

• 论 著 •

原发性免疫性血小板减少症患者 ANA 及 ANAs 筛查结果分析*

秦 伟¹, 韩红满¹, 左立辉¹, 王 威², 孙 克³, 陈 帅¹, 刘 婷³, 李四强^{1△}

(1. 中国人民解放军第二五二中心医院肿瘤血液科, 河北保定 071000; 2. 保定市第一中心医院检验科, 河北保定 071000; 3. 中国人民解放军第二五二中心医院检验科, 河北保定 071000)

摘要:目的 探讨间接免疫荧光法检测的抗核抗体(ANA)及免疫印迹法检测的抗核抗体谱(ANAs)在原发性免疫性血小板减少症(ITP)患者中的特点。方法 对 123 例初诊 ITP 的患者采用间接免疫荧光法检测 ANA, 免疫印迹法检测 ANAs, 并对结果进行回顾性分析。结果 123 例 ITP 患者中 ANAs 阳性率高于 ANA, 差异有统计学意义($P < 0.05$); ANAs 15 种抗体中抗干燥综合征抗原 A 抗体(SSA)的阳性率最高, 其次为 Ro52, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 抗 Scl-70、PM-Scl 及 Jo-1 均为阴性, 其余 10 种抗体阳性率不一, 但是相互之间对比差异无统计学意义($P > 0.05$); 抗体联合表达阳性率高于单项表达, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论 在 ITP 患者 ANA 及 ANAs 阳性率不同, ANAs 表达主要以单项及联合抗体表达为主, 但是联合表达高于单项表达。

关键词: 抗核抗体; 抗核抗体谱; 原发性免疫性血小板减少; 筛查

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.01.006

中图法分类号:R558.2

文章编号:1673-4130(2020)01-0022-04

文献标识码:A

Analysis on results of ANA and ANAs screening for patients with primary immune thrombocytopenia*

QIN Wei¹, HAN Hongman¹, ZUO Lihui¹, WANG Wei², SUN Ke³,CHEN Shuai¹, LIU Ting³, LI Siqiang^{1△}

(1. Department of Oncology and Hematology, the 252nd Central Hospital of PLA, Baoding, Hebei 071000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, First Central Hospital of Baoding, Baoding, Hebei, 071000, China; 3. Department of Clinical Laboratory, the 252nd Central Hospital of PLA, Baoding, Hebei 071000, China)

Abstract: **Objective** To explore expression characteristics of antinuclear antibody (ANA) by indirect immunofluorescence and antinuclear antibody spectrum (ANAs) by Western blot in patients with newly diagnosed primary immune thrombocytopenia (ITP). **Methods** A total of 123 patients of newly diagnosed ITP were enrolled in this study. ANA and ANAs examination in all patients had been carried out by indirect immunofluorescence and by Western blot respectively. Characteristic expression of ANA and ANAs in the patients was retrospectively analyzed. **Results** The ANAs positive rate ANAs in 123 ITP patients was higher than that of ANA, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The anti SSA of 15 ANA antibodies was the highest, followed by Ro52, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). There was no expression of anti-Scl-70, PM-Scl and Jo-1. The positive rates of the other 10 antibodies were different, but there was no significant difference between them ($P > 0.05$). The positive rate of antibody combined expression was higher than that of single expression, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). **Conclusion** The positive rates of ANA and ANAs were different in ITP patients. The expression of ANAs was mainly expressed by single antibody and combined antibody, but the expression of combined antibody was higher than that of single antibody.

Key words: antinuclear antibody; antinuclear antibody spectrum; immune thrombocytopenia; screening

* 基金项目: 河北省保定市科学技术研究与发展指导计划项目(17ZF203)。

作者简介: 秦伟, 女, 主治医师, 本科, 主要从事免疫性血小板减少方面的研究。△ 通信作者, E-mail: lisiqiang@sohu.com。

本文引用格式: 秦伟, 韩红满, 左立辉, 等. 原发性免疫性血小板减少症患者 ANA 及 ANAs 筛查结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41

原发免疫性血小板减少症(ITP)患者的诊断需除
外自身免疫性疾病(AID)^[1],临床工作中可见到部分
ITP 患者并发自身抗体的表达,尽管其有自身抗体的
表达,但是不够诊断 AID 的条件,仍诊断 ITP;而自身
抗体检查对 AID 的诊断、鉴别诊断及疗效评价至关重
要。ITP 与 AID 都有自身抗体的表达,对于两者的关
系有诸多文献报道,有研究认为 ITP 可能是系统性红
斑狼疮(SLE)的一种早期表现,或者是 SLE 的非活动
形式,近 2% 的 ITP 患者最终将进展演变为 SLE^[2],
而部分 AID 又可以血小板减少为首发症状^[3],那么,
对于这两种疾病的自身抗体表达是否相同?本研究
对中国人民解放军第二五二中心医院肿瘤血液科 123 例
初诊 ITP 住院患者的抗核抗体(ANA)、抗核抗体谱
(ANAs)的筛查结果进行了分析,旨在探讨 ITP 患者
并发自身抗体表达的特点。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 235 例以血小板减少收
住入院的患者,按照纳入标准及排除条件,符合要求
的患者 123 例,其中男 40 例(32.5%),女 83 例(67.5%),
年龄 1~79 岁,平均年龄 43.6 岁,所有患者均筛查自身
抗体 ANA 及 ANAs。

1.2 纳入标准及排除条件 纳入标准:(1)2010 年 1
月至 2015 年 5 月解放军第二五二医院肿瘤血液科以
血小板减少为异常的患者;(2)符合新诊断原发免疫
性血小板减少症诊断标准^[1]。同时,需排除下列任何
一种情况:(1)因自身免疫性疾病、甲状腺疾病、淋巴
系统增殖性疾病、骨髓增生异常(再生障碍性贫血和
骨髓增生异常综合征)、恶性血液病、慢性肝病所致脾
功能亢进、常见变异性免疫缺陷病(CVID)以及感染
等基础疾病所致的继发性血小板减少症;(2)血小板
消耗性减少;(3)药物诱导的血小板减少;(4)同种免
疫性血小板减少;(5)妊娠血小板减少;(6)假性血小
板减少以及先天性血小板减少。

1.3 检测方法与试剂 ANA 检测采用间接免疫荧
光法(IIF),严格采用双盲读片。ANA 谱单项抗体检
测选用免疫印迹法,检测的项目包括 15 种抗体:抗核
糖体蛋白抗体(u1-nRNP)、抗史密斯抗体(Sm)、抗干
燥综合征抗原 A 抗体(SSA)、Ro-52、抗干燥综合征抗
原 B 抗体(SSB)、抗硬皮病 70 抗体(Scl-70)、抗多发
性肌炎/硬皮病抗体(PM-SC)、抗组氨酰 tRNA 合成
酶抗体(Jo-1)、抗着丝点抗体(CENP-B)、抗增殖性细
胞核抗原抗体(PCNA)、抗双链 DNA 抗体(ds-
DNA)、抗核小体抗体(Neukleosmone)、抗组蛋白抗
体(Histone)、抗核糖体 P 蛋白抗体(Rib-Prot)、抗线
粒体 M2 型抗体等 15 种不同抗原 IgG 类抗体。ANA
和 ANAs 检测试剂均由德国欧蒙公司提供。试剂均
购自欧蒙实验诊断公司,严格按照说明书操作。

1.4 统计学处理 统计学分析均在 SPSS23.0 统计
软件下完成,数据以列联表方式展示,百分率(%)的

比较采用 χ^2 检验,ANA 及 ANAs 两种检验抗体的方
法采用配对设计四格表资料的 χ^2 检验,非 2×2 表格
多个独立样本之间百分率(%)的比较采用 Fisher 确
切概率法检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ANA 及 ANAs 两种检验自身抗体方法阳性率
的比较 在 123 例血小板减少症患者中,ANA 阳性
率低于 ANAs 阳性率,经配对四格表 χ^2 检验,ANA
及 ANAs 的检验结果差异有统计学意义($\chi^2=5.481$,
 $P=0.024$)。见表 1。

表 1 123 例患者 ANA 及 ANAs 检测结果[n(%)]			
ANA	ANAs		合计
	+	-	
+	36(29.2)	7(5.7)	43(35.0)
-	17(13.8)	63(51.2)	80(65.0)
合计	53(43.0)	70(56.9)	123(100.0)

2.2 ANAs 15 种抗体阳性率的比较 将 15 种抗体
按照阳性率大于 50%、小于 50% 或无表达分为 A、B、
C 3 组,A 组两种抗体阳性率均大于 50%,差异有统
计学意义($\chi^2=5.024$, $P=0.025$);B 组 10 种抗体相
互之间比较差异无统计学意义($\chi^2=14.948$, $P=$
 0.096),A 组+B 组 12 种抗体相互比较,差异有统计
学意义($\chi^2=172.35$, $P=0.000$),Ro-52+B 组 11 种
抗体相互比较,差异有统计学意义($\chi^2=76.85$, $P=$
 0.000);C 组(抗 Scl-70、PM-Sc 及 Jo-1)阳性率均为
0。见表 2。

表 2 53 例 ANAs 阳性患者 15 种抗体阳性率比较					
分组	ANAs 谱类别	阳性 (n)	阳性率 [% (n/n)]	χ^2	P
A 组	抗 SSA	40	75.5(40/53)	5.024	0.025
	抗 Ro-52	29	54.7(29/53)		
B 组	抗 SSB	10	18.9(10/53)	14.948	0.096
	抗 ds-DNA	8	15.1(8/53)		
	抗 M2	7	13.2(7/53)		
	抗 AnuA	6	11.3(6/53)		
	抗 AHA	6	11.3(6/53)		
	抗 rRNP	4	7.5(4/53)		
	抗 U1-RNP	4	7.5(4/53)		
	抗 Sm	2	3.8(2/53)		
	抗 PCAN	2	3.8(2/53)		
	抗 CENP-B	2	3.8(2/53)		
C 组	抗 Scl-70	0	0	—	—
	抗 PM-Sc	0	0		
	抗 Jo-1	0	0		

注:—表示无数据。

2.3 ANAs 15 种抗体表达组合模式对比 ANAs>

1 项抗体阳性所占比例最高 67.9%，1 项抗体阳性占 32.0%，差异有统计学意义($\chi^2=13.63, P=0.000$)，2 项、3 项与 ≥ 4 项抗体阳性所占比例比较，差异有统计学意义($\chi^2=7.972, P=0.023$)；1 项抗体阳性占 32.0%，2 项抗体阳性占 35.8%，两者比较差异无统计学意义($\chi^2=0.168, P=0.838$)， ≥ 4 项抗体阳性占 16.9%，与 3 项阳性比较，差异无统计学意义($\chi^2=0.070, P=1.000$)。见表 3。

表 3 不同 ANAs 抗体项目的阳性率比较		
ANAs 阳性抗体	n	所占比例[% (n/n)]
>1 项	36	67.9(36/53)
1 项	17	32.0(17/53)
2 项	19	35.8(19/53)
3 项	8	15.0(8/53)
≥ 4 项	9	16.9(9/53)

3 讨 论

目前对于 ITP 伴有 ANA 及 ANAs 阳性的报道较多^[4-5]，而对 ITP 伴自身抗体表达特点的相关研究较少。AID 需要筛查自身抗体 ANA 及 ANAs。ANA 敏感性好，特异度差，常作为 AID 的初筛试验，而 ANAs 特异度强，故联合检查对 AID 诊断意义重大^[6-7]。诸多研究表明 ITP 患者自身抗体筛查 ANA 阳性率高于 ANAs^[4,8]，而本研究结果提示 ANA 阳性率 35.0%，ANAs 阳性率 43.0%。而本组病例中存在有 ANA 阴性而 ANAs 阳性的 ITP 患者，与文献报道的 AID 患者相似^[9]，所以出现阳性率相反的情况。本研究 80 例 ANA 阴性患者中检出 ANAs 阴性 63 例，符合率为 78.8%，说明 ANA 与 ANAs 表达具有相关性，但并不完全一致^[10]，故即使 ANA 阴性，仍需进行 ANAs 检测。

抗 SSA 是 ANAs 谱中分布最广，最常见的一种抗体，本研究提示抗 SSA 阳性率最高，其次为 Ro-52，与 AID 患者文献报道一致^[11]。SSA 与 Ro-52 均由同一抗原产生即 SSA/Ro 抗原，是由 53×10^3 和 60×10^3 的多肽构成，起初认为是同一种自身抗体体系，后来认为属于不同的自身抗体体系，分别具有特异性的抗原^[12]。孤立的抗 Ro-52 在自身免疫、感染性疾病、肿瘤等多种疾病中可发现，但在 AID 中如炎症性肌炎和炎症性风湿病的代表性更高，尤其与血液系统损伤及疾病预后有关^[13]。免疫印迹法只能检出 Ro-52，而 Ro-60 容易出现漏检^[14]，本研究应用免疫印迹法进行 ANAs 检测，这可能是 SSA 比抗 Ro-52 高的原因。本组所选病例均为非自身免疫性疾病，抗 SSA 及 Ro-52 的阳性率与自身免疫性疾病接近。ANAs 中各抗体在 AID 患者中表达意义不同，如抗 SSB 对 SS 诊断具有特异性^[15]，抗 ds-DNA、AnuA 及 Sm 对 SLE 诊断具有特异性^[16]。本研究提示抗 SSB、ds-DNA、M2、

AnuA、AHA、P 蛋白、U1-RNP、Sm、PCAN、CENP-B 阳性率依次递减，且较 A 组低，但 10 种抗体之间差异无统计学意义，抗 Scl-70、PM-Scl、Jo-1 均无表达。

本研究提示单项抗体阳性所占比例较 2 项及以上抗体少；而 2 项、3 项及 4 项及以上抗体所占比例比较差异有统计学意义，且 2 项抗体阳性比例最高，与文献报道一致^[11]，而联合表达以双联抗体为主，可能与部分抗体之间具有一定相关性，往往同时出现有关，如 SSA 及 Ro-52、SSA 与 SSB 或抗 u1-RNP 与抗 Sm。自身抗体可于自身免疫性疾病临床症状出现前检测到^[17-18]，但也可出现在其他疾病人群中，如感染性疾病^[19]，或体检健康人群^[20]。因此，抗体阳性是患者自身免疫性疾病前期所致，还是仅仅在 ITP 发病过程中因抗原抗体反应产生，目前尚无结论。

4 结 论

伴有自身抗体阳性的 ITP 患者 ANA 及 ANAs 联合检测可减少漏诊和误诊率；ANA 及 ANAs 表达特点与 AID 患者既有相似之处又存在差异，自身抗体表达特点仍需要进一步深入探讨，对于揭示 ITP 的发病机制有着重要意义。

参考文献

[1] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组. 成人原发免疫性血小板减少症诊断与治疗中国专家共识(2016 年版)[J]. 中华血液学志, 2016, 37(2): 89-93.

[2] 邓家栋. 临床血液学[M]. 上海: 科学技术出版社, 2001: 1317-1329.

[3] 徐文艳. 以血小板减少为首发症状的结缔组织病临床析[J]. 中国基层医药, 2014, 21(20): 3149-3150.

[4] 李佩芳, 庞文正. 132 例免疫性血小板减少症患者自身抗体检测回顾性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(20): 3050-3051.

[5] 陈琦, 王梅芳, 程芳芳, 等. 老年原发免疫性血小板减少症患者临床特征及预后分析[J]. 首都医科大学学报, 2018, 39(2): 277-281.

[6] 李耿祥, 邱梅花, 陈漪漩. 抗核抗体谱联合抗核抗体在自身免疫性疾病诊断中的应用效果[J]. 临床合理用药, 2017, 10(8): 107-108.

[7] 廖桂周. 抗核抗体和抗核抗体谱联合检测在自身免疫性疾病诊断和筛查中的应用价值[J]. 中国医学创新, 2016, 13(24): 63-66.

[8] 徐全民, 逢清华, 张岚. 原发免疫性血小板减少症患者抗可提取性核抗原抗体分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(18): 2270-2271.

[9] 卢伟, 刘斌剑, 梁艳, 等. 抗核抗体阴性病例的抗核抗体谱的检测分析与疾病风险的评估[J]. 中国实验诊断学, 2016, 20(4): 597-602.

[10] 钟海平, 王建中. 2 325 例患者抗核抗体核型与抗核抗体谱检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(11): 1517-1519.

[11] 刘及生, 谭福燕, 焦安君, 等. 196 例抗核抗(下转第 28 页)

- micro-organism[J]. Antimicrob Resist Infect Control, 2018,6(1):96.
- [5] KTARI S, MNIF B, KOUBAA M, et al. Nosocomial outbreak of *Myroides odoratimimus* urinary tract infection in a Tunisian hospital[J]. J Hosp Infect, 2012,80(1):77-81.
 - [6] YAGCI A, CERIKCIOGLU N, KAUFMANN M E, et al. Molecular typing of *Myroides odoratimimus* (*Flavobacterium odoratum*) urinary tract infections in a Turkish hospital[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2000, 19(9): 731-732.
 - [7] MARAKI S, SARCHIANAKI E, BARBAGADAKIS S. *Myroides odoratimimus* soft tissue infection in an immunocompetent child following a pig bite: case report and literature review[J]. Braz J Infect Dis, 2012, 16(4): 390-392.
 - [8] BENEDETTI P, RASSU M, PAVAN G, et al. Septic shock, pneumonia, and soft tissue infection due to *Myroides odoratimimus*: report of a case and review of *Myroides* infections[J]. Infection, 2011, 39(2): 161-165.
 - [9] JOVER-SÁENZ A, PÉREZ-VILLAR F, BARCENILLA-GAITE F. Severe sepsis caused by infected prosthesis joint due to *Myroides odoratimimus*[J]. Med Clin (Barc), 2016, 147(6): 276-277.
 - [10] BACHMEYER C, ENTRESSENGLE H, KHOSROTE-HRANI K, et al. Cellulitis due to *Myroides odoratimimus* in a patient with alcoholic cirrhosis[J]. Clin Exp Dermatol, 2008, 33(1): 97-98.
 - [11] POMPILIO A, GALARDI G, GHERARDI GA, et al. Infection of recurrent calcaneal ulcer caused by a biofilm-producer *Myroides odoratimimus* strain[J]. Folia Microbiol (Praha), 2018, 63(2): 203-207.
 - [12] SPANIK S, TRUPL J, KRCMERY V. nosocomial catheter-associated *flavobacterium odoratum* bacteraemia in cancer patients[J]. J Med Microbiol, 1998, 47(2): 183-183.
 - [13] WANG Q, WANG P, YANG Q, occurrence and diversity of antibiotic resistance in untreated hospital wastewater [J]. Sci Total Environ, 2018, 15(9): 990-999.
 - [14] POMPILIO A, GALARDI G, VERGINELLI F, et al. *Myroides odoratimimus* forms structurally complex and inherently antibiotic-resistant biofilm in a wound-like in vitro model[J]. Front Microbiol, 2017, 8: 2591.
 - [15] POMPILIO A, GALARDI G, VERGINELLI F, et al. Nordmann, chromosome-encoded beta-lactamases TUS-1 and MUS-1 from *myroides odoratus* and *myroides odoratimimus* (formerly *flavobacterium odoratum*), new members of the lineage of molecular subclass B1 metalloenzymes[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002, 46(11): 3561-3567.
 - [16] SUGANTHI R, SHANMUGA PRIYA T, et al. Relationship between plasmid occurrence and antibiotic resistance in *Myroides odoratimimus* SKS05-GRD isolated from raw chicken meat[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2013, 29(6): 983-990.
 - [17] MING D S, CHEN Q Q, CHEN X T. Analysis of resistance genes in pan-resistant *Myroides odoratimimus* clinical strain PR63039 using whole genome sequencing[J]. Microb Pathog, 2017, 112(1): 164-170.
 - [18] 陈杏春, 梁亮, 林伟. 尿培养芳香黄杆菌 11 例分析[J]. 实用医技杂志, 2009, 16(9): 691-692.
 - [19] 解春宝, 罗江蓉, 喻华, 等. 香味菌临床分离株耐药谱分析[J]. 中国微生态学杂志, 2014, 26(9): 1092-1093.
- (收稿日期: 2019-05-30 修回日期: 2019-09-08)
-
- (上接第 24 页)
- 体谱检测对自身免疫病的诊断意义[J]. 实验与检验医学, 2017, 35(6): 905-908.
- [12] SCHULTE-PELKU M J, FRITZLER M, MAHLER M. Latest update on the Ro/SSA autoantibody system[J]. Autoimmun Rev, 2009, 8(7): 632-637.
 - [13] ROBBINS A, HENTZIENI M, TOQUET S, et al. Diagnostic utility of separate anti-Ro60 and anti-Ro52/TRIM21 antibody detection in autoimmune diseases[J]. Front Immunol, 2019, 10(3): 444.
 - [14] 徐泉. 60kd SSA/Ro 抗原的提取、纯化及蛋白质组学鉴定[D]. 北京: 中国协和医科大学, 2004.
 - [15] 彭勇, 谭立明, 李华, 等. ANA、SSA、SSB、Ro-52 在干燥综合征诊断中的临床意义[J]. 实验与检验医学杂志, 2013, 31(3): 229-247.
 - [16] 周莲, 符明昌, 羊文芳. 抗核抗体和抗核抗体谱联合检测诊断自身免疫性疾病的临床价值[J]. 海南医学杂志, 2016, 27(18): 2965-2968.
 - [17] BRITO-ZERÓN P, THEANDER E, BALDINI C, et al. Early diagnosis of primary Sjögren's syndrome: EULAR-SS task force clinical recommendations[J]. Expert Rev Clin Immunol, 2015, 12(22): 1-20.
 - [18] SALTÜRK Z, ZDEMIR E, KUMRAL T L, et al. Subjective and objective voice evaluation in Sjögren's syndrome[J]. Logoped Phoniatr Vocol, 2015, 12(4): 1-3.
 - [19] 刘永福, 刘媛. 自身抗体在肿瘤及感染性疾病发生、发展中的作用[J]. 北京大学学报(医学版), 2018, 50(618): 952-955.
 - [20] 陈水绵, 俞翀翌, 李恩灵, 等. 自身免疫性疾病患者及健康体检者自身抗体相关实验室指标分析[J]. 检验医学, 2018, 33(1): 31-36.
- (收稿日期: 2019-06-02 修回日期: 2019-09-10)