

· 研究综述 ·

# 风湿热的实验和临床研究<sup>①</sup>

余步云<sup>②</sup> 张书刚 古洁若

(中山医科大学附属第三医院内科, 广州, 510630)

**提 要** 本文综述了近 33 年作者等在风湿热的研究概况。主要包括: ①首次应用链球菌眼结膜下注射建立风湿性心脏炎动物模型; 通过 HLA 抗原分型研究免疫遗传与本病的关系。②证实细胞免疫、体液免疫和两者综合作用参与风湿热的发病机制; 本病的临床分型与体液免疫和细胞免疫在发病机制所占的地位有关; ③通过血沉、糖蛋白电泳和各种免疫指标的联合应用, 提高了判断风湿活动的阳性率; 建立了 PCA 试验和抗心肌抗体吸附试验的风湿性心脏炎特异性诊断方法。④总结了近年来风湿热的临床特点和不典型风湿热的诊断经验; 提出和建立了“可能风湿热诊断标准”。

**关键词** 风湿热; 风湿性心脏炎; 链球菌; 发病机制; 诊断

**中图分类号** R378.12

风湿热和风湿性心脏病是我国特别是南方和西南一些省份的常见病。在病因、发病机制和诊断上尚存在很多亟待解决的问题。本课题组自 1961 年以来开展对风湿热的研究, 历时 30 多年, 积累了一些经验和成果, 现简介如下。

## 1 病因研究

### 1.1 链球菌

本病的病因尚未完全明了, 多数人认为与 A 组溶血性链球菌感染有关。由于风湿热动物模型的建立十分困难, 国外亦仅有非常少的成功例子报道, 故链球菌所起的作用甚难阐明。为探讨链球菌感染与本病发病的关系, 早在 60 年代, 本室即首先应用链球菌眼结膜下注射成功诱发 4 只家兔产生典型风湿性心脏炎, 肉眼可见二尖瓣腱索增粗、粘连、缩短; 显微镜下可见心肌间质有阿孝夫小体、二尖瓣纤维素样坏变和风湿性赘生物, 同时伴有血沉、抗链球菌溶血素 O(ASO)、血清  $\alpha$  糖蛋白升高等。而两对照组(盐水结膜下注射组和皮下注射链球菌组)无一例出现上述病理改变及相应血清学变化。该实验是根据结

膜下注射可诱发高效价抗体的理论而设计的, 在国内外尚属首创, 研究结果证实: 链球菌感染后通过免疫反应, 使家兔发生风湿性心脏炎<sup>[1]</sup>。

### 1.2 免疫遗传

基于众多的链球菌感染患者中, 只极少数人发生风湿热, 且本病有家庭患病聚集现象, 因此, 我们又从 HLA 抗原分型方面探索免疫遗传与本病的关系。我们早在 1987 年在国内率先进行了这方面的研究, 在 1988 年第 3 次全国心血管病学术会议上报告了广东籍汉人风湿热的发生与 HLA-A<sub>10</sub>、A<sub>20</sub> 和 A<sub>33</sub> 抗原频率增高有显著相关性<sup>[2]</sup>。近年的研究也表明 HLA DR<sub>4</sub> 抗原频率的显著增高和 HLA-DR<sub>2</sub> 抗原频率的显著下降与风湿热和风湿性心脏病(风心病)的发生密切相关。上述研究结果有助于早期查出易患者并针对性地采取预防措施, 对减少风湿热和风心病的发病, 改善预后, 有积极意义。

## 2 发病机制

本病的发病机制尚未完全清楚, 多认为

① 国家教委博士点基金资助课题

② 第一作者, 60 岁, 女, 教授

是链球菌感染引起的一种自身免疫性疾病<sup>[3]</sup>。为探讨风湿热的免疫发病机制,我们分别从下述方面进行研究。

### 2.1 体液免疫在风湿热发病中的作用

本课题组在80年代用间接免疫荧光法检测227例心脏病患者(其中风湿性心脏病患者57例)血清的抗心肌抗体(AHRA)<sup>[4]</sup>,发现风湿热组阳性率最高(48.9%)。在实验中不仅证实风湿热患者血清中存在有抗心肌抗体,并观察到其消长与疾病活动程度有关。我们还用链球菌膜抗原吸附病人血清,证实此抗心肌抗体可被链球菌膜抗原所吸附,表明心肌组织与链球菌存在交叉抗原性。

80年代后期,我们首次应用原代培养的人胚心脏细胞进行研究,发现风湿性心脏病患者血清在补体存在情况下,对原代培养的人胚心脏细胞有毒性作用,而静止期风心病和单纯风湿性关节炎患者血清无此作用<sup>[4]</sup>,提示体液免疫参与风湿性心脏病的发病机制<sup>[5]</sup>。

此外,我们还对循环免疫复合物(CIC)及补体系统在本病发病中的作用进行了探讨,发现风湿热患者血清CIC水平明显高于正常人及静止期风心病患者,但CIC升高是否提示CIC在组织中的沉积也是本病的发病机制尚有待进一步研究<sup>[6]</sup>。风湿热患者血清补体C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub>、CH<sub>50</sub>的变化表现为多样性,在部分病人升高,部分病人下降,我们发现这种变化与疾病活动过程中补体的消耗及体内补体的产生之间的动态变化有关,而直接反映补体系统激活的补体C<sub>3</sub>裂解产物C<sub>3c</sub>在风湿活动期明显高于静止期,提示补体系统的激活参与本病的发病机制<sup>[7]</sup>。

### 2.2 细胞免疫在风湿热发病机制中的作用

风湿热的典型病理改变是风湿小结,这是由细胞免疫介导的病理变化,提示细胞免疫可能参与风湿热的发病机制,为此我们进一步用原代培养的人胚心脏细胞,加入风湿性心脏病患者外周血淋巴细胞,进行细胞毒性试验,结果发现风湿性心脏病患者外周血

淋巴细胞对心脏细胞有毒性作用,而静止期风心病和单纯风湿性关节炎患者外周血淋巴细胞则无此作用<sup>[5]</sup>;我们还用链球菌膜抗原短期刺激风湿热患者外周血淋巴细胞,观察其亚型的变化,结果发现风湿热患者T<sub>H</sub><sup>+</sup>细胞升高,T<sub>H</sub><sup>+</sup>细胞明显下降,T<sub>H</sub><sup>+</sup>细胞/T<sub>H</sub><sup>+</sup>细胞的比值显著升高,而正常对照组则无此现象,本实验结果表明:风湿热患者存在免疫调节紊乱,链球菌膜抗原刺激可能是引起这种免疫调节紊乱的原因。

近年研究发现,致敏的淋巴细胞再次接触到的相同的抗原时,其细胞膜表面出现促凝血活性物质,称为淋巴细胞促凝血活性(简称PCA),是一种特异性的细胞免疫检测方法。我们用特异性链球菌膜抗原刺激风湿热患者的外周血淋巴细胞,做PCA检查,结果发现风湿热中的心脏病组明显高于关节炎组,前者也高于静止期风心病组和正常对照组,此结果提示细胞免疫可能参与风湿热的发病机制<sup>[8]</sup>。

### 2.3 体液免疫和细胞免疫的综合作用

上述研究提示机体的免疫系统包括体液免疫和细胞免疫均参与风湿热的发病机制,但在临床工作中,我们也发现不少风湿性心脏病患者血清中测不到抗心肌抗体,为探讨体液免疫和细胞免疫两者在风湿热发病中的综合作用,我们将27例风湿性心脏病患者按病情分为急性典型发作组、慢性迁延活动组和静止期组,分别将其外周血淋巴细胞和血清加到体外培养的人胚心脏细胞中,结果发现:急性发作组患者外周血淋巴细胞和血清对心脏细胞均有毒性作用,而在慢性迁延活动组仅淋巴细胞对心脏细胞有毒性作用,而血清则无此毒性作用,提示体液免疫和细胞免疫在不同临床类型的风湿性心脏病患者,其参与发病机制不完全相同,在急性典型发作,两种机制均参与发病,而在慢性迁延活动,则主要是细胞免疫参与发病,体液免疫作用较弱或不参与发病机制<sup>[9]</sup>。

### 2.4 红细胞免疫也参与风湿病的发病机制

近年研究发现红细胞也具有免疫功能,这主要是指红细胞免疫粘附作用及红细胞吞噬作用。循环免疫复合物与补体  $C_{3b}$  结合后,可以粘附到红细胞表面的  $C_{3b}$  受体上,被带到吞噬系统处理从而防止由循环免疫复合物沉积而引起的疾病,已经证明循环免疫复合物形成和沉积在风湿热发病机制中占重要地位;为探讨红细胞免疫功能在风湿热发病机制中的意义,本室对 55 例风湿热患者,57 例正常人分别测定红细胞  $C_{3b}$  酵母花环,IC 酵母花环率,结果发现绝大多数风湿活动患者红细胞  $C_{3b}$  受体活性下降,证明风湿热患者红细胞免疫功能低下。

### 3 实验室诊断

80 年代,风湿热的临床表现趋向减轻和不典型,传统的化验室指标的敏感性下降,血沉阳性率从 84.8% 下降至 61.1%,ASO 阳性率从 73.5% 下降至 47%<sup>[10]</sup>。实验室诊断的研究面临两大难题,其一是如何建立新的敏感性高的方法,协助临床判断不典型的风湿活动;其二是寻求具有特异性价值的诊断方法,以助早期诊断<sup>[11]</sup>。

#### 3.1 探讨新的活动性指标

3.1.1 糖蛋白电泳 本项研究开始于 60 年代,我们从糖蛋白的研究入手,在国内首先开展糖蛋白与风湿热关系的研究。由于风湿热本身是一种结缔组织病,而糖蛋白是结缔组织胶原纤维基质的化学成份,也是细胞膜的重要成份之一;急性风湿热的病理变化以胶原纤维变性、与细胞渗出和增殖为主,这些变化必然要导致血清糖蛋白水平的增高。我们首先通过实验性家兔风湿性心脏炎动物模型的研究,证明风湿热过程有糖蛋白的规律性变化<sup>[1]</sup>,又测定了 151 例急性风湿热患者的血清糖蛋白电泳并作动态观察和治疗追踪<sup>[12,13]</sup>,后来又专门研究了 100 例低活动性风湿热的糖蛋白电泳<sup>[14]</sup>,证实了糖蛋白电泳中的  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  部分能较准确地判断风湿活动性,前者较敏感反映急性风湿热的发作,后者

对迁延活动或慢性期风湿热有较大意义。糖蛋白电泳的优点是对不典型和轻症病例较血沉为敏感,阳性率为 77%(血沉为 59%),两者比较( $P < 0.05$ )且不受心功能不全和激素治疗的影响,在判断病情的活动性,指导治疗,评价预后均较血沉优越。本研究结果首次改变了以血沉作为最敏感的活动指标的传统观念。

3.1.2 免疫指标的研究 80 年代开始,我们开展了应用免疫指标来判断风湿活动性的研究。首先证明了风湿活动过程,有血清 CIC 的增高,其阳性率为 66%。在临床上心脏严重受累,并发心力衰竭和心包炎时,血清 CIC 可比正常高出 2~3 倍。CIC 增高幅度与病情的严重程度相平衡。持续的无症状的 CIC 增高有时还提示亚临床型的风湿活动<sup>[6]</sup>。

我们又研究应用  $C_{3c}$  作为风湿热的活动性指标,证明急性风湿热时,其敏感性与血沉相当,阳性率为 61.1%,且在发病初期第 2 天即呈现阳性,故可作为一个检测早期风湿活动的方法<sup>[7]</sup>。

上述指标的联合测定可较大程度提高实验室的阳性率,如血沉与 CIC 或糖蛋白联合应用,其阳性率可从 66% 提高至 82% 和 89.5%,大大提高了实验室诊断的敏感性<sup>[15]</sup>。

3.1.3 抗心肌抗体的研究 在国外始于 70 年代,但在 80 年代中期,其临床意义尚有争议。Zabriskie 等认为风湿活动患者中,80% 以上有抗心肌抗体出现,因而可用于诊断;另一些作者观察到其它疾病如心脏手术后,心肌病,冠心病等也有抗心肌抗体阳性,故认为其测定无大意义。我们经过长达 7 年,数以千例的检测,得出下述结果:(1)抗心肌抗体在风湿性心脏炎、风湿性关节炎和瓣膜病的阳性率依次为 52.7%、6.7% 和 1.5%,前者的滴度在 1/20~1/80 之间,而后两者在 1/20 以下,可见抗心肌体不但能反映病情的活动性,还具有心肌受累的定位诊断意义。(2)抗心肌体可用于观察病情和判断预后。急性发

造型风湿热时抗心肌抗体在 4 周左右阴转, 迁延型风湿热的阴转时间在 12 周或更长一些时间, 慢性风湿热趋向静止时抗心肌抗体阴转, 如病情有反复, 活动性增高时, 抗心肌抗体又出现。(3)在其它心脏病(包括心肌病, 冠心病急性心肌梗塞、先天性、肺心病等)、系统性红斑狼疮、类风湿关节炎、血液和消化系统疾病的抗心肌抗体阳性率仅在 0%~17.8%, 故在鉴别诊断上有一定意义; 但在鉴别病毒性心肌炎时, 则应持慎重的态度(因病毒性心肌炎时, 抗心肌抗体阳性率为 25.7%)。(4)抗心肌抗体的敏感性高于 C 反应蛋白(CRP)而与血沉相接近<sup>[16]</sup>。

### 3.2 寻找特异性的诊断方法

自 1944 年 Duckelt Jones 建立风湿热的诊断标准以来, 经过 50 年的努力国内外学者仍未找到一项具有特异性诊断意义的临床或实验室检查方法。

1987 年起我们应用 A 组溶血性链球菌膜作为抗原, 检测患者外周血淋巴细胞的促凝血活性(即 PCA 试验)用于风湿热的诊断。研究表明:(1)风湿性心脏炎患者 PCA 增高的阳性率为 82.98%, 远远高于健康人(3.33%)和静止期风湿热患者(4.44%)。(2)风湿性心脏炎各临床亚型的 PCA 值也显著高于急性风湿性关节炎( $P < 0.01$ )。(3)风湿性心脏炎患者的 PCA 阳性率显著高于传统的实验室指标如血沉、CRP 和 ASO, 后 3 者的阳性率分别仅为 58.9%、19.05% 和 42.8%, 可见 PCA 在判断风湿热方面比血沉和 CRP 敏感, 在判断链球菌感染免疫反应方面比 ASO 敏感。(4)风湿性心脏炎的 PCA 阳性率显著高于其它疾病包括上呼吸道链球菌感染、其它结缔组织病、病毒性心肌炎、冠心病等(其它疾病的 PCA 阳性率仅为 5.56%~14.81%), 研究结果显示 PCA 有较好的特异性(特异度为 88.3%)。以上表明 PCA 试验在诊断风湿性心脏炎不但敏感性方面优于传统的实验室指标, 在特异性方面也是目前任何一项化实验室检查所不能与之比拟的<sup>[8]</sup>。

本试验在国内外第一次成功地找到一项风湿热的特异性实验室诊断方法。

早在 80 年代, 国外已将心肌吸附试验应用于研究风湿热发病机制, 用人心肌组织和链球菌膜同时吸附风湿热患者血清中的抗体以证明两者有共同抗原性。但心肌吸附试验尚未能应用于风湿热的临床诊断, 其原因是过去用间接免疫荧光法检测抗心肌抗体其阳性率仅 32%~50%, 再进行抗心肌抗体吸附试验其阳性率不超过 25%, 加以链球菌膜抗原的提取和吸附试验还有一个技术性问题, 对西方国家来说还有一个血清来源问题。我们在 1993 年全国心血管疾病实验室诊断学术会议上提出了采用酶免疫斑点法检测, 抗心肌抗体阳性率可达 88%, 还研究解决了吸附试验中技术难题; 取得了较好的研究结果: 风湿热患者血清抗心肌抗体吸附试验阳性率提高到 70%, 而其它病种(包括病毒性心肌炎、冠心病及结缔组织病等)的阳性率为 0%<sup>[11]</sup>, 上述研究为风湿性心脏炎提供了又一特异性的诊断方法。

上述两项特异性试验的建立, 使风湿热实验室诊断水平迈上一个新的台阶。

## 4 临床研究

自 60 年代开始, 我们开展了风湿热的临床研究, 先后发表了 7 篇<sup>[10,14,15,17~20]</sup>文章, 报道不同年代本病的流行特点, 临床表现的演变, 提出诊治工作中应注意的问题, 推动了我国风湿热的研究。在上述文章中所收集的病例是迄今为止国内数量最多的。

### 4.1 近年风湿热的临床表现特点

通过 1980~1993 年对 341 例风湿热的系统观察<sup>[19]</sup>, 发现 90 年代风湿热具有下述新特点: ①在疾病中的相对患病率在 80 年代有较大幅度下降, 但 90 年代初期似有增加倾向; ②新发病例中, 不少来自经济条件较为富裕、有较好医疗条件的家庭。③初发年龄逐渐增大, 成人初发风湿热所占比例较过去增加。④本病的临床表现总的趋势是减轻, 但 90 年

代开始发现同时患关节炎、心脏炎的典型病例有所增多,环形红斑、舞蹈病有增加趋势。⑤传统化验室指标血沉、CRP和ASO敏感性继续下降;⑥近期追踪结果显示:本病预后改善,病人寿命延长至55~70岁,但再发风湿活动仍是影响寿命和生活质量的主要因素。上述情况与近年西方国家流行情况比较,有近似之处,故应对本病的流行趋势进行密切监测,防止在局部地区再发流行。上述建议得到了同行的重视。

#### 4.2 不典型风湿活动的判断

众所周知对典型风湿热的诊断,临床上无大困难,但对不典型或治疗后病情改善,或迁延型风湿热仍存在轻度风湿活动的患者在临床上的判断却是一个大难题。经过多年的研究和观察我们认为任何年代本病的临床表现,总离不开发热、关节炎/痛和心脏炎3方面;因而制订了下述的处理方案<sup>[17,20]</sup>;①系统地监测体温,以确定有无发热(尤其是低热)。②详询病史和细致的逐个关节检查,以发现轻症的关节炎或关节痛。与天气密切相关的短暂的游走性多关节炎,尤其游走性大关节疼或压痛意义更大。③注意心音、心律、心杂音的变化和心脏的大小有无异常,特别要详询有无近期原因不明进行性心功能减退现象,这常是风湿性心肌炎最早期的表现。④近期的上呼吸道链球菌感染,常提示风湿热病因的存在。⑤选择性地各项实验室检查特别是PCA、抗心肌抗体及其吸附试验、糖蛋白电泳、血沉等,并结合应用EKG、超声心动图、X线胸片检查。⑥如经上述检查,疑点甚大,可进行为期两周的抗风湿治疗,如病情改善,提示风湿活动的存在。

#### 4.3 建立“可能风湿热的诊断标准”

Jones修订标准已沿用多年,一直为世所公认。但过去修订的标准却是适用于典型的风湿热。最近1992年修订的标准也只是针对初发风湿热。该修订标准虽然对舞蹈病、隐匿性或慢性心脏炎、有风湿热史或现患风心病者认为可以适当放宽,但尚未作出具体规定。

由于近年风湿热病例中,不典型者占相当比例,沿用Jones修订标准,漏诊率可达40%。过去曾有学者提出建立可能风湿热的诊断,但欠具体的阐明和得到广泛的认可。我们在1987年全国心血管病流行病学与人群防治学术会议上,再次提出建立“可能风湿热”的建议得到会议的重视并载入会议纪要中。我们提出的“可能风湿热诊断标准”<sup>[20,21]</sup>,主要是针对临床上最难诊断的风湿性心脏病伴不典型风湿活动或复发性风湿性心脏炎、以及上呼吸道链球菌感染后出现的轻微关节和心脏症状的患者,是经过多年实践,证明是可行的。

#### 参 考 文 献

- 1 余步云·链球菌眼结膜下注射诱发家兔风湿性心脏炎的初步报告·中山医学院学报,1983,4(1):68
- 2 古洁若,余步云,唐英春·广东人风湿性心瓣膜病与HLA-Gm(1)和Km(1)关系的探讨·中山医科大学学报,1994,15(1):78
- 3 余步云,张书刚·风湿热的新进展·国外医学内科分册,1987,4(11):494
- 4 杨贤招,余步云,王焕珍,等·抗心肌反应性抗体在心脏病的临床意义·实用医学杂志,1989,5(2):2
- 5 张书刚,余步云·风湿热患者外周血淋巴细胞和血清对心脏细胞的毒性作用·中山医科大学学报,1993,14(4):310
- 6 余步云,何卫平,郑慧贞,等·循环免疫复合物在风湿活动过程的变化及其在诊断上的意义·中山医科大学学报,1986,7(1):61
- 7 古洁若,余步云·风湿热活动过程中补体系统的变化和意义·新医学,1994,第10期待发表
- 8 余步云,张帆,戴陆军,等·应用促凝血活性试验诊断风湿性心脏炎·中山医科大学学报,1994,15(2):56
- 9 张书刚,余步云·风心病患者淋巴细胞和血清对心脏细胞毒性作用与临床类型的关系·中山医科大学学报,1994,15(3):167
- 10 Yu Buyun. Rheumatic Fever in the Eighties. In-

- ternational Symposia on Risk Factors for Cardiovascular Diseases, Macau-Hong Kong, 1987: 128
- 11 余步云. 风湿热的现状. 中华内科杂志, 1994, 33(1): 4
- 12 余步云. 151例风湿病患者的血清糖蛋白电泳分析. 新医学, 1980, 11(4): 175
- 13 余步云. 血清糖蛋白电泳在风湿病活动过程中的动态观察及其临床意义. 新医学, 1980, 11(4): 179
- 14 余步云, 吴钟英, 王焕珍, 等. 血清糖蛋白电泳诊断低活动性风湿热的探讨. 中山医学院学报, 1983, 4(2): 49
- 15 余步云, 郑慧贞, 杨贤招. 风湿热活动性的诊断. 中山医科大学学报, 1985, 6(4): 48
- 16 余步云, 杨贤招, 王焕珍. 抗心肌抗体在风湿热和瓣膜病风湿活动的意义. 第三次全国风湿病学学术会议论文汇编. 石家庄, 中华医学会, 1988, 9: 161
- 17 余步云. 风湿热的早期诊断. 实用内科杂志, 1986, 6(6): 293
- 18 余步云. 妊娠期风湿性心脏病风湿活动的诊断的问题. 广东医学, 1986, 7(1): 41
- 19 余步云, 钱孝贤, 周汉健. 80年代以来风湿热的回顾性分析(附341例报告). 新医学, 1994, 25(8):
- 20 余步云. 风湿热诊治进展. 新医学, 1993, 24(5): 232
- 21 余步云, 吕鸿基. 风湿热. 现代风湿病学(蒋明主编). 在印刷中

(1994-06-13 收稿 1994-06-17 修回)

## EXPERIMENTAL AND CLINICAL STUDIES ON RHEUMATIC FEVER

Yu Buyun Zhang Shugang Gu Jieruo

(Department of Internal Medicine, 3rd Affiliated Hospital,  
Sun Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510630)

Studies on rheumatic fever (RF) during the past 33 years are briefly reviewed. Mainly included: (1) First success of making animal model of rheumatic carditis by injecting streptococci subconjunctivally. Associations of HLA antigens with rheumatic fever. (2) Cellular immunity, humoral immunity and the combination of both played important roles in the pathogenesis of the disease. Relationships between the immunopathogenesis and subgroups of rheumatic fever. (3) Introduction of new indexes such as  $\alpha$ -glycoproteins, CIC, C<sub>3c</sub>, anti-heart-reactive antibodies (AHRA) for exploring the activities of RF and specific experimental methods (procoagulant activity assay and absorption of AHRA) for making diagnosis of the disease. (4) Descriptions of recent clinical features, diagnostic methods for atypical cases and criteria of probable RF.

**Key words** rheumatic fever; rheumatic carditis; streptococci; pathogenesis; diagnosis