

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.08.002

抗核抗体谱、补体和免疫球蛋白检测对系统性红斑狼疮的诊断意义

陈艺心¹, 张志成², 潘 锋^{1△}

(1. 重庆市黔江中心医院检验科 409000; 2. 中国人民解放军陆军军医大学第三附属医院检验科, 重庆 400042)

摘要:目的 探讨抗核抗体谱(ANAs)、补体(C3、C4)和免疫球蛋白(IgG、IgM、IgA)在系统性红斑狼疮(SLE)诊断中的临床价值。方法 收集 131 例 SLE 患者作为 SLE 组, 59 例其他自身免疫疾病(AID)患者为疾病对照组(AID 组), 60 例健康体检者为健康对照组。采用间接免疫荧光法(IIF)检测抗核抗体(ANA), 线性免疫印迹法检测 ANAs, 速率散射法检测补体和免疫球蛋白。比较各指标的阳性率, 选择 SLE 组阳性率较高的指标进行联合检测分析。结果 SLE 组 ANA、抗 RNP/Sm 抗体、抗 Sm 抗体、抗 Ro-52 抗体、抗 SSA 抗体、抗 dsDNA 抗体、抗核小体抗体、抗核糖体 P 蛋白(Rib-P)抗体、C3、C4 指标阳性率分别为 97.71%、47.33%、22.90%、59.54%、57.25%、21.37%、19.08%、32.82%、53.44%、64.12%, 与 AID 组和健康对照组差异均有统计学意义($P < 0.05$)。将抗 dsDNA 抗体和抗 Sm 抗体分别与抗 Ro-52 抗体、抗 SSA 抗体、抗核小体抗体、抗 Rib-P 抗体、补体(C3、C4)联合检测, 各联合模式阳性率均高于 AID 组($P < 0.05$), 并且与抗 Ro-52 抗体、抗 SSA 抗体、抗 Rib-P 抗体、补体(C3、C4)联合的检测模式阳性率也高于抗 dsDNA 抗体和抗 Sm 抗体的二联模式($P < 0.05$)。结论 抗 Sm 抗体、抗 Ro-52 抗体、抗 SSA 抗体、抗 dsDNA 抗体、抗核小体抗体、抗 Rib-P 抗体以及补体(C3、C4)等指标对 SLE 诊断具有重要意义, 并且联合诊断能提高 SLE 诊断的灵敏度, 具有重要的临床价值。

关键词: 系统性红斑狼疮; 自身抗体; 补体 C3; 补体 C4

中图分类号: R446.6

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2018)08-1061-04

Diagnostic value of antinuclear antibody spectrum and complement in systemic lupus erythematosus

CHEN Yixin¹, ZHANG Zhicheng², PAN Feng^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Qianjiang Central Hospital of Chongqing, Chongqing 409000, China;

2. Department of Clinical Laboratory, the Third Affiliated of Army Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: **Objective** To explore the application value of antinuclear antibody spectrum(ANAs), complement(C3、C4) and immunoglobulin(IgG、IgM、IgA) in diagnosis of systemic lupus erythematosus(SLE). **Methods** A total of 131 patients of SLE were collected in the experimental group, and 59 cases of other autoimmune disease(AID) and 60 healthy persons in the control groups. The antinuclear antibody(ANA) was tested by indirect immunofluorescence(IIF) method, the antinuclear antibody spectrum was tested by the linear western blot method, and serum complement and immunoglobulin levels was measured by rate nephelometry assay. The better markers for combined detection of SLE were selected. **Results** The positive rates of the antibodies against ANA, RNP/Sm, Sm, Ro-52, SSA, dsDNA, Nucleosome, Rib-P, C3 and C4 were 97.71%, 47.33%, 22.90%, 59.54%, 57.25%, 21.37%, 19.08%, 32.82%, 53.44%, 64.12% in SLE group respectively, which were significantly higher than those in the other AID group and the healthy control group($P < 0.05$). Combined dsDNA and Sm with Ro-52, SSA, Nucleosome, Rib-P, C3 and C4 respectively. The positive rate of each combined detection mode in SLE group was remarkably higher than the other AID group($P < 0.05$). Besides, the positive rate of the mode contained Ro-52, SSA, Rib-P, complement(C3 and C4) respectively was higher than the combined mode of dsDNA and Sm alone($P < 0.05$). **Conclusion** The antibodies against Sm, Ro-52, SSA, dsDNA, Nucleosome, Rib-P, C3 and C4 have important diagnostic value for SLE. In addition, the combined detection mode could significantly improve the detection rate of SLE.

Key words: systemic lupus spectrum; antinuclear antibody; complement C3; complement C4

系统性红斑狼疮(SLE)是一种慢性进行性自身免疫疾病。患者机体通常产生大量自身抗体和免疫

复合物,侵犯全身多个器官、系统,最终导致相关系统、器官功能障碍甚至衰竭。早期 SLE 患者组织脏器中的活动性损伤是可以治疗逆转的,而慢性损害往往是不可逆的,因而及早确诊、早治疗是决定 SLE 预后的重要因素之一。目前临床对于 SLE 的诊断,普遍采用美国风湿病学会 1997 年修订的分类标准,但 SLE 临床表现复杂多样,尤其是对于一些早期不典型病例,很难通过这一标准进行诊断,常常造成漏诊或误诊。近年来随着检验技术的发展及相关标志物的发现提高了 SLE 的诊断率,但检出率仍不太理想,仍需加强研究,以便及早发现病情,及时开展相关治疗。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究纳入了 2016 年 1—11 月门诊或住院部收治的 SLE 患者 131 例(SLE 组),其中男 8 例,女 123 例,平均年龄(40.0±12.5)岁。所有患者均根据 1997 年修订的美国风湿学会 SLE 诊断标准进行确诊。同时纳入同期本院收治的其他自身免疫性疾病(AID)患者 59 例作为疾病对照组(AID 组),其中男 9 例,女 50 例,平均年龄(52.7±14.5)岁,包括类风湿关节炎 45 例,结缔组织病 9 例,强直性脊柱炎 4 例,系统性硬化病 1 例。另选取同期体检的健康人 60 例作为健康对照组,其中男 10 例,女 50 例,平均年龄(45.3±12.5)岁。

1.2 仪器与试剂 抗核抗体(ANA)和抗核抗体谱(ANAs)的检测均采用德国欧蒙公司配套试剂和相关仪器。免疫球蛋白和补体采用贝克曼库尔特 IMMAGE 800 特定蛋白分析仪及配套试剂进行检测。

1.3 方法 采用真空采血管抽取受试者空腹静脉血标本,按常规方法离心分离血清,分别进行各项目检测。
1.3.1 ANA 检测 采用间接免疫荧光法,将标本血清与 Hep-2/猴肝基质片充分反应并用 FITC 进行标记,根据镜下荧光类型及强度进行结果判读,以抗体滴度大于或等于 1:100 为阳性。

1.3.2 ANAs 检测 采用现行免疫印迹法,将标本血清与自身抗体谱膜条反应、显色,待膜条晾干后用扫描仪扫描膜条,用 EUROLInScan 软件进行结果判读。

1.3.3 免疫球蛋白和补体检测 按照仪器标准操作要求在 IMMAGE 800 分析仪上采用速率散射法对血清 IgG、IgA、IgM、C3、C4 水平进行检测。免疫球蛋白指标高于或补体指标低于说明书规定的参考值范围为阳性结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行分析,计数资料用频数和构成比表示,两组间比较采用四格表 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组 ANA 和 ANAs 阳性率比较 SLE 组分别与 AID 组和健康对照组比较,ANA 阳性率(97.71%)显著高于其他两组(46.27%、3.33%),差

异有统计学意义($P<0.05$)。ANAs 结果比较,SLE 组抗 nRNP/Sm 抗体、抗 Sm 抗体、抗 Ro-52 抗体、抗 SSA 抗体、抗双链 DNA(dsDNA)抗体、抗核小体抗体和抗核糖体 P 蛋白(Rib-P)抗体阳性率显著高于其他两组,差异有统计学意义($P<0.05$);而 SLE 组抗 SSB 抗体和抗组蛋白(Histone)抗体阳性率仅高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);余下的抗 Scl-70 抗体、抗 CENP-B 抗体、抗 PM-Scl 抗体、抗增殖细胞核抗原(PCNA)抗体和抗线粒体 2 型(AMA-M2)抗体,SLE 组与其他两组差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 3 组 ANA 和 ANAs 结果阳性率比较[n(%)]

项目	SLE 组 (n=131)	AID 组 (n=59)	健康对照组 (n=60)
ANA	128(97.71) ^{ab}	45(46.27)	2(3.33)
抗 nRNP/Sm 抗体	62(47.33) ^{ab}	4(6.78)	0(0.00)
抗 Sm 抗体	30(22.90) ^{ab}	1(1.69)	0(0.00)
抗 Ro-52 抗体	78(59.54) ^{ab}	14(23.73)	1(1.67)
抗 SSA 抗体	75(57.25) ^{ab}	13(22.03)	0(0.00)
抗 SSB 抗体	17(12.98) ^b	4(6.78)	0(0.00)
抗 Scl-70 抗体	3(2.29)	1(1.69)	0(0.00)
抗 CENP-B 抗体	8(6.11)	2(3.39)	0(0.00)
抗 dsDNA 抗体	28(21.37) ^{ab}	0(0.00)	0(0.00)
抗核小体抗体	25(19.08) ^b	3(5.08)	1(1.67)
抗 Histone 抗体	10(7.63)	1(1.69)	0(0.00)
抗 Rib-P 抗体	43(32.82) ^{ab}	2(3.39)	0(0.00)
抗 PM-Scl 抗体	2(1.53)	0(0.00)	0(0.00)
抗 PCNA 抗体	1(0.76)	0(0.00)	0(0.00)
抗 AMA-M2 抗体	5(3.82)	5(8.47)	0(0.00)

注:与 AID 组比较,^a $P<0.05$;与健康对照组比较,^b $P<0.05$

2.2 3 组免疫球蛋白和补体结果阳性率的比较 SLE 组与其他两组比较,补体 C3、C4 阳性率显著高于其他两组,差异有统计学意义($P<0.05$);SLE 组免疫球蛋白 IgG、IgA 阳性率仅与健康对照组差异有统计学意义($P<0.05$),与 AID 组差异无统计学意义($P>0.05$);而 SLE 组免疫球蛋白 IgM 阳性率与其他两组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 3 组免疫球蛋白和补体结果阳性率比较[n(%)]

项目	SLE 组 (n=131)	AID 组 (n=59)	健康对照组 (n=60)
IgG	64(48.85) ^b	26(44.07)	3(0.05)
IgA	12(9.16)	6(10.17)	0(0.00)
IgM	2(1.53)	2(3.39)	1(1.67)
C3	70(53.44) ^{ab}	9(15.25)	2(3.33)
C4	84(64.12) ^{ab}	9(15.25)	1(1.67)

注:与 AID 组比较,^a $P<0.05$;与健康对照组比较,^b $P<0.05$

2.3 SLE 组和 AID 组患者多指标联合检测结果分析 选取 SLE 组阳性率较高的指标进行联合检测,SLE 组各联合模式阳性率均显著高于 AID 组,差异有统计学意义($P<0.05$),并且抗 dsDNA 抗体+抗 Sm 抗体+抗 Ro-52 抗体、抗 dsDNA 抗体+抗 Sm 抗体+抗 SSA 抗体、抗 dsDNA 抗体+抗 Sm 抗体+抗

Rib 抗体、抗 dsDNA 抗体+抗 Sm 抗体+C3+C4 模式阳性率均高于抗 dsDNA 抗体+抗 Sm 抗体模式, 差异有统计学意义($P<0.05$), 见表 3。

表 3 SLE 组与 AID 组多指标联合检测结果比较[n(%)]

联合检测	SLE 组 (n=131)	AID 组 (n=59)
抗 dsDNA 抗体+抗 Sm 抗体	47(35.88) ^a	1(1.69)
抗 dsDNA 抗体+抗 Sm 抗体+抗 Ro-52 抗体	93(70.99) ^{ab}	14(23.73)
抗 dsDNA 抗体+抗 Sm 抗体+抗 SSA 抗体	97(74.05) ^{ab}	13(22.03)
抗 dsDNA 抗体+抗 Sm 抗体+抗 Nucleosome 抗体	55(41.98) ^a	3(5.08)
抗 dsDNA 抗体+抗 Sm 抗体+抗 Rib 抗体	73(55.73) ^{ab}	3(5.08)
抗 dsDNA 抗体+抗 Sm 抗体+C3+C4	105(80.15) ^a	12(20.34)

注:与 AID 组比较,^a $P<0.05$;与抗 dsDNA 抗体+抗 Sm 抗体模式比较,^b $P<0.05$

3 讨 论

SLE 临床表现多样,起病隐匿,自然病程多表现为病情的加重与缓解交替,因而须借助生物学指标进行诊断。临床上诊断 SLE 多参照美国风湿病学会在 1997 年修订的 SLE 分类标准,其中强调了多种 ANA (如抗 dsDNA 抗体和抗 Sm 抗体等)对于 SLE 诊断的重要性。中华风湿病学会于 2003 年制订的《系统性红斑狼疮诊治指南》也提到,有多系统受累表现并有 AID 者,应警惕 SLE^[1]。出现 SLE 常见临床症状时,应常规筛查 ANAs。SLE 患者由于形成大量循环免疫复合物,血清中的免疫球蛋白常升高,同时补体因消耗增大而降低,下降程度与病情活动程度常呈平行关系。

本研究分别对 SLE、其他 AID 患者和健康人群进行 ANA、ANAs、免疫球蛋白和补体的检测,结果显示,SLE 患者 ANA 阳性率(97.71%)显著高于其他 AID 患者(46.27%)和健康人群(3.33%)。SLE 患者通常有自身抗体的表达,是临床普遍认可的,用于 SLE 诊断灵敏度较高。但本研究显示,其他 AID 患者甚至是健康人群也有部分 ANA 为阳性,这一点在以往很多文献中也有所反映^[2-4]。

抗 dsDNA 抗体和抗 Sm 抗体是美国风湿病学会制订的 SLE 分类标准中明确提到的可用于 SLE 诊断的免疫学指标。在本研究中,SLE 患者抗 dsDNA 抗体阳性率为 21.37%,其他 AID 患者和健康人群均未检出抗 dsDNA 抗体阳性,特异性较好,但灵敏度略低。王永芹等^[4]研究了 103 例 SLE 患者抗 dsDNA 抗体阳性检出率为 63.12%。HIROHATA 等^[5]也认为抗 dsDNA 抗体用于 SLE 检测灵敏度为 51.2%,特异度为 96.1%。本研究中抗 dsDNA 抗体检出率略

低,可能有以下两方面原因:(1)抗 dsDNA 抗体与 SLE 活动性和肾功能损害高度相关,不同研究间病例构成的差异可能导致结果的差异;(2)存在方法学的差异^[6]。彭赛蛟等^[2]用 ELISA 和 IIF 方法分别检测到 SLE 患者抗 dsDNA 抗体阳性率为 38.2%和 30.9%。杨育红等^[7]用 3 种方法检测 SLE 患者抗 dsDNA 抗体,得到的阳性率结果 ELISA 法>IBT 法>IIF 法。抗 Sm 抗体也是公认的对 SLE 诊断特异性较好的指标,在本研究中 SLE 组抗 Sm 抗体阳性率为 22.9%,与 AID 组(1.69%)有显著差异^[8]。

本研究中 SLE 患者检出率较高的指标包括抗 Ro-52 抗体、抗 SSA 抗体,以及补体 C3 和 C4,阳性率均在 50%以上,但是特异性较差,在 AID 组中也有 15%~25%的阳性率。抗 SSA 抗体与各类 AID 相关,最常见于干燥综合征,在 SLE 和原发性胆汁性肝硬化中也有表达。抗 Ro-52 抗体也可见于多种 AID,特异性较差。而补体作为机体免疫反应的重要环节,由免疫复合物激活,与肝病、过敏性紫癜、类风湿关节炎及 AID 等多种疾病均相关,但是其在血清中的水平在 SLE 发病初期就会有相应的变化,并且也有研究认为补体下降程度与病情的活动程度呈平行关系^[9-10]。此外,抗 RNP 抗体、抗核小体抗体、抗 Rib-P 抗体在 SLE 组和 AID 组间差异有统计学意义($P<0.05$),有研究认为这 3 个指标用于诊断 SLE 特异性较好,可辅助诊断 SLE^[11-12]。尤其是抗 Rib-P 抗体,HIROHATA 等^[5]研究结果显示抗 Rib-P 抗体用于 SLE 诊断的灵敏度为 37.3%,特异度为 96.1%。CARMONA-FERNANDES 等^[12]用该指标诊断 SLE 灵敏度为 14.2%,特异度为 99.4%。而 SLE 组与 AID 组的血清免疫球蛋白水平虽然较健康人群均有不同程度升高,但两组间阳性率并无明显差异。

由于各独立指标用于 SLE 诊断的灵敏度普遍不理想,本研究尝试将多指标联合检测。抗 dsDNA 抗体和抗 Sm 抗体目前是公认的诊断 SLE 特异性较高的指标,并且也是国内外 SLE 诊断指南明确提到可用于 SLE 诊断的实验室指标,因此本研究将这两个指标与其他指标联合进行 SLE 诊断。研究结果显示,SLE 组各联合模式阳性率均显著高于 AID 组,并且各联合模式阳性率也显著高于单个指标,在保持了较好的特异性的同时,很大程度上提高了诊断的灵敏度。

综上所述,SLE 发病机制尚不明确,临床表现多样,并且个体差异及疾病活动程度的不同都会造成患者血清中各指标水平的差异,很难通过单一的指标来进行疾病的诊断。多指标联合检测能够在一定程度上提高疾病的检出率,降低 SLE 的漏诊、误诊的风险,有助于临床医生及早对患者实施有效治疗,提高预后,是值得临床尝试及推广的方法。

(下转第 1066 页)

素治疗可接近遗传靶身高^[8]。本病例与其他报道的 45,X/47,XXX 患者不同,后期未能自发维持正常的生理周期,很可能与 45,X 细胞系在生殖系统中所占比例较高有关^[9]。也正因如此,本病例更多地表现为 TS 的临床指征,如第二性征发育不良,外阴幼女型,卵巢发育不良、无卵泡和不孕。研究表明,45,X/47,XXX 女性可有自发怀孕能力,若能早期诊断,也可通过药物治疗自发怀孕^[4],而对于后期发现的 45,X/47,XXX 女性只能通过供卵的方式怀孕^[10]。因此,尽早发现有利于该类患者生育指导和治疗^[3]。

综上所述,45,X/47,XXX 患者的临床表现具有异质性,因各组织嵌合比例的差异,单一组织的核型分析 45,X 细胞系和 47,XXX 细胞系比例不能完全预测患者可能出现的临床表现。但身材矮小是值得关注的临床表现,有利于该类患者的早期诊疗。

参考文献

[1] SAHINTURK S,SAG S O,TURE M,et al. A fertile patient with 45X/47XXX mosaicism[J]. Genet Couns,2015,26(1):29-34.

[2] ZHONG Q,LAYMAN L C. Genetic considerations in the patient with Turner syndrome-45,X with or without mosaicism[J]. Fertil Steril,2012,98(4):775-779.

[3] WIGBY K,D'EPAGNIER C,HOWELL S,et al. Expanding the phenotype of triple X syndrome:a comparison of prenatal versus postnatal diagnosis[J]. Am J Med Genet A,2016,170(11):2870-2881.

[4] EVEREST E,TSILIANIDIS L A,HAIDER A,et al. 45,X/47,XXX mosaicism and short stature[J]. Case Rep Pediatr,2015,2015:263253.

[5] ASO K,KOTO S,HIGUCHI A,et al. Serum FSH level below 10 mIU/mL at twelve years old is an index of spontaneous and cyclical menstruation in Turner syndrome[J]. Endocr J,2010,57(10):909-913.

[6] CAMMARATA-SCALISI F,ARAQUE D,STOCK F,et al. Gastrointestinal obstruction in the Mosaic trisomy X[J]. Acta Gastroenterol Latinoam,2015,45(2):129-132.

[7] LIM H H,KIL H R,KOO S H. Incidence, puberty, and fertility in 45,X/47,XXX mosaicism:Report of a patient and a literature review[J]. Am J Med Genet A,2017,173(7):1961-1964.

[8] 张莹,陈瑞敏,杨晓红,等. 45,X Turner 综合征合并中枢性性早熟 1 例报告并文献复习[J]. 中国循证儿科杂志,2016,11(1):38-41.

[9] TAUCHMANOVÀ L,ROSSI R,PULCRANO M,et al. Turner's syndrome mosaicism 45X/47XXX:an interesting natural history[J]. J Endocrinol Invest,2001,24(10):811-815.

[10] DELIGEOROGLU E,STERGIOTI E,DIMOPOULOS K D,et al. Pregnancy outcome after oocyte donation in patients with Turner's syndrome:Clinical experience and management[J]. J Obstet Gynaecol,2016,36(4):504-507.

(收稿日期:2017-08-21 修回日期:2017-11-13)

(上接第 1063 页)

参考文献

[1] 顾越英. 系统性红斑狼疮诊治指南(草案)[J]. 中华风湿病学杂志,2003,7(7):508-513.

[2] 彭赛蛟,陶锡东,王敏. 不同自身抗体联合检测在系统性红斑狼疮中的诊断价值[J]. 中国免疫学杂志,2014,30(6):831-833,837.

[3] 陈善昌. 检测抗核抗体对系统性红斑狼疮的临床应用[J]. 免疫学杂志,2011,27(11):1008-1012.

[4] 王永芹,王胜玉,张雪峰. 抗核抗体谱检测对系统性红斑狼疮的诊断意义[J]. 现代预防医学,2015,42(4):753-754,759.

[5] HIROHATA S,KASAMA T,KAWAHITO Y,et al. Efficacy of anti-ribosomal P protein antibody testing for diagnosis of systemic lupus erythematosus[J]. Mod Rheumatol,2014,24(6):939-944.

[6] VILLALTA D,BIZZARO N,BASSI N,et al. Anti-dsDNA antibody isotypes in systemic lupus erythematosus: IgA in addition to IgG Anti-dsDNA help to identify glomerulonephritis and active disease[J]. PLoS One,2013,8(8):e71458.

[7] 杨育红,田卫花,张邦能,等. 3 种抗双链 DNA 抗体检测方法比较及其联合检测对系统性红斑狼疮的诊断价值研究[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(5):588-590.

[8] 中华医学会风湿病学分会. 系统性红斑狼疮诊断及治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志,2010,14(5):342-347.

[9] PICKERING M C,BOTTO M,TAYLOR P R,et al. Systemic lupus erythematosus, complement deficiency, and apoptosis[J]. Adv Immunol,2000,76(76):227-324.

[10] 漆晓玲,聂滨,余庆贞. 补体 C3 与四种自身抗体在诊断 SLE 中的意义[J]. 中国现代医生,2009,47(30):96-97.

[11] HADDOUK S,BEN AYED M,BAKLOUTI S,et al. Clinical significance of antinucleosome antibodies in Tunisian systemic lupus erythematosus patients[J]. Clin Rheumatol,2005,24(3):219-222.

[12] CARMONA-FERNANDES D,SANTOS M J,CANHÃO H,et al. Anti-ribosomal P protein IgG autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus: diagnostic performance and clinical profile[J]. BMC Med,2013,11(1):98.

(收稿日期:2017-07-17 修回日期:2017-09-29)