

DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2021.08.08

· 自身免疫病实验室检测 ·

抗 SSA、SSB 和 CENP-B 抗体在系统性红斑狼疮及干燥综合征的发生率及浓度分析

杨为斌¹, 王江平², 梅丽萍², 蔡望喜² (1. 武汉市普仁医院检验科, 武汉 430081; 2. 湖北中医药大学附属医院 湖北省中医院检验科, 武汉 430061)

摘要:目的 比较抗 SSA、SSB 和 CENP-B 抗体在系统性红斑狼疮 (SLE) 和干燥综合征 (SS) 患者中的发生率和浓度。方法 对 531 例 SLE 患者和 96 例 SS 患者同时采用 CLIA 和 ELISA 进行抗 SSA、SSB 和 CENP-B 抗体检测。比较上述 3 种抗体在 SLE 和 SS 患者组的发生率和浓度, 以及 CLIA 和 ELISA 检测结果的符合率。结果 抗 SSA 和 SSB 抗体在 SS 患者组的发生率明显高于 SLE 患者组 ($P < 0.01$), 而抗 SSB 和 CENP-B 抗体在 SS 患者组的浓度显著高于 SLE 患者组 ($P < 0.01$)。在 134 例抗 SSB 抗体阳性的样本中, 仅 4 例样本抗 SSA 抗体阴性。CLIA 和 ELISA 在检测上述 3 种抗体的总符合率分别为 96.4%、95.7% 和 98.3%。结论 抗 SSA 和 SSB 抗体对 SLE 和 SS 患者临床诊断具有重要价值。抗 SSB 抗体的发生具有与抗 SSA 抗体的依赖性。CLIA 和 ELISA 两种方法检测上述 3 种抗体表现出良好的符合率。

关键词: 系统性红斑狼疮; 干燥综合征; 化学发光法; 酶联免疫吸附法; 抗 SSA 抗体; 抗 SSB 抗体; 抗 CENP-B 抗体

中图分类号: R446

文献标志码: A

以系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 和干燥综合征 (Sjögren's syndrome, SS) 等为代表的自身免疫病 (autoimmune disease, AID) 在我国的发病率呈逐年上升趋势。抗干燥综合征抗原 A (Sjögren's syndrome antigen A, SSA) 抗体、抗干燥综合征抗原 B (Sjögren's syndrome antigen B, SSB) 抗体和抗着丝点蛋白 B (centromere protein B, CENP-B) 抗体对于 AID 的临床诊断发挥重要作用。其中, 抗 SSA 和 SSB 抗体是 SS 患者中常见的自身抗体, 大约 50%~70% 的 SS 患者体内可检测到上述 2 种抗体^[1]。抗 CENP-B 抗体则往往被视为系统性硬化症 (systemic sclerosis, SSc) 临床诊断的血清学标记物, 该抗体在 CREST 综合征的发生率高达 50%~90%^[2]。上述 3 种抗体在不同疾病中的发生率已有不少文献报道, 但已有的研究数据均基于传统免疫学检测方法获得, 包括对流免疫电泳、免疫双扩散、免疫印迹法或酶联免疫吸附法等。在国内大部分临床实验室在开展抗 SSA、SSB 和 CENP-B 抗体检测时, 仍然沿用传统免疫印迹法开展定性检测。近年来, 具有全自动、定量、随机上样和灵活组合等特点的化学发光法 (chemiluminescent immunoassay, CLIA) 被逐步应用到自身抗体的临床检测领域^[3-4]。本研究同时采用 CLIA 和 ELISA 对上述 3

种抗体在 SLE 和 SS 等患者人群中的发生率和浓度展开对比研究。同时比较 CLIA 和 ELISA 两种方法在检测上述抗体时的符合率。

1 材料与方法

1.1 临床样本 收集 2017 年 1 月至 2019 年 6 月期间湖北省中医院就诊的 531 例 SLE 患者 (女 480 例, 男 51 例, 平均年龄 36 岁)、96 例 SS 患者 (女 92 例, 男 4 例, 平均年龄 50 岁) 和 93 例本院职工体检健康人群 (healthy individual, Hi) (女 56 例, 男 37 例, 平均年龄 43.5 岁) 血清样本, 样本采集后直接检测或 -20 °C 保存。入组患者的临床诊断均严格遵循相关疾病的临床分类标准^[5-6]。其中, Hi 组均自述无自身免疫相关疾病病史, 且血常规、尿常规、肝功能和免疫指标 (含免疫球蛋白和补体) 等常规体检指标未见异常。本研究已通过湖北省中医院伦理委员会的伦理审查, 所有受试者均签署知情同意书。所有样本同时采用 CLIA 和 ELISA 开展抗 SSA、SSB 和 CENP-B 抗体的检测。

1.2 试剂和仪器 CLIA 自身抗体检测系统: 全自动化学发光分析仪 (Smart 6500, 重庆科斯迈公司) 及配套的抗 SSA、SSB 和 CENP-B 抗体 CLIA 检测试剂盒 (江苏浩欧博公司)。ELISA 检测: SUNRISE 酶

作者简介: 杨为斌, 1973 年生, 男, 副主任技师, 大学本科, 从事临床免疫检验专业研究。

通信作者: 蔡望喜, 主任技师, 大学本科, E-mail: 553536762@qq.com。

联仪(瑞士 TECAN 公司)及抗 SSA、SSB 和 CENP-B 抗体 ELISA 检测试剂盒(德国欧蒙公司)。

1.3 方法

1.3.1 CLIA 法检测抗 SSA、SSB 和 CENP-B 抗体均按照试剂说明书操作,在全自动化学发光分析仪(Smart 6500)上检测。临界值均为 20 RU/mL。

1.3.2 ELISA 法检测抗 SSA、SSB 和 CENP-B 抗体血清标本 1:201 稀释,加入包被特定靶抗原的微孔板中,室温反应 30 min,用清洗缓冲液清洗 3 次,每孔加入 100 μL 酶标记的抗人 IgG 抗体,室温反应 30 min,用清洗缓冲液清洗 3 次,每孔加入 100 μL 3,3',5,5'-四甲基联苯胺底物液,室温反应 15 min,最后加入 100 μL 终止液,在酶联仪中以 450 nm 和 620 nm 双波长测量吸光度测量。根据吸光度值计算抗体浓度并判读阴阳性结果。所有 ELISA 抗体的检测临界值均为 20 RU/mL。

1.3.3 统计学分析 用 SPSS 21.0 软件进行。相关组别的抗体浓度比较采用 *t* 检验分析;不同样本组抗体发生率差异采用 χ^2 检验。不同方法检测结果差异的比较,采用四格表的 χ^2 检验,两种方法检测结果一致性的分析采用 *Kappa* 检验,一致性强度的判断:当 *Kappa*<0.4,一致性强度较差;0.4≤*Kappa*<0.75,两者一致性一般;*Kappa*≥0.75 两者一致性较好。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 抗 SSA、SSB 和 CENP-B 抗体在 SLE 和 SS 的发生率及浓度 CLIA 法结果显示: SLE 患者组的

抗体发生率分别为 63.3%、17.5%和 9.2%,SS 患者组的抗体发生率则分别为 84.4%、40.6%和 7%。抗 SSA 和 SSB 抗体在 SS 患者组的发生率均高于 SLE 患者组(*P*<0.01),而抗 CENP-B 抗体在上述 2 种疾病中的发生率差异无统计学意义(*P*>0.05)。抗 SSA 抗体浓度在上述两组患者中差异无统计学意义(*P*=0.09),而抗 SSB 和 CENPB 抗体的浓度差异有统计学意义(*P*<0.01)。见表 1 和表 2。

表 1 抗 SSA、SSB 和 CENP-B 抗体在不同疾病组的抗体发生率比较

抗体类型	发生率[n(%)]			SLE 和 SS 抗体发生率比较	
	SLE (n=531)	SS (n=96)	Hi (n=93)	χ^2	<i>P</i> 值
抗 SSA 抗体	336(63.3)	81(84.4)	2(2.1)	16.25	<0.01
抗 SSB 抗体	93(17.5)	39(40.6)	2(2.1)	26.17	<0.01
抗 CENP-B 抗体	49(9.2)	7(7.3)	5(5.3)	0.37	0.54

表 2 抗 SSA、SSB 和 CENP-B 抗体在 SLE 和 SS 患者的抗体浓度比较($\bar{x}\pm s$,RU/mL)

抗体类型	SLE(n=531)	SS(n=96)	<i>P</i> 值
抗 SSA 抗体	276.6±13.7	333.8±28.5	0.09
抗 SSB 抗体	74.3±10.7	217.4±54.1	<0.01
抗 CENP-B 抗体	15.8±3.4	93.7±28.5	<0.01

2.2 抗 SSB 抗体和抗 SSA 抗体的相关性 入组样本中抗 SSB 抗体阳性 134 例,其中抗 SSA 抗体阴性而抗 SSB 抗体阳性的例数仅为 4 例。结果表明,无论是在 SLE 还是 SS 患者人群中,抗 SSB 抗体的发生总是伴随抗 SSA 抗体的存在,呈现对抗 SSA 抗体的高度依赖性(*P*<0.05)。见表 3。

表 3 抗 SSB 抗体伴随抗 SSA 抗体发生率[n(%)]

疾病组	抗 SSA 和 SSB 抗体		抗 SSA 和 SSB 抗体 非同时阳性	抗 SSB 抗体 单独阳性	抗 SSB 抗体 非单独阳性	χ^2	<i>P</i> 值
	同时阳性	非同时阳性					
SLE(n=531)	90(16.9)	441(83.1)	3(0.56)	528(99.4)	89.19	<0.01	
SS(n=96)	38(39.6)	58(60.4)	1(1)	14(99.0)	44.05	<0.01	

2.3 CLIA 和 ELISA 2 种方法检测抗 SSA、SSB 和 CENP-B 抗体的符合率 本研究对所有样本同时平行开展 CLIA 和 ELISA 检测。结果显示,CLIA 和 ELISA

在检测上述 3 种抗体时总符合率分别为 96.4%、95.7%和 98.3%(*Kappa*>0.85),提示 CLIA 和 ELISA 2 种方法对 3 种抗体的检测结果具有可比性。见表 4。

表 4 CLIA 与 ELISA 检测抗 SSA、SSB 和 CENP-B 抗体的符合率(%)分析

项目	ELISA		阳性符合率(95%置信 区间)	阴性符合率(95%置信 区间)	总符合率(95%置信 区间)	<i>Kappa</i> 值	<i>P</i> 值
	阳性	阴性					
CLIA-抗 SSA 抗体	阳性	409	96.2(94~97.8)	96.6(93.8~98.4)	96.4(94.8~97.6)	0.93(0.89~0.95)	<0.01
	阴性	16					
CLIA-抗 SSB 抗体	阳性	112	92.6(86.4~96.5)	96.3(94.5~97.7)	95.7(93.9~97.1)	0.85(0.8~0.9)	<0.01
	阴性	9					
CLIA-抗 CENP-B 抗体	阳性	52	94.5(84.9~98.9)	98.6(97.4~99.4)	98.3(97.1~99.1)	0.89(0.82~0.95)	<0.01
	阴性	3					

3 讨论

随着环境的改变以及老龄化程度的增加,国内 AID 的发病率呈现逐年上升的趋势。在临床实践中,与 AID 相关的自身抗体实验室检测结果对于疾病的临床诊断和治疗监测发挥重要作用。抗 SSA 抗体和抗 SSB 抗体由于在 SS 患者中具有较高的发生率,因此对 SS 的临床诊断具有重要价值。而抗 CENP-B 抗体则被认为是 SSc 的重要血清学标记物。已有的研究表明,上述 3 种抗体在包括 SLE、原发性胆汁性胆管炎、类风湿关节炎等 AID 中均有不同的发生率^[7-9]。但大部分针对上述抗体发生率研究所采用的方法学均为传统免疫方法,例如免疫双扩散法、对流免疫电泳、ELISA 或免疫印迹法(line immunoassay, LIA)等。不同检测方法学由于检测原理不同,因此不同方法学检测结果往往容易存在差异。目前,国内针对上述 3 种抗体在 SLE 和 SS 发生率和浓度的研究比较少见。本研究应用 CLIA 和 ELISA 方法对临床确诊的患者开展上述 3 种抗体的平行检测,从而探讨上述 3 种抗体在国内 SLE 和 SS 患者的抗体发生率以及浓度。结果显示,抗 SSA 和 SSB 抗体在 SLE 和 SS 患者组中均具有较高的发生率,抗 SSA 抗体的发生率分别为 63.6% 和 84.4%,抗 SSB 抗体的发生率分别为 17.5% 和 40.6%。本研究中抗 SSB 抗体在 SS 确诊患者组中的发生率明显高于 Yang 等^[10]采用 LIA 方法的研究结果(25.3%)。值得注意的是,抗 SSB 抗体不仅发生率 SS 患者组高于 SLE 组,而且该抗体在 SS 组中的浓度显著高于 SLE 患者($P < 0.01$)。在临床实践中,SS 患者包括原发和继发两类患者。其中,17.8% 的 SLE 患者可继发出 SS,从而在临床表现上上述 2 种疾病的重叠(SLE-SS)。SLE-SS 与单独 SLE 相比较,不仅临床表现有所不同,而且自身抗体的表现也存在差异,其中抗 SSA 和 SSB 抗体在 SLE-SS 患者组中的发生率明显高于单独 SLE 组^[11]。本研究结果显示,抗 SSB 抗体在 SS 患者组的发生率和浓度均显著高于 SLE 组,提示与抗 SSA 抗体相比,抗 SSB 抗体在 SS 疾病的发病过程中可能发挥更重要的作用。

已有的研究表明,抗 SSA 抗体和抗 SSB 抗体具有不同的疾病特异性。前者在多种 AID 疾病中均有一定的发生率,包括 SLE、SS 和类风湿关节炎等,而后者则对 SS 具有更高的疾病特异性。在本研究中,抗 SSB 抗体尽管在 SS 的发生率明显高于 SLE,

但该抗体的出现始终伴随着抗 SSA 抗体的阳性。作为真核细胞内的重要核糖核蛋白分子,SSA 和 SSB 抗原在结构上具有一定的关联性。天然的 SSA 和 SSB 抗原的共同特点都是由一个核糖核蛋白与特定小分子核酸(hY-RNAs)组成的复合物。与 SSA 抗原中相对分子质量为 60 000 的蛋白质分子相结合的 hY-RNAs 分子,同时也具有与 SSB 抗原中相对分子质量为 48 000 的蛋白质分子结合的位点。相对分子质量为 60 000 和 48 000 的结合蛋白的分子量不同,但由于可结合在同一 hY-RNAs 分子上,因此在抗原结构上相关性也使得其临床发生率具有一定的相关性^[12]。本研究中所使用的 CLIA 方法在检测抗 SSA 和 SSB 抗体时均使用天然抗原,而检测结果也显示出抗 SSB 抗体的发生率具有抗 SSA 抗体的依赖性。最近的研究表明,抗 SSA 抗体与 SLE 患者的头疼、视力模糊以及疾病活动度相关,而抗 SSB 抗体则与 SLE 患者的头疼和疾病活动度相关,且上述 2 个抗体在 SLE 患者中往往同时出现^[13]。对于单独抗 SSA 抗体阳性的 SLE 和 SS 患者与 2 个抗体同时阳性的患者之间,是否存在更多的临床差异(包括临床表征、疾病进程和疗效预后等),仍需要更多的临床分组研究具体解答。

抗 CENP-B 抗体一直以来都作为 SSc 疾病的血清学标志物,尤其与具有钙化、雷诺现象、食管运动障碍、指端硬化和毛细血管扩张为主要表现的 CREST 综合征高度相关。越来越多的研究表明,抗 CENP-B 抗体同样可以在其他自身免疫疾病中出现,包括 SLE、SS、原发性胆汁性胆管炎和类风湿关节炎等。随着研究的不断深入,抗 CENP-B 抗体阳性的 SS 患者与抗体阴性患者相比,由于具有雷诺现象、指端硬化和合并自身免疫甲状腺炎的概率更高,因此该抗体阳性的 SS 患者被视为一个独特的临床亚型^[14]。Respaliza 等^[15]研究显示,抗 CENP-B 抗体在 SLE 的发生率仅为 1.9%。在本研究中,抗 CENP-B 抗体在 SLE 的发生率高达 9.2%。差异造成的原因有可能是 Respaliza 等^[15]的研究所采用的方法学均为传统的检测方法,包括间接免疫荧光法、ELISA、western blot 等,对于抗 CENP-B 抗体的检测敏感性偏低。

本研究对所有样本同时采用 CLIA 和 ELISA 平行检测结果显示,2 种方法在检测上述 3 种抗体时表现出良好的符合率和一致性。尽管 CLIA 和 ELISA 在抗原包被和反应原理上存在一定的差异,但由于 2 种方法针对上述 3 种抗体的检测均采用

了相同来源的抗原成分(SSA 和 SSB 均采用天然抗原,而 CENP-B 同为重组抗原),确保 2 种方法学在检测上述 3 种抗体时具有良好的符合率。实验室开展自身抗体检测方法学选择之前,应根据方法学性能参数等多因素综合评判。

4 参考文献

- [1] Ferrol F, Vagelli R, Bruni C, *et al.* One year in review 2016: Sjögren's syndrome[J]. Clin Exp Rheumatol, 2016, 34(2): 161-171.
- [2] Gabrielli A, Avvedimento EV, Krieg T. Scleroderma[J]. N Engl J Med, 2009, 360(19):1989-2003.
- [3] Mahler M, Radice A, Yang W, *et al.* Development and performance evaluation of novel chemiluminescence assays for detection of anti-PR3 and anti-MPO antibodies[J]. Clin Chimica Acta, 2012, 413(7-8): 719-726.
- [4] Bentow C, Swart A, Wu J, *et al.* Clinical performance evaluation of a novel rapid response chemiluminescent immunoassay for the detection of autoantibodies to extractable nuclear antigens[J]. Clin Chim Acta, 2013, 424: 141-147.
- [5] Petri M, Orbai AM, Alarcón GS, *et al.* Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus [J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(8): 2677-2686.
- [6] Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell L, *et al.* American College of Rheumatology classification criteria for Sjögren's syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance cohort [J]. Arthritis Care Res (Hoboken), 2012, 64(4): 475-487.
- [7] Adinolfi A, Valentini E, Calabresi E, *et al.* One year in review 2016: systemic lupus erythematosus [J]. Clin Exp Rheumatol, 2016, 34(4): 569-574.
- [8] Louie JS, Grandhe S, Matsukuma K, *et al.* Primary biliary cholangitis: a brief overview[J]. Clin Liver Dis, 2020, 15(3): 100-104.
- [9] Wang SJ, Meng YM, Huang ZC, *et al.* Anti-centrosome antibodies: Prevalence and disease association in Chinese population[J]. Scand J Immunol, 2019, 90(4): e12803.
- [10] Yang Z, Ren Y, Liu D, *et al.* Prevalence of systemic autoimmune rheumatic diseases and clinical significance of ANA profile: data from a tertiary hospital in Shanghai, China [J]. APMIS, 2016, 124(9): 805-811.
- [11] Yao Q, Altman RD, Wang X. Systemic lupus erythematosus with Sjögren syndrome compared to systemic lupus erythematosus alone: a meta-analysis[J]. J Clin Rheumatol, 2012, 18(1): 28-32.
- [12] Franceschini F, Cavazzana I. Anti-ro/SSA and La/SSB antibodies [J]. Autoimmunity, 2005, 38(1): 55-63.
- [13] Emad Y, Gheita T, Darweesh H, *et al.* Antibodies to extractable nuclear antigens (ENAS) in systemic lupus erythematosus patients: correlations with clinical manifestations and disease activity [J]. Reumatismo, 2018, 70(2): 85-91.
- [14] Lee KE, Kang JH, Lee JW, *et al.* Anti-centromere antibody-positive Sjögren's syndrome: a distinct clinical subgroup? [J]. Int J Rheum Dis, 2015, 18(7): 776-782.
- [15] Respaldiza N, Wichmann I, Ocaña C, *et al.* Anti-centromere antibodies in patients with systemic lupus erythematosus[J]. Scand J Rheumatol, 2006, 35(4): 290-294.

(收稿日期:2021-07-05)

(本文编辑:刘群)