

• 临床检验研究论著 •

# 抗核抗体核型与抗核抗体谱检测结果对比分析

陈燧琼, 赵迪, 邓晓刚, 任方, 任圣洁, 杨文杰, 李智<sup>△</sup>

(上海市杨浦区中心医院检验科, 上海 200090)

**摘要:**目的 分析本实验室抗核抗体(ANA)与抗核抗体谱(ANAs)17项联合检测的情况,并探讨两者之间的相关性。方法 分别用间接免疫荧光法和免疫印迹法检测患者 ANA 和 ANAs,判断其 ANA 核型和 ANAs 结果,并对各荧光核型和各种特异性抗核抗体结果进行统计分析。结果 340 例 ANA 阳性患者标本中,颗粒型 214 例,着丝点型 51 例,胞浆颗粒型 28 例,核仁型 25 例,均质型 17 例,周边型 5 例,颗粒型是检出的主要核型。ANAs 17 项抗体阳性率为 82.94%。214 例荧光颗粒型标本中,常见的抗体为抗 SSA/Ro52kd(31.78%)、抗 SSA/Ro60k(d30.84%)和抗 SSB/La(19.16%)抗体;17 例荧光均质型标本中,常见的抗体为抗核小体(47.06%)和抗组蛋白(41.18%)抗体;抗 CenpB 对着丝点核型的诊断具有较高的特异性,阳性率为 92.16%(47/51)。结论 不同荧光核型的 ANA 与 ANAs 抗体之间有一定的关系,但并无绝对的规律可寻,两种 ANA 的检测方法,间接免疫荧光法和免疫印迹法联合应用,有助于自身免疫性疾病(AID)的诊断和预后观察。

**关键词:**抗核抗体; 抗核抗体谱; 间接免疫荧光法; 免疫印迹法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.14.018

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)14-1859-03

## Comparative analysis of antinuclear antibody karyotypes and antinuclear antibody spectrum

Chen Yiqiong, Zhao Di, Deng Xiaogang, Ren Fang, Ren Shengjie, Li Zhi<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, Yangpu District Central Hospital, Shanghai 200090, China)

**Abstract:** Objective To analyze the results of the 17-index combined detection of antinuclear antibodies (ANA) karyotypes and antinuclear antibody spectrum (ANAs) in our laboratory and to investigate the correlation between them. **Methods** ANA and the specific ANAs were detected by the indirect immunofluorescence(IIF) and the immunoblotting respectively. The results of the ANA karyotypes and the specific ANAs were statistically analyzed. **Results** Results Among 340 samples of ANA positive, 214 cases were the speckled pattern, 51 cases were the centromere pattern, 28 cases were the cytoplasmic pattern, 25 cases were the nucleolar pattern, 17 samples were the homogeneous pattern and 5 samples were the peripheral pattern, the speckled pattern was the main detected pattern. The positive rate of 17-index ANAs was 82.94%. In 214 cases of speckled pattern, the common antibodies were anti SSA/Ro52kd (31.78%), anti- SSA/Ro60k (d30.84%) and anti- SSB / La (19.16%); in 17 cases of homogenous pattern, the common antibodies were anti-nucleosome (47.06%) and anti-histone (41.18%); anti- CenpB was specific to pattern of centromere, the positive rate was 92.16% (47/51). **Conclusion** There is a certain relationship between different fluorescent patterns and ANAs, but there is no absolute rule, so IIF and immunoblotting as two kinds of ANA detection methods should combined to use, which will contribute more to the diagnosis and prognosis observation of autoimmune disease(AID).

**Key words:** antinuclear antibody; antinuclear antibody spectrum; indirect immunofluorescence; immunoblotting

抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)是自身免疫性疾病(autoimmune disease, AID)的重要标志物。ANA 首选间接免疫荧光法,广泛用于 AID 的筛查,而免疫印迹法特异性抗核抗体谱(antinuclear antibody spectrum, ANAs)检测对 AID 的诊断和鉴别诊断、病情评估与治疗监测、病程转归与预后判断等都具有重要的临床应用价值<sup>[1-2]</sup>。本文通过对 ANA 荧光核型与 17 种抗体的对比分析,探讨常见 ANA 荧光核型与 ANAs 中阳性抗体的关系。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 对 2012 年 7 月至 2013 年 1 月在本院门诊和住院的疑似自身免疫性疾病的患者,进行两种方法的抗核抗体检查,340 例 ANA(IIF 法)检测阳性者中,女性 251 例,男性 89 例。

## 1.2 仪器与试剂

**1.2.1 仪器** Olympus BX50 荧光显微镜,深圳亚辉龙自动免疫分析仪 TF12-B。

**1.2.2 试剂** ANA 检测采用间接免疫荧光法,试剂盒来源于美国 SCIMEDX 公司。ANAs 检测采用免疫印迹法,检测试剂盒由深圳市亚辉龙生物科技有限公司提供,其试剂条含有 17 个测定项目:抗双链脱氧核糖核酸抗体(抗 dsDNA)、抗核小体抗体、抗组蛋白抗体(抗 histones)、抗 SmD1 抗体(抗 SmD1)、抗增殖性细胞核抗原抗体(抗 PCNA)、抗核糖体 P 蛋白抗体(抗 P0)、抗 SSA/Ro52kd、抗 SSA/Ro60kd、抗 SSB/La、抗着丝点蛋白 B 抗体(抗 CenpB)、抗硬皮病 70 抗体(抗 SCL-70)、抗 U1-snRNP、抗线粒体 M2 型抗体(抗 AMA-M2)、抗 Jo-1 抗体(抗 Jo-1)、抗多发性肌炎/硬皮病抗体(抗 PM-Scl)、抗 Mi-2 抗体(抗 Mi-2)、抗 Ku 抗体(抗 Ku)。

**1.3 方法** 全部病例取清晨空腹静脉血 3 mL,静置 30 min 后,离心分离血清,分别检测 ANA 核型和 ANAs。ANA 核型采用 HEp-2(人喉癌上皮细胞株)为抗原底物的间接免疫荧光法检测,将血清 1:40 稀释,按试剂说明书操作,荧光显微镜下观察特异性的荧光模型;ANA 抗体谱采用纯化抗原的酶免疫

印迹法,将血清 1∶100 稀释,按试剂说明书操作,将两者结果进行对比分析。

2 结 果

2.1 ANA 阳性标本的核型分析 340 例 ANA 阳性患者标本中,颗粒型 214 例,占 62.94%;着丝点型 51 例,占 15%;胞浆颗粒型 28 例,占 8.24%;核仁型 25 例,占 7.35%;均质型 17 例,占 5%;周边型 5 例,占 1.47%。核型阳性率最高的是颗粒型,其次是着丝点型、胞浆颗粒型。

2.2 不同核型 ANA 标本中 ANAs 抗体的阳性率比较 340 例 ANA 阳性标本中,共检出 ANAs 17 项抗体单项或多项阳性 282 例,阳性率为 82.94%,不同荧光核型 ANA 标本中 ANAs 抗体的阳性情况见表 1。

2.3 各种荧光核型与 ANAs 17 项抗体的结果见表 2。

表 1 不同荧光核型 ANA 标本中 ANAs 抗体的阳性情况

核型	总例数	阳性数(例)	阳性率(%)
颗粒型	214	178	83.18
均质型	17	11	64.71
着丝点型	51	47	92.16
胞浆颗粒型	28	23	82.14
周边型	5	5	100.00
核仁型	25	18	72.00
合计	340	282	82.94

表 2 各种荧光核型与 ANAs 17 项抗体的结果分析[n(%)]

抗体种类	各种荧光核型对应抗体阳性						
	单项阳性 (n=340)	颗粒型 (n=214)	均质型 (n=17)	着丝点型 (n=51)	胞浆颗粒型 (n=28)	周边型 (n=5)	核仁型 (n=25)
抗 dsDNA	7(2.06)	4(1.87)	1(5.88)	1(1.96)	0(0.00)	1(20.00)	0(0.00)
抗核小体	42(12.35)	29(13.55)	8(47.06)	0(0.00)	2(7.14)	2(40.00)	1(4.00)
抗组蛋白	45(13.24)	32(14.95)	7(41.18)	0(0.00)	2(7.14)	2(40.00)	2(8.00)
抗 SmD1	20(5.88)	12(5.61)	4(23.53)	0(0.00)	2(7.14)	1(20.00)	1(4.00)
抗 PCNA	14(4.12)	9(4.21)	0(0.00)	3(5.88)	1(3.57)	0(0.00)	1(4.00)
抗 P0	11(3.24)	8(3.74)	0(0.00)	0(0.00)	3(10.71)	0(0.00)	0(0.00)
抗 SSA/Ro52kd	88(25.88)	68(31.78)	5(29.41)	1(1.96)	7(25.00)	3(60.00)	4(16.00)
抗 SSA/Ro60kd	82(24.12)	66(30.84)	4(23.53)	2(3.92)	7(25.00)	1(20.00)	2(8.00)
抗 SSB/La	60(17.65)	41(19.16)	4(23.53)	4(7.84)	4(14.29)	1(20.00)	6(24.00)
抗 CenpB	50(14.71)	1(0.47)	1(5.88)	47(92.16)	0(0.00)	1(20.00)	0(0.00)
抗 SCL-70	6(1.76)	6(2.80)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
抗 U1-snRNP	21(6.18)	15(7.01)	0(0.00)	0(0.00)	1(3.57)	2(40.00)	3(12.00)
抗 AMA-M2	33(9.71)	20(9.35)	2(11.76)	4(7.84)	6(21.43)	0(0.00)	1(4.00)
抗 Jo-1	6(1.76)	4(1.87)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	2(8.00)
抗 PM-scl	16(4.71)	11(5.14)	1(5.88)	2(3.92)	0(0.00)	1(20.00)	1(4.00)
抗 Mi-2	25(7.35)	22(10.28)	0(0.00)	1(1.96)	0(0.00)	0(0.00)	2(8.00)
抗 Ku	27(7.94)	16(7.48)	1(5.88)	4(7.84)	2(7.14)	0(0.00)	4(16.00)

3 讨 论

ANA 是一组以真核细胞的核成分为靶抗原的自身抗体的总称,ANA 靶抗原分布由传统的细胞核抗原扩展到现在的整个细胞,包括细胞核、细胞骨架、细胞浆、细胞周期等,可与不同来源的细胞核起反应,无器官特异性和种属特异性<sup>[3]</sup>。间接免疫荧光法作为 ANA 检测的标准方法,已被广泛用于自身免疫性疾病的筛查。免疫印迹法检测 ANAs 是在反应膜条上平行包被多种高度纯化或重组的抗原物质检测特异性抗体,具有操作简单快速、易自动化,一次可检测 AID 相关的多种特异性自身抗体,并且在方法学上与 ELISA 比较有相似的高灵敏度和特异性等优点<sup>[4]</sup>。

本研究结果显示,340 例 ANA 阳性患者标本中,颗粒型占 62.94%,着丝点型占 15%,胞浆颗粒型占 8.24%,核仁型占 7.35%,均质型占 5%,周边型占 1.47%。各核型阳性率与国

内的报道结果有一定的偏差<sup>[5-6]</sup>。结果分析表明,颗粒型和着丝点型阳性率偏高,均质型偏低,究其原因,可能是研究对象的疾病构成不同引起的。本地区是否是某种或某几种 AID 的高发区,有待于进一步的研究;采用不同品牌的试剂,以及不同的稀释度对荧光核型也有一定的影响;观察者的主观因素也是很重要的原因之一。340 例 ANA 阳性患者标本中,ANAs 的阳性率为 82.94%,与文献报道<sup>[7]</sup>的一致,但仍有 17.06%的漏检率。由于 ANAs 检测的特异性抗体数量有限,无法包被 ANA 的所有抗体,尽管本研究中的抗体谱已扩大到 17 项,但仍有大量未知的特异性抗体未被认识或应用于临床,所以会导致间接免疫荧光法检测阳性的患者 ANAs 结果阴性<sup>[8-9]</sup>。同时本文研究也发现部分间接免疫荧光法阴性标本 ANAs 特异性抗体阳性的现象,因此,临床实践中间接免疫荧光法和免疫印迹法应联合检测,以减少对 AID 的误诊和(下转第 1863 页)

风险<sup>[3]</sup>。

目前检测 IMA 水平最常用方法是清蛋白结合试验 (ACB)。本研究结果显示 ROC 曲线下的 ACU 值在 NSTEMI 组 IMA(0.966)早期诊断价值优于 hs-cTnT(0.942),进一步表明 IMA 是一种新的较为理想的缺血标志物。IMA 通过 ABC 法测定是惟一个美国食品药品监督管理局(FDA)批准为心肌缺血标志物排除 ACS 低风险患者的试验<sup>[4]</sup>。有研究证明:IMA 是检测冠脉痉挛导致缺血、早期心肌缺血的敏感指标,而不是一个坏死诊断标志物<sup>[5]</sup>。IMA 在心肌缺血后 5~10 min 即可升高,缺血持续进行时则持续上升。24 h 后回复正常,故能更早发现急性心肌缺血,ACS 患者心肌缺血检出的灵敏度是 ECG 的 2 倍、cTnT 的 4 倍,更早预测心脏事件的相对危险。

超敏肌钙蛋白(hs-cTnT)在发生 AMI 后 3~4 h 升高,窗口期 7~14 d。美国心脏病协会(AHA)和美国心脏病学会(ACC)、欧洲心脏病协会(ACC)等权威组织都将普通 cTnT 作为诊断 AMI 的最主要条件和金标准<sup>[6]</sup>。在条件允许的情况下,第四代超敏肌钙蛋白 T(hs-cTnT)是目前诊断 AMI 的首选生化标志物,与普通的 cTnT 相比特异性不变,敏感性更高,最低检测限更低,可达 0.003 μg/L,在这次试验分析也显示在 ACS 患者三组中 hs-cTnT 的诊断效率和特异性均最高。

本次试验中,在 UAP 组 hs-CRP 联合 IMA,对 ACS 的诊断敏感性、特异性均可提高。在 NSTEMI 组,MYO 假阳性率最高,IMA 灵敏度最高,IMA 假阴性率最低,并且在 ROC 曲线的面积最大,可联合检测 IMA 和 hs-cTnT 来提高 ACS 的诊断敏感性和特异性。在 STEMI 组,hs-cTnT 假阳性率最低,hs-

cTnT、CK-MB 假阴性率最低,可联合检测 hs-cTnT 和 CK-MB 来提高 ACS 的诊断敏感性和特异性。

总之,灵活选择兼顾高敏感性和高特异性,低假阳性率和低假阴性率的联合检测,既有助于早期诊断 ACS,又可避免重复检查,值得临床推广和普及。

参考文献

[1] Rawles J. Magnitude of benefit from earlierthrombolytic treatment inacutemyocardial infarction: newevidence from Grampian region early anistreplase trial(GREAT)[J]. Br MedJ, 1996, 312(1): 212-216.

[2] 陈思娇, 祁虹, 魏敏, 等. 老年急性冠脉综合征与 C 反应蛋白相关性研究[J]. 中国全科医学, 2007, : 883-884.

[3] 李志远, 郭红前, 贾意国, 等缺血修饰清蛋白在心肌缺血早期诊断中的临床价值[J]. 泰山医学院学报, 2010, 11(31): 9.

[4] Anonymous. Lab test niles out heart attack[J]. FDA Conaumer, 2003, 37(3): 3.

[5] Bar-Or D, Lou E, Winkler JV. A novel assay for conbolt albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia-apreliminary report[J]. J Emerg Med, 2000, 19(4): 311-315.

[6] 中华医学会心血管病分会, 中华心血管病杂志. 不稳定性心绞痛和非 ST 段抬高心肌梗死诊断与治疗指南[J]. 中华心血管病杂志, 2007, 35(4): 295-304.

(收稿日期: 2014-01-15)

(上接第 1860 页)

漏诊<sup>[10]</sup>。

本研究发现, 214 例荧光颗粒型的 ANAs 中, 常见的抗体为抗 SSA/Ro52kd、抗 SSA/Ro60kd 和抗 SSB/La, 阳性率分别为 31.78%、30.84% 和 19.16%, 表明颗粒型与干燥综合征血清抗体标志物有一定的相关性。17 例荧光均质型的 ANAs 中, 抗核小体和抗组蛋白阳性率较高, 分别为 47.06% 和 41.18%, 表明均质型与红斑狼疮(SLE)血清抗体标志物有一定的相关性。51 例荧光着丝点型的标志中, 有 47 例抗 CenpB 阳性, 说明抗 CenpB 对着丝点核型的诊断具有较高的特异性, 但着丝点核型中仍有检测出其他抗体阳性, 所以即使是着丝点核型, 也要进行 ANAs 检测, 避免漏检其他对临床诊断有价值的抗体指标。抗 Jo-1 和抗 Scl-70 检出率较低, 与文献报道<sup>[7, 11]</sup>的相一致; 抗 dsDNA 检出率也偏低, 与文献报道<sup>[12]</sup>不一致, 检出率低这一原因还有待进一步研究。

虽然间接免疫荧光法 ANA 与 ANAs 之间有一定的关系, 但同一种自身抗体可以出现不同的荧光核型, 不同的自身抗体可以出现相同的荧光核型<sup>[6]</sup>, 本文研究结果也表明, ANA 的荧光核型与 ANAs 的抗体类型没有绝对的规律可寻, 不能简单地依据荧光核型来判断相应抗体的类型。联合检测间接免疫荧光法 ANA 和 ANAs, 有助于 AID 的诊断和预后观察。

参考文献

[1] Mahler M, Fritzler MJ. The clinical significance of the dense fine speckled immunofluorescence pattern on HEp-2 cells for the diagnosis of systemic autoimmune diseases[J]. Clin Dev Immunol, 2012, 2012: 494356.

[2] 林志红, 金涌, 白玉. 抗核抗体 ANA 谱检测在自身免疫性疾病诊

断中的临床应用[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(12): 2115-2116.

[3] Damoiseaux JG, Tervaert JW. From ANA to ENA: how to proceed[J]. Autoimmun Rev, 2006, 5(1): 10-17.

[4] Damoiseaux J, Boesten K, Giesen J, et al. Evaluation of a novel line-blot immunoassay for the detection of antibodies to extractable nuclear antigens[J]. Ann N Y Acad Sci, 2005, 1050(1): 340-347.

[5] 吕婉娟, 戴伟良, 翁光祥. 联合检测抗核抗体与抗可提取的核抗原抗体对自身免疫性疾病的诊断价值[J]. 实用医技杂志, 2010, 17(7): 621-622.

[6] 赖永才, 毛炜. 自身免疫性疾病中抗核抗体与抗 ENA 抗体的相关性分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(7): 815-816.

[7] 张健, 王丽, 王文龙, 等. 抗核抗体核型与抗核抗体谱 3(IgG)相应抗体的关系研究[J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2011, 5(1): 221-223.

[8] 李艳, 孙家祥, 鄂建飞. 1 725 例血清抗核抗体及抗核抗体谱检测结果分析[J]. 西部医学, 2012, 24(3): 584-586.

[9] 陈维蓓, 陈瀑, 张莉萍. 临床标本自身抗体 4729 例检测结果回顾性分析[J]. 重庆医学, 2011, 40(3): 229-231.

[10] 董晓微, 胡朝军, 张道强, 等. 抗核抗体与特异性自身抗体检测结果不一致的临床意义分析[J]. 检验医学, 2011, 26(9): 606-609.

[11] 李霞, 梅冰, 王昌富. 979 例自身免疫性疾病抗核抗体与抗 ENA 抗体联合检测的结果分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2009, 3(1): 175-177.

[12] 张道强, 隋秀梅, 林荣海, 等. 抗核抗体间接免疫荧光法检测结果与抗核抗体谱免疫印迹法检测结果对比分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(11): 1212-1217.

(收稿日期: 2014-01-08)