

• 临床检验研究 •

ENA 多肽抗体谱检测结合抗 ds-DNA 及补体 C3 测定在 SLE 诊断上的应用

吕春兰, 都青, 杨荣生, 曹宪华
(湖北省襄阳市中医医院检验科 441000)

摘要:目的 探讨抗 ENA(可提取抗原)抗体、抗 ds-DNA 抗体(抗双链 DNA)及补体 C3 测定在系统性红斑狼疮(SLE)的诊断上的临床应用。方法 对本院 196 例确诊为自身免疫性疾病患者的实验室及临床资料进行回顾性分析,其中系统性红斑狼疮(SLE)76 例,干燥综合征(SS)14 例,进行性系统硬化症(PSS)6 例,皮肌炎(DM)8 例,风湿性关节炎(RA)92 例。抗 ds-DNA 采用免疫斑点法,抗 ENA 抗体采用免疫印记法,补体 C3 测定采用免疫比浊法测定。结果 抗 ds-DNA、抗 Sm、抗 r-RNP 在 SLE 中检出率分别为 73.6%、27.6%、13.1%。在其他风湿性疾病中未检出,特异性相对较高。抗 SSA、抗 U1RNP 在 SLE 中的检出率分别为 36.8%、27.6%,在其他风湿性疾病亦有检出,特异性相对较低。其他风湿性疾病中 SSA、抗 SSB、抗 U1RNP 在 SS 的检出率分别是:50%、43%、25%;抗 SSA、抗 Jo-1 在 PPS 的检出率分别为 25%、25%;抗 SSA、抗 U1RNP、抗 Jo-1、抗 DM53 在 DM 的检出率分别为 25%、25%、12.5%、37.5%;抗 SSA、抗 U1RNP、抗 RA/54 在 RA 的检出率分别为 32.6%、11.9%、15.2%。补体 C3 在 SLE 的测定值均较低,范围为 0.46 ± 0.12 与其他风湿性疾病相比, $P < 0.01$ 有显著差异。结论 抗 ENA 抗体结合抗 ds-DNA 抗体及补体 C3 测定对 SLE 的诊断有显著的临床意义。

关键词: ENA 多肽抗体谱; 抗 ds-DNA; 补体 C3; SLE

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.05.021

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)05-0579-02

Spectrum of ENA polypeptide antibodies combined with anti ds-DNA and C3 determination in the diagnosis of systemic lupus erythematosus

Lv Chunlan, Du Qing, Yang Rongsheng, Cao Xuanhua

(Clinical Laboratory of Xiangyang Traditional Chinese Medical Hospital, Hubei 441000, China)

Abstract: Objective To investigate the anti-ENA antibodies, anti ds-DNA antibodies and complement C3 detection in the diagnosis of SLE clinical application. Methods 196 hospital patients with autoimmune diseases diagnosed in the laboratory and clinical data were reviewed, including systemic lupus erythematosus (SLE) 76 cases, sjogren syndrome (SS) 14 cases, progressive system sclerosis (PSS) 6 cases, dermatomyositis (DM) 8 cases, rheumatoid arthritis (RA) 92 cases. anti ds-DNA by immuno-spot assay, anti-ENA antibodies by Western blotting (IBT), complement C3 was determined by immuno turbidimetric method. Results The results of anti ds-DNA, anti-sm, anti-rRNP detected in SLE were 73.6%, 27.6%, 13.1%, not detected in other rheumatic diseases, the specificity is relatively high. Anti-SSA, anti-U1RNP in SLE was 36.8%, 27.6%, and other rheumatic diseases are also detected, specificity is relatively low. In other rheumatic diseases the positive rate about anti-SSA, anti-SSB, anti-U1RNP were 50%, 43%, 25% respectively in SS; The positive rate about anti-SSA, anti-Jo-1 were 25%, 25% respectively in PPS; The positive rates about anti-SSA, anti-U1RNP, anti-Jo-1, anti-DM53 were 25%, 25%, 12.5%, 37.5% respectively in DM; the positive rates about anti-SSA, anti-U1RNP, anti-A/54 were 32.6%, 11.9%, 15.2% respectively in RF. Complement C3 in the determination of SLE values was low, ranging from 0.46 ± 0.12 , compared with other rheumatic diseases, ($P < 0.01$) significant differences. Conclusion The combination of anti-ENA antibodies, anti ds-DNA antibodies and complement C3 determination in the diagnosis of SLE have significant clinical significance.

Key words: Spectrum of ENA polypeptide antibodies; anti ds-DNA; complement C3; SLE

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)试验诊断的传统方法是在患者血中找到红斑狼疮细胞,缺乏特异性诊断,而且操作复杂,易受多种干扰因素的影响。近年来,由于实验室检测技术的发展,出现了多种检测 SLE 的方法,本实验室采用可提取抗原(extractable nuclear antigen, ENA)多肽抗体谱检测结合抗双链 DNA(double-stranded DNA, ds-DNA)及补体 C3 测定,为 SLE 的临床诊断提供了可靠的指标,现将实验结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 血清来源 来自本院 2007 年 10 月至 2010 年 10 月门诊以及住院各种风湿性疾病患者血清 196 例,其中 SLE 76 例、干燥综合征(sjogren syndrome, SS)14 例、进行性系统硬化(progressive sustemic selernsis, PSS)6 例、皮肌炎(dermato myosi-

tis, DM)8 例、风湿性关节炎(rheumatic arthritis, RA)92 例,均按国家诊断标准诊断。

1.2 方法

1.2.1 应用免疫印迹技术检测 ENA 多肽抗体谱,试剂来自万孚生物科技有限公司,按操作说明书操作,每次检测 10 种抗体,即:抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体、抗 Jo-1 抗体、抗 rRNP 抗体、抗 Sm 抗体、抗 U1RNP 抗体、抗 SCL-70 抗体、抗 D'E 抗体、抗 DM-53 抗体和抗 RA-54 抗体。结果判断:将膜条显色带与标准谱对照以查对应抗体。

1.2.2 抗 ds-DNA 试剂来自福建三明博峰生物科技有限公司,方法:金标免疫斑点法,按操作说明书检测及结果判断。

1.2.3 补体 C3 试剂来自北京中生公司,方法:免疫比浊法,仪器 ABBOTT 公司型号 AEROSSET 参加湖南省室间质评为

合格产品,正常值:0.8~1.6 U(g/L)。

2 结 果

2.1 抗 ds-DNA、抗 Sm、抗 rRNP、抗 SSA、抗 U1RNP 在 SLE 中的检出率分别为 73.6% (56/76)、27.6% (21/76)、13.1% (10/76)、38.6% (28/76)、27.6% (21/76)。其中抗 ds-DNA、抗 Sm、抗 rRNP 在其他风湿性疾病中未检出,而抗 SSA 抗 U1RNP 在其他风湿性疾病中有检出。其他风湿性疾病中

SSA、抗 SSB、抗 U1RNP 在 SS 的检出率分别是 50% (8/16)、43% (7/16)、25% (4/16);抗 SSA、抗 JO-1 在 PPS 的检出率分别是 25% (1/4)、25% (1/4);抗 SSA、抗 U1RNP、抗 JO-1、抗 DM53 在 DM 的检出率分别是:25% (2/8)、25% (2/8)、12.5% (1/8)、37.5% (3/8);抗 SSA、抗 U1RNP、抗 RA/54 在 RA 的检出率分别是 32.6% (30/92)、11.9% (11/92)、15.2% (14/92)其结果见表 1。

表 1 SLE 与其他风湿性疾病 ENA 多肽抗体谱阳性结果比较 (n)

抗体类型	n	SSA	SSB	Sm	rRNP	U1RNP	RA-54	Jo-1	SCL-70	D'E	DM-53	ds-DNA
SLE	76	28	0	21	10	21	0	0	0	0	0	56
SS	16	8	7	0	0	4	0	0	0	0	0	0
PSS	4	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
DM	8	2	0	0	0	2	0	1	0	0	3	0
RA	92	30	0	0	0	11	14	0	0	0	0	0

2.2 在 SLE 中补体 C3 检出范围为 (0.46±0.12)g/L,均低于正常参考范围,而在其他风湿性疾病补体 C3 检测结果均在正常范围。补体 C3 在 SLE 中检测结果与其他风湿性疾病比较,差异有统计学意义 (P<0.01),其结果见表 2。

现有较大的差异^[9]。以上表 1 中显示各自抗体的阳性率与说明书大体一致。

从表 2 中可以看出补体 C3 在 SLE 患者中明显下降,而其它风湿性疾病患者则下降不明显,差异有显著性 (P<0.01),国内文献亦有相应报道^[10-11]。可能是因为 SLE 累及肾脏致使肾小球基底膜受损使 C3 丢失过多,或者是 III 型超敏反应^[1]形成抗原抗体复合物^[12]沉积激活补体 C3 使 C3 消耗过多。有文献报道通过免疫荧光检查在 SLE 受损或无病变的皮肤血管表皮和真皮连接处肾小球血管壁及其他受累组织可见到 C3 及抗原抗体复合物沉积,同时血清补体水平降低。

1997 年中华风湿病学会对我国 1982 年所制定的 SLE 诊断(参考)标准进行修订如下:(1)碟形红斑或盘状红斑;(2)光敏感;(3)口腔溃疡; (4)非畸形性关节炎或多关节痛;(5)胸膜炎、心包炎;(6)癫痫或精神症状;(7)蛋白尿或管型尿或血尿;(8)白细胞小于 4×10⁹/L 或血小板小于 100×10⁹/L 或有溶血性贫血;(9)LFANA(+);(10)抗 ds-DNA(+),抗磷脂抗体阳性;(11)抗 Sm(+);(12)C3 降低;(13)皮肤狼疮带试验(非病损部位)(+)或肾活检(+).符合以上 13 项中任何 4 项者可诊断为 SLE。本实验室所提供 3 项实验操作简便试剂有成套试剂盒供应。对实验室要求低,结合以上参考指标不难诊断,临床应用效果显著。

参 考 文 献

表 2 SLE 与其他风湿性疾病 C3 测定结果 (x±s)

病例	n	C3* (g/L)
SLE	76	0.46±0.12 *
SS	16	1.07±0.18
PSS	4	1.09±0.16
DM	8	1.0±0.14
RA	92	1.08±0.16

*:与其他风湿性疾病组比较,P<0.01;#:C3 正常值(0.8~1.6)g/L。

3 讨 论

SLE 是一种多系受损的自身免疫性疾病,其显著临床特点之一是血清中出现多器官非特异性抗体^[1]。从表 1 中可以看出在 SLE 患者中抗 Sm 抗体、抗 ds-DNA 抗体、抗 rRNP 抗体与其他风湿性疾病无交叉反应现象,这说明这几种抗体在 SLE 中具有特异性。有报道认为,抗 Sm、抗 ds-DNA 是诊断 SLE 特异性自身抗体,但其敏感性各家报道不一^[2]。抗 SSA、抗 U1RNP 抗体虽然阳性率比较高,但与其他风湿性疾病有交叉反应,说明其特异性低,但可作为 SLE 的辅助指标,这与文献^[3]报道较为一致。在抗 Sm 抗体、抗 ds-DNA 抗体及抗 rRNP 抗体中抗 ds-DNA 抗体阳性率(73.6%)明显大于抗 Sm 抗体(27.6%)及抗 rRNP 抗体(13.1%),这说明抗 ds-DNA 对 SLE 不仅具有很高的特异性而且具有较高的检出率。抗 ds-DNA(73.6%)的检出率与文献^[4]报道(68.9%)较为一致,说明抗 ds-DNA 可作为诊断 SLE 的一项很好的指标。据文献报道抗 ds-DNA、抗-Sm 均被认为是 SLE 诊断性标志性抗体^[3],抗 ds-DNA 与 SLE 活动性相关^[5],抗 ds-DNA 在疾病静止期或治疗后可转为阴性,故抗 ds-DNA 可作为监控治疗依据^[6]。抗 sm 的存在与疾病活动性无明显关系^[7]且在 SLE 不活动时亦可阳性,可作为回顾性诊断的依据。在 SLE 患者的血清中抗 Sm(27.6%)、抗 rRNP(36.8%)、抗 SSA(36.8%)阳性率略低于文献^[8]报道(33.8%、45.5%、54.4%),可能是因为多数性风湿性疾病病程较慢,同一疾病在不同个体或不同时期临床表

[1] 刘鸿林,杜志勋.抗核抗体和抗双链 DNA 在检测系统性红斑狼疮中的意义[J].中国医药导报,2008,(1):163.
 [2] Tlly M,Gould T,Wadee A,et al. Clinical and serological correlates of antinucleosome antibodies in south Africans with systemic lupus erythematosus[J]. Clin Rheumatol,2007,26(12):2121-2125.
 [3] 李俊,罗娇,徐巍,等.多种自身抗体联合检测对系统性红斑狼疮的诊断价值及意义[J].浙江大学学报(医学版),2010,39(4):391-394.
 [4] 杜国有,顾向明,方玲.抗核抗体、抗双链 DNA 抗体及抗 ENA 抗体,在自身免疫性疾病诊断及疗效判断中的应用[J].国际检验医学杂志,2010,31(10):1064-1066.
 [5] Aganovic-Musinovic I,Prljaca-zeecevic L,Subasic C. The incidence of ANA and ETI-dsDNA detected by enzyme immunoassays and indirect immunofluorescence assay(IFA)[J]. Med Arh,2010,64(2):68-70.
 (下转第 582 页)

方法并未广泛开展。近十年来人们不断寻求疗效满意、操作简单的新治疗方法。

慢性泪囊炎的发病机制:正常鼻泪管位于上颌窦、累骨和鼻甲所组成的骨管内,开口于下鼻道的前上方,全长 17 mm,其中 5 mm 为非骨性管口与鼻腔相通,膜性管腔 3~6 mm。由于鼻道弯曲细长,加上鼻泪管又比较狭窄易引起泪道阻塞。泪道阻塞时由于,泪液长期滞留在泪囊内为细菌繁殖提供了有利条件,引起泪道壁充血水肿,泪囊粘膜感染,产生黏液性或脓性分泌物,形成泪囊炎^[4]。鼻窦感染也可以通过鼻黏膜炎症扩散蔓延而造成鼻泪管阻塞,尤其是患有双侧鼻泪管阻塞者的发病机制与鼻窦病变有密切关系^[5]。

慢性泪囊炎行鼻腔泪囊吻合术于 1904 年即有报道,手术成功率在 90%~95%;鼻内窥镜下行泪囊鼻腔造孔术最早于 1989 年有报道,手术成功率报道为 80%~93%^[6]。但是泪囊鼻腔吻合术是在眼角内侧皮肤作 2 cm 长的切口,并在鼻骨上凿一个一分硬币大小的洞,把泪囊壁和鼻粘膜重新吻合在一起。术后面部留有瘢痕,影响美观,年轻患者一般不愿意接受;同时此手术损伤大、出血多,老年患者接受度差;而鼻内窥镜下泪囊造孔术,手术操作难度大,若术中出血较多时手术往往难以顺利完成,手术费用高,因而也难以普及及应用。有文章报道鼻内窥镜下泪囊鼻腔吻合术联合植入环形人工管一定程度上可刺激造瘘口周围组织增生^[7]当然是环形人工泪管。笔者认为行内窥镜下泪囊鼻腔吻合术创伤较大,再安放环形人工泪管势必刺激造瘘口而形成肉芽组织。本组患者一般半年取管,行内窥镜检查未发现增生及肉芽组织。

造成成人泪道感染,形成非特异性慢性泪囊炎最直接的因素是泪道下端,特别是鼻泪管的严重狭窄或阻塞,泪道通常不好,泪液滞留与泪囊腔,长期刺激泪道黏膜,泪道壁发生充血、水肿、黏液分泌增加,从而有利于各种细菌在泪囊中繁殖,最终形成慢性感染。由于泪囊细小、狭长的管状结构中部,这一解剖结构决定了泪囊的半封闭状态使泪囊腔的气体不能流通,氧含量下降或减少,有加上抗菌剂眼液应用,使早期为普通需氧或兼性厌氧菌感染的泪囊,随着时间、环境和条件的变化,需氧菌和兼性厌氧菌,特别是需氧菌逐渐死亡,使本身不具备致病条件厌氧菌得以过度生长繁殖,最后成为成人非特异性慢性泪囊炎新的致病菌^[8]。近几年随着新型抗菌剂的不断研发和广泛使用,治疗泪囊炎的抗菌剂又增加了诺氟沙星、氧氟沙星、左氧氟沙星、妥布霉素、头孢类等^[4],本组术后局部常用药物有妥

布霉素眼液、氧氟沙星眼液等。

慢性泪囊炎标本采集方法有多种,本组采用钝性长注射针头探入泪囊部位抽取脓液、黏液标本,这种方法使样本数量得以保本^[4],缺点是门诊患者往往使用过抗菌剂滴眼液;为了减小影响培养结果因素,本研究尽量在患者停药 3 d 以后采取标本,不过在临床工作中往往会丢失一些患者。

关于手术前后处理:本组手术前行鼻腔及泪道冲洗,清洗了大量致病菌,减少术后感染以及因分泌物过多而引起人工鼻泪管再次阻塞缩短了治疗病程。

关于白内障,本组有 30 例患者同时需行白内障手术,而白内障术后是内眼手术,要求绝对无菌,因此慢性泪囊炎合并白内障患者一定要先治疗慢性泪囊炎,治愈后才能保障白内障术后的成功,本组 30 例白内障患者手术成功,没有发生一例感染。

本组采用济南晨生医用硅胶制品有限公司生产的一次性泪道再通管经鼻腔逆行支撑鼻泪管,达到治疗慢性泪囊炎的目的,手术时间短,大约 10 min 完成;手术费用低,鼻出血极少,各种年龄接受度好,在门诊随做随走,值得推广。

参考文献

- [1] 罗时运,孙旭光,王智群,等.慢性泪囊炎微生物学分析[J].中国实用眼科杂志,2004,22(7):573.
- [2] 河北省邢台地区眼科医院.临床眼科学[M].北京:人民卫生出版社,1976:190.
- [3] 彭秀民,曾广银,任相庭.鼻泪管硅胶管植入术初步报告[J].中华眼科杂志,1983,19(12):191.
- [4] 卢玺,侯世科,陶海.慢性泪囊炎的病原学及其药物敏感性的研究进展[J].眼科新进展,2008,28(8):633.
- [5] 陈永勤,王景强,董志峰.内窥镜下泪囊鼻腔造孔环套置管术 117 例[J].国际眼科杂志,2003,3(4):137-139.
- [6] Woog JJ, Meston R, Puliafito CA, et al. Holimum: YAG endonasal laser dacryocystorinostomy[J]. Am J Ophthalmol, 1993, 116(1):1-10.
- [7] 周一龙,涂云海,李康雀,等.人工泪管留置对内窥镜下泪囊鼻腔吻合术疗效的随机对照研究[J].眼科研究,2010,28(7):641-645.
- [8] 孙叙清,戴青,孙月庭,等.成人非特异性慢性泪囊炎的细菌学分析及药敏观察[J].美国际眼科杂志,2001,1(1):57-59.

(收稿日期:2010-05-10)

(上接第 580 页)

- [6] Hanly JG, Su L, Farewell V, et al. Comparison between multiplex assays for autoantibody detection in systemic lupus erythematosus [J]. J Immunol Methods, 2010, 358(1-2): 75-80.
- [7] Lorentel MJ, Timénez J, González C, et al. Effectiveness of different methods for anti-Sm antibody identification[J]. Clin Chem Lab Med, 2005, 43(7): 748-752.
- [8] 易云. ANA、ds-DNA、抗 ENA 多肽抗体联合检测在 SLE 诊断中的临床意义[J]. 中国医药导报, 2010, 7(7): 134-134.
- [9] 张晓疑, 张克德, 刘晓明, 等. 抗核抗体, 抗 ENA 谱及抗双链 DNA 的联合检测与分析[J]. 华中医学检验杂志, 2007, 31(3): 225-226.

- [10] 谢志贤, 刘添翼, 马峥然, 等. 对老年人血清补体 C3、C4 的测定分析[J]. 中国医学检验杂志, 2004, 5(6): 536-537.
- [11] Saisong S, Eiam-Ong S, Hanvivatvong D. Correlations between antinucleosome antibodies and anti-double-stranded DNA antibodies, C3, C4 and clinical activity in lupus patients[J]. Clin Exp Rheumatol, 2006, 24(1): 51-58.
- [12] 陶义训. 免疫学和免疫学检验[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 25-34.

(收稿日期:2010-05-10)