

· 老年人免疫疾病专栏 ·

60 岁以上人群抗核抗体阳性的临床价值

李秋霞, 张曦, 魏秋静, 古洁若

(中山大学附属第三医院风湿免疫科, 广州 510630)

【关键词】老年人; 抗体, 抗核; 临床价值

【中图分类号】R593

【文献标识码】A

【DOI】10.3724/SP.J.1264.2012.00231

抗核抗体 (antinuclear antibodies, ANAs) 是针对细胞内所有抗原成分的自身抗体的总称。对 ANAs 的理解不应局限于核成分, 其靶抗原分布整个细胞, 包括细胞核、细胞浆、细胞骨架、细胞分裂周期蛋白等。主要为 IgG 型, 也可见 IgA、IgM 型。根据靶抗原的不同, ANAs 可分五大类: 抗 DNA 抗体、抗组蛋白抗体、抗非组蛋白抗体 (包括抗 ENA 抗体和抗着丝点抗体)、抗核仁抗体及抗其他细胞成分抗体, 其中抗 ENA 抗体又包括 10 余种不同的抗体。检查 ANAs 是自身免疫性疾病实验室检查的主要项目之一。

ANAs 检测对于自身免疫性疾病的灵敏度高, 已被广泛应用于临床对自身免疫性疾病的排查, 但其特异性较差, 健康人有一定的阳性率, 尤其是老年人, 假阳性率更高, 给临床应用带来一定的困难。本研究应用间接免疫荧光法对 ANAs 进行检测, 观察不同年龄及性别 ANAs 的检测情况, 探讨其对于老年人群的临床应用价值。

1 对象与方法

1.1 对象

收集 2009 年 1 月至 2012 年 6 月中山大学附属第三医院门诊及住院部收治的年龄大于 20 岁的就诊患者共 24714 例, 其中 60 岁以上老年人为老年组, 共 2133 例, 其中男性 1018 例, 平均年龄 (67.57 ± 6.51) 岁; 女性 1115 例, 平均年龄 (67.25 ± 6.16) 岁。其余的 22581 例 20~59 岁为中青年组。

1.2 方法

早上空腹抽取静脉血, 3000r/min 离心 5min 后留取血清, -20℃ 保存备检。间接免疫荧光法, 按德国 Euroimmun 公司血清 ANAs 检测试剂盒操作说明书进行, 起始稀释浓度 1:100, 阳性判定稀释度为 1:100, 超过此稀释度视为阳性。阳性标本依 1:320、1:1000、1:3200 稀释。具体实验步骤如下: (1) 将 1 包磷酸盐和 2ml 吐温溶于 1000ml 蒸馏水混匀, 配成 PBS 吐温缓冲液。(2) 将待检血清用 PBS 吐温缓冲液 1:100 稀释 (血清 10μl+PBS1000μl)。(3) 在加样板反应区里分别滴加 25μl 稀释血清。(4) 将载片覆有生物

薄片的一面朝下, 盖在加样板的凹槽里。室温孵育 30min。(5) 用烧杯盛 PBS 吐温缓冲液流水冲洗生物薄片载片, 然后立即将其浸入装有 PBS 吐温缓冲液的小杯中浸泡至少 5min。(6) 在洁净的加样板反应区里分别滴加 20μl FITC 标记的抗人 IgG。(7) 取出载片, 擦去背面和边缘水分后立即盖在加样板的凹槽里, 室温孵育 30min。(8) 同法 5 步骤。(9) 载片用缓冲甘油封片液及封片盖玻片封片后荧光显微镜下观察结果。

1.3 统计学处理

应用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计数资料用率 (%) 表示, 采用 χ^2 检验进行分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 60 岁以上老年人不同疾病 ANAs 阳性率的比较

表 1 结果表明, 60 岁以上老年人风湿病组患者和非风湿病组患者 ANAs 阳性率分别为 46.35% 和 36.46%, 两者差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 其中二者在弱阳性的检出上差异无统计学意义, 在阳性率的检出上二者差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。另外, 在类风湿关节炎的老年患者中, 有 64.82% 的患者 ANAs 阳性; 在各种疾病导致的肝硬化患者中有 36.50% 的患者 ANAs 阳性。

表 1 60 岁以上老年人不同疾病 ANAs 阳性率的比较
Table 1 Comparison of ANAs positivity rate in aged over 60 years with different diseases [n(%)]

疾病	n	ANAs 弱阳性	ANAs 阳性	总 ANAs 阳性
非风湿病	1736	272(15.67)	361(20.80)	633(36.46)
风湿病	397	56(14.11)	128(32.24)**	184(46.35)**
类风湿关节炎	108	19(17.60)	51(47.22)	70(64.82)
系统性红斑狼疮	18	1(5.56)	14(77.78)	15(83.34)
原发性胆汁性肝硬	19	12(63.16)	0(0.00)	12(63.16)
肝硬化	400	68(17.00)	78(19.50)	146(36.50)

注: 非风湿病组不包括体检的正常人。与非风湿病组比较, ** $P < 0.01$

2.2 不同年龄段血清 ANAs 阳性率比较

不同年龄段血清 ANAs 结果比较 (表 2), 在 60~69 岁的年龄段, ANAs 阳性率达到最高, 为 40.97%, 其中 ANAs 阳性的占 24.32%, 弱阳性的占 16.65%, 与其他各年龄段相比较, 主要是以弱阳性率的升高为主。

表2 不同年龄段血清ANAs阳性率比较
Table 2 Serum ANAs positivity rates of patients

		at different ages [n(%)]		
年龄(岁)	n	ANAs 弱阳性	ANAs 阳性	总 ANAs 阳性
20~	6056	654(10.80)	1732(28.60)	2386(39.40)
30~	6313	684(10.83)	1581(25.04)	2265(35.88)
40~	5307	641(12.08)	1174(22.12)	1815(34.20)
50~	3885	542(13.95)	999(25.71)	1541(39.67)
60~	2192	365(16.65)**	533(24.32)	898(40.97)##
70~	821	122(14.86)	176(21.44)	298(36.30)
80 岁以上	140	19(13.57)	33(23.57)	52(37.14)
总计	24714	3027(12.25)	6228(25.20)	9255(37.44)

注: 与其他各年龄组比较, ** $P < 0.01$; 与 30~, 40~, 70~, 80 岁以上年龄组比较, ## $P < 0.01$

2.3 60 岁以上老年人不同性别 ANAs 阳性率比较

60 岁以上的男性和女性相比, 60~69 岁、70~79 岁、80 岁以上的女性 ANAs 阳性率分别为 47.45%、40.00%、48.00%, 较男性 (分别为 30.77%、31.27%、31.48%) 为高, 两者差异具有统计学意义 ($P < 0.01$; 表 3)。

表3 60岁以上老年人不同性别ANAs阳性率比较
Table 3 Comparison of the ANAs positivity rate in aged over 60 years between male and female [n(%)]

性别	年龄(岁)	n	ANAs 弱阳性	ANAs 阳性	总 ANAs 阳性
男	60~	689	103(14.95)	109(15.82)	212(30.77)
	70~	275	40(14.55)	46(16.73)	86(31.27)
	≥80	54	7(12.96)	10(18.52)	17(31.48)
女	60~	765	128(16.73)	235(30.72)	363(47.45)**
	70~	300	43(14.33)	77(25.67)	120(40.00)**
	≥80	50	7(14.00)	17(34.00)	24(48.00)**

注: 与男性相对应的各年龄组比较, ** $P < 0.01$

3 讨论

老年人口的界定: 1982 年, 在联合国“老龄问题世界大会”上, 将老年年龄的界限定义为 60 岁。目前通用的多以 60 岁或 65 岁作为标准, 在中国, 法定退休年龄为 60 岁, 因此 60 岁成为国内普遍认定的老年人群划分标准。

风湿病是一种全身性疾病, 主要累及结缔组织, 大多数患者有关节、肌肉的病变。与机体的免疫学异常有关, 是属于自身免疫性疾病。它包含了许多疾病, 如红斑狼疮、类风湿关节炎、皮炎、干燥综合征、硬皮病等。本研究观察到 60 岁以上老年人风湿病组患者和非风湿病组患者 ANAs 阳性率为分别为 46.35% 和 36.46%, 两者差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。

已证实 ANAs 对很多自身免疫性疾病有诊断价值。ANAs 的靶抗原为细胞核内的不同生化成分, 包括核酸、细胞核蛋白和核糖体蛋白。在不同疾病中, 特别是风湿性疾病, 其抗体谱有一定的特异性。在炎症性风湿病中 ANAs 阳性率在 20% 和 100% 之间, 其中在本次研究中观察到类风湿关节炎中 ANAs 阳性率高达 64.82%, 而文献报道的在类风湿关节炎患者 (包括所有的年龄段) 仅为 20%~40%^[1], 说明在老年类风湿关节炎患者 ANAs 阳性率有所升高。ANAs 阳性率在系统性红斑狼疮较高, 但因 60 岁以上的老年人数量不多, 因此本次观察的结果 (83.34%) 仅供参考。其他风湿病也因 60 岁以上明确风湿病诊断的患者例数不多, 故暂未做统计。

在其他很多疾病中可检出 ANAs, 如原发性胆汁性肝硬化和慢性活动性自身免疫性肝炎^[2,3], 本研究在 19 例原发性胆汁性肝硬化观察到了 12 例 ANAs 阳性, 但都是弱阳性, 滴度不高。在各种疾病导致的肝硬化患者中 ANAs 的阳性率为 36.50%。这些数据都将为临床医师提供一定的参考价值。有时, 在健康人中也可检出 ANAs (各种免疫球蛋白类型, 主要是 IgM), 但多为低滴度。

目前对 ANAs 进行检测的金标准为间接免疫荧光法 (indirect immunofluorescence, IIF), 其检测的特异性强、灵敏度高、操作方便, 并可以针对细胞浆、细胞核、细胞周期、细胞骨架等多种自身抗体, 检测范围广泛。IIF 法针对不同细胞靶抗原的特定抗体可产生特定荧光核型, 包括均质型、核膜型、斑点型、核仁型及着丝点型。本研究观察到: (1) 24714 例就诊人群 ANAs 的阳性率 37.44%, 胡朝军等^[4]的为 41.23%, 李晔等^[5]的为 46.50%; (2) 在 60~69 岁人群, ANAs 阳性率达到最高, 为 40.97%, 但主要以 ANAs 弱阳性率的升高为主; (3) 60 岁以上的男性和女性相比, 女性人群 ANAs 阳性率较男性高, 两者差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。以上内容对研究 ANAs 的流行病学资料进行了补充。

健康人体内有多种针对不同自身抗原的低滴度的自身抗体, 约 3%~8% 的健康人, 8%~28% 老年人 ANAs 为阳性^[6]。老年人之所以容易产生自身抗体, 其主要原因是胸腺萎缩及抗 Ts 细胞自身抗体的出现。抗 Ts 细胞抗体致使 Ts 细胞功能降低, 从而对机体中抗自身组织的 B 细胞克隆失去控制^[7]。细胞凋亡中降解表达在细胞表面的蛋白也通常成为 ANAs 的靶细胞^[7,8]。老年人细胞凋亡更为频繁, 接受外界刺激累加量变大, 也可能是 ANAs 产生增加的原因^[9]。

风湿性疾病患者可因疾病所处的发展阶段、激素及免疫抑制剂的使用和检测方法的不同而出现 ANAs 阴性的结果; 同时 ANAs 阳性也可见于其他非风湿性疾病, 如呼吸系统疾病、肾脏疾病、内分泌疾病、感染性疾病、发热等, 部分正常人也出现 ANAs 阳性, 尤其是老年人的概率更大。有多种药物可诱导红斑狼疮, 从而可检测出抗组蛋白等抗体, ANAs 显示阳性; 对 ANAs 阴性的标本, 为了避免产生漏检, 有人认为应对 ANAs 与抗 ENA 抗体进行全面的分析^[10]。也有人认为在对疑为自身免疫性疾病的患者进行实验诊断时, 应同时进行 ANAs 和抗

ANAs 谱的检测。两者联合检测,不但可避免漏检,对疾病的分型上也具有较高的应用价值^[11]。因此,应用 ANAs 检测对老年人进行自身免疫性疾病筛查,不仅应考虑 ANAs 抗体的滴度及特异性,同时应根据 ANAs 随年龄、性别的不同而阳性率不同,慎重诊断,并结合患者的临床表现及其他相关检测对疾病综合考虑,全面分析,对病情做出客观的判断,避免片面根据某种核型所致的误诊。

【参考文献】

- [1] Fritsch C, Hoebeke J, Dali H, *et al.* 52-kDa Ro/SSA epitopes preferentially recognized by antibodies from mothers of children with neonatal lupus and congenital heart block[J]. *Arthritis Res Ther*, 2006, 8(1): R4.
- [2] Lyons R, Narain S, Nichols C, *et al.* Effective use of autoantibody tests in the diagnosis of systemic autoimmune disease[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2005, 1050: 217-228.
- [3] Granito A, Muratori P, Muratori L, *et al.* Antinuclear antibodies giving the 'multiple nuclear dots' or the 'rim-like/membranous' patterns: diagnostic accuracy for primary biliary cirrhosis[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2006, 24(11-12): 1575-1583.
- [4] 胡朝军,李永哲,佟大伟,等. 临床 14 282 份标本自身抗体谱检测结果分析[J]. *中华检验医学杂志*, 2006, 29(8): 688-691.
- [5] 李 晔,孙艳艳. 1000 例临床标本抗核抗体检测结果分析[J]. *临床检验研究*, 2011, 32(18): 2072-2073, 2076.
- [6] 鲍春德,吕良敬. 老年系统性红斑狼疮诊治进展[J]. *实用老年医学*, 2008, 22(1): 17-20.
- [7] Bachmann M, Chang S, Bernd A, *et al.* Translocation of the nuclear autoantigen La to cell surface: assembly and disassembly with the extracellular matrix[J]. *Autoimmunity*, 1991, 9(2): 99-107.
- [8] Du L, Fukushima S, Sallmyr A, *et al.* Exposure of HEp-2 cells to stress conditions influences antinuclear antibody reactivity[J]. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2002, 9(2): 287-294.
- [9] 杨蓬勃,谢志贤. 抗核抗体与衰老的相关性[J]. *中华老年医学杂志*, 2010, 28(5): 394-396.
- [10] 陈宝萍,任绪义,程新定. 抗核抗体阴性标本的可提取核抗原谱分析[J]. *浙江临床医学*, 2010, 12(1): 75-76.
- [11] 孙家祥,李 艳. 652 例抗核抗体阴性病例的抗核抗体谱的检测分析[J]. *海南医学*, 2011, 22(7): 113-114.

(编辑:周宇红)

· 消 息 ·

欢迎订阅《中华老年心脑血管病杂志》

《中华老年心脑血管病杂志》是由解放军总医院主管、主办的医学专业学术期刊。1999年12月创刊,2000年纳入国家科技统计源期刊。2004年4月被确定为中国医药卫生核心期刊,同年10月获全军期刊优秀学术质量奖。主要报道老年心脏疾病、脑部疾病、血管系统疾病的临床诊断及治疗等相关内容,包括临床研究、基础研究、影像学、遗传学、流行病学、临床生化检验与药物、手术和介入治疗以及有关预防、康复等。主要栏目有指南与共识、专家论坛、述评、临床研究、基础研究、循证医学荟萃、继续教育园地、综述、病例报告、短篇报道、经验交流、读者·作者·编者等,是一本具有可读性和指导性的杂志。本刊为月刊,大16开本,96页,铜版纸印刷,每期订价15.00元,全年180.00元。邮发代号:2-379,国内统一刊号:CN 11-4468/R,国际标准刊号:ISSN 1009-0126。欲订本刊的单位及读者请到各地邮局办理订购手续或直接汇款至本刊编辑部。

地址:100853 北京市复兴路28号《中华老年心脑血管病杂志》编辑部

电话:010-66936463

E-mail: zhlnxng@sina.com.cn

网址: <http://www.zhlnxng.com.cn>