

• 论 著 •

pANCA与FCP联合检测对溃疡性结肠炎的临床诊断价值

马 荣,李玉中[△],李晓兰

(大连医科大学附属二院检验科,辽宁大连 116027)

摘要:目的 探讨血液中核周型抗中性粒细胞胞浆抗体(pANCA)与粪便钙卫蛋白(FCP)联合检测诊断溃疡性结肠炎(UC)及评估其活动性的临床价值。方法 119例溃疡性结肠炎患者纳入病例组,其中活动期患者68例,缓解期患者51例;非UC消化道疾病患者45例纳入疾病对照组;体检健康者42例纳入健康对照组。采用间接免疫荧光技术(IIF)检测血液中pANCA,酶联免疫吸附试验(ELISA)定量检测粪便FCP水平。结果 血液中,UC活动期与缓解期pANCA阳性率明显高于疾病对照组与健康对照组,比较差异有统计学意义($P<0.01$),敏感度与特异度分别为68.90%、98.85%。粪便中,UC活动期FCP水平明显高于缓解期,比较差异有统计学意义($P<0.01$),UC缓解期FCP水平高于疾病对照组,比较差异有统计学意义($P<0.05$)。疾病对照组FCP水平与健康对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$),FCP对UC诊断的敏感度与特异度分别为74.79%,89.65%。两项指标联合检测的敏感度与特异度分别为85.71%,89.65%。结论 粪便FCP作为无创的生物标记物与UC活动性呈较好的相关性,可以区分UC活动期与缓解期,pANCA可以作为辅助诊断UC的血清学指标,两者联合检测可对UC患者进行疾病活动性评估、疗效观察及预测疾病复发提供可靠的理论依据。

关键词:抗中性粒细胞胞浆抗体; 核周型抗中性粒细胞胞浆抗体; 粪便钙卫蛋白; 溃疡性结肠炎; 炎症性疾病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.02.039

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)02-0232-03

The value of combined detection of perinuclear anti neutrophil cytoplasmic antibody and fecal calprotectin in clinical diagnosis of ulcerative colitis

Ma Rong, Li Yuzhong[△], Li Xiaolan

(Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian, Liaoning 116027, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical value of the combined detection of perinuclear anti neutrophil cytoplasmic antibody (pANCA) in the blood and fecal calprotectin (FCP) in diagnosis of ulcerative colitis (UC) and evaluation of its activity. **Methods** A total of 119 patients with UC were selected into the study group, including 68 patients in active stage, 51 patients in remission stage. Other 45 patients with other digestive tract disease were selected into the disease control group. Other 42 healthy people were selected in the normal control group. The level of pANCA in blood was detected by indirect immunofluorescence assay (IIF), the FCP was detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in stool. **Results** The positive rates of pANCA in UC exacerbation and remission period were significant higher than those of the disease control group and the normal control group, the differences were statistically significant ($P<0.05$). The sensitivity and specificity of pANCA detection were 68.90%, 98.85% respectively. FCP level of UC in activity period was significantly higher than that in remission, the difference was statistically significant ($P<0.05$), FCP in UC remission was higher than that in the disease control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$), FCP level in disease control group had no significant difference with the normal control group ($P>0.05$). The sensitivity and specificity rate of FCP detection in diagnosis for UC were 74.79%, 89.65% respectively. The sensitivity and specificity rate of the combined detection were 85.71%, 89.65% respectively. **Conclusion** There is a good correlation between the level of FCP and the activity of UC, and it could distinguish UC activity and remission period. The level of pANCA could be used as a secondary indicators for diagnosis of UC. The combined detection of pANCA and FCP could provide a reliable theoretical basis for activity assessment, treatment effect observation and prediction of recurrence in patients with UC disease.

Key words: antineutrophil cytoplasmic antibody; perinuclear anti neutrophil cytoplasmic antibody; fecal calprotectin; ulcerative colitis; inflammatory disease

近年来,随着人们饮食结构及环境等因素的改变,炎症性肠病的发病率不断提高,而溃疡性结肠炎(UC)是炎症性疾病(IBD)的主要表型^[1],其发病机制尚未明确,诊断主要依靠临床表现结合影像学、内镜和组织病理学检查^[2],病情呈活动期与缓解期相交替,为一组慢性非特异性肠道炎症性疾病。因内镜检查为有创性检查,耗时长,定期检查会给患者带来较大痛苦,所以临幊上迫切需要一种无创、简便、特异度较高的生物标记物来准确诊断及评估UC的活动性,据此调整治疗方案。近期很多文献相继报道,血液标志物核周型抗中性粒细胞胞浆抗体(pANCA)、红细胞沉降率(ESR)与C反应蛋白(CRP)对UC

诊断具有很好的辅助作用,但ESR与CRP特异度较低,并且对疾病活动性判断价值有限。而粪便钙卫蛋白(FCP)优于血清标志物,在反应疾病活动性,预测复发,监测疗效等方面均有重要意义。本研究旨在探讨pANCA与FCP联合检测对UC诊断、疾病活动性评估及有无复发等的应用价值,为临幊提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2010年1月至2013年11月大连医科大学附属二院消化内科就诊并确诊为UC的患者119例纳入

病例组,其中男 70 例,女 49 例,平均(50.1±19.3)岁,所有患者均符合 2010 年世界胃肠病组织关于 IBD 诊断和治疗的实践指南^[3]。采用 Mayo 评分系统将 UC 患者分为缓解期(51 例)和活动期(68 例)。疾病对照组 45 例均为主诉腹痛、腹泻伴发热,后经肠镜检查排除 UC 的患者,其中男 27 例,女 18 例,平均(43.69±17.96)岁,包括 14 例克罗恩病(CD),13 例肠易激综合征,11 例感染性肠病,7 例结肠癌患者。健康对照组为无消化道症状,便常规及潜血阴性,且排除血管炎性疾病,自身免疫性疾病,肺、肾脏疾病的体检健康者 42 例,其中男 25 例,女 17 例,平均(45.4±18.9)岁。3 组被试间一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 荧光显微镜(EUROIMMUN),高速离心机(HC-3518),普通离心机(KDC-40),酶标仪(PHOMO),洗板机,分析天平,真空采血管,EP 管,加样器。FCP 与 pANCA 检测试剂盒由瑞士 Bulmann 公司和德国欧蒙医学实验诊断股份公司提供。

1.3 检测方法 采集空腹静脉血 3 mL 于含促凝剂的真空采血管中,3 000 r/min 离心 5 min,取上层血清检测 pANCA,间接免疫荧光抗体(IIF)方法检测:用甲醇固定中性粒细胞于载玻片上作为抗原基质片,加入 1:10 稀释的血清作用 30 min 后,浸泡洗涤 5 min,加入荧光标记的二抗避光孵育 30 min,浸泡洗涤 5 min,加甘油封片后在荧光显微镜下可显示特定的荧光图形,结果以大于或等于 1:10 为阳性。粪便标本采集需用一次性容器留取,称取 0.5~1.0 g,按 1:4(质量:体积)比例与提取液混合 2 min 后吸取 1.0 mL 于 EP 管中高速离心,吸取上清液 50 μL 加入缓冲液至 1.0 mL,混匀后用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 FCP,按说明书操作,结果判定以大于或等于 50 μg/g 为阳性。

1.4 诊断评价指标的计算 灵敏度 = $a/(a+c)$,特异度 = $d/(d+b)$,阳性预测值 = $a/(a+b)$,阴性预测值 = $d/(d+c)$,阳性拟然比 = 灵敏度/(1-特异度),阴性拟然比 = (1-灵敏度)/特异度。其中 a 为 UC 组阳性例数,b 为疾病对照组及健康对照组阳性例数,c 为 UC 组阴性例数,d 为疾病对照组及健康对照组阴性例数,ANCA 与 FCP 中任一项阳性联合检测中即判为阳性。

1.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据处理及统计学分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料以 n 或率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.01$ 或 $P<0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 三组被试间 pANCA 与 FCP 阳性率比较 pANCA 与 FCP 在 UC 活动期与缓解期阳性率明显高于疾病对照组与健康对照组,比较差异有统计学意义($P<0.01$)。病例组中活动期与缓解期阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。病例组中,两项指标联合检测阳性率高于 pANCA、FCP 单一检测阳性率,比较差异有统计学意义($P<0.05$),pANCA 与 FCP 中任意一项阳性即为联合检测阳性,其中疾病对照组中 pANCA 与 FCP 有 1 例同时阳性。见表 1。

2.2 三组被试间 FCP 水平的比较 UC 活动期 FCP 水平为(1 103.65±301.75)μg/g,明显高于缓解期的(97.65±34.12)μg/g、疾病对照组的(56.47±24.15)μg/g 及健康对照组的(32.17±11.09)μg/g,比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。UC 缓解期又高于疾病对照组,比较差异有统计学意义($P<0.05$),FCP 水平在疾病对照组与健康对照组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 两项指标单独检测与联合检测在 UC 诊断中的评价指标比较 两项指标联合检测的敏感度与特异度分别为 85.71%、89.65%。见表 2。

表 1 三组被试间 pANCA 与 FCP 阳性率比较[n(%)]

组别	n	pANCA	FCP	联合检测
病例组				
UC 活动期	68	48(70.59) [#]	52(76.47) [#]	60(88.23)
UC 缓解期	51	34(66.67) [#]	37(72.54) [#]	42(82.35)
疾病对照组	45	1(2.30)*△	9(21.43)*△	9(21.43)
健康对照组	42	0(0.00)*△	0(0.00)*△	0(0.00)

*: $P<0.01$, 与病例组 UC 活动期比较;△: $P<0.01$, 与病例组 UC 缓解期比较;#: $P<0.05$, 与两项指标联合检测比较。

表 2 两项指标单独检测与联合检测在 UC 诊断中的评价指标比较(%)

项目	敏感度	特异度	阳性预测	阴性预测	阳性拟然比	阴性拟然比
pANCA	68.90	98.85	98.79	69.91	59.91	0.31
FCP	74.79	89.65	90.81	72.22	7.22	0.28
联合检测	85.71	89.65	91.89	82.10	8.28	0.16

3 讨 论

UC 在发展中国家的发病率逐年上升^[4],其生物标志物的检测越来越受到重视^[5],尤其是 FCP 能够较好地反映疾病的活动性,成为目前研究的热点之一^[6]。FCP 是一种重要的炎性反应蛋白^[7],为中性粒细胞胞浆内可溶性蛋白与钙、锌的结合物,具有抗感染作用^[8],且 FCP 浓度与 UC 内镜下疾病活动性评分呈明显正相关^[9],FCP 是一种较敏感的炎症标志物,可以预测炎症程度。本研究结果表明,活动期 UC 患者 FCP 水平明显高于缓解期,比较差异有统计学意义($P<0.01$);缓解期 UC 患者 FCP 水平又高于疾病对照组,比较差异有统计学意义($P<0.05$),可见 FCP 与 UC 患者的疾病活动性密切相关。有文献报道,将 FCP 作为 UC 的筛查,能够减少约 67% 的内镜检查,虽然会带来一定的假阴性,导致 6% 的患者延误诊断^[10],但是 FCP 作为一个无创的生物标志物来评估 UC 疾病活动性价值较大,且 FCP 升高明显早于临床症状的出现,Nakov 等^[11]和 Molander 等^[12]针对 UC 的研究也支持了这一结论,但对 UC 诊断缺乏特异度。

抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)是一组以中性粒细胞和单核细胞胞浆分为靶抗原的自身抗体谱,分为 pANCA、胞浆型抗中性粒细胞胞浆抗体(cANCA)2 个型,ANCA 是目前诊断 UC 最好的血清学指标^[13],尤其是 pANCA,在血管炎性疾病中有诊断价值。IIF 方法至今仍是检测 pANCA 的金标准,有资料显示 ANCA 对 UC 诊断敏感度和特异度分别为 52.1%、97.3%,可用于 UC 的辅助诊断^[14]。本研究结果显示,UC 患者 pANCA 敏感度与特异度分别为 68.9%、98.85%,敏感度虽不高,但特异度强,说明 pANCA 可以鉴别诊断肠易激综合征、感染性肠炎等。UC 活动期与缓解期 pANCA 阳性率分别为 70.59%、66.67%,明显高于疾病对照组的 2.3% 与健康对照组的 0.0%,比较差异有统计学意义($P<0.01$),说明肠黏膜血管炎可能是由 pANCA 介导的。刘新光等^[15]的研究显示,pANCA 阳性的 UC 患者肠黏膜血管炎发生率为 78.95%,明显高于阴性者的 44.4%,其病理组织学

炎症程度亦明显重于pANCA阴性者,炎症程度与血管炎的存在有相关性,同时pANCA在UC活动期与缓解期阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$),结果提示pANCA的阳性率与病变活动性、受累范围、病程等无关,单一的pANCA阳性无法判断UC是否活动,即pANCA检测对于UC病情活动性的监测及预测病情复发的价值不大,但pANCA阳性对UC疾病诊断具有较高的特异度,是辅助诊断疾病的良好血清学指标,但它又不是特异的指标。ANCA阳性可发生在原发性小血管炎、继发性血管炎、风湿病、系统性红斑狼疮及自身免疫性肝病等^[16],所以不能单凭pANCA阳性而诊断UC,但是患UC时pANCA可以表现为阳性,作者将pANCA、FCP两者联合检测其阴性预测值明显高于单一检测阴性预测值,说明二者同时阴性可以排除UC诊断。

综上所述,对UC的诊断目前仍需要内镜下活组织检查进行确诊,虽然血液pANCA是目前公认诊断UC最好的免疫学指标,但因其敏感度不高,不能作为筛选UC的指标,只能作为辅助诊断,并且对于UC活动性评估意义不大。FCP作为无创的生物标志物,虽能较好地评估UC患者疾病的活动性,但它不能诊断UC。作者将pANCA与FCP结合起来进行检测,可以对危险人群进行筛查,即pANCA与FCP同时阴性者可排除UC,对于临床确诊的UC患者,二项指标联合检测可以取代定期肠镜监测,减轻了患者的痛苦,同时也达到了监测病情,指导临床用药,预防UC复发的目的。

参考文献

- Vilela EG, da Gama Torres HO, Martins FP, et al. Evaluation of inflammatory activity in Crohn's disease and ulcerative colitis[J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(9): 872-881.
- Iskandar HN, Ciorba MA. Biomarkers in inflammatory bowel disease: current practices and recent advances[J]. Transl Res, 2012, 159(4): 313-325.
- Bernstein CN, Fried M, Krabshuis JH, et al. World gastroenterology organization practice guidelines for the diagnosis and management of IBD in 2010[J]. Inflamm Bowel Dis, 2010, 16(1): 112-124.
- Danese S, Fiocchi C. Ulcerative colitis[J]. N Engl J Med, 2011, 365(3): 1713-1725.
- Mendoza JL, Abreu MT. Biological markers in inflammatory bowel disease[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2013, 45(1): 109-116.

(上接第231页)

本院采购BEP-3酶免分析仪,从重复性、符合率、检出限、吸光度值、特异度等方面对全自动酶联免疫系统法进行全面验证,与手工操作法结果一致,能够用于临床实验室常规标本检测^[8]。

随着检验医学的发展,检验科自动化设备越来越多,为保证自动化设备结果与手工结果完全一致,特别是定性试验结果的准确度,需要临床实验室与设备、试剂厂家良好的沟通配合。BEP-3是一种多任务单轨道酶免分析仪,珠海丽珠试剂股份有限公司作为设备和试剂供应商,对设备的校准、试验过程的优化、设备与试剂的匹配等方面做了大量工作,在保证试验结果的准确度的同时,工作效率大大提高。

参考文献

- 袁红,谭泰昌,王智斌,等.全自动酶联免疫分析系统的临床应用评价[J].四川医学,2003,24(11): 1119-1120.
- 王新波,魏哲. FAME全自动酶免分析系统的应用[J]. 临床输血

el disease: Practical consideration for clinicians[J]. Gastroenterol Clin Biol, 2009, 33(3): S158-S173.

- Abraham BP, Kane S. Fecal markers: calprotectin and lactoferrin [J]. Gastroenterol Clin North Am, 2012, 41(2): 483.
- Lewis JD. The utility of biomarkers in the diagnosis and therapy of inflammatory bowel disease[J]. Gastroen, 2011, 140(6): 160-181.
- Jurgens M, John JM, Cleynen I, et al. Levels of C-reactive protein are associated with response to infliximab therapy in patients with crohn's disease[J]. Clin Gastroenterol H, 2011, 9(5): 421-425.
- Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann AA, et al. Fecal calprotectin more accurately reflects endoscopic activity of ulcerative colitis than the lichtiger index, c-reactive protein, platelets, hemoglobin, and blood leukocytes[J]. Inflamm Bowel Dis, 2013, 19(2): 332-341.
- Van RF, van de Vijver E, Fidler V. Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis[J]. BMJ, 2010, 341(1): 3369.
- Nakov VN, Penchev PI, Shishenkov MT, et al. Fecal calprotectin for assessment of inflammatory activity, monitoring of therapy and prediction of relapse in ulcerative colitis[J]. J Gastroen Hepatol Res, 2012, 1(11): 297-302.
- Molander P, Bjorkesten CG, Mustonen HA, et al. Fecal calprotectin concentration predicts outcome in inflammatory bowel disease after induction therapy with TNF alpha blocking agents[J]. Inflamm Bowel Dis, 2012, 18(11): 2011-2017.
- Papp M, Norman GL, Altorjay I, et al. Utility of serological markers in inflammatory bowel diseases: gadget or magic? [J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(14): 2028-2036.
- Teresa Arias-Loste M, Bonilla G, Moraleja IA, et al. Presence of anti-proteinase 3 antineutrophil cytoplasmic antibodies (anti-PR3 ANCA) as serologic markers in inflammatory bowel disease[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2013, 45(1): 109-116.
- 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.
- 王兰兰,吴健民.临床免疫学与检验[M].4版.北京:人民卫生出版社,2007:335-336.

(收稿日期:2014-11-15)

与检验,2010,12(2):187-189.

- 谷成祥.全自动酶免疫分析系统检测乙型肝炎标志物的工作模式的优化研究[J].检验医学,2006,21(1): 78.
- 中华人民共和国卫生部.卫药政发(91)第190号 中国生物制品规程[S].北京:中国标准出版社,2010.
- Gulderen YD. ISO 15189 accreditation: requirements for quality and competence of medical laboratories, experience of a laboratory [J]. Clin Biochem, 2009, 42(4/5): 274-278.
- 庄健海,罗娜,莫巧璇,等.自设稀释加样监控程序在凝集法检测梅毒螺旋体抗体中的应用评价[J].实用医学杂志,2013,29(13): 2205-2208.
- 李琦,尚晓泓.全自动酶标仪污染原因及排除方法[J].中国医学装备,2007,4(9): 15-16.
- 李文胜,周伟,柳晓琴,等.全自动酶免仪与半自动酶标仪比对研究[J].中外医疗,2011,30(24): 19.

(收稿日期:2014-06-08)