

• 论 著 •

抗 CCP 抗体、AKA 及 APF 联合检测在类风湿关节炎诊断中的应用价值*

田卫花^{1,2}, 马文媛², 李莎莎²
(1. 甘肃省中医药研究院, 甘肃兰州 730050; 2. 甘肃省中医院检验科, 甘肃兰州 730050)

摘要:目的 观察抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体、抗角蛋白抗体(AKA)及核周因子(APF)对类风湿性关节炎(RA)的诊断价值。方法 选择 RA 患者 110 例(RA 组)、其他自身免疫性疾病患者 50 例(非 RA 组)和健康体检者 110 例(对照组)为研究对象,采用间接免疫荧光法检测 AKA、APF,用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测抗 CCP 抗体。结果 RA 组患者 3 项检测指标阳性率均明显高于非 RA 组和对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);3 项目串联试验的灵敏度和特异性分别为 44.55%、99.38%,3 项目并联试验的灵敏度和特异性分别为 93.64%、85.63%。结论 在 RA 的诊断中抗 CCP 抗体具有较高的特异性和灵敏度,3 项目串联试验可以提高特异性,降低误诊率,3 项目并联试验可以提高灵敏度,降低漏诊率,3 项目联合检测指导临床对 RA 的诊断具有重要价值。

关键词:关节炎, 类风湿/诊断; 自身抗体/诊断应用; 角蛋白质类/免疫学; 抗体/血液; 核周因子
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.02.003 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)02-0150-03

Combined detection of anti CCP antibodies, AKA and APF in the diagnosis of rheumatoid arthritis*

Tian Weihua^{1,2}, Ma Wenjuan², Li Shasha²
(1. Traditional Chinese Medicine Institute of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730050, China;
2. Gansu Provincial TCM Hospital, Lanzhou, Gansu 730050, China)

Abstract: Objective To investigate the diagnostic value for rheumatoid arthritis(RA) by using combined detection of anti-cyclic citrullinated peptide antibody (anti CCP), anti keratin antibody (AKA) and the antiperinuclear factor (APF) in serum. Methods A total of 110 RA patients(RA group), 50 patients with other autoimmune diseases(non RA group) and 110 healthy subjects (control group) were enrolled in the study. The concentrations of AKA, APF were detected by using indirect immunofluorescence assay and anti CCP by using ELISA. Results The positive rates of anti-CCP, AKA, APF in RA group were higher than those in non RA group and control group($P<0.05$). In the series detection of the three indicators, the sensibility and specificity were 44.55% and 99.38% respectively; in the parallel detection of the three indicators the sensibility and specificity were 93.64% and 85.63% respectively. Conclusion Anti CCP detection exhibits relatively higher sensitivity and specificity in the diagnosis of RA. Series detection of the 3 indicators can improve the specificity, reduce the rate of misdiagnosis; parallel detection of the 3 indicators can improve the sensitivity, reduce the rate of misdiagnosis. The Combined detection of anti CCP, AKA and APF has better diagnostic efficiency than single detection.

Key words: arthritis, rheumatoid/diagnosis; autoantibodies/diagnostic use; keratins/immunology; antibodies/blood; antiperinuclear factor

类风湿关节炎(RA)是一种以关节损伤为主的慢性全身性自身免疫性疾病。RA 致残率高,如不能早期诊断、合理治疗,3 年内关节破坏可达 90%,进而造成永久性的关节畸形^[1-2]。2010 年美国风湿病学会(ACR)联合欧洲抗风湿病联盟(EULAR)发表了新的类风湿关节炎分类标准,引入了抗瓜氨酸蛋白抗体(ACPA)作为新的诊断标准之一^[3]。经典的类风湿因子(RF)特异性较差,且符合该标准的患者常已出现骨关节破坏,不利于早期诊治^[4-5]。而对 ACR 新的诊断标准在国内使用也需要进一步的验证^[5]。本研究选择了抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体、抗角蛋白抗体(AKA)及核周因子(APF)3 个与 RA 相关的检测指标进行对比分析,以明确其在临床诊断中的价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 RA 组 选择 2012 年 10 月至 2014 年 3 月甘肃省中医院风湿骨病科住院的 RA 患者 110 例,其中男 40 例,女 70 例;年龄 25~70 岁,均符合 ACR 1987 年修订的 RA 诊断标准,无严重肾损伤、甲状腺、甲状旁腺等疾病。

1.1.2 非 RA 组 选择 2012 年 10 月至 2014 年 3 月甘肃省中医院住院及门诊就诊的其他自身免疫性疾病患者 50 例,其中男 12 例,女 38 例;年龄 25~75 岁;关节炎患者 33 例,系统性红斑狼疮(SLE)2 例,原发性干燥综合征(Pss)15 例。均有关节疼痛的临床表现,诊断均符合相应的国际诊断标准。

1.1.3 对照组 选择同期在甘肃省中医院进行健康体检的健康者 110 例,均排除各种自身免疫性疾病。

1.2 仪器与试剂 抗 CCP 抗体、AKA 与 APF 试剂盒均为北京和杰创新公司产品,均提供质控血清。仪器为芬兰雷勃 MK2 洗板机、雷杜 RT-6100 酶标分析仪和奥林帕斯 BX43 荧

* 基金项目:甘肃省卫生行业科研计划管理资助项目(GWGL2013-1)。 作者简介:田卫花,女,主管检验师,主要从事自身抗体检测和肿瘤免疫的研究。

光显微镜等。

1.3 实验方法 采集研究对象早晨空腹静脉血 3~5 mL,离心后的血清标本储存于-70 ℃冰箱待测。

1.3.1 ELISA 方法检测抗 CCP 抗体 按试剂盒操作说明书将患者血清进行 1:50 稀释,依次加入 A~E 标准品、阴性对照、阳性对照、稀释后患者血清,均做 2 个复孔。抗 CCP 抗体大于 25 U/mL 定义为阳性。

1.3.2 间接免疫荧光法(IIF)检测 AKA 和 APF 按试剂盒操作说明书将血清进行 1:10 稀释并按试剂盒操作说明书加至反应孔上,设阴、阳性对照。封片后荧光显微镜下观察结果。

1.4 统计学处理 应用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析,计数资料以率或构成比表示,采用四格表 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。灵敏度=检测阳性例数/真阳性例数;特异性=检测阴性例数/真阴性例数;阳性预测值=检测真阳性例数/所有检测阳性例数;阴性预测值=检测真阴性例数/所有检测阴性例数^[2,6-8]。RA 组患者全部符合 ACR 1987 年修订的 RA 诊断标准,临床确诊为 RA,该组检测的阳性结果属于检测真阳性;非 RA 组、对照组已被临床排除 RA 的可能,该两组检测的阴性结果属于检测真阴性。

2 结 果

2.1 AKA 及 APF 检测结果 AKA 检测阳性表现为大鼠食管角质层有多条连续的板层状或非连续的点片状荧光,见图 1。APF 检测阳性表现为颊黏膜细胞核周围出现圆形、均质的绿色荧光颗粒,且在同一反应孔中观察到 5 个以上可判断为阳性,见图 2。

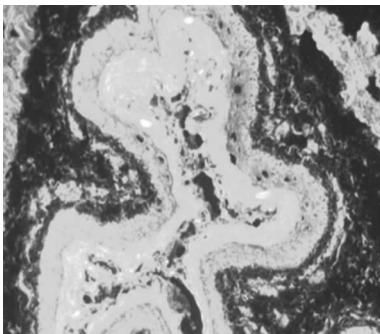


图 1 AKA 检测阳性

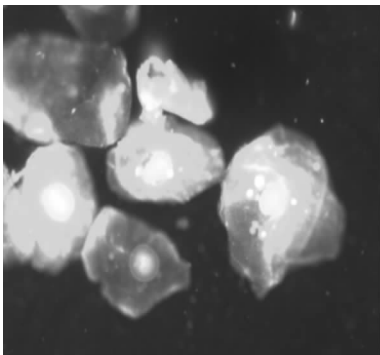


图 2 APF 检测阳性

2.2 各组研究对象抗 CCP 抗体、AKA 及 APF 阳性率比较 RA 组患者抗 CCP 抗体、AKA、APF 阳性率明显高于非 RA 组及对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.3 3 种检测项目单项检测的效能比较 3 种检测项目在 RA 诊断中的筛选能力见表 2。AKA 的灵敏度明显低于抗

CCP 抗体和 APF,特异性高于二者。

表 1 各组研究对象抗 CCP 抗体、AKA 及 APF 阳性率比较[n(%)]

检测指标	RA 组(n=110)	非 RA 组(n=50)	对照组(n=110)
抗 CCP 抗体	92(83.64)	6(12.00)*	8(7.27)*
AKA	53(48.18)	3(6.00)*	1(0.91)*
APF	63(57.27)	5(10.00)*	0(0.00)*

*: $P<0.05$,与 RA 组比较。

表 2 抗 CCP、AKA 及 APF 单项检测的灵敏度、特异性、阳性预测值、阴性预测值(%)

检测指标	灵敏度	特异性	阳性预测值	阴性预测值
抗 CCP 抗体	83.64	88.00	93.88	70.97
AKA	48.18	94.00	94.64	45.19
APF	57.27	90.00	92.65	48.91

2.4 RA 组患者抗 CCP 抗体与 AKA、APF 检测结果比较 RA 组患者抗 CCP 抗体与 AKA 抗体检测结果比较差异有统计学意义($\chi^2=8.562, P<0.05$),与 APF 抗体检测结果比较差异无统计学意义($\chi^2=1.447, P>0.05$)。

表 3 RA 组患者 AKA、APF 与抗 CCP 抗体检测结果比较

检测指标	n	AKA		APF	
		+	-	+	-
抗 CCP 抗体					
+	92	50	42	55	37
-	18	3	15	8	10
合计	110	53	57	63	47

2.5 3 种特异性抗体串、并联试验的灵敏度和特异性比较 同时检测抗 CCP 抗体、AKA 和 APF,3 项目串联试验的特异性进一步提高,但灵敏度下降;而 3 项目并联试验的灵敏度提高,但特异性下降。见表 5。

表 5 3 种特异性抗体串、并联试验的灵敏度和特异性比较(n=270)

组别	n	3 个指标串联		3 个指标并联	
		+	-	+	-
RA 组	110	49	61	103	7
非 RA 组	50	1	49	14	36
对照组	110	0	110	9	101
灵敏度(%)		44.55		93.64	
特异性(%)		99.38		85.63	

3 讨 论

RA 是一种以周围关节受损为主的慢性自身免疫性疾病,是最常见的炎性关节疾病之一。RA 的特征表现为对称性、慢性、进行性多关节炎并伴有全身多系统受累^[9]。长期以来,RF 是诊断 RA 的唯一血清学指标,但其存在灵敏度高但特异性差的缺点。例如在某些干燥综合征、结缔组织病等其他免疫性疾

病患者的血清中也会出现 RF 的升高,这就难以避免出现假阳性情况;况且很多早期 RA 患者体内并不出现 RF 的升高,因此也会出现漏诊^[8]。

近年来相继发现了一些在诊断 RA 中较为特异的抗体如抗 CCP 抗体、AKA、APF、抗 Sa 抗体等,后来发现 AKA、抗 CCP 抗体和 APF 这 3 种自身抗体在化学结构上具有一定的关联性。APF、AKA 和抗 CCP 抗体的靶抗原是上皮细胞分化终末阶段的细胞骨架成分丝聚蛋白(Filaggrin),而瓜氨酸是 Filaggrin 的组成成分,称为瓜氨酸相关的自身免疫系统^[10-11]。大部分文献报道诊断 RA,抗 CCP 抗体比 RF 具有更高的特异性,较好的灵敏度,具有早期诊断价值^[11-12]。2010 年 ACR 和 EULAR 重新修订的诊断标准中将抗 CCP 抗体纳入血清学诊断标准^[3,11]。本研究结果显示,抗 CCP 抗体诊断 RA 的灵敏度和特异性分别为 83.64%和 88.00%,与国内相关报道较为一致。

AKA 是由 Young 等^[13]于 1979 年采用 IIF,以 Wistar 大鼠食管中 1/3 段上皮为底物,首先在 RA 患者的血清中检测到的,发现其对 RA 具有高度特异性。本研究发现 AKA 灵敏度相对较低,但单项检测其特异性最高,达 94.00%。APF 抗体靶抗原存在于人类黏膜角质透明颗粒中,1995 年有学者从人类黏膜细胞中提取该抗原,APF 与角蛋白丝聚原或 Filaggrin 前体的单克隆抗体可显现相同的条带^[14],故作为 RA 诊断指标之一。

本研究发现,RA 组患者抗 CCP 抗体、AKA、APF 阳性率明显高于非 RA 组及对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。抗 CCP 抗体单项检测在 RA 组阳性率为 83.64%,在非 RA 组仅为 12.00%,说明抗 CCP 抗体这个检测指标可以用来鉴别 RA 和其他相关自身免疫性疾病^[8],AKA 的灵敏度为 48.18%,明显低于抗 CCP 抗体(83.64%)和 APF(57.27%);AKA 的特异性为 94.00%,高于 APF(90.00%)和抗 CCP 抗体(88.00%)。3 项目串联试验可提高检测特异性,高达 99.38%,从而降低误诊率;3 项指标并联试验可提高检测灵敏度,达 93.64%,降低了漏诊率。

综上所述,抗 CCP 抗体对 RA 的诊断具有较高的灵敏度、特异性和临床应用价值,AKA 与 APF 是 RA 诊断较理想的补充项目。抗 CCP 抗体、AKA、APF 联合检测能够提供更加丰富的诊断信息,可显著提高 RA 诊断的准确性,降低漏诊率和误诊率。

(上接第 149 页)

参考文献

[1] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3 版.南京:东南大学出版社,2006:469.

[2] 王学品,徐国宾,李海霞,等.血清肌酐和半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 及估算的肾小球滤过率在评价慢性肾病患者肾小球滤过功能中的比较研究[J].中华检验医学杂志,2007,30(4):415-418.

[3] 吴炯,王冲,郭玮,等.肾小球滤过率的估算及其临床应用[J].中华检验医学杂志,2007,30(11):1214-1218.

[4] 王世英,陈宝平,杨素霞,等.观察腹膜透析联合血液透析治疗慢性肾功能衰竭的临床效果[J].中国实用医药,2014,9(28):97-98.

[5] Myers GL, Miler WG, Coresh J, et al. Recommendations for improving serum creatinine measurement: a report from the Laboratory Working Group of the National Kidney Disease Education

参考文献

[1] 康霞,李欣,杨春莉,等. ECLIA、CMIA、ELISA 3 种方法测定血清抗 CCP 抗体在 RA 诊断中的应用[J]. 重庆医学,2014,43(11):1290-1292.

[2] 田卫花,马文媛,李莎莎. ELISA 与胶体金免疫层析法检测血清抗 CCP 抗体在 RA 诊断中的比较[J]. 国际检验医学杂志,2015,36(11):1528-1529.

[3] 吕芳,李兴福. 2010 年美国风湿病学会联合欧洲抗风湿病联盟的类风湿关节炎分类标准解读[J]. 诊断学理论与实践,2010,9(4):307-310.

[4] 刘嘉玲,鲍春德. 风湿病疑难问题[M]. 北京:人民卫生出版社,2004.

[5] 陈超,徐升强,王银,等. 抗环瓜氨酸肽抗体、抗核周因子在类风湿关节炎诊断中的意义[J]. 中国实验诊断学,2014,18(12):1981-1984.

[6] 田卫花,李芳娟,梁勤,等. MLCT 和 ELISA 法检测 HLA-B27 的比较[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(19):2583-2585.

[7] 朱美玲,罗伟琼,邹翠贤,等. HLA-B27 3 种检测方法的比较[J]. 中国卫生检验杂志,2007,17(7):1251-1252.

[8] 高科,陶娟,王继红,等. 三种自身抗体联合检测对类风湿关节炎早期诊断的临床价值[J]. 贵阳医学院学报,2015,40(2):179-182.

[9] 刘童,李兴锐,徐胜前. 抗环瓜氨酸肽抗体和类风湿因子双阳性类风湿关节炎患者临床资料分析[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版,2013,7(22):109-112.

[10] Menard HA, Lapointe E, Rochdi MD, et al. Insights into rheumatoid arthritis derived from the Sa immune system[J]. Arthritis Res, 2000, 2(6):429-432.

[11] 胡凯,袁光勇,邓文,等. 自身抗体检测在类风湿关节炎的临床诊断价值评价[J]. 实验与检验医学,2015,33(1):108-111.

[12] 何媛,施桥发. 风湿性关节炎的自身抗体免疫学指标检测及应用进展[J]. 实验与检验医学,2013,31(4):344-347.

[13] Young BJ, Mallya RK, Leslie RD, et al. Anti keratin anti-bodies in rheumatoid arthritis[J]. Br Med J, 1979, 2(6182):97-99.

[14] 范仙贵,钟根明,潘伟毅. 类风湿因子、抗角蛋白抗体、抗核周因子抗体和抗环瓜氨酸肽抗体联合检测在类风湿关节炎诊断中临床价值[J]. 中国医师进修杂志,2010,33(34):67-68.

(收稿日期:2015-08-22)

Program[J]. Clin Chem, 2006, 52(1):5-18

[6] Levey AS, Stevens LA, Hostetter T. Automatic reporting of estimated glomerular filtration rate—just what the doctor ordered[J]. Clin Chem, 2006, 52(12):2188-2193.

[7] 全国 eGFR 课题协作组. MDRD 方程在我国慢性肾脏病患者中的改良和评估[J]. 中华肾脏病杂志,2006,22(16):589-595.

[8] Stevens LA, Coresh J, Greene T, et al. Assessing kidney function—measured and estimated glomerular filtration rate[J]. N Engl J Med, 2006, 354(23):2473-2483.

[9] 王焕君. 测定肾小球滤过率的理想指标——半胱氨酸蛋白酶抑制剂[J]. 检验医学与临床,2008,5(16):1003-1004.

[10] 张红春. 肾脏疾病中血清胱抑素-C 含量变化及临床意义[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2008,29(19):2329-2330.

(收稿日期:2015-08-16)