

80 例狼疮肾炎病人 ANA 荧光核型及抗核抗体谱分析

李 惠,廖湘平,陈香文,邹 琴,肖 华

(郴州市第一人民医院南华大学转化医学研究所肾脏风湿免疫实验室,湖南 郴州 423000)

摘要: **目的** 探讨抗核抗体(ANA)荧光核型及抗核抗体谱多肽谱对狼疮性肾炎(LN)诊断的有效指标。 **方法** 对 80 例 LN 组,78 例系统性红斑狼疮(SLE)非 LN 组及 104 例非 SLE 组分别用间接荧光法(IIF—ANA)和线性免疫印迹法(LIA—ANA)进行抗核抗体荧光核型、双链 DNA 及 11 项抗核抗体谱多肽谱分析。 **结果** LN 组抗核抗体阳性率($>1:100$)为 100% (80/80),LN 组荧光核型均质型 42.5% (34/80)显著高于非 LN 组 21.79% (17/78)与对照组 5.77% (6/104), $P < 0.05$;LN 组颗粒核型 53.75% (43/80)明显低于非 LN 组 73.08% (57/78), $P < 0.05$ 。LN 病例核均质型主要表现为抗 Hi、Nud、dsDNA 抗体, χ^2 为 8.26、23.05、26.39(P 均 < 0.05)。抗核抗体谱多肽谱分析,LN 组仅抗 dsDNA 抗体 55.00% (44/80)高于非 LN 组 23.08% (18/78),差异有显著性, $P < 0.05$ 。 **结论** SLE 伴狼疮性肾炎的病人 ANA 荧光核型主要表现为均质型,抗 dsDNA 抗体阳性率显著性增高,可视为预测狼疮性肾炎的有效指标。

关键词: 狼疮性肾炎; 抗核抗体; 荧光核型; 抗核抗体谱; 有效指标

中图分类号:R593.242 文献标识码:A

Analysis of Anti-nuclear Antibody Fluorescence Patterns and Extractable Nuclear Antibody for 80 Patients with Lupus nephritis

LI Hui, LIAO Xiangping, CHEN Xiangwen, et al

(Department of Nephrology and Rheumatology, Institute of Translation Medicine,
University of South China, Chenzhou, Hunan 423000, China)

Abstract: **Objective** To discuss the diagnostic effective indicators of anti-nuclear antibody(ANA) fluorescence patterns and extractable nuclear antibody(ENA) for the patients with lupus nephritis (LN). **Methods** We enrolled 158 systemic lupus (SLE) patients, of whom 80 were diagnosed with LN, the other 78 were not accompanied with LN, 104 people without SLE were regarded as control group. Autoantibodies were measured and analyzed in 158 SLE patients and control group. The levels of ANA and anti-double stranded DNA(anti-dsDNA) antibody were measured by indirect immunofluorometric assay, and other 11 anti-ENA antibody were determined by linearity immunoblotting assay. **Results** At the study entry, The positive rate of ANA ($>1:100$) in LN patients were 100% (80/80), 42.5% (34/80) LN patients present homogeneous pattern in the sero, which were significantly more than that in SLE patients (21.79%, 17/78); While granular pattern in SLE group (73.08%, 57/78) was obviously higher than that of LN group (53.75%, 43/80), $P < 0.05$. In this article, we demonstrated that anti-Hi, anti-Nud, anti-dsDNA antibody were cardinal target antibodies of homogeneous pattern, pearson χ^2 were 8.26, 23.05, 26.39, individually, $P < 0.05$. Through manifestation by chi-square test, with regard to LN patients, only prevalence for anti-dsDNA antibody (55.00% vs. 23.08%, $P = < 0.05$) in patients with LN were significantly higher than that in patients without LN. **Conclusions** The main fluorescence patterns were homogeneous pattern in sero of SLE accompanied with lupus nephritis. And there were high relationship between ANA homogeneous patterns and anti-dsDNA antibody. As a result, detection of the homogeneous pattern and anti-dsDNA antibody was the effective indicator of diagnosis for LN.

Key words: lupus nephritis; anti-nuclear antibody; fluorescence patterns; extractable nuclear antibody; diagnostic effective index of LN

狼疮性肾炎 (lupus nephritis, LN) 是系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 患者最常见的并发症,在继发性肾小球疾病中占 70%^[1],也是 SLE 病人死亡的主要原因。间接荧光法 (IIF—ANA) 和线性免疫印迹法 (LIA—ANA) 为现今自身免疫性疾病免疫学诊断、病情监测、预后判断的主要方法,本文对本科室 80 例确诊为 LN 病人血清免疫学指标进行统计学分析,以评价 LN 有效的诊断指标。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2011 年 4 月~2012 年 12 月间本科室门诊与住院 SLE 患者 158 例,所有患者符合美国风湿病学会 1997 年修订的关于 SLE 的 4 条诊断标准,有肾损害的临床表现,如出现持续性蛋白尿 >0.5g/d 或多次尿蛋白≥(3+),和(或)细胞管型尿(可为红细胞、血红蛋白、颗粒管型或混合性管型),伴有或不伴有肾功能不全,即可诊断为 LN^[2]。80 例 SLE 患者伴狼疮性肾炎,男 7 例,女 73 例,男:女为 1:10,年龄 17~68 岁,平均年龄 38.91±14.51 岁;78 例 SLE 不伴狼疮性肾炎为非 LN 组,其中男 7 例,女 71 例,男:女为 1:10,年龄 15~68 岁,平均年龄 36.69±13.70 岁,非 SLE 104 例为对照组,年龄 17~68 岁,平均年龄 40.11±13.57 岁,男:女为 1:12,其中干燥综合征 12 例,系统

性硬化症及硬皮病 10 例,皮炎 5 例,强直 7 例,未分化结缔组织病 4 例,类风湿关节炎 4 例,其他包括健康体检共 62 例。

1.2 方法

用间接免疫荧光法分别测定抗核抗体、抗双链 DNA 抗体,ANA 采用猴肝与 HEP—2 细胞两基质 (>1:100 判读为阳性),抗双链 DNA 采用绿蝇短膜虫基质,抗核抗体谱采用 11 种纯化靶抗原 (sm、SSA、SSB、Scl—70、Jo—1、nRNP/sm、CENP—B、Hi、Nud、Rib) 标记免疫膜条法,试剂均来自于德国欧蒙实验诊断公司。

1.3 统计学分析

采用 SPSS11.5 统计软件,计数资料两两比较用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ANA 阳性率与荧光核型分析

LN 组抗核抗体阳性率 (>1:100) 为 100.00% (80/80),非 LN 组抗核抗体阳性率为 96.15% (75/78)。LN 组荧光核型均质型 42.50% (34/80) 显著高于非 LN 组 21.79% (17/78) 与对照组 5.77% (6/104), $P<0.05$;LN 组颗粒核型 53.75% (43/80) 明显低于非 LN 组 73.08% (57/78), $P<0.05$,见表 1。

表 1 三组荧光核型与抗核抗体谱阳性率比较

项目	非 LN 组 (n=78)	LN 组 (n=80)	对照组 (n=104)	χ^2	<i>P</i> 值	χ^2	<i>P</i> 值
				非 LN 组与 LN 组	非 LN 组与 LN 组	对照组与 LN 组	对照组与 LN 组
ANA	75	80	42	7.10	0.42	85.76	0.00
核均质	17	34	6	7.74	0.00	35.85	0.00
颗粒	57	43	23	6.35	0.01	19.67	0.00
核点	1	3	4	0.98	0.00	0.97	0.00
核仁	6	5	15	0.13	0.76	3.12	0.10
浆颗粒	6	9	5	0.58	0.59	2.67	0.16
核糖体 P 蛋白	1	2	0	0.32	1.00	2.63	0.19
dsDNA	18	44	2	16.88	0.00	67.94	0.00
Sm	24	24	0	0.01	1.00	35.88	0.00
Ro52	58	57	21	0.19	0.72	48.27	0.00
CENP	3	4	6	0.12	1.00	0.05	1.00
Hi	23	26	1	0.19	0.73	35.92	0.00
Nud	29	32	2	0.13	0.75	43.52	0.00
SSA	54	66	18	3.81	0.84	77.46	0.00
SSB	14	16	9	0.11	0.07	4.96	0.03
Scl-70	1	0	6	1.03	0.49	4.77	0.04
Jo—1	2	5	2	1.27	0.44	2.31	0.24
nRNP/sm	18	11	2	2.29	0.15	9.63	0.00
Rib	30	23	1	1.67	0.13	30.79	0.00

2.2 狼疮性肾炎荧光核型与抗核抗体谱相关性分析

LN 病人核均质型主要表现有抗 Hi、Nud、dsDNA 抗体, χ^2 为 8.26、23.05、26.39 (P 均 < 0.05); 核颗粒型主要表现为抗 Nud 与抗 dsDNA 抗体, pearson χ^2 为 14.08、15.02 (P 均 < 0.05); 而核仁型主要表现为 Rib ($\chi^2 = 6.84, P < 0.05$)。

2.3 抗核抗体谱分析

抗核抗体谱分析, LN 组的抗 dsDNA 抗体 55.00% (44/80)、抗 sm 抗体 30.00% (24/80)、抗 Ro52 抗体 71.25% (57/80)、抗 Hi 抗体 32.50% (26/80)、抗 Nud 抗体 40.00% (32/80)、抗 SSA 抗体 82.50% (66/80)、抗 SSB 抗体 20.00% (16/80)、抗 RNP/sm 抗体 13.75% (11/80)、抗 Rib 抗体 28.75% (23/80) 与均显著性高于对照组, 分别为 1.92% (2/104)、0.00% (0/104)、20.19% (21/104)、0.96% (1/104)、1.92% (2/104)、17.31% (18/104)、8.65% (9/104)、1.92% (2/104)、0.96% (1/104)。相对于非 LN 组, 仅抗 dsDNA 抗体 55.00% (44/80) 高于非 LN 组 23.08% (18/78), 差异有显著性, $P < 0.05$, 如表 1。

3 讨 论

现临床对狼疮性肾炎的诊断主要依赖肾活检以明确病理类型, 判断病变的活动性、严重程度和预后, 对制定合理有效的治疗方案具有重要的指导意义, 但由于肾活检存在创伤性不易于推广, LN 诊断与活动性判断十分需要肾活检以外的实验室尤其是免疫学指标的提示。做为常规的自身免疫性抗体检测的 ANA、抗核抗体谱指标, 对其正确的判读十分重要。

本文研究显示, LN 病人血清中荧光核型以均质型 (42.5%, 34/80) 显著性高于非 LN 组 (21.79%, 17/78) 与对照组 5.77% (6/104), $P < 0.05$, 而核均质型主要表现有 Hi、Nud、dsDNA, 提示 ANA 荧光核型对抗体类型初步判断具有某种预示作用, 如与抗核抗体谱同时测定可对实验室结果的可靠性做评判, 并对疾病做出正确的判断与评估^[3]。

有研究^[4]表明肾小球肾炎是由于 B 细胞耐受平衡机制紊乱导致的多种抗体分泌异常, 与相关性抗原形成免疫复合物沉积于肾小球及肾小管间质上, 介导一系列的炎症反应。核小体内的 DNA 诱导机体产生 dsDNA 抗体, 抗 dsDNA 抗体可能与结合在肾小球基质或肾小球基底膜内的核小体结构域,

如肾小球基底膜上的层粘连蛋白、硫酸乙酰肝素和足细胞或系膜细胞中的 α -actinin 等自身抗原交叉反应, 导致某种病理类型狼疮肾炎的发生^[5]。dsDNA 抗体是目前公认的参与 SLE 发病和组织损伤的自身抗体, 检测 dsDNA 抗体水平对于评估 SLE 的病情活动及判断有无肾脏损害有一定的意义^[6]。本文研究也显示出, LN 病人 dsDNA 抗体 (55.00%, 44/80) 显著性高于非 LN 红斑狼疮病人 (23.08%, 18/78), 差异有统计学意义。

除 dsDNA 抗体外, 抗核小体与抗组蛋白抗体与增生性狼疮性肾炎有关, 介导肾脏病理的发生、发展^[7], 本研究显示, LN 病人抗 Nud 抗体和抗 Hi 抗体阳性率虽高于 SLE 病人, 但差异无统计学意义, 与 Sui M^[7]研究结论的差异可能与沿用的 ACR 诊断标准不同, 本文使用的是 1997 年 ACR 新修订的 SLE 诊断标准, 将有待进一步研究探讨。

综上所述, SLE 伴狼疮性肾炎的病人 ANA 荧光核型主要表现为均质型, 抗 dsDNA 阳性率显著性增高, 抗 dsDNA 参与了 LN 发生与发展的病理进程, 可视为预测狼疮性肾炎的有效指标。

参考文献:

- [1] Li LS, Liu ZH. Epidemiologic data of Renal diseases from a single unit in China: Analysis based on 13519 renal biopsies[J]. Kidney Int, 2004, 66(3): 920-923.
- [2] Brenner and Rector. The kidney [M]. 8th ed. Publisher: W. B. Saunders Company, 2007: 1067.
- [3] 郭大文, 张英辉, 单娜, 等. 抗核抗体核型与条带免疫抗体谱相关性分析[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2012, 26(6): 560-562.
- [4] Chang A, Henderson SG, Brandt D, et al. In situ B cell-mediated immune responses and tubulointerstitial inflammation in human lupus nephritis[J]. J Immunol, 2011, 186(3): 1849-1860.
- [5] Mjelle JE, Rekvig OP, Van Der Vlag J, et al. Nephritogenic antibodies bind in glomeruli through interaction with exposed chromatin fragments and not with ranal cross-reactive antigens[J]. Autoimmunity, 2011, 19. Epub ahead of print.
- [6] 李桂芬, 万建新, 陈虹. 153 例狼疮性肾炎的临床与肾脏病理分析[J]. 中国医药指南, 2010, 8(31): 5-7.
- [7] Sui M, Lin Q, Xu Z, et al. Simultaneous positivity for anti-DNA, anti-Nucleosome and anti-Histone Antibodies is a marker for more severe lupus nephritis[J]. J Clin Immunol, 2013, 33(2): 378-387.

(此文编辑: 蒋湘莲)