

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.23.035

自身免疫病患者抗核抗体检测结果的临床分析

张 恒¹, 吴春健², 田文宗¹, 李金星^{1△}

(1. 山东中医药大学附属医院检验科, 济南 250011; 2. 山东省荣军总医院检验科, 济南 250013)

摘要:目的 探讨自身免疫病(AID)患者抗核抗体(ANA)及抗核抗体谱(ANAs)的阳性分布情况及其临床意义。方法 分析该院 2017 年 1—12 月检测 ANA 标本 5 539 例。采用间接免疫荧光法(IIF)对 ANA 进行初筛试验,再采用线性免疫印迹法(LIA)检测 ANAs。结果 女性 ANA 阳性率高于男性,差异有统计学意义($P < 0.05$)。ANA 核型以颗粒型、胞浆型、均质型为主。ANAs 中以抗 Ro-52 抗体(Ro-52)、抗干燥综合征 A 抗体(SS-A)为主。结论 对于疑似 AID 的患者,ANA 与 ANAs 的检测结果可能不完全一致。同时检测 ANA 与 ANAs 能降低漏诊率,对 AID 的诊断具有指导作用。

关键词:抗核抗体; 抗核抗体谱; 自身免疫病**中图分类号:**R446.1**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2018)23-3595-03

自身免疫病(AID)是指机体免疫系统对自身组织或细胞产生病理性免疫应答反应而导致的组织损伤或功能障碍的疾病^[1]。自身抗体是指自身细胞内、细胞表面和细胞外抗原的免疫球蛋白,血液中存在高效价的自身抗体是自身免疫性疾病的重要特征,某些自身免疫病伴有特征性的自身抗体(谱),其产生是自身免疫性疾病的重要特征之一^[2-3]。目前,越来越多的疑难杂症被诊断为 AID,而自身抗体检测不但是 AID 诊断最重要的指标,而且在病情判断、监测和预后等方面也同样具有重要作用,同时自身抗体在疾病发生、发展中的作用也逐步阐明^[4]。早诊断和及时治疗能有效控制病情的发展,保护器官功能,改善患者的生活质量^[5]。间接免疫荧光法在临床上是一个重要的筛查实验,免疫印迹法则对 AID 的诊断和鉴别诊断、病情评估与治疗检测等都具有重要的临床应用价值^[6]。为了解本地区自身抗体的阳性率及特异性抗体的分布情况,本研究回顾了 2017 年 1—12 月本院门诊及住院患者抗核抗体(ANA)及抗核抗体谱(ANAs)的试验结果,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2017 年 1—12 月本院门诊及住院检测自身抗体患者 5 539 例。其中男 1 155 例,年龄 8 个月至 95 岁;女 4 384 人,年龄 4 个月至 95 岁,排除重复送检的患者标本。在 5 539 例 ANA 检测者中,有 3 171 例同时检测了 ANAs。其中男 841 例,女 2 330 例。

1.2 仪器与试剂 (1)ANA 检测:采用欧蒙公司 ANA 的 IgG 检测试剂盒(间接免疫荧光法),利用 EUROBlot Master 进行检测。(2)ANAs 检测:采用欧蒙公司 ANAs(IgG)检测试剂盒(性线免疫印迹法),利用 EUROIMMUN IF Sprinter 进行检测。

1.3 方法 均使用黄色真空采血管,采集全血分离血清。(1)ANA 检测:1:100 稀释后的患者血清同时与人喉癌上皮细胞(Hep-2)和猴肝细胞进行反应,30 min 后磷酸盐溶液(PBS)洗板,浸泡 5 min,加入荧光标记的二抗;30 min 后 PBS 洗板,浸泡 5 min,甘油封片。荧光显微镜下人工判读结果,以抗体滴度 $\geq 1:100$ 为阳性。(2)ANAs 检测:定性检测血清中抗核糖核蛋白抗体(RNP)、抗 Sm 抗体(Sm)、抗干燥综合征 A 抗体(SS-A)、抗 Ro-52 抗体(Ro-52)、抗干燥综合征 B 抗体(SS-B)、抗硬皮病 70 抗体(Scl-70)、抗多发性肌炎抗体(PM-Scl)、抗 Jo-1 抗体(Jo-1)、抗着丝点 B 蛋白抗体(CENP-B)、抗增殖细胞核抗原抗体(PCNA)、抗双链 DNA 抗体(dsDNA)、抗核小体抗体(NUC)、抗组蛋白抗体(HI)、抗核糖体 P 蛋白抗体(RIB)和抗线粒体 M2 抗体(M2)共 15 种不同抗原 IgG 类抗体。先在温育槽中加入 1.5 mL 标本缓冲液,温育 5 min,弃去液体。加入 1.5 mL 已稀释的血清标本,摇摆床上室温温育 30 min。吸去液体,用 1.5 mL 清洗缓冲液清洗膜条 3 次,每次 5 min。加入 1.5 mL 的酶标二抗,摇摆床室温温育 30 min,重复洗涤过程。加入 1.5 mL 底物液,室温温育 10 min。吸去液体,蒸馏水清洗膜条 3 次,每次 1 min。膜条风干后,采用 EUROLIneScan 软件扫描膜条,自动判读结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行统计学分析。计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者的自身抗体总阳性率 在 5 539 例患者中,阳性患者 2 502 例,阳性率为 45.2%(2 502/5 539)。其中男性阳性率 32.7%(378/1 155),女性阳性率 48.4%(2 124/4 384),二者差异有统计学意义($\chi^2 =$

△ 通信作者, E-mail:ljxjyk@163.com。

91.232, $P < 0.05$)。在同时检测 ANAs 谱的 3 171 例患者中,阳性患者 1 328 例,阳性率 41.9%。其中男性患者 841 例,阳性为 227 例,阳性率为 27.0%(227/841);女性患者 2 330 例,阳性 1 101 例,阳性率为 47.3%(1 101/2 330),二者比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 104.224, P < 0.05$)。

2.2 ANA 阳性标本核型分析 细胞核颗粒型 1 199 例,均质型 216 例,胞浆型 507 例,核仁型 138 例,核膜型 19 例,混合型 289 例,着丝点型 92 例,核点型 9 例,高尔基体 22 例,其他未分型及少见核型 11 例。

2.3 ANAs 阳性率分布 15 种特异性抗体中, Ro-52、SS-A、RNP 阳性率最高,分别为 22.74%、17.66%、7.73%;PCNA 阳性率最低,为 1.14%。

2.4 ANA 与 ANAs 检测的符合率 在 3 171 例同时检测 ANA 与 ANAs 的患者标本中,二者结果的总符合率为 73.1%。其中 ANA(+)/ANAs(+) 共 1 101 例,占 34.7%;ANA(+)/ANAs(-) 580 例,占 18.3%;ANA(-)/ANAs(+)-273 例,占 8.6%;ANA(-)/ANAs(-) 1 217 例,占 38.4%。ANA(+) 标本中检测结果的符合率为 65.5%,ANA(-) 标本中检测结果的符合率为 81.7%,ANAs(+) 标本中检测结果的符合率 80.1%,ANAs(-) 标本中检测结果的符合率 67.7%。

3 讨论

本研究对本院 2017 年 1—12 月门诊及住院 5 539 例患者的 ANA 结果进行统计分析,结果显示,其阳性率为 45.2%。统计结果与全国其他实验室的结果略有差异,各地阳性率统计结果为 16%~49%^[7-11]。原因可能为:(1)效价判断的差异。目前国内大部分实验室采用人工镜检判读,很难做到标准化,这是阳性率差异及患者异地就诊结果差异的最主要原因^[12]。尽管间接免疫荧光法在 ANA 检测中应用广泛,但该方法受手工操作、人工判读及实验室条件等因素的制约,一直以来制约着 ANA 检测标准化进程^[13]。(2)就诊人群的差异。AID 患者集中就诊在风湿免疫专科较强的医院,导致阳性率差异比较大,例如协和医院统计的阳性率明显高于其他地区^[9]。女性患者阳性率高于男性患者,各地研究结果一致,证明自身免疫性疾病的发病率在女性人群中更高。研究男女生理因素导致的 ANA 发病率差异,可能会更好地指导临床诊疗。

ANAs 核型检测结果显示, Ro-52、SS-A、RNP、HI、SS-B 阳性率高。Ro-52 抗体不具备疾病特异性,也可在肌炎、系统性硬化症、其他胶原病、新生儿红斑狼疮、原发性胆汁性肝硬化、自身免疫性肝炎及病毒性肝炎中检出该抗体。SS-A、SS-B 主要表现为核细颗粒型荧光,最常见于干燥综合征,也可见于系统性红斑狼疮(SLE)及原发性胆汁性肝硬化。SS-A 在新

生儿红斑狼疮中的阳性率几乎为 100%。RNP、Sm 主要表现为核粗颗粒型荧光。高滴度的 RNP 为混合型结缔组织病的特征性抗体,Sm 为 SLE 的特异性抗体。Scl-70、PM-Scl 主要表现为核仁型荧光。Scl-70 多见于弥散型进行性系统性硬化病,PM-Scl 以多发性肌炎,系统性硬化病重叠患者中最为常见。CENP-B 主要表现为着丝点型荧光,对进行性系统性硬化病有诊断意义。ds-DNA、HI、NUC 主要表现为核均质型荧光。ds-DNA 主要见于 SLE,与疾病活动性存在相关性。HI 主要见于药物诱导性狼疮,NUC 主要见于 SLE 肾脏损害患者中。PCNA 为细胞周期相关抗体,主要见于 SLE 患者中。M2、RIB、Jo-1 主要表现为胞浆型抗体。MA 对 PBC 最具有诊断意义。RIB 为 SLE 的特异性抗体之一。Jo-1 主要见于多发性肌炎患者中^[4]。

Hep-2 细胞属于人来源培养细胞,核抗原丰富、特异性强、含量高,核大、细胞结构清晰、易于结果观察及核型分析,被美国风湿病学会誉为 ANA 检测的“金标准”^[14]。免疫印迹法在膜条上平行包被了高度纯化的抗原,能够更好地区分特异性抗体。二者各有优势,ANA 抗原种类更全,ANAs 能更好地鉴定出特异性抗体。ANA 荧光核型与 ANAs 的抗体类型没有绝对的规律可循,不能简单的依据荧光核型来判断相应的抗体类型。本研究结果显示,二者联合检测总体符合率可以达到 73.1%,有 580 例标本 ANA(+)/ANAs(-),占 18.3%,可能是由于 ANA 不仅与 AID 有关,还存在于许多慢性疾病(如慢性肝炎、肝硬化)和老年人外周血中,部分肿瘤(骨髓瘤、淋巴瘤)患者也可能有 ANA 的存在^[15]。273 例标本 ANA(-)/ANAs(+),占 8.6%。有研究认为可能是由于患者处于疾病早期,ANA 表达水平较低,低于检出限,也有可能是由于患者经治疗后病情缓解,ANA 水平下降^[16]。联合检测 ANA 和 ANAs 可提高阳性检出率,增加检测结果特异性,对自身型疾病的诊断、治疗有较大的应用价值,在临床应给予患者综合检测,以提高诊断的准确性。

综上所述,AID 患者自身抗体检测结果显示,女性自身抗体阳性率高于男性;ANA 核型以核颗粒型、胞浆型、混合型及均质型为常见;ANAs 以 Ro-52、SS-A、RNP 阳性率比较高。ANA 及 ANAs 检测各有优势,联合检测更有助于 AID 的诊断及疗效观察。

参考文献

- [1] 周莲,符明昌,羊文芳.抗核抗体和抗核抗体谱联合检测诊断自身免疫性疾病的临床价值[J].海南医学,2016,27(18):2965-2968.
- [2] 李永哲.风湿免疫性疾病自身抗体检测的临床意义[J].辽宁医学杂志,2004,18(4):176-178.
- [3] 黄鸿鑫,宋武琦,张凤民.自身抗体及其作用与机制研究

- 进展[J]. 国际免疫学杂志, 2015, 38(6): 581-585.
- [4] 欧蒙学院. 自身免疫性疾病及其实验室诊断——免疫荧光分册[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2016.
- [5] OLIVIERI I, SARZI-PUTTINI P, BUGATTI S A, et al. Early treatment in early undifferentiated arthritis[J]. Autoimmun Rev, 2012, 11(8): 589-592.
- [6] 李宝萍, 张梅, 郭楠, 等. 间接免疫荧光法与免疫印迹法联合检测抗核抗体的重要性[J]. 中国医药指南, 2015, 13(22): 151-152.
- [7] 索淑会, 崔海荣, 闵彦, 等. 济南地区 946 例抗核抗体检测结果的临床分析[J]. 实用医药杂志, 2016, 33(10): 877-879.
- [8] 罗雯斌, 姚燕珍, 于倩. 11 578 例自身抗体检测结果及临床分析[J]. 医学研究杂志, 2014, 43(12): 122-125.
- [9] 周仁芳, 胡朝军, 张蜀澜, 等. 临床标本抗核抗体 102 651 例检测结果回顾性分析[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(12): 1339-1343.
- [10] 郑金菊, 牟晓峰. 抗核抗体核型检测与特异性抗核抗体谱检测的对比分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(20): 2813-2815.
- [11] 蒲泽晏, 胥国强, 李祥坤, 等. 2 513 例抗核抗体与抗核抗体谱检测结果对比分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(10): 1346-1347.
- [12] 李永哲. 自身抗体检测技术临床推广应用和质量保证工作中应重视的问题[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(9): 769-773.
- [13] 宋宁, 胡朝军, 张蜀澜, 等. 2013 年全国 229 家实验室抗核抗体谱结果对比分析[J]. 临床检验杂志, 2015, 33(7): 542-546.
- [14] PETERSON L K, WELLS D, SHAW L, et al. Novel method for quantitative ANA measurement using near-infrared imaging[J]. J Immunol Methods, 2009, 349(1/2): 1-8.
- [15] 申静. 抗核抗体与抗核抗体谱检测结果 567 例回顾性分析[J]. 基层医学论坛, 2014, 18(32): 4398-4399.
- [16] 高仕萍, 杨文勇, 资云菊, 等. 抗核抗体和抗核抗体谱联合检测在自身免疫性疾病诊断中的临床应用价值[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(2): 222-223.

(收稿日期: 2018-05-29 修回日期: 2018-08-15)

• 临床探讨 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2018.23.036

肾移植术后动态监测血浆 NT-proBNP 水平对移植肾功能延迟恢复的临床意义

谢浣宽, 罗欢[△]

(广西中医药大学附属瑞康医院检验科, 南宁 530011)

摘要:目的 探讨血浆 B 型钠尿肽氨基末端前体(NT-proBNP)水平对移植肾功能延迟恢复(DGF)的临床意义。方法 选择在该院行首次同种异体肾移植术患者术后发生肾功能延迟恢复者 18 例为 DGF 组, 并随机选择同期肾功能恢复良好者 18 例为对照组。使用电化学发光法持续检测血浆 NT-proBNP 水平, 同时使用苦味酸法、脲酶-谷氨酸脱氢酶法分别检测血肌酐、血尿素氮等指标变化, 并对两组数据进行统计学分析。结果 DGF 组的 NT-proBNP、血肌酐水平明显高于对照组($P < 0.01$); NT-proBNP 与血肌酐、血尿素氮呈正相关($P < 0.05$)。DGF 时, NT-proBNP 出现下降的时间早于血肌酐和血尿素氮变化, 且下降幅度也更大。结论 NT-proBNP 是一种可独立检测的生物标志物, 其与血肌酐、血尿素氮呈正相关, 且在提示发生 DGF 时存在一定的时间优势, 有利于临床对 DGF 的预测和监控。

关键词:肾移植; 移植肾功能延迟恢复; B 型钠尿肽氨基末端前体**中图分类号:** R446.6**文献标志码:** A**文章编号:** 1672-9455(2018)23-3597-04

肾移植是治疗慢性肾衰竭的重要手段。而移植肾功能延迟恢复(DGF)是肾移植术后早期常见的并发症, 常导致肾移植术后早期无尿、少尿, 增加急性排斥发生率, 大大降低了移植肾的长期存活率。寻找一种动态监控 DGF 全过程, 并且能够早期预测 DGF 恢复期到来的实验室指标, 并尽早进行干预, 对保护肾功能、延长肾脏长期存活具有深远的意义。有研究表明, 成功的肾移植可使患者血浆 B 型钠尿肽氨基末端前体(NT-proBNP)水平显著下降甚至恢复正常, 并随

肾功能变化呈动态改变^[1-2]。本研究动态监测肾移植患者术后血浆 NT-proBNP 水平变化, 探讨其与 DGF 的临床意义, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 1 月至 2017 年 12 月在本院行首次同种异体肾移植术的 36 例患者为研究对象, 其中发生 DGF 者共 18 例为 DGF 组。DGF 定义为: 术后 1 周血清肌酐未下降至 $400 \mu\text{mol/L}$, 少尿或无尿, 需透析治疗, 在排除排斥反应等其他因素的情