

引用本文:刘丽莎,韩晶晶,殷丝雨,等.间接免疫荧光法检测IgG型抗内皮细胞抗体在川崎病诊断中的意义[J].安徽医药,2021,25(3):575-577.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.03.035.

◇临床医学◇



间接免疫荧光法检测IgG型抗内皮细胞抗体 在川崎病诊断中的意义

刘丽莎,韩晶晶,殷丝雨,高岭

作者单位:南京医科大学附属儿童医院检验科,江苏 南京 210008

基金项目:南京医科大学科技发展基金(NMUB2018115)

摘要: **目的** 探讨IgG型抗内皮细胞抗体(IgG-AECA)在川崎病诊断中的意义。**方法** 采用间接免疫荧光法(IIF),以人脐静脉内皮细胞为底物抗原,分别检测2019年1—5月于南京医科大学附属儿童医院就诊的80例川崎病患儿急性期和恢复期外周血中IgG-AECA的表达情况,其中合并冠状动脉损伤(CAL)者29例。同时选取40例因呼吸道感染发热患儿和30例择期手术患儿作为一般发热组和正常对照组。**结果** 急性期川崎病组IgG-AECA阳性率为41.2%(33/80),显著高于一般发热组[15.0%(6/40)]和正常对照组[0%(0/30)];与急性期相比,川崎病患儿恢复期IgG-AECA阳性率[20.0%(16/80)]下降,但仍高于一般发热组和正常对照组($P<0.05$),伴有CAL的川崎病患儿急性期血清IgG-AECA阳性率为55.2%(16/29),明显高于无CAL患儿[29.0%(15/51)]($P<0.05$)。此外,IgG-AECA阳性川崎病患儿白细胞总数(WBC)、C反应蛋白(CRP)和血细胞沉降率(ESR)等炎症指标明显高于AECA阴性患儿($P<0.05$),IgG-AECA高滴度组患儿外周血WBC、CRP和ESR高于低滴度组($P<0.05$)。**结论** IgG-AECA在川崎病患儿特别是合并CAL患儿中有较高的阳性率,表明其参与了川崎病血管炎及CAL的发生,血清AECA的检测对川崎病早期诊断具有一定的参考价值。

关键词: 黏膜皮肤淋巴结综合征; 抗内皮细胞抗体; 间接免疫荧光法; 儿童

The clinical significance of indirect immunofluorescence detection IgG anti-endothelial cell antibodies in the diagnosis of Kawasaki disease

LIU Lisha, HAN Jingjing, YIN Siyu, GAO Ling

Author Affiliation: Department of Clinical Laboratory, Children's Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210008, China

Abstract: **Objective** To evaluate the significance of IgG anti-endothelial cell antibody(IgG -AECA) for diagnosing Kawasaki disease in children. **Methods** Using indirect immunofluorescence (IIF), human umbilical vein endothelial cells were used as the substrate antigen to detect the expression of IgG-AECA in peripheral blood during acute and recovery phases of 80 children with Kawasaki disease who were treated from Jan 2019 to May 2019 in Children's Hospital of Nanjing Medical University, including 29 children with coronary arterial lesions(CAL). As well as 40 children with fever caused by respiratory infection and 30 children for selective operation were selected as general fever group and normal control group. **Results** The positive rate of IgG-AECA in KD patients during the acute phase was 41.2%(33/80), which was higher than those in normal fever group[15.0%(6/40)] and normal control group[0%(0/30)]($P<0.05$). The positive rate of IgG-AECA in KD patients was reduced in the recovery phase[20.0%(16/80)], which was also higher than those in normal fever group and normal control group($P<0.05$). Among KD patients, those with CAL had higher frequency of IgG-AECA [55.2%(16/29)] than those without CAL[29.0%(15/51)]($P<0.05$). Besides, there was a significant difference in the results of WBC, CRP and ESR in IgG-AECA positive group compared with IgG-AECA negative group($P<0.05$), as well as in different titration groups($P<0.05$). **Conclusions** IgG-AECA has a higher positive rate in children with Kawasaki disease, especially children with CAL, indicating that it might be involved in vasculitis and CAL among children with KD. Serum levels of IgG-AECA may be used as an indicator for the diagnosis of suspected cases in the acute phase of KD, and elevated IgG-AECE level has a certain predictive value for CAL in KD patients.

Key words: Mucocutaneous Lymph node syndrome; Anti-endothelial cell antibody; Indirect immunofluorescence analysis; Child

川崎病(Kawasaki disease)是一种以全身血管炎为主要病变的急性自限性发热性疾病,主要累及中小动脉,尤其是冠状动脉,多发于5岁以下儿童,常

见并发症为冠状动脉病变(Coronary arteries lesions, CAL),包括冠状动脉扩张(Coronary arteries dilation, CAD)或冠状动脉瘤(Coronary arteries aneu-

rysm, CAA),后期则可发生冠状动脉狭窄或血栓,甚至发生心肌梗死。目前,川崎病已取代风湿热,成为儿童后天性心脏病的首位病因^[1-3]。抗内皮细胞抗体(anti-endothelial cell antibody, AECA)是存在于循环中的一组异质性自身抗体,与炎症介导的血管壁损伤相关的多种自身免疫病的发生、发展及预后转归密切相关^[4-6]。近年来,关于AECA在川崎病中的临床意义的研究并未得到广泛深入的开展,鉴于研究样本大小及检测方法不同,国内外文献报道对此存在较大分歧^[7-9]。本研究采用间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence analysis, IIF)检测川崎病患儿外周血中IgG型AECA(IgG-AECA)水平,以期探讨IgG-AECA在川崎病诊断中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 80例于2019年1—5月在南京医科大学附属儿童医院明确诊断为川崎病患儿,所有病例临床诊断符合日本川崎病委员会修订的诊断标准(2002年修订第5版)^[10]。所有患儿就诊前均未使用过免疫抑制剂或免疫调节剂,并除外先天性或遗传性疾病,其中,合并冠状动脉损伤者29例、未合并冠状动脉损伤者51例。同时选取该院同期就诊的40例因呼吸道感染发热患儿(一般发热组)和30例择期手术患儿(正常对照组)作为对照组,各组儿童性别、年龄差异无统计学意义($P>0.05$)。以上标本的收集均获得患儿近亲属知情同意,本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

表1 儿童川崎病80例各组性别、年龄情况分析

组别	例数	性别(男/女)/ 例	年龄/ (岁, $\bar{x} \pm s$)
正常对照组	30	18/12	4.0±1.1
一般发热组	40	25/15	3.7±0.9
川崎病组	80	49/31	3.8±1.2
$F(\chi^2)$ 值		(0.046)	0.034
P 值		0.977	0.967

1.2 标本采集 分别于川崎病急性期(病程范围为1~10 d)和恢复期(病程范围为21~60 d)采集患儿静脉血3 mL,同时抽取对照组儿童等量静脉血,常规分离血清,-70℃冻存待用。

1.3 血清IgG-AECA检测 采用间接免疫荧光试剂盒(德国欧蒙医学诊断有限公司),以人脐静脉内皮细胞(Human umbilical vein endothelial cells, HU-VECs)为底物,样本1:10稀释后检测血清中IgG-AECA,荧光显微镜下在细胞质中可见绿色颗粒荧光判定为阳性,颗粒型荧光在靠近细胞核的位置上颗粒显得更丰富。同时分别设置阴、阳性对照用于判断实验的有效性。

1.4 统计学方法 定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用成组 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析;分类资料用比表示,组间比较采用 χ^2 检验,结果在SPSS 19.0软件上处理, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清IgG-AECA阳性率 川崎病患儿急性期IgG-AECA阳性率为41.2%(33/80),明显高于一般发热组[15.0%(6/40)]和($\chi^2=8.376, P=0.004$)正常对照组[0%(0/30)]($\chi^2=17.680, P<0.001$)。川崎病患儿恢复期IgG-AECA阳性率为20.0%(16/80),较急性期明显下降($\chi^2=8.502, P=0.004$)。

2.2 川崎病患儿合并CAL与否IgG-AECA阳性率的比较 结果显示,川崎病合并CAL时IgG-AECA阳性率为55.2%(16/29),不合并CAL患儿IgG-AECA阳性率为29.0%(15/51),差异有统计学意义($\chi^2=5.169, P=0.023$)。

2.3 川崎病急性期IgG-AECA阳性组与IgG-AECA阴性组常见炎症指标的比较 IgG-AECA阳性组急性期川崎病患儿外周血白细胞总数(WBC)、C反应蛋白(CRP)和血细胞沉降率(ESR)均高于IgG-AECA阴性组患儿($P<0.05$),结果见表2。

表2 儿童川崎病80例急性期IgG型抗内皮细胞抗体(IgG-AECA)水平不同者炎症指标的比较 $\bar{x} \pm s$

组别	例数	WBC/ ($\times 10^9/L$)	CRP/ (mg/L)	ESR/ (mm/h)
IgG-AECA阳性组	33	28.6±6.8	43±10	51±12
IgG-AECA阴性组	47	21.5±5.7	26±7	37±11
t 值		1.435	2.246	1.332
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:IgG-AECA为WBC为白细胞总数,CRP为C反应蛋白,ESR为血细胞沉降率。

2.4 IgG-AECA不同滴度组川崎病急性期患儿外周血WBC、CRP和ESR结果比较 将IgG-AECA阳性患儿根据其滴度不同分组,分析IgG-AECA滴度与常见炎症指标的关系,可见不同滴度组儿童WBC、CRP和ESR结果差异有统计学意义($P<0.05$)。IgG-AECA高滴度组患儿外周血WBC、CRP和ESR检测结果高于低滴度组($P<0.05$),表明随着外周血中IgG-AECA滴度的增加,患儿炎症反应越强烈,结果见表3。

3 讨论

川崎病是一种急性自限性全身血管炎性疾病,早期表现为全身微血管炎,后期为动脉内膜炎和动脉周围炎,并发症以冠状动脉损伤最为严重,是影响预后的主要因素^[11-14]。AECA是一组针对血管内

表3 儿童川崎病80例急性期IgG型抗内皮细胞抗体(IgG-AECA)不同滴度组外周血白细胞总数(WBC)、C反应蛋白(CRP)和血细胞沉降率(ESR)结果比较 $\bar{x} \pm s$

组别	例数	WBC/($\times 10^9$ /L)	CRP/(mg/L)	ESR/(mm/h)
1:10组	23	25.5 $\pm$ 5.46 ^①	34 $\pm$ 3 ^①	46 $\pm$ 10 ^①
1:32组	7	34.1 $\pm$ 2.92	45 $\pm$ 2	58 $\pm$ 6
1:100组	3	39.2 $\pm$ 1.20 ^①	73 $\pm$ 2 ^①	73 $\pm$ 3 ^①
F值		16.071	212.843	14.083
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:①与1:32组相比, $P<0.05$ 。

皮细胞表面不同抗原决定簇的异质性抗体,其可在多种与血管炎性疾病有关的免疫性疾病(如系统性红斑狼疮、川崎病、冠状动脉粥样硬化性心脏病、混合性结缔组织病、移植免疫、系统性血管炎、干燥综合征、韦格纳肉芽肿等)病人的外周血中表达,可作为一种有用的自身抗体指标用于疾病诊断和预后判断,特别是对疾病的活动性评估具有重要意义^[15-19]。本研究结果显示,川崎病急性期患儿外周血中IgG-AECA阳性率明显高于一般发热患儿和正常儿童,且合并CAL时IgG-AECA阳性率高于未合并CAL患儿,表明IgG-AECA参与到川崎病疾病发生发展过程,对川崎病早期诊断具有一定的临床意义。此外,本研究发现,IgG-AECA阳性患儿外周血中WBC、CRP和ESR等反映炎症程度强弱的指标均高于IgG-AECA阴性患儿,IgG-AECA高滴度组患儿外周血WBC、CRP和ESR高于低滴度组,表明IgG-AECA在川崎病早期的炎症性病变其中起着一定的促进作用。综上,IgG-AECA参与了川崎病的发病过程,且与疾病的活动性呈正相关,通过检测患儿外周血中IgG-AECA的表达情况,可以揭示其在临床疾病诊断、治疗和预后评估中的应用价值,特别是预测并发症具有重要的意义。

参考文献

- [1] DIETZ SM, STUJN DVAN, BURGNER D, et al. Dissecting Kawasaki disease: a state-of-the-art review [J]. Eur J Pediatr, 2017, 176(8): 995-1009.
- [2] 徐梅英,潘家华,李晓红,等. 儿童川崎病冠脉损伤的危险因素分析[J]. 安徽医药, 2014, 18(6): 1109-1111.
- [3] BASHA A, RAWAT A, Jindal AK, et al. Autoantibody profile in

children with Kawasaki disease on long-term follow-up: a prospective study from North India [J]. Int J Rheum Dis, 2018, 21(11): 2036-2040.

- [4] LEGENDRE P, RÉGENT A, THIEBAULT M, et al. Anti-endothelial cell antibodies in vasculitis: a systematic review [J]. Autoimmun Rev, 2017, 16(2): 146-153.
- [5] PERRICOE C, PENDOLINO M, OLIVIERI M, et al. Neuropsychiatric manifestations associated with anti-endothelial cell antibodies in systemic lupus erythematosus [J]. Isr Med Assoc J, 2015, 17(3): 171-178.
- [6] 廖华, 王天. 风湿性疾病中抗内皮细胞抗体相关抗原的研究进展 [J]. 中华风湿病学杂志, 2014, 18(4): 281-284.
- [7] 安娜, 石瑄, 孙东明, 等. 川崎病合并冠状动脉损害患儿血清MMP-9、AECA、ANCA水平变化 [J]. 山东医药, 2017, 57(9): 80-81.
- [8] 王晓华, 王倩, 赵建美. MMP-9、AECA、ANCA蛋白在川崎病外周血的表达及其与冠状动脉损害的关系 [J]. 山东医药, 2016, 56(5): 10-12.
- [9] 丛晓辉, 塔依尔·斯拉吉, 祖丽皮娅·黑力木, 等. 基质金属蛋白酶-9、抗内皮细胞抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体在川崎病冠状动脉损害中的作用及临床意义 [J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(10): 2284-2286.
- [10] AYUSAWA M, SONOBE T, UEMURA S, et al. Revision of diagnostic guidelines for Kawasaki disease (the 5th revised edition) [J]. Pediatr Int, 2005, 47(2): 232-234.
- [11] 江载芳, 申昆玲, 沈颖. 诸福棠实用儿科学 [M]. 8版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 778-788.
- [12] 刘芳, 李晓春. 细胞因子谱、降钙素原、D-二聚体对预测小儿川崎病冠脉损伤的临床意义 [J]. 安徽医药, 2018, 22(8): 1499-1502.
- [13] 周芳, 许君, 贾黎红, 等. 儿童川崎病冠状动脉病变危险因素分析 [J]. 中国现代医生, 2018, 56(3): 56-59.
- [14] 仇慧仙, 施红英, 何跃娥, 等. 川崎病延迟治疗冠状动脉损害相关危险因素分析 [J]. 温州医科大学学报, 2018, 48(2): 96-100.
- [15] 鄂维建, 赵玲莉, 李玉玲, 等. 抗内皮细胞抗体和免疫相关性疾病的研究进展 [J]. 实用检验医师杂志, 2014, 6(2): 117-120.
- [16] 张文, 薛凌宇, 蔡娇, 等. ANCA相关血管炎发病机制的研究进展 [J]. 中国临床研究, 2017, 30(4): 552-556.
- [17] 刘颖, 梅焕平, 吴云娟, 等. 抗内皮细胞抗体在多发肌炎/皮肌炎合并间质性肺疾病中的应用 [J]. 东南国防医药, 2016, 18(3): 278-280, 286.
- [18] 胡晶, 朱敏, 苏华平, 等. 过敏性紫癜患儿血清 AECA-IgA、PON、CAT、MDA水平及相关性研究 [J]. 疑难病杂志, 2016, 15(9): 943-946.
- [19] 刘颖, 马龙新. 抗内皮细胞抗体与结缔组织病相关肺疾病中的意义 [J]. 临床和实验医学杂志, 2017, 16(2): 207-209.

(收稿日期: 2019-08-04, 修回日期: 2019-09-09)