

• 临床检验研究论著 •

ANA、抗 dsDNA 抗体和抗 ENA 抗体谱对系统性红斑狼疮的诊断价值

谌晓燕, 陈 艳, 张银辉, 王 霓, 吕春兰
(襄阳市中医医院检验科, 湖北襄阳 441000)

摘要:目的 探讨抗核抗体(ANA)、抗双链 DNA(dsDNA)抗体及抗可溶性抗原(ENA)抗体谱对系统性红斑狼疮(SLE)的临床诊断价值。方法 将 158 例 SLE 患者作为 SLE 组, 50 例健康者作为对照组。分别采用间接免疫荧光法(IIF)及免疫印迹法(IBT)对 ANA、抗 dsDNA 抗体及抗 ENA 抗体谱进行检测。结果 ANA、抗 dsDNA 抗体及抗 ENA 抗体谱检测在 SLE 诊断中的阳性率分别为 81.65%、68.35% 及 87.34%, 均低于三者联合检测(93.04%), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。抗 ENA 抗体谱中, 抗 U1 核糖核蛋白(U1-nRNP)抗体的阳性率(52.53%)最高。结论 联合检测 ANA、抗 dsDNA 抗体及抗 ENA 抗体谱对 SLE 的早期诊断具有一定的临床价值。

关键词: 红斑狼疮, 系统性; 抗体, 抗核; 抗体, 抗双链 DNA; 抗体, 抗可溶性抗原; 诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.09.018

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)09-1131-03

The clinical value of ANA, anti-dsDNA antibody and anti-ENA antibody repertoire in systemic lupus erythematosus diagnosis

Chen Xiaoyan, Chen Yan, Zhang Yinhui, Wang Ni, Lv Chunlan
(Department of Clinical Laboratory, Xiangyang Hospital of Traditional
Chinese Medicine, Xiangyang, Hubei 441000, China)

Abstract: **Objective** To investigate clinical value of the anti-nuclear antibody(ANA), anti-double strand DNA(dsDNA) antibody and anti-extractable nuclear antigen(ENA) antibody repertoire in systemic lupus erythematosus(SLE) diagnosis. **Methods** 158 SLE patients were served as SLE group and another 50 healthy people as the control group. Indirect immunofluorescence(IIF) and immunoblotting test(IBT) were employed to detect ANA, anti-dsDNA antibody and anti-ENA antibody repertoire. **Results** Positive rates of ANA, anti-dsDNA antibody and anti-ENA antibody repertoire in SLE diagnosis were 81.65%, 68.35% and 87.34%, respectively, which were all lower than that of their combined detection(93.04%), with statistically significant difference ($P < 0.05$). Among anti-ENA antibody repertoire, the positive rate of anti-U1-nuclear ribonucleoprotein(U1-Nrnp) antibody (52.53%) was the highest. **Conclusion** Combined detection of ANA, anti-dsDNA antibody and anti-ENA antibodies repertoire has some clinical value of early diagnosis of SLE.

Key words: lupus erythematosus, systemic; antibodies, antinuclear; antibodies, anti-double strand DNA; antibodies, anti-extractable nuclear antigen; diagnosis

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种累及多器官、多系统的炎症性结缔组织病,多发于青年女性,其临床症状比较复杂,可出现发热、皮疹、关节痛、肾损害、心血管病变(包括心包炎、心肌炎和脉管炎)、胸膜炎、精神症状、胃肠症状、贫血等。SLE 常呈渐进性,较难缓解,其发病机制主要是机体细胞和体液免疫功能紊乱,其特点是患者血清中有大量具有免疫活性的多种自身抗体,从而形成免疫复合物,继而引起组织器官的损伤,患者血清中自身抗体的检测是实验室诊断的重要指标^[1],尤其是抗双链 DNA(double strand DNA, dsDNA)抗体阳性时,多能结合补体、累及肾脏,从而发生狼疮性肾炎。因此,实验室准确、及时地为临床提供可靠数据,对 SLE 的诊断、治疗和疗效观察均具有一定应用价值。本文对 158 例 SLE 患者进行了抗核抗体(anti-nuclear antibody, ANA)、抗 dsDNA 抗体和抗可溶性抗原(extractable nuclear antigen, ENA)抗体谱的检测,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2008 年 1 月至 2013 年 6 月于本院住院的 SLE 患者 158 例作为 SLE 组,其中,男 42 例,女 116 例;年

龄 35~81 岁,平均(55.00±4.35)岁,患者均符合美国风湿病学会(American College of Rheumatology, ACR)1982 年修订的 SLE 诊断标准。排除标准:合并周围血管疾病或周围血管管腔性阻塞性疾病者;合并脑卒中、糖尿病者;合并感染性疾病(如严重上呼吸道感染及肺、肝、胆道感染)者;合并高热、恶性肿瘤者;使用炎症抑制药物(如非固醇类镇痛药、类固醇)和鸦片类药物者。另选择本院 50 例健康体检者作为对照组,其中,男 12 例,女 38 例;年龄 35~65 岁,平均年龄(52.00±2.26)岁。

1.2 检测方法 清晨采集受检者空腹静脉血,3 000 r/min 离心 10 min 分离血清,于-80℃保存待检,3 个工作日内完成检测。

1.2.1 ANA 的检测 采用德国欧蒙医学实验诊断有限公司产品及间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence, IIF)进行 ANA 检测,ANA 抗原片同时固定有人上皮细胞(Hep-2)和灵长类猴肝切片。受检血清按 1:100、1:320、1:1 000、1:3 200 稀释后分别与固定在载片上的细胞和组织基质进行反应,并加入异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记的抗人 IgG 后,在徕卡 DM2500 荧光显微镜下观察

ANA 荧光及其免疫荧光核型。以抗体滴度不低于 1∶100 为阳性。

1.2.2 抗 dsDNA 抗体的检测 分别采用 IIF 和免疫印迹法 (immunoblotting test, IBT) 对抗 dsDNA 抗体进行检测。dsDNA 抗原片固定有绿蝇短膜虫, 受检血清以 1∶10 稀释, 将包被有绿蝇短膜虫的生物薄片和稀释血清样本同时温育。荧光显微镜下观察鞭毛虫动基体均质和部分环状荧光, 则为阳性反应, 同时阳性对照也显示相同的荧光模式; 如动基体不显示荧光, 或仅出现细胞核、鞭毛基体或细胞质的荧光, 则为阴性反应。

1.2.3 抗 ENA 抗体谱的检测 采用德国欧蒙医学实验诊断有限公司及 IBT 检测。受检血清以 1∶100 稀释, 将其与膜条上的靶抗原反应 30 min, 洗涤 3 次后, 分别加入酶标记的抗人 IgG、底物液反应, 蒸馏水清洗膜条终止反应, 如印迹带检测区域与标准区域出现相同的结果判为阳性, 否则为阴性。抗 ENA 抗体谱检测包括抗 U1 核糖核蛋白 (U1-nuclear ribonucleoprotein, U1-nRNP)、Smith (Sm)、干燥综合征 A (sjogren syndrome-A, SSA)、SSB、硬皮病 70 (sclerosis-70, Scl-70)、Jo-1、Ro-52、着丝粒蛋白 B (centromere protein B, CENP B)、dsDNA、核小体、组蛋白和核糖体 P 蛋白抗体的检测, 其中抗 ENA 抗体谱中任一抗体阳性, 则抗 ENA 抗体谱为阳性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析, 计数资料用率表示, 率的比较采用 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

SLE 患者血清 ANA、抗 dsDNA 抗体及抗 ENA 抗体谱阳性的检测结果见表 1。ANA、抗 dsDNA 抗体及抗 ENA 抗体谱单独检测在 SLE 诊断中的阳性率分别为 81.65%、68.35% 及 87.34%, 均低于三者联合检测的阳性率 (93.04%), 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。抗 ENA 抗体谱中, 抗 U1-nRNP 抗体阳性率 (52.53%) 最高。分别采用 IIF 和 IBT 对抗 dsDNA 抗体进行检测, IIF 检测阳性率 (68.35%) 显著高于 IBT 检测阳性率 (36.08%), 两者同时检测的阳性率为 34.81%, 见表 2。

表 1 血清 ANA、抗 dsDNA 抗体及抗 ENA 抗体谱阳性的检测结果[n(%)]

检测项目	SLE 组 (n=158)	对照组 (n=50)
ANA	129(81.65)	1(2.00)
抗 dsDNA 抗体	108(68.35)	0(0.00)
抗 ENA 抗体谱	138(87.34)	0(0.00)
抗 U1-nRNP	83(52.53)	0(0.00)
抗 Sm	56(35.44)	0(0.00)
抗 SSA	41(25.95)	0(0.00)
抗 SSB	20(12.66)	0(0.00)
抗 Ro-52	39(24.68)	0(0.00)
抗 Scl-70	22(13.92)	0(0.00)
抗 Jo-1	11(6.96)	0(0.00)
抗 CENP B	6(3.80)	0(0.00)
抗 dsDNA	57(36.08)	0(0.00)
抗核小体	42(26.58)	0(0.00)
抗组蛋白	40(25.32)	0(0.00)
抗核糖体 P 蛋白	72(45.57)	0(0.00)

表 2 IIF 与 IBT 抗 dsDNA 抗体检测结果比较[n(%)]

方法	n	阳性[n(%)]	阴性[n(%)]
IIF	158	108(68.35)*	50(31.65)*
IBT	158	57(36.08)	101(63.92)
IIF+IBT	158	55(34.81)	50(31.65)

* : $P<0.05$, 与 IBT 比较。

3 讨 论

SLE 是一种多因素参与的特异性自身免疫性疾病, 因此, 自身抗体的检测可对其诊断、治疗及预后估计提供重要依据^[2]。SLE 患者体内产生自身抗体有一定的规律性, 其出现的先后顺序有所不同^[3]。ANA 是细胞内所有抗原成分的自身抗体的总称。ANA 在未治疗的 SLE 患者中滴度较高, 在大多数自身免疫性疾病中均可呈阳性, 尤其是 SLE。这主要是因为核酸的释放是由细胞凋亡、染色质断裂引起的, 正常人体内染色质断裂的核酸在细胞内即被吞噬细胞吞噬, 不会释放到细胞外; 而 SLE 患者体内吞噬细胞吞噬作用受限, 以及补体异常, 从细胞释放出的核酸增多, 从而产生较多的 ANA^[4]。本研究中 ANA 在 SLE 患者中的阳性率为 81.65%, 与文献^[5]报道的基本一致。但有研究发现^[6], ANA 阴性者仍不能完全排除 SLE, 因其可见于多种疾病, 特异性较差, 且 ANA 受多种因素的影响, 且随着时间的改变, ANA 可能因患者的治疗情况和病情活动而变化, 故其只能作为 SLE 的筛查指标。

抗 dsDNA 抗体有 2 种, 一种只与 dsDNA 反应, 另一种既与 dsDNA, 也与单链 DNA (single stranded DNA, ssDNA) 反应, 临床检测的通常为后者^[7]。抗 dsDNA 抗体被公认为是诊断 SLE 的指标之一, 是 SLE 高度特异性抗体, 且抗 dsDNA 抗体滴度与疾病活动程度呈正相关。本研究中, 抗 dsDNA 抗体在 SLE 患者中阳性率为 68.35%, 其特异性较高。其诊断阳性率较低的可能因为血液中存在的较多游离 DNA 抗原与相应抗 DNA 抗体结合。

抗 ENA 多肽抗体是针对核内可提取性核抗原的一种自身抗体, ENA 抗原可用盐水或磷酸盐缓冲液从细胞核中提取^[8]。抗 ENA 抗体谱检测对结缔组织病的诊断和鉴别诊断有重要意义, 但与疾病的严重程度或活动性无明显相关。不同自身免疫性疾病可产生不同的抗 ENA 多肽抗体, 不同特性的抗 ENA 抗体在各种自身免疫性疾病中的阳性率不同^[9]。本研究的抗 ENA 抗体谱中, 抗 U1-nRNP 抗体阳性率最高, 文献^[10]报道, 抗 U1-nRNP 抗体是混合性结缔组织病的标志性抗体, 阳性率高达 90.5%, 在 SLE 患者中检出率达 77.6%。本研究提示抗 Sm、核小体、组蛋白、核糖体 P 蛋白抗体的特异性较高, 抗组蛋白、核糖体 P 蛋白及 Ro-52 抗体也可能成为 SLE 诊断的新的标记抗体。

本研究中, 对抗 dsDNA 抗体分别采用 IIF 和 IBT 检测进行了方法学比较, IIF 检测阳性率 (68.35%) 显著高于 IBT 检测阳性率 (36.08%), 两者同时检出阳性率为 34.81%, 两种方法检测阳性率显著性差异的原因可能在于: IBT 具有聚丙烯酰胺凝胶电泳的高分辨率和酶联免疫吸附技术的高特异性, 抗原由于相对分子质量和结构的不同经电泳转移在硝酸纤维素膜上而分为不同的条带, 配合酶标记抗体和显色底物可检测出相应的抗原。但抗 dsDNA 抗体靶抗原为双链脱氧核糖核酸, 很难

经电泳转移至硝酸纤维膜上,因此,用 IBT 法检测抗 dsDNA 抗体的阳性率较低。而 IIF 采用绿蝇短膜虫为抗原基质,绿蝇短膜虫体内含有较大的 dsDNA 动基体,而不含其他 dsDNA,特异性强,该法检测抗 dsDNA 抗体的阳性率较低。

本研究中,ANA、抗 dsDNA 抗体和抗 ENA 抗体谱联合检测的阳性率均高于单个自身抗体检测的阳性率,与国内外文献报道一致^[11-14],同时,ANA、抗 dsDNA 抗体和抗 ENA 抗体谱的检测对 SLE 的诊断与鉴别诊断、病情的发展、疗效的观察都有重要意义,联合检测可明显提高其诊断准确率,值得在临床上推广使用。

参考文献

[1] 叶任高. 内科学[M]. 6 版. 北京:人民卫生出版社,2004.

[2] 仲人前,耿红莲. 自身免疫性疾病实验室诊断进展[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(8):867-868.

[3] 侯然,程玉萍. SLE 研究进展. [J]. 中国误诊学杂志,2004,4(8):1218-1219.

[4] Wu JF, Yang YH, Wang LC, et al. Antinucleosome antibodies correlate with the disease severity in children with systemic lupus erythematosus[J]. J Autoimmun, 2006, 27(2):119-124.

[5] 龚晓彬,姚海林,贺爱民. SLE 患者自身抗体,免疫球蛋白,补体检测分析[J]. 江西医学检验,2006,24(S1):S597-598.

[6] 颜宏华,张新伟,解茂阳,等. 九项自身抗体联合检测在系统性红斑狼疮诊断中的价值[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(19):2207-2208.

(上接第 1130 页)

明显高于健康者,而Ⅲ、Ⅳ期卵巢癌患者血清 HE4 水平明显高于临床Ⅰ、Ⅱ期,与文献[13]报道相符合。结果表明,HE4 可能与临床进展有关,同时也提示,HE4 可用于卵巢癌的早期辅助诊断。

卵巢癌在手术化疗后,HE4 水平迅速下降,在第 2 次化疗结束后即恢复到正常水平,结果表明,HE4 可作为卵巢癌疗效观察和病情监测指标。

综上所述,HE4 是诊断卵巢癌的较好标志物,对卵巢癌的辅助诊断敏感、特异,诊断价值较大。同时,血清 HE4 水平与卵巢癌的发生、发展密切相关,血清 HE 水平测定对卵巢癌的病理分型、分期及疗效观察等有一定意义。

参考文献

[1] Anastasi E, Granato T, Coppa A, et al. HE4 in the differential diagnosis of a pelvic mass: a case report[J]. Int J Mol Sci, 2011, 12(1):627-632.

[2] Li J, Dowdy S, Tipton T, et al. HE4 as a biomarker for ovarian and endometrial Cancer management[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2009, 9(6):555-566.

[3] 杨有业,张秀明,王前,等. 临床检验方法学评价[M]. 北京:人民卫生出版社,2008.

[4] Kirchhoff C. Molecular characterization of epididymal proteins [J]. Rev Reprod, 1998, 3(2):86-95.

[5] 卢仁泉,郭林,沈烨红. HE4 在卵巢癌诊治中的临床应用评价[J].

[7] 陈兴国,张小利,刘春燕,等. 系统性红斑狼疮患者血清抗 dsDNA 抗体的表达水平变化及临床意义分析[J]. 放射免疫性杂志, 2008,16(1):6-8.

[8] Chloraki-Bobota A, Megalakaki C, Repousis P, et al. Prevalence of autoantibodies (ANA, anti ds-DNA, ENA, IMF) and rheumatic syndromes in patients with lymphoproliferative diseases [J]. J BUON, 2007, 11(4):485-489.

[9] Hoxha A, Ruffatti A, Grypiotis P, et al. Antinuclear, anti-dsDNA and anti-ENA antibodies in patients affected with rheumatoid arthritis or ankylosing spondylitis during treatment with infliximab [J]. Reumatismo, 2006, 58(2):121-126.

[10] 牟君成,陈联,王文昕,等. ANA、抗 ENA 抗体联合检测对自身免疫病诊断的意义[J]. 重庆医学, 2009, 38(18):2334-2337.

[11] 代方英. 自身免疫性疾病检查抗核抗体与可提取的核抗原谱的临床意义[J]. 中国医药指南, 2012, 10(4):160-161.

[12] 李锦荣,梁玉全,何秋贤,等. 抗核抗体,抗双链 DNA 及核抗原抗体联合检测对系统性红斑狼疮临床诊断的价值[J]. 黑龙江医学, 2010, 12(34):881-883.

[13] 邓学新,曲昌华. 818 例自身免疫病抗 ENA 抗体与抗核抗体的对照分析[J]. 临床检验杂志, 2005, 23(4):302-303.

[14] 陆晓东,成海龙,潘红宁,等. 系统性红斑狼疮和类风湿性关节炎患者 ANA、ENA 多肽谱及抗 ds-DNA 抗体联合检测的意义[J]. 山东医药, 2009, 49(20):80-81.

(收稿日期:2014-01-15)

中国癌症杂志, 2010, 20(9):680-685.

[6] Galgano MT, Hampton GM, Frierson HF Jr. Comprehensive analysis of HE4 expression in normal and malignant human tissues [J]. Mod Pathol, 2006, 19(6):847-853.

[7] Moore RG, Brown AK, Miller MC, et al. The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass[J]. Gynecol Oncol, 2008, 108(2):402-408.

[8] 罗兆芹,赵冰冰,张玮,等. 血清 HE4 浓度测定对卵巢恶性肿瘤的诊断价值[J]. 肿瘤防治研究, 2012, 39(3):312-317.

[9] Moore RG, Mcmeekin DS, Brown AK, et al. A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian Cancer in patients with a pelvic mass[J]. Gynecol Oncol, 2009, 112(1):40-46.

[10] Montagnana M, Lippi G, Ruzzenente O, et al. The utility of serum human epididymis protein 4 (HE4) in patients with a pelvic mass [J]. J Clin Lab Anal, 2009, 23(5):331-335.

[11] 武建国. 卵巢癌的生物标志物[J]. 临床检验杂志, 2012, 30(2):84-88.

[12] Köbel M, Kalloger SE, Boyd N, et al. Ovarian carcinoma subtypes are different diseases: implications for biomarker studies[J]. PLoS Med, 2008, 5(12):e232.

[13] 刘国瑞,王艾丽,刘琦,等. 联合检测血清 CA125 和 HE4 用于卵巢癌诊断及鉴别诊断[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(2):119-121.

(收稿日期:2013-12-06)