DOI:10.16016/j.1000-5404.201902006

血清 IgG 及 IgG4 检测在 ANCA 相关性血管炎中的诊断价值

秦陈浩,顾爱萍,展富琴,冯 萍,顾昊宇,何春燕,杨 顺 215004 江苏 苏州,苏州大学附属第二医院检验科

[摘要] **目的** 研究分析血清 IgG 及 IgG4 在 ANCA 相关性血管炎(AAV)患者中的表达,探讨 IgG4 在 AAV 中的诊断价值。**方法** 收集本院就诊的 AAV 患者血清 48 例为患者组,同期健康人血清 25 例作为对照组,用 ELISA 法检测 IgG4 浓度,免疫比浊法检测 IgG 浓度,船式 ELISA 法检测抗髓过氧化物酶抗体(anti-MPO)和抗蛋白酶 3 抗体(anti-PR3)浓度,两组数据间比较用 t 检验,多组数据用单因素方差分析,两两间比较用 LSD-t 检验,两组间指标相关性分析用 Pearson 相关性分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。**结果** AAV 患者组血清 IgG4 浓度为(1.17±0.58)g/L,IgG4/IgG 为(10.12±6.64)%,明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.01$);MPO-ANCA 相关性 AAV 和 PR3-ANCA 相关性 AAV 患者组的血清 IgG4 浓度及 IgG4/IgG 较健康对照组均有明显升高($P<0.01$),但两个亚型之间的 IgG4 表达没有差异($P>0.05$),ANCA 浓度与 IgG4 浓度也没有明显相关性($P>0.05$)。**结论** AAV 或其亚型患者的 IgG4 浓度及 IgG4/IgG 均有明显升高,但与 ANCA 的类型及其浓度没有明显相关性,IgG4 联合 ANCA 检查有助于 AAV 的诊断。

[关键词] IgG4;IgG4 相关疾病;ANCA 相关性血管炎;抗髓过氧化物酶抗体;抗蛋白酶 3 抗体
[中图法分类号] R392.11; R446.112; R543.04 [文献标志码] A

Diagnostic value of serum IgG and IgG4 in antineutrophil cytoplasmic antibody associated vasculitis

QIN Chenhao, GU Aiping, ZHAN Fuqin, FENG Ping, GU Haoyu, HE Chunyan, YANG Shun Department of Medical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou, Jiangsu Province, 215004, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the expression of serum IgG and IgG4 in the patients with antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated vasculitis (AAV), and explore the diagnostic value of IgG4 in AAV patients. **Methods** A total of 48 patients with AAV admitted in our hospital from July 2016 to June 2018 were recruited as patient group, and 25 healthy persons during the same period were subjected as control group. Their serum samples were collected for concentration of IgG4 by ELISA, that of IgG by immunoturbidimetric assay, and those of anti-MPO and anti-PR3 antibodies by ship type ELISA. Student's t test was used to make data comparison between the 2 groups, one-way ANOVA was employed for comparison among the multiple groups, and LSD-t test was applied for intragroup comparison. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between the 2 groups, and $P<0.05$ was considered statistically. **Results** The serum IgG4 concentration was 1.17±0.58 g/L, and the percentage of IgG4 to IgG was (10.12±6.64)% in the AAV patients, which were significantly higher than those of healthy individuals ($P<0.01$). So were the concentrations in the MPO-ANCA-associated and PR3-ANCA-associated AAV patients ($P<0.01$). But there was no difference in the expression of IgG4 between the 2 subtypes ($P>0.05$), and there was no significant correlation between ANCA concentration and IgG4 concentration ($P>0.05$). **Conclusion** IgG4 concentration and IgG4/IgG percentage are significantly increased in the patients with AAV or its subtypes. But there is no significant correlation with the types and ANCA concentration. Detection of IgG4 combined with ANCA is helpful in the diagnosis of AAV.

[**Key words**] IgG4; IgG4-related diseasse; antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis; anti-MPO antibody; anti-PR3 antibody

Corresponding author: YANG Shun, E-mail: 632762437@qq.com

[通信作者] 杨 顺, E-mail:632762437@QQ.com

[网络首发] http://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1126.r.20190505.1617.001.html

AAV 属原发性小血管炎,因部分疾病与抗中性粒细胞胞浆抗体(anti-neutrophil cytoplasmic antibodies,ANCA)密切相关,因而称之为 ANCA 相关性血管炎(ANCA-associated vasculitis,AAV),ANCA 是 AAV 的标志性自身抗体,它是抗中性粒细胞胞浆抗体的总称,ANCA 通常按照其靶抗原的不同来分类,CHCC 2012 分类标准依据 ANCA 的类型将 AAV 再细分为 3 类:MPO-ANCA 相关性 AAV、PR3-ANCA 相关性 AAV、ANCA 阴性 AAV[1],酶免法、免疫印迹法、免疫荧光法是目前检测 ANCA 主要方法,但仍有少部分 AAV 患者无法检出 ANCA,原因可能是存在目前常规方法无法检测到的 ANCA,也可能是存在尚未发现的特异性 ANCA。另外,AAV 患者在接受激素或免疫抑制剂治疗后其 ANCA 浓度会降低甚至转阴,这对疾病的诊断会带来一些困难。IgG4 相关疾病(IgG4-related disease,IgG4-RD)是近年来新发现的一组疾病,2010 年才统一命名为 IgG4-RD,临床上较多采用的诊断要素是:血清 IgG4 浓度大于 1.35 g/L,病损组织中 IgG4 阳性细胞/IgG 阳性细胞大于 40%[2]。国内、外有个例报道称 AAV 患者血清中 IgG4 也有明显升高[3,4],病理检查显示局部组织也有 IgG4+浆细胞浸润,本实验中我们将通过收集 AAV 患者血清,定量检测 IgG4 和及计算 IgG4/IgG 值,研究分析血清 IgG4 在 AAV 患者中的表达情况,探讨其在 AAV 中的诊断价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集 2016 年 7 月至 2018 年 6 月于苏州大学附属第二医院接受治疗的 AAV 患者 48 例,其中男性 19 例,女性 29 例,年龄(28~88)岁,其中 MPO-ANCA 相关性 AAV 患者 31 例,PR3-ANCA 相关性 AAV 患者 14 例,ANCA 阴性 AAV 患者 3 例,所有 AAV 患者临床表现符合 2012 年 Chapel Hill 共识会议(Chapel Hill consensus conference,CHCC)的血管炎分类标准[5]。健康对照组为同期 25 名健康体检者,其中男性 10 例,女性 15 例,年龄(17~65)岁,患者均排除急慢性感染和风湿免疫性疾病,研究遵循的程序符合医学伦理委员会所制定的伦理学标准,并获得该委员会的批准,标本的采集均在获得受试者知情同意后完成。

1.2 实验方法

1.2.1 仪器与试剂

1.2.1.1 主要仪器 离心机为安徽中科中佳科学仪器有限公司,TECAN Sunrise 酶标仪为瑞士帝肯公司产品,SIEMENS 全自动蛋白分析仪为德国西门子公司产品, Union 免疫分析仪为深圳亚辉龙生物科技股份有限公司产品、37℃恒温孵育箱、移液器等。

1.2.1.2 试剂材料 IgG4 ELISA 检测试剂盒为艾莱萨生物科技(上海)有限公司产品,IgG 检测试剂盒为西门子医疗系统有限公司产品,anti-MPO 试剂盒和 anti-PR3 试剂盒为深圳亚辉龙生物科技股份有限公司产品。

1.2.2 方法和步骤

IgG4 的测定检测采用 ELISA 法,在预先包被抗 IgG4 抗体的微孔中,依次加入标准物、标本、HRP 标记的二抗,经过温育后洗涤,用底物 TMB 显色,显色后用硫酸终止,颜色的深浅和样品中的 IgG4 浓度成正比,用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度(OD 值),再根据标准品拟合回归曲线并计算出样本血清中 IgG4 浓度。血清 IgG 浓度测定采用免疫散射比浊法在 SIEMENS 全自动蛋白分析仪上自动完成。anti-MPO 浓度和 anti-PR3 浓度在亚辉龙 Union 免疫分析仪上自动测定完成。

1.3 统计学分析

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组数据间比较用 t 检验,多组数据用单因素方差分析,两两间比较用 LSD-t 检验,两组间指标相关性分析用 Pearson 相关性分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 IgG、IgG4 浓度及 IgG4/IgG 比值

AAV 患者组 IgG4 浓度为(1.17±0.58)g/L,明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.01$),AAV 患者组 IgG4/IgG 为(10.12±6.64)%,IgG4 占 IgG 百分比明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

表 1 AAV 患者组和健康对照组 IgG、IgG4 浓度及 IgG4/IgG 百分比值

分组	n	IgG/g·L^{-1}	IgG4/g·L^{-1}	IgG4/IgG(%)
AAV 患者组	48	13.56±5.04	1.17±0.58[a]	10.12±6.64[a]
健康对照组	25	13.59±1.45	0.55±0.31	4.15±2.47
t		−0.270	4.797	4.238
P		0.979	0.000	0.000

a:$P<0.01$,与健康对照组比较

2.2 MPO-ANCA 相关性 AAV 患者与 PR3-ANCA 相关性 AAV 患者 IgG、IgG4 浓度及 IgG4/IgG 比值

48 例 AAV 患者中 MPO-ANCA 相关性 AAV 为 31 例,IgG4 浓度为(1.07±0.53)g/L,IgG4/IgG 为(10.53±7.68)%、PR3-ANCA 相关性 AAV 为 14 例,IgG4 浓度为(1.38±0.65)g/L,IgG4/IgG 为(9.21±3.43)%,分

析表明 IgG4 及 IgG4/IgG 均高于健康对照组($P<0.05$),但两组 AAV 亚型内没有明显差异($P>0.05$),因 ANCA 阴性 AAV 仅为 3 例,例数太少未纳入统计比较,见表 2。

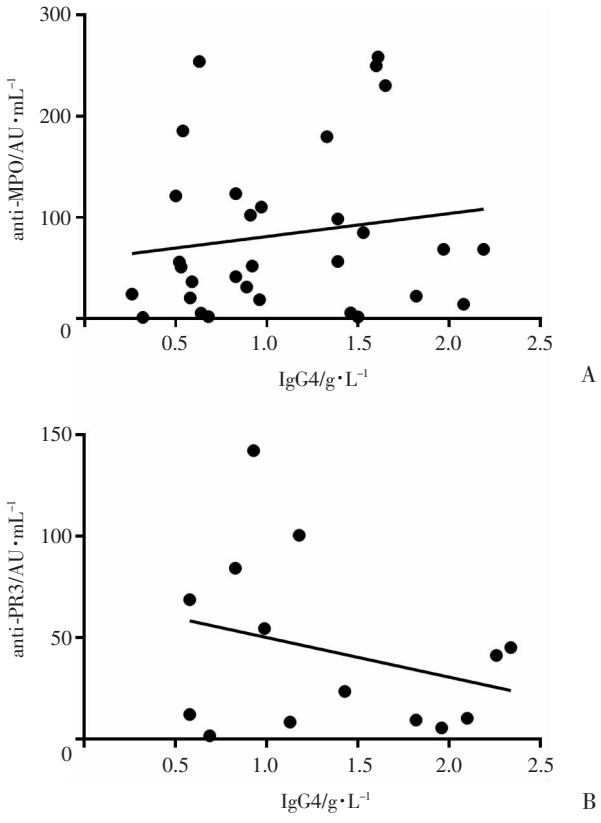
表 2 MPO-ANCA 相关性 AAV 与 PR3-ANCA 相关性 AAV 患者 IgG、IgG4 浓度及 IgG4/IgG 结果

病种	n	IgG/g·L^{-1}	IgG4/g·L^{-1}	IgG4/IgG(%)
MPO-ANCA 相关性 AAV	31	13.77±4.85	1.07±0.53[a]	10.53±7.68[a]
PR3-ANCA 相关性 AAV	14	13.10±5.61	1.38±0.65[a]	9.21±3.43[a]
健康对照组	25	13.59±1.45	0.55±0.31	4.15±2.47
F		2.649	13.119	9.047
P		0.078	0.000	0.000

a:$P<0.01$,与健康对照组比较

2.3 anti-MPO 和 anti-PR3 浓度与 IgG4 浓度相关性分析

MPO-ANCA 相关性 AAV 患者 anti-MPO 浓度与 IgG4 含量($r=0.155$,$P=0.405$)和 PR3-ANCA 相关性 AAV 患者 anti-PR3 与 IgG4 含量($r=-0.292$,$P=0.311$)均没有明显相关性(图 1)。



A: anti-MPO,B: anti-PR3

图 1 anti-MPO 和 anti-PR3 浓度与 IgG4 浓度相关性分析

3 讨论

本实验中 AAV 或其亚型患者的 IgG4 浓度及 IgG4 占总 IgG 的比例均明显高于健康对照组,ANCA 阴性 AAV 因例数较少,未进行统计比较,但 IgG4 浓度也有明显升高。AAV 是西方国家最常见的自身免疫性疾病之一,也是近 10~20 年来国内、外研究的热点,本病临床特点是发热、贫血、肺和肾功能损害、血沉增快等,根据组织病理学特点将 AAV 分为显微镜下多血管炎(MPA)、肉芽肿性多血管炎(GPA)、嗜酸性肉芽肿性多血管炎(EGPA)和单器官 AAV[5]。ANCA 是 AAV 重要的血清学诊断依据,研究表明,根据 ANCA 特异性而非临床诊断对 AAV 进行分类可以传达更有用的临床诊断信息[6],GPA 患者主要为 anti-PR3 阳性,而 MPA 患者主要为 anti-MPO 阳性,GPA 在欧美多见[7],而在我国则以 anti-MPO 阳性的 MPA 为主,与报道相同,本文收集的病例 MPO-ANCA 相关性 AAV 占总 AAV 近 70%,这种差别被认为是由于 ANCA 亚型的地域差别造成的[8]。我们注意到,ANCA 阴性 AAV 患者中尚无标志性自身抗体,需要进一步组织学和影像学检查,另外,患者在接受激素和免疫抑制剂治疗后 ANCA 浓度会降低甚至转阴,可能会导致漏诊、误诊,Sakairi T 等报道一例 ANCA 阴性肾小血管炎合并 IgG4 阳性浆细胞间质浸润,此患者血清 IgG4 明显升高[9],本实验结果表明在 AAV 中 IgG4 的也升高明显,但升高幅度不及 IgG4-RD,且与 ANCA 的浓度和类型均无明显相关性,于峰等人的研究也表明 IgG4 浓度升高与 AAV 病情不同步[10],血清 IgG4 在 AAV 患者中升高不易受 ANCA 影响,这一特征可以弥补 ANCA 不能检出时 AAV 的诊断,尤其在 ANCA 阴性 AAV 患者中更有诊断价值。

正常情况下健康人 IgG4 仅占总 IgG 的 3%~6%,主要通过旁路途径激活补体,可以通过胎盘,且对于靶抗原亲和力较低,高表达的 Th2 型细胞因子包括 IL-4,IL-5,IL-10 和 IL-13 能同时伴高浓度的 IgG4 被检出[11-12],IL-4 是负责驱动 Th2 应答的主要细胞因子[13],它最先被认为是诱导 IgG4 应答的主要细胞因子[14]。KUROKI 等[15]发现,当有 Th2 细胞因子特别是 IL-4 存在时,特发性膜性肾病患者 IgG4 的表达显著升高,同时 IL-6 对 IgG4 的升高也有促进作用[16]。研究还表明由 Th2 细胞分泌 IL-21 在 IgG4-RD 患者淋巴结中生发中心的形成和 IgG 向 IgG4 亚型的类别转化中发挥关键作用[17],另一项有报道称体外试验中刺激 CD148+和 CD148- B 淋巴细胞,结果表明 IgG4 主要由 CD148-B 淋巴细胞产生[18]。AAV 患者血清 IgG4 升高可能就在相关自身抗体、细胞因子和淋巴细胞相互作用下造成的,虽然不是一个特异性的抗体,但是在 AAV 中有明显升高,联合 ANCA 检查可以作为 AAV

的一个较好辅助诊断指标,IgG4 在对疾病有无保护作用,还是只是炎症反应副产物需要进一步深入研究和积累更多临床资料。

IgG4 是一个独特的免疫球蛋白亚型,本研究中 AAV 或其亚型患者血清 IgG4 浓度明显升高,且浓度升高与 ANCA 类型及浓度无明显相关性,因此,联合 IgG4 和 ANCA 检测有助于 AAV 的诊断,尤其是在 ANCA 阴性的 AAV 中更具有诊断价值。

参考文献:

[1] JENNETTE J C, FALK R J, BACON P A, *et al*. 2012 revised international chapel hill consensus conference nomenclature of vasculitides[J]. Arthritis Rheum, 2013, 65(1): 1-11. DOI:10.1002/art.37715.

[2] UMEHARA H, OKAZAKI K, MASAKI Y, *et al*. Comprehensive diagnostic criteria for IgG4-related disease (IgG4-RD), 2011[J]. Mod Rheumatol, 2012, 22(1): 21-30. DOI:10.1007/s10165-011-0571-z.

[3] 高辉, 张萍, 李贵森, 等. ANCA 相关性肾炎合并 IgG4 相关性疾病一例[J]. 中华肾脏病杂志, 2014(12): 953-954. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2014.12.014.
GAO H, ZHANG P, LI G S, *et al*. A case report of ANCA-associated nephritis with IgG4-related diseases [J]. Chin J Nephrol, 2014(12): 953-954. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2014.12.014.

[4] IGUCHI A, WADA Y, KOBAYASHI D, *et al*. A case of MPO- and PR3-ANCA-positive hypertrophic cranial pachymeningitis with elevated serum IgG4[J]. Mod Rheumatol, 2013, 23(1): 151-155. DOI:10.1007/s10165-012-0613-1.

[5] JENNETTE J C. Overview of the 2012 revised international chapel hill consensus conference nomenclature of vasculitides [J]. Clin Exp Nephrol, 2013, 17(5): 603-606. DOI:10.1007/s10157-013-0869-6.

[6] CORNEC D, CORNEC-LE GALL E, FERVENZA F C, *et al*. ANCA-associated vasculitis-clinical utility of using ANCA specificity to classify patients[J]. Nat Rev Rheumatol, 2016, 12(10): 570-579. DOI:10.1038/nrrheum.2016.123.

[7] DANLOS F X, ROSSI G M, BLOCKMANS D, *et al*. Antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitides and IgG4-related disease: A new overlap syndrome[J]. Autoimmun Rev, 2017, 16(10): 1036-1043. DOI:10.1016/j.autrev.2017.07.020.

[8] LI Z Y, MA T T, CHEN M, *et al*. The prevalence and management of anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis in China[J]. Kidney Dis (Basel), 2016, 1(4): 216-223. DOI:10.1159/000441912.

[9] SAKAIRI T, OKABE S, HIROMURA K, *et al*. A case of ANCA-negative renal small-vessel vasculitis with tubulointerstitial infiltration of IgG4-positive plasma cells[J]. Mod Rheumatol, 2016, 26(5): 780-783. DOI: 10.3109/14397595.2014.915510.

[10] 于峰, 赵明辉, 章友康. 原发性小血管炎中 ANCA IgG 亚型的分布及临床意义[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2003, 23(9): 747-748. DOI:10.3760/j:issn:0254-5101.2003.09.028.
YU F, ZHAO M H, ZHANG Y K. Distribution and clinical significance of ANCA IgG subtypes in primary vasculitis [J]. Chin J Microbiol Immunol, 2003, 23(9): 747-748. DOI:10.3760/j:issn:0254-5101.2003.09.028.

[11] KANARI H, KAGAMI S, KASHIWAKUMA D, *et al*. Role of Th2 cells in IgG4-related lacrimal gland enlargement[J]. Int Arch Allergy Immunol, 2010, 152(Suppl 1): 47-53. DOI:10.1159/000312125.

[12] SUZUKI K, TAMARU J, OKUYAMA A, *et al*. IgG4-positive multi-organ lymphoproliferative syndrome manifesting as chronic symmetrical sclerosing dacryo-sialadenitis with subsequent secondary portal hypertension and remarkable IgG4-linked IL-4 elevation[J]. Rheumatology (Oxford), 2010, 49(9): 1789-1791. DOI:10.1093/rheumatology/keq113.

[13] TIPPING P G, KITCHING A R. Glomerulonephritis, Th1 and Th2: what's new? [J]. Clin Exp Immunol, 2005, 142(2): 207-215. DOI:10.1111/j.1365-2249.2005.02842.x.

[14] SPIEGELBERG H L. Fc receptors for IgE and interleukin-4 induced IgE and IgG4 secretion[J]. J Invest Dermatol, 1990, 94(6): s49-s52. DOI: 10.1111/1523-1747.ep12875051.

[15] KUROKI A, IYODA M, SHIBATA T, *et al*. Th2 cytokines increase and stimulate B cells to produce IgG4 in idiopathic membranous nephropathy[J]. Kidney Int, 2005, 68(1): 302-310. DOI:10.1111/j.1523-1755.2005.00415.x.

[16] CARBONE G, WILSON A, DIEHL S A, *et al*. Interleukin-6 receptor blockade selectively reduces IL-21 production by CD4 T cells and IgG4 autoantibodies in rheumatoid arthritis [J]. Int J Biol Sci, 2013, 9(3): 279-288. DOI: 10.7150/ijbs.5996.

[17] ZAIDAN M, CERVERA-PIEROT P, DE SEIGNEUX S, *et al*. Evidence of follicular T-cell implication in a case of IgG4-related systemic disease with interstitial nephritis[J]. Nephrol Dial Transplant, 2011, 26(6): 2047-2050. DOI: 10.1093/ndt/gfr097.

[18] TANGYE S G, LIU Y J, AVERSA G, *et al*. Identification of functional human splenic memory B cells by expression of CD148 and CD27[J]. J Exp Med, 1998, 188(9): 1691-1703.

(**收稿**:2019-02-02;**修回**:2019-04-27)

(编辑 邓强庭)