

核周型抗中性粒细胞胞浆抗体在狼疮性肾炎中的临床意义*

陈雅硕 李 博 余凤嫦 叶志中[△] 黄进贤 孔卫红 何伟珍

(深圳市第四人民医院香蜜湖风湿病分院 广东医学院深圳风湿病研究所 广东 深圳 518040)

摘要 目的:探讨核周型抗中性粒细胞胞浆抗体(P-ANCA)在狼疮性肾炎(LN)中的临床意义。方法:应用酶联免疫吸附分析(ELISA)的方法,检测 92 例 LN 患者血清中的 P-ANCA 及其他自身抗体的水平,并进一步分析 P-ANCA 与 LN 的临床表现以及辅助检查结果之间的关系。结果:P-ANCA 在 LN 中的阳性率是 21.8%(20/92),P-ANCA 阳性组 LN 患者合并颧部红斑、皮肤血管炎、贫血以及补体 C3 偏低的频率均显著高于 P-ANCA 阴性组 LN 患者($P<0.05$)。结论:P-ANCA 在 LN 中的阳性率为 21.8%,且 P-ANCA 与 SLE 特定的临床表现相关,提示 P-ANCA 可能参与了 LN 的发病过程。

关键词 抗中性粒细胞胞浆抗体 狼疮性肾炎 酶联免疫吸附分析

中图分类号:R593.242 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)24-4670-03

Clinical Significance of Serum Perinuclear Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies in Lupus Nephritis*

CHEN Ya-shuo, LI Bo, YU Feng-chang, YE Zhi-zhong[△], HUANG Jin-xian, KONG Wei-hong, HE Wei-zhen

(Xiangmihu Rheumatology Branch, the Fourth People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen Rheumatology Institute of Guangdong Medical College, Shenzhen, Guangdong, 518040, China)

ABSTRACT Objective: To elucidate the clinical significance of serum perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (P-ANCA) in patients with lupus nephritis (LN). **Methods:** P-ANCA was detected in serum samples obtained from 92 patients with LN by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The relationship between P-ANCA and clinical manifestations and other autoantibodies were analyzed. **Results:** P-ANCA positive was detected in 21.8% (20/92) patients. The prevalence of malar rash, cutaneous small vasculitis, central nervous system involved, anemia and hypocomplementemia were all significantly higher in P-ANCA-positive patients than P-ANCA-negative patients ($P<0.05$). **Conclusions:** The prevalence of P-ANCA was 21.8% in LN and its presence was correlated with particular clinical manifestations, indicating that P-ANCA may play a pathogenetic role in LN.

Key words: Antineutrophil cytoplasmic antibodies; Lupus nephritis; Enzyme-linked immunosorbent assay

Chinese Library Classification (CLC): R593.242 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)24-4670-03

抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)是针对中性粒细胞和单核细胞胞浆组分的自身抗体。自从 20 世纪 80 年代早期 ANCA 被发现以来,其常被用来帮助诊断原发性系统性血管炎和监测此类疾病的活动性^[1-3]。应用较多的系统性血管炎有 Wegener 肉芽肿,显微镜下多血管炎和变态反应性肉芽肿性血管炎等。近年来越来越多的文献报道在系统性红斑狼疮(SLE)及狼疮性肾炎(LN)患者的血清中发现 P-ANCA,但国内外有关 P-ANCA 在 LN 发病中的临床意义的报道结果却不完全一致^[4,5]。本研究检测了 92 例 LN 患者血清中的 P-ANCA,并分析了 P-ANCA 与 LN 临床表现及血清中其他自身抗体之间的关系,旨在探讨 P-ANCA 在 LN 中的临床意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象

本研究中入选的 92 例 LN 患者均为本院 2006 年 3 月~2011 年 5 月间的门诊及住院患者,所有患者均完全符合美国

风湿病学会(ACR)1997 年修订的 SLE 及 LN 分类标准。其中男性 10 例,女性 82 例,平均年龄(32 ± 14)岁。采集以上研究对象的外周血液标本,分离血清后进行 P-ANCA 及其他自身抗体的检测。

1.2 方法与试剂

P-ANCA 的筛查采用 ELISA 方法进行。免疫球蛋白、补体及类风湿因子(RF)的检测采用免疫比浊法,ANA 的检测采用 IIF 法,抗 ENA 抗体的检测采用欧蒙斑点法,抗心磷脂抗体及抗 ds-DNA 抗体采用 ELISA 方法。所有检测操作均完全遵照试剂盒说明书相关要求。SLE 的病情活动与否采用 SLE 病情活动指数(SLEDAI)进行评价,SLEDAI 计分大于 9 时认为患者存在明显的病情活动。

抗核抗体(ANA)、抗 ENA 抗体、抗 ds-DNA 抗体及 P-ANCA(ELISA 法)的检测均采用欧蒙医学诊断有限公司(德国)的相关试剂盒产品。免疫球蛋白及补体(C3、C4)的检测均采用芬兰 Orion 诊断公司相关试剂盒产品。抗心磷脂抗体的检测采用

* 基金项目:国家“十一·五”科技支撑计划项目(2008BAI59B02),深圳医学重点学科建设资助项目(2005C10)

作者简介:陈雅硕(1978-),男,本科,主治医师,主要研究方向:风湿病

[△]通讯作者:叶志中, E-mail: yezhizhong@126.com, Tel: 13902477524

(收稿日期:2012-02-05 接受日期:2012-02-29)

深圳市安群生物工程有限公司相关试剂盒产品。所用的主要仪器有 酶联免疫检测仪(美国 Bio-Rad 公司)、BN 特种蛋白分析仪(DAGE BEHRING 公司)、荧光显微镜(Leica Microsystems 公司)。

1.3 统计学方法

采用 SPSS13.0 统计软件包进行分析, 在比较不同组间率的差异时采用 χ^2 检验, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义的标准。

2 结果

92 例 LN 患者中 P-ANCA 阳性者共 20 例(21.8 %) ,在以 上患者中 ,分别分析了 P-ANCA 与 LN 以下临床表现(颧部红 斑、光过敏、口腔溃疡、脱发、浆膜炎、关节炎、发热、雷诺现象、 皮肤血管炎、神经系统累及、病情活动与否)及其他实验室检查 结果(外周血白细胞计数、血小板计数、贫血、抗核抗体、抗 Sm 抗体、抗 ds-DNA 抗体、抗心磷脂抗体、补体)之间的关系 ,详见 表 -1。统计分析结果显示 P-ANCA 阳性组 LN 患者合并颧部红 斑、皮肤血管炎、贫血及补体 C3 偏低的频率均显著高于 P-AN- CA 阴性组 LN 患者。

表 1 P-ANCA 与 LN 临床表现及实验室检查之间的关系

Table 1 The relation between P-ANCA, LN manifestation and experimental tests

LN manifestation		P-ANCA positive (n=20)	P-ANCA negative (n=72)	P value
Malar rash	√	16	31	<0.05
	×	4	41	
Photosensitivity	√	9	33	>0.05
	×	11	39	
Dental ulcer	√	6	21	>0.05
	×	14	51	
Alopecia	√	8	29	>0.05
	×	12	43	
Hydrohymenitis	√	9	33	>0.05
	×	11	39	
Arthritis	√	13	47	>0.05
	×	7	15	
Fever	√	17	61	>0.05
	×	3	11	
Raynaud's phenomenon	√	3	11	>0.05
	×	17	61	
Vasculitis of the skin	√	12	9	<0.05
	×	8	53	
Nervous system involvement	√	3	9	>0.05
	×	17	63	
Activity of patient's condition	√	14	50	>0.05
	×	6	22	
Descended WBC count	√	5	20	>0.05
	×	15	52	
Descended PLT count	√	4	16	>0.05
	×	16	46	
Anemia	√	12	36	<0.05
	×	8	36	
ANA	+	18	64	>0.05
	-	2	8	
Anti-Sm	+	6	20	>0.05
	-	14	52	
Anti-ds-DNA	+	6	21	>0.05
	-	14	49	
ACA	+	6	21	>0.05
	-	14	51	
Low level of complement	√	17	23	<0.05
	×	3	49	

3 讨论

ANCA 的最早于 1982 年在 8 例坏死性寡免疫复合物肾小球肾炎患者中报道。目前已证实 ANCA 与韦格纳肉芽肿、显微镜下多血管炎及变态反应性肉芽肿性血管炎的发病之间密切相关,并与以上疾病的病情活动性相关。近年来已有多篇文献报道在 SLE 及类风湿关节炎等结缔组织病中发现 P-ANCA 的存在,其中以在 SLE 中的报道最多,但是有关 P-ANCA 在 SLE 发病中的临床意义的报道结果不完全一致。例如 Pautner R 等^[6]报道 P-ANCA 及 c-ANCA 在 SLE 中的阳性率分别为 10.5% 及 25.4%,另外发现 P-ANCA 与 SLE 的病情活动并不相关。Schnabel A 等^[7]发现 P-ANCA 在 SLE 患者血清中的阳性率为 25%,P-ANCA 与 SLE 的器官累及不相关,Nishiya K 等^[8]及 Molnar K 等^[9]先后报道 P-ANCA 与 SLE 的临床表现无相关。Fauzi AR 等^[10]发现在 SLE 患者中同时发现 P-ANCA 及 c-P-ANCA,但未见 ANCA 与 SLE 的病情活动及特定临床表现相关。Galeazzi M 等^[11]及 Manolova I 等^[12]发现 P-ANCA 与 SLE 特定的临床表现相关。以上研究结果各不一致。

Chin HJ 等^[13]在韩国 LN 患者中发现 P-ANCA 的阳性率为 37.3%(19/51),P-ANCA 阳性与患者的病理分型及血清中 ds-DNA 抗体的出现相关,并且 P-ANCA 阳性患者更易出现肾脏功能恶化。国内赵明辉等^[14]在 95 例活检证实的 LN 患者中发现大部分(65/95)患者中可以检测到 P-ANCA,并发现 P-ANCA 与患者的病理活动情况相关。余永武等^[15]发现 P-ANCA 阳性组中浆膜炎、急性肾衰、心肌炎、神经精神症状及肺出血的频率明显高于 P-ANCA 阴性组,同时 P-ANCA 阳性组与阴性组比较,在 SLEDAI 评分、血沉、血红蛋白($\leq 11g/dl$)、抗 Sm、补体 C3、球蛋白、IgG 方面差别有统计学意义,P-ANCA 阳性组中病理以 Ⅲ型 LN 为主,慢性指数、新月体形成、肾小管萎缩、微血栓与 P-ANCA 阴性组比较有统计学意义;预后方面 P-ANCA 阳性组死亡率高于 P-ANCA 阴性组。余永武等认为 P-ANCA 的定性分析有助于判断 LN 患者病情活动程度及预后。李博^[16]等发现 P-ANCA 在 LN 中的阳性率为 30.9%,并且 P-ANCA 阳性组 LN 患者合并浆膜炎、神经系统累及、贫血、抗 ds-DNA 抗体阳性及低补体的频率均显著高于 ANCA 阴性组 LN 患者。Chen M 等^[17]则在 LN 患者中发现了 P-ANCA 与患者出现光敏感及口腔溃疡相关。戎妥等发现 P-ANCA 阳性的 LN 患者的病理分型有别于一般的 LN 患者,但未发现其与患者的预后相关。张文辉等^[18]发现 LN 中 P-ANCA 检出率明显高于与非狼疮引起的其它肾炎,且在 LN 中 P-ANCA 阳性者均为 P-ANCA。因此 P-ANCA 在 LN 中有重要作用。

为了进一步探讨 P-ANCA 在 LN 中的临床意义,本研究在 92 例 LN 患者中对 P-ANCA 进行了检测,分析了 P-ANCA 与 LN 临床表现(颧部红斑、光过敏、口腔溃疡、脱发、浆膜炎、关节炎、发热、雷诺现象、皮肤血管炎、神经系统累及、病情活动与否)及其它实验室检查(外周血白细胞计数、血小板计数、贫血、抗核抗体、抗 Sm 抗体、抗 ds-DNA 抗体、抗心磷脂抗体、补体)之间的关系,发现 P-ANCA 在 SLE 中的阳性率是 21.8%,P-ANCA 阳性组 LN 患者合并颧部红斑、皮肤血管炎、贫血及补体 C3 偏低的频率均显著高于 P-ANCA 阴性组 LN 患者。本

研究结果与国外相关研究结果存在一定的差异,可能与检测对象、检测试剂的不同有关。

总之,本研究探讨了 P-ANCA 在 LN 中的临床意义,结果显示 P-ANCA 在 LN 中的阳性率为 21.8%,并与 LN 特定的临床表现相关,提示 P-ANCA 可能参与了 LN 的发病过程。

参考文献(References)

- [1] Stasi R. An overview of pharmacotherapy for anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis [J]. *Drugs Today (Bare)*, 2010,46(12):919-928
- [2] Watts RA, Scott DG. Recent developments in the classification and assessment of vasculitis[J]. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2009, 23 (3):429-443
- [3] Kelley JM, Edberg JC, Kimberly RP. Wegener's granulomatosis: a model of auto-antibodies in mucosal autoimmunity[J]. *Clin Immunol*, 2010, 134(2):104-112
- [4] Yokogawa N, Vivino FB. Hydralazine-induced autoimmune disease: comparison to idiopathic lupus and ANCA-positive vasculitis[J]. *Mod Rheumatol*, 2009,19(3):338-347
- [5] Bosch X, Guilabert A, Font J. Antineutrophil cytoplasmic antibodies [J]. *Lancet*, 2006, 29,368(9533):404-418
- [6] Pautner R, Urowitz M, Gladman D, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in systemic lupus erythematosus[J]. *J Rheumatol*, 1994, 21 (9):1670-1673
- [7] Schnabel A, Csernok E, Isenberg DA, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in systemic lupus erythematosus. Prevalence, specificities, and clinical significance[J]. *Arthritis Rheum*, 1995, 38(5):633-637
- [8] Nishiya K, Chikazawa H, Nishimura S, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibody in patients with systemic lupus erythematosus is unrelated to clinical features[J]. *Clin Rheumatol*, 1997,16(1):70-75
- [9] Molnar K, Kovacs L, Kiss M, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Clin Exp Dermatol*, 2002, 27(1): 59-61
- [10] Fauzi AR, Kong NC, Chua MK, et al. Antibodies in systemic lupus antineutrophil cytoplasmic erythematosus: prevalence, disease activity correlations and organ system associations [J]. *Med J Malaysia*, 2004, 59(3):372-377
- [11] Galeazzi M, Morozzi G, Sebastiani GD, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in 566 European patients with systemic lupus erythematosus: prevalence, clinical associations and correlation with other autoantibodies. European Concerted Action on the Immunogenetics of SLE[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 1998,16(5):541-546
- [12] Manolova I, Dancheva M, Halacheva K. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with systemic lupus erythematosus: prevalence, antigen specificity, and clinical associations [J]. *Rheumatol Int*, 2001, 20(5):197-204
- [13] Chin HJ, Ahn C, Lim CS, et al. Clinical implications of antineutrophil cytoplasmic antibody test in lupus nephritis [J]. *Am J Nephrol*, 2000, 20(1):57-63
- [14] 赵明辉,刘娜,章友康,等.狼疮肾炎患者血清抗中性粒细胞胞浆抗体和靶抗原的研究[J]. *中华内科杂志*,1998, 37(12):829-832
Zhao Ming-hui, Liu Na, Zhang You-kang, et al. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and their target antigens in Chinese patients with lupus nephritis[J]. *Chinese Journal of Internal Medicine*, 1998, 37(12):829-832

(下转第 4760 页)

- precursor alternative exon usage predicts two different precursor proteins [J]. *Mol Cell Biol*, 1988, 8(2):571
- [7] Tsai YJ, Lee RK, Lin S P, et al. Identification of a novel platelet-derived growth factor-like gene, fallotin, in the human reproductive tract [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1492(1):196
- [8] Uutela M, Lauren J, Bergsten E, et al. Chromosomal location, exon structure, and vascular expression patterns of the human PDGFC genes [J]. *Circulation*, 2001, 103(18):2242
- [9] Nisson J, Ksiazek T, Hedin CH, et al. Demonstration of stimulatory effects of platelet-derived growth factor on cultured rat arterial smooth muscle cells. Differences between cells from young and adult animals [J]. *Exp Cell Res*, 1983, 145(2):231
- [10] Ross R, Raines EW, Bowen-Pope DF. The biology of platelet-derived growth factor [J]. *Cell*, 1986, 46(2):155
- [11] Berk BC, Alexander RW, Brock TA, et al. Vasoconstriction: a new activity for platelet-derived growth factor [J]. *Science*, 1986, 231:4746-47
- [12] Ihrke G, Neufeld EB, Meads T, et al. WIF-B cell: an in vitro model for studies of hepatocyte polarity [J]. *Cell Biol*, 1993, 123(6Pt2):1761
- [13] Yablonka-Reuveni Z, Seifert RA. Proliferation of chicken myoblasts is regulated by specific forms of platelet-derived growth factor: evidence for differences between myoblasts from mid and late stages of embryogenesis [J]. *Dev Biol*, 1993, 156(2):307
- [14] Okamura Y, Myoumoto A, Manabe N, et al. Protein tyrosine kinase expression in the porcine ovary [J]. *Mol Hum Reprod*, 2001, 7(8):723
- [15] Taylor CC. Platelet-derived growth factor activates Porcine thecal cell phosphatidylinositol-3-Kinase-Akt/PKB and ras-extracellular signal-regulated kinase-1/2 kinase signaling pathways via platelet-derived growth factor-beta receptor [J]. *Endocrinology*, 2000, 141(4):1545
- [16] Schmandt RE, Broadus R, Lu KH, et al. Expression of c-ABL, c-KIT, and platelet-derived growth factor receptor-beta in ovarian serous carcinoma and normal ovarian surface epithelium [J]. *Cancer*, 2003, 98(4):758
- [17] LaRochelle WJ, Jeffers M, Corcalan JR, et al. Herrmann J, Lichtenstein HS. Platelet-derived growth factor D: tumorigenicity in mice and dysregulated expression in human cancer [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(9):2468
- [18] Henriksen R, Funke K, Wilander E, et al. Significance of platelet-derived growth factor and its receptors in epithelial ovarian neoplasms [J]. *Cancer Res*, 1993, 53(19):4550
- [19] 谢兰, 浦海鹰, 雷华江, 等. 血清血管内皮生长因子和血小板衍生生长因子的测定在卵巢肿瘤诊断中的价值 [J]. *华西医学杂志*, 2002, 20(2):244
- Xie Lan, Pu Hai-ying, Lei Hua-jiang, et al. Serum of vascular endothelial growth factor and platelet derivative growth factor in the determination of the diagnostic value of ovarian tumor [J]. *West China Medical Journal*, 2002, 20(2): 244
- [20] Yu J, Ustach C, Kim HR. Platelet-derived growth factor signaling and human cancer [J]. *Biochem Mol Biol*, 2003, 36(1):49
- [21] 汪宏波, 梁铭霖, 王泽华. 血小板源性生长因子对体外培养子宫肌瘤细胞增殖的影响 [J]. *中国妇幼保健杂志*, 2005, 5(20):539
- Wang Hong-bo, Liang Ming-lin, Wang Ze-hua. Platelet-derived growth factor in vitro culture uterine fibroids cell proliferation of colonization influence [J]. *Maternal and Child Health Care of China*, 2005, 5(20): 539
- [22] Wetermark B, Hedin CH. Platelet-derived growth factor in aortic transformation [J]. *Cancer Res*, 1991, 51(19):5087
- [23] 胡蓉, 于黎明. PDGF-AmRNA 与 PDGF-A 蛋白在宫颈鳞癌的表达及其临床意义 [J]. *中国妇幼保健杂志*, 2005, 5(20):155
- Hu Rong, Yu Li-ming. PDGF-AmRNA and PDGF-A protein in cervical squamous cell carcinoma of the expression and their clinical significance. [J] *Maternal and Children Health Care of China*, 2005, 5(20):155

(上接第 4672 页)

- [15] 余永武, 刘郑荣, 谢迪, 等. 抗中性粒细胞胞浆抗体在狼疮性肾炎患者中的临床意义 [J]. *南方医科大学学报*, 2006, 26(6): 833-836
- Yu Yong-Wu, Liu Zheng-Rong, Xie Di, et al. Clinical significance of antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with lupus nephritis [J]. *Journal of Southern Medical University*, 2006, 26(6):833-836
- [16] 李博, 胡秋侠, 汪迅, 等. 抗中性粒细胞胞浆抗体与狼疮性肾炎的关系 [J]. *临床内科杂志*, 2007, 24(6): 393-395
- Li bo, Hu Qiu-xia, Wang Xun, et al. Clinical significance of antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with lupus nephritis [J]. *2007, 24(6): 393-395*
- [17] Chen M, Zhao M, Zhang Y, et al. Antigens of antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in recognizing a novel neutrophil granule antigen in lupus nephritis and its association with photosensitivity and oral ulceration [J]. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*, 2002, 41(11):766-768
- [18] 张文辉, 胡型中, 陶志华. 狼疮性肾炎患者血清 ANCA 的检测及意义 [J]. *临床检验杂志*, 2005, 23(4):316-316
- Zhang Wen-hui, Hu Xing-zhong, Tao Zhi-hua. Assay and significance of serum antineutrophil autoantibodies in patients with lupus nephritis. *Chinese Journal of Clinical Laboratory Science* [J]. 2005, 23(4):316-316