维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2003)02－0187－02

系统性红斑狼疮患者血清抗核小体抗体检测的意义

陈 瀑[1], 钟 清[2]

(1.重庆医科大学临床学院检验科;2.重庆医科大学临床学院肾内科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨血清抗核小体抗体(ANuA)的检测在系统性红斑狼疮患者中的意义。方法:采用酶联免疫吸附试验检测58例SLE患者,43例其它结缔组织病患者,20例非结缔组织病患者及20例健康人血清抗核小体抗体。结果:SLE患者血清ANuA阳性率为74.1%。SLE患者与健康对照组血清中ANuA阳性率差别具有高度显著性($P<0.001$),而其它结缔组织病和非结缔组织病与健康对照组血清中ANuA阳性率差别均无显著性($P>0.05$)。SLE活动期患者与非活动期患者ANuA阳性率差别具有高度显著性($P<0.001$)。结论:ANuA可以作为除抗dsDNA和抗Sm以外的诊断SLE和判断SLE活动期的一种新的自身抗体。

【关键词】系统性红斑狼疮;抗核小体抗体;酶联免疫吸附试验

【中国图书分类法分类号】R446.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2002－06－26

Significance of anti－nucleosome antibodies in systemic lupus erythematosus

CHEN Pu, et al

(*Department of Clinical Laboratory, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the clinical significance of determining serum anti－nucleosome antibodies(ANuA) in systemic lupus erythematosus patients(SLE). *Methods*: ANuA were detected by enzyme－linked immunoadsordent assay(ELISA) in the serum of 58 SLE patients, 43 patients with different connective diseases(CTD) except SLE, 20 patients with non－CTD and 20 normal subjects. *Results*: The positive rate of ANuA in SLE is 74.1%. Compared with normal, the positive rate of ANuA in the groups of CTD except SLE and the groups of non－CTD was not significantly different($P>0.05$) and there was significant difference between the groups of SLE and normal ($P<0.001$). The positive rate of ANuA was significantly different between the active SLE and the non－active SLE. *Conclusion*: Besides anti－dsDNA and anti－Sm, anti－nucleosome antibodies may be a useful marker for diagnosis and activity assessment of SLE.

【Key words】Systemic lupus erythematosus; Anti－nucleosome antibodies; ELISA

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种以多系统损害伴多种自身抗体为特征的自身免疫性疾病。目前SLE的实验室检测主要以抗核抗体,抗双链DNA和抗Sm抗体为主。近几年来人们对核抗原中作为染色质基本结构的核小体(nucleosome)的认识逐渐增多,特别是在SLE患者外周血淋巴细胞凋亡的研究中发现:细胞凋亡过程中被释放到细胞外间质中的大量核小体,可以作为自身抗原驱动机体产生自身免疫反应,导致SLE患者出现抗核小体抗体(anti－nucleosome antibodies, ANuA)。国外有学者在SLE患者血清中检测了抗核小体抗体,并发现在SLE患者中抗核小体抗体阳性率较高,而国内尚无这方面的实验室资料。本文采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测58例SLE患者血清抗核小体抗体,旨在讨论抗核小体抗体在SLE的诊断和监测中的意义。

作者介绍:陈 瀑(1967－),女,主管技师,
主要研究方向:临床免疫诊断学。

1 材料和方法

1.1 标本来源和收集

正常对照20例,为本院健康体检者,平均年龄42岁,女10例,男10例。系统性红斑狼疮58例,女52例,男6例,平均年龄38岁,其中活动期36例,非活动期22例。其他结缔组织病43例,平均年龄45岁,女32例,男11例,其中包括类风湿性关节炎(RA)23例,硬皮病(SCL)5例,干燥综合征(SS)6例,皮肌炎(DM)9例。以上诊断均符合我国目前公认

维普资讯 http://www.cqvip.com

的诊断标准。非结缔组织病 20 例,平均年龄 39 岁,女 10 例,男 10 例。所有标本采集后分离血清 -20℃ 保存。

1.2 方法

ELISA 法检测血清抗核小体抗体,试剂盒由德国欧蒙实验室免疫制品有限公司提供。微孔板用从小牛胸腺纯化天然核小体包被,血清经 1:200 稀释后加入微孔板温育,经洗涤,再加入过氧化物酶标记的免抗人 IgG 温育,洗涤,最后加入色原四甲基联苯胺和底物过氧化氢显色,以 1N 磷酸作为终止液,酶标仪 450nm 波长比色。用 3 份标准血清浓度和其吸光度作标准曲线,据此求出血清中抗核小体抗体的浓度,浓度高于 20RU/ml 判别为阳性,低于 20RU/ml 判为阴性。

SLE 患者在检测抗核小体抗体时同时也进行抗核抗体(ANA),抗双链 DNA(抗 dsDNA)和抗 Sm 抗体检测。ANA 采用间接免疫荧光法测定,试剂由德国欧蒙实验室免疫制品有限公司提供;抗 dsDNA 采用胶体金免疫渗透法测定,试剂由福建三强公司提供;抗 Sm 抗体采用免疫印迹法测定,试剂由广州万孚生物有限公司提供。

1.3 统计学处理

组间率的比较采用 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 SLE 患者及对照组血清中抗核小体抗体检测结果见表 1

表 1 不同疾病患者中抗核小体抗体阳性率

组别	例数	ANuA 阳性数	ANuA 阳性率	χ^2	P 值
SLE	58	43	74.1%	33.04	<0.001
其它结缔组织病	43	2	4.7%	0.96	>0.05
非结缔组织病	20	0	0	0	>0.05
健康人组	20	0	0		

2.2 SLE 活动期与非活动期患者血清抗核小体抗体比较

36 例 SLE 活动期患者中 31 例 ANuA 阳性,5 例阴性,阳性率 86.1%;22 例非活动期 SLE 中 12 例 ANuA 阳性,10 例阴性,阳性率 54.5%。SLE 活动期与非活动期患者 ANuA 阳性率差别具有高度显著性($\chi^2=6.63$, $P<0.001$)。

2.3 SLE 患者血清 43 例 ANuA 阳性和 15 例 ANuA 阴性与 ANA,抗 dsDNA 和抗 Sm 抗体检测结果比较见表 2

58 例 SLE 患者中,ANA 阳性率为 96.5%,抗 dsDNA 为 39.6%,抗 Sm 为 24.1%。

表 2 ANuA 与 ANA、抗 dsDNA 及抗 Sm 抗体比较

组 别	例数	ANuA 阳 性	ANuA 阴 性
ANA -	2	0	2
单独 ANA +	29	20	9
ANN + 伴抗 dsDNA +	13	12	1
ANA +, dsDNA + 伴抗 Sm +	10	9	1
ANA + 伴抗 Sm +	4	2	2
合 计	58	43	15

3 讨 论

核小体是高度组织的染色体功能亚单位,它由 4 对核心组蛋白(H_2A、H_2B、H_3、H_4)构成八聚体,被双链 DNA 包绕后组成,其中组蛋白 H_1 粘附在 DNA 链上。1990 年 Rumore[1] 等人从 dsDNA 抗体阳性的患者外周血中发现了核小体,并认为核小体主要是细胞凋亡过程中产生的,这种凋亡是有序的消化核染色体,产生完整的寡聚核小体,核小体又作为一种免疫原驱动了自身免疫反应,诱导抗核小体抗体的产生。核小体在 SLE 中同时又是触发性自身抗原,核小体能起到多克降 B 细胞活化因子的作用,在鼠狼疮模型中,核小体刺激 CD^+ Th 细胞诱导抗 dsDNA 抗体和抗组蛋白抗体的产生,但是抗核小体抗体仅对核小体起作用,并不与其成分中的 DNA 或组蛋白起反应,而且抗核小体抗体的形成又先于抗 dsDNA 抗体和抗组蛋白抗体[2]。国外文献[3,4]认为抗核小体抗体的检测在 SLE 的诊断和监测中有着重要的意义。Iin DJ[5] 等人检测 129 例 SLE 患者血清抗核小体抗体,其中 98 例阳性,阳性率 76.0%,我们检测 58 例 SLE 患者血清抗核小体抗体阳性率为 74.1%(43/58),与之非常接近。

本文采用酶联免疫吸附试验检测 58 例 SLE 患者血清抗核小体抗体,灵敏度为 74.1%,特异性为 97.6%。从表 1 中可以看出 SLE 患者与健康人对照组血清中抗核小体抗体阳性率差别有高度显著性($P<0.001$),而其它结缔组织病组和非结缔组织病组与健康对照组血清中 ANuA 阳性率差别无显著性($P>0.05$)。SLE 活动期患者 ANuA 阳性率高于非活动期,且两者差别具有高度显著性($P<0.001$),因此 ANuA 可作为诊断 SLE 和 SLE 活动期的诊断指标。目前抗 dsDNA 通常作为 SLE 活动期实验室的诊断指标,在我们实验中发现,23 例抗

(下转第 216 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

杆菌属及不动杆菌为主,5 个菌种株数分别占 2000 年和 2001 年总菌株数的 90% 和 86%;两年检测的 ESBL 阳性株数相似(13 株/16 株),且都以大肠埃希氏菌、肺炎克雷伯菌及鲍氏不动杆菌为主。药敏试验比较,两年各分离的 100 株革兰阴性杆菌对于大多数抗菌药物的耐药率变化不大。但值得注意的是,细菌对头孢哌酮/舒巴坦的总耐药率由 2000 年的 11% 上升至 2001 年的 26%,ESBLs 产生菌的耐药率也由 21.1% 上升至 61.5%,究其原因,可能与 2001 年我院头孢哌酮/舒巴坦的大量使用有关。由表 4 可见,2001 年该药使用量是 2000 年用量的 1.49 倍,居该类抗生素的第一位,在该年送检标本的所有患者中有 44.7%(38/85)使用该药,而 2000 年的调查对象仅有 21.8%(17/78)患者使用。合理、谨慎地应用头孢哌酮/舒巴坦是我院避免该品种耐药率继续上升的关键措施。

埃托培南系新型碳青霉烯类抗生素,其特点为血浆半衰期长,对细菌 β-内酰胺酶有潜在的抑制作用[4],目前尚未在国内上市,本次实验测定了其对 100 株细菌的体外抗菌活性,结果表明,它对 100 株细菌及其 ESBLs 产生菌的抑菌率分别为 85% 和 84.6%,显示了较强的体外抗菌活性。但临床疗效有待进一步验证。

参 考 文 献

[1] National committee for clinical laboratory standards. 2000; Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing Document $M_{100}-S_{10}(M)$:16-20.

[2] 盛家琦,王其南,蒋玉富,等.E 试验对监护护病房革兰氏阴状杆菌的耐药性研究[J].中国抗生素杂志,2001;26(6):451-454.

[3] 朱德妹,熊自忠,汪 复.超广谱 β-内酰胺酶和细菌耐药性[J].中华传染病杂志,2000;18(3):151-154.

[4] Jacoby GA, Sutton L. Properties of plasmids responsible for production of extended-spectrum β-lactamases[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1991;35:164-169.

[5] Livermore DM, Oakton KJ, Carter MW, et al. Activity of Ertapenem(MK-0826) versus enterobacteriaceae with potent β-lactamases[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2001;45:2831-2840.

(上接第 188 页)

dsDNA 阳性的患者全都为活动期患者,但活动期患者中有 9 例患者抗 dsDNA 为阴性,而 ANuA 为阳性,因此 ANuA 的测定可能对判定抗 dsDNA 阴性的活动期患者有帮助。

目前实验室诊断 SLE 的标志性抗体为抗 dsDNA 和抗 Sm 抗体,这两种抗体对于诊断 SLE,特异性高,但敏感性较差,抗 dsDNA 在 30%~40% 左右,抗 Sm 只有 20%~40%,而我们检测的 ANuA 敏感性为 74.1%,高于抗 dsDNA 和抗 Sm,因此我们认为 ANuA 可以作为除抗 dsDNA 和抗 Sm 抗体外的诊断 SLE 和判断 SLE 活动期的一种新的标志性抗体,ANuA 的检测对于 SLE 的诊断和监测具有重要的意义。

参 考 文 献

[1] Rumore PM, Steinman CR. Endogenous circulating DNA in systemic lupus erythematosus. Occurrence as multimedia complex bound to histone[J]. J Clin Invest, 1990;86(1):69.

[2] Chabre H, Amoura Z, Piette JC, et al. Presence of nucleosome restricted antibodies in patients with systemic lupus erythematosus[J]. Arthritis Rheum, 1995;38(17):1485.

[3] Massa M, De Benedetti F, Pignatti P. Anti-double stranded DNA, anti-histone and anti-nuclelosome IgG reactivities in children with systemic lupus erythematosus[J]. Clin Exp Rheumatol, 1994;12(2):219.

[4] Kiss E, Lakos G, Nemeth J, et al. Significance of anti-nucleosome(anti-chromatin) antibodies in systemic lupus erythematosus[J]. Orv Hetil, 2001;142(32):1731-1736.

[5] Iin DJ, Kim SJ, ParK SH, et al. Anti-nucleosome antibody: significance in lupus patients lacking anti-double-stranded DNA antibody[J]. Clin Exp Rheumatol, 2002;20(1):13-18.