

## · 论 著 ·

## 抗内皮细胞抗体在多发性肌炎/皮肌炎合并间质性肺疾病中的应用

刘 颖,梅焕平,吴云娟,张缪佳

**[摘要]** 目的 研究抗内皮细胞抗体(anti-endothelial cell antibody, AECA)对多发性肌炎/皮肌炎(polymyositis/dermatomyositis, PM/DM)合并间质性肺疾病(interstitial lung disease, ILD)的诊断价值及其与ILD病情活动度的关系。方法 PM/DM患者106例分为合并ILD(PM/DM-ILD)组58例和未合并ILD(PM/DM-NILD)组48例,42例健康体检者为对照组。采用间接免疫荧光法(IIF)检测患者血清中AECA,记录患者年龄、病程、白细胞计数(WBC)、中性粒细胞比值[N(%)]、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、C反应蛋白(CRP)、血沉(ESR)、免疫球蛋白G(IgG)及其他临床资料。结果 ① PM/DM-ILD组、PM/DM-NILD组、对照组AECA阳性率分别为62.07%、33.33%、9.52%;前两组与对照组相比,阳性率差异有统计学意义,PM/DM-ILD组与PM/DM-NILD组相比,差异亦有统计学意义。② 比较PM/DM-ILD组和PM/DM-NILD组的其他各项指标,差异无统计学意义,仅中性粒细胞比值差异有统计学意义( $P<0.05$ )。③ 根据胸部高分辨CT及临床表现将58例PM/DM-ILD患者分为活动期组(40例)和稳定期组(18例),两组AECA阳性率分别为80.00%、22.22%,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。④ AECA用于PM/DM诊断的敏感性为49.06%,特异性为90.48%,阳性预测值为92.86%,阴性预测值为41.30%。用于PM/DM-ILD诊断敏感性为62.07%,特异性为77.78%,阳性预测值为64.29%,阴性预测值为76.09%。结论 在PM/DM患者血清中检测出AECA反映ILD炎症活动,有助于PM/DM-ILD的诊断和鉴别诊断。

**[关键词]** 抗内皮细胞抗体;多发性肌炎/皮肌炎;间质性肺疾病

**[中图分类号]** R563.1<sup>+</sup>3 **[文献标志码]** A **doi**:10.3969/j.issn.1672-271X.2016.03.017

## Diagnostic and monitoring significance of Anti-endothelial cell antibody in patients with polymyositis/dermatomyositis accompanied by interstitial lung diseases

LIU Ying, MEI Huan-ping, WU Yun-juan, ZHANG Miu-jia. Department of Rheumatology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210029, China

**[Abstract]** **Objective** To identify the diagnostic value of Anti-endothelial cell antibody(AECA) and the association with disease activity. **Methods** One hundred and six patients with PM/DM were assigned into two groups of PM/DM-ILD (with ILD, 58 cases) and PM/DM-NILD (without ILD, 48 cases). Another 42 healthy people were taken as the control (HC). Serum AECA collected from these patients were tested by indirect immunofluorescence (IIF). We reviewed patient clinical details such as age, and duration as well as laboratory data of WBC, N (%), ALT, AST, LDH, CK, CRP and ESR. **Results** ① The positive rate of AECA in PM/DM-ILD, PM/DM-NILD and HC was 62.07%, 33.33% and 9.52% respectively. The former two groups showed significant difference compared with HC (PM/DM-ILD:  $\chi^2=28.02$ ,  $P=0.000$ ; PM/DM-NILD:  $\chi^2=7.35$ ,  $P=0.007$ ). Furthermore, the group of PM/DM-ILD got a significant higher positive rate than the PM/DM-NILD group ( $\chi^2=8.68$ ,  $P=0.003$ ). ② There was a higher level of N% in PM/DM-ILD group compared with the PM/DM-NILD group. All other clinical features were similar. ③ 58 patients were then divided into active group (40 cases) and stable group (18 cases) according to HRCT and clinical manifestation. The active group took a significant higher prevalence of AECA than the stable one (80.00% versus 22.22%,  $\chi^2=17.60$ ,  $P<0.05$ ). ④ The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value for AECA to diagnose PM/DM were 49.06%, 90.48%, 92.86% and 41.30%. In aspect of PM/DM-ILD, the four diagnostic value were 62.07%, 77.78%, 64.29% and 76.09%, respectively.

**Conclusion** The identification of serum AECA in PM/DM patients reflected the activity of ILD to some extent and plays a useful part in diagnosing and differential diagnosing of PM/DM-ILD.

**[Key words]** anti-endothelial cell antibody (AECA); PM/DM; ILD

基金项目: 重点病种规范化诊疗研究(BL20130134)

作者单位: 210029 江苏南京,南京医科大学第一附属医院风湿免疫科

通讯作者: 张缪佳, E-mail: miaojiazhang01@gmail.com

引用格式: 刘 颖,梅焕平,吴云娟,等.抗内皮细胞抗体在多发性肌炎/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.

抗内皮细胞抗体(anti-endothelial cell antibody, AECA)是以血管内皮细胞为靶抗原的自身抗体,多种自身免疫性疾病如韦格纳肉芽肿(Wegener's granulomatosis, WG)、系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)、系统性硬化症(systemic sclerosis, SC)、多发性肌炎/皮肌炎(polymyositis/dermatomyositis, PM/DM)均可检出<sup>[1]</sup>。PM/DM 有不同程度横纹肌受累、慢性非化脓性炎症病变<sup>[2]</sup>,具有较高的致残率和致死率<sup>[3]</sup>。间质性肺疾病(interstitial lung disease, ILD)是 PM/DM 最常见的肺部并发症,常出现于 PM/DM 急性加重期,并可出现于病程的任何时期。ILD 可累及内皮及上皮细胞基底膜空隙,在炎症进行及修复过程中导致肺组织可逆或不可逆性损伤<sup>[4]</sup>。ILD 治疗较为困难,是影响预后的重要因素<sup>[5]</sup>。既往关于 AECA 在多发性肌炎/皮肌炎合并间质性肺病的研究报道较少。本文探讨 AECA 在 PM/DM-ILD 中临床意义。

1 对象与方法

1.1 标本来源 选择 2013 年 2 月-2015 年 12 月本院 PM/DM 患者 106 例,男 32 例,女 74 例,年龄 19.0~72.0(49.0±13.3)岁,病程 1.0~120.0(19.9±33.6)月。临床诊断均符合 Bohan/Peter 标准<sup>[6]</sup>,均未合并其他类型自身免疫病,胸部高分辨 CT 提示 106 例 PM/DM 患者中有 48 例未伴发 ILD(PM/DM-NILD 组),58 例伴发间质性肺疾病(PM/DM-ILD 组),表现为肺部网状结节影、磨玻璃影、蜂窝状影、条索样影,并有程度不同的咳嗽、胸闷、气促等临床症状,其中炎症活动期 40 例,稳定期(非活动期)18 例。健康体检者 42 例为对照组,来自我院体检中心,男 14 例,女 28 例,年龄 29.0~77.0(42.3±11.7)岁。血常规、肝肾生化和尿常规检查结果均在参考值范围内。

1.2 方法 取待检者静脉血 3 mL 于促凝管中自然静置 2 h,离心后取血清于 EP 管中,保存在-70℃的冰箱中备用。用间接荧光免疫法检测抗内皮细胞抗体,试剂盒购自德国欧蒙公司(抗内皮细胞抗体 IgG 检测试剂盒,间接免疫荧光法,批号 FA1960-1005),按照试剂盒说明书操作,初始稀释度为 1:10,如遇阳性样本,则按 1:32、1:64、1:100、1:320 的顺序依次增加稀释度,直至基质片 AECA 为阴性。AECA 阳性表现为基质片核周及胞质中出现粗大绿色荧光颗粒。由 2 名阅片经验 3 年以上技师同时进行阅片,同一样本阅片结果相差 2 个稀释度以上者剔除。记录 PM/DM 患者年龄、病程,同日检测白细

胞计数(WBC)、中性粒细胞比值[N(%)]、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、C 反应蛋白(CRP)、血沉(ESR)、免疫球蛋白 G(IgG)。

1.3 统计学处理 用 SPSS 20.0 软件进行。定量资料以( $\bar{x}\pm s$ )表示。正态分布资料两组间比较采用 *t* 检验,非正态分布资料采用 Mann-Whitney U 检验。两组率的比较采用卡方检验。结局两分类变量回归分析采用 Logistic 回归分析。敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值、Youden 指数采用四格表计算,绘制 ROC 曲线。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AECA 阳性率 PM/DM 患者阳性率为 49.06%(52/106),其中 PM/DM-ILD 组为 62.07%(36/58),PM/DM-NILD 组为 33.33%(16/48),对照者阳性率为 9.52%(4/42)。与对照组比较,PM/DM-ILD 组和 PM/DM-NILD 组 AECA 阳性率差异均有统计学意义(PM/DM-ILD 组  $\chi^2=28.02$ , *P*=0.000;PM/DM-NILD 组  $\chi^2=7.35$ , *P*=0.007)。PM/DM-ILD 组与 PM/DM-NILD 组比较,AECA 阳性率差异亦有统计学意义( $\chi^2=8.68$ , *P*=0.003)。

2.2 WBC、ALT、AST 等其他实验室指标 PM/DM-ILD 组和 PM/DM-NILD 组患者的年龄、病程 WBC、N(%)、ALT、AST、LDH、CK、CRP、ESR、IgG 水平差异均无统计学意义,仅 N(%)差异有统计学意义(*P*<0.05),见表 1。

表 1 PM/DM-ILD 组和 PM/DM-NILD 组各项指标比较( $\bar{x}\pm s$ )

指标	PM/DM-ILD 组	PM/DM-NILD 组	<i>P</i> 值
年龄(岁)	53.41±11.24	45.75±14.23	0.204
病程(M)	15.41±30.31	25.38±36.48	0.325
WBC(×10 <sup>9</sup> /L)	9.76±4.37	7.31±4.22	0.145
N(%)	77.03±8.11	67.40±21.93	0.001
ALT(U/L)	60.69±49.27	101.37±147.12	0.099
AST(U/L)	74.23±71.28	149.12±284.28	0.071
LDH(U/L)	467.66±369.44	557.08±455.67	0.477
CK(U/L)	1008.17±1263.57	1731.81±2163.12	0.174
CRP(μg/L)	13.51±15.54	15.87±19.10	0.559
ESR(mm/H)	23.83±16.82	28.76±22.70	0.525
IgG(g/L)	13.81±4.32	11.29±4.54	0.387

2.3 间质性肺疾病炎症活动期与稳定期 AECA 阳性率比较 根据胸部高分辨 CT 将 58 例 PM/DM-ILD 患者,分为炎症活动期 40 例,稳定期 18 例。活动期 AECA 阳性率为 80.00%(32/40),高分辨 CT

表现为磨玻璃样及斑片状改变。稳定期 AECA 阳性率为 22.22% (4/18), 高分辨 CT 表现为网格、条索样、蜂窝样改变。两组 AECA 阳性率差异有统计学意义( $\chi^2 = 17.60, P < 0.05$ )。

**2.4 AECA 对 PM/DM 和 PM/DM-ILD 的诊断价值** AECA 用于 PM/DM 诊断的敏感性为 49.06%, 特异性为 90.48%, Youden 指数为 0.40, 阳性预测值为 92.86%, 阴性预测值为 41.30%, ROC 曲线下面积为 0.68。用于 PM/DM-ILD 诊断的敏感性为 62.07%, 特异性为 77.78%, Youden 指数为 0.40, 阳性预测值为 64.29%, 阴性预测值为 76.09%, ROC 曲线下面积 0.61。

### 3 讨论

AECA 是以血管内皮细胞膜蛋白或吸附于其细胞膜的异质性蛋白为靶抗原的自身抗体<sup>[7]</sup>。AECA 介导多种自身免疫性血管炎病变, 并随病情好转而减少或消失。AECA 在结缔组织病(connective tissue disease, CTD)合并的 ILD 中参与组织损伤和纤维化修复过程<sup>[8]</sup>。Damianovich 等<sup>[9]</sup>报道 AECA 可与内皮细胞表面抗原结合, 破坏内皮细胞的结构与功能, 辅助自然杀伤细胞产生细胞毒性作用。Matsui 等<sup>[10]</sup>研究发现, 有肺损伤的自身免疫病患者血清 AECA 水平高于没有肺损伤的自身免疫病患者。与在原发性 ILD 中, AECA 与非特异性间质性肺炎(nonspecific interstitial pneumonia, NSIP)高度相关。AECA 仅存在于 NSIP 中, 而普通型间质性肺炎/特发性肺纤维化(usual interstitial pneumonia/idiopathic pulmonary fibrosis, UIP/IPF)患者均未检出 AECA。胶原血管病相关性间质性肺病(collagen vascular disease-associated ILD, CVD-ILD)患者的 AECA 阳性率与 NSIP 的阳性率相似, 因此认为 AECA 与自身免疫病合并间质性肺疾病密切相关, 参与了某些特殊类型间质性肺疾病的发生与发展。

本研究证实, PM/DM 患者血清 AECA 阳性率显著高于健康体检者, 与文献报道相符<sup>[11]</sup>。而 PM/DM-ILD 患者血清中 AECA 阳性率显著高于 PM/DM-NILD 患者, 这说明 AECA 与 PM/DM-ILD 患者间质性肺疾病发生相关。其机制可能是在 AECA 的作用下肺间质形成免疫复合物, 提高肺巨噬细胞活性, 促进趋化因子的生成与释放, 使大量中性粒细胞、淋巴细胞在肺间质聚集并产生氧自由基、蛋白酶类物质, 引起肺间质结构破坏和损伤。病情进展过程中成纤维细胞活性异常增殖, 破坏弹性蛋白、胶原蛋白代谢平衡, 进而发生弥漫性肺纤维化。比

较 PM/DM-ILD 组和 PM/DM-NILD 组患者年龄、病程、WBC、N%、ALT、AST、LDH、CK、CRP、ESR、IgG, 发现两组间只有中性粒细胞比值差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 提示 AECA 和中性粒细胞共同参与 PM/DM 患者 ILD 的形成。根据胸部高分辨 CT 表现将 PM/DM-ILD 组患者再分为活动期组和静止期组, 活动期组 AECA 阳性率明显高于静止期组, 差异有显著性统计学意义, 表明 AECA 可作为评价 PM/DM-ILD 患者间质性肺疾病活动性指标。

目前用于诊断和监测 PM/DM 的实验室指标仍较为局限。WBC、中性粒细胞比值、CRP、ESR、IgG 为常用炎症指标, 但受感染、情绪、运动等多种因素影响。据苏江等<sup>[12]</sup>报道 CRP、ESR 均与肌无力、肌痛严重程度无相关性, 不能作为评价疾病活动度的指标。抗氨基酰 tRNA 合成酶(aminoacyl-transfer RNA synthetase, ARS)抗体是 PM/DM 患者中最常见的一类特异性抗体<sup>[13]</sup>。迄今为止共发现 8 种抗 ARS 抗体, 分别针对组氨酸(Jo-1)、苏氨酸(PL-7)、丙氨酸(PL-12)、甘氨酸(EJ)、异亮氨酸(OJ)、门冬氨酸(KS)、酪氨酸(Ha)和苯丙氨酸(Zo)的氨酰基转移酶<sup>[14]</sup>, 其中抗 Jo-1 抗体最为常见, 而抗 Ha 及抗 Zo 抗体最为罕见。在 PM/DM 患者中, 抗 ARS 抗体总阳性率为 27.6%, 其中抗 Jo-1 抗体最高, 总阳性率为 16.6%<sup>[14]</sup>。本研究发现 AECA 诊断 PM/DM 的敏感性为 49.06%, 远超过抗 Jo-1 抗体, 而其特异性、阳性预测值均较高, 分别为 90.48% 和 92.86%, 故其对 PM/DM 的诊断意义应优于抗 Jo-1 抗体。

总之, AECA 在 PM/DM-ILD 患者中有较高的检出率, 且与疾病活动性高度相关, 对 PM/DM-ILD 的诊断和活动性监测具有一定价值。

### 【参考文献】

- [1] Liu XD, Guo SY, Yang LL, et al. Anti-endothelial cell antibodies in connective tissue diseases associated with pulmonary arterial hypertension[J]. J Thorac Dis, 2014, 6(5): 497-502.
- [2] 夏凡, 吴卓璇, 周小勇, 等. 肌酸肌酶正常的皮炎炎合并肺间质性病变 1 例[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2014, 30(7): 435-436.
- [3] 周建光, 杨梅, 曹海涛, 等. 淋巴细胞亚群的检测在临床的应用[J]. 东南国防医药, 2015, 17(3): 298-300.
- [4] Wells AU, Denton CP. Interstitial lung disease in connective tissue disease-mechanisms and management[J]. Nat Rev Rheumatol, 2014, 10(12): 728-739.
- [5] Ye S, Chen XX, Lu XY, et al. Adult clinically amyopathic dermatomyositis with rapid progressive interstitial lung disease: a retrospective cohort study[J]. Clin Rheumatol, 2007, 26(10): 1647-1654.
- [6] 从玉隆. 实用检验医学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 528-529.



治疗,改善预后、提高生活训练质量和部队战斗力有特殊重要的意义。对多发关节痛并伴有晨僵的军人,要警惕 RA 的可能,尽快完成实验室检查和手部 X 线片,防止漏诊和误诊。

RA 受累部位主要为小关节,尤以手部关节受累率最高,X 线有骨质破坏者高达 75%,其中有 56% 的患者处于病情活动期,25% 的患者有功能障碍<sup>[11]</sup>,影响正常工作及生活,多数患者未经规范诊治。多项研究证实 RA 发病两年内,约 50% 会出现骨质的破坏<sup>[12]</sup>,所以在发病的早期给予药物治疗是防止出现骨质破坏及功能障碍的重要措施。而本次调查发现,部队 RA 患者发病至确诊的平均时间为 33.6 个月,多数丧失了早期治疗的最佳时机。所以提高部队 RA 的早期诊断及治疗水平,对提高部队战斗力具有重要意义。

#### 【参考文献】

- [1] 李 颖,刘英娜,覃仕化,等. 类风湿性关节炎患者韧带及关节囊组织炎性浸润机制研究[J]. 东南国防医药,2011, 13(4):314-316.
- [2] 陈 岚,陈 翠,高 毅,等. 巴戟天提取物对大鼠类风湿性关节炎作用的观察[J]. 东南国防医药,2011, 13(4): 305-307.
- [3] 张 群,王竞秋. 类风湿性关节炎发病机制与临床治疗的研究进展[J]. 内蒙古中医药,2013, 12(21):148-149.
- [4] 董丽娜. 类风湿性关节炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群变化的临床意义[J]. 河北医药,2011, 17(11):1444-1447.
- [5] 李彩凤. 关于儿童风湿性疾病的再认识[J]. 中华风湿病学杂志, 2014, 18(9):312-314.
- [6] Lee G, Lee L, Chae J, et al. Ethyl acetate fraction from *Cudrania tricuspidata* inhibits IL-1 $\beta$ -induced rheumatoid synovial fibroblast proliferation and MMPs, COX-2 and PGE2 production[J]. Biol Res,2010,43(2): 225-231.
- [7] 李 颖,刘英娜,覃仕化,等. 类风湿性关节炎大鼠模型的相关细胞因子研究[J]. 东南国防医药,2011, 13(3):214-216.
- [8] Zhao C, Hui W, Fernandes J, et al. Lysophosphatidic acid-induced IL-8 secretion involves MSK1 and MSK2 mediated activation of CREB1 in human fibroblast-like synoviocytes[J]. Biochem Pharmacol,2014,90(1):62-72.
- [9] Sun W, Jiang M, Yang K, et al. Apigenin enhances the cytotoxic effects of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes[J]. Mol Biol Rep,2012, 39(5): 5529-5535.
- [10] 徐鸿尧,赵建宁,包倪荣,等. 人工膝关节置换术对严重骨关节炎及类风湿性关节炎引起的膝关节畸形的疗效比较和术后风险评估[J]. 中国矫形外科杂志,2015, 23(3):211-214.
- [11] 计忠伟,包倪荣,赵建宁,等. 膝关节骨性关节炎与类风湿性关节炎胫骨平台的骨微结构及骨水泥-骨界面生物力学[J]. 医学研究生学报,2015(4):394-397.
- [12] 高 洁,刘小娟,孔瑞娜,等. 类风湿性关节炎骨密度及骨代谢生化标志物的变化[J]. 中国骨质疏松杂志,2015(9): 1119-1122.

(收稿日期:2015-11-26;修回日期:2016-02-28)

(本文编辑:黄攸生; 英文编辑:王建东)

(上接第 280 页)

- [7] Youinou P, Jamin C. The miscellany of anti-endothelial cell autoantibodies[J]. Isr Med Assoc J, 2012, 14(2): 119-120.
- [8] Magro CM, Ross P, Marsh CB, et al. The role of anti-endothelial cell antibody-mediated microvascular injury in the evolution of pulmonary fibrosis in the setting of collagen vascular disease[J]. Am J Clin Pathol, 2007, 127(2): 237-247.
- [9] Damianovich M, Gilburd B, George J, et al. Pathogenic role of anti-endothelial cell antibodies in vasculitis[J]. J Immunol, 1996, 156(12): 4946-4951.
- [10] Matsui T, Inui N, Suda T, et al. Anti-endothelial cell antibodies in patients with interstitial lung diseases[J]. Respir Med, 2008, 102(1): 128-133.
- [11] D'Cruz D, Keser G, Khamashta MA, et al. Antiendothelial cell antibodies in inflammatory myopathies: distribution among clinical and serologic groups and association with interstitial lung disease[J]. J Rheumatol, 2000, 27(1): 161-164.
- [12] 苏 江,周 彬. 多发性肌炎和皮肌炎外周血炎症指标的检测及意义[J]. 实用医院临床杂志,2013,10(2):57-60.
- [13] Lazarou IN, Guerne PA. Classification, diagnosis, and management of idiopathic inflammatory myopathies[J]. J Rheumatol, 2013, 40(5): 550-564.
- [14] Betteridge ZE, Gunawardena H, McHugh NJ. Novel autoantibodies and clinical phenotypes in adult and juvenile myositis[J]. Arthritis Res Ther, 2011, 13(2): 209-215.
- [15] 王 燕,胡 伟,郭子维,等. 汉族多发性肌炎/皮肌炎患者抗合成酶抗体谱及其临床意义[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2015, 9(3): 167-171.

(收稿日期:2016-03-04;修回日期:2016-03-12)

(本文编辑:齐 名; 英文编辑:王建东)