

• 调查报告 •

1 801 例抗核抗体检测结果及其临床分析

李琳芸

(华中科技大学同济医学院附属荆州医院检验科, 湖北荆州 434020)

摘要:目的 探讨抗核抗体(ANA)的流行病学特征及其与临床的相关性。方法 回顾性分析 1 801 例 ANA 检测结果及其临床资料。结果 (1)ANA 阳性 604 例,总阳性率为 33.5%,其中 82.5%为女性患者。60 岁以下各年龄组女性患者阳性率均高于男性($P<0.05$),而以 36~45 岁组阳性率最高。(2)ANA 荧光模型以细胞核型荧光(67.4%)最常见,以核颗粒型(43.7%)为主。(3)ANA 阳性患者特异性抗体总阳性率为 47.8%。混合型特异性抗体阳性率最高(57.8%),细胞浆型(12.7%)最低($P<0.01$)。抗核点型、抗核膜型、抗着丝点型及抗中心粒抗体阳性患者均未检出特异性抗体。(4)ANA 阳性者 66.2%诊断为自身免疫性疾病(AID),显著高于 ANA 阴性者(17.0%),差异有统计学意义($P<0.01$)。混合型 ANA 组 73.6%诊断为 AID,其次为细胞核型 ANA 组(70.2%),最低为细胞浆型 ANA 组(36.9%),后者与前两组比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。系统性红斑狼疮(SLE)组 ANA 阳性率最高。SLE、类风湿关节炎(RA)、混合结缔组织病(MCTD)、系统性硬皮病(SS)、多发性肌炎(PM)/皮肌炎(DM)、重叠组织病患者 ANA 阳性率与非 AID 患者比较,差异有统计学意义($P<0.05$),而强直性脊柱炎(AS)、成人斯蒂尔病(STILL)患者与非 AID 患者比较,差异无统计学意义。SLE、RA、MCTD 患者 ANA 模型均以核颗粒型为主。滴度达 1:3 200 者 89.1%诊断为 AID,其次为滴度达 1:1 000 者(72.2%)与滴度达 1:320 者(44.7%),3 组间比较,差异均有统计学意义($P=0.000$)。结论 不同性别和年龄患者 ANA 阳性率存在差异;ANA 存在多种荧光模型,不同荧光模型 ANA 阳性患者特异性抗体检出率存在差异,部分 ANA 阳性患者不能检测出特异性抗体;高滴度 ANA 对于 AID 诊断有重要意义,但 ANA 荧光模型对不同 AID 疾病的诊断无特异性。

关键词:抗体, 抗核; 自身免疫性疾病; 实验室技术和方法; 流行病学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.10.032

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)10-1217-02

Clinical analysis of 1 801 cases detected antinuclear antibodies

LI Linyun

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Jingzhou Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Jingzhou, Hubei 434020, China)

Abstract: **Objective** To study the epidemiological characteristics of antinuclear antibodies(ANA) and its association with autoimmune diseases(AID). **Methods** Detected results of ANA and clinical data in 1 801 cases were analyzed. **Results** (1)604 cases (33.5%) were positive with ANA, of which 82.5% were female patients. In patients equal with or less than 60 years old, the positive rates were significantly higher in female patients than in male patients, and the positive rate reached the highest level patients of 36—45 years old. (2)The major ANA fluorecence pattern was antinuclear speckled pattern(43.7%). (3)In patients positive with ANA, the positive rate of specific antibodies was 47.8%. The detection rate of specific antibodies with mixed pattern was the highest(57.8%)and the anticytoplasmic pattern was the lowest(12.7%) ($P<0.01$). Specific antibodies could not be identified in patients positive with antinucleolinus, antinuclear membrane, anticentriole and anticentromere pattern. (4)66.2% of ANA-positive patients, yet only 17.0% of ANA-negative patients, were diagnosed as AID($P<0.01$). 73.6% of the mixed pattern group, 70.2% of antinuclear pattern group and 36.9% of the anticytoplasmic pattern group were diagnosed as AID($P<0.01$). The positive rate of ANA was significantly higher in systemic lupus erythematosus(SLE) group. Positive rates of ANA in groups of SLE, rheumatoid arthritis(RA), mixed connected tissue disease(MCTD), systemic scleroderma(SS), polymyositis(PM)/ dermatomyositis(DM) and overlap syndrome were statistical different with patients without AID($P<0.05$), whereas there was no statistical difference between ankylosing spondylitis(AS) and Still disease(STILL) patients and patients without AID. The major ANA pattern in SLE, RA and MCTD patients was antinuclear speckled pattern. In patients with ANA titer at least 1:3 200, 89.1% were with AID, the ratios were 72.2% and 44.7% in patients with ANA titer at least 1:1 000 and 1:320, and the ratios were statistically different between the there groups($P=0.000$). **Conclusion** The positive rate of ANA in patients of different genders and ages might be different. There could be several fluorescence patterns of ANA, and the detection rate of specific antibodies in patients with different patterns of ANA was different. Specific antibodies could not be identified in part of ANA-positive patients. ANA, especially of high titer, could have great value for diagnosis of AID, but the patterns of ANA were not specific for diagnosis of various AID.

Key words: antibodies, Antinuclear; autoimmune diseases; laboratory techniques and procedures; epidemiology

自身抗体对于自身免疫性疾病(autoimmune disease, AID)的诊断与鉴别具有重要意义^[1]。由间接免疫荧光法检测的抗核抗体(anti-nuclear antibodies, ANA)是目前应用最广泛的自

身抗体筛查指标^[2]。ANA 有多种荧光模型对应不同的特异性抗体包括抗 dsDNA、抗 SSA、抗 SSB、抗 Scl-70、抗 U1-RNP、抗 Jo-1 和抗 Rib-p 等。本文回顾性总结 1 801 例 ANA 检测结果

及其临床资料,旨在分析该抗体的流行病学特征及其与临床疾病的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 1 801 例 ANA 检测者为本院 2010 年 8 月至 2011 年 7 月住院患者,其中男 566 例(31%),女 1 235 例(69%);年龄 1~85 岁,平均 43 岁。抽取受检者静脉血,分离获得血清,立即检测。

1.2 试剂 采用间接免疫荧光法检测患者血清标本中 ANA,采用的生物基质为 HEp-2 细胞及猴肝细胞生物薄片(德国欧蒙公司)。抗 dsDNA、抗 SSA、抗 SSB、抗 Scl-70、抗 Jo-1、抗 Sm、抗 U1 RNP、抗 Rib-p 抗体采用蛋白芯片法(南京大渊公司)检测。

1.3 仪器 LeicaDM2500 多功能显微镜、PBT-X4 生物芯片识别仪等。

1.4 检测方法 所有操作按说明书进行,其中 ANA 滴度检测血清稀释度为 1:320、1:1 000、1:3 200。

1.5 统计学处理 采用 SPSS11.5 统计软件进行分析。不同性别及不同疾病患者 ANA 阳性率及抗体滴度比较均采用 R×C 列联表的 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同性别和年龄组患者 ANA 阳性率分析 1 801 例患者中阳性 604 例,总阳性率为 33.5%,其中女性患者 498 例(82.5%),占有女性患者的 40.3%;男性患者 106 例(17.5%),占有男性患者的 18.7%,两组患者阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。不同年龄段女性患者阳性率均高于男性,其中 60 岁以下各年龄组女性患者阳性率与男性比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),而 36~45 岁组女性患者阳性率最高。

2.2 ANA 荧光模型分布 604 例 ANA 阳性患者中各荧光模型所占比率由高至低依次为细胞核型荧光(67.4%)、混合型(20.7%)、细胞浆型(10.8%)、抗中心粒抗体(1.2%)。细胞核型以核颗粒型为主(43.7%),其次为核均质型(15.9%)、核仁型(3.6%)、抗着丝点抗体(2.3%)、抗核点型(1.3%)、抗核膜型(0.4%)。细胞浆型以颗粒型为主(9.6%),纤维型占 1.2%。混合型中以两种荧光模型为主(18.2%),3 种荧光模型占 2.5%,其中 2 种荧光模型以核均质型/核颗粒型为主(10.1%)。

2.3 ANA 与特异性抗体相关性分析 604 例 ANA 阳性患者中有 519 例进一步检测特异性抗体,检出特异性抗体阳性 248 例,总阳性率为 47.8%。各 ANA 荧光模型中混合型特异性抗体阳性率最高(57.8%),其次为细胞核颗粒型(56.3%)与细胞核均质型(44.6%),三者阳性率比较,差异无统计学意义。细胞核仁型与细胞浆型特异性抗体阳性率最低,分别为 22.7%、12.7%,与前三者荧光模型比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。其他荧光模型包括抗核点型、抗核膜型、抗着丝点型及抗中心粒抗体阳性患者均未检出特异性抗体。细胞核颗粒型特异性抗体以抗 SSA(55.6%)、抗 U1RNP 抗体(47.2%)为主;细胞核均质型以抗 dsDNA 抗体(75.6%)为主;混合型以抗 dsDNA(61.5%)、抗 Rib-p 抗体(44.2%)为主。

2.4 ANA 临床分析 1 801 例患者中诊断为 AID 者 603 例。604 例 ANA 阳性者中 AID 患者 400 例(66.2%),1 197 例 ANA 阴性者中 AID 患者 203 例(17.0%),两组比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。细胞核型 ANA 组 403 例中 AID 患者 283 例(70.2%),混合型 ANA 组 125 例中 AID 患者 92 例

(73.6%),细胞浆型 ANA 组 65 例中 AID 患者 24 例(36.9%),前两组比较,差异无统计学意义,而细胞浆型 ANA 组与前两组比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。系统性红斑狼疮(SLE)、类风湿关节炎(RA)、混合结缔组织病(MCTD)、系统性硬皮病(SS)、多发性肌炎(PM)/皮肌炎(DM)与重叠组织病[包括重叠综合征(overlap syndrome,OS)]患者 ANA 阳性率与非 AID 患者比较,差异有统计学意义($P<0.05$),而强直性脊柱炎(AS)、成人斯蒂尔病(STILL)患者与非 AID 组患者比较,差异无统计学意义。其中 SLE 患者 ANA 阳性率最高(92.8%)。AID 与非 AID 患者均以细胞核型 ANA 为主(分别为 70.8%、60.8%),又均以核颗粒型荧光模型为主(分别为 66.8%、60.5%),其中 SLE、RA、MCTD 患者核颗粒型 ANA 比例依次为 46.7%、43.8%、60.6%。滴度达 1:3 200 者 92 例,其中 82 例为 AID 患者(89.1%);滴度达 1:1 000 者 36 例,其中 26 例为 AID 患者(72.2%);滴度达 1:320 者 38 例,其中 17 例为 AID 患者(44.7%),3 组间比较,差异均有统计学意义($P=0.000$),见表 1。

表 1 AID 与非 AID 组患者 ANA 滴度比较(n)				
组别	1:3 200	1:1 000	1:320	P
AID 组	82	26	17	0.000
非 AID 组	10	10	21	

3 讨论

本文回顾性分析了 1 801 例 ANA 临床检测标本,ANA 阳性患者中女性占 82.5%。女性患者总阳性率(40.3%)显著高于男性(17.5%);不同年龄段女性患者阳性率亦均高于男性,并且以 36~45 岁育龄期女性患者阳性率最高,可见 ANA 阳性具有明显的年龄与性别特点,可能与雌激素作用有关。有研究认为雌激素具有免疫调节作用,可克服自身免疫耐受,通过与 B 淋巴细胞的雌激素受体结合,刺激活化和扩增自身反应性 B 淋巴细胞,并使活化 B 细胞凋亡减少,从而可能导致自身抗体的产生与增加^[3-4]。

本研究结果显示,不同荧光模型所占比例不同,细胞核型荧光(67.4%)最常见。根据荧光形态,细胞核型荧光又以细胞核颗粒型(43.7%)为主。自身抗体的最终区分需要使用纯化的抗原,而到目前为止,并不是所有自身抗体荧光模型都已确定其特异性抗体^[5]。本实验室使用常规 8 项自身抗体谱进行检测,ANA 阳性患者特异性抗体总阳性率为 47.8%,显示大部分还不能通过该检测确定特异性抗体。不同 ANA 荧光模型特异性抗体阳性率不同,混合型、细胞核颗粒型与细胞核均质型三者特异性抗体阳性率显著高于细胞核仁型与细胞浆型。不同 ANA 荧光模型对应的特异性抗体也不同如细胞核颗粒型特异性抗体以抗 SSA、抗 U1RNP 抗体为主;细胞核均质型以抗 dsDNA 抗体为主;混合型以抗 dsDNA、抗 Rib-p 抗体为主,而这些特异性抗体是某些 AID 的标志性抗体如抗 dsDNA、抗 Rib-p 抗体是 SLE 的特异性抗体^[6-7],对于其诊断以及反映病情活动性有重要作用^[8-9]。因此,有必要总结特征性的荧光模型,研究其对应的特异性抗体及其抗原成分,以提高 ANA 阳性标本特异性抗体的检出率。

结合临床诊断显示,SLE、RA、MCTD、SS、PM/DM 与重叠组织病患者 ANA 阳性率显著高于非 AID 患者,差异有统计学意义($P<0.05$),AS、STILL 患者与非 AID(下转第 1220 页)

而耐药 PAE 感染常导致严重后果,是临床治疗的难点。本院 PAE 主要以下呼吸道感染为主,与国内有关文献报道一致^[1]。

3.1 PAE 的耐药机制 PAE 的耐药机制异常复杂,主要与以下因素有关^[2]:(1)细菌产生抗菌活性酶如 β-内酰胺酶、氨基糖苷钝化酶等;(2)细菌改变抗菌药物作用靶位如青霉素结合蛋白(PBPs)、DNA 旋转酶等结构发生改变,从而逃避抗菌药物的抗菌作用;(3)外膜通透性降低;(4)生物膜形成,近年研究发现,细菌生物膜(biofilm)在 PAE 感染中广泛存在,是导致抗菌治疗失败的重要原因之一;(5)主动泵出系统,其在 PAE 多重耐药机制中起主导作用^[3]。

3.2 对抗生素的耐药现状 本研究结果显示,第 4 代头孢菌素如头孢吡肟耐药率虽只有 26.42%,但有 23.58%处于中介水平,这值得关注。喹诺酮类抗菌药物如左氧氟沙星抗菌活性作用较强,但其在体内的血药浓度较低,故其化疗指数不高。因此,不应作为 PAE 医院内感染者治疗的一线药物^[4]。氨基糖苷类如庆大霉素的耐药率为 51.89%,且氨基糖苷类具有肾毒性和耳毒性,在临床使用上要谨慎。有文献报道抗菌药物联合使用效果较好如 β-内酰胺类、喹诺酮类,以及 β-内酰胺类、氨基糖苷类等联合应用有协同作用^[5]。本研究结果显示,哌拉西林/他唑巴坦对 PAE 有很强的抗菌活性,耐药率为 37.74%,可能是目前治疗 PAE 感染的较为理想的药物。本院 PAE 对亚胺培南和美罗培南的耐药率上升到了 37.74%、36.32%,低于孙景勇等^[6]报道的 40.50%,可能与不同地区对药物使用习惯如时间长短、频密程度、药物搭配等不同有关。PAE 对亚胺培南的耐药机制主要与外膜通道蛋白缺失、金属酶的产生^[7]和外排系统有关,据文献报道亚胺培南临床疗效并不优于头孢他啶^[8],且易导致二重感染,其耐药菌和霉菌进驻发生率可高达 3.2%和 8.0%,同时其又是诱导酶产生的良好诱导剂^[9],加上价格昂贵,因此,亚胺培南作为治疗混合感染的二线用药可能会更合理。本研究还检出 10.8%PAE 泛耐药株,泛耐药菌株是指除粘菌素或多粘菌素 B 外,对临床常用抗菌药物全部耐药的菌株^[10],可发生致死性医院内感染,这就使得临床的抗感染治疗显得越来越困难,因此,临床微生物室应提示临床医师,

合理、谨慎使用抗生素,是延缓耐药株快速升高的最好办法。

总之,PAE 对多种抗生素产生耐药已是不争的事实,为提高抗菌治疗效果应经常监测本地区及本单位分离的病原菌对抗菌药物的敏感性及耐药特性,并根据药敏试验有针对性地合理选用抗菌药物,且应在临床实践与研究中探讨抗感染药物的组合治疗,开发新的抗感染药物。在长期的耐药监测数据中总结出本院及各病区 PAE 的耐药规律,制定合理的治疗方案,对降低细菌耐药率、有效控制医院内感染具有重要意义。与此同时,改善卫生条件,严格执行消毒、隔离制度,防止耐药菌交叉感染,控制医院内感染的暴发流行等也是非常重要的工作。

参考文献:

[1] 漆坚,程献.铜绿假单胞菌耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2007,17(10):1285-1286.

[2] 宋玉兰,赵丽,申子路,等.铜绿假单胞菌耐药机制研究现状[J].中华医院感染学杂志,2010,20(6):898-900.

[3] 陈军.铜绿假单胞菌耐药机制的研究进展[J].国外医学微生物学分册,2001,24(4):31-33.

[4] 黄文祥,王其南,曾爱忠,等.院内感染铜绿假单胞菌的耐药性[J].中国抗生素杂志,2000,25(4):285.

[5] 陈海滨,孙艳,谭次娥.呼吸科铜绿假单胞菌感染调查及耐药性分析[J].临床医药,2007,16(21):53-54.

[6] 孙景勇,倪语星,汪复,等.2007 年 CHINET 铜绿假单胞菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2009,19(3):192-195.

[7] 马骥,黄彬,蓝锴.重症监护室多重耐药铜绿假单胞菌耐药基因分型研究[J].广东医学,2010,31(10):1268-1269.

[8] 钱宏法,杨仁洪,陶多岳,等.铜绿假单胞菌 698 株对 14 种抗生素耐药分析[J].南京医科大学学报,2000,20(1):68.

[9] 陈国强,曹华英,姚振国,等.医院感染铜绿假单胞菌的耐药性调查[J].临床血液学杂志,2010,23(12):716-717.

[10] 胡艳华,刘东华,鲁燕,等.医院感染铜绿假单胞菌的耐药性及控制对策[J].中华医院感染学杂志,2011,21(1):144-145.

(收稿日期:2011-10-10)

(上接第 1218 页)

患者比较,差异无统计学意义。因此,ANA 阳性并非对于所有 AID 均有诊断意义。在不同 AID 患者中如 SLE、RA、MCTD 患者均以核颗粒型为主,可见 ANA 荧光模型诊断不同 AID 不具有特异性。ANA 滴度比较显示,滴度达 1:3 200 者 89.1%诊断为 AID,显著高于滴度达 1:1 000 (72.2%)、1:320 (44.7%)者,3 组间比较,差异均有统计学意义($P=0.000$),提示高滴度 ANA 对于 AID 的诊断有重要意义。

综上所述,不同性别和年龄组患者 ANA 阳性率存在差异;ANA 存在多种荧光模型,不同荧光模型 ANA 阳性患者特异性抗体检出率存在差异,部分 ANA 阳性患者不能检出特异性抗体;高滴度 ANA 对于 AID 的诊断有重要意义,但 ANA 荧光模型诊断不同 AID 无特异性。

参考文献:

[1] 仲人前,范列英.自身抗体基础与临床[M].北京:人民军医出版社,2006:1.

[2] Von MuMen CA, Tan EM. Autoantibodies in the diagnostics of systemic rheumatic diseases[J]. Semin Arthritis Rheum, 1995, 24

(5):323-358.

[3] Arthur K, Russell T, John R, et al. Guidelines for clinical Use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens[J]. Arch Pathol Lab Med. 2000, 124(1): 71-81.

[4] 姚根宏.雌激素对免疫系统的调节[J].卫生研究,2004,6(33):759-761.

[5] 周仁芳,胡朝军,张蜀澜,等.抗核抗体筛查试验与特异性抗体确认试验的相关性研究[J].中华检验医学杂志,2009,32(12):1344-1348.

[6] Vinusea CG, Goodnow CC. Immunology: DNA drives autoimmunity[J]. Nature, 2002, 416(6881): 595-598.

[7] Gerli R, Caponi L. Anti-ribosomal P protein antibodies[J]. Autoimmunity, 2005, 38(1): 85-92.

[8] Beger E, Dexocharan B, Edelman M, et al. A peptide DNA surrogate accelerates autoimmune manifestations and nephritis in lupus-prone mice[J]. J Immunol, 2002, 168(7): 3617-3626.

[9] 孙红,胡志刚. SLE 患者抗核糖体 P 蛋白临床应用研究进展[J].国际检验医学杂志,2011,32(17):1974-1976.

(收稿日期:2011-10-20)