

多方法学检测 2 657 例血清自身抗体结果的回顾性分析*

车冬丽¹,程亭瑄²,杜金龙¹,刘 晴¹,田 野¹,史丽娜¹,王晓宁¹,谢 菲¹,古 缘¹,谭延国^{1△}

1. 首都医科大学附属复兴医院检验科,北京 100038;2. 首都医科大学医学检验系,北京 100038

摘 要:目的 探讨常见自身抗体检测中不同方法学的检出情况,为自身抗体的检测策略提供依据。
方法 分析 2 657 例同时使用间接免疫荧光(IIF)法检测抗核抗体(ANA)和免疫印迹(IB)法检测抗核抗体谱(ANAs,共 15 种靶抗原特异性抗体),使用 IIF 法、酶联免疫吸附试验(ELISA)和 IB 法同时检测抗双链 DNA 抗体(抗 dsDNA 抗体),以及 2 348 例同时使用 IIF 法检测抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)和 ELISA 检测 ANCA 谱[髓过氧化物酶抗体(抗 MPO 抗体)、抗蛋白酶 3 抗体(抗 PR3 抗体)]的结果。**结果** (1)ANA 检出率显著高于 ANAs(57.77% vs. 30.64%, $P<0.001$),检出 ANA 者中,40.78%检出至少一种特异性抗体,且所有检出 ANAs 者中,未检出 ANA 者占 23.10%。(2)检出 ANA 者以低滴度为主, $\leq 1:320$ 者占总检出例数的 84.95%,但滴度越高者,ANAs 特异性抗体的检出率越高:依次为 1:100 的 29.63%、1:320 的 48.56%、1:1 000 的 77.78%和 $\geq 1:3 200$ 的 92.42%。(3)在检出 ANAs 者中,抗 Scl-70 抗体、抗 PM-Scl 抗体、抗 PCNA 抗体在检出 ANA 者中的占比显著低于未检出 ANA 者($P<0.001$)。(4)ELISA 对抗 dsDNA 抗体的检出率最高(4.14%),高于 IIF 法和 IB 法(均 $P<0.001$),且后两种方法检出率比较差异有统计学意义($P<0.001$);即便如此,IIF 法和 IB 法检测抗 dsDNA 抗体仍对 ELISA 具有一定的补充作用。(5)IIF 法对 ANCA 的检出率显著高于 ELISA 对 ANCA 谱的检出率(9.16% vs. 2.43%),但检出抗 MPO 抗体和/或抗 PR3 抗体者中,仍有 47.37%(27/57)未检出 ANCA。**结论** 用于自身抗体检测的不同方法检测效能明显不同,根据循证医学制订正确的检测策略尤为必要。

关键词:抗核抗体; 抗核抗体谱; 抗中性粒细胞胞浆抗体; 抗双链 DNA 抗体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.23.005

中图法分类号:R446.1

文章编号:1673-4130(2024)23-2838-06

文献标志码:A

Retrospective analysis of 2 657 serum autoantibodies results detected by multiple methods*

CHE Dongli¹,CHENG Tingxuan²,DU Jinlong¹,LIU Qing¹,TIAN Ye¹,SHI Lina¹,
WANG Xiaoning¹,XIE Fei¹,GU Yuan¹,TAN Yanguo^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, Fuxing Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China; 2. College of Clinical Laboratory Medicine, Capital Medical University, Beijing 100038, China

Abstract:**Objective** To investigate the performance of different methods in common autoantibody detection, and to provide basis for the detection strategy of autoantibody. **Methods** A total of 2 657 cases were included in this study, whose serum antinuclear antibody (ANA) by indirect immunofluorescence method (IIF) and antinuclear antibody spectrum (ANAs, a total of 15 antibodies) by immunoblot method (IB) were tested simultaneously, and anti-double strand DNA antibody (anti-dsDNA antibody) were tested by IIF, enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and IB. ANCA and ANCA spectrum [anti-myeloperoxidase antibody (anti-MPO antibody), anti-protease 3 antibody (anti-PR3 antibody)] were tested by IIF and ELISA respectively in 2 348 cases. **Results** Firstly, the detection rate of ANA was significantly higher than that of ANAs (57.77% vs. 30.64%, $P<0.001$). Among the specimens detected with ANA, 40.78% detected at least one specific antibody positive. Among the specimens detected with ANAs positive, ANA was not detected in 23.10% of cases. Secondly, the ANA positive cases were mainly of lower titers, and cases with titer of $\leq 1:320$ accounted for 84.95% of the total detected cases. But the higher the titer, the higher the detection rate of ANAs specific antibodies (29.63% in 1:100, 48.56% in 1:320, 77.78% in 1:1 000, 92.42% in $\geq 1:3 200$). Thirdly, among the specimens detected ANAs positive, the composition ratios of anti-Scl-70, anti-PM-Scl and anti-PCNA antibodies in ANA positive cases was significantly lower than those in ANA negative cases

* 基金项目:首都医科大学教育教学改革研究课题项目(2023JYY266)。

作者简介:车冬丽,女,主管技师,主要从事临床检验诊断学方向的研究。△ 通信作者,E-mail:tanyanguo61@126.com。

($P < 0.001$). Fourthly, the detection rate of anti-dsDNA antibody by ELISA was the highest (4.14%), which was significantly higher than those by IIF or IB (both $P < 0.001$), and the difference in detection efficacy of the latter two methods was also statistically significant ($P < 0.001$). Even so, the IIF and IB for the detection of anti-dsDNA antibody still had a certain complementary effect on ELISA. Fifthly, the positive rate of ANCA by IIF was significantly higher than that of ANCA spectrum (9.16% vs. 2.43%), but among those who were detected anti-MPO antibodies and/or anti-PR3 antibodies positive, 47.37% were ANCA negative. **Conclusion**

Different methods for detecting autoantibodies have significantly different detection efficacy, and it is particularly necessary to adopt correct detection strategies based on evidence-based medicine.

Key words: anti-nuclear antibody; anti-nuclear antibody spectrum; anti-neutrophil cytoplasmic antibody; anti-double strand DNA antibody

自身免疫性疾病(AID)为致敏 T 细胞或抗体攻击自身组织、器官,导致自身组织损伤或功能障碍的一组疾病^[1]。因多数 AID 具有自身特征性、靶抗原特异性的自身抗体谱^[2],临床实验室通常通过检测这些自身抗体谱以实现 AID 患者的诊断、病情判断、疗效观察和预后评估。

随着医学检验技术的发展,可用于 AID 诊疗的自身抗体种类也不断增多,这提升了对 AID 的诊疗能力^[3];另外,也存在不同方法检测同一种自身抗体的情况。如多数医学实验室在使用间接免疫荧光(IIF)法检测抗核抗体(ANA)的同时,也使用免疫印迹(IB)法、酶联免疫吸附试验(ELISA)、化学发光法等检测多种靶抗原特异性抗核抗体谱(ANAs);在测定抗双链 DNA 抗体(抗 dsDNA 抗体)、抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)时,也往往联合 IIF 法和其他方法检测。但不同方法学在临床标本中的检出情况、方法学间的符合性和互补性如何,亟待以大样本量加以探讨。本研究回顾性分析了 2 657 例同时使用多方法学检测血清上述自身抗体的结果,就不同方法学间的检出率,方法学间的符合性、互补性等进行分析,以期在临床实践中自身抗体的检测策略提供依据和指导。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 5 月至 2024 年 5 月于首都医科大学附属复兴医院初次就诊的 2 657 例成年患者作为研究对象,女 1 662 例,男 995 例,平均年龄(64.75 ± 18.69)岁。这些患者均收集同一份血清标本,同时检测了 ANA(采用 IIF 法)和 ANAs(采用 IB 法,共检测针对 15 种靶抗原特异性抗体),使用 IIF 法、ELISA 和 IB 法同时检测了抗 dsDNA 抗体;其中 2 348 例同时使用 IIF 法检测 ANCA 且 ELISA 检测 ANCA 谱[髓过氧化物酶抗体(抗 MPO 抗体)和抗蛋白酶 3 抗体(抗 PR3 抗体)]。

1.2 方法 IIF 法检测 ANA(基质为 HEP-2 细胞和猴肝切片)和 ANCA(基质为甲醛、乙醇固定的中性粒细胞,HEP-2 细胞和猴肝切片),IB 法检测 ANAs,ELISA 检测抗 dsDNA 抗体、抗 MPO 抗体、抗 PR3 抗体等检测试剂盒均购自德国欧蒙公司。采用含分离胶的真空采血管采集静脉血,4 000 r/min 离心 10

min 分离血清待测。试验操作和结果判读均严格按照标准作业程序进行。使用荧光显微镜(EUROStar)判读 IIF 法核型和结果;在免疫印迹分析仪(EUROBlotMaster 44)检测完 ANAs 后,再使用配套的扫描仪读取灰度值进而判定阴、阳性。

采用 IIF 法检测 ANA 根据《抗核抗体检测的临床应用专家共识》^[4]判读荧光模型(共 16 种核型)。细胞核型:均质型(AC-1),斑点型(AC-2、4、5),着丝点型(AC-3),核点型(AC-6、7),核仁型(AC-8、9、10),核膜型(AC-11、12),核多形性型(AC-13、14);细胞浆型:胞浆纤维型(AC-15、16、17),胞浆颗粒型(AC-18、19、20),胞浆网状/线粒体型(AC-21),胞浆极性/高尔基体样型(AC-22),胞浆棒状环形(AC-23);细胞有丝分裂期型:中心体型(AC-24),纺锤体纤维型(AC-25),分离带型(AC-27),染色体型(AC-28)等。使用 IB 法同时检测抗 dsDNA 抗体、抗 U1-nRNP 抗体、抗 Sm 抗体、抗 SS-A(60kDa)抗体、抗 SS-B 抗体、抗 Jo-1 抗体、抗 Scl-70 抗体、着丝点抗体 B 蛋白抗体、抗增殖细胞核抗原抗体(抗 PCNA 抗体)、抗组蛋白抗体、核糖体 P 蛋白抗体、抗线粒体 M2 型抗体、抗核小体抗体、抗 SS-A(52kDa)抗体、抗 PM-Scl 抗体这 15 种靶抗原特异性自身抗体(即 ANAs)。以检出至少 1 种抗体认为 ANAs 为阳性。

若检出 ANCA(IIF 法),则进一步区分为胞浆型(cANCA)、核周型(pANCA)。同时检测针对抗 MPO 抗体和抗 PR3 抗体两种靶抗原特异性抗体(ANCA 谱),有 1 种抗体阳性即判定为 ANCA 谱阳性。分别探讨 IIF 法检测 ANA、IB 法检测 ANAs 的检出率,以及二者符合性和互补性;并进一步分析检出 ANA 者中核型滴度(1:100、1:320、1:1 000、1:3 200、1:10 000)的分布情况。ANA 与 ANAs 阳性符合率=两种方法均阳性例数/(总例数-均阴性例数),阴性符合率=两种方法均阴性例数/(总例数-均阳性例数)。分别分析使用 IIF 法、IB 法和 ELISA 同时检测抗 dsDNA 抗体,以及 IIF 法对 ANCA 和 ELISA 对 ANCA 谱(抗 MPO 抗体和抗 PR3 抗体)的检出情况、符合性、互补性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS29.0 统计软件进行数据

处理及统计分析。计数资料以频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ANA 与 ANAs 检测结果分析

2.1.1 ANA 的检出情况及核型滴度的分布情况
IIF 法对 ANA 的检出率为 57.77%(1 535/2 657),核型的检出率排名前 4 位的依次为细胞核斑点型(71.92%)、胞浆颗粒型(58.05%)、细胞核均质型 AC1(9.19%)、核仁型(6.38%),见表 1。以同时检出至少两种核型为主(55.05%,845/1 535),ANA 检出标本中,核型滴度的构成比分别为 1:100 的占 66.84%(1 026/1 535),1:320 的占 18.11%(278/1 535),1:1 000 的占 10.75%(165/1 535),1:3 200 的占 4.23%(65/1 535),1:10 000 的占 0.06%(1/1 535)。

表 1 1 535 例检出 ANA 标本的核型分布情况

类型	检出(<i>n</i>)	占比(%)
斑点型	1 104	71.92
胞浆颗粒型	891	58.05
均质型	141	9.19
核仁型	98	6.38
着丝点型	82	5.34
胞浆纤维型	46	3.00
核膜型	16	1.04
核点型	14	0.91
胞浆极性/高尔基体样型	6	0.39
纺锤体纤维型	6	0.39
胞浆网状/线粒体型	4	0.26
中心体型	4	0.26
核多形性型	2	0.13
分离带型	1	0.07
合计	1 535	100.00

2.1.2 ANAs 的检出情况 同时检测 ANA 和 AN-As 者共 2 657 例,ANAs 总检出率为 30.64%(814/2 657),包括全部 15 种靶抗原特异性抗体;其中仅检出 1 种抗体者占 61.05%(497/814),检出两种及以上抗体者占 38.94%(317/814);在检出 ANAs 者中,检出抗 SS-A(52kDa)抗体者占 31.57%,检出抗 SS-A(60kDa)抗体者占 24.20%、检出抗 dsDNA 抗体者占 17.81%,检出抗 U1-nRNP 抗体者占 15.72%,检出

抗线粒体 M2 型抗体者占 14.74%,检出着丝点抗体 B 蛋白抗体者占 12.53%,其余各种抗体检出率均低于 10.00%,见表 2。

2.1.3 同时检出 ANA 与 ANAs 者、未检出 ANA 而检出 ANAs 者的各种靶抗原特异性抗体的检出情况分析 同时检出 ANA 与 ANAs 者共 626 例,未检出 ANA 而检出 ANAs 者共 188 例,各种靶抗原特异性抗体检出情况见表 3。同时检出 ANA 与抗 SS-A(52kDa)抗体、抗 SS-A(60kDa)抗体、着丝点抗体 B 蛋白抗体者占比显著高于对应未检出 ANA 检出抗 SS-A(52kDa)抗体、抗 SS-A(60kDa)抗体、着丝点抗体 B 蛋白抗体者($P<0.05$),而同时检出 ANA 与抗 Scl-70 抗体、抗 PM-Scl 抗体、抗 PCNA 抗体者占比显著低于对应未检出 ANA 而检出抗 Scl-70 抗体、抗 PM-Scl 抗体、抗 PCNA 抗体者($P<0.05$)。

表 2 814 例检出 ANAs 标本的结果分析

项目	检出(<i>n</i>)	占比(%)
抗 SS-A(52kDa)抗体	257	31.57
抗 SS-A(60kDa)抗体	197	24.20
抗 dsDNA 抗体	145	17.81
抗 U1-nRNP 抗体	128	15.72
抗线粒体 M2 型抗体	120	14.74
着丝点抗体 B 蛋白抗体	102	12.53
抗组蛋白抗体	64	7.86
抗 SS-B 抗体	60	7.37
抗 Scl-70 抗体	53	6.51
核糖体 P 蛋白抗体	50	6.14
抗 Sm 抗体	45	5.53
抗 PM-Scl 抗体	41	5.04
抗 Jo-1 抗体	29	3.56
抗 PCNA 抗体	29	3.56
抗核小体抗体	21	2.58
合计	814	100.00

2.1.4 ANAs 检出情况与 ANA 核型滴度的关系
随着核型滴度的增高,检出靶抗原特异性抗体的比例显著增高。不同 ANA 核型滴度组检出靶抗原特异性的抗体种类略有不同,但检出率相对较高的抗体为抗 SS-A(52kDa)抗体、抗 SS-A(60kDa)抗体、抗线粒体 M2 型抗体、抗 dsDNA 抗体和着丝点抗体 B 蛋白抗体。见表 4。

表 3 ANAs 检出结果与 ANA 检出结果关系的探讨

项目	ANA(+)	占比(%)	ANA(-)	占比(%)	χ^2	<i>P</i>
抗 SS-A(52kDa)抗体(+)	224	20.02	33	13.75	4.959	0.026
抗 SS-A(60kDa)抗体(+)	172	15.37	24	10.00	4.619	0.032
抗 dsDNA 抗体(+)	130	11.62	34	14.17	0.762	0.383
抗 U1-nRNP 抗体(+)	104	9.29	24	10.00	0.115	0.734
抗线粒体 M2 型抗体(+)	100	8.94	20	8.33	0.890	0.765

续表 3 ANAs 检出结果与 ANA 检出结果关系的探讨

项目	ANA(+)	占比(%)	ANA(-)	占比(%)	χ^2	<i>P</i>
着丝点抗体 B 蛋白抗体(+)	93	8.31	9	3.75	5.922	0.015
抗 SS-B 抗体(+)	55	4.92	5	2.08	3.755	0.053
抗组蛋白抗体(+)	49	4.38	15	6.25	1.542	0.214
核糖体 P 蛋白抗体(+)	46	4.11	4	1.67	3.331	0.068
抗 Sm 抗体(+)	35	3.13	10	4.17	0.666	0.414
抗 Scl-70 抗体(+)	34	3.04	19	7.92	12.548	0.001
抗 PM-Scl 抗体(+)	23	2.06	18	7.50	20.021	0.001
抗 Jo-1 抗体(+)	20	1.79	9	3.75	3.356	0.067
抗核小体抗体(+)	19	1.70	2	0.83	0.971	0.561
抗 PCNA 抗体(+)	15	1.34	14	5.83	19.101	0.001
合计	626	100.00	188	100.00	/	/

注：+表示检出，-表示未检出；/表示无数据。

表 4 不同 ANA 核型滴度标本中 ANAs 检出情况

ANA 核型滴度	检出 ANA (<i>n</i>)	检出 ANAs (<i>n</i>)	检出率(%)	占比最高的 3 种靶抗原特异性抗体
1 : 100	1 026	304	29.63	抗 SS-A(52kDa)抗体(16.71%)、抗线粒体 M2 型抗体(12.76%)、抗 dsDNA 抗体(12.30%)
1 : 320	278	135	48.56	抗 SS-A(52kDa)抗体(19.58%)、抗 SS-A(60kDa)抗体(19.17%)、抗 dsDNA 抗体(15.00%)
1 : 1 000	162	126	77.78	抗 SS-A(52kDa)抗体(23.83%)、抗 SS-A(60kDa)抗体(14.44%)、着丝点抗体 B 蛋白抗体(13.72%)
≥1 : 3 200	66	61	92.42	抗 SS-A(52kDa)抗体(23.78%)、抗 SS-A(60kDa)抗体(18.29%)、着丝点抗体 B 蛋白抗体(10.98%)

2.1.5 IIF 法和 IB 法检测效能比较 IIF 法对 ANA 的检出率显著高于 IB 法对 ANAs 的检出率(57.77% *vs.* 30.64%, $P < 0.001$), 二者的阳性符合率为 36.29%(626/1 725), 阴性符合率为 45.94%(934/2 033); 且超半数(59.22%, 909/1 535)检出 ANA 未检出 ANAs 靶抗原特异性抗体。也有相当比例未检出 ANA 但检出了 ANAs 靶抗原特异性抗体者(16.73%, 188/1 124), 占检出 ANAs 者的 23.10%(188/814)。见表 5。

表 5 IIF 法和 IB 法检测结果的符合情况(*n*)

ANA	ANAs		合计
	+	-	
+	626	909	1 535
-	188	934	1 124
合计	814	1 843	2 659

注：+表示检出，-表示未检出。

2.2 不同方法检测抗 dsDNA 抗体效能比较 共 2 520 例患者同时采用 IIF 法、IB 法和 ELISA 检测了抗 dsDNA 抗体。其中 ELISA 对抗 dsDNA 抗体的检出率最高, 为 4.14%(110/2 657), 显著高于 IIF 法、IB 法对抗 dsDNA 抗体的检出率($P < 0.05$), IIF 法、IB

法两种方法的检出率比较差异也有统计学意义($P < 0.05$), 且任意两种方法均具有较强的互补性。见表 6、7。

表 6 ELISA 与 IIF 法、IB 法对抗 dsDNA 抗体检测结果的符合情况(*n*)

ELISA	IIF 法		IB 法	
	+	-	+	-
+	14	96	17	93
-	8	2 539	27	2 520
χ^2	74.460		36.300	
<i>P</i>	0.001		0.001	

注：+表示检出，-表示未检出。

表 7 IIF 法与 IB 法对抗 dsDNA 抗体检测结果的符合情况(*n*)

IB 法	IIF 法	
	+	-
+	12	32
-	10	2 603
χ^2	11.520	
<i>P</i>	0.001	

注：+表示检出，-表示未检出。

2.3 IIF 法对 ANCA 和 ELISA 对 ANCA 谱检测效能的比较 同时检测 ANCA 和 ANCA 谱共 2 348 例。IIF 法对 ANCA 的检出率为 9. 16% (215/2 348), 其中 pANCA 占 85. 12% (183/215), cANCA 仅占 14. 88% (32/215); ELISA 对 ANCA 谱 (抗 MPO 抗体、抗 PR3 抗体任一检出者) 的检出率为 2. 43% (57/2 348), 以抗 MPO 抗体为主, 占 63. 16% (36/57), 检出抗 PR3 抗体者仅占 26. 32% (15/57), 二者同时检出者占 10. 53% (6/57)。IIF 法对 ANCA 的检出率与 ELISA 对 ANCA 的检出率比较差异有统计学意义 ($P<0. 05$)。

有 1 例检出抗 MPO 抗体者 IIF 法检出结果为 cANCA, 1 例检出抗 PR3 抗体者 IIF 法检出结果为 pANCA; 但其余检出抗 MPO 抗体者 IIF 法检出结果均为 pANCA, 检出抗 PR3 抗体者 IIF 法检出结果为 cANCA。而 IIF 法检测结果为 cANCA 者, 仅 25. 00% (8/32) 检出抗 MPO 抗体或/和抗 PR3 抗体; IIF 法检测结果为 pANCA 者, 仅 12. 02% (22/183) 检出抗 MPO 抗体或/和抗 PR3 抗体; 但未检出 ANCA 者中, 仍有 5 例同时检出了抗 MPO 或抗 PR3 抗体, 14 例检出抗 MPO 抗体, 8 例检出抗 PR3 抗体。见表 8。

表 8 ANCA 和 ANCA 谱检测结果的符合情况 (n)				
ANCA	抗 MPO 抗体 (+)	抗 PR3 抗体 (+)	抗 MPO 抗体和抗 PR3 抗体均 (+)	—
cANCA (+)	1	6	1	24
pANCA (+)	21	1	0	161
—	14	8	5	2 106
χ^2	117. 75			
P	0. 001			

注: + 表示检出, — 表示未检出。

3 讨 论

本研究以大样本、回顾性分析了多种方法联合检测血清自身抗体时, 各种方法的检出情况、符合性、互补性等科学问题。

由于年龄、感染等因素可至 ANA (IIF 法) 呈阳性^[1], 故老年人、非 AID 患者也可能检出低滴度 ANA。但 ANA 核型滴度越高^[5], 辅助诊断 AID 的价值越大。本研究结果显示, 在一个老年患者居多的三级综合医院, ANA (IIF 法) 检出率可达 57. 77%, 但以低滴度 (1 : 100、1 : 320) 为主 (84. 95%)。所有检出 ANA (IIF 法) 者中, 单一核型占 44. 95%, 两种及以上核型占 55. 05%; 核型以斑点型、胞浆颗粒型、均质型为主, 分别占 71. 92%、58. 05%、9. 19%。有必要对这部分低滴度 ANA 结果进行追踪观察, 以及时发现是否有存在 AID 的风险。

虽然采用 IIF 法检测 ANA 是参考性方法^[6], 灵敏度最高^[4], 且这一论点也得到本研究结果的支持,

但本研究结果显示, 所有检出 ANAs 者中, IIF 法未检出 ANA 者仍占 23. 10% (188/814)。说明通过 IIF 法检测 ANA 来筛查 AID 时, 仍应尽量使用 ANAs 联合检测, 以提升检出率及对 AID 诊断的特异度^[7]。

本研究结果还显示, 随着 ANA 核型滴度的增高, 检出 ANAs 靶抗原特异性抗体的比例显著增高, 由 1 : 100 的 29. 63%、1 : 320 的 48. 56%, 提升至 1 : 1 000 和 $\geq 1 : 3 200$ 的 77. 78% 和 92. 42%。因靶抗原特异性抗体与 AID 关系密切, 这也印证了 ANA 核型滴度越高, 对疾病诊断的价值越高的结论^[8]。本研究还发现, IIF 法检出 ANA 者中同时检出抗 SS-A (52kDa) 抗体、抗 SS-A (60kDa) 抗体、着丝点 B 蛋白抗体者的比例显著高于相应未检出 ANA 者; 而抗 Scl-70 抗体、抗 PM-Scl 抗体、抗 PCNA 抗体则在未检出 ANA 者中检出的比例更高, 以上更说明 ANAs 与 ANA 同时检测的必要性。

本研究也进一步证实了前期的研究成果, 即抗 dsDNA 抗体的 3 种检测方法中 ELISA 检出率远高于 IIF 法、IB 法^[9]。虽然 ELISA 是被公认的用作抗 dsDNA 抗体筛查的方法, 但单独检测仍会有相当数量的患者被漏检 (35/110)。先前的研究显示, 抗 dsDNA 抗体对诊断系统性红斑狼疮具有高度的特异性, 本研究进一步证实了不同方法检测抗 dsDNA 抗体具有明显的互补性, 虽然 IIF 法检测抗 dsDNA 抗体被认为其特异度和阳性预测值最高, ELISA 的灵敏度和阴性预测值最高, IB 法的灵敏度和特异度可能无突出优势^[10-11], 但本研究仍有相当比例患者通过 IB 法检出抗 dsDNA 抗体, 其临床意义值得进一步研究。

本研究结果还显示, IIF 法对 ANCA 的检出率显著高于 ELISA 对抗 MPO 抗体、抗 PR3 抗体的检出率。这说明 ANCA 靶抗原特异性抗体中, 抗 MPO 抗体和抗 PR3 抗体仅构成 ANCA 的一小部分, 其他如乳铁蛋白 (LF)、杀菌渗透性增强蛋白 (BPI) 等 10 余种靶抗原特异性抗体可能为临床 ANCA 更为常见的自身抗体^[12], 这些抗体统称为中性粒细胞特异性自身抗体 (NSA), 常出现于有中性粒细胞或单核细胞参与、进行性慢性炎症性为特征的疾病, 如类风湿关节炎、Felty 综合征、溃疡性结肠炎、原发性硬化性胆管炎和 I 型自身免疫性肝炎等, 但在上述疾病中未发现主要的、疾病特异性高的靶抗原特异性抗体, 也未发现 NSA 同特定的临床和预后特征有关, 且其对血管炎等的诊断价值不大^[13]。有学者认为, 只检测抗 MPO 抗体和抗 PR3 抗体对 ANCA 相关性血管炎的诊断已足够, 不需要同时采用 IIF 法检测 ANCA。但 ANCA 及 ANCA 谱联合检测并结合患者的临床表现, 仍对腺病毒相关病毒的诊断具有一定的参考价值^[14]。

本研究结果还显示, 检出抗 MPO 抗体和抗 PR3 抗体者中, 大多数 IIF 法检测结果为 cANCA 和 pANCA; 且有相当比例 IIF 法未检出 ANCA 者中, 检出了

抗 MPO 抗体和/或抗 PR3 抗体,其临床意义和价值值得进一步深入探讨。

自身抗体的检测策略是个复杂的科学问题,多方法学联合使用可能是提升检测灵敏度和防止漏检的重要措施之一。虽然本研究未能结合检测结果与各种自身免疫性疾病的关系进行深入探讨,但仍以大样本量展示了多方法学联合应用在自身抗体试验诊断中的应用情况,相信将为进一步深入研究提供参考。

参考文献

[1] 康熙雄,张国军,张展,等. 临床免疫学检验[M]. 北京:高等教育出版社,2012:297.

[2] 葛均波,徐永健,王辰,等. 内科学[M]. 9 版. 北京:人民卫生出版社,2018:798-799.

[3] TEŠIJA KUNA A,DEREK L,DRVAR V,et al. Assessment of antinuclear antibodies (ANA): National recommendations on behalf of the croatian society of medical biochemistry and laboratory medicine[J]. Biochem Med, 2021,23(31):20502.

[4] 中国医师协会风湿免疫科医师分会自身抗体检测专业委员会. 抗核抗体检测的临床应用专家共识[J]. 中华检验医学杂志,2018,41(4):275-280.

[5] KUMAR Y,BHATIA A,MINZ R W. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases:a journey revisited[J]. Diagn Pathol, 2009,41(4):21-43.

[6] ORME M E,ANDALUCIA C,SJOLANDER S,et al. A hierarchical bivariate meta-analysis of diagnostic test accuracy to provide direct comparisons of immunoassays

vs. indirect immunofluorescence for initial screening of connective tissue diseases[J]. Clin Chem Lab Med,2021, 59(3):547-561.

[7] 刘伟,田鹏飞,郭珊,等. 抗核抗体与特异性自身抗体在自身免疫性疾病诊断中的价值[J]. 中国卫生检验杂志, 2020,30(15):1801-1803.

[8] 夏晓旭,徐思琪. 抗核抗体和抗核抗体谱检测结果分析[J]. 浙江临床医学,2020,22(9):1344-1346.

[9] 田野,张云聪,冯珍如,等. 不同方法联合检测 SLE 患者血清中双链 DNA 抗体的性能评估[J]. 检验医学与临床, 2016,13(19):2697-2699.

[10] ALSAED O S,ALAMLIH L I,AL-RADIDEH O,et al. Clinical utility of ANA-ELISA vs. ANA-immunofluorescence in connective tissue diseases [J]. Sci Rep,2021,11 (1):8229.

[11] 李志艳,李丽娟,韩瑞林,等. 不同方法检测抗双链 DNA 抗体在系统性红斑狼疮诊断中的价值评估[J]. 标记免疫分析与临床,2022,29(7):1179-1183.

[12] SCHULTE-PELKUM J,RADICE A,NORMAN G L,et al. Novel clinical and diagnostic aspects of antineutrophil cytoplasmic antibodies [J]. Immunol Res, 2014, 2014: 185416.

[13] 阮慧杰,许翠萍. ANCA 相关性疾病及血清学检测进展[J]. 中南医学科学杂志,2017,45(2):193-196.

[14] 王美娥,胡朝军,李萍,等. 抗中性粒细胞胞浆抗体荧光核型与靶抗原不符的特殊情况分析[J]. 临床检验杂志, 2021,39(8):633-635.

(收稿日期:2024-08-05 修回日期:2024-11-11)

(上接第 2837 页)

[3] KROSHLAN K,YOSHAN M. Are abnormal pre-operative platelet counts a risk factor for majoradverse cardiovascular events following non-cardiac surgery[J]. OJHAS, 2018,17(3):4-12.

[4] KHODADI E. Platelet function in cardiovascular disease: activation of molecules and activation by molecules[J]. Cardiovasc Toxicol,2020,20(1):1-10.

[5] ZHANG Y,CHEN R,JIA Y,et al. Effects of exenatide on coagulation and platelet aggregation in patients with type 2 diabetes[J]. Drug Des Devel Ther, 2021 (15): 3027-3040.

[6] GIANNAKEAS V,KOTSOPOULOS J,BROOKS J D,et al. Platelet count and survival after cancer[J]. Cancers, 2022,14(3):549.

[7] 蔡丽秀,张蛟鲨,张锦,等. EDTA 依赖性假性血小板减少症的不同检测方法比较[J]. 国际检验医学杂志,2021,42 (23):2931-2934.

[8] TIFFANY M L. Technical considerations for platelet aggregation and related problems[J]. Crit Rev Clin Lab Sci, 1983,19(1):27-69.

[9] 谭春艳,覃桂芳. 血小板聚集的原因及临床意义[J]. 广西

医科大学学报,2000,17(4):669-671.

[10] YOON S S,KWON H W,SHIN J H,et al. Anti-thrombotic effects of artesunate through regulation of cAMP and PI3K/MAPK pathway on human platelets[J]. Int J Mol Sci,2022,23(3):1586.

[11] MCEWEN B J. The influence of diet and nutrients on platelet function[J]. Semin Thromb Hemost, 2014, 40 (2):214-226.

[12] 王凤,吴珊珊,万丽平. 震荡对血小板聚集功能检测的影响[J]. 大连医科大学学报,2017,39(2):173-175.

[13] 胡恩亮,赵媛,王妍,等. 血小板聚集影响因素在血细胞计数中的临床应用[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(6): 749-750.

[14] HALLEK M,AL-SAWAF O. Chronic lymphocytic leukemia:2022 update on diagnostic and therapeutic procedures [J]. Am J Hematol,2021,96(12):1679-1705.

[15] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 临床血液检验常用项目分析质量标准:WS/T 406-2024[S]. 北京:中国标准出版社,2024.

(收稿日期:2024-07-29 修回日期:2024-10-01)