

· 论 著 ·

11 452 例抗核抗体检测结果及临床意义探讨*

王泽筠, 刘义庆[△], 邵 婧, 范卫华, 王 勇, 张炳昌

(山东大学附属省立医院临床医学检验部, 济南 250021)

摘要:目的 探讨抗核抗体(ANA)检测结果及其在自身免疫性疾病中的临床意义。方法 收集 2015 年 11 月至 2016 年 8 月到该院就诊的 11 452 例自身免疫性疾病(AID)患者,同时选取同期体检健康者 142 例作为对照组,采用间接免疫荧光法检测 ANA。计算 ANA 的阳性率,统计 ANA 阳性的自身免疫性疾病患者的相关临床信息和实验室特征。结果 在 11 452 例患者中 ANA 阳性率为 44.14%,其中男性阳性率 30.72%,女性阳性率 51.68%,女性 ANA 阳性率明显高于男性,差异具有统计学意义($\chi^2=470.213, P<0.05$)。不同年龄组(≤ 20 岁、 $>20\sim<50$ 岁、 ≥ 50 岁)的阳性率差异也有统计学意义($\chi^2=104.960, P<0.05$)。AID 组和对照组阳性率差异有统计学意义($P<0.05$)。AID 组中的系统性红斑狼疮、干燥综合征、混合性结缔组织病患者以核颗粒型为主,原发性胆汁性肝硬化患者以着丝点型、核膜型和胞质型为主。结论 不同性别和年龄组患者之间 ANA 阳性率存在明显差异。不同 AID 患者 ANA 滴度和荧光模型也不同,可以指导临床进一步进行特异性自身抗体的检测,对临床诊断有重要的意义。

关键词:自身免疫性疾病; 抗核抗体; 系统性红斑狼疮; 荧光模型

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.20.003 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2017)20-2980-03

Antinuclear antibody detection results in 11 452 cases and clinical significance*

WANG Zejun, LIU Yiqing[△], SHAO Jing, FAN Weihua, WANG Yong, ZHANG Bingchang

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Shandong Provincial Hospital,

Shandong University, Jinan, Shandong 250021, China)

Abstract:Objective To explore the anti-nuclear antibodies(ANA) detection results and their clinical significance in autoimmune diseases(AID). **Methods** A total of 11 452 patients in the hospital during November 2015 to August 2016 were collected and performed the ANA detection by adopting the indirect immunofluorescence. The positive rate of results was calculated. Then the related clinical information and laboratory characteristics in the positive patients with AID were statistically analyzed. The positive rate comparison adopted the chisquare test. **Results** In 11 452 cases, the positive rate of ANA was 44.14%, 51.68% in female and 30.72% in male. The positive rate in female was significantly higher than that in male, the difference was statistically significant ($\chi^2=470.213, P<0.05$). The ANA positive rate also had statistically significant difference among different age groups(≤ 20 years old, $>20\sim<50$ years old, ≥ 50 years old, $\chi^2=104.960, P<0.05$). The positive rate had statistical difference between the two group($P<0.05$). In the AID group, the nuclear speckled pattern was predominant in the patients with systemic lupus erythematosus(SLE), sissa syndrome(SS) and mixed connective tissue disease(MCTD), and centromere pattern, nuclear membrane pattern and cytoplasm pattern were predominant in the patients with primary billiary cirrhosis(PBC). **Conclusion** The positive rate of ANA is statistically different in different gender and age. Different AID patients have different titers and fluorescence models, which can guide clinic to further conduct specific autonomous antibody detection and has an important significance to clinic.

Key words: autoimmune disease; anti-nuclear antibodies; systemic lupus erythematosus; fluorescencemoolers

抗核抗体(ANA)作为自身免疫性疾病的重要血清学指标,常见于系统性红斑狼疮(SLE)、干燥综合征(SS)、混合型结缔组织病(MCTD)等^[1-2],对于自身免疫性疾病的诊断,临床分型和活动性监测具有重要的临床意义^[3]。目前,间接免疫荧光是检测 ANA 最为常见的方法,也是 ANA 检测的金标准,可以同时报告滴度和特征性荧光模型。本文就 ANA 的阳性检出率及其荧光模型在自身免疫性疾病中的意义进行回顾性分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2015 年 11 月至 2016 年 8 月本院门诊

和住院的 ANA 常规检测者 11 452 例作为研究对象,其中男 4 121 例,年龄 9 d 至 94 岁;女 7 331 例,年龄 1 月至 91 岁。对 11 452 例研究对象进行分组分析:(1)ANA 阳性组:ANA 阳性 5 055 例患者。(2)自身免疫性疾病患者 823 例,包括 SLE 263 例,SS 78 例,MCTD 26 例,类风湿关节炎(RA)253 例,多发性肌炎/皮肌炎(PM/DM)31 例,系统性硬化症(SSC)38 例,原发性胆汁性肝硬化(PBC)31 例,自身免疫性肝炎(AIH)33 例,强直性脊柱炎(AS)71 例。以上患者诊断均符合 2010 年中华风湿免疫学会制定的诊断和治疗指南。(3)对照组选择同期查体健康者 142 例,其中男 51 例、女 91 例,年龄 4~81 岁。

* 基金项目:山东省自然科学基金资助项目(ZR2016HM52);山东省临床重点专科建设项目(鲁卫医字[2013]26 号);山东省医药卫生重点实验室资助项目(鲁卫科教国合字[2013]49 号)。

作者简介:王泽筠,女,主管技师,主要从事风湿免疫性疾病指标的检验工作。△ 通信作者,E-mail:yqliu1979@163.com。

1.2 方法 ANA 检测:以 Hep-2 细胞和猴肝组织切片为试验基质,间接免疫荧光法检测 ANA,试剂来自德国欧蒙医学实验诊断股份公司。将血清分别进行 1 : 100、1 : 320 和 1 : 1 000 稀释,与固定在载片上的生物薄片中的细胞反应,室温孵育 30 min,特异性抗体与相应抗原结合,用磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 3 次,浸泡 5 min 后,在生物薄片上加入异硫氰酸荧光素标记的羊抗人 IgG 抗体,室温孵育 30 min,使结合在细胞上的抗体与荧光标记的二抗结合,PBS 冲洗 3 次,浸泡 5 min 后,扣除多余液体,甘油封片。然后在荧光显微镜下观察特异性荧光显示结果,具体操作严格按照试剂说明书要求进行。所有荧光显微镜判读结果均由两位经验丰富的检验人员进行阅片判读。滴度 $\geq 1 : 100$ 判断为阳性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS21.0 软件进行统计分析。计数资料以 $[n(\%)]$ 表示,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 不同 ANA 滴度在不同性别不同年龄的分布比较 11 452 例 ANA 常规检测标本中,ANA 阳性率 44.14%(5 055/11 452)。其中,女性 ANA 阳性率明显高于男性($\chi^2 = 470.213, P < 0.05$)。在 ANA 阳性患者中 ≥ 50 岁组的阳性率最高

51.38%(2 154/4 192),且女性 51.68%(3 789/7 331)明显高于男性 44.14%(1 266/4 121),比较差异有统计学意义($\chi^2 = 470.213, P < 0.05$)。AID 组患者中 $> 20 \sim < 50$ 岁组阳性率 82.27%(334/406)最高,其次为 ≥ 50 岁组 71.04%(238/335), ≤ 20 岁组最低 60.98%(50/82),差异有统计学意义($\chi^2 = 23.041, P < 0.05$)。见表 1。

2.2 AID 组的荧光模型分析 (1)单一荧光模型:细胞核型以均质型 668 例(13.21%)和颗粒型(核斑点型)1 399 例(27.67%)为主。(2)混合荧光模型:颗粒型/均质型 351 例(6.94%);均质型/胞质型 176 例(3.48%);颗粒型/胞质型 522 例(10.32%);颗粒型/核仁型 105 例(2.07%);均质型/核仁型 54 例(1.06%);其他 363 例(7.18%),包括组蛋白、中间体,周期蛋白等少数核型和多种荧光模型混合的核型。

2.3 AID 组和对照组 ANA 阳性率和荧光模型分布 在 AID 组中阳性率与对照组比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 82.543, P < 0.05$)。其中除 AS 与对照组的比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.376, P > 0.05$),SLE 的阳性率最高,与对照组差异有统计学意义($P < 0.05$)。另一方面,SLE 荧光模型以核颗粒型和均质型为主,混合核型以均质型颗粒型为主 SS 以核颗粒型为主,PBC 以胞质型、着丝点型和核膜型为主。见表 2。

表 1 不同 ANA 滴度在不同性别、不同年龄组的分布比较 $[n(\%)]$

ANA 滴度	女性			男性		
	≤ 20 岁	$> 20 \sim < 50$ 岁	≥ 50 岁	≤ 20 岁	$> 20 \sim < 50$ 岁	≥ 50 岁
$< 1 : 100$	531(60.62)	1 955(50.00)	1 056(41.49)	697(76.67)	1 176(75.14)	982(59.62)
1 : 100	177(20.21)	1 096(28.03)	970(38.11)	164(18.04)	305(19.49)	533(32.36)
1 : 320	51(5.82)	270(6.90)	200(7.85)	18(1.98)	37(2.36)	63(3.83)
1 : 1 000	117(13.35)	589(15.06)	319(12.53)	30(3.30)	47(3.00)	69(4.19)

表 2 AID 组和对照组研究对象的 ANA 阳性率和荧光模型分布

组别	指标	n	ANA 阳性数(n)	ANA 阳性率(%)	荧光模型(n)											
					S	H	N	ACA	Cyto	M	H/S	S/N	H/N	S/C	H/C	其他
AID 组	SLE	263	242	92.02*	78	65	17	2	7	1	45	3	6	8	6	4
	SS	78	52	66.67*	18	12	2	0	6	0	3	4	0	5	1	1
	MCTD	26	20	76.92*	8	5	2	0	2	0	1	1	1	0	0	0
	RA	253	142	56.13*	39	34	6	0	5	0	32	2	3	13	2	6
	PM/DM	30	14	46.67*	4	2	1	0	2	0	3	0	0	1	1	0
	SSC	38	26	68.42*	3	5	6	0	1	0	2	3	5	1	0	0
	PBC	31	22	70.97*	0	0	1	5	9	4	1	0	0	1	1	0
	AIH	33	24	72.73*	7	5	0	0	3	2	2	0	0	3	2	0
	AS	71	20	28.17*	4	3	0	0	2	0	2	1	1	2	3	2
合计	823	562	68.29*	161	131	35	7	37	7	91	14	16	34	16	3	
对照组	健康	142	27	19.01*	6	5	2	0	4	0	2	2	2	1	2	1

注:与对照组比较,* $P < 0.05$;S 为核颗粒型;H 为核均质型;N 为核仁型;Cyto 为胞质型;M 为核膜型;ACA 为着丝点型

2.4 AID 组和对照组研究对象 ANA 的滴度分布比较 AID 组 ANA 滴度分布在 1 : 100、1 : 320 和 1 : 1 000 之中,根据临床反馈笔者认为 1 : 100 阳性为低滴度阳性, $\geq 1 : 320$ 阳性为高滴度阳性。对照组 ANA 滴度分布主要集中在 1 : 100 阳

性,高滴度阳性率仅为 2.82%(4/57),多数属于低滴度阳性。而 SLE 的高滴度阳性率最高为 63.12%(166/263),其次分别为 PBC、AIH、MCTD、SS 和 SSC,高滴度阳性率为 58.06%(18/31)、57.58%(19/33)、53.85%(14/26)、47.43%(37/78)

和 47.37%(18/38), 而 RA、PM/DM 和 AS 的高滴度阳性率偏低, 仅为 30.83%(78/253)、30.00%(9/30) 和 25.35%(18/71)。见表 3。

表 3 AID 组和对照组研究对象 ANA 滴度分布比较

组别	指标	n	ANA 阳性数(n)	ANA 滴度		
				1:100	1:320	1:1000
AID 组	SLE	263	242*	76	81	85
	SS	78	52*	15	22	15
	MCTD	26	20*	6	5	9
	RA	253	142*	64	43	35
	PM/DM	30	14*	5	6	3
	SSC	38	26*	8	5	13
	PBC	31	22*	4	6	12
	AIH	33	24*	5	10	9
	AS	71	20*	2	10	8
	对照组	健康	142	27	23	4

注:与对照组比较, * P<0.05

3 讨 论

近几年 AID 血清学检测技术飞速发展, 伴随着空气污染, 食品污染等多种不良因素, 导致自身免疫性疾病发病率逐年上升, 其总体发病率占世界总人口的 3%~5%^[4]。间接免疫荧光法检测 ANA 作为 AID 诊断的金标准, 一直受到临床的重视和依赖。

本研究 ANA 总阳性率比文献报道较高, 主要由于基层医院 AID 诊疗水平偏低。本院风湿免疫科集中了全山东省内自身免疫性及相关疾病患者, 病例比较集中, 导致回顾性分析中总阳性率偏高。且女性患者阳性率明显高于男性患者, 女:男阳性率约为 1.7:1.0, 可能与阳性率随年龄的增加而增高^[5], 其中 >20~<50 岁被检测者阳性率最高, 与有关文献报道基本相符^[6-7], 相当一部分病例起病于中青年女性, 故对于此年龄段的女性应至少每年检测 1 次 ANA 用于筛查 AID。

间接免疫荧光法检测 ANA, 由于靶抗原存在于生物膜片的不同部位, 不同的自身抗体会呈现不同的荧光模型。SLE 和 RA 病例中单一荧光模型以核颗粒型^[8]和均质型为主, 混合荧光模型以颗粒型/均质型为主; SS 和 MCTD 病例中以颗粒型和均质型为主; PBC 中以胞质型、着丝点型和核膜型为主, 可见这几种荧光模型对于疾病诊断具有重要意义。因此, 荧光模型的报告可以指导临床医生进行进一步特异性抗体的检测, 对 AID 的诊断具有重要意义^[9]。但是不同的抗体可以呈现不同的荧光模型, 相同的抗体也可以产生不同的荧光模型, 所以 ANA 荧光模型不能作为唯一的诊断指标。

本文分析发现 AID 组患者 ANA 阳性率明显高于对照组, 其中 SLE 患者阳性率最高, 其次有 MTCD、AIH、PBC、SS 等, 但 SLE 多数为高滴度阳性, 而 RA 的 ANA 滴度为低滴度阳性。故临床诊断中将 ANA 滴度 ≥ 1:320 作为 PBC、AIH、

MCTD、SS 和 SSC 等自身免疫性疾病的一个辅助诊断指标^[5], 而低滴度阳性不能排除自身免疫性疾病, 需要进一步检测特异性抗体并进行定期随访。ANA 检测也具有局限性^[10-11], 一方面试验过程中, 包被 Hep-2 细胞的生物膜片可能会由于生产过程、试验条件、加样误差、抗原遮蔽等因素导致结果假阴性; 另一方面, 由于实验室技术人员的个人经验等主观因素影响结果的判断, 故阴性结果不能排除 AID^[12]。为排除 AID, 应进行 ANA 谱等检测排除假阴性结果, 避免 AID 患者的漏检。

综上所述, ANA 可以作为 AID 的筛查指标加入查体套餐, 早发现 AID 并进行治疗, 阻止病情进一步发展可能导致的病痛和器质性病变, 提高生活质量, 延长生存时间。

参考文献

- [1] 黄静芳, 徐红星. 系统性红斑狼疮患者自身抗体检测结果分析[J]. 检验医学, 2012, 27(11): 975-976.
- [2] Higashi N, Niimi Y, Aoki M, et al. Clinical features of antinuclear antibody-positive patients with atopic dermatitis [J]. J Nippon Med Sch, 2009, 76(6): 300-307.
- [3] Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations [J]. Ann Rheum Dis, 2010, 69(8): 1420-1422.
- [4] 李永哲. 自身抗体检测技术临床推广和质量保证工作中应重视的问题 [J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(9): 769-773.
- [5] 李晔, 孙艳艳. 1000 例临床标本抗核抗体检测结果分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(18): 2072-2073.
- [6] 许渊. 抗核抗体谱在自身免疫性疾病中的临床应用 [J]. 检验医学与临床, 2012, 9(8): 945-946.
- [7] 李琳芸. 1801 例抗核抗体检测结果及其临床分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(10): 1217-1218.
- [8] Mahler M, Fritzler MJ. The clinical significance of the dense fine speckled immunofluorescence pattern on HEp-2 cells for the diagnosis of systemic autoimmune diseases [J]. Clin Dev Immunol, 2012, 2012(4): 494356.
- [9] 林志红, 金涌, 白玉. 抗核抗体 ANA 谱检测在自身免疫性疾病诊断中的临床应用 [J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(12): 2115-2116.
- [10] 陈邁琼, 赵迪, 邓晓刚, 等. 抗核抗体核型与抗核抗体谱检测结果对比分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(14): 1859-1860.
- [11] 高仕萍, 杨文勇, 资云菊, 等. 抗核抗体和抗核抗体谱联合检测在自身免疫性疾病诊断中的临床应用价值 [J]. 检验医学与临床, 2014, 11(2): 222-223.
- [12] 孙家祥, 李艳. 652 例抗核抗体阴性病例的抗核抗体谱的检测分析 [J]. 海南医学, 2011, 22(7): 113-114.

(收稿日期: 2017-02-19 修回日期: 2017-05-08)