

新生儿脐带血抗鸡卵核抗体检测的研究*

徐美兰¹, 刘金星² (嘉应学院医学院附属医院: 1. 检验科; 2. 中医科, 广东梅州 514031)

【摘要】 目的 探讨健康人血清中抗鸡卵核抗体是否为天然抗体。方法 收集 2012 年 3 月至 2013 年 1 月新生儿脐带血 30 份, 离心取血清备用, 采用酶联免疫吸附试验间接法检测新生儿脐带血是否存在抗鸡卵核抗体, 以生理盐水作为对照组, 以其结果的 +2s 以上界定为阳性。结果 新生儿脐带血中未检测到抗鸡卵核抗体。结论 抗鸡卵核抗体可能不是天然抗体。

【关键词】 抗鸡卵核抗体; 脐带血; 天然抗体

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.13.005 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)13-1754-02

Detection of anti-egg nucleus antibody in cord blood of neonatus* XU Mei-lan¹, LIU Jin-xing² (1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Chinese Medicine, Medical College of Jiaying University Affiliated Hospital, Meizhou, Guangdong 514031, China)

【Abstract】 **Objective** To explore whether anti-egg nucleus antibody was natural antibody in serum of healthy subjects. **Methods** During March 2012 and January 2013, a total of 30 cases of new infant cord blood were collected and detected for anti-egg nucleus antibody by enzyme linked immunosorbent assay. **Results** The anti-egg nucleus antibody could not be detected in new infant cord blood. **Conclusion** Anti-egg nucleus antibody might not be natural antibody.

【Key words】 anti-egg nucleus antibody; core blood; natural antibody

Hui 等^[1]应用鸡卵核作为包被抗原, 建立间接酶联免疫吸附试验(ELISA)对提取性核抗原的抗体(ENA 抗体)检测自身免疫性疾病抗核抗体, 经验证与经典的检测 ENA 抗体方法具有很好的一致性。文献[2-4]也报道, 运用免疫印迹法检测抗鸡卵核的特种蛋白 42000、72000 对混合结缔组织病(MCTD)及系统性红斑狼疮(SLE)分别有特异性诊断价值, 并且对治疗效果及病情活动程度的判断有一定的临床提示作用。文献[5]报道, 胃癌患者血清中含有抗鸡卵核抗原的抗体, 此抗核抗体可识别鸡卵核抗原相对分子质量为 69、62、58、44、37×10³ 成分, 这些抗核抗体的检测有助于肿瘤的早期诊断, 推测胃癌患者体内可能存在自身抗体、抗核抗体识别的抗原与这些鸡卵核抗原具有共同的抗原表位或这些抗体具有异嗜性。实验证明, 抗鸡卵核抗体水平在患自身免疫性疾病患者体内呈升高趋势, 可能与自身免疫性抗体相关^[1]; 重症监护病房危重患者体内呈降低趋势, 可能与危重患者免疫力低下相关。前期实验发现, 抗鸡卵核抗体普遍存在于健康人群中, 并且都是在没有明确的抗原刺激, 在人不知情的情况下“天然”存在, 并且根据实验研究证明抗鸡卵核抗体高值与 HLA-DQB1*02 基因表达有关, 由此提示抗鸡卵核抗体的生成水平可能受 MHC 限制, 推测抗鸡卵核抗体可能与特异性免疫应答有关。为进一步研究体内抗鸡卵核抗体生成的原因, 本文收集新生儿脐带血进行检测, 以期探讨健康人血清中的抗鸡卵核抗体是否为天然抗体, 对其来源进行研究, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2012 年 3 月至 2013 年 1 月嘉应学院医学院附属医院新生儿脐带血 30 份作为实验组, 参加试验的标

本都与家属签写知情并自愿同意书, 离心取血清-80℃备用。另取生理盐水作为对照组。

1.2 仪器与试剂 Royto 6000 酶标仪、Royto 3000 洗板机(深圳雷杜公司), 羊抗人 IgG 酶标抗体、底物与显色剂、洗涤液、小牛血清购于万泰生物制品有限公司。

1.3 方法 将新鲜鸡卵击破至平皿中, 用注射器针头刺入卵黄抽取卵黄液, 用生理盐水 1:5 溶解, 此为鸡卵核抗原溶液。参照酶免疫技术将鸡卵核抗原溶液用 pH9.6 的碳酸盐缓冲液 1:20 稀释制成包被液, 每孔 100 μL 37℃孵育 1 h 后 4℃冰箱过夜, 第 2 天以 10% 小牛血清作为封闭剂, 结束后以洗涤液洗 3 次后备用。以生理盐水作为对照组, 以对照组吸光度的 +2s 界定为阳性。

1.4 统计学方法 用 SPSS17.0 软件分析数据, 各组之间用独立样本 *t* 检验分析, 以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

实验组吸光度值为 0.082±0.050, 对照组吸光度值为 0.082±0.022, 两组抗鸡卵核抗体吸光度值差异无统计学意义 (*P*>0.05)。

3 讨论

Hui 等^[1]证实以鸡卵核为抗原, 以鸡卵核作为包被液的间接 ELISA 检测 ENA 抗体, 可用于自身免疫性疾病抗核抗体的检测, 并且证实不同来源的鸡卵核抗原对试验结果无影响。后来又有以 Westblot、斑点-ELISA、免疫印迹法等检测抗鸡卵核抗体。本试验方法在 Hui 等^[1]的试验基础上采用了小牛血清进行封闭, 这样有效地避免了非特异性吸附, 相比之前结果更准确可靠, 抗干扰力强, 分辨清晰, 结果重复性好, 同时较

* 基金项目: 广东省梅州市医药卫生科研项目(2010-A-24)。

作者简介: 徐美兰, 女, 硕士, 副主任技师, 主要从事抗体免疫方面的工作。

Westblot 方法、斑点-ELISA、免疫印迹法等方法操作简易,易于推广。

抗鸡卵核抗体是一类针对鸡卵核抗原的特异性抗体,试验中发现该抗体不仅可存在于自身免疫性疾病及胃癌患者体内,同时也普遍存在于健康人群血清中,并且其抗体效价与年龄、性别无关^[6]。曾经推测此抗体可能是食物不耐受抗体。食物不耐受抗体是许多食物由于人体内缺乏相应的酶,无法被人体完全消化分解,当其以多肽或其他分子形式进入肠道时作为外源性物质被机体识别,从而发生免疫反应,产生食物特异性的 IgG 抗体,此抗体与食物分子结合形成免疫复合物,被机体当成废物由肾脏排出^[7-8]。长期进食不耐受的食物会使免疫系统超负荷,导致人体多系统出现疾病^[9],如肠易激综合征^[10-11]、头痛或偏头痛^[12]、哮喘^[13]等。有研究以鸡卵黄喂养动物一段时间后,在血清中未检测出该抗体,由此表明此抗体可能不是食物不耐受抗体^[5]。同时还有学者进行人体内的抗鸡卵核抗体与天然抗体-血型抗体二者关联性研究,结果表明二者无关联^[5]。于是本研究推测有一种可能,这种抗体是遗传来的,是“天然”存在的。抗体按来源可分为天然抗体与免疫抗体。人或动物未经明显感染或人工注射抗原而天然存在于体内的抗体称为天然抗体,又称正常抗体。天然抗体不仅包括针对病原微生物及其产物的抗体,还包括针对非病原性物质的抗体,如血型抗体。天然抗体中除血型抗体主要是受遗传因素影响外,其余的可能由隐性感染或受共同抗原刺激而产生的。由于人或动物在出生后总是时刻与周围各种各样的抗原接触,所以天然抗体的产生可能与环境中的细菌、食物、花粉或异物等的刺激有关。但该抗体是否是天然抗体,本研究进行了新生儿脐带血检测,以生理盐水作为对照组,检测的 A 值即为本底吸光度值,这样可以消除本底对结果的干扰影响。以此对照+2s 以上界定为阳性,其基本思想是试验测定值如果高于+2s 说明肯定不是零,可判定为有,即为阳性。

本研究结果显示,此抗体在新生儿脐带血中并不存在,说明抗鸡卵核抗体不是“天然”存在的抗体。既然不是天然存在的抗体,那就很可能是出生后与周围环境接触刺激产生的。后天产生的原因很多,很可能是细菌或病毒等感染性因素导致该抗体产生,因为人类生活的环境不能避免这些感染因素,所有人都会接受这种感染因素的刺激。可能在婴儿时期接受到感染因素的刺激,产生了这种抗体,当再次接受感染因素刺激后,这种抗体发挥免疫作用,从而大量出现,故以后的研究应检测不同年龄段婴儿血清中该抗体的分布。有关抗鸡卵核抗体的

具体来源、生成机制以及在人群中的分布规律和其生理及病理意义尚需深入研究。

参考文献

- [1] Hui L, Shijun L, Yue M. ANA detected by ELISA using nucleus of egg cell as antigen[J]. J Immunoassay Immunochem, 2008, 29(2): 161-166.
- [2] 李燎, 许扬, 熊霞. 鸡卵核提取物中检测系统性红斑狼疮的特异性抗原[J]. 中华皮肤科杂志, 2000, 33(1): 36.
- [3] 李燎, 颜丹, 钟桂书. 系统性红斑狼疮患者血清抗鸡卵核中 42000 蛋白抗体的测定及其临床意义[J]. 泸州医学院学报, 2005, 28(2): 120-122.
- [4] 李燎, 颜丹, 钟桂书. 混合性结缔组织病患者血清抗鸡卵核中 72000 蛋白抗体测定及其临床意义[J]. 泸州医学院学报, 2005, 28(3): 233-234.
- [5] 张璐, 刘辉. 胃癌患者血清中抗核抗体的检测[J]. 大连大学学报, 2003, 24(6): 89-91.
- [6] 徐美兰, 刘辉, 刘秀瑰. 抗鸡卵核抗体在健康人群中的测定[J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25(3): 121-122.
- [7] 孙改河. 食物不耐受血清特异性 IgG 抗体检测在临床中的应用[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(7): 591-592.
- [8] Ortolani C. Food allergies and food intolerances[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2005, 20(3): 467-483.
- [9] 谢志贤, 刘倩. 食物不耐受与相关性疾病[J]. 中华内科杂志, 2006, 45(2): 150-151.
- [10] Gremse DA. Alternative approach to IBS and migraine is winning over providers [J]. Dis Manag Advis, 2004, 10(1): 6-10.
- [11] Vesa TH, Seppo LM, Martean PR, et al. Role of irritable bowel syndrome in subjective lactose intolerance[J]. Am J Clin Nutr, 1998, 67(4): 710-715.
- [12] Millichap JG, Yee MM. The diet factor in pediatric and adolescent migraine[J]. Pediatr Neurol, 2003, 28(1): 9-15.
- [13] Beausoleil JL, Fiedler J, Spergel JM. Food intolerance and childhood asthma; what is the Link[J]. Paediatr Drugs, 2007, 9(3): 157-163.

(收稿日期: 2013-11-18 修回日期: 2014-02-25)

(上接第 1753 页)

- [4] 廖旭东, 吴少卿, 肖航. 地屈孕酮对先兆流产患者 Th1/Th2 型细胞因子平衡的影响[J]. 中国热带医学, 2011, 11(11): 1400-1401.
- [5] 李林, 周卓秀, 刘久英. 自拟补肾固胎汤合激素治疗先兆流产的临床观察[J]. 广西中医药, 2006, 29(4): 17-18.
- [6] 刘芳, 罗颂平. “助孕 3 号方”对早孕先兆流产患者 Th1/Th2 细胞因子和 P、β-HCG 影响的研究[J]. 中国免疫学杂志, 2008, 24(4): 332-335.
- [7] 刘芳, 孟庆春, 姚静, 等. 妊娠滋养细胞疾病中 Th1/Th2 类细胞因子的表达与葡萄胎恶变关系的探讨[J]. 新中

医, 2009, 6(9): 30-32.

- [8] 冯月儿, 刘益金, 林美娜. 烯丙雌醇联合绒毛膜促性腺激素治疗先兆流产的疗效观察[J]. 现代医药卫生, 2010, 26(13): 1962-1964.
- [9] 邱庆明. Th1/Th2 细胞在慢性乙型肝炎急性发作的免疫应答研究[J]. 山东中医药大学, 2012, 6(11): 30-32.
- [10] 张锦文, 吴江平, 孔晶. 黄体酮用于治疗先兆流产对孕妇血清 PIBF 水平的影响[J]. 现代妇产科进展, 2012, 21(12): 960-962.

(收稿日期: 2013-11-03 修回日期: 2014-02-05)