

血清 ANCA、ACLA 联合 $\beta 2$ -MG 对早期糖尿病肾病诊断的临床价值

王尔萍 韩 林

摘要 目的 探究血清抗中性粒细胞胞质抗体 (ANCA)、抗心磷脂抗体 (ACLA) 联合 $\beta 2$ 微球蛋白 ($\beta 2$ -MG) 对早期糖尿病肾病 (DN) 诊断的临床价值。方法 选取 2016 年 2 月~2017 年 2 月收治的 50 例早期糖尿病肾病并征集 50 名正常志愿者, 分别作为观察组和对照组。观察并记录下各组 ANCA、ACLA 及 $\beta 2$ -MG 表达阳性率, 探究并分析 ANCA、ACLA、 $\beta 2$ -MG 与 DN 的相关性, 并评价 ANCA、ACLA、 $\beta 2$ -MG 及 ANCA、ACLA 联合 $\beta 2$ -MG 等诊断方法诊断效率。结果 观察组患者 ACLA、ANCA、 $\beta 2$ -MG 抗体表达阳性率明显高于对照组 ($P < 0.05$); 不同 ACLA、ANCA、 $\beta 2$ -MG 水平下 DN 发生率比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), ACLA、ANCA、 $\beta 2$ -MG 与早期糖尿病肾病具有一定的相关性 ($P < 0.05$)。ACLA + ANCA + $\beta 2$ -MG 联合诊断敏感度明显高于单纯 ACLA、ANCA、 $\beta 2$ -MG ($P < 0.05$), 特异性低于单纯 RBP、Hcy、超声评分诊断, ACLA + ANCA + $\beta 2$ -MG 联合诊断一致性高于单纯 ACLA、ANCA、 $\beta 2$ -MG ($P < 0.05$)。由 ROC 曲线结果可知, ACLA + ANCA + $\beta 2$ -MG 联合诊断对于早期 DN 的诊断效率明显优于单纯 ACLA、ANCA、 $\beta 2$ -MG 诊断。结论 ACLA + ANCA + $\beta 2$ -MG 联合诊断较单纯 ACLA、ANCA、 $\beta 2$ -MG 诊断更能有效提高早期糖尿病肾病诊断准确率, 值得临床推广。

关键词 抗中性粒细胞胞质抗体 抗心磷脂抗体 早期糖尿病肾病 $\beta 2$ 微球蛋白

中图分类号 R587.2

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.05.013

Clinical Value of Serum ANCA, ACLA and $\beta 2$ -MG in Diagnosis of Early Diabetic Nephropathy. Wang Erping, Han Lin. The Second Department of Internal Medicine, Tongren Hospital of Kunming, Yunnan 650228, China

Abstract Objective To explore the clinical value of serum ANCA (antineutrophil cytoplasmic antibody), and ACLA (anticardiolipin antibodies) combined with $\beta 2$ -MG ($\beta 2$ microglobulin) in the diagnosis of DN (early diabetic nephropathy). **Methods** Fifty cases of patients with early diabetic nephropathy treated in our hospital from February 2016 to February 2017 were selected, and 50 normal volunteers were collected, as the observation group and control group. Positive rates of ANCA, ACLA and $\beta 2$ -MG expression of the patients were observed and recorded. The correlation of ANCA, ACLA, $\beta 2$ -MG and DN was explored and analyzed, and ANCA, ACLA, $\beta 2$ -MG and ANCA, ACLA combined with $\beta 2$ -MG diagnostic efficiency were evaluated. **Results** The positive rates of ACLA, ANCA, and $\beta 2$ -MG antibodies in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). There was difference in DN incidence in different levels of ANCA, ACLA, $\beta 2$ -MG ($P < 0.05$). There was a significant correlation in ACLA, ANCA, $\beta 2$ -MG and myocardial infarction. Combined diagnostic sensitivity ACLA + ANCA + $\beta 2$ -MG was significantly higher than that of pure ACLA, ANCA, $\beta 2$ -MG ($P < 0.05$). The specificity was lower than that of simple RBP, Hcy and ultrasonic scoring diagnosis. The consistency was higher than that of pure ACLA, ANCA, and $\beta 2$ -MG ($P < 0.05$). According to the results of ROC curve, the diagnostic efficiency of ACLA + ANCA + $\beta 2$ -MG combined with early diagnosis of DN was significantly better than that of pure ACLA, ANCA and $\beta 2$ -MG. **Conclusion** Combined use of ACLA + ANCA + and $\beta 2$ -MG can improve diagnostic accuracy of early diabetic nephropathy, which is more effectively than pure ACLA, ANCA, and $\beta 2$ -MG for diagnosis, and it is worthy of clinical promotion.

Key words ANCA; ACLA; DN; $\beta 2$ -MG

糖尿病肾病是糖尿病患者晚期重要并发症,也是影响患者生活质量的重要疾病^[1]。早期 DN 可无明显临床症状,随着糖尿病病情的恶化以及肾小球病变

的逐渐发展, DN 可引起肾衰竭^[2]。目前临床主要以对症治疗以及减少尿蛋白排泄等治疗缓解 DN 患者病情,而多数 DN 患者预后较差^[3,4]。为此,及时诊断及采取针对性措施对于发现并预防 DN 进一步发展显得尤为重要^[5]。血清学指标是近年来常用的辅助检查,对于 DN 的诊断具有一定的帮助,然而将其单纯用于 DN 的诊断时诊断效率较低。有研究发现,联

基金项目:云南省自然科学基金资助项目(面上项目)(2015FZ123)

作者单位:650228 昆明同仁医院内二科

通讯作者:王尔萍,电子邮箱:wangerping1968@163.com

合多种方法能有效提高诊断效率,增加诊断的准确性^[6]。为此,笔者通过对100例受试者进行研究,期望探究血清 ANCA、ACLA 联合 $\beta 2 - MG$ 对 DN 诊断的临床价值,现将报道如下。

资料与方法

1. 一般资料:选取2016年2月~2017年2月笔者医院收治的50例早期糖尿病肾病患者并征集50名正常志愿者,分别作为观察组和对照组。对照组年龄35~75岁,平均年龄为 58.4 ± 10.5 岁,体重48~74kg,平均体重为 68.2 ± 9.3 kg,合并高血压者29例,UAE(尿白蛋白排泄率)36~189 $\mu g/min$,平均UAE为 97.6 ± 12.4 $\mu g/min$;观察组患者年龄37~76岁,平均年龄为 57.6 ± 11.4 岁,体重50~74kg,平均体重为 66.1 ± 8.5 kg,合并高血压者28例,UAE(尿白蛋白排泄率)40~192 $\mu g/min$,平均UAE为 97.6 ± 12.4 $\mu g/min$;以上患者均在笔者医院确诊,并经病理证实,本研究经笔者医院伦理委员会批准,患者及家属知情并同意本研究。

2. 纳入与排除标准:(1)纳入标准:所选观察组患者均符合中华中医药学会肾病分会制定的《糖尿病肾病诊断、辨证分型及疗效评定标准》^[7]中关于糖尿病肾病的诊断标准,并经病理证实,两组受检者均未合并严重呼吸及循环系统疾病;无肾脏疾病史;无肾功能损伤病史;未合并神经系统疾病;无药物滥用史;无严重传染性疾病;无酒精成瘾史。(2)排除标准:伴有呼吸系统的急性感染或者含有其他系统的感染者;合并酮症酸中毒者;合并哮喘或者上呼吸道慢性炎症患者;对于医护人员的工作不配合者;对本研究所用药物过敏者;因各种原因无法完成本研究包含测评表者。

3. 方法:观察并记录下各组患者 ANCA、ACLA 及 $\beta 2 - MG$ 表达阳性率,探究并分析 ANCA、ACLA、 $\beta 2 - MG$ 与 DN 的相关性,并评价 ANCA、ACLA、 $\beta 2 - MG$ 及 ANCA、ACLA 联合 $\beta 2 - MG$ (只要有1项阳性就诊断为 DN)等诊断方法诊断效率(包括敏感度、特异性、一致性及 ROC 曲线)。抽取所有入选者空腹肘静脉血约3ml,将其放置于 EP 管中,以3000r/min 的速度离心10min,抽取上清液放置在 EP 管中保持于-20℃环境中待用。采用 ELISA 法检测血清中的 ACLA 抗体,采用间接免疫荧光法检测血清中的 ANCA 抗体,采用日立7600全自动生化分析仪检测血清中 $\beta 2 - MG$ 阳性率($\beta 2 - MG > 3.0mg/L$ 为阳性)。以上研究所用试剂盒均购自上海岚派生物科技有限

公司,所有操作均由笔者医院检验科人员按照说明书操作。

4. 统计学方法:以 SPSS 21.0 统计学软件对数据进行统计分析。所得数据均符合正态分布。因此,计数资料采用 χ^2 检验,血清学指标与 DN 发生率作单因素方差分析及 Logistic 回归分析,ROC 曲线评价各诊断方法诊断效率,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 两组患者抗体表达比较:对照组患者 ACLA、ANCA、 $\beta 2 - MG$ 抗体表达阳性率分别为 12.0%、6.0%、10.0%,观察组患者 ACLA、ANCA、 $\beta 2 - MG$ 抗体表达阳性率分别为 38.0%、34.0%、42.0%,明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$,表1)。

表 1 两组患者抗体表达比较[n(%)]

组别	n	各组患者抗体表达比较		
		ACLA	ANCA	$\beta 2 - MG$
对照组	50	6(12.0)	3(6.0)	5(10.0)
观察组	50	19(38.0)	17(34.0)	21(42.0)
χ^2		8.32	9.34	14.54
P		0.015	0.011	0.000

$\beta 2 - MG > 3.0mg/L$ 为阳性

2. 各血清学指标与 DN 发生率的单因素方差分析:不同 ACLA、ANCA、 $\beta 2 - MG$ 水平下 DN 发生率差异有统计学意义($P < 0.05$,表2)。

表 2 各血清学指标与 DN 相关性分析[n(%)]

项目	n	DN	χ^2	P	
ACLA	+	25	20(80.0)	8.45	0.012
	-	75	30(40.0)		
ANCA	+	20	17(85.0)	10.56	0.002
	-	80	33(41.3)		
$\beta 2 - MG$	+	26	24(92.3)	13.25	0.000
	-	74	26(35.2)		

3. 各血清学指标与 DN Logistic 回归分析:ACLA、ANCA、 $\beta 2 - MG$ 与 DN 的发生具有显著相关性($B = 0.342, SE = 0.172, Wald = 5.589, P = 0.036, OR = 1.354, 95\% CI: 1.043 \sim 1.552$; $B = 0.457, SE = 0.192, Wald = 6.473, P = 0.024, OR = 1.642, 95\% CI: 0.975 \sim 2.163$; $B = 0.415, SE = 0.157, Wald = 7.531, P = 0.006, OR = 1.946, 95\% CI: 1.292 \sim 2.582$),差异有统计学意义(表3)。

表3 各血清学指标与 DN Logistic 回归分析

指标	B	SE	Wald	P	OR	95% CI
ACLA	0.342	0.172	5.589	0.036	1.354	1.043 ~ 1.552
ANCA	0.457	0.192	6.473	0.024	1.642	0.975 ~ 2.163
$\beta 2 - \text{MG}$	0.415	0.157	7.531	0.006	1.946	1.292 ~ 2.582

4. 各检测方法准确性比较: ACLA + ANCA + $\beta 2 - \text{MG}$ 联合诊断敏感度明显高于单纯 ACLA、ANCA、 $\beta 2 - \text{MG}$ ($P < 0.05$), 特异性低于单纯 RBP、Hcy、超声评分诊断, ACLA + ANCA + $\beta 2 - \text{MG}$ 联合诊断一致性高于单纯 ACLA、ANCA、 $\beta 2 - \text{MG}$ ($P < 0.05$), 差异有统计学意义(表4)。

表4 各检测方法准确性比较 [n(%)]

指标	敏感度 (n=50)	特异性 (n=50)	一致性 (n=100)
ACLA	20(40.0)	45(90.0)	65(65.0)
ANCA	17(34.0)	47(94.0)	64(64.0)
$\beta 2 - \text{MG}$	24(48.0)	48(96.0)	72(72.0)
ACLA + ANCA + $\beta 2 - \text{MG}$	38(76.0)	43(86.0)	81(83.3)

5. 各诊断方法 ROC 曲线比较: 由 ROC 曲线结果可知, ACLA + ANCA + $\beta 2 - \text{MG}$ 联合诊断对于早期 DN 的诊断效率明显优于单纯 ACLA、ANCA、 $\beta 2 - \text{MG}$ 诊断(图1)。

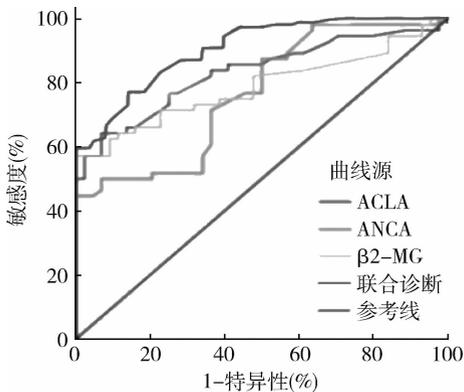


图1 各诊断方法 ROC 曲线比较

讨 论

ACLA 是一种以血小板和内皮细胞膜上带负电荷的心磷脂作为靶抗原的自身抗体, 常见于多种自身免疫性疾病^[8,9]。研究表明, ACLA 与血栓形成、血小板减少等有密切联系^[10]。此外, 有研究发现血管内皮细胞的损伤可加速 ACLA 的活化, 进而加快血小板的聚集, 促进血栓形成^[11]。而肾脏对于微血管病变较为敏感, 一旦肾脏血流受到影响, 可造成肾功能下降。ANCA 是指与中性粒细胞及单核细胞胞质中溶酶体酶发生反应的抗体, 能有效反映系统性血管炎活动性。本研究数据显示, 观察组患者 ACLA 抗体表达

阳性率 38.0% 明显高于对照组 12.0%, 由此可看出 ACLA 是肾损害的敏感指标之一。另有研究表明, 约 80% 系统性血管炎患者有肾脏受累表现, 但以往对于 ANCA 抗体的筛查不足, 并未注意到 DN 患者体内 ANCA 的变化^[12]。随着 ANCA 在临床的逐渐应用, 笔者发现多数 DN 患者体内 ANCA 抗体水平有所升高, 可能与糖尿病患者肾功能的恶化有关。

从表1数据可见, 观察组患者 ANCA 抗体表达阳性率 34.0% 显著高于对照组患者 6.0%, 因此认为 ANCA 是反应肾功能早期损伤的标志物。 $\beta 2 - \text{微球蛋白}$ 是由淋巴细胞、血小板、多形核白细胞产生的一种低分子球蛋白, 可以从肾小球自由滤过, 肾小球滤过功能受损或滤过负荷增加时, $\beta 2 - \text{微球蛋白}$ 可有所升高。DN 早期患者可无明显症状, 但肾小球结构的轻微可以引起 $\beta 2 - \text{MG}$ 的升高^[13]。从本研究数据可看出, 观察组 $\beta 2 - \text{MG}$ 抗体表达阳性率显著高于对照组, 说明 $\beta 2 - \text{MG}$ 对早期肾功能损害有一定诊断价值。但就 DN 的诊断而言, 单纯应用 ANCA、ACLA、 $\beta 2 - \text{MG}$ 其诊断效率并不理想, 为此, 笔者结合国内外相关研究, 对受试者进行联合 ANCA、ACLA 及 $\beta 2 - \text{MG}$ 检测并进行分析。

本研究中 DN 患者血清 ACLA、ANCA、 $\beta 2 - \text{MG}$ 有所升高, 且不同 ACLA、ANCA、 $\beta 2 - \text{MG}$ 水平下 DN 发生率有所差异, 提示可能与糖尿病患者炎症免疫反应紊乱及 DN 患者肾小球率过滤下降有关。Rabbani 等^[14]在研究中发现 DN 患者存在微血管炎性病变, 可能与自身抗体的分泌异常有关。而通过对各检测方法准确性进行比较发现, ACLA + ANCA + $\beta 2 - \text{MG}$ 联合诊断敏感度明显高于单纯 ACLA、ANCA、 $\beta 2 - \text{MG}$, 特异性低于单纯 RBP、Hcy、超声评分诊断, ACLA + ANCA + $\beta 2 - \text{MG}$ 联合诊断一致性高于单纯 ACLA、ANCA、 $\beta 2 - \text{MG}$, 进一步说明多项指标联合诊断能有效提高 DN 诊断敏感度, 增加诊断的准确度。此外, 本研究针对各诊断方法 ROC 曲线进行比较, 结果显示, ACLA + ANCA + $\beta 2 - \text{MG}$ 联合诊断对于早期 DN 的诊断效率明显优于单纯 ACLA、ANCA、 $\beta 2 - \text{MG}$ 诊断, 提示联合诊断可提高 DN 诊断效率。Engler 等^[15]也在研究中发现, 合理的联合诊断能有效改善单项检查准确率低的问题, 进而弥补单项检查时诊断敏感性低的问题, 增加诊断的准确度。

综上所述, ACLA + ANCA + $\beta 2 - \text{MG}$ 联合诊断较单纯 ACLA、ANCA、 $\beta 2 - \text{MG}$ 诊断更能有效提高早期糖尿病肾病诊断准确率, 值得临床推广。(下转第 59 页)

参考文献

- 1 Lee GY, Lim CT. Biomechanics approaches to studying human diseases [J]. Trends Biotechnol, 2007, 25(3):111-118
- 2 Yallapu MM, Katti KS, Katti DR, et al. The roles of cellular nanomechanics in cancer [J]. Med Res Rev, 2015, 35(1):198-223
- 3 Wandersee NJ, Maciaszek JL, Giger KM, et al. Dietary supplementation with docosahexanoic acid (DHA) increases red blood cell membrane flexibility in mice with sickle cell disease [J]. Blood Cells Mol Dis, 2015, 54(2):183-188
- 4 Kilpatrick JI, Revenko I, Rodriguez BJ. Nanomechanics of cells and biomaterials studied by atomic force microscopy [J]. Adv Healthc Mater, 2015, 4(16):2456-2474
- 5 Skorkina MY, Fedorova MZ, Muravyov AV, et al. The use of nanomechanic sensor for studies of morphofunctional properties of lymphocytes from healthy donors and patients with chronic lymphoblastic leukemia [J]. Bull Exp Biol Med, 2012, 154(1):163-166
- 6 Lam WA, Rosenbluth MJ, Fletcher DA. Increased leukaemia cell stiffness is associated with symptoms of leucostasis in paediatric acute lymphoblastic leukaemia [J]. Br J Haematol, 2008, 142(3):497-501
- 7 de Vries MA, Alipour A, Klop B, et al. Glucose-dependent leukocyte activation in patients with type 2 diabetes mellitus, familial combined hyperlipidemia and healthy controls [J]. Metabolism, 2015, 64(2):213-217
- 8 Perrault CM, Bray EJ, Didier N, et al. Altered rheology of lymphocytes in the diabetic mouse [J]. Diabetologia, 2004, 47(10):1722-1726
- 9 Murphy R, Turnbull DM, Walker M, et al. Clinical features, diagnosis and management of maternally inherited diabetes and deafness (MIDD) associated with the 3243A>G mitochondrial point mutation [J]. Diabet Med, 2008, 25(4):383-399
- 10 de Andrade PB, Rubi B, Frigerio F, et al. Diabetes-associated mitochondrial DNA mutation A3243G impairs cellular metabolic pathways necessary for beta cell function [J]. Diabetologia, 2006, 49

- (8):1816-1826
- 11 Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation [J]. Diabet Med, 1998, 15(7):539-553
- 12 Yan JB, Zhang R, Xiong C, et al. Pyrosequencing is an accurate and reliable method for the analysis of heteroplasmy of the A3243G mutation in patients with mitochondrial diabetes [J]. J Mol Diagn, 2014, 16(4):431-439
- 13 Visser J, van Staden PJ, Soma P, et al. The stabilizing effect of an oligomeric proanthocyanidin on red blood cell membrane structure of poorly controlled Type II diabetes [J]. Nutr Diabetes, 2017, 7(5):e275
- 14 Calzado-Martin A, Encinar M, Tamayo J, et al. Effect of actin organization on the stiffness of living breast cancer cells revealed by peak-force modulation atomic force microscopy [J]. ACS Nano, 2016, 10(3):3365-3374
- 15 Noda K, Nakao S, Zandi S, et al. Retinopathy in a novel model of metabolic syndrome and type 2 diabetes: new insight on the inflammatory paradigm [J]. FASEB J, 2014, 28(5):2038-2046
- 16 Hocaoglu-Emre FS, Saribal D, Yenmis G, et al. Vascular cell adhesion molecule 1, intercellular adhesion molecule 1, and cluster of differentiation 146 levels in patients with type 2 diabetes with complications [J]. Endocrinol Metab:Seoul, 2017, 32(1):99-105
- 17 Roy MS, Janal MN, Crosby J, et al. Markers of endothelial dysfunction and inflammation predict progression of diabetic nephropathy in African Americans with type 1 diabetes [J]. Kidney Int, 2015, 87(2):427-433
- 18 Yang X, Scott HA, Monickaraj F, et al. Basement membrane stiffening promotes retinal endothelial activation associated with diabetes [J]. FASEB J, 2016, 30(2):601-611

(收稿日期:2017-08-15)

(修回日期:2017-09-20)

(上接第54页)

参考文献

- 1 王彦春,张俊峰,魏殿军,等. 胱抑素 C 和 β_2 -微球蛋白对糖尿病肾病早期诊断的价值及相关性[J]. 广东医学, 2014, 24(17):2715-2717
- 2 王诚,余红岚,何伶俐,等. 胱抑素 C、尿 β_2 -MG 及 mALB/Cr 联合检测早期诊断糖尿病肾病的临床意义[J]. 山东医药, 2014, 12(21):59-61
- 3 肖家凤,罗建蓉,吕锦春,等. 血清胱抑素 C 和 β_2 -微球蛋白检测在糖尿病肾病早期诊断的应用价值[J]. 中国实验诊断学, 2015, 16(4):561-563
- 4 王卫. 微量白蛋白联合 β_2 -微球蛋白和血清光抑素在糖尿病肾病早期诊断中的应用[J]. 海南医学, 2014, 25(5):685-687
- 5 吴凤丽,马晓光. 联合检测血清 CysC、血清 hsCRP、和尿 β_2 -MG 在 2 型糖尿病早期肾病中的诊断价值[J]. 中国实验诊断学, 2014, 25(5):778-780
- 6 黄(王莹). 肾功能指标联合检测在糖尿病肾病早期的诊断价值[J]. 现代预防医学, 2015, 42(2):323-325
- 7 中华中医药学会肾病分会. 糖尿病肾病诊断、辨证分型及疗效评定标准(试行方案)[J]. 上海中医药杂志, 2007, 41(7):7-8
- 8 李莉,陈斌娟,林志艳,等. 超声造影定量分析技术联合血清胱抑素 C 及 β_2 微球蛋白在糖尿病肾病早期诊断中的价值[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(19):4781-4782
- 9 Pan D, Zhang D, Wu J, et al. A novel proteoglycan from Ganoderma lu-

- cidum fruiting bodies protects kidney function and ameliorates diabetic nephropathy via its antioxidant activity in C57BL/6 db/db mice[J]. Food Chem Toxicol, 2014, 63(5):111-118
- 10 陈薇薇. 血清胱抑素 C 与 β_2 微球蛋白在糖尿病肾病早期诊断中的意义[J]. 海南医学院学报, 2014, 20(6):776-778
- 11 Kim YS, Jung DH, Sohn E, et al. Extract of Cassiae semen attenuates diabetic nephropathy via inhibition of advanced glycation end products accumulation in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology, 2014, 21(5):734-739
- 12 Fujita H, Tani H, Murayama H, et al. DPP-4 inhibition with alogliptin on top of angiotensin II type 1 receptor blockade ameliorates albuminuria via up-regulation of SDF-1 α in type 2 diabetic patients with incipient nephropathy[J]. Endocrine J, 2014, 61(2):159-166
- 13 王波,董金颖,常波,等. 自身抗体联合检测对糖尿病肾病诊断的应用价值[J]. 中国实验诊断学, 2016, 8(2):262-265
- 14 Rabbani N, Thornalley PJ. The critical role of methylglyoxal and glyoxalase 1 in diabetic nephropathy[J]. Diabetes, 2014, 63(1):50-52
- 15 Engler FA, Zheng B, Balthasar JP, et al. Investigation of the influence of nephropathy on monoclonal antibody disposition: a pharmacokinetic study in a mouse model of diabetic nephropathy[J]. Pharmaceut Res, 2014, 31(5):1185-1193

(收稿日期:2017-07-14)

(修回日期:2017-09-15)