

• 临床检验研究论著 •

类风湿关节炎抗 CCP 抗体与氧化和抗氧化活性的相关性研究

朱芳玉

(张家界市慈利县中医医院检验科, 湖南张家界 427200)

摘要:目的 研究类风湿关节炎(RA)患者全血、血清和滑膜液中抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体对氧化和抗氧化活性的影响。方法 对该院 2010~2011 年类风湿因子(RF)阳性而抗 CCP 抗体阳性($n=27$)和抗 CCP 抗体阴性($n=25$)的 RA 患者进行了研究,检测了全血、血清和滑膜液中的丙二醛(MDA)、髓过氧化物酶(MPO)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px),并进行统计学分析。结果 抗 CCP 抗体阳性和抗 CCP 抗体阴性的 RA 患者全血和血清的反映氧化活性的指标(MDA, MPO)和抗氧化活性的指标(CAT、GSH-Px)比较差异无统计学意义($P>0.05$)。抗 CCP 抗体阳性的 RA 患者滑膜液的氧化活性较 CCP 抗体阴性患者高($P<0.05$)。抗 CCP 抗体阳性的 RA 患者滑膜液抗 CCP 抗体水平与 MDA 和 MPO 呈正相关($r=0.441, 0.553, P<0.05$)。结论 RA 患者抗 CCP 抗体水平与滑膜液反映中氧化活性的指标(MDA、MPO)呈正相关。

关键词:氧化应激; 关节炎, 类风湿; 抗环瓜氨酸肽抗体; 氧化活性; 抗氧化活性; 滑膜液

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.21.008

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)21-2576-02

The analysis of relationship between anti-CCP antibodies and oxidant and anti-oxidant activity in patients with rheumatoid arthritis

Zhu Fangyu

(Clinical Laboratory, Cili Traditional Chinese Medical Hospital of Zhangjiajie, Zhangjiajie, Hunan 427200, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of anti-CCP antibodies in the circulation on whole blood, serum and synovial fluid oxidant and anti-oxidant activity in patients with RA. **Methods** RF(+) RA patients with anti-CCP(+) ($n=27$) and anti-CCP(-) ($n=25$) were recruited into the study from 2010 to 2011 in our hospital. Catalase(CAT), glutathione peroxidase(GSHpx), myeloperoxidase(MPO) activities and the levels of malondialdehyde(MDA) were measured in whole blood, serum and synovial fluid in both groups, then were analyzed statistically. **Results** There were no significant differences in terms of the mean whole blood and serum antioxidative activity(CAT, GSHpx) and the mean blood and serum MDA and MPO values(oxidative activity), between the patients with anti-CCP(+) and those with anti-CCP(-). There was increased synovial oxidant activity(MDA and MPO levels) ($P<0.05$) in anti-CCP(+) RA patients when compared with anti-CCP(-) RA patients. There was positive correlation between anti-CCP antibody levels and synovial MDA and MPO levels($r=0.441, 0.553$ respectively, $P<0.05$) in anti-CCP(+) group. **Conclusion** Anti-CCP antibody positive level seems to be associated with increased synovial fluid oxidant activity in patients with RA.

Key words: oxidative stress; arthritis, rheumatoid; anti-cyclic citrullinated peptide antibody; oxidative activity; antioxidative activity; synovial fluid

类风湿关节炎(RA)是较为常见的致畸性自身免疫性疾病,临床表现为全身对称性指趾小关节肿胀、变形,严重影响患者的劳动力和生活质量。抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体在 RA 的早期诊断中具有很高的敏感度和特异度^[1],且与炎症活性、疾病进展、骨损伤范围也密切相关,可用于对骨关节破坏程度的判断^[2-3]。笔者研究了 RA 患者抗 CCP 抗体在全血、血清和滑膜液中的氧化和抗氧化活性之间的关系,旨在探讨 RA 中抗 CCP 抗体对氧化和抗氧化活性的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对本院 2010~2012 年 27 例抗 CCP 抗体阳性患者和 25 例抗 CCP 抗体阴性患者进行了研究,所有患者 RA 的临床诊断均符合美国风湿病学会(ARA)1987 年修订的诊断分类标准,并排除 RF 阳性并接受类固醇治疗的患者。

1.2 方法 对 52 例患者全血、血清和膝部滑膜液进行检测。

1.2.1 抗 CCP 抗体的检测 采用德国欧蒙医学试验诊断公司的抗 CCP 抗体 ELISA 试剂盒,以诊断界值(cutoff 值)大于 5 Ru/mL 作为阳性判断标准。

1.2.2 红细胞沉降率(ESR)的检测 采用 XC-A3O 血沉仪进行自动化检测。

1.2.3 氧化活性的检测 丙二醛(MDA)的检测采用南京建成试剂,结果用 nmol/mL 表示。髓过氧化物酶(MPO)的活性检测采用 Bradley 法进行检测,结果用 U/mL 表示。

1.2.4 抗氧化活性的检测 过氧化氢酶(CAT)的检测参照 Aebi 的方法进行检测,结果用 $\mu\text{mol/L}$ 表示。谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)采用碧云天试剂,用比色法检测谷胱甘肽过氧化物酶,结果用 U/mL 表示。

1.3 统计学处理 应用 SPSS13.0 进行统计分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料组间比较用 χ^2 检验,相关性采用 Spearman 相关分析, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床资料比较 27 例抗 CCP 抗体阳性 RA 患者与 25 例抗 CCP 抗体阴性 RA 患者在年龄、性别、体质量指数、疾病持续时间、ESR、C 反应蛋白等资料差异无统计学意义($P>0.05$);但是在晨僵、触痛关节数这 2 项指标中,抗 CCP 抗体阳性 RA 患者明显高于抗 CCP 抗体阴性 RA 患者($P<0.05$),见表 1。

2.2 抗 CCP 抗体阳性和阴性 RA 患者全血、血清中的氧化和

抗氧化活性结果比较 组间各项目比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。结果见表 2。

表 1 抗 CCP 抗体阳性与阴性 RA 患者临床资料的比较

项目	抗 CCP 抗体 阳性($n=27$)	抗 CCP 抗体 阴性($n=25$)	P
年龄(岁)	53.7±9.6	55.2±12.2	0.623
性别(女/男)	20/7	19/6	0.997
体质量指数(kg/m ²)	24.7±1.3	25.1±1.8	0.360
疾病持续时间(年)	9.7±6.1	8.2±7.4	0.434
晨僵(min)	34.7±34.6	17.3±22.5	0.038
触痛关节数(n)	5.6±5.2	2.8±3.2	0.025
ESR(mm/h)	36.9±26.1	33.1±21.5	0.571
CRP(mg/L)	33.3±23.8	31.3±28.9	0.786

表 2 抗 CCP 抗体阳性与阴性的 RA 患者全血和血清中的氧化和抗氧化活性比较($\bar{x}\pm s$)

指标	抗 CCP 抗体 阳性($n=27$)	抗 CCP 抗体 阴性($n=25$)	P
血清 GSHpx(U/mL)	0.47±0.18	0.46±0.25	0.868
全血 GSHpx(U/mL)	15.60±4.34	14.20±6.61	0.368
血清 CAT(/κmL)	0.13±0.01	0.12±0.03	0.108
全血 CAT(/κmL)	112.11±20.61	114.73±21.2	0.653
血清 MDA(nmol/mL)	3.41±0.32	3.27±0.15	0.052
全血 MDA(nmol/mL)	53.52±7.5	50.24±7.21	0.115
血清 MPO(U/mL)	0.63±0.2	0.64±0.28	0.882
全血 MPO(U/mL)	71.09±20.86	67.35±25.11	0.561

2.3 抗 CCP 抗体阳性与阴性的 RA 患者滑膜液 抗氧化活性(CAT、GSH-Px)差异无统计学意义,但氧化活性(MPO、MDA)差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 3 RA 患者中抗 CCP 抗体阳性与抗 CCP 抗体阴性两组滑膜液氧化和抗氧化活性比较($\bar{x}\pm s$)

指标	抗 CCP 抗体 阳性($n=27$)	抗 CCP 抗体 阴性($n=25$)	P
滑膜液 GSHpx(U/mL)	0.072±0.03	0.071±0.024	0.895
滑膜液 CAT(/κmL)	0.149±0.086	0.155±0.087	0.804
滑膜液 MDA(nmol/mL)	4.582±0.77	2.842±0.51	<0.001
滑膜液 MPO(U/mL)	4.789±2.644	3.141±2.123	0.017

2.4 相关性分析 抗 CCP 抗体阳性患者在 Spearman 相关性研究中,血清抗 CCP 抗体水平只与滑膜液 MDA($r=0.441$, $P<0.05$)和 MPO($r=0.553$, $P<0.05$)呈正相关。而与全血和血清 MPO、MDA、GSH-Px、CAT 和滑膜液 GSH-Px 和 CAT 水平差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨 论

3.1 抗 CCP 抗体的来源及作用 抗 CCP 抗体是环状聚丝蛋白的多肽片段,以 IgG 型为主。瓜氨酸残基是 RA 特异的抗中

间丝相关蛋白特异抗体识别表位的必要结构。已被证实来源于患者的外周血、关节液及骨髓中具有特异性分泌抗 CCP 抗体功能的 B 淋巴细胞^[4]。抗 CCP 抗体阳性作为 RA 侵蚀性的指标,与疾病持续性组织和关节损害有关^[5-6],研究表明 RA 患者抗 CCP 抗体与高氧化活性状态相关,RA 患者氧化应激标志物增高时,可在患者血液中检测到抗 CCP 抗体^[6]。

3.2 氧化活性及抗氧化活性在 RA 中的病理过程 MDA 是脂质氧化损伤的终末产物之一,研究表明 RA 患者的血液和滑膜液中的脂质氧化损伤的终产物增加,并与疾病的严重性相关^[7]。MPO 和过氧化氢能产生次氯酸,可形成慢性炎症疾病的氧损伤^[8-9],本研究也显示了 MPO 和抗 CCP 抗体的相关性。

许多物质如内源性活性氧自由基(ROS)清除蛋白、酶和化合物可通过多种方式保护细胞和组织,若不能通过抗氧化机制清除 ROS,ROS 可引起脂质、蛋白和 DNA 的广泛损伤。几种抗氧化系统如超氧化物歧化酶(SOD)、CAT 和 GSH-Px 发挥了作用^[10]。但本研究发现抗 CCP 抗体与全血、血清、滑膜液中抗氧化防御系统无相关性。

3.3 RA 的病理生理 RA 在临床上常以关节滑膜血管翳形成、软骨和软骨下破坏为主要病理改变的慢性炎症。尽管 RA 的病理生理改变尚不清楚,但是 ROS 发挥了作用,并且研究表明 RA 患者血清和滑膜液氧化酶活性升高,而抗氧化活性可升高、降低或无改变。ROS 可导致活细胞的破坏,在慢性炎症中发挥了重要作用,形成 RA 的病理改变。滑膜组织和滑膜液的氧化应激的增加与疾病进展、组织损害和骨质损伤有关。研究表明在 RA 中,单核细胞能产生 2.7 倍的氧自由基^[11],氧化应激的增强与抗 CCP 抗体的产生有关^[12],并且 RA 患者滑膜液和组织中的透明质酸、LDL、蛋白、软骨、细胞外胶原和细胞内 DNA 发生了氧化损伤。NO、过氧化物阳离子、H₂O₂ 和 OHS 可引起关节组织尤其 RA 患者的细胞损伤,这些物质在炎症过程巨噬细胞活化过程中形成的^[13]。

综上所述,抗 CCP 抗体与患者血清、全血氧化活性和抗氧化活性无相关性,只与滑膜液中氧化活性呈正相关,说明滑膜液中氧化活性的增加可能是骨损害加快的一个因子,但尚需进一步研究。

参考文献

[1] 潘秋荣,孙肖依.多指标联合检测对类风湿关节炎的临床诊断价值[J].国际检验医学杂志,2011,32(13):1436-1437.
[2] 吴殿臣,张正宇,谭魁麟,等.抗环瓜氨酸抗体与类风湿关节炎骨侵蚀的相关性[J].江苏大学学报:医学版,2010,20(4):324-326.
[3] 戴溯.抗环瓜氨酸肽抗体检测在关节病中的临床应用[J].中华内科学杂志,2005,44(4):315-317.
[4] Schellekens GA, Visser H, De Jong BAW, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide[J]. Arthritis Rheum, 2000, 43(1):155-163.
[5] Snir O, Widhe M, Hermansson M, et al. Antibodies to several citrullinated antigens are enriched in the joints of rheumatoid arthritis patients[J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(1):44-52.
[6] Rantapaa-Dahlqvist S, De Jong BAW, Berglin E, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2003, 48(10):2741-2749.
[7] Bandt MD, Grossin M, Driss F, et al. Vitamin E uncouples joint destruction and clinical inflammation in a transgenic mouse model of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, (下转第 2580 页)

3 讨 论

回顾分析本院 2011 年 1~12 月临床分离大肠埃希菌耐药情况,10.4%(86/825)对 PIP-TAZ 表现为耐药,该结果较李丽等^[3]报道的 5.6%稍高,这可能与本院大肠埃希菌产 ESBLs 比例较高有关。Meybeck 等^[4]研究发现 PIP-TAZ 耐药大肠埃希菌最主要的耐药机制是产高水平青霉素酶,而本研究中产 ESBLs 比例较高,这可能由于产 ESBLs 大肠埃希菌在本院较为流行^[5]。需要指出的是,本研究中没有用任何分子生物学的方法来进一步明确不同的青霉素酶类型,而只使用了表型分析,这有待于进一步的研究。

抗生素使用对耐药菌株的筛选作用是引起耐药菌株感染的一个重要因素。非条件 Logistic 回归分析既往抗菌药物使用情况发现,近期使用 AMOX 或 AMC 是 PIP-TAZ 耐药株大肠埃希菌感染的一个独立危险因素(OR=2.708,95%CI:1.701~4.312),该结果表明 AMOX 使用对大肠埃希菌的选择压力有利于筛选出产青霉素酶株,从而导致 PIP-TAZ 耐药株的大量产生,这与 Mohammadi 等^[6]的报道一致,但是该报道并未阐明这一独立危险因素的原因。ICU 入住是感染 PIP-TAZ 耐药大肠埃希菌的另一个危险因素,这主要因为 ICU 患者住院时间长,患者发生院内感染的机会高,接触耐药菌的机会多,病原菌耐药情况就更严重^[7]。

以往的多个研究表明,大肠埃希菌的某些耐药表型与患者死亡率有明显相关性,如产生 ESBLs、NDM-1 和喹诺酮类耐药株均具有更高的死亡率^[8-10]。但是,在本研究中并没有发现感染 PIP-TAZ 耐药表型的大肠埃希菌对患者临床预后有任何影响。可能是由于临床首次选择 PIP-TAZ 作为经验用药的比例较少,头孢菌素类药物在本院通常是经验用药的首选(如头孢噻肟钠),而头孢类药物对 PIP-TAZ 有不同耐药表型的大肠埃希菌的敏感性未发现有明显的差异,较少出现经验治疗失败而延误病情。另外值得注意的是 PIP-TAZ 目前主要推荐用于严重社区获得性腹腔感染和院内腹腔感染,而这类感染在临床感染比例相对较少。

通过病例对照研究发现 PIP-TAZ 耐药大肠埃希菌感染患者平均住院时间明显长于敏感株,耐药株和敏感株感染患者死亡率未见明显差异。AMOX 或 AMC 使用对产高水平青霉素酶或者 ESBLs 的筛选和诱导作用是 PIP-TAZ 耐药大肠埃希菌感染的一个独立危险因素,加强对这一危险因素的控制有助

于预防耐药菌株感染的扩散。

参考文献

[1] American Thoracic Society. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2005, 171(4):388-416.

[2] Eagye KJ, Kuti JL, Sutherland CA, et al. In vitro activity and pharmacodynamics of commonly used antibiotics against adult systemic isolates of Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa at forty US hospitals[J]. Clin Ther, 2009, 31(11):2678-2688.

[3] 李丽, 田磊, 陈中举, 等. 卫生部全国细菌耐药监测网 2010 年中南地区细菌耐药性监测[J]. 中国临床药理学杂志, 2011, 327(12):940-947.

[4] Meybeck A, Ricard JD, Barnaud G, et al. Incidence and impact on clinical outcome of infections with piperacillin/tazobactam resistant Escherichia coli in ICU: aretrospective study[J]. BMC Infect Dis, 2008, 8(67):1-7.

[5] 吕军, 杨宏伟, 彭敬红, 等. 2009 年十堰太和医院细菌耐药性监测[J]. 郧阳医学院学报, 2010, 29(3):212-216.

[6] Mohammadi I, Ploin D, Duperret S, et al. Risk factors for Escherichia coli in ICU patients: a clinical study[J]. Intensive Care Med, 2003, 29(7):1164-1168.

[7] 李晓婕, 黄绍华. 临床常见细菌和 ICU 院内感染病原菌分布及耐药性的对比分析[J]. 重庆医学, 2011, 40(1):59-61.

[8] Schwaber MJ, Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum β -lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis[J]. J Antimicrob Chemother, 2007, 60(5):913-920.

[9] Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study[J]. Lancet Infect Dis, 2010, 10(9):597-602.

[10] 孙康德, 冯志磊, 虞中敏, 等. 质粒介导的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌耐喹诺酮类药物的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(6):635-637.

(收稿日期:2012-05-09)

(上接第 2577 页)

2002, 46(2):522-532.

[8] Van Der Veen BS, De Winther MPJ. Myeloperoxidase: molecular mechanisms of action and their relevance to human health and disease[J]. Antioxid Redox Signal, 2009, 11(11):2899-2937.

[9] Taysi S, Polat F, Gul M, et al. Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants, and antioxidant enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis[J]. Rheumatol Int, 2002, 21(5):200-204.

[10] Kageyama Y, Takahashi M, Nagafusa T, et al. Etanercept reduces the oxidative stress marker levels in patients with rheumatoid ar-

thritis[J]. Rheumatol Int, 2008, 28(3):245-251.

[11] Ostrakhovitch EA, Afanas'ev IB. Oxidative stress in rheumatoid arthritis leukocytes: suppression by rutin and other anti-oxidants and chelators[J]. Biochem Pharmacol, 2001, 62(6):743-746.

[12] Snir O, Widhe M, Hermansson M, et al. Antibodies to several citrullinated antigens are enriched in the joints of rheumatoid arthritis patients[J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(1):44-52.

[13] 刘斌, 刘春霞, 张虹. 探讨 CCP-Ab、AKA、RF 在类风湿关节炎中的诊断意义[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(16):1839-1840.

(收稿日期:2012-05-09)