

论著·临床研究

血清急性淀粉样蛋白 A 水平与白塞病活动度的相关性研究

周桢源, 林艳伟, 沈 南, 陆 瑜

上海交通大学 医学院附属仁济医院风湿科 上海 200127

[摘要] **目的**·评估血清急性淀粉样蛋白 A (A-SAA) 与白塞病 (BD) 活动度的相关性。**方法**·收集活动期 BD ($n=40$)、缓解期 BD ($n=15$)、大动脉炎 (TA, $n=12$)、类风湿关节炎 (RA, $n=25$)、系统性红斑狼疮 (SLE, $n=25$) 患者与健康对照 (HD, $n=15$) 的血清, 分组比较不同患者的 A-SAA、血沉 (ESR) 和 C 反应蛋白 (CRP) 的水平。分析 A-SAA 与国际白塞病学会 (ISBD) 疾病活动指数的相关性以及 A-SAA 与其相关下游分子 IL-8 的相关性。**结果**·A-SAA 水平在活动期 BD 患者中异常升高 $[(115.70 \pm 87.78) \text{ mg/L}]$, 在 RA 及 TA 患者中也升高, 分别为 $(68.72 \pm 61.50) \text{ mg/L}$ 和 $(96.25 \pm 87.41) \text{ mg/L}$; SLE 患者中未见其升高。A-SAA 与 ISBD 指数及血清 IL-8 水平相关。**结论**·A-SAA 可作为评价 BD 活动度的检测指标之一。

[关键词] 血清淀粉样蛋白 A; 白塞病; 白介素 8; 生物学指标

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2017.07.012 **[中图分类号]** R593.2 **[文献标志码]** A

Correlation of serum acute amyloid A level and activity of Behcet's disease

ZHOU Zhen-yuan, LIN Yan-wei, SHEN Nan, LU Yu

Department of Rheumatology, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China

[Abstract] **Objective**·To investigate correlation of serum acute amyloid A (A-SAA) level and activity of Behcet's disease (BD). **Methods**·Blood samples from patients with active BD ($n=40$), remission BD ($n=15$), Takayasu disease (TA, $n=12$), rheumatoid arthritis (RA, $n=25$), systemic lupus erythematosus (SLE, $n=25$) and healthy donor (HD, $n=25$) were collected. Serum A-SAA, ESR, and CRP levels were detected and compared among groups. The correlation between A-SAA and its downstream IL-8 or International Society for Behcet's disease (ISBD) disease activity scores was analyzed as well. **Results**·Serum A-SAA level was significantly increased in the patients with active BD $[(115.70 \pm 87.78) \text{ mg/L}]$, as well as patients with RA and TA, which levels were $(68.72 \pm 61.50) \text{ mg/L}$ and $(96.25 \pm 87.41) \text{ mg/L}$ respectively, but remained unchanged in SLE patients. Moreover, serum A-SAA level was found correlated with ISBD score as well as IL-8 level. **Conclusion**·A-SAA can work as a detection index for evaluating BD activity.

[Key words] serum amyloid A; Behcet's disease; IL-8; biomarker

白塞病 (Behcet's disease, BD) 是一组以口、眼和生殖器官及为表现的系统性血管炎, 除典型三联征外, 还可表现为皮肤损害、消化道溃疡、炎性假瘤、动脉瘤和静脉血栓^[1]。BD 发病率低, 约为 1.4/10 000^[2], 其临床症状表现多样, 不同症状可间隔很长时间出现, 且缺乏特异性临床指标, 因此临床诊治尤为困难^[3]。血沉 (erythrocyte sedimentation rate, ESR)、C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 可反映部分患者的活动情况。由于疾病的异质性, 国内外既往研究提示并非所有活动期患者的血沉或 CRP 均升高^[4-5], 因此寻求高敏感度和特异度的生物学指标对于 BD 诊断及预后评估至关重要。

血清淀粉样蛋白 (serum amyloid A, SAA) 由 SAA1、SAA2、SAA3 和 SAA4 组成, 其中 SAA1 包含 α -、 β 和 γ 3 种异构体, SAA2 包含 α 和 β 2 种异构体。急性 SAA (acute SAA, A-SAA) 包括 SAA1 和 SAA2, 同 CRP 由肝

细胞合成, 其在急性相反应期可升高千倍以上, 属于急性相反应蛋白。IL-1 β 是 A-SAA 的强诱导因子, TNF- α 次之; IL-6 不能单独诱导 A-SAA 的产生, 但可以促进 IL-1 和 TNF- α 的效应^[6]。A-SAA 作为信号分子作用于不同细胞, 产生不同效应。研究提示 A-SAA 可刺激血管内皮细胞、中性粒细胞、单核细胞和树突状细胞产生 IL-8^[6]。已有多报道提示抗 IL-1 或抗 TNF- α 治疗 BD 取得良好的临床疗效^[7-9], 而 IL-8 是 BD 标志性趋化因子^[10], 高水平 IL-8 与 BD 血管病变有关^[11]。基于以上结果, 我们假设 A-SAA 在 BD 患者中表达升高, 有可能作为评估预后的指标。

由于目前尚无有关 A-SAA 和 BD 的研究, 为验证该假设, 本研究比较 BD 患者与大动脉炎 (Takayasu disease, TA)、类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA)、系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 患者的 A-SAA 水平, 以评价其作为生物标志物的价值。

[基金项目] 国家自然科学基金 (30972744) (National Natural Science Foundation of China, 30972744)。

[作者简介] 周桢源 (1983—), 男, 博士生; 电子信箱: zhenyuanyzhou@hotmail.com。

[通信作者] 陆 瑜, 电子信箱: luyu518121@126.com。



1 对象和方法

1.1 研究对象

收集自 2010 年 1 月至 2016 年 9 月初发 BD 患者及对照患者信息, 所有患者均来自上海交通大学医学院附属仁济医院风湿科门诊及病房。BD 诊断标准较多, 尚无公认的金标准。自 1946 年 Cruth 提出首个诊断分类标准以来已有 16 个分类标准, 其中 2012 年 Davatchi 等人的 Revised ICBP 标准最新但未在中国人群中得到验证。中国临床多沿用 1990 年国际白塞病工作小组诊断标准。为适应中国国情, 本实验所有 BD 患者诊断均基于 1990 年国际白塞病工作小组诊断标准^[3, 12]。RA 患者符合 2009 年美国风湿病学会 / 欧洲抗风湿病联盟 (American Collage of Rheumatoid, ACR; European League Against Rheumatism, EULAR) 诊断标准, SLE 患者符合 1989 年 ACR 诊断标准, TA 患者符合 1990 年 ACR 诊断标准。BD 患者评估采用国际白塞病学会 (International Society for Behcet's Disease, ISBD) 疾病活动量表 (0~20 分), ≥ 7 分为活动性患者。SLE 患者使用 SLEDAI 评分 (0~99 分), ≥ 4 分为活动性患者。RA 患者使用 DAS28 评分 (0~9.32), ≥ 3.2 分为疾病活动期。TA 患者应用 Kerr 标准评估是否疾病活动期, ≥ 2 分为活动性患者。

1.2 IL-8 与 A-SAA 测定

血清采集后于 -80°C 低温保存, IL-8 Bio-Plex Pro 试剂盒购于 BIO-RAD 公司 (美国), 血清 1:20 稀释后根据产品推荐步骤孵育样本, 使用 Bio-Plex 液相芯片系统 (美国) 读取结果。A-SAA 应用散射比浊法并由免疫自动化检测仪读取结果, 检测值范围在 0~240 mg/L。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 22.0 软件统计结果并应用 GraphPad Prism 6.0 软件作图。应用 Kolmogorov-Smirnov 检验数据是否符合正态分布。由于数据不符合正态分布, 统计结果以箱型图表示, 采用 Kruskal-Wallis ANOVA 与 post-hoc Dunn's multiple comparison test 检验比较各组数据结果, 采用 Spearman 相关性分析检测 2 组数据相关性。 $P < 0.05$ 时差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 患者信息

共有 40 例活动期 BD 患者、15 例缓解期 BD 患者、25

例 SLE 患者、25 例 RA 患者、12 例 TA 患者以及 25 名健康对照 (healthy donor, HD) 纳入本次实验。BD 患者平均年龄 (38.5 ± 8.5) 岁, 男女比 6:4, ISBD 评分为 8.050 ± 1.467 , 其中葡萄膜炎患者 8 例, 血管病变患者 8 例, 消化道病变患者 6 例, 2 例为神经系统累及患者, 其余均为皮肤黏膜型患者。RA 患者平均年龄 (46.7 ± 13.1) 岁, 男女比 4:6, DAS28 评分为 5.962 ± 1.722 。SLE 患者平均年龄 (28.7 ± 7.3) 岁, 男女比 0:10, SLEDAI 评分为 11.640 ± 5.816 。TA 患者平均年龄 (23.8 ± 7.9) 岁, 男女比 8:2, 所有患者均符合 Kerr 大动脉炎疾病活动标准。

2.2 BD 患者血清 A-SAA 异常升高

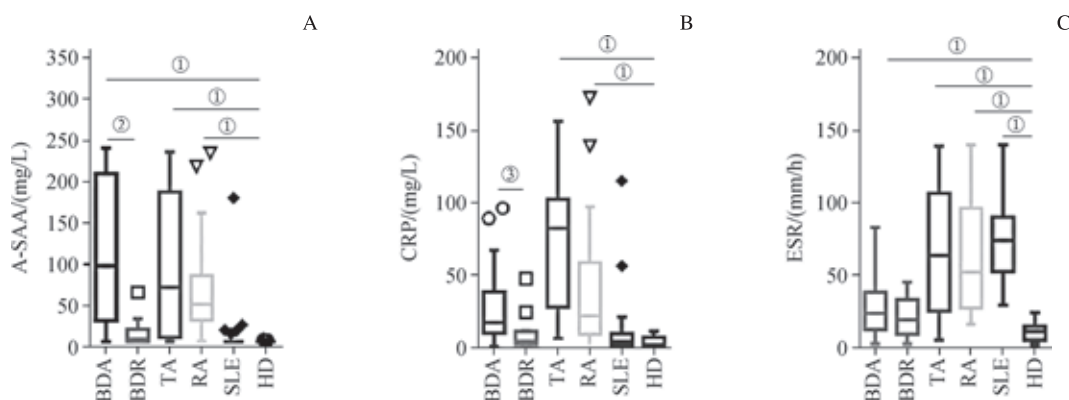
对活动期 BD、缓解期 BD、RA、SLE、TA 患者以及 HD 对照进行 A-SAA、CRP 和 ESR 等 3 种炎症指标的测定。结果提示 A-SAA 在 BD、TA 以及 RA 患者中异常升高, 其中 BD 患者较 RA 患者 A-SAA 表达更高, 差异具有统计学意义 (图 1A)。但 A-SAA 在 SLE 患者中无明显变化。缓解期 BD 患者 A-SAA 显著低于活动期 BD 患者, 但仍高于 HD 组。CRP 在 RA 患者中表达最高, BD 患者 CRP 表达高于 HD, 与 RA 患者相当 (图 1B)。4 组患者的 ESR 均较 HD 升高, 其中 SLE 患者和 RA 患者 ESR 升高较 BD 患者明显 (图 1C)。由于 BD 和 TA 诊断依靠临床症状, 患者异质性大, 可能导致 A-SAA 的数据离散度较大。图 1A 中未出现异常点 (即大于 1.5 倍的四分位距), 而 RA、SLE 以及 HD 组 A-SAA 值相对均一, 部分患者和对照出现异常高值。同样的现象出现在 CRP 的结果中。

2.3 A-SAA 升高与白塞病内脏累及相关

进一步的亚组分析提示内脏累及的 BD 患者具有较高的血清 A-SAA 水平, 仅有皮肤黏膜表现的患者 A-SAA 水平相对较低, 较正常对照的差异无统计学意义。神经性 BD 由于患者数量较少, 并未纳入比较 (图 2)。

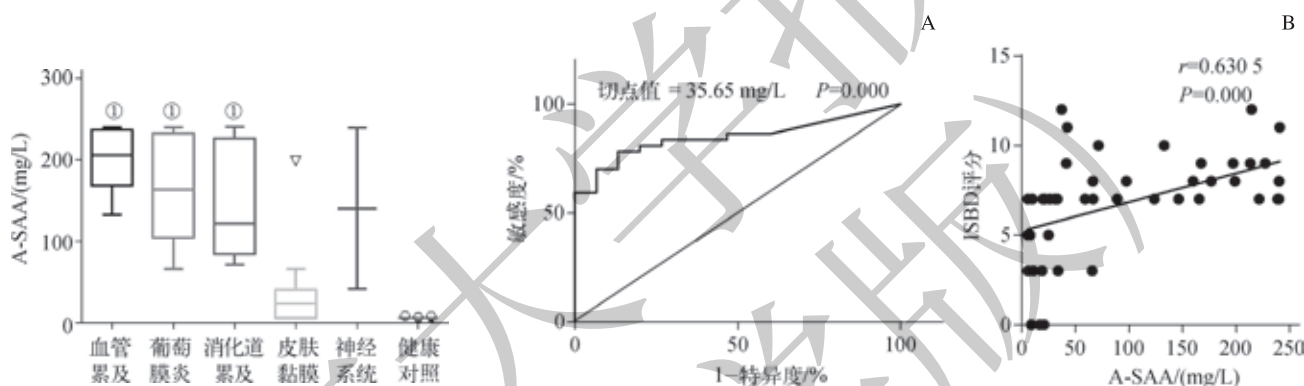
2.4 A-SAA 水平与 BD 活动有关

比较活动期 BD 与缓解期 BD 患者 A-SAA 水平, 并作 ROC 曲线, 结果提示 2 组差异具有统计学意义 (图 3A), 切点为 35.65 mg/L, 曲线下面积为 0.848 6, 敏感性为 0.702 7 (0.530 2~0.841 3), 特异性为 0.933 3 (0.680 5~0.998 3)。ISBD 评分是目前评价 BD 活动度的常用量表, 其评价体系主要依据近 28 d 患者症状。对活动期患者 A-SAA 与 ISBD 评分进行相关性分析, 结果提示 A-SAA 与 ISBD 评分具有相关性 (图 3B)。



注：① $P=0.000$ ，② $P=0.002$ ，③ $P=0.048$ ，④ $P=0.027$ ，与健康对照组比较。BDA：BD 活动组；BDR：BD 缓解组；RA：类风湿性关节炎组；SLE：系统性红斑狼疮组；TA：大动脉炎组；HD：健康对照组。

图 1 不同风湿性疾病患者的血清 A-SAA (A)、CRP (B) 与 ESR (C) 水平
Fig 1 Serum A-SAA (A), CRP (B) and ESR (C) levels in different rheumatic diseases



注：① $P=0.000$ ，与健康对照组比较。注：A.以活动期 BD 与缓解期 BD 患者的 A-SAA 水平所做的 ROC 曲线；B.A-SAA 水平与 ISBD 评分的相关性。

图 2 A-SAA 与 BD 亚型的关系
图 3 A-SAA 与 BD 活动性的关系
Fig 2 Relationship between A-SAA and BD subtypes
Fig 3 Relationship of A-SAA and BD activity

2.5 A-SAA 水平与 IL-8 水平相关

测定患者血清 IL-8 水平，并对其与 A-SAA 进行了相关性分析，结果提示活动性 BD 组 IL-8 水平异常升高，并与 A-SAA 水平相关（图 4）。

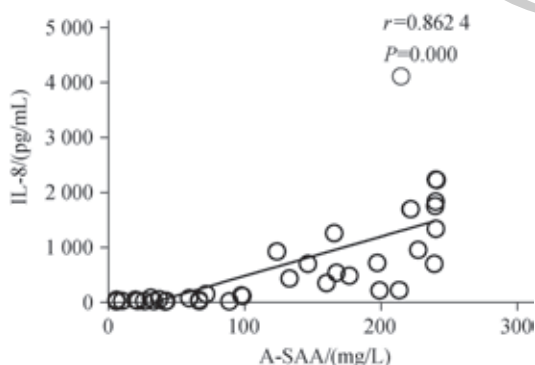


图 4 A-SAA 水平与 IL-8 水平的相关性
Fig 4 Correlation between A-SAA level and IL-8 level

3 讨论

BD 临床表现多变，反复口腔溃疡容易被忽视，脏器累及为主要表现的患者往往首诊于相关科室而非风湿科，加之 BD 发病率低，缺乏特异性指标，在医师中普遍认知率较低。综合以上因素，BD 诊治对于非专科医师难度较大，部分患者无法得到及时诊治而遗留脏器损害，部分严重患者甚至有生命危险。目前临床诊断和活动度判定均缺乏可靠生物学指标。A-SAA 属于急性相蛋白，与 CRP 类似，由肝脏合成，目前主要用于感染性疾病的鉴别。本研究结果提示 BD、RA 以及 TA 等炎症性疾病 A-SAA 均升高，而在 SLE 患者中无异常升高，因此 SLE 患者出现 A-SAA 升高则需警惕合并感染可能。文献提示其他大血管疾病如主动脉粥样硬化性疾病中 A-SAA 正常或轻度升高^[13]，感染性大动脉疾病如梅毒、真菌感染也可能也会导致 A-SAA 升高，而主动脉血栓形成、马凡综合征等在此方

面的研究有限, 目前尚无定论。因此 A-SAA 能否用来鉴别血管累及的 BD 尚待进一步研究。

本研究结果显示 BD 患者的 A-SAA 升高可提示内脏累及。A-SAA 在仅有皮肤黏膜累及的 BD 患者中相对低表达, 而内脏累及患者均有较高水平的 A-SAA。因此确诊的 BD 患者如出现高水平 A-SAA 时需警惕患者内脏累及的可能, 并作进一步辅助检查排查有无消化道、眼球以及血管累及。

本研究结果亦显示缓解期 BD 患者血清中仍然有较高

水平的 A-SAA, 提示症状消失患者仍处于低水平的炎症状态, 这与既往研究中高水平细胞因子在缓解期患者中检出一致的^[14]。A-SAA 的持续高表达致使下游细胞产生趋化因子可能是缓解期 BD 患者维持低水平炎症状态的机制之一。此外, A-SAA 是联系细胞因子和趋化因子的桥梁, 阻断 A-SAA 通路可能是潜在治疗 BD 的靶点。

综上所述, A-SAA 是评估 BD 疾病活动性的敏感指标。但本实验所纳入的研究人数有限, 其应用仍需要大样本的临床试验验证。

参 · 考 · 文 · 献

- [1] Yazici H. The lumps and bumps of Behçet's syndrome[J]. Autoimmun Rev, 2004, 3(Suppl 1): S53-54.
- [2] 侯小萌, 张卓莉, 董怡. 中国白塞病患者的临床特点[J]. 中华全科医师杂志, 2005, 4(11): 666-667.
- [3] 中华医学会风湿病学分会. 白塞病诊断和治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志, 2011, 15(5): 345-347.
- [4] Melikoglu M, Topkarcı Z. Is there a relation between clinical disease activity and acute phase response in Behcet's disease?[J]. Int J Dermatol, 2014, 53(2): 250-254.
- [5] 符绍兰. 预测 Behcet 病的眼病发作与 CRP 和血沉的关系[J]. 国际眼科纵览, 1983, 1(1): 61.
- [6] De Buck M, Gouw M, Wang JM, et al. The cytokine-serum amyloid A-chemokine network[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2015, 13(10): 720-722.
- [7] Kikuchi H, Aramaki K, Hirohata S. Effect of infliximab in progressive neuro-Behcet's syndrome[J]. J Neurol Sci, 2008, 272(1-2): 99-105.
- [8] Misumi M, Hagiwara E, Takeno M, et al. Cytokine production profile in patients with Behcet's disease treated with infliximab[J]. Cytokine, 2003, 24(5): 210-218.
- [9] Botsios C, Sfriso P, Furlan A, et al. Resistant Behcet disease responsive to anakinra[J]. Ann Intern Med, 2008, 149(4): 284-286.
- [10] Zhou ZY, Chen SL, Shen N, et al. Cytokines and Behcet's disease[J]. Autoimmun Rev, 2012, 11(10): 699-704.
- [11] Durmazlar SP, Ulkar GB, Eskioglu F, et al. Significance of serum interleukin-8 levels in patients with Behcet's disease: high levels may indicate vascular involvement[J]. Int J Dermatol, 2009, 48(3): 259-264.
- [12] Davatchi F, Abdollahi BS, Chamsdavatchi C, et al. Validation of the revised International Criteria for Behcet's Disease (ICBD) in Iran[J]. Clin Rheumatol, 2015, 34(2): 315-320.
- [13] Getz GS, Krishack PA, Reardon CA. Serum amyloid A and atherosclerosis[J]. Curr Opin Lipidol, 2016, 27(5): 531-535.
- [14] Musabak U, Pay S, Erdem H, et al. Serum interleukin-18 levels in patients with Behcet's disease. Is its expression associated with disease activity or clinical presentations?[J]. Rheumatol Int, 2006, 26(6): 545-550.

[收稿日期] 2016-11-16

[本文编辑] 邵碧云

学术快讯

上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心成为中国遗传学会遗传咨询师培训基地

2017 年 6 月 25 日, 中国遗传学会遗传咨询分会联合上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心 (国家儿童医学中心)、美洲华人遗传学会共同举行第二届遗传咨询师中级培训班。中国遗传学会遗传咨询分会主任委员、上海交通大学 Bio-X 研究院院长贺林院士, 美国哈佛医学院医学遗传学培训课程主任、上海市东方学者讲座教授、上海儿童医学中心医学遗传科主任沈亦平教授出席大会并作精彩演讲, 100 余位来自全国各地的临床医师、分子诊断实验室技术人员、遗传咨询行业从业者以及生命科学或医学相关研究人员共同参加。

培训班上, “上海儿童医学中心遗传咨询师培训基地” 正式挂牌, 《ACMG 遗传变异分类标准与指南》中文版正式发布。同时, 中国遗传学会遗传咨询分会联合上海儿童医学中心医学遗传科和其他各临床科室以及海外知名遗传学家, 与现场的各位学员就遗传诊断与咨询工作中的专业知识与实践经验进行了积极讨论。