

系统性红斑狼疮患者多种自身抗体联合检测的临床意义

崔蕾蕾(江苏省盐城市第一人民医院 224000)

【摘要】 目的 探讨血清抗核抗体(ANA)、抗可溶性抗原(ENA)抗体共 16 项自身抗体联合检测在系统性红斑狼疮(SLE)诊断中的应用价值。**方法** 收集 90 例 SLE 患者、90 例风湿性疾病患者和 90 例健康者血清,采用间接免疫荧光法检测 ANA,采用蛋白质免疫印迹法检测其他 15 项抗体。**结果** 90 例 SLE 患者 ANA、抗核糖体核糖蛋白抗体(抗 nRNP)、抗 Smith 抗体(抗 Sm)、抗干燥综合征 A 抗体(抗 SSA)、抗 Ro-52 抗体、抗双链 DNA 抗体(抗 ds-DNA)、抗核小体抗体(AnuA)、组蛋白(AHA)和抗核糖体 P 蛋白抗体(ARPA)检测阳性率分别为 97.8%、56.7%、33.3%、77.8%、70.0%、35.6%、38.9%、33.3%和 43.3%,均高于风湿性疾病患者组和健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。ANA 灵敏度、阴性预测值最高,特异性最低。除 ANA 以外,抗 nRNP/Sm、ARPA、AnuA、抗 SSA、抗 ds-DNA、抗 Sm 的正确指数均较高。抗 Sm、抗 ds-DNA、AnuA、ARPA、抗 nRNP/Sm 特异性及阳性预测值较高,此 5 种自身抗体具有互补关系。**结论** ANA 因灵敏度高,特异性低,只适宜作为 SLE 的筛选指标。抗 Sm、抗 ds-DNA、AnuA、ARPA、抗 nRNP/Sm 对 SLE 具有较高的特异性,与 ANA 联合检测可互相弥补其缺陷,有利于 SLE 的诊断和治疗。

【关键词】 系统性红斑狼疮; 自身抗体; 灵敏度; 特异性

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.10.007 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)10-1214-03

The clinical significance of combined detection of autoantibodies in systemic lupus erythematosus CUI Lei-lei (The First People's Hospital of Yancheng, Yancheng, Jiangsu 224000, China)

【Abstract】 Objective To study the clinical significance of combined detection of 16 sorts of serum autoantibodies, including antinuclear antibody(ANA), anti-ENA, et al. **Methods** Serum samples of patients group with systemic lupus erythematosus (SLE, $n=90$), comparison group with other auto-immune diseases ($n=90$) and normal control group ($n=90$) were detected for ANA by indirect immunofluorescence assay and for the other fifteen antibodies by Western blot. **Results** The positive rates of ANA, anti-rRNP/sm, anti-sm, anti-SSA, anti-Ro-52, ds-DNA, AnuA, AHA and ARPA among 90 cases of patients group with SLE were respectively 97.8%, 56.7%, 33.3%, 77.8%, 70.0%, 35.6%, 38.9%, 33.3% and 43.3%, and the positive rates of other antibodies were higher than comparison group and normal control group ($P<0.05$). Sensitivity and negative predictive value of ANA was the highest, but specificity was the lowest. Except for ANA, anti-rRNP/sm, ARPA, AnuA, anti-SSA, ds-DNA and anti-Sm were with higher right index. Anti-sm, ds-DNA, AnuA, ARPA and anti-rRNP/sm were with high specificity and positive predictive value, which were complement with each other. **Conclusion** ANA might be with high sensitivity and low specificity, hence it could be suitable only for SLE screening test. For anti-Sm, ds-DNA, AnuA, ARPA and anti-rRNP/sm could have high specificity with SLE. Combined detection of these antibodies might minimize the limitations of single detection, and be useful in diagnosis and treatment of SLE.

【Key words】 systemic lupus erythematosus; autoantibody; sensitivity; specificity

系统性红斑狼疮(SLE)是一种常见的自身免疫介导的,以免疫性炎症反应为突出表现的弥漫性结缔组织疾病。患者血清可检测到多种具有免疫活性的自身抗体,且在典型的临床症状、体征出现之前可被检测到^[1]。因此,自身抗体的检测对 SLE 的诊断、治疗和疗效观察具有重要意义^[2]。本研究通过联合检测血清抗核抗体(ANA)、抗核糖体核糖蛋白抗体(抗 nRNP)、抗 Smith 抗体(抗 Sm)、抗干燥综合征 A 抗体(抗 SSA)、抗 Ro-52 抗体、抗干燥综合征 B 抗体(抗 SSB)、抗 PM-Scl、抗弥漫性硬皮病(PSS)抗原 70 抗体(抗 Scl-70)、抗多发性肌炎/皮肌炎(PM/DM)标记抗体(抗 Jo-1)、着丝点蛋白 B(CENP B)、增殖细胞核抗原(PCNA)、抗双链 DNA 抗体(抗 ds-DNA)、抗核小体抗体(AnuA)、组蛋白(AHA)、抗核糖体 P 蛋白抗体(ARPA)、线粒体-M2 (AMA-M2)共 16 项自身抗体,对检测结果的临床意义进行分析,以探讨其在 SLE 诊断中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 SLE 组患者为 2012 年 1~10 月在本院就诊

的住院患者 90 例,其中男 5 例,女 85 例,年龄 18~72 岁,所有患者均符合 1997 年美国风湿病协会(ARA)关于 SLE 的诊断标准^[3]。疾病对照组患者来自本院门诊与住院患者,为临床确诊的 90 例自身免疫性疾病患者,其中男 13 例,女 77 例,年龄 13~77 岁,均符合各类有关风湿病诊断标准,包括类风湿关节炎(RA)患者 39 例,混合型结缔组织病(MCTD)患者 17 例,干燥综合征(SS)患者 19 例,多发性肌炎/皮肌炎(PM/DM)患者 11 例和弥漫性硬皮病(PSS)患者 4 例。健康对照组为同期在本院体检健康者,其中男 10 例,女 80 例,共 90 例,年龄 16~70 岁。

1.2 试剂材料

1.2.1 标本 采取所有试验对象晨起空腹静脉血 3 mL,离心留取血清,保存于 -20 ℃ 低温冰箱,检测前解冻。

1.2.2 试剂与仪器 ANA 及可溶性抗原(ENA)试剂均由欧蒙(德国)医学实验诊断股份公司生产。仪器:Olympus 荧光显微镜,EUROBlotMaster,Canonscan LIDE 100 扫描仪。

1.3 检测方法

1.3.1 间接免疫荧光法检测 ANA 采用德国欧蒙公司的间接免疫荧光法 ANA 检测试剂盒,按试剂盒要求将血清 1:100 稀释,取 25 μ L 加至加样板反应区,将再有 HEP-2 细胞和猴肝的载片盖在加样板上,室温温育 30 min 后用吐温磷酸盐缓冲液冲洗 5 min,加 20 μ L 异硫氰酸荧光素标记的抗人球蛋白至加样板反应区,室温温育 30 min 后用缓冲液冲洗 5 min,封片,在荧光显微镜下观察荧光,以大于或等于 1:100 稀释度显示荧光染色判定为阳性。

1.3.2 免疫印迹法检测 ENA 多肽抗体谱 采用德国欧蒙公司生产的欧蒙印迹法检测系统检测以下 15 种特异性抗体:抗 nRNP/Sm、抗 Sm、抗 SSA、抗 Ro-52 抗体、抗 SSB、抗 Scl-70、抗 PM-Scl、抗 Jo-1、CENP B、PCNA、抗 ds-DNA、AnuA、AHA、ARPA、AMA-M2。取 1:100 稀释的患者血清 1.5 mL 与膜条上的靶抗原反应 30 min,然后洗涤 3 次,每次 5 min,加入 1.5 mL 酶标记的抗人 IgG 反应 30 min,洗涤 3 次,每次 5 min,加入底物反应 15 min,最后以蒸馏水清洗膜条以终止反应。采用配套软件 EUROLinScan 进行结果扫描,系统自动判读出各条带的显色灰度值,灰度值大于或等于 11 为阳性。

表 1 两组血清自身抗体检测结果比较[n(%),n=90]

组别	ANA	抗 nRNP/Sm	抗 Sm	抗 SSA	抗 Ro-52	抗 SSB	抗 ds-DNA	AnuA	AHA	ARPA
SLE 组	88(97.8)	51(56.7)	30(33.3)	70(77.8)	63(70.0)	18(20.0)	32(35.6)	35(38.9)	30(33.3)	39(43.3)
疾病对照组	58(64.4)	4(4.4)	1(1.1)	38(42.2)	39(43.3)	17(18.9)	1(1.1)	3(3.3)	6(6.7)	3(3.3)
χ^2	32.635	57.836	32.773	23.704	13.032	0.035	35.659	34.159	20.000	40.248
P	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表 2 10 项自身抗体诊断 SLE 的结果(%)

项目	灵敏度	特异性	正确指数	阳性预测值	阴性预测值
ANA	97.8	35.6	33.4	60.3	94.1
抗 nRNP/Sm	56.7	95.6	52.3	92.7	68.8
抗 Sm	33.3	98.9	32.2	96.8	59.7
抗 SSA	77.8	57.8	35.6	64.8	72.2
抗 Ro-52	70.0	56.7	26.7	61.8	65.4
抗 SSB	20.0	81.1	1.1	51.4	50.3
抗 ds-DNA	35.6	98.9	34.5	97.0	60.5
AnuA	38.9	96.7	35.6	92.1	61.3
AHA	33.3	93.3	26.6	83.3	58.3
ARPA	43.3	96.7	40.0	92.9	63.0

2.2 SLE 患者自身抗体诊断性能比较 见表 2。ANA 灵敏

1.4 统计学方法 统计学分析采用 SPSS 17.0 统计软件进行,组间率的比较用 R×C 表 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。灵敏度= SLE 患者中某抗体阳性人数/ SLE 患者总数×100%,特异性=非 SLE 患者中某抗体阴性人数/非 SLE 患者总数×100%,阳性预测值=某抗体阳性的 SLE 患者数/某抗体阳性总人数×100%,阴性预测值=某抗体阴性非 SLE 患者数/某抗体阴性总人数×100%。正确指数=灵敏度+特异性-1。

2 结 果

2.1 两组多种自身抗体检测结果比较 见表 1。健康对照组未检出自身抗体。SLE 组的 ANA、抗 nRNP/Sm、抗 Sm、抗 SSA、抗 Ro-52、抗 ds-DNA、AnuA、AHA 和 ARPA 检测阳性率分别为 97.8%、56.7%、33.3%、77.8%、70.0%、35.6%、38.9%、33.3%和 43.3%,均高于疾病对照组和健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。抗 SSB 阳性率虽高于疾病对照组,但差异无统计学意义($P>0.05$)。抗 Scl-70、抗 PM-Scl、抗 Jo-1、抗 CENP B、抗 PCNA、抗 AMA-M2 在 SLE 组与疾病对照组阳性例数少,在此未进行统计学分析。

度为 97.8%,阴性预测值最高,为 94.1%,特异性最低,为 35.6%。除 ANA 以外,抗 Sm、抗 ds-DNA、AnuA、ARPA、抗 nRNP/Sm 的灵敏度较低,分别为 33.3%、35.6%、38.9%、43.3%和 56.7%,但特异性较高,分别为 98.9%、98.9%、96.7%、96.7%和 95.6%,但相互之间差异无统计学意义($P>0.05$)。抗 nRNP/Sm、ARPA、AnuA、抗 SSA、抗 ds-DNA、抗 Sm 的正确指数较高,差异有统计学意义($P<0.05$);抗 ds-DNA、抗 Sm、ARPA、抗 nRNP/Sm、AnuA 的阳性预测值较高,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 SLE 组的 5 种自身抗体的阳性互补关系 见表 3。分析其中特异性和阳性预测值较高的 5 种自身抗体的互补关系,抗 Sm、抗 ds-DNA、AnuA、ARPA、抗 nRNP/Sm 分别阴性时,另外 4 种自身抗体均有一定的阳性率。

表 3 SLE 组 5 种自身抗体的阳性关系[n(%)]

抗体阴性组	n	抗 Sm	抗 ds-DNA	AnuA	ARPA	抗 nRNP/Sm
抗 Sm 阴性	60	—	20(33.3)	22(36.7)	21(35.0)	24(40.0)
抗 ds-DNA 阴性	58	18(31.0)	—	10(17.2)	19(32.8)	32(55.2)
AnuA 阴性	55	17(30.9)	4(7.3)	—	17(30.9)	29(52.7)
ARPA 阴性	51	12(23.5)	11(21.6)	12(23.5)	—	26(51.0)
抗 nRNP/Sm 阴性	39	1(2.6)	13(33.3)	14(35.9)	13(33.3)	—

注:—表示无数据。

3 讨 论

ANA 是以各种细胞核成分为抗原的自身抗体的总称,其靶抗原主要为真核细胞的核成分,可见于多种自身免疫性疾病,其特异性不高。本研究结果显示,健康对照组 ANA 均为阴性,ANA 在各种自身免疫性疾病中均有一定的阳性检出率。本研究中 SLE 患者血清 ANA 的检出率最高,阳性率为

97.8%,其次在 SS、PSS、PM/DM、混合性结缔组织病中的阳性率分别为 84.2%、75.0%、54.5%和 52.9%。此外 ANA 阴性者不能完全排除 SLE。本研究 90 例 SLE 患者中仍有 2 例 ANA 为阴性。在 SLE 患者自身抗体检测的相关参数中,ANA 的灵敏度最高,但特异性最低,结果表明 ANA 检测在临床上对诊断自身免疫性疾病只能作为一项极为重要的筛选指标,不

能作为 SLE 的确诊条件。

ENA 指抗细胞核(或整个细胞)的核酸和核蛋白抗体的总称,这些抗体对风湿性疾病,尤其是对结缔组织病的诊断、鉴别诊断及临床治疗具有重要意义。本文研究发现,SLE 患者 ENA 抗体谱中抗 SSA、抗 Ro-52、抗 nRNP/Sm、ARPA、AnuA、抗 ds-DNA、抗 Sm、AHA 及抗 SSB 比较常见。

抗 Sm、抗 ds-DNA、AnuA、ARPA 被认为对 SLE 具有高度特异性^[4]。本研究中 SLE 组抗 Sm、抗 ds-DNA、AnuA、ARPA、抗 nRNP/Sm 特异性较高,均在 90.0% 以上。抗 ds-DNA 是公认的 SLE 标志性抗体,虽然阳性率不高,但是特异性强,几乎只在 SLE 患者中发现此抗体,并与临床表现密切相关。ARA 1997 年修定的 SLE 分类诊断标准中,其中实验室检查抗 ds-DNA 阳性成为独立 1 条^[5]。本研究结果显示,SLE 组抗 ds-DNA 的检出率为 35.6%,高于疾病对照组的 1.1%,差异有统计学意义($P < 0.01$);相对于其他抗体,其灵敏度不高,可能由于患者血清中有过多的游离 DNA 抗原,与相应的 DNA 抗体结合导致检测结果偏低,因此,抗 ds-DNA 结果阴性不能排除 SLE 的诊断^[6]。文献^[7]报道,AnuA 仅对核小体起作用,并不与其成分中的 DNA 或 AHA 反应,而且先于抗 ds-DNA 抗体和 AHA 形成,AnuA 的敏感性高,特异性强,可能成为 SLE 诊断新的标记性抗体。本研究结果显示,AnuA 的灵敏度为 38.9%,特异性高达 96.7%。抗 Sm 在疾病的早期及回顾性研究中有重要意义,它一般只在 SLE 患者血清中出现,因此,抗 Sm 已成为 ARA 2009 年修定的诊断标准之一,但其阳性率低,本研究中其灵敏度为 33.3%,特异性及阳性预测值较高,分别为 98.9% 和 96.8%,与相关报道相符^[8]。近来研究表明,抗 nRNP/Sm 抗体对 SLE 有高度特异性,阳性率为 10.0%~40.0%^[9];本文其灵敏度率为 56.7%,特异性为 95.6%,其灵敏度明显高于疾病对照组。ARPA 是 SLE 患者血清中的胞浆抗原相关抗体,对 SLE 具有高度特异性,本研究中发现 SLE 患者中 ARPA 检出率(43.3%)明显高于疾病对照组(3.3%),其特异性达 96.7%,说明 ARPA 与 SLE 相关性较高。

SLE 患者常并发 SS,所以抗 SSA、抗 SSB 阳性率在 SLE 中也较高,抗 SSA、抗 SSB 和抗 Ro-52 为 SLE 的血清相关性自身抗体,此类自身抗体与某种自身免疫性疾病密切相关,但在其他疾病也可出现,且有一定的敏感性。本文抗 SSA、抗 SSB 和抗 Ro-52 抗体阳性率在 SLE 患者中分别为 77.8%、20.0% 和 70.0%,均高于疾病对照组,标本中的抗 Ro-52 和抗 SSA 一般同时表现为阳性或者阴性。目前大多数学者认为 SSA 抗原包含了 Ro-52 抗原,那么,若抗 Ro-52 阳性,抗 SSA 也必定阳性,但本文有 14 例标本表现为抗 SSA 阳性/抗 Ro-52 阴性,4 例标本表现为抗 SSA 阴性/抗 Ro-52 阳性,部分学者认为 Ro-52 并不属于 Ro/SSA 抗原,所以 Ro-52 和 SSA 可不表现为同

时阳性或者阴性^[9]。

分析 SLE 组的 5 种自身抗体的阳性互补关系发现,任一抗体阴性的 SLE 患者血清中均可检测到其他 4 种抗体,故联合多项检测在诊断 SLE 时有明显的互补作用。

综上所述,对自身抗体的联合检测可提高 SLE 诊断的敏感性,更有利于全面分析病情所处的阶段,避免单项检测出现的漏诊情况,提高 SLE 的检出率,对 SLE 病情的诊断、分型、治疗、追踪和预后判定有重要的临床意义。所以,抗体的联合检测作为临床常规项目使用对提高 SLE 的诊断具有重要意义。

参考文献

- [1] Tikly M, Gould T, Wade AA, et al. Clinical and serological correlates of antinucleosome antibodies in South Africans with systemic lupus erythematosus[J]. Clin Rheumatol, 2007, 26(12): 2121-2125.
- [2] 陈曼丹, 陈林兴. 抗核抗体谱在自身免疫性疾病的检测及应用[J]. 实用医技杂志, 2005, 12(3): 302-304.
- [3] 林懋贤. 风湿病诊疗手册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 56.
- [4] Burlingame RW. Recent advances in understanding the clinical utility and underlying cause of antinucleosome (antichromatin) autoantibodies[J]. Clin Appl Immunol Rev, 2004, 60: 351-366.
- [5] Shi XM, Feng ZR, Sui BH, et al. Clinical performance of enzyme linked immunosorbent assay detection serum antibodies against double-stranded DNA in diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus [J]. Chin General Practice, 2011, 1(1): 167-170.
- [6] 田斌, 陈永红. 抗 DNP、ds-DNA 抗体检测在系统性红斑狼疮诊断中的应用[J]. 当代医学, 2011, 17(7): 96-97.
- [7] Villalta D, Tozzoli R, Bizzaro N, et al. The relevance of autoantigen source and cutoff definition in antichromatin (nucleosome) antibody immunoassays[J]. Ann N Y Acad Sci, 2005, 1050: 176-184.
- [8] Kiss E, Shoenfeld Y. Are anti-ribosomal P protein antibodies relevant in systemic lupus erythematosus[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2007, 32(1): 37-46.
- [9] Boire G, Gendron M, Monast N, et al. Purification of antigenically intact Ro ribonucleoproteins; biochemical and immunological evidence that the 53-kD protein is not a Ro protein[J]. Clin Exp Immunol, 1995, 100(3): 489-498.

(收稿日期: 2012-11-04)

(上接第 1213 页)

- [5] Sentilhes L, Trichot C, Resch B, et al. Fertility and pregnancy outcomes following uterine devascularization for severe postpartum haemorrhage[J]. Hum Reprod, 2008, 23(5): 1087-1092.
- [6] 赵昌银, 曹桂荣, 杨湘莲, 等. 剖宫产术后晚期产后出血的介入栓塞治疗[J]. 郧阳医学院学报, 2008, 27(3): 261-262.

- [7] Shen XY, Han SQ, Ma K. Postpartum hemorrhage emergency intervention embolization[J]. J Med Journal, 2011, 32(6): 1186-1192.
- [8] 孙红霞. 难治性产后出血急诊介入治疗临床疗效评价[J]. 医学理论与实践, 2010, 23(3): 319-321.

(收稿日期: 2013-01-30)