

自身抗体与肾虚型类风湿关节炎的相关性研究

郭林凯 罗十之 廖黔华 赖若谷 刘晓玲 刘丽娟 陈光星

摘要 目的 探讨自身抗体与肾虚型类风湿关节炎(RA)之间的关系,为进一步研究肾虚型 RA 发生的分子生物学机制提供临床依据。**方法** 将 451 例 RA 患者按中医辨证分为肾虚型组和非肾虚型组,比较两组一般情况,包括性别、年龄、病程、发病年龄、C 反应蛋白(CRP)、血沉(ESR)、血小板(PLT),病情活动情况(DAS28),自身抗体包括类风湿因子(RF)、抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体、抗核抗体(ANA)。**结果** (1)肾虚型组 ESR、PLT、DAS28 评分明显高于非肾虚型组($P < 0.05$, $P < 0.01$);(2)肾虚型组与非肾虚型组 RF 分别为(697.32 ± 1061.38) IU/mL 和(439.91 ± 672.24) IU/mL,两组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$),抗 CCP 抗体两组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。(3)RA 患者 ANA 阳性率为 29.63%(120/405)。肾虚型组 ANA 阳性率为 37.19%(74/199),非肾虚型组为 22.33%(46/206),两组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。(4)肾虚型 RA 患者出现 ANA 阳性和 RF 高滴度阳性的风险分别是非肾虚型的 2.059 倍和 1.574 倍。**结论** 肾虚 RA 出现自身抗体的风险更高、病情进展更快、关节破坏更严重、预后更差,相关机制可能与 B 细胞免疫失耐受密切相关。

关键词 类风湿关节炎;肾虚;自身抗体

Correlation Study of Auto-immune Antibodies and Rheumatoid Arthritis Patients of Shen Deficiency Syndrome GUO Lin-kai, LUO Shi-zhi, LIAO Qian-hua, LAI Ruo-gu, LIU Xiao-ling, LIU Li-juan, and CHEN Guang-xing Department of Rheumatology, First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou (510405), China

ABSTRACT Objective To investigate the correlation between auto-immune antibodies and rheumatoid arthritis (RA) patients of Shen deficiency syndrome (SDS), thus providing clinical evidence for further researches on molecular biological mechanisms of RA patients of SDS. **Methods** Totally 451 RA patients were assigned to the SDS group and the non-SDS group. Their general conditions (including gender, age, duration, and age of onset), C reactive protein (CRP), erythrocyte sedimentation rate (ESR), platelet (PLT), disease activities (DAS28), auto-antibodies [rheumatoid factor (RF), anti-CCP antibodies, anti-nuclear antibody (ANA)] were compared between the two groups. **Results** (1) The scores for ESR, PLT, and DAS28 were obviously higher in the SDS group than in the non-SDS group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). (2) The level of average RF was (697.32 ± 1061.38 IU/mL) in the SDS group, higher than that in the non-SDS group (439.91 ± 672.24 IU/mL, $P < 0.01$). There was no statistical difference in anti-CCP antibody between the two groups ($P > 0.05$). (3) The ANA positive rate of RA patients was 29.63% (120/405). It was 37.19% (74/199) in RA patients of SDS and 22.33% (46/206) in RA patients of non-SDS, showing statistical difference between the two groups ($P < 0.01$). (4) The odds ratio for high level RF positive and ANA positive was 1.574 and 2.059 folds in RA patients of SDS as high as that in RA patients of non-SDS. **Conclusions** RA patients of SDS would have higher risk of having auto-immune antibodies, fastened development, more worsen joint damage, and more poor prognosis. Its mechanisms might be closely associated with autoimmune tolerance.

KEYWORDS rheumatoid arthritis; Shen deficiency; auto-immune antibody

基金项目:国家自然科学基金资助课题(No. 30873243);教育部新世纪优秀人才项目(No. NCET-08-0642)

作者单位:广州中医药大学第一附属医院风湿免疫科(广州 510405)

通讯作者:陈光星, Tel:020-36598915, E-mail:cgx02@hotmail.com

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 属中医学“痹证”范畴,该病是一种以慢性进行性关节病变为主的自身免疫疾病,尽管其病因仍不清楚,但许多研究都提示遗传缺陷和环境因素相互作用引起 RA 的发生^[1]。中医学认为,肾虚是 RA (痹证) 发生的重要病因,正气不足加上风、寒、湿邪侵入人体,导致痹证的发生。然而,肾虚究竟如何引起 RA 发病的机制仍不清楚。

近年来,越来越多的证据表明 B 淋巴细胞在 RA 的发病中起着重要作用^[2],B 细胞自身免疫耐受会产生大量自身抗体从而激发免疫炎症^[3]。由于 B 细胞来源于骨髓的干细胞,并在骨髓中发育分化,按中医学理论肾主骨生髓,我们推测,B 细胞可能与肾关系密切,肾虚可能导致 B 细胞异常发育。然而,这种推测还缺乏临床依据。基于以上背景,本研究总结了近 3 年在我院诊治的 451 例患者的临床资料,探讨了自身抗体与肾虚型 RA 之间的相关性,为进一步研究肾虚 RA 的分子生物学机制提供临床依据。

资料与方法

1 诊断标准

1.1 RA 诊断标准 采用美国风湿病协会/欧洲抗风湿联盟 (ACR/EULAR) 2010 年 RA 分类标准^[4]。

1.2 肾虚证中医辨证标准 参考全国中西医结合虚证与老年病研究专业委员会 1986 年制订的中医虚证辨证^[5]:(1) 腰脊酸痛,外伤性除外;(2) 胫酸膝软或足跟痛;(3) 耳鸣耳聋;(4) 发脱或齿摇;(5) 尿后有余沥或失禁;(6) 性功能减退、不孕、不育。上述 6 项具备 3 项即可诊断为肾虚证。

2 纳入标准 (1) 符合 RA 西医诊断标准和中医肾虚证辨证分型标准;(2) 年龄 9~70 岁;(3) 患者知情同意。

3 排除标准 合并感染、肿瘤、妊娠、哺乳、器官功能衰竭以及其他免疫系统疾病者。

4 一般资料 451 例 RA 患者均为 2009 年 1 月—2012 年 3 月在广州中医药大学第一附属医院风湿免疫科门诊及住院部的患者。其中女性 355 例,男性 96 例,男女比例约为 1:3.7;平均年龄 (53.75 ± 13.45) 岁;平均病程 (7.02 ± 7.28) 年;平均发病年龄 (46.73 ± 17.52) 岁。按中医辨证分为 2 组。肾虚型组 218 例,非肾虚型组 233 例;两组性别、年龄、病程、发病年龄、肿胀关节数比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);肾虚型组压痛关节数多于非肾虚型组,两组比较 (表 1),差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。根据 2010 年 ACR/EULAR 提出的新的 RA 分类标准^[4],

病程 ≤ 2 年为早期 RA;病程 > 2 年为非早期 RA。早期 RA 患者中,肾虚型 63 例,非肾虚型 82 例;非早期 RA 患者中,肾虚型 155 例,非肾虚型 151 例。

表 1 两组 RA 患者一般情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	非肾虚型组 (233 例)	肾虚型组 (218 例)
男/女 (例)	58/175	38/180
年龄 (岁)	53.74 ± 13.84	53.77 ± 13.06
病程 (年)	6.79 ± 7.31	7.27 ± 7.26
发病年龄 (岁)	46.94 ± 14.45	46.50 ± 13.89
压痛关节数 (个)	10.22 ± 9.28	13.17 ± 8.90 *
肿胀关节数 (个)	8.70 ± 8.39	9.00 ± 7.31

注:与非肾虚型组比较, * $P < 0.05$

5 观察项目及检测方法

5.1 疾病活动性评价 根据 ACR/EULAR 推荐的 RA28 关节疾病活动度评分 (disease activity score in 28 joints, DAS28)^[6] 进行评价,若 DAS28 < 2.6 分为临床缓解;DAS28 2.6~3.2 分为轻度活动;DAS28 3.2~5.1 分为中度活动;DAS28 > 5.1 分为重度活动。

5.2 自身抗体的检测 (1) 抗核抗体 (ANA) 检测:采用 ELISA 试剂盒 (购自爱尔 Trinity biotech 公司)。应用美国 Bio-Rad Benchmark 酶标仪检测酶标板吸光度 (A) 值。判断标准:待测标本与标准液的 A 值比值, < 1.0 判为阴性, ≥ 1.0 判为阳性。(2) 类风湿因子 (RF): 采用免疫比浊法 (ITA) 进行检测,检测值 > 20.0 IU/mL 定为阳性。根据 ACR/EULAR 提出的新的 RA 分类标准^[4], RF 值 < 20 IU/mL 为阴性; RF 值 > 正常值上限,并 ≤ 3 倍正常值上限 (20~60 IU/mL) 为低滴度阳性, RF 值 > 3 倍正常值上限 (> 60 IU/mL) 为高滴度阳性。(3) 抗环瓜氨酸肽抗体 (抗 CCP 抗体) 采用德国欧蒙医学实验诊断公司的 CCP 抗体 ELISA 试剂盒检测,结果 > 5 IU/mL 为抗 CCP 抗体阳性; 5~15 IU/mL 为抗 CCP 抗体低滴度阳性;抗 CCP 抗体值 > 15 IU/mL 为抗 CCP 抗体高滴度阳性。

5.3 C 反应蛋白 (CRP) 采用速率散射免疫比浊法、血沉 (ESR) 采用手工魏式法、血小板 (PLT) 检测采用全自动血液细胞分析仪检测。

6 统计学方法 用 SPSS 12.0 统计学分析软件进行数据处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验进行比较,计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 两组 CRP、ESR、PLT 及 DAS28 评分比较 (表 2) 肾虚型组 ESR、PLT 水平均高于非肾虚型组

表 2 两组病情活动情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CRP (mg/L)	ESR (mm/h)	PLT ($\times 10^9/L$)	DAS28 评分 (分)
非肾虚型	233	36.11 $\pm$ 37.61	62.62 $\pm$ 34.55	304.96 $\pm$ 102.30	5.59 $\pm$ 1.42
肾虚型	218	41.35 $\pm$ 38.73	69.11 $\pm$ 34.05 *	331.16 $\pm$ 126.89 *	6.08 $\pm$ 1.26 **

注:与非肾虚型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

($P < 0.05$);肾虚型组 DAS28 评分亦明显高于非肾虚型组,两组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2 患者病情活动比较 临床缓解:非肾虚型组 6 例,肾虚型 1 例;轻度活动:非肾虚型组 4 例,肾虚型组 3 例;中度活动:非肾虚型组 77 例,肾虚型组 45 例;重度活动:非肾虚型组 146 例,肾虚型组 169 例;两组中度活动及重度活动比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。

3 两组 ANA、RF 及抗 CCP 抗体比较 RA 患者 ANA 阳性率为 29.63% (120/405),缺失 46 例;肾虚型组 ANA 阳性率为 37.19% (74/199),缺失 19 例;非肾虚型组为 22.33% (46/206),缺失 27 例。两组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。肾虚型组与非肾虚型组 RF 分别为 (697.32 $\pm$ 1061.38) IU/mL 和 (439.91 $\pm$ 672.24) IU/mL,两组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。肾虚型组表达高滴度阳性为 83.25% (169/203),低滴度阳性为 16.75% (34/203);非肾虚型组分别为 78.43% (160/204)、21.56% (44/204);两组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。肾虚型组抗 CCP 抗体高滴度阳性率为 86.26% (182/211),低滴度阳性为 5.69% (12/211);非肾虚型组高滴度阳性率为 85.52% (189/221),低滴度阳性为 4.98% (11/221);两组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

4 肾虚型 RA 患者出现 ANA 阳性的危险度估计分析 肾虚型 RA 患者与 ANA 阳性具有强相关性 (OR 值为 2.059, 95% 可信区间为 1.331 ~ 3.185, $P < 0.01$)。肾虚型 RA 与 RF 高滴度阳性具有相关性 (OR 值为 1.574, 95% 可信区间为 1.032 ~ 2.399, $P < 0.05$);肾虚型 RA 与抗 CCP 抗体高滴度阳性无明显相关性 (OR 值为 1.051, 95% 可信区间为 0.611 ~ 1.808, $P > 0.05$)。

讨 论

《金匱要略·中风历节病》篇曰:“寸口脉沉而弱,沉即主骨,弱即主筋,沉即为肾,弱即为肝。”明确指出肝肾不足是本病发生的主要内因。大量遗传学、免疫学和临床研究等证据显示,B 细胞在 RA 的发生、发展

乃至治疗中起着关键作用^[2]。B 细胞起源于骨髓中的多能干细胞,在骨髓中生长、发育,B 细胞异常发育可产生抗 ANA、RF 及抗 CCP 抗体等多种自身抗体,引发 RA 的自身免疫炎症反应^[2,3]。

ANA 是真核细胞核成分的自身抗体谱的总称,由自身免疫性 B 细胞产生,是体液免疫失调的重要表现,多年来 ANA 一直是自身免疫疾病的辅助诊断标志物^[7]。ANA 阳性使发生 SLE、RA 等系统性风湿性疾病的可能性增加 19% ~ 30%,相反,如果 ANA 阴性,则上述疾病的可能性降低 7%^[8,9]。有文献报道 RA 患者 ANA 阳性率约为 44%^[10],而本研究为 29.60%,因我们的样本例数较大,故数据更为可靠。肾虚型 RA 患者 ANA 的阳性率明显高于非肾虚型 RA 患者 ($P < 0.05$),危险度分析 OR 值为 2.059,表明 ANA 与肾虚型 RA 之间有密切关系,肾虚型 RA 患者出现 ANA 阳性的风险比非肾虚型 RA 患者高 2.07 倍,提示肾虚出现自身免疫异常的可能性大为增加。

RF 是抗人或动物 IgG 分子 Fc 片段上抗原决定簇的特异抗体,由 B 细胞产生,是最早从 RA 患者血清中发现的自身抗体^[1]。RF 可在滑膜及外周血形成免疫复合物及 IgG-IgG 凝聚物,激活补体,导致血管炎;亦参与刺激单核细胞形成白细胞介素 1 (IL-1) 及肿瘤坏死因子 (TNF- α),引起继发性免疫反应。RF 增高,提示 B 细胞自身免疫耐受功能障碍,体液免疫失调。RF 阳性 RA 尤其是 RF 高滴度阳性的 RA 患者,更可能发生进展性、侵蚀性关节炎伴有关节功能丧失,且易出现坏死性血管炎、类风湿结节等关节外表现,远期预后差^[11]。本研究发现肾虚型 RA 患者 RF 的平均值明显高于非肾虚型 RA 患者 ($P < 0.01$),出现 RF 高滴度阳性的风险是非肾虚型 RA 患者的 1.57 倍。由此,我们推测肾虚型比非肾虚型 RA 可能进展更快、关节侵蚀更为严重。令我们更感兴趣的是,ANA 和 RF 都是由 B 细胞产生,肾虚型 RA 发生 ANA 阳性和高滴度 RF 的几率明显升高,说明肾虚型 RA 的发生发展可能与 B 细胞免疫耐受密切相关,其机制有待我们进一步研究。

从中医学理论来看,肾虚不仅参与了 RA 的发病,而且会影响 RA 的预后,由于肾主骨生髓的功能失调,

会导致肌肉筋骨失于濡养,终至筋伤骨损,关节结构破坏而致残。本研究病情中度及重度活动的 RA 患者约占 27.05% 和 69.80%,尤以重度活动患者为多,与本研究中的患者主要来自住院部,病情较重有关。肾虚型 RA 患者的 ESR、PLT、DAS28 评分均高于非肾虚型 RA 患者($P < 0.05$);在病情活动度为临床缓解、低度活动、中度活动时,以非肾虚型 RA 患者为主,而当病情为重度活动时,以肾虚型 RA 患者为主($P > 0.05$)。这些结果表明,肾虚型 RA 患者的病情活动度较非肾虚型为高,在病情重度活动的 RA 患者中,以肾虚型为主,提示病情活动度与肾虚关系密切。肾虚的患者病情活动严重,而病情活动越重,肾虚的发生率越高,与肾虚患者正气不足,易致外邪侵袭有关。

综上所述,肾虚是 RA 患者出现高滴度 RF 阳性、ANA 阳性的危险因素。肾虚型比非肾虚型 RA 进展更快、关节侵蚀将更为严重,其机制可能与 B 细胞免疫失耐受密切相关。

参 考 文 献

- [1] Harris ED, Budd RC, Firestein GS, et al. Kelley's textbook of rheumatology [M]. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunder, 2005: 853,267.
- [2] Samuels J, Ng YS, Coupillaud C, et al. Impaired early B cell tolerance in patients with rheumatoid arthritis[J]. J Exp Med, 2005, 201(10): 1659-1667.
- [3] van Gaalen F, Ioan-Facsinay A, Huizinga TW, et al. The devil in the details: the emerging role of anti-citrulline autoimmunity in rheumatoid arthritis [J]. J Immunol, 2005, 175(9): 5575-5580.
- [4] Neogi T, Aletaha D, Silman AJ, et al. The 2010 American College of Rheumatology/European League against Rheumatism classification criteria for rheumatoid arthritis: phase 2 methodological report[J].

Arthritis Rheum, 2010, 62(9): 2582-2591.

- [5] 沈自尹,王文健.中医虚证参考标准[J]. 中国中西医结合杂志,1986,6(10): 598.
- [6] Den Broeder AA, Creemers MC, van Gestel AM, et al. Dose titration using the Disease Activity Score (DAS28) in rheumatoid arthritis patients treated with anti-TNF-alpha [J]. Rheumatology (Oxford), 2002, 41(6): 638-642.
- [7] Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists [J]. Arch Pathol Lab Med, 2000, 124(1): 71-81.
- [8] Kallenberg CG, Wouda AA, Hoet MH, et al. Development of connective tissue disease in patients presenting with Raynaud's phenomenon: a six-year follow-up with emphasis on the predictive value of antinuclear antibodies as detected by immunoblotting[J]. Ann Rheum Dis, 1988, 47(8): 634-641.
- [9] Spencer-Green G. Outcomes in primary Raynaud phenomenon: a meta-analysis of the frequency, rates, and predictors of transition to secondary diseases[J]. Arch Intern Med, 1998, 158(6): 595-600.
- [10] Bruns A, Nicaise-Roland P, Hayem G. Prospective cohort study of effects of infliximab on rheumatoid factor, anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and antinuclear antibodies in patients with long-standing rheumatoid arthritis [J]. Joint Bone Spine, 2009, 76(3): 248-253.
- [11] Furst DE. Predictors of worsening clinical variables and outcomes in rheumatoid arthritis[J]. Rheum Dis Clin North Am, 1994, 20(2): 309-319.

(收稿:2012-11-02 修回:2013-01-20)