

## 血清抗核抗体荧光核型及抗核抗体谱检测在 系统性红斑狼疮诊断中的应用价值分析

刘卫霞, 庞爱梅, 郭绪晓, 张恒 (山东中医药大学附属医院检验科, 济南 250011)

**摘要:** 目的 研究抗核抗体 (antinuclear antibody, ANA) 荧光核型和抗体谱联合检测在系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 患者诊断中的应用价值。方法 对 135 例 SLE 患者、96 例非 SLE 风湿性疾病患者与 96 例健康体检者分别采用间接免疫荧光法 (indirect immunofluorometric assay, IIF) 和线性免疫印迹法 (linearity immunoblotting assay, LIA) 检测血清中的 ANA 荧光核型和 ANA 谱, 分析两种方法联合检测在 SLE 患者诊断中的应用价值。结果 SLE 病人 ANA 阳性率为 99.3%, 显著高于疾病对照组 (75.0%) 和健康对照组 (4.5%), 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。ANA 荧光核型以核颗粒型为主 (46.7%), 其次是核均质型 (22.2%), 还有少量的胞浆型 (13.3%) 和均质胞浆混合型 (11.1%)。ANA 谱分析发现双链 DNA (double-strand DNA, dsDNA) 抗体、抗低分子量核糖核蛋白 (low-molecular ribose nuclear protein, nRNP) 抗体、抗核小体 (nucleosome, NUC) 抗体、Ro-52 抗体、SSA 抗体、抗核糖体 P 蛋白 (ribosome P protein, RIB) 抗体、抗组蛋白 (histone, HI) 抗体、Smith (Sm) 抗体和 SSB 抗体九种抗体的敏感度均显著高于疾病对照组和健康对照组, 两两比较差异均有统计学意义 ( $\chi^2 = 6.60 \sim 83.74$ , 均  $P < 0.01$ )。其中 dsDNA 抗体的敏感度和特异度分别为 57.8% 和 99.0%, nRNP 抗体的敏感度和特异度分别为 48.9% 和 95.8%, NUC 抗体的敏感度和特异度分别为 40% 和 99.0%, 这三种抗体的敏感度和特异度都比较高。结论 ① dsDNA 抗体、nRNP 抗体和 NUC 抗体可以作为 SLE 诊断的标志性抗体。② ANA 荧光核型分析敏感度高而特异度低, ANA 谱检测敏感度稍低而特异度高。这两种方法各有其优缺点, 在临床工作中应把二者结合起来应用以利于 SLE 的诊断和治疗。

**关键词:** 系统性红斑狼疮; 抗核抗体; 荧光核型; 抗核抗体谱

中图分类号: R593.241; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 02-032-04

doi:10.3969 / j.issn.1671-7414.2020.02.010

### Clinical Value of Examination of Serum Antinuclear Antibody(ANA) Fluorescence Pattern and ANA Spectrum on Diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus

LIU Wei-xia, PANG Ai-mei, GUO Xu-xiao, ZHANG Heng

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional  
Chinese Medicine, Jinan 250011, China)

**Abstract: Objective** To investigate the clinical value of combined examination of serum antinuclear (ANA) fluorescence pattern and ANA spectrum on diagnosis of systemic lupus erythematosus (SLE). **Methods** 135 patients with SLE, 96 patients with non-SLE rheumatic disease and 96 healthy people were examined for ANA fluorescence pattern by indirect immunofluorometric assay(IIF) and ANA spectrum by linearity immunoblotting assay (LIA). The clinical value of combined examination of the two methods on diagnosis of SLE was analyzed. **Results** The positive rate of ANA in SLE patients was 99.3% which was significantly higher than disease control group(75.0%) and healthy control group(4.5%). The ANA fluorescence pattern included nuclear granular type(46.7%) ,nuclear homogeneous type(22.2%), cytoplasmic type(13.3%) and homogenous cytoplasmic mixed type(11.1%). It was found by ANA spectrum analysis that the sensitivity of nine types of Ab(including dsDNA Ab, nRNP Ab, NUC Ab, Ro52 Ab, SSA Ab, RIB Ab, HI Ab, Sm Ab and SSB Ab) in SLE patients was significantly higher than disease control group and healthy control group. By Chi-square test, the difference were statistically significant ( $\chi^2 = 6.60 \sim 83.74$ , all  $P < 0.01$ ). The sensitivity and specificity of dsDNA Ab was 57.8% and 96.3%, that of nRNP Ab was 48.8% and 85.7%, and that of NUC Ab was 40% and 94.7%. The sensitivity and specificity of all the three kinds of antibody in SLE patients was very high. **Conclusion** ① DsDNA Ab, nRNP Ab and NUC Ab can be used as biological marker for diagnosis of SLE. ② The sensitivity of examination of ANA fluorescence pattern is high while its specificity is very low. The sensitivity of analysis

基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目 (2013-069)。

作者简介: 刘卫霞 (1974-), 女, 博士, 主管技师, 主要从事风湿性疾病病因和治疗的研究, E-mail:785504900@qq.com。

of ANA spectrum is slightly lower but its specificity is very high. Each of the two methods has its advantages and disadvantages, so the two methods should be combined for diagnosis and treatment of SLE.

**Keywords:** systemic lupus erythematosus; antinuclear antibody; fluorescence pattern; ANA spectrum

系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 是一种机体免疫功能紊乱导致的多器官系统受累的自身免疫性疾病。它的发病机制尚不清楚, 遗传、环境和激素水平的变化导致机体免疫失调和对自身抗原的耐受性破坏, 导致自身抗体产生、炎性介质形成和内脏器官的破坏。SLE 异质性强, 复发和缓解交替出现, 病程复杂, 容易漏诊、误诊。充分认识预测 SLE 发生、发展和恶化的生物标志物有助于该病的诊断和治疗。抗核抗体 (antinuclear antibody, ANA) 是 SLE 病人体内出现较早且常见的抗体, 近年来发展了多种手段来检测病人体内的抗核抗体, 其中用间接免疫荧光法检测抗核抗体荧光核型和用线性免疫印迹法检测抗体的具体类型是近年发展起来的用来检测抗核抗体的方法, 在某些医院已经得到广泛应用, 但关于二者在 SLE 诊断中的价值还没有明确的报道。本研究就两种方法在 SLE 诊断中的价值做一具体分析, 以便更好地推广二者在 SLE 诊断中的应用, 利于病人的治疗。

## 1 材料和方法

**1.1 研究对象** 选取 2018 年 10 月~2019 年 10 月山东中医药大学附属医院门诊及住院 SLE 患者 135 例, 其中男性 6 例, 女性 129 例, 年龄 14~65 岁, 平均年龄  $38.8 \pm 14.8$  岁, 所有患者均符合 1997 年美国风湿病学会修订的 SLE 诊断标准。另外选择同期诊治的非 SLE 风湿性疾病病人 96 例作为疾病对照组。其中男性 10 例, 女性 86 例, 年龄 18~76 岁, 平均年龄  $45.3 \pm 15.8$  岁。包括类风湿性关节炎 66 例,

舍格伦综合征 10 例, 皮肤炎 10 例, 混合性结缔组织病 8 例, 系统性硬化症 2 例, 均符合诊断标准。另外选取本院查体中心体检健康者 96 例作为健康对照组, 其中男性 11 例, 女性 85 例, 年龄 20~75 岁, 平均年龄  $38.9 \pm 16.8$  岁。

**1.2 试剂和仪器** ANA 荧光核型分析采用德国欧蒙公司生产的 ANA 荧光核型检测试剂盒, ANA 谱分析采用德国欧蒙公司生产的 ANA 谱检测试剂盒。

**1.3 方法** 采集受检者静脉血 3ml 于真空采血管中, 3 500r/min 离心 5min, 取血清检测。ANA 荧光核型分析采用间接免疫荧光法, 采用 HEp-2/猴肝细胞两种生物薄片进行检测, 以 ANA 滴度  $>1:100$  为阳性。ANA 谱分析采用线性免疫印迹法, 线性条带的强度用扫描仪扫描, 然后用软件 EUROLineScan 分析, 定性为 -, +, ++, +++。

**1.4 统计学分析** 采用 SPSS19.0 软件进行处理。计数资料采用卡方检验, 检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 SLE 病人 ANA 荧光核型分析** 135 例 SLE 病人 ANA 阳性率为 99.3%, 显著高于疾病对照组 (75.0%) 和健康对照组 (4.5%), 差异有统计学意义 ( $P<0.01$ )。其荧光核型主要包括核颗粒型 63 例 (46.7%), 核均质型 30 例 (22.2%), 胞浆型 18 例 (13.3%), 均质胞浆混合型 15 例 (11.1%), 均显著高于疾病对照组和健康对照组, 差异均有统计学意义 (均  $P<0.05$ )。

表 1 SLE 病人 ANA 谱阳性率分析 [n(%)]

类别	SLE 组 (n=135,A)	疾病对照组 (n=96,B)	健康对照组 (n=96,C)	A vs B		A vs C	
				$\chi^2$	P	$\chi^2$	P
dsDNA 抗体	78 (57.8)	2 (2.1)	0 (0)	76.87	0.000	83.74	0.000
Ro52- 抗体	70 (51.9)	20 (20.8)	1 (1.0)	24.73	0.000	70.97	0.000
SSA 抗体	69 (51.1)	14 (14.6)	1 (1.0)	32.52	0.000	66.59	0.000
nRNP 抗体	66 (48.9)	8 (8.3)	0 (0)	39.84	0.000	65.71	0.000
NUC 抗体	54 (40)	2 (2.1)	0 (0)	43.93	0.000	50.12	0.000
RIB 抗体	33 (24.4)	2 (2.1)	0 (0)	21.82	0.000	30.56	0.000
HI 抗体	28 (20.7)	2 (2.1)	0 (0)	17.28	0.000	22.66	0.000
Sm 抗体	27 (20)	2 (2.1)	0 (0)	16.41	0.000	21.53	0.000
SSB 抗体	24 (17.8)	6 (6.3)	0 (0)	6.60	0.03	19.05	0.000
PM-scl 抗体	3 (2.2)	2 (2.1)	0 (0)	0.03	0.50	0.78	0.25
CENP B 抗体	3 (2.2)	0 (0)	0 (0)	0.78	0.25	0.78	0.25
JO-1 抗体	0 (0)	2 (2.1)	0 (0)	0.62	0.25	/	/



2.2 SLE病人ANA谱分析 见表1。用LIA法分析SLE病人ANA谱,发现在SLE病人中,双链DNA(dsDNA)抗体、Ro52-抗体、SSA抗体、抗体分子核糖核蛋白(nRNP)抗体、抗核小体(NUC)抗体、抗核糖体P蛋白(RIB)抗体、抗组蛋白(HI)抗体、Smith(Sm)抗体和SSB抗体的阳性率(即抗体的敏感度)均显著高于疾病对照组和健康对照组(均 $P<0.05$ )。敏感度较高的九种抗体特异度分别为dsDNA抗体(99.0%)、Ro52-抗体(89.1%)、SSA抗体(92.1%)、nRNP抗体(95.8%)、NUC抗体(99.0%)、RIB抗体(99.0%)、HI抗体(99.0%)、Sm抗体(99.0%)和SSB抗体(96.9%),可以看出九种抗体的特异度都比较高。

2.3 SLE病人不同ANA荧光核型对应的抗核抗体种类的比较 见表2。我们比较了SLE病人不同的ANA荧光核型对应抗核抗体的种类,发现不同的荧光核型对应的抗核抗体种类不同。

表2 SLE病人不同的ANA荧光核型对应的抗核抗体种类的比较[n(%)]

类别	核颗粒型 (n=63)	核均质型 (n=30)	胞浆型 (n=18)	均质胞浆混合型 (n=15)
nRNP抗体	45(71.4)	6(20)	7(38.8)	4(26.7)
SSA抗体	36(57.1)	18(60)	7(38.8)	4(26.7)
Ro52-抗体	33(52.4)	24(80)	4(22.2)	1(6.7)
dsDNA抗体	30(47.6)	24(80)	11(61.1)	14(93.3)
Sm抗体	18(28.6)	2(6.7)	1(5.6)	8(53.3)
NUC抗体	18(28.6)	21(70)	4(22.2)	11(73.3)
HI抗体	15(23.8)	15(50)	4(22.2)	14(93.3)
SSB抗体	9(14.3)	6(20)	4(22.2)	1(6.7)
RIB抗体	6(9.5)	15(50)	14(77.8)	4(26.7)

可以看出,核颗粒型荧光核型以抗nRNP抗体和dsDNA抗体为主,核均质型以dsDNA抗体和NUC抗体为主,胞浆型以RIB抗体和dsDNA抗体为主,均质胞浆混合型以dsDNA抗体和HI抗体为主。四种荧光核型共有的抗体是dsDNA抗体,所以dsDNA抗体是SLE病人最为特异的抗体。

### 3 讨论

系统性红斑狼疮是一种病人体内出现自身抗体导致的多器官系统受累的自身免疫性疾病。抗核抗体是一组将自身真核细胞的各种成分脱氧核糖核蛋白、DNA,可提取的核抗原和RNA作为靶抗原的自身抗体的总称。本研究发现135例SLE病人ANA阳性率达99.3%,说明SLE病人体内都存在抗核抗体。

我们对SLE病人的ANA谱进行了具体分析,发现dsDNA抗体、nRNP抗体和NUC抗体是SLE病人较为敏感和特异的抗体,可以作为SLE病人的标志性抗体。

dsDNA抗体是SLE病人最为敏感和特异的抗体,敏感度为57.8%,特异度达99.0%,所以dsDNA抗体可以用作SLE筛查首选的血清学指标,这与多位作者的研究结果一致<sup>[1-3]</sup>。美国风湿病学会早在1997年已将抗dsDNA抗体纳入诊断SLE的重要分类标准之一。dsDNA抗体参与SLE多种临床表现的发生,与SLE患者的心脏损害、肝脏损害及神经损害等有密切关系,且滴度越高,病损程度越严重<sup>[4]</sup>。

其次nRNP抗体也是SLE病人较为敏感和特异的抗体,敏感度为48.8%,特异度达95.8%。nRNP抗体与混合性结缔组织病关系最为密切,常被用来区分结缔组织病和非结缔组织病,SLE患者体内抗nRNP抗体高滴度常提示与其他风湿性疾病(如多发性肌炎、系统性硬化症)有重叠。抗nRNP抗体与疾病的活动性相关,有研究表明,SLE患者抗nRNP抗体阳性组发热、关节炎和雷诺现象的发生率较阴性组高<sup>[5]</sup>。

抗核小体抗体(NUC抗体)也是SLE病人出现的较为敏感和特异的抗体,敏感度为40%,特异度达99.0%。SLE抗体产生的机制尚未阐明,认为凋亡缺陷是SLE病理生理的关键机制,核小体被认为是SLE的主要抗原。NUC抗体对SLE诊断的敏感度和特异度均较高,用于SLE的诊断可信度为90%,尤其对于抗dsDNA阴性的SLE患者,NUC更具有诊断价值<sup>[6-7]</sup>。

Sm抗体对SLE有较高的特异度,对于早期的、治疗预后的判断有很大帮助,但检出率低,本研究显示,Sm抗体的敏感度为20%,与文献报道一致<sup>[4,7]</sup>。由于检出率低,在一定程度上影响了SLE的诊断。

Ro52-抗体和SSA抗体虽然在SLE病人中也有较高的阳性率,但在舍格伦综合征(SS)患者最常见,常被认为是SS的标志性抗体。

综上所述,ANA核型分析对于SLE的诊断敏感度较高,但特异度低(仅达60.4%),而ANA谱分析尤其dsDNA抗体、nRNP抗体和NUC抗体这三种抗体对于SLE的诊断敏感度和特异度均很高,对SLE的诊断和预后有很高的利用价值。我们在临床工作中要注意将ANA核型分析与ANA谱检测这两种方法联合起来应用,以利于SLE病人的诊断和治疗。

(下转38页)