

维吾尔族及汉族系统性红斑狼疮患者自身抗体表达差异分析

王 鹏,康晓静[△]

(新疆维吾尔自治区人民医院皮肤科,新疆乌鲁木齐 830000)

摘 要:目的 探讨维吾尔族及汉族系统性红斑狼疮(SLE)患者血清自身抗体谱的差异。方法 采用免疫印迹法对 SLE 患者进行抗可溶性抗原(ENA)抗体检测,采用间接免疫荧光法(IIF)进行抗核抗体(ANA)检测,荧光显微镜下镜检并核对特异性荧光模型。对检测结果进行统计学处理及评估。结果 汉族 SLE 患者 Ro-52 (19.7%)、SSA(40.9%)抗体阳性率高于维吾尔族 SLE 患者(Ro-52、SSA 抗体分别为 7.5%、30.0%),差异有统计学意义($P<0.05$)。维吾尔族 SLE 患者核周型中性粒细胞浆抗体(P-ANCA)、增殖细胞核抗原(PCNA)、组蛋白抗体阳性率分别为 20.0%、27.5%、42.5%,汉族 SLE 患者分别为 7.0%、11.3%、18.31%,差异有统计学意义($P<0.01$)。核小体和 P-Prot 抗体滴度在不同民族患者之间表达差异有统计学意义,其中维吾尔族患者核小体抗体阳性率(17.50%)高于汉族患者(11.27%),差异有统计学意义($\chi^2=8.37, P<0.05$);且相较于汉族患者组(18.31%),维吾尔族患者组(42.50%)的 P-Prot 抗体阳性率也有所升高($\chi^2=9.55, P<0.05$)。均质型阳性标本中维吾尔族患者核小体抗体阳性率显著高于汉族患者($\chi^2=10.43, P<0.01$)。结论 抗 Ro-52、SSA、P-ANCA、PCNA、组蛋白抗体阳性率在维吾尔族、汉族 SLE 患者间的表达存在差异,核小体和 P-Prot 抗体滴度存在显著不同,对 SLE 诊断、治疗靶点选取具有重要意义。

关键词:系统性红斑狼疮; 自身抗体; 核型; 血清学检测

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.10.023

中图法分类号:R593.241

文章编号:1673-4130(2018)10-1241-04

文献标识码:A

Analysis on the different expression of autotantinuclear antibody in the patients with systemic lupus erythematosus between Uygur and Han

WANG Peng, KANG Xiaojing[△]

(Department of Dermatology, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Uygur, Xinjiang 830000, China)

Abstract: **Objective** To explore the difference of serum autoantibody spectrum in patients with systemic lupus erythematosus (SLE). **Methods** ENA antibody in SLE patients was detected by immunoblotting, and anti nuclear antibody (ANA) was detected by indirect immunofluorescence (IIF), and the specific fluorescence model was checked by microscope under fluorescence microscope. The results were statistically processed and evaluated. **Results** The positive rate of Ro-52 (19.7%) and SSA (40.9%) in Han was higher than that in the Uygur, and the difference was statistically significant (7.5% and 30.0%, $P<0.05$). And the positive rate of perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (P-ANCA), proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and histone in Han (20.0%, 27.5%, 42.5%, respectively) was lower than that in the Uygur (7.0%, 11.3% and 18.31%, $P<0.01$). There were significant differences in the expression of nucleosome and P-Prot antibody titers among different ethnic groups, the positive rate of nucleosome antibody in Uygur group (17.50%) was higher than that in Han group (11.27%, $\chi^2=8.37, P<0.05$). Compared with the Han group (18.31%), the P-Prot antibody was also increased in the Uygur group (42.50%, $\chi^2=9.55, P<0.05$). The positive rate of nucleosome antibody in Uygur patients with homogeneous positive samples was significantly higher than that in Han patients ($\chi^2=10.43, P<0.01$). **Conclusion** The positive rates of anti-Ro-52, SSA, P-ANCA, PCNA and histone antibodies were different in patients with SLE, and there were significant differences betweenin nucleosome and P-Prot antibody titer, which was of great significance in the diagnosis and the selection of the target for the treatment of SLE.

作者简介:王鹏,男,实习研究员,主要从事自身免疫性疾病发病机理研究。 [△] **通信作者,** E-mail: drkangxj@163.com。

本文引用格式:王鹏,康晓静. 维吾尔族及汉族系统性红斑狼疮患者自身抗体表达差异分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(10): 1241-1244.

Key words: systemic lupus erythematosus; antinuclear antibody; karyotype; serological detection

系统性红斑狼疮(SLE)的特征在于患者血清中存在抗核抗体,这些抗体不仅可以提示疾病的活动性,而且可侵及大脑、心脏和肾脏等多个器官,并导致各器官异常病理发生^[1]。抗双链 DNA(dsDNA)抗体是 SLE 重要的诊断指标之一,且呈现出较高的特异性^[2]。相关自身抗体筛查中,与 SLE 相关性较好的指标主要为抗 dsDNA 抗体、抗 Sm 抗体、抗 UI-RNP 抗体、核小体、抗组蛋白抗体、抗 P-Prot 抗体,这些抗体在 SLE 与其他自身免疫性疾病及健康对照组间比较差异有统计学意义,且 ANA、抗 dsDNA 抗体、抗核小体抗体联合检测模式阳性率高于其他抗体组合^[3]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月至 2017 年 1 月本院就诊的 SLE 患者 111 例,排除其他并发的自身免疫性疾病及肿瘤患者男 31 例,女 80 例,维吾尔族 40 例,汉族 71 例,年龄 9~79 岁,平均(44.0±11.2)岁,均来自新疆维吾尔自治区人民医院皮肤科门诊和住院患者。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 主要仪器 全自动免疫印迹仪购自杭州欧蒙医学实验诊断有限公司,规格型号:EUROBlotMaster II;荧光显微镜购自新疆三奇仪器有限公司,规格型号:BX503ZA01;全自动免疫印迹膜条结果判读仪购自佳能公司,规格型号:CanoScan LiDE 120。

1.2.2 主要试剂 采用欧蒙公司的抗核抗体谱(IgG)检测试剂盒,批号:20160220-20170501,有效期 1 年;抗 dsDNA 抗体 IgG 检测试剂盒(间接免疫荧光法),批号:20160128-201703020,有效期 1 年;抗中性粒细胞胞浆抗/抗肾小球基底膜抗体 IgG 检测试剂盒(间接免疫荧光法),批号:20160128-20170501,有效期 1 年。

1.3 方法 采用免疫印迹法进行自身抗体谱检测,采用间接免疫荧光法检测抗 dsDNA 抗体和抗 P-ANCA 抗体,具体实验操作严格按照《中国临床检验操作规程》和各试剂使用说明书及仪器作业指导书进行操作。

1.4 统计学处理 对 111 例 SLE 患者的血清样品分别进行自身抗体谱、抗 dsDNA 抗体和 P-ANCA 抗体检测。检测结果分为自身抗体谱和自身抗体核型两类,其中,自身抗体谱类检测指标选取 UI-RNP、SM、SSA、Ro-52、SSB、增殖细胞核抗原(PCNA)、dsDNA、抗小体、组蛋白、P-Prot、P-ANCA、MPO 具有临床意义的抗体,自身抗体核型类选取均质型、均质斑点型和斑点型 3 种较常见的核型,不同核型均选取 dsD-

NA、抗小体和组蛋白 3 种抗体类型进行统计。对不同年龄、性别及民族 SLE 患者的临床特征进行频数统计及 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SLE 患者自身抗体谱筛查与临床特征的差异分析 从自身抗体谱中选取对 SLE 具有诊断意义的 12 个抗体。就总阳性率而言,汉族组阳性率较高的抗体为 UI-RNP(56.34%)、Sm(46.48%)、SSA(40.85%);维吾尔族组阳性率较高的抗体为 UI-RNP(55.00%)、Sm(47.50%)、组蛋白(42.50%)。其中,汉族组阳性率高于维吾尔族组的抗体为 Ro-52(汉族组是维吾尔族组的 2.63 倍)、SSA(汉族组是维吾尔族组的 1.36 倍);维吾尔族组阳性率高于汉族组的抗体为 P-ANCA(维吾尔族组是汉族组的 2.84 倍)、PCNA(维吾尔族组是汉族组的 2.44 倍)、组蛋白(维吾尔族组是汉族组的 2.32 倍)。

将各抗体按其滴度分为 4 个等级,分别记为阴性、弱阳性、阳性、强阳性,计算各抗体的阳性分布,进一步 χ^2 检验可知:核小体和 P-Prot 抗体在不同民族间表达差异具有统计学意义,维吾尔族患者组核小体抗体阳性率(17.50%)高于汉族患者组($\chi^2=8.37$, $P<0.05$);且相较于汉族患者组(18.31%),维吾尔族患者组的 P-Prot 抗体阳性率也有所升高($\chi^2=9.55$, $P<0.05$)。

在不同性别间抗体表达的差异体现在 UI-RNP、SM、SSA、Ro-52 4 个抗体。其中男性患者组 UI-RNP(48.39%)和 SM(22.58%)抗体阳性率高于女性患者组,其中女性患者组 UI-RNP 和 SM 抗体阳性率分别为 32.50%($\chi^2=11.25$, $P<0.05$)和 12.50%($\chi^2=14.01$, $P<0.01$);男性患者组 SSA(25.81%)和 Ro-52(25.81%)抗体阳性率低于女性患者组,其中女性患者组 SSA 和 Ro-52 抗体阳性率分别为 67.50%($\chi^2=16.62$, $P<0.01$)和 55.00%($\chi^2=13.36$, $P<0.01$)。

将 50 岁作为年龄分界,不同年龄组间 SSA、SSB、P-Prot 和 P-ANCA 抗体表达的差异具有统计学意义。其中 ≥ 50 岁组 SSA(57.14%)、SSB(25.71%)抗体阳性率高于 <50 岁组, <50 岁组 SSA 和 SSB 抗体阳性率分别为 53.95%($\chi^2=10.81$, $P<0.05$)和 9.21%($\chi^2=7.19$, $P<0.05$);50 以下患者组 P-Prot(32.89%)和 P-ANCA(22.37%)抗体阳性率高于 ≥ 50 岁组, ≥ 50 岁组 P-Prot 和 P-ANCA 抗体阳性率分别为 14.29%($\chi^2=7.49$, $P<0.05$)和 5.71%($\chi^2=8.65$, $P<0.05$)。见表 1。

表 1 不同临床特征的 SLE 患者自身抗体谱筛查阳性率的比较(%)

临床特征	U1-RNP	SM	SSA	Ro-52	SSB	PCNA	dsDNA	核小体	组蛋白	P-Prot	P-ANCA	MPO
民族												
汉族	40.85	19.72	56.34	46.48	16.90	1.41	14.08	11.27	7.04	18.31	11.27	1.41
维族	30.00	7.50	55.00	47.50	10.00	2.50	15.00	17.50	20.00	42.50	27.50	0.00
性别												
男性	48.39	22.58	25.81	25.81	9.68	3.23	22.58	12.90	16.13	19.35	25.81	0.00
女性	32.50	12.50	67.50	55.00	16.25	1.25	11.25	13.75	10.00	30.00	13.75	1.25
年龄												
≥50 岁	38.16	13.16	53.95	42.11	9.21	1.32	18.42	17.11	15.79	32.89	22.37	1.32
<50 岁	31.43	20.00	57.14	54.29	25.71	2.86	2.86	5.71	2.86	14.29	5.71	0.00

2.2 SLE 患者自身抗体核型与临床特征差异分析

对确诊为 SLE 的患者进行自身抗体检测,根据统计其核型主要表现为均质型、均质斑点型及斑点型 3 种,其中均质型阳性患者 20 例(23.26%),均质斑点型 52 例(60.47%),斑点型 14 例(16.17%)。据文献报道,此 3 种核型主要与 dsDNA、核小体、组蛋白 3 种抗体相关。

统计显示,均质型阳性标本中维吾尔族患者核小体抗体阳性率显著高于汉族患者($\chi^2=10.43,P<0.01$),斑点型阳性标本中男性患者组蛋白抗体高于女性($\chi^2=7.16,P<0.05$),均质斑点型在各族别、性别及年龄组之间差异无统计学意义($P>0.05$)。其中均质型阳性结果中性别与年龄分组、斑点型阳性结果年龄分组,数据偏离严重,不适于进行统计分析,故均舍弃。

3 讨 论

自身抗体谱中,各抗体间存在一定相关性。在 SLE 的实验室检测中,dsDNA 是其诊断的重要指标。作为核小体的组成部分,dsDNA 与核小体在 SLE 病情发生和发展过程中存在较高相关性,其中,核小体抗体灵敏度与特异性较抗 dsDNA 抗体更高,可更好地反映 SLE 活动性^[4]。此外,Sm 的核心蛋白形成一种环状的七聚体,其环中可插入 snRNA,并与富含 U 的 RNA 相互作用,形成多种 U-snRNPs^[5]。因此,抗 Sm 抗体与 uRNPs 抗体间同样存在相关性。有研究表明,活化的滤泡辅助 T 细胞与血清抗 Sm 抗体水平相关^[6],这在一定程度上可反映 SLE 的疾病活动性,在 SLE 患者实验室检测中有重要意义。

本研究随机选取 111 例 SLE 患者,经自身抗体检测统计表明,维汉两民族间阳性率差异较大的抗体主要为:Ro-52、SSA、P-ANCA、PCNA、组蛋白等 5 种抗体,其中汉族 Ro-52、SSA 抗体阳性率高于维吾尔族,这可能与两个民族间的肤色有关,不同肤色间呈现出不同的光敏性,导致两个族群间 Ro-52、SSA 抗体表

达差异^[7]。而维吾尔族 P-ANCA、PCNA、组蛋白等 3 种抗体阳性率高于汉族,可能与患者其他无显著症状的炎性反应相关,反映了不同民族间患者的免疫应答水平存在差异^[8-9]。

根据滴度分级可知,维、汉族 SLE 患者核小体抗体的阳性患者分布呈现明显不同,维吾尔族患者核小体抗体主要表现为“阳性”或“强阳性”,而汉族患者表现为“弱阳性”和“强阳性”,维吾尔族 SLE 患者核小体抗体的滴度显著高于汉族,且在均质型阳性标本中维吾尔族患者核小体抗体阳性率显著高于汉族患者;这一趋势在 P-Prot 抗体中表达更为显著,维吾尔族患者的 P-Prot 抗体强阳性率为汉族的 3.6 倍。此外,P-Prot 抗体阳性率在不同年龄组中差异有统计学意义,随着年龄升高其阳性率呈现下降的趋势。有研究显示,P-Prot 抗体水平降低可能与白种人 SLE 患者发病相关^[10],说明 P-Prot 抗体水平存在人种差异,维吾尔族 SLE 的发病率相对汉族较低,但可能表现出比汉族患者更强的活动性。

SLE 患者抗 Sm 抗体阳性率达 29%,其他更大样本量的统计中,该比例在 20%左右^[11],均高于本研究中抗 Sm 抗体总阳性率。还说明部分自身抗体,如抗 Sm、P-Prot 等抗体的表达可能存在民族差异。且随老龄化程度加深,自身免疫应答下降,这些抗体的表达也将受到影响。在对不同性别因素的分析中,男性患者 U1-RNP 和抗 Sm 抗体阳性率显著高于女性患者,男性患者 SSA 和 Ro-52 抗体阳性率显著低于女性患者。提示性别可能是映影自身抗体阳性率的一个重要因素。有研究发现在凋亡过程中发生的特异性组蛋白修饰,在 SLE 中的自身免疫应答中起重要作用^[12]。本研究仅在斑点型阳性标本中发现抗组蛋白抗体的性别表达差异,可能与不同性别的免疫应答水平有关。

综上所述,抗 Ro-52、SSA、P-ANCA、PCNA、组蛋白抗体阳性率在维、汉族 SLE 患者间的表达存在差

异,两者的核小体和 P-Prot 抗体滴度存在显著不同,对 SLE 诊断、治疗靶点选取具有重要意义。

参考文献

[1] 彭赛蛟,陶锡东,王敏. 不同自身抗体联合检测在系统性红斑狼疮中的诊断价值[J]. 中国免疫学杂志,2014,30(6):831-833.

[2] KELLY-WORDEN M, HAMMER L, GEBHARD R, et al. Anti-nuclear antibodies positive serum from systemic lupus erythematosus patients promotes cardiovascular manifestations and the presence of human antibody in the brain[J]. J Pharm Bioallied Sci, 2014, 6(3):198-204.

[3] 陈展泽,戴伟良,邱志琦,等. 系统性红斑狼疮患者活动期血清中的抗核抗体不同模式表达的探究[J]. 实用医技杂志,2016,23(7):703-705.

[4] FRITZLER M J, STEBER W, LUPTON T, et al. Serological features of systemic lupus erythematosus diagnosed after referral through a rheumatology triage system because of positive antinuclear antibodies[J]. Arthritis Res Ther, 2014, 16(S1):1-23.

[5] LI T, PROKOPEC S D, MORRISON S, et al. Anti-nucleosome antibodies outperform traditional biomarkers as longitudinal indicators of disease activity in systemic lupus erythematosus[J]. Rheumatology, 2015, 54(3):449-457.

[6] CARMONA-FERNANDES D, SANTOS M J, CANHÃO H, et al. Anti-ribosomal P protein IgG autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus: diagnostic performance and clinical profile[J]. BMC medicine, 2013, 11(1):98.

[7] NOVAK G V, MARQUES M, BALBI V, et al. Anti-RO/SSA and anti-La/SSB antibodies: Association with mild lupus manifestations in 645 childhood-onset systemic lupus erythematosus[J]. Autoimm Rev, 2017, 16(2):132-135.

[8] PRADHAN V D, BADAKERE S S, BICHILE L S, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in systemic lupus erythematosus: prevalence, clinical associations and correlation with other autoantibodies[J]. J Assoc Physic India, 2004, 52:533-537.

[9] COZZANI E, DROSEIRA M, GASPARINI G, et al. Serology of lupus erythematosus: correlation between immunopathological features and clinical aspects[J]. Autoimmune Dis, 2014, 2014:321-359.

[10] GUPTA N, DOSS J K, MOHAN H, et al. AB0149 Associations of Anti Nucleosome Antibody in Systemic Lupus Erythematosus in India[J]. Ann Rheumatic Dis, 2016, 75(Suppl 2):947-947.

[11] FRITZLER M J, STEBER W, LUPTON T, et al. Serological features of systemic lupus erythematosus diagnosed after referral through a rheumatology triage system because of positive antinuclear antibodies[J]. Arthritis Res Ther, 2014, 16(S1):1-23.

[12] PIETERSE E, HOFSTRA J, BERDEN J, et al. Acetylated histones contribute to the immunostimulatory potential of neutrophil extracellular traps in systemic lupus erythematosus[J]. Clin Exper Immunol, 2015, 179(1):68-74.

(收稿日期:2017-09-16 修回日期:2017-11-06)

(上接第 1240 页)

[8] 吴乃胜,陈亚萍,刘坤鹏,等. 支气管肺炎患儿医院感染病原体分布与耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2016,26(8):1884-1886.

[9] 龚松迪,华春珍,李建平,等. 2006—2014 年本院 1 109 例肺炎链球菌感染及其耐药模式分析[J]. 中国抗生素杂志,2015,40(11):859-864.

[10] 董方,甄景慧,王艳,等. 住院患儿细菌培养标本分离肺炎链球菌特征分析[J]. 中国实用儿科杂志,2016,31(3):201-205.

[11] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2015 中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2016,16(6):685-694.

[12] 王娴,甄冰红,罗晓琴,等. 多重耐药肺炎链球菌肺炎的危险因素及细菌耐药性分析[J]. 中国妇幼保健,2016,31(23):5030-5032.

[13] 张璟,孙自镛. 肺炎链球菌对红霉素耐药机制的研究[J]. 华中科技大学学报(医学版),2007,36(2):243-245.

[14] 孙海平,林宁. 多重耐药大肠埃希菌复方新诺明耐药相关基因研究[J]. 现代检验医学杂志,2008,23(5):42-43.

[15] 杨锦红,周义正,刘立雪,等. 儿童肺炎链球菌红霉素、四环素相关耐药基因的研究[J]. 中国卫生检验杂志,2008,18(5):866-868.

[16] 徐敏,张建华,臧国庆. 肺炎链球菌对抗菌药物耐药机制研究进展[J]. 中国感染与化疗杂志,2008,8(2):152-156.

(收稿日期:2017-09-28 修回日期:2017-11-08)