

• 临床检验研究论著 •

系统性红斑狼疮抗核抗体和抗核抗体谱联合检测及其临床意义

储红颖¹, 杨桂斌¹, 王建华¹, 牛 林², 袁国龙²

(安徽省阜阳市人民医院:1. 检验科;2. 风湿科, 安徽阜阳 236003)

摘要:目的 探讨联合检测抗核抗体(ANA)和抗核抗体谱(ANAs)在系统性红斑狼疮(SLE)中的诊断价值及临床意义。
方法 选取 110 例 SLE 患者、88 例其他自身免疫病(AID)患者、50 例健康体检者,用间接免疫荧光法(IIF)检测血清 ANA;用免疫印迹法检测 ANAs 15 项。**结果** 110 例 SLE 患者血清中,ANA、抗核糖核蛋白/史密斯抗体(nRNP/Sm)、抗史密斯抗体(Sm)、抗干燥综合征 A 抗体(SSA)、抗 Ro-52 抗体(Ro-52)、抗干燥综合征 B 抗体(SSB)、抗硬皮病 70 抗体(ScI-70)、抗 PM-Scl 抗体(PM-Scl)、抗细胞浆组酰-tRNA 抗体(J0-1)、抗着丝点抗体(CENP B)、抗增殖蛋白抗体(PCNA)、抗双链 DNA 抗体(ds-DNA)、抗核小体抗体(AnuA)、抗组蛋白抗体(AHA)、抗核糖体 P 蛋白抗体(ARPA)、抗线粒体抗体 M2 型(AMA M2)的阳性率分别为 98.2%、59.1%、39.1%、71.8%、68.2%、21.8%、2.7%、3.6%、0.9%、9.1%、5.5%、44.5%、38.2%、27.3%、38.2%、15.5%,以上 16 自身抗体在其他 AID 中的阳性率分别为 64.8%、14.8%、0%、37.5%、42.0%、11.4%、9.1%、0%、5.7%、9.1%、1.1%、2.3%、1.1%、1.1%、5.7%、2.3%;ANA 对 SLE 诊断的敏感度最高(98.2%),特异性较低(35.2%),对诊断 SLE 特异性较高的抗体有抗 Sm 抗体(100.0%)、抗 ds-DNA 抗体(97.7%),抗 AnuA 抗体(99.0%),抗 AHA 抗体(99.0%),抗 ARPA 抗体(94.3%),抗 PCNA 抗体(98.9%)。用 IIF 检测 ANA 核型最多的是核颗粒型(43.5%)和疾病对照组(50.9%)比较差异无统计学意义($P>0.05$),部分 ANA 阴性的患者中会有 ANAs 阳性。**结论** SLE 患者血清中可检测到多种自身抗体,联合 ANA 和 ANAs 检测对 SLE 的诊断及鉴别诊断有重要临床意义。

关键词: 系统性红斑狼疮; 抗核抗体; 免疫印迹法; 间接免疫荧光法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.15.032

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)15-2042-03

Combined detection of antinuclear antibody and antinuclear antibody spectrum and its clinical significance in systemic lupus erythematosus

Chu Hongying¹, Yang Guibin¹, Wang Jianhua¹, Niu Lin², Yuan Guolong²

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Rheumatology, Fuyang Municipal
People's Hospital, Fuyang, Anhui 236003, China)

Abstract: **Objective** To explore the diagnostic value and clinical significance of the combined detection of antinuclear antibody (ANA) and anti-nuclear antibody spectrum (ANAs) in systemic lupus erythematosus (SLE). **Methods** 110 patients with SLE, 88 patients with other autoimmune diseases (AID) and 50 individuals with healthy physical examination were selected and detected serum ANA by using indirect immunofluorescence (IIF); the Western blot was adopted to detect the 15 items of ANAs. **Results** Among 110 cases of SLE, the positive rates of serum ANA, anti-ribonucleoprotein / Smith antibody (nRNP/Sm), anti-Smith antibody (Sm), anti-Sjogren's syndrome A antibody (SSA), anti-Ro-52 antibody (Ro-52), anti-Sjogren's syndrome B antibody (SSB), anti-scleroderma 70 antibody (ScI-70), anti-PM-Scl antibody (PM-Scl), anti-cytoplasmic group acyl-tRNA antibody (J0-1), anti-centromere antibodies (CENP B), anti-proliferative protein antibody (PCNA), anti-double stranded DNA antibody (ds-DNA), anti-nucleosome antibody (AnuA), anti-histone antibody (AHA), anti-ribosomal P protein antibody (ARPA) and anti-mitochondrial antibody M2 subtype (AMA M2) were 98.2%, 59.1%, 39.1%, 71.8%, 68.2%, 21.8%, 2.7%, 3.6%, 0.9%, 9.1%, 5.5%, 44.5%, 38.2%, 27.3%, 38.2% and 15.5% respectively, the positive rate of above 16 kinds of autoantibody in the orther AID were 64.8%, 14.8%, 0%, 37.5%, 42.0%, 11.4%, 9.1%, 0%, 5.7%, 9.1%, 1.1%, 2.3%, 1.1%, 1.1%, 5.7% and 2.3% respectively; ANA had the highest diagnostic sensitivity (98.2%) and low specificity (35.2%) for SLE, the antibodies with higher specificity in diagnosing SLE were anti-Sm antibody (100.0%), anti-ds-DNA antibody (97.7%), anti-AnuA antibody (99.0%), anti-AHA antibody (99.0%), anti-ARPA antibody (94.3%) and anti-PCNA antibody (98.9%) and the disease control group (50.9%). In detecting ANA karyotype by IIF, the maximum was nuclear particle type (43.5%) and the disease control group (50.9%), no statistically significant difference was found between them ($P>0.05$), part of the ANA-negative patients have positive ANAs. **Conclusion** Multiple autoantibodies can be detected in the serum of the SLE patients. The combined detection of ANA and ANAs has important clinical significance for diagnosing and differentially diagnosing SLE.

Key words: systemic lupus erythematosus; antinuclear antibody; immunoblotting; indirect immunofluorescence

系统性红斑狼疮(SLE)是一种发病原因不明的,累及多系统的自身免疫性疾病,其主要特征是患者血清中能产生多种自身抗体^[1],其中以抗双链 DNA 及 Sm 抗体最为特异^[2]。本研究通过分析 110 例 SLE 患者血清中的抗核抗体(ANA)和抗核抗体谱(ANAs)15 项:抗核糖核蛋白/斯密斯抗体(nRNP/Sm)、抗史密斯抗体(Sm)、抗干燥综合征 A 抗体(SSA)、抗 Ro-52 抗体(Ro-52)、抗干燥综合征 B 抗体(SSB)、抗硬皮病 70 抗体(Scl-70)、抗 PM-Scl 抗体(PM-Scl)、抗细胞浆组酰-tRNA 抗体(J0-1)、抗着丝点抗体(CENP B)、抗增值蛋白抗体(PCNA)、抗双链 DNA 抗体(ds-DNA)、抗核小体抗体(AnuA)、抗组蛋白抗体(AHA)、抗核糖体 P 蛋白抗体(ARPA)、抗线粒体抗体 M2 型(AMA M2),探讨多种抗体联合检测在 SLE 中的诊断价值和临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院 2011~2012 年在风湿科住院的 SLE 患者 110 例(SLE 组),SLE 的诊断符合 1997 年美国风湿病学会(ARA)对 SLE 的指导建议^[3],其中男 5 例,女 115 例,年龄 12~78 岁,平均(38±14)岁。疾病对照组为其他自身免疫性疾病(AID)88 例,包括结缔组织病 20 例,干燥综合征 20 例,类风湿关节炎 20 例,皮炎 5 例,血管炎 15 例,硬皮病 8 例,诊断均符合各自的诊断标准,其中男 4 例,女 96 例,年龄 18~73 岁,平均(52±13)岁。健康对照组为 50 位健康体检者,其中男 25 例,女 25 例,年龄 18~77 岁,平均(47±13)岁。

1.2 方法 ANA 采用间接免疫荧光法(IIF),试剂盒为德国欧蒙公司提供。血清 1:100 稀释,取 25 μL 加至反应板,与 HEP-2 细胞和猴肝基质片反应,室温 30 min,冲洗后加 20 μL 异硫氰酸荧光素(FITC)标记的抗人球蛋白,室温 30 min,冲洗封片,结果在 Olympus 荧光显微镜下观察。ANAs 采用免疫印迹法,试剂为德国欧蒙公司提供的 ANA 谱 3 试剂盒,检测抗 nRNP/Sm、抗 Sm、抗 SSA、抗 Ro-52、抗 SSB、抗 Scl-70、抗 PM-Scl、抗体 J0-1、抗 CENPB、抗 PCNA、抗 ds-DNA、AnuA、AHA、ARPA、AMA M2 抗体。模态置温育槽中摇摆温育,将 1:101 稀释血清加入,摇摆温育 30 min,洗涤后加入碱性磷酸酶标记的抗人 IgG 抗体,温育 30 min,加入底物温育 10 min 显色,用去离子水清洗后,终止反应,试验结果用 EuRolineScan 软件判读。

1.3 统计学处理 用 SPSS13.0 统计软件包进行统计学分析。采用四格表计算分析各种抗体的评价指标,配对数据比较用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清中 ANA 和 15 项 ANAs 检测结果比较 SLE 患者中 ANA 的阳性率最高为 98.2%,健康对照组未检出自身抗体。SLE 组中 ANA 和 ANAs 的阳性率与疾病对照组比较,抗

SSB、抗 PCNA、抗 CENP B、抗 Scl-70、抗 Jo-1 差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。各组 ANA、ANAs 对 SLE 诊断的敏感度、特异性、阳性预测值、阴性预测值结果见表 2。抗 Scl-70、抗 Jo-1、抗 PM-Scl、AMA 抗体因阳性例数少,没有参与效能评价。其中抗 Sm 抗体对于诊断 SLE 的特异性最高为 100%。

2.2 ANA 阴性的 SLE 患者中 ANAs 的分布情况 110 例 SLE 患者中,有 2 例为 IIF-ANA 阴性,其中 1 例 ANAs 为抗 SSA 抗体阳性,另 1 例为抗 SSA 抗体及 Ro-52 抗体同时阳性。

2.3 SLE 患者 ANA 用 IIF 法检测的核型与疾病对照组比较 SLE 组核型最多的是核颗粒型(42.7%),其次是核均质型(22.0%),见表 3。

表 1 两组 ANA、ANAs 检测阳性率比较[n(%)]				
抗体种类	SLE 组(n=110)	疾病对照组(n=88)	χ^2	P
ANA	108(98.2)	57(64.8)	39.289	<0.01
抗 nRNP/Sm	65(59.1)	13(14.5)	40.210	<0.01
抗 Sm	43(39.1)	0(0)	41.675	<0.01
抗 SSA	79(78.1)	33(37.5)	23.435	<0.01
抗 Ro-52	75(68.2)	37(42.0)	13.593	<0.01
抗 SSB	24(21.8)	10(11.4)	3.57	>0.05
抗 SCL-70	3(2.7)	8(9.1)	2.658	>0.05
抗 PM-Scl	4(3.6)	0(0)	1.687	>0.05
抗 JO-1	1(0.9)	5(5.7)	2.340	>0.05
抗 CENP B	10(9.1)	8(9.1)	0	>0.05
抗 PCNA	6(5.5)	1(1.1)	1.557	>0.05
抗 ds-DNA	49(44.5)	2(2.3)	45.87	<0.01
AnuA	42(38.2)	1(1.1)	39.465	<0.01
AHA	30(27.0)	1(1.1)	25.290	<0.01
ARPA	42(38.20)	5(5.7)	28.525	<0.01
AMA M2	17(15.5)	2(2.3)	8.653	<0.05

表 2 各种自身抗体对 SLE 诊断的效能评价情况(%)				
项目	敏感度	特异性	阳性预测值	阴性预测值
ANA	98.2	35.2	65.4	93.9
抗 nRNP/Sm	59.1	85.2	83.3	62.5
抗 Sm	39.1	100.0	100.0	56.8
抗 SSA	71.8	62.5	70.5	63.9
抗 Ro-52	68.2	58.0	67.0	59.3
抗 SSB	21.8	86.6	70.6	47.6
抗 CENP B	9.1	90.9	55.6	44.5
抗 PCNA	5.5	98.9	85.7	45.5
抗 ds-DNA	44.5	97.7	96.1	58.5
AnuA	38.2	99.0	97.7	56.1
AHA	27.3	99.0	96.8	52.1
ARPA	38.2	94.3	89.4	55.0

表 3 SLE 组和疾病对照组荧光模式比较[n(%)]*									
组别	n	S	H	cy	N	S+cy	H+cy	着丝点	其他
SLE 组	108	47(43.5)	24(22.2)	3(2.8)	1(0.9)	18(16.7)	7(6.5)	2(1.8)	14(13.0)
疾病对照组	57	29(50.9)	7(12.3)	2(3.5)	4(7.0)	3(5.3)	1(1.8)	8(14.0)	3(5.3)
P		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05

*:S 为核颗粒型,H 为核均质型,cy 为胞浆型,N 为核仁型。

3 讨 论

SLE 是以多系统多脏器受累为临床特点,以产生 ANA 等多种自身抗体为免疫学特点的慢性、炎症性结缔组织病,好发于育龄妇女,女:男为 7~9:1^[3]。本组资料女:男为 19:1,和文献[4]报道有差异,可能因本研究病例均选自风湿科,由于男性患者病情隐匿、临床表现不典型、血清免疫学指标阳性率低导致男性 SLE 患者临床诊断难于女性^[5],而分散到临床其他各科有关。

SLE 免疫学的最显著特点是出现 ANA,它是针对所有有核细胞的非特异性自身抗体,可出现在多种自身免疫性疾病中,特异性不高。本组研究中,SLE 组 ANA 的阳性率为 98.2%,特异性为 35.2%,与文献[6]报道基本一致。其他 AID 组中,ANA 的阳性率为 64.8%,说明 ANA 对于诊断 SLE 有较高的敏感性,但缺乏特异性,可以用作筛查,不能作为诊断 SLE 的唯一指标。

IIF 检测 ANA 采用的是 HEP-2 细胞和猴肝切片,部分抗原可能会存在底物分布不均、含量过低、及不同固定方法对特定抗原的破坏等因素,导致部分特异抗体漏检^[7],本组 110 例 SLE 患者中,有 2 例为 IIF-ANA 阴性,其 ANAs 为 SSA、Ro-52 阳性,和文献[8]报道相符,说明在 ANA 阴性的情况下,ANAs 的阳性检测结果同样有重要的临床提示价值,联合检测 ANA 和 ANAs 可以提高 SLE 诊断的敏感性。

IIF 检测 ANA 会出现不同的荧光核型,根据荧光核型可大致判断相应抗体。SLE 患者血清中会有多种自身抗体同时出现,核型多样。本研究 SLE 组中,IIF 测 ANA 检出 2 例着丝点型,阳性率为 1.8%(2/110),和疾病对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$),而用免疫印迹法抗 CENP B 抗体的阳性率为 9.1%(16/110),和疾病对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。原因可能与 SLE 血清中多种抗体同时出现,核型相互干扰、掩盖,使典型核型发生改变有关。ANA 的核型只能对靶抗原起提示作用,不能用做靶抗原的确认。在 SLE 组的荧光核型中出现最多的是核颗粒型 43.3%(47/108),其次是核均质型 22.2%(24/108),和疾病对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$),说明只通过荧光核型不能对 SLE 进行诊断。

抗 Sm 抗体是 SLE 的高度特异抗体,对于早期不典型的 SLE 及治疗后的回顾诊断有很大指导意义,是 SLE 的血清学诊断标准之一。本组 110 例 SLE 患者血清中,有 43 例抗 Sm 抗体阳性,敏感度 39.1%,特异性 100%,和文献[9]报道相一致。抗 ds-DNA 抗体存在疾病的活动期,且抗体的滴度和疾病的活动度相关,特别是与肾脏的损害相关,本组研究中,该抗体对于 SLE 的敏感度为 44.5%,特异性为 97.7%,是 SLE 的高度特异抗体。抗 AnuA 抗体是 SLE 发病过程中的一种主要抗体,且和疾病的活动度相关,尤其在抗 ds-DNA 抗体、抗 Sm 抗体、抗 AHA 抗体阴性的 SLE 患者中有很高的阳性率^[9],本组

研究中,抗 AnuA 抗体对于 SLE 的阳性率为 38.2%,特异性为 99.0%,测定此抗体,可以弥补其他抗体的不足。抗 ARPA 抗体对 SLE 的敏感度为 38.2%,特异性 94.3%,是 SLE 的特异性抗体,其在神经精神性狼疮患者中有较高的阳性率且与临床活动度相关。抗 PCNA 抗体一直被认为是 SLE 的特异性抗体,也有报道认为抗 PCNA 抗体不是 SLE 的特异抗体,它还可以出现在其他的 AID 中尤其是 UCTD 和 SS 中^[10]。本组结果显示,该抗体在 SLE 中的敏感度较低 5.5%(6/110),与文献[10]报道相一致,特异性较高为 98.9%,认为是 SLE 的特异抗体。该抗体和 SLE 的关联还需要大样本进一步研究。

本组研究中,抗 Sm 抗体、抗 ds-DNA 抗体、抗 AnuA 抗体、抗 AHA 抗体、抗 ARPA 抗体、抗 PCNA 抗体对于诊断 SLE 的特异性都在 90%以上,说明以上 6 种抗体为 SLE 特异性抗体。ANAs 的其他抗体在 SLE 中也有一定的阳性率,说明 SLE 患者血清中可能会出现多种自身抗体,也可能与合并其他 AID 有关。总之,联合 ANA 及 ANAs 检测,对于 SLE 的诊断和鉴别诊断有重要的临床意义。

参考文献

[1] Dipti TR, Azam MS, Sattar MH, et al. Detection of anti-nuclear antibody by immunofluorescence assay and enzyme immunoassay in childhood systemic lupus erythematosus: experience from Bangladesh[J]. Int J Rheum Dis, 2012, 15(1): 121-125.

[2] 马东来, 张少静, 文夫瑞德. 斯特克. 自身抗体及其免疫荧光模式[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2000: 7.

[3] 中华医学会风湿分会. 系统性红斑狼疮诊断及治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志, 2010, 14(5): 342-346.

[4] 杨红, 张伟. 系统性红斑狼疮免疫机制研究进展[J]. 中华风湿病杂志, 2007, 11(4): 247-249.

[5] 冯琴, 纪超, 刘继永. 系统性红斑狼疮 408 例临床和免疫学回顾性分析[J]. 临床皮肤科杂志, 2008, 37(12): 763-765.

[6] 黄静芳, 徐红星. 系统性红斑狼疮患者自身抗体检测结果分析[J]. 检验医学, 2012, 27(11): 975-976.

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

[8] 周仁芳, 胡朝军, 张蜀渊. 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, 12(32): 1344-1346.

[9] 崔蕾蕾. 系统性红斑狼疮患者自身抗体联合检测的临床意义[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(10): 1214-1216.

[10] 王静, 胡朝军, 李晔. 增殖性细胞核抗原抗体在系统性红斑狼疮患者的临床意义[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2011, 5(3): 192-196.

(收稿日期: 2014-02-14)

(上接第 2041 页)

用[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 32(1): 18-21.

[2] 任碧琼, 邹国英, 徐飞, 等. 肝素锂抗凝管在临床化学分析中的合理应用[J]. 湖南师范大学学报医学版: 医学版, 2011, 32(2): 68-70.

[3] 王建琼, 牛华, 郑瑞, 等. 肝素抗凝血浆钾与血清钾测定对比分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(5): 500-501.

[4] 丛玉隆. 医学检验的质量过程控制. 检验医学高级教程[M]. 北京: 人民军医出版社, 2010: 30-33.

[5] 阴斌霞, 黄芳, 高宁, 等. 肝素锂抗凝血浆与血清样品 28 项生化

检验项目的可比性分析[J]. 实用医技杂志, 2006, 13(18): 3167-3169.

[6] Kaneko J, Sugawara Y, Tamura S, et al. Coagulation and fibrinolytic profiles and appropriate use of heparin after living donor liver transplantation[J]. Clin transplant, 2005, 19(6): 804-809.

[7] 布威海丽且姆·图鲁普. 肝素锂、EDTA-K₂ 抗凝剂对生化检测影响的调查与分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(17): 2307-2309.

(收稿日期: 2014-02-18)