

液相芯片系统在检测抗核抗体谱中的应用*

张程, 吴姗姗, 吕丹

(辽宁中医药大学附属医院检验科, 辽宁沈阳 110032)

摘要:目的 探讨抗核抗体谱联合检测在液相芯片检测系统中的性能, 提高自身免疫性疾病的诊疗效果。方法 收集已确诊为自身免疫性疾病患者血样 120 例(病例组), 体检正常血清 90 例(健康对照组), 分别以线性免疫印迹法(LIA 法)和液相芯片系统联合检测抗 Ro52、抗 SSA、抗 SSB、抗 Sm、抗 RNP、抗 Scl-70、抗 Jo-1、抗 Rib、抗 His、抗 PCNA、抗 CB、抗 PM、抗 M2、抗 NUC、抗双链 DNA 抗体 15 种自身抗体, 评估其灵敏度、特异度和交叉反应。结果 健康对照组与病例组患者总体阳性率比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。液相芯片系统与 LIA 法对 15 种自身抗体的检测结果具有良好的一致性($P < 0.05$), 但灵敏度优于 LIA 法。抗体在液相芯片系统中无交叉反应。结论 液相芯片系统对抗核抗体联合检测具有良好的性能, 其对抗核抗体谱的检测具有较好的灵敏度和特异度。

关键词: 芯片分析技术; 免疫测定; 抗体, 抗核; 自身免疫疾病

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.01.019

中图法分类号: R446.61; R593.2

文章编号: 1673-4130(2019)01-0071-03

文献标识码: A

Application of AtheNA-Lyte system in the detection of antinuclear antibodies*

ZHANG Cheng, WU Shanshan, LV Dan

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, Liaoning 130021, China)

Abstract: Objective In order to screen and detect the autoimmune disease, a multiplexed liquichip assay for combined ANAs was evaluated. **Methods** 210 serum samples were tested utilizing the AtheNA system and LIA method: 120 samples from patients with autoimmune disease (case group), 90 samples from healthy donors (healthy control group). The antinuclear autoantibodies to 15 different analytes (Ro52, SSA, SSB, Sm, RNP, Scl-70, Jo-1, Rib, His, PCNA, CB, PM, M2, NUC, dsDNA) were tested. Sensitivity, specificity, cross-reactivity and application were identified by AtheNA system. **Results** There were no significant difference in the antinuclear antibodies positive rate between two groups ($P > 0.05$). Antinuclear autoantibodies screening by AtheNA system revealed high concordance with the LIA in samples without cross-reactivity ($P < 0.05$). **Conclusion** The AtheNA system showed sensitivity and specificity for simultaneous quantitative detection of combined antinuclear antibodies.

Key words: microchip analytical procedures; immunoassay; antibodies, antinuclear; autoimmune diseases

抗核抗体是以真核细胞核内的 DNA、RNA、蛋白或这些物质的分子复合物产生的自身抗体。按其核内各个分子的性能不同可将各抗核抗体区分开来, 如抗双链 DNA 抗体(dsDNA)、抗组蛋白抗体、抗核仁抗体等。目前, 抗核抗体靶抗原的分布已由传统的细胞核成分扩散至整个细胞, 细胞质、细胞膜等结构均可成为自身免疫系统的目标抗原, 无器官特异度和种属特异度^[1]。抗核抗体可特征性地出现在自身免疫性疾病中, 对疾病的活动性及预后、治疗反应均具有一定的临床意义^[2]。现有的检测自身免疫性疾病的

方法主要有间接免疫荧光法(IFA)、线性免疫印迹法(LIA)等^[3], 而这些方法存在需要血清量大、费时费力等缺点^[4]。近年来, 液相芯片技术已得到广泛应用, 包括对可提取核抗体的检测均得到了认可^[5]。该法提供了一种快速而灵敏的技术手段, 通过对单一微球表面进行多种抗原的包被而实现相应抗体的同时检测, 达到快速、灵敏的目的^[2]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院收治的已确诊为自身免疫性疾病患者 120 例, 其中男 45 例, 女 75 例。选择健

* 基金项目: 辽宁省自然科学基金指导计划项目(20170540595)。

作者简介: 张程, 女, 主管技师, 主要从事自身免疫学分子生物方向的研究。△ 通信作者, E-mail: cecillia-85414@163.com。

本文引用格式: 张程, 吴姗姗, 吕丹. 液相芯片系统在检测抗核抗体谱中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(1): 71-73.

康对照组血清 90 例。研究对象均已签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 AtheNA Multi-Lyte 自身抗体检测试剂盒由美国宙斯公司提供。

1.3 检测方法 液相芯片(AtheNA 法)可半定量检测的抗体包括 Ro52、SSA、SSB 等 15 种。比对方法包括 IFA 法和 LIA 法。3 种检测方法均严格按试剂盒说明书要求进行操作。IFA 法以任一核型滴度 >1 : 100 为阳性标准, LIA 法和 AtheNA 法以检测抗核抗体谱中任一种抗体阳性为阳性标准。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件对数据进行学分析, 计数资料以率(%)表示, 采用 χ^2 检验; 采用 kappa 一致性检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 种检测方法阳性率比较 病例组 AtheNA 法、IFA 法和 LIA 法检测阳性率分别为 61.7%、71.7%和 50.8%; 健康对照组分别为 6.7%、5.6%和 5.6%, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 AtheNA 法与 LIA 法检测 15 种抗体结果比

较 除抗 dsDNA 抗体外, AtheNA 法总符合率超过 85.0%。2 种检测方法检测抗 dsDNA 抗体具有高度一致性, 其他 14 种抗体检测结果一致性极佳。表明 AtheNA 法具有较高的灵敏度。见表 2。

表 1 3 种检测方法阳性率比较[n(%)]

组别	n	AtheNA 法	IFA 法	LIA 法	χ^2	P
病例组	120	74(61.7)	86(71.7)	61(50.8)	3.25	0.652
健康对照组	90	6(6.7)	5(5.6)	5(5.6)	1.76	0.895

2.3 交叉反应验证及标准曲线 1 种微球仅针对其待测抗原发出高强度荧光, 导致该种抗原只与其对应的抗体结合而并不与其他蛋白标志物结合, 因此, 抗体之间无交叉反应存在。由于目前缺乏抗核抗体谱抗体的国际校准品, 所以无法通过联合检测的标准曲线去溯源, 但 AtheNA 法可通过携带抗体的微球数来半定量反应抗体水平, 而 LIA 法无法实现, 所以, 与 LIA 法比较, AtheNA 法能实现半定量检测, 提高灵敏度, 满足临床检测需求。

表 2 AtheNA 法与 LIA 法检测 15 种抗体结果比较

抗体	AtheNA 法	LIA 法(n)		灵敏度(%)	特异度(%)	总符合率(%)	一致性分析																																																																																																																																																																			
		阳性	阴性				kappa	P																																																																																																																																																																		
抗 SSA	阴性	3	62	97.8	83.8	92.9	0.84	0.00																																																																																																																																																																		
	阳性	133	12						抗 SSB	阴性	5	72	95.8	80.0	89.0	0.78	0.00	阳性	115	18	抗 Sm	阴性	10	101	89.5	87.8	88.6	0.78	0.00	阳性	85	14	抗 RNP	阴性	4	105	96.0	95.5	95.7	0.91	0.00	阳性	96	5	抗 Scl-70	阴性	3	145	93.3	87.9	89.0	0.79	0.00	阳性	42	20	抗 Rib	阴性	3	142	94.8	93.4	93.8	0.85	0.00	阳性	55	10	抗 His	阴性	2	186	90.9	93.9	93.6	0.79	0.00	阳性	20	12	抗 PCNA	阴性	1	188	91.7	94.9	94.8	0.78	0.00	阳性	11	10	抗 CB	阴性	3	141	94.5	91.0	91.9	0.80	0.00	阳性	52	14	抗 PM	阴性	0	179	100.0	96.8	97.1	0.88	0.00	阳性	25	6	抗 M2	阴性	3	161	92.7	95.3	94.8	0.84	0.00	阳性	38	8	抗 Jo-1	阴性	1	175	96.7	97.2	97.1	0.89	0.00	阳性	29	5	抗 Ro52	阴性	7	74	94.5	90.2	92.9	0.85	0.00	阳性	121	8	抗 NUC	阴性	4	159	90.2	94.1	93.3	0.80	0.00	阳性	37	10	抗 dsDNA	阴性	4	113	93.1	74.3
抗 SSB	阴性	5	72	95.8	80.0	89.0	0.78	0.00																																																																																																																																																																		
	阳性	115	18						抗 Sm	阴性	10	101	89.5	87.8	88.6	0.78	0.00	阳性	85	14	抗 RNP	阴性	4	105	96.0	95.5	95.7	0.91	0.00	阳性	96	5	抗 Scl-70	阴性	3	145	93.3	87.9	89.0	0.79	0.00	阳性	42	20	抗 Rib	阴性	3	142	94.8	93.4	93.8	0.85	0.00	阳性	55	10	抗 His	阴性	2	186	90.9	93.9	93.6	0.79	0.00	阳性	20	12	抗 PCNA	阴性	1	188	91.7	94.9	94.8	0.78	0.00	阳性	11	10	抗 CB	阴性	3	141	94.5	91.0	91.9	0.80	0.00	阳性	52	14	抗 PM	阴性	0	179	100.0	96.8	97.1	0.88	0.00	阳性	25	6	抗 M2	阴性	3	161	92.7	95.3	94.8	0.84	0.00	阳性	38	8	抗 Jo-1	阴性	1	175	96.7	97.2	97.1	0.89	0.00	阳性	29	5	抗 Ro52	阴性	7	74	94.5	90.2	92.9	0.85	0.00	阳性	121	8	抗 NUC	阴性	4	159	90.2	94.1	93.3	0.80	0.00	阳性	37	10	抗 dsDNA	阴性	4	113	93.1	74.3	79.5	0.57	0.00	阳性	54	39						
抗 Sm	阴性	10	101	89.5	87.8	88.6	0.78	0.00																																																																																																																																																																		
	阳性	85	14						抗 RNP	阴性	4	105	96.0	95.5	95.7	0.91	0.00	阳性	96	5	抗 Scl-70	阴性	3	145	93.3	87.9	89.0	0.79	0.00	阳性	42	20	抗 Rib	阴性	3	142	94.8	93.4	93.8	0.85	0.00	阳性	55	10	抗 His	阴性	2	186	90.9	93.9	93.6	0.79	0.00	阳性	20	12	抗 PCNA	阴性	1	188	91.7	94.9	94.8	0.78	0.00	阳性	11	10	抗 CB	阴性	3	141	94.5	91.0	91.9	0.80	0.00	阳性	52	14	抗 PM	阴性	0	179	100.0	96.8	97.1	0.88	0.00	阳性	25	6	抗 M2	阴性	3	161	92.7	95.3	94.8	0.84	0.00	阳性	38	8	抗 Jo-1	阴性	1	175	96.7	97.2	97.1	0.89	0.00	阳性	29	5	抗 Ro52	阴性	7	74	94.5	90.2	92.9	0.85	0.00	阳性	121	8	抗 NUC	阴性	4	159	90.2	94.1	93.3	0.80	0.00	阳性	37	10	抗 dsDNA	阴性	4	113	93.1	74.3	79.5	0.57	0.00	阳性	54	39																		
抗 RNP	阴性	4	105	96.0	95.5	95.7	0.91	0.00																																																																																																																																																																		
	阳性	96	5						抗 Scl-70	阴性	3	145	93.3	87.9	89.0	0.79	0.00	阳性	42	20	抗 Rib	阴性	3	142	94.8	93.4	93.8	0.85	0.00	阳性	55	10	抗 His	阴性	2	186	90.9	93.9	93.6	0.79	0.00	阳性	20	12	抗 PCNA	阴性	1	188	91.7	94.9	94.8	0.78	0.00	阳性	11	10	抗 CB	阴性	3	141	94.5	91.0	91.9	0.80	0.00	阳性	52	14	抗 PM	阴性	0	179	100.0	96.8	97.1	0.88	0.00	阳性	25	6	抗 M2	阴性	3	161	92.7	95.3	94.8	0.84	0.00	阳性	38	8	抗 Jo-1	阴性	1	175	96.7	97.2	97.1	0.89	0.00	阳性	29	5	抗 Ro52	阴性	7	74	94.5	90.2	92.9	0.85	0.00	阳性	121	8	抗 NUC	阴性	4	159	90.2	94.1	93.3	0.80	0.00	阳性	37	10	抗 dsDNA	阴性	4	113	93.1	74.3	79.5	0.57	0.00	阳性	54	39																														
抗 Scl-70	阴性	3	145	93.3	87.9	89.0	0.79	0.00																																																																																																																																																																		
	阳性	42	20						抗 Rib	阴性	3	142	94.8	93.4	93.8	0.85	0.00	阳性	55	10	抗 His	阴性	2	186	90.9	93.9	93.6	0.79	0.00	阳性	20	12	抗 PCNA	阴性	1	188	91.7	94.9	94.8	0.78	0.00	阳性	11	10	抗 CB	阴性	3	141	94.5	91.0	91.9	0.80	0.00	阳性	52	14	抗 PM	阴性	0	179	100.0	96.8	97.1	0.88	0.00	阳性	25	6	抗 M2	阴性	3	161	92.7	95.3	94.8	0.84	0.00	阳性	38	8	抗 Jo-1	阴性	1	175	96.7	97.2	97.1	0.89	0.00	阳性	29	5	抗 Ro52	阴性	7	74	94.5	90.2	92.9	0.85	0.00	阳性	121	8	抗 NUC	阴性	4	159	90.2	94.1	93.3	0.80	0.00	阳性	37	10	抗 dsDNA	阴性	4	113	93.1	74.3	79.5	0.57	0.00	阳性	54	39																																										
抗 Rib	阴性	3	142	94.8	93.4	93.8	0.85	0.00																																																																																																																																																																		
	阳性	55	10						抗 His	阴性	2	186	90.9	93.9	93.6	0.79	0.00	阳性	20	12	抗 PCNA	阴性	1	188	91.7	94.9	94.8	0.78	0.00	阳性	11	10	抗 CB	阴性	3	141	94.5	91.0	91.9	0.80	0.00	阳性	52	14	抗 PM	阴性	0	179	100.0	96.8	97.1	0.88	0.00	阳性	25	6	抗 M2	阴性	3	161	92.7	95.3	94.8	0.84	0.00	阳性	38	8	抗 Jo-1	阴性	1	175	96.7	97.2	97.1	0.89	0.00	阳性	29	5	抗 Ro52	阴性	7	74	94.5	90.2	92.9	0.85	0.00	阳性	121	8	抗 NUC	阴性	4	159	90.2	94.1	93.3	0.80	0.00	阳性	37	10	抗 dsDNA	阴性	4	113	93.1	74.3	79.5	0.57	0.00	阳性	54	39																																																						
抗 His	阴性	2	186	90.9	93.9	93.6	0.79	0.00																																																																																																																																																																		
	阳性	20	12						抗 PCNA	阴性	1	188	91.7	94.9	94.8	0.78	0.00	阳性	11	10	抗 CB	阴性	3	141	94.5	91.0	91.9	0.80	0.00	阳性	52	14	抗 PM	阴性	0	179	100.0	96.8	97.1	0.88	0.00	阳性	25	6	抗 M2	阴性	3	161	92.7	95.3	94.8	0.84	0.00	阳性	38	8	抗 Jo-1	阴性	1	175	96.7	97.2	97.1	0.89	0.00	阳性	29	5	抗 Ro52	阴性	7	74	94.5	90.2	92.9	0.85	0.00	阳性	121	8	抗 NUC	阴性	4	159	90.2	94.1	93.3	0.80	0.00	阳性	37	10	抗 dsDNA	阴性	4	113	93.1	74.3	79.5	0.57	0.00	阳性	54	39																																																																		
抗 PCNA	阴性	1	188	91.7	94.9	94.8	0.78	0.00																																																																																																																																																																		
	阳性	11	10						抗 CB	阴性	3	141	94.5	91.0	91.9	0.80	0.00	阳性	52	14	抗 PM	阴性	0	179	100.0	96.8	97.1	0.88	0.00	阳性	25	6	抗 M2	阴性	3	161	92.7	95.3	94.8	0.84	0.00	阳性	38	8	抗 Jo-1	阴性	1	175	96.7	97.2	97.1	0.89	0.00	阳性	29	5	抗 Ro52	阴性	7	74	94.5	90.2	92.9	0.85	0.00	阳性	121	8	抗 NUC	阴性	4	159	90.2	94.1	93.3	0.80	0.00	阳性	37	10	抗 dsDNA	阴性	4	113	93.1	74.3	79.5	0.57	0.00	阳性	54	39																																																																														
抗 CB	阴性	3	141	94.5	91.0	91.9	0.80	0.00																																																																																																																																																																		
	阳性	52	14						抗 PM	阴性	0	179	100.0	96.8	97.1	0.88	0.00	阳性	25	6	抗 M2	阴性	3	161	92.7	95.3	94.8	0.84	0.00	阳性	38	8	抗 Jo-1	阴性	1	175	96.7	97.2	97.1	0.89	0.00	阳性	29	5	抗 Ro52	阴性	7	74	94.5	90.2	92.9	0.85	0.00	阳性	121	8	抗 NUC	阴性	4	159	90.2	94.1	93.3	0.80	0.00	阳性	37	10	抗 dsDNA	阴性	4	113	93.1	74.3	79.5	0.57	0.00	阳性	54	39																																																																																										
抗 PM	阴性	0	179	100.0	96.8	97.1	0.88	0.00																																																																																																																																																																		
	阳性	25	6						抗 M2	阴性	3	161	92.7	95.3	94.8	0.84	0.00	阳性	38	8	抗 Jo-1	阴性	1	175	96.7	97.2	97.1	0.89	0.00	阳性	29	5	抗 Ro52	阴性	7	74	94.5	90.2	92.9	0.85	0.00	阳性	121	8	抗 NUC	阴性	4	159	90.2	94.1	93.3	0.80	0.00	阳性	37	10	抗 dsDNA	阴性	4	113	93.1	74.3	79.5	0.57	0.00	阳性	54	39																																																																																																						
抗 M2	阴性	3	161	92.7	95.3	94.8	0.84	0.00																																																																																																																																																																		
	阳性	38	8						抗 Jo-1	阴性	1	175	96.7	97.2	97.1	0.89	0.00	阳性	29	5	抗 Ro52	阴性	7	74	94.5	90.2	92.9	0.85	0.00	阳性	121	8	抗 NUC	阴性	4	159	90.2	94.1	93.3	0.80	0.00	阳性	37	10	抗 dsDNA	阴性	4	113	93.1	74.3	79.5	0.57	0.00	阳性	54	39																																																																																																																		
抗 Jo-1	阴性	1	175	96.7	97.2	97.1	0.89	0.00																																																																																																																																																																		
	阳性	29	5						抗 Ro52	阴性	7	74	94.5	90.2	92.9	0.85	0.00	阳性	121	8	抗 NUC	阴性	4	159	90.2	94.1	93.3	0.80	0.00	阳性	37	10	抗 dsDNA	阴性	4	113	93.1	74.3	79.5	0.57	0.00	阳性	54	39																																																																																																																														
抗 Ro52	阴性	7	74	94.5	90.2	92.9	0.85	0.00																																																																																																																																																																		
	阳性	121	8						抗 NUC	阴性	4	159	90.2	94.1	93.3	0.80	0.00	阳性	37	10	抗 dsDNA	阴性	4	113	93.1	74.3	79.5	0.57	0.00	阳性	54	39																																																																																																																																										
抗 NUC	阴性	4	159	90.2	94.1	93.3	0.80	0.00																																																																																																																																																																		
	阳性	37	10						抗 dsDNA	阴性	4	113	93.1	74.3	79.5	0.57	0.00	阳性	54	39																																																																																																																																																						
抗 dsDNA	阴性	4	113	93.1	74.3	79.5	0.57	0.00																																																																																																																																																																		
	阳性	54	39																																																																																																																																																																							

3 讨 论

抗核抗体检测对自身免疫性疾病的诊断已有 50 多年的历史,尤其诊断系统性红斑狼疮的灵敏度几乎达 100%,抗核抗体阳性对系统性红斑狼疮的预测也具有较为重要的作用^[6-8]。目前,常用的有免疫扩散法、酶联免疫吸附法、免疫印迹法、液相芯片法和 LIA 法。随着抗原提纯技术的提高, LIA 法、免疫印迹法和液相芯片法被越来越多的实验室所采用。

液相芯片是新一代高通量生物芯片技术,因其具有高精度、特异性强等优势可同时综合分析多种标志物,在自身免疫、肿瘤筛查等方面体现出较高的诊断价值。传统的“金标准”酶联免疫吸附试验虽然灵敏度较高,但每一反应孔只能检测一种抗体,当多种抗体同时检测就变得繁琐、费时, AtheNA 法的优点:(1)高通量。液相芯片可同时检测 100 种生物标志物,可通过重组蛋白不断更新自身抗体谱来建立诊断体系。(2)用量少。(3)操作简便。液相芯片采用荧光分析方法,活性范围大大增强,节省了洗涤和稀释的时间,使实验时间大大缩短。

有研究表明,由于 IFA 法的基质为 HEP-2/猴肝细胞,细胞结构较为完整,可几乎完全捕获待测血清中的抗核抗体,使其检测抗核抗体阳性率较高^[9],但其仅为定性实验,对临床“灰区”患者不能确切说明问题。液相芯片技术是一种以经过特殊编码、可识别的微球作为生物分子(抗原、抗体、蛋白质、核酸等)反应及信号检测载体的阵列分析技术。微球逐一通过检测通道时受到双色激光的照射,既可识别微球表面包被的分子种类;又可确定目标分子数量,所以,可半定量确定抗体的水平,达到实现高精度的目的^[10-12]。

本研究以 LIA 法作为参照,采用 AtheNA 法对 15 种抗核抗体进行了检测,结果显示,2 种方法具有较高的一致性。LIA 法因其各模块上抗原浓度不详,不可根据显色条带的深浅度来判断待测抗体的水平^[13-15]。而液相芯片通过每个微孔板中的大量微球,再配合不同激光的发射,可较精确地区别抗体,并实现待测抗体的半定量检测^[16-18]。

4 结 论

液相芯片系统对抗核抗体的联合检测具有良好的性能,其对抗核抗体谱的检测具有较好的灵敏度和特异度。

参考文献

[1] DAMOISEAUX J G, TERVAERT J W. From ANA to ENA: how to proceed[J]. *Autoimmun Rev*, 2006, 5(1): 10-17.

[2] 史兵伟,秦峰,吴琳. AtheNA Multi-Lyte 系统在抗核抗体检测中的应用[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2014, 24(1): 44-47.

[3] 黄晓卉,孙凯,甄茂川,等. 多种肿瘤标志物联合检测的液相芯片系统的建立[J]. *中华实验外科杂志*, 2006, 23

(11): 1384-1386.

[4] 吴云,王一鹏,马杰,等. 3 个肿瘤标志物联合检测液相芯片系统的建立[J]. *北京医学*, 2017, 39(9): 902-905.

[5] 施新萍,陈益明,姜域峰. 干燥综合征患者血清自身抗体检测结果及临床意义[J]. *浙江医学*, 2011, 33(5): 626-627.

[6] NIJ D, YAO X, PAN H F, et al. Clinical and serological correlates of anti-Sm autoantibodies in Chinese patients with systemic lupus erythematosus: 1 584 cases[J]. *Rheumatol Int*, 2009, 29(11): 1323-1326.

[7] 何英,陆学东. 液相芯片技术及其临床应用[J]. *国际检验医学杂志*, 2006, 27(12): 1107-1108.

[8] GILBURD B, ABU-SHAKRA M, SHOENFELD Y, et al. Autoantibodies profile in the sera of patients with Sjogren's syndrome; the ANA evaluation—a homogeneous, multiplexed system[J]. *Clin Dev Immunol*, 2004, 11(1): 53-56.

[9] SHOVMAN O, GILBURD B, ZANDMAN-GODDARD G, et al. Multiplexed AtheNA multi-lyte immunoassay for ANA screening in autoimmune diseases[J]. *Autoimmunity*, 2005, 38(1): 105-109.

[10] WONG T S, KWONG D L, SHAM J, et al. Elevation of plasma osteopontin level in patients with undifferentiated nasopharyngeal carcinoma[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2005, 31(5): 555-558.

[11] KAO C L, CHIOU S H, HO D M, et al. Elevation of plasma and cerebrospinal fluid osteopontin levels in patients with atypical teratoid/rhabdoid tumor[J]. *Am J Clin Pathol*, 2005, 123(2): 297-304.

[12] HU Z, LIN D, YUAN J, et al. Overexpression of osteopontin is associated with more aggressive phenotypes in human non-small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(13): 4646-4652.

[13] FALK R J, JENNETTE J C. Thoughts about the classification of small vessel vasculitis[J]. *J Nephrol*, 2004, 17(Suppl 8): S3-S9.

[14] HAN W K, CHOI H K, ROTH R M, et al. Serial ANCA titers: useful tool for prevention of relapses in ANCA-associated vasculitis[J]. *Kidney Int*, 2003, 63(3): 1079-1085.

[15] 胡朝军,李永哲,张署澜,等. AtheNA Multi-Lyte 自身抗体自动化检测系统检测抗核抗体的性能评价[J]. *临床检验杂志*, 2006, 24(5): 387-388.

[16] 邢艳,唐中,袁国华. 抗核抗体的研究进展[J]. *国外医学(内科学分册)*, 2006, 33(5): 218-221.

[17] PAZ E, ADAWI M, LAVI I, et al. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2000, 124(1): 71-81.

[18] 杨林,虞伟. 抗 dsDNA、抗核小体抗体的 3 种检测方法 & 诊断 SLE 的评价[J]. *临床检验杂志*, 2009, 27(4): 292-294.