

• 论 著 •

间接免疫荧光法及免疫印迹法检测抗核抗体在 SLE 中的临床价值

徐艳霞

(东莞康华医院有限公司, 广东东莞 523000)

摘要:目的 研究间接免疫荧光法(IIF)筛查的抗核抗体(ANA)和免疫印迹法(IBT)检测的特异性 ANA 谱在系统性红斑狼疮(SLE)患者的相关性和临床意义。方法 对 80 例 SLE 患者(SLE 组)、80 例其他风湿病患者(疾病对照组)及 80 例健康体检者(健康对照组)分别采用 IIF、IBT 检测血清中的 ANA。结果 SLE 组 ANA 阳性率(96.25%)显著高于疾病对照组(32.50%)和健康对照组(5.00%),差异有统计学意义($P<0.05$);SLE 组荧光模式主要是颗粒型(43 例,53.75%)、均质型(16 例,20.00%)、胞浆颗粒型(14 例,17.50%)。SLE 组 ANA 的阳性率为 97.5%,其中抗 nRNP/Sm 抗体、抗 Sm 抗体、抗 dsDNA 抗体、抗核小体抗体、抗组蛋白抗体、抗 Rib-P 抗体阳性率均显著高于疾病对照组和健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 ANA 和 ANA 谱联合检测对 SLE 的诊断及治疗具有重要意义。

关键词:抗核抗体; 间接免疫荧光法; 免疫印迹法; 系统性红斑狼疮

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.09.025

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)09-1216-03

Clinical value on detection of antinuclear antibodies by IIF and IBT in systemic lupus erythematosus

Xu Yanxia

(Kanghua Hospital Limited Company of Dongguan, Dongguan, Guangdong 523000, China)

Abstract: Objective To discuss the relationship and clinical significance of the indirect immunofluorescence(IIF) assay screening for antinuclear antibody(ANA) and Immunoblotting test(IBT) for antinuclear antibody spectrum(ANAs). **Methods** The serum ANA level and other autoantibodies levels in ANAs of 80 patients with SLE(SLE group), 80 patients with other rheumatic diseases(disease control group) and 80 healthy people(control group) were detected with indirect immunofluorescence and immunoblotting test respectively. **Results** The positive rate of ANA in SLE group(96.25%) was significantly higher than that in disease control(32.50%) and control group(5.00%), differences were statistically significant($P<0.05$); The major immunofluorescent pattern was 3 styles, 43 cases of granular(53.75%), 16 cases of homogeneous(20.00%), 14 cases of cell plasma particles(17.50%). The positive rate of ANAs in SLE group was 97.50%. Compared with disease control and control group the positive rate of anti-nRNP/Sm antibody, anti-Sm antibody, anti-dsDNA antibody, antinucleosome antibody, anti-histone antibody and anti-ribosomal P protein antibody in ANAs of SLE group were significant higher, differences were statistically significant($P<0.05$). **Conclusion** The combined detection of ANA and ANAs have important significance in the diagnosis and treatment of SLE.

Key words: anti-nuclear antibody; indirect immunofluorescence assay; immunoblotting test; systemic lupus erythematosus

系统性红斑狼疮(SLE)是一种由于机体细胞和体液免疫功能紊乱引起的累及多器官的自身免疫性疾病,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,从而在机体内形成免疫复合物,继而引起组织、脏器的损伤。间接免疫荧光法(IIF)和免疫印迹法(IBT)是目前最常用的检测自身抗体的两种方法。本研究通过 IIF 和 IBT 两种方法分别检测 80 例 SLE 患者和 80 例其他自身免疫病患者及 80 例体检健康者血清中的自身抗体,探讨 IIF 和 IBT 法检测自身抗体在 SLE 中的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2011 年 5 月至 2014 年 5 月东莞康华医院门诊及住院 SLE 患者 80 例(SLE 组),其中男 5 例,女 75 例,年龄 13~65 岁,平均年龄为(38.6±10.2)岁。所有患者均符合 1997 年美国风湿病学会修订的 SLE 分类诊断标准^[1]。选择同期来自本院门诊及住院患其他风湿性疫病患者 80 例作为疾病对照组,其中男 8 例,女 72 例,年龄 17~75 岁,平均年龄为(42.7±11.2)岁,其中类风湿性关节炎 57 例,干燥综合征 15 例,进行性系统性硬化病 3 例、皮炎 2 例,混合性结缔组

织病 3 例,诊断均符合诊断标准^[2]。另外选取来自同期本院体检中心体检健康者 80 例作为健康对照组,男 10 例,女 70 例,年龄为 18~72 岁,平均年龄为(39.5±10.9)岁。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 采集被测者空腹静脉血 3~4 mL,4 000 r/min,10 min,分离血清置-20℃冰箱待测。

1.2.2 抗核抗体(ANA)检测 采用 IIF 法,试剂盒由德国欧蒙公司生产的 HEp2/猴肝生物薄片马赛克 ANA IIF 检测试剂盒,操作步骤严格按照说明书进行。

1.2.3 ANA 谱检测 采用德国欧蒙公司的 ANA 谱 3 检测试剂盒,操作步骤严格按照说明书进行。待膜条干后用扫描仪扫描,再用 EUROLINEScan 软件判读结果,根据着色强度,结果从 0、+、++、+++。

1.3 统计学处理 数据采用 SPSS21.0 统计软件进行处理。资料以率(%)表示,数据采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 应用 IIF 法检测 ANA 结果比较 SLE 组 ANA 阳性率

(96.25%)显著高于疾病对照组(32.50%)和健康对照组(5.00%),差异有统计学意义($P<0.05$);SLE 组主要的荧光模式分别为颗粒型 43 例(53.75%)、均质型 16 例(20.00%)、胞浆颗粒型 14 例(17.50%),均显著高于疾病对照组和健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 应用 IBT 检测 ANA 谱结果 健康对照组仅 1 例出现抗 RO-52 抗体阳性,而 SLE 组和疾病对照组出现不同程度的抗体阳性。SLE 组抗 nRNP/Sm 抗体、抗 Sm 抗体、抗 dsDNA 抗体、抗核小体抗体、抗组蛋白抗体及抗 Rib-P 抗体阳性率与疾病对照组和健康对照组比较差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 各组应用 IBT 检测 ANA 谱阳性结果比较[n(%)]			
ANA 谱	SLE 组	疾病对照组	健康对照组
抗 nRNP/Sm 抗体	33(41.25) *	3(3.75)	0(0.00)
抗 Sm 抗体	26(32.50) *	0(0.00)	0(0.00)
抗 SS-A/RO-60 抗体	36(45.00)	26(32.50)	0(0.00)
抗 RO-52 抗体	38(47.50)	31(38.75)	1(1.25)
抗 SS-B 抗体	14(17.50)	15(18.75)	0(0.00)
抗 Scl-70 抗体	1(1.25)	3(3.75)	0(0.00)
抗 PM-Scl 抗体	0(0.00)	2(2.50)	0(0.00)
抗 JO-1 抗体	0(0.00)	1(1.25)	0(0.00)
抗 CENPB 抗体	3(3.75)	2(2.50)	0(0.00)
抗 PCNA 抗体	2(2.50)	0(0.00)	0(0.00)
抗 dsDNA 抗体	50(62.50) *	0(0.00)	0(0.00)
抗核小体抗体	55(68.75) *	0(0.00)	0(0.00)
抗组蛋白抗体	42(52.50) *	8(15.00)	0(0.00)
抗 AMA-M2 抗体	2(2.50)	1(1.25)	0(0.00)
抗 Rib-P 抗体	20(25.00) *	0(0.00)	0(0.00)

* : $P<0.05$,与疾病对照组和健康对照组比较。

2.3 SLE 组两种检测方法结果比较 80 例 SLE 患者中,IIF-ANA 阳性 77 例,阳性率为 96.25%(77/80);IBT-ANAs 阳性 78 例,阳性率为 97.50%(78/80),见表 2。

表 2 SLE 组 IIF 和 IBT 法检测结果比较(n)			
IIF 法	IBT 法		合计
	阳性	阴性	
阳性	76	1	77
阴性	2	1	3
合计	78	2	80

3 讨 论

SLE 是一种累及多系统、多器官并且有多种自身抗体出现的自身免疫性疾病。临床筛查 ANA 常用 IIF 法,而检测特异性 ANAs 常用 IBT 法。本研究检测 80 例 SLE 患者血清的 ANA 及 ANA 谱,对比 80 例其他风湿疾病患者及健康体检者,分析 SLE 患者血清的 ANA 及 ANA 谱特点,通过比较两种检测方法的不同,为 SLE 患者早期诊断及治疗提供可靠依据。

IIF 法的抗原底物 HEP2 细胞具有完整的抗原谱,可检测

到血清中几乎全部的 ANA。本研究中 SLE 组患者血清的 ANA 阳性率为 96.25%,显著高于疾病对照组(32.50%)及健康对照组(5.00%),差异有统计学意义($P<0.05$)。与疾病对照组及健康对照组相比,SLE 组 ANA 荧光模式中颗粒型(53.75%)、均质型(20.00%)及胞浆颗粒型(17.50%)阳性率显著增高,差异均有统计学意义($P<0.05$),提示 SLE 患者 ANA 的核型是以核颗粒型、核均质型和浆颗粒型最为常见。虽然该法目前是实验室检测 ANA 的金标准,但不能单独作为 SLE 的诊断标准,只能作为初筛试验^[3]。

ANA 谱包括一系列具有不同临床意义的 ANA,随着检测技术的不断发展,人们逐步认识这些 ANA。免疫印记法不仅操作简捷方便,而且有较高的敏感度和特异度。本结果显示 SLE 组和疾病对照组检测 ANA 谱的 15 种抗体均出现不同程度的抗体阳性,而健康对照组仅 1 例出现抗 RO-52 抗体阳性。SLE 组抗 nRNP/Sm 抗体、抗 Sm 抗体、抗 dsDNA 抗体、抗核小体抗体、抗组蛋白抗体及抗 Rib-P 抗体阳性率与疾病对照组和健康对照组比较差异均有统计学意义($P<0.05$),提示抗 nRNP/Sm 抗体、抗 Sm 抗体、抗 dsDNA 抗体、抗核小体抗体、抗组蛋白抗体及抗核糖体 P 蛋白抗体对 SLE 诊断特异度较高,与文献报道一致^[4]。

抗 Sm 抗体是 SLE 的血清标志性抗体,Sm 抗体对 SLE 的检测具有较高的特异度。本研究中疾病对照组及健康对照组均未检出抗 Sm 抗体,SLE 组抗 Sm 抗体的阳性率仅为 32.50%,但显著高于疾病对照组及健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),进一步提示该抗体对 SLE 的检测具有较高的特异度,与文献报道一致,可作为 SLE 的诊断标准^[5]。

抗 dsDNA 抗体也是 SLE 诊断标记抗体,在 SLE 的发病机制发挥着重要作用,双链 DNA 抗体与 DNA 形成的免疫复合物可沉积在肾小球基底膜造成肾损伤,此外还和 SLE 患者关节炎、狼疮肾炎及发热等有关^[6]。本研究中疾病对照组及健康对照组均无一例抗 dsDNA 抗体阳性,而 SLE 组抗 dsDNA 抗体的阳性率可高达 62.50%,显著高于疾病对照组及健康对照组($P<0.05$),提示抗 dsDNA 抗体对 SLE 的诊断具有重要意义,与文献报道一致^[7]。

抗 nRNP/Sm 抗体被认为是 MCTD 的标志性抗体,阳性率可达 95.00%以上,且滴度与疾病活动性相关^[8]。由于 RNP 与 Sm 有相同抗原位点故两种抗体应同时测定,通过滴度的高低加以区分。在 SLE 中抗 nRNP/Sm 抗体几乎总伴有抗 Sm 抗体出现。本研究中抗 nRNP/Sm 抗体阳性率为 41.25%,同时抗 Sm 抗体的阳性率为 32.50%,和文献^[9]报道相似。

本研究疾病对照组及健康对照组均无一例抗核糖体 P 蛋白抗体阳性,而 SLE 组抗核糖体 P 蛋白抗体的阳性率为 25.00%,显著高于疾病对照组及健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。抗核糖体 P 蛋白抗体也是 SLE 的特异性标志,可在 SLE 早期较 ANA 先呈现阳性^[10]。抗核糖体 P 蛋白抗体不仅在疾病活动期中存在,而且随着疾病缓解可持续 1~2 年,在严重精神病患者中更常见^[11]。

抗 SS-A 抗体和抗 SS-B 抗体虽然是干燥综合征的标记性抗体,但也可出现在部分 SLE 患者血清中,因为 SLE 患者常并发干燥综合征。本研究中 SLE 患者抗 SS-A 抗体阳性率为 45.00%,与王霞平等^[12]报道相近;抗 SS-B 抗体的阳性率为 17.50%,与蒋素莹等^[11]报道相近,两种抗体均显著高于健康对照组($P<0.05$)。文献^[13]报道紫外线能使人表皮角质细

胞中的 SS-A 抗原在细胞表面表达,因此光敏感性皮损在抗 SS-A 抗体阳性的 SLE 患者较常见。

抗 AnuA 抗体由双链 DNA 分子环绕组蛋白组成,在细胞凋亡过程中从细胞核内裂解释放的染色质成分。使用传统的生物制品检测抗 AnuA 抗体时可与硬皮病患者血清发生反应,因此对 SLE 诊断特异度较差。欧蒙印迹法中使用改良的核小体制品,仅含核小体单体,不含其他染色质 DNA 成分,该试剂检测抗核小体抗体对 SLE 的特异度很高。研究报道抗 AnuA 抗体对 SLE 的诊断敏感度为 56.00%,特异度为 97.00%,对 SLE 诊断的可信度为 90.00%^[14],且与患者疾病活动性、肾炎和精神因素等紧密相关^[15]。本研究结果显示,SLE 患者中抗核小体抗体阳性率最高可达 68.75%,显著高于健康对照组及疾病对照组($P<0.05$),提示该抗体对 SLE 的诊断具有重要的意义,已成为 SLE 的标志性抗体^[16]。

多种风湿性疾病中可出现,抗组蛋白抗体包括 H1、H2A、H2B、H3、H4 等亚型,在药物诱导的红斑狼疮中也常见此抗体^[17]。本研究中尽管 SLE 组阳性率(52.50%)显著高于疾病对照组及健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),但疾病对照组仍然有 15.00%的阳性率,特异度相对较差。

抗 JO-1 抗体和多发性肌炎相关,抗 CENP-B 抗体与局限型进行性系统硬化症相关,抗 Scl-70 抗体与系统性硬化症相关,高滴度的抗 M2 抗体与原发性胆汁性肝硬化相关,抗 PM-Scl 抗体与重叠综合征患者相关,本研究中以上抗体的阳性率在 SLE 组及疾病对照组中均很低。抗 RO-52 抗体在 SLE 组中阳性率为 47.50%,而疾病对照组阳性率可为 38.75%,健康对照组也可检出阳性,该抗体疾病特异度较差。抗 PCNA 抗体虽然对 SLE 具有很高的特异度,但其阳性率很低,本研究中仅为 2.50%。

本研究 80 例 SLE 患者中,IIF-ANA 阳性率为 96.25%;IBT-ANAs 阳性率为 97.50%。80 例 SLE 患者中两种检测方法共同阳性的有 76 例,有 1 例 IIF 法阳性而 IBT 法为阴性,可能由于 ANA 靶抗原分布整个细胞,而 ANAs 检测的特异性抗体数量十分有限,无法涵盖所有抗体,所以会导致 IIF 检测阳性而 IBT 检测阴性;有 2 例 IBT 法阳性而 IIF 法为阴性,可能由于 IBT 包被抗原经亲和层析纯化后包被在膜条上,敏感度相对较高,能够检测较低含量的抗体。

综上所述,IIF 和 IBT 作为目前主要的自身抗体检测方法,两者检测结果比较差异无统计学意义($P>0.05$)。IIF-ANA 筛查具有涵盖 ANA 抗体面广的特点,而 IBT-ANAs 检测具有较高的敏感度及较好的疾病特异度,两者联合检测可相互补充,提高检出率。对于检测结果不符时,则按照实际检测

结果报告,提示临床医生做进一步的检查,避免疾病的漏诊及误诊。

参考文献

[1] Hochberb MC. Updating the american college of rheumatology revised criteria forthe classification of systemic lupus erythematosus [J]. Arthritis Rheum,1997,40(1):1725.

[2] 梅长林. 中国内科年鉴[M]. 上海:第二军医大学出版社,2004:573-653.

[3] 罗斌,曾永龙,黄玮,等. 联合检测抗核抗体、抗 ENA 谱、抗 dsDNA 抗体对 SLE 的临床价值分析[J]. 右江医学,2009,3(3):272-273.

[4] 程玉萍,李丽. 检测抗核抗体谱在系统性红斑狼疮诊治中的意义[J]. 解放军医药杂志,2013,20(1):63-66.

[5] 蒋素莹,卢永芳,谢丹萍,等. 抗核抗体谱检测在诊断系统性红斑狼疮中的意义[J]. 标记免疫分析与临床,2013,30(3):161-163.

[6] 姚曦,李向培,倪进东,等. SLE 患者临床表现、自身抗体的相关性分析及其性别、年龄特征调查[J]. 安徽医科大学学报,2008,43(1):75-78.

[7] 徐晓莉,张逸. 抗核抗体谱检测对系统性红斑狼疮的临床诊断应用[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2013,19(19):8989-8990.

[8] Sato S,Hasegawa M,Ihn H,et al. Clinical significance of autinuclear matrix antibody in serum from patients with anti U1RNP antibody[J]. Arch Dermatol Res,2000,292(2/3):55-59.

[9] 程玉萍,李丽. 检测抗核抗体谱在系统性红斑狼疮诊治中的意义[J]. 解放军医药杂志,2013,22(1):63-66.

[10] 张煜,张小萍,张奉春,等. 抗核糖体 P 抗体的临床分析[J]. 中华风湿病学杂志,2000,34(4):242-243.

[11] 蒋素莹,卢永芳,谢丹萍,等. 抗核抗体谱检测在诊断系统性红斑狼疮中的意义[J]. 标记免疫分析与临床,2013,32(3):161-163.

[12] 王霞平,欧阳淑兰. 抗核抗体谱检测对系统性红斑狼疮诊断价值的探讨[J]. 中国卫生检验杂志,2011,20(5):1299.

[13] 吴建农,陈顺乐. 系统性红斑狼疮抗核抗体及其变化的临床意义[J]. 中国热带医学,2005,9(9):1893-1894.

[14] 丁福顺. 三种自身抗体联合检测对系统性红斑狼疮的诊断价值[J]. 中国现代医生,2013,51(5):88-89.

[15] 李峥,毕胜,杨曦,等. 抗核抗体谱检测对系统性红斑狼疮的诊断价值[J]. 云南医药,2005,26(5):6-8.

[16] 马悦,邓春艳,徐国莉,等. 抗核小体抗体在系统性红斑狼疮诊治中的应用价值[J]. 中国实验诊断学,2008,12(1):135-136.

[17] 袁伟,崔刘福. 系统性红斑狼疮自身抗体的研究进展[J]. 华北煤炭医学院学报,2008,10(3):325-327.

(收稿日期:2016-01-11)

(上接第 1215 页)

参考文献

[1] 陈东科,孙长贵. 实用临床微生物学检验与图谱[M]. 北京:人民卫生出版社,2011:185-194.

[2] 陈萍,陈伟,刘丁. 医院感染学教程[M]. 北京:人民卫生出版社,2003:38.

[3] 杨锐. 玫瑰色库克菌致手深部感染 1 例[J]. 临床检验杂志,2010,28(3):174.

[4] 李云珠,陈舜年,俞善昌. 新生儿机会菌感染性败血症(附 38 例临床报告)[J]. 临床儿科杂志,1985,9(5):284-285.

[5] 张华彬,叶尔明,王典齐,等. 烧伤四联球菌败血症 33 例报告[J]. 广东医学,2000,21(9):773-774.

[6] 魏升云. 新生儿玫瑰色微球菌感染 8 例临床分析[J]. 中国儿童保健杂志,2006,14(5):529-530.

[7] 赵德军,张碧霞,曹雁,等. 血中检出多药耐药玫瑰微球菌 1 例[J]. 中华医院感染学杂志,2007,17(12):1585.

[8] 李世荣,王红,任爱民,等. 玫瑰色库克菌致正常免疫力成人败血症 1 例[J]. 中国医刊,2013,48(2):109-110.

(收稿日期:2015-12-22)