

• 临床检验研究论著 •

抗着丝点蛋白 B 抗体阳性血清的抗核抗体荧光模式及其临床应用价值

朱 蓉, 孙明忠, 居会祥, 周中卫, 肖丽华

(东南大学医学院附属盐城医院医学检验中心, 江苏盐城 224001)

摘要:目的 探讨抗着丝点蛋白 B 抗体(CENP-B)阳性血清抗核抗体(ANA)荧光模式及其临床应用价值。方法 对 96 例抗 CENP-B 抗体阳性血清的 ANA 荧光模式、滴度、分布及临床诊断进行回顾性分析。结果 96 例抗 CENP-B 抗体阳性血清中,单纯性抗 CENP-B 抗体阳性(+/—)为 46 例(47.9%),+/-组和+/+组的荧光模式比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。 $<1:1\ 000$ 和 $\geq 1:1\ 000$ 的核型滴度组抗 CENP-B 抗体阳性强度的差异有统计学意义($P<0.01$);+/-组的自身免疫性疾病(AID)患者主要为系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、干燥综合征、系统性硬化症、原发性胆汁性肝硬化和雷诺综合征;非 AID 患者中,主要多见于脑梗死、贫血和Ⅱ型糖尿病患者。结论 抗 CENP-B 抗体在脑梗死、贫血和Ⅱ型糖尿病患者中的较高表达值得关注。

关键词:抗体,抗核; 脑梗死; 贫血; 糖尿病,2型; 抗着丝点蛋白 B 抗体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.23.026

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)23-3162-02

Fluorescence patterns of anti-nuclear antibody of positive serum of anti-centromere protein B antibody and its clinical application values

Zhu Rong, Sun Mingzhong, Ju Huixiang, Zhou Zhongwei, Xiao Lihua

(Center for Medical Laboratory, Yancheng Hospital Affiliated to Medical School of Southeast University, Yancheng, Jiangsu 224001, China)

Abstract:Objective To investigate the fluorescence patterns of anti-nuclear antibody(ANA) of positive serum of anti-centromere protein B(CENP-B) antibody and its clinical application values. **Methods** The fluorescence patterns, titers, distribution of ANA of 96 samples of anti-CENP-B antibody-positive serum and clinical diagnosis were retrospectively analyzed. **Results** Among 96 samples of anti-CENP-B antibody-positive serum, 46(47.9%) samples were found simple anti-CENP-B antibody positive(+/-). Compared with fluorescence patterns in +/- group and +/+ group, difference had statistical significance($P<0.01$). Difference of anti-CENP-B antibody intensity between $<1:1\ 000$ and $\geq 1:1\ 000$ karyotype titer groups showed statistical significance($P<0.01$). Systematic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, Sjogren's syndrome, systemic sclerosis, primary biliary cirrhosis, and Raynaud's syndrome were the main disease which were found in patients with autoimmune diseases(AID) in +/- group, while cerebral infarction, anemia and type II diabetes were mainly prevalent in non-AID patients. **Conclusion** It should be pay attention for the high expression of anti-CENP-B antibody in patients with cerebral infarction, anemia and type II diabetes.

Key words: antibodies, antinuclear; brain infarction; anemia; diabetes mellitus, type 2

抗着丝点抗体(ACA)的靶抗原为着丝点蛋白,通常有抗 CENP-A、B、C 抗体 3 种,抗 CENP-B 抗体最常见,大多数 ACA 阳性血清至少与其中 2 种抗原反应,且中和 CENP-B 反应^[1]。能与 CENP-B 发生反应的血清为抗 CENP-B 抗体阳性血清。着丝点是纺锤丝在染色体上附着点,细胞分裂时着丝点和纺锤丝收缩使染色单体向细胞两极移动。目前,抗 CENP-B 抗体是临床上相对少见的自身抗体^[2]。现就抗 CENP-B 抗体阳性的血清进行分析,以探讨其 ANA 荧光模型、滴度及临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 12 月至 2013 年 3 月在本院检测抗核抗体(ANA)的门诊或住院患者 3 315 例中,抗 CENP-B 抗体阳性的患者 96 例,其中,男 14 例,女 82 例。男不超过 40 岁 3 例, ≥ 41 岁 11 例;女不超过 40 岁 12 例, ≥ 41 岁 70 例。96 例患者中能查询到临床明确诊断的 81 例,自身免疫性疾病(AID)符合美国风湿病学会诊断标准,其他疾病诊断均符合现有疾病诊断的相关标准。

1.2 主要试剂和检测方法 试剂均购自德国欧蒙诊断公司,ANA 用间接免疫荧光法(IIF),ANA 用线性免疫印迹法(LIA),操作严格按各试剂盒说明书进行。IIF 检测中,荧光模

式的判断实行 2 人互盲报告制度,如遇有分歧或疑义的模式咨询欧蒙技术人员再行确定。荧光模式分单纯着丝点型、着丝点混合型(含着丝点型和其他核型)和其他型(不含着丝点型的其他核型)3 组。按核型滴度分 2 组: $<1:1\ 000$ 、 $\geq 1:1\ 000$ 组。LIA 检测 ANA 有 15 种特异性抗体[每根膜条上依次包被高纯化 nRNP/Sm、Sm、SS-A、Ro-52、SS-B、Scl-70、PM-Scl、Jo-1、CENP-B、增殖细胞核抗原(PCNA)、dsDNA、核小体、组蛋白、核糖体 P 蛋白和抗线粒体抗体 M2 亚型(AMA-M2),共 15 种靶抗原]。按 ANA 的结果分为 A、B 2 组,A 组为抗 CENP-B 抗体阳性,其他 14 种特异性抗体阴性(+/—),B 组为抗 CENP-B 抗体阳性,同时,其他 14 种特异性抗体也有一种或多种阳性(+/+)。抗 CENP-B 抗体阳性强弱的判读根据扫描仪 EURO Line Scan 软件扫描结果,依着色强度分为+/- (6~10)、+(11~25)、++ (26~50)、+++ (51~56) 4 组。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行统计学分析,计数资料用 χ^2 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

抗 CENP-B 抗体总体阳性率为 2.9%(96/3 315),单纯抗

CENP-B 抗体阳性占抗 CENP-B 抗体阳性的 47.9%(46/96)。抗 CENP-B 抗体阳性的患者中,男女之比为 1.0:5.9。抗 CENP-B 抗体阳性患者中,≤40 岁的 15 例,≥41 岁的 81 例,二者之比为 1.0:5.4。+/- 组患者 ANA 荧光模式以单纯着丝点型为主,占 82.6%(38/46)。+/+ 组患者 ANA 荧光模式以着丝点混合型为主,占 58.0%(29/50)。+/- 组和 +/+ 组间荧光模式的差异有统计学意义($\chi^2=26.28, P<0.01$)。单纯着丝点型和着丝点混合型患者 ANA 的差异均有统计学意义($\chi^2=24.93, P<0.01; \chi^2=23.27, P<0.01$)。其他型患者 ANA 的差异无统计学意义($\chi^2=0.38, P>0.05$)。抗 CENP-B 抗体的强弱与荧光核型滴度间的关系见表 1。<1:1 000、≥1:1 000 核型滴度组间比较,抗 CENP-B 抗体阳性强弱的差异有统计学意义($\chi^2=25.66, P<0.01$)。+/- 组和 +/+ 组核型滴度间的差异有统计学意义($\chi^2=16.22, P<0.01; \chi^2=14.93, P<0.01$)。+ 组和 +/+ 组核型滴度间的差异无统计学意义($\chi^2=0.00, P>0.05; \chi^2=2.51, P>0.05$)。

表 1 抗 CENP-B 抗体的强弱与核型滴度间的例数分布					
核型滴度	n	抗 CENP-B 抗体(n)			
		+/-	+	++	+++
<1:1000	23	8	6	8	1
≥1:1000	73	3	9	25	36

抗 CENP-B 抗体在不同疾病中的表达见表 2。在 39 例单纯抗 CENP-B 抗体阳性者中, AID 患者占 41.0%(16/39), 非 AID 患者占 59.0%(23/39), 差异无统计学意义($\chi^2=2.51, P>0.05$)。AID 患者主要为系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、干燥综合征、系统性硬化症、原发性胆汁性肝硬化和雷诺综合征患者。非 AID 患者中, 主要多见于脑梗死、贫血和 II 型糖尿病患者。81 例抗 CENP-B 抗体阳性者, 两核型滴度组间的差异有统计学意义($\chi^2=37.56, P<0.01$)。

表 2 81 例抗 CENP-B 抗体在不同疾病中的表达(n)					
疾病	n	ANA		滴度	
		+/-	+/+	<1:1 000	≥1:1 000
AID	41	16	25	9	32
系统性红斑狼疮	13	3	10	2	11
类风湿性关节炎	5	3	2	2	3
干燥综合征	6	2	4	1	5
系统性硬化症	3	2	1	1	2
原发性胆汁性肝硬化	5	2	3	1	4
雷诺综合征	4	2	2	1	3
其他结缔组织病	5	2	3	1	4
非 AID	40	23	17	12	28
肝脏疾病	7	2	5	2	5
肾脏疾病	4	2	2	1	3
肺部疾病	3	2	1	1	2
脑梗死	10	7	3	4	6
贫血	5	4	1	1	4
糖尿病(II 型)	4	3	1	1	3
其他	7	3	4	2	5

3 讨 论

抗 CENP-B 抗体是 ANA 的一种, 1980 年应用 IIF 法首先在硬皮病患者血清中发现, 它的总体阳性率较低为 2.9%, 在临床中是相对少见的自身抗体。这与周仁芳等^[3]对 ANA 阳

性者荧光模式的统计中, 着丝点型占 3% 的结果是较为一致的, 只是讨论的角度不同。抗 CENP-B 抗体阳性患者中, 女性明显多于男性, 高年龄组阳性率明显高于低年龄组, 这一特性与其他特异性自身抗体是相同的。

+/- 组患者 ANA 荧光模式以单纯着丝点型为主, 而其他荧光模式的存在可能是因为其他荧光模式相对应的抗原不在膜条包被的 15 种靶抗原中, 或到目前为止还没有发现其相对应的靶抗原。IIF 法检测 ANA 时, 每个反应区包被 2 种抗原基质, Hep-2 细胞和鼠肝组织冰冻切片中含有的抗原信息量包括细胞核、细胞质、细胞膜、细胞骨架等, 远多于膜条中的 15 种抗原。如吴丽娜等^[4]报道, 核点型和核膜型在欧蒙的 ANA 15 项中没有特异性抗体。李琳芸^[5]报道, 抗细胞质型对应的特异性抗体检出率低, 可能为常规抗体谱以外的其他抗体。

+/+ 组患者 ANA 荧光模式以着丝点混合型为主, 而单纯着丝点型也占 32.0%(16/50), 这可能是因为其他抗体对应的荧光模式相对强度较弱, 被主要着丝点型掩盖或其滴度低于起始稀释滴度(1:100)而不能看出, 而 LIA 法膜条上包被的都是对应的高浓度抗原, 所以其相关抗体可以表达。在以后的研究中, 要注意把 +/+ 组中 ANA 荧光模式是单纯着丝点型的这一类的血清降低稀释度, 如 1:40、1:80, 再观其荧光模式, 以判断是否有除着丝点型外的其他荧光模式。

有研究^[6]认为, 着丝点型之外还存在其他荧光核型, 如核颗粒型也能表现出抗 CENP-B 抗体阳性。也有研究^[3]认为, 着丝点型与特异性抗体抗 CENP-B 抗体为 100% 吻合。笔者发现, 其他型中以核颗粒型和核仁型为主, 且抗 CENP-B 抗体多为弱阳性, 这说明可能是因为着丝点型荧光过弱被主要核型掩盖, 不易分辨, 而 LIA 法膜条上包被的都是对应的高浓度 CENP-B 抗原, 故结果为 ANA 荧光着丝点型阴性, 而膜条中抗 CENP-B 抗体阳性。

抗 CENP-B 抗体的强弱与着丝点型滴度间有一定的对应关系, 但又不完全是正对应关系, 因为 +/- 和 +/+ 两组核型滴度差异有统计学意义, 而 + 和 +/+ 两组滴度的差异无统计学差异。

抗 CENP-B 抗体在不同疾病中的表达说明, 抗 CENP-B 抗体可出现在多种疾病中, 对临床疾病的诊断无特异性^[7]。有人认为抗 CENP-B 抗体与雷诺现象有密切关系^[8]。有人认为抗 CENP-B 抗体是 CREST 综合征的特异性抗体^[9]。也有报道^[10]认为 ACA 阳性并非 CREST 综合征的特异性抗体。抗 CENP-B 抗体在系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、干燥综合征、系统性硬化症、原发性胆汁性肝硬化、雷诺综合征和肝病等患者中都有表达, 这与相关研究^[11-12]基本一致, 但在阳性率上有差别, 可能与研究对象的量及疾病的组成不同有关。本研究还发现, 在非 AID 患者中, 抗 CENP-B 抗体阳性主要多见于脑梗死伴高血压、贫血和 II 型糖尿病患者。7 例脑梗死患者中有 5 例伴高血压。4 例贫血患者有 1 例是缺铁性贫血, 3 例是巨幼红细胞性贫血。抗 CENP-B 抗体对这些非 AID 疾病究竟有着怎样的特异性, 或者是否存在可能合并某种自身免疫性疾病的预示, 值得我们进一步探讨。

总之, 单纯抗 CENP-B 抗体阳性血清的 ANA 荧光模式多为单纯着丝点型, 抗 CENP-B 抗体阳性, 同时其他特异性抗体阳性血清的 ANA 荧光模式多为着丝点混合型。抗 CENP-B 抗体可出现在多种疾病中, 对临床疾病的诊断无特异性。抗 CENP-B 抗体在脑梗死、贫血和 II 型糖尿病等非 AID 患者中的较高表达值得关注。(下转第 3165 页)

表 1 研究因素的赋值及单因素非条件 Logistic 回归分析

研究因素	定义及赋值	单因素分析			
		系数值	Wald χ^2 值	P	OR
门静脉宽度	≥ 14 mm=1	1.521	17.001	0.001	4.023
	< 14 mm=2				
血清清蛋白	< 28 g/L=1	-0.502	4.672	0.032	0.823
	28~35 g/L=2				
	> 35 g/L=3				
总胆红素	< 34.2 mmol/L=1	0.782	2.375	0.082	0.212
	34.2~51.3 mmol/L=2				
	> 51.3 mmol/L=3				
APTT	> 41 s=1	0.968	7.034	0.009	2.673
	< 41 s=2				
Child-Pugh 分级	A 级=1	0.683	2.124	0.094	0.201
	B 级=2				
	C 级=3				
血小板计数	$< 5 \times 10^9$ =1	0.879	4.890	0.026	0.742
	$\geq 5 \times 10^9$ =2				
SAAG	> 18.3 g/L=1	1.542	32.485	0.000	4.327
	≤ 18.3 g/L=2				

表 2 研究因素的多因素非条件 Logistic 回归分析

研究因素	Wald χ^2 值	P	OR
SAAG	24.778	0.000	3.675
APTT	5.024	0.023	2.346

3 讨 论

门静脉高压症患者出现食管-胃底静脉破裂出血是其致死的严重并发症,早期及准确预测是降低病死率的一级预防。腹水在生成和吸收的动态中达到平衡,其形成因素包括门静脉压力及腹腔积液的胶体渗透压,其吸收因素主要是血浆胶体渗透压,而血清清蛋白是血浆胶体渗透压最重要的生成因子,所以 SAAG 在形成腹水中与门静脉压力达到平衡,SAAG 等于门静脉压力,也就是说,SAAG 增高反映的是门静脉压力的增高^[1-3],门静脉压力越高,食管-胃底静脉曲张越严重,发生破裂的可能性加大。有研究显示,SAAG 与静脉曲张的严重程度呈正向线性相关^[4]。对于肝功能的其他指标中,胆红素未发现与出血间的相关性,而清蛋白单因素回归分析中显示的是保护因素,因此,肝功能分级更多的是反映肝细胞的储备能力,与出血

无密切关系。

APTT 是出血的独立危险因素,APTT 延长既是消化道出血的原因,也是出血的后果。肝硬化患者肝功能受损后,能发挥正常功能的肝细胞减少,导致各种出、凝血相关因子合成减少^[5],APTT 延长,内源性凝血功能降低,发生出血的概率增加。该结果与国外的报道一致^[1]。在发生血管破裂时,血管破裂口不易被血栓阻塞,容易发生大出血。本研究提示,引起全身出血的凝血因素在肝硬化门静脉高压症患者食管-胃底静脉出血中有非常重要的作用。在食管-胃底静脉曲张的患者中监测凝血功能,给予重建正常凝血机制的药物非常必要。

有研究表明,SAAG 值与肝硬化患者上消化道出血的发生呈显著相关,其预测出血的敏感性为 100%,特异性为 33.3%^[6]。因此,构建 SAAG 的 ROC 曲线,具有重要的临床意义,在截点值为 18.5 g/L 时,敏感性与 1-特异性的乘积最大,为 84%。

综上所述,SAAG 是一种良好的预测门静脉高压症患者消化道出血的生化指标。

参考文献

[1] Barrera F,Riquelme A,Soza A,et al. Platelet count/spleen diameter ratio for non-invasive prediction of high risk esophageal varices in cirrhotic patients[J]. Ann Hepatol,2009,8(4):325-330.

[2] Dittrich S,Yordi LM,de Mattos AA. The value of serum-ascites albumin gradient for the determination of portal hypertension in the diagnosis of ascites[J]. Hepatogastroenterology, 2001, 48(37):166-168.

[3] 刘思纯,谢鹏雁. 血清腹水清蛋白梯度与渗漏出液概念临床价值的比较[J]. 中华消化杂志,2002,22(3):175-176.

[4] 张辉,高春,房龙,等. 血清腹水清蛋白梯度与肝硬化食管静脉曲张程度的相关性[J]. 世界华人消化杂志,2012,20(27):2608-2612.

[5] 胡晓,程超,冯立民. 乙型肝炎后肝硬化患者凝血功能和血浆 D-二聚体水平与 Child-Pugh 肝功能分级的关系分析[J]. 现代检验医学杂志,2013,28(2):60-62.

[6] Mene A,Sharma D,Raina VK. Correlation between serum-ascites albumin concentration gradient with gastrointestinal bleeding in patients of portal hypertension[J]. Trop Doct,2003,33(1):39-41.

(收稿日期:2013-09-03)

(上接第 3163 页)

参考文献

[1] Imafuku Y. Anticentromere antibody[J]. Nihon Rinsho,2010,68 Suppl 6:S506-509.

[2] Imafuku Y. Immunologic tests: Anticentromere antibody[J]. Nihon Rinsho,2005,63 Suppl 7:S460-463.

[3] 周仁芳,胡朝军,张蜀渊,等. 临床标本抗核抗体 102 651 例检测结果回顾性分析[J]. 中华检验医学杂志,2009,32(12):1339-1343.

[4] 吴丽娜,郭萍,丁宁. 抗核抗体荧光核型与特异性抗体相关性分析[J]. 免疫学杂志,2010,26(11):973-976.

[5] 李琳芸. 抗细胞浆型自身抗体的临床意义初步探讨[J]. 检验医学,2013,28(2):120-123.

[6] 于贤奎,王化芬,许会彬,等. 着丝点蛋白 B 阳性 19 例临床分析[J]. 临床军医杂志,2011,39(6):1197-1198.

[7] Vlachoyiannopoulos PG, Moutsopoulos HM. Anticentromere

(ACA)-positive Sjögren's syndrome: a disease entity[J]. Clin Exp Rheumatol,2013,31(2):163-164.

[8] 陈瀑,严立,祝继华. 26 例抗着丝点抗体阳性分析[J]. 重庆医科大学学报,2005,30(3):461-462,484.

[9] Admou B,Essaadouni L,Amal S,et al. Autoantibodies in systemic sclerosis:clinical interest and diagnosis approach[J]. Ann Biol Clin (Paris),2009,67(3):273-281.

[10] 王美云,张宏,陶金辉,等. 抗着丝点抗体在自身免疫性疾病中的临床意义[J]. 实用医学杂志,2012,28(4):586-588.

[11] 冯霞,闫惠平,刘燕敏,等. 抗着丝点抗体在肝病患者中的检测及其意义[J]. 中国实验诊断学,2012,16(4):666-668.

[12] 曾克勤,陈志伟,蒋玲,等. 抗着丝粒蛋白 B 抗体在风湿性疾病中的表达及临床意义[J]. 江苏医药,2012,38(11):1280-1282.

(收稿日期:2013-09-22)