维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2002)02-0171-03

猴肝组织和人类上皮细胞联合检测血清抗核抗体的临床应用和评价

陈 瀑，严 立，叶荻庆
（重庆医科大学临床学院检验科 重庆 400016）

【摘 要】目的：对猴肝组织和人类上皮细胞（Hep-2细胞）检测血清抗核抗体（ANA）进行临床应用和评价。方法：以猴肝组织和Hep-2细胞为基质，采用间接免疫荧光法（IFA）检测118例结缔组织病患者，80例非结缔组织病患者和50例健康人血清ANA。结果：Hep-2细胞检测ANA阳性率高于猴肝组织检测ANA阳性率，且两种基质单独检测ANA阳性率差别具有显著性（$P<0.05$），两种基质联合检测结缔组织病组与非结缔组织病及健康人组血清ANA阳性率差别均具有高度显著性（$P<0.001$），非结缔组织病与健康人血清ANA阳性率差别无显著性（$P>0.05$）。ANA滴度的观察对疾病的诊断有一定的意义。结论：检测ANA应对每一份血清进行猴肝组织和Hep-2细胞的联合检测。

【关键词】猴肝组织；人类上皮细胞；抗核抗体；间接免疫荧光法
【中国图书分类法分类号】R446.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2001-08-30

Clinical evaluation by monkey liver tissue and epithelial cells for detection of antinuclear antibodies in serum

CHEN Pu, et al
(Department of Clinical Laboratory, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】*Objective*: To evaluate monkey liver tissue and human epithelial cells (Hep-2) as substrates for detection of antinuclear antibodies(ANA) in clinical use. *Methods*: Monkey liver tissue and Hep-2 cells were compared as substrates for detection of ANA in the serum of 118 patients with different connective tissue disease (CTD), 80 patients with no CTD and 50 normal subjects, using indirect immunofluorescence assay. *Results*: ANA on Hep-2 cells produced more positive results than ANA on monkey liver tissue, and the difference between them was statistically significant($P<0.05$). Compared with the groups of non-CTD and normal, the positive rate of ANA on monkey liver tissue and Hep-2 cell in the groups of CTD was significantly different ($P<0.001$), and there was no significant difference between the groups of non-CTD and normal ($P>0.05$). The observation of ANA titer is helpful for diagnosis of CTD. *Conclusion*: ANA should be detected by Monkey liver tissue and Hep-2 cells.

【Key words】Monkey liver tissue; Human epithelial cell; Antinuclear antibodies; Indirect immunofluorescence assay

间接免疫荧光法(IFA)是检测抗核抗体(ANA)的标准方法，过去动物肝组织冰冻切片一直是识别抗核抗体的标准基质，长期以来检测抗核抗体通常采用动物肝组织作为基质，然而由于动物肝组织缺乏某些抗原，肝组织切片就不易测出其相应抗体，在这种情况下，若采用一些培养的组织细胞就能检测到这部分抗核抗体[1]。目前检测血清ANA大多用人类上皮细胞（Hep-2）代替，Hep-2细胞由于含有人类的抗原，因而它的抗原谱更适合人的特异性抗体，但是也有非常少的一部分ANA，有时即使滴度高也不能用Hep-2细胞检测到，但却能用动物肝组织或其它组织检测出来。为了避免单独采用一种基质的缺点，我们采用猴肝组织和人类上皮细胞联合IFA法对各种结缔组织疾病患者，非结缔组织疾病患者和健康人血清进行ANA检测，现将结果报告如下。

作者介绍：陈 瀑（1967- ），女，主管技师。
主要研究方向：自身免疫性疾病。

1 材料和方法

1.1 研究对象

健康体检者50例，其中男23例，女27例，年龄20～60岁，平均年龄45岁。非结缔组织病80例，男42例，女38例，年龄23～70岁，平均年龄42岁。结缔组织病118例，男21例，女87例，年龄18～66岁，平均年龄38岁，其中系统性红斑狼疮（SLE）活动期20例，SLE非活动期36例；类风湿关

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1 患者在两种基质中IFA法检测ANA的阳性率

组别	例数	猴肝组织		Hep-2细胞		猴肝组织+Hep-2细胞*	
		阳性例数	阳性率(%)	阳性例数	阳性率(%)	阳性例数	阳性率(%)
结缔组织病	118	64	54.2%	81	68.6%	81	68.6%
SLE活动期	20	20	100.0%	20	100.0%	20	100.0%
SLE非活动期	36	30	83.3%	33	91.7%	33	91.7%
RA	32	7	21.9%	9	28.1%	9	28.1%
SS	10	2	2/10	7	7/10	7	7/10
PSS	7	1	1/7	4	4/7	4	4/7
DM	8	0	0	3	3/8	3	3/8
MCTD	5	4	4/5	5	5/5	5	5/5
非结缔组织病	80	4	5.0%	4	5.0%	4	5.0%
健康人组	50	1	2.0%	1	2.0%	1	2.0%

* 猴肝组织和Hep-2细胞联合检测ANA时任一组织为阳性即ANA为阳性

表2 患者和健康人IFA法检测ANA阳性滴度分布

组别	例数	ANA 滴度			
		1:100	1:320	1:1000	1:3200
结缔组织病	118	29	21	21	10
SLE活动期	20	0	0	12	8
SLE非活动期	36	18	11	4	0
RA	32	7	2	0	0
SS	10	1	3	2	1
PSS	7	2	2	0	0
DM	8	1	2	0	0
MCTD	5	0	1	3	1
非结缔组织病	80	3	1	0	0
健康人组	50	1	0	0	0

节炎（RA）32例；干燥综合症（SS）10例；进行性系统性硬化症（PSS）7例；皮肌炎（DM）8例；混合结缔组织病（MCTD）5例。以上各病均符合目前国内公认诊断标准。

1.2 试剂及方法

猴肝组织和Hep-2细胞作为基质的间接免疫荧光检测血清ANA试剂盒由德国欧蒙实验免疫制品有限公司提供。该试剂盒将猴肝组织和Hep-2细胞制成超微薄片固定在同一抗原基质区，对同一份标本进行平行测定。血清经1:100稀释后与基质温育、经洗涤、再与异硫氰酸荧光素标记的羊抗人IgG温育，洗涤，最后在荧光显微镜下观察结果。血清1:100稀释，猴肝组织和Hep-2细胞均无特异性荧光者判断为阴性；而猴肝和（或）Hep-2细胞产生明显特异性荧光者判断为阳性。阳性血清分别进一步进行1:320,1:1000,1:3200稀释以确定ANA的最终滴度。

1.3 统计学处理

不同抗原基质检测ANA阳性率比较，结缔组织病与健康人和非结缔组织病ANA阳性率比较均用 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 不同疾病在猴肝组织和Hep-2细胞上IFA法检测的ANA结果

见表1。两种基质单独检测ANA阳性率差别具有显著性（$P<0.05$）。结缔组织病组与非结缔组织病组和健康人组ANA阳性率差别均具有高度显著性（$P<0.001$）。非结缔组织病组与健康人组ANA阳性率差别无显著性（$P>0.05$）。

2.2 不同疾病组两种基质联合检测ANA阳性滴度观察见表2。

3 讨 论

本文采用猴肝组织切片和人类上皮细胞Hep-2细胞两种基质检测118例结缔组织病患者血清ANA，灵敏度为68.6%，特异性为96.1%。两种其质检测ANA均阳性者64例，均阴性者37例，猴肝组织切片阴性而Hep-2阳性者17例，Hep-2细胞检测ANA阳性率高于猴肝组织，两者阳性率差别具有显著性（$P<0.05$）。猴肝组织阳性而Hep-2细胞阴性者未发现。我们在健康人和非结缔组织病中也检测到了5例ANA阳性、这5例猴肝组织和Hep-2细胞同时阳性，据国外文献报道在健康人，特别是老年人中可检测到ANA[2]，因此在临床诊断结缔组织病时应当

维普资讯 http://www.cqvip.com

谨慎从事。从两种基质联合检测ANA的滴度分布可以看出，健康组和非结缔组织病组中5份阳性血清仅一份滴度为1:320，其它均为1:100，滴度较低；而在SLE活动期中ANA滴度均大于或等于1:1000，SLE非活动期ANA滴度小于或等于1:1000；RA患者ANA滴度均小于或等于1:320，滴度较低；SS、PSS、DM和MCTD的ANA滴度大多小于1:1000，ANA的滴度观察对于疾病的诊断和疗效都有一定关系[1]。

过去认为灵长类肝组织是识别抗核抗体的标准基质，然而现在大部分已被Hep-2细胞代替。但是肝组织和Hep-2细胞在检测ANA时各有其优缺点，Hep-2细胞含有人类的抗原，而且有更大和更明显的细胞核，比肝组织更易分清荧光模式，初步区分各种细胞核抗体；抗U1-nRNP、抗Sm、抗dsDNA及组蛋白等抗体在Hep-2细胞和肝组织中具有相同的荧光强度，而抗SSA、抗SSB、抗着丝点抗体及抗增殖性核抗原抗体在Hep-2细胞中可观察到明显的荧光，肝组织中却不易观察到，这类抗体通常在肝组织中为阴性，而Hep-2细胞中为阳性[3,4]。Hep-2细胞检测ANA阳性率高于肝组织[5]，此实验也证实了这一点。但是肝组织可以识别抗肝特异性抗体，有非常少的一部份ANA有时即使滴度高也不能用Hep-2细胞检测到，却能用肝组织检测到[6]，可能由于选择的病例关系，实验中没有发现这种病例，但发现肝组织对阴性结果的区分比Hep-2细胞更容易，使用肝组织确定最终滴度更确切。因此认为对ANA正确判断的前提就是对每一份血清进行Hep-2细胞和肝组织切片两种基质的联合测定。

参 考 文 献

[1] 吴东海. 风湿病的实验室检查[J]. 中华内科杂志, 1998; 37(5):353-356.

[2] Tan EM, Feltkamp TE, Smonlen JS, et al. Range of antinuclear antibodies in healthy individual[J]. Arthritis Rheum, 1997;40:1601-1611.

[3] Abuaf N, Prost AC, Rouquette-Gally AM, et al.Comparison of human tumor cells(Hep-2) and rat liver for the detection of antinuclear antibodies by indirect immunofluores-cence[J]. Ann Biol Clin,1984;42(5):363-369.

[4] Jiller JH, Littlejohn GO, Jones BW, et al. Clinical comparison of cultured human epithelial cells and rat liver as substrates for fluorescent antinuclear antibody test[J]. J Rheumatol, 1985;12(2):265-269.

[5] William Egner. The use of laboratory tests in diagnosis of SLE[J]. J Clin Pathol, 2000;53:424-432.

[6] 马东来，张少静，文夫瑞·德斯特克. 自身抗体及其免疫荧光模式[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2000;38.