

# 自身免疫性疾病患者血清抗 bFGF 自身抗体的检测及对疾病诊断价值的临床分析

毛小莉, 熊阿莉, 卢忠心

(华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院 检验科, 武汉 430014)

**摘要:** 为探讨自身免疫性疾病(autoimmune disease, AID)患者血清中抗碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)自身抗体水平及对患者的诊断价值, 回顾性收集 2015 年 3 月至 2017 年 5 月医院收治的 AID 患者 80 例为观察组, 取同期入院健康体检者 80 例为对照组。采用 ELISA 检测 2 组患者血清中抗 bFGF 抗体 IgM 和 IgG 水平。结果显示 80 例 AID 患者经过检测血清中抗 bFGF 自身抗体均得到确诊, 排在前 3 位的分别为 SLE、RA 及慢性肾炎, 分别占 28.75%、22.50% 和 18.75%; 观察组 bFGF 水平高于对照组( $t=7.572$ ,  $P<0.05$ ); 观察组中 SLE、不明原因发热患者抗 bFGF IgM 抗体与对照组比较差异无统计学意义; 观察组 RA、皮肤炎及特发性血小板减少性紫癜患者抗 bFGF IgG 抗体阳性率高于对照组( $P<0.05$ ); 观察组 RA、慢性肾炎、皮肤炎、特发性血小板减少性紫癜患者抗 bFGF IgM 抗体水平高于对照组( $P<0.05$ )。由此 AID 患者血清中存在 bFGF 自身抗体水平升高现象, 加强抗 bFGF 自身抗体水平测定有助于 AID 的诊断, 值得推广应用。

**关键词:** 自身免疫性疾病; 抗 bFGF 自身抗体; 酶联免疫吸附试验; 诊断价值

**中图分类号:** R446.6

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-2478(2019)03-0222-04

自身免疫性疾病(autoimmune disease, AID)是临床常见疾病, 具有病因复杂、临床表现多样等特点, 发病后常累及多器官、多系统, 且病情反复发作、慢性迁延<sup>[1]</sup>。碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)是成纤维细胞生长因子家族的重要成员之一, 也是血管生长相对重要的神经营养因子, 能促进血管的形成并且在中胚层、外胚层神经细胞的分裂、增殖中发挥重要的作用<sup>[2]</sup>。有文献报道 bFGF 与肿瘤的增殖、转化及组织纤维化疾病等有关, 并且能参与多种 AID 的发生、发展<sup>[3]</sup>。同时, 临床上已经在多种 AID 患者中检测到抗细胞因子的自身抗体, 它们能反映患者疾病的严重程度, 为临床诊疗提供参考<sup>[4]</sup>。因此, 本课题主要探讨 AID 患者血清中 bFGF 自身抗体水平及对患者的诊断价值, 现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

回顾性收集 2015 年 3 月至 2017

年 5 月医院收治的 AID 患者 80 例为观察组, 男性 45 例, 女性 35 例, 年龄 15~78 岁, 平均(56.36±5.81)岁。纳入标准: (1)符合 AID 的临床诊断标准<sup>[5]</sup>; (2)符合血清中抗 bFGF 抗体测定指标。取同期入院健康体检者 80 例为对照组, 男性 46 例, 女性 34 例, 年龄 16~80 岁, 平均(57.01±5.83)岁。排除标准: (1)不符合 AID 临床诊断标准者; (2)资料不全或难以配合临床检测、诊断者; (3)合并严重心、肾功能异常及精神异常者。

**1.2 主要仪器和试剂** 正常血清(实验室提供)、人抗 rhbFGF 血清(Sigma-Aldrich 公司)、rhbFGF(暨南大学生物工程研究所)、IgG-HRP(鼎国生物公司)、HRP 标记的羊抗人 IgG 抗体和 HRP 标记的羊抗人 IgM 抗体(鼎国生物公司)、小牛血清(四季青公司); 酶标板 4 种, 分别购自华美生物公司(Nunc, Denmark)、深圳金灿华和厦门云鹏。

**1.3 方法** (1)标本的采集: 观察组入院后次日早晨空腹抽取 4 mL 静脉血, 对照组体检当天空腹抽取 4 mL 静脉血, 分离血清, 将上述血清于-20℃冰箱冻存。(2)酶标板的优选: 选用 4 种酶标板进行 ELISA, 以 bFGF 抗原空白对照孔进行对比, 比较微孔板的吸附能力; 用不含有 bFGF 抗原的包被缓冲液包被微孔, 常规封闭后分别加入目标血清和抗

收稿日期: 2018-04-28

基金项目: 国家自然科学基金(31500729)

作者简介: 毛小莉(1984—), 女, 博士, 主管技师, 主要从事肿瘤免疫与自身免疫病的发病机制研究

通信作者: 卢忠心(E-mail: zyfx8899@sohu.com)

bFGF 多克隆抗体,加入 IgG-HRP,从中选择最弱的酶标板<sup>[6-7]</sup>。(3)ELISA 检测 AID 患者样本:即抗 bFGF IgG 抗体、抗 bFGF IgM 抗体水平的测定,用 50 mmol/L、pH9.8 的碳酸盐缓冲液稀释 bFGF,控制浓度为 0.5 mg/L,每孔加入 100  $\mu$ L 包被酶标板,37  $^{\circ}$ C 孵育 1 h,4  $^{\circ}$ C 过夜,加入 200  $\mu$ L 封闭液封闭,37  $^{\circ}$ C 孵育 3 h,用 PBST 洗涤 5 次,向每孔加入 HRP 标记的羊抗人 IgG 或 IgM 抗体,孵育 1 h,PBST 洗涤,OPD 显色,测定其光密度( $D_{492\text{ nm}}$ )<sup>[8-9]</sup>。

**1.4 观察指标** (1)AID 诊断:观察 80 例 AID 患者血清中抗 bFGF 自身抗体对疾病的诊断情况。(2)bFGF 水平:观察 2 组 bFGF 水平。(3)血清中抗 bFGF IgM 和 IgG 水平:观察 2 组血清中抗 bFGF IgM 和 IgG 水平。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS 18.0 软件处理,定量资料行  $t$  检验,以  $\bar{x} \pm s$  表示, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 80 例 AID 患者血清中抗 bFGF 自身抗体诊断** 入组 80 例 AID 患者均经血清中抗 bFGF 自身抗体检测得到确诊,排在前 3 位的依次为 SLE、RA 及慢性肾炎,分别占 28.75%、22.50%和 18.75%。(表 1)

表 1 80 例 AID 患者血清中抗 bFGF 自身抗体诊断

AID	<i>n</i>	构成比(%)
SLE	23	28.75
RA	18	22.50
慢性肾炎	15	18.75
皮炎炎	10	12.50
不明原因发热	8	10.00
特发性血小板减少性紫癜	6	7.50
合计	80	100.00

**2.2 观察组与对照组 bFGF 水平情况比较** 经 ELISA 测定发现观察组 bFGF 水平高于对照组( $t = 7.572, P < 0.05$ )。(表 2)

表 2 观察组与对照组 bFGF 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	bFGF
观察组	80	$6.83 \pm 0.15^*$
对照组	80	$0.57 \pm 0.09$

注:与对照组比较,\* $P < 0.05$

### 2.3 2 组血清中抗 bFGF IgM 和 IgG 抗体水平比较

观察组中 SLE、慢性肾炎、不明原因发热的抗 bFGF IgG 抗体水平与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );观察组 SLE、不明原因发热的抗 bFGF IgM 抗体与对照组相比差异无统计学意义;观察组中 RA、皮炎炎及特发性血小板减少性紫癜的抗 bFGF IgG 抗体发生率高于对照组( $P < 0.05$ );观察组中 RA、慢性肾炎、皮炎炎、特发性血小板减少性紫癜的抗 bFGF IgM 抗体水平高于对照组( $P < 0.05$ )。(表 3)

表 3 2 组血清中抗 bFGF IgM 和 IgG 抗体水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	抗 bFGF IgG 抗体	抗 bFGF IgM 抗体
观察组			
SLE	23	$0.19 \pm 0.06$	$0.20 \pm 0.06$
RA	18	$0.22 \pm 0.10^*$	$0.23 \pm 0.12^*$
慢性肾炎	15	$0.19 \pm 0.07$	$0.20 \pm 0.06^*$
皮炎炎	10	$0.24 \pm 0.05^*$	$0.25 \pm 0.04^*$
不明原因发热	8	$0.19 \pm 0.04$	$0.19 \pm 0.03$
特发性血小板减少性紫癜	6	$0.21 \pm 0.05^*$	$0.23 \pm 0.05^*$
对照组	80	$0.17 \pm 0.09$	$0.18 \pm 0.04$

注:与对照组相比,\* $P < 0.05$

## 3 讨论

AID 是临床上的常见病,主要是由于“自身耐受”的破坏,从而产生自身抗体,引起机体免疫失衡,导致携带自身抗原的靶器官组织发生不同程度

的损伤,从而引起疾病的发生<sup>[10]</sup>。文献报道显示“自身耐受”受影响因素较多<sup>[11]</sup>。同时,免疫活性细胞的出现会造成淋巴细胞逃避“克隆丢失”、“淋巴细胞突变”等,造成免疫调节发生异常,引起细胞因子出现不同的失调,从而引起各种 AID<sup>[12]</sup>。本

研究中,入组80例AID患者均经血清中抗bFGF自身抗体检测得到确诊,排在前3位的分别为SLE、RA及慢性肾炎,分别占28.75%、22.50%和18.75%。由此可见自身免疫性疾病类型较多,且不同的疾病临床表现缺乏特异性,因此加强疾病诊断对指导临床治疗具有重要的意义。

本研究中,观察组经ELISA测定后bFGF水平高于对照组( $P < 0.05$ ),提示AID患者中常伴有bFGF水平的升高。目前,临床上间接ELISA难以检测血清中高浓度抗细胞因子的自身抗体,这是因为血清中抗体分子存在许多非特异性吸附与低亲和力的结合,再加上血清中含有多糖抗体,能与糖基化细胞因子相互结合,从而产生假阳性<sup>[13]</sup>。文献报道显示在AID患者中血清抗体水平表达相对较高,并且常伴有免疫复合物与RF的升高<sup>[14]</sup>。本研究中,观察组SLE、慢性肾炎、不明原因发热患者抗bFGF IgG抗体水平与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );观察组SLE、不明原因发热患者抗bFGF IgM抗体与对照组比较差异无统计学意义;观察组中RA、皮肤炎及特发性血小板减少性紫癜患者抗bFGF IgG抗体水平高于对照组( $P < 0.05$ );观察组中RA、慢性肾炎、皮肤炎、特发性血小板减少性紫癜患者抗bFGF IgM抗体水平高于对照组( $P < 0.05$ )。由此可见AID患者血清中存在抗bFGF自身抗体水平升高现象,并且不同的疾病表达水平不同。临床上AID患者加强抗bFGF自身抗体水平测定能帮助早期确诊,有助于评估患者预后,指导临床治疗,使得患者的治疗更具针对性。同时,从本研究结果可见细胞因子与抗细胞因子自身抗体在疾病的发生、发展中发挥了重要的作用,通过测定抗bFGF自身抗体水平能为研究AID的调控机制提供参考<sup>[15]</sup>。

综上所述,AID患者血清中存在抗bFGF自身抗体水平升高现象,加强抗bFGF自身抗体水平测定能实现疾病的诊断,值得推广应用。

## 参考文献

- [1] 何小魁,刘向祎,岳燕,等.不明原因眼眶疾病患者血清IgG4及自身抗体检测分析[J].中华检验医学杂志,2017,40(5):387-390.
- [2] 蔡智慧,梁义娟,李瑞,等.女性不孕症患者血清及宫颈黏液中自身抗体检测对病情的评估价值[J].中国现代医学杂志,2016,26(22):38-41.
- [3] 黄杰,于鹏飞,杨志平.促甲状腺激素和甲状腺自身抗体在甲状腺疾病诊断中的临床应用[J].中国地方病防治杂志,2015,13(1):33-34.
- [4] 罗德梅,赵建梅,张朝霞.新疆维吾尔族自身免疫性肝病患者自身抗体谱的研究分析[J].重庆医学,2016,45(19):2623-2625.
- [5] 蔺丽慧,杨峻,李甲勇,等.部分肥大细胞相关抗体及分子与自身免疫性肝病的关系[J].中华检验医学杂志,2015,38(9):617-621.
- [6] 谭朝霞,唐玉兰,高燕,等.自身抗体在乙型病毒性肝炎和自身免疫性肝炎中的特点分析[J].第三军医大学学报,2016,38(15):1762-1766.
- [7] Chinese Society of Hepatology, Chinese Medical Association, Chinese Society of Gastroenterology, *et al.* Chinese consensus on the diagnosis and management of autoimmune hepatitis (2015)[J].J Dig Dis, 2016, 24(1): 23-35.
- [8] Couto CA, Bittencourt PL, Porta G, *et al.* Antismooth muscle and antiactin antibodies are indirect markers of histological and biochemical activity of autoimmune hepatitis[J]. Hepatology, 2014, 59(2): 592-600.
- [9] 张秋会,孙文利,胡兴斌,等. AIHA患者血清中类同种特异性自身抗体的检出率及其分布情况探讨[J].中国输血杂志,2016,29(12):1352-1355.
- [10] 吉苏云,陈永锋,宫晓,等.银屑病患者抗肿瘤坏死因子 $\alpha$ 治疗前后血清抗核抗体、抗dsDNA抗体及抗ENA抗体的变化[J].中华皮肤科杂志,2017,50(1):53-56.
- [11] 罗莉丽,周璐,张洁,等.血清自身抗体在诊断抗线粒体抗体阴性的原发性胆汁性肝硬化中的价值[J].中华消化杂志,2015,35(2):86-89.
- [12] 江智龙,李萍,王俊岭,等.药物性肝损伤与自身免疫性肝炎患者的血清学和病理学特征分析[J].中华肝脏病杂志,2016,24(11):810-816.
- [13] Dhaliwal HK, Hoeroldt BS, Dube AK, *et al.* Long-term prognostic significance of persisting histological activity despite biochemical remission in autoimmune hepatitis[J]. Am J Gastroenterol, 2015, 110(7): 993-999.
- [14] 张露月,茹晋丽,颜晓香,等.类风湿关节炎患者吸烟与抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体及相关自身抗体疾病活动关系的研究[J].中华风湿病学杂志,2016,20(4):253-256.
- [15] 范慧,王广.甲状腺过氧化物酶抗体在自身免疫性甲状腺疾病诊治中的价值及存在问题[J].中华检验医学杂志,2015,38(12):884-887.

## Detection of autoantibodies against bFGF in sera of patients with autoimmune diseases and clinical analysis of their diagnostic value

MAO Xiao-li, XIONG A-li, LU Zhong-xin (*Department of Laboratory Medicine, Wuhan Central Hospital affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430014, China*)

**Abstract:** We aimed to investigate the levels of human anti-basic fibroblast growth factor (bFGF) antibody in sera of patients with autoimmune diseases (AID) and the potential diagnostic value. From March 2015 to May 2017, 80 AID patients (observation group) and 80 healthy individuals (control group) were collected retrospectively. Serum IgM and IgG antibodies against bFGF in the two groups were detected by ELISA. The results showed that 80 patients with AID had been confirmed by the detection of serum anti-bFGF autoantibodies. The top 3 diseases were SLE, RA and chronic glomerulonephritis (28.75%, 22.50% and 18.75% respectively). The levels of anti-bFGF in the observation group were higher than those in the control group ( $t = 7.572$ ,  $P < 0.05$ ). There was no significant difference between the observation group and the control group in the levels of anti-bFGF IgM in SLE and fever of unknown origin. The positive rate of anti-bFGF IgG in RA, dermatomyositis and idiopathic thrombocytopenic purpura in observation group was higher than that in control group ( $P < 0.05$ ); The levels of anti-bFGF IgM in RA, chronic glomerulonephritis, dermatomyositis and idiopathic thrombocytopenic purpura in the observation group were significantly higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ). Therefore, there is an increase in the levels of anti-bFGF autoantibodies in the sera of patients with AID, and detection of anti-bFGF is helpful for the diagnosis of autoimmune diseases.

**Key words:** autoimmune disease; anti-bFGF autoantibody; enzyme linked immunosorbent assay; diagnostic value