

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.04.018

血清腺苷脱氨酶检测在几种自身免疫性疾病中的临床意义研究*

赵冠华 邵赵伟 董珂 黄晶 张惠中[△]

(第四军医大学唐都医院 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探讨血清腺苷脱氨酶(ADA)检测在几种自身免疫性疾病诊断中的应用价值。**方法:**收集确诊的系统性红斑狼疮(127例)、类风湿性关节炎(103例)和重症肌无力患者(34例)的血清标本,以同时体检的正常成人(149例)为对照,采用 ADA 偶联嘌呤核苷磷酸化酶(PNP)和黄嘌呤氧化酶(XOD)法检测血清中 ADA 活性。**结果:**系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、重症肌无力患者和正常体检者血清中的 ADA 活性均值分别为 (12.91 ± 5.82) U/L、 (10.91 ± 3.70) U/L、 (9.21 ± 3.57) U/L、 (8.73 ± 2.79) U/L。系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎患者血清中 ADA 活性均显著高于正常体检者($P < 0.05$),而重症肌无力患者血清中 ADA 活性和正常体检者相比差别无统计学意义($P > 0.05$)。ROC 结果显示将血清 ADA 活性 > 10 U/L 同时作为 RA 和 SLE 诊断的阳性值,ADA 活性诊断 SLE 的 AUC 为 0.748,敏感性为 59.8%,特异性为 83.2%。ADA 活性诊断 RA 的敏感性为 42.7%,特异性为 83.2%。血清 ADA 活性为 10 U/L 作为诊断的参考值上限,其诊断 SLE 的效果优于 ESR 和 hs-CRP,其诊断 RA 的效果低于 ESR 和 hs-CRP。**结论:**系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎患者血清 ADA 活性均有升高,在系统性红斑狼疮患者中升高更为明显,可作为系统性红斑狼疮潜在的辅助诊断标志物。

关键词:自身免疫性疾病;腺苷脱氨酶;系统性红斑狼疮;类风湿性关节炎;重症肌无力

中图分类号:R446.11+2; R593.2 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2017)04-672-04

Study on the Clinical Significance of Serum Adenosine Deaminase in Several Autoimmune Diseases*

ZHAO Guan-hua, GAO Zhao-wei, DONG Ke, HUANG Jing, ZHANG Hui-zhong[△]

(The Second Affiliated Hospital of The Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the diagnostic value of serum adenosine deaminase in several autoimmune diseases. **Methods:** Serum samples of patients with system lupus erythematosus (SLE, n=127), rheumatoid arthritis (RA, n=103) and myasthenia gravis (MG, n=34) were collected, the serum of normal adults as control. The serum ADA activity was detected by using ADA coupling purine nucleoside phosphorylase (PNP) and xanthine oxidase (XOD) method. **Results:** The average level of serum ADA activity in the SLE patients, RA patients, MG patients and normal subjects were (12.91 ± 5.82) U/L, (10.91 ± 3.70) U/L, (9.21 ± 3.57) U/L, (8.73 ± 2.79) U/L respectively. The ADA activity in serum of SLE, RA were significantly higher than that in controls ($P < 0.05$), while the serum ADA activity of MG patients showed significant difference compared with controls ($P > 0.05$). The receiver operating characteristic curve (ROC) showed that AUC was 0.748 when taking ADA activity > 10 U/L as the cutoff value, the sensitivity of ADA activity assay in the diagnosis of SLE was 59.8% and the specificity was 83.2%. The sensitivity of ADA activity in the diagnosis of RA was 42.7%, the specificity was 83.2%. The diagnosis effect of serum ADA activity in SLE was better than ESR and hs-CRP while lower than ESR and hs-CRP in RA. **Conclusions:** The average level of serum ADA activity in the SLE patients and RA patients were higher than in controls, and increased more obviously in SLE. The ADA activity could be a potential diagnostic serum marker in SLE.

Key words: Autoimmune disease; Adenosine deaminase; Systemic lupus erythematosus; Rheumatoid arthritis; Myasthenia gravis

China Library Classification(CLC): R446.11+2; R593.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)04-672-04

前言

自身免疫性疾病(Autoimmune diseases, AID)^[1]是指机体免疫系统对自身成分产生免疫应答,从而攻击自身组织、器官,导致机体组织器官的损伤和生理功能障碍,常见的疾病包括系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎等。自身免疫性疾病的病因尚未

完全明确,常常发病隐匿,即使诊断明确也不容易完全控制,并且容易复发。目前,现有的血液学指标对于各种自身免疫性疾病诊断和病情监测效果仍不够理想。腺苷脱氨酶(adenosine deaminase, ADA)^[2]广泛分布于人体各组织中,是嘌呤核苷酸代谢过程中一种重要的酶,在机体内可以催化腺苷转变成次黄嘌呤核苷。由于腺苷是机体微环境中重要的免疫抑制因子,因此

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81572974)

作者简介:赵冠华,硕士研究生,研究方向:临床检验诊断, E-mail: guotu1122@sina.com

[△] 通讯作者:张惠中,博士生导师,教授, E-mail: huizz328@163.com

(收稿日期:2016-09-01 接受日期:2016-09-25)

ADA 在调节机体免疫系统平衡过程中发挥重要作用。目前, ADA 活性检测已经应用于慢性肝炎、结核性疾病的临床诊断中,但在自身免疫性疾病诊断中的应用尚未开展。近年来,有研究表明 ADA 活性降低与联合免疫缺陷病相关^[3-6],而血清中 ADA 水平升高可能与一些自身免疫性疾病相关^[7-11]。为探索血清腺苷脱氨酶检测对于自身免疫性疾病诊断和病情监测的临床意义,本研究进行了相关试验研究。

1 资料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 标本来源 医院风湿免疫科确诊的系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎,神经内科确诊的重症肌无力患者。对 2015 年 12 月至 2016 年 04 月期间符合条件的患者样本进行收集和检测;医院门诊同时期进行体检的 20 岁以上正常成人血液标本作为对照。所有血液样本均在采样后一周内进行 ADA 活性检测。

1.1.2 纳入与排除 纳入标准:已经确诊的系统性红斑狼疮患者(1997 年美国风湿病学会修订版系统性红斑狼疮诊断标准^[12])、类风湿关节炎患者(符合 2010 年 ACR/EULAR 关于 RA 新的分类标准^[13]、及重症肌无力^[14]的患者;对照标准:门诊正常体检者(生化、免疫、血常规均未发现明显异常);排除标准:诊断不清或者尚未明确者,正常体检者中的生化、免疫、血常规指标有明显异常者,统计期间多次就诊患者第二次及以后的标本。

1.2 标本收集

1.2.1 收集日期 2015 年 12 月至 2016 年 04 月。

1.2.2 收集方法 对于符合条件的标本于抽血 24 小时内分离出血清,置于 4℃ 冰箱保存。

1.2.3 检测方法 将收集的标本于 1 周内,在全自动生化分析仪上采用 ADA 偶联嘌呤核苷磷酸化酶(PNP)和黄嘌呤氧化酶(XOD)法进行检测(检测前用试剂公司提供的质控品对仪器进行校准)。

1.3 试剂仪器

仪器:日立 7600-110 全自动生化分析仪,试剂:四川迈克生物科技股份有限公司腺苷脱氨酶测定试剂盒(许可证号:川食药监械生产许(2012)第 0038 号)。

1.4 统计学处理

统计分析采用 SPSS 软件 13.0, 计量资料间采用 t 检验进行分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 ADA 活性测定

系统性红斑狼疮患者(127 例)、类风湿关节炎患者(103 例)、重症肌无力患者(34 例)和正常体检者(149 例)血清中的 ADA 活性均值如表 1 所示。与正常对照相比,系统性红斑狼疮患者及类风湿性关节炎患者血清中的 ADA 活性水平升高,且差异有统计学意义($P < 0.0001$)。其中,系统性红斑狼疮患者的血清 ADA 活性升高程度较大,而类风湿性关节炎患者的 ADA 活性水平升高程度较小。重症肌无力患者和正常体检者血清中 ADA 活性差别无统计学意义($P = 0.398$)。

2.2 ROC 分析

表 1 各组测试者血清 ADA 活性均值

Table 1 The Mean Value of Serum ADA Activity in Each Group

Groups	Cases	ADA activity(U/L)
SLE	127	12.91± 5.82
RA	103	10.91± 3.70
MG	34	9.21± 3.57
Control	149	8.73± 2.79

2.2.1 SLE 患者 ADA 活性的 ROC 分析 在进行 ADA 活性测定后,我们分析了血清 ADA 活性水平测定对于 SLE 诊断的潜在价值。以 SLE 患者为病例组,以健康体检组作为对照组。使用 spss 软件 13.0,以不同的 ADA 检测值作为截断点,以敏感性为纵坐标,以 1- 特异度为横坐标绘制 ROC 曲线(如图 1),利用 Youden 指数法寻找最佳 Cutoff 值,当敏感性 + 特异性 -1 达到最大值时,ADA 活性为 10.5 U/L,即 ADA 活性 >10 U/L 判断为阳性。此时,ROC 曲线下面积 AUC 为 0.748(根据 ROC 曲线评价标准,ROC 曲线下的面积值 AUC 在 0.7~0.9 时有一定准确性),敏感性为 59.8%,特异性为 83.2%,结果表明血清 ADA 活性检测对系统性红斑狼疮诊断具有较好的特异性。

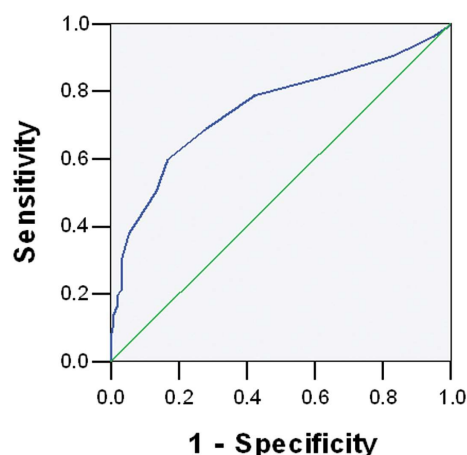


图 1 ADA 活性诊断 SLE 的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve of ADA activity in the diagnosis of SLE

2.2.2 RA 患者 ADA 活性的 ROC 分析 接下来,我们分析了血清 ADA 活性测定在 RA 诊断中的潜在价值。以 RA 患者为病例组,正常人为对照组,绘制 ROC 曲线,以敏感性为纵坐标,以 1- 特异度为横坐标(如图 2)。当敏感性 + 特异性 -1 达到最大值时,血清 ADA 活性值为 9.5 U/L。此时,ROC 曲线下面积 AUC 为 0.696(根据 ROC 曲线评价标准,ROC 曲线下的面积值 AUC 在 0.5~0.7 时准确性较低),敏感性为 60.2%,特异性为 72.5%。为方便同系统性红斑狼疮进行比较,可将血清 ADA 活性 >10U/L 同时作为 RA 和 SLE 诊断的阳性值,此时 ADA 活性诊断 RA 的敏感性为 42.7%,特异性为 83.2%。

2.3 ADA 活性与现有血液诊断指标的比较

为了进一步评估血清 ADA 活性检测对于自身免疫性疾病诊断的潜在应用价值,我们将其与现有的部分血液诊断指标进行了比较。细胞沉降率(ESR)和超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)是目前自身免疫性疾病患者常用的血液学检测指标,本研究对

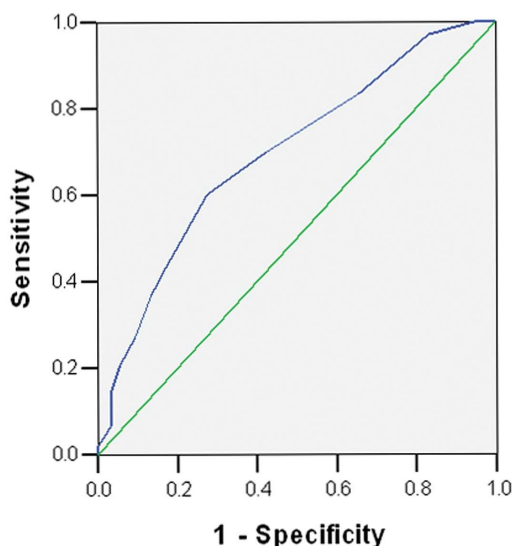


图 2. ADA 活性诊断 RA 的 ROC 曲线

Fig. 2 ROC curve of ADA activity in the diagnosis of RA

表 2 ESR、hs-CRP 和 ADA 活性情况统计

Table 2 Statistics of ESR, hs-CRP and ADA

Group		ESR		hs-CRP		ADA	
		Cases	Positive (Male: >15 mm/hr; Female >20 mm/hr)	Cases	Positive (>3 mg/L)	Cases	Positive (≥ 11 U/L)
SLE	Outpatient	75	19	74	10	76	38
	Inpatient	49	37	50	21	51	38
RA	Outpatient	35	15	37	15	37	15
	Inpatient	62	47	63	50	66	29

Note: SLE group: lack of ESR data (1 Outpatient, 2 Inpatients), lack of hs-CRP data (2 Outpatients, 1 Inpatient); RA group: lack of ESR data (2 Outpatients, 4 Inpatients) lack of ESR data, lack of hs-CRP data (3 Inpatients).

SLE 和 RA 患者的 ESR 和 hs-CRP 进行了统计分析(如表 2 所示)。在 SLE 患者中,ESR 的阳性率为 45.16%(男性:正常参考区间 0-15 mm/hr,>15 mm/hr 定义为阳性;女性正常参考区间:0-20 mm/hr,>20 mm/hr 定义为阳性),hs-CRP 的阳性率仅为 25.00%(hs-CRP 正常参考区间:0-3 mg/L,>3 mg/L 定义为阳性);RA 患者中,ESR 的阳性率为 63.92%,hs-CRP 的阳性率为 65.00%。由此可见,ESR 和 hs-CRP 对于自身免疫性疾病患者的诊断、监测不够理想。根据 ROC 曲线分析结果,我们将血清 ADA 活性为 10U/L 作为诊断的参考值上限(即血清 ADA 活性 ≥ 11U/L 定义为阳性)。此时,在 SLE 患者中,ADA 活性的阳性率为 59.8%,诊断效果优于 ESR 和 hs-CRP。在 RA 患者中,ADA 患者的阳性率为 42.7%,低于 ESR 和 hs-CRP 的阳性率。因此,血清 ADA 活性水平测定在 SLE 患者诊断中具有较高的潜在应用价值。

2.4 病例组内血清 ADA 活性情况

由于本研究中病例的来源包括门诊复查患者和住院患者两类,为了初步探寻门诊和住院患者血清 ADA 活性平均水平是否有差别,在系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎两种疾病中(重症肌无力患者均为住院患者,未进行此分析)进行了组内比较,系统性红斑狼疮患者门诊复查和住院患者血清中 ADA 活

性分别为(11.37± 4.56)U/L 和(15.22± 6.73)U/L,差别有统计学意义($P<0.0001$);类风湿性关节炎门诊复查患者和住院患者血清中 ADA 活性分别为(10.16± 2.81)U/L 和(11.33± 4.07)U/L,差别无统计学意义($P=0.124$)。

3 讨论

自身免疫性疾病作为一大类与免疫调节紊乱相关的疾病,其中多种疾病的病因、机理尚未明确,其诊断、病情监测都依赖于临床表现和影像学指标,较常见的血液检测指标有 ESR、超敏 C 反应蛋白等。但是在活动期自身免疫性疾病患者中,有相当比例的患者 ESR 和 CRP(或 hs-CRP)指标正常。国外研究显示血清中 ADA 水平升高可能与系统性红斑狼疮^[7,8]、类风湿关节炎^[9,10]等自身免疫性疾病相关,但可查见的相关文献较少。国内也有文献^[15]报道了血清中 ADA 水平升高可能与成人斯蒂尔(STILL)病相关,但对于类风湿关节炎、系统性红斑狼疮患者血清中 ADA 水平是否有改变的报道很少。且多数相关报道纳入的标本量少,试验结果缺少说服力,因此进一步在更广泛的自身免疫性疾病患者样本中进行 ADA 活性检测和分析很有必要。

本次研究同时针对多种自身免疫性疾病开展研究,选取了其中三种较常见的疾病进行统计分析。研究表明系统性红斑狼疮患者血清 ADA 活性较正常对照人群显著升高,类风湿性关节炎患者血清 ADA 活性也有较小程度的升高,而重症肌无力患者血清 ADA 活性均值与正常对照相似,差异无统计学意义。通过利用 ROC 曲线分析,将血清 ADA 活性大于 10U/L 作为阳性诊断标准,SLE 患者阳性率为 59.8%(ESR 的阳性率为 45.16%,hs-CRP 的阳性率为 25.00%),此时若联合 ESR 和 hs-CRP 诊断,可 SLE 诊断的敏感性提升至 77.17%;RA 患者血清 ADA 活性阳性率为 42.72%(ESR 的阳性率为 63.92%,hs-CRP 的阳性率为 65.00%),联合 ESR 和 hs-CRP 诊断的敏感性提高至 83.50%。可见,当以 ADA 活性大于 10U/L 为参考值时,ADA 检测在 SLE 患者血清中的敏感性最高,具有较高的准确性,高于传统的 ESR 和 hs-CRP 检测,而 RA 患者敏感性较低,因此 ADA 活性并不适合单独作为 RA 的检测指标。据国外相关研究^[9,16,17]报道,RA 患者血清 ADA 活性水平测定较健康对照组明显升高,但在血清 ADA 活性水平是否可作为病情监测的指标方面,国外研究的结果之间也存有争议^[17-19]。本研究结果显示 RA 患者血清 ADA 活性水平升高程度较小,这与国外

多数报道并不一致,除了病例组的 ADA 活性均值与国外相比有较大不同外,正常对照组的 ADA 活性均值也差别较大。这可能与血清 ADA 活性水平检测缺乏标准化的检测技术有关,也可能与人种差异有一定相关性。由于国内外缺少对正常人群血清 ADA 活性水平分布范围大规模流行病学调查结果,进一步更大样本量的研究很有必要。

对系统性红斑狼疮患者的血清 ADA 活性进一步分析发现系统性红斑狼疮患者中住院患者与门诊复查患者的 ADA 测定值有显著差异(15.22 ± 6.73 vs 11.37 ± 4.56 , $P < 0.0001$),这可能是由于住院患者病情与门诊患者的病情严重程度不同或者用药所致,尚待进一步的临床跟踪分析。在 SLE 住院患者中,血清 ADA 活性检测敏感性为 74.51%,联合 ESR 和 hs-CRP 诊断的敏感性可提高至 100.00%,表明 ADA 检测可以作为 SLE 患者住院期间的监测指标,而 SLE 患者血清 ADA 活性水平变化是否与病情相关尚需要进一步的研究加以证实;而对于类风湿关节炎组内分析发现,住院患者与门诊复查患者的血清 ADA 活性平均值差异无统计学意义($P = 0.124$)。

综上所述,系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎患者血清 ADA 活性均有升高,在系统性红斑狼疮患者中升高更为明显,是系统性红斑狼疮潜在的辅助诊断标志物。与目前已经应用于临床的诊断指标相比,血清 ADA 活性检测操作简单、快捷,成本相对低廉,易于推广,因此具有较大的应用价值。除了作为诊断指标,有研究认为 ADA 可以作为自身免疫性疾病的一个治疗靶点^[20],因此在自身免疫性疾病中对 ADA 进行更深入的研究将具有重要科学意义和临床应用价值。

参考文献(References)

- [1] 吴长有, 杨安钢. 临床免疫学 [M]. 2011 年 11 月第 1 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 97-188
Wu Chang-you, Yang An-gang. Clinical Immunology [M]. First edition, November 2011. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011: 97-188
- [2] 贾弘提, 冯作化. 生物化学与分子生物学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 259-272
Jia Hong-ti, Feng Zuo-hua. Biochemistry and Molecular biology[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2010: 259-272
- [3] Booth C, Algar VE, Xu-Bayford J, et al. Non-infectious lung disease in patients with adenosine deaminase deficient severe combined immunodeficiency[J]. J Clin Immunol, 2012, 32(3): 449-453
- [4] Grunebaum E, Cutz E, Roifman CM. Pulmonary alveolar proteinosis in patients with adenosine deaminase deficiency [J]. J Allergy Clin Immunol, 2012, 129(6): 1588-1593
- [5] Manson D, Diamond L, Oudjhane K, et al. Characteristic scapular and rib changes on chest radiographs of children with ADA-deficiency SCIDS in the first year of life[J]. Pediatr Radiol, 2013, 43(5): 589-592
- [6] Nikolajeva O, Worth A, Hague R, et al. Adenosine deaminase deficient severe combined immunodeficiency presenting as atypical haemolytic uraemic syndrome[J]. J Clin Immunol, 2015, 35(4): 366-372
- [7] Saghir R, Ghashghai N, Movaseghi S, et al. Serum adenosine deaminase activity in patients with systemic lupus erythematosus: a study based on ADA1 and ADA2 isoenzymes pattern [J]. Rheumatology International, 2012(No.6): 1633-1638
- [8] Turgay M, Durak I, Erten S, et al. Oxidative stress and antioxidant parameters in a Turkish group of patients with active and inactive systemic lupus erythematosus [J]. APLAR Journal of Rheumatology, 2007, (2): 101-106
- [9] Vinapamula K S. Serum Adenosine Deaminase as Inflammatory Marker in Rheumatoid Arthritis [J]. J Clin Diagn Res, 2015, 9(9): C8-C10
- [10] Zakeri Z, Izadi S, Niazi A, et al. Comparison of adenosine deaminase levels in serum and synovial fluid between patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis[J]. Int J Clin Exp Med, 2012, 5(2): 195-200
- [11] Doudkani-Fard M, Ziaee V, Moradinejad M, et al. Sensitivity and specificity of adenosine deaminase in diagnosis of juvenile idiopathic arthritis[J]. Med J Islam Repub Iran, 2014: 113
- [12] Hochberg M C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus [J]. Arthritis Rheum, 1997, 40(9): 1725
- [13] Aletaha D, Neogi T, Silman A J, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative [J]. Ann Rheum Dis, 2010, 69(9): 1580-1588
- [14] 中华医学会神经病学分会神经免疫学组. 中国重症肌无力诊断和治疗指南 2015[J]. 中华神经科杂志, 2015, (11): 934-940
Neuroimmunology Branch of Chinese Medical Association of Neurology. Guidelines for the diagnosis and treatment of myasthenia gravis in China 2015 [J]. Chinese Journal of Neurology, 2015, (11): 934-940
- [15] 胡志坚, 苟春华, 韩峰, 等. 26 例成人 Still's 患者腺苷脱氨酶分析 [J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(14): 1473-1475
Hu Zhi-jian, Xun Chun-hua, Han Feng, et al. Analysis of 26 cases of Adult Still's Diseases with adenosine deaminase [J]. Journal of Third Military Medical University, 2012, 34(14): 1473-1475
- [16] Osmani A M, Sayeed D, Ali G M. Study of serum adenosine deaminase and alkaline phosphatase in Rheumatoid Arthritis [J]. Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences, 2015, 4(03): 312-317
- [17] Gautam N, Archana J, Kumar R, et al. Serum total adenosine deaminase activity in Nepalese patients with Rheumatoid Arthritis[J]. Asian Journal of Medical Sciences, 2013, (2): 30-35
- [18] Salesi M, Ghazvini RA, Farajzadegan Z, et al. Serum adenosine deaminase in patients with rheumatoid arthritis treated with methotrexate[J]. J Res Pharm Pract, 2012, 1(2): 72-76
- [19] Demir G, Borman P, Ayhan F, et al. Serum Adenosine Deaminase Level is High But Not Related with Disease Activity Parameters in Patients with Rheumatoid Arthritis [J]. Open Rheumatol J, 2014, 8: 24-28
- [20] Antonioli L, Colucci R, La Motta C, et al. Adenosine deaminase in the modulation of immune system and its potential as a novel target for treatment of inflammatory disorders [J]. Curr Drug Targets, 2012, 13(6): 842-862