

• 检验技术与方法 •

抗核抗体核型检测与特异性抗核抗体谱检测的对比分析

郑金菊, 牟晓峰

(青岛市中心医院检验科, 山东青岛 266042)

摘要:目的 探讨抗核抗体核型与特异性抗核抗体谱的相关性。方法 回顾分析本院检验科检测的 974 例抗核抗体结果, 分别用间接免疫荧光法(IIF)检测抗核抗体核型, 用条带酶免分析法(LIA)检测特异性抗核抗体谱, 分析 199 例 IIF 与 LIA 同时阳性的结果, 比较抗核抗体核型与特异性抗核抗体谱的相关性。结果 974 例标本中 IIF 阳性 249 例(阳性率 25.6%), LIA 阳性 237 例(阳性率 24.3%), 两种方法检测阳性率差异无统计学意义($P>0.05$), IIF 与 LIA 单项或两项阳性 287 例(29.5%), 高于 IIF 或 LIA 单项检测阳性率, 差异有统计学意义($P<0.05$)。249 例 IIF 阳性中 LIA 阳性 199 例(79.9%), 725 例 IIF 阴性中 LIA 阴性 687 例(94.8%)。核颗粒型多见抗 Ro-52 抗体, 胞浆颗粒型多见抗线粒体 M2 抗体, 核均质型以抗 dsDNA 抗体、抗核小体抗体多见, 着丝点型多见抗着丝点抗体, 核仁型多见抗 PM-Scl 抗体。结论 IIF-ANA 与 LIA-ANA 有较好的相关性, 但也有一定差异, 两者联合检测能降低漏检率, 对自身免疫性疾病的诊断、病情监测及预后判断有重要意义。

关键词: 抗核抗体; 间接免疫荧光法; 条带酶免分析法; 自身免疫性疾病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.20.040

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)20-2813-03

Comparative analysis of anti-nuclear antibody pattern detection and specific anti-nuclear antibody spectrum detection

Zheng Jinju, Mu Xiaofeng

(Department of Clinical Laboratory, Qingdao Municipal Central Hospital, Qingdao, Shandong 266042, China)

Abstract: **Objective** To investigate the correlation between the anti-nuclear antibody(ANA) pattern and the specific ANA spectrum. **Methods** 974 cases of detected ANA results in our hospital were analyzed retrospectively. The ANA pattern was detected by the indirect immunofluorescence(IIF) and the specific ANA spectrum was tested by the line immunoassay(LIA). 199 cases of both simultaneous positive results by IIF and LIA were analyzed and the correlation between ANA patterns and specific ANA spectrum was analyzed. **Results** Among 974 cases of specimen, 249 cases(25.6%) were positive by IIF and 237 cases(24.3%) were positive by LIA, the difference in the positive rate between IIF and LIA had no statistical significance($P>0.05$). 287 cases(29.5%) were positive by single IIF or LIA or both IIF and LIA, which was higher than the positive rate by single IIF or LIA ($P<0.05$). Among 249 cases of positive by IIF, 119 cases(79.9%) were positive by LIA, among 725 cases of negative by IIF, 687 (94.8%) cases were negative by LIA. The anti-Ro-52 antibody was frequently detected in the nuclear speckled pattern, and the anti-M2 antibody was detected more frequently in the cytoplasmic speckled pattern, anti-dsDNA antibody and anti-nucleosome antibody were more frequently detected in the nuclear homogeneous pattern, anti-centromere antibody was more frequently detected in the centromere pattern and anti-PM-Scl antibody was more frequently detected in the nucleolus pattern. **Conclusion** The ANA detection has better correlation between IIF and LIA, but also has certain difference. Their combined detection can reduce the missed detection rate and has the important significance to the diagnosis, disease condition monitoring and prognosis judgment of autoimmune diseases.

Key words: anti-nuclear antibody; indirect immunofluorescence; line immunoassay; autoimmune diseases

抗核抗体(ANA)是一组将自身真核细胞核内的各种细胞核成分 DNA、RNA、蛋白质或其分子复合物等作为靶抗原的自身抗体的总称, 随着人们对抗核抗体的深入认识, 针对胞浆成分的自身抗体相继被发现, 目前 ANA 的现代定义已不局限于细胞核而扩展到整个细胞^[1-3]。ANA 无器官和种属特异性, 可与所有动物细胞核发生反应, 主要存在于血清中, 通常自身免疫性疾病(AID)患者血清中可检测到高滴度 ANA。目前, 间接免疫荧光法(IIF)检测 ANA 核型是广泛应用的筛查实验, 其检测灵敏度高, 被认为是 ANA 检测的金标准^[4]。条带酶免分析法(LIA)检测抗核抗体谱是针对特异性抗核抗体的检测方法, 该方法特异度高, 可作为 ANA 的确认实验。本文通过回顾分析 974 例 ANA 核型与 ANA 谱的检测结果, 比较 ANA 核型与 ANA 谱的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾分析 2013 年 1~12 月来本院就诊病例 974 例, 均同时进行 ANA 核型与 ANA 谱检测, 其中门诊 216 例, 住院 758 例, 年龄 19~86 岁, 平均(47.3±10.2)岁。所有检测者均用含促凝剂真空管抽取静脉血 3~5 mL, 3 000 r/min 离心 5 min, 备用。

1.2 仪器与试剂 ANA 核型检测试剂来自北京海瑞祥天生物科技有限公司, ANA 谱检测试剂来自苏州浩欧博生物医药有限公司。两项检测均采用手工操作。

1.3 方法

1.3.1 ANA 核型检测 采用 IIF 法, 玻片抗原基质为人喉癌上皮细胞, 检测血清中抗核 IgG 抗体, 检测时将血清稀释 100 倍后和阴阳性对照血清一起分别与玻片上的底物进行孵育, 血

清中的抗体与底物中特异性抗原结合,洗去未结合的抗体,加入 FITC 标记的抗人 IgG 抗体结合抗原抗体复合物,洗去未结合的标记二抗,封片后在荧光显微镜下观察玻片细胞情况,出现核型典型的黄绿色荧光判断为阳性,整个反应孔细胞无荧光或荧光极弱则判为阴性。将荧光核型分为核均质型、核颗粒型、核仁型、核点型、着丝点型、核膜型、胞浆颗粒型和胞浆纤维型。

1.3.2 ANA 谱检测 采用 LIA 法,条带上包被 15 种抗核抗原,可检测血清中的 15 种抗核抗体:抗 U1-nRNP 抗体、抗 SmD1 抗体、抗 SSA 抗体、抗 Ro-52 抗体、抗 SSB 抗体、抗 Scl-70 抗体、抗 PM-Scl 抗体、抗 Jo-1 抗体、抗 CENPB 抗体、抗 PCNA 抗体、抗 dsDNA 抗体、抗组蛋白抗体、抗核糖体 P 蛋白抗体、抗线粒体和 AMA-M2 抗体。检测时将血清稀释 100 倍与膜条共同孵育,血清中的抗体与膜条上的抗原特异性结合,利用辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG 结合此抗体,洗去未结合的酶,加入显色剂结合抗体上标记的辣根过氧化物酶催化显色反应,在包被抗原的位置产生肉眼可见的蓝色条带。显色强于临界值判为阳性,不显色或比临界值显色弱判为阴性。

1.4 统计学处理 数据用 SPSS17.0 统计学软件进行分析,组间率的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

表 2 IIF、LIA 都阳性标本的 ANA 核型与 ANA 谱结果对比分析(*n*)

抗核抗体	核型							
	核均质型	核颗粒型	核仁型	核点型	着丝点型	核膜型	胞浆颗粒型	胞浆纤维型
nRNP	4	18	0	0	0	2	2	0
Sm	7	10	0	1	1	1	4	0
SSA	12	48	2	1	5	2	13	0
Ro-52	13	50	5	0	8	2	11	0
SSB	9	26	3	0	2	2	1	0
Scl-70	2	3	0	0	0	0	0	0
PM-Scl	1	1	8	0	0	0	0	0
Jo-1	0	1	0	0	0	0	0	0
CENPB	0	1	0	0	11	0	2	0
PCNA	1	2	2	1	0	0	3	0
dsDNA	21	15	2	0	1	1	2	0
Nucleosome	20	13	2	0	1	2	2	0
Histone	17	13	2	0	1	2	2	0
rRNP	7	8	2	0	1	2	10	0
AMA-M2	3	6	1	2	1	1	19	0

3 讨 论

AID 是指机体免疫系统对自身组织或细胞产生病理性免疫应答反应而导致的组织损伤或功能障碍的疾病。AID 的潜伏期较长,因此早期诊断对 AID 的诊断、鉴别诊断、改善预后以及降低病死率提高生活质量都有重要的意义^[5]。目前对 AID 的诊断主要依据临床表现和结合实验室检验结果,ANA 核型与 ANA 谱检测已广泛应用于 AID 的诊断与疗效监测,ANA 无器官和种属特异性,不同 AID 可出现不同的组合,表

2.1 ANA 核型与 ANA 谱结果汇总分析 974 例检测结果中 ANA 核型阳性 249 例(25.6%),LIA 阳性 237 例(24.3%),两种方法检测抗核抗体阳性率差异无统计学意义($P>0.05$)。IIF 与 LIA 单项或两项阳性 287 例(29.5%),与 IIF 阳性率和 LIA 阳性率相比差异有统计学意义($P<0.05$)。249 例 IIF 阳性病例中 50 例 LIA 法未检出 ANA,符合率 79.9%,725 例 IIF 阴性病例中有 38 例 LIA 阳性,符合率 94.8%,见表 1。

表 1 IIF 法与 LIA 法检测 ANA 结果分析

分组	<i>n</i>	LIA(+)	LIA(-)	符合率(%)
IIF(+)	249	199	50	79.9
IIF(-)	725	38	687	94.8

2.2 ANA 核型与 ANA 谱结果相关性分析 对 IIF 与 LIA 同时阳性的 199 例结果做对比分析,见表 2。各核型分布结果为:核均质型 18.1%、核颗粒型 39.2%、核仁型 11.1%、着丝点型 8.5%、胞浆颗粒型 20%。其中核均质型多为抗 dsDNA 抗体、抗组蛋白抗体、抗核小体抗体阳性,核颗粒型多为抗 SSA 抗体、抗 Ro-52 抗体、抗 SSB 抗体阳性,核仁型多为抗 Ro-52 抗体、抗 PM-Scl 抗体阳性,着丝点型常见抗 CENPB 抗体阳性,胞浆颗粒型常见抗 AMA-M2 抗体阳性。

现为相应的荧光核型和特征性抗体谱。

本文回顾性分析了 2013 年 1~12 月来本院就诊并同时检测 ANA 核型与 ANA 谱的患者 974 例,对比分析了 IIF 法与 LIA 法检测 ANA 的不一致性及相关性。数据显示 974 例标本中 IIF 阳性率 25.6%,LIA 阳性率 24.3%,两者阳性率差异无统计学意义($P>0.05$)。表 2 数据显示,一种荧光核型可表现为多种特异性抗核抗体阳性,而一种特异性抗核抗体可表现出几种荧光核型,不同 ANA 核型对应的特异性抗核抗体也不

同,主要与 ANA 的靶抗原在细胞中的部位有关,核均质型多为抗 dsDNA 抗体、抗组蛋白抗体、抗核小体抗体,核颗粒型多为抗 SSA 抗体、抗 Ro-52 抗体、抗 SSB 抗体,核仁型多为抗 Ro-52 抗体、抗 PM-Scl 抗体,着丝点型常见抗 CENPB 抗体,胞浆颗粒型常见抗 AMA-M2,进一步表明 IIF 与 LIA 有一定相关性。这与文献[6]报道基本一致。

IIF 与 LIA 检测结果并不完全一致,表 2 数据显示,249 例 IIF 阳性病例中 LIA 阴性 50 例,符合率 79.9%,与胡朝军等^[7]的研究一致,对于这种 IIF 阳性而 LIA 阴性的情况可能是方法不同所致,IIF 法玻片上包含的抗核抗原种类较多,而 LIA 法条带上只包被 15 种特异性抗核抗原,这可能是造成 IIF 阳性而 LIA 阴性的主要原因^[8]。而在 725 例 IIF 阴性病例中 LIA 阳性 38 例,符合率 94.8%,与胡朝军等^[7]的研究不一致,可能与病例组成有关,也可能是本院就诊病例 AID 患病率较低所致,关于病例组成与本文无关未做统计分析。这种 IIF 阴性但是 LIA 阳性的情况可能是由于 LIA 法的条带所包被的抗原纯度高特异性强,IIF 法检测所用的玻片基质中抗原分布不均匀、含量少或者固定方法对特定抗核抗原存在破坏的因素引起^[8-10],也可能是两种方法使用的抗原处理方法不同导致的。也有学者认为这种 IIF 阴性而 LIA 阳性的情况,尤其是系统性红斑狼疮(SLE)的患者,可能因为用过治疗药物或处于发病早期或者大量蛋白经尿排出^[11]。也有研究显示目前应用的 IIF 底物 Hep-2 会使部分 SLE 患者血清 ANA 呈阴性^[12]。分析表明两者联合检测的阳性率与只检测其中一种的阳性率相比差异具有统计学意义($P < 0.05$)。如果只用 IIF 或 LIA 一种方法检测,将导致一部分患者的漏检,两者联合检测将提高检出率。

综上所述,ANA 核型与 ANA 谱有一定相关性,但并不完全一致,IIF 法检测 ANA 核型具有检测 ANA 的全面性,LIA 法检测 ANA 谱具有检测的特异性,二者联合检测能避免漏检,提高检出率,对 AID 的诊断、鉴别诊断、疗效观察及预后判

断等具有重要意义。

参考文献

- [1] 宁小晓,王蕾.间接免疫荧光及免疫印迹法检测抗核抗体的回顾性分析[J].现代免疫学,2012,32(2):159-163.
- [2] 李艳,孙家祥,郭建飞.1725 例血清抗核抗体及抗核抗体谱检测结果分析[J].西部医学,2012,24(3):584-586.
- [3] 吴东海,王国春.临床风湿病学[M].北京:人民卫生出版社,2008.
- [4] Meroni PL,Schur PH. ANA screening:an old test with new recommendations[J]. Ann Rheum Dis,2010,69(8):1420-1422.
- [5] 李晔,孙艳艳.1000 例临床标本抗核抗体检测结果分析[J].国际检验医学杂志,2011,32(18):2072-2073.
- [6] 郭大文,张英辉,单娜,等.抗核抗体核型与条带免疫抗体谱相关性分析[J].中华实用诊断与治疗杂志,2012,26(6):560-562.
- [7] 胡朝军,李俊,张道强,等.间接免疫荧光法筛查抗核抗体与特异性抗体检测的相互关系[J].中华临床免疫和变态反应杂志,2011,5(3):179-185.
- [8] 朱蓉,孙明忠,居会祥,等.2771 例抗核抗体谱检测结果分析[J].检验医学与临床,2013,2(10):13-16.
- [9] Tanaka N,Muro Y,Sugiura K, et al. Anti-SS-A/Ro antibody determination by indirect immunofluorescence and comparison of different methods of anti-nuclear antibody screening:evaluation of the utility of HEp-2 cells transfected with the 60 kDa SS-A/Ro as a substrate[J]. Mod Rheumatol,2008,18(6):585-592.
- [10] Bossuyt X,Luyckx A. Antibodies to extractable nuclear antigens in antinuclear antibody-negative samples[J]. Clin Chem,2005,51(12):2426-2427.
- [11] 叶冬青.红斑狼疮[M].北京:人民卫生出版社,2006:263.
- [12] 孙家祥,李艳.652 例抗核抗体阴性病例的抗核抗体谱的检测分析[J].海南医学,2011,22(7):113-114.

(收稿日期:2014-03-20)

(上接第 2812 页)

还有待研究。而清蛋白水平在 4 个组患者间差异不大,ALB 不是反应急性肝细胞损伤的指标,而是常常用来反应肝脏合成功能的指标。此外,4 个组中 ELISA 法的 S/CO 值差异无统计学意义($P > 0.05$),但国内有报道显示 HCV-RNA 阳性率与 S/CO 值呈正相关,S/CO 值越高,HCV-RNA 阳性率越高^[8]。从以上数据分析可知,HCV 抗体检测是丙肝感染筛选实验,存在假阳性和漏检,HCV-RNA 检测能进一步证实 HCV 感染,且 RNA 病毒载量与反应肝细胞损伤酶谱相关,因此,HCV-RNA 病毒载量检测也是丙型肝炎治疗中疗效观察的一个重要指标。

综上所述,要做到尽早诊断丙型肝炎,减少漏诊率,要联合运用以上各实验室检测方法,综合分析,并且要不断改进丙型肝炎实验室检查方法,缩短“窗口期”,提高特异性和灵敏度。

参考文献

- [1] 中华医学会传染病与寄生虫病分会,肝病学会.病毒性肝炎防治方案[J].中华肝病杂志,2000,5(4):257-263.

- [2] 李明慧,邱国华,路遥,等.丙型肝炎实验室诊断研究进展[J].中华实验和临床病毒学杂志,2010,24(5):394-396.
- [3] 任芙蓉,庄辉.丙型肝炎病毒抗体酶联免疫试验 S/CO 比值与补充试验阳性的相关性研究进展[J].中华检验医学杂志,2005,28(2):1096-1099.
- [4] Kohji Moriishi,Yoshiharu Matsuura. Evaluation systems for anti HCV drugs[J]. Adv Drug Del Rev,2007,59(23):1213-1221.
- [5] 罗娜,张劲丰,苏荣. HCV-RNA 载量与抗 HCV 阳性率及 ALT 异常率的相关分析[J].现代预防医学,2012,39(13):3334-3335.
- [6] 陈馨.血清 HCV-RNA、抗 HCV 抗体及肝脏酶谱联合诊断治疗丙型肝炎的临床意义[J].国际检验医学杂志,2014,35(7):903-904.
- [7] 戚应杰,岳莉,朱义媛.丙型肝炎患者病毒载量与 ALT、AST 的相关性研究[J].国际检验医学杂志,2012,33(9):1134-1135.
- [8] 王茉莉,姜涛,潘煜,等. HCV 感染患者 436 例丙型肝炎病毒载量与抗-HCV 及 ALT 异常的关系[J].中国老年学杂志,2011,31(5):770-772.

(收稿日期:2014-05-12)