

抗 ds-DNA 定量检测在系统性红斑狼疮诊断和治疗中的应用观察^{*}

何准发, 郭旺源, 曾光萍, 杨 喜(湖南省郴州市第一人民医院中心医院检验科 423000)

【摘要】 目的 探讨定量检测抗双链脱氧核糖核酸(ds-DNA)在系统性红斑狼疮(SLE)诊断和治疗中的应用价值。**方法** 77 例 SLE 患者(活动期 37 例、缓解期 40 例)、74 例其他结缔组织病患者和 68 例体检健康者血清用间接酶联免疫吸附试验定量检测抗 ds-DNA,以观察比较各组差异;另对其中 36 例接受免疫治疗的活动期 SLE 住院治疗患者于治疗前和治疗后第 3、7、14、20 天各抽血检测抗 ds-DNA、补体 C3、C4、红细胞沉降率(ESR)等,以比较各指标的变化敏感性。**结果** 活动期和缓解期 SLE 患者抗 ds-DNA 浓度与健康对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$),其他结缔组织病患者与健康对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);36 例活动期 SLE 患者接受免疫治疗后的第 3 天抗 ds-DNA 含量较治疗前明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$),C3 和 ESR 治疗后第 14 天较治疗前有明显差别,差异有统计学意义($P < 0.05$),C4 在治疗前后差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 抗 ds-DNA 对 SLE 的诊断具有较高的敏感性和特异性,有效治疗时其下降比 C3、C4 和 ESR 等非特异性炎症指标恢复快而明显,定量检测抗 ds-DNA 更能显示其临床应用价值。

【关键词】 系统性红斑狼疮; 红细胞沉降率; 补体 C3; 补体 C4

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.10.001 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)10-1153-02

Observation of the quantitative determination of anti-double stranded DNA on diagnosis and treatment of systemic lupus erythematosus HE Zhun-fa, GUO Wang-yuan, ZENG Guang-ping, YANG Xi (Department of Clinical Laboratory, The First People's Hospital of Chenzhou, Hunan 423000, China)

【Abstract】 Objective To investigate the value of quantitative determination of anti-double stranded DNA (ds-DNA) for systemic lupus erythematosus (SLE) diagnosis and therapy in clinical application. **Methods** Serum from 77 patients with SLE (37 patients were in active stage, 40 patients were in remission stage), 74 patients of other connective tissue disease and 68 healthy people were collected. Enzyme-linked immune absorbent assay (ELISA) was used to test ds-DNA antibody, and we observed the different results of three groups. The levels of ds-DNA, complement C3, C4, erythrocyte sedimentation rate (ESR) of 36 patients in active stage were tested before and after treatment in 3, 7, 14, 20 days, then we compared the sensitivity of these items. **Results** There was a significant difference between the level of ds-DNA antibody in active, remission SLE groups and that of health controls ($P < 0.01$), there was no significant difference between the level of ds-DNA antibody in other connective tissue group and that of the health controls ($P > 0.05$). The ds-DNA antibody level of 36 patients in active stage decreased 3 days after treatment, the result showed a significant difference ($P < 0.05$), and there was a significant difference of the level of C3 and ESR before and 14 days after treatment ($P < 0.05$). But the result of C4 level before and after treatment showed no significant difference ($P > 0.05$). **Conclusion** ds-DNA antibody has high sensitive and specificity on diagnosing the SLE. And it decreases more quickly than the non-specificity items of C3, C4 and ESR after the effective treatment. So quantitative determination of the ds-DNA antibody has a higher value in clinical application.

【Key words】 systemic lupus erythematosus; erythrocyte sedimentation rate; complement C3; complement C4

系统性红斑狼疮(SLE)被称为“不是癌症的癌症”,严重危害青年女性健康,主要损害肾脏、皮肤、关节、中枢神经系统和血液系统等,可累及全身各个器官,病情严重时危及生命,我国患病率约 70/10 万^[1]。SLE 临床表现多种多样,病情反复发作,迁延不愈,因此寻求特异而敏感的实验室诊断和治疗观察指标,对 SLE 的正确诊断和合理治疗至关重要。目前认为,抗双链脱氧核糖核酸(抗 ds-DNA)是诊断 SLE 的特征性自身抗体,我国将其列入 SLE 诊断标准之一^[2],但是国内大多数临床实验室仅开展定性或半定量检测,又因检测方法的不同和试剂的差异,其敏感性和特异性各家报道不一,难以满足临床对

SLE 诊断和疗效观察的需要。本科室采用酶联免疫吸附试验(ELISA)定量试剂盒检测抗 ds-DNA,经临床应用和实验观察证明,抗 ds-DNA 对 SLE 的诊断尤其在疗效观察和病情评估方面具有十分重要的价值。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 SLE 组共 77 例,其中活动期 SLE 活动指数大于或等于 10,为首诊并住院接受免疫治疗患者 37 例,缓解期 SLE 活动指数小于 10,多数为门诊病例 40 例;男 7 例,女 70 例;年龄 12~67 岁,平均 32.5 岁。其他结缔组织病共 74 例,其中原发性干燥综合征 25 例,混合结缔组织病 11 例,多发性

* 基金项目:郴州市第一人民医院资助科研项目(N2009-027)。

肌炎 7 例,类风湿关节炎 31 例;男 17 例,女 57 例;年龄 20~69 岁,平均 45.2 岁。上述病例来自 2008 年 7 月至 2010 年 6 月本院风湿免疫科、皮肤科和门诊,均符合相应的诊断标准。健康对照组 68 例,其中 14~44 岁 26 例,45~60 岁 23 例,60 岁以上者 19 例;平均年龄 48.5 岁,既往无肝、肾病史及结缔组织病史。

活动性 SLE 患者住院采用的免疫治疗方案主要有以下几种:(1)小剂量地塞米松冲击治疗(第 1 天 45 mg,第 2 天 30 mg,第 3 天 15 mg;连续 3 d 为 1 个冲击疗程,每周 1 次;视病情或不良反应一般冲击 3 次)加常规剂量糖皮质激素(泼尼松)1.0~1.5 mg/(kg·d)。(2)环磷酰胺冲击治疗(8~12 mg/kg,每周 1 次;或成人每周 0.6 g;视病情或不良反应一般冲击 3~4 次)加常规剂量糖皮质激素。(3)在(1)的基础上加环磷酰胺冲击治疗。(4)常规剂量糖皮质激素治疗。其他辅助治疗主要有抗感染、补钙、补钾、保护胃黏膜等,以及糖皮质激素和环磷酰胺引起的不良反应采取的对症治疗。经以上治疗后的患者临床症状均有不同程度缓解,示为显效。

1.2 实验方法 对住院接受免疫治疗的活动期 SLE 患者,于治疗前和治疗后第 3、7、14、20 天各采集血液标本检测抗 ds-DNA、补体 C3、C4、ESR 等指标;对其他实验对象采集就诊时血液标本做抗 ds-DNA 检测。以美国宙斯公司生产的 ELISA 原装定量检测试剂盒检测抗 ds-DNA,美国 ARRAY 全自动特种蛋白检测系统及配套试剂以速率散射比浊法测定 C3、C4,魏氏法测定 ESR。

1.3 统计学方法 用 SPSS11.0 统计软件进行统计,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用计量资料的 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 健康对照组各年龄段抗 ds-DNA 结果比较 健康对照组抗 ds-DNA 含量有随年龄增大而升高的趋势,>60 岁组与 14~44 岁组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结果见表 1。

表 1 健康对照组各年龄段抗 ds-DNA 结果比较($\bar{x} \pm s$)

年龄(岁)	<i>n</i>	抗 ds-DNA 含量(U/mL)
14~44	26	47±48
45~60	23	58±54
>60	19	87±68*

注:与 14~44 岁组比较,* $P < 0.05$ 。

2.2 各组抗 ds-DNA 检测结果 活动期 SLE 和缓解期 SLE 抗 ds-DNA 均明显高于健康对照组,尤以活动性 SLE 升高显著,差异有统计学意义($P < 0.01$);其他各组与健康对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。若以健康对照组单侧检验 97.5%的概率作为阳性判断标准,活动性 SLE 阳性率高达 97.3%(36/37),缓解期 SLE 达 45.0%(18/40),总特异性 95.1%(135/142)。结果见表 2。

表 2 各组抗 ds-DNA 检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	抗 ds-DNA 含量(U/mL)	阳性率[<i>n</i> (%)]
活动期 SLE	37	2 167.0±1 233.0*	36(97.3)
缓解期 SLE	40	194.0±203.0*	18(45.0)
干燥综合征	25	73.0±75.0	2(8.0)
混合结缔组织病	11	80.0±87.0	1(9.1)
多发性肌炎	7	75.0±80.0	0(0.0)
类风湿关节炎	31	85.0±92.0	2(3.2)
健康对照组	68	67.0±59.0	1(1.5)

注:与健康对照组比较,* $P < 0.01$ 。

2.3 活动性 SLE 免疫治疗中抗 ds-DNA 及非特异性炎症指标的变化 36 例抗 ds-DNA 升高的活动期 SLE 患者住院接受免疫治疗过程中,抗 ds-DNA 含量治疗后第 3 天即显著下降,与治疗前比较差异有统计学意义($P < 0.05$),治疗第 20 天有 21 例降至正常水平。C3、ESR 在治疗第 14 天起开始恢复,与治疗前比较差异有统计学意义($P < 0.05$);C4 在本治疗观察期未见明显升高,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 活动性 SLE 患者免疫治疗不同时段各指标变化($\bar{x} \pm s$)

组别	抗 ds-DNA (U/mL)	C3 (mg/L)	C4 (mg/L)	ESR (mm/h)
治疗前	2 217±1 174	286±114	87±25	55±34
治疗后第 3 天	1 803±1 045*	283±117	88±26	54±35
治疗后第 7 天	1 145±687**	305±121	89±25	51±34
治疗后第 14 天	567±454**	353±133*	90±26	47±29*
治疗后第 20 天	289±280**	709±254**	94±27	36±20**

注:与治疗前比较,* $P < 0.05$;** $P < 0.01$ 。

3 讨 论

SLE 的病因机制尚未完全明了,一般认为是自身免疫性炎症性结缔组织病^[3]。抗 ds-DNA 抗体在该病发病机制中起着重要作用,特别是高亲和性 IgG 型抗 ds-DNA 抗体在诱发 SLE 全身性损害(尤其是肾损害)中起重要作用。血液循环或器官原位 DNA 与循环抗 ds-DNA 结合形成抗原抗体复合物后,激活补体,在一些器官(如肾、肺、关节、脑等)引起免疫炎症,造成组织损伤,表现为肾小球肾炎、关节炎、皮肤红斑、神经精神症状和多部位血管炎等^[4]。

通常健康年轻人群抗核抗体(ANA)的阳性检出率低于 4%,但 40 岁以上健康人群的 ANA 随年龄的增大而有所升高,大于 65 岁的老年人群约有 18%的人可检测到低滴度 ANA,因此小于 40 岁的人群中尤其女性其 ANA 低滴度阳性亦有临床意义^[5]。本研究结果表明,抗 ds-DNA 抗体在健康人群中的分布亦与 ANA 类似,有随年龄增大而升高的趋势,尤其是 60 岁以上的老年人群处于较高水平,其中有 1 例 60 岁以上的健康人超过阳性界值,呈较低水平的阳性状态,由此说明抗 ds-DNA 亦与年龄因素有一定的关系。因此,每个临床实验室应针对不同年龄段的人群建立不同的参考值范围。

抗 ds-DNA 检测方法众多,我国以间接免疫荧光法等定性或半定量检测为主,该类方法只有稀释倍数,检测值成倍数呈梯度堆积,不易区分相对较小的抗体浓度变化,结果报告粗糙,灵敏度相对较低,在多数情况下需要具体的实验数据作参考,因此限制了该实验指标的临床应用价值^[6]。ELISA 法具有操作相对简单、快速,结果判读客观准确,每次实验只需同时检测标准品即可对其浓度定量,易于实现仪器自动化操作。由表 2 可见,首诊活动期 SLE 抗 ds-DNA 阳性检出率高达 97.3%,浓度水平高,与其他各组比较差异均有统计学意义;缓解期 SLE 抗 ds-DNA 阳性检出率亦达 45.0%;其他结缔组织病和健康对照组阳性率均在 10.0%以下,且阳性程度弱,抗体浓度相对较低。由此说明 ELISA 法具有较高的敏感性和特异性,应该是目前用于定量检测抗 ds-DNA 最好而实用的检测方法。

多数学者认为,SLE 疾病活动严重程度与抗 ds-DNA 水平密切相关,可作为疗效观察指标^[5-7]。但刘京平等^[8]回顾性横向分析比较 400 例首诊 SLE 患者住院资料,发现活动期 SLE 活动指数与 ANA、抗 ds-DNA 阳性率及浓度(下转第 1156 页)

表 2 两组患者治疗前后血清 β_2 -MG 和 CRP 水平 (mg/L)

组别	n	β_2 -MG		CRP	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
有效组	44	6.59±3.29	2.83±1.05 [△]	12.24±6.83	5.54±2.26 [△]
无效组	16	12.04±2.66	10.42±2.77*	24.76±7.55	20.72±7.02*

注:与治疗前比较,△ $P<0.01$; * $P>0.05$ 。

3 讨 论

β_2 -MG 是人类组织相容性抗原(HLA) I 类分子中非主要组织相容性复合物编码的轻链部分,其相对分子质量小,机体所有有核细胞都能不同程度地产生 β_2 -MG,尤其是以代谢活跃的肿瘤细胞为主,且与肿瘤负荷相关^[3]。由于代谢和 HLA 的分解, β_2 -MG 分离后以游离形式存在于细胞外液^[4]。血清中 β_2 -MG 可以从肾小球毛细血管壁自由滤过,其中 99.9% 以上被近端肾小管重吸收并分解。MM 患者由于瘤细胞增生,细胞周转加速及肾功能损害而致血、尿中 β_2 -MG 升高^[3]。本研究资料显示,MM 组血清 β_2 -MG 和 CRP 水平均明显高于对照组,且随临床分期增加依次增高,由此表明 MM 患者体内 β_2 -MG 和 CRP 明显增加,且 β_2 -MG 和 CRP 水平越高,肿瘤浸润、转移的部位越多,其临床分期越差,进一步证实了 β_2 -MG 和 CRP 可能参与了 MM 的发生和发展,且血清 β_2 -MG 和 CRP 水平可反映 MM 的严重程度及稳定状态。本研究结果提示, β_2 -MG 与 MM 的疾病进展及肿瘤负荷密切相关, β_2 -MG 可作为 MM 患者病情进展和临床分期的重要指标,与国内文献报道一致^[5-7]。

CRP 是一种炎性细胞因子,亦是重要的炎症信号通路,与白细胞介素-6 的活性密切相关,并能反映肿瘤负荷、分期和预后,亦是 MM 的重要的预后因子^[8]。本组资料结果显示,MM 患者 CRP 水平明显升高,尤其在进展期组较稳定期组高,且与生存期的长短密切相关。本研究显示,CRP 可以反映 MM 患者肿瘤负荷,参与了 MM 的发生和发展,对判断疾病进展及严重程度有一定的辅助意义^[9]。

(上接第 1154 页)

水平无明显关联。由此说明同一水平的自身抗体因个体差异在不同个体中引起的疾病严重程度并不一致。本文采用前瞻性纵向观察比较发现,SLE 在有效的免疫治疗中抗 ds-DNA 浓度迅速下降,继之 C3 等非特异性炎性指标逐渐恢复,病情逐渐好转。说明抗 ds-DNA 等自身抗体与 C3 等非特异性炎性指标或疾病的临床表现系前因后果关系,同一个体在自身抗体不同水平上可表现出不同的疾病严重程度,因此纵向观察抗 ds-DNA 浓度的变化方可显示其临床应用价值。

一直以来,C3、C4、ESR 等非特异性炎性指标是 SLE 疗效观察的重要实验指标之一。由表 3 可见,这类指标的变化晚于抗 ds-DNA 10 d 以上,对住院治疗的患者来说,时间稍显过长,疗效敏感性不足。因此,本文认为,在整个治疗过程尤其治疗早期应以抗 ds-DNA 作为重点观察指标,在治疗的中、后期辅以 C3 等非特异性炎性指标及临床表现进行观察,以进一步评估疾病的恢复程度。

综上所述,抗 ds-DNA 定量检测是 SLE 诊断、治疗、病情评估等更为有效的特异性实验指标。

参考文献

[1] 龙武彬,杨董巍. 系统性红斑狼疮患者抗 ds-DNA 抗体检

综上所述,血清 β_2 -MG 和 CRP 可作为 MM 患者的临床分期、疗效监测和预后判断的辅助指标。

参考文献

[1] 王京中,赵湜. 多发性骨髓瘤患者血清 β_2 -微球蛋白和 C-反应蛋白水平的测定及其与病程和预后的关系[J]. 临床内科杂志,2006,23(10):705.
[2] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效判断标准[M]. 北京:科学出版社,2008:232-233.
[3] 葛祥花. 多发性骨髓瘤患者血清 β_2 -微球蛋白、C 反应蛋白水平的测定及临床意义[J]. 临床血液学杂志,2003,16(5):242-243.
[4] 吴燕明,丁刚,丁厚明. 多发性骨髓瘤血清 β_2 -微球蛋白检测的临床意义[J]. 安徽医学,2007,28(6):528-529.
[5] 邓正辉,李龙平,王新华,等. 多发性骨髓瘤患者血清 β_2 -微球蛋白和高敏 C 反应蛋白检测的临床意义[J]. 中国医疗前沿,2008,3(6):94-95.
[6] 郑源海,林元峰,梅序桥. 多发性骨髓瘤患者血清 β_2 -微球蛋白检测的临床意义[J]. 检验医学与临床,2009,6(4):252.
[7] 王英,罗晓红,劳伟思,等. 多发性骨髓瘤患者 β_2 -微球蛋白测定的临床意义[J]. 中国热带医学,2007,7(2):248-249.
[8] Alexandrakis MG, Passam FH, Ganotakis ES, et al. The clinical and prognostic significance of erythrocyte sedimentation rate(ESR), serum interleukin-6 (IL-6) and acute phase protein levels in multiple myeloma[J]. Clin Lab Haematol,2003,25(1):41-46.
[9] 沈小德,张云霞. 多发性骨髓瘤患者 β_2 -微球蛋白乳酸脱氢酶 C 反应蛋白的检测及临床意义[J]. 中国药物与临床,2010,10(6):720-721.

(收稿日期:2010-12-26)

测及其临床意义[J]. 临床内科杂志,2009,26(4):276.
[2] 吴志华. 皮肤性病学[M]. 广州:广东科技出版社,2008:308-315.
[3] 龙武彬,朱静. SLE 患者 4 种炎症指标检测的临床意义[J]. 西部医学,2009,21(7):1103-1104.
[4] 漆晓玲,聂滨,余庆贞. 补体 C3 与 4 种自身抗体在诊断 SLE 中的意义[J]. 中国现代医生,2009,47(30):96-97.
[5] 王兰兰. 自身抗体检测的应用与质量保障原则[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(10):987-990.
[6] 俞颖,范永升,温成平,等. 间接免疫荧光法和酶联免疫吸附法检测血清中抗双链 DNA 抗体在系统性红斑狼疮中的诊断价值[J]. 中国药物与临床,2010,10(6):719-720.
[7] 王梅芳. 抗 ds-DNA 抗体在系统性红斑狼疮中的临床意义[J]. 中国卫生检验杂志,2010,20(3):606-607.
[8] 刘京平,林有坤,何钠. 首诊系统性红斑狼疮住院患者 ANA、抗 ds-DNA 与病情活动的研究[J]. 中国皮肤性病学杂志,2008,22(1):26-28.

(收稿日期:2010-12-14)