

论 著

(临床研究)

核致密斑点型抗核抗体的临床应用

戴 蕾, 臧福宇, 朱文波, 郑齐锶, 宁明哲, 陶 月

【摘要】 目的 探讨核致密斑点型(AC-2)自身抗体的临床应用。方法 收集 19 例南京大学医学院附属鼓楼医院检验科的血清标本,免疫印迹法(WB)检测抗核抗体谱(IgG)和抗 DFS70 抗体(IgG),间接免疫荧光法(IIF)检测抗核抗体(IgG),观察并记录结果。结果 19 例标本中,抗 DFS70 抗体均为阳性,抗核抗体核型均为 AC-2,抗核抗体谱中有 2 例阳性。结论 AC-2 是荧光模型国际共识(ICAP)定义的细胞核核型中的斑点型的亚型之一,国内检验人员应努力学习其荧光显微镜下表现,了解其临床意义,为临床提供准确的检验报告。

【关键词】 抗核抗体;HEp-2 细胞;间接免疫荧光;抗 DFS70 抗体;致密斑点型

【中图分类号】 R446.6 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1008-8199(2020)03-0268-04

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2020.03.010

Clinical application of nuclear dense spot antinuclear antibody

DAI Lei, ZANG Fu-yu, ZHU Wen-bo, ZHENG Qi-si, NING Ming-zhe, TAO Yue

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical College, Nanjing 210008, Jiangsu, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the clinical application of nuclear dense fine speckled (AC-2) autoantibodies. **Methods** 19 serum samples were collected from the Laboratory Department of Gulou Hospital Affiliated to Medical College of Nanjing University. Antinuclear antibody spectrum (IgG) and anti-DFS70 antibody (IgG) were detected by immuno-blotting method, and antinuclear antibody (IgG) was detected by indirect immunofluorescence method. The results were observed and recorded. **Results** Anti-DFS70 antibody was positive in all 19 specimens, anti-nuclear antibody karyotype was dense spot type (AC-2), and anti-nuclear antibody spectrum was positive in 2 of 19 specimens. **Conclusion** AC-2 is one of the dot subtypes in the karyotype defined by ICAP. Domestic laboratory personnel should study its fluorescence microscopic manifestations, understand its clinical significance and provide accurate test reports for clinical practice.

【Key words】 anti-nuclear antibody; HEp-2 cell; indirect immuno-fluorescence; anti-DFS70 antibody; dense spot type

0 引 言

抗核抗体(antinuclear autoantibodies, ANA)是临床诊断系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)、干燥综合征(Sjögren's syndrome)等自身免疫病重要的参考指标之一^[1-3]。

目前利用以人喉癌上皮细胞(HEp-2)为基质的间接免疫荧光法(IIF)检测抗核抗体仍然是国内外公认的检测抗核抗体的“金标准”^[4-6]。研究人员于 2014 年在巴西召开的第 12 届国际自身抗体及自身免疫学术会议上第一次制定了 ANA 荧光模型国际共识(international consensus on antinuclear antibody pattern, ICAP),并明确提出了核致密斑点型(nuclear dense fine speckled, AC-2)。但目前 AC-2 的临床意义仍未得到具体的阐述。本研究对我院检出的 AC-2 及其临床意义做简要探讨。

作者单位:210008 南京,南京大学医学院附属鼓楼医院检验科
(戴 蕾、臧福宇、朱文波、郑齐锶、宁明哲、陶 月)

通信作者:陶 月, E-mail: peachmoon@163.com

1 资料与方法

1.1 标本来源 收集 2019 年 1-3 月在南京鼓楼医院收治的门诊或住院或体检中心患者的抗核抗体检测报告显示为核致密斑点型的血清标本, 共计 19 例, 其中女 18 例, 男 1 例, 年龄 25~73 岁, 中位数年龄 29 岁。血清标本在采集后 2 h 内送至检验科进行检测。临床诊断: 不孕症 6 例, 肝损伤、妊娠、关节炎、体检各 2 例, 桥本甲状腺炎、胃炎、发热待查、肾功能受损、贫血各 1 例。

1.2 试剂 抗核抗体谱(IgG)检测试剂盒(欧蒙印迹法)、抗核抗体 IgG 试剂盒(间接免疫荧光法)、抗 DFS-70 抗体(IgG)试剂盒(欧蒙印迹法)均购自杭州欧蒙医学科技有限公司。

1.3 实验方法 实验均参照试剂盒说明书完成。抗核抗体谱(IgG)和抗 DFS-70 抗体(IgG)试剂盒检测完成后, 将检测膜条放置在结果判定模板中, 风干后判读结果。抗核抗体(间接免疫荧光法)检测后, 用 EUROStar III Plus 荧光显微镜下(40×物镜)观察检测结果, 间接免疫荧光法以 HEp-2 和猴肝作为检测基质。激发滤片:488 nm, 分光滤镜:510 nm, 阻挡滤镜:520 nm。

2 结果

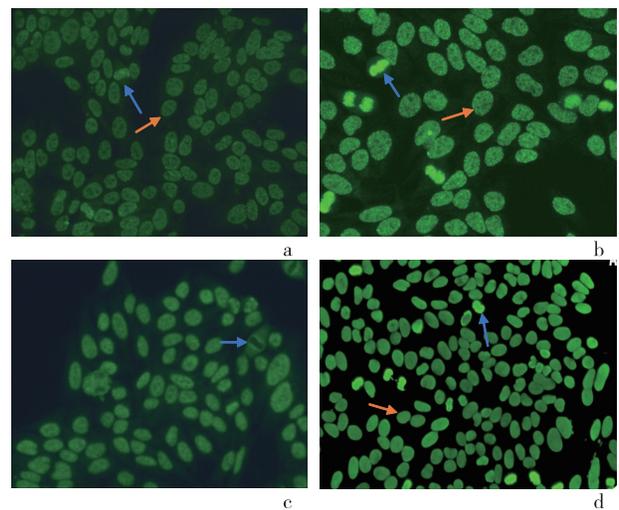
2.1 抗核抗体谱(IgG)检测结果 19 例标本的抗核抗体谱(IgG)检测结果中, 无特异性抗体阳性的结果标本为 17 例, 占 89.47%。出现阳性结果的结果标本为 2 例, 占 10.53%, 其中 1 例表现为抗多发性肌炎/硬皮病抗体(PM-Scl)阳性, 另 1 例表现为抗着丝点蛋白 B(CenpB)和抗合成酶抗体(Jo-1)阳性。见图 1。



图 1 2 例抗核抗体谱阳性标本膜条结果

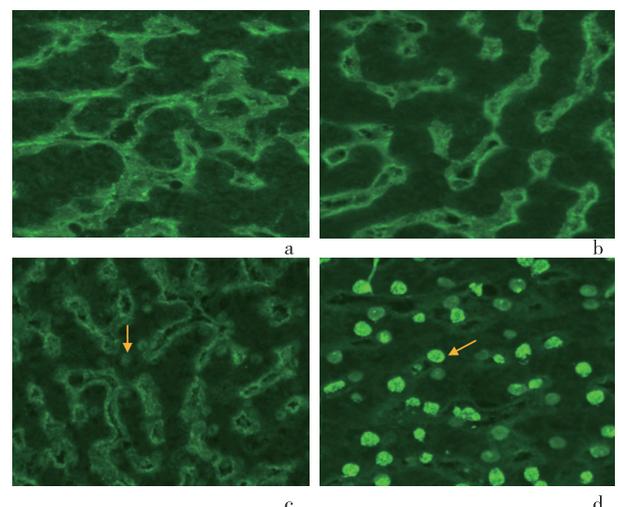
2.2 抗核抗体 IgG 检测结果(HEp-2 IFA) 19 例患者标本 HEp-2 IFA 核型检测结果均为 AC-2, 选取其中 2 例患者的抗核抗体 IgG 检测结果(HEp-2

IFA), 见图 2a、图 2b。另选取一张细胞核细颗粒型(AC-4)和一张细胞核均质型(AC-1)作对比, 见图 2c、图 2d。AC-2 在猴肝基质片中无特殊荧光表现, 见图 3a、图 3b, 选取 AC-4 和 AC-1 的猴肝基质片图像作对比, 见图 3c、图 3d。



a-b: 蓝色箭头所指的分裂期细胞在中间板层上呈致密颗粒分布, 橙色箭头所指的间期细胞呈颗粒样分布且荧光不均匀; c: 蓝色箭头所指的分裂期细胞中间板层无荧光染色; d: 蓝色箭头所指的分裂期细胞中间板层呈均匀玻璃样染色, 橙色箭头所指的间期细胞均匀染色

图 2 AC-2、AC-4 和 AC-1 在 HEp-2 细胞基质上的荧光表现



a-b: 猴肝基质上未见明显细胞特征; c: 黄色箭头示细胞核呈颗粒样荧光; d: 黄色箭头示猴肝细胞呈均匀块状荧光

图 3 AC-2、AC-4 和 AC-1 在猴肝细胞基质上的荧光表现

2.3 抗 DFS-70 抗体 (IgG) 检测结果 19 例患者标本中,抗 DFS-70 抗体 (IgG) 检测结果均为阳性。见图 4。

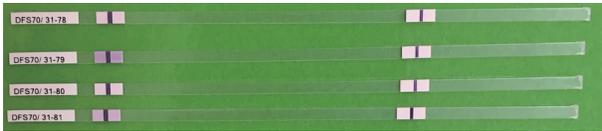


图 4 抗 DFS-70 抗体 (IgG) 检测结果

3 讨 论

抗核抗体 AC-2,即核致密斑点,在 ICAP 的抗核抗体荧光模型命名和分类树中,归属于抗核抗体细胞核型中的斑点型,其在 IIF 法检测 ANA 的初期并未引起重视。随着对 ANA 研究的不断深入,研究人员发现并明确了这种和均质型及粗、细斑点型相似但存在差异的荧光模型。并在随后的研究中发现了特定的自身抗体抗 DFS70 抗体,这进一步明确了核致密斑点型是一种独立的荧光模型。

致密斑点型的典型形态特征为:间期细胞核呈现大小不一、荧光强弱不同、分布不均匀的荧光斑点。这些荧光斑点在间期细胞的某些地方分布密集,而在其它地方则分布疏松。细胞分裂中期,细胞中央板区则呈现强发光的斑点,并且呈粗颗粒状^[7-8]。值得注意的是,致密斑点型的间期形态容易与粗颗粒斑点型混淆,因为两者在间期细胞内均有广泛分布的颗粒荧光。同时,致密斑点型的分裂中期形态还易与均质型混淆,因为两者均表现出分裂期细胞染色体发出强的浓缩荧光。由于以上的荧光模型特征,致密斑点型同均质型、粗颗粒斑点型,尤其是两者混合的荧光模型不易分辨、容易混淆。

同时,根据本实验研究结果,我们对核致密斑点型的荧光特征做如下补充:①间期细胞中颗粒分布相对均匀,但发光强度不均匀;②间期细胞核充满颗粒且有清晰边界;③核仁呈颗粒荧光,但是不会出现空洞;④猴肝片上不呈现荧光等。并且,ICAP 官网中提供了四张图谱,其中的三张图谱的试剂盒来源为美国 INOVA 公司。本实验室的 ANA IgG 抗体 (IIF 法) 试剂盒来源为德国欧蒙公司,且有

猴肝细胞基质片协助判断,为实验室工作人员学习 AC-2 的特征提供了参考。

在发现和命名 AC-2 致密斑点型后,研究人员开始尝试明确致密斑点型 ANA 与自身免疫病的相关性,并探讨该荧光模型与其他自身免疫病血清学指标的相关性^[9-11]。目前,有国外报道存在 AC-2 核型 ANA 的人群不易患自身免疫病,其 5 年内自身免疫病的发病率低于其他 ANA 阳性的人群^[12-15]。在本研究中,19 例 AC-2 核型的患者,有 6 例均因不孕症而就诊。因此我们提出假说,AC-2 核型与不孕不育有一定相关性。但受制于本研究的样本数过少,此猜测尚需更多样本量及临床数据支持。目前,对于该荧光模型的临床意义还未达成广泛的共识。

综上所述可以看出,致密斑点型的形态学不典型,在 ICAP 中,该核型虽然被规定为一级必报核型,但不同于均质型、粗颗粒斑点型以及细颗粒斑点型等常见荧光模型,致密斑点型对于检验人员的经验有着更高要求。实验室工作人员应加强读片的训练,为临床提供准确及时的报告。

【参考文献】

- [1] 于娟,张立平,孙宁,等. 外泌体与自身免疫病的研究进展[J]. 医学研究生学报, 2018, 31(9): 972-976.
- [2] 张莹,温利辉,王美美,等. 抗心磷脂抗体阳性的系统性红斑狼疮临床特点和预后分析[J]. 医学研究生学报, 2019, 32(9): 958-962.
- [3] 刘颖,梅焕平,吴云娟,等. 抗内皮细胞抗体在多发肌炎/皮肌炎合并间质性肺疾病中的应用[J]. 东南国防医药, 2016, 18(3): 278-280, 286.
- [4] Solomon DH, Kavanaugh AJ, Schur PH. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear antibody testing[J]. *Arthritis Rheum*, 2002, 47(4): 434-444.
- [5] Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies[J]. *Ann Rheum Dis*, 2014, 73(1): 17-23.
- [6] 胡朝军,周仁芳,张蜀澜,等. 抗核抗体 HEp-2 细胞间接免疫荧光模型及其结果报告方式国际共识解读[J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39(11): 804-810.
- [7] Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations [J]. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69(8): 1420-1422.
- [8] Chan EK, Damoiseaux J, Carballo OG, et al. Report of the First

- International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEp-2 Cell Patterns 2014-2015 [J]. *Front Immunol*, 2015, 6:412. doi: 10.3389/fimmu.2015.00412.
- [9] 孟新艳, 武丽君. 抗核抗体致密颗粒型与抗环瓜氨酸肽抗体及 RF Ig-AGM 的相关性[J]. *世界最新医学信息文摘(电子版)*, 2017, 17(83): 145-146.
- [10] 张道强, 隋秀梅, 张春江, 等. 抗核抗体致密斑点型与抗环瓜氨酸肽抗体的相关性及其临床意义研究[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2011, 31(6): 516.
- [11] 周仁芳, 曾爱平, 陈 瑛, 等. 致密细斑点型抗核抗体在自身免疫性疾病中的临床意义[J]. *中华检验医学杂志*, 2015, 38(3): 173-177.
- [12] Gundín S, Irure-Ventura J, Asensio E, *et al.* Measurement of anti-DFS70 antibodies in patients with ANA-associated autoimmune rheumatic diseases suspicion is cost-effective [J]. *Autoimmun Highlights*, 2016, 7(1): 10.
- [13] Carter JB, Carter S, Saschenbrecker S, *et al.* Recognition and Relevance of Anti-DFS70 Autoantibodies in Routine Antinuclear Autoantibodies Testing at a Community Hospital [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2018, 5: 88.
- [14] Mahler M, Hanly JG, Fritzier MJ. Importance of the dense fine speckled pattern on HEp-2 cells and anti-DFS70 antibodies for the diagnosis of systemic autoimmune diseases [J]. *Autoimmun Rev*, 2011, 11(9): 642-645.
- [15] Mahler M, Parker T, Peebles CL, *et al.* Anti-DFS70/LEDGF antibodies are more prevalent in healthy individuals compared to patients with systemic autoimmune rheumatic diseases [J]. *J Rheumatol*, 2012, 39(11): 2104-2110.

(收稿日期: 2019-12-11; 修回日期: 2020-02-17)

(责任编辑: 叶华珍; 英文编辑: 吕铮烽)