

网络出版时间: 2015-11-18 10:12:35 网络出版地址: http://www.cnki.net/KCMS/detail/34.1065.R.20151118.1012.038.html

## 4 种血清标志物在类风湿关节炎的诊断、疾病活动度的判断及骨侵蚀的预测的应用价值

张琼<sup>1,2</sup>, 罗以勤<sup>1</sup>, 汪元<sup>3</sup>, 黄开泉<sup>2</sup>, 朱俊<sup>2</sup>

**摘要** 目的 研究葡萄糖 6 磷酸异构酶(GPI)、类风湿因子(RF)、抗角蛋白抗体(AKA)、抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体 4 种血清标志物在类风湿关节炎(RA)疾病的诊断、疾病活动度的判断及骨侵蚀的预测方面的应用价值。方法 选取 193 例 RA 患者, 158 例非 RA 患者, 98 例健康体检者。采用 ELISA 法定量检测 GPI 和抗 CCP 抗体浓度水平, 免疫透射比浊法定量检测 RF 浓度水平, 采用间接免疫荧光法定性检测 AKA。结果 血清 GPI、RF、抗 CCP 抗体、AKA 阳性率在 RA 组与非 RA 组及健康对照组比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); 血清 GPI、RF、抗 CCP 抗体浓度水平在 RA 组显著高于非 RA 组及健康对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。血清 GPI、RF 浓度水平在 RA 活动组浓度显著高于非活动组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 血清抗 CCP 抗体浓度水平在 RA 活动组与非活动组比较差异无统计学意义。血清 GPI、RF 浓度水平在 RA 骨侵蚀组与非骨侵蚀组比较差异无统计学意义; 血清抗 CCP 抗体浓度水平在 RA 骨侵蚀组显著高于非骨侵蚀组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。血清 AKA 阳性率在 RA 活动组与非活动组比较, 差异无统计学意义; 在 RA 骨侵蚀组与非骨侵蚀组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 血清 GPI、RF、抗 CCP 抗体、AKA 的水平对 RA 的诊断起到重要作用, 血清 GPI、RF 浓度水平与 RA 患者疾病活动度有关, 血清抗 CCP 抗体浓度水平可以预测 RA 患者骨侵蚀, RA 患者血清 AKA 阳性可能与骨侵蚀有关。

**关键词** GPI; RF; AKA; 抗 CCP 抗体; RA; 诊断; 疾病活动度; 骨侵蚀预测

中图分类号 R 446.69

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)12-1791-04

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以慢性关节滑膜炎为特征的自身免疫性疾病, 发病率很高, 全世界患病率约 1%, 致残率高, 发病两年

内即出现不可逆的骨关节破坏。血清学指标可出现于 RA 疾病的早期, 甚至可出现于 RA 临床症状发生前且都有高度特异性和一定的敏感性<sup>[1]</sup>。目前临床应用较多的血清学指标有类风湿因子(rheumatoid factor, RF)、抗角蛋白抗体(anti-keratin antibody, AKA)、抗环瓜氨酸肽(cyclic citrullinated peptide, CCP)抗体、葡萄糖 6 磷酸异构酶(glucose-6-phosphate isomerase, GPI)。该研究对 193 例 RA 患者、158 例非 RA 患者及 98 例健康对照者血清中 GPI、RF、AKA、抗 CCP 抗体 4 项指标的结果进行分析, 探讨其在 RA 疾病的诊断、判断疾病活动度及预测 RA 患者的骨侵蚀度方面的作用。

### 1 材料与方法

**1.1 病例资料** 随机选择 2014 年 1~8 月于安徽省中医药大学第一附属医院风湿免疫科住院的 RA 患者作为 RA 组, 共 193 例, 其中女 167 例, 男 26 例; 年龄 18~84(49.8 ± 13.0) 岁, 上述患者均符合 1987 年美国风湿病学会(ACR)修订的 RA 分类诊断标准。严格按照 DAS28 评分标准和 Sharp 评分标准进行分组。其中分为 RA 活动组 80 例, 非活动组 113 例; RA 骨侵蚀组 91 例, 非骨侵蚀组 102 例。同期选取风湿免疫科门诊及住院就诊的 158 例非 RA 患者作为非 RA 组, 年龄、性别与 RA 组相匹配。其中, 系统性红斑狼疮 4 例、干燥综合征 11 例、骨关节炎 46 例、过敏性紫癜 1 例、脊柱关节炎 5 例、间质性肺病 2 例、结缔组织病 19 例、进行性系统性硬化病 2 例、颈椎增生 1 例、局限性硬皮病 2 例、强直性脊柱炎 12 例、痛风 15 例、腕管综合征 1 例、纤维肌痛综合征 2 例、血管炎 2 例、血清性关节炎 4 例、炎性关节炎 2 例、腰椎间盘突出症 3 例、银屑病关节炎 2 例和(未分化)关节炎 22 例。诊断均符合相应分类诊断标准。同期选取 98 例健康管理中心的健康体检者作为健康对照组, 年龄、性别与 RA 组相匹配。

### 1.2 方法

2015-07-01 接收

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(编号: 81302967)

作者单位: <sup>1</sup>安徽医科大学附属省立医院检验科, 合肥 230001安徽中医药大学第一附属医院<sup>2</sup> 检验中心、<sup>3</sup> 风湿免疫科, 合肥 230031

作者简介: 张琼, 女, 主管技师, 硕士研究生;

罗以勤, 男, 副教授, 主任技师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: luoyiqin2003@163.com

**1.2.1 标本采集** 采集静脉血 2~4 ml 置于一次性分离胶促凝试管, 1 h 内 3 500 r/min 离心 10 min 分离血清, 2 h 内完成 RF 检测, 2~8 °C 保存分离的血清, 在 4 d 内完成 GPI、AKA、抗 CCP 抗体的检测。

**1.2.2 试剂来源** 欧蒙(杭州)医学实验诊断有限公司生产的试剂盒检测 AKA, 检测方法为间接免疫荧光法, 抗原基质为大鼠食管冷冻切片, 滴度 ≥ 1:10 阳性判断为阳性。上海北加生化试剂有限公司生产的试剂盒检测 GPI, 检测方法为 ELISA 法, 操作参考说明书, 以 4 个标准品(0.16、0.33、1.00、2.00 mg/L) 以及试剂空白对照绘制标准曲线, 同时做阴性和阳性对照, 检测结果 ≥ 0.20 mg/L 为阳性。上海科新生物技术股份有限公司试剂盒检测抗 CCP 抗体, 检测方法为 ELISA 法, 依据说明书操作, 以 5 个标准物的浓度(分别为 3 200、800、200、50、25 RU/ml; 同时做阴性和阳性对照) 及试剂空白对照做标准曲线, 同时做阴性和阳性对照, 患者血清 1:50 稀释, 结果 ≥ 25 RU/ml 为阳性。采用德国罗氏诊断有限公司进口试剂检测 RF, 检测方法为免疫透射比浊法, 结果 ≥ 15 U/ml 为阳性。

**1.3 统计学处理** 采用 GraphPad Prism 5 统计软件进行分析, 计数资料比较应用  $\chi^2$  检验, 计量资料两组比较应用 *t* 检验, 三组比较采用方差分析。各项血清标志物的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值采用四格表法计算。

**2 结果**

**2.1 阳性分布情况及阳性率** 血清 GPI、RF、抗 CCP 抗体、AKA 阳性率在 RA 组与非 RA 组及健康对照组比较差异均有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 1。

表 1 阳性分布情况及阳性率比较 [n( % )]

检测指标	RA 组 (n = 193)	非 RA 组 (n = 158)	健康对照组 (n = 98)
GPI	143( 74.1)	57( 36.1)	2( 2.0)
RF	157( 81.3)	32( 20.3)	5( 5.1)
抗 CCP	166( 86.0)	7( 4.4)	0( 0.0)
AKA	120( 62.3)	7( 4.4)	0( 0.0)
GPI/RF/抗 CCP/AKA	184( 95.3)	80( 50.6)	6( 6.1)
GPI + RF + 抗 CCP + AKA	86( 45.6)	0( 0.0)	0( 0.0)

**2.2 血清 GPI、RF、抗 CCP 抗体、AKA 敏感度、特异度、阳性预测值及阴性预测值** 可见敏感度由大到小分别是: 抗 CCP 抗体 > RF > GPI > AKA; 特异度

由大到小是: 抗 CCP 抗体、AKA > RF > GPI。单项中敏感度以抗 CCP 抗体最高, AKA 最低; 特异度以抗 CCP 抗体和 AKA 最高, GPI 最低。4 项中任意一项指标阳性的敏感度为 95.3%; 4 项指标同时阳性的特异度达到 100%。见表 2。

表 2 敏感度、特异度、阳性预测值及阴性预测值( % )

检测指标	敏感度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
GPI	74.1	77.0	70.8	79.8
RF	81.3	85.6	80.9	85.9
抗 CCP	86.0	97.3	95.9	90.2
AKA	62.3	97.3	94.5	77.3
GPI/RF/抗 CCP/AKA	95.3	66.4	68.1	94.9
GPI + RF + 抗 CCP + AKA	45.6	100.0	100.0	70.5

**2.3 GPI、抗 CCP 抗体、RF 血清水平分布** 血清 GPI、RF、抗 CCP 抗体浓度水平在 RA 组显著高于非 RA 组及健康对照组, 差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 3。

表 3 血清水平分布(  $\bar{x} \pm s$  )

项目	RA 组 (n = 193)	非 RA 组 (n = 158)	健康对照组 (n = 98)	F 值	P 值
GPI( mg/L)	1.11 ± 1.26	0.34 ± 0.63	0.05 ± 0.02	54.4	<0.000 1
抗 CCP( RU/ml)	128.70 ± 97.20	24.50 ± 13.80	15.80 ± 0.30	154.3	<0.000 1
RF( U/ml)	155.30 ± 211.20	14.80 ± 35.70	4.90 ± 9.90	58.2	<0.000 1

**2.4 RA 活动组与非活动组血清 GPI、抗 CCP 抗体、RF 水平** 血清 GPI、RF 水平在 RA 活动组浓度显著高于非活动组, 差异有统计学意义(*P* < 0.05); 血清抗 CCP 抗体浓度水平在 RA 活动组与非活动组比较差异无统计学意义。见表 4。

表 4 RA 活动组与非活动组血清 GPI、抗 CCP 抗体、RF 水平比较(  $\bar{x} \pm s$  )

项目	RA 活动组 (n = 80)	RA 非活动组 (n = 113)	<i>t</i> 值	P 值
GPI( mg/L)	2.07 ± 1.30	0.43 ± 0.63	10.76	<0.000 1
抗 CCP( RU/ml)	122.30 ± 77.40	133.20 ± 109.20	0.56	0.580 0
RF( U/ml)	227.40 ± 225.90	104.20 ± 184.80	3.65	0.000 5

**2.5 RA 骨侵蚀组与非骨侵蚀组血清 GPI、抗 CCP 抗体、RF 水平** 血清 GPI、RF 水平在 RA 骨侵蚀组与非骨侵蚀组比较, 差异无统计学意义; 血清抗 CCP 抗体水平在 RA 骨侵蚀组显著高于非骨侵蚀组, 差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 5。

**2.6 血清 AKA 在 RA 患者不同分组的阳性率** 血

清 AKA 阳性率在 RA 活动组与非活动组比较差异无统计学意义,在 RA 骨侵蚀组与非骨侵蚀组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 6、图 1。

表 5 RA 骨侵蚀组与非骨侵蚀组血清 GPI、抗 CCP 抗体、RF 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

项目	RA 骨侵蚀组 (n=91)	RA 非骨侵蚀组 (n=102)	t 值	P 值
GPI(mg/L)	1.05 ± 1.20	1.16 ± 1.31	0.000 6	0.990 0
抗 CCP(RU/ml)	184.90 ± 99.90	78.60 ± 60.80	9.010 0	<0.000 1
RF(U/ml)	143.60 ± 178.10	165.70 ± 237.20	0.310 0	0.750 0

表 6 血清 AKA 在 RA 患者不同分组的阳性率比较(n)

组别	阳性数	阴性数	$\chi^2$ 值	P 值
RA 活动	54	26	1.65	0.199 4
RA 非活动	66	47		
RA 骨侵蚀	68	23	11.53	0.000 7
RA 非骨侵蚀	52	50		

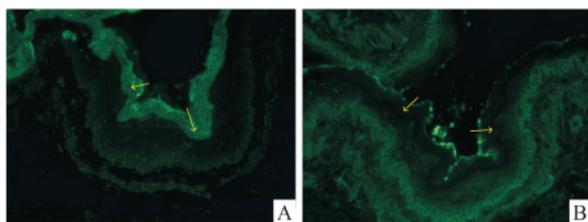


图 1 荧光显微镜观测 AKA 荧光图 ×400  
A: 阳性; B: 阴性

### 3 讨论

本研究显示抗 CCP 抗体敏感度为 86.0% 特异性为 95.6% 在 4 项指标中为诊断 RA 最为理想的指标。在抗 CCP 抗体阴性的 27 例 RA 患者中, GPI 阳性有 15 例。血清 GPI、RF、AKA、抗 CCP 抗体联合检测 4 项指标任意一项阳性的敏感度为 95.3%, 4 项指标同时阳性的特异度达到 100% 均高于任何单项指标。

GPI 作为自身抗原诱发 TCR 转基因鼠发生与人 RA 相似的炎症性关节炎, GPI 诱发的细胞和体液免疫反应是引起鼠炎症性关节炎的发病机制<sup>[2]</sup>; GPI 抗原存在于多数人 RA 患者血清和关节液中, GPI 作为自身抗原, 一方面诱导机体免疫细胞释放细胞因子引起关节炎, 另一方面与抗 GPI 自身抗体结合引起的免疫反应会使关节炎症状进一步加重, 或成为反映 RA 患者病情活动状态的指标之一<sup>[3]</sup>。本研究显示 GPI 在 RA 的诊断上敏感性为 74.1%,

特异性为 77.0% 在 RF 阴性的 36 例 RA 患者中 GPI 阳性 16 例。因此在 RA 诊断上 GPI 对于抗 CCP 抗体阴性、RF 阴性的 RA 患者是很好的补充指标。研究<sup>[4]</sup>表明血清 GPI 浓度水平与 RF 浓度水平有很好的相关性, 且均与 RA 患者活动性有关。RF 并不是 RA 的特异性抗体, 在骨关节炎、结缔组织病等疾病中也有不同程度的阳性表现。当临床症状不典型时, 仅凭 RF 测定结果很难为早期 RA 的诊断提供可靠依据。为了实现对 RA 的早期诊断, 2009 年美国风湿病学学会和欧洲抗风湿病联盟(ACR/EULAR)共同提出了新的 RA 诊断标准, 将抗 CCP 抗体和 RF 共同作为诊断 RA 的血清学评分标准<sup>[5]</sup>。

抗 CCP 抗体产生越多及其与 RA 密切相关的共同表位越多, 关节损害就越严重<sup>[6]</sup>。在本研究中, 血清抗 CCP 抗体浓度水平、AKA 阳性率在 RA 骨侵蚀组与非骨侵蚀组比较差异均有统计学意义。抗 CCP 抗体、AKA 均与关节侵蚀性病变更有关, 原因可能是富含瓜氨酸残基的多肽或蛋白均可被 RA 患者血清中的自身抗体识别, 进而引起关节损伤<sup>[7]</sup>。瓜氨酸是抗聚角蛋白微丝蛋白抗体(AFA)、AKA 和抗核周因子抗体(APF)所识别抗原决定簇中的主要成分, 抗 CCP 抗体虽是按照丝集蛋白序列合成的多肽抗原, 但抗 CCP 抗体测得的结果不能涵盖 AFA、AKA 和 APF。研究<sup>[8]</sup>显示, 有 56% 的 RA 患者仅含有一种瓜氨酸相关性抗体, 仅有 7% 的患者 AKA、AFA、抗 Sa 及抗 CCP 抗体全阳性。

本研究显示 GPI、RF、AKA、抗 CCP 抗体 4 种血清标志物在 RA 疾病的诊断、疾病的发展监测、疗效评价及预后判断上相互补充, 联合检测提高了诊断的敏感度和特异度。血清 GPI、RF 浓度水平与 RA 疾病活动性相关。AKA、抗 CCP 抗体与骨侵蚀相关, 对于 AKA、抗 CCP 抗体阳性患者可尽早进行干预, 阻断疾病的进展, 有效减少骨侵蚀和关节破坏。

### 参考文献

- [1] Niewold T B, Harrison M J, Paget S A. Anti-CCP antibody testing as a diagnostic and prognostic tool in rheumatoid arthritis [J]. QJM 2007, 100(4): 193-201.
- [2] Frey O, Mitera T, Kelchtermans H, et al. Ameliorated course of glucose-6-phosphate isomerase(G6PI)-induced arthritis in IFN- $\gamma$  receptor knockout mice exposes an arthritis-promoting role of IFN- $\gamma$  [J]. J Autoimmun 2011, 36(2): 161-9.
- [3] Jouen F, Vittecoq O, Leguillou F, et al. Diagnostic and prognostic values of anti glucose-6-phosphate isomerase antibodies in commu-

- nity-recruited patients with very early arthritis [J]. *Clin Exp Immunol* 2004 ,137( 3) : 606 – 11.
- [4] 丁荣梅. 高水平葡萄糖-6-磷酸异构酶与类风湿关节炎活动度的关系 [J]. *中华全科医学* 2012 ,10( 12) : 1941 – 2.
- [5] Polido-Pereira J ,Vieira-Sousa E ,Fonseca J E. Rheumatoid arthritis: what is refractory disease and how to manage it? [J]. *Autoimmun Rev* 2011 ,10( 11) : 707 – 13.
- [6] Mewar D ,Marinou I ,Coote A L ,et al. Association between radiographic severity of rheumatoid arthritis and shared epitope alleles: differing mechanisms of susceptibility and protection [J]. *Ann Rheum Dis* 2008 ,67( 7) : 980 – 3.
- [7] 范列英. 风湿性关节炎血清早期诊断指标的研究进展 [J]. *中华检验医学杂志* 2003 ,26( 10) : 632 – 4.
- [8] Goldbach-Mansky R ,Lee J ,McCoy A ,et al. Rheumatoid arthritis associated autoantibodies in patients with synovitis of recent onset [J]. *Arthritis Res* ,2000 ,2( 3) : 236 – 43.

## Values of four serum markers in the diagnosis , the assessment of disease activity and the prediction of bone erosion of rheumatoid arthritis

Zhang Qiong<sup>1,2</sup> ,Luo Yiqin<sup>1</sup> ,Wang Yuan<sup>3</sup> ,et al

(<sup>1</sup>Dept of Clinical Laboratory ,The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University ,Hefei 230001;

<sup>2</sup>Clinical Laboratory Center ,<sup>3</sup>Dept of Rheumatology and Immunology ,The First Affiliated Hospital of Anhui University of Traditional Chinese Medicine ,Hefei 230031)

**Abstract Objective** To systematically evaluate the values of four serum markers including glucose-6-phosphate isomerase ( GPI) ,rheumatoid factor ( RF) ,anti-keratin antibody ( AKA ) and anti-cyclic citrullinated peptide ( CCP) antibody in the diagnosis ,the assessment of disease activity and the prediction of bone erosion of rheumatoid arthritis( RA) . **Methods** The serum samples of 193 patients with RA ,158 non-RA rheumatic patients and 98 healthy controls were collected. The expressions of GPI and anti-CCP were measured by ELISA methods. The level of RF was measured by the immune turbidimetric methods; AKA was measured by indirect immunofluorescence methods. **Results** The positive rates of these four antibodies in RA patients were significantly higher than in non-RA rheumatic patients and healthy controls group(  $P < 0.05$  ) ,the combined detection of these four antibodies could obviously improve the sensitivity and the specificity in the diagnosis of RA. The mean levels of GPI ,RF and anti-CCP were significantly higher in RA patients than that of in non-RA rheumatic patients and healthy controls group (  $P < 0.05$  ) . There were significant differences between the active phase and the inactive phase in the GPI and RF levels(  $P < 0.05$  ) ; with the value of the anti-CCP ,there was no difference between the active phase and the inactive phase. The levels of GPI and RF in the bone erosion group and the non-bone erosion group had no significant difference; with the value of the anti-CCP ,there was obvious difference between the bone erosion group and the non-bone erosion group(  $P < 0.05$  ) . The positive rate of AKA in the active phase and the inactive phase had no difference; while ,there was significant difference between the bone erosion group and the non-bone erosion group (  $P < 0.05$  ) . **Conclusion** The combined detection of these four antibodies has important clinical significance in the diagnosis of RA. The serum concentrates of GPI and RF have significantly positive correlation with disease activity of RA. It is valuable to predict the bone erosion of RA ,using detection of anti-CCP. The patients with positive AKA may exhibit more bone damage.

**Key words** glucose-6-phosphate isomerase; rheumatoid factor; anti-keratin antibody; anti-cyclic citrullinated peptide antibody; rheumatoid arthritis; diagnosis; disease activity; predicting of bone erosion