显色剂 B 50 μL,37 ℃避光显色 15 min。每孔加终止液 50 μL,终止反应。以空白孔调零,450 nm 波长依序测量各孔的吸光度 D(450)值。绘制标准曲线,按曲线方程计算各组 anti-AQP1、anti-AQP5 样本浓度值(ng/mL)。

1.3 患者的实验室检验数据及干燥综合征疾病活动指数(EULAR Sjögren's syndrome disease activity index,ESSDAI)评分

收集患者的临床资料,包含:抗核抗体(ANA)、抗 SSA 抗体(anti-SSA)、抗 SSB 抗体(anti-SSB)、抗 Ro52 抗体(anti-Ro52)、ds-DNA、类风湿因子(RF)、胞衬蛋白抗体等实验室检验数据。各项检验数据均在陆军军医大学第一附属医院检验科按相应的方法检测。每名 pSS 患者就诊时行 1 次 ESSDAI 评估。ESSDAI 在临床中被用作衡量干燥综合征疾病活动度的金标准,ESSDAI 评估表包括 12 个受累部位,即全身症状(发热、体重)、淋巴结、腺体、关节、皮肤、肺、肾、肌肉、外周神经、中枢神经、血液系统及血清学变化,每个受累部位分 3 或 4 个疾病活动水平(不活动、轻度活动、中度活动、重度活动)[7]。根据受累部位所占权重及疾病活动水平计算最终总评分。ESSDAI<5 为低度活动、5≤ ESSDAI≤13 为中度活动,ESSSDAI≥14 为高度活动[8]。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 26.0 统计软件分析数据。计量资料服从正态分布以 $\bar{x}\pm s$ 表示;非正态分布数据以 $M(P_{25},P_{75})$表示,组间比较采用 Mann-Whitney U 秩和检验。计量资料相关性采用 Spearman 分析。计数资料用率表示,相关性分析采用四格表资料的 Pearson χ^2 检验,用 Phi 系数 r 表示相关程度大小。临床诊断价值分析采用绘制受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve,ROC 曲线),计算最佳临界值、灵敏度(sensitivity)、特异度(specificity)、阳性预测值(positive predictive value,PPV;反映待评价诊断方法结果为阳性者中患病的可能性)、阴性预测值(negative predictive value,NPV;反映待评价诊断方法结果为阴性者中未患病的可能性)、曲线下面积(area under the cure,AUC;值越大,说明待评价诊断方法预测准确性越高)、约登指数(灵敏度和特异度之和减 1,指数越大,表示待评价诊断方法越好)。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象一般情况

将 176 例研究对象分为 pSS 组和对照组,pSS 组为 70 例 pSS 患者;对照组共 106 例,包括其他结缔组织病 67 例和健康人 39 例。其他结缔组织病患者包括类风湿关节炎 25 例、系统性红斑狼疮 13 例、未分化结缔组织病 9 例、系统性硬化症 7 例、混合性结缔组织病 3 例、多发性肌炎 3 例、皮肌炎 2 例、IgG4 相关性疾病 1 例、成人 STILL 病 1 例、大动脉炎 1 例、抗合成酶综合征 1 例、自身免疫性间质性肺炎 1 例。各组基本资料见表 1。

表 1 研究对象一般情况 [$\bar{x}\pm s$,例,$M(P_{25},P_{75})$]

组别	n	年龄/岁	女性/例	男性/例	病程/年
pSS 组	70	47.3±10.7	65	5	3.0(4.0,6.0)
病例对照组	67	49.2±13.8	56	11	3.0(1.2,4.0)
健康对照组	39	41.8±11.6	29	10	—

2.2 人血清 anti-AQP1、anti-AQP5 水平及诊断价值比较

ELISA 法检测 pSS 组(n=70)和对照组(n=106)anti-AQP1、anti-AQP5 水平,结果显示:pSS 组和对照组 anti-AQP1 水平分别为 27.11(18.74,28.89)、26.46(22.91,28.18) ng/mL,两组差异无统计学意义(Z=−512,P=0.608,图 1A)。pSS 组和对照组 anti-AQP5 水平分别为 26.41(24.05,28.08)、7.63(5.49,10.29) ng/mL,pSS 组 anti-AQP5 含量明显高于对照组,两组差异有统计学意义(Z=−9.312,P=0.000,图 1B)。为进一步探索其临床诊断价值,绘制了 ROC 曲线(表 2),分析显示:Anti-AQP1 曲线下面积为 0.523,95%CI:0.433~0.613,P=0.608(图 2A),约登指数为 0.098,最佳临界值为 28.110 ng/ mL,灵敏度为 0.371,特异度为 0.726,PPV 为 0.473,NPV 为 0.636。Anti-AQP5 曲线下面积为 0.915,95%CI:0.870~0.961,P=0.000(图 2B),约登指数为 0.778,最佳临界值为 14.810 ng/mL,灵敏度为 0.957,特异度为 0.821,PPV 为 0.779,NPV 为 0.967。

表 2 anti-AQP1、anti-AQP5 ROC 曲线分析

ROC 曲线	AUC	*P*	95%*CI*	约登指数	临界值	灵敏度	特异度	PPV	NPV
Anti-AQP1	0.523	0.608	0.433~0.613	0.098	28.110	0.371	0.726	0.473	0.636
Anti-AQP5	0.915	0.000	0.870~0.961	0.778	14.810	0.957	0.821	0.779	0.967

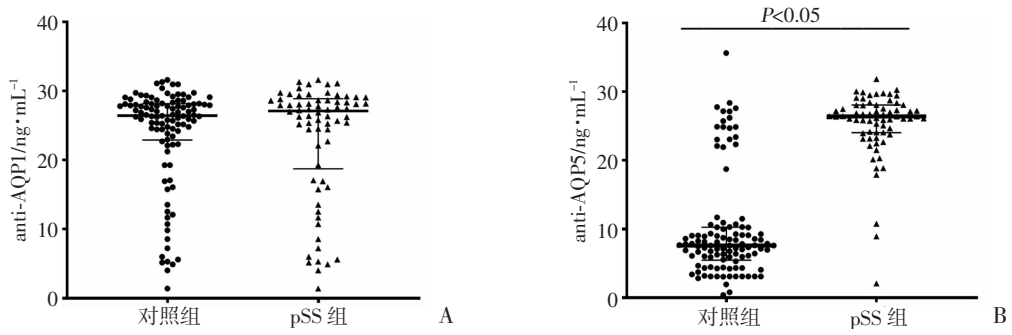


图 1 2 组被试 anti-AQP1(A)与 anti-AQP5(B)血清水平的比较

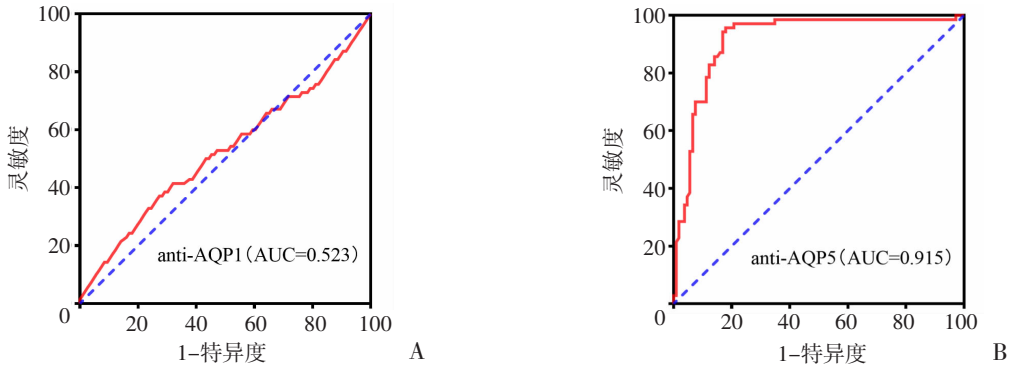


图 2 anti-AQP1(A)与 anti-AQP5(B)的 ROC 曲线图

2.3 anti-AQP5 与临床诊断指标及 ESSDAI 疾病活动度评分的相关性

在 70 例 pSS 患者及 67 例其他结缔组织病患者中,以 anti-AQP5 最佳临界值(14.810 ng/mL)为分界点,用 χ^2 检验分析 anti-AQP5 与各临床诊断指标的相关性,结果显示:anti-AQP5 与 anti-SSA、anti-Ro52 之间存在显著意义的正相关性($r=0.440$, $P=0.000$; $r=0.476$, $P=0.000$)。anti-AQP5 与 anti-SSB、ANA、RF 之间存在较弱的正相关性($r=0.338$, $P=0.000$; $r=0.203$, $P=0.018$; $r=0.196$, $P=0.022$)。而 anti-AQP5 与 ds-DNA、胞衬蛋白抗体之间无相关性($P=0.483$, $P=0.752$,表 3)。在 70 例 pSS 患者中,ESSDAI 疾病活动度评分为(10.64±5.66)分,8 例属低度活动,42 例属中度活动,20 例属高度活动,anti-AQP5 水平与 ESSDAI 疾病活动度评分之间无相关性($r=-0.185$, $P=0.126$)。

3 讨论

目前 pSS 的诊断是基于口腔、眼部的主观症状以及泪腺、唾液腺、血清学和组织病理学等客观检查在内的多项指标的综合性评估。pSS 症状具有主观性,诊断大多延迟,研究发现 pSS 患者出现症状与明确诊断的间隔中位时间为 115 周,其中女性的 pSS 诊断延迟时间明显多于男性,分别为 155 和 113 周,其中 65 岁以上的女性患者长达 198 周[9],且症状的主观严重程度与客观检查严重程度具有不一致性[10]。Schirmer 试验和角结膜染色作为 pSS 公认的诊断指标,迄今为止仍具有不可替代的重要诊断作用。然而,Schirmer 试验诊断 pSS 的灵敏度及特异度低,诊断效能较差[11]。相比之下,角结膜染色评分有更加可靠的诊断价值,研究显示眼表染色评分可靠性高,可以较全面地评估眼部损伤[12],但该试验易受操作者和受试者变异

表 3 Pearson χ^2 检验分析 anti-AQP5 与各临床诊断指标的相关性[例(%)]

临床指标	n	抗水通道蛋白 5 抗体浓度(ng/mL)		χ^2	r	P
		≥14.810(n=86)	<14.810(n=51)			
anti-SSA						
阳性	93	72(83.7)	21(41.2)	26.579	0.440	0.000
阴性	44	14(16.3)	30(58.8)			
anti-SSB						
阳性	43	38(44.2)	5(9.8)	17.574	0.338	0.000
阴性	94	48(55.8)	46(90.2)			
ANA						
阳性	97	67(77.9)	30(58.8)	5.640	0.203	0.018
阴性	40	19(22.1)	21(41.2)			
anti-Ro52						
阳性	91	72(83.7)	19(37.3)	30.993	0.476	0.000
阴性	46	14(16.3)	32(62.7)			
RF						
阳性	46	35(40.7)	11(21.6)	5.253	0.196	0.022
阴性	91	51(59.3)	40(78.4)			
ds-DNA						
阳性	46	27(31.4)	19(37.3)	0.493	−0.060	0.483
阴性	91	59(68.6)	32(62.7)			
胞衬蛋白						
阳性	7	4(4.7)	3(5.9)	0.000	−0.027	0.752
阴性	130	82(95.3)	48(94.1)			

性的影响[13]。唾液流率检查操作无创简便快速,被广泛应用于临床,然而其诊断 pSS 的最有效阈值仍具有争议,难以确立其统一值[14],并且病理组织学特征与唾液流率之间的相关性一般[15]。唇腺活检诊断 pSS 的敏感性为 63.5%至 93.7%,特异性为 61.2%至 100%[16],但有可能出现并发症,微创技术组和线性切口永久性或潜在永久性神经系统不良事件的合并率分别为 0.17%和 1.45%[17]。此外,组织学检查结果的特异性和敏感性的变化以及临床医生和组织病理学家对操作者的高度依赖性是公认的问题,已经有人试图在 pSS 分类诊断中提供标准化唇唾腺组织病理学报告,但仍缺乏支持证据,需要进一步研究[18]。相比之下,血清学自身抗体的检测在 pSS 诊断中的优势显得较为突出。

目前主要应用于 pSS 临床诊疗中的 4 种经典自身抗体包括 ANA、抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体和 RF。研究者在 117 名 pSS 患者中发现有 81%在确诊前至少 18 到 20 年出现 ANA、RF 以及抗 SSA、SSB 的抗体[19];其中抗 SSA、SSB 抗体被用于诊断标准中,抗 SSA 抗体仅在 50%~70%的 SS 患者中出现[4],抗 SSA 抗体可单独或伴抗 SSB 抗体同时出现,抗 SSB 抗体敏感性较低,且抗 SSB 抗体阳性与阴性者相比,临床特征没有差异[20],提示抗 SSB 抗体对 pSS 诊断价值不大。在 2016 年 ACR/EULAR 制定的 pSS 分类标准中[3],被纳入诊断的自身抗体只有抗 SSA 抗体,但仅靠敏感度不高的抗 SSA 抗体作为血清学诊断指标远不能满足临床需求,目前关于 pSS 新型自身抗体的研究层出不穷,其中抗水通道蛋白抗体与 pSS 发病密切相关[5],被认为可作为最具潜力的指标之一。

水通道蛋白家族是特异性跨膜转运水的一组蛋白,能显著增加细胞膜水的通透性,参与水的分泌、吸收及细胞内外水的平衡,在哺乳动物细胞膜上已发现 13 种水通道蛋白(AQP0-12),其中 AQP5 广泛分布于外分泌腺中,对唾液的产生至关重要,与 pSS 发病机制密切相关[5]。研究者在 pSS 患者中发现有 38.2%检测出多种抗 AQP 抗体,而健康人和其他自身免疫性疾病患者中没有一人检测出抗 AQP 抗体,并且有抗 AQP 抗体的患者干眼症更加严重[21],这表明这些抗体具有潜在的致病作用。有文献报道,在 53 个对照组和 112 个 pSS 样本组中,间接免疫荧光分析发现 SS 样本中的抗

AQP5IgG 抗体水平显著高于对照组,敏感性为 0.73,特异性为 0.68,并且还发现抗 AQP5 抗体与 SS 患者的低静息唾液流量有关[22]。相比之下,仅 27.7%的 SS 中检测到抗 AQP1 抗体[23]。分别通过细胞免疫荧光分析法和 ELISA 法检测抗 AQP5IgG 抗体,结果提示两种不同方法的诊断性能相当(AUC:0.703/0.695,精确度:0.690/707),此外,抗 AQP5 IgG 抗体与 SS 的血清学和组织病理学特征有关[24]。

本研究通过 ELISA 法检测血清中抗 AQP1、AQP5 抗体水平,结果在 pSS 组(70 例)与对照组(包括其他结缔组织疾病 67 例和健康人 39 例)中,两组抗 AQP1 抗体表达水平无统计学差异。pSS 患者中抗 AQP5 抗体表达水平明显升高,灵敏度为 95.7%,特异度为 82.1%;抗 AQP5 抗体与抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体、抗 Ro52 抗体、ANA、RF 之间存在正相关性,抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体、ANA、RF 均为 pSS 的早期诊断标记物[19],提示抗 AQP5 抗体或许在疾病早期就已出现,或许可成为早期筛查诊断标记物,且本研究结果示抗 AQP5 抗体较抗 SSA 抗体有更高的灵敏度,可弥补 SSA 抗体在 SS 患者中检出率较低(50%~70%)的缺陷,联合应用或可提高诊断率。anti-AQP5 与 ESSDAI 疾病活动度评分之间无统计学相关性,提示 anti-AQP5 表达水平不受疾病活动度影响。这些数据显示抗 AQP5 抗体在 pSS 中具有较高潜在临床诊断价值。

总之,抗 AQP5 抗体灵敏度及特异度较好,具有潜在的临床诊断价值,有望成为 pSS 新的生物标记物,并为治疗提供新的思路。下一步,我们将扩大样本量进行深入的分析验证,以得出更加准确的结论。

参考文献:

[1] MARIETTE X, CRISWELL L A. Primary Sjögren's syndrome[J]. N Engl J Med, 2018, 379(1): 97. DOI: 10.1056/NEJMc1804598.

[2] 张文, 厉小梅, 徐东, 等. 原发性干燥综合征诊疗规范[J]. 中华内科杂志, 2020, 59(4): 269-276.
ZHANG W, LI X M, XU D, *et al*. Recommendations of diagnosis and treatment of primary Sjogren's syndrome in China[J]. Chin J Intern Med, 2020, 59(4): 269-276.

[3] SHIBOSKI C H, SHIBOSKI S C, SEROR R, *et al*. 2016 American college of rheumatology/European league against rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome: a consensus and data-driven methodology involving three international patient cohorts[J]. Arthritis Rheumatol, 2017, 69(1): 35-45. DOI: 10.1002/art.39859.

[4] BRITO-ZERÓN P, ACAR-DENIZLI N, NG W F, *et al*. How immunological profile drives clinical phenotype of primary Sjögren's syndrome at diagnosis: analysis of 10, 500 patients (Sjögren Big Data Project)[J]. Clin Exp Rheumatol, 2018, 36 Suppl 112(3): 102-112.

[5] SOYFOO M S, CHIVASSO C, PERRET J, *et al*. Involvement of aquaporins in the pathogenesis, diagnosis and treatment of Sjögren's syndrome[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(11): 3392. DOI: 10.3390/ijms19113392.

[6] LUCCHINETTI C F, GUO Y, POPESCU B F, *et al*. The pathology of an autoimmune astrocytopathy: lessons learned from neuromyelitis optica[J]. Brain Pathol, 2014, 24(1): 83-97. DOI: 10.1111/bpa.12099.

[7] SEROR R, BOWMAN S J, BRITO-ZERON P, *et al*. EULAR Sjogren's syndrome disease activity index (ESSDAI): a user guide[J]. RMD Open, 2015, 1(1): e000022. DOI: 10.1136/rmdopen-2014-000022.

[8] SEROR R, BOOTSMA H, SARAUX A, *et al*. Defining disease activity states and clinically meaningful improvement in primary Sjögren's syndrome with EULAR primary Sjögren's syndrome disease activity (ESSDAI) and patient-reported indexes (ESSPRI)[J]. Ann Rheum Dis, 2016, 75(2): 382-389. DOI: 10.1136/annrheumdis-2014-206008.

[9] HUANG Y T, LU T H, CHOU P L, *et al*. Diagnostic delay in patients with primary Sjögren's syndrome: a population-based cohort study in Taiwan[J]. Healthcare (Basel), 2021, 9(3): 363. DOI: 10.3390/healthcare9030363.

[10] RIPSMAN D A, BOOKMAN A A M. Correlation between subjective and objective severity of oral and ocular dryness in primary Sjögren syndrome[J]. J Rheumatol, 2021, 48(8): 1290-1294. DOI: 10.3899/jrheum.200907.

[11] VERSURA P, FRIGATO M, CELLINI M, *et al*. Diagnostic performance of tear function tests in Sjogren's syndrome patients[J]. Eye (Lond), 2007, 21(2): 229-237. DOI: 10.1038/sj.eye.6702204.

[12] ROSE-NUSSBAUMER J, LIETMAN T M, SHIBOSKI C H, *et al*. Inter-grader agreement of the ocular staining score in the Sjögren's International Clinical Collaborative Alliance (SICCA) Registry[J]. Am J Ophthalmol, 2015, 160(6): 1150-1153.e3. DOI: 10.1016/j.ajo.2015.08.021.

[13] RASMUSSEN A, STONE D U, *et al*. Reproducibility of ocular surface staining in the assessment of Sjögren syndrome-related keratoconjunctivitis sicca: implications on disease classification[J]. ACR Open Rheumatol, 2019, 1(5): 292-302. DOI: 10.1002/acr2.1033.

[14] LACOMBE V, LACOUT C, LOZAC'H P, *et al*. Unstimulated whole saliva flow for diagnosis of primary Sjögren's

syndrome: time to revisit the threshold? [J]. Arthritis Res Ther, 2020, 22(1): 38. DOI: 10.1186/s13075-020-2132-3.

[15] MOSSEL E, VAN GINKEL M S, HAACKE E A, *et al*. Histopathology, salivary flow and ultrasonography of the parotid gland: three complementary measurements in primary Sjögren's syndrome [J]. Rheumatology (Oxford), 2022, 61(6): 2472-2482. DOI: 10.1093/rheumatology/keab781.

[16] GUELLEC D, CORNER D, JOUSSE-JOULIN S, *et al*. Diagnostic value of labial minor salivary gland biopsy for Sjögren's syndrome: a systematic review[J]. Autoimmun Rev, 2013, 12(3): 416-420. DOI: 10.1016/j.autrev.2012.08.001.

[17] VARELA CENTELLES P, SÁNCHEZ-SÁNCHEZ M, COSTA-BOUZAS J, *et al*. Neurological adverse events related to lip biopsy in patients suspicious for Sjögren's syndrome: a systematic review and prevalence meta-analysis[J]. Rheumatology (Oxford), 2014, 53(7): 1208-1214. DOI: 10.1093/rheumatology/ket485.

[18] FISHER B A, JONSSON R, DANIELS T, *et al*. Standardisation of labial salivary gland histopathology in clinical trials in primary Sjögren's syndrome [J]. Ann Rheum Dis, 2017, 76(7): 1161-1168. DOI: 10.1136/annrheumdis-2016-210448.

[19] THEANDER E, JONSSON R, SJÖSTRÖM B, *et al*. Prediction of sjögren's syndrome years before diagnosis and identification of patients with early onset and severe disease course by autoantibody profiling[J]. Arthritis Rheumatol, 2015, 67(9): 2427-2436. DOI: 10.1002/art.39214.

[20] BAER A N, DEMARCO M M, SHIBOSKI S C, *et al*. The SSB-positive/SSA-negative antibody profile is not associated with key phenotypic features of Sjögren's syndrome[J]. Ann Rheum Dis, 2015, 74(8): 1557-1561. DOI: 10.1136/annrheumdis-2014-206683.

[21] TZARTOS J S, STERGIOU C, DAOUSSIS D, *et al*. Antibodies to aquaporins are frequent in patients with primary Sjögren's syndrome[J]. Rheumatology (Oxford), 2017, 56(12): 2114-2122. DOI: 10.1093/rheumatology/kex328.

[22] ALAM J, KOH J H, KIM N, *et al*. Detection of autoantibodies against aquaporin-5 in the sera of patients with primary Sjögren's syndrome[J]. Immunol Res, 2016, 64(4): 848-856. DOI: 10.1007/s12026-016-8786-x.

[23] ALAM J, CHOI Y S, KON J H, *et al*. Detection of Autoantibodies against Aquaporin-1 in the Sera of Patients with Primary Sjogren´s Syndrome. Immune Netw, 2017, 17(2): 103-109. DOI: 10.4110/in.2017.17.2.103

[24] JEON S, LEE J, PARK S H, *et al*. Associations of anti-aquaporin 5 autoantibodies with serologic and histopathological features of sjögren's syndrome[J]. J Clin Med, 2019, 8(11): 1863. DOI: 10.3390/jcm8111863.

(收稿:2022-08-28;修回:2022-09-11)

(编辑 栾 嘉)