

ENA 抗体检验和血清体液免疫检验在诊断 SLE 方面的价值分析

任彦喜 (东明县人民医院, 山东菏泽 274500)

摘要: 目的 分析 ENA 抗体检验和血清体液免疫检验在诊断系统性红斑狼疮 (SLE) 方面的价值。方法 选择 2021 年 1 月至 2022 年 2 月东明县人民医院收治 30 例的 SLE 患者纳入研究组, 同期 30 例健康者纳入对照组, 均行 ENA 抗体检验和血清体液免疫检验, 对比两组体液免疫指标、ENA 抗体阳性检出率。结果 研究组 ds-DNA、Sm、SSB、SSA、nRNP 抗体阳性检出率高于对照组 ($P < 0.05$), 研究组 IgM、IgG、IgA 高于对照组, C3、C4 低于对照组 ($P < 0.05$)。结论 ENA 抗体检验和血清体液免疫检验可用于 SLE 诊断。

关键词: 系统性红斑狼疮; 血清体液免疫检验; ENA 抗体检验; 诊断意义

系统性红斑狼疮 (SLE) 是一种慢性复发性自身免疫性疾病, 在育龄妇女中很常见^[1]。SLE 的病因尚不完全清楚, 可能与遗传、雌激素和环境因素 (包括药物、紫外线和感染) 密切相关^[2]。SLE 的症状是面部蝴蝶状红斑, 表皮水泡有或没有中性粒细胞。暴露部位容易出现皮肤病变, 包括光敏感性、脱发、雷诺现象、网状红斑和紫癜, 除了皮肤损伤, 还可能伴有关节疼痛或关节炎^[3]。SLE 患者血清中具有较多自身抗体和免疫复合物, 导致血清免疫球蛋白、补体水平异常现象出现, 故可以结合以上指标对患者进行诊断评估。实践发现, 如在诊断中可以结合 ENA 抗体检验和血清体液免疫检验, 能为临床提供一定的参考依据。本研究分析 ENA 抗体检验和血清体液免疫检验在诊断 SLE 方面的价值, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 基本资料

选择 2021 年 1 月至 2022 年 2 月东明县人民医院收治 30 例的 SLE 患者纳入研究组, 同期 30 例健康者纳入对照组, 均签署知情同意书。研究组: 男 1 例, 女 29 例; 年龄 21~52 岁, 平均 (38.65 ± 7.82) 岁。对照组: 均为女性, 年龄 20~53 岁, 平均

(38.37 ± 7.93) 岁。两组一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 研究方法

血清体液免疫检验: 采集血液, 分离血清, 使用 ELISA 法检测 IgM、IgG、IgA、C3、C4。(1) 包被: 用包被液稀释抗体至蛋白含量为 $0.5 \sim 20 \mu\text{g/ml}$, $100 \mu\text{l}$ 孔, 4°C 包被过夜。(2) 洗盘: PBS 冲洗 2~3 次即可, 每次 3~5 min; (3) 封孔: 按 $200 \sim 250 \mu\text{l}$ 孔加封孔液, 4°C 过夜, 然后弃孔内封孔液; (4) 样品处理: 用洗涤液或样品稀释液将样品 (包括未知抗原) 稀释至所需浓度; (5) 标准溶液: 用洗涤液或样品稀释液将标准溶液稀释至所需浓度; (6) 加样: 依次加入 $50 \sim 100 \mu\text{l}$ 孔稀释的标准溶液、处理过的样品、阴性对照和阳性对照, 室温或 37°C 孵育 30~60 min; (7) 加入酶标抗体: 按照产品说明书稀释酶标抗体, 按 $50 \sim 100 \mu\text{l}$ 孔加入新鲜制备的酶标抗体, 室温或 37°C 孵育 1 h; (8) 加入显色底物溶液: 按 $100 \sim 150 \mu\text{l}$ 孔加入新配制的 TMB 底物溶液, 室温避光 15~30 min。(9) 反应终止: 每个反应孔加入 $50 \mu\text{l}$ 终止液。(10) 结果: 反应孔颜色越深, 阳性程度越强。阴性反应是无色或很淡的。根据颜色的深浅, 用 “+” 和 “-” 表示。OD 值也可以在 450 nm (ABTS 为 410 nm) 下测量。空白对照孔置零后, 测量每个孔的 OD 值。如果样品孔的 OD

值比阴性对照孔的 OD 值大 2.1 倍, 则为阳性。

ENA 抗体检验: 采集血液, 分离血清, 用免疫斑点法检测 ENA 抗体。(1) 室温下用 100 μ l 70% 酒精的聚偏氟乙烯孔板培养 10 min。倒出酒精, 用 PBS 清洗 3 次; (2) 加入稀释后的捕获抗体, 每孔加 100 μ l, 盖板上盖, 4 $^{\circ}$ C 过夜; (3) 将 100 μ l 2% 的脱脂牛奶加入每个孔中, 盖上盘子, 在室温下培养 2 h; (4) 向每孔加入 100 μ l 血清。可在体外预先受到刺激(间接伊利斑)。盖上标准的 96 孔板塑料板盖, 在 37 $^{\circ}$ C 的 CO₂ 培养箱中孵化 15~20 h。(5) 每孔加入 100 ml 清洗缓冲液, 并在 4 $^{\circ}$ C 的环境中孵化 10 min。(6) 于 10 ml PBS-1%BSA 中稀释 100 μ l 检测抗体, 此为 1 板的量。每孔加 100 μ l 此液体, 盖板上盖, 37 $^{\circ}$ C 下孵育 1.5 h。(7) 10 ml 的 PBS-1%BSA 稀释 10 μ l 的亲合素碱性磷酸酶, 每孔加入 100 μ l, 37 $^{\circ}$ C 的温度下 1 h。(8) 每孔加 100 μ l BCIP/NBT, 室温下反应 5~15 min。将板倒置以免残留的液体流回膜上一旦膜干燥后, 读取点数。4 $^{\circ}$ C 下放置一夜, 点数会比较明显。

1.3 观察指标

对比两组体液免疫指标(IgM、IgG、IgA、C3、C4)、ENA 抗体阳性检出率。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 24.0 软件分析数据, 计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, 采用 t 检验, 计数资料用率表示, 采用 χ^2 检验, ($P < 0.05$) 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 ENA 抗体阳性检出率对比

研究组 ds-DNA、Sm、SSB、SSA、nRNP 抗体阳性检出率分别为 60.00% (18/30)、56.67% (17/30)、63.33% (19/30)、66.67% (20/30)、73.33% (22/30), 对照组 ds-DNA、Sm、SSB、SSA、nRNP 抗体阳性检出率均为 0 ($P < 0.05$)。

2.2 两组体液免疫指标对比

研究组 IgM、IgG、IgA、C3、C4 分别为 (1.97 \pm 0.41) mg/L、(25.45 \pm 4.22) mg/L、

(1.85 \pm 0.43) mg/L、(0.33 \pm 0.04) g/L、(0.09 \pm 0.02) g/L, 对照组分别为(0.89 \pm 0.25) mg/L、(10.64 \pm 2.36) mg/L、(0.93 \pm 0.32) mg/L、(1.03 \pm 0.18) g/L、(0.26 \pm 0.05) g/L, IgM、IgG、IgA 高于对照组, C3、C4 低于对照组 ($P < 0.05$)。

3 讨论

SLE 是一种由抗体和免疫复合物形成的自体免疫性疾病, 在女性中更常见, 占 90%, 通常是 20~40 岁的育龄妇女^[4]。SLE 属严重疾病, 其诊断应该包括两部分, 一是临床症状, 二是免疫学指标。美国风湿病协会修订的 SLE 诊断标准共包括 11 项, 如蝴蝶状皮肤红斑或盘状红斑、板状红斑、光敏感性、口鼻溃疡、脱发、关节炎、关节痛或胸膜炎、浆膜炎和肾脏损害等, 符合其中 4 项即可确诊^[5]。SLE 对血液系统的损害是白细胞减少, 溶血性贫血和低血小板计数。最重要的是抗核抗体阳性, 有许多抗核抗体阳性的抗体, 更特异的被称为抗双链 dna 抗体阳性, 抗 smith 抗体阳性, 抗磷脂抗体阳性。目前, 在我国 SLE 临床诊断中, 血清补体水平降低也成为主要的诊断标准之一。

本研究中, 研究组 ds-DNA、Sm、SSB、SSA、nRNP 抗体阳性检出率高于对照组 ($P < 0.05$), 研究组 IgM、IgG、IgA 高于对照组, C3、C4 低于对照组 ($P < 0.05$)。体液免疫是指免疫效应 B 细胞产生特异性抗体。抗体具有保护作用, 可产生相应的免疫治疗。体液免疫中含有大量抗体, 可以杀死和破坏病原体^[6]。蛋白质、多糖、病毒颗粒和病原体在大分子细菌表面产生不同的抗原和特异性抗体, 可被体液免疫杀死和清除, 具有良好的免疫效果^[7]。在类风湿性关节炎、干燥综合征和 SLE 等自身免疫性疾病中, 活动期血清 IgM 会升高。而急性感染后多伴随出现免疫球蛋白 IgG 阳性, 当感染痊愈时, 会有记忆抗体, 即免疫球蛋白 IgG, 表示感染, 但不表示疾病。IgA 可分为血清型和分泌型。IgA 血清型可介导 ADCC 的调节和吞噬作用。分泌型 IgA (sIgA) 是黏膜防御系统的主要成分。它覆

盖鼻子、咽、气管、肠和膀胱的黏膜表面，可以抑制微生物附着在呼吸道上皮细胞上，减缓病毒繁殖，这是一个重要的黏膜屏障。它对某些病毒、细菌和一般抗原具有抗体活性，这是防止病原体侵入人体的第一道防线。当外来抗原进入呼吸道或消化道并刺激局部免疫系统时，它们可以在没有中枢免疫系统参与的情况下进行免疫反应，并产生分泌性抗体，即 SIgA。抗原和抗体结合需要补体，当它引起免疫反应和自身免疫时，补体将被消耗和减少^[8]。因此，当免疫系统受损时，补体 C3/C4 会被消耗。

抗 ENA 抗体主要用于检测风湿性疾病，如类风湿性关节炎、干燥综合征、SLE 等，但与疾病的严重程度和活动性无明显关系^[9]。不同的阳性抗体对应不同的疾病，如抗 SM 抗体呈阳性反应，常见于 SLE。结缔组织病患者体内有 ENA 抗体。不同的抗 ENA 抗体与疾病类型有关。正如 1/2 的 SLE 患者有抗 ENA 抗体。SLE 是由于同时存在多种抗体，其中 SM 抗体是拥有属性标记的抗体。临床上，SM 抗体阳性多伴有 RNA 抗体阳性，单一 SM 抗体阳性少见。常用的方法很难纯化和分离 SM 和 RNP 抗原。混合结缔组织病患者的抗 ENA 抗体出现频率高，滴度高，主要用于核糖核蛋白。血清中抗 RNP 抗体滴度几乎为负相关，是混合结缔组织病的一个指标。抗 DNA 抗体阳性的患者如果同时有抗 ENA 抗体，预后较好。肠道和抗 LA 抗体通常与干

燥综合征同时发生。因此，检测 ENA 抗体有助于结缔组织疾病的诊断和鉴别诊断。非风湿性疾病患者和正常血清中未检测到抗 SM 抗体和抗 RNP 抗体，抗 SM 抗体与 SLE 活动性和肾损害无关，不能作为判断 SLE 肾病活动性、改善和疗效的依据。

综上所述，ENA 抗体检验和血清体液免疫检验，可用于 SLE 诊断。

参考文献

- [1] 劳小霞, 马巧蓉, 杨志革, 等. 自身抗体检测在壮族人群系统性红斑狼疮诊断及病情发展中的意义 [J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(4): 5.
- [2] 毛洪博, 孟凡杰, 谭婷婷. 血清抗 bFGF 自身抗体在活动期自身免疫性疾病中的检测价值分析 [J]. 河北医学, 2020, 26(2): 5.
- [3] 马玲, 余静. 系统性红斑狼疮病人血清人附睾分泌蛋白 4 和抗双链 DNA 抗体水平与病情活动性的相关性 [J]. 安徽医药, 2021, 25(9): 4.
- [4] 庞文静. 自身免疫性甲状腺病患者血清免疫球蛋白及甲状腺自身抗体, ANA, 抗 ENA 抗体变化及临床意义 [J]. 标记免疫分析与临床, 2021, 28(12): 5.
- [5] 杨丽红, 张世国, 毕其华, 等. ANA, 抗 ENA 抗体联合抗 ds-DNA 抗体在自身免疫性疾病中的诊断价值 [J]. 检验医学与临床, 2020, 17(19): 3.
- [6] 晁亚妮, 盖玉萍, 赵咏梅, 等. 系统性红斑狼疮患者血清抗核抗体免疫荧光核型与特异性抗体谱的相关分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(5): 5.
- [7] 李雪玲, 王璐瑶, 左正才, 等. 淋巴细胞比值, C 反应蛋白及血清降钙素原在系统性红斑狼疮合并细菌感染病人早期诊断中的应用 [J]. 安徽医药, 2021, 25(3): 5.
- [8] 郭慧娟, 田冰超, 唐今扬, 等. 类风湿性关节炎, 系统性红斑狼疮及原发性干燥综合征肾损伤与体液免疫的相关性研究 [J]. 中国医药导报, 2020, 17(29): 4.
- [9] 汪云敏, 吴玉玲. 血小板体积, 中性粒细胞/淋巴细胞比值在系统性红斑狼疮诊断和疗效评估中的价值 [J]. 热带医学杂志, 2020, 20(7): 5.