

抗着丝点抗体在多种疾病中的变化和意义*

邢雪梅^{1a}, 李艳琴^{1a}, 沈刚^{1a}, 张军^{1a}, 刘蓉², 李毅^{1b}, 李向东^{1b}

(1. 西安交通大学医学部附属3201医院 a. 检验科; b. 肾病科, 陕西汉中 723000;

2. 陕西省疾病预防控制中心慢性病管理科, 西安 710054)

摘要:目的 研究抗着丝点抗体(anticentromere antibody, ACA)在多种疾病中的表达,为临床诊治提供指导。方法 回顾性分析129例ACA阳性患者的临床资料及实验室检测指标。结果 ①129例ACA阳性患者中女性116例,男性13例,女性ACA的血清滴度高,复合型抗体多见,与男性相比差异有统计学意义($\chi^2=6.28, P=0.01; \chi^2=6.85, P=0.003$)。②118例有详细临床资料的患者中自身免疫性疾病65例(55.08%),非自身免疫性疾病53例(44.92%)。自身免疫性疾病多见复合型、高滴度抗体,与非自身免疫性疾病比较差异有统计学意义($\chi^2=21.97, P<0.001; \chi^2=11.44, P=0.001$)。结论 ACA在自身免疫性疾病和非自身免疫性疾病中均可见到,临床表现多样,且可引起多器官受累,应引起足够重视。

关键词:抗着丝点抗体;着丝点蛋白B;自身免疫性疾病

中图分类号:R593.2;R392.11 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2016)03-088-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.03.024

Variation and Significance of Anticentromere Antibody(ACA) in Multi-Diseases

XING Xue-mei^{1a}, LI Yan-qin^{1a}, SHEN Gang^{1a}, ZHANG Jun^{1a}, LI Rong²,

LI Yi^{1b}, LI Xiang-dong^{1b} (1a. Department of Clinical Laboratory;

1b. Department of Nephrology, 3201 Hospital Affiliated to Xi'an Jiaotong University

School of Medicine, Shaanxi Hanzhong 723000, China; 2. Chronic Disease Management Department,

Shaanxi Province Center for Disease Control and Prevention, Xi'an 710054, China)

Abstract: Objective To study the expression of anticentromere antibody (ACA) on multiple diseases to help the clinical diagnosis and treatment. **Methods** The clinical and laboratory data of 129 cases with positive ACA were retrospectively analyzed. **Results** ①116 females and 13 males were found among 129 cases with positive ACA, and serology titer of ACA in female patients was higher than male and more compound antibody were shown in female patients, which was significantly different compared with males ($\chi^2=6.28, P=0.01; \chi^2=6.85, P=0.003$). ②Among 118 cases which had detailed clinical information, there were 65 patients suffered from autoimmune diseases (55.08%) and 53 cases suffered from non-autoimmune diseases (44.92%). Autoimmune disease cases showed more compound and high serology titer, there were significant difference between the two groups ($\chi^2=21.97, P<0.001; \chi^2=11.44, P=0.001$). **Conclusion** Though ACA was rarely found, it was shown in autoimmune and non-autoimmune diseases and can be not too severe or fetal and even lead to multi-organ failure. So it should be taken seriously.

Keywords: anticentromere antibody; centromere protein B; autoimmune disease

抗着丝点抗体(anticentromere antibody, ACA)由Moroi等^[1]于1980年用间接免疫荧光法检测时发现,一直被认为是系统性硬化症的特异性抗体,特别是对CREST亚型有重要意义。随着检验技术的发展,国内外文献显示ACA在原发性胆汁性肝硬化、系统性红斑狼疮、舍格伦综合征、类风湿性关节炎等其他自身免疫性疾病以及部分非自身免疫性疾病中有较高的检出率^[2,3],但多数研究聚焦于ACA在自身免疫性疾病中的意义,对其在多种疾病的表达缺乏足够重视,并且临床资料不够详尽,因此我们对129例ACA阳性患者的详细临床资料进行回顾性分析总结,多角度探讨其在疾病

中的临床意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象 回顾分析2009年1月~2014年7月3201医院住院及门诊患者中抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)检测结果阳性的2 832例样本,且同时检测抗可提取性核抗原(extractable nuclear antigens, ENA)。收集其中ACA阳性的患者临床资料129例,无重复病历。男性13例,女性116例,男女比例约为1:9。年龄结构为男性32~83岁(61.77±17.38岁),女性19~81岁(56.04±12.24岁)。将符合美国风湿病学会诊断标准的判定为自身免疫性疾病,其他疾病诊断均符合相应

* 作者简介:邢雪梅(1973-),女,大学本科,主治医师,从事自身免疫性疾病实验室诊断, E-mail:13379369191@163.com。

的疾病诊断标准。并根据抗体类型及荧光强度的检测结果不同进行分组(单纯抗体组与复合抗体组、低滴度组与高滴度组),分析其在自身免疫疾病、非自身免疫疾病以及性别间的差异。

1.2 试剂和方法

1.2.1 检测抗核抗体(ANA)采用德国欧蒙间接免疫荧光法试剂盒,选用 HEP-2 细胞和猴肝两种组织细胞基质,待检血清自 1 : 100(体积比)起稀释,与组织细胞孵育 30 min,加入异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记的 IgG 抗体结合 30 min,洗片、封片后奥林巴斯 BX-51 荧光显微镜观察结果,组织或细胞内出现特征性绿色荧光、血清稀释度 $\geq 1 : 100$ 为阳性。明显阳性的标本稀释血清至 1 : 1 000 ~ 1 : 10 000,以刚刚能检测到特异性荧光反应时样品的最高稀释倍数为最终滴度。

1.2.2 采用德国欧蒙免疫印迹试剂盒,免疫印迹膜条上事先包被有 nRNP/Sm, Sm, SSA, SSB, Ro-52, Scl-70, Jo-1, Ds-DNA, CENP-B, rRNP, AMA-M2,核小体,组蛋白等多种纯化抗原。实验严格按照试剂说明书使用欧蒙全自动免疫印条仪 EU-ROBlotMaster II 进行操作,膜条自然干燥后用系统自带 EUROLinScan 软件判读结果,根据条带色度深浅反映血清中抗体浓度。

1.3 统计学分析 采用 SPSS18.0 软件进行统计分析,计量资料的结果用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 来表示。满足 *t* 检验条件的资料,组比较采用两个独立样本 *t* 检验;反之,则采用两个独立样本秩和检验。计数资料组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 诊断明确的 ACA 阳性患者疾病种类构成 见表 1。129 例 ACA 阳性患者中具备详细临床资料的有 118 例,另 11 例门诊患者临床资料缺失,故不纳入本组统计。118 例患者中诊断为自身免疫性疾病的 65 例(55.08%),非自身免疫疾病 53 例(44.92%)。

2.2 疾病与抗体类型、抗体滴度的关系

2.2.1 依据抗体类型分为两组:见表 2。单纯抗体组:118 例 ACA 阳性样本中,48 例在间接免疫荧光法的荧光模型上仅有着丝点型的表现,其靶抗原仅 CENP-B。复合抗体组:70 例在荧光模型上除着丝点型,还具有如:核颗粒型、核均质型、核仁型、核周型、胞浆颗粒型等,也检测到 CENP-B, nRNP/Sm, SSA, SSB, RO-52, Jo-1, rRNP, AMA-M2,核小体,组蛋白等多种自身抗体同时存在。

两组在自身免疫疾病和非自身免疫性疾病的

比较中差异有统计学意义 ($\chi^2 = 21.97, P < 0.001$)。

表 1 118 例诊断明确的 ACA 阳性患者疾病种类构成

疾病	n	构成比(%)
自身免疫性疾病	65	55.08
CREST 综合征	3	2.54
SS	9	7.63
RA	6	5.08
SLE	7	5.93
PBC	14	11.86
ANCA 相关小血管炎	1	0.85
AIH	2	1.69
重叠综合征	11	9.32
未分类结缔组织病	12	10.17
非自身免疫性疾病	53	44.92
结核	4	3.39
肾脏疾病	22	18.64
恶性肿瘤	5	4.24
肝脏疾病	7	5.93
肺部疾病	4	3.39
肠疾病	2	1.69
HCV	2	1.69
HBV	2	1.69
其它	5	4.24

2.2.2 依据荧光的强度分为两组:见表 2。低滴度组(血清稀释度 $< 1 : 1 000$)22 例、高滴度组(血清稀释度 $\geq 1 : 1 000$)96 例。两组在自身免疫疾病和非自身免疫性疾病的比较中差异有统计学显著性意义 ($\chi^2 = 11.44, P = 0.001$)。

表 2 疾病与抗体类型和抗体滴度的关系

组别	疾病分类		χ^2	P 值
	自身免疫疾病	非自身免疫疾病		
抗体类型				
单纯抗体组	14	34	21.97	<0.001
复合抗体组	51	19		
抗体滴度				
低滴度组	5	17	11.44	0.001
高滴度组	60	36		

2.3 性别与抗体类型、抗体滴度的关系 129 例 ACA 阳性的患者包括 118 例明确诊断病例和 11 例临床资料不全病例,其中男性 13 例,女性 116 例,按抗体类型分为单纯抗体组(57 例)和复合抗体组(72 例);按荧光强度分为低滴度组(22 例)和高滴度组(107 例)(分组标准同上)。组间差异均有统计学意义 ($\chi^2 = 6.28, P = 0.01; \chi^2 = 6.85, P = 0.003$)。

3 讨论 抗核抗体(ANA)是针对细胞内所有抗原成分的自身抗体的总称,包括核均质型、核颗粒型、核仁型、胞浆颗粒型等多种荧光模型。抗着丝点抗体(ACA)是ANA的一种类型,它的靶抗原分为3种不同的蛋白质,分别是CENP-A, CENP-B和CENP-C,其中主要抗原为CENP-B,它能与含有各种ACA的血清反应^[4]。关于ACA的致病机制并不清楚,目前有研究发现当ACA直接注入真核细胞时,对细胞分裂有明显影响,提示CENP抗原在细胞周期中的重要作用。遗传学研究也发现ACA阳性患者DQB1第一区域26位疏水性亮氨酸残基被谷氨酸或酪氨酸残基替代,提示HLA-DQB1 26位非亮氨酸残基是产生ACA的必要条件^[5]。早期研究认为ACA是系统性硬化症局限型(CREST综合征)的诊断特异性抗体,但近年的国内外研究发现在其他自身免疫性疾病和非自身免疫性疾病中也能检测到高滴度的ACA。

本研究共检测ANA 7 000余例,阳性2 832例,其中ACA阳性129例,阳性率4.6%,提示ACA是一种抗原明确但荧光模型相对少见的自身抗体。其中118例诊断明确的ACA阳性患者中,自身免疫性疾病65例,占55.08%,与非自身免疫性疾病的44.92%比较无明显差异。自身免疫性疾病组中,原发性胆汁性肝硬化(PBC)14例(11.86%),在重叠综合征中还有6例PBC分别合并CREST综合征、舍格伦综合征(SS)、自身免疫性肝炎(AIH)。而非自身免疫性疾病组中亦有3例为肝硬化。已有研究证实ACA可识别颗粒酶B产生的片段,提示细胞毒细胞中颗粒酶B可能参与了ACA的致病机制。颗粒酶B可以诱导细胞凋亡,促进肝硬化的发生^[6]。

在自身免疫性疾病组中,复合型抗体51例,血清稀释度 $\geq 1:1\ 000$ 的病例占60例,远高于非自身免疫性疾病。51例复合型抗体中33例同时有SSA抗体阳性,28例Ro-52抗体阳性,主要见于SS,RA和SLE。但无1例并发Scl-70。是否高滴度的复合型抗体阳性更易发展为多脏器损伤的自身免疫性疾病,应引起临床关注。

本组资料中,女性ACA抗体的血清滴度更高,复合型抗体也更多见。男性的发病年龄略高于女性,更多见于单纯ACA和CENP-B阳性。13例男性中仅有1例是未分类结缔组织病,1例ANCA相关性血管炎,其余均为非自身免疫性疾病。由此可见女性ACA阳性更多见于自身免疫性疾病,疾病也相对严重、复杂。

既往研究多认为ACA主要见于CREAST综合征,然而本研究显示单纯CREST综合征仅3

例,加之重叠综合征中有5例CREST综合征,也仅占6.78%,且均为女性,但其中6例(75%)以雷诺氏征为首发症状。说明ACA并非CREST综合征的特异性抗体,但与雷诺氏征高度相关。

7例系统性红斑狼疮(SLE)病例均经肾脏活检,5例证实存在狼疮性肾炎,特别值得提出的是其中1例狼疮性肾炎患者,双链DNA(Ds-DNA)1:100(间接免疫荧光法,血清稀释度 $\geq 1:10$ 为阳性)。这与以往报道认为ACA较少与Ds-DNA, Sm等SLE特征性抗体同时存在,少见肾损伤有所不同^[7]。

在53例非自身免疫性疾病中肾脏疾病占22例(18.64%),主要有慢性肾功能衰竭10例、糖尿病肾病6例、其他6例,但其中9例ACA的血清稀释度 $< 1:1\ 000$ 。肝脏疾病7例(脂肪肝、药物性肝损伤、肝硬化)、恶性肿瘤5例(卵巢癌、宫颈癌、结肠癌、肺癌)、肺部疾病4例(慢性阻塞性肺气肿、间质性肺炎、支气管炎)。其他疾病15例(结核、病毒性肝炎、溃疡性结肠炎、荨麻疹、巨幼细胞性贫血等)。可见ACA抗体在多种非自身免疫性疾病中亦常见,血清抗体滴度从1:100~1:10 000,临床表现轻重不一,且可引起多器官受累。此结果与其他文献报道相类似^[8,9]。

经回顾性分析临床资料,结合数据的统计,可以证明ACA虽然是一种少见的荧光模型,但疾病谱较广,临床表现不一,可导致多器官受累。提示临床工作中应关注高滴度、复杂靶抗原的病例。ACA阳性率较低,临床资料收集困难,本研究仍将持续扩大样本量,进一步结合临床资料与生化指标分析肝、肾功能损伤与ACA关系。

参考文献:

- [1] Moroi Y, Peebles C, Fritzler MJ, et al. Autoantibody to centromere(kinetochore) in scleroderma sera[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1980, 77(3):1627-1631.
- [2] 穆亚宏, 刘小玲, 任子荣, 等. 抗着丝粒蛋白B抗体在风湿性疾病中的临床价值[J]. 现代检验医学杂志, 2013, 28(3):152, 155.
Mu YH, Liu XL, Ren ZR, et al. Clinical value of antibody of anti centromere protein B in rheumatic disease[J]. J Mod Lab Med, 2013, 28(3):152, 155.
- [3] Miyawaki S, Asanuma H, Nishiyama S, et al. Clinical and serological heterogeneity in patients with anticentromere antibodies[J]. J Rheumatol, 2005, 32(8):1488-1494.
- [4] Earnshaw W, Bordwell B, Marino C, et al. Three human chromosomal autoantigens are recognized by sera from patients with anti-centromere antibodies[J]. J Clin Invest, 1986, 77(2):426-430.

- [5] Agarwal SK. The genetics of systemic sclerosis[J]. *Discov Med*, 2010, 10(51):134-143.
- [6] Schachna L, Wigley FM, Morris S, et al. Recognition of granzyme B-generated autoantigen fragments in scleroderma patients with ischemic digital loss[J]. *Arthritis Rheum*, 2002, 46(7):1873-1884.
- [7] 武永康, 王兰兰, 彭晓东, 等. 抗着丝点抗体在自身免疫性疾病中的临床应用价值探讨[J]. *华西医学*, 2005, 20(4):650-652.
- Wu YK, Wang LL, Peng XD, et al. Clinical analysis and applicable value of anticentromere antibodies in autoimmune disease[J]. *West China Medical Journal*, 2005, 20(4):650-652.
- [8] 夏晴, 仲人前, 范列英, 等. 385例癌患者自身抗体检测结果分析[J]. *上海医学检验杂志*, 2001, 16(1):5-7.
- Xia Q, Zhong RQ, Fan LY, et al. Analysis of serum autoantibodies in 385 case of malignancies[J]. *Shanghai Journal of Medical Laboratory Sciences*, 2001, 16(1):5-7.
- [9] Vlachoyiannopoulos PG, Moutsopoulos HM. Anticentromere(ACA)-positive Sjögren's syndrome: a disease entity? [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2013, 31(2):163-164.

收稿日期:2016-01-04

修回日期:2016-03-13

(上接 87 页)无法研究其相关性。继发性肺结核治疗是长期的过程,疗程一般大于半年,本研究只是选取治疗 0~8 周时间段,主要考虑治疗后期是维持治疗,8 周后痰涂片结果都已转为阴性。本研究发现 FOXP3 TSDR 检测结果可以反映继发性肺结核患者治疗初期 Treg 的数量变化。

总之,我们利用 FOXP3 TSDR PCR 方法分析继发性肺结核患者初诊及各疗程时间点的调节 T 细胞频率,发现该方法对继发性肺结核患者治疗初期 Treg 的数量变化了解有一定的意义。

参考文献:

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2014[M]. Geneva: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 2014:08.
- [2] Ohkura N, Kitagawa Y, Sakaguchi S. Development and maintenance of regulatory T cells[J]. *Immunity*, 2013, 38(3):414-423.
- [3] 钱晨. 结核感染 T 细胞酶联免疫斑点试验与结核抗体试验在诊断骨关节结核中的临床应用价值[J]. *现代检验医学杂志*, 2015, 30(4):74-76.
- Qian C. Clinical value of tuberculosis infection T cell ELISPOT and TB antibody test in experimental tuberculosis of bones and joints[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2015, 30(4):74-76.
- [4] 赵英伦, 胡溪源, 李翠萍, 等. 肺结核患者血清 caspase-3 活性研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2014, 29(5):40-41, 43.
- Zhao YL, Hu XY, Li CP, et al. Serum caspase-3 activity in tuberculosis patients[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2014, 29(5):40-41, 43.
- [5] Ngalamika O, Liang G, Zhao M, et al. Peripheral whole blood FOXP3 TSDR methylation: a potential marker in severity assessment of autoimmune diseases and chronic infections[J]. *Immunol Invest*, 2015, 44(2):126-136.
- [6] 张贺秋, 赵雁林. 现代结核病诊断技术[M]. 北京:人民卫生出版社, 2013:47-55.
- Zhang HQ, Zhao YL. Modern TB diagnosis techniques[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2013:47-55.
- [7] Wieczorek G, Asemisen A, Model F, et al. Quantitative DNA methylation analysis of FOXP3 as a new method for counting regulatory T cells in peripheral blood and solid tissue[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(2):599-608.
- [8] Sakaguchi S, Setoguchi R, Yagi H, et al. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in self-tolerance and autoimmune disease[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2006(305):51-66.
- [9] Plesa G, Zheng L, Medvec A, et al. TCR affinity and specificity requirements for human regulatory T-cell function[J]. *Blood*, 2012, 119(15):3420-3430.
- [10] Katoh H, Zheng P, Liu Y. FOXP3: genetic and epigenetic implications for autoimmunity[J]. *J Autoimmun*, 2013(41):72-78.
- [11] Littman DR, Rudensky AY. Th17 and regulatory T cells in mediating and restraining inflammation[J]. *Cell*, 2010, 140(6):845-858.
- [12] Lal G, Bromberg JS. Epigenetic mechanisms of regulation of Foxp3 expressing [J]. *Blood*, 2009, 114(18):3727-3735.
- [13] Hori S. Lineage stability and phenotypic plasticity of Foxp3+ regulatory T cells[J]. *Immunol Rev*, 2014, 259(1):159-172.
- [14] Ohkura N, Hamaguchi M, Morikawa H, et al. T cell receptor stimulation-induced epigenetic changes and Foxp3 expression are independent and complementary events required for Treg cell development[J]. *Immunity*, 2012, 37(5):785-799.
- [15] Lopez-Pastrana J, Shao Y, Chernaya V, et al. Epigenetic enzymes are the therapeutic targets for CD4(+)CD25(+/high)Foxp3(+) regulatory T cells[J]. *Transl Res*, 2015, 65(1):221-240.

收稿日期:2015-12-03

修回日期:2016-03-29