

CCL21 及其受体 CCR7 在 ANCA 相关性 血管炎患者中的临床应用价值

张铭明,张锐,杨小珂,帅宗文

摘要 目的 探讨趋化因子配体(CCL)21 及其受体趋化因子(CCR)7 在 ANCA 相关性血管炎(AASV)患者中的临床应用价值。**方法** 采用 ELISA 方法检测 102 例 AASV 患者以及 70 例正常对照组外周血中 CCL21 及其受体 CCR7 水平,同时测定 AASV 患者血清中特异性自身抗体、炎症指标以及相关实验室指标:白介素(IL)-6、肿瘤坏死因子(TNF)- α 、尿素氮(BUN)、肌酐(CRE)、补体 C3、C4、红细胞沉降率(ESR)、C 反应蛋白(CRP)、伯明翰活动性评分(BVAS)进行相关性分析,分析 CCL21 及其受体 CCR7 水平与 AASV 各临床指标相关性以及与病情的活动性。**结果** AASV 患者血清中 CCL21 及 CCR7 水平(276.95 ± 57.34);(85.85 ± 18.77) pg/ml 明显高于正常对照组(179.91 ± 19.45);(54.83 ± 18.18) pg/ml;且靶抗原髓过氧化物酶(MPO)阳性患者 CCL21 及 CCR7 水平(294.94 ± 58.15);(90.64 ± 18.38) pg/ml 高于靶抗原 MPO 阴性患者(244.35 ± 46.76);(78.37 ± 13.44) pg/ml($P < 0.05$);CCL21 及 CCR7 水平均与 AASV 患者 BUN、CRE、MPO、CRP、TNF- α 、IL-6、BVAS 正相关,且 AASV 患者血清中 CCL21 及 CCR7 水平之间呈正相关。受试者工作曲线(ROC)结果发现,血清 CCL21 及 CCR7 水平对 AASV 活动性具有预测价值。**结论** AASV 患者尤其在 MPO 阳性患者血清中 CCL21 及 CCR7 水平呈高表达,其表达水平与患者肾功能以及相关炎症指标具有明显相关性,血清 CCL21 及 CCR7 是 AASV 患者病情 BVAS 的影响因素,对诊断 AASV 及预测疾病活动性具有重要的临床价值。

关键词 抗中性粒细胞抗体;血管炎;核周型;胞浆型;趋化因子

中图分类号 R 593.27

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)09-1589-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.09.025

抗中性粒细胞胞浆抗体(anti-neutrophil cytoplasmic antibody, ANCA)相关性血管炎(ANCA-asso-

ciated vasculitis, AASV) 是一组以小血管壁炎症以及纤维素样坏死引起的多器官多系统损伤的自身免疫性疾病,由于其发病机制复杂,诊断困难,进展迅速,病死率高,多因肺出血,肾衰竭而危及生命。目前 AASV 最特异性诊断就是在外周血中检测出抗中性粒细胞胞浆特异性抗体,主要靶抗原为髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)和蛋白酶 3(protease3, PR3),这些特异性自身抗体的表达对 AASV 患者的某些临床特点及相关病情症状具有重要指导作用^[1]。

近年来有研究^[2-3]表明 CCL(chemokine ligand) 21 作为一种淋巴细胞和树突状细胞的重要趋化因子与慢性炎症性疾病具有重要联系,其可以与特定的受体 CCR(chemokine receptor) 7 结合通过促进炎症反应参与多种慢性炎症性疾病的病理生理过程,发挥出独特的生物学作用。为进一步研究此类趋化因子在血管炎发病机制中的作用,通过分析这些趋化因子在 AASV 血清中的表达以及与 AASV 临床密切相关指标的关系,探讨其对临床病情的影响因素,为临床诊断及监测病情活动提供帮助。

1 材料及方法

1.1 研究对象 收集 2018 年 1 月—2021 年 12 月安徽医科大学第一附属医院风湿免疫科 ANCA 相关性血管炎住院患者 102 例,其中男性 66 例,女性 36 例,年龄 22~77(48.44 ± 12.40)岁,所有患者诊断、荧光分型以及分类法均符合 1999 年美国风湿病学血管炎诊断标准和 2012 年美国 CHCC(Chapel Hill Consensus Conference)标准^[4]。患者的疾病活动度采用修订的伯明翰血管炎活动度评分(BVAS-V3),AASV 患者中 BVAS 活动期 50 例,其中 MPO 阳性 AASV 患者活动期 39 例,PR3 阳性患者活动期 10 例,靶抗原阴性患者活动期 1 例。70 例正常对照组由体检中心提供,年龄和性别构成和疾病对照组完全匹配,差异无统计学意义($P > 0.05$),健康对照组均无急慢性感染、结缔组织病及家族遗传史。

2023-08-03 接收

基金项目:定向专项基金项目(编号:ZXF2017003)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院风湿免疫科,合肥 230022

作者简介:张铭明,男,副主任技师;

帅宗文,男,主任医师,教授,责任作者,E-mail:amushuaizw@163.com

1.2 试剂与仪器 趋化因子 CCL21、CCR7 试剂盒均由美国 R&D systems 公司提供,细胞因子 TNF (Tumor necrosis factor) - α 、IL(Interleukin) -6 试剂盒均由美国 Biolegend 公司提供,CCL21、CCR7、TNF- α 、IL-6 检测方法为 ELISA 法;ANCA 总抗原检测(IIF 法)和特异性靶抗原 MPO、PR3 (化学发光法)检测试剂盒分别由北京欧蒙公司和广州康润公司提供。全自动荧光分析仪型号为:德国 欧蒙公司 Sptingter XL;全自身化学发光仪为:重庆科斯迈 Kaeser 6600;荧光显微镜型号为:德国 EUROStar III Plus。

1.3 标本的采集与检测 收取患者及健康对照组外周血,3 500 r/min 离心 10 min 分离血清,-80 $^{\circ}$ C 保存标本集中 ELISA 检测。ANCA 总抗原采用 IIF 检测,显微镜下判断荧光强度及荧光模型。ANCA 特异性靶抗原 MPO 和 PR3 cutoff 值分别为 1.5 和 2,C3、C4、BUN、CRE、hsCRP 数据由生化室提供,ESR 数据由临检室提供。

1.4 统计学处理 数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,实验组间两两比较采用方差分析,相关性采用 Pearson 相关性分析,预测价值通过绘制受试者工作曲线(ROC)分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AASV 患者及健康对照组血清中 CCL21 及 CCR7 水平 AASV 患者血清中 CCL21 及 CCR7 水平明显高于健康对照组($P < 0.05$);且 MPO 阳性组 CCL21 及 CCR7 水平均高于 AASV 中靶抗原 MPO 阴性组($P < 0.05$);PR3 阳性组 CCL21 水平明显高于 AASV 中靶抗原 MPO、PR3 阴性组($P < 0.05$) 差异有统计学意义;MPO 阳性组和 PR3 阳性组 CCL21 及 CCR7 水平无统计学差异($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 AASV 患者血清中 CCL21 及 CCR7 水平与临

床指标的相关性分析 CCL21 及 CCR7 水平均与 AASV 患者血清中 BUN、CRE、MPO、CRP、TNF- α 、IL-6 正相关($P < 0.05$),而与 AASV 患者血清中 C3、C4、PR3 无相关性($P > 0.05$),见表 2。

2.3 AASV 患者血清中 CCL21 及 CCR7 水平的相关性分析 AASV 患者血清中 CCL21 及 CCR7 水平呈正相关($r = 0.439, P = 0.000$),见图 1。

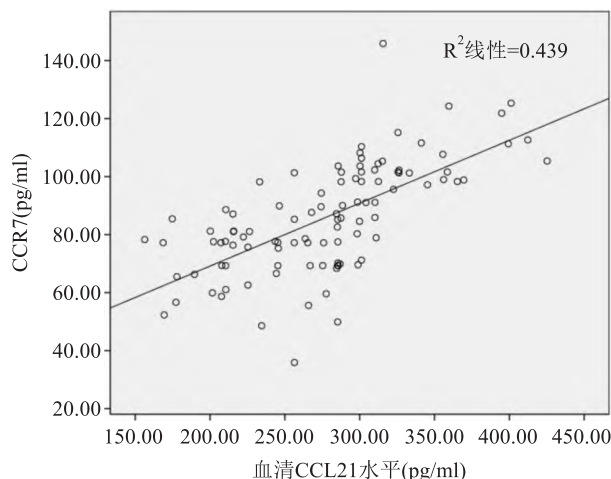


图 1 AASV 患者血清中 CCL21 及 CCR7 水平相关性比较

2.4 AASV 患者血清中 CCL21 及 CCR7 水平 预测疾病活动性的价值分析: 将全部入选者血清趋化因子 CCL21 及 CCR7 水平作为检验变量,AASV 疾病活动作为状态变量(1 = 疾病活动;0 = 疾病稳定),经 ROC 曲线(见图 2)分析结果显示,CCL21 及 CCR7 水平预测疾病活动性的 AUC 分别为:0.814, 0.8。见表 3。

3 讨论

趋化因子 CCL21 为 CC 家族,主要由活化的 T 淋巴细胞、内皮细胞等产生,CCL21 与其受体 CCR7 结合后趋化树突状细胞活化为成熟细胞,活化后的树突状细胞又导致 CCL21 分泌增加,而 CCL21 又

表 1 AASV 患者及健康对照组血清中 CCL21 及 CCR7 水平 (pg/ml)

组别	例数	CCL21		CCR7	
		浓度值	F 值	浓度值	F 值
AASV	102	276.95 \pm 57.34 **	187.57	85.85 \pm 18.77 **	148.08
MPO 阳性 AASV	54	294.94 \pm 58.15 ^{##}	17.08	90.64 \pm 18.38 ^{##}	10.55
PR3 阳性 AASV	18	277.44 \pm 47.11 [#]	5.67	84.59 \pm 23.37	1.41
靶抗原阴性 AASV	31	244.35 \pm 46.76		78.37 \pm 13.44	
健康对照	70	179.91 \pm 19.45		54.83 \pm 18.18	

与正常对照组比较:** $P < 0.01$;与靶抗原阴性 AASV 组比较:[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

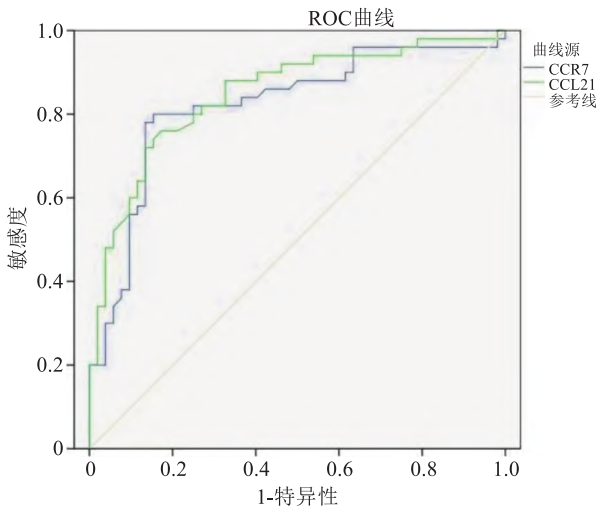


图2 AASV患者血清中CCL21及CCR7水平预测疾病活动性的价值ROC曲线图

表2 AASV患者血清中CCL21及CCR7水平与临床指标的相关性分析

指标	CCL21		CCR7	
	r 值	P 值	r 值	P 值
C3 (g/L)	0.190	0.056	0.162	0.105
C4 (g/L)	0.161	0.107	0.168	0.092
hsCRP (mg/L)	0.363	0.000	0.286	0.004
CRE (μmol/L)	0.311	0.001	0.255	0.01
BUN (mmol/L)	0.224	0.023	0.232	0.019
bvas	0.469	0.000	0.419	0.000
ESR (mm/h)	0.231	0.020	0.005	0.959
IL-6 (pg/ml)	0.497	0.000	0.208	0.036
TNF-α (pg/ml)	0.418	0.000	0.206	0.037
MPO	0.219	0.027	0.231	0.02
PR3	-0.045	0.655	-0.076	0.447

进一步激活树突状细胞,形成正反馈双向调节作用^[5]。CCL21 与其受体 CCR7 结合后,还可明显促进巨噬细胞释放 TNF-α、IL-1、IL-6 等炎症细胞因子的表达。因此本研究旨在通过检测 AASV 患者血清中 CCL21 与其受体 CCR7 的表达水平,分析其与 AASV 疾病中相关炎症指标、疾病活动的关系以及它们之间的关联性来探讨在 AASV 疾病发展中的作用。

AASV 作为一种系统性小血管炎,累及全身各

器官小血管(包括小静脉、小动脉、毛细血管),通过释放大量的炎症细胞因子以及形成免疫复合物对各组织器官造成损伤。本研究发现,AASV 患者血清中 CCL21 及其受体 CCR7 的表达水平明显升高,尤其在靶抗原 MPO 以及 PR3 阳性的 AASV 患者血清中 CCL21 与其受体 CCR7 发生的免疫应答作用更加活跃,提示抗 MPO 抗体以及抗 PR3 抗体的产生可能继发于多克隆 B 细胞在自身免疫、感染、或恶性肿瘤中出现全身炎症时的细胞免疫反应,使 T 淋巴细胞及血管内皮细胞过度活化,导致趋化因子的进一步聚集,使 CCL21 与其受体 CCR7 的表达水平升高^[6]。高表达的趋化因子可以促使 NET(中性粒细胞外捕网)通过激活髓样树突状细胞提升滤泡辅助性 T 细胞比例,以辅助 B 细胞产生特异性自身抗体 MPO-ANCA 可能参与到 MPO-AAVS 的发病过程中^[7]。

CCL21 及其受体 CCR7 水平升高可能加剧病情活动,促进疾病发展,从而加重肺、肾功能的损伤,进一步说明了 CCL21 及其受体 CCR7 在加剧炎症组织促炎细胞因子和趋化因子的表达起到十分重要的作用,可作为炎症活动的重要指标。在炎症反应过程中,CCL21 与其受体 CCR7 参与活化 B 淋巴细胞、T 淋巴细胞,单核细胞和巨噬细胞刺激树突状细胞成熟并参与调控记忆 T 细胞迁移至炎症组织,加剧了炎症的发生发展^[3]。CCL21 还可以通过与细胞膜表面上的受体 CCR7 结合,激活 PI3K,ERK,JNK 和 p38MAPK 等多种信号通路,对细胞生长、分化、凋亡进行调节,促进血管内皮生长因子表达,促使新生血管和血管翳形成,介导炎症反应和免疫损伤等病理过程,导致小血管炎症的发生^[8,9]。CCL21 是 GPR174 的趋化受体,GPR174 可参与 B 细胞分化和活化,因此通过此途径 CCL21 可正向调控 B 细胞迁移,诱导体液免疫反应^[10]。

本研究发现 CCL21 与其受体 CCR7 水平在 AASV 血清中呈高度相关,我们推测 CCL21 可能一方面通过趋化淋巴细胞、巨噬细胞和 T 细胞等多种免疫细胞,介导应激反应、感染、血管形成及树突细

表3 AASV患者血清中CCL21及CCR7水平预测疾病活动性的价值分析

指标	AUC	AUC 的 95% CI	标准误	P 值	最佳阈值	灵敏度	特异度	约登指数
CCL21	0.848	0.771 ~ 0.924	0.039	<0.001	284.63	0.814	0.857	0.671
CCR7	0.821	0.735 ~ 0.907	0.044	<0.001	85.79	0.8	0.846	0.646

胞成熟等多种生理及病理过程促进炎症因子和趋化因子的表达,从而在炎症微环境中发挥促炎作用^[3,11],CCL21 还可以通过激活 CCR7 受体向内皮细胞迁移可促进血管生成,进一步加速疾病的进展,两者相辅相成,相互促进^[12,13]。有研究显示^[8,14]在炎症性疾病中或者肿瘤中,配体 CCL21 的 mRNA 表达都与 CCR7 的 mRNA 表达显著正相关。配体 CCL21 分子通过激活外调节蛋白激酶(Extracellular regulated protein kinase, ERK)等信号通路,影响 EMT 相关基因、淋巴管生成因子及基质重构基因的表达,对血管内皮细胞的活化增值、分化、迁移发挥调控作用,导致疾病的发生发展^[15]。

CCL21 及其受体 CCR7 水平与评价 AASV 病情活动性指标伯明翰活动性评分(BVAS)高度相关,说明 CCL21 及其受体 CCR7 水平可以作为 AASV 活动性的评价指标。ROC 曲线发现血清趋化因子 CCL21 及其受体 CCR7 高表达是 AASV 活动性的影响因素,诊断预测价值明显,也和相关性检测结果一致,进一步说明血清趋化因子 CCL21 及其受体 CCR7 水平可能参与了 AASV 的发病过程,而且在 AASV 病情活动中发挥着重要作用。

综上所述,AASV 患者血清中 CCL21 及 CCR7 水平呈高表达,其表达水平对诊断 AASV 及预测疾病活动性具有重要的临床价值。因此在未来的研究当中,如何抑制其表达,对 ANCA 相关性血管炎疾病的治疗具有重要的应用价值。

参考文献

- [1] Kostianovsky A, Hauser T, Pagnoux C, et al. Alveolar haemorrhage in ANCA-associated vasculitides: 80 patients' features and prognostic factors[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2012, 30(1 Suppl 70): 77-82.
- [2] Van Raemdonck K, Umar S, Palasiewicz K, et al. CCL21/CCR7 signaling in macrophages promotes joint inflammation and Th17-mediated osteoclast formation in rheumatoid arthritis[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(6): 1387-99.
- [3] Liu M Z, Chen S M, Xu Y, et al. Increased expressions and roles of CC chemokine ligand 21 and CC chemokine ligand 25 in chronic rhinosinusitis with nasal polyps[J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2020, 181(5): 159-69.
- [4] 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.
- [5] Zhang G, Chen L, Yin R, et al. Chemokine (C-C motif) ligand 21/C-C chemokine receptor type 7 triggers migration and invasion of human lung cancer cells by epithelial-mesenchymal transition via the extracellular signal-regulated kinase signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(6): 4100-8.
- [6] 吕远帆, 帅宗文. 抗髓过氧化物酶-抗中性粒细胞胞质抗体特性对其相关性血管炎发病及病情变化的影响[J]. *中华风湿病学杂志*, 2014, 19(10): 710-3.
- [7] 李霖, 潘梦璐, 郑美娟, 等. MPO-ANCA 相关性血管炎患者中性粒细胞外捕网与滤泡辅助 T 细胞间关系的探讨[J]. *安徽医科大学学报*, 2021, 56(4): 623-7.
- [8] Chen Y, Shao Z, Jiang E H, et al. CCL21/CCR7 interaction promotes EMT and enhances the stemness of OSCC via a JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(9): 5995-6009.
- [9] Van R K, Umar S, Shahra R S. The pathogenic importance of CCL21 and CCR7 in rheumatoid arthritis[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2020, 55: 86-93.
- [10] Zhao R Z, Chen X, Ma W W, et al. A GPR174-CCL21 module imparts sexual dimorphism to humoral immunity[J]. *Nature*, 2020, 577(7790): 416-20.
- [11] 贾冬梅, 刘萍, 陈桦, 等. 结直肠癌患者血清基质金属蛋白酶-9、基质金属蛋白酶抑制剂-1 及趋化因子配体 21 表达水平及临床意义[J]. *中国临床医生杂志*, 2018, 46(8): 918-21.
- [12] 程玉洁, 刘娟. 趋化因子受体 CCR7 依赖的树突状细胞迁移的调控机制[J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(8): 1004-8.
- [13] 刘艾婷, 彭 旷, 欧蕾宇, 等. 补体系统在动脉粥样硬化中的作用研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(4): 363-8.
- [14] Salem A, Alotaibi M, Mroueh R, et al. CCR7 as a therapeutic target in Cancer[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2021, 1875(1): 188499.
- [15] Joutoku Z, Onodera T, Matsuoka M, et al. CCL21/CCR7 axis regulating juvenile cartilage repair can enhance cartilage healing in adults[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 5165.

The clinical application value of CCL21 and its receptor CCR7 in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibody associated vasculitis

Zhang Mingming, Zhang Rui, Yang Xiaoke, Shuai Zongwen

(Dept of Rheumatology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the clinical application value of chemokine ligand (CCL)21 and its receptor

网络出版时间:2023-09-01 08:48:28 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20230830.1830.007

基于 ICG-R15 的肝细胞型肝癌肝切除术后 肝衰竭的列线图临床预测模型

张思成,周大臣,侯辉,贺良,万得晨,喻宗繁

摘要 目的 基于 ICG-R15 建立肝细胞型肝癌(HCC)肝切除术后肝衰竭(PHLF)的列线图(Nomogram)临床预测模型。方法 回顾性分析根治性肝切除术的 219 例肝细胞肝癌患者的临床资料,Logistics 回归筛选出 PHLF 发生的危险因素并建立预测 PHLF 发生的 Nomogram 模型,并与传统模型比较,检验其预测效能。结果 在本研究中,ICG-R15 ($OR = 1.07, P < 0.05$)、PLT ($OR = 0.99, P < 0.05$)、INR ($OR = 1.50, P < 0.05$)、HBV-DNA $> 1000IU$ ($OR = 2.26, P < 0.05$)、AFP $> 400ng/L$ ($OR = 2.60, P < 0.05$)、开放手术 ($OR = 0.26, P < 0.05$) 为 PHLF 发生的危险因素。以这些因子建立了 Nomogram 预测模型,并通过 ROC 与 DCA 分析发现该模型预测效能及临床价值较传统模型更佳。结论 成功基于 ICG-R15 建立肝细胞型肝癌 PHLF 的 Nomogram 临床预测模型。

关键词 肝细胞型肝癌;吲哚菁绿;肝功能衰竭;列线图;危险因素

中图分类号 R 735.7

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)09-1593-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.09.026

原发性肝癌是全球常见的恶性肿瘤,在全球恶性肿瘤死亡原因中排行第四^[1],其中,肝细胞型肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)占其中的 90% 以上^[2]。肝切除术是治疗原发性肝癌的重要治疗方式。近些年来,随着技术的发展,肝切除术的安全性显著提高,但术后并发症发生率依然较高。其中,肝切除术后肝衰竭(posthepatectomy liver failure, PHLF)是肝切除术后最严重的并发症。在临床工作中,Child-Pugh 评分系统、终末期肝病模型(model for end-stage liver disease, MELD)、吲哚菁绿(Indocyanine green, ICG)15 min 清除实验(Indocyanine green retention test, ICG-R15)、白蛋白-胆红素评分(albumin-bilirubin, ALBI)等预测模型被用于预测 PHLF 的发生,但这些模型均存在各种局限性。因此,需要一种个体化的 PHLF 预测的方法,帮临床医师选择合适的治疗与手术方式,从而最终改善患者肝切除术后的预后情况。现探讨术前指标,手术方式与肿瘤特征等相关因素对 PHLF 发生的影响,找出其中的危险因素,建立了列线图(Nomogram)模

2023-08-09 接收

基金项目:安徽省临床医学研究转化专项项目(编号:202204295107020031)

作者单位:安徽医科大学第二附属医院肝胆外科,合肥 230601

作者简介:张思成,男,硕士研究生;

喻宗繁,男,教授,硕士生导师,责任作者, E-mail: 2253865679@qq.com

chemokine(CCR)7 in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibody associated vasculitis. **Methods** The serum levels of CCL21 and its receptor CCR7 were measured by ELISA methods in 102 patients with AASV and 70 healthy controls. At the same time, the correlation among the CCL21, CCR7, MPO, PR3 and general laboratory index of TNF- α , IL-6, BUN, CRE, C3, C4 ESR, CRP, BVAS in AASV patients was analyzed. **Results** The serum levels of the CCL21 and CCR7 were significantly higher in AASV patients than that in healthy controls [(276.95 \pm 57.34) vs (179.91 \pm 19.45); (85.85 \pm 18.77) vs (54.83 \pm 18.18) pg/ml] ($P < 0.05$). The serum levels of the CCL21 and CCR7 in MPO positive patients were higher than those in MPO negative patients [(294.94 \pm 58.15) vs (244.35 \pm 46.76); (90.64 \pm 18.38) vs (78.37 \pm 13.44) pg/ml] ($P < 0.05$). Moreover, The levels of the CCL21 and CCR7 were similar to those of TNF- α , IL-6, CRE, BUN, CRP, BVAS and MPO in AASV patients, the levels of the CCL21 and CCR7 in AASV patients were positively correlated. The serum levels of the CCL21 and CCR7 were found to be predictive of AASV activity with ROC. **Conclusion** The serum level of CCL21 and CCR7 in AASV patients increased significantly, especially in MPO positive patients, and related to patients with renal function index and related inflammation index. Serum CCL21 and CCR7 are the influencing factors of BVAS in AASV patients, and have important significance in the diagnosis and judgment of AASV disease.

Key words anti-neutrophil antibody; vasculitis; perinuclear type; cytoplasmic type; chemotactic factor