

论著·临床研究

生物学标志物对儿童过敏性紫癜诊断价值的评价

穆云¹ 孙朝³ 王亮² 孟冬梅⁴ 孙续国²

- (1. 天津市儿童医院检验科, 天津 300074;
2. 天津医科大学医学检验学院, 天津 300203;
3. 天津市北洋医学检测仪器与技术研究所, 天津 300300;
4. 天津市儿童医院免疫科, 天津 300074)

[摘要] **目的** 筛选辅助检查儿童过敏性紫癜(HSP)的生物学标志物,并用ROC曲线评价各生物学标志物对诊断HSP的价值。**方法** 选取2012年4月至2014年3月诊断为HSP的127例患儿为研究对象,另选取健康儿童127例为对照组,检测两组儿童血清淀粉样蛋白A(SAA)、白细胞介素(IL)-6、免疫球蛋白(Ig)A、IgG、IgM、IgE、C反应蛋白(CRP)、白细胞(WBC)计数、补体(C3、C4)、抗链球菌溶血素O(ASO)和血清铁蛋白(Fer)等12项生物学指标水平。受试者工作特征曲线(ROC)分析所筛选标志物对HSP的诊断价值。**结果** HSP患者SAA、IL-6、CRP、WBC、IgA和IgM等6项指标水平显著高于对照组($P<0.05$)。其中5项指标(SAA、IL-6、WBC、IgA和IgM)的ROC曲线下面积(AUC)均 >0.7 ,且差异有统计学意义($P<0.05$)。当SAA最佳临界值为 $3.035\mu\text{g/mL}$ 时,敏感度为95.1%,特异度为90.2%;当IgA为 1579.5mg/L 时,敏感度为75.6%,特异度为85.4%;当IgM为 922.5mg/L 时,敏感度为72.3%,特异度为82.4%;当WBC计数为 $8.850\times 10^9/\text{L}$ 时,敏感度为78.0%,特异度为70.7%;当IL-6为 7.035pg/mL 时,敏感度为63.4%,特异度为80.5%。**结论** SAA、IL-6、WBC、IgA和IgM对诊断HSP具有一定的诊断价值,SAA的诊断价值最高。

[中国当代儿科杂志, 2015, 17(9): 918-921]

[关键词] 过敏性紫癜;标志物;血清淀粉样蛋白A;ROC曲线;儿童

Values of different biomarkers for diagnosis of Henoch-Schönlein purpura in children

MU Yun, SUN Chao, WANG Liang, MENG Dong-Mei, SUN Xu-Guo. Department of Medical Laboratory, Tianjin Children's Hospital, Tianjin 300074, China (Sun X-G, Email: sunxuguo@tjmu.edu.cn)

Abstract: Objective To screen biomarkers which can be used as an auxiliary method in the diagnosis of Henoch-Schönlein purpura (HSP) and to evaluate their diagnostic values by receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. **Methods** A total of 127 children diagnosed with HSP between April 2012 and March 2014 were included in the HSP group and an equal number of healthy children were included in the control group. Twelve parameters, i.e., serum amyloid protein A (SAA), interleukin-6 (IL-6), immunoglobulins (IgA, IgG, IgM, and IgE), C-reactive protein (CRP), white blood cell (WBC) count, complements C3 and C4, anti-streptolysin O, and ferritin, were analyzed. The values of the screened biomarkers for diagnosis of HSP were assessed by ROC curve analysis. **Results** The HSP group had significantly higher levels of SAA, IL-6, CRP, WBC, IgA, and IgM than the control group ($P<0.05$). The areas under the ROC curve of SAA, IL-6, WBC, IgA, and IgM for the diagnosis of HSP were higher than 0.7 ($P<0.05$). The optimal cut-off values of SAA, IgA, IgM, WBC, and IL-6 for the diagnosis of HSP were $3.035\mu\text{g/mL}$, 1579.5mg/L , 922.5mg/L , $8.850\times 10^9/\text{L}$, and 7.035pg/mL , respectively; the corresponding sensitivities of the optimal cut-off values for the diagnosis of HSP were 95.1%, 75.6%, 72.3%, 78.0%, and 63.4%, respectively, and the corresponding specificities were 90.2%, 85.4%, 82.4%, 70.7%, and 80.5%, respectively. **Conclusions** SAA, IgA, IgM, WBC, and IL-6 are valuable biomarkers for clinical diagnosis of HSP and among them SAA seems to be the best one.

[Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(9): 918-921]

Key words: Henoch-Schönlein purpura; Biomarker; Serum amyloid protein A; ROC curve; Child

[收稿日期] 2015-01-21; [接受日期] 2015-03-15

[作者简介] 穆云,女,硕士,检验技师。

[通信作者] 孙续国,男,教授。

过敏性紫癜^[1-2] (Henoch-Schönlein purpura, HSP) 是儿童期最常见的一种由 IgA 介导的血管变态反应性、出血性疾病。它是一种多系统疾病, 通常累及皮肤、关节、胃肠道及肾脏, 但其他器官也有可能受累。临床表现为黏膜或皮肤之下的瘀斑与瘀点, 且伴有一定的腹痛、关节肿痛及蛋白尿等。目前 HSP 的病因与发病机制尚不明确, 文献报道^[3] 称 HSP 发病主要与感染、药物及食物等因素有关, 经体液免疫、细胞免疫、细胞因子、免疫球蛋白等介质, 导致机体诱发 HSP, 但是 HSP 的发病机制还未完全清楚。目前, 临床实验室辅助检测标志物缺乏统一标准, 亟需筛选出实验辅助诊断指标, 基于已经报道 HSP 发病相关病理生理因素, 本研究筛选反应急性感染指标 [血清淀粉样蛋白 A (SAA)、C 反应蛋白 (CRP)、白细胞介素 (IL)-6、白细胞 (WBC) 计数]、免疫标志物指标 [免疫球蛋白 (Ig) A、IgM、IgE、IgG、抗链球菌溶血素 O (ASO)] 及血管透性相关标志物 [补体 (C3、C4) 及血清铁蛋白 (Fer)], 对这些指标进行 ROC 曲线分析, 评价各项生物学标志物对辅助检查 HSP 的价值, 并同时确定其在辅助诊断 HSP 时的敏感性、特异性及最佳临界值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2012 年 4 月至 2014 年 3 月于天津市儿童医院就诊的 127 例 HSP 患儿为研究对象, 其中男 68 例, 女 59, 年龄 2~14 岁, 中位年龄 7.3 岁; 另选取在本院体检的健康儿童 127 例为对照组, 其中男 65 例, 女 62 例, 年龄 2~13 岁, 中位年龄 7.2 岁。所有患儿入选标准均符合《儿科学》第 8 版 HSP 的诊断标准^[4]。

1.2 采集标本

两组儿童于清晨空腹采集静脉血 2~3 mL, 离心后取上层血清保存于 -80℃ 统一进行测定。

1.3 方法

利用罗氏 COBASE601 电化学发光检测仪 (罗氏公司, 德国) 测定血清 IL-6 和 IgE, 试剂盒购自罗氏诊断产品 (上海) 有限公司。利用贝克曼库

尔特 IMMAGE 800 特定蛋白分析系统 (贝克曼库尔特有限公司, 美国) 测定 IgA、IgM、IgG、补体 (C3、C4) 及 ASO, 试剂盒购自美国贝克曼库尔特有限公司。利用 Unicel DXI 800 免疫分析系统 (贝克曼库尔特有限公司, 美国) 检测 Fer, 试剂盒购自美国贝克曼库尔特有限公司。应用希森美康 XS-800i 全自动五分类血液分析仪进行全血 WBC 计数分析。利用 Nycocard READER II 金标定量仪 (挪威 Axis-Shield PoC AS 公司) 检测血清 CRP, 试剂盒购自 Axis-Shield PoC AS 公司。采用 ELISA 法测定 SAA 含量, 检测试剂盒购自上海鑫乐生物科技有限公司。检测步骤按照各试剂盒说明书进行。

1.4 统计学分析

应用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行统计学分析, 计量资料以中位数 (四分位间距) [$M (P_{25}, P_{75})$] 表示, 两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。采用受试者工作特征曲线 (ROC) 分析筛选出的生物学指标对 HSP 的诊断价值, 当曲线下面积 (AUC) 在 0.5 以下时无诊断价值, 0.5~0.7 时有较低准确性, 0.7~0.9 时有一定准确性, 面积在 0.9 以上时有较高准确性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清各生物学标志物水平分析

分析两组间 12 项生物学标志物含量, 结果发现 HSP 组 IL-6、SAA、IgA、IgM、CRP 和 WBC 等 6 项标志物含量明显高于对照组 ($P < 0.05$), 而 IgE、IgG、ASO、C3、C4 及 Fer 等 6 项指标水平与对照组比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 ROC 曲线分析各项生物学标志物对 HSP 的诊断价值

ROC 曲线分析显示, HSP 患者 SAA、IL-6、WBC、IgA 和 IgM 的 AUC 均 > 0.7 , 且差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 对诊断 HSP 有一定的临床价值。CRP 的 AUC 为 0.622, 且差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 对 HSP 的诊断价值较低。见图 1, 表 2。

表1 两组间各项生物标志物水平比较 [M (P₂₅, P₇₅)]

指标	对照组 (n=127)	HSP组 (n=127)	U值	P值
WBC计数 (×10 ⁹ /L)	7.67(5.83, 9.36)	10.11(8.97, 12.19)	357.50	<0.001
IgA (mg/L)	1 100.00(919.50, 1 489.00)	2 070.00(1 560.00, 2 805.00)	243.50	<0.001
IgE (IU/mL)	63.10(23.40, 166.50)	72.90(25.45, 202.15)	739.50	0.349
IgG (mg/L)	10 100.00(9 085.00, 11 045.00)	9 430.00(7 840.00, 11 150.00)	1 025.50	0.086
IgM (mg/L)	749.00(590.00, 895.00)	1 170.00(919.00, 1 455.00)	254.00	<0.001
补体 C3 (mg/L)	1 150.00(1 008.00, 1 250.00)	1 180.00(1 030.00, 1 290.00)	688.50	0.158
补体 C4 (mg/L)	256.00(217.50, 305.50)	256.00(217.50, 305.50)	842.50	0.985
ASO (IU/mL)	25.00(25.00, 55.25)	25.00(25.00, 76.10)	756.50	0.380
Fer (ng/L)	66.50(48.20, 92.85)	64.80(44.25, 90.30)	881.50	0.704
CRP (ng/L)	2.50(2.50, 2.50)	2.50(2.50, 14.50)	635.00	0.023
IL-6 (pg/mL)	5.18(3.24, 6.89)	8.40(5.59, 27.25)	395.50	<0.001
SAA (μg/mL)	1.86(1.03, 2.33)	4.06(3.53, 6.40)	60.00	<0.001

注: WBC: 白细胞; Ig: 免疫球蛋白; ASO: 抗链球菌溶血素 O; Fer: 血清铁蛋白; CRP: C 反应蛋白; IL: 白细胞介素; SAA: 血清淀粉样蛋白 A。其中 ASO 和 CRP 的数据中存在 P₂₅、P₅₀、P₇₅ 相同的现象是受仪器检测限所限而导致。

当 Youden 指数接近 1 时的截点值为最佳临界点。经 ROC 曲线分析 SAA 的 Youden 指数为 0.854, 最佳临界点为 3.035 μg/mL, 敏感度和特异度分别为 0.951、0.902, 均高于其他各指标, 说明 SAA 对 HSP 诊断价值最高。见图 1, 表 3。

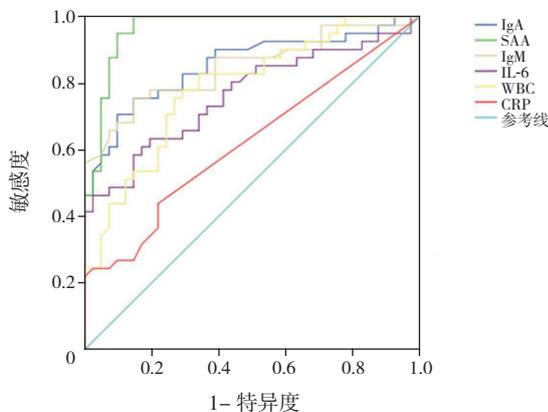


图1 ROC 曲线分析各项生物标志物对 HSP 的诊断价值

表2 ROC 曲线分析各项生物标志物对 HSP 的诊断价值

指标	AUC	标准误	P 值	95%CI	
				上限	下限
SAA	0.964	0.019	<0.001	0.927	1.000
IL-6	0.765	0.053	<0.001	0.660	0.869
CRP	0.622	0.062	0.057	0.501	0.744
WBC	0.787	0.050	<0.001	0.690	0.885
IgA	0.855	0.043	<0.001	0.771	0.939
IgM	0.849	0.044	<0.001	0.763	0.935

注: SAA: 血清淀粉样蛋白 A; IL: 白细胞介素; CRP: C 反应蛋白; WBC: 白细胞; Ig: 免疫球蛋白。

表3 各项指标最佳临界值比较

指标	最佳临界点	敏感度	特异度	Youden 指数
SSA	3.035 μg/mL	0.951	0.902	0.854
IL-6	7.035 pg/mL	0.634	0.805	0.439
CRP	5.250 ng/L	0.439	0.780	0.220
WBC	8.850 × 10 ⁹ /L	0.780	0.707	0.488
IgA	1579.5 mg/L	0.756	0.854	0.610
IgM	922.5 mg/L	0.723	0.824	0.610

注: SAA: 血清淀粉样蛋白 A; IL: 白细胞介素; CRP: C 反应蛋白; WBC: 白细胞; Ig: 免疫球蛋白。

3 讨论

据报道 HSP 的主要临床表现为下肢和臀部皮疹; 脚踝和膝盖关节发热、肿痛; 65% 的患儿可出现腹部疼痛的症状; 肾脏受累是 HSP 最严重的后遗症。目前 HSP 的诊断主要依靠临床表现和病史, 缺乏有效的实验室检测指标。最近报道在组织损伤、感染和外伤等炎症性反应时, 可刺激体内 SAA 迅速上升 1000 倍^[5], 且 SAA 在类风湿性关节炎患者血清中含量明显升高^[6-7]。本文旨在探讨 HSP 患者体内 SAA 及多项炎性标志物 (CRP、IL-6、WBC)、免疫标志物 (IgA、IgM、IgE、IgG、ASO)、血管透性相关标志物 (补体 C3、C4 及铁蛋白) 含量变化, 发现 SAA、IL-6、CRP、WBC、IgA 和 IgM 等 6 项标志物水平明显高于对照组。

ROC 曲线分析此 6 项指标的诊断价值, 发现

SAA AUC 为 0.964, 诊断 HSP 的价值在各单项指标中最高。以 $3.035 \mu\text{g/mL}$ 为诊断临界点时敏感度为 95.1%, 特异度为 90.2%。He 等^[8]发现 SAA 水平与 HSP 严重程度无关, 与病程有关。而且 SAA 水平在胃肠道受累患者中更高, 推测 SAA 水平与 HSP 的病程和胃肠道症状有关, SAA 有可能作为临床筛查的指标之一。另外, 有报道 HSP 患者的小血管和毛细血管等处发生免疫复合物沉积, 出现机体免疫紊乱现象^[9]。测定患者 IgA 和 IgM 含量, 结果明显高于对照组, 其 AUC 分别为 0.855、0.849。以 IgA 1579.5 mg/L 为最佳临界点时, 敏感度为 75.6%, 特异度为 85.4%。以 IgM 922.5 mg/L 为最佳临界点时, 敏感度为 72.3%, 特异度为 82.4%。其诊断效能仅次于 SAA。

进一步分析血 WBC 与 CRP 水平结果明显高于对照组, 这之前报道相一致。ROC 曲线分析结果显示 WBC 的曲线面积为 0.787, 在 $8.85 \times 10^9/\text{L}$ 的最佳临界点处的敏感度是 78.0%, 特异度是 70.7%, 其诊断 HSP 效能方面尚可, 可作为此疾病的筛查指标之一。CRP 的 AUC 为 0.622, 对于诊断 HSP 的准确性较低, 虽然具有较高的特异度, 但其敏感度较低。分析血清 IL-6, 结果显示明显高于对照组, ROC 曲线分析仅次于 WBC, 且在 7.035 pg/mL 的临界点时, 与 WBC 相较具有较低的敏感度, 较高的特异度, 联合 WBC 检测, 可以作为实验室 HSP 的指标。

综上所述, 在辅助检查中 SAA 价值最高, 其次为 IgA 和 IgM, WBC 和 IL-6, 而 CRP 不佳。

[参 考 文 献]

- [1] Nalbantoglu S, Tabel Y, Mir S, et al. Association between RAS gene polymorphisms (ACE I/D, AGT M235T) and Henoch-Schönlein purpura in a Turkish population[J]. *Dis Markers*, 2013, 34(1): 23-32.
- [2] 余艳, 潘凯丽. 细胞因子在过敏性紫癜性肾炎发病机制中的作用[J]. *中国当代儿科杂志*, 2009, 11(10): 869-872.
- [3] Kraft DM, Mckee D, Scott C. Henoch-Schönlein purpura: a review[J]. *Am Fam Physician*, 1998, 58(2): 405-408, 411.
- [4] 王卫平. 儿科学[M]. 第8版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 190-192.
- [5] SRho YH, Chung CP, Oeser A, et al. Inflammatory mediators and premature coronary atherosclerosis in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 61(11): 1580-1585.
- [6] Targońska-Stepniak B, Majdan M. Serum amyloid A as a marker of persistent inflammation and an indicator of cardiovascular and renal involvement in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014: 793628.
- [7] 穆云, 魏蔚, 张福江, 等. 血清淀粉样蛋白 A 在类风湿关节炎患者体内表达的研究[J]. *中华风湿病学杂志*, 2011, 15(11): 783-786.
- [8] He X, Zhao Y, Li Y, et al. Serum amyloid A levels associated with gastrointestinal manifestations in Henoch-Schönlein Purpura[J]. *Inflammation*, 2012, 35(4): 1251-1255.
- [9] Yuan LP, Bo Y, Ling L, et al. Expression of T-cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing molecule-3 on lymphocytes from Henoch-Schönlein Purpura patients[J]. *Iran J Pediatr*, 2013, 23(3): 345-348.

(本文编辑: 万静)