

• 综 述 •

抗中性粒细胞胞浆抗体与相关系统性血管炎的研究进展*

鹿翔凤, 洪 萍 综述, 王培昌[△] 审校

(首都医科大学宣武医院检验科, 北京 100053)

关键词: 抗中性粒细胞胞浆抗体; 髓过氧化物酶; 蛋白酶 3; 血管炎

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.03.031

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)03-0329-03

抗中性粒细胞胞浆抗体(anti-neutrophil cytoplasmic antibody, ANCA)是针对存在于中性粒细胞和单核细胞胞质颗粒中的抗原的一组抗体,通常被认为是与中性粒细胞胞浆中的嗜苯胺蓝颗粒和特异性颗粒反应的自身抗体^[1]。自 1982 年 Davis 首次报道以来,ANCA 已逐渐成为系统性血管炎(systemic vasculitides, SV)诊疗的重要血清学标志物,在韦格纳氏肉芽肿(Wegener's granulomatosis, WG)、显微镜下多血管炎(microscopic polyangitis, MPA)、Churg-Strauss 综合征(Churg-Strauss syndrome, CSS)等疾病中 ANCA 检出率较高^[2],此类疾病统称为 ANCA 相关的系统性血管炎(ANCA relevant systemic vasculitis, AASV),本文就其抗原类型、常见疾病的发病机制及诊疗方法作一综述。

1 ANCA 的分型及靶抗原分类

常用的 ANCA 检测方法有间接免疫荧光法(Indirect Immunofluorescence, IIF)、酶联免疫吸附法(enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA)、免疫印迹法、免疫沉淀法和放射免疫法等。

ANCA 根据 IIF 法可分为细胞浆型 ANCA(cytoplasmic ANCA, cANCA)、核周型 ANCA(perinuclear ANCA, pANCA)和介于两者之间的非典型性 ANCA(atypical ANCA)^[3];根据 ELISA 法,常见的靶抗原蛋白酶 3(proteinase 3, PR3)、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)、杀菌/渗透性增高蛋白(bactericidal/permeability increasing protein, BPI)、组织蛋白 G(cathepsin G, Cath G)、溶酶体(lysozyme, LYS)和乳铁蛋白(lactoferrin, LF)等,而存在于 WG、MPA 和 CSS 中的主要靶抗原是 PR3 和 MPO^[4]。两种检测方法存在一定的联系, P-ANCA 相关的血管炎的靶抗原是 MPO,而 C-ANCA 相关血管炎的靶抗原是 PR3^[5],并且两种抗体在自身免疫病中阳性率和临床表现是有差别的:PR3-ANCA 在 WG 中的阳性率占 70%~80%, MPO-ANCA 只有 10%左右,相反, MPO-ANCA 在 MPA 的阳性率占 60%, PR3-ANCA 只有 30%^[6]; PR3-ANCA 阳性患者与 MPO-ANCA 阳性患者相比:前者有较多的肉芽肿,身体器官有多处受损,肾脏功能下降很快,因为 AASV 是一类容易复发的疾病,但是抗体类型不同复发情况也不同,研究显示 PR3 阳性的复发率要比 MPO 的复发率高^[7]。

2 与 ANCA 有关的常见疾病

2.1 韦格纳氏肉芽肿(WG) 自 1985 年最早报道了 ANCA 在 WG 中的诊断意义以来,更多的研究发现 ANCA 阳性的 WG 会诱发形成新月体坏死性肾小球肾炎,导致肺部致死性的弥漫性出血,同时也会累及眼、心脏、皮肤、消化道和外周神经

的损害,这些都是由血坏死性管炎引发的^[8],而且在 WG 中 PR3 的阳性率是 70%~80%,而 MPO 只有 10%左右^[6]。

2.2 显微镜下多血管炎(microscopic polyangitis, MPA) MPA 主要表现为没有肉芽肿性的寡免疫性坏死性小血管炎,约有 90% MPA 患者会有新月形和寡免疫性的肾脏损害,而且这种损害很难与 WG 相区别,眼、鼻、喉和肺的损害较 WG 少见^[9],与 WG 相比复发率也较低,在 MPA 中, MPO-ANCA 阳性率占 60%, PR3-ANCA 占 30%^[6]。

2.3 变应性肉芽肿性血管炎(churg-strauss syndrome, CSS)

CSS 临床表现为哮喘、嗜酸性粒细胞增多和一过性肺部损伤,其典型病理学表现为血管外肉芽肿、呼吸道中小血管嗜酸性粒细胞浸润、快速进行性新月体和肺部出血少见,而致死性心力衰竭多见, MPO-ANCA 与 PR3-ANCA 阳性率均接近 30%^[10]。

2.4 抗肾小球基底膜病 约有 1/3 此类患者 MPO-ANCA 阳性,同时还发现, ANCA 阳性患者约有 7.5% 体内存在抗肾小球基底膜抗体^[11],这两种抗体同时阳性者临床表现更严重,预后不良,且使用免疫抑制剂和血液透析效果亦不好,因此 ANCA 阳性且有肾脏损害患者应该进行抗肾小球抗体检查,从而提供治疗方向^[12]。

2.5 炎症性肠道疾病 溃疡性结肠炎患者 ANCA 阳性率约 50%~70%^[13],克隆恩病(CD)中的阳性率约为 15%~25%^[14],在该类疾病中, ANCA 浓度与疾病活动性密切相关。

2.6 自身免疫性疾病 在此类疾病中,原发性胆汁硬化占 87%,自身免疫性肝病占 96%, Felty 综合征占 90%^[15],杀菌/渗透性增高蛋白(bactericidal/permeability increasing protein, BPI)在上述疾病中显著增加,导致中性粒细胞广泛性游走渗出,与内毒素形成复合体,这种复合体能被单核细胞吸收处理并粘附在单核细胞表面,促进 BPI-ANCA 与其他种类 ANCA 相结合导致病理作用^[16]。

3 ANCA 相关的系统性血管炎(AASV)的流行性

研究表明^[17], AASV 在日本和英国的总发病率差别甚微,但 MPA 的发病率和 MPO 的阳性率在日本更常见,而多发性血管炎和 PR3 的阳性率在英国更高一些;日本人群发病的平均年龄稍高,老年人 MPA 的发病率比年轻人约高 10 倍,这可能是日本地区 MPA 发病率较高的原因。而挪威、英格兰和西班牙地区数据相关分析显示, WG 在挪威的发病率为 10.5/百万, MPA 在西班牙发病率为 11.6/百万^[18]。在研究 AASV 发病机制中发现 HLA 基因与此类疾病有着密切的联系,此基因在人类 6 号染色体的短臂上,与部分自身免疫性疾病相关,如

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30672469);北京市自然科学基金资助项目(7062030)。 作者简介:鹿翔凤,检验技师,主要从事免疫学研究。 [△] 通讯作者, E-mail: peichangwang@yahoo.com。

类风湿性关节炎、巨细胞性动脉炎、肾小球基底膜病等^[19]。HLA 分为 I 和 II 型,HLA-I 抗原提呈 CD8+T 细胞,HLA-II 抗原提呈 CD4+T 细胞,其中 HLA-DRB 基因是导致 AASV 发病的重要基因^[20],此基因在不同地区表达类型不同,在日本,HLA-DRB1 * 0901 基因与 MPA 有密切关联,并且发现单倍体型基因 HLA-DRB1 * 0303^[21],而在欧洲 HLA-DPB1 * 0401 基因在肉芽肿性炎中表达增加,这种差异可能是环境因素产生的。在中国,HLA-DRB1 * 1101 在 MPA 中常见,而 HLA-DRB1 * 1202 在 PR3-ANCA 中更常见^[22]。

4 ANCA 相关的系统性血管炎(AASV)的发病机制

AASV 的病因和发病机制目前并不十分清楚,目前认为可能是由白细胞渗透至血管壁而引发的一系列级联反应,表现在以下几方面:(1)产生炎症介质:局部或全身的感染产生炎症细胞因子和趋化因子,这些因子的产生导致内皮细胞粘附分子和中性粒细胞的表达上调。大量中性粒细胞导致粘附分子 CD11b 高表达,ANCA 靶抗原转移至细胞表面,在中性粒细胞表面,抗原抗体结合形成二聚体,抗体的 Fc 段与 FcR 结合,从而导致中性粒细胞激活并吸附在内皮细胞上,ANCA 介导的活性中性粒细胞引发活性氧自由基的释放和中性粒细胞脱颗粒,最终导致小血管坏死和结节性血管炎^[23]。(2)激活补体系统:活化的中性粒细胞释放 B 因子和 C3,通过补体的旁路激活途径,产生 C5a,后者不仅是很强的趋化因子且能促进中性粒细胞与 ANCA 的相互作用,从而导致血管坏死^[24]。(3)促进抗原提呈:60%~70%WG 患者携带金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*),它会使本病的复发率增高,因为金黄色葡萄球菌能激活呼吸道上皮细胞的抗原提呈细胞(APCs),使其释放 IL-23,IL-23 诱导 Th17 产生 IL-17,与肿瘤坏死因子(TNF)同时激活中性粒细胞,促进中性粒细胞表面抗原与 ANCA 结合,诱导中性粒细胞释放部分粘附分子结合在小血管表面,导致血管坏死^[25]。

5 ANCA 相关的系统性血管炎(AASV)的治疗方法

目前 AASV 的诱导治疗药物有多种,如环磷酰胺(CYC)、吗替麦考酚酯(MMF)、咪唑硫嘌呤(AZA)、甲氨蝶呤(MTX)、美罗华(RTX)等,此类疾病的治疗原则^[26]:(1)选择合理有效但适度的药物和剂量,避免过度、过量;(2)提高早期诊断率是改善预后的重要因素。美国国立卫生研究机构较早引入口服 CYC 作为治疗本病的药而且大大提高了本病的生存率,但口服 CYC 可导致 42% 的患者有不可逆转的不良反应产生^[27]。另有研究证明,静脉注射可以代替口服 CYC 且疗效增加,不良反应减少^[28]。同时 AZA 与 MMF 的疗效相近,两者可相互替代使用,不良反应较少,而单独使用 MTX 的复发率较高^[29]。2011 年 4 月,美国 FDA 首次将 RTX 列为治疗 AASV 的药物,使用剂量有两种:口服 375 mg/m² 和静脉注射 500 mg^[30]。RTX 与 CYC 联合使用效果更显著,但药物的使用是根据病情来选用的:病情稳定时,CYC 与 RTX 联合口服^[31];病情严重至生命危险的情况下应进行血浆置换并联合使用 CYC 或者 RTX^[32];对 ANCA 滴度持续较高的难治性 AASV 患者,应采用联合用药:RTX、静脉注射免疫球蛋白与 15-脱氧精脒菌素联合使用,直到白细胞数达到 3×10⁹/L,当白细胞大于或等于 4×10⁹/L 时再次用药,共 6 个循环,但是约 50% 治愈患者在 5 年内均会复发^[33],部分发展为末期肾病,且治疗的不良反应较多,如机会性感染,因此目前 AASV 的治疗远不够理想。

6 小 结

综上所述,研究 ANCA 在不同疾病中的靶抗原,从而进一

步探讨其作用机制,对自身免疫性疾病的诊断、治疗和预后有着重要的临床指导意义。

参考文献

- [1] Davies DJ, Moran JE, Niall JF, Ryan GB. Segmental necrotizing glomerulonephritis with antineutrophil antibody: possible arbovirus aetiology[J]. Br Med J, 1982, 285(6342): 606-612.
- [2] Han WK, Choi HK, Roth RM, et al. Serial ANCA titers: useful tool for prevention of relapses in ANCA-associated vasculitis[J]. Kidney Int, 2003, 63(3): 1079-1085.
- [3] Savige J, Pollock W, Trevisin M. What do antineutrophil cytoplasmic antibodies(ANCA) tell us[J]. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2005, 19(2): 263-276.
- [4] Cees G. M, Kallenberg. Pathogenesis of ANCA-Associated Vasculitis, an Update[J]. Clin Rev Allerg Immunol, 2011, 41(2): 224-231.
- [5] Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, et al. Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis[J]. Lancet, 1985, 1(8426): 425-429.
- [6] Savige J, Gills D, Benson E, et al. International Consensus Statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies(ANCA)[J]. Am J Clin Pathol, 1999, 111(4): 507-513.
- [7] Pagnoux C, Hogan SL, Chin H, et al. Predictors of treatment resistance and relapse in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated small-vessel vasculitis: comparison of two independent cohorts[J]. Arthritis Rheum, 2008, 58(9): 2908-2918.
- [8] Kinney MA, Jorizzo JL. Small-vessel vasculitis[J]. Dermatol Ther, 2012, 25(2): 148-157.
- [9] Wiik A. Rational use of ANCA in the diagnosis of vasculitis[J]. Rheumatology(Oxford), 2002, 41(5): 481-483.
- [10] Jayne D, Rasmussen N, Andrassy K, et al. A randomized trial of maintenance therapy for vasculitis associated with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies[J]. N Engl J Med, 2003, 349(1): 36-44.
- [11] Levy JB, Hammad T, Coulthart A, et al. Clinical features and outcome of patients with both ANCA and anti-GBM antibodies[J]. Kidney Int, 2004, 66(4): 1535-1540.
- [12] Jayne DR, Marshall PD, Jones SJ, et al. Autoantibodies to GBM and neutrophil cytoplasm in rapidly progressive glomerulonephritis[J]. Kidney Int, 1990, 37(3): 965-970.
- [13] Bosch X, Guilbert A, Font J. Antineutrophil cytoplasmic antibodies[J]. Lancet, 2006, 368(9533): 404-418.
- [14] Zhou F, Xia B, Wang F, et al. The prevalence and diagnostic value of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies and anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in patients with inflammatory bowel disease in mainland China[J]. Clin Chim Acta, 2010, 411(19/20): 1461-1465.
- [15] Wiik A. Neutrophil-specific autoantibodies in chronic inflammatory bowel diseases[J]. Autoimmun Rev, 2002, 1(1/2): 67-72.
- [16] Schultz H, Weiss J, Carroll SF, et al. The endotoxin-binding bactericidal/permeability-increasing protein(BPI): a target antigen of autoantibodies[J]. Leukoc Biol, 2011, 69(4): 5-12.
- [17] Fujimoto S, Watts RA, Kobayashi S, et al. Comparison of the epidemiology of anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis between Japan and the UK[J]. Rheumatology(Oxford), 2011, 50(10): 1916-1920.
- [18] Watts RA, Lane SE, Scott DG, et al. Epidemiology of vasculitis in

Europe[J]. *Ann Rheum Dis*, 2001, 60(12):1156-1157.

[19] Kallenberg CG, Rarok A, Stegeman CA. Genetics of ANCA-associated vasculitides[J]. *Cleve Clin J Med*, 2002, 69(1):61-63.

[20] Shiina T, Inoko H, Kulski JK. An update of the HLA genomic region, locus information and disease associations; 2004[J]. *Tissue Antigens*, 2004, 64(6):631-649.

[21] Chen M, Kallenberg CG. New advances in the pathogenesis of ANCA-associated vasculitides[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2009, 27(2):108-114.

[22] Tsuchiya N, Kobayashi S, Hashimoto H, et al. Association of HLADRB1 * 0901-DQB1 * 0303 haplotype with microscopic polyangiitis in Japanese[J]. *Genes Immunity*, 2006, 7(1):81-84.

[23] Luo H, Chen M, Yang R, et al. The association of HLA-DRB1 alleles with antineutrophil cytoplasmic antibody-associated systemic vasculitis in Chinese patients[J]. *Human Immunology*, 2011, 72(5):422-425.

[24] Xiao H, Schreiber A, Heeringa P, et al. Alternative complement pathway in the pathogenesis of disease mediated by anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies[J]. *Am J Pathol*, 2007, 170(1):52-64.

[25] Abdulahad WH, Stegeman CA, Kallenberg CG. Review article: The role of CD4(+) T cells in ANCA-associated vasculitis[J]. *Nephrology*, 2009, 14(1):26-32.

[26] 俞还瑾, 陈楠. ANCA 相关性小血管炎治疗与进展[J]. *中华医学*

会肾脏病学分会第六次全国学术会议, 2002:108-110.

[27] Harper L, Morgan MD, Walsh M, et al. Pulse versus daily oral cyclophosphamide for induction of remission in ANCA-associated vasculitis: long-term follow-up[J]. *Ann Rheum Dis*, 2012, 71(6):1955-1960.

[28] Pangnoux C, Mahr A, Hamidou MA, et al. Azathioprine or Methotrexate Maintenance for ANCA-Associated Vasculitis[J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(26):2790-2803.

[29] De GK, Rasmussen N, Bacon PA, et al. Randomized trial of cyclophosphamide versus methotrexate for induction of remission in early systemic antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis[J]. *Arthritis Rheum*, 2005, 52(8):2461-2469.

[30] Cohen Tervaert JW. Rituximab in ANCA-associated vasculitis: a revolution[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(10):3077-3079.

[31] Kallenberg CG. Treatment of ANCA-Associated Vasculitis, Where to Go[J]. *Clinic Rev Allerg Immunol*, 2010, 6(Epub ahead of print).

[32] Jayne DR, Gaskin G, Rasmussen N, et al. Randomized trial of plasma exchange or high-dosage methylprednisolone as adjunctive therapy for severe renal vasculitis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2007, 18(7):2180-2188.

(收稿日期:2012-09-18)

• 综 述 •

微小 RNA 与乳腺癌的发病风险、诊断和治疗的关 系

钟山亮 综述, 赵建华[△] 审校

(南京医科大学附属江苏省肿瘤医院临床检验中心, 江苏南京 210009)

关键词: 乳腺肿瘤; 微小 RNA; 发病风险; 诊断; 治疗

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.03.032

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)03-0331-04

微小 RNA(microRNA 或 miRNA)是真核生物中一类长度约 18~25 个核苷酸(nucleotide, nt)的内源性非编码单链小 RNA,具有高度保守性、时序性和组织特异性。miRNA 的发现,揭示了真核细胞中一种新的基因表达调控模式;它主要通过靶基因 mRNA 3'端非翻译区碱基互补配对的方式并根据互补程度的不同,抑制靶基因的翻译或导致其降解,实现对基因的转录后表达调控^[1]。目前,已发现的人类成熟的 miRNA 基因有 1 921 个(miRBase 序列数据库-Release 18.0),具有调控超过 50%蛋白编码基因的潜在能力。miRNA 参与了几乎所有的生物学过程,包括细胞增殖、凋亡、分化、新陈代谢、信号传导以及肿瘤的形成、发展和转移等^[1-2]。现有的研究证明 miRNA 与肿瘤关系密切,它既可以充当癌基因的作用下抑制癌基因的活性,同时又可充当抑癌基因的作用改变原癌基因的活性,最终影响肿瘤的发生、发展^[2]。

乳腺癌严重威胁女性健康,其发生机制和癌细胞耐药机制非常复杂,至今尚未完全阐明;miRNA 的表达调控可能起重要作用,如 Tavazoie 等^[3]研究发现 miRNA 能调控启动乳腺癌的基因表达。近年来已有不少学者对乳腺癌相关 miRNA 进行了研究,为阐明乳腺癌的发生发展机制以及诊断和治疗方案提供了崭新的思路,现将其综述如下。

1 miRNA 与乳腺癌的易感性

基因表达调控异常是肿瘤发生的主要原因。在过去的几年中,一些研究调查了 miRNA 前体或成熟 miRNA 以及 miRNA 结合靶点的单核苷酸多态性(SNP),并证实其中一些 SNPs 通过干扰靶基因表达改变了乳腺癌的发病风险。2009 年, Hu 等^[4]首次报道了 miRNA SNP 对乳腺癌发病风险的影响。该研究基于 1 009 例乳腺癌患者和 1 093 例健康对照,分别对位于 mir-146a、pre-mir-149、mir-196a2 和 mir-499 中的 4 个 SNPs[rs2910164(C>G)、rs2292832(G>T)、rs11614913(T>C)和 rs3746444(A>G)]进行了检测,结果显示, mir-196a2(T>C)和 pre-mir-499(A>G)变异基因型有更高的乳腺癌易感性。次年, Catucci 等^[5]针对德国和意大利人群(1 894 例乳腺癌患者和 2 760 例健康对照)检测了其中 3 个 SNPs[rs2910164(C>G)、rs2292832(G>T)和 rs11614913(T>C)]的分布,但未能发现两组之间在基因型频率上的差异;他们将这种相悖的结果归因于汉人和高加索人遗传背景的差异。最近, Zhang 等^[6]进行的一项研究对上述的 rs2292832 和 rs11614913 以及另外 3 个 SNPs[pre-mir-27a rs895819(A>G)、mir-605 rs2043556(A>G)和 mir-618 rs2682818(C>A)]进行了检测分析,也没有发现任何 SNP 与乳腺癌发病风险的

作者简介:钟山亮,男,检验技师,主要从事肿瘤分子诊断学研究。

[△] 通讯作者, E-mail: jhzhao2838@sina.com。