

• 论 著 •

类风湿关节炎患者血清抗核抗体表达分析

孙家祥 李艳 张乃丹 杨浩

作者单位: 618000 四川德阳, 德阳市人民医院检验科

通信作者: 孙家祥, Email: sunjxdy@126.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2019.04.005

【摘要】 目的 探讨抗核抗体(ANA)在类风湿关节炎(RA)患者血清中的表达及应用价值。**方法** 选择德阳市人民医院风湿免疫科 155 例确诊 RA 患者作为研究对象(RA 组),根据患者休息时关节疼痛和肿胀数是否超过 5 个、晨僵持续时间是否大于 1 h、关节压痛个数是否超过 5 个以及红细胞沉降率(ESR)水平等情况,将 RA 患者分为稳定组(66 例)和活动组(89 例);另选本院 120 例健康体检者作为健康对照组。检测所有受检者的血清 ANA、抗双链 DNA(dsDNA)和抗核抗体谱(ANAs),ANA 和抗 dsDNA 抗体采用间接免疫荧光法(IIF);检测 ANAs 13 项[包括抗核糖体蛋白/史密斯(U1-nRNP/Sm)抗体、抗史密斯(Sm)抗体、抗干燥综合征抗原 A(SSA)抗体、抗干燥综合征抗原 B(SSB)抗体、抗 Ro-52 抗体、抗硬皮病 70(Scl-70)抗体、抗组氨酰 tRNA 合成酶(Jo-1)抗体、抗着丝点 B 蛋白(CENP-B)抗体、抗核小体(Nucleosome)抗体、抗 dsDNA 抗体、抗组蛋白(Histone)抗体、抗核糖体 P 蛋白(Rib-Prot)抗体、抗线粒体 M2 型(AMA-M2)抗体]采用线性免疫印迹法(LIA)。比较两组之间 ANA 阳性率,分析 ANA 荧光模式分布以及 ANAs 阳性检出情况。**结果** RA 组 ANA 总阳性率明显高于健康对照组[38.06%(59/155)比 10.83%(13/120), $P < 0.05$],其中 RA 组男性 ANA 阳性率与女性比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。59 例 ANA 阳性患者标本中,ANA 滴度 $\geq 1:100$ 者 29 例(占 49.15%), $\geq 1:320$ 者 21 例(占 35.59%), $\geq 1:1000$ 者 9 例(占 15.25%)。ANA 荧光模式以核颗粒型(30.51%)、胞质颗粒型(28.81%)、抗着丝粒型(15.26%)、核仁型(10.17%)和核点型(8.47%)最常见。活动组 ANA 阳性率明显高于稳定组[46.07%(41/89)比 27.27%(18/66), $P < 0.05$]。ANAs 单项或多项抗体阳性率为 47.46%(28/59),检出率较高的单项自身抗体分别为抗 Ro-52 抗体、抗 SSA-60 抗体、抗 SSB 抗体、抗 U1-nRNP/Sm 抗体和抗 AMA-M2 抗体。**结论** RA 患者血清 ANA 和 ANAs 检出率较高,可能与疾病活跃程度或严重程度相关,应引起临床高度重视。

【关键词】 类风湿关节炎; 抗核抗体; 临床意义; 血清

Analysis on expression of serum antinuclear antibody in patients with rheumatoid arthritis

Sun Jiaxiang, Li Yan, Zhang Naidan, Yang Hao. Department of Clinical Laboratory, the People's Hospital of Deyang City, Deyang 618000, Sichuan, China

Corresponding author: Sun Jiaxiang, Email: sunjxdy@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression and clinical significance of antinuclear antibodies (ANA) in serum of patients with rheumatoid arthritis (RA). **Methods** Totally 155 patients with RA diagnosed by Rheumatology and Immunology Department of Deyang People's Hospital were selected as the research objects. According to whether the number of arthralgia and swelling at rest was more than 5, whether the duration of morning stiffness was more than 1 hour, whether the number of joint tenderness exceeded 5, erythrocyte sedimentation rate (ESR) levels, etc., RA patients were divided into stable group (66 cases) and active group (89 cases). Other 120 healthy subjects in our hospital were selected as the control group. The ANA, anti-double-stranded DNA (dsDNA) and antinuclear antibody profiles (ANAs) in serum of all subjects were detected. ANA and anti-dsDNA antibody were detected by indirect immunofluorescence (IIF). The ANAs 13 items [anti-ribosomal protein/Smith (U1-nRNP/Sm) antibody, anti-Smith (Sm) antibody, anti-Sjogren's syndrome antigen A (SSA) antibody, anti-Sjogren's syndrome antigen B (SSB) antibody, anti-Ro-52 antibody, anti-scleroderma 70 (Scl-70) antibody, anti-Hyalecatyl tRNA synthetase (Jo-1) antibody, anti-central point B protein (CENP-B) antibody, anti-neucleosome (Neucleosome) antibody, anti-dsDNA antibody, anti-histone (Histone) antibody, anti-ribosomal P protein (Rib-Prot) antibody, anti-mitochondrial M2 (AMA-M2) antibody] were detected by linear immunoblotting (LIA). The positive rates of ANA in each group were compared, and the distribution of ANA fluorescence pattern and positive detection of ANAs were analyzed. **Results** The total positive rate of ANA in RA group was significantly higher than that in healthy control group [38.06% (59/155) vs. 10.83% (13/120), $P < 0.05$], and there was no statistically significant difference

between male and female in RA group ($P > 0.05$). Among the 59 ANA positive patients, 29 patients (49.15%) had ANA titer $\geq 1:100$, 21 patients (35.59%) had ANA titer $\geq 1:320$, and 9 patients (15.25%) had ANA titer $\geq 1:1000$. The most common patterns of ANA fluorescence were nuclear granule (30.51%), cytoplasmic granule (28.81%), anticentromere (15.25%), nucleolar (10.17%) and nuclear point (8.47%). The positive rate of ANA in active group was significantly higher than that in stable group [46.07% (41/89) vs. 27.27% (18/66), $P < 0.05$]. The positive rate of single or multiple antibodies in ANAs was 47.46% (28/59). The single autoantibodies with higher detection rate were anti-Ro-52 antibody, anti-SSA-60 antibody, anti-SSB antibody, anti-U1-nRNP/Sm antibody and anti-AMA-M2 antibody. **Conclusion** The detection rate of ANA and ANAs in serum of RA patients is high, which may be related to the degree of disease activity or severity, so it should be paid more attention to in clinical practice.

【Key words】 Rheumatoid arthritis; Antinuclear antibodies; Clinical significance; Serum

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种以慢性侵蚀性关节炎为特征的全身自身免疫性疾病,其病变特点主要为慢性、对称性滑膜炎,以及由此造成的关节软骨和骨质破坏。RA 具有较强的致残性,发病 2 年内即可出现不可逆的骨关节破坏^[1]。RA 患者血清中常可检出多种自身抗体,这些自身抗体对 RA 的早期诊断、病情评估、疗效观察、预后判断等具有重要意义。本研究检测分析 155 例 RA 患者血清中的抗核抗体 (antinuclear antibody, ANA)、抗双链 DNA (dsDNA) 抗体和抗核抗体谱 (ANAs),旨在探讨上述指标在 RA 患者诊疗中的临床应用价值,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选择本院风湿免疫科 RA 确诊患者 155 例 (RA 组),其中男性 63 例,女性 92 例;年龄 18~75 岁,平均 (44.5 ± 12.8) 岁。另选本院健康体检者 120 例作为健康对照组,其中男性 55 例,女性 65 例;年龄 18~73 岁,平均 (43.6 ± 11.7) 岁。所有 RA 患者诊断均符合欧洲抗风湿联盟 (European Association of Anti-Rheumatology Annual, EULAR) 和美国风湿病学会 (American College of Rheumatology, ACR) 2009 年联合发布的 RA 诊断标准^[2];排除合并高血压、糖尿病、严重感染和肿瘤等慢性疾病的患者。

1.2 分组 根据休息时关节疼痛和肿胀个数是否超过 5 个、晨僵持续时间是否大于 1 h、关节压痛个数是否超过 5 个以及红细胞沉降率 (erythrocyte sedimentation rate, ESR) 水平^[3]等情况,再将 RA 组患者进一步分为稳定组 (66 例) 和活动组 (89 例)。

1.3 仪器与试剂 仪器包括 Olympus-BX1 型荧光显微镜, Rayto Blotray 866 自动膜条分析仪; ANA 和抗 dsDNA 抗体检测试剂由德国欧蒙公司提供, ANAs 检测试剂由苏州浩欧博生物医药公司提供。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 标本采集 抽取 RA 组和健康对照组同一天清晨空腹静脉血, 2 h 内分离血清, 于冰箱 20~80 °C 保存, 3 d 内完成检测。

1.4.2 ANA 和抗 dsDNA 抗体检测 ANA 和抗 dsDNA 抗体采用间接免疫荧光法 (indirect immuno fluorescence, IIF) 检测。ANA 使用猴肝细胞和人喉癌上皮细胞 (Hep-2) 双基质抗原, 以抗体滴度 $> 1:100$ 为阳性; 抗 dsDNA 抗体使用绿蝇短膜虫为抗原, 以抗体滴度 $> 1:10$ 为阳性。

1.4.3 ANAs 检测 ANAs 采用线性免疫印迹法 (line immuno assay, LIA) 检测。检测项目共 13 项, 包括抗核糖体蛋白 / 史密斯 (U1-nRNP/Sm) 抗体、抗史密斯 (Sm) 抗体、抗干燥综合征抗原 A (SSA) 抗体、抗干燥综合征抗原 B (SSB) 抗体、抗 Ro-52 抗体、抗硬皮病 70 (Scl-70) 抗体、抗组氨酰 tRNA 合成酶 (Jo-1) 抗体、抗着丝点 B 蛋白 (CENP-B) 抗体、抗 dsDNA 抗体、抗核小体 (Nucleosome) 抗体、抗组蛋白 (Histone) 抗体、抗核糖体 P 蛋白 (Rib-Prot) 抗体、抗线粒体 M2 型 (AMA-M2) 抗体。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件包进行数据分析, 计数资料以率表示, 采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 健康对照组与 RA 组 ANA 阳性率比较 RA 组患者 ANA 总阳性率明显高于健康对照组 ($P < 0.05$)。见表 1。RA 组男性 ANA 阳性率为 33.33% (21/63), 女性 ANA 阳性率为 41.30% (38/92), 两者比较差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.008$, $P = 0.315$)。

2.2 活动组与稳定组 ANA 阳性率比较 活动组 ANA 阳性率明显高于稳定组 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 ANA 荧光模式分布 RA 组患者 59 例阳性标本中, ANA 滴度 $\geq 1:100$ 者 29 例 (占 49.15%), $\geq 1:320$ 者 21 例 (占 35.59%), $\geq 1:1000$ 者 9 例 (占 15.26%)。

表 1 健康对照组与 RA 组的 ANA 阳性率比较

组别	例数(例)	阳性例数(例)	阳性率(%)
健康对照组	120	13	10.83
RA 组	155	59	38.06
χ^2 值			25.950
P 值			0.000

表 2 活动组与稳定组的 ANA 阳性率比较

组别	例数(例)	阳性例数(例)	阳性率(%)
活动组	89	41	46.07
稳定组	66	18	27.27
χ^2 值			5.678
P 值			0.017

最常见的 ANA 荧光模式为核颗粒型(30.51%)、胞质颗粒型(28.81%)、抗着丝粒型(15.25%)、核仁型(10.17%)和核点型(8.47%),其余为少见荧光模式或二联及以上荧光模式。

2.4 ANAs 阳性检出结果 RA 组患者 59 例 ANA 阳性标本中,共检出 ANAs 单项或多项抗体阳性 28 例,阳性率为 47.46%。检出率较高的单项自身抗体分别为抗 Ro-52 抗体、抗 SSA-60 抗体、抗 SSB 抗体、抗 U1-nRNP/Sm 抗体和抗 AMA-M2 抗体。见表 3。

表 3 ANAs 单项抗体阳性检出结果

抗体种类	阳性例数(例)	占阳性标本比例 [% (例/例)]	占总标本比例 [% (例/例)]
抗 Ro-52 抗体	8	28.57 (8/28)	5.16 (8/155)
抗 SS-60 抗体	6	21.43 (6/28)	3.87 (6/155)
抗 SSB 抗体	5	17.86 (5/28)	3.23 (5/155)
抗 AMA-M2 抗体	5	17.86 (5/28)	3.23 (5/155)
抗 U1-nRNP/Sm 抗体	3	10.71 (3/28)	1.93 (3/155)
抗 Sm 抗体	2	7.14 (2/28)	1.29 (2/155)
抗 CENP-B 抗体	2	7.14 (2/28)	1.29 (2/155)
抗 Scl-70 抗体	1	3.57 (1/28)	0.65 (1/155)
抗 Jo-1 抗体	1	3.57 (1/28)	0.65 (1/155)
抗 Rib-Prot 抗体	1	3.57 (1/28)	0.65 (1/155)
抗 dsDNA 抗体	0	0.00 (0/28)	0.00 (0/155)
抗 Nucleosome 抗体	0	0.00 (0/28)	0.00 (0/155)
抗 Histone 抗体	0	0.00 (0/28)	0.00 (0/155)

3 讨论

RA 的致病机制复杂,病因至今尚不明确,通常认为与免疫、环境、感染、遗传等多种因素有关,特别是辅助性 T 细胞及细胞因子的积极参与,调节 RA 的发生发展,促进机体大量分泌病理性自身抗体,从而诱发免疫炎症反应^[4-5],这些持续存在的自身抗体是 RA 诊断与病情评估的重要指标。

ANA 虽然不是 RA 的诊断指标,但越来越多的研究显示,ANA 可能与 RA 的发生发展以及病情判断密切相关^[6-7]。RA 患者的血清中可检出 ANA,

但各文献所报道的阳性率不一致^[7-9],李亚波等^[7]报道的阳性率为 37.6%,张玲等^[8]报道的阳性率为 44%,石青峰等^[9]报道 RA 患者 ANA 滴度 $\geq 1:100$ 阳性率高达 79.7%;而本研究阳性率为 38.06%,略低于文献报告的结果。阳性率的高低可能与各自研究的样本组成以及受检者处于疾病的不同阶段有关,ANA 无种属和器官特异性,在体内可与多组织器官的自身抗原结合形成免疫复合物,免疫复合物随血液循环沉积在机体的不同部位,诱发组织炎症和损伤,使病情持续发展。同时免疫复合物的形成会消耗体内补体 C3 和 C4,而 C3 和 C4 的下降又会诱导凋亡细胞释放更多核酸,使机体产生更多的 ANA^[10],如此反复循环,若不加以控制会造成 RA 患者病情进展加速并反复迁延。有研究显示,ANA 阳性的 RA 患者中,类风湿因子(rheumatoid factor, RF)阳性率可增加 19%~30%,抗 CCP 抗体水平和阳性率也有所增加,RF 和抗 CCP 抗体与骨质破坏和关节损伤密切相关,由此推测 ANA 在一定程度上可反映 RA 患者病情活跃程度,并促进 RA 进展^[11],因此及时检测 ANA 对了解 RA 病情有积极指导意义。

本研究显示,RA 患者 ANA 荧光模式并不以某一种为突出,而是可见多种不同的荧光模式,ANA 滴度大部分以低滴度为主,反映了血清抗体表达的多样性和非特异性。本研究活动组的 ANA 阳性率明显高于稳定组,说明活动组患者的 ANA 表达更为活跃。金静等^[12]的研究表明,ANA 阳性与抗 CCP 抗体阳性以及 C-反应蛋白 >35 mg/L 是老年 RA 并发颈动脉损害的危险因素;裴文意等^[13]的研究显示,高 ANA 阳性率还是老年 RA 患者发生抑郁的独立影响因素。提示对 ANA 阳性的 RA 患者,尤其是滴度较高的患者应予以特别重视并及早控制。经观察发现,治疗后患者病情逐渐缓解,部分患者的 ANA 滴度也随之下降甚至转阴。

RA 患者血清中可检出 ANAs 多项单个自身抗体,但各研究所报道的检出率不一致^[14-15]。任焕民等^[14]报道 RA 患者血清中抗 SSA 抗体、抗 PM-SCL 抗体、抗 Histone 抗体检出率明显升高;董旭才等^[15]报道抗 nRNP/Sm 抗体在 RA 患者血清中有较高的检出率。上述抗体与某些其他自身免疫性疾病(autoimmune disorders, AID)有一定相关性,提示 RA 合并其他 AID 的可能,可累及除关节以外的多个器官。本研究 59 例 ANA 阳性标本中,ANAs 单项或多项抗体阳性的总检出率为 47.46%,检出率较高的单

项目自身抗体分别为抗 Ro-52 抗体、抗 SSA-60 抗体、抗 SSB 抗体、抗 U1-nRNP/Sm 抗体和抗 AMA-M2 抗体。目前,国内有关 RA 患者血清 ANAs 对疾病发生和预后关联程度的报道较少,还需进一步深入研究。有文献报道,约 4%~31% 的 RA 患者合并干燥综合征^[11],肖田田等^[16]对部分 RA 患者进行随访发现,抗 SSA 抗体阳性患者的 ESR 和 CRP 长期处于较高水平,治疗反应性差,认为抗 SSA 抗体阳性可能是提示难治性 RA 及预后较差 RA 的指标。因此在实际工作中,RA 患者 ANAs 阳性应引起临床高度重视。

参考文献

- 王毅,石姜,程伟. 抗 RA33、抗 CCP 抗体检测在 RA 诊断中的应用[J]. 重庆医学, 2003, 32(8): 1033-1034. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2003.08.035.
- 中华医学会风湿病学分会. 类风湿关节炎诊断及治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志, 2010, 14(4): 265-270. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-7480.2010.04.014.
- Anderson J, Caplan L, Yazdany J, et al. Rheumatoid arthritis disease activity measures: American College of Rheumatology recommendations for use in clinical practice [J]. Arthritis Care Res (Hoboken), 2012, 64(5): 640-647. DOI: 10.1002/acr.21649.
- 孟岩,李明远,张新玉. 类风湿关节炎患者血清 IL-21 及 TGF- β 的表达及临床意义[J]. 海南医学, 2017, 28(21): 3496-3498. DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2017.21.019.
- 李杨磊,白善旺,张佳佳,等. 滤泡辅助性 T 细胞相关分子与类风湿性关节炎相关性研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2019, 35(3): 281-286.
- 王家骊,孙良丽,焦鑫,等. 抗核抗体及抗体谱在常见关节疾病中的临床表达特征分析[J]. 实用检验医师杂志, 2015, 8(2): 73-78. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2015.02.003.
- 李亚波,周芳,邹映东,等. 类风湿性关节炎合并核抗体阳性的临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(2): 184-186. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.02.014.
- 张玲,吴丽华,李玲,等. 5 种指标在类风湿关节炎中的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(6): 701-703. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.06.031.
- 石青峰,马韵,杨峻,等. 类风湿性关节炎患者抗核抗体及其多肽谱的检测[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(23): 2869-2870, 2872. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.23.024.
- 孙家祥,李艳,刘利洪,等. 系统性红斑狼疮患者外周血 T 淋巴细胞亚群、免疫球蛋白及补体变化分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2013, 12(9): 654-655. DOI: 10.3969/j.issn.1671-4695.2013.09.005.
- 秦思,陆亚华. 类风湿关节炎合并干燥综合征患者的临床及实验室特点[J]. 临床荟萃, 2015, 30(5): 548-551. DOI: 10.3969/j.issn.1004-583X.2015.05.018.
- 金静,杜引会,郑婕. ANA 及 IMT 对老年类风湿关节炎患者并发颈动脉损害的预测价值及危险因素分析[J]. 解放军预防医学杂志, 2018, 36(6): 736-737, 741.
- 裴文意,蒋浩明,袁海燕,等. 老年类风湿性关节炎患者 ANA 和抗-CCP 检测及其与抑郁的相关性[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(20): 2987-2988, 2991. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.20.028.
- 任焕民,刘晓良. RF AKA CRP CCP 和 ANA 五项检测诊断类风湿性关节炎的临床意义[J]. 河北医学, 2016, 22(12): 1943-1945. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6233.2016.12.003.
- 董旭才,沈建军,张婧,等. 类风湿因子、抗环瓜氨酸肽抗体和 ESR 联合检测在类风湿性关节炎的临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(16): 2260, 2273. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.18.001.
- 肖田田,曾频频,李东升,等. 抗 SSA 抗体阳性类风湿关节炎 28 例分析[J]. 当代医学, 2016, 22(23): 10-11. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4393.2016.23.006.

(收稿日期: 2019-09-10)

(本文编辑: 张耘菲)

读者·作者·编者

本刊常用不需要标注中文的缩略语 (三)

治疗药物监测 (therapeutic drug monitoring, TDM)
 多重耐药菌 (multiple resistant bacteria, MDR)
 髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO)
 系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE)
 高度鳞状上皮内病变
 (high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)
 低度鳞状上皮内病变
 (low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL)
 不典型鳞状细胞
 (atypical squamous cell of undetermined significance, ASC-US)
 人巨细胞病毒 (human cytomegalovirus, HCMV)
 受试者工作特征曲线
 (receiver operating characteristic curve, ROC)
 ROC 曲线下面积 (area under curve, AUC)

总胆红素 (total bilirubin, TBil)
 直接胆红素 (direct bilirubin, DBil)
 丙氨酸转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)
 天冬氨酸转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST)
 谷氨酰转肽酶 (glutamyl transpeptidase, GGT)
 慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD)
 随机对照试验 (randomized controlled trial, RCT)
 世界卫生组织 (World Health Organization, WHO)
 环介导等温扩增技术
 (loop mediated isothermal amplification, LAMP)
 社区获得性肺炎 (community acquired pneumonia, CAP)
 幽门螺杆菌 (Helicobacter pylori, Hp)
 血清胃蛋白酶原 (pepsinogen, PG)
 胃泌素 17 (gastrin 17, G-17)