

• 论 著 •

## 297 例自身免疫性疾病 ANA 和抗 ENA 抗体联合检测分析

谭 婕

(湖北中医药大学附属湖北省中医院检验科,湖北武汉 430061)

**摘要:**目的 分析其中 ANA 表达阳性而抗 ENA 抗体表达阴性的样本的检验学特征及意义。方法 对 297 例样本运用间接免疫荧光法检测 ANA,生物芯片技术检测抗 ENA 抗体,并采用双盲法分析 ANA 阳性标本的荧光核型。从已知的 ANA 阳性患者血清中筛选其 ENA 表达均为阴性的患者血清,比对其荧光核型并进行分析。结果 297 例临床标本中,ANA 阳性标本数为 74 例,阳性率为 24.9%(74/297)。其主要核型为核浆颗粒型(43 例,58.1%)、胞浆颗粒型(9 例,12.2%)、核浆点型(9 例,12.2%)。在 74 例 ANA 阳性标本中,抗 ENA 抗体为阴性的标本数为 13 例,占阳性标本的 17.6%。13 例标本中有 11 例表现为核浆颗粒型,占 84.6%;1 例表现为胞浆颗粒型,占 7.7%;1 例表现为核浆点型,占 7.7%。结论 在 ANA 阳性同时抗 ENA 抗体表达为阴性的患者血清中,核浆颗粒型明显高于胞浆颗粒型与核浆点型在 ANA 标本中的阳性率,并且远大于核浆颗粒型在抗 ENA 抗体表现为阳性的 ANA 阳性标本中的比例(52.5%),差异有统计学意义( $\chi^2=5.018, P<0.05$ )。在抗 ENA 抗体表现为阴性的 ANA 阳性标本中,荧光核型表现为核浆颗粒型有其自身特有的临床意义有助于筛选发现抗 ENA 抗体以外的新自身抗体。

关键词:抗核抗体; 抗 ENA 抗体; 荧光核型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.041

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)12-1735-02

Analysis of the results of antinuclear antibody and anti-ENA antibodies for 297 patients of autoimmune diseases with IIF and biochip technology

Tan Jie

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan, Hubei 430061, China)

**Abstract:** **Objective** To analyze the clinical features and significance of the samples which the expression of ANA is positive and the expression of anti-ENA antibody is negative. **Methods** Detect ANA and anti-ENA antibody of all the 297 samples by indirect immunofluorescence method and biological chip technology, respectively. And analyze the fluorescence karyotype of ANA positive specimens with double-blind method. Screen the samples which anti-ENA antibody express negative from ANA positive samples. Compare and analyze the fluorescent karyotype. **Results** Of all the 297 samples, 74 cases were positive for ANA, the positive rate was 24.9% (74/297). The majority of patterns were speckled pattern (43 cases, 58.1%), cytoplasmic granular pattern (9 cases, 12.2%), and antibody to centromere antigen (9 cases, 12.2%), respectively. In 74 cases of ANA positive specimens, ENA antibody the negative rate of ENA antibody is 17.6% (13/74). Of the 13 cases, the most frequently occurred pattern was the speckled pattern (11 cases, 84.6%), the rate of cytoplasmic granular pattern and antibody to centromere antigen was 7.7% (1/13) respectively. **Conclusion** In the serum samples which express ANA positive and ENA antibody negative, the rate of speckled pattern is significantly higher than the other patterns, and far more than the rate of speckled pattern in the samples which express ENA antibody and ANA positive (52.5%) ( $\chi^2=5.018, P<0.05$ ), with statistical significance. We consider the speckled pattern samples be in favour of discovering new antibodies of this kind of serum sample.

**Key words:** antinuclear antibody; anti-extractable nuclear antigens antibody; fluorescent pattern

抗核抗体(ANA)是具有多种细胞核成分的自身抗体,是以真核细胞的核成分为靶抗原的自身抗体的总称,可用于多种自身免疫性疾病的筛查。随着分子免疫学的发展,抗可提取性核抗原(ENA)抗体的检测也已应用于临床<sup>[1]</sup>。本文对本科室开展此两项检测的 297 例检测结果进行回顾性分析,特别筛选出其中 ANA 表达阳性而 ENA 均表达阴性的患者血清样本,并针对其 ANA 的荧光核型进行检测及分析。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 297 例标本均来自本院 2014 年 4~7 月门诊就诊或住院且怀疑有自身免疫性疾病的患者,其中男 71 例,女

226 例,年龄 18~78 岁,平均 49 岁。

**1.2 ANA 检测方法** ANA 采用间接免疫荧光法进行检测,试剂盒来自于德国欧蒙(杭州)医学实验诊断有限公司。每个反应区同时有猴肝组织切片和 HEP-2 细胞。以 1:100 比例稀释血清,取 25  $\mu$ L 稀释好的样本加入生物载片温育 30 min,冲洗、PBS 缓冲液浸泡 5 min 后加入 20  $\mu$ L FITC 标记的抗人球蛋白抗体,再温育 30 min,冲洗、PBS 缓冲液浸泡 5 min 后,沥干封片后在荧光显微镜下观察。如果标本阳性,可观察到特异性荧光。如果 HEP-2 和猴肝细胞均无特异性荧光则判断 ANA 为阴性。荧光显微镜型号为 Leica DM2500。

**1.3 抗 ENA 抗体谱检测方法** 用欧蒙印迹法进行检测。试剂盒是由欧蒙医学实验诊断股份公司提供的抗核抗体谱(IgG)检测试剂盒。包被抗原的检测膜条上平行包被了 12 种高度纯化的抗原,包括有 nRNP、Sm、SS-A、Ro-52、SS-B、Scl-70、Jo-1、CENP B、ds-DNA、核小体、组蛋白、核糖体 P 蛋白。在第 1 次温育时,已稀释的血清(1:100 比例稀释)与检测膜条反应。如果样本阳性,特异性的 IgG(也包括 IgA 和 IgM)与相应抗原结合。为检测已结合的抗体,加入酶标抗人 IgG(酶结合物)进行第二次温育,然后加入酶底物,以产生可观察的颜色反应。将检测膜条放置在相应的工作纸上,进入 EUROLi-neScan 软件进行判读结果,实现对 12 项自身抗体的同步检测。实验操作严格按照使用说明书进行。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS17.0 统计学软件,计算各组 ANA 及抗 ENA 抗体为阴性的 ANA 阳性标本所占比例,根据 ANA 荧光核型进行分析,采用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 ANA 阳性标本的核型分析** 297 例临床标本中,ANA 阳性标本数为 74 例,阳性率达到 24.9%(74/297)。其核型包括核颗粒型(43 例,58.1%)、胞浆颗粒型(9 例,12.2%)、核浆点型(9 例,12.2%)、核均质型(5 例,6.8%)、核仁型(4 例,5.4%)、胞浆纤维型(3 例,4.0%)、核膜型(1 例,1.3%)。核型阳性率最高的是核浆颗粒型,其次是胞浆颗粒型及核浆点型等。

**表 1 抗 ENA 抗体阴性样本的 ANA 荧光核型的结果分析(n)**

荧光核型	ENA 阴性 样本数	ENA 阳性 样本数	总 ANA 阳性 样本数
核浆颗粒型	11	32	43
胞浆颗粒型	1	8	9
核浆点型	1	8	9
其他型	0	13	13
合计	13	61	74

**2.2 结合 ENA 的样本分析结果** 74 例 ANA 阳性标本中抗 ENA 抗体为阴性的标本所占比例及荧光核型相关分析见表 1。74 例 ANA 阳性标本中抗 ENA 抗体为阴性的标本数为 13 例,占阳性标本的比例为 17.6%。13 例标本中有 11 例表现为核浆颗粒型,占 84.6%;1 例表现为胞浆颗粒型,占 7.7%;1 例表现为核浆点型,占 7.7%,核浆颗粒型明显高于胞浆颗粒型与核浆点型在 ANA 标本中的阳性率。在抗 ENA 抗体表现为阴性的 ANA 阳性标本中,核浆颗粒型所占比例(84.6%)远大于核浆颗粒型在抗 ENA 抗体表现为阳性的 ANA 阳性标本中的比例(52.5%),差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.018, P < 0.05$ )。可见在抗 ENA 抗体表现为阴性的 ANA 阳性标本中,荧光核型表现为核浆颗粒型有其自身特有的临床意义,并非受核浆颗

粒型在 ANA 阳性标本中所占比例较高的影响。

**3 讨 论**

自身免疫疾病是指机体对自身抗原发生免疫反应而导致自身组织损害所引起的疾病。所以自身抗原的发现和鉴定成为诊断与治疗自身免疫类疾病必不可少的前提。目前对于发现新自身抗原的各种方法的主要原理是都是基于抗原抗体特异性反应,通过发现特异性抗体,再寻找抗体对应的抗原<sup>[2]</sup>。目前在临床运用检测手段较广泛的包括有 ANA 及抗 ENA 抗体检测,已有研究报道临床将 ANA 与抗 ENA 抗体联合检测帮助诊断,但发现 ANA 与抗 ENA 抗体之间虽有一定的关系,但同一种自身抗体可以出现不同的荧光模型,不同的自身抗体可以出现相同的荧光核型<sup>[3]</sup>。因此,许多相关资料上都提到 ANA 的荧光模型不足以提示患者的自身抗体类型。但笔者认为 ANA 作为一个以真核细胞的核成分为靶抗原的自身抗体的总称,之所以无法准确分析其荧光核型的特点,是因为它的覆盖面远大于目前临床使用的抗 ENA 抗体,部分未知的抗体影响了对于荧光核型的分析。针对抗 ENA 抗体表达为阴性的 ANA 阳性标本进行分析将更有利于发现新的自身抗体。在收集的 74 例的 ANA 阳性标本中发现有 13 例 ENA 抗体为全阴的标本,并将标本进行分组比对,发现抗 ENA 抗体表现为阴性的 ANA 阳性标本中,荧光核型表现为核浆颗粒型有其自身特有的临床意义。它无论是与同组的其他核型表达,还是和抗 ENA 抗体阳性组中的核浆颗粒型进行比对,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。这可能就是由于 ENA 以外的自身抗体的作用所导致的结果。研究者可以针对这一现象,筛选此类型的高滴度血清进一步检测分析,利用患者血清中的自身抗体捕捉自身抗原<sup>[4]</sup>,为自身免疫类疾病的早期诊断和及时治疗提供更

**参考文献**

[1] 李霞,梅冰,王昌富. 979 例自身免疫性疾病抗核抗体与抗 ENA 抗体联合检测的结果分析[J]. 分子诊断与治疗杂志,2009,1(3): 175-177.

[2] 袁吉钊,吴玉章. 类风湿关节炎自身抗原:磷酸丙糖异构酶的初步研究[J]. 实用临床医药杂志,2012,16(11):8-12.

[3] 王兰兰. 自身抗体检测的应用与质量保障原则[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(10):987-990.

[4] 刘惠,付蓉,邵宗鸿. 自身免疫性疾病自身抗原分离鉴定方法学研究进展[J]. 中华医学杂志,2009,89(48):3454-3456.

[5] 陆慧琦,李畅,叶伟民,等. ANA 和 ENA 检测在自身免疫性疾病中的应用评价[J]. 现代免疫学,2011,20(1):56-59.

[6] 刘璟,游进. 自身免疫性疾病患者 169 例 ANA 与 ENA 自身抗体检测分析[J]. 现代医药卫生,2013,32(16):2475-2476.

[7] 申静,黄博. ANA 检测在自身免疫性疾病中的应用评价[J]. 山西中医学院学报,2013,20(6):51-52.

(收稿日期:2015-02-21)