

## 系统性红斑狼疮患者抗磷脂抗体表达的相关性研究

蔡心珍<sup>1</sup> 倪军<sup>1</sup> 沈连军<sup>1</sup> 吴蔚<sup>1</sup> 孙梅<sup>1</sup> 何斌<sup>1</sup> 顾健<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:探讨系统性红斑狼疮(SLE)患者的抗磷脂抗体(APA)水平及凝血指标纤维蛋白原(FIB)、D-二聚体(D-D)表达与易栓状态的相关性。方法:92例SLE患者和30例正常对照者取静脉全血,应用ELISA法检测APA的表达水平,应用磁珠法检测FIB、D-D的表达水平。结果:SLE患者初治、活动期和稳定期APA、FIB、D-D的表达均显著高于对照组( $P<0.05$ );稳定期上述指标均低于初治期和活动期( $P<0.05$ );APA水平与凝血指标FIB、D-D表达呈同步增高趋势。结论:SLE患者伴有凝血功能紊乱,APA水平的异常表达为导致SLE易栓症的重要因素之一。

**[关键词]** 系统性红斑狼疮;抗磷脂抗体;易栓状态

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2016.03.008

**[中图分类号]** R364.1 **[文献标志码]** A

## Expression of the antiphospholipid antibody in patients with systemic lupus erythematosus

CAI Xinzhen NI Jun SHEN Lianjun WU Wei SUN Mei HE Bin GU Jian

(Department of Hematology, Subei People's Hospital of Jiangsu Province, Institute of Hematology of Yangzhou, Yangzhou, 225001, China)

Corresponding author: GU Jian, E-mail: maolujia918@163.com

**Abstract Objective:** To study the correlation between the expression of the antiphospholipid antibody (APA) and thrombophilia state in systemic lupus erythematosus (SLE) patients by observing the levels of APA, coagulation indicators fibrinogen (FIB) and D-dimer (D-D). **Method:** Venous whole blood was collected from 92 SLE patients and 30 normal controls. ELISA assay was used to observe the expressions of APA. Method of magnetic beads was used to observe the levels of FIB and D-D. **Result:** The expressions of APA, FIB and D-D in naive, active and stable patients were significantly higher than those in the controls ( $P<0.05$ ). The expressions of these indicators in stable patients were lower than those in naive and active patients ( $P<0.05$ ). The expression of APA, FIB and D-D exhibited synchronously increasing trend. **Conclusion:** SLE patients have coagulation disorders. The abnormal expression of APA is one of the important factors for thrombophilia in SLE patients.

**Key words** systemic lupus erythematosus; antiphospholipid antibody; thrombophilia state

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种慢性炎性自身免疫性疾病,受激素分泌、环境、遗传等多种因素影响,以女性患病居多。病程中自身反应性T细胞的活化、B细胞的激活,引起大量致病性自身抗体的产生,且得不到适当下调。多种自身抗体损伤组织,使多器官受累,内皮系统受损,致使血管内皮由其天然抗凝作用转变为病理性促凝作用,并诱导白细胞粘附,促使组织因子、炎症因子的产生与释放增加,激活凝血途径,促进血栓的形成,预后较差<sup>[1]</sup>。很多SLE患者体内存在持续性抗磷脂抗体(APA)阳性<sup>[2]</sup>,引发继发性抗磷脂综合征(APS),表现为反复形成动静脉血栓、血小板减少、红细胞功能异常、反复流产或死胎等。APA是一组识别并与磷脂结合蛋白结合的自身抗体,主要包括抗心磷脂抗体(ACA)、狼疮抗

凝物(LA)和抗 $\beta_2$ 糖蛋白I抗体(anti- $\beta_2$ GP I antibody)。本文观察了不同病期SLE患者APA的水平与凝血指标的表达式,旨在为SLE易栓症的治疗寻找理论依据。

### 1 资料与方法

#### 1.1 资料

92例SLE患者来自2013-02—2014-02在我院的住院患者,均符合1997年美国风湿病学会修订的SLE分类诊断标准,其中男5例,女87例,平均年龄38(13~64)岁。采用SLE疾病活动性指数评分系统对患者进行评分,分为疾病初治组、活动组和稳定组。对照组30例为健康体检者,男、女各15例,平均年龄40(22~60)岁,均无免疫性疾病和血栓病史。

#### 1.2 检测方法

采用ELISA法测定ACA-IgG、ACA-IgM、ACA-IgA、LA、 $\beta_2$ GP I的表达。采用磁珠法检测纤维蛋白原(FIB)、D-二聚体(D-D)水平(STAGO/

<sup>1</sup>江苏省苏北人民医院血液科 扬州市血液学研究所(江苏扬州, 225001)

通信作者:顾健, E-mail: maolujia918@163.com

COMPACT 全自动凝血仪测定,法国 STAGO 公司提供试剂)。

### 1.3 统计学处理

全部数据经 SPSS16.0 和 Excel2003 完成统计学处理。各组数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

SLE 疾病初治组、活动组 APA 的水平均明显高于对照组 ( $P < 0.05$ )。稳定组中 ACA-IgG、ACA-IgM、 $\beta 2\text{GP I}$  的表达较对照组显著增加 ( $P <$

0.05),ACA-IgA、LA 的表达与对照组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );稳定组中各抗体的表达水平较疾病初治组、活动期组降低(表 1)。

SLE 疾病初治组、活动组 FIB 表达水平显著高于对照组 ( $P < 0.05$ )。稳定组中 FIB 表达水平低于初治组和活动组,但仍高于对照组。D-D 表达水平在初治组、活动组及稳定组均高于对照组 ( $P < 0.01$ ),而稳定组 D-D 水平较疾病初治组和活动组降低(表 1)。

表 1 各组 APA 及凝血指标表达水平比较

| 组别  | 例数 | 男:女<br>/例 | 年龄/岁    | ACA-IgG                   | ACA-IgM                   | ACA-IgA                   | LA                         | $\beta 2\text{GP I}$       | $\bar{x} \pm s$                |                                 |
|-----|----|-----------|---------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
|     |    |           |         |                           |                           |                           |                            |                            | FIB<br>/(g · L <sup>-1</sup> ) | D-D<br>/(mg · L <sup>-1</sup> ) |
| 对照组 | 30 | 15:15     | 40 ± 13 | 1.36 ± 0.26               | 1.39 ± 0.31               | 0.80 ± 0.20               | 7.41 ± 1.17                | 5.90 ± 0.97                | 2.60 ± 0.28                    | 0.23 ± 0.07                     |
|     |    |           | 31 ± 11 | 1.99 ± 0.85 <sup>1)</sup> | 2.08 ± 0.81 <sup>1)</sup> | 1.17 ± 0.43 <sup>1)</sup> | 17.78 ± 2.29 <sup>2)</sup> | 18.62 ± 5.56 <sup>2)</sup> | 3.35 ± 0.88 <sup>1)</sup>      | 1.40 ± 0.55 <sup>2)</sup>       |
| 初治组 | 18 | 1:17      | 40 ± 14 | 2.25 ± 0.98 <sup>2)</sup> | 1.79 ± 0.70 <sup>1)</sup> | 1.06 ± 0.40 <sup>1)</sup> | 14.45 ± 2.00 <sup>2)</sup> | 20.30 ± 9.02 <sup>2)</sup> | 4.02 ± 1.36 <sup>2)</sup>      | 1.69 ± 0.91 <sup>2)</sup>       |
|     |    |           | 39 ± 13 | 1.90 ± 0.80 <sup>1)</sup> | 1.71 ± 0.47 <sup>1)</sup> | 0.97 ± 0.39               | 11.75 ± 2.34               | 13.39 ± 5.99 <sup>2)</sup> | 3.23 ± 1.11                    | 0.91 ± 0.48 <sup>2)</sup>       |
| 活动组 | 46 | 2:44      |         |                           |                           |                           |                            |                            |                                |                                 |
| 稳定组 | 28 | 2:26      |         |                           |                           |                           |                            |                            |                                |                                 |

与对照组比较,<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ 。

为排除其他因素对 APA 分析的干扰,本文比较 APA 阳性与阴性患者的凝血指标水平时,去除了因严重感染而非基础病复发就医的患者,并以 ACA-IgG、ACA-IgM、ACA-IgA、LA、 $\beta 2\text{GP I}$  等指标中任一阳性即认为 APA 阳性。初治组 APA 均阳性,其 FIB、D-D 表达明显高于对照组 ( $P < 0.05$ )。疾病活动组中 APA 阳性 29 例,阴性 6 例,阳性率 82.86%,APA 阳性患者 FIB、D-D 表达均明显高于对照组 ( $P < 0.01$ ),APA 阴性患者 FIB 的表达较阳性者降低,虽差异无统计学意义,但仍高于对照组,D-D 的表达较阳性者降低,仍高于对照组 ( $P < 0.05$ )。疾病稳定组中 APA 阳性 15 例,阴性 7 例,阳性率 68.18%,阳性率较疾病活动组降低,APA 阳性患者 FIB、D-D 表达均明显高于对照组 ( $P < 0.01$ ),且 APA 阴性患者 FIB、D-D 表达高于对照组(表 2)。

## 3 讨论

SLE 是一种免疫调节异常和致病性自身抗体过量产生所致的慢性炎症性疾病,以 T、B 细胞功能紊乱,病理性细胞因子过量产生及多器官、组织受累为特征。其体内多种炎症介质如 IL-6、IL-17、TNF- $\alpha$  等分泌增加,不仅可以直接损伤内皮细胞,还能诱导内皮细胞和单核细胞表达组织因子,合成和释放各种趋化因子、粘附因子等,扩大炎症反应,诱导血栓形成。而多种有害抗体的过量产生亦可引起血管内壁和内皮下胶原的损伤,累及肾脏、皮

表 2 SLE 患者相同疾病阶段不同抗体表达时 FIB、D-D 表达

| 组别     | 例数 | FIB/(g · L <sup>-1</sup> ) | D-D/(mg · L <sup>-1</sup> ) |
|--------|----|----------------------------|-----------------------------|
| 对照组    | 30 | 2.60 ± 0.28                | 0.23 ± 0.07                 |
| 初治组    | 18 | 3.35 ± 0.88 <sup>1)</sup>  | 1.40 ± 0.55 <sup>2)</sup>   |
| 活动组    |    |                            |                             |
| APA 阳性 | 29 | 3.94 ± 1.24 <sup>2)</sup>  | 1.63 ± 0.91 <sup>2)</sup>   |
| APA 阴性 | 6  | 3.43 ± 1.68                | 0.95 ± 0.26 <sup>1)</sup>   |
| 稳定组    |    |                            |                             |
| APA 阳性 | 15 | 3.41 ± 0.84 <sup>2)</sup>  | 1.00 ± 0.62 <sup>2)</sup>   |
| APA 阴性 | 7  | 3.24 ± 0.50                | 0.54 ± 0.20                 |

与对照组比较,<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ 。

肤、心肺等多个器官,并可引起凝血-抗凝系统异常,使机体处于高凝状态,易于发生血栓<sup>[3]</sup>。SLE 常引起继发性 APS,是最常见的引起继发性 APS 的疾病之一。APS 以反复的血栓形成和流产及血小板减少为特征,其主要的致病因素是持续的出现 APA,主要有 ACA、LA 和抗  $\beta 2\text{GP I}$  抗体。本研究统计发现初治组 APA 均阳性,疾病活动组中 APA 阳性 29 例,阴性 6 例,阳性率 82.86%,疾病稳定组中 APA 阳性 15 例,阴性 7 例,阳性率 68.18%,显示 SLE 患者 APA 的阳性率明显高于健康人群的 4.5%~9.4%<sup>[4]</sup>,随着疾病活动,APA 的阳性率也增加,与文献报道一致<sup>[5]</sup>。因在机体发生感染时,体内多种炎症因子表达增加,可引起内皮损伤,引起凝血-纤溶紊乱,促进血液高凝,有利于血栓形

成。为减少其他因素对凝血的影响,本组统计在分析 APA 对 SLE 患者易栓状态的影响时排出了因严重感染而就诊的患者。

APA 的产生可能是在机体遗传易感的基础上与外界因素共同作用的结果<sup>[6]</sup>。APA 可与磷脂结合蛋白结合,形成抗原抗体复合物,沉积于血管壁,损伤血管内皮,促使其表达组织因子和 E-选择素等粘附分子,发挥促凝作用。亦可通过诱导血液中的单核细胞表达组织因子,诱导内皮细胞凋亡,激活血小板,抑制蛋白 C 的活化,抑制纤维蛋白溶解系统等多种途径使血液处于高凝状态,促进血栓的形成<sup>[7]</sup>。本研究发现,疾病初治组、活动组 APA 的表达均明显高于对照组,疾病稳定组 APA 的表达高于对照组,其中 ACA-IgG、ACA-IgM、 $\beta$ 2GP I 的表达较对照组差异有统计学意义,ACA-IgA、LA 的表达则与对照组差异无统计学意义,且其 APA 的表达水平较疾病初治组、活动组均降低。提示 SLE 患者 APA 的表达增加,且随着病情的活动,其 APA 的表达增加程度更大。疾病初治组、活动组 FIB、D-D 表达水平显著高于对照组,疾病稳定组 FIB 表达水平高于对照组,但无明显差异,疾病稳定组 D-D 表达水平显著高于对照组,疾病稳定组 FIB、D-D 表达水平较疾病初治组、活动组均降低。表明 SLE 患者体内存在血液高凝状态,且随着病情的活动,其血液高凝程度增加,与 APA 的增加呈现同步状态。

FIB 是一种由肝脏合成的凝血因子,在血栓形成中起很重要的作用,由凝血酶裂解形成纤维蛋白,纤维蛋白是血凝块的主要成分。它的增高可引起内皮细胞迁移、变形,平滑肌细胞增生、肥大,还能够促进血小板的聚集,使血液粘稠,促进血栓的形成<sup>[8-9]</sup>。除了其促凝作用外,在自身免疫病和炎症性疾病中,FIB 还是一种促炎因子,可粘附于炎症细胞通过配体-受体结合的作用,干扰免疫-炎症反应,扩大炎症反应,增加组织损伤,促进血液高凝<sup>[10]</sup>。在凝血级联反应过程的后期,可溶性纤维蛋白多聚体经凝血因子 X III a 交联以及钙离子的作用,形成不溶性纤维蛋白凝块即血栓,并引发纤维蛋白溶解系统的继发性功能亢进。D-D 是在纤溶酶水解交联纤维蛋白的过程中产生的一种特异性的降解产物,健康人血浆中此种降解产物很少,是一个特异性的纤溶过程标志物。D-D 的增高反映了体内凝血和纤溶系统的激活,病理状态下,凝血-纤溶系统平衡被破坏,倾向凝血,引起纤维蛋白降解增加,D-D 表达增高<sup>[11-12]</sup>。课题组前期动物实验验证在免疫性疾病大鼠体内存在免疫调节功能紊乱,处于免疫炎性易栓状态,前期临床研究也证实 SLE 患者处于免疫炎性易栓状态<sup>[13-14]</sup>,本实验进一步研究 SLE 患者中 APA 对其易栓状态的影

响,以期临床抗凝治疗提供依据及新的靶点。本研究显示疾病活动组、稳定组中 APA 阳性患者 FIB、D-D 表达均明显高于对照组,疾病活动组、稳定组中 APA 阴性患者 FIB、D-D 表达高于对照组,差异无统计学意义,且其表达均低于 APA 阳性者。提示 SLE 患者体内高凝程度的增加与 APA 的表达增高呈现一致状态,表明在 SLE 患者体内,APA 的表达增加促进其血液的高凝,有利于血栓的形成。SLE 患者存在 T、B 细胞的功能紊乱及炎症因子的表达增加,引起免疫炎性微环境,促进血液的高凝,而 APA 的表达通过多种途径进一步促进 SLE 患者高凝,是 SLE 患者易于发生血栓的因素之一。

### 参考文献

- [1] Tsokos GC. Systemic lupus erythematosus[J]. N Engl J Med,2011,365:2110-2121.
- [2] Zuily S, Regnault V, Selton-Suty C, et al. Increased risk for heart valve disease associated with antiphospholipid antibodies in patients with systemic lupus erythematosus; meta-analysis of echocardiographic studies[J]. Circulation,2011,124:215-224.
- [3] Tan Y, Yu F, Liu G. Diverse vascular lesions in systemic lupus erythematosus and clinical implications[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens,2014,23:218-223.
- [4] Mahaum N, Prete PE. Antiphospholipid antibodies in malignancy: are these pathogenic or epiphenomena? [J]. J Clin Rheumatol,2011,17:429-431.
- [5] 吴青,李世军. 抗磷脂综合征[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志,2008,17(4):356-362.
- [6] Giannakopoulos B, Krilis SA. The pathogenesis of the antiphospholipid syndrome[J]. N Engl J Med,2013,368:1033-1044.
- [7] Vlachoyiannopoulos PG, Routsias JG. A novel mechanism of thrombosis in antiphospholipid antibody syndrome[J]. J Autoimmun,2010,35:248-255.
- [8] Emerging Risk Factors Collaboration, Kaptoge S, Di Angelantonio E, et al. C-reactive protein, fibrinogen, and cardiovascular disease prediction[J]. N Engl J Med,2012,367:1310-1320.
- [9] 宋欣,蒋丽萍,李林萌,等. 血浆 APTT、FIB、D-二聚体和 hs-CRP 检测在脑梗死患者中的临床意义[J]. 中国现代医生,2014,52(3):65-67.
- [10] Arbustini E, Narula N, D'Armini AM. Fibrinogen: a circulating factor in search for its genetic architecture[J]. Circulation,2013,128:1276-1280.
- [11] 门剑龙,任静. D-二聚体临床应用及标准化分析进展[J]. 中华检验医学杂志,2010,33(8):793-797.
- [12] 王梅. D-二聚体检测的临床应用进展[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(1):82-84.
- [13] 顾蔚,徐开林,顾健,等. UC-MSC 联合利妥昔单抗及甲强龙对系统性红斑狼疮免疫炎性易栓状态的影响作用[J]. 血栓与止血学,2014,20(3):121-125.
- [14] 顾健,林传明,顾蔚,等. UC-MSC 移植对 CIA 大鼠免疫细胞亚群免疫功能的调节作用[J]. 中国实验血液学杂志,2014,22(1):166-170.

(收稿日期:2015-12-09)