

• 临床检验研究论著 •

抗中性粒细胞胞浆抗体检测在肾功能不全肾病中的临床意义

赵 春,符布清[△],史桂兰

(江苏省中医院检验科,江苏南京 210029)

摘要:目的 探讨肾病患者不同抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)结果组肾功能变化规律。方法 测定肾功能不全患者不同 ANCA 结果组的肌酐、尿素氮、尿蛋白定量、N-乙酰-β-D 氨基葡萄糖苷酶(NAG)及 β-D 半乳糖苷酶(GAL)等肾功能指标,ANCA 检测方法用间接免疫荧光法(IIF)及免疫印迹法。结果 PANCA(+) 抗性组与 PANCA(+) 敏感组尿素氮水平均高于 PANCA(-) 组和健康对照组($P < 0.05$),而 PANCA(+) 抗性组与 PANCA(+) 敏感组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);PANCA(+) 抗性组肌酐水平与 PANCA(-) 组及健康对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$),PANCA(+) 敏感组和 PANCA(-) 组肌酐均高于健康对照组($P < 0.05$);PANCA(+) 抗性组、PANCA(+) 敏感组和 PANCA(-) 组尿蛋白定量均明显高于健康对照组($P < 0.01$),PANCA(+) 抗性组与 PANCA(+) 敏感组比较差异也有统计学意义($P < 0.01$);PANCA(+) 敏感组 NAG 水平明显高于 PANCA(+) 抗性组、PANCA(-) 组和健康对照组($P < 0.01$);PANCA(+) 敏感组 GAL 水平与 PANCA(+) 抗性组、PANCA(-) 组及健康对照组比较差异也有统计学意义($P < 0.05$)。结论 ANCA 检测结果与肾功能不全指标变化明显相关性。

关键词:抗中性粒细胞胞质抗体; 肾功能不全; 肾功能**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2013.22.030**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2013)22-3009-02**Clinical significance of detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies in renal insufficiency of kidney disease**Zhao Chun, Fu Buqing[△], Shi Guilan

(Department of Clinical Laboratory, Jiangsu Province Traditional Chinese

Medicine Hospital, Nanjing, Jiangsu 210029, China)

Abstract: Objective To study the changes of renal damage index in nephropathy patients with different antineutrophil cytoplasmic antibodies(ANCA) results. **Methods** To determination the levels of creatinine, urea nitrogen, urinary protein, N-acetyl beta-D glucosaminidase(NAG) and beta-D galactose glucoside enzyme(GAL)of renal insufficiency patients with different ANCA results. Indirect immunofluorescence(IIF) and western blot were used to detect ANCA. The biochemical indicators were determined by automatic biochemical analyzer. **Results** Urea nitrogen levles of PANCA(+) resistance group and PANCA(+) sensitive group were higher than those of PANCA(-) group and normal control group($P < 0.05$). PANCA(+) resistance group had no significant difference compared with PANCA(+) sensitive group($P > 0.05$). Creatinine level of PANCA(+) resistance group was significantly higher than those of PANCA(-) group and normal control group($P < 0.01$). Creatinine levels of PANCA(+) sensitive group and PANCA(-) group were higher than that of normal control group($P < 0.05$). Urinary protein levels of PANCA(+) resistance group, PANCA(+) sensitive group and PANCA(-) group were significantly higher than that of normal control group($P < 0.01$). PANCA(+) resistance group and sensitive group had significant difference($P < 0.01$) as well. NAG level of PANCA(+) sensitive group was significantly higher than those of PANCA(+) resistance group, PANCA(-) group and normal control group($P < 0.01$). GAL level of ANCA(+) sensitive group was significantly higher than those of PANCA(+) resistance group, PANCA(-) group and normal control group($P < 0.05$). **Conclusion** The results of ANCA have significant correlation with renal dysfunction index changes.

Key words:antineutrophil cytoplasmic antibodies; renal inadequacy; renal function

肾功能不全可由慢性肾小球肾炎类或代谢异常等多种因素所致,其预后严重,是威胁生命的主要病症之一。肾脏也是原发性小血管炎最常受累的部位,快速进展性肾小球肾炎(RPGN)病因之一是寡免疫复合物或无免疫复合物沉积导致,可引起抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)相关性小血管炎(AASV)^[1-3]。RPGN 的病理特点主要表现为包曼氏囊内毛细血管增生导致的肾小球新月体形成,从而导致严重的肾小球肾炎^[4-6]。本研究选择入住本院的 62 例肾功能不全患者进行 PANCA 分组研究,发现不同组肾功能各指标存在显著差异,尤其 PANCA(+) 敏感组肾功能损伤指标表现明显,至今未见相关文献报道。

1 资料与方法**1.1 一般资料** 本院收治肾功能不全患者 62 例,其中 PAN-

CA(-)30 例,男 13 例,女 17 例,年龄 20~79 岁,平均 52.2 岁;PANCA(+) 抗性 20 例,男 8 例,女 12 例,年龄 14~80 岁,平均 57.25 岁;PANCA(+) 敏感 12 例,男 5 例,女 7 例,年龄 20~85 岁,平均 49.5 岁。健康对照组 30 例,男 13 例,女 17 例,年龄 10~80 岁,平均 45.78 岁。

1.2 方法**1.2.1 肌酐及尿素氮测定** 空腹抽血 2 mL 于生化常规管中,等血液自然凝固后离心分离血清,用自动生化仪测定肌酐及尿素氮等指标,用 Beckman250 自动生化仪及配套试剂测定。**1.2.2 尿蛋白定量和尿中 2 种酶的测定** 取 12 h 尿液标本测定尿蛋白含量,留取晨尿测定尿 N-乙酰-β-D 氨基葡萄糖苷酶(NAG)、β-D 半乳糖苷酶(GAL),均采用 Beckman250 自动生化仪及配套试剂测定。

1.2.3 ANCA 检测 用间接免疫荧光法(IIF)及免疫印迹法测定,试剂由欧蒙医学实验诊断股份公司提供。

1.3 统计学处理 用 SPSS16.0 软件进行分析统计,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

尿素氮比较 PANCA(+) 抗性组与 PANCA(+) 敏感组均高于 PANCA(-) 组和健康对照组($P < 0.05$);而 PANCA(+) 抗性组与 PANCA(+) 敏感组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。PANCA(+) 抗性组与 PANCA(-) 组及健康对

照组间肌酐水平差异无统计学意义($P < 0.01$);PANCA(+) 敏感组和 PANCA(-) 组肌酐水平均高于健康对照组($P < 0.05$)。PANCA(+) 抗性组、PANCA(+) 敏感组和 PANCA(-) 组尿蛋白定量均明显高于健康对照组($P < 0.01$);PANCA(+) 抗性组与 PANCA(+) 敏感组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。NAG 水平比较,PANCA(+) 敏感组明显高于 PANCA(+) 抗性组、PANCA(-) 组和健康对照组($P < 0.01$)。GAL 水平比较,PANCA(+) 敏感组与 PANCA(+) 抗性组、PANCA(-) 组及健康对照组间差异也有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 不同结果 PANCA 组肾功能结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	尿素氮(mmol/L)	肌酐(μmol/L)	尿蛋白定量(mg/L)	NAG(U/L)	GAL(U/L)
PANCA(+) 抗性组	20	19.45 ± 8.03 ^{#△}	410.34 ± 231.79 ^{#△△}	1 571.27 ± 1 351.01 ^{# * * △△}	12.54 ± 11.44 ^{* *}	3.25 ± 3.58 [*]
PANCA(+) 敏感组	12	17.52 ± 10.02 ^{#△}	246.95 ± 210.59 [△]	5 513.28 ± 4 200.44 ^{# #△△}	53.08 ± 45.82 ^{# #△△}	7.45 ± 6.76 ^{#△}
PANCA(-) 组	30	12.07 ± 9.88	248.20 ± 355.51 [△]	883.11 ± 884.24 ^{△△}	16.60 ± 17.80	4.33 ± 3.33
对照对照组	30	10.22 ± 8.18	100.80 ± 174.20	70.46 ± 32.56	9.72 ± 3.55	4.05 ± 2.89

△: $P < 0.05$, △△: $P < 0.01$, 与健康对照组比较; #: $P < 0.05$, ##: $P < 0.01$, 与 PANCA(-) 组比较; *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, 与 PANCA(+) 敏感组比较。

讨 论

肾脏是原发性小血管炎最常受累的部位。约 80% 原发性小血管炎有肾脏受累的临床表现,病理检查 100% 有肾脏受累^[7-9]。近年研究证明^[10],导致 RPGN 临床综合征的病因主要有三类:IgG 线性沉积于肾小球基底膜(抗肾小球基底膜抗体病);弥漫增生性免疫复合物沉积(本组包括狼疮性肾炎、系膜毛细血管性肾小球肾炎、IgA 肾病和冷球蛋白血症性肾病);寡免疫复合物或无免疫复合物沉积疾病“微免疫沉积型”快速进展性肾炎。它们可导致 ANCA 相关性小血管炎(AASV)。在所有这些病理改变中,RPGN 的病理特点是包曼氏囊内毛细血管增生导致的肾小球新月体形成,从而导致严重的肾小球肾炎^[11-12]。本研究发现 PANCA(+) 敏感组尿蛋白定量、NAG 及 GAL 水平均高于 PANCA(-) 组与 PANCA(+) 抗性组,近年来研究证明 NAG 是一种细胞内溶酶体酶,在肾脏疾病急性期,可表现明显升高,缓解期可下降或恢复正常,其变化敏感性优于血中肌酐和尿素氮变化^[13-15]。GAL 在肾小管损伤时明显升高,恢复期也可升高。

乙醇固定的人中性粒细胞是 IIF 法检测 ANCA 的基本基质,一种靶抗原为蛋白酶 3,颗粒型荧光分布于中性粒细胞的细胞质中,而细胞核无荧光,称之为 cANCA,另一种可由多种抗体,在中性粒细胞核周围有平滑的带状荧光,称之为 pANCA,抗髓过氧化物酶抗体产生的 pANCA 可与甲醛固定的中性粒细胞反应,这种类型的 pANCA 又叫甲醛抗性的 pANCA,而与其他靶抗原引起的 pANCA 一般不与甲醛固定的中性粒细胞反应,此种类型的 pANCA 又叫甲醛敏感性 pANCA,此种靶抗原为除去髓过氧化物酶和蛋白酶 3 之外的抗原。ANCA 是一种以中性粒细胞和单核细胞的细胞质成分为靶抗原的自身抗体,本研究表明 PANCA(+) 敏感组尿蛋白定量、NAG 及 GAL 水平高于 PANCA(+) 抗性组,推测肾小球基底膜或肾小管等组织存在与嗜中性粒细胞靶抗原髓过氧化物酶和蛋白酶 3 之外的交叉抗原存在,由于此类抗原较多,有些抗原尚不明确,正是这些与嗜中性粒细胞靶抗原相关的导致肾小管和肾小球功能损伤严重的交叉抗原存在,肾功能损伤严重,甚至超

过嗜中性粒细胞靶抗原髓过氧化物酶和蛋白酶 3 存在,本研究表明 PANCA(+) 敏感组肾功能损害明显比 ANCA(+) 抗性组严重。因此,PANCA(+) 敏感靶抗原可作为肾脏功能损伤严重的一个辅助指标,应引起人们的足够重视。

PANCA(+) 敏感靶抗原是近年来开展的一个新型项目,目前关于 PANCA(+) 敏感的病例报道还不多,随着 PANCA(+) 敏感相关靶抗原深入研究,必将对相关疾病诊疗带来新的进展。

参考文献

- Watanabe K, Tani Y, Kimura H, et al. Clinical outcomes of Japanese MPO-ANCA-related nephritis: significance of initial renal death for survival[J]. Intern Med, 2012, 51(15): 1969-1976.
- Pepper RJ, Salama AD. Classifying and predicting outcomes in ANCA-associated glomerulonephritis[J]. Nephrol Dial Transplant, 2012, 27(6): 2135-2137.
- Kanzaki G, Tsuboi N, Yokoo T, et al. Diffuse tubulointerstitial nephritis associated with ANCA-negative pauci-immune glomerulonephritis[J]. Clin Exp Nephrol, 2012, 16(3): 480-484.
- Komatsuda A, Omokawa A, Fujiwara T, et al. Serum procalcitonin levels in patients with myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibodies-associated glomerulonephritis[J]. Am J Med Sci, 2012, 343(2): 136-140.
- Wieczorek-Surdacka E, Kaczmarczyk I, Jasik P, et al. Rapidly progressive ANCA-negative glomerulonephritis in the course of pauci immune microscopic vasculitis with hemolytic anemia probable in the course of Wilson's disease[J]. Przegl Lek, 2011, 68(2): 123-125.
- Yamamoto T, Matsuda J, Kadoya H, et al. MPO-ANCA-positive polyarteritis nodosa complicated by exudative otitis media, mononeuritis multiplex, and acute renal failure[J]. Clin Exp Nephrol, 2011, 15(5): 754-760.
- Bombard AS, Appel GB, Radhakrishnan J, et al. ANCA-associated glomerulonephritis in the very elderly[J]. Kidney Int, 2011, 79(7): 757-764.

(下转第 3012 页)

表 2 4 组育龄女性体检者 3 项肿瘤标志物
阳性率比较[n(%)]

组别	CA125	CA19-9	CA72-4
A 组	22(73.3)*△	12(40.0)*△	1(3.3)
B 组	1(3.3)	0(0.0)	0(0.0)
C 组	26(86.7)*	21(70.0)*	14(46.7)*
D 组	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)

*: P<0.05, 与 D 组比较; △: P<0.05, 与 B 组比较。

3 讨 论

在“谈瘤色变”的今天,大家对肿瘤的早期诊断和治疗的期望值越来越高,不断催生高效精准的血清肿瘤标志物和影像诊断乃至基因诊断,但后者费用不菲,推广尚需时日^[3-4]。相比微粒体和磁珠等化学发光技术,罗氏电化学发光则是最经典的检测方法之一,而糖类抗原 CA125、CA19-9 及 CA72-4 对消化系统疾病有较高的敏感性和特异性^[5]。

CA125 不仅是卵巢癌的特异性标志物,输卵管腺癌、子宫内膜癌、宫颈癌、胰腺癌、肠癌、乳腺癌、肺癌和肝癌患者 CA125 的水平也会升高^[1]。CA19-9 是胰腺癌和结、直肠癌的标志物。良性疾患时如胰腺炎和黄疸,CA19-9 浓度也可增高,但往往呈一过性^[6]。CA72-4 是胃肠道与卵巢肿瘤的糖脂类标志物^[7]。肿瘤切除后 CA125、CA19-9 及 CA72-4 浓度会下降,如再上升,则可表示复发,因此常被用作衡量手术切除完整或复发与否的标准。

女性在月经期机体存在一定的生理性改变,在检测项目上一般对血常规、某些生化项目、激素及血凝指标有很大影响^[8],对肿瘤标志物的影响容易被忽视,而一旦出现肿瘤标志物假性增高,患者往往难以接受,如解释不清,容易引起纠纷,在体检人群中更易引起不必要的恐慌或不信任。由本文可见,月经期妇女中分别有 73.3% 和 40.0% 呈 CA125 和 CA19-9 阳性,而月经期结束后 3 天已降至正常水平,CA72-4 则不受月经周期的影响。

EM 虽为良性病变,但具有类似恶性肿瘤的局部种植、浸润生长及远处转移能力。常见的病因有经血逆流、血行-淋巴播散、雌激素依赖性及基因层面等^[9]。大多数 I 期 EM 没有明显的临床表现,偶尔有痛经或不孕等,这在体检时容易被忽视^[12]。本研究发现 I 期 EM 患者 CA125、CA19-9 及 CA72-4

的阳性率分别为 86.7%、70.0% 和 46.7%,容易误解为罹患肿瘤,然经进一步病史(痛经)、查体、盆腔影像复查并无肿瘤倾向。相比之下,新的妇科肿瘤标志物人附睾蛋白(HE4)具有较高的敏感性和特异性,受干扰因素小,具有良好的前景,值得推广^[10]。

从本回顾性研究来看,月经期及 I 期 EM 体检者 3 项肿瘤标志物存在不同程度的升高,体检医院能考虑到干扰因素、排除并确定病因,及时做好解释工作,可以很大程度上缓解体检者的焦虑和不满情绪,防止歧义或不良事件发生。当然制定中长期的随访观察计划,从根本上对指标进行鉴别诊断,将是十分必要的。

参考文献

- 丁茗敏. 1226 例女性查体者 CA125 检测结果的分析[J]. 中国疗养医学, 2009, 18(2): 164-165.
- 周迎风. 不同病情子宫内膜异位症妇女外周血肿瘤标志物表达变化的观察[J]. 中国医药指南, 2013, 11(5): 126-127.
- 柴红娟, 施薇. 基因芯片在产前诊断中的应用进展[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(5): 697-698.
- 张青云. 肿瘤标志物临床检测技术现状及发展趋势[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(7): 585-589.
- 郭天利, 焦同立. 血清肿瘤标志物在消化系统恶性肿瘤诊断中的价值[J]. 肿瘤基础与临床, 2010, 23(5): 427-428.
- 张欣, 张国梁. 血清肿瘤标记物联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 中国实验诊断学, 2012, 16(5): 848-850.
- 陈宾, 谷峰, 向荣, 等. 血清肿瘤标记物联合检测辅助鉴别良恶性结肠疾病[J]. 军医进修学院学报, 2010, 31(12): 1180-1181.
- 喻安郡, 徐晓波. 子宫内膜癌患者 6 种生殖激素水平的研究[J]. 中国社区医师, 2009, 11(2): 81.
- 徐友文, 王乐见, 朱杰. 月经期和卵泡期血清糖抗原 125 测定对筛查子宫内膜异位症的临床意义[J]. 实用医技杂志, 2010, 17(5): 458-459.
- Anastasi E, Granato T, Marchei GG, et al. Ovarian tumor marker HE4 is differently expressed during the phases of the menstrual cycle in healthy young women[J]. Tumor Biol, 2010, 31(5): 411-415.

(收稿日期:2013-06-02)

(上接第 3010 页)

- Nasr SH, Said SM, Valeri AM, et al. Membranous glomerulonephritis with ANCA-associated necrotizing and crescentic glomerulonephritis[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2009, 4(2): 299-308.
- Yang B, Shen M. Clinicopathological analysis of patients with granulomatosis with polyangiitis (Wegener's) complicated by acute renal failure[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2013, 93(15): 1159-1161.
- Specks U, Merkel PA, Seo P, et al. Efficacy of remission-induction regimens for ANCA-associated vasculitis[J]. N Engl J Med, 2013, 369(5): 417-427.
- 罗婷, 赵明辉, 马圣清. 抗中性粒细胞胞浆抗体在系统性红斑狼疮中的临床意义[J]. 中华皮肤科杂志, 1999, 32(1): 20-21.
- 李红威, 程培华, 陶赞英. 抗中性粒细胞胞质抗体与系统性红斑狼疮的相关性研究[J]. 山东医药, 2011, 51(12): 96-97.
- 于峰, 赵明辉, 黄建萍, 等. 少年儿童抗中性粒细胞胞浆抗体相关原发性系统性血管炎的临床和病理特点[J]. 中华儿科杂志, 2003, 41(11): 831-834.
- 程明, 朱晓峰. 抗中性粒细胞胞质抗体相关性血管炎的研究现状[J]. 国际移植与血液净化杂志, 2009, 7(3): 15-22.
- 徐旭东, 赵明辉. 丙基硫氧嘧啶与抗中性粒细胞胞浆抗体相关小血管炎[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2002, 18(5): 410-412.

(收稿日期:2013-06-10)