

· 临床检验研究论著 ·

钙卫蛋白及抗中性粒细胞胞浆抗体联合检测对炎症性肠病的诊断价值研究*

韩晓芳, 刘洋, 谭艳, 杨国香, 贾海琴

(内蒙古自治区人民医院检验科, 呼和浩特 010017)

摘要:目的 探讨钙卫蛋白与抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)联合检测对炎症性肠病(IBD)的诊断价值。方法 收集确诊为 IBD 的患者 79 例作为 IBD 组, 腹痛、腹泻等排除 IBD 的患者 42 例作为疾病对照组, 健康体检者 34 例作为健康对照组。分别检测血液样本中 ANCA 和粪便样本中钙卫蛋白的水平。结果 79 例 IBD 患者粪便钙卫蛋白浓度为 $(493.86 \pm 204.18) \mu\text{g/g}$ 高于疾病对照组 $[(71.46 \pm 60.51) \mu\text{g/g}]$ 和健康对照组 $[(36.19 \pm 13.46) \mu\text{g/g}]$ 。钙卫蛋白在 IBD 组、疾病对照组和健康对照组中的阳性率分别为 57.0%、19.0%、0.0%; ANCA 在三组中的阳性率分别为 63.3%、4.8%、0.0%。IBD 组的钙卫蛋白、ANCA 阳性率显著高于其他两组 ($P < 0.05$)。钙卫蛋白与 ANCA 联合检测在 IBD 组、疾病对照组和健康对照组中的阳性率分别为 78.5%、23.8% 和 0.0%。**结论** 钙卫蛋白和 ANCA 联合检测可显著提高 IBD 的诊断率, 为临床 IBD 的早期诊断和治疗提供可靠依据。

关键词: 炎症性肠病; 钙卫蛋白; 抗中性粒细胞胞浆抗体

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.11.003

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)11-1286-02

Diagnostic value of combined detection of calprotectin and antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease*

Han Xiaofang, Liu Yang, Tan Yan, Yang Guoxiang, Jia Haiqin

(Department of Clinical Laboratory, Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Hohhot 010017, China)

Abstract: **Objective** To explore the diagnostic value of combined detection of calprotectin and antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in inflammatory bowel disease (IBD). **Methods** 79 patients with definite diagnosis of IBD (IBD group), 42 patients with abdominal pain and diarrhea, but without IBD (disease control group) and 34 cases of healthy subjects (healthy control group) were enrolled, and detected for ANCA level in blood sample and calprotectin level in and fecal sample. **Results** The fecal calprotectin concentration was $(493.86 \pm 204.18) \mu\text{g/g}$ in IBD group, higher than (71.46 ± 60.51) and $(36.19 \pm 13.46) \mu\text{g/g}$ in disease control group and healthy control group, respectively. The positive rates of calprotectin in IBD group, disease control group and healthy control group were 57.0%, 19.0% and 0.0%, of ANCA in the three groups were 63.3%, 4.8% and 0.0%. The positive rates of calprotectin and ANCA in IBD group were higher than those in the other two groups ($P < 0.05$). The positive rates of combined detection of calprotectin and ANCA in IBD group, disease control group and healthy control group were 78.5%, 23.8% and 0.0%. **Conclusion** Combined detection of calprotectin and ANCA could significantly improve the diagnostic rate of IBD, and could provide evidence for early diagnosis and treatment of IBD.

Key words: inflammatory bowel disease; calprotectin; anti-neutrophil cytoplasmic antibodies

炎症性肠病 (IBD) 是一组病因不十分明确的肠道慢性非特异性炎症性疾病, 包括溃疡性结肠炎 (UC) 和克罗恩病 (CD), 其发病机制尚未完全明确, 但已知肠道黏膜免疫系统异常所致的炎症反应在 IBD 的发病中起着重要作用。目前, IBD 的诊断主要依靠病史、临床症状、结肠镜和病理组织活检等。病理组织活检虽是诊断的金标准, 但因其痛苦大、费用高, 且不利于反复检查, 常延误诊断治疗。本研究选取了两种不同的标志物联合检测, 以期对 IBD 临床诊断提供新的指标。

1 资料与方法

1.1 一般资料 研究对象为 2008 年 9 月至 2010 年 11 月来内蒙古自治区人民医院门诊及住院的 IBD 患者 79 例 (IBD 组), 均接受结肠镜及组织病理学检查, 符合中华医学会消化病学分会的诊断标准^[1]。根据患者临床表现, 采用 Mayo 评分系统进行活动指数评定来判断 IBD 活动性^[2], ≥ 3 分为活动期, 反之为静止期。IBD 组中, 男 40 例, 女 39 例, 平均年龄 (43 ± 19) 岁, 静止期 36 例, 活动期 43 例; 疾病对照组 42 例, 均为就

诊时主诉腹痛、腹泻、发热, 后经结肠镜诊断排除 IBD 的患者, 男 19 例, 女 23 例, 平均年龄 (45 ± 14) 岁; 健康对照组 34 例, 均为本院体检中心健康体检者, 无自身免疫性疾病、遗传性疾病家族史及腹痛腹泻等症状, 同时肝肾功能、大便常规、血常规、红细胞沉降率 (ESR) 和 C 反应蛋白 (CRP) 检查均正常, 男 18 例, 女 16 例, 平均年龄 (42 ± 11) 岁。以上各组受试者均抽取清晨空腹静脉血进行肝肾功能、血常规和 CRP 测定, 标本离心后收集血清, -20°C 保存待检, 血清学检测采用单盲法。留取镜检前 1 周 (口服清肠药前) 粪便 10~20 g, 采集后 2 h 内送实验室, 密封后置于 -20°C 保存待检。

1.2 仪器与试剂 粪便钙卫蛋白试剂盒购自瑞士 Bülmann 公司, 抗中性粒细胞胞浆抗体 (ANCA) 试剂盒购自德国欧盟医学实验诊断有限公司。全自动酶标仪及洗板机为芬兰雷勃 MK3 及 MK2 型, 荧光显微镜为日本 Olympus CX-41 型。

1.3 方法 采用 ELISA 法检测粪便钙卫蛋白的水平, 严格按照说明书操作, 依据钙卫蛋白测定标准, 以粪便钙卫蛋白的含量

* 基金项目: 内蒙古自治区科技攻关课题资助项目 (20070501)。

大于或等于 50 μg/g 判为阳性。ANCA 检测采用间接免疫荧光法。

1.4 统计学处理 采用统计软件 SPSS13.0 进行统计学分析。以病理组织活检的诊断金标准,分别计算钙卫蛋白、ANCA 及二者联合检测的敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值。计量资料符合正态分布的数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计方法采用方差分析,对于计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 钙卫蛋白、ANCA 及二者联合检测 IBD 的阳性率比较 钙卫蛋白、ANCA 及二者联合检测在 IBD 组(包括 UC 组、CD 组)、疾病对照组和健康对照组中的阳性率见表 1。钙卫蛋白、ANCA 的阳性率在 IBD 组显著高于疾病对照组和健康对照组,差异有统计学意义($\chi^2 = 16.013, 32.184, P < 0.01; \chi^2 = 38.331, 38.598, P < 0.01$)。二者联合检测的阳性率与钙卫蛋白或 ANCA 单一检测比较差异有统计学意义($\chi^2 = 5.514, 4.416, P < 0.05$)。

表 1 各组钙卫蛋白及 ANCA 阳性率比较[n(%)]

组别	n	钙卫蛋白 阳性率	ANCA 阳性率	联合检测 阳性率*
IBD 组	79	45(57.0)	50(63.3)	62(78.5)
UC 组	47	32(68.1)	39(83.0)	43(91.5)
CD 组	32	13(48.6)	11(34.4)	19(59.4)
疾病对照组	42	8(19.0)	2(4.8)	10(23.8)
健康对照组	34	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)

*:钙卫蛋白和 ANCA 中任一种标志物阳性即判为阳性。

2.2 钙卫蛋白、ANCA 及二者联合检测对 IBD 诊断评价指标比较 联合检测的敏感度高于单一检测,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 钙卫蛋白及 ANCA 对 IBD 诊断评价指标比较(%)

项目	敏感度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
钙卫蛋白	57.0	89.5	84.9	74.5
ANCA	63.3	97.4	96.2	73.8
联合检测*	78.5	86.8	86.1	79.5

*:钙卫蛋白和 ANCA 中任一种标志物阳性即判为阳性。

2.3 钙卫蛋白在 IBD 组、疾病对照组和健康对照组中浓度的比较 见表 3。另外,IBD 组男性与女性患者钙卫蛋白浓度分别为(503.3±276.87)μg/g 和(482.42±269.14)μg/g,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 3 各组粪便钙卫蛋白浓度比较

组别	n	浓度(μg/g)
IBD 组	79	493.86±204.18*
IBD 活动期	43	1 015.23±324.96#
IBD 静止期	36	52.69±34.71△
疾病对照组	42	71.46±60.51
健康对照组	34	36.19±13.46

*: $P < 0.01$, IBD 组钙卫蛋白浓度显著高于疾病对照组及健康对照组; #: $P < 0.01$, IBD 活动期钙卫蛋白浓度显著高于静止期; △: $P > 0.05$, IBD 静止期钙卫蛋白浓度与疾病对照组及健康对照组差异均无统计学意义。

3 讨论

钙卫蛋白是一种与钙、锌结合的蛋白,相对分子质量为 36×10^3 ,来源于中性粒细胞和活化的巨噬细胞,具有免疫调节和抗微生物活性,其结构稳定不易水解。Rugtveit 等^[3]认为在

IBD 结肠病变部位的黏膜和黏膜下层有大量的中性粒细胞和单核细胞存在,明显高于非炎症部位和健康对照者的黏膜。而在感染和炎症性疾病时,钙卫蛋白能特异地在炎症细胞(中性粒细胞和巨噬细胞)中表达,因此测定血液、分泌物和特定组织中钙卫蛋白的浓度可以判断炎症的存在,并在一定程度上反映疾病的严重程度。

Meucci 等^[4]报道了 870 例行肠镜检查的患者,镜下诊断为 IBD 者粪便钙卫蛋白浓度明显高于正常者及轻微病变者。本研究结果显示,IBD 患者粪便钙卫蛋白浓度为(493.86±204.18)μg/g 高于疾病对照组[(71.46±60.51)μg/g]和健康对照组[(36.19±13.46)μg/g],活动期[(1 015.23±324.96)μg/g]高于静止期[(52.69±34.71)μg/g],这一结果与国内报道相似^[5-6]。由此可见,粪便钙卫蛋白不仅在 IBD 诊断中具有很高的应用价值,同时也是监测 IBD 活动及复发的一个有效指标。

ANCA 是一种以中性粒细胞和单核细胞胞浆成分为靶抗原的自身抗体,ANCA 在疾病中的作用机制尚不完全清楚,但几乎所有的靶抗原均具有杀菌能力^[7-8],这就证明了 ANCA 的产生与感染有关。国内学者刘新光等^[9]研究显示,ANCA 阳性的 UC 患者肠黏膜血管炎发生率为 78.95%,明显高于阴性者(44.4%),其病理组织学炎症程度亦明显重于 ANCA 阴性患者($P < 0.05$),炎症严重程度与血管炎的存在有相关性。结果提示肠黏膜血管炎可能是由于 ANCA 的介导而引起,肠黏膜血管炎是 UC 患者肠黏膜的一种病理组织学改变。国外学者报道,UC 患者中 ANCA 阳性率为 50%~67%;在鉴别 CD 与 UC 时,ANCA 诊断 UC 的敏感度稍低(50%~67%),特异度较高(75%~94%)^[10-12]。张蜀澜等^[13]证实 ANCA 在 CD 组、UC 组、疾病对照组和健康对照组中的阳性率分别为 8.1%、56.7%、4.8%和 0.0%;UC 组中阳性率显著高于 CD 组和疾病对照组(χ^2 值分别为 38.08、90.47, $P < 0.01$)。

本研究显示,ANCA 的阳性率在 IBD 组为 63.3%,其中 UC 组与 CD 组分别为 83.0%、34.4%,显著高于疾病对照组(4.8%)和健康对照组(0.0%)。ANCA 诊断 IBD 的敏感度、特异度、阳性预测值及阴性预测者分别为 63.3%、97.4%、96.2%和 73.8%。可见 ANCA 在 IBD 的诊断中敏感度尚可,特异度较高,特别是有助于 UC 的诊断与鉴别诊断。对于评价 IBD 活动期与静止期,ANCA 的阳性率差异无统计学意义($\chi^2 = 0.011, P > 0.05$),即单纯 ANCA 检测无法判断 IBD 是否活动,相似的观点在其他学者的研究中也有所体现^[14-16]。

综上所述,钙卫蛋白和 ANCA 是诊断 IBD 有效的标志物,联合检测有助于 IBD 的诊断及鉴别诊断,并且样本取材容易,患者易接受,短期内可重复检测,利于疾病疗效观察,有望得到临床推广。

参考文献

[1] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 中国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见[J]. 中华内科杂志, 2008, 47(1): 73-79.

[2] Gionchetti P, D'Arienzo A, Rizzello F, et al. Topical treatment of distal active ulcerative colitis with beclomethasone dipropionate or mesalamine: a single-blind randomized controlled trial[J]. J Clin Gastroenterol, 2005, 39(4): 291-297.

[3] Rugtveit J, Brandtzaeg P, Halstensen TS, et al. Increased macrophage subset in inflammatory bowel disease: apparent recruitment from peripheral blood monocytes[J]. Gut, 1994, 35(5): 69-74.

[4] Meucci G, Dinca R, Maieron R, et al. Diagnostic value of faecal calprotectin in unselected outpatients referred(下转第 1290 页)

基础。在 CRC 中 VEGF 与淋巴结转移和不良预后密切相关^[19]。Treg 与肿瘤转移也存在密切的关系,可能是因为 Treg 参与了肿瘤的免疫逃逸,从而促进了肿瘤的增殖、浸润、转移。已有研究报道,Treg 在乳腺癌的肺转移过程中发挥着重要的作用^[20],本研究虽然发现 Treg 与 VEGF 存在相关关系,但无统计学意义,可能与本研究选取的 CRC 病例数不足有关。

综上所述,Treg、Ki67、VEGF 表达与 CRC 的发生、发展、转移有关,是 CRC 不良预后的因素,Treg 与 Ki67 的联合检测对 CRC 的预后评价有着重要的参考价值,并为 CRC 的免疫治疗提供了新思路。

参考文献

[1] Weitz J, Koch M, Debus J, et al. Colorectal cancer[J]. Lancet, 2005,365(9454):153-165.

[2] Le Gouvello S, Bastuji-Garin S, Aloulou N, et al. High prevalence of Foxp3 and IL17 in MMR-proficient colorectal carcinomas[J]. Gut, 2008,57(6):772-779.

[3] Clarke SL, Betts GJ, Plant A, et al. CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ regulatory T cells suppress anti-tumor immune responses in patients with colorectal cancer[J]. PLoS ONE, 2006,1(1):e129.

[4] Ling KL, Pratap SE, Bates GJ, et al. Increased frequency of regulatory T cells in peripheral blood and tumour infiltrating lymphocytes in colorectal cancer patients[J]. Cancer Immun, 2007,7:7.

[5] Michel S, Benner A, Tariverdian M, et al. High density of FOXP3-positive T cells infiltrating colorectal cancers with microsatellite instability[J]. Br J Cancer, 2008,99(11):1867-1873.

[6] Wu AW, Gu J, Li ZF. Cox-2 expression and tumor angiogenesis in colorectal cancer[J]. World J Gastroenterol, 2004,10(16):2323-2326.

[7] Cianchi F, Cortesini C, Fantappie O. Cyclooxygenase-2 activation mediates the proangiogenic effect of nitric oxide in colorectal cancer[J]. Clin Cancer Res, 2004,10(8):2694-2704.

[8] Bura M, Seiverth S, Vladika I. Possible prognostic significance of p53 and Ki67 in inverted sinonasal papilloma[J]. Coll Antropol, 2007,31(2):545-549.

[9] Baumgartner JM, McCarter MD. Suppressing the suppressor Role of immunosuppressive regulatory T cells in cancer surgery[J]. Surgery, 2009,145(4):345-350.

[10] Sinicrope FA, Rego RL, Ansell SM, et al. A low intraepithelial effector (CD3⁺): regulatory (FoxP3⁺) T-cell ratio predicts ad-

verse outcome of human colon carcinoma[J]. Gastroenterology, 2009,137(4):1270-1279.

[11] Betts G, Jones E, Junaid S. Suppression of tumour-specific CD4⁺ T cells by regulatory T cells is associated with progression of human colorectal cancer[J/OL]. Gut, [2011-12-29]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22207629>.

[12] Svensson H, Olofsson V, Lundin S. Accumulation of CCR4⁺CTLA-4hi FOXP3⁺CD25hi regulatory T cells in colon adenocarcinomas correlate to reduced activation of conventional T cells[J]. PLoS One, 2012,7(2):e30695.

[13] Raju B, Mehrotra R, Oijordsbakken G. Expression of p53, cyclin D1 and Ki-67 in pre-malignant and malignant oral lesions; association with clinicopathological parameters [J]. Anticancer Res, 2005,25(6C):4699-4706.

[14] Kannan S, Chandran GJ, Pillai KR. Expression of p53 in leukoplakia and squamous cell carcinoma of the oral mucosa; correlation with expression of Ki67[J]. Clin Mol Pathol, 1996,49(3):M170-175.

[15] Motta RR, Zettler CG, Cambuzzi E. Ki-67 and p53 correlation prognostic value in squamous cell carcinomas of the oral cavity and tongue[J]. Braz J Otorhinolaryngol, 2009,75(4):544-549.

[16] Dragomir LP, Simionescu C, Mărgăritescu C. P53, p16 and Ki67 immunexpression in oral squamous carcinomas[J]. Rom J Morphol Embryol, 2012,53(1):89-93.

[17] Bhargava R, Striebel J, Beriwal S, et al. Prevalence, morphologic features and proliferation indices of breast carcinoma molecular classes using immunohistochemical surrogate markers[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2009,2(5):444-455.

[18] Cheang MCU, Chia SK, Voduc D, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer[J]. J Natl Cancer Inst, 2009,101(10):736-750.

[19] Wang TB, Chen ZG, Wei XQ. Serum vascular endothelial growth factor-C and lymphoangiogenesis are associated with the lymph node metastasis and prognosis of patients with colorectal cancer [J]. ANZ J Surg, 2011,81(10):694-699.

[20] Olkhanud PB, Damdinsuren B, Bodogai M, et al. Tumor-evoked regulatory B cells promote breast cancer metastasis by converting resting CD4⁺ T cells to T-regulatory cells[J]. Cancer Res, 2011,71(10):3505-3515.

(收稿日期:2012-04-06)

(上接第 1287 页)

for colonoscopy: a multicenter prospective study[J]. Dig Liver Dis, 2010,42(3):191-195.

[5] 余剑波. 粪钙卫蛋白在溃疡性结肠炎诊断中的价值研究[J]. 结直肠肛门外科, 2009,15(5):305-308.

[6] 陈茉莉, 梅俏, 陆春霞, 等. 炎症性肠病粪便中钙卫蛋白水平的改变[J]. 安徽医科大学学报, 2010,45(2):258-260.

[7] 刘文斌, 吕愈敏, 杨雪玲, 等. 粪便钙卫蛋白对溃疡性结肠炎活动性判断价值的研究[J]. 中华消化杂志, 2005,25(7):394-397.

[8] 郭东更, 宫怡. 抗中性粒细胞胞浆抗体在风湿性疾病中的作用机制[J]. 临床荟萃, 2006,21(24):1800-1801.

[9] 刘新光, 于涛, 赵明辉, 等. 抗中性粒细胞胞浆抗体对溃疡性结肠炎的诊断价值[J]. 中华内科杂志, 1999,38(7):451-456.

[10] Bossuyt X. Serologic markers in inflammatory bowel disease[J]. Clin Chem, 2006,52(2):171-181.

[11] Saxon A, Shanahan F, Landers C. A distinct subset of antineutrophil cytoplasmic antibodies is associated with inflammatory bowel

disease[J]. J Allergy Clin Immunol, 1990,86(2):202-210.

[12] Preda CM, Vermeire S, Rutgeerts P, et al. Prevalence and significance of perinuclear anti-neutrophil antibodies (pANCA) in Romanian patients with Crohn's disease and ulcerative colitis[J]. Rom J Gastroenterol, 2005,14(4):357-360.

[13] 张蜀澜, 李永哲, 李磊, 等. 联合检测炎症性肠病患者抗酿酒酵母细胞抗体和抗中性粒细胞抗体的临床意义[J]. 中华检验医学杂志, 2008,31(10):1142-1146.

[14] 孟华, 刘丽娜, 郭世斌, 等. 抗中性粒细胞胞浆抗体及抗酿酒酵母抗体在溃疡性结肠炎诊断中的应用[J]. 中国误诊学杂志, 2010,10(19):4586-4587.

[15] 田自力, 鲁素彩, 张文英, 等. 抗中性粒细胞胞浆抗体对溃疡性结肠炎的诊断意义[J]. 河北职工医学院学报, 2007,24(3):18-19.

[16] 张冰凌, 厉有名, 虞朝辉, 等. 抗中性粒细胞胞浆抗体在炎症性肠病中的诊断意义[J]. 浙江预防医学, 2003,15(5):11-12.

(收稿日期:2011-11-01)