

抗中性粒细胞胞浆抗体、抗核抗体联合检测对类风湿关节炎的诊断价值

廖永强 彭可君 夏洪娇 刘剑荣 孟 芳
(萍乡市人民医院 江西 萍乡 337055)

摘要 目的 探讨抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)与抗核抗体(ANA)联合检测对类风湿关节炎的临床意义。方法 采用 IIF 法对 82 例 RA 患者(RA 组)、74 例非 RA 自身免疫疾病患者(非 RA 组)和 52 例健康体检者(正常对照组)的血清 ANCA 和 ANA 谱进行了检测分析,并用 ELISA 法进行抗丝氨酸蛋白酶 3 (PR3)、抗髓过氧化物酶(MPO)、ANA 谱的定量检测。结果 RA 组 82 例患者中,64 例 ANCA 阳性,阳性率为 78.08%,其中核周型(PANCA)37 例,阳性率为 45.1%,胞浆型(CANCA)27 例,阳性率为 32.9%;非 RA 组 74 例患者中有 7 例 ANCA 阳性率分别为 9.4%;正常对照组 50 例中没有一例 ANCA 阳性。利用 Elisa 法对患者血清进行检测,分别能够特异的检测到 PR3、MPO、抗双链 DNA 抗体(抗 ds-DNA 抗体)、抗 ss-A 等抗体、抗 SS-A 抗体、抗 PM-SCL 抗体的存在。结论 联合 ANCA、ANA 检测有助于提高类风湿关节炎的诊断。
关键词 抗核抗体 抗中性粒细胞胞浆抗体 联合检测 类风湿性关节炎
中图分类号 R593.22 文献标识码 A 文章编号 1673-6273(2011)13-2535-03

Diagnostic Value of ANCA Combining with ANA Tests in Patients with Rheumatoid Diseases

LIAO Yong-qiang, PENG Ke-jun, XIA Hong-jiao, LIU Jian-rong, MENG Fang
(JiangXi PingXiang People's Hospital, 337055, PingXiang, Jiangxi, china)

ABSTRACT Objective: To study the clinical significance of antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) combining with antinuclear antibody (ANA) tests in patients with rheumatoid(RA) diseases. **Methods:** The spectrums of ANCA and ANA in RA group (n=82),non-RA group (n=74) and healthy control group (n=52) were tested by Indirect-Immunofluorescence methods ;Anti-serine proteinase 3, anti-MPO and ANA spectrum were detected by ELISA. **Results:** In RA group there were 64 patients with ANCA-positive , the positive rate was 78.08%;in non-RA group, 7 patients with ANCA-positive, the positive rate , 9.4%; there were no ANCA-positive patients in the healthy control group. **Conclusion:** The joint detection of ANA and ANCA is helpful for the diagnosis of rheumatoid diseases.
Key words: ANA;ANCA;United detection ; Rheumatoid arthritis
Chinese Library Classification(CLC): R593.22 **Document code:** A
Article ID:1673-6273(2011)13-2535-03

前言

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA),是一种以慢性、对称性、多滑膜关节炎和关节病变为主要临床表现的全身性自身免疫性疾病,其发病机制至今尚未完全明确。RA 在我国的发病率为 0.32%~0.36%,女性高于男性。因此有一个十分庞大的患者群^[1]。RA 是导致关节致残的主要原因之一,未经治疗的患者 2 年致残率约为 50% 3 年致残致残率约为 70%,而一旦出现骨破坏性改变,将是不可逆转的^[2]。因此减少 RA 患者致残的关键在于早期诊断,早期治疗。RA 诊断主要依据患者的临床表现、影像学检查和血清学检查等方法。然而早期 RA 患者症状隐匿、临床表现复杂多变、很多并不典型,导致 RA 早期诊断身份困难,易造成误诊、漏诊。目前 RF 是最常用的检测项目,而 RF 并非 RA 的特异性抗体,往往在其他自身免疫性疾病如系统性红斑狼疮(SLE)、系统性硬化症(PSS),甚至正常老年人

中都可以有一定程度的增高^[3]。因此寻找特异血清学诊断指标以求早期诊断、早期治疗、改善预后是 RA 临床研究的热点。
2000 年 Schellekens 等^[4]发现抗环瓜氨酸肽抗体(抗 CCP 抗体)对 RA 具有很高的特异性和敏感性,可用于 RA 的早期诊断。王玉辉等^[5]研究发现抗核周因(APF)、抗角蛋白抗体(AKA)、抗聚角蛋白微丝蛋白抗体(AFA)也是 RA 的特异性抗体,可以用于 RA 的早期诊断,尤其联合这些抗体的检测有利用 RA 的确诊。ANA 是一组具有多种细胞核成分的自身抗体,实际上是指总抗核抗体,理论上 ANA 阴性的患者其他自身抗体也阴性,ANA 阳性的疾病很多,且敏感性高,常作为风湿性疾病的筛查项目^[6]。最新研究发现提示 ANCA 参与了 RA 血管病变的发病机制,可作为 RA 的实验室诊断指标用于临床^[7]。因此本文利用间接免疫荧光法分别和 Elisa 法分别检测了 84 例 RA 患者、74 例非 RA 自身免疫疾病患者、52 例健康者血清的 ANCA、ANA 及 ANA 谱,以便探讨联合抗中性粒细胞胞浆抗体和抗核抗体谱的检测对类风湿关节炎的早期诊断价值。

1 资料与方法

1.1 临床资料
1.1.1 RA 组 84 例,来自于 2010.3-2010.10 我院风湿科门诊

作者简介 廖永强(1984-) 男 硕士,主要研究方向 核辐射生物学效应。电话:15170332872 E-mail:lyq1984think@163.com
(收稿日期 2010-12-17 接受日期:2011-01-13)

及住院的患者,均符合 1987 年美国风湿病协会(ACR)修订的 RA 诊断标准^[1]。其中,男 27 例、女 57 例,年龄 16~82 岁,中位年龄 45 岁。

1.1.2 其他自身免疫性疾病对照组(疾病对照组) 74 例,为同期本院患者,包括系统性红斑狼疮 30 例、结缔组织病 24 例、痛风 10 例、原发性干燥综合征 10 例。其中,男 30 例、女 44 例,年龄 14~76 岁,中位年龄 41 岁。

1.1.3 正常对照组 50 例,同期来自医院健康志愿者。其中,男 14 例、女 36 例,年龄 23~55 岁,中位年龄 39 岁。

1.2 实验材料实验试剂

抗核抗体(ANA)、抗中性粒细胞胞浆抗体、抗核抗体谱、MPO/PR3 谱、抗 CCP 检测试剂盒均购自德国欧蒙公司。

1.3 实验方法

1.3.1 标本的采集与贮存 采取外周静脉血 4ml,于非抗凝的灭菌离心管中,离心 10min(3000r/min)后吸取上层血清备用。

1.3.2 检测 MPO/PR3 抗体、ANA 谱的检测采用酶联免疫吸附法(ELISA);ANCA、ANA 采用间接免疫荧光法,按试剂盒说明书操作。

1.4 统计学方法

计数资料以例数和百分率进行描述,计量资料以(均数±标准差)表示,组间比较采用配对 t、 χ^2 检验。

2 结果

2.1 ANA 和 ANCA 的检测结果

ANA 和 ANCA 检测结果见表 1。

表 1 病例组与健康对照组 ANA 和 ANCA 检测结果
Table.1 The ANA and ANCA test results of case and control groups

	ANA positive(%)	ANCA positive(%)
RA group	70.2	78.08*
Disease control group	62.8	9.4
Healthy control group	2.5	0

Note: * P<0.05, RA group compared with Disease control group and Healthy control group

由表 1 可以看出,RA 组 ANCA 阳性率显著高于疾病对照组以及健康对照组,说明 ANCA 存在于 RA 患者血清中,可以作为 RA 早期检测的自身抗体。而 ANA 阳性率和疾病对照组阳性率相差不大,说明 ANA 在各种自身免疫性疾病中普遍存

在。因此检测患者血清中的 ANA 对自身免疫性疾病的早期诊断具有重要的作用。

2.2 MPO、PR3 和 ANA 谱检测结果

MPO、PR3 和 ANA 谱检测结果见表 2

表 2 病例组与健康对照组 MPO、PR3 和 ANA 谱检测结果
Table.2 The elisa test results of case and control groups

Antibody type	RA (n=84)	Disease control group(n=74)	Healthy control group(n=50)
Anti-MPO	37	5	0
Anti-PR3	27	3	0
Anti-nRNP	0	7	0
Anti-Sm	0	3	0
Anti-SS-A	27	0	0
Anti-SS-B	7	5	0
Anti-R0-52	3	18	0
Anti-SCI-70	0	4	0
Anti-PM-SCL	12	0	0
Anti-Jo-1	1	1	0
Anti-centromere	2	7	0
Anti-PCNA	0	4	0
Anti-ds-DNA	7	20	0
Anti-Nucleosomes	5	3	0
Anti-histone	20	0	0
Anti-ribosome	0	0	0
Anti-M2	0	2	0

从表 2 可以看出,采用 Elisa 法检测病例组和健康对照组血清发现,74 例 ANCA 阳性患者中有 37 例具有 MPO、27 例具有 PR3,所占比例分别为 45.1%、32.9%。84 例类风湿关节炎患者中 27 例患者血清中含有抗 SS-A 抗体,12 例含有抗 PM-SCL 抗体,20 例含有抗组蛋白抗体,所占比例分别为 32.1%、14.2%、23.8%,与比例对照组和健康对照组相比具有显著差异性($P<0.05$)。从统计结果可以看出,MPO、PR3、抗 SS-A 抗体、抗 PM-SCL 抗体、抗组蛋白抗体可能在类风湿关节炎患者血清中特异存在,可能参与类风湿关节炎的病理过程。

3 讨论

长期以来,RF 一直作为诊断 RA 的主要血清学标记物,但由于 RF 在其它结缔组织病、慢性感染性疾病,甚至 1%~5% 的正常人中可呈阳性,缺乏特异性(虽有很高的敏感性),故限制了 RF 在 RA 诊断中的主导地位。最近研究显示,用 ELISA 法检测的抗 CCP 抗体对 RA 具有高度的特异性(96.0%以上)^[8],因此,作为一种新的高特异性和高阳性预报率的抗体,抗 CCP 抗体可以成为辅助诊断 RA 的一个指标。根据国外文献报道,抗 CCP 抗体似乎与疾病的严重程度,特别是影像学侵蚀性改变密切相关^[9-10],其原因可能是由于抗 CCP 抗体阳性患者的滑膜液中含有大量的 CCP 特异性 B 细胞,它们在某种外来刺激的作用下发生了抗原诱导的突变,自动产生抗 CCP 抗体,导致局部抗 CCP 抗体聚集,引起骨质破坏,而抗 CCP 抗体阴性患者的 B 细胞却不能,表明抗 CCP 抗体与 RA 的发病机制可能存在一定的关系,确切的支持点尚有待进一步研究阐明^[11]。综上所述,抗 CCP 抗体对 RA 的诊断具有较高的敏感性和特异性,有较高的临床应用价值,并且可能有助于病情判断和活性检测。Elkayam 等^[12]采用间接免疫荧光法检测类风湿性关节炎患者血清 ANA,发现阳性率高达 86%,Röther E 等^[13]采用间接免疫荧光法检测 48 例类风湿关节炎血清,发现有 46 例阳性,阳性率为 86%,并且利用 Elisa 法进一步分析发现,血清抗体主要为髓过氧化酶(MPO)。因此本文分别采用间接免疫荧光法和 Elisa 法对 84 例类风湿关节炎患者、74 例其它自身免疫性疾病患者、50 例健康对照组血清进行检测,发现类风湿关节炎组 ANCA 阳性率与病例对照组和健康对照组具有显著差异性,而 ANA 阳性率几乎没有什么差别,MPO-ANCA 所占比例为 45.1%、PR3-ANCA 所占比例为 32.9%,而 MPO-ANCA 与微型多血管炎和变应性肉芽肿性血管炎密切相关^[14],因此 ANCA 可能参与了 RA 血管病变的发病机制,可以作为类风湿关节炎的早期诊断指标,ANA 谱检测发现,与其他自身免疫性疾病组和健康对照组相比,类风湿关节炎患者血清中抗 SS-A 抗体、PM-SCL 抗体、抗组蛋白抗体检出率明显增高,具有显著差异性($P<0.05$)。抗 SS-A^[15]可见于多种自身免疫疾病,与光敏感有关,但在干燥综合征的阳性率最高,达 60.0%,Katharina Hanke 等^[16]研究发现 PM-SCL 在系统性硬化症患者中检出率高达 96.9%,而且类风湿关节炎和系统性硬化症存在相当的重叠性,抗组蛋白抗体(AHA)在系统性红斑狼疮患者血清中检出率极高^[17],而系统性红斑狼疮与类风湿关节炎存在相似的临床症状。提示 SS-A 抗体、PM-SCL 抗体、抗组蛋白抗体可能参与类风湿关节炎的病理过程,因此此三种抗体可以作为类风湿关节炎的早期诊断指标。

综合本文研究,联合抗中性粒细胞、抗核抗体和抗核抗体谱检测有助于提高 RA 的检出率,有助于 RA 的早期诊断,为 RA 患者早期治疗提供合理的时机。

参考文献(References)

- [1] 中华医学会风湿病学分会. 类风湿性关节炎诊治指南(草案)[J]. 中华风湿病学杂志, 2003, 7(4): 145
Chinese Rheumatology Association, CRA. Rheumatoid arthritis diagnosis and treatment guidelines (draft) [J]. Chinese Journal of Rheumatology, 2003, 7(4): 145
- [2] 王吉波,潘琳. 类风湿关节炎病因及其发病机制[J]. 山东医药, 2002, 42(18)
Wang Ji-bo, Pan Lin. The pathogenesis and etiology of rheumatoid arthritis [J]. Shan dong Medical, 2002, 42(18)
- [3] Zhang J. A role for B lymphocyte stimulator (BLyS) in systemic lupus eryt hematosus. 64 th Annual Meeting of the American College of Rheumatology, Philadelhai [C]. PA, USA, 2000, 29 October-2 November, (Abstract) 168
- [4] Schellekens G, Viddrt H, De Jong Baw. Diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing acyclic citrullinated peptide [J]. Arthritis Rheum, 2000, 43: 155-163
- [5] 王玉辉. 几种免疫学指标联合检测在类风湿性关节炎诊断中的价值 [J]. 中国民康学, 2010, 22(14): 1769-1770
Wang Yu-hui. Diagnostic value of Anti-cyclic citrullinated peptide antibody tests in patients with rheumatoid diseases. Medical Journal of Chinese People's Health, 2010, 22(14): 1769-1770
- [6] 江华, 郑颖, 林峰. ANA、抗 ds-DNA 及 ENA 多肽抗体对自身免疫性疾病的检测 [J]. 中国误诊学杂志, 2007, 7(28): 6767-6768
Jiang hua, Zheng ying, Lin feng. ANA, ds-DNA and ENA detection in Autoimmune diseases. Chinese Journal of Misdiagnostics, 2007, 7(28): 6767-6768
- [7] 崔秀明, 孙才. 类风湿关节炎患者血清抗中性粒细胞胞浆抗体 (ANCAC) 的检测分析 [J]. 中国误诊学志, 2010, 10(4): 781-782
Cui Xiu-ming, Sun cai. ANCAC detection and analysis in rheumatoid arthritis. Chinese Journal of Misdiagnostics, 2010, 10(4): 781-782
- [8] Lee HS, Lee AT, Criswell LA, et al. Several regions in the major histocompatibility complex confer risk for anti-CCP-antibody positive rheumatoid arthritis independent of the DRB1 locus [J]. Mol Med, 2008, 14(5/6): 293-300
- [9] Kroot EJ J, De Jong B, Van Leeuwen M, et al. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Rheum, 2000, 43: 1831-1835
- [10] Meyer O, Labarre C, Dougados M, et al. Anticitrullinated protein peptide antibody assays in early rheumatoid arthritis for predicting five year radiographic damage [J]. Annals of the Rheumatic Diseases, 2003, 62: 120-126
- [11] [Gottenberg J E, Sibilia J, Seaucouturier F, et al. Positive Anti-filaggrin Antibodies Should not Exclude the Diagnosis of Primary Sjogren's Syndrome [J]. Arthritis Rheum, 2002, 45 (supplement): 926
- [12] Elkayam O, Burke M, Vardinon N, Zakut V, Yitzhak RB, Paran D, Levartovsky D, Litinsky I, Caspi D. Autoantibodies profile of rheumatoid arthritis patients during treatment with infliximab. Autoimmunity. 2005 Mar; 38(2): 155-60

(下转第 2534 页)

致频率不稳定,所测值也可偏高,脐血流也易受孕妇肥胖、胎儿脐动脉位置深浅等影响,使图形不清、影响脐血流数据的正确性。以上各种因素导致高估 S/D 比值^[5]。

3.2 分娩方式不同的原因

在脐血流 S/D 值的监测中,发现异常,提早采取干预和处理措施,放宽剖宫产终止妊娠,故 S/D 比值异常组的剖宫产及阴道难产率比正常组高,有显著性差异($P < 0.01$)。

综上所述,妊娠晚期的多普勒脐动脉血流 S/D 监测,是一种简便、安全、快捷、准确的方法。临床工作中, S/D 结合产科其他监测手段如孕妇自觉胎动、B 超结果、胎心监护等综合分析,更早、更准确评估胎儿宫内情况,选择更合适的分娩方式,为提高产科质量,降低新生儿窒息率、死亡率有重要意义。

参考文献(References)

- [1] 乐杰.妇产科学[M]. 7 版.北京:人民卫生出版社,2009:92-136
Le Jie. Gynecology and Obstetrics [M]. 7 edition. Beijing: People's Medical Publishing House,2009:92-136 (In Chinese)
- [2] 曹泽毅主办.妇产科学[M].北京:人民卫生出版社,2008:79
Cao Ze-Yi host. Obstetrics and Gynecology [M]. Beijing: People Health Press, 2008:79 (In Chinese)
- [3] 刘卫红,李笑天,潘明明.胎儿电子监护和脐血流与胎儿窘迫的关系[J].中国实用妇科与产科杂志,2002,18(5):279-282
Liu Wei-Hong, Li Xiao-Tian, Pan Ming-ming. Electronic fetal monitoring and cord blood flow and the relationship between fetal distress [J]. Chinese Journal of Gynecology and Obstetrics, 2002,18 (5) :279-282 . (In Chinese)
- [4] 白雅贤,谭霭谊,邓群娣,等.188 例脐血流 S/D 值异常的临床分析[J].中国优生与遗传杂志,2006,14(6):54
Bai Ya-Xian, Tan Ai- Yi, Deng Qun-Di, et al. .188 cases of umbilical S / D value of abnormal clinical analysis [J]. Chinese Birth Health and Heredity, 2006,14 (6): 54 (In Chinese)
- [5] 郭靖,谢琪,苟文丽.对脐血流 S/D 比值异常患者的临床研究[J].中国妇幼保健研究,2008,19(1):37
Guo Jing, Xie Qi, Gou Wen- Li. On the umbilical S / D ratio in patients with abnormal clinical study [J]. China's Maternal and Child Health Research, 2008,19 (1): 37 (In Chinese)
- [6] 高珊.脐血流 S/D 比值在监测高危妊娠中的应用 [J]. 医学综述, 2008,14(4) :617
Gao Shan. Umbilical S / D ratio in the monitoring of high-risk pregnancies [J]. Medical Review, 2008,14 (4): 617 (In Chinese)
- [7] 王永红,张惠玉.脐动脉血流 S/D 比值在胎儿监护中的应用分析[J].中国医学工程,2006,14(1):78-80
Wang Yong-Hong, Zhang Hui-yu. Nmbilical artery S / D ratio in fetal monitoring application analysis[J]. China Medical Engineering, 2006, 14(1)78-80 (In Chinese)
- [8] 廖旭菱,岑华,覃家女.多普勒脐动脉血流测定在孕期中的应用[J].中国妇幼保健,2007,20:3599-3600
Liao Xu-Ling, Cen Hua, QinJia-Nv. Doppler umbilical artery blood flow measurement in pregnancy application [J]. China's Maternal and Child Health, 2007, 20:3599-3600 (In Chinese)
- [9] 苏军领,刘梅菊,宋素景等.四种监测方法在胎儿宫内窘迫诊断中的比较[J].河北医药,2010,32(10):1242-1244
Su Jun-Ling, Liu Mei-Ju, Song Su-Jing and so on. Four monitoring methods in the diagnosis of fetal distress in comparison [J]. Hebei Medical, 2010,32 (10) :1242-1244 (In Chinese)
- [10] 梁宝珠.联合应用 4 种监测方法在妊娠足月监护中的评价[J].中国临床医学,2004,11(2):224-226
Liang Bao-Zhu. Combined with 4 full-term pregnancy monitoring method in the evaluation of monitoring [J]. Chinese Clinical Medicine, 2004,11 (2) :224-226 (In Chinese)
- [11] 谭景,邵玉琴,何可萍.脐血流监测 S/D 值反复异常的临床价值[J].岭南急诊医学杂志,2007,12(4) :281-282
Tan Jing,Shao Yu-Qin, He Ke-Ping. Umbilical blood flow monitoring of S / D value of the clinical value of repeated abnormal[J]. Lingnan Journal of Emergency Medicine, 2007, 12 (4) :281-282 (In Chinese)
- [12] 覃婷,施月秋.脐血流 S/D 值测定评估羊水过少围生儿预后的临床价值[J].广西医学,2010,32(5):540-541
Qin Ting, Shi Yue-Qiu. Umbilical S / D values measured assessment of perinatal oligohydramnios Prognosis of children [J]. Guangxi Medical, 2010.32 (5) :540-541 (In Chinese)
- [13] 丁继莲,宋树良,洪孚卿等.羊水性状及脐动脉 S/D 与新生儿 Apgar 评分关系的探讨[J].基层医学论坛,2008,12(11) :964-965
Ding Ji-Lian, Song Shu-Liang, Feng Fu-Qing and so on. Amniotic fluid characteristics and umbilical artery S / D and the relationship between neonatal[J]. Apgar score of. Medical Forum, 2008,12 (11) : 964-965 (In Chinese)

(上接第 2537 页)

- [13] R Ö ther E, Metzger D, Lang B, Melchers I, Peter HH. Anti-neutrophil cytoplasm antibodies (ANCA) in rheumatoid arthritis: relationship to HLA-DR phenotypes, rheumatoid factor, anti-nuclear antibodies and disease severity [J]. Rheumatol Int. 1994;14(4):155-161
- [14] Bianchi ME,Manfredi A. Chromatin and cell death [J]. Bio-chem Biophys Acta,2004,15 (123) :181-186
- [15] (Bo ssuyt X,Frans J, Hendrickx A,et al. Detection of anti-SSA antibodies by indirect immunofluorescence [J]. Clin Chem, 2004, 50(12) : 2361-2369
- [16] Katharina Hanke et al. Antibodies against PM/Scl-75 and PM/Scl-100 are independent markers for different subsets of systemic sclerosis patients[J]. Arthritis Research&Therapy,11(1):1-9
- [17] Manson JJ,Rahman A. Systemic Lupus Erythematosis[J]. Orphanet J Rare Dis,2006,1 :6