doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2014.07.017

论著·临床研究

川崎病患儿血清抗内皮细胞抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体检测的临床意义

赵建美　王晓华

（南通大学附属医院儿科，江苏 南通　226001）

［摘要］　**目的**　探讨抗内皮细胞抗体（AECA）和抗中性粒细胞胞浆抗体（ANCA）在川崎病（KD）及其冠状动脉损害（CAL）中的临床意义。**方法**　应用酶联免疫吸附试验定量检测 42 例 KD 患儿急性期、缓解期血清 AECA 和 ANCA 水平，并行心脏超声心动图了解 CAL 发生情况。随机选取 20 例因呼吸道感染发热患儿和 15 例外科择期手术患儿分别作为发热对照组和普通对照组。**结果**　急性期 KD 组 AECA、ANCA 水平均显著高于两对照组（$P<0.01$）。与急性期相比，KD 组缓解期血清 ANCA 水平下降（$P<0.01$），但仍高于发热对照组和普通对照组（$P<0.05$）。伴有 CAL 的 KD 患儿急性期血清 ANCA 水平明显高于无 CAL 患儿（$P<0.01$），且伴 CAL 患儿血清 ANCA 与左冠脉内径与主动脉瓣环内径比值呈正相关关系（$r=0.88$，$P<0.01$）。**结论**　AECA、ANCA 可能参与了 KD 血管炎及其 CAL 的发生。急性期血清 AECA、ANCA 对早期难以确诊的 KD 有参考价值，ANCA 水平异常增高对 CAL 有一定的预警价值。　［中国当代儿科杂志，2014，16（7）：740-744］

［关键词］　川崎病；抗内皮细胞抗体；抗中性粒细胞胞浆抗体；冠状动脉损害；儿童

Clinical significance of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies and anti-endothelial cell antibodies in children with Kawasaki disease

ZHAO Jian-Mei, WANG Xiao-Hua. Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong, Jiangsu 226001, China (Email: 2687084388@qq.com)

Abstract: Objective　To study the clinical significance of anti-endothelial cell antibodies (AECA) and anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in Kawasaki disease (KD) and its complication of coronary arterial lesions (CAL). **Methods**　Forty-two children with KD, as well as 20 children with fever caused by respiratory infection (fever control group) and 15 children for selective operation (normal control group), were included in the study. Serum levels of AECA and ANCA were measured using enzyme-linked immunosorbent assay. Echocardiography was performed to evaluate CAL in KD patients. **Results**　During the acute phase, the KD patients had significantly higher serum AECA and ANCA levels than the two control groups ($P<0.01$). The KD patients had reduced serum ANCA levels ($P<0.01$) in the remission phase, but they were still higher than those of the two control groups ($P<0.05$). Among KD patients, those with CAL had significantly higher ANCA levels than those without CAL ($P<0.01$) in the acute phase. There was a positive correlation between serum ANCA levels and the ratio of left coronary artery to aortic annular diameter in KD patients with CAL ($r=0.88$, $P<0.01$). **Conclusions**　AECA and ANCA may be involved in vasculitis and CAL among children with KD. Serum levels of AECA and ANCA may be used as indicators for the diagnosis of suspected KD cases in the acute phase. Elevated ANCA level has a certain predictive value for CAL.

[Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(7): 740-744]

Key words: Kawasaki disease; Anti-endothelial cell antibody; Anti-neutrophil cytoplasmic antibody; Coronary artery lesion; Child

［收稿日期］2013-11-02；［接受日期］2014-02-26
［基金项目］江苏省卫生厅面上科研项目（H201423）；南通市社会事业科技创新与示范计划（HS2012048）。
［作者简介］赵建美，女，博士，副教授，副主任医师。

抗内皮细胞抗体（anti-endothelial cell antibodies, AECA）和抗中性粒细胞胞浆抗体（anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA）都是存在于循环中的自身抗体，在多种与血管炎有关的免疫性疾病中有重要作用，被视为原发性小血管炎特异的血清标志[1-2]。川崎病（Kawasaki disease, KD）是一种病因不明的全身中小血管炎性疾病，临床表现多样且个体差异大，可诱发冠状动脉损害（CAL）等并发症。如何及早确诊 KD、早期治疗以减少 CAL 的发生一直是研究的热点。近年来，国内外有关于 AECA、ANCA 在 KD 血管炎及其 CAL 中的研究，但各家报道存在较大争议。为此，本研究采用酶联免疫吸附试验（ELISA）定量检测了 KD 患儿血清 AECA 和 ANCA 水平，以初步探讨 AECA、ANCA 在 KD 中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2012 年 6 月至 2013 年 9 月我院儿科诊断明确的 42 例 KD 患儿作为研究对象，其中男 25 例，女 17 例，平均年龄 24 ± 20 个月（范围 2 个月至 6 岁）。所有病例均符合第七次世界小儿 KD 研讨会修订的诊断标准[3]。KD 患儿入院时病程最短 3 d，最长 11 d，平均 6.6 ± 1.7 d。

根据心脏超声心动图结果将 KD 患儿分为并发 CAL 组（CAL 组）和未并发 CAL 组（NCAL 组）。判断 CAL 的标准为：（1）冠状动脉内膜回声增强；（2）冠状动脉内径超过邻近节段内径的 1.5 倍；（3）冠状动脉内径 / 主动脉瓣环内径比值 >0.2[4]。本研究中 16 例 KD 患儿发生 CAL：2 例为单纯冠状动脉内膜回声增强；其余 14 例冠状动脉内径 / 主动脉瓣环内径比值 >0.2（0.21~0.34 之间），其中 3 例伴管壁内膜回声增强；1 例同时有冠状动脉内径超过邻近节段内径的 1.5 倍；另有 5 例左冠状动脉内径增宽（3.0~3.6 mm）。CAL 和 NCAL 两组在性别、年龄、身高方面差异均无统计学意义（P>0.05），见表 1。

随机选择同期住院的发热（体温≥ 38.5℃）患儿 20 例作为发热对照组，其中男 13 例，女 7 例，平均年龄 25 ± 22 个月（范围 4 个月至 7 岁）。本组包含急性上呼吸道感染 4 例，支气管炎 6 例和普通肺炎 10 例。患儿在采血前除抗生素和水杨酸类退热药外未接受其他药物治疗。另外，随机选择同期儿外科择期手术患儿 15 例作为普通对照组，其中男 9 例，女 6 例，平均年龄 31 ± 23 个月（7 个月至 7 岁）。本组包含隐睾 4 例和腹股沟斜疝 11 例，已排除有 KD 及心血管相关疾病的患儿。3 组患儿在年龄、性别方面差异均无统计学意义（P>0.05）。

表 1 两组 KD 患儿的一般资料比较

组别	n	男 / 女（例）	年龄（$\bar{x} \pm s$, 月）	身高（$\bar{x} \pm s$, cm）
NCAL 组	26	15/11	24 ± 21	83 ± 18
CAL 组	16	10/6	24 ± 20	82 ± 21
$t(\chi^2)$ 值		(0.095)	0.11	0.12
P 值		0.75	0.912	0.908

1.2 标本采集

分别于 KD 急性期（起病第 5~9 天）及缓解期（治疗后 7~10 d，起病第 14~17 天）采集外周静脉血各 2 mL，2000 rmp 20 min 离心后取血清，保存于 –80℃冰箱待测。对照组患儿只采血一次，标本处理方法同上。

1.3 血清 AECA 和 ANCA 的检测

人 AECA、ANCA ELISA 试剂盒均购自美国 R&D 公司，严格按照试剂盒说明书的步骤操作，根据试剂盒中的标准品进行定量检测。

1.4 心脏超声心动图检查

分别于 KD 病程第 7~10 天和第 21~25 天应用 iE33 心脏彩超仪行心脏超声心动图检查，重点探查左、右冠状动脉的起始部及其走行，测量冠状动脉起始部内径及主动脉瓣环内径，并检测受累冠状动脉的血流情况，数据存储后供脱机分析。有资料表明冠状动脉与主动脉瓣环内径比值范围较窄，且不受年龄、性别、身高、体重和体表面积等因素的影响，以冠状动脉与主动脉瓣环内径比值为参考判断 CAL 的发生情况更为准确[5]。而且 KD 中受累的冠状动脉以左冠状动脉主干最为常见，故本研究中通过左冠脉内径与主动脉瓣环内径（LCA/AoA）比值（两次心脏彩超的最高值）来间接反映 CAL 的严重程度。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据处理分析。

计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，两组间比较采用 t 检验，多组间比较采用单因数方差分析，多组间两两比较采用 SNK 检验法；相关分析采用直线相关分析。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清 AECA 和 ANCA 水平

普通对照组和发热对照组血清 AECA、ANCA 水平均较低，两组比较差异无统计学意义（P>0.05）。急性期 KD 组 AECA、ANCA 水平均显著高于两对照组（P<0.01）。与急性期相比，KD 组缓解期血清 AECA 水平下降，但差异无统计学意义（P>0.05）；ANCA 水平显著下降，差异有统计学意义（P<0.01），但均高于发热对照组和普通对照组（P<0.05），见表 2。

表 2 各组血清 AECA 和 ANCA 水平的比较 （$\bar{x} \pm s$）

组别	n	AECA 浓度 (pg/mL)	ANCA 浓度 (ng/mL)
普通对照组	15	333 ± 145	1.4 ± 0.8
发热对照组	20	527 ± 223	2.1 ± 0.6
KD 急性期	42	905 ± 277[a,b]	4.1 ± 1.6[a,b]
KD 缓解期	42	742 ± 278[a,b]	3.0 ± 1.0[a,b,c]
F 值		21.31	24.21
P 值		<0.001	<0.001

注：a 为与普通对照组比较，P<0.05；b 为与发热对照组比较，P<0.05；c 为与 KD 急性期比较，P<0.01。

急性期 CAL 组 AECA 水平与 NCAL 组相比差异无统计学意义（P>0.05），而 CAL 组血清 ANCA 水平明显高于 NCAL 组（P<0.01）。缓解期血清 AECA、ANCA 水平在 CAL 组与 NCAL 组间差异均无统计学意义（P>0.05）。见表 3。

2.2 AECA 和 ANCA 与 CAL 严重程度的相关性

CAL 组 LCA 内径及 LCA/AOA 内径比值均高于 NCAL 组，差异有统计学意义（P<0.05），见表 4。CAL 组血清 AECA 与 LCA 内径无相关性（r=0.27，P=0.16），与 LCA/AoA 比值也无相关性（r=0.35，P=0.09）；CAL 组血清 ANCA 与 LCA 呈正相关（r=0.78，P<0.01），与 LCA/AoA 比值也呈正相关性（r=0.88，P<0.01）。

表 3 CAL 组与 NCAL 组血清 AECA 和 ANCA 水平的比较 （$\bar{x} \pm s$）

组别	n	AECA 浓度 (pg/mL)		ANCA 浓度 (ng/mL)	
		急性期	缓解期	急性期	缓解期
NCAL 组	26	840 ± 270	681 ± 284	3.5 ± 1.2	2.8 ± 0.8
CAL 组	16	1 009 ± 264	842 ± 246	5.1 ± 1.6	3.3 ± 1.2
t 值		1.99	1.87	3.28	1.58
P 值		0.053	0.07	0.003	0.12

表 4 CAL 组与 NCAL 组冠脉内径比较 （$\bar{x} \pm s$）

组别	n	LCA (mm)	LCA/AoA 比值	身高 (cm)
NCAL 组	26	2.1 ± 0.4	0.16 ± 0.02	83 ± 18
CAL 组	16	2.5 ± 0.6	0.26 ± 0.04	82 ± 21
t 值		2.50	7.59	0.12
P 值		0.02	<0.001	0.908

2.3 血清 AECA 与 ANCA 相关性

KD 患儿急性期血清 AECA 与 ANCA 水平无相关关系（r=0.10，P=0.27）。

3 讨论

KD 是儿科常见的以血管炎为主要病变的小儿发热出疹性疾病。近期，日本全国性调查发现 70% 的 KD 患儿年龄小于 3 周岁，而且 KD 的年发病率不断升高 [6]。KD 最严重的并发症是 CAL，急性期有高达 35% 的患儿存在冠状动脉扩张 [7]，大多数患儿扩张的冠状动脉可自然恢复，但约 4% 的患儿并发的 CAL 在发病后 1 年仍持续存在，最终遗留冠状动脉狭窄，至成人期可能演变成冠状动脉粥样硬化或者心肌梗死 [8]。因此，及早确诊 KD、早期发现 CAL 并正确治疗具有重要的临床意义。

AECA 是 B 淋巴细胞产生的非特异性的自身抗体，能够识别内皮细胞表面的多种抗原成分，引起免疫反应。在白塞病、系统性红斑狼疮等系统性血管炎中，AECA 不仅是血管炎的血清学标志，更是一种致病抗体 [1]。KD 是系统性中小血管炎性疾病，免疫系统的高度活化及免疫损伤性血管炎是 KD 的显著特征。早期研究显示 AECA 在 KD 患儿中的检出率在 26% ~72%之间不等，AECA 水平

与疾病的活动性相关，治疗后 AECA 水平下降[9]。本研究通过定量检测各组血清 AECA 水平，发现 KD 组血清 AECA 水平显著高于两对照组，但 CAL 组与 NCAL 组之间无明显差异，CAL 组血清 AECA 与 LCA/AoA 比值也无相关性。这提示 AECA 水平增高对早期难以确诊的 KD（如不完全性 KD）可能有指导意义，但预测是否并发 CAL 的价值有限。

现在观点认为内皮细胞功能异常是 KD 血管炎发生和随后并发 CAL 的重要环节。尽管目前对 AECA 靶抗原认识不足，其在 KD 中的致病机制尚不清楚，但它对血管内皮细胞的损伤是必然存在的[10]。AECA 与内皮细胞结合后可以通过以下途径介导血管内皮损伤和功能障碍：（1）上调内皮细胞表面粘附分子的表达，吸引单核细胞、中性粒细胞的迁移和聚集；（2）增加炎性细胞因子、趋化因子的合成，活化内皮细胞；（3）通过补体或抗体的细胞毒性作用引起内皮细胞的损伤和溶解；（4）与磷脂或者热休克蛋白 60 结合诱导内皮细胞凋亡；（5）刺激内皮细胞产生血管性假血友病因子、组织因子，促进血栓形成[1,11-12]。所以，本研究认为 AECA 介导内皮损伤和功能异常是其在 KD 血管炎及 CAL 中的作用机制之一。

ANCA 是一组以中性粒细胞胞浆成分，如蛋白水解酶 3、髓过氧化物酶、弹性蛋白酶等为靶抗原的自身抗体。目前临床上血清 ANCA 已被视为原发性小血管炎特异的标志物，其作用机制主要表现为介导中性粒细胞的活化、释放活性氧、细胞因子、蛋白溶解酶等毒性介质，诱发内皮细胞损伤，最终导致局部血管功能异常[13-14]。多数学者认为 ANCA 的检测范围和临床意义并不局限于韦伯格纳肉芽肿和多动脉炎，而是涉及所有系统性血管炎发展的基本过程。本研究结果显示：KD 急性期 ANCA 水平显著高于两对照组，CAL 组升高更明显，CAL 组血清 ANCA 与 LCA/AoA 比值呈正相关关系；缓解期 ANCA 水平降低，这提示 ANCA 与 KD 病情活动有关，与 CAL 的发生也有一定相关性。血清 ANCA 可能作为一个重要的病理因素参与了 KD 血管炎及其后期 CAL 的发生，检测血清 ANCA 水平对 CAL 的发生也有预警意义。这与近期国内一项研究观点一致[15]。

AECA 和 ANCA 作为外周血中非特异性的自身抗体，都具有损伤血管内皮、诱发血管炎的作用，但本研究并没有发现在 KD 急性期两者存在相关性，这可能与它们各自不同的致病机制有关。本研究还发现 KD 急性期血清 AECA、ANCA 均显著高于发热对照组，且 AECA、ANCA 水平在发热对照组与普通对照组之间差异无统计学意义，这表明 AECA、ANCA 作为自身免疫疾病的血清学指标，仅对免疫性炎症（而不是所有的炎症反应）有参考价值。另外，在 KD 缓解期（治疗后 7~10 d，即起病 14~17 d），本研究观察到血清中 AECA、ANCA 浓度与急性期相比虽有降低，但仍高于发热对照组和普通对照组，提示在 KD 病程的亚急性期末和恢复早期，全身血管炎引起的临床症状虽已逐渐消失，但血沉和血小板等指标尚未完全恢复正常，AECA、ANCA 仍异常增高，对血管内皮的损害作用持续存在，此时仍可能发生 CAL，临床需重视 KD 恢复期的超声心动图检查。

综上所述，本研究发现 KD 急性期自身抗体 AECA、ANCA 水平升高，ANCA 在并发 CAL 时升高更为显著，这表明两者都参与了 KD 血管炎性损伤的发生，ANCA 可能在 CAL 中有重要作用，检测血清 ANCA 水平对于早期预测 CAL 具有一定指导价值。

［参　考　文　献］

[1] Guilpain P, Mouthon L. Antiendothelial cells autoantibodies in vasculitis-associated systemic diseases[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2008, 35(1-2): 59-65.

[2] Hagen EC, Daha MR, Hermans J, et al. Diagnostic value of standardized assays for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in idiopathic systemic vasculitis. EC/BCR Project for ANCA Assay Standardization[J]. Kidney Int, 1998, 53(3):743-753.

[3] Japaness Circulation Society Joint Research Group. Guidelines for diagnosis and management of cardiovascular sequelae in Kawasaki disease[J]. Pediatr Int, 2005, 47(6): 711-732.

[4] Belay ED, Maddox RA, Holman RC, et al. Kawasaki syndrome and risk factors for coronary artery abnormalities: United States, 1994-2003[J]. Pediatr Infect Dis J, 2006, 25(3): 245-249.

[5] 黄国英 , 吴瑶 . 川崎病冠状动脉病变的危险分层与处理对策 [J]. 临床儿科杂志 , 2010, 28(7): 611-613.

[6] Kobayashi S, Fujimoto S, Takahashi K, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis, large vessel vasculitis and Kawasaki disease in Japan[J]. Kidney Blood Press Res, 2010, 33(6): 442-455.

[7] Kuo HC, Yu HR, Juo SH, et al. CASP3 gene single-nucleotide polymorphism (rs72689236) and Kawasaki disease in Taiwanese children[J]. J Hum Genet, 2011, 56(2): 161-165.

[8] Newburger JW, Takahashi M, Gerber MA, et al. Diagnosis, treatment, and long-term management of Kawasaki disease: a statement for health professionals from the Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis and Kawasaki Disease, Council on Cardiovascular Disease in the Young, American Heart Association[J]. Circulation, 2004, 110(17): 2747-2771.

[9] Grunebaum E, Blank M, Cohen S, et al. The role of anti-endothelial cell antibodies in Kawasaki disease - in vitro and in vivo studies[J]. Clin Exp Immunol, 2002, 130(2): 233-240.

[10] Karasawa R, Fujieda M, Yudoh K. Detection of specific markers: our research on the marker in patients with Kawasaki disease[J]. Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi, 2010, 33(4): 207-213.

[11] Lin YS, Lin CF, Lei HY, et al. Antibody-mediated endothelial cell damage via nitric oxide[J]. Curr Pharm Des, 2004, 10(2): 213-221.

[12] 梁顺姬 , 吴媚 , 张曙影 , 等 . 川崎病中 IgM-AECA 通过 JNK、p38 及 NF-KB 诱导内皮细胞 ICAM-1 的表达 [J]. 中国现代医学杂志 , 2012, 22(4): 34-39.

[13] Jennette JC, Xiao H, Falk RJ. Pathogenesis of vascular inflammation by anti-neutrophil cytoplasmic antibodies[J]. J Am Soc Nephrol, 2006, 17(5): 1235-1242.

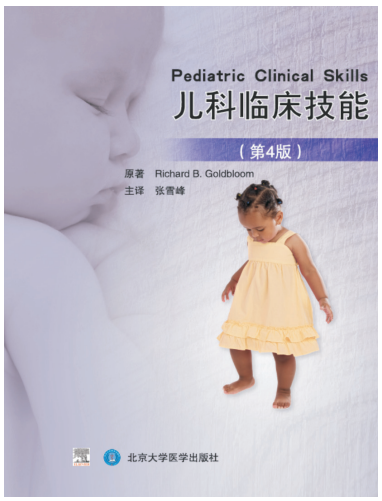
[14] Brogan PA. What's new in the aetiopathogenesis of vasculitis?[J]. Pediatr Nephrol, 2007, 22(8): 1083-1094.

[15] 江志贵 , 刘玲 , 杨翠艳 , 等 . 抗中性粒细胞抗体在川崎病诊断中的价值 [J]. 中国当代儿科杂志 , 2012, 14(1): 45-47.

（本文编辑：邓芳明）

·消息·

《儿科临床技能》征订通知



Dr. Goldbloom 主编的《儿科临床技能》自 1992 年出版后深受各国儿科医生的喜欢，迄今已发行第 4 版。该书有别于其他教科书传统的书写方法，把临床技能、临床思维培养作为书写的主线，集中阐述了与家长及患儿交流沟通、采集病史以及准确体格检查的技能，并应用大量病例资料进行诊断分析，以提高年轻医生的临床思维能力。

《儿科临床技能》一书是国内首版，本书不但涵盖了儿科临床常用知识，还在新版中增加了儿童青少年心理问题、儿童行为异常和儿童虐待等目前儿科界日益增加的新的健康问题。该书内容通俗易懂，是一本适合医学生和儿科临床医师学习、工作的良师益友。

本书已于 2013 年 12 月由北京大学医学出版社出版。由北京解放军第 302 医院新生儿诊疗中心主任张雪峰主译。ISBN：978–7–5659–0670–1，定价：125 元。购书信息：（1）零售：北京大学医学出版社读者服务部 010-62046414 或当当网、亚马逊；（2）10 本以上可直接联系北京大学医学出版社发行部周老师，电话：010-82802611。

北京大学医学出版社
2014 年 1 月