

## · 短篇论著 ·

## 抗核抗体核型与抗核抗体谱 3(IgG) 相应抗体的关系研究

张健 王丽 王文龙 贾印峰 王翠玲 李莉 申爱华

**【摘要】** 目的 探讨抗核抗体(ANA)荧光核型与 ANA 谱 3(IgG)15 项抗体之间的关系。方法 对济宁医学院附属医院门诊及住院的自身免疫性疾病(AID)患者进行检测,ANA 采用间接免疫荧光法检测,ANA 谱 3(IgG)15 项抗体采用欧蒙免疫印记法检测。结果 362 例 ANA 阳性标本中单一核型中核均质型 72 例,核颗粒型 135 例,胞浆颗粒型 26 例,核仁型 11 例,着丝点型 20 例,核膜型 1 例,细胞骨架型 2 例,高尔基体型 1 例,其余为混合核型,其中 ANA 谱 3(IgG)15 项抗体阳性率为 84.3% (305/362)。核均质型常见抗体为抗核小体、Ro-52、dsDNA、组蛋白抗体。核颗粒型常见抗体为抗 Ro-52、SSA、nRNP、SSB、Sm 和抗 RIB 抗体。胞浆颗粒型常见抗体为抗 Ro-52、SSA 和抗 RIB 抗体。结论 ANA 是 AID 的筛查实验,而 ANA 谱 3(IgG)15 项抗体对于 AID 具有鉴别意义,两者需要平行检测,防止漏诊,通过核型找到 ANA 谱 3(IgG)15 项抗体中相对应的阳性抗体,提高诊断率。

**【关键词】** 抗体,抗核; 光谱核型分析; 免疫印迹法; 自身免疫疾病

抗核抗体(ANA)是一组将自身真核细胞的各种细胞核成分作为靶抗原的自身抗体的总称,是自身免疫性疾病(AID)的重要标记。由于细胞核成分的复杂性和不同的抗原性,因此可产生多种类型的 ANA。ANA 核型主要用于筛查,而抗体的确证实验则对于 AID 的诊断和鉴别意义较大。目前国内许多医院开展了自身抗体 ANA 和抗可提取性核抗原(ENA)抗体的检测,对诊断 AID、判断疾病活动程度、观察治疗效果、指导临床用药等方面具有重要意义。本文则通过对 ANA 荧光核型与 15 种抗体的对比分析,探讨常见 ANA 荧光核型与 ANA 谱中阳性抗体的关系。

#### 一、对象和方法

1. 对象:362 例检测标本均来源于 2008~2010 年在济宁医学院附属医院门诊及住院的 ANA 阳性 AID 患者。其中男性有 25 例,占总例数的 6.9%。

2. ANA 谱 3(IgG)检测方法:采用欧蒙印迹法,试剂盒由德国欧蒙公司提供,用于体外定性检测血清或血浆中的人抗 nRNP、Sm、SSA、Ro-52、SSB、SCL-70、PM、JO-1、着丝点、PCNA、dsDNA、核小体、组蛋白、RIB、AMA M2 等 15 种不同抗原 IgG 类抗体,检测膜条上平行包被了这些高度纯化的抗原。第一次温育时,经 1:101 稀释的患者血清与膜条上的抗原反应,如果样本阳性,特异性的 IgG 与相应的抗原结合。为检测已结合的抗体,加入酶标抗体 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,在欧蒙提供的软件上进行分析。

3. ANA 检测方法:采用 ANA 马赛克间接免疫荧光法,试剂盒来源于德国欧蒙公司,专用于体外检测人血清或血浆中的 ANA。每个反应区同时有 2 种抗原基质:猴肝组织和 Hep-2 细胞。在第一次温育时,将 1:100 稀释的血清与固定在载片反应区上生物薄片中的 Hep-2 细胞和灵长类肝脏组织反应。如果标本阳性,特异性 IgA、IgG 和 IgM 抗体与相应核抗原结合。在第二次温育时,荧光素标记的抗人抗体与结合在生物基质上的抗体反应,形成荧光显微镜下所观察到的特异性荧光模型。Hep-2 细胞及猴肝组织均无特异性荧光为阴性。Hep-2 细胞和猴肝组织产生明显特异性荧光为阳性,比较两种基质产生的荧光模式可进一步对 ANA 进行分型,荧光较暗核型不易区分者为弱阳性。ANA 谱、ANA 荧光核型检测结果对比,采用双盲法。仪器设备为 Olympus BX51 型荧光显微镜、生化摇摆平台。

4. 统计学分析:采用 SPSS 16.0 统计软件进行  $\chi^2$  检验分析。

#### 二、结果

362 例 ANA 阳性标本单一核型中核均质型 72 例,核颗粒型 135 例,胞浆颗粒型 26 例,核仁型 11 例,着丝点型 20 例,核膜型 1 例,细胞骨架型 2 例,高尔基体型 1 例,其余为混合核型,其中 ANA 谱 3(IgG)15 项抗体阳性率为 84.3% (305/362)。经统计学分析各核型 ANA 中抗 ANA 谱 3(IgG)抗体阳性率差异无统计学意义( $\chi^2 = 15.025, P > 0.05$ ) (表 1)。

各种荧光核型与 ANA 谱 3(IgG)15 项抗体的结果见表 2。

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2011.01.045

作者单位:272029 山东省,济宁医学院附属医院检验科(张健、王文龙、贾印峰、王翠玲、李莉、申爱华);济宁市第一人民医院普外科(王丽)

通讯作者:张健,Email:zhangjianjiayun2002@yahoo.cn

**表 1 ANA 荧光核型阳性病例中 ANA 谱 3(IgG) 抗体的阳性情况**

核型	总例数	阳性数(例)	阳性率(%)
核均质	72	56	77.8
核颗粒	135	119	88.1
胞浆颗粒	26	20	76.9
着丝点	20	20	100.0
核颗粒胞浆颗粒	19	19	100.0
核均质颗粒	40	30	75.0
核均质胞浆颗粒	13	11	84.6
其他	37	30	81.1
合计	362	305	84.3

**表 2 各种荧光核型与 ANA 谱 3(IgG)15 项抗体的结果分析[例,(%)]**

抗体种类	单项阳性 (n=362)	各种荧光核型对应抗体阳性							
		核均质 (n=72)	核颗粒 (n=135)	胞浆颗粒 (n=26)	核颗粒胞浆颗粒 (n=19)	核均质颗粒 (n=40)	核均质胞浆颗粒 (n=13)	着丝点 (n=20)	其他 (n=37)
抗 nRNP	107(29.6)	13(18.1)	66(48.9)	4(15.4)	9(47.4)	11(27.5)	1(7.7)	1(5.0)	2(5.4)
抗 Sm	65(18.0)	9(12.5)	31(23.0)	0	6(31.6)	18(45.0)	0	0	1(2.7)
抗 SSA	154(42.5)	27(37.5)	68(50.4)	8(30.8)	15(78.9)	20(50.0)	4(30.8)	4(20.0)	8(21.6)
抗 Ro-52	178(49.2)	31(43.1)	73(54.1)	12(46.2)	17(89.5)	18(45.0)	4(30.8)	9(45.0)	15(40.5)
抗 SSB	83(22.9)	12(16.7)	40(29.6)	4(15.4)	8(42.1)	13(32.5)	1(7.7)	2(10.0)	3(8.1)
抗 dsDNA	62(17.1)	26(36.1)	14(10.4)	3(11.5)	0	12(30.0)	3(23.1)	1(5.0)	3(8.1)
抗核小体	82(22.7)	43(59.7)	14(10.4)	4(15.4)	1(5.3)	14(35.0)	4(30.8)	0	2(5.4)
抗组蛋白	43(11.9)	24(33.3)	7(5.9)	0(0)	0	8(20.0)	2(15.4)	0	2(5.4)
抗 RIB	57(15.7)	15(20.8)	15(11.1)	6(23.1)	6(31.6)	7(17.5)	2(15.4)	0	6(16.2)
抗着丝点	29(8.0)	3(4.2)	0	0	0	0	0	20(100.0)	6(16.2)
抗 PM	0	0	0	0	0	0	0	0	0
抗 SCL-70	10(2.8)	3(4.7)	2(1.5)	1(3.8)	0	2(5.0)	0	1(5.0)	1(2.7)
抗 JO-1	4(1.1)	1(1.4)	2(1.5)	1(3.8)	0	0	0	0	0
抗 PCNA	8(2.2)	2(2.8)	1(0.7)	1(3.8)	0	3(7.5)	0	0	0
抗 AMA M2	26(7.2)	4(5.5)	4(2.9)	3(11.5)	3(15.8)	4(10.0)	4(30.8)	1(5.0)	3(8.1)

### 三、讨论

在 AID 的多种自身抗体中,ANA 是一组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,ANA 靶抗原分布由传统的细胞核抗原扩展到现在的整个细胞,包括细胞核、细胞骨架、细胞质、细胞分裂周期等,可与不同来源的细胞核起反应,无器官特异性和种属特异性<sup>[1]</sup>。间接免疫荧光法检测 ANA,因其基质中含有完整的抗原谱(如细胞核和细胞质抗原),可检测到几乎所有的 ANA。如果存在 ANA,就会在细胞中抗原相应的位置出现荧光反应,产生特征性的荧光模型,有一定临床参考价值<sup>[2]</sup>。某种荧光模型常伴有特定的 ANA 和 AID,目前发现抗 nRNP/Sm、抗 Sm 抗体、抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体等存在时荧光模型为核颗粒型;抗 dsDNA、抗核小体抗体和抗组蛋白抗体为核均质型;细胞质中抗核糖体 P 蛋白抗体为浆颗粒型<sup>[3]</sup>。

本文研究发现,抗 nRNP 抗体及抗 Sm 抗体主要在核颗粒型出现;抗 Ro-52 抗体主要在核颗粒、核均质和胞浆颗粒中出现,抗 SSA、抗 SSB 也主要在上述三种核型中出现;抗 dsDNA、抗组蛋白、抗核小体抗体主要在核均质类型的荧光核型中出现。抗着丝点抗体对着丝点核型的诊断具有特异性,在 20 例着丝点核型中抗着丝点抗体的出现率为 100%。检出率较低者中抗 PM 检出率为 0,其次是抗 JO-1、SCL-70 抗体和抗 PCNA 抗体,检出率分别为 1.1%、2.8%、2.2%。混合型中出现率最高的是核均质颗粒型,这与各种 AID 的发病率有关,对应各种核型的常见 15 种特异抗体,其阳性率 > 75%,由于方法学不同,各种检验方法的灵敏度和特异性不同。此两种方法的结合对 AID 的诊断有重要价值。

本实验结果显示的不同荧光核型的 ANA 与抗 ENA 抗体之间的关系和此大部分较一致,但荧光核型为均质型时,JO-1 检

出率偏低,与文献报道不一致。同时本文统计的抗 SCL-70 抗体统计的阳性率只有 2.8%,与文献报道的相一致<sup>[4]</sup>,检出率低这一原因还有待进一步研究。

在 ANA 的核型与各抗体的关系方面各抗体类型同 ANA 荧光核型之间没有绝对的规律可寻<sup>[5]</sup>,尽管荧光染色模型具有一定的提示作用,但一种自身抗体可以出现不同的荧光染色模型,不同的自身抗体也可以出现相同的荧光染色模型,仅根据荧光染色模型特点来推断自身抗体的特异性是出现错误判断的重要原因。所以不能简单的依据荧光核型来推断相应的抗体的具体类型。以前仅检测 ENA,对其他抗体没有进行检测,ENA 多肽抗体主要包括抗 Sm 抗体、抗 RNP 抗体、抗 Ro 抗体和抗 La 抗体等,ENA 多肽抗体是针对核内 ENA 的一种自身抗体,ENA 抗原可用盐水或磷酸盐缓冲液从细胞核中提取<sup>[6]</sup>。不同的 AID 可产生不同的抗 ENA 多肽抗体,不同特性的抗 ENA 抗体在各种 AID 中的阳性率不同<sup>[7]</sup>。本文则对 15 种不同抗原 IgG 类抗体进行了检测,提高了 ANA 荧光核型阳性时 ANA 谱的阳性率,本实验阳性率达 84.3%,依然有 15.7% 的漏诊率。ANA 谱 3 (IgG) 应用欧蒙印迹法检测,为一种先进的诊断技术,灵敏度高,结果可靠,它的普及对于 AID 的诊断具有重要意义。

从上述实验结果可以看出,AID 诊断既需要荧光 ANA 检测,也离不开对单一抗原的检测。利用间接免疫荧光法 ANA 检测的高敏性和欧蒙印迹法检测的高特异性,可以证实血清中的确存在哪些与疾病相关的抗体,为自身免疫性结缔组织病的诊断提供帮助,将两种方法或更多的方法结合起来有利于 AID 的诊断及预后观察。

## 参 考 文 献

- [1] Damoiseaux JG, Tervaert JW. From ANA to ENA: how to proceed? *Autoimmun Rev*, 2006, 5(1): 10-17.
- [2] 吴东海. 风湿病的实验室检查. *中华内科杂志*, 1998, 37(5): 353.
- [3] 王兰兰. 自身抗体检测的应用与质量保障原则. *中华检验医学杂志*, 2005, 28(10): 987-990.
- [4] 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. *分子诊断与治疗杂志*, 2009, 3(1): 175-177.
- [5] 魏方. 抗核抗体与抗 ENA 抗体的相关性分析. *实验与检验医学*, 2009, 27(1): 61-62.
- [6] Chloraki-Bobota A, Megalaki C, Repousis P, et al. Prevalence of autoantibodies (ANA, anti ds-DNA, ENA, IMF) and rheumatic syndromes in patients with lymphoproliferative diseases. *J BUON*, 2006, 11(4): 485-489.
- [7] Hoxha A, Ruffatti A, Grypiotis P, et al. Antinuclear, anti-dsDNA and anti-ENA antibodies in patients affected with rheumatoid arthritis or ankylosing spondylitis during treatment with infliximab. *Reumatismo*, 2006, 58(2): 121-126.

(收稿日期: 2010-07-19)

(本文编辑: 戚红丹)

张健, 王丽, 王文龙, 等. 抗核抗体核型与抗核抗体谱 3 (IgG) 相应抗体的关系研究 [J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2011, 5(1): 221-223.