

- 17(6): 323-325
- 4 张军, 孙士锦, 张宏光, 等. 多发伤患者细胞免疫功能的变化及加鱼油肠外营养对其的影响[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(5): 446-449
- 5 Lausevic Z, Lausevic M, Trbojevic - Stankovic J, *et al.* Predicting multiple organ failure in patients with severe trauma[J]. *Can J Surg*, 2008, 51(2): 97-102
- 6 孔令文, 卢仁福, 谭远康, 等. 应用 ISS 和 NISS 评估伴严重胸部损伤的多发伤患者并发症与救治结局[J]. 中华创伤杂志, 2012, 28(7): 580-583
- 7 刘流, 庄文, 陈忠. ω -3 多不饱和脂肪酸对胃肠道恶性肿瘤患者术后炎症反应和营养状态的影响[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2009, 16(12): 964-967
- 8 Verboon - Maciolek MA, Thijsen SF, Hemels MA, *et al.* Inflammatory mediators for the diagnosis and treatment of sepsis in early infancy [J]. *Pediatr Res*, 2006, 59(3): 457-461
- 9 Reinhart K, Meisner M, Brunkhott FM. Makers for sepsis diagnosis: what is useful[J]. *Crit Care Clin*, 2006, 22(3): 503-519
- 10 Seller - Pérez G, Herrera - Gutiérrez ME, Lebrón - Gallardo M, *et al.* Serum C - reactive protein as a marker of outcome and infection in critical care patients[J]. *Med Clin:Barc*, 2005, 125(20): 761-765
- 11 Heller AR, Rfissler S, Litz RJ, *et al.* Omega - 3 fatty acids improve the diagnosis - related clinical outcome[J]. *Crit Care Med*, 2006, 34(4): 972-979
- 12 Wichmann MW, Thul P, Czarnetzki HD, *et al.* Evaluation of clinical safety and beneficial effects of a fish oil containing lipid emulsion (Lipoplus, MLE541): data from a prospective, randomized, multicenter trial[J]. *Crit Care Med*, 2007, 35(3): 700-706
- 13 Kurmis R, Parker A, Greenwood J. The use of immunonutrition in burn injury care: where are we? [J]. *J Burn Care Res*, 2010, 31(5): 677-691

(收稿日期:2014-08-29)

(修回日期:2014-09-11)

抗核抗体荧光核型与狼疮肾炎病理类型的相关性分析

严艳玲 罗雄燕 杨明辉 袁 林 向 阳 袁国华

摘 要 **目的** 探讨抗核抗体(ANA)荧光核型与狼疮肾炎病理类型的相关性。**方法** 采用间接免疫荧光法测定 75 例行肾活检 LN 患者的 ANA 荧光核型,并与 56 例无狼疮肾炎的系统性红斑狼疮患者对照,分析 ANA 荧光核型与狼疮肾炎病理改变的关系。**结果** 75 例狼疮肾炎患者病理类型分属 I ~ VI 型者有 12 例(16.0%)、38 例(50.7%)、3 例(4.0%)、9 例(12.0%)、12 例(16.0%)和 1 例(1.3%)。75 例狼疮肾炎患者 ANA 均为阳性,56 例无狼疮肾炎患者中 54 例(96%) ANA 阳性。在 38 例 II 型狼疮肾炎患者中均质型 ANA 占 16(42.1%),明显高于无狼疮肾炎患者的 23.2% ($P < 0.05$)。而在 12 例 V 型狼疮肾炎中,11 例(91.7%) ANA 荧光核型为颗粒型或颗粒型/均质型,明显高于无狼疮肾炎患者的 51.8% ($P < 0.05$)。**结论** 均质型 ANA 与 II 型 LN 发病有关,而颗粒型或颗粒型 + 均质型 ANA 则可能在 V 型 LN 病变中发挥作用。

关键词 系统性红斑狼疮 狼疮肾炎 抗核抗体 荧光核型

中图分类号 R593

文献标识码 A

DOI 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.03.045

Association Study of Antinuclear Antibody Patterns with Histological Types of Lupus Nephritis. Yan Yanling, Luo Xiongyan, Yang Minghui, *et al.* The People's Hospital of Kai County, Chongqing 405400, China

Abstract **Objective** To analysis the association between immunofluorescence patterns of antinuclear antibody (ANA) and the histological changes in lupus nephritis(LN). **Methods** Immunofluorescence patterns of ANA were detected in 75 patients with LN underwent renal biopsy and compared 56 patients without LN by using indirect immunofluorescence assay (IFA). Histological type of LN was classed according to the modified World Health Organization (WHO) classification, and the association of ANA patterns with histological types of LN was then analyzed. **Results** Among 75 patients with LN, the WHO class I - VI LN was identified in 12(16.0%), 38(50.7%), 3(4.0%), 9(12.0%), 12(16.0%) and 1(1.3%) patients respectively. 75 patients with lupus nephritis ANA were all positive, and 56 cases of patients with lupus nephritis had 54 cases of ANA positive. In 38 cases of II patients with lupus nephritis type homogeneous ANA accounted for 16(42.1%), which was significantly higher than the 23.2% of the patients without lupus nephritis ($P < 0.05$). In 12 cases of type V lupus nephritis, 11 cases(91.7%) ANA fluorescence karyotype of particle or particle/homogeneous, which was sig-

作者单位:405400 重庆市开县人民医院(严艳玲);637000 南充,川北医学院附属医院风湿免疫研究所(罗雄燕、杨明辉、袁国华);风湿性疾病发生与干预湖北省重点实验室(袁林、袁国华);湖北民族学院附属民大医院风湿免疫科(向阳)

通讯作者:向阳,电子信箱:xiangy1961@126.com;袁国华,电子信箱:15983777907@139.com

nificantly higher than the 51.8% of the patients without lupus nephritis ($P < 0.05$). **Conclusion** The homogeneous pattern of ANA was probably involved in the pathological process of class II LN. And, the speckled pattern of ANA, or speckled pattern/ homogeneous pattern might participate in the pathogenesis of class V LN.

Key words Systemic lupus erythematosus; Lupus nephritis; Antinuclear antibody; Immunofluorescence pattern

系统性红斑狼疮 (systic lupus erythematosus, SLE) 是一种自身免疫性疾病, 可累及全身多个系统, 其中肾脏受累最为常见。患者血清中可出现多种自身抗体, 包括抗核抗体 (antinuclear antibody, ANA) 和抗可溶性抗原抗体 (extractable nuclear antigen, ENA)。ANA 检测一般采用间接免疫荧光法, 根据抗细胞核抗原的成分不同, 可呈现不同的荧光染色形态。已有报道认为不同 ANA 荧光染色形态与 SLE 不同的临床特征有关联^[1]。但 ANA 荧光染色形态与狼疮肾损害病理特点的相关性报道甚少, 本研究通过观察 75 例狼疮肾损害患者的 ANA 荧光染色形态, 分析 ANA 荧光核型与狼疮肾损害病理特点的相关性。

对象与方法

1. 研究对象: 2012 年 12 月 ~ 2014 年 1 月在川北医学院附属医院风湿免疫科住院患者行肾活检在活动期未经正规治疗的 SLE 患者共 75 例, 其中男性 6 例, 女性 69 例, 患者年龄 14 ~ 61 岁, 平均年龄 33.2 岁; 病程 1 ~ 204 个月, 病程中位数为 10 个月。收集同期住院的 SLE 患者无肾脏受累的未经正规治疗活动期患者 56 例作为对照组, 其中, 男性 8 例, 女性 48 例, 患者年龄 15 ~ 58 岁, 平均年龄 32.5 岁, 病程 1 ~ 207 个月, 病程中位数为 11 个月。

2. 病例纳入标准: ①据 LACC 活动指数评价标准, 两组 SLE 活动指数均 ≥ 2 分 (活动期 SLE)^[2]; ②对照组经肾活检未见明显的病理改变; ③病例组经肾活检全部病例诊断符合美国风湿病协会 (ARA) 1997 年 SLE 分类标准^[3]。

3. ANA 检测: ANA 检测采用马赛克间接免疫荧光法。试剂盒来源于德国欧蒙公司, 每个反应区同时有 2 种抗原基质: 猴肝组织和 Hep-2 细胞。在第 1 次温育时, 将 1:100 稀释的血清与固定在载片反应区上生物薄片中的 Hep-2 细胞和灵长类肝脏反应。在第 2 次温育时, 结合的抗体与荧光素标记的抗人抗体反应, 然后在荧光显微镜下观察特异性的荧光核型: ①均质型: 核质染色均匀一致; ②颗粒型: 核质染色呈颗粒状; ③周边型: 荧光染色围绕在核膜周围; ④核仁型: 仅有核仁染色; ⑤着丝点型: 仅着丝点染色。抗 ENA 抗体的检测采用免疫斑点法测定, 试剂盒由德国欧蒙医学实验诊断有限公司提供, 按试剂盒说明操作。检测抗体包括抗 dsDNA、抗 Sm、抗 SSA、抗 U1nRNP / Sm、抗核小体 (NUC) 抗体及抗组蛋白抗体 (HIS)。

4. 肾穿刺活检术及肾脏病理检查: 应用半自动肾穿刺活检针, 在 B 超或彩超引导下经皮肾穿刺活检术。穿刺次数 2 ~ 3 次, 将合格的标本分段或整条置光镜和电镜标本固定液中即刻

送检。肾穿刺标本分别行直接免疫荧光、光镜和透射电镜检查。光镜标本行苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色、过碘酸六胺银 (periodic acid-silver methamine, PASM) 染色、过碘酸雪夫 (periodic acid-schiff stain, PAS) 染色和 Masson 染色, 病理分型根据 2003 年国际肾病学学会 (ISN) 和肾脏病理学会工作组 (RPS) 制定的狼疮性肾炎的病理学分型标准进行分型^[4,5]。I 型为轻度慢性狼疮性肾炎, II 型为系膜增生性狼疮性肾炎, III 型为局灶性狼疮性肾炎, IV 型为弥漫性狼疮性肾炎, V 型为膜性狼疮性肾炎, VI 型为硬化性狼疮性肾炎。

5. 统计学方法: 采用 SPSS 16.0 统计学软件, 计量资料采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 或中位数表示, 计数资料采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

75 例 LN 患者 ANA 均为阳性, 56 例无肾脏损害 SLE 患者中 54 例 (96%) ANA 阳性。在 LN 患者和无肾脏损害 SLE 患者中 ANA 荧光核型均以颗粒型、均质型及颗粒/均质混合型多见, 而周边型、核仁型和着丝点型阳性例数相对较少, 因而总归为其他核型统计。2 组中共有 28 例 (无肾脏损害组 10 例, LN 组 18 例) 同时出现 2 种或 2 种以上核型, 其中以颗粒型/均质型最为常见, 占 24 例。ANA 荧光核型在不同病理类型 LN 中的分布见表 1。与非狼疮肾炎组对照, 均质型 ANA 在 II 型、III 型和 IV 型 LN 中增高, 但由于 III 型和 IV 型 LN 样本数较少, 未能达到统计学意义, 仅 II 型 LN 有统计学意义。而在 12 例 V 型狼疮肾炎中, 11 例 (91.7%) ANA 荧光核型为颗粒型或颗粒型 + 均质型, 明显高于无肾脏损害组的 51.8% ($P < 0.05$)。11 例 ANA 颗粒型或颗粒型/均质混型阳性患者中抗 U1nRNP 和 (或) 抗 SSA 抗体阳性者有 8 例 (72.7%), 详见表 1。

表 1 ANA 荧光核型在不同病理类型狼疮肾炎和非狼疮肾炎中分布情况对照结果 [n (%)]

组别	<i>n</i>	颗粒型	均质型	颗粒 + 均质型	其他
I 型	12	5 (41.7)	4 (33.3)	3 (25.0)	0 (0)
狼 II 型	38	13 (34.2)	16 (42.1) *	7 (18.7)	2 (5.3)
疮 III 型	3	0 (0)	2 (66.7)	1 (33.3)	0 (0)
肾 IV 型	9	0 (0)	7 (77.8)	1 (11.1)	1 (11.1)
炎 V 型	12	6 (50.0) *	1 (8.3)	5 (41.7) *	0 (0)
组 VI 型	1	1 (100.0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
非狼疮肾炎组	56	21 (37.5)	13 (23.2)	8 (14.2)	14 (25.0)

与对照组比较, * $P < 0.05$

讨 论

SLE 作为自身免疫性疾病,可侵犯身体多脏器,影响脏器功能,因而临床表现缺乏特异性,临床上常引起误诊和漏诊,因而 ANA 和其他自身抗体的检测在 SLE 的诊断中具有重要价值。抗核抗体是一组对细胞核内的 DNA、RNA、蛋白或这些物质的分子复合物的自身抗体。目前广泛采用间接免疫荧光(IIF)法进行 ANA 筛查检测,可区分均质型、周边型、颗粒型、丝粒型和核仁型^[6]。均质(homogeneous)型又称弥散型,核呈均质染色,表现为核均匀一致的荧光。此型与抗组蛋白抗体、抗 dsDNA 抗体和抗核小体抗体等有关,其对应抗原为富含赖氨酸、精氨酸的碱性 DNA 结合蛋白 H1、H2 A、H2 B、H3、H4 型组蛋白;颗粒型或斑点型细胞核内呈现颗粒状荧光,表现为核内散布大小不等的着染荧光的颗粒或斑纹。此型相关的抗体为抗 U1nRNP、抗 Sm、抗 Scl-70、抗 SS-A (La)、抗 SS-A (Ro)、抗 Ki、抗 Ku 以及其他非组蛋白的抗体;核仁(nucleolar)型仅核仁着染荧光或核内呈现块状荧光。此型与针对核内核糖体、RNP、RNA 聚合酶的抗体有关;周边(peripheral)型又称核膜(membranous)型,细胞核周围呈现荧光,由针对膜孔复合物和板层素的抗核抗体引起。但也有研究者认为,周边型荧光主要是由抗 ds-DNA 和较少由抗单链 DNA、抗组蛋白抗体与相应核抗原结合引起,是围绕着分裂间期的核膜形成环状的荧光,而核的中心部位荧光相对较暗。故此有研究者认为,高浓度的抗组蛋白、抗 ds-DNA 抗体形成均质型荧光,而较低浓度的抗体则形成周边型荧光。

ANA 荧光核型与 SLE 临床特征的相关性已有报道,研究发现,周边型 ANA 患者较斑点型 ANA 患者更易出现关节和肺脏受累,雷诺现象发生率更高^[7]。但有关 ANA 荧光核型与狼疮肾炎的相关性报道甚少,笔者对照了 75 例狼疮肾炎和 56 例无肾脏受累 SLE 患者的 ANA 荧光核型,结果发现均质型 ANA 的阳性率在狼疮肾炎患者中明显高于无肾脏病变的 SLE 患者,提示均质型 ANA 中所包含的自身抗体更易引起肾脏损害。如前所述,均质型 ANA 与抗组蛋白抗体、抗 dsDNA 抗体和抗核小体抗体等有关,陈维飞等^[8]对 134 例狼疮肾炎患者和 89 例无肾脏损害的 SLE 患者进行自身抗体检测,结果显示抗 dsDNA 抗体和抗核小体抗体阳性率在前者明显高于后者,说明

均质型 ANA 中所包含的抗 dsDNA 抗体和抗核小体抗体参与了狼疮肾炎的病理过程。

在 V 型狼疮肾炎中则观察到,斑点型 ANA 阳性率明显较无狼疮肾炎的 SLE 患者增高。斑点型 ANA 已被证实与抗 U1nRNP、抗 SSA (Ro) 等有关,笔者也发现 11 例斑点型 ANA 阳性(斑点型或斑点/均质混合型)中有 8 例(72.7%)抗 U1nRNP 和抗 SSA 抗体阳性。曹建南等^[9]也在 12 例 V 型狼疮肾炎中发现 9 例(75%)抗 U1nRNP 抗体、6 例(50%)抗 SSA 抗体阳性,提示主要是斑点型 ANA 中包含的抗 U1nRNP 和抗 SS-A 抗体与 V 型狼疮肾炎的发生有关。

本研究在一定程度上证实了均质型 ANA 与Ⅱ型 LN 发病有关,而颗粒型或颗粒型+均质型 ANA 则可能在 V 型 LN 病变中发挥作用,因所能搜集的病例较少,且各种类型之间例数相差甚大,6 种类型 LN 之间比较,只能在分析的层面上,论证强度不够充分,但本研究结果为扩大样本的更高证据等级的研究提供参考。

参考文献

- 1 Frodlund M, Dahlstrom O, Kastbom A, *et al.* Associations between antinuclear antibody staining patterns and clinical features of systemic lupus erythematosus: analysis of a regional Swedish register [J]. *BMJ Open*, 2013, 3(10): e003608
- 2 Vrowiz MB, Gladman DD, Tozman ECS, *et al.* The lupus activity criteria count(LACC) [J]. *J Rheumatol*, 1982, 11: 783-787
- 3 Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Rheum*, 1997, 40(9): 17-25
- 4 邹万忠, 王海燕. 狼疮肾炎病理学分类的演变和现状 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2004, 20(5): 377-379
- 5 Weening JJ, D'agati VD, Schwartz MM, *et al.* The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited [J]. *Kidney Int*, 2004, 65(2): 521-530
- 6 Roberts-Thomson PJ, Nikoloutsopoulos T, Cox S, *et al.* Antinuclear antibody testing in a regional immunopathology laboratory [J]. *Immunol Cell Biol*, 2003, 81(5): 409-412
- 7 El-Chennawi FA, Mosaad YM, Habib HM, *et al.* Comparative study of antinuclear antibody detection by indirect immunofluorescence and enzyme immunoassay in lupus patients [J]. *Immunol Invest*, 2009, 38(8): 839-850
- 8 陈维飞, 左晓霞, 罗卉, 等. 系统性红斑狼疮肾脏损害与自身抗体关系研究 [J]. *中国现代医学杂志*, 2008, 18(17): 2573-2575
- 9 曹建南, 王玉新, 郭汉城. 狼疮肾炎临床与病理相关性分析 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2009, 10(2): 144-145

(收稿日期: 2014-04-25)

(修回日期: 2014-05-07)