

tors, 2010, 28(4): 243-255.

- [17] Steven W, Yau M, Walid J. IGFBP-2 - taking the lead in growth, metabolism and cancer[J]. J Cell Commun Signal, 2015, 9(2): 125-142.
- [18] Cha N, Lv M, Zhao YJ, et al. Diagnostic utility of VEGF mRNA and SP1 mRNA expression in bronchial cells of patients with lung cancer[J]. Respirology, 2014, 19(4): 544-548.
- [19] Xu Y, Zhao F, Wang Z, et al. MicroRNA-335 acts as a metastasis suppressor in gastric cancer by targeting Bcl-w and specificity protein 1[J]. Oncogene, 2012, 31(11): 1398-1407.
- [20] Tan Y, Yin H, Zhang H, et al. Sp1-driven up-regulation of miR-19a decreases RHOB and promotes pancreatic cancer[J]. Oncotarget, 2015, 6(19): 17391-17403.
- [21] Banerjee S, Sangwan V, Mcginn O, et al. Triptolide-induced cell death in pancreatic cancer is mediated by O-GlcNAc modification of transcription factor Sp1[J]. J Biol Chem, 2013, 288(47): 33927-

33938.

- [22] Li F, Jiang Z, Wang K, et al. Transactivation of the human NME5 gene by Sp1 in pancreatic cancer cells[J]. Gene, 2012, 503(2): 200-207.
- [23] Hsu TI, Wang MC, Chen SY, et al. Sp1 expression regulates lung tumor progression[J]. Oncogene, 2012, 31(35): 3973-3988.
- [24] Zheng Y, Ritzenthaler JD, Sun X, et al. Prostaglandin E2 stimulates human lung carcinoma cell growth through induction of integrin-linked kinase; the involvement of EP4 and Sp1[J]. Cancer Res, 2009, 69(3): 896-904.
- [25] Tian HP, Lun SM, Huang HJ, et al. DNA methylation affects the SP1-Regulated transcription of forkhead box F2 in breast cancer cells[J]. J Biol Chem, 2015, 290(31): 19173-19183.

(收稿日期: 2015-09-28)

• 综 述 •

类风湿关节炎实验室诊断的研究进展

邹映东¹综述, 王玉明^{2△}审校

(1. 云南省中医医院检验科, 云南昆明 650021; 2. 昆明医科大学第二附属医院检验科, 云南昆明 650021)

关键词: 类风湿关节炎; 早期诊断; 免疫学检查; 小分子 RNA

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2016. 04. 036

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)04-0516-03

类风湿关节炎(RA)是一个累积周围关节为主,以慢性破坏性多关节炎为主要表现的全身性自身免疫性疾病。该病起病隐匿,多数病例进展缓慢,少数呈急剧发病,病程反复,属于临床难治性疾病。早期的 RA 可无典型症状或仅呈现出单一临床症状,用现行的诊疗标准和技术手段,存在诊断困难、漏诊及误诊的问题^[1]。流行病学调查显示,该病发病呈现出全球性趋势,欧美白人患病率约为 1.0%,我国约为 0.4%。基于我国较大的人口基数,RA 已成为我国人群劳动力丧失和致残的主要疾病之一,给国家和个人带来沉重的经济负担^[2]。RA 诊疗的相关研究和实践表明,早期诊断和及时干预是延缓或阻断疾病进程的最佳手段,探寻灵敏度高、特异度好的早期诊断标志是 RA 实验室诊断的目标^[3]。

1 RA 的临床诊断

RA 的诊断依据为临床表现、实验室检查和影像学检查。现行的诊断标准为美国风湿病学会(ACR)1987 年制定的分类标准:(1)晨僵持续至少 1 h(每天),病程至少 6 周;(2)有 3 个或 3 个以上的关节肿,至少 6 周;(3)腕、掌指、近指关节肿至少 6 周;(4)对称性关节肿至少 6 周;(5)有皮下结节;(6)手 X 线表现(至少有骨质疏松和关节间隙的狭窄);(7)血清类风湿因子阳性。7 条标准中满足 4 条即可诊断为 RA。另外 ACR/EULAR 2010 年联合推出的分类标准、评分系统见表 1(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

在临床实践中,1987 年的分类标准最为常用,易于诊断典型病例,但不适于早期 RA 的诊断,7 条诊断标准中 4 条均强调关节肿痛和病变持续时间大于 6 周,表明用该标准进行诊断时疾病已进展到相当程度,呈现出不可逆的病理改变^[4]。2010 年版的分类标准,提出至少 1 个关节肿痛,并有滑膜炎的证据

(临床表现、超声或 MRI),同时排除了其他疾病引起的关节炎,并有典型的常规放射学 RA 骨破坏的改变,可诊断为 RA。评分系统以关节受累情况、血清学指标、滑膜炎持续时间和急性时相反应物 4 个部分为标准,总得分 6 分以上可诊断 RA,该标准充分运用了现代诊疗技术手段,结合影像学检查,将实验室检查指标类风湿因子(RF)、抗环瓜氨酸多肽抗体(抗 CCP 抗体)阳性程度和炎性反应物 C 反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)纳入评分系统,相比较 1987 年标准能够诊断更多的 RA 和早期的 RA^[5-6],但对于血清学指标阴性的对称性关节炎及自限性关节炎存在误诊和漏诊现象^[7]。

2 血清免疫学检查

特异的血清免疫学标志物是 RA 早期诊断的临床研究和应用重点,如抗角蛋白抗体(AKA)、RF 分型、抗 CCP 抗体、抗核周因子抗体(APF)、抗 RA33 抗体、抗葡萄糖-6-磷酸异构酶抗体(抗 GPI)、抗核抗体(ANA)等自身抗体的应用,为 RA 的早期诊断提供了新的证据支持,提高了诊断效率。

2.1 AKA AKA 为一种不溶性纤维蛋白,可先于 RA 临床表现在早期患者的血清中检测到,与抗核周因子所针对的抗原均为角蛋白丝状素原,敏感度低,特异度高,滴度与 RF 无明显相关性^[8]。

2.2 APF APF 为 RA 患者体内出现的一种细胞核周抗体。靶抗原为存在于人类黏膜上皮细胞核周胞浆的一种不溶性蛋白质,可在 RA 出现关节改变前出现,特异度约为 80%~90%,敏感度约为 40%,抗体滴度的高低可能与病情活动性相关^[9]。

2.3 抗 CCP 抗体 抗 CCP 抗体为针对人工合成的环瓜氨酸多肽抗体,可在 RA 早期或出现临床症状前 5 年内即可检测

到,敏感度约为 76%,特异度为 96%,与 RA 的病情严重程度密切相关,具有较高的诊断价值^[10]。

2.4 RF 分型 RF 分型主要以 RF-IgM、RF-IgG、RF-IgA 为主,单独的 RF-IgM 阳性缺乏疾病特异性,可见于 RA、感染性疾病和肺病;RF-IgG 与 RA 患者的滑膜炎、血管炎和关节外症状密切相关;RF-IgA 见于 RA、硬皮病、Felty 综合征和系统性红斑狼疮(SLE),是 RA 临床活动的一个指标。RF-IgM、RF-IgG 合并出现对于无症状个体,常提示有发生 RA 的危险,而在 RA 中,常提示预后不良^[11]。

2.5 ANA ANA 为真核细胞的各种成分抗体的总称,在 RA 患者中血液中可筛检到低滴度的 ANA,当 ANA 呈现高滴度时,常提示可能合并其他的自身免疫性疾病^[12]。

2.6 抗 Sa 抗体 抗 Sa 抗体可在 RA 患者血清中早期出现,特异性高达 98%,但敏感度低,仅为 30%左右。RA 患者阳性率约为 40%,滴度与疾病的活动性相关^[13]。

2.7 抗 GPI GPI 是糖酵解和糖异生的重要酶类。抗 GPI 在 RA、SLE 和干燥综合征中均可表达,缺乏疾病特异性,在 RA 活动期血清抗 GPI 高水平表达且与 RA 疼痛和肿胀关节数呈正相关^[14]。

2.8 抗 RA33 抗体 抗 RA33 抗体为相对分子质量 33×10^3 的胞质核蛋白抗体,与早期的 RA 有很好的相关性,RA 患者阳性率约 20%~40%,但也可见于 SLE 和其他结缔组织患者血清,阳性率约 20%~40%^[15]。RA 为异质性疾病,个体差异大,现有血清学诊断技术在临床应用中虽然特异性高,但存在敏感度低的问题,采用联合检测的方式能在一定程度上提高 RA 诊断的特异度和灵敏度,但不能充分反映疾病的细微变化和进程^[16-17]。

3 与 RA 相关的 miRNA 研究

miRNA 是真核生物中一类具有调节功能的内源性非编码小 RNA,大小约 21~25 个核苷酸,通常靶向一个或多个 mRNA,通过抑制靶标 mRNA 的翻译而调节基因表达,单个 miRNA 即可调节整个通路甚至多种通路,参与细胞增殖凋亡、造血、脂代谢、病毒防御等生理过程以及肿瘤、炎症等发生的病理过程^[18]。与 RA 相关的 miRNA 谱研究表明,miRNA 在 RA 患者血液、关节滑液、组织滑膜等中异常表达,与 RA 的发生、发展、预后、转归关系密切,部分的 miRNA 在 RA 早期或出现临床症状前就已在患者体内呈现出高表达水平,远高于骨关节炎患者和健康人群^[19]。通过与 RA 相关的 miRNA 谱的检测,可能为 RA 的早期诊断提供新的实验室证据,同时采用直接或间接干预血液或组织 miRNA 表达水平,可能为 RA 的治疗提供新的选择^[20]。

3.1 miRNA-146a miRNA-146a 主要表达于外周血单个核细胞,其产生依赖于核因子 κ B (NF- κ B) 的激活,通过靶向抑制或直接下调靶基因肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TRAF6) 和 IL-1 受体相关激酶 1 (IRAK1),抑制或终止炎症反应,在固有免疫应答中发挥负反馈调控作用^[21]。在 RA 患者外周血中,miR-146a 可早于临床症状出现并呈现出高水平表达,可用于早期 RA 的诊断^[22]。

3.2 miRNA-155 miRNA-155 表达于 T 细胞、B 细胞和单核细胞。在固有免疫中,miRNA-155 通过靶向抑制 TLR 信号通路分子 IRAK1、MyD88 等调控炎症反应的强度,靶向抑制转录因子 Ets、转录因子 PU1 调控树突状细胞的发育。在获得性免疫中,miRNA-155 通过靶向抑制诱导激活的胞脱氨酶 (AID) 和 PU1 进而调控 B 细胞的发育和免疫球蛋白的产生,

以及通过抑制巨噬细胞活化因子 (c-Maf) 使初始 T 细胞向 Th2 分化减少而向 Th1 分化增多,从而削减 Th2 细胞的反应,促进细胞凋亡。RA 时,在炎症环境下,RA 固有的滑膜成纤维细胞 (RASFs) 和 RA 滑膜组织 (RAST) 在局部细胞因子 TNF、IL-1 β 刺激下使 miRNA-155 表达上调,通过抑制基质金属蛋白酶 MMP-3、MMP-1 的产生,对 RA 关节破坏过程起到负反馈调节作用^[23]。在小鼠 RA 膝关节模型研究发现,miRNA-155 涉及自适应和先天免疫反应,其高水平表达能导致自身免疫性关节炎,在向小鼠 RA 膝关节腔内注射 miRNA-155 后,可导致滑膜组织内 miRNA-155 表达上调、Bcl-2 蛋白含量减少及滑膜组织内细胞凋亡明显增加,证明调节 miRNA-155 表达水平可能为 RA 的提供一种新的治疗方式^[24]。

3.3 miRNA-124a miRNA-124a 在 RA 滑膜细胞的转录后调节机制中发挥着重要作用,有研究显示其能抑制滑膜细胞的细胞周期蛋白依赖性激酶 2 (CDK-2) 和单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) 表达,从而抑制细胞增殖,使细胞周期阻滞在 G1 期^[25]。另有研究表明,miR-124a 能通过抑制 RANKL 和 NFATc1 等关节炎的发展先决条件,改善临床症状,可作为 RA 治疗用途的候选指标^[26]。

3.4 miRNA-125b miRNA-125b 存在于类风湿性关节炎患者血清中,可以作为利妥昔单抗治疗 RA 潜在的疗效观察和预测 RA 的靶向治疗的监测指标^[27]。

3.5 miRNA-223 和 miRNA-16 循环的 miRNA-223 作为 RA 疾病活动期和对早期类风湿关节炎 (ERA) 治疗的标记,在早期类风湿关节炎患者 miRNA-223 和 miRNA-16 表达水平均处于上调状态,可用于早期 RA 的诊断,而对于在经过治疗的早期 RA 患者,可观察到其血清表达水平呈现下降趋势,因而,监测 miRNA-16 和 miRNA-223 水平可能成为早期 RA 疗效观察和预后的一个有用指标^[28]。

3.6 miR-203 高水平的 miR-203 表达可导致的 MMP-1 和 IL-6 的经由 NF- κ B 途径分泌增加,从而有助于在 RA 滑膜成纤维细胞的活化表型^[29]。

3.7 miR-24 和 miR-125a-5P 在 RA 中 miR-24 和 miR-125a-5P 的表达水平明显高于 OA 和 SLE 患者,具有较好的特异度,且对在抗瓜氨酸蛋白抗体 (ACPA) 阳性和 ACPA 阴性 RA 患者中无显著不同^[30]。近年来在 miRNA 联合研究中发现,外周血 miRNA-146a 和 miRNA-16 表达水平与 RA 活动度相关,定量检测 miRNA-146a 和 miRNA-16 的可作为 RA 病情监测指标^[31];miRNA-146a 和 miRNA-155 可在类风湿性关节炎的早期可呈现出高水平表达,且与疾病活动性相关,可作为 RA 早期诊断和疗效观察的潜力标记物^[32]。

4 小 结

RA 是一种慢性炎症性疾病,病程反复,关节损害严重。抗风湿药的极早期应用,能改变疾病的进程。现有的诊疗指南和血清实验诊断技术,能诊断一定的早期患者,但对于血清学指标阴性或临床症状不典型早期 RA,存在漏诊和误诊问题。近年来,与 RA 相关 miRNA 研究的展开,为 RA 的早期诊断提供了新的路径,特别是一些在早期 RA 特异高水平表达的 miRNA,有望解决困扰临床多年来的早期诊断和鉴别诊断的难题^[33],而部分在 RA 治疗中呈现出与病情活动性一致的 miRNA,可能成为替代 ESR 和 CRP 的新的疗效监测和预后判断指标,为 RA 的诊疗提供新的策略^[34]。

参考文献

[1] 侯勇,赵岩. 类风湿关节炎的诊断和治疗进展[J]. 实用医院临床

- 杂志, 2011, 8(2): 8-10.
- [2] Langley PC, Mu R, Wu M, et al. The impact of rheumatoid arthritis on the burden of disease in urban China[J]. *J Med Econ*, 2011, 14(6): 709-719.
 - [3] Van Eijk IC, Nielen MM, Van Der Horst-Bruinsma I, et al. Aggressive therapy in patients with early arthritis results in similar outcome compared with conventional care; the STREAM randomized trial[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2012, 51(4): 686-694.
 - [4] 中华医学会风湿病学分会. 类风湿关节炎诊断及治疗指南[J]. *中华风湿病学杂志*, 2010, 14(4): 265-270.
 - [5] Kasturi S, Goldstein BL, Malspeis S, et al. Comparison of the 1987 American college of rheumatology and the 2010 American college of rheumatology/European league against rheumatism criteria for classification of rheumatoid arthritis in the nurses' health study cohorts[J]. *Rheumatol Int*, 2014, 34(3): 407-411.
 - [6] Van Der Linden MP, Knevel R, Huizinga TW, et al. Classification of rheumatoid arthritis; comparison of the 1987 American College of Rheumatology criteria and the 2010 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism criteria[J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(1): 37-42.
 - [7] Tamas MM, Felea I, Rednic S. How much difference does the age at onset make in early arthritis patients? Comparison between the ACR 1987 and the ACR/EULAR 2010 classification criteria for rheumatoid arthritis at the time of diagnosis[J]. *Rheumatol Int*, 2013, 33(11): 2881-2884.
 - [8] 左川, 杨南萍, 彭晓东. 抗角蛋白抗体在类风湿关节炎的临床意义[J]. *中华风湿病学杂志*, 2004, 8(2): 97-99.
 - [9] 李小峰, 王彩虹, 张莉芸, 等. 抗核周因子和抗角蛋白抗体的临床应用研究[J]. *中华风湿病学杂志*, 2003, 7(12): 725-730.
 - [10] 赵金霞, 刘湘源, 王志敏, 等. 抗瓜氨酸化蛋白抗体联合检测在类风湿关节炎中诊断价值的分析[J]. *中华风湿病学杂志*, 2010, 14(1): 53-56.
 - [11] 赵琳茹. 探讨 RF 分型定量检测对临床诊断的意义[J]. *医学综述*, 2014, 20(7): 1296-1298.
 - [12] 马小建, 张骥, 张健君. CCP 阳性类风湿患者标本 ANA 相关性分析[J]. *中国误诊学杂志*, 2009, 9(3): 541-542.
 - [13] 卢靓, 栗占国. 类风湿关节炎的诊断及治疗进展[J]. *实用医院临床杂志*, 2007, 4(3): 9-11.
 - [14] 武丽君, 路庆丽, 单新洁, 等. 抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体葡萄糖-6-磷酸异构酶和抗环瓜氨酸多肽抗体检测在类风湿关节炎诊断中的价值[J]. *中华风湿病学杂志*, 2009, 13(1): 27-29.
 - [15] 李小峰, 魏华, 胡学芳, 等. RA33/36 抗体检测在类风湿关节炎的临床应用[J]. *中华风湿病学杂志*, 2005, 9(6): 375-377.
 - [16] 张新刚, 蒋莉, 张晓莉, 等. 4 种血清标记物在类风湿关节炎诊断中的应用[J]. *南方医科大学学报*, 2013, 33(4): 538-541.
 - [17] Zhu T, Feng L. Comparison of anti-mutated citrullinated vimentin, anti-cyclic citrullinated peptides, anti-glucose-6-phosphate isomerase and anti-keratin antibodies and rheumatoid factor in the diagnosis of rheumatoid arthritis in Chinese patients[J]. *Int J Rheum Dis*, 2013, 16(2): 157-161.
 - [18] Ranjha R, Paul J. Micro-RNAs in inflammatory diseases and as a Link between inflammation and cancer[J]. *Inflamm Res*, 2013, 62(4): 343-355.
 - [19] Chatzikiyriakidou A, Voulgari PV, Georgiou I, et al. miRNAs and related polymorphisms in rheumatoid arthritis susceptibility[J]. *Autoimmun Rev*, 2012, 11(9): 636-641.
 - [20] Churov AV, Oleinik EK, Knip M. MicroRNAs in rheumatoid arthritis: Altered expression and diagnostic potential[J]. *Autoimmun Rev*, 2015, 14(11): 1029-1037.
 - [21] Xu WD, Lu MM, Pan HF, et al. Association of MicroRNA-146a with autoimmune diseases[J]. *Inflammation*, 2012, 35(4): 1525-1529.
 - [22] Abou-Zeid A, Saad M, Soliman E. MicroRNA 146a expression in rheumatoid arthritis; association with tumor necrosis factor-alpha and disease activity[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2011, 15(11): 807-812.
 - [23] Stanczyk J, Pedrioli DM, Brentano F, et al. Altered expression of MicroRNA in synovial fibroblasts and synovial tissue in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(4): 1001-1009.
 - [24] Blüml S, Bonelli M, Niederreiter B, et al. Essential role of microRNA-155 in the pathogenesis of autoimmune arthritis in mice[J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(5): 1281-1288.
 - [25] Nakamachi Y, Kawano S, Takenokuchi M, et al. MicroRNA-124a is a key regulator of proliferation and monocyte chemoattractant protein 1 secretion in fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(5): 1294-1304.
 - [26] Nakamachi Y, Ohnuma K, Uto K, et al. MicroRNA-124 inhibits the progression of adjuvant-induced arthritis in rats[J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, 16(1): 1-8.
 - [27] Duroux-Richard I, Pers YM, Fabre S, et al. Circulating miRNA-125b is a potential biomarker predicting response to rituximab in rheumatoid arthritis[J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 20(1): 342524.
 - [28] Filková M, Aradi B, Senolt L, et al. Association of circulating miR-223 and miR-16 with disease activity in patients with early rheumatoid arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2014, 73(10): 1898-1904.
 - [29] Stanczyk J, Ospelt C, Karouzakis E, et al. Altered expression of microRNA-203 in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts and its role in fibroblast activation[J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(2): 373-381.
 - [30] Murata K, Furu M, Yoshitomi H, et al. Comprehensive microRNA analysis identifies miR-24 and miR-125a-5p as plasma biomarkers for rheumatoid arthritis[J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): 69118.
 - [31] 冯知涛, 李娟, 任洁, 等. 类风湿关节炎患者外周血 miR-146a 及 miR-16 的表达及与病情活动的相关性研究[J]. *南方医科大学学报*, 2011, 31(2): 320-323.
 - [32] Mookherjee N, El-Gabalawy HS. High degree of correlation between whole blood and PBMC expression levels of miR-155 and miR-146a in healthy controls and rheumatoid arthritis patients[J]. *J Immunol Methods*, 2013, 400(1): 106-110.
 - [33] Ceribelli A, Yao B, Dominguez-Gutierrez PR, et al. MicroRNAs in systemic rheumatic diseases[J]. *Arthritis Res Ther*, 2011, 13(4): 229.
 - [34] Castro-Villegas C, Pérez-Sánchez C, Escudero A, et al. Circulating miRNAs as potential biomarkers of therapy effectiveness in rheumatoid arthritis patients treated with anti-TNF α [J]. *Arthritis Res Ther*, 2015, 17(1): 49.

(收稿日期: 2015-12-05)

