

· 临床研究 ·

120 例 ANA 谱的检测结果分析

王娴默, 肖 林

(湖北省荆州市第一人民医院检验科 434000)

摘要:目的 分析抗核抗体(ANA)谱和 ANA 的临床检测结果及临床应用。方法 选取 120 例患有自身免疫性疾病的患者作为疾病组;30 例非自身免疫性疾病者为对照组。疾病组及对照组血清标本应用间接免疫荧光法、免疫印迹法检测 ANA 和 ANA 谱。结果 系统性红斑狼疮(SLE)的发生与患者的性别,血清中抗 nRNP/SM、抗 Sm、抗 RIB-P、抗 dsDNA、抗核小体、抗组蛋白抗体呈正相关;混合性结缔组织病(MCTD)的发生与患者血清中抗 nRNP/SM 抗体呈正相关;进行性系统性硬化症(PSS)的发生与患者血清中抗着丝点抗体呈正相关;干燥综合征(SS)的发生与患者血清中抗 SS-B(La)抗体呈正相关。结论 ANA 谱的检测有助于自身免疫性疾病的诊断和筛查。

关键词:自身免疫性疾病;ANA 谱;临床检测

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.09.013

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)09-0864-03

Analysis on detection results of ANA profile in 120 cases

Wang Xianmo, Xiao Lin

(Department of Clinical Laboratory, Jingzhou First People's Hospital, Jingzhou, Hubei 434000, China)

Abstract: Objective To analyze the ANA profile, its clinical detection results and clinical application. **Methods** To select 120 cases of autoimmune disease as the disease group; 30 cases of non-autoimmune diseases as the control. The serum samples in the two groups were detected by indirect immunofluorescence, Western blot for of ANA and the ANA spectrum. **Results** The occurrence of SLE was positively correlated with sex, serum anti-nRNP/SM, anti-Sm, anti-RIB-P, anti-dsDNS, anti-Nukleosomen, anti-Histone antibody. The occurrence of MCTD was positively correlated with anti-nRNP/SM antibody. The occurrence of PSS was positively correlated with anti-CENP B antibody. The occurrence of SS patients was positively correlated anti-SSB positive correlation. **Conclusion** ANA profile is helpful for the diagnosis and screening of autoimmune diseases.

Key words: autoimmune diseases; ANA profile; clinical detection

机体免疫系统具有识别异己,排斥非我物质的能力。在正常情况下,免疫系统对自身组织不产生或只产生极微弱的免疫应答,这种现象称为自身免疫耐受。而当存在各种病理因素时,耐受机制受到破坏,机体对自身组织发生免疫应答,而产生自身免疫性疾病。现对本院 2009 年 1~12 月住院及门诊检测自身免疫性抗体患者的 ANA 谱及 ANA 检测与其诊断时出现的各种情况进行分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 在 2009 年 1~12 月本院住院及门诊检测自身免疫性抗体患者 472 例中随机选取系统性红斑狼疮(SLE)、混合性结缔组织病(MCTD)、干燥综合征(SS)、进行性系统性硬化症(PSS)患者各 30 例,其中男 28 例,女 92 例;年龄 17~58 岁,平均(32.4±13.1)岁。30 例非自身免疫性疾病者为对照组,其中男 9 例,女 21 例,年龄 18~55 岁,平均(27.1±9.3)岁。

1.2 方法

1.2.1 标本处理 采集受检者静脉血 3 mL, 3 500 r/min 离心 10 min 后分离血清。

1.2.2 实验方法 记录患者的年龄、性别、临床疾病和实验室结果。ANA 采用间接免疫荧光法检测;ANA 谱采用免疫印迹法,试剂均为德国欧蒙公司产品。实验操作严格按说明书进行。荧光显微镜为 Olympus。操作步骤:(1)将平行包被有数种纯化的、生化性质明确的抗原线的膜条作为固相。然后将膜条如同固定生物薄片一样固定到合成的薄膜上。若是阳性,已稀释血清中的特异性抗体将与固相上的抗原结合。(2)将结合的抗体与碱性磷酸酶标记的抗人抗体反应。(3)加入的可产生颜色反应的色原/底物液将使已结合的抗体着色。如果血清标

本中存在特异性抗体,相应抗原线将呈现一条深色的阳性带。

1.3 统计学处理 使用 PASW Statistics18.0 软件统计各种疾病与 ANA 谱及 ANA 之间的相关性,结果用 P 、 r 值表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ANA 谱统计结果 ANA 谱检测项目(图 1)包括抗 nRNP/SM、抗 Sm、抗 SS-A(Ro)、抗 Ro-52、抗 SS-B(La)、抗 Scl-70、抗 JO-1、抗着丝点、抗 dsDNA、抗核小体、抗组蛋白、抗核糖 P 蛋白抗体(RIB-P)等 12 种抗体。120 例自身免疫性疾病患者检测 ANA 谱及 ANA 后的结果统计见表 1。

确诊为 SLE 患者结果与对照组对比相关性分析,发现 SLE 的发生均与患者性别及血清中抗 nRNP/SM、抗 Sm、抗 RIB-P、抗 dsDNA、抗核小体、抗组蛋白抗体和 ANA 相关, MCTD 的发生与患者血清中抗 nRNP/SM 抗体和 ANA 相关, PSS 与患者血清中抗着丝点抗体和 ANA 相关, SS 的发生与患者血清中抗 SS-B(La)抗体和 ANA 相关,而肾病、2 型糖尿病、支气管哮喘、肺间质病、多种血液病和类风湿关节炎(RA)则与 ANA 谱和 ANA 无明显相关性。

2.2 ANA 的核型表现 120 例患者标本中 ANA 阳性 73 例(60.8%)。ANA 阳性标本的核型有细胞核颗粒型 45 例(61.6%)、核均质型 13 例(17.8%)、核仁型 5 例(6.8%)、核点型和着丝点型 6 例(8.2%)、细胞浆颗粒型 4 例(5.5%)等。以上核型可单独出现,也有几种核型同时出现的情况。核型阳性率最多的是细胞核颗粒型,其次为核均质型、核仁型和核点型。SLE 患者 59.8% 出现核均质型, MCTD 患者 88.6% 出现细胞核颗粒型, PSS 患者 80.2% 出现细胞核颗粒型, SS 患者 91.2%

表 1 各疾病与 ANA 谱各项结果相关性比较

项目	SLE	MCTD	PSS	SS	对照组
性别女	$P=0.025, r=0.278$	$P=0.327, r=0.437$	$P=0.264, r=0.154$	$P=0.496, r=0.658$	$P=0.217, r=0.438$
抗 nRNP/SM 抗体	$P=0.000, r=0.399$	$P=0.000, r=0.636$	$P=0.327, r=0.215$	$P=0.431, r=0.163$	$P=0.158, r=0.254$
抗 Sm 抗体	$P=0.037, r=0.248$	$P=0.485, r=0.236$	$P=0.259, r=0.357$	$P=0.429, r=0.325$	$P=0.085, r=0.296$
抗 SS-A(Ro) 抗体	$P=0.108, r=0.328$	$P=0.251, r=0.364$	$P=0.0954, r=0.326$	$P=0.0974, r=0.257$	$P=0.158, r=0.427$
抗 Ro-52 抗体	$P=0.350, r=0.205$	$P=0.128, r=0.322$	$P=0.0847, r=0.259$	$P=0.0845, r=0.128$	$P=0.328, r=0.361$
抗 RIB-P 抗体	$P=0.002, r=0.352$	$P=0.587, r=0.229$	$P=0.168, r=0.425$	$P=0.753, r=0.426$	$P=0.379, r=0.296$
抗 SS-B(La) 抗体	$P=0.308, r=0.354$	$P=0.125, r=0.398$	$P=0.128, r=0.105$	$P=0.024, r=0.434$	$P=0.273, r=0.659$
抗 Scl-70 抗体	$P=0.112, r=0.382$	$P=0.429, r=0.381$	$P=0.258, r=0.261$	$P=0.592, r=0.428$	$P=0.258, r=0.359$
抗 JO-1 抗体	$P=0.138, r=0.254$	$P=0.651, r=0.128$	$P=0.587, r=0.186$	$P=0.384, r=0.421$	$P=0.094, r=0.295$
抗着丝点抗体	$P=0.482, r=0.235$	$P=0.359, r=0.259$	$P=0.01, r=0.473$	$P=0.513, r=0.368$	$P=0.147, r=0.206$
抗 dsDNA 抗体	$P=0.043, r=0.245$	$P=0.843, r=0.258$	$P=0.694, r=0.156$	$P=0.419, r=0.148$	$P=0.438, r=0.164$
抗核小体抗体	$P=0.000, r=0.406$	$P=0.384, r=0.452$	$P=0.517, r=0.349$	$P=0.651, r=0.357$	$P=0.136, r=0.438$
抗组蛋白抗体	$P=0.001, r=0.358$	$P=0.159, r=0.296$	$P=0.157, r=0.290$	$P=0.154, r=0.175$	$P=0.260, r=0.217$
ANA	$P=0.000, r=0.624$	$P=0.041, r=0.154$	$P=0.037, r=0.540$	$P=0.184, r=0.215$	$P=0.216, r=0.649$

出现细胞核颗粒型。



图 1 ANA 谱结果图

3 讨论

ANA 谱的检测原理是采用免疫印迹技术，将凝胶电泳、抗原-抗体反应的固相免疫和免疫标记方法结合在一起的生物化学实验技术。将多种纯化的、生化性质明确的抗原包被到膜条上作为固相，然后将膜条固定到合成的薄膜上^[1]。ANA 谱有抗 nRNP/SM、抗 Sm、抗 SS-A(Ro) 抗体等 12 种抗体，比 ENA 谱多 6 项检测项目，其中抗 dsDNA 抗体由原来的间接免疫荧光技术改为免疫印迹技术，减少了人为主观因素，使结果客观、可靠。ANA 采用间接免疫荧光法，应用荧光显微镜对待测标本进行检测，实验结果发现 ANA 的检测结果能分辨出不同核型，而各种核型对疾病诊断的特异性和敏感性并不高，对多种自身免疫性疾病均可出现阳性，单靠 ANA 检测结果并不能对疾病进行诊断，其作用仅是筛查自身免疫性疾病及其治疗效果的进展，从而为更好地指导自身免疫性疾病的诊断和预后判断提供依据。

在众多的自身免疫性疾病中，本研究结果显示以 SLE、MCTD、PSS 等疾病危害较多，患者较多^[2-3]，现分别讨论各疾病与 ANA 谱结果的联系。

SLE 是常见的由自身免疫介导的弥漫性结缔组织疾病，可使多种组织、器官受累，患者临床表现多样^[4-5]。抗 dsDNA、抗核小体、抗组蛋白、抗 Sm、抗 RIB-P 抗体均是 SLE 的标志性抗体^[6-7]，中国人群中抗 RIB-P 抗体阳性率更高，可达 36%^[8-9]，与本实验结果相符合，各指标阳性与 SLE 呈正相关。抗 dsDNA 抗体进入淋巴细胞，干扰细胞功能，引起细胞凋亡，也能进入肾小球膜细胞，引起肾小球细胞增殖，促细胞融合和蛋白尿形成，从而导致 SLE 患者组织、器官受损。组蛋白是核内最丰富的蛋白质，它与 DNA 构成染色质，它与抗 DNA 的自身免疫反应具有一定的连锁性。抗 Sm 抗体也可进入淋巴细胞，与靶抗原结合后干扰其功能，使细胞增殖受抑制，分泌细胞因子(IFN- γ 、IL-2 等)减少，并诱导细胞凋亡。以上相关抗体的出现均与 SLE 的发生、发展相关。本实验发现，SLE 以女性发病较多，与疾病的发生呈正相关，这与女性的雌激素水平较高，而雌激素能增强 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的反应性有关。

SS 是侵犯唾液腺和泪腺等外分泌腺的慢性系统性疾病。抗 SS-A(Ro)、抗 SS-B(La) 抗体是 SS 发生的典型抗体，本研究中抗 SS-B(La) 抗体阳性与之相关，而抗 SS-A(Ro) 抗体阳性与其无关($r=0.257, R=0.0974$)，可能原因为患者经过治疗后有所缓解。抗 SS-A(Ro)、抗 SS-B(La) 抗体直接针对蛋白质的抗原决定簇，导致细胞功能的受损，它们的出现最常见于(40%~95%的患者^[10])SS。

抗 nRNP/SM 抗体是 MCTD 的特异性标志。Smolen 和 Steiner^[11] 对其基因学、血清学、临床三方面进行了分析，认为 MCTD 与 HLA-DR4 相关且在其血清中存在两种不同自身抗原 U1snRNP 和 hnRNP-A/RA33-3 的特异识别位点。抗 nRNP/SM 抗体的靶抗原由 U1snRNA 与 A、C 及少量 B'/B、D、E、F、G 等蛋白质组成，它们也参与 mRNA 前体的剪切，抗 nRNP/SM 抗体也能进入淋巴细胞，干扰细胞功能，从而诱导细胞凋亡。

PSS 是一种以胶原纤维增生、硬化为主要特点的结缔组织

疾病,本病根据典型的皮肤症状即可确诊。有研究表明 PSS 患者的抗着丝点抗体阳性率为 22%~36%^[10]。本研究结果也显示抗着丝点抗体在 PSS 时阳性率高,因此实验室检测指标也为重要诊断依据。

牟君成等^[12]发现应用自身抗体的检测对于自身免疫性疾病的诊断是很有帮助的,并在研究中发现,ANA 是传统的自身免疫性疾病的筛查指标,敏感性高,但特异性和阳性预测值则较低^[12-14]。ENA 谱^[15]相对 ANA 谱检测抗体较少,对疾病诊断有限。间接免疫荧光法检测的抗-dsDNA 抗体则相对 ANA 谱主观性强,客观性弱。所以,在临床上以 ANA 筛查,结合 ANA 谱抗体检测,既可达到诊断目的,又可避免浪费和增加患者的经济负担。

参考文献:

- [1] Gershwin ME. Autoantibodies[M]. 2nd ed. Holland: Elsevier Sci, 2007:3-11.
- [2] 李苏亮,叶芸.多种自身抗体联合检测对自身免疫性疾病临床诊断的意义[J].实用医药杂志,2008,25(5):539.
- [3] 郭雨凡,陈志伟.风湿病抗核小体抗体检测的临床意义[J].江苏医药,2007,33(8):768.
- [4] 彭俊华,张华欣,齐心亮,等.143例系统性红斑狼疮的自身抗体和常规检查分析[J].甘肃科学学报,2009,21(1):53.
- [5] 方小娟,方苗.117例系统性红斑狼疮患者 ANA、抗 ENA 抗体、抗 dsDNA 抗体检测[J].实用医技杂志,2008,15(1):46-47.
- [6] Mannik M, Merrill CE, Stamps LD, et al. Multiple autoantibodies form the glomerular immune deposits in patients with systemic lupus erythematosus[J]. J Rheuma-

tol, 2003, 30(7):1495-1504.

- [7] 苏茵,韩蕾,粟占国,等.抗核小体抗体测定在系统性红斑狼疮诊断中的意义[J].中华风湿病学杂志,2003,7(8):474-477.
- [8] Reichlin M, Wolfson-Reichlin M. Correlations of anti-dsDNA and anti-ribosomal P autoantibodies with lupus nephritis[J]. Clin Immunol, 2003, 108(1):69-72.
- [9] Toubi E, Shoenfeld Y. Clinical and biological aspects of anti P-ribosomal protein autoantibodies[J]. Autoimmun Rev, 2007, 6(3):119-125.
- [10] 丁振若,于文彬.现代检验医学[M].人民军医出版社,2007:976-979.
- [11] Smolen JS, Steiner G. Mixed connective tissue disease: to be or not to be[J]. Arthritis Rheum, 1998, 41(5):768-770.
- [12] 牟君成,陈联,王文昕,等. ANA、抗 ENA 抗体联合检测对自身免疫病诊断的意义[J].重庆医学,2009,38(18):2334-2337.
- [13] 车文英,谭延国,韦希明,等.312例抗核抗体与抗细胞核细胞浆抗体谱检测结果的分析[J].中国实验诊断学,2008,12(8):1031-1032.
- [14] 王宏志,吴楠,孙才,等.125例自身免疫性疾病诊断中抗核抗体谱检测结果分析[J].齐齐哈尔医学院学报,2009,30(15):1865-1866.
- [15] 岑柳仙. ENA 多肽抗体测定在风湿病诊断中的价值[J].右江民族医学院学报,2003,25(4):541.

(收稿日期:2010-08-17 修回日期:2010-09-22)

(上接第 863 页)

- [4] van Popele NM, Mattace-Raso FU, Vliedgenhart R, et al. Aortic stiffness is associated with atherosclerosis of the coronary arteries in older adults: the Rotterdam study[J]. J Hypertens, 2006, 24(12):2371-2378.
- [5] Willum-Hansen T, Staessen JA, Torp-Pedersen C, et al. Prognostic value of aortic pulse wave velocity as index of arterial stiffness in the general population[J]. Circulation, 2006, 113(5):664-670.
- [6] 刘泽林,贺石林,李家增.血栓性疾病的诊断与治疗[M].北京:人民卫生出版社,2000:461.
- [7] 杨成明,王旭开,曾春雨,等.代谢综合征患者冠状动脉病变特点及相关危险因素的探讨[J].重庆医学,2008,37(6):588-589.
- [8] Bing H, Wang J, Zhang C, et al. Positive correlation between in vivo oxidized LDL and LDL immune complexes [J]. Clin Biochem, 2004, 37(1):72-79.
- [9] Rifai N, Ridker PM. High-sensitivity C-reaction protein: a novel and promising maker of coronary heart disease[J]. Clin Chem, 2001, 47(3):403-407.
- [10] 董解菊,王秀丽,邵丽丽,等.冠心病心功能不全患者高敏 C-反应蛋白变化[J].重庆医学,2004,33(11):1705.

- [11] Ockene IS, Mathews CE, Rifai N, et al. Variability and classification accuracy of serial high-sensitivity C-reactive protein measurements in healthy adults[J]. Clin Chem, 2001, 47(3):444-447.
- [12] Leduc TB, Rifai N. High sensitivity immunoassays for C-reactive protein: promises and pitfalls[J]. Clin Chem Lab Med, 2001, 39(11):1171-1178.
- [13] Whicher J, Rifai N, Biasucci LM. Markers of the acute phase response in cardiovascular disease: an update[J]. Clin Chem Lab Med, 2001(11):1054-1059.
- [14] Torzewski J, Torzewski M, Bowyer DE, et al. C-reactive protein frequently colocalizes with the terminal complement complex in the intima of early atherosclerotic lesions of human coronary arteries[J]. Arterioscler Thromb Vasc Bio, 1998, 18(9):1386-1392.
- [15] Coutinho Tde A, Turner ST, Peyser PA, et al. Associations of serum uric acid with markers of inflammation, metabolic syndrome, and subclinical coronary atherosclerosis[J]. Am J Hypertens, 2007, 20(1):83-88.

(收稿日期:2010-08-10 修回日期:2010-10-19)