

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.10.002

抗核膜抗体阳性患者在送检抗核抗体中的临床意义^{*}

王 健,周 薇,黄欣琪,隋靖喆,徐涓娟,李 晞[△]
广西医科大学第一附属医院检验科,广西南宁 530021

摘 要:**目的** 探讨抗核膜抗体(ANEA)在临床连续送检抗核抗体(ANA)标本中的阳性率及其临床意义。**方法** 回顾性分析该院门诊和住院患者连续送检的 107 937 例 ANA 检测标本,对荧光模型判读为 ANEA 阳性的患者进行临床资料收集与分析。另选取 50 例 ANEA 阴性但 ANA 阳性的患者和 65 例健康体检者作为疾病对照组和健康对照组,分析 ANEA 阳性患者实验室检查结果的特点。**结果** 107 937 例 ANA 常规检测标本中 ANA 阳性 27 467 例,ANA 总体阳性率为 25.45%;荧光模型判读为 ANEA 220 例,占 ANA 阳性标本的 0.80%。ANEA 阳性患者诊断为自身免疫性疾病(AID)141 例,其中以原发性胆汁性胆管炎(PBC)最为常见,为 30 例(21.28%);诊断为非 AID 患者 79 例,占 ANEA 阳性患者的 35.91%。AID 患者荧光滴度以中、高滴度(1:320、1:1 000)为主(66.67%),非 AID 患者荧光滴度以低滴度(1:100)为主(81.01%)。与疾病对照组和健康对照组比较,ANEA 阳性患者血清 γ -谷氨酰转移酶和碱性磷酸酶水平均明显升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** ANEA 可见于多种临床疾病,主要以 AID 为主,特别是 PBC 最为常见。中、高滴度的 ANEA 阳性患者同时出现 GGT、ALP 水平异常升高,要注意临床随诊,警惕 AID 发生。

关键词:抗核抗体; 抗核膜抗体; 荧光模型; 自身免疫性疾病

中图分类号:R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)10-1350-04

The clinical significance of patients with positive anti-nuclear envelope antibody in the test of antinuclear antibody^{*}

WANG Jian,ZHOU Wei,HUANG Xinqi,SUI Jingzhe,XU Juanjuan,LI Xi[△]
Department of Clinical Laboratory,the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University,Nanning,Guangxi 530021,China

Abstract: Objective To explore the positive rate and clinical significance of anti-nuclear envelope antibody (ANEA) in clinical consecutive anti-nuclear antibody (ANA) samples. **Methods** A retrospective analysis of 107 937 cases of ANA test specimens from the outpatient department and inpatients were conducted, and clinical data were collected and analyzed from patients who were judged as ANEA positive by fluorescence model. Another 50 cases of ANA negative but ANA positive and 65 healthy people were selected as the disease control group and the control group, and the characteristics of clinical laboratory examination results of ANEA positive patients were analyzed. **Results** Among the 107 937 ANA routine test samples, 27 467 were positive, and the positive rate of ANA was 25.45%. 220 were ANEA judged by fluorescence model, accounting for 0.80% of ANA positive samples. 141 ANEA-positive patients were diagnosed with autoimmune disease (AID), among which primary biliary cholangitis (PBC) was the most common, (30 cases, accounting for 21.28%). 79 patients were diagnosed with non-AID, accounting for 35.91% of ANEA positive samples. The fluorescence titers of patients diagnosed with AID were mainly medium and high titer (1:320, 1:1 000), accounting for 66.67%, and the fluorescence titers of non-AID patients were mainly low titer (1:100), accounting for 81.01%. Compared with the control group, the serum γ -glutamyltransferase and alkaline phosphatase levels of patients with positive ANEA were significantly increased, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** ANEA can be found in many diseases, mainly AID, especially PBC is

^{*} **基金项目:**国家自然科学基金项目(81660275);广西医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目(S2017022);广西壮族自治区卫生和计划生育委员会自筹经费科研课题(Z2015520)。

作者简介:王健,男,副主任技师,主要从事自身免疫性疾病发病机制及实验室诊断方面的研究。[△] **通信作者,**E-mail:cicicats@126.com。

本文引用格式:王健,周薇,黄欣琪,等.抗核膜抗体阳性患者在送检抗核抗体中的临床意义[J].检验医学与临床,2021,18(10):1350-1353.

the most common. ANEA positive patients with medium to high titer may accompany with elevated GGT and ALP levels, and should have clinical follow-up and be alert to the occurrence of AID.

Key words: antinuclear antibody; antinuclear envelope antibody; fluorescence model; autoimmune disease

抗核抗体(ANA)是以真核细胞各种成分为靶抗原的一组自身抗体,ANA 是筛查自身免疫性疾病(AID)的重要实验室指标。2018 年中国医师协会风湿免疫科医师分会自身抗体检测专业委员会发布《抗核抗体检测的临床应用专家共识》,使间接免疫荧光法(IFA)检测 ANA 的标准化得到进一步加强,荧光模型的判读也得到进一步规范^[1]。抗核膜抗体(ANEA)阳性是间期人喉表皮样癌细胞(HEp-2)细胞核膜出现连续或点状的荧光,是分裂期细胞质出现荧光而浓缩染色体未结合荧光的一种罕见 ANA 荧光模型^[2]。原发性胆汁性胆管炎(PBC)患者常出现 ANEA 阳性,目前少有针对 ANEA 的系统研究。本研究旨在分析临床连续送检标本中 ANEA 的阳性率与疾病分布,并分析 ANEA 阳性患者临床实验室检查结果的特征,为明确 ANEA 的临床意义提供证据。

1 资料与方法

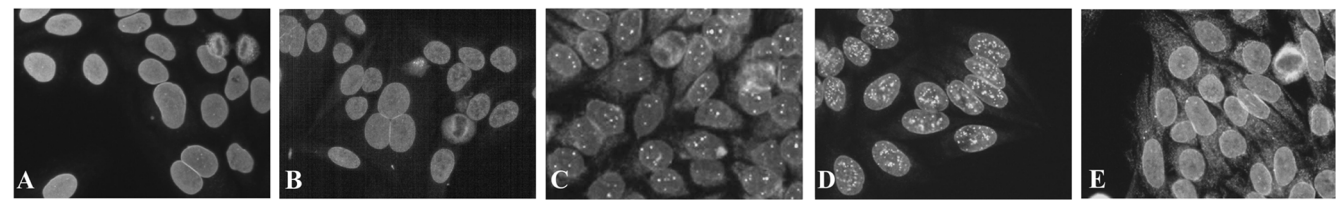
1.1 一般资料 收集 2014 年 8 月至 2019 年 2 月本院门诊和住院患者连续送检 ANA 的患者 107 937 例(排除重复送检患者),其中男 47 025 例(43.57%),年龄 0~107 岁,中位年龄 46 岁;女 60 912 例(56.43%),年龄 0~101 岁,中位年龄 42 岁。收集 ANA 检测结果荧光模式判定为 ANEA 阳性的 220 例患者作为 ANEA 阳性组,收集其临床资料及实验室检查结果,包括疾病诊断,血常规,肝、肾功能指标等。另选取 ANEA 阴性但 ANA 阳性的 50 例患者作为疾病对照

组,其中男 15 例(30%),年龄 10~82 岁,中位年龄 55 岁;女 35 例(70.00%),年龄 8~71 岁,中位年龄 37 岁;诊断为 AID 32 例(64.00%),非 AID 18 例(36.00%)。另选取 65 例性别、年龄匹配的健康体检者作为健康对照组,其中男 16 例(24.62%),年龄 23~77 岁,中位年龄 45 岁;女 49 例(75.38%),年龄 24~85 岁,中位年龄 46 岁。

1.2 方法

1.2.1 IFA 检测 ANA 抗原基质为 HEp-2 细胞和猴肝组织冷冻切片(德国欧蒙医学实验诊断股份公司),标本起始稀释度为 1:100。严格按照试剂说明书操作。

1.2.2 ANEA 结果判读 根据 ANA 荧光模型国际共识(ICAP)及国内专家编著的图谱对 ANA 荧光模型的描述,ANEA 有以下 2 个主要特征。(1)光滑核膜型:分裂间期 HEp-2 细胞核膜呈现光滑均匀的纤细环形荧光,相接触的 2 个细胞核膜荧光染色明显加强;分裂期浓缩染色体荧光染色阴性(图 1A)。猴肝细胞核膜呈现光滑的环状荧光,呈“小圆圈样”。(2)点状核膜型:分裂间期 HEp-2 细胞核膜呈现点状荧光染色,相接触的 2 个细胞核膜荧光染色明显加强;分裂期浓缩染色体荧光染色阴性(图 1B)。猴肝细胞核膜呈现不连续的点状荧光,呈“小圆圈样”。ANEA 也可见于 ANA 阳性的混合荧光膜型,例如 ANEA 混合核点型(图 1C)、着丝点型(图 1D)、胞浆型(图 1E)。



注:A 为光滑核膜型;B 为点状核膜型;C 为 ANEA 混合核点型;D 为 ANEA 混合着丝点型;E 为 ANEA 混合胞浆型。

图 1 荧光显微镜下 ANEA 荧光示意图

1.2.3 实验室指标检测仪器 血常规采用 Beckman LH780 血细胞分析仪检测,肝、肾功能采用 HITA-CHI 7600 全自动生化分析仪检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS24.0 软件进行数据分析处理。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,符合偏态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 107 937 例临床标本 ANA 总体阳性率 在 107 937 例标本中,ANA 阳性 27 467 例,ANA 总体阳性率为 25.45%,其中男 6 147 例(22.38%),女 21 320 例(77.62%)。男、女性人群 ANA 阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 6 726.92, P < 0.05$)。

2.2 ANEA 阳性率 27 467 例 ANA 阳性标本中,荧光模型判读为 ANEA 阳性的标本共 220 例,其中男 62 例(28.18%),女 158 例(71.82%),男、女性人

群 ANEA 阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2=4.30, P=0.038$)。ANEA 在总体人群中阳性率为 0.20%,在 ANA 阳性标本中的阳性率为 0.80%。220 例 ANEA 阳性标本中单纯核膜型 170 例(77.27%);混合型 50 例(22.73%),其中核膜型合并胞浆型 28 例(56.00%),最为常见,其次为合并核点型 10 例(20.00%),合并着丝点型 4 例(8.00%)。

2.3 ANEA 阳性患者疾病诊断及滴度分布 220 例 ANEA 阳性患者诊断为 AID 141 例(64.09%),见表 1。141 例 AID 患者中最为常见的是 PBC[30 例(21.28%)],其次为系统性红斑狼疮(SLE)[22 例(15.60%)]和骨关节炎(OA)[21 例(14.89%)]。此外,79 例(35.91%)诊断为非 AID。这些疾病涉及肺部疾病、肝胆系统疾病、肾脏疾病、心血管系统疾病等。进一步将 220 例 ANEA 阳性患者根据临床诊断分成低(1:100)、中(1:320)、高(1:1 000)3 个滴度。由表 1 可见,诊断为 AID 的患者中、高滴度(1:320、1:1 000)的比例高于非 AID 患者,低滴度非 AID 患者的比例远远高于 AID 患者,差异均有统计学意义($\chi^2=47.421, P<0.05$)。

2.4 3 组实验室检查结果比较 ANEA 阳性组血清 γ -谷氨酰转氨酶(GGT)和碱性磷酸酶(ALP)水平均高于疾病对照组和健康对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 1 220 例 ANEA 阳性患者临床诊断及
荧光滴度分布[n(%)]

诊断	n	ANEA 阳性患者荧光滴度分布		
		1:100	1:320	1:1 000
AID	141	46(32.62)	85(60.29)	10(7.09)
PBC	30	9(30.00)	15(50.00)	6(20.00)
OA	21	8(38.10)	13(61.90)	0(0.00)
SLE	22	5(22.73)	14(63.63)	3(13.64)
RA	14	5(35.71)	9(64.29)	0(0.00)
DM	13	3(23.08)	10(76.92)	0(0.00)
AIH	13	3(23.08)	10(76.92)	0(0.00)
其他 AID	28	13(46.43)	15(53.57)	0(0.00)
非 AID	79	64(81.01)	14(17.72)	1(1.27)

注:RA 为类风湿关节炎;DM 为皮炎;AIH 为自身免疫性肝炎。

表 2 3 组实验室检查结果比较[M(P₂₅,P₇₅)/ $\bar{x}\pm s$]

组别	n	GGT(U/L)	AST(U/L)	ALP(U/L)	UA (μ mol/L)	TC (mmol/L)	Hb (g/L)	PLT ($\times 10^9$ /L)
ANEA 阳性组	220	39.00(21.00,90.00)	23.50(18.00,43.00)	80.00(63.50,121.00)	307.84 $\pm$ 144.13	4.98 $\pm$ 2.63	111.37 $\pm$ 24.08	217.20 $\pm$ 102.47
疾病对照组	50	24.00(17.00,50.00)	29.00(24.00,49.00)	71.00(58.00,108.00)	339.43 $\pm$ 136.08	4.09 $\pm$ 1.21	112.87 $\pm$ 27.01	249.39 $\pm$ 102.90
健康对照组	65	21.50(15.75,30.75)	21.50(17.00,27.00)	61.00(52.00,66.00)	363.94 $\pm$ 97.34	5.03 $\pm$ 0.91	137.57 $\pm$ 16.14	259.43 $\pm$ 47.14
U/F		6.059	4.603	4.626	3.287	2.794	23.951	4.488
P ₁		0.003	0.011	0.011	0.039	0.064	<0.001	0.010
P ₂		0.018	0.560	0.030	0.181	0.028	0.715	0.051
P ₃		0.002	0.008	0.011	0.014	0.901	<0.001	0.007

注:P₁ 为 3 组比较,P₂ 为 ANEA 阳性组与疾病对照组比较;P₃ 为 ANEA 阳性组与健康对照组比较;AST 为天门冬氨酸氨基转移酶;UA 为尿酸;TC 为总胆固醇;Hb 为血红蛋白;PLT 为血小板计数。

3 讨 论

采用 HEP-2 细胞作为抗原基质以 IFA 检测是筛查 ANA 的“金标准”。ANA 的滴度及荧光模型可为临床医生的诊疗提供参考^[3]。例如,抗着丝点抗体常见于局限性硬皮病,同时该抗体也可作为系统硬化的分类标准之一^[4]。ANEA 是 HEP-2 细胞在荧光显微镜下呈现出细胞核周围线性或点状荧光的一种荧光模型,其靶抗原为核板层素(A、B、C)、核板层素相关多肽、核板层素 B 受体、相对分子质量为 210 $\times 10^3$ 的跨膜糖蛋白(gp210)、相对分子质量为 62 $\times 10^3$ 的跨膜蛋白(p62)等^[5]。虽然 ICAP 将 ANEA 列为必报荧光模型,但 ANEA 阳性率并不高,且目前的文献均以病例报道及小型队列研究为主,其临床意义并不明确,因此,针对罕见荧光模型的大样本研究可为其临

床意义的阐明提供证据。

本研究回顾性分析了 107 937 例连续送检 ANA 的临床标本,其中 ANA 阳性者为 27 467 例,ANA 总体阳性率为 25.45%;荧光模型判读为 ANEA 阳性 220 例,其阳性率占总体人群的 0.20%,占 ANA 阳性标本的 0.80%,且女性患者多于男性,差异有统计学意义($P<0.05$)。本研究报道的 ANEA 阳性率与文献^[6]报道的阳性率(0.47%~1.24%)相似。虽然 ANEA 在总体人群及 ANA 阳性人群的阳性率并不高,属于罕见的荧光模型,但是 ANEA 可能会随着人群、种族、地域的不同,其阳性率也略有差别。

220 例 ANEA 阳性患者中有 141 例(64.09%)诊断为 AID,79 例(35.91%)诊断为非 AID。AID 患者中 PBC 最为常见,其次是 SLE、OA、RA。国外文献

也报道 ANEA 可见于自身免疫性血细胞减少症、AIH、系统性硬化、磷脂综合征等^[7]。本研究结果显示, ANEA 阳性的非 AID 诊断涉及肺部疾病、肝胆系统疾病、肾脏疾病和心血管系统疾病等。由此可见, ANEA 并不具有疾病特异性。进一步分析 ANEA 阳性患者的荧光滴度发现, 诊断为 AID 的患者荧光滴度主要以中、高滴度(1:320、1:1 000)为主, 诊断为非 AID 的患者主要以低滴度(1:100)为主。AID 的主要特征之一就是患者产生针对自身抗原成分的致病性自身抗体, 此类自身抗体常以高滴度的形式长期存在于患者体内。

为了明确 ANEA 阳性患者的临床特点, 本研究选择 50 例 ANEA 阴性但 ANA 阳性的患者作为疾病对照组, 65 例健康体检者作为健康对照组, 比较 3 组研究对象的临床实验室检查结果的差异。结果显示, 与疾病对照组比较, ANEA 阳性组患者血清 GGT、ALP 及 TC 水平均明显升高; 与健康对照组比较, ANEA 阳性组 GGT、ALP、AST 水平均明显升高, UA、Hb 和 PLT 水平均明显降低。因 ANEA 阳性组患者多为 AID, AID 是累及多器官、多系统的全身性疾病, 因此, 与健康对照组比较, 多项实验室指标均出现异常。

PBC 是一种慢性自身免疫性胆汁淤积性肝病, 其主要特征是胆汁淤积, 血清抗线粒体抗体(AMA)、特异性 ANA 阳性, 并伴有慢性而非化脓性肉芽肿的组织学证据, 如果患者得不到及时有效的治疗, 最终将发展为终末期胆汁性肝硬化。ALP 和(或)GGT 水平异常增高是 PBC 诊断的重要临床指标, ALP 更是作为诊断 PBC 的标准之一^[8]。同时, PBC 患者也会出现脂代谢异常^[9]。本研究结果显示, ANEA 阳性患者 64.09% 诊断为 AID, 且 PBC 最为常见, 由此可见, ANEA 阳性组的检查结果与疾病对照组和健康对照组的差异与 PBC 的临床特点相符合。此外, 有研究表明, 抗 gp210 抗体阳性的 PBC 患者其胆汁淤积症状较为严重, 且长期预后较差^[10]; 抗 p62 抗体可能与进展期或晚期 PBC 相关^[11], 这两种抗体在 HEp-2 上的荧光模型均对应为 ANEA, 提示 ANEA 可能与 PBC 的进展和疾病严重程度相关。本研究结果显示, ANEA 组患者 ALP、GGT 水平均明显高于疾病对照组和健康对照组, 表明 ANEA 阳性患者容易出现肝功能指标异常及胆管系统受损的情况。为明确 ANEA 特异性抗体在阳性人群中的临床意义, 有必要对 ANEA 的特异性抗体谱做进一步鉴定和分析。

综上所述, ANEA 是较为少见的 ANA 荧光模型, ANEA 并无疾病特异性, 其阳性多见于 AID 患

者, 特别是 PBC、SLE 患者, 也可见于多种非 AID。当患者出现中、高滴度 ANEA, 且同时出现血清 ALP 和(或)GGT 水平异常升高时, 要注意临床随诊, 警惕 AID 发生。

参考文献

- [1] 中国医师协会风湿免疫科医师分会自身抗体检测专业委员会. 抗核抗体检测的临床应用专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2018, 41(4): 275-280.
- [2] CHAN E K, DAMOISEAUX J, CARBALLO O G, et al. Report of the first international consensus on standardized nomenclature of antinuclear antibody HEp-2 cell patterns 2014-2015[J]. Front Immunol, 2015, 20(6): 412-418.
- [3] DAMOISEAUX J, ANDRADE L E C, CARBALLO O G, et al. Clinical relevance of HEp-2 indirect immunofluorescent patterns: the International consensus on ANA patterns (ICAP) perspective[J]. Ann Rheum Dis, 2019, 78(7): 879-889.
- [4] VAN DEN HOOGEN F, KHANNA D, FRANSEN J, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American college of rheumatology/european league against rheumatism collaborative initiative[J]. Ann Rheum Dis, 2013, 72(11): 1747-1755.
- [5] CAREY E J, ALI A H, LINDOR K D. Primary biliary cirrhosis[J]. Lancet, 2015, 386(10003): 1565-1575.
- [6] 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.
- [7] HAN E, JO S J, LEE H, et al. Clinical relevance of combined anti-mitochondrial M2 detection assays for primary biliary cirrhosis[J]. Clin Chim Acta, 2017, 464: 113-117.
- [8] LINDOR K D, BOWLUS C L, BOYER J, et al. Primary biliary cholangitis: 2018 practice guidance from the American association for the study of liver diseases[J]. Hepatology, 2019, 69(1): 394-419.
- [9] 邵体红, 徐腾达, 田然, 等. 原发性胆汁性胆管炎血脂异常分布特点[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2018, 12(2): 169-172.
- [10] LASCHTOWITZ A, DE VEER R C, VAN DER MEER A J, et al. Diagnosis and treatment of primary biliary cholangitis[J]. United European Gastroenterol J, 2020, 8(6): 667-674.
- [11] BAUER A, HABIOR A. Detection of autoantibodies against nucleoporin p62 in sera of patients with primary biliary cholangitis[J]. Ann Lab Med, 2019, 39(3): 291-298.