

# 化学发光法检测抗可提取核抗原抗体的临床应用研究

李 静<sup>1</sup>, 刘国娣<sup>2#</sup>, 王楷文<sup>3</sup>, 胡德宇<sup>4</sup>, 赵江峰<sup>3△</sup>

(1. 同济大学附属第一妇婴保健院检验科, 上海 201204; 2. 扬州市第二人民医院检验科, 江苏扬州 225007;  
3. 上海交通大学医学院附属仁济医院南院风湿科, 上海 201112; 4. 上海交通大学  
医学院附属国际和平妇幼保健院检验科, 上海 200030)

**摘要:**目的 研究全自动、全定量和随机上样的化学发光法(CLIA)在针对抗可提取核抗原抗体(anti-ENA)检测结果在结缔组织病(CTD)的临床诊断价值,为临床实验室检测 anti-ENA 的方法学选择提供参考。方法 同时利用 CLIA、免疫斑点法(ID)和多重流式免疫分析法(MFI)对 323 例 CTD 患者、123 例非结缔组织病组(Non-CTD)及 70 例健康对照组(NCs)开展针对抗核糖核蛋白/史密斯(RNP/Sm)抗体、抗史密斯(Sm)抗体、抗干燥综合征抗原 A(SSA/Ro60)抗体、抗干燥综合征抗原 B(SSB/La)抗体、抗组氨酰 tRNA 合成酶(Jo-1)抗体、抗硬皮病 70(Scl-70)抗体和抗核糖体 P 蛋白(Rib-P)抗体的平行检测;分析 CTD 患者各抗体与 ID 和 MFI 检测结果一致性。使用 ELISA 方法就比对不同方法学差异样本进行复测验证。结果 在 NCs 组中, CLIA 法检测 anti-ENA 的阳性检出率均低于 2%;在 Non-CTD 组中,各抗体阳性检出率均低于 10%。在 CTD 中, CLIA 分别与 ID 和 MFI 开展方法学比对分析。与 ID 相比,除抗 SS-A 抗体(71.21%)外,其他抗体一致性均大于 85%;与 MFI 相比,除抗 SSB 抗体(69.66%)和抗 Sm 抗体(73.07%)外,其他抗体一致性均大于 75%。针对抗 Sm 抗体,不同方法学差异样本进行 ELISA 方法学的重复验证,以其结果作为参考依据,再次开展一致性分析,总体一致性分别提升至 96.28%;CLIA 及 MFI 诊断效能分析中,抗 Sm 抗体的曲线下(AUC)面积分别为 0.516 3 及 0.814 9,抗 SSB 抗体 AUC 面积分别为 0.738 0 及 0.747 0。结论 与 ID 和 MFI 相比较,CLIA 在 NCs 中检测 anti-ENA 时具有最好的检测特异度,且与上述两种检测方法在 CTD 中的检测结果具有较好的一致性和符合率。由于不同检测方法在检测 anti-ENA 时灵敏度及特异度均存在一定差异,未来实验室方法学的选择时,应结合样本的临床诊断信息及方法学的具体特点(包括自动化程度、检测线性范围、样本随机上样和检测项目灵活组合)等方面综合判断。

**关键词:**化学发光法; 抗可提取核抗原抗体; 免疫斑点法; 多重流式免疫分析法; 酶联免疫吸附法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.19.018

中图法分类号:R446.6

文章编号:1673-4130(2018)19-2402-06

文献标识码:A

## The clinical evaluation of chemiluminescent immunoassay in detection of anti-extractable nuclear antigen antibodies

LI Jing<sup>1</sup>, LIU Guodi<sup>2#</sup>, WANG Kaiwen<sup>3</sup>, HU Deyu<sup>4</sup>, ZHAO Jiangfeng<sup>3△</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Shanghai First Maternal and Infant Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 201204, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Second People's Hospital of Yangzhou, Yangzhou, Jiangsu 225007, China; 3. Department of Rheumatology, Renji Hospital South Campus, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 201112, China; 4. Department of Clinical Laboratory, International Peace Maternity and Child Health Hospital, Shanghai Jiaotong University, School of Medicine, Shanghai 200030, China)

**Abstract: Objective** To evaluate the clinical performance of an automated, quantitative and random-accessed Chemiluminescent Immunoassay (CLIA) on testing of anti-extractable nuclear antigen antibody (anti-ENA). **Methods** Sera from patients who suffered from connective tissue disease (CTD,  $n=323$ ) and diseases other than CTD (Non-CTD,  $n=123$ ) together with sera from normal controls (NCs,  $n=70$ ) were collected and tested with CLIA, Immuno-Dot (ID) and Multiplex Flow Immunoassay (MFI) in parallel for antibodies to ribonucleoprotein/smith antigen (RNP/Sm), smith antigen (Sm), SSA/Ro60, SSB/La, Scl-70, Jo-1 and ribo-

作者简介:李静,女,技师,主要从事免疫检验研究。 # 共同第一作者。 △ 通信作者, E-mail: 13916368919@139.com。

本文引用格式:李静,刘国娣,王楷文,等.化学发光法检测抗可提取核抗原抗体的临床应用研究[J].国际检验医学杂志,2018,39(19):2402-2407.

some P protein(Rib-P). The qualitative agreement between CLIA and other two assays were analyzed separately. Discrepant samples between CLIA and other two assays were retested with Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). **Results** The positive rate for each antibody tested by CLIA in PEI and Non-CTD were lower than 5% and 10% respectively. In CTD cohort, the total agreement between CLIA and ID for each antibody was higher than 85.0% except anti-SSA/Ro60 (71.21%), while the total agreement between CLIA and MFI was greater than 75.0% with the exception of anti-SSB(69.66%) and anti-Sm(73.07%). After all discrepant samples between CLIA and ID were confirmed by ELISA, the total agreement for anti-SSA/Ro60 were raised to 96.28%. The diagnostic efficacy analysis in CLIA and MFI, the AUC area of anti SM antibody was 0.516 3 and 0.814 9, respectively, and the AUC area of anti SSB antibody AUC was 0.738 0 and 0.747 0 respectively. **Conclusion** CLIA shows the best specificity in PEI cohort together with a comparable total agreement in CTD cohort, when comparing with ID and MFI for the detecting of anti-ENA. Since different assays may yield different sensitivity and specificity, it is strongly recommended for a laboratory to perform a comprehensive comparison based on clinical information and assay features (including automation, quantitative output and random-access), when choosing a method for the detection of anti-ENA.

**Key words:** chemiluminescent immunoassay; anti-extractable nuclear antigen antibody; immuno-dot; multiplex flow immunoassay; enzyme linked immunosorbent assay

抗可提取核抗原抗体对于诊断结缔组织病(CTD),如系统性红斑狼疮(SLE)、混合性结缔组织病(MCTD)、干燥综合征(SS)及多肌炎(PM)、皮肌炎(DM)等有较高的临床诊断价值<sup>[1]</sup>。然而,这些抗体在健康老年人群及肝病、传染性疾病等非自身免疫性疾病中亦可出现<sup>[2]</sup>。我国现有针对抗可提取核抗原抗体(anti-ENA)检测方法,仍以定性检测为主,其优势在于可大范围开展,无需特定仪器设备,但手工操作方法操作繁琐,无法实现更加完善的实验质控,且实验结果人为判定,势必会带来各实验室之间判读结果的不一致。在自身抗体检测技术日益发展的今天,单纯定性的检测结果已经不能满足临床需求,新的定量检测技术层出不穷<sup>[3]</sup>。目前,化学发光法(CLIA)及多重流式免疫分析法(MFI)已经逐步开始应用在自身检测领域。这两种方法为临床针对 anti-ENA 开展全自动、高通量、快速和定量的检测提供了良好的途径和解决方案,且配备较为完善的试剂校准及质控。与之前一系列手工法相比,不仅很大程度上减轻检验工作人员的劳动强度,同时还全面提升了临床实验室针对自身抗体检测的质量控制水平。本文旨在比较 CLIA 这种全自动、全定量和随机上样等显著特点的检测方法与传统手工免疫斑点法(ID)及 MFI 在检测 anti-ENA 时的一致性,从而探讨其临床实际应用价值,为临床实验室在 anti-ENA 检测方法学的选择提供必要的参考。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 本研究收集从 2016 年 1 月至今,在上海交通大学医学院附属仁济医院南院风湿科就诊且住院治疗的 CTD 患者血清样本共计 323 例。其中, SLE 患者 183 例(SLE 组),平均年龄为(44.9 ±

16.7)岁,女性患者比例为 99%; MCTD 患者 11 例(MCTD 组),平均年龄为(34.9 ± 13.8)岁,女性患者比例为 77%; PM/DM 患者 37 例,平均年龄为(54.9 ± 20.9)岁,女性患者比例为 62%; SS 患者 50 例(SS 组),平均年龄为(35.3 ± 18.1)岁,女性患者比例为 58%; SSc 患者 7 例(SSc 组),平均年龄为(45.7 ± 18.2)岁,女性患者比例为 71%; RA 患者 35 例(RA 组),平均年龄为(49.4 ± 21.4)岁,女性患者比例为 89%。所有入组样本的临床诊断均符合 2009 年美国风湿病协会(ACR)诊断标准<sup>[4]</sup>。健康对照组则选取 2016 年 1 月至今到同济大学附属第一妇婴保健院健康体检人员,共 70 例。Non-CTD 对照组明确诊断为非风湿类疾病的其他系统疾病患者,同时排除艾滋病、肿瘤、结核、自身免疫性肝病及使用免疫抑制剂的患者,共 123 例。

**1.2 仪器与试剂** CLIA 自身抗体检测系统,包括全自动化学发光分析仪(LumiRay 1260)及配套 anti-ENA 检测试剂由苏州浩欧博生物医药有限公司生产。Anti-ENA 检测项目包括抗核 RNP 抗体、Sm 抗体、抗 SSA/Ro60 抗体、抗 SSB/La 抗体、抗 Jo-1 抗体、抗 Scl-70 抗体和抗 Rib-P 抗体等 7 种常见抗体。ID 自身抗体检测试剂盒购于德国欧蒙医学诊断股份公司。MPI 自身抗体检测系统,包括全自动 Bio-Plex 2200 及配套 ANA Screen 11 项试剂盒均由美国伯乐(Bio-Rad)生产。不同方法间的差异样本采用 ELISA 检测试剂盒(德国欧蒙医学诊断股份公司)进行复测验证。SUNRISE 酶标仪由瑞士 TECAN 公司生产。

## 1.3 方法

**1.3.1 血清收集** 无菌促凝采血管采血 3 mL,静置 1 h 后,4 °C,4 000 r/min,离心 5 min(Thermo USA),

将血清收集至 1.5 mL EP 管中,放置 -80 °C 备用。

**1.3.2 全自动 CLIA 靶抗原/抗体检测** 抗 RNP/Sm、Sm、SSA/Ro60、SSB/La、Scl-70、Jo-1 和 Rib-P 抗体检测试剂(购于苏州浩欧博生物医药有限公司)均严格按照产品说明书步骤进行操作,所有检测均在配套的全自动化学发光分析仪(LumiRay 1260)上检测。所有抗体的检测临界值均为 20 RU/mL。

**1.3.3 ID 自身抗体检测** 采用 ID 检测试剂盒对抗 RNP、Sm、SSA/Ro60、SSB/La、Scl-70、Jo-1 和 Rib-P 抗体开展多项联检。血清样本 1 : 101 稀释,在反应孔中加入 50 μL,室温反应 30 min,洗涤浸泡 15 min 后,每反应孔加入 50 μL 酶标记的抗人 IgG 抗体,室温反应 30 min,再次洗涤浸泡 15 min,每反应孔加入 50 μL 底物液,室温反应 10 min,用蒸馏水清洗 3 次终止反应。待反应膜条充分晾干后,通过肉眼开展人工判读,当抗原包被区域出现着色均匀和清晰可见的颜色反应时,结果判为阳性。

**1.3.4 MFI 自身抗体检测** 采用全自动 Bio-Plex 2200 对对抗 RNP、Sm、SSA/Ro60、SSB/La、Scl-70、Jo-1 和 Rib-P 抗体开展多项联检。检测原理为在探测器模块中检测磁珠荧光时以接受两个激光器(638 nm 激光及 532 nm 激光)的检测。一个激光器激发的信号用于检测磁珠分类(特定的分析物磁珠或质控磁珠),另一激光器激发的信号用于检测报告荧光(样本反应性)。检测中使用原厂提供的有效期内的校准品及质控品。检测方法严格按照制造商说明书进行。

所有抗体的检测临界值均为 1AI。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS21.0 软件进行统计学分析。不同方法检测结果的比较,采用四格表的  $\chi^2$  检验,两种方法检测结果一致性的分析采用 Kappa 检验,一致性强度的判断:当  $Kappa < 0.40$ ,一致性强度较差;  $0.40 \leq Kappa < 0.75$ ,一致性一般;  $Kappa \geq 0.75$ ,一致性良好。CLIA 与 ID 两种方法分别比较的差异样本经 ELISA 复测的结果后,再开展一致性分析。ROC 曲线计算各类方法测定的特异度及敏感性。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 CLIA 针对 anti-ENA 在不同样本组中的抗体检出率分析** 在健康人群中,除抗 SSA/Ro60 抗体检出率为 1.42% 外,余抗体均为阴性;在 Non-CTD 组中,各抗体阳性率均小于 10%;在各类 CTD 中,各抗体的检出率见表 1。

**2.2 CLIA 与 ID 方法的符合率分析** 同时应用 CLIA 和 ID 对 323 例 CTD 样本开展平行检测,并分别比较 CLIA 与 ID 在检测 anti-ENA 时的一致性。结果显示:CLIA 法与 ID 比较时,除抗 SSA/Ro60 抗体的总符合率为 71.21%,其余抗体的总符合率均高于 85% 以上。见表 2。

**2.3 CLIA 与 MFI 方法的符合率分析** 定量法比较中,抗 SSB 抗体及抗 Sm 抗体在阳性一致性分别为 35.46%、29.46%;两种抗体总体一致性分别为 69.66%、73.07%。见表 3。

表 1 HOB- CLIA 检测 anti-ENA 在不同样本组中的阳性率分析 (%)

组别	n	Jo-1	RNP/Sm	Rib-P	SSA/Ro60	SSB	Sm	Scl-70
健康对照组	70	0.00	0.00	0.00	1.42	0.00	0.00	0.00
Non-CTD 对照组	123	0.81	3.25	3.25	8.01	4.88	1.62	0.00
SLE 组	183	0.54	44.80	28.41	69.95	14.75	21.31	0.55
PM/DM 组	37	10.81	5.41	0.00	29.73	10.81	0.00	0.00
SS 组	50	0.00	4.00	0.00	82.00	48.00	0.00	0.00
MCTD 组	11	0.00	90.90	0.00	45.45	0.00	0.00	0.00
SSc 组	7	0.00	28.57	0.00	57.14	0.00	0.00	57.14
RA 组	35	0.00	5.71	0.00	34.29	5.71	2.86	0.00

表 2 CLIA 与 ID 检测 anti-ENA 的一致性分析

样本例数	ID		阴性符合率 (%)	阳性符合率 (%)	总符合率 (%)	Kappa	P
	阴性(n)	阳性(n)					
<b>CLIA-Ribo-P</b>							
阴性	255	11	87.33	64.52	85.14	0.377	<0.01
阳性	37	20					
<b>CLIA-SSA/Ro60</b>							
阴性	80	58	69.57	72.12	71.21	0.399	<0.01
阳性	35	150					

续表 2 CLIA 与 ID 检测 anti-ENA 的一致性分析

样本例数	ID		阴性符合率(%)	阳性符合率(%)	总符合率(%)	Kappa	P
	阴性(n)	阳性(n)					
CLIA-SSB/La							
阴性	254	12	93.38	69.64	90.71	0.667	<0.01
阳性	18	39					
CLIA-Sm							
阴性	281	3	92.13	83.33	91.64	0.487	<0.01
阳性	24	15					
CLIA-RNP/Sm							
阴性	210	12	91.30	87.10	90.09	0.764	<0.01
阳性	20	81					
CLIA-Scl-70							
阴性	319	1	100.00	75.00	99.69	0.856	<0.01
阳性	0	3					
CLIA-Jo-1							
阴性	318	0	100.00	100.00	100.00	1.000	<0.01
阳性	0	5					

**2.4 CLIA 与 MFI 诊断效能验证** 定量法比较中,分别进行了 Bio-Plex MFI 与 HOB-CLIA 在抗 Sm 抗体诊断 SLE、抗 SSB 抗体诊断 SS 的效能分析,结果显示,在 SLE 中,抗 Sm 抗体使用 HOB-CLIA 诊断灵敏度为 41.00%,特异度为 69.90%,Bio-Plex MFI 灵敏度为 67.80%,特异度为 94.00%,AUC 面积分别为 0.516 3 及 0.814 9;在 SS 中,抗 SSB 抗体使用 HOB-

CLIA 诊断灵敏度为 57.10%,特异度为 84.40%,Bio-Plex MFI 灵敏度为 58.00%,特异度为 91.80%,AUC 面积分别为 0.738 0 及 0.747 0。结果见图 1、2。可见,针对 SLE 患者抗 Sm 抗体,Bio-Plex MFI 在诊断灵敏度及特异度方面均优于 HOB-CLIA;SS 患者中的抗 SSB 抗体检测效能,两种方法表现相当。

表 3 CLIA 与 MFI 检测 anti-ENA 的一致性分析

样本例数	MFI		阴性符合率(%)	阳性符合率(%)	总符合率(%)	Kappa	P
	阴性(n)	阳性(n)					
CLIA-Rib-P							
阴性	246	19	92.83	67.24	88.24	0.601	<0.01
阳性	19	39					
CLIA-SSA/Ro60							
阴性	100	22	79.37	88.83	85.14	0.685	<0.01
阳性	26	175					
CLIA-SSB/La							
阴性	175	91	96.15	35.46	69.66	0.339	<0.01
阳性	7	50					
CLIA-Sm							
阴性	203	79	96.21	29.46	73.03	0.302	<0.01
阳性	8	33					
CLIA-RNP/Sm							
阴性	171	54	92.43	60.87	78.95	0.553	<0.01
阳性	14	84					
CLIA-Scl-70							
阴性	318	0	100.00	100.00	100.00	1.000	<0.01
阳性	0	5					
CLIA-Jo-1							
阴性	318	0	100.00	100.00	100.00	1.000	<0.01
阳性	0	5					

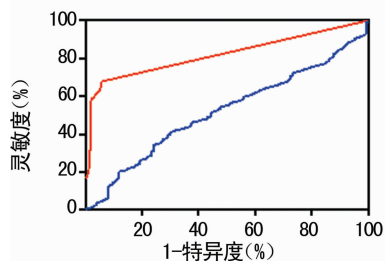


图 1 抗 Sm 抗体 ROC 曲线分析

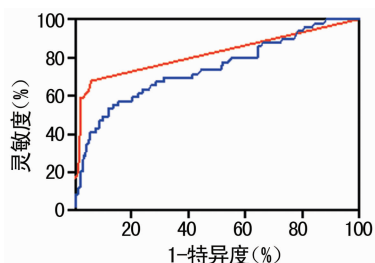


图 2 抗 SSB 抗体 ROC 曲线分析

### 3 讨论

CTD 患者针对自体多种核靶抗原产生大量的自身抗体。目前市场上仍大范围使用 ID 和免疫印迹法 (LIA) 膜等上世纪七十年代的技术开展 anti-ENA 检测<sup>[5]</sup>。上述方法不仅手工做法繁琐,且实验结果为定性,人为因素影响较大。ELISA 方法作为国际认为较为可靠的 anti-ENA 定量检测方法,具有较好的特异度<sup>[6-7]</sup>,但其同样存在检测线性范围有限、严格样本批处理及重复性较低等现实问题。目前,越来越多的免疫学检测技术和方法逐步运用到 anti-ENA 的临床检测实践中,例如 MFI 技术可一次同时实现 anti-ENA 的多项联检,这不仅大大缩短了检测时间,且该仪器可实现自动化、高通量,无疑是在通过对 Hep-2 细胞进行间接免疫荧光筛查后,实施进一步鉴定特异度自身抗体较为快捷的检测方法之一<sup>[8-9]</sup>。但从检测原理分析,由于 MFI 采用多项联检的方式针对多种不同抗体同时检测,因此很难能够确保在同样的二抗且均一的反应时间和条件下,实现每个抗原抗体的最优反应。而且由于不同抗原和抗体以液相的方式存在整个反应体系中,交叉反应或相互干扰发生的概率大大提高。CLIA 作为目前临床免疫检测的主流技术,已经逐步开始应用到自身抗体检测领域。该方法学具有全自动、全定量、随机上样、灵活组合及检测线性范围更宽等优点。借助该方法学可实现针对多种自身抗体的独立检测、单独定量和分别质控,因此更加适合对于已知抗体的定量检测和复查随访。本研究应用 CLIA、ID 和 MFI 等 3 种方法学同时对临床样本开展平行检测,除了研究 CLIA 检测 anti-ENA 在各类结缔组织病的临床应用价值外,还同时比较 CLIA 与 ID 和 MFI 等方法学的检测一致性。

研究结果显示,在健康人群中,CLIA 检测各抗

体阳性检出率均小于 5.00%;在 SLE 患者组中,抗 Rib-P 抗体及抗 Sm 抗体阳性检出率分别为 28.41%、21.31%,与 ACR 研究报道针对 SLE 患者抗 Rib-P 抗体(15%~30%)及抗 Sm 抗体(20%~40%)的阳性检出率基本一致<sup>[10-11]</sup>;在 SS 患者组内,CLIA 检测抗 SSA/Ro60 抗体阳性率为 82.00%,抗 SSB 抗体阳性率为 48%;在 MCTD 组中,抗 RNP/Sm 抗体检出阳性率为 90.90%;在 SSc 组中,抗 scl-70 抗体阳性率为 57.14%。这些抗体的检出率与 DESPLAT-JEGO 等<sup>[12]</sup>及 KAVANAUGH 等<sup>[13]</sup>的研究结果基本一致。

在与 MFI 比较中,抗 SSB 抗体及抗 Sm 抗体在阳性一致性均小于 40%,同样针对这两种抗体,使用 ROC 曲线进行抗体的诊断性能验证。在 SLE 中,抗 Sm 抗体使用 HOB-CLIA 诊断灵敏度为 41.00%,特异度为 69.90%,Bio-Plex MFI 灵敏度为 67.80%,特异度为 94.00%,AUC 面积分别为 0.516 3 及 0.814 9;在 SS 中,抗 SSB 抗体使用 HOB-CLIA 诊断灵敏度为 57.10%,特异度为 84.40%,Bio-Plex MFI 灵敏度为 58.00%,特异度为 91.80%,AUC 面积分别为 0.738 0 及 0.747 0。可以看出:MFI 与 CLIA 在检测抗 SSB 抗体效能上,表现相当;CLIA 在抗 Sm 抗体的诊断效能上略显不足。HOB-CLIA 作为我国自主研发的,针对自身抗体检测的新方法,与进口同类定性及定量产品性能相比,均具有较高的一致性。CLIA 检测结果的稳定性及重复性验证,本课题组将继续收集大量临床样本,展开后续研究。

### 4 结论

目前针对 anti-ENA 检测仍然缺乏标准方法,各厂家、各种方法学之间的检测结果无法实现标准化,如何使其规范化,势必会成为自身抗体检测领域中的重中之重。随着临床疾病表现的愈发复杂,定性的检测方法已无法满足临床需求,定量检测无疑会成为未来发展的趋势。此法不仅能对实验结果做出准确判读,更易实现自动化、高通量检测。但如何针对特定人群检测结果做出准确解读,不仅需要大量实验数据积累,针对不同方法学设置最适 cut-off 值,同时也需要实验室与临床及时沟通,才可能将自身抗体检测推上一个新台阶。

### 参考文献

[1] BIZZARO N, WIJK A. Appropriateness in anti-nuclear antibody testing: from clinical request to strategic laboratory practice [J]. Clin Exp Rheumatol, 2004, 22(3): 349-355.  
 [2] 王伯云. 国人疾病和正常人抗核抗体(ANA)的阳性率-3, 884 人次 ANA 检查结果[J]. 第四军医大学学报, 1981, 6(2): 135-140.  
 [3] WILLITZKI A, HIEMANN R, PETERS V, et al. New

- platform technology for comprehensive serological diagnostics of autoimmune diseases[J]. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012(2):284740.
- [4] MICHELLE P, ANA-MARIA O, GRACIELA S, et al. Derivation and validation of the systemic lupus international collaborating clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(8):2677-2686.
- [5] BRIDGES A J, LORDEN T E, HAVIGHURST T C. Autoantibody testing for connective tissue diseases. Comparison of immunodiffusion, immunoblot, and enzyme immunoassay[J]. *Am J Clin Pathol*, 1997, 108(4):406-410.
- [6] STRUCKMANN J, MANTHORPE R, BENDIXEN G. Anti-ENA antibody in serum determined by ELISA-technique. Description of method and recommended procedure [J]. *Allergy*, 1981, 36(6):397-403.
- [7] ULVESTAD E. Performance characteristics and clinical utility of a hybrid ELISA for detection of ANA[J]. *APMIS*, 2001, 109(3):217-222.
- [8] SOLOMON D H, KAVANAUGH A J, SCHUR P H. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear antibody testing [J]. *Arthritis Rheum*, 2002, 47(4):434-444.
- [9] HANLY J G, THOMPSON K, MCCURDY G, et al. Measurement of autoantibodies using multiplex methodology in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *J Immunol Methods*, 2010, 352(1/2):147-152.
- [10] DAMOISEAUX J G, TERVAERT J W. From ANA to ENA; how to proceed? [J]. *Autoimmun Rev*, 2006, 5(1):10-17.
- [11] ALBON S, BUNN C, SWANA G, et al. Performance of a multiplex assay compared to enzyme and precipitation methods for anti-ENA testing in systemic lupus and systemic sclerosis [J]. *J Immunol Methods*, 2011, 365(1/2):126-131.
- [12] DESPLAT-JEGO S, BARDIN N, LARIDA B, et al. Evaluation of the BioPlex 2200 ANA screen for the detection of antinuclear antibodies and comparison with conventional methods [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007(1109):245-255.
- [13] KAVANAUGH A, TOMAR R, REVEILLE J, et al. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2000, 124(1):71-81.

(收稿日期:2018-01-22 修回日期:2018-04-21)

(上接第 2401 页)

- [6] LIU Y M, ZHANG F Y, ZHANG Z B, et al. High expression levels of Cyr61 and VEGF are associated with poor prognosis in osteosarcoma[J]. *Pathol Res Pract*, 2017, 213(8):895-899.
- [7] WINKELS R M, HEINE-BRÖRING R C, VAN ZUTPHEN M, et al. The COLON study: Colorectal cancer: Longitudinal, Observational study on Nutritional and lifestyle factors that May influence colorectal tumour recurrence, survival and quality of Life[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14(1):374.
- [8] PUERTA-GARCIA E, CANADAS-GARRE M, ANGEL CALLEJA-HERNANDEZ M. Molecular biomarkers in colorectal carcinoma [J]. *Pharmacogenomics*, 2015, 16(10):1189-1221.
- [9] WU P, MA G, ZHU X, et al. Cyr61/CCN1 is involved in the pathogenesis of psoriasis vulgaris via promoting IL-8 production by keratinocytes in a JNK/NF-kappaB pathway[J]. *Clin Immunol*, 2017, 174(1):53-62.
- [10] SANO M, DRISCOLL D R, DEJESUS-MONGE W E, et al. Activation of WNT/beta-Catenin Signaling Enhances Pancreatic Cancer Development and the Malignant Potential Via Up-regulation of Cyr61 [J]. *Neoplasia*, 2016, 18(12):785-794.
- [11] LADWA R, PRINGLE H, KUMAR R, et al. Expression of CTGF and Cyr61 in colorectal cancer [J]. *J Clin Pathol*, 2011, 64(1):58-64.
- [12] 宫艺, 刘明华, 徐灿, 等. 结直肠癌发展中 Cyr61、VEGF 的表达及其临床病理意义[J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2015, 24(7):786-789.
- [13] WANG Y, WANG M C. Prognostic significance of expression of cysteine-rich 61 and cyclooxygenase-2 in gastric cancer[J]. *BMC Gastroenterol*, 2016, 16(1):74.
- [14] LI Z Q, DING W, SUN S J, et al. Cyr61/CCN1 is regulated by Wnt/beta-Catenin signaling and plays an important role in the progression of hepatocellular carcinoma[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4):e35754.
- [15] SHI W D, ZHANG C Y, CHEN Z, et al. Cyr61-positive cancer stem-like cells enhances distal metastases of pancreatic cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(45):73160-73170.
- [16] SONG Y F, XU Z B, ZHU X J, et al. Serum Cyr61 as a potential biomarker for diagnosis of colorectal cancer[J]. *Clin Transl Oncol*, 2017, 19(4):519-524.
- [17] JEONG D, HEO S, SUNG AHN T, et al. Cyr61 expression is associated with prognosis in patients with colorectal cancer[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14(1):164.

(收稿日期:2018-02-20 修回日期:2018-05-18)