

• 论 著 •

## 间接免疫荧光法检测 20 170 例患者抗核抗体的结果分析

陈曦,吴茜,朱华强

绵阳市中心医院检验科,四川 绵阳 621000

**摘要:**目的 探讨抗核抗体(Antinuclear antibodies, ANA)的阳性率及对诊断自身免疫性疾病(Autoimmune diseases, AID)的意义。方法 采用间接免疫荧光法(Indirect immunofluorescence, IIF)检测 20 170 例患者的血清 ANA。符合 AID 诊断的患者 869 例,包括系统性红斑狼疮(Systemic lupus erythematosus, SLE)415 例、类风湿关节炎(Rheumatoid arthritis, RA)191 例、多发性肌炎/皮炎(Polymyositis / Dermatomyositis, PM/DM) 68 例、干燥综合征(Sjogren syndrome, SS)102 例及系统性硬化症(Systemic sclerosis, SSc)93 例。选取非 AID 患者 150 例为疾病对照组。结果 20 170 例患者 ANA 阳性 7 469 例,阳性率为 37%,其中男性 ANA 阳性率(19%)低于女性(44%)( $P<0.01$ )。ANA 阳性患者在不同年龄组间阳性率以 31~59 岁(41%)最高( $\leq 30$  岁组 32%、 $\geq 60$  岁组 34%,  $P<0.01$ )。ANA 阳性患者的荧光模型在单一模型中以核颗粒型(37%)为主;混合模型以核颗粒/核均质型(14%)为主。在 AID 组单一模型中,SLE(53%)、SS(23%)、SSc(16%)以核颗粒型为主;AID 组混合模型中,SLE(12%)和 RA(24%)以核颗粒/核均质型为主。AID 患者的 ANA 阳性率(78%)显著高于疾病对照组(11%), $P<0.01$ ,其中 SLE 的阳性率最高(95%)。AID 组患者滴度以  $\geq 1:100$  为主,疾病对照组滴度以  $<1:100$  为主。结论 IIF 法检测 ANA 对 AID 的诊断和治疗有重要意义。

**关键词:** 间接免疫荧光法;自身免疫性疾病;抗核抗体

中图分类号:R593.2 文献标识码:A 文章编号:1009-9727(2015)04-477-04

# Results of detection of antinuclear antibodies from 20 170 autoimmune disease cases using indirect immunofluorescence assay

CHEN Xi, WU Qian, ZHU Hua-qiang

Department of Clinical Laboratory, Mianyang Municipal Central Hospital, Mianyang 621000, Sichuan, P.R. China

**Abstract:** Objective To investigate the positive distribution of antinuclear antibodies (ANA) and the clinical significance in diagnosis of autoimmune diseases (AID). **Methods** Serum ANA in 20 170 patients were detected by indirect immunofluorescence(IIF) and 869 patients were diagnosed with AID, including 415 cases with systemic lupus erythematosus (SLE), 191 cases with rheumatoid arthritis (RA), 68 cases with polymyositis / dermatomyositis (PM/DM), 102 cases with Sjogren syndrome (SS) and 93 cases with systemic sclerosis (SSc). One hundred and fifty non AID cases were selected as control group. **Results** The positive rate of ANA was 37% in 20 170 patients. The positive rate in male patients was 19% lower than that of female patients (44%,  $P<0.01$ ). The positive rate of ANA in age group of 31-59 years was the highest (41%), followed by age group of  $\leq 30$  years and age group of  $\geq 60$  years (32% and 34%,  $P<0.01$ ). The major fluorescence patterns of ANA positive patients were nuclear speckled pattern (37%) in single pattern and nuclear speckled / homogeneous pattern (14%) in mix pattern. The proportions of major single pattern in AID cases was nuclear speckled pattern, being 53% for SLE cases, 23% for SS cases and 16% for SSc cases, while that of the major mixed pattern was nuclear speckled / homogeneous pattern being 12% for SLE cases and 24% for RA cases. The positive rate of ANA in AID patients was 78% significantly higher than that of control group (11%), and the positive rate of SLE among AID cases was the highest (95%) ( $P<0.01$ ). The titers of ANA in AID patients was  $\geq 1:100$  and less than  $<1:100$  in cases of control group. **Conclusions** The detection of ANA using IIF is of great significance in the diagnosis and treatment of AID.

**Key words:** Indirect immunofluorescence; Autoimmune diseases; Antinuclear antibodies

当自身抗原变性、损伤、移位及免疫功能失调时,机体会对自身抗原产生自身抗体,从而造成免疫性病理损伤或功能障碍,引发 AID。AID 常累及多个系统,临床症状个体差异较大,诊断较困难。自身抗体作为 AID 的重要标志物,在 AID 的诊断与鉴别诊断、病情监测与疗效观察、病程转归与预后判断及阐明其发病机制等方面有重要作用<sup>[1]</sup>。血清 ANA 是一类能与多种细胞核抗原反应的自身抗体,然而由于遗传基因、

饮食结构、生存环境等因素的不同,造成 ANA 在不同人群中的分布有所差异<sup>[2]</sup>。对 2011 年 1 月~2014 年 8 月行 ANA 检查的 20 170 例患者的临床资料进行分析,以探讨 ANA 阳性标本在临床分型诊断上的价值,为临床服务提供理论依据。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 ANA 检测者 20 170 例,男 5 872 例,年龄 1~88 岁,平均 48 岁;女 14 298 例,年龄 1~91

岁,平均39岁。AID患者869例:其中SLE 415例、RA 191例、PM/DM 68例、SS 102例、SSc 93例,均符合美国风湿病学会诊断或分类标准。同期选择非AID患者:符合临床诊断标准的炎症性疾病150例为对照组,男62例,年龄3~88岁,平均41岁;女88例,年龄2~91岁,平均43岁。

1.2 方法 采用IIF法,试剂盒购自德国Eurommun公司,每个反应区同时有两种基质:猴肝组织和人上皮细胞(HEp-2细胞)抗原基质片。严格按照试剂说明书操作,采用Eurommun公司推荐的样本起始稀释度1:100,梯度稀释因子为1:3.2,标本进行1:100、1:320、1:1 000稀释,正常参考范围为<1:100,滴度≥1:100判断为阳性。荧光显微镜为Olympus BX51型。

1.3 统计学分析 应用SPSS 13.0统计软件分析。不同组别间率的比较采用 $\chi^2$ 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ANA检出率 ANA阳性患者7 469例,阳性率为37%(7 469/20 170)。其中,男性阳性率为19%(1 115/5 872),女性阳性率为44%(6 354/14 298),女性ANA阳性率显著高于男性,差异有统计学意义( $\chi^2=1156.35, P<0.01$ )。

2.2 不同年龄组ANA阳性率比较 在7 469例ANA阳性患者中,31~59岁组阳性率高于年龄≤30岁组和≥60岁组,差异有统计学意义( $\chi^2=115.88, P<0.01$ )。在各年龄组中不同性别间ANA阳性率差异也有统计学意义( $P$ 均<0.01)。见表1。

2.3 ANA阳性患者荧光模型分析 (1)单一模型:细胞核型包括核颗粒型2 763例(37%)、核均质型1 270例(17%)、核仁型75例(1%)、核膜型30例(0.4%)、着丝点型269例(3.6%)、核点型30例(0.4%);细胞浆型包括胞浆颗粒型598例(8%)、胞浆纤维型45例(0.6%)。(2)混合模型:核颗粒/核均质型有1 045例(14%)、核颗粒/核仁型有149例(2%)、核均质/核仁型有75例(1%)、核颗粒/胞浆型有523例(7%)、核颗粒/核浆点型有224例(3%)。(3)其它荧光模型:373例(5%),包括2种以上的混合型、少见核型的混合型等。

2.4 AID组与疾病对照组的ANA阳性率及荧光模型 AID组患者阳性率(78%)显著高于疾病对照组(11%)( $\chi^2=267.16, P<0.01$ )。在AID组各分组中ANA阳性率,SLE 95%、SSc 88%、SS 72%、PM/DM 62%、RA 46%;以SLE阳性率最高,以上各组与疾病对照组比较差异有统计学意义( $\chi^2=393.05, 143.30, 98.58, 62.56, 48.49, P<0.01$ )。在ANA阳性的单一荧光模型中,SLE(53%)、SS(23%)、SSc(16%)以核颗粒型为主;ANA阳性的混合荧光模型中,SLE(12%)和RA(24%)以核颗粒/核均质型为主。见表2。

2.5 AID组与疾病对照组ANA滴度分析 AID组中87%的滴度>1:100,疾病对照组88%滴度为1:100。SLE组滴度40%以>1:1 000为主;SS、SSc组滴度1:320的分别占39%、38%;RA、PM/DM组滴度1:100分别为46%、40%。见表3。

3 讨论

AID已成为严重影响人类健康的常见疾病,作为

表1 ANA阳性患者在各年龄组中不同性别间ANA阳性率比较

Table 1 Comparison of ANA positive rate in different gender and age groups of ANA positive patients

性别 Sex	男 Male	女 Female	$\chi^2$ 值 $\chi^2$ Value	P值 P Value
≤30岁组 ≤30 age group	17% (183/1 078)	38% (1 059/2 789)	157.18	<0.01
31~59岁组 31-59 age group	19% (509/2 712)	49% (3 482/7 093)	747.36	<0.01
≥60岁组 ≥60 age group	20% (423/2 082)	41% (1 813/4 416)	269.62	<0.01

表2 AID各亚组与疾病对照组的ANA阳性率及荧光模型比较

Table 2 Comparison of ANA positive rate and fluorescence pattern between the AID group and the control group

组别 Group	例数 No.case	阳性数[n(%)] No.positive	ANA 荧光模型 ANA fluorescence model										其它 Other
			S	H	N	M	C	Cp	S/H	S/N	H/N	S/Cp	
AID组 Group	869	678(78%)	253	83	31	15	43	46	78	26	38	20	45
SLE组 Group	415	394(95%)	210	69	8	2	9	8	49	11	16	4	8
RA组 Group	191	87(46%)	16	15	10	2	3	2	21	7	8	0	3
PM/DM组 Group	68	42(62%)	12	10	2	1	4	3	6	2	2	1	4
SS组 Group	102	73(72%)	17	3	2	1	9	2	6	12	8	2	11
SSc组 Group	93	82(88%)	13	9	6	4	10	3	2	5	13	3	14
疾病对照组 Disease control	150	16(11%)	6	3	0	0	1	1	1	0	0	2	2

注:S-核颗粒型;H-核均质型;N-核仁型;M-核膜型;C-着丝点型;Cp-细胞浆型;其它-除上述核型外的荧光模式。

Note:S:Nuclear types; H: homologous nuclear type; N: nuclear type; M: nuclear membrane type; C: the centromere types

AID 诊断依据之一的 ANA 检测受到临床的广泛关注<sup>[3]</sup>。IIF 法采用 Hep-2 和灵长类肝脏冰冻组织切片两种基质联合检测 ANA, 通过特异性荧光模型对抗体进行预分型, 具有很高的灵敏度和特异性, 结果易

于判断<sup>[4]</sup>。由于不同厂家 ANA 检测起始稀释度和稀释因子不同, 因而不同厂家的 ANA 滴度结果不能直接进行比较。对于阳性结果的荧光滴度界限, 目前国内缺乏统一的滴度稀释系统和标准化报告程序<sup>[5]</sup>。

表3 AID组与疾病对照组ANA滴度比较

Table 3 Comparison of ANA titer between the AID group and the control group

组别 Group	例数 No. case	阳性数 No. positive	ANA 滴度[n(%)] ANA titer			
			1:100	1:320	1:1000	> 1:1000
AID	869	678	88(13%)	149(22%)	251(37%)	190(28%)
SLE	415	394	31(8%)	67(17%)	138(35%)	158(40%)
RA	191	87	40(46%)	34(39%)	11(13%)	2(2%)
PM/DM	68	42	17(40%)	12(29%)	9(21%)	4(10%)
SS	102	73	16(21%)	28(39%)	20(28%)	9(12%)
SSc	93	82	16(20%)	31(38%)	24(29%)	11(13%)
疾病对照组 Disease control	150	16	14(88%)	2(12%)	0(0)	0(0)

本研究采用德国 Eurommun IIF-ANA 稀释方案, 分析检测的 20 170 例患者 ANA 阳性率为 37%, 其中女性阳性率(44%)明显高于男性(19%)( $P<0.01$ )。上述结果与车文英等<sup>[6]</sup>报告的 ANA 阳性率基本一致。本研究不同年龄组间 ANA 阳性患者的阳性率分别是 32%、41%、34%( $P<0.01$ ), 并且在各年龄组中不同性别间 ANA 阳性率差异有统计学意义。由于 ANA 阳性的荧光模型分布多样, 一种抗体可出现不同的荧光模型, 不同的抗体也可出现相同的荧光模型, 且 ANA 靶抗原检测由传统的细胞核扩展到整个细胞, 抗原谱完整<sup>[7]</sup>。在单一模型中以核颗粒型最常见(37%), 其次核均质型也较常见(17%); 混合模型以核颗粒/核均质型为主(14%)。荧光模型与相应靶抗原在细胞内的分布相关, 可初步提供自身抗体针对的靶抗原信息, 并可作为下一步的确认实验提供指导作用, 为临床判断提供重要的参考依据。还可根据荧光模型结果判断确认实验结果的有效性, 以排除非特异性反应<sup>[8]</sup>。本研究中 AID 患者的 ANA 阳性率为 78%, 其中 SLE 患者 ANA 阳性率达到 95%, 且 SSc、SS、PM/DM 组的 ANA 阳性率分别为 88%、72%、62%, 与车文英等<sup>[6]</sup>报道基本一致。说明检测 ANA 对疾病诊断有较高的临床价值, 且 ANA 阳性已经被美国风湿病学会列为 SLE 的诊断标准之一<sup>[9]</sup>。而疾病对照组 ANA 阳性率也有 11%, 这提示我们在诊断中要结合临床症状和其它检测指标综合判断<sup>[10]</sup>。AID 组中 SLE 的核颗粒型比例最高(53%), 且 SS(23%)、SSc(16%)也以核颗粒型为主; 混合荧光模型中, SLE(12%)和 RA(24%)以核颗粒/核均质型为主。表明 AID 其荧光模型有一定的特征性, 不同的 AID 可能有相同的荧光模型, 但仍需要对 AID 做进一步分析, 才能避免荧光模型判断的局限性和片面性。另外, ANA 滴度结果也非常重要, 本分析中 AID 滴度以  $\geq 1:100$  为主, 而疾病对照组以  $<1:$

100 为主。ANA 属非特异指标, 可在许多疾病中出现, 但其滴度可作为 SLE 患者活动性指标之一<sup>[11]</sup>。其中 SLE 组滴度  $\geq 1:1\ 000$  的达 40%, SS、SSc 组以 1:320 为主, 而 RA、PM/DM 组则以 1:100 为主。ANA 阳性滴度越高, 对 AID 诊断的意义越大, 说明受检患者多数为病情没有控制的初发病例或活动期患者。而对于低滴度的 ANA 需结合临床症状等因素综合分析以明确 AID 诊断。定期检查 ANA 滴度有助于病情的监控。

美国风湿学会(ACR)立场声明: IIF 法采用的 Hep-2 细胞包含大约 100~150 种自身抗原, 而其它初筛方法仅具有少量自身抗原, 有大约 35% SLE 患者和 IIF-ANA 阳性患者在其它初筛实验中为阴性结果<sup>[12]</sup>。IIF-ANA 已成为临床上极重要的 AID 筛查实验。AID 的起始和发病机制尚不清楚, 其诊断较为复杂。当患者疑似 AID 时, 应用 IIF(Hep-2)进行 ANA 全抗原检测, 如阳性再进行特异性抗原检测(ELISA, Blot)确定靶抗原及疾病特性; 如阴性对患者进行跟踪监测或增加检测项目(ELISA, Blot)以提高灵敏度, 如 dsDNA, SSA, Jo-1 等。总之, IIF 法检测 ANA 荧光模型、滴度, 有助于 AID 的临床诊断和治疗监测, 但也有一定的局限性, 如果能应用其它方法进行针对特异性抗体的确认试验将更具有诊断意义<sup>[13]</sup>。目前, IIF 检测 ANA 时, 有很多荧光模型相对应的靶抗原尚不清楚, 尤其是这些荧光模型的临床意义不明确, 但随着人们对自身免疫病及其相关自身抗体研究的深入, 越来越多的以前认为没有临床意义的抗体将成为新的研究焦点。

#### 参考文献

- [1] 闫亚锋. 抗核抗体在自身免疫性疾病诊断中的应用[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(1): 949-950.